

支气管肺泡灌洗液宏基因组二代测序在诊断 PD-1 抑制剂相关性肺炎中的价值

李 勇, 吴迎宵, 李晓平, 吴 峰

摘要: **目的** 探讨支气管肺泡灌洗液(BALF)宏基因组二代测序(mNGS)在程序性细胞死亡蛋白(PD-1)抑制剂相关性肺炎(CIP)的临床应用价值。**方法** 收集使用 PD-1 抑制剂联合化疗后出现 CIP 的晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者 30 例,行 BALF mNGS 检测、BALF/痰培养和抗酸染色涂片,并于气管镜检查当天行白细胞计数、超敏-C 反应蛋白(Hs-CRP)、降钙素原(PCT)、血清 1,3- β -D-葡聚糖含量测定(G 试验)、半乳甘露聚糖(GM)实验。mNGS 阴性患者拟诊“CIP”并予规范激素抗炎治疗;mNGS 阳性患者拟诊“CIP 合并肺部感染”并予规范激素联合抗感染治疗。**结果** 两组患者治疗后病情均改善,mNGS 阴性可基本排除肺部感染,对于合并肺部感染的 CIP 患者,mNGS 检出率高于传统病原微生物检测方法,对于检出孢子菌、曲霉菌、结核杆菌等机会性感染的优势明显。**结论** BALF mNGS 检测协助确诊 CIP 有一定临床价值;在 CIP 合并肺部机会性感染或混合感染的检出率及准确性均高于传统病原微生物检测方法,尤其对合并真菌感染的检测,能早期进行真菌分型和载量分析。

关键词: 支气管肺泡灌洗液;宏基因组二代测序技术;PD-1 抑制剂;非小细胞肺癌;免疫相关性肺炎

文献标志码: A **文章编号:** 1672-4194(2021)06-0556-05

肺癌是目前全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,严重威胁人类健康^[1]。晚期肺癌患者使用免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)进行免疫治疗,已体现出较显著的长期生存获益^[2]。但随着 ICI 应用的增加,ICI 相关肺炎(checkpoint inhibitor pneumonitis, CIP)的发生率也增加,并逐渐引起重视^[3-4]。由于 CIP 患者的临床症状不典型^[5-6],较难与肺部感染鉴别,肺部影像学检查的鉴别作用存在一定局限,且部分患者表现为 CIP 合并肺部感染,临床上易漏诊或误诊。如何提高 CIP 的诊断率,及时发现合并肺部感染,并精准用药,是提高肺癌患者生存期的关键。本研究拟探讨支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)宏基因组二代测序技术(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)检测在 CIP 临床诊治过程中的应用,为 CIP 伴有或不伴有肺部感染的传统诊断方案提供新的临床思路,指导临床确定治疗方案。

1 对象与方法

1.1 对象 收集 2018 年 5 月—2021 年 1 月住院的 III/IV 期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者 30 例,均经 PD-1 抑制剂免疫治疗后出现 CIP。诊断标准根据中华医学会呼吸病学分会肺癌学组 2019 年《免疫检查点抑制剂相关肺炎诊治

专家共识^[7],分期参照肺癌 TNM 分期标准(第 8 版)。纳入标准:经病理确诊的初治 NSCLC 患者,排除严重心、肝、肾、血液、内分泌系统功能异常和风湿结缔组织病者。排除不合作或精神不正常者。

1.2 方法

1.2.1 电子支气管镜检查 按电子支气管镜检查常规操作^[8],在目标支气管处注入 37 °C 的灭菌生理盐水 2 次,每次 20~30 mL,行支气管肺泡灌洗,回收率为 30%~50%,行 BALF/痰培养和抗酸染色涂片,并于气管镜检查当天行血常规、超敏-C 反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, Hs-CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、血清 1,3- β -D-葡聚糖含量测定(G 试验)、半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)实验。

1.2.2 mNGS 检测 mNGS 由福州金域医学检验实验室有限公司进行检测。收集到的 BALF 进行核酸提取、定量及构建文库、文库质控,最终进行 75 bp 单端测序。高通量测序的原始数据通过去除低质量碱基、接头序列、重复序列和短序列(<40 bp),获得优质数据。

1.2.3 治疗方案 (1)mNGS 阴性组,拟诊“CIP”并予规范激素抗炎治疗。1 级:对症支持治疗,密切随访;2 级:甲泼尼龙 1~2 mg/(kg·d)静脉给药,改善后口服,症状及影像学表现改善后逐渐减量,疗程>6 周;3 级:甲泼尼龙 2~4 mg/(kg·d)静脉给药或采用其他等效药物,症状及影像学表现改善后逐渐减量,疗程>8 周。(2)mNGS 阳性组,拟诊“CIP 合并肺部感染”并予规范激素联合抗感染治

收稿日期: 2021-08-12

基金项目: 福建省卫生健康科技计划项目(2020GGB027)

作者单位: 福建医科大学 附属协和医院呼吸科,福州 350001

作者简介: 李 勇,男,副主任医师,医学硕士

通信作者: 吴 峰. Email: 2229594583@qq.com

疗,激素治疗方案同 mNGS 阴性组,治疗期间密切观察患者的病情变化,监测血氧饱和度。1~2 级 CIP 逆转后,继续维持原免疫治疗;3 级 CIP,即使逆转也终止免疫治疗。患者均随访至今。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,计量资料采用两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般资料 30 例中,男性 23 例,女性 7 例;年龄(63.80 ± 7.27)岁(48~78 岁);肺鳞癌 3 例,肺腺癌 27 例;脑转移 3 例;Ⅲ期 18 例,Ⅳ期 12 例;CIP 1 级 6 例,2 级 20 例,3 级 4 例;合并癌性淋巴管炎 3 例;有放疗史 2 例。有呼吸道症状 25 例,无明显症状 5 例,其中呼吸困难 18 例,咳嗽 9 例,胸部闷痛 8 例,乏力 5 例,发热 3 例。

2.2 BALF mNGS 检测和传统病原学检测结果 BALF mNGS 结果显示,阳性 14 例,阴性 16 例。14 例阳性患者共检出病原体 24 株,其中 6 例为混合感染。病原微生物排名前 3 位的分别为铜绿假单

胞菌(25.0%)、肺炎链球菌(16.7%)和白色假丝酵母菌(12.5%)。两组间的白细胞计数、PCT 和 Hs-CRP 检测结果见表 1。mNGS 阳性组中 BALF 培养/核酸检测/抗酸染色均为阴性,痰培养可检出常见致病菌,如铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、白色假丝酵母菌等,但未检出肺孢子菌、非结核分枝杆菌和曲霉菌,两组的病原微生物检测结果及血清 G、GM 试验结果见表 2。

表 1 两组的 BALF mNGS 检测结果及各炎症指标比较
Tab. 1 Detection result by BALF mNGS and measurement of serum WBC, PCT, Hs-CRP concentration in both groups

mNGS	<i>n</i>	WBC (10^9 L^{-1})	ρ_{PCT} ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\rho_{\text{Hs-CRP}}$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
阳性组	14	6.52 ± 1.85	0.80 ± 0.20	12.3 ± 3.35
阴性组	16	5.65 ± 1.66	0.69 ± 0.17	12.76 ± 2.80
<i>t</i>		1.355	1.520	-0.412
<i>P</i>		0.186	0.140	0.683

BALF:支气管肺泡灌洗液;mNGS:宏基因组二代测序技术;WBC:白细胞计数;PCT:降钙素原;Hs-CRP:超敏-C 反应蛋白。

表 2 BALF mNGS 检测与传统病原微生物检测阳性结果比较

Tab. 2 Positive results of different pathogenic microorganisms detected by BALF mNGS, BALF culture and acid-fast staining smears, sputum culture, nucleic acid detection, G-test and GM-test

病原微生物	mNGS	BALF 培养/抗酸染色	痰培养	核酸检测	血清 G 实验	血清 GM 实验
肺炎链球菌	4	0	3			
铜绿假单胞菌	6	0	4			
细菌						
肺炎克雷伯氏菌	1	0	1			
鸟型分枝杆菌复合体	1	0	0			
多噬伯克霍尔德氏菌	1	0	1			
真菌						
耶氏肺孢子菌	1	0	0		0	0
白色假丝酵母菌	3	0	3		1	0
曲霉菌	2	0	0		0	0
病毒						
腺病毒	2			0		
巨细胞病毒	1			0		
人疱疹病毒 7 型	2			0		

表中数据为 *n*。BALF:支气管肺泡灌洗液;mNGS:宏基因组二代测序技术;G 试验:血清 1,3- β -D-葡聚糖含量测定;GM 实验:半乳甘露聚糖实验。

2.3 治疗情况 mNGS 阴性组 16 例,mNGS 阳性组 14 例,经相应治疗后,病情均获得改善。1 例 1 级 CIP 患者检出非结核分枝杆菌,予规则抗结核治疗 6~9 个月后病情改善。肺炎链球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、多噬伯克霍尔德氏菌感染患者均予注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠(3 g,q 12 h)抗感染治疗 2~3 周,咳嗽、咳痰症状改善后,改口服头孢地尼序贯治疗。耶氏肺孢子菌感染患者予复方新诺

明(3#,q 6 h)治疗 2 周后改善,维持治疗 4 周。腺病毒感染予对症处理,巨细胞病毒、人疱疹病毒 7 型感染均予膦甲酸钠氯化钠注射液治疗(60 mg/kg,q 8 h),治疗 2 周后改善。1~2 级 CIP 逆转后,均维持原免疫治疗。1 级 CIP 6 例,免疫治疗再挑战后,未再出现 CIP。2 级 CIP 20 例,再挑战后,其中 8 例再次出现 CIP,6 例可疑 CIP,6 例未再出现 CIP;确诊及可疑 CIP 的患者均停止免疫治疗,其中 7 例患

者改为化疗。3级CIP 4例,逆转后,终止免疫治疗。截至目前,3级CIP失联2例,死亡2例;2级CIP失联6例,死亡2例,余下12例随访中(8例疾病进展,4例疾病稳定);1级CIP 6例均随访中,疾病稳定。

3 讨论

近年来,由于ICI在肺癌患者中的广泛使用,CIP越发引起重视。由于肺癌患者容易合并阻塞性肺炎、肺不张、肺实变、胸腔积液等并发症^[9],尤其是接受免疫治疗后,容易出现包括真菌、病毒、结核杆菌在内的各种机会性感染^[10-12]。一旦出现CIP,如何鉴别是否合并肺部感染,是临床医务人员面临的难题。CIP是排除性诊断^[13],需除外感染、肿瘤进展、肺栓塞、心功能不全等。目前临床上主要结合各类炎症指标(WBC、PCT、Hs-CRP等)及传统病原学检测协助诊断^[14],若经验性抗菌治疗无效,而激素治疗有效,则进一步支持CIP的诊断,但临床反馈效果一般。

传统微生物培养方法阳性率低,而PCR检测虽灵敏度、特异度和检测时效均明显优于传统培养法,但仍无法满足临床需要^[15]。mNGS直接对临床样本(包括血液、体液、痰液、咽拭子等)的核酸进行高通量测序,再经生物信息学分析鉴定,获得病原学微生物的序列数、覆盖度等定量分析数据。与传统检测方法比较,mNGS无需培养,病原覆盖面广、灵敏度高^[16-17]。

本研究发现,mNGS阳性组和阴性组的WBC、PCT、Hs-CRP差别无统计学意义($P>0.05$),原因可能是患者在接受免疫联合化疗后,骨髓活性受到不同程度的抑制,同时部分化疗药需激素预处理,均可导致患者体内WBC水平不稳定,无法真实反映客观感染情况。另外,Hs-CRP检测特异性较低,同时无法排除支气管肺泡灌洗部位不够精准的可能,均可能影响检测结果,可扩大样本量继续关注该问题。mNGS阳性组通过精准抗感染治疗,最终获得改善;mNGS阴性组排除肺部感染,维持激素抗炎治疗后,病情也得到逆转。提示mNGS敏感性高,可协助CIP诊断。与Chiu等^[18]的研究结果一致。但本研究也显示,并非所有mNGS检测阳性的患者均合并肺部感染,尤其是序列数少、相对丰度低的常见病原体,可能仅是定殖菌。

进一步分析发现,BALF培养/核酸检测/抗酸染色均为阴性,对于常见的致病细菌、真菌、病毒,结核杆菌检出率极低,原因可能是免疫治疗后,患者肺

部免疫细胞及免疫因子大量聚集,导致BALF阳性率低下。痰培养对于常见的肺炎链球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、白色假丝酵母菌等有一定诊断价值,阳性率虽低于BALF mNGS,但二者差别并无统计学意义,与文献报道一致^[15]。关于真菌感染的血清学检测,G实验同步检出,GM实验并未检出。二者检测结果受患者临床用药及生化指标影响较大,敏感性、特异性较低^[19]。

Wang等^[20]通过与传统检测方法进行比较,发现mNGS更易检出混合性病原体感染,对真菌及其分型具有明显优势。Zinter等^[21]对免疫低下人群的下呼吸道样本进行mNGS检测,结果显示,在45.8%传统检测方法结果显示阴性的标本中可识别出机会性病原体,如孢子菌、曲霉菌、结核杆菌等。由于肺孢子菌负荷量低,使用普通方法检测容易漏诊,多个研究报道^[22-23]均通过mNGS成功快速检出肺孢子菌。本研究中,通过mNGS检测也发现CIP患者出现机会性感染的概率增加,发现鸟型分枝杆菌复合体1例、耶氏肺孢子菌1例、曲霉菌2例、腺病毒2例、巨细胞病毒1例、人疱疹病毒7型2例,且均为合并细菌感染的混合感染,说明mNGS检测可提高临床上机会性感染或混合感染患者的诊断率,进一步证实了Wang等^[20]的研究结果。

综上所述,对于临床拟诊CIP的患者行BALF mNGS,在判断CIP是否合并肺部机会性感染乃至多重感染的临床价值可能较高。但mNGS阳性者尚不能确诊为肺部感染,仍需结合临床特征进行综合分析,且传统病原学检测方法在常见致病菌感染的诊断上仍有一定价值。另外,mNGS也暴露出一些缺点:mNGS临床收费偏高;检测结果判读尚无统一标准;目前尚无法提供药敏结果。鉴于mNGS可对病原菌的基因组进行测序,评估耐药基因的多样性及抗性,进而发现新的耐药靶点^[24],可于今后扩大临床样本量,密切结合临床经验进一步探索与研究。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] Duan J, Cui L, Zhao X, et al. Use of immunotherapy with programmed cell death 1 vs programmed cell death ligand 1 inhibitors in patients with cancer. A systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(3):375-384.
- [3] Nishino M, Giobbie-Hurder A, Hatabu H, et al. Incidence of

- programmed cell death 1 inhibitor-related pneumonitis in patients with advanced cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncol*, 2016,2(12):1607-1617.
- [4] Wu J, Hong D, Zhang X, *et al.* PD-1 inhibitors increase the incidence and risk of pneumonitis in cancer patients in a dose-independent manner: A meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2017,7:44173.
- [5] Hassel J C, Heinzerling L, Aberle J, *et al.* Combined immune checkpoint blockade(anti-PD-1/anti-CTLA-4): Evaluation and management of adverse drug reactions[J]. *Cancer Treatment Reviews*, 2017,57:36-49.
- [6] Friedman C F, Proverbs-Singh T A, Postow M A. Treatment of the immune-related adverse effects of immune checkpoint inhibitors: A review[J]. *JAMA Oncol*, 2016,2(10):1346-1353.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会肺癌学组. 免疫检查点抑制剂相关性肺炎诊治专家共识[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 42(11): 820-825.
- [8] 李 勇, 黄慧琴, 叶向丽, 等. 支气管肺泡灌洗液半乳甘露聚糖检测在慢性阻塞性肺病合并侵袭性肺曲霉病诊断中的研究[J]. *福建医科大学学报*, 2018,52(6):36-39.
- [9] Bade B C, Dela Cruz C S. Lung cancer 2020: Epidemiology, etiology, and prevention[J]. *Clin Chest Med*, 2020,41(1):1-24.
- [10] Liu Z, Liu T, Zhang X, *et al.* Opportunistic infections complicating immunotherapy for non-small cell lung cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2020,11(6):1689-1694.
- [11] Kyi C, Hellmann M D, Wolchok J D, *et al.* Opportunistic infections in patients treated with immunotherapy for cancer [J]. *J Immunother Cancer*, 2014,2:19.
- [12] Chu Y C, Fang K C, Chen H C, *et al.* Pericardial tamponade caused by a hypersensitivity response to tuberculosis reactivation after anti-PD-1 treatment in a patient with advanced pulmonary adenocarcinoma[J]. *J Thorac Oncol*, 2017,12(8):e111-e114.
- [13] Chuzi S, Tavora F, Cruz M, *et al.* Clinical features, diagnostic challenges, and management strategies in checkpoint inhibitor-related pneumonitis[J]. *Cancer Manag Res*, 2017,9:207-213.
- [14] Niu W Y, Wan Y G, Li M Y, *et al.* The diagnostic value of serum procalcitonin, IL-10 and C-reactive protein in community acquired pneumonia and tuberculosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013,17(24):3329-3333.
- [15] Miao Q, Ma Y, Wang Q, *et al.* Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(Suppl 2): 231-240.
- [16] Simner P J, Miller S, Carroll K C. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. *Clin Infect Dis*, 2018,66(5):778-788.
- [17] Li H, Gao H, Meng H, *et al.* Detection of pulmonary infectious pathogens from lung biopsy tissues by metagenomic next-generation sequencing[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018,8:205.
- [18] Chiu C Y, Miller S A. Clinical metagenomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2019,20(6):341-355.
- [19] Blot S, Rello J, Koulenti D. Diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in ICU patients: Putting the puzzle together[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2019,25(5):430-437.
- [20] Wang J, Han Y, Feng J. Metagenomic next-generation sequencing for mixed pulmonary infection diagnosis[J]. *BMC Pulm Med*, 2019,19(1):252.
- [21] Zinter M S, Dvorak C C, Mayday M Y, *et al.* Pulmonary metagenomic sequencing suggests missed infections in immunocompromised children[J]. *Clin Infect Dis*, 2019,68(11):1847-1855.
- [22] Zhang Y, Ai J W, Cui P, *et al.* A cluster of cases of pneumocystis pneumonia identified by shotgun metagenomics approach[J]. *J Infect*, 2019,78(2):158-169.
- [23] 周燕琳, 陈亚娟. 感染病原二代高通量基因测序技术诊断肾移植术后非 HIV 型肺孢子菌肺炎一例[J]. *临床内科杂志*, 2020,37(1):43-44.
- [24] Chen H, Bai X, Jing L, *et al.* Characterization of antibiotic resistance genes in the sediments of an urban river revealed by comparative metagenomics analysis[J]. *Sci Total Environ*, 2019,653:1513-1521.

The Research of Metagenomics Next-Generation Sequencing in Bronchoalveolar Lavage Fluid on the Clinical Application of Immune Checkpoint Inhibitor

LI Yong, WU Yingxiao, LI Xiaoping, WU Feng

Department of Respiration Medicine, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, China

ABSTRACT: **Objective** To investigate the clinical application of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) metagenomics next-generation sequencing (mNGS) in programmed cell death protein 1 (PD-1) immune checkpoint inhibitor. **Methods** Retrospectively analyzed 30 cases with advanced non-small cell lung cancer (non-small cell lung cancer, NSCLC) who had CIP due to the combination of PD-1 inhibitors and chemotherapy. BALF mNGS, BALF/sputum culture and acid-fast staining smears were tested, and white blood cell count, high-sensitivity C-reactive protein (Hs-CRP), procalcitonin (PCT),

1,3- β -D-glucan (G test), Galactomannan (GM) in the serum were examined on the same day of tracheoscopy. The mNGS-negative group was pre-diagnosed as "CIP" and treated with standard glucocorticosteroid anti-inflammatory treatment, while the mNGS-positive group was pre-diagnosed as "CIP combined with pulmonary infection" and treated with the combination of standard glucocorticosteroid and anti-infection treatment. **Results** Both groups of patients improved after treatment and pulmonary infection can be completely excluded in mNGS-negative cases. For CIP patients combined with pulmonary infection, detection rate by mNGS was higher than by traditional pathogenic microbiological detection methods, especially in mixed infection and opportunistic infection. **Conclusions** BALF mNGS detection performs better in the diagnosis of CIP. Compared with traditional pathogenic microbial detection methods, BALF mNGS provides higher detection rate and accuracy for CIP combined with pulmonary opportunistic and mixed infection, especially for fungal infection, which provides an early detection for fungal type and load analysis method.

KEY WORDS: bronchoalveolar lavage fluid; metagenomics next generation sequencing; programmed death-1 inhibitor; non-small cell lung cancer; checkpoint inhibitor pneumonitis

(编辑:何佳凤)

读者-作者-编者

科技论著中不应使用非法定计量单位符号

1. 使用已废弃的旧单位符号。常见的旧单位符号如 sec(秒)、m(分)、hr([小]时)、y 或 yr(年),正确的法定单位符号分别为 s、min、h、a [a(年)为常用时间单位,可与法定单位并用]。

2. 误用单位英文名称缩写。常见的错误有:rpm(revolutions per minute,转每分),kmph(kilometres per hour,千米每[小]时),gps(grams per second,克每秒),lps(litres per second,升每秒),bps(bits per second,比特每秒),cps(cycles per second,周每秒),cc(cubic centimetre,立方厘米)。正确的法定单位符号分别为 r/min(转/分)、km/h(千米/时)、g/s(克/秒)、L/s(升/秒)、bit/s(比特/秒)、s⁻¹(秒⁻¹)或 Hz(赫[兹])、cm³(厘米³)。

3. 使用西方国家用来表示数量份额的缩写。ppm(parts per million)为一百万分之几,pphm(parts per hundred million)为一亿分之几,应采用 10 的乘方形式表示,即 10⁻⁶、10⁻⁸。ppb(parts per billion)在不同国家代表的数量份额不同:美、法等国为十亿分之几,英、德等国为一万亿分之几,正确书写形式分别为 10⁻⁹、10⁻¹²。ppt(parts per trillion)在美、法等国为万亿分之一,在英、德等国为一百亿亿分之一,正确书写形式分别为 10⁻¹²、10⁻¹⁸。为清晰表明该量的物理意义,还可将 ppm 改为 2 个同类单位之比,如 mg/kg(质量分数)、L/m³(体积分数)、 μ mol/mol(物质的量分数)。ppb 除不同国家分别用 10⁻⁹或 10⁻¹²表示外,也可以改用 2 个同类单位之比。例如在美、法等国,ppb 可表示为 μ g/kg(质量分数)、mL/m³(体积分数)、nmol/mol(物质的量分数)。特别说明:当 ppm 用来表示化学位移,如 $\delta=2.5$ ppm 时,根据化学位移的新定义(定义式中已包含“ $\times 10^6$ ”),应改写为 $\delta=2.5$,写作 $\delta=2.5 \times 10^{-6}$ 则是错误的。