

慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中性粒细胞 CD64 的表达及临床意义

吴海燕, 赵大海, 陆友金, 杨进, 何凤莲, 刘红艳

摘要 目的 探讨中性粒细胞 CD64 平均荧光强度指数 (CD64 指数) 在慢性阻塞性肺疾病急性加重期 (AECOPD) 患者中的表达及临床意义。方法 选取 162 例慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者, 分为 AECOPD 组 133 例, COPD 稳定期组 29 例; 健康对照组为 30 例体检者。采用流式细胞术检测 CD64, 同时检测血清降钙素原 (PCT)、C-反应蛋白 (CRP) 及血白细胞计数 (WBC)。结果 AECOPD 组 CD64 表达水平显著升高, 与 COPD 组和健康对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); CD64 表达水平与 PCT、CRP 呈正相关 ($P < 0.05$), 与 WBC 无相关性 ($P > 0.05$)。AECOPD 组在恢复期 (治疗 1 周后) CD64 水平明显下降 ($P < 0.05$), 但仍高于健康对照组 ($P < 0.05$)。ROC 曲线中 CD64 的曲线下面积最大, 当 CD64 取临界值为 3.3 时, 诊断 AECOPD 患者细菌感染的敏感性为 80.5%, 特异性为 96.7%。结论 CD64 在 AECOPD 患者中高表达, 可作为判断 AECOPD 患者存在细菌感染的辅助检查指标, 动态观察其水平变化对判断感染程度、治疗效果评价具有临床应用价值。

关键词 慢性阻塞性肺疾病; 中性粒细胞 CD64; 急性加重期中图分类号 R 563.9; R 392.11

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)04-0487-04

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是呼吸系统的常见病和多发病, 频繁的急性加重慢性阻塞性肺疾病 (an exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD) 导致肺功能迅速恶化, 防治急性加重是 COPD 的治疗目标之一^[1]。下呼吸道细菌感染在 AECOPD 中的作用已得到证实, 抗感染是其治疗的重要方面^[2], 目前临床迫切需要一些炎性标志物, 以判明感染, 指导抗感染治疗。CD64 是免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 的高亲和力受体, 正常生理情况下在外周血中性粒细胞表面呈低水平表达, 细菌感染时 CD64 表达显著增加。近年来, 应用流式细胞仪检测

CD64 的表达水平可作为早期诊断细菌感染的特异性指标^[3]。该研究观察 AECOPD 患者 CD64 的表达水平, 并与血清降钙素原 (procalcitonin, PCT)、C-反应蛋白 (C-reaction protein, CRP) 及血白细胞计数 (white blood cell count, WBC) 作对比分析, 探讨 CD64 在判定 AECOPD 患者细菌感染以及严重程度、临床疗效判断等方面的价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2012 年 3 月 ~ 2013 年 3 月就診于安徽医科大学第二附属医院呼吸内科住院部及门诊就診的患者。该研究设为 3 组, ① AECOPD 组 133 例, 其中男 82 例, 女 51 例, 年龄 40 ~ 94 (70 ± 12) 岁; ② COPD 稳定期组 29 例, 其中男 20 例, 女 9 例, 年龄 45 ~ 78 (71 ± 6) 岁; ③ 健康对照组 30 例, 其中男 17 例, 女 13 例, 年龄 56 ~ 80 (66 ± 10) 岁。3 组在年龄、性别等方面比较差异无统计学意义。

1.2 纳入及诊断标准 COPD 以及 AECOPD 诊断均符合美国胸科学会欧洲呼吸学会联合发布的慢性阻塞性肺疾病诊断、处理和预防全球策略 (2011 年修订版) 指南^[4]。AECOPD 组还需符合: 近期内患者的呼吸系统症状恶化, 超出日常变异, 需要调整治疗方案。入院后痰细菌培养为阳性且予以抗感染治疗后症状明显缓解。AECOPD 组与 COPD 稳定期组均需排除: ① 合并其他呼吸系统疾病或其他系统感染; ② 合并有心、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病; ③ 入选前 30 d 内使用过抗生素、全身糖皮质激素及免疫抑制剂。选用健康者作对照: 无感染症状, 肺功能检查正常。

1.3 主要仪器 血细胞分析仪 (日本 Sysmex 公司, 五分类血液分析仪); PCT 检测仪 (美国 Roche Group 公司, 型号为 Cobase e601); 微量血 CRP 检测仪 (型号为 Unicel Dxc800)、流式细胞仪 (型号为 FC500, CD64-FITC 为标准配套试剂, 克隆号为 PN1M1604U) (美国 Beckman Coulter 公司); 全自动细菌鉴定仪 (法国梅里埃公司, 型号为 VITEK32)。

1.4 研究方法

2013-12-05 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1208085QH165)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院呼吸内科, 合肥 230601

作者简介: 吴海燕, 女, 硕士研究生;

陆友金, 男, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: Luyougo-1den@hotmail.com

1.4.1 外周血采集和处理 COPD 稳定期组、AE-COPD 组均在就诊或入院 24 ~ 48 h 内,健康对照组在体检当天,采集空腹静脉血送检。选取 20 例 AE-COPD 患者在抗生素治疗 1 周后再次进行 CD64 检测。

1.4.2 WBC、CRP、PCT 的检测 采用血细胞分析仪进行血细胞计数和分类,WBC 正常值参考范围为 $4 \times 10^9 / L \sim 10 \times 10^9 / L$; CRP 采用超敏免疫比浊法测定,正常值参考范围为 0 ~ 10 mg/L; PCT 采用电化学发光法测定,PCT 正常参考值为 0 ~ 0.046 ng/ml。

1.4.3 CD64 指数的检测 CD64 指数采用直接免疫荧光检测法测定,检测前常规对流式细胞仪进行光流路的质量监控和荧光补偿,保证每次检测前仪器的状态稳定一致,根据前向角 (FSC) 和侧向角 (SSC) 散射光信号对淋巴细胞和粒细胞群设门。每份样本计数 10 000 个以上细胞,以淋巴细胞为内部阴性对照,检测 CD64 指数(粒细胞 CD64 平均荧光强度与淋巴细胞 CD64 平均荧光强度的比值)。上机检测在 2 h 内完成。

1.4.4 痰细菌学检查 痰液采集:用无菌 0.9% 氯化钠漱口后,深咳嗽出的痰液留置无菌容器中,2 h 内送检。痰培养前先痰涂片镜检,要求每低倍镜视野鳞状上皮细胞 < 10 个,白细胞 > 25 个为合格标本。痰细菌培养:标本的分离、培养严格按照《全国临床检验操作规程》进行。采用培养基为琼脂巧克力培养基,菌种培养鉴定用全自动细菌鉴定仪测定。以培养出咽部正常菌群以外的细菌或菌落量在 (++) 以上,且呈优势菌生长的判为痰培养阳性。AECOPD 组患者痰液标本在入院 24 h 内送检。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间参数比较采用单因素方差分析,治疗前后的比较采用配对 t 检验,相关性分析采用 Pearson 相关分析。绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线,并计算曲线下面积,计算得出 CD64、PCT、CRP 及 WBC 的最佳临界值,计算敏感度及特异度。

2 结果

2.1 3 组外周血 CD64、PCT、CRP 及 WBC 测定结果比较 AECOPD 组 CD64、PCT 及 CRP 显著高于 COPD 稳定期组和健康对照组 ($P < 0.05$),3 组间两两比较,AECOPD 组与 COPD 稳定期组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),COPD 稳定期组和健康对照组比较差异无统计学意义。见表 1。

2.2 CD64、PCT、CRP 及 WBC 在诊断 AECOPD 中的 ROC 曲线分析 将 AECOPD 组、健康对照组的数据作 ROC 曲线,可见曲线下面积 CD64 (0.940) > PCT (0.928) > CRP (0.828) > WBC (0.634),见图 1。计算得出血清 CD64、PCT、CRP、WBC 的最佳截断值,敏感性和特异性,见表 2。

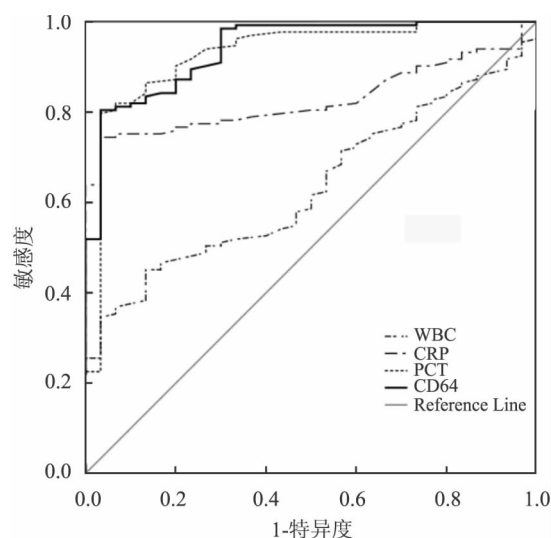


图1 WBC、CRP、PCT、CD64 ROC 曲线

2.3 各组流式细胞仪 CD64 指数检测结果比较 不同组别 CD64 指数分析图谱,见图 2。

2.4 CD64 和 PCT、CRP 及 WBC 的相关性 AE-COPD 组患者 CD64 和 PCT、CRP 呈正相关 ($r = 0.340, r = 0.468, P < 0.01$),但与 WBC 无相关性 ($r = 0.121, P = 0.167$)。

表1 3 组患者 CD64、PCT、CRP、WBC 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	WBC($\times 10^9 / L$)	CRP(mg/L)	PCT(ng/ml)	CD64
AECOPD	133	$7.903 \pm 3.905^*$	$48.517 \pm 51.958^{* \#}$	$0.217 \pm 0.332^{* \#}$	$6.028 \pm 5.153^{* \#}$
COPD 稳定期	29	7.141 ± 1.659	16.452 ± 17.618	0.074 ± 0.083	3.324 ± 0.908
健康对照	30	5.993 ± 1.562	5.508 ± 2.982	0.029 ± 0.036	2.201 ± 0.762
F 值		4.088	15.428	7.367	12.180
P 值		0.018	<0.001	0.001	<0.001

与健康对照组比较: * $P < 0.05$; 与 COPD 稳定期组比较: # $P < 0.05$

表2 各指标对诊断 AECOPD 的意义(%)

各指标及临界值	敏感度	特异度	准确性	曲线下面积	P 值
WBC $\geq 7.35 \times 10^9$ /L	45.1	86.7	31.8	0.634*	<0.05
CRP ≥ 9.8 mg/L	74.4	96.7	71.1	0.828*	<0.01
PCT ≥ 0.049 5 ng/ml	79.7	96.7	76.4	0.928*	<0.01
CD64 ≥ 3.3	80.5	96.7	77.2	0.940*	<0.01

与标准面积 0.5 比较: * $P < 0.05$

2.5 AECOPD 组患者抗感染治疗 1 周后 CD64 指数变化 选取 20 例 AECOPD 组患者经抗生素治疗 1 周后症状明显缓解的患者进行 CD64 指数测定, CD64 指数较治疗前降低($t = 6.265, P < 0.05$), 但未降至正常水平, 仍高于健康对照组($t = 3.839, P < 0.05$), 见表 3。

表3 AECOPD 患者抗生素治疗前后比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD64 指数
AECOPD		
治疗前	20	$7.358 \pm 4.448^*$
治疗后	20	$3.811 \pm 2.720^{**}$
健康对照	30	2.201 ± 0.762

与治疗前比较: * $P < 0.05$; 与健康对照组比较: ** $P < 0.05$

3 讨论

COPD 是以气道炎症为核心伴有全身炎症反应的疾病, 即使病情相对稳定的患者血循环中 CRP、白介素(IL)-6、IL-8 等多种炎症因子水平都明显升高^[9]。AECOPD 大部分由细菌感染引起, 气道分泌中性粒细胞显著增加, 实质上是肺部炎症反应较稳定期加重的过程^[9]。由于部分患者难以获得准确的病原学资料, 细菌感染和病毒等非典型病原体感染有时在临床表现上难以区分。WBC、CRP 等指标

的敏感性和特异性均较低, 在多种生理情况下也可升高。PCT 作为一种炎症标志物, 在细菌感染时显著升高, 但诊断价值尚存在争议^[9]。CD64 即 Fc γ -R 1, 是 IgG 的 Fc 段受体, 属于免疫球蛋白超家族的成员, 受到细菌感染时 CD64 表达在 4 ~ 6 h 内就会增加, 大量表达的 CD64 与配体结合后启动并放大免疫反应, 包括吞噬作用、ADCC 作用和细胞因子的释放^[9]。近年来, 研究^[9]显示 CD64 是一个更加特异性的感染指标, 最显著的特征是对非感染性疾病和病毒感染的无应答, 临床上可作为判断是否存在细菌感染的简单有效的检测指标。

本研究资料统计分析 3 组 CD64 指数、PCT、CRP 及 WBC, AECOPD 组高于 COPD 稳定期组及健康对照组。当 CD64 取临界值为 3.3 时, 诊断 AECOPD 患者感染的敏感性和特异性分别为 80.5%、96.7%, 敏感性优于其他指标, 与国外 Meta 分析结果基本一致^[9]。AECOPD 组患者的相关性分析显示 CD64 的表达与 PCT、CRP 呈正相关, 与 WBC 无相关性, 故 CD64 有助于 WBC 无明显升高的 AECOPD 患者感染的诊断。持续存在的气道炎症是 COPD 发病的关键所在, 急性期其炎性介质的变化尤为明显^[9], 由此推测肺部炎症加重是血清 CD64 水平显著升高的重要原因。ROC 曲线显示 CD64 的敏感性和特异性优于 WBC 及 CRP, 与 PCT 的诊断效能相似, CD64 的曲线下面积最大, 诊断敏感性和特异性最强, 可认为 CD64 指数可作为判断 AECOPD 患者感染的可靠实验室指标。研究^[10]显示 CD64 在诊断脓毒症时有着高敏感性和特异性(91% 和 93%), 该研究结果显示 CD64 诊断 AECOPD 的敏感性为 80.5%, 考虑原因部分患者为单纯病毒感染、免疫力及应激能力低下等。

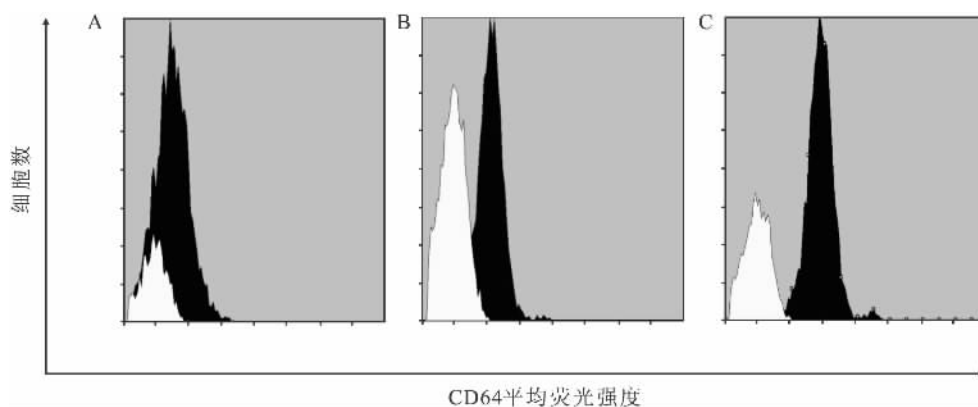


图2 不同组别 CD64 指数分析图谱

A: 健康对照组为 2.03; B: COPD 稳定期为 3.75; C: AECOPD 为 9.59; 白色代表淋巴细胞平均荧光强度; 黑色代表粒细胞平均荧光强度

Garcia-Rio et al^[8]发现 COPD 患者中 CRP、IL-6 等炎症因子水平的表达与疾病严重程度相关。Danikas et al^[9]对脓毒症的研究发现 CD64 的表达与疾病严重程度呈正相关,还与病死率相关。本研究结果显示 AECOPD 患者 CD64 表达水平比稳定期显著升高,当感染得到有效控制,CD64 水平较治疗前明显下降,但未降至正常水平,仍高于健康对照者,说明 CD64 的表达与感染的程度相平行。对于 AECOPD 患者,如 CD64 水平持续不下降或进行性升高,则提示感染未趋于控制或有新的感染发生,治疗效果差,需要调整抗生素方案;反之,如果 CD64 水平进行性下降,则提示感染逐步好转,治疗有效,可考虑停用抗生素。CD64 水平的高低反映疾病的发展过程,感染早期迅速升高,抗生素治疗后可随之下降。

综上所述,CD64 在 AECOPD 患者中高表达,在诊断细菌感染的判定价值上与 PCT 相仿,优于 WBC、CRP 等炎症指标,同时动态监测 CD64 的变化对病情的评估、抗感染疗效的评价具有一定的临床意义。

参考文献

- [1] Perera P N, Armstrong E P, Sherrill D L, et al. Acute exacerbations of COPD in the United States: inpatient burden and predictors of costs and mortality [J]. *COPD*, 2012, 9(2): 131–41.
- [2] Rothberg M B, Pekow P S, Lahti M, et al. Antibiotic therapy and

treatment failure in patients hospitalized for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *JAMA*, 2010, 303(20): 2035–42.

- [3] Li S, Huang X, Chen Z, et al. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis [J]. *Int J Infect Dis*, 2013, 17(1): e12–23.
- [4] Hanania N A, Marciniuk D D. A unified front against COPD: clinical practice guidelines from the American College of Physicians, the American College of Chest Physicians, the American Thoracic Society, and the European Respiratory Society [J]. *Chest*, 2011, 140(3): 565–6.
- [5] Garcia-Rio F, Miravittles M, Soriano J B, et al. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a population-based study [J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 63.
- [6] Agusti A, Edwards L D, Rennard S I, et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37483.
- [7] Yu Z, Liu J, Sun Q, et al. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis [J]. *Scand J Infect Dis*, 2010, 42(10): 723–33.
- [8] Danikas D D, Karakantza M, Theodorou G L, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(1): 87–97.
- [9] Oppegaard O, Skodvin B, Halse A K, et al. CD64 as a potential biomarker in septic arthritis [J]. *BMC Infect Dis*, 2013, 13: 278.
- [10] Streimish I, Bizzarro M, Northrup V, et al. Neutrophil CD64 with hematologic criteria for diagnosis of neonatal sepsis [J]. *Am J Perinatol*, 2014, 31(1): 21–30.

Expression and significance of neutrophil CD64 in the acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

Wu Haiyan, Zhao Dahai, Lu Youjin, et al

(Dept of Respiratory Medicine, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate association between the neutrophil CD64 mean fluorescence intensity index and the acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. **Methods** The expression of CD64 in 162 cases with chronic obstructive pulmonary disease (133 patients with AECOPD, 29 patients with stable COPD) and 30 healthy controls were detected quantitatively by flow cytometry. Meanwhile, PCT, CRP and WBC were detected. **Results** The neutrophil CD64 expression level in AECOPD group was higher than stable COPD group and healthy control group ($P < 0.01$). Evidence showed that expression of CD64 was correlated with levels of PCT and CRP in the AECOPD group ($P < 0.05$). No correlation was found between CD64 and WBC ($P > 0.05$). At recovery stage (1 week after treatment), the levels of CD64 in AECOPD group decreased obviously ($P < 0.05$), which still was higher than that in healthy control group ($P < 0.05$). According to the ROC curve, the area under curve of CD64 was largest. The optimal cut-off level of CD64 was 3.3, where diagnostic sensitivity of bacterial infection with 80.5% and a specificity of 96.7%. **Conclusion** The higher expression of CD64 in AECOPD patients may be a laboratory data of bacterial infection, and there is clinical value in judging the degree of infection and evaluating treatment effects by observation of the CD64 level.

Key words chronic obstructive pulmonary disease; neutrophil CD64; acute exacerbations