

学校编码：10384

分类号_____密级_____

学号：24520131153452

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

巨噬细胞移动抑制因子在神经梅毒中的诊
断价值研究

Study on the diagnostic value of macrophage migration
inhibitory factor in neurosyphilis

张亚锋

指导教师姓名： 杨天赐教授

专 业 名 称： 微生物学

论文提交日期： 2015 年 4 月

论文答辩时间： 2015 年 5 月

2015 年 5 月

巨噬细胞移动抑制因子在神经梅毒中的诊断价值研究

张亚锋

指导教师

杨天赐
教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

() 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

() 2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

目的:

神经梅毒诊断依赖于实验室检查结果,脑脊液(cerebrospinal fluid rapid, CSF)快速血浆反应素环状卡片试验(rapid plasma reagin test, RPR)常作为神经梅毒的确诊指标,但脑脊液 RPR 的灵敏度低,易造成漏诊;即使结合脑脊液的其他参数(蛋白和白细胞等),也可能造成神经梅毒的漏诊。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)作为一种炎症因子已广泛应用于神经系统疾病的诊断,本实验将探讨 MIF 在神经梅毒诊断中的应用价值,提高实验室检查对于神经梅毒的诊断能力。

方法:

2014年7月至2015年6月在厦门大学附属中山医院,共有86例梅毒患者纳入研究,其中43例为神经梅毒患者(包括17例确诊病例和26例可疑病例),43例为非神经梅毒患者,并设63例健康体检人员作为对照。通过采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测入组患者的血清 MIF 和脑脊液 MIF 的浓度,比较两者在不同组间的差异,评估其作为神经梅毒诊断指标的诊断效能,并和现有的实验室指标(脑脊液蛋白和白细胞)进行比较。采用串联和并联实验,评价多指标对于神经梅毒的诊断效能。

结果:

神经梅毒组血清 MIF 浓度 52.58 ng/mL (四分位数间距: 28.31-95.94) 显著高于非神经梅毒组 35.64ng/mL (四分位数间距: 22.18-59.75) 和体检组 11.20 ng/mL (四分位数间距: 7.89-23.69)。神经梅毒组脑脊液 MIF 浓度 8.77 ng/mL (四分位数间距: 4.76-19.13) 也高于非神经梅毒组 4.08ng/mL (四分位数间距: 2.21-9.68)。脑脊液参数诊断神经梅毒的灵敏度从高到低依次为脑脊液 MIF 升高、脑脊液细胞升高 ($>10 \times 10^6$ 个/L)、脑脊液蛋白升高(>500 mg/L) 和脑脊液 RPR 阳性,分别为 74.42%、67.44%、48.84%和 39.53%。无论是在确诊神经梅毒还是在可疑神经梅毒,其诊断的灵敏性都高于脑脊液蛋白升高和脑脊液白细胞升高。在并联实验中,在原有的脑脊液蛋白升高和脑脊液白细胞升高的基础上加入脑脊液 MIF,灵敏度从 83.72%提高到了 97.67%,阴性预测值也相应地从 82.05%提高

到 95.24%，有效地预防了神经梅毒的漏诊。在串联实验中，在原有的脑脊液蛋白升高和脑脊液白细胞升高的基础上加入脑脊液 MIF，特异性从 93.02% 提高到了 100%，阴性预测值也相应地从 82.35% 提高到 100%，可防止误诊神经梅毒。

结论：

我们的研究发现，脑脊液 MIF 可作为神经梅毒新的诊断指标，其诊断的灵敏性高于目前实验室常用的脑脊液 RPR、脑脊液白细胞升高和脑脊液蛋白升高。而脑脊液 MIF，脑脊液细胞升高和脑脊液蛋白升高并联实验将进一步提高灵敏度，防止漏诊；相反的，三者的串联实验将提高特异性，有效地预防误诊。因此，我们建议将脑脊液 MIF 纳入神经梅毒的诊断指标中，根据临床需要，结合并联或串联实验，进一步提高灵敏度和特异性。

关键词：神经梅毒；巨噬细胞移动抑制因子；实验室诊断；梅毒

Abstract

Object:

The diagnosis of neurosyphilis relies on results of laboratory tests, cerebrospinal fluid (CSF) rapid plasma reagin test (RPR) is usually used as a confirmed diagnosis index of neurosyphilis, but the sensitivity of cerebrospinal fluid RPR is low and it's easy to cause missed diagnosis. It can also cause missed diagnosis of neurosyphilis even when combination with other parameters of cerebrospinal fluid (protein and white blood cells, etcetera). Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a inflammation factor and has been widely used in the diagnosis of nervous system diseases. This study will explore the role of MIF in the diagnosis of neurosyphilis, thus improving the ability of laboratory tests for the diagnosis of neurosyphilis.

Methods:

From July 2014 to June 2015, a total of 86 patients with syphilis were enrolled in the study by Zhongshan Hospital, Medical College of Xiamen University, of which 43 cases were neurosyphilis patients (including 17 cases of confirmed cases and 26 cases of suspected cases) and 43 cases were non-neurosyphilis patients. At the same time, 63 cases of healthy physical examination personnel were chosen as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to detect the concentration of serum and CSF MIF in patients enrolled. By comparing the differences of serum and CSF MIF parameters between neurosyphilis group and non-neurosyphilis group, their diagnostic performance in neurosyphilis was assessed and compared with the existing laboratory indexes (CSF protein and white blood cells). Using series and parallel experiments, many laboratory indexes were evaluated for the diagnostic efficiency of neurosyphilis.

Results:

The serum MIF concentration of neurosyphilis group was 52.58 ng/mL (interquartile range: 28.31-95.94) and significantly higher than non-neurosyphilis

group and control group, the serum MIF concentrations of which were 35.64ng/mL(interquartile range:28.31-95.94) and 11.20 ng/mL(interquartile range: 7.89-23.69) respectively.The CSF MIF concentration of neurosyphilis group was 8.77 ng/mL(interquartile range:4.76-19.13) and significantly higher than non-neurosyphilis group4.08ng/mL (interquartile range: 2.21-9.68) . The diagnostic sensitivities of CSF parameters for neurosyphilis from high to low were CSF MIF, white blood cells ($>10 \times 10^6/L$), albumin ($> 500 \text{ mg/L}$) and positive RPR in turn, with the sensitivity 74.42%, 67.44%, 48.84% and 67.44% respectively. No matter in conformed neurosyphilis patients or in patients with suspected neurosyphilis, The diagnostic sensitivity of CSF MIF was higher than CSF white blood cells and CSF albumin. In parallel experiments, when CSF MIF was combined with the original CSF protein and CSF white blood cells,diagnostic sensitivity elevated from 83.72% to 97.67% and negative predictive value also correspondingly increased from 82.05% to 95.24%, effectively preventing the missed diagnosis of neurosyphilis. In series experiments, when CSF MIF was combined with the original CSF protein and CSF white blood cells,specificity elevated from 93.02% to 100% and negative predictive value also correspondingly increased from 82.35% to 100%. This can effectively prevent the misdiagnosis of neurosyphilis.

Conclusion:

Our study found that CSF MIF can be used as a new diagnostic indicator of neurosyphilis. Its sensitivity is higher than the commonly used laboratory indicators such as CSF RPR, CSF white blood cells and CSF albumin at present.Parallel experiment of CSF MIF、CSF white blood cells and CSF albumincan further improve the sensitivity and prevent missed diagnosis;On the contrary, series experiment of the three indexes can improve specificity and effectively prevent misdiagnosis. Therefore, we suppose that the CSF MIF is a promosing biomaker in the diagnosis for neurosyphilis. According to clinical requirements, CSF MIF can combine with the parallel or serial experiments to further improve the sensitivity and specificity.

Key words:neurosyphilis; MIF; laboratory diagnosis; syphilis

中英文缩略词表

简写	全称	中文名
<i>Tp</i>	<i>Treponema pallidum</i>	梅毒螺旋体
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
CSF	cerebrospinal fluid	脑脊液
MIF	macrophage migration inhibitory factor	巨噬细胞移动抑制因子
GC	glucocorticoid	糖皮质激素
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	疾病预防控制中心
STD	sexually transmitted disease	性传播疾病
SNP	single nucleotide polymorphism	单核苷酸多态性
LPS	lipopolysaccharide	胎牛血清
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
IFN- γ	Interferon- γ	γ 干扰素
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	外周血单个核细胞
HIV	human immunodeficiency virus	人类免疫缺陷病毒
Th	T helper cells	辅助性 T 细胞
IL	interleukin	白细胞介素
CD	cluster of differentiation	白细胞分化抗原
TNF- α	tumor necrosis factor- α	肿瘤坏死因子 α
TPPA	<i>Treponema pallidum</i> particle assay	梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验
CLIA	chemiluminescence Immunoassay	化学发光免疫技术
TRUST	toluidine red uheated serum test	甲苯胺红不加热血清试验
RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附实验
WB	western blot	免疫印迹实验
RPR	rapid plasma regain	快速血浆反应素试验

FTA-ABS	fluorescentreponemalantibodyabsorption assay	荧光密螺旋体抗体吸收 试验
VDRL	venereal disease research labor-atory test	性病研究实验室实验
PRR	pattern recognition receptor	模式识别受体
SIRS	systemic inflammatory response syndrome	全身炎症反应综合症
RA	rheumatic arthritis	风湿性关节炎
ROC	receiver operating characteristic	受试者工作特征

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
中英文缩略词表	V
第一部分巨噬细胞移动抑制因子在神经梅毒中的诊断价值研究.....	1
第一章 绪论	1
1.1 神经梅毒的临床发生率及其危害.....	1
1.2 神经梅毒的研究现状	1
1.3 神经梅毒的诊断现状及存在问题.....	2
1.4 巨噬细胞移动抑制因子研究进展.....	4
1.5 神经梅毒与巨噬细胞移动抑制因子.....	9
第二章 材料与方法	10
2.1 研究对象	10
2.2 实验材料	13
2.3 实验方法	15
第三章 实验结果	21
3.1 临床梅毒患者和体检者的临床和实验室特征.....	21
3.2 不同分组间的血清 MIF 和脑脊液 MIF 结果	22
3.3 血清 MIF 和脑脊液 MIF 在神经梅毒的诊断性能	23
3.4 脑脊液参数（脑脊液 RPR，脑脊液 MIF，脑脊液蛋白升高和脑脊液细胞升高）在神经梅毒的诊断性能.....	24
3.5 脑脊液参数（脑脊液 MIF，脑脊液蛋白升高和脑脊液细胞升高）并联试验，串联试验在神经梅毒的诊断性能.....	27
第四章 讨论	28
4.1 现有的神经梅毒脑脊液诊断指标灵敏度低.....	28

4.2 脑脊液 MIF 作为神经梅毒的诊断指标	28
4.3 研究局限性	29
第五章 结论	30
第二部分巨噬细胞移动抑制因子在梅毒感染过程中的作用初步试验	31
第一章 绪论	31
1.1 梅毒概述	31
1.2 巨噬细胞移动抑制因子研究进展	35
1.3 梅毒与巨噬细胞移动抑制因子	35
第二章 材料与方法	37
2.1 实验材料	37
2.2 实验方法	40
第三章 实验结果	52
3.1 体外细胞实验研究巨噬细胞移动抑制因子在 <i>Tp</i> 和 <i>Tp</i> 重组蛋白刺激后的表达	52
3.2 <i>Tp</i> 感染兔组织后的病理变化特征和 MIF 表达情况	53
第四章 讨论	58
4.1 <i>Tp</i> 和 <i>Tp</i> 外膜蛋白 Tp0751 体外刺激 PBMC 后 MIF mRNA 表达升高	58
4.2 <i>Tp</i> 感染兔组织后的病理变化特征和 MIF 的表达情况	59
4.3 研究局限性	59
参 考 文 献	60
致谢	70
攻读硕士学位期间的研究成果	71

Table of contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	III
Commentary of English abbreviation.....	V
Part 1 Study on the diagnostic value of macrophage migration inhibitory factor in neurosyphilis	
.....	1
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 The clinical incidence and harm of neurosyphilis.....	1
1.2 Current state of neurosyphilis research	1
1.3 Diagnostic actualityand problems of neurosyphilis.....	2
1.4 Research progress of macrophage migration inhibitory factor.....	4
1.5 The relationship of neurosyphilis and macrophage migration inhibitory factor	9
Chapter 2 Materials and methods.....	10
2.1 Objects of study	10
2.2 Experimental materials.....	13
2.3 Materials	15
Chapter 3 Results	21
3.1 The characteristics of the study subjects	21
3.2 Serum and CSF MIF concentrations of different groups	22
3.3 The diagnosis performance of serum and CSF MIF in neurosyphilis.....	23
3.4 The diagnosis performance of CSF parameters (RPR, MIF , protein and pleocytosis)	24
3.5 Parallel and serial testing algorithm of CSF parameters(RPR, pleocytosis ,	

elevated protein and elevated MIF) for screening neurosyphilis.....	27
Chapter 4 Discussion	28
4.1 The sensitivity of current CSF diagnostic criteria for neurosyphilis is low	28
4.2 CSF MIF as a index for diagnosis neurosyphilis.....	28
4.3 Limitations of the research	29
Chapter 5 Conclusion	30
Part 2 Preliminary trials of MIF in the process of syphilis infection.	31
Chapter 1 Introduction.....	31
1.1 Outline of syphilis.....	31
1.2 Research progress of macrophage migration inhibitory factor	35
1.3 The relationship of syphilis and macrophage migration inhibitory factor	35
Chapter 2 Materials and methods.....	37
2.1 Experimental materials.....	37
2.2 Methods	40
Chapter 3 Results.....	52
3.1 In vitro experiments study MIF expression when <i>Tp</i> and recombinant protein stimulate the cells.....	52
3.2 Pathological change and MIF expression in rabbit tissues after <i>Tp</i> infection.....	53
Chapter 4 Discussion	58
4.1 The level of MIF mRNA increased after <i>Tp</i> and Tp0751 stimulating PBMC	58
4.2 Pathological change and MIF expression in rabbit tissues after <i>Tp</i> infection	59
4.3 Limitations of the research.....	59
References	60
Acknowledgements	70

Research achievements during pursuing the master's degree71

厦门大学博硕士论文摘要库

第一部分 巨噬细胞移动抑制因子在神经梅毒中的诊断价值研究

第一章 绪论

1.1 神经梅毒的临床发生率及其危害

梅毒是由梅毒螺旋体 (*treponema pallidum*, *Tp*) 感染引起的慢性性传播疾病。中国疾病预防控制中心的官方数据显示2015年我国梅毒的发病数为458682例,比2014年同期增长了9.45%,发病数居性传播疾病首位,仅次于病毒性肝炎和肺结核居第三位 (<http://www.chinacdc.cn/>)。梅毒正以过去500年任何国家和地区都未曾有过的速度在中国传播,由于存在隐性感染以及无法统计的私人诊所患者人数,我们目前看到的梅毒发病率或许只是梅毒现状的冰山一角^[1-3]。本实验室在前期的研究资料发现^[4, 5]: 本地区的潜在血源传播患者和健康体检者的梅毒螺旋体特异性抗体明胶颗粒凝集试验 (Treponema Pallidum Particle Assay, TPPA) 阳性率分别为8.62%与5.01%,在同一时期门诊患者中,TPPA的阳性率为26.69%,梅毒已在我国广泛流行,成为我国公共卫生急需解决的主要问题。

梅毒可导致心血管、神经、骨骼等机体系统的不可逆性的损伤,甚至可能威胁至生命。有资料表明,如果梅毒患者未经过治疗,或治疗不彻底,将有 25%-40% 发展为神经梅毒^[6]。梅毒的广泛流行导致了神经梅毒发病率的增高,流行病学研究数据表明显示约有70%的早期梅毒患者出现脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 异常^[7]。据此估算,2015年我国至少有30万以上的梅毒患者的神经系统受到了侵犯。近些年来,有学者研究发现梅毒与艾滋病之间存在着互相促进^[8, 9],使得梅毒和神经梅毒的控制越发困难和重要。

1.2 神经梅毒的研究现状

神经梅毒的临床表现复杂多样,因*Tp*侵犯的部位和炎症的程度不同,临床分期为无症状神经梅毒、脑脊膜梅毒、脑膜血管梅毒、脑实质梅毒(麻痹性痴呆和脊髓痨)到神经系统树胶肿,各分期之间无明显的界限,也可能存在重叠现象。各期梅毒均可能发生中枢神经系统损害,神经梅毒多发于中老年,但近年有年轻化的趋势。早期神经梅毒产生部份神经功能障碍,晚期则可产生不可逆的神经系

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.