

• 论著——临床研究 •

血液和鼻分泌物中嗜酸粒细胞和嗜酸粒细胞阳离子蛋白对变应性鼻炎的辅助诊断价值*

余文婷¹ 周玥¹ 檀慧芳¹ 施秋梅¹ 王彦君¹ 朱云¹ 孔维佳¹ 陈建军¹

[摘要] 目的:对比分析血液和鼻分泌物中嗜酸粒细胞和嗜酸粒细胞阳离子蛋白(ECP)对变应性鼻炎(AR)的辅助诊断价值。方法:选取33例AR患者(AR组)和40例健康正常人(对照组)的血液样本,检测血浆中ECP含量和全血嗜酸粒细胞百分比;同时选取2组的鼻分泌物样本并检测其中ECP含量和嗜酸粒细胞百分比。利用受试者工作特征曲线计算各指标的截止值和有用性,并分析各指标与临床症状评分之间的相关性。结果:与对照组相比,AR患者的血浆ECP、全血嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物ECP和鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比均明显升高($P < 0.001$)。鼻分泌物中ECP的曲线下面积(AUC)为0.9659,当截断值为3.634时,可获得100%的灵敏度和88%的特异性;鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比的AUC为0.8636,当截断值为0.72时,可获得100%的灵敏度和73%的特异性;全血嗜酸粒细胞百分比的AUC为0.9087,当截断值取4.6时,可获得95%的灵敏度和73%的特异性;血浆ECP的AUC为0.903,当截断值为0.866时,可获得90%的灵敏度和76%的特异性。结论:鼻分泌物ECP对于AR具有最佳的预测能力,鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比具有较好的特异性,是理想的辅助诊断指标。

[关键词] 鼻炎,变应性;嗜酸粒细胞;嗜酸粒细胞阳离子蛋白

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.11.005

[中图分类号] R765.21 [文献标志码] A

The diagnostic value of eosinophilic and eosinophilic cationic proteins in blood and nasal secretions for allergic rhinitis

YU Wenting ZHOU Yue TAN Hui Fang SHI Qiumei WANG Yanjun
ZHU Yun KONG Weijia CHEN Jianjun

(Department of Otolaryngology, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: CHEN Jianjun, E-mail: ylly80331@163.com

Abstract Objective: To compare the diagnostic value of eosinophil and eosinophil cationin protein(ECP) in blood and nasal secretions for allergic rhinitis(AR). **Method:** Collecting the blood samples of 33 patients with AR (AR group) and 40 healthy people(control group), and test the concentration of ECP in serum and the percentage of eosinophil in blood. At the same time, collecting the nasal secretions samples of 33 patients with AR and 24 healthy people, and test the concentration of ECP and the percentage of eosinophils in nasal secretions. Using receiver operating characteristic curve(ROC) analysis, calculate the area under the curve(AUC) for each parameter and determine their predictive capabilities, then analyzing the correlation between each indicator and clinical symptom scores. **Result:** Compared with the healthy control group, the concentration of ECP and the percentage of eosinophil in blood and nasal secretion increased significantly($P < 0.001$) in patients with AR. The AUC of ECP concentration in nasal secretions was 0.9659, when the cut-off value was 3.634, 100% sensitivity and 88% specificity were obtained; the AUC of eosinophil percentage in blood was 0.9087, and when its cut-off value was 4.6, 95% sensitivity and 73% specificity were obtained; the ECP concentration in serum had an AUC of 0.903, and when the cut-off value was 0.866, 90% sensitivity and 76% specificity were obtained; the AUC of nasal secretion eosinophil's percentage was 0.8636, when its cut-off value is 0.72, 100% sensitivity and 73% specificity were obtained. **Conclusion:** For allergic rhinitis, ECP concentrate in nasal secretions is the ideal auxiliary diagnosis marker, and has the best predictive capability.

Key words rhinitis, allergic; eosinophils; eosinophile cationic protein

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:81570898,81873693);科技部“十二五”科技支撑项目(No:2014BAI07B04)

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院耳鼻咽喉科

通信作者:陈建军, E-mail: ylly80331@163.com

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是耳鼻咽喉头颈外科最常见的疾病之一,其发病率仍在逐年增加^[1]。临床上对 AR 的诊断常常依靠患者的症状、体征和实验室检查(如皮肤点刺试验、血清特异性 IgE 检查等)。AR 在发病机制上是变应原触发的以 I 型变态反应为特征的炎症,其中嗜酸粒细胞是其最为重要的炎症细胞。临床上常常通过对血液及鼻分泌物中嗜酸粒细胞及其炎症产物的检测,用以辅助诊断过敏性炎症及其程度,并为治疗提供客观依据。嗜酸粒细胞阳离子蛋白(eosinophil cationic protein, ECP)是由活化的嗜酸粒细胞分泌,目前多数学者认为 ECP 是反映嗜酸粒细胞活化的特征性炎性因子和标志物,因此 ECP 常被用于反映 AR 患者的炎症程度和症状评价。如 Di Lorenzo 等^[2]试验发现花粉症患者在花粉季时鼻腔灌洗液中 ECP 增加且与症状评分相关,同时鼻细胞学中嗜酸粒细胞和血液中嗜酸粒细胞亦增加,其认为检测 ECP 水平可能对监测过敏性疾病的活动和药物疗效有意义。朱歆洁等^[3]研究认为 AR 患儿的鼻塞症状严重程度和患者发病时间的长短与血清 ECP 水平呈正相关,提示疾病严重程度与慢性炎症状态有关。Jung 等^[4]认为血清 ECP 和全血中嗜酸粒细胞百分比是 AR 的强预测因子,具有较好的预测价值。这些指标均可作为过敏性炎症程度的判断提供一定参考价值。但对于血中和鼻分泌物的嗜酸粒细胞和 ECP,究竟哪一项指标具有最优的辅助诊断价值,目前尚未见报道。本研究选取 AR 患者和健康对照者,检测其中血浆 ECP 含量、全血嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物 ECP 含量、鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比,通过分析上述 4 个指标的 AUG、截断值、灵敏度、特异性等统计参数,探讨不同指标对 AR 的辅助诊断价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料及纳入标准

选取门诊 AR 患者 33 例,纳入标准参照 AR 诊断和治疗指南(2015 年,天津)^[4]:①症状:打喷嚏、清水样涕、鼻痒和鼻塞等症状出现 2 个或以上,每天症状持续或累计在 1 h 以上,可伴有眼痒、流泪和眼红等眼部症状;②体征:常见鼻黏膜苍白、水肿,鼻腔水样分泌物;③变应原检测:至少一种变应原 SPT 和(或)血清特异性 IgE 阳性。

正常人纳入标准:①选取门诊健康志愿者 24 例,要求既往无喷嚏、清涕、鼻痒和鼻塞等鼻高反应性症状,无鼻炎病史且近期末患有呼吸道疾病,收集其鼻分泌物待查;②选取健康体检者 40 例,要求同上,收集其血标本待查。

1.2 主要试剂和仪器

ECP ELISA kit 及免疫组织化学相关试剂(武汉中敏泰克生物科技有限公司)、莱卡光学显微镜

及成像系统用于鼻分泌物细胞学检测。

1.3 试验方案

1.3.1 检测鼻分泌物及全血中嗜酸粒细胞百分比

①检测鼻分泌物中嗜酸粒细胞百分比:对 AR 患者和正常人进行鼻分泌物细胞学涂片,参照 Chen^[5]方法:嘱患者擤鼻涕,若患者无鼻分泌物,可将玻璃棒置于患者下鼻道前端处轻轻转动以获取鼻分泌物,转动时尽量避免摩擦鼻黏膜表面。将取到的患者鼻分泌物均匀轻薄地涂抹在载玻片上,鼻分泌物覆盖面积须超过玻片面积的 2/3,若分泌物不足以覆盖所需区域,可以重复取样。风干后进行 Wright-Giemsa 染色,在光学显微镜下进行计数。观察×400 倍镜下的嗜酸粒细胞百分比,最后结果取 5 个视野的平均值。②检测全血中嗜酸粒细胞百分比:收集 AR 患者和正常人全血标本 2 ml,送至本院检验科,检测全血中嗜酸粒细胞百分比。

1.3.2 检测鼻分泌物及血浆中 ECP 浓度

①收集入组人员的鼻分泌物:收集 AR 患者和正常人的鼻分泌物。收集方法参照 Lü^[6]并略作调整:将无菌海绵轻放入患者鼻腔 1~5 min,待患者感觉有分泌物之后取出,将取出后的海绵放入 2 ml 注射器,挤压注射器,获取的鼻分泌物用 1.5 ml 离心管收集并放入-20℃冷冻待查。②收集入组人员血浆:选取 AR 患者 33 例及正常人 40 例,收集患者抗凝全血,轻轻颠倒充分混匀后,置于离心机内以 450 r/min 离心 7 min,吸取上层黄色透明液体,置于-20℃冷冻待查。③检测鼻分泌物及血浆中的 ECP 浓度:对于收集好的鼻分泌物和血浆样本,用 ELISA 方法检测其中 ECP 浓度。首先将鼻分泌物以 1:2000 稀释,血浆以 1:200 稀释,将稀释后的样品以 100 μl/孔注入 ECP 试剂板各孔,置于 37℃温箱孵育 30 min;加入 ECP 二抗,孵育 30 min;然后加入 HRP-SA,37℃温箱孵育 30 min;再加入显色液,37℃温箱孵育 15 min 后取出,加入盐酸终止反应。读取样品 OD 值,换算成浓度,最终结果用 μg/ml 表示。

前期我们对血清和血浆中 ECP 含量进行了对比,发现结果基本一致。本研究中采用血浆 ECP 进行检测,特此说明。

1.3.3 症状评估

①鼻部症状评分:对入组患者过去 1 周的鼻部症状进行评估,评估内容包括鼻塞、鼻痒、喷嚏、流涕,按下列标准进行严重程度评价:没有症状—无;症状轻微,易于耐受—轻度;症状明显,令人厌烦—中度;症状不能耐受,影响日常生活或睡眠—重度。其中无记 0 分,轻度记 1 分,中度记 2 分,重度记 3 分。分别记录患者鼻塞、鼻痒、喷嚏、流涕 4 个症状的评分以及鼻部症状评分总和(SUM)。②VAS 评分:对患者过去 1 周鼻炎发作时的症状整体程度进行评估。标尺上的 0~

100 表示鼻炎症状对患者的困扰程度,“0”代表无困扰,“100”代表极大困扰。

1.4 统计学方法

对于各组鼻分泌物中嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物中 ECP 含量、全血中嗜酸粒细胞百分比、血浆中 ECP 含量和 VAS 评分的统计采用分位数表示,并采用受试者工作特征曲线(ROC)计算上述 4 个指标的 AUG、截断值、灵敏度和特异性。对于各组间嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物中 ECP 含量、全血中嗜酸粒细胞百分比、血浆中 ECP 含量的差异性,

采用非配对的 *t* 检验。对于鼻分泌物中嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物中 ECP 含量、全血中嗜酸粒细胞百分比、血浆中 ECP 含量与症状评分间的关系采用 95% 置信区间的相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组基本临床资料及鼻分泌物中嗜酸粒细胞百分比、鼻分泌物中 ECP 含量和 VAS 评分

各组基本临床资料和鼻分泌物指标及 VAS 评分见表 1。

表 1 各组基本临床资料和鼻分泌物指标及 VAS 评分

	AR 组	鼻分泌物正常对照组	血液正常对照组
例数	33	24	40
年龄/岁	18.18 ± 13.83	38.01 ± 5.44	41.6 ± 11.13
性别(男:女)	18:15	5:19	25:15
鼻分泌物 ECP/($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	22.25(12.48,47.07)	1.68(1.49,2.15)	—
鼻分泌物嗜酸粒细胞/%	95(50,100)	0(0,0)	—
血浆 ECP/($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	2.31(1.78,3.06)	—	1.05(0.82,1.42)
全血嗜酸粒细胞/%	6.6(3.5,8.9)	—	1.39(0.9,2.63)
VAS	60.91 ± 14.6	—	—

2.2 AR 组和对照组各指标之间的差异性

从图 1 中可以看出,与对照组相比,AR 组血浆及鼻分泌物中嗜酸粒细胞和 ECP 均有显著性差异,但观察分位数图的重叠部分,可发现在鼻分泌

物中嗜酸粒细胞和 ECP 重叠部分最少。

2.3 各指标的受试者 ROC 曲线

各指标的受试者 ROC 曲线见图 2。

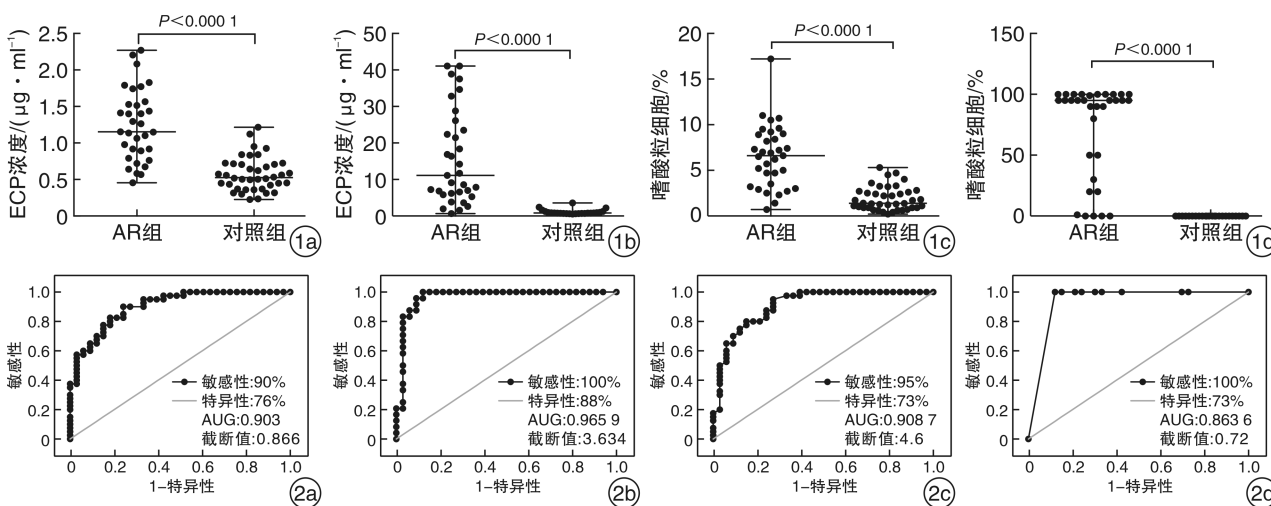


图 1 各指标的分位数统计图 1a: AR 组和对照组血浆中 ECP 含量的差异性比较;1b: AR 组和对照组鼻分泌物中 ECP 含量的差异性比较;1c: AR 组和对照组全血中嗜酸粒细胞百分比的差异性比较;1d: AR 组和对照组鼻分泌物中嗜酸粒细胞百分比的差异性比较($P < 0.0001$); 图 2 各指标的受试者 ROC 曲线 2a: 血浆 ECP 的 ROC 曲线;2b: 鼻分泌物 ECP 的 ROC 曲线;2c: 全血嗜酸粒细胞百分比的 ROC 曲线;2d: 鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比的 ROC 曲线。

3 讨论

AR 是 I 型变态反应介导的以嗜酸粒细胞为主导的鼻部炎症反应,虽然通过喷嚏、流涕、鼻痒、鼻塞等临床症状和过敏原特异性检查可以基本确

定诊断,但对于临床症状不典型者,或需对过敏程度进行判断时,常需辅以嗜酸粒细胞及相关炎症因子检测。目前临床上应用最多的是血液和鼻分泌物中的嗜酸粒细胞和嗜酸粒细胞相关炎症因子

ECP。程可佳等^[7]研究显示 AR 患者症状发作期血清 ECP 明显升高,且与疾病严重程度有一定相关性。Chen 等^[8]发现鼻嗜酸粒细胞计数($P < 0.001$)是儿童 AR 独立的预测因子,且与鼻炎的严重程度相关。此外,血清 ECP 还被认为是预测哮喘的标志物,Peona 等^[9]回顾性分析 441 例首次就诊的呼吸道疾病患者和 33 例健康受试者的血清 ECP 水平,发现与健康受试者相比,患者的 ECP 均值显著升高($P = 0.0001$),该预测模型灵敏度为 70%,特异性为 74%,对治疗哮喘有显著意义。

本试验对鼻分泌物嗜酸粒细胞、鼻分泌物 ECP、全血嗜酸粒细胞和血浆 ECP 这 4 个指标进行对比研究。结果发现,相比正常对照组而言,AR 患者鼻分泌物及血中 ECP 及嗜酸粒细胞百分比均有显著升高($P < 0.0001$)。对上述 4 个指标进行 ROC 曲线分析,发现鼻分泌物中 ECP 的 ROC 曲线中,AUG 为 0.965 9,当截断值为 3.634 时,可获得 100%的灵敏度和 88%的特异性;鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比的 AUG 为 0.863 6,当截断值为 0.72 时,可获得 100%的灵敏度和 73%的特异性;全血嗜酸粒细胞百分比的 AUG 为 0.908 7,当截断值取 4.6 时,可获得 95%的灵敏度和 73%的特异性;而血浆 ECP 的 AUG 为 0.903,当截断值为 0.866 时,可获得 90%的灵敏度和 76%的特异性。对比 4 个指标,可见鼻分泌物 ECP 较鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比、血浆 ECP、全血嗜酸粒细胞百分比具有更好的预测价值,是最为理想的辅助诊断指标。

与正常对照组相比,血浆 ECP 浓度和嗜酸粒细胞百分比显著升高,其 AUG 值、灵敏度和特异性较为接近。因在正常人群中,亦有可能因各种潜在原因引起嗜酸粒细胞升高者。同时,AR 组与正常对照组血中 ECP 浓度和嗜酸粒细胞百分比的均值较为靠近,2 组中有部分重叠(如图 1a、1c 所示),因此在临床诊断应用中可能出现一部分混淆的情况,从而使其辅助诊断价值受到一定制约。

在健康正常人鼻分泌物中,嗜酸粒细胞几乎不可见,因此鼻分泌物中嗜酸粒细胞对过敏性炎症辅助诊断具有较高的特异性。因此,鼻分泌物中嗜酸粒细胞增高时可以确认为过敏性炎症。

我们在检测时还发现,AR 患者鼻分泌物中 ECP 平均浓度较血浆中明显为高,鼻分泌物中 ECP 平均浓度为 31.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$,血浆中 ECP 平均浓度仅为 2.49 $\mu\text{g}/\text{ml}$,二者具有较大的差异。同时,在 AR 患者中,即使鼻分泌物中以中性粒细胞

为主,其 ECP 浓度亦显著升高。此外,在鼻分泌物炎性因子检测时,其稀释比例为 1 : 2 000,因此获取极少量鼻分泌物即可进行检测,这样可使鼻分泌物 ECP 的检测具有更为便利和广泛的应用价值。

综上所述,本研究对比鼻分泌物及血中 ECP 及嗜酸粒细胞对 AR 的辅助诊断价值,发现鼻分泌物 ECP 具有最佳辅助诊断的敏感性及特异性,鼻分泌物嗜酸粒细胞百分比具有较好的特异性,值得在临床应用中进一步研究和推广。

参考文献

- [1] JUNG Y G, KIM K H, KIM H Y, et al. Predictive capabilities of serum eosinophil cationic protein, percentage of eosinophils and total immunoglobulin E in allergic rhinitis without bronchial asthma[J]. J Int Med Res, 2011, 39: 2209-2216.
- [2] DI LORENZO G, MANSUETO P, MELLUSO M, et al. Allergic rhinitis to grass pollen: measurement of inflammatory mediators of mast cell and eosinophils in native nasal fluid lavage and in serum out of and during pollen season[J]. J Allergy Clin Immunol, 1997, 100: 832-837.
- [3] 朱歆洁, 陆美萍, 陈若希, 等. 儿童 AR 严重度与血清嗜酸粒细胞阳离子蛋白的相关性[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2012, 47(8): 628-632.
- [4] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会头颈外科鼻科学组. AR 诊断和治疗指南[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(1): 6-23.
- [5] CHEN J, ZHOU Y, ZHANG L, et al. Individualized Treatment of Allergic Rhinitis According to Nasal Cytology[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2017, 9: 403-409.
- [6] LÜ F X, ESCH R E. Novel nasal secretion collection method for the analysis of allergen specific antibodies and inflammatory biomarkers[J]. J Immunol Methods, 2010, 356: 6-17.
- [7] 程可佳, 汪审清, 徐盈盈, 等. 血清嗜酸粒细胞阳离子蛋白水平与 AR 及慢性鼻-鼻窦炎关系的探讨[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 44(12): 1001-1005.
- [8] CHEN S T, SUN H L, LU K H, et al. Correlation of immunoglobulin E, eosinophil cationic protein, and eosinophil count with the severity of childhood perennial allergic rhinitis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2006, 39: 212-218.
- [9] PEONA V, DE AMICI M, QUAGLINI S, et al. Serum eosinophilic cationic protein: is there a role in respiratory disorders[J]? J Asthma, 2010, 47: 131-134.

(收稿日期: 2019-01-16)