

论著·临床研究

呼出气一氧化氮检测联合诱导痰嗜酸性粒细胞计数对 ACO 的诊断效能分析*

陈慧暖¹, 郭媛媛², 洪敏俐³, 刘燕鸿³, 黄小华³, 洪春霖^{1△}

(1. 福建中医药大学附属漳州中医院检验科, 福建漳州 363000; 2. 南京市栖霞区医院, 江苏南京 210046; 3. 福建中医药大学附属漳州中医院肺病科, 福建漳州 363000)

摘要:目的 探讨呼出气一氧化氮(FeNO)检测联合诱导痰嗜酸性粒细胞计数对哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠(ACO)的诊断效能。方法 采用前瞻性的研究方法,依诊断标准连续纳入慢性阻塞性肺疾病患者 137 例,ACO 患者 67 例和非 ACO(NACO)患者 70 例。采用一氧化氮电量法测定患者 FeNO,计数诱导痰嗜酸性粒细胞百分比,比较 2 组患者的 FeNO 水平和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比,并用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 2 个指标对 ACO 的诊断效能。结果 ACO 组有效完成 FeNO 检测 67 例和诱导痰嗜酸性粒细胞计数 52 例,而 NACO 组分别为 70 例和 47 例。ACO 组 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比以中位数(四分位间距)表示分别为 36.50(21.25) ppb 和 4.25%(13.12%),明显高于 NACO 组的 21.00(10.00) ppb 和 0.50%(1.50%),差异有统计学意义($Z=-7.089, P<0.05$; $Z=-5.979, P<0.05$)。ACO 组患者 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比的水平分布与 NACO 组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。经 ROC 曲线分析,FeNO、诱导痰嗜酸性粒细胞百分比诊断 ACO 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.837 和 0.847,最佳临界值为 25.50 ppb 和 2.30%。联合检测 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比,以任一指标大于临界值为 ACO 诊断标准,诊断灵敏度为 0.942,特异度为 0.638。结论 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比是用于 ACO 诊断的良好指标,两者联合检测可以明显提高诊断灵敏度。

关键词:慢性阻塞性肺疾病; 哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠; 呼出气一氧化氮; 诱导痰; 嗜酸性粒细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.21.013

中图法分类号:R562.2+5

文章编号:1673-4130(2019)21-2613-04

文献标识码:A

Diagnostic efficacy of fractional exhaled nitric oxide combined with eosinophil count in induced sputum for ACO*

CHEN Huinuan¹, GUO Yuanyuan², HONG Minli³, LIU Yanhong³, HUANG Xiaohua³, HONG Chunlin^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Zhangzhou, Fujian 363000, China;

2. Nanjing Qixia District Hospital, Nanjing, Jiangsu 210046, China; 3. Department of Pulmonary Disease, Zhangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic efficacy of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) combined with eosinophil count in induced sputum in asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap (ACO). **Methods** A total of 137 patients with chronic obstructive pulmonary disease, 67 patients with ACO and 70 patients with non-ACO (NACO) were enrolled in this prospective study according to the diagnostic criteria. FeNO was measured by nitric oxide electrometry, and the percentage of eosinophils in induced sputum was counted. The level of FeNO and the percentage of eosinophils in induced sputum were compared between the two groups. The diagnostic efficacy of the two indicators for ACO was analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC curve). **Results** FeNO was detected in 67 cases in ACO group and eosinophil count in induced sputum in 52 cases, while 70 cases and 47 cases in NACO group. The percentages of FeNO and eosino-

* 基金项目:福建省中医药科研课题资助项目(wzhw201311);福建省中医肺系病重点研究室资助项目(内科类-5);漳州市中医专科专病人才培养基地资助项目[(2016)100]。

作者简介:陈慧暖,女,主管技师,主要从事呼吸道疾病机制方面的研究。△ 通信作者, E-mail:907481115@qq.com。

本文引用格式:陈慧暖,郭媛媛,洪敏俐,等.呼出气一氧化氮检测联合诱导痰嗜酸性粒细胞计数对 ACO 的诊断效能分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(21):2613-2616.

phils in induced sputum in ACO group were 36.50(21.25)ppb and 4.25%(13.12%) respectively, which were significantly higher than those in NACO group 21.00(10.00)ppb and 0.50%(1.50%), ($Z = -7.089, P < 0.05$; $Z = -5.979, P < 0.05$). There were significant differences between ACO group and NACO group in the distribution range of FeNO and eosinophil proportion in induced sputum(all $P < 0.05$). The areas under ROC curve(AUC) of FeNO and percentage of eosinophils in induced sputum for diagnosing ACO were 0.837 and 0.847, respectively, and the optimum critical values were 25.50 ppb and 2.30%. Combined with FeNO and the percentage of eosinophils in induced sputum, ACO was diagnosed when one of the indicators was higher than the critical value. The diagnostic sensitivity and specificity were 0.942 and 0.638, respectively. **Conclusion** FeNO and the percentage of eosinophils in induced sputum are good indicators for the diagnosis of ACO. Combined detection can significantly improve the sensitivity of diagnosis.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease; asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap; fractional exhaled nitric oxide; induced sputum; eosinophils

哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠(ACO)是慢性阻塞性肺疾病的一种特殊表型,其临床症状、气道炎性反应与其他表型有明显不同,对药物治疗的反应也有很大差别^[1]。2012 年西班牙 ACO 共识文件提出了 ACO 表型诊断^[2]。2015 年慢性阻塞性肺疾病全球倡议(GOLD)明确了哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠综合征(ACOS)的概念和诊断步骤^[3]。但由于综合征往往用于定义 1 个独立的疾病,所以 2017 年 GOLD 提出采用 ACO 描述患者的这种重叠特征^[4]。ACO 患者表现为慢性阻塞性肺疾病合并有哮喘的临床特征,兼有慢性阻塞性肺疾病和哮喘的气道炎性反应特点,诱导痰嗜酸性粒细胞增多^[5]。呼出气一氧化氮(FeNO)与气道炎性反应有关,FeNO 增加提示哮喘患者对吸入性糖皮质激素(ICS)治疗敏感,也是哮喘急性发作的独立危险因素^[6]。本研究采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)探讨 FeNO 联合诱导痰嗜酸性粒细胞百分比对慢性阻塞性肺疾病患者 ACO 表型的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究采用前瞻性研究方法,选取 2014 年 10 月至 2018 年 10 月就诊于福建中医药大学附属漳州中医院的慢性阻塞性肺疾病患者 137 例,其中 ACO 组患者 67 例,男 56 例,女 9 例,平均年龄(65.82 ± 10.45)岁;非 ACO(NACO)组患者 70 例,男 60 例,女 10 例,平均年龄(67.32 ± 9.30)岁。2 组患者性别和年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经福建中医药大学附属漳州中医院伦理委员会批准,所有入组患者均签署知情同意书。

1.2 慢性阻塞性肺疾病诊断标准 依据《慢性阻塞性肺疾病诊治 2013 修订版》制定^[7]:患者吸入支气管舒张剂后第 1 秒用力呼气量占用力呼气量百分比(FEV_1/FVC) $< 70\%$,即明确存在持续的气流受限,排除其他疾病后可确诊为慢性阻塞性肺疾病。

1.3 ACO 的诊断标准 参考 2012 年西班牙 ACOS 诊断共识拟定^[2]。主要标准:(1)慢性阻塞性肺疾病患者支气管舒张试验强阳性,即 FEV_1 改善值 > 400 mL,改善率 $> 15\%$;(2)痰嗜酸性粒细胞增多或曾

经诊断为哮喘。次要标准:(1)慢性阻塞性肺疾病患者血清总免疫球蛋白 E 升高;(2)有过敏史;(3)至少 2 次支气管舒张试验阳性,即 FEV_1 改善值 > 200 mL,改善率 $> 12\%$ 。满足两项主要标准,或者满足一项主要标准加两项次要标准即可诊断为 ACO。

1.4 排除标准 (1)患者为 COPD 急性发作期;(2)近 2 周有上呼吸道感染的患者;(3)近 1 个月有全身使用糖皮质激素的患者;(4)虽有气流阻塞,但临床诊断为肺结核、囊性纤维化、支气管扩张症、闭塞性细支气管炎、弥漫性泛细支气管炎的患者;(5)合并有肝、肾、心血管和造血系统严重的原发性疾病;(6)不愿意配合或不能交流者。

1.5 肺功能检测 肺功能检查及支气管舒张试验使用全自动肺功能测试仪(购自德国 Jaeger diffusion 公司),检测由漳州市中医院肺功能室专业人员完成。每人重复测定 3 次,取最佳值。

1.6 FeNO 测定 根据美国胸科协会/欧洲呼吸协会(ATS/ESR)委员会推荐的方法^[8],FeNO 使用纳库伦呼气分析仪(型号 Sunvou-P100)进行检测,方法采用一氧化氮电量法。详细步骤如下:仪器开机准备就绪,患者端坐,保持适当高度,先平静呼吸,然后手持吸气过滤器,呼净余气,用嘴唇包紧过滤器口部,先用力吸气,然后呼气,使呼气流速恒定在 50 mL/s,持续约 10 s(测定界面浮标上升并保持在蓝色分析区域),仪器提示进入分析状态。检测结果以 ppb 表示,成人参考值: < 25 ppb 为低值; $25 \sim 50$ ppb 为中间值; > 50 ppb 为高值。低值提示非嗜酸性粒细胞性炎性反应,高值提示嗜酸性粒细胞性炎性反应,中间值需结合临床资料解释。

1.7 诱导痰细胞学计数 参照本课题组以前的研究方法^[9],患者吸入 200 μ g 沙丁胺醇 15 min 后,经超声雾化吸入 3.5%的高渗盐水 15 min,每隔 5 min 或任何时间自觉有痰时擤鼻涕并漱口后用力深咳,咳出的痰液装于带有刻度的无菌干燥杯送实验室进行液化处理(不能及时处理时可置 4 $^{\circ}$ C 保存,但不超过 2 h)。诱导痰液化处理:在痰液中加入等倍体积含 0.1%二

硫苏糖醇(DTT)的磷酸盐缓冲液(PBS),振荡混匀。待痰液液化完全,记录痰液容量,然后 1 500 r/min 离心 10 min,取沉渣用 PBS 溶液 50 mL 充分悬浮,经 48 μ m 筛网过滤去除杂质,再经 1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,留取沉渣 1 mL 混匀成细胞悬液。诱导痰细胞计数:先以台盼兰染色检查细胞存活率,存活率 $\geq 50\%$ 为合格标本,再用牛-鲍氏计数板计数炎性细胞总数和鳞状上皮细胞数,取 100 μ L 细胞悬液经涂片离心机离心制成细胞涂片,瑞氏染色后油镜分类计数 400 个非鳞状上皮细胞,计算嗜酸性粒细胞百分比。以嗜酸性粒细胞百分比 $\geq 2.5\%$ 为高值,提示存在嗜酸性粒细胞性炎症反应。

1.8 统计学处理 应用 SPSS20.0 统计软件,所有资料均进行正态分布检验,非正态分布资料以中位数(四分位间距)[$M(Q)$]表示,组间比较采用 Wilcoxon 样本秩和检验。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。FeNO、诱导痰嗜酸性粒细胞百分比对 ACO 的诊断效能采用 ROC 曲线分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 检测情况 ACO 组有效完成 FeNO 检测 67 例和诱导痰细胞计数 52 例,而 NACO 组分别为 70 例和 47 例。

2.2 2 组患者的 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比结果 ACO 组 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分

比以 $M(Q)$ 表示,分别为 36.50(21.25) ppb 和 4.25%(13.12%),明显高于 NACO 组 21.00(10.00) ppb 和 0.50%(1.50%),差异有统计学意义($Z=-7.089, P<0.05$ 和 $Z=-5.979, P<0.05$)。ACO 组患者 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比的水平分布分别与 NACO 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 2 组患者 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比结果分布情况[$n(\%)$]

组别	FeNO 分布				诱导痰嗜酸性粒细胞 百分比分布		
	<i>n</i>	<25 ppb	25~50 ppb	>50 ppb	<i>n</i>	<2.5%	≥2.5%
ACO	67	13(19.40)	36(53.73)	18(26.86)	52	16(30.77)	36(69.23)
NACO	70	51(72.86)	17(24.28)	2(2.86)	47	42(89.36)	5(10.64)
χ^2			42.13			37.95	
<i>P</i>			<0.05			<0.05	

2.3 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比诊断 ACO 的 ROC 分析 经 ROC 曲线分析,FeNO、诱导痰嗜酸性粒细胞百分比对 ACO 均具有较高的诊断效能,AUC 分别为 0.837 和 0.847,最佳临界值为 25.50 ppb 和 2.30%。以 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比中任一指标大于临界值作为诊断 ACO 的标准,可以提高诊断灵敏度。见表 2、图 1。

表 2 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比诊断 ACO 的 ROC 分析

项目	最佳临界值	灵敏度	特异度	约登指数	AUC	95%CI	SE	P
FeNO	25.50 ppb	0.776	0.757	0.509	0.837	0.769~0.905	0.035	<0.001
嗜酸性粒细胞百分比	2.30%	0.692	0.894	0.594	0.847	0.772~0.922	0.038	<0.001
FeNO 与嗜酸性粒细胞百分比	25.50 ppb, 2.30%	0.942	0.638	0.581	0.790	0.696~0.885	0.048	<0.001

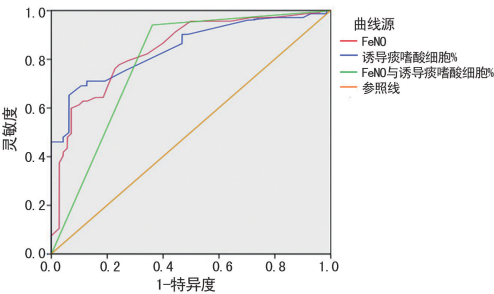


图 1 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比诊断 ACO 的 ROC 曲线分析

3 讨 论

慢性阻塞性肺疾病和哮喘都是临床常见的慢性气道疾病,慢性阻塞性肺疾病以持续气流受限为特征,气道炎症反应类型主要为中性粒细胞性炎症反应。哮喘主要表现为可逆性气流受限,并具有气道高反应性,嗜酸性粒细胞性炎症反应是其主要的气道炎

性反应类型。ACO 既有慢性阻塞性肺疾病的临床症状和肺功能改变,同时又有类似哮喘的可逆性气流受限,其 FEV1 可以被支气管扩张剂明显改善,而且气道炎症反应类型兼有中性粒细胞性和嗜酸性粒细胞性炎症反应^[10-11]。

诱导痰嗜酸性粒细胞计数是慢性阻塞性肺疾病患者分型的主要指标之一,2.50%是我国专家推荐的判断气道嗜酸性粒细胞炎症反应的临界值^[12],气道嗜酸性粒细胞增多的慢性阻塞性肺疾病患者对 ICS 的治疗敏感^[13]。本研究结果显示,ACO 患者的诱导痰嗜酸性粒细胞水平明显高于 NACO 患者,且有 69.23%的患者高于 2.50%,提示 ACO 患者存在嗜酸性粒细胞炎症反应,这与文献^[14]报道相似。此外,本研究还显示,在慢性阻塞性肺疾病患者中鉴别诊断 ACO 的诱导痰嗜酸性粒细胞百分比临界值为 2.30%,略低于 2.50%,这可能与本组资料均为慢性

阻塞性肺疾病患者有关,其诱导痰中的炎性细胞主要以中性粒细胞为主,而且 ACO 患者同时具有中性粒细胞和嗜酸性粒细胞性炎性反应。

FeNO 是反映气道炎性反应的另一个重要指标,多种气道炎性反应均能使之升高,尤其是嗜酸性粒细胞性炎性反应为甚,研究显示哮喘患者的 FeNO 显著升高^[15]。因 FeNO 检测较诱导痰更为简便、快速、重复性好患者易接受等优点而备受关注。呼气中的一氧化氮主要由气道上皮细胞分泌,这些内源性一氧化氮由 L-精氨酸在一氧化氮合酶下催化而成^[16]。本研究结果显示,ACO 组患者 FeNO 水平明显高于 NACO 组,这与 KOBAYASHI 等^[17]的研究结果大致相同。ROC 曲线分析结果显示,FeNO 对 ACO 具有良好的诊断效能,有较高的灵敏度和特异度,最佳诊断临界值为 25.50 ppb,接近 ATS 推荐的中间值临界点 25.00 ppb,而且患者测定结果大部分处于中间值和高值区域,进一步说明 ACO 具有嗜酸性粒细胞气道炎性反应的特点。但是,FeNO 与嗜酸性粒细胞百分比的变化并不完全一致,而联合 FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比这两项指标可以提高诊断 ACO 的灵敏度^[15]。

4 结 论

ACO 表型患者 FeNO 水平及诱导痰嗜酸性粒细胞百分比比较 NACO 慢性阻塞性肺疾病患者明显升高,FeNO 和诱导痰嗜酸性粒细胞百分比是用于 ACO 诊断的良好指标,两者联合检测可以明显提高诊断灵敏度。

参考文献

- [1] 张晓雷,王辰. 重视慢性阻塞性肺疾病的筛查与管理 [J]. 中华健康管理学杂志,2015,9(4):250-253.
- [2] SOLER-CATALUNA J J, COSIO B, IZQUIERDO J L, et al. Consensus document on the overlap phenotype COPD-asthma in COPD [J]. Arch Bmnconeumol, 2012, 48(9): 331-337.
- [3] GOLD E C. Global Initiative for the Diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease, Updated 2015 [EB/OL]. [2018-06-68]. <http://www.goldcopd.org/>.
- [4] VOGELMEIER C F, CRINER G J, MARTINEZ F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report: gold executive summary [J]. Respiriology, 2017, 22(3):575-601.

- [5] 李世红,王晶,张黎明,等. 中老年哮喘慢性阻塞性肺疾病重叠患者的临床特征研究 [J]. 中华急诊医学杂志,2018, 27(4):419-424.
- [6] Global Initiative for Asthma. The global strategy for asthma management and prevention Updated 2018 [EB/OL]. [2019-01-16]. <https://ginasthma.org>.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版) [J]. 中国结合和呼吸杂志,2013,36(4):1-10.
- [8] American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005 [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171(8):912-930.
- [9] 陈慧暖,洪春霖,洪敏俐,等. 慢性咳嗽患者的呼吸道嗜酸性粒细胞性炎性反应特征 [J]. 国际检验医学杂志,2011, 32(14):1538-1539.
- [10] 李瑞敏,徐伟涵,金建敏. 哮喘—慢性阻塞性肺疾病重叠综合征临床诊断的初步探讨 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2018,17(6):557-560.
- [11] 韩国敬,许菡苒,胡红. 哮喘—慢性阻塞性肺疾病重叠综合征、哮喘及慢性阻塞性肺疾病患者的肺功能及临床特征比较 [J]. 解放军医学院学报,2016,37(11):1122-1125.
- [12] 罗炜,赖克方,陈如冲,等. 广州地区诱导痰细胞学正常参考值的建立 [J]. 国际呼吸杂志,2007,27(16):1213-1215.
- [13] TASHKIN D P, WECHSLER M E. Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13: 335-349.
- [14] KITAGUCHI Y, KOMATSU Y, FUJIMOTO K, et al. Sputum eosinophilia can predict responsiveness to inhaled corticosteroid treatment in patients with overlap syndrome of COPD and asthma [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2012, 7:283-289.
- [15] GAO J, CHEN Z, JIE X. Both fractional exhaled nitric oxide and sputum eosinophil were associated with uncontrolled asthma [J]. J Asthma Allergy, 2018, 11:73-79.
- [16] GUO F H, COMHAIR S A, ZHENG S, et al. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (no) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of no synthesis [J]. Immunol, 2000, 164(11):5970-5980.
- [17] KOBAYASHI S, HANAGAMA M, YAMANDA S, et al. Inflammatory biomarkers in asthma-COPD overlap syndrome [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2016, 11(1):2117-2123.

(收稿日期:2019-02-18 修回日期:2019-05-02)

(上接第 2612 页)

- [17] 黄振,汪一心,鲁文清. 男性精浆 17 种金属浓度与血清生殖激素水平的关系 [J]. 环境与职业医学,2017,34(4): 297-303.
- [18] PULLAR J M, CARR A C, BOZONET S M, et al. Ele-

vated seminal plasma myeloperoxidase is associated with a decreased sperm concentration in young men [J]. Andrology, 2017, 5(3):431-438.

(收稿日期:2019-02-22 修回日期:2019-05-06)