

脑脊液 B 细胞趋化因子配体 13 在神经梅毒诊断中的临床意义

殷晓云 胥萍 陈慧 吴敏智 杨玉婷 吴敏娟

苏州市第五人民医院检验科, 苏州 215131

通信作者: 吴敏娟, Email: 2538190734@qq.com

【摘要】目的 了解梅毒患者脑脊液(CSF)B 细胞趋化因子配体 13(CXCL13)在神经梅毒诊断中的临床价值。**方法** 以 2018 年 10 月至 2022 年 12 月苏州市第五人民医院收治住院的 208 例梅毒患者为研究对象, 其中确诊神经梅毒患者 116 例与非神经梅毒 92 例, 收集人口统计学和疾病史等临床特征资料。采用 ELISA 法测 CSF 中趋化因子 CXCL13 的表达水平, 并评价其诊断效能。**结果** 神经梅毒组 CSF-CXCL13 水平为 93.91(28.05,412.65) pg/mL, 高于非神经梅毒组的 5.41(3.86,25.45) pg/mL, 差异有统计学意义($U=9\ 366.51, P<0.001$)。与 CSF-CXCL13 表达水平 <5.43 pg/mL 者相比, CSF-CXCL13 在 5.43~31.49 pg/mL、31.50~121.44 pg/mL、和 ≥ 121.45 pg/mL 的梅毒患者发生神经梅毒的风险分别增加 11.14、22.74 和 659.40 倍。ROC 曲线分析显示, CSF-CXCL13 诊断神经梅毒的曲线下面积达到 0.89, CSF-WBC、CSF-蛋白与 CSF-CXCL13 联合检测诊断神经梅毒的 AUC 为 0.93, 其灵敏度为 83.37%, 特异性为 91.42%。**结论** CSF-CXCL13 表达水平升高是梅毒患者发生神经梅毒风险的预测因子, 对神经梅毒的早期诊断有一定参考价值。

【关键词】 神经梅毒; 趋化因子 CXCL13; 脑脊液蛋白; 联合检测; 预测

基金项目: 苏州市临床医学专家团队引进项目(SZYJTD201811)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20230824-00024

Clinical significance of B-cell chemokine ligand 13 in cerebrospinal fluid in the diagnosis of neurosyphilis

Yin Xiaoyun, Xu Ping, Chen Hui, Wu Minzhi, Yang Yuting, Wu Minjuan

Laboratory of Suzhou Fifth People's Hospital, Suzhou 215131, China

Corresponding author: Wu Minjuan, Email: 2538190734@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the clinical value of cerebrospinal fluid (CSF) B-cell chemokine ligand 13 (CXCL13) in the diagnosis of neurosyphilis in patients with syphilis. **Methods** A total of 208 syphilis patients admitted to Suzhou Fifth People's Hospital from October 2018 to December 2022 were enrolled in this study. Among them, 116 cases were confirmed with neurosyphilis and 92 cases with non-neurosyphilis, and their demographic and clinical features were collected. The expression levels of CXCL13 in CSF were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and its diagnostic value was evaluated. **Results** The level of CSF-CXCL13 in neurosyphilis group was 93.91 (28.05, 412.65) pg/mL, which was higher than that of 5.41 (3.86, 25.45) pg/mL in the non-neurosyphilis group, with a statistically significant difference ($U=9\ 366.51, P<0.001$). Compared with patients with the level of CSF-CXCL13 <5.43 pg/mL, the risk of developing neurosyphilis in patients with CSF-CXCL13 levels in the ranges of 5.43-31.49 pg/mL, 31.50-121.44 pg/mL, and ≥ 121.45 pg/mL increased by 11.14 times, 22.74 times, and 659.40 times, respectively. ROC analysis showed that the area under ROC curve (AUC) of CSF-CXCL13 in diagnosing neurosyphilis reached 0.89, and the AUC of combined detection of CSF-WBC, CSF-Pro, and CSF-CXCL13 in diagnosing neurosyphilis was 0.93, with a sensitivity of 83.37% and a specificity of 91.42%. **Conclusions** Elevated expression levels of CSF-CXCL13 are predictive factors for the risk of neurosyphilis in syphilis patients, providing a certain reference value for the early diagnosis of neurosyphilis.

【Key words】 Neurosyphilis; Chemokine CXCL13; Cerebrospinal fluid-protein; Combined detection; Prediction

Fund program: Suzhou Clinical Medicine Expert Team Introduction Project (SZYJTD201811)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20230824-00024

神经梅毒是由梅毒螺旋体(Tp)侵入中枢神经系统(CNS)所引起的慢性感染性疾病^[1-2],出现脑膜、大脑、血管或脊髓等损伤的一组临床综合征,可见于Tp感染的各个时期^[3]。目前诊断神经梅毒无公认的金标准,主要依据临床表现、梅毒血清学试验(TPPA)、脑脊液(CSF)常规检查等方法综合判断^[4]。但CSF常规检查WBC和蛋白(Pro)缺乏特异性,相关CNS感染均可能导致指标水平升高。B细胞趋化因子配体13(CXCL13)是CXC趋化因子家族的成员,主要由次级淋巴组织、淋巴结和滤泡DC产生,有学者在研究神经梅毒损伤的分子机制时发现CXCL13介导B细胞聚集,引起异常体液免疫应答,在诊治神经梅毒中可能有一定的参考价值^[5]。本研究旨在通过分析梅毒患者CSF中CXCL13水平,探讨其在神经梅毒诊断中的临床意义。

对象与方法

一、研究对象

以2018年10月至2021年4月苏州市第五人民医院皮肤性病科收治住院的疑似神经梅毒患者208例为研究对象,其中男性126例,女性82例,年龄(50.04±1.16)岁,范围16~78岁。根据《梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020年)》^[6],疑似神经梅毒患者同时符合以下4条:①有不安全性行为、多性伴或性伴感染史和输血史等流行病学史;②临床表现有或无神经系统症状和体征;③血清甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)阳性(极少数晚期患者可阴性),TPPA阳性;④CSF常规检查WBC计数 $>5 \times 10^6/L$ 和(或)Pro含量 $>500 \text{ mg/L}$,且无引起异常的其他原因。神经梅毒确诊患者在符合疑似病例诊断标准的基础上,其CSF样本的TRUST和TPPA还需均为阳性。排除标准:①HIV阳性;②CSF样本受到污染;③CSF检测证实患者神经系统症状由其他原因引起,如结核性脑膜炎、细菌性脑膜炎和隐球菌脑膜炎等;④近期使用免疫抑制剂或皮质激素者;⑤妊娠期妇女。本研究经苏州大学附属传染病医院伦理委员会审批通过,审批号:[2020]院伦理审字(033)号,所有入组患者均知情

同意。

二、检测方法

采用ELISA法检测CSF和血清中CXCL13的表达水平,测定450 nm波长处吸光度值,含量按标准曲线计算;同时检测患者CSF常规(WBC和Pro)、TRUST和TPPA,所有操作按照试剂说明书及操作规范进行。

三、仪器和试剂

CXCL13检测试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司, Sysmex XN 3000血液分析仪(日本SYSMEX公司)检测CSF-WBC,日立H7600-100E全自动生化分析仪(日本HITACHI公司)检测CSF-Pro, TRUST检测试剂购自英科新创科技股份有限公司, TPPA检测试剂购自富士瑞必欧株式会社。

四、统计学分析

采用SPSS23.0软件进行统计分析。正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用独立样本 t 检验;非正态分布的计量资料采用中位数(四分位间距) $[M(Q_1, Q_3)]$ 表示,两组间比较用Wilcoxon秩和检验。计数资料两组率的比较采用 χ^2 检验。采用多因素的非条件Logistic回归法分析发生神经梅毒的危险因素,在调整年龄、性别、高血压史和糖尿病史等因素情况下,经对数转换后计算不同CSF-CXCL13表达水平下发生神经梅毒的OR值和95%CI。采用MedCal19.8软件绘制ROC曲线,通过Youden指数最大值查找最佳临界点,计算曲线下面积(AUC)、灵敏度和特异性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、神经梅毒组与非神经梅毒组一般特征比较

208例疑似神经梅毒患者中确诊神经梅毒共116例。神经梅毒组的年龄和男性占比均高于非神经梅毒组,两组差异有统计学意义($t=3.98, \chi^2=21.85$,均 $P < 0.001$);神经梅毒组的CSF-CXCL13和CSF-Pro浓度均高于非神经梅毒组,差异有统计学意义($U=9366.51$ 和 7771.00 ,均 $P < 0.001$),神经梅毒与非神经梅毒组的高血压史率、糖尿病史率以及

血清 CXCL13 表达、CSF-WBC 浓度差异均无统计学意义 ($\chi^2=3.78, 1.17, U=4\ 634.53, 5\ 904.00, P=0.052, 0.280, 0.634$ 和 0.119), 见表 1。

二、各因素与发生神经梅毒风险的关系

因年龄和男性在本研究神经梅毒组与非神经梅毒组比较中存在差异,提示它们是重要的混杂因素。尽管高血压史和糖尿病史占比在本研究组间比较差异无统计学意义,但研究表明高血压和糖尿病是已知的影响神经系统健康的因素,故本研究选择这些因素作为可能的混杂因素进行校正,尽可能准确评估发生神经梅毒的风险。在经过年龄、性别、高血压史和糖尿病史校正后,CSF-CXCL13 表达 ($OR=1.05, 95\%CI: 1.03\sim 1.07$)、CSF-Pro 含量 ($OR=1.00, 95\%CI: 1.00\sim 1.01$) 和 CSF-WBC ($OR=1.10, 95\%CI: 1.02\sim 1.19$) 与神经梅毒的发生具有相关性,具体结果见表 2。

三、不同 CSF-CXCL13 水平与发生神经梅毒风险的关系

经对数转换后,CSF-CXCL13 表达水平最低四分位 ($<5.43\text{ pg/mL}$, $\lg\text{ CSF-CXCL13}\leq 0.74$) 为参考进行非条件 Logistic 回归。结果显示,与 CSF-CXCL13 $<5.43\text{ pg/mL}$ 者相比,CSF-CXCL13 为 $5.43\sim 31.49\text{ pg/mL}$ 、 $31.50\sim 121.44\text{ pg/mL}$ 和 $\geq 121.45\text{ pg/mL}$ 的梅毒患者发生神经梅毒的风险分别增加 $11.14, 22.74$ 和 659.40 倍,具体结果见表 3。

四、CSF-WBC、CSF-Pro 与 CSF-CXCL13 对神经梅毒的诊断效能

对 CSF-WBC、CSF-Pro 与 CSF-CXCL13 表达水平在神经梅毒诊断中的效能进行了评估,结果显示 CSF-CXCL13 诊断神经梅毒的 AUC 达到 0.89 , 高于 CSF-Pro 的 0.73 和 CSF-WBC 的 0.88 , CSF-CXCL13 最佳截断值为 45.78 pg/mL , 灵敏度为 68.42% , 特异性

表 1 神经梅毒组与非神经梅毒组患者一般特征比较

特征	组别		统计值	P 值
	神经梅毒组 (n=116)	非神经梅毒组 (n=92)		
年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	52.30±12.76	44.36±16.57	-3.89 ^a	<0.001
男性 [例 (%)]	86(74.12)	40(43.53)	21.85 ^b	<0.001
高血压史 [例 (%)]	38(32.80)	19(20.76)	3.78 ^b	0.052
糖尿病史 [例 (%)]	14(12.15)	7(7.64)	1.17 ^b	0.280
CSF-CXCL13 [M(Q ₁ , Q ₃), pg/mL]	93.91(28.05, 412.65)	5.41(3.86, 25.45)	9 366.51 ^c	<0.001
血清 CXCL13 [M(Q ₁ , Q ₃), pg/mL]	94.83(44.51, 128.29)	83.05(38.99, 131.49)	4 634.53 ^c	0.634
CSF-WBC [M(Q ₁ , Q ₃), ×10 ⁶ /L]	3.27(0.01, 9.00)	2.39(1.02, 3.07)	5 904.00 ^c	0.119
CSF-Pro [M(Q ₁ , Q ₃), mg/L]	530.44(375.75, 712.00)	340.50(264.25, 491.25)	7 771.00 ^c	<0.001

注: CSF: 脑脊液; CSF-WBC: 脑脊液白细胞计数; CSF-Pro: 脑脊液蛋白; CXCL13: B 细胞趋化因子配体 13; ^at 值; ^b χ^2 值; ^cU 值;

表 2 神经梅毒患者各因素的非条件 Logistic 回归分析

因素	单因素		多因素校正 ^a	
	OR (95%CI)	P 值	OR (95%CI)	P 值
年龄	1.04(1.02~1.06)	<0.001	1.03(1.00~1.05)	0.022
男性	3.90(2.17~7.03)	<0.001	3.01(1.61~5.64)	0.001
高血压史	1.87(0.99~3.54)	0.542	0.99(0.47~2.09)	0.972
糖尿病史	1.68(0.65~4.36)	0.284	0.92(0.32~2.65)	0.872
CSF-CXCL13	1.04(1.03~1.06)	<0.001	1.05(1.03~1.07)	<0.001
血清 CXCL13	1.00(1.00~1.00)	0.247	1.00(1.00~1.00)	0.245
CSF-WBC	1.10(1.03~1.19)	0.006	1.10(1.02~1.19)	0.010
CSF-Pro	1.00(1.00~1.01)	0.006	1.00(1.00~1.01)	<0.001

注: CSF: 脑脊液; CSF-WBC: 脑脊液白细胞计数; CSF-Pro: 脑脊液蛋白; CXCL13: B 细胞趋化因子配体 13; ^a多因素校正包括: 年龄、性别、高血压史和糖尿病史

表 3 不同脑脊液 CXCL13 水平下发生神经梅毒的非条件 Logistic 回归分析

CSF-CXCL13 水平(pg/mL)	lg(CSF-CXCL13)	单因素		多因素校正 ^a	
		OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
<5.43	≤0.74	1		1	
5.43~31.49	0.75~1.50	9.78(3.34~28.59)	<0.001	11.14(3.46~35.84)	<0.001
31.50~121.44	1.51~2.08	16.33(5.54~48.13)	<0.001	22.74(7.05~73.35)	<0.001
≥121.45	≥2.09	470(52.94~4 172.95)	<0.001	659.40(69.31~6 273.05)	<0.001

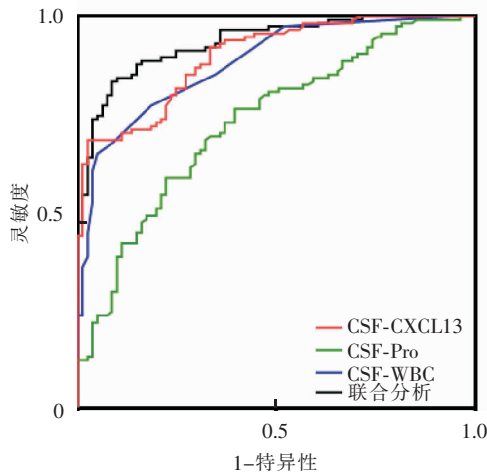
注:CSF:脑脊液;CXCL13:B 细胞趋化因子配体 13;^a:多因素调整包括:年龄、性别、高血压史和糖尿病史

为 96.74%, Youden 指数为 0.66。CSF-WBC、CSF-Pro 与 CSF-CXCL13 联合检测诊断神经梅毒的 AUC 为 0.93, 其灵敏度为 83.37%, 特异性为 91.42%, Youden 指数为 0.75, 具体结果见表 4 和图 1。

表 4 CSF-CXCL13、CSF-WBC、CSF-Pro 对神经梅毒的诊断效能分析

因素	曲线下面积	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异性 (%)	Youden 指数
CSF-CXCL13	0.89	45.78 pg/mL	68.42	96.74	0.66
CSF-Pro	0.73	372.51 mg/L	76.33	60.52	0.37
CSF-WBC	0.88	5.54×10 ⁶ /L	64.90	95.17	0.60
CSF-CXCL13+CSF-Pro+CSF-WBC	0.93		83.37	91.42	0.75

注:CSF:脑脊液;CXCL13:B 细胞趋化因子配体 13;CSF-WBC:脑脊液白细胞计数;CSF-Pro:脑脊液蛋白



注:CSF:脑脊液;CXCL13:B 细胞趋化因子配体 13;CSF-WBC:脑脊液白细胞计数;CSF-Pro:脑脊液蛋白

图 1 CSF-CXCL13、CSF-WBC、CSF-Pro 对神经梅毒诊断价值的 ROC 曲线分析

讨 论

神经梅毒的临床症状较为复杂, 患者通常表现为头痛恶心、视觉听力下降、智力功能缺陷、麻痹

等, 易与其他疾病混淆, 且有一部分患者无症状, 因此容易误诊或因无症状未及时诊治而延误病情。本文旨在了解 CXCL13 在神经梅毒诊断中的临床价值。

一、常用临床指标在神经梅毒诊断中的应用

神经梅毒早期诊断缺乏敏感指标, 如性病研究实验室试验特异性高, 但灵敏度较低且操作复杂; TRUST 存在一定比例的非特异性反应造成假性结果干扰临床判断, 且有一部分表现为 TRUST 低滴度血清固定梅毒, 因而不能真实反映患者病情; TPPA 由于抗生素的广泛使用导致基因突变或 CSF 中 Tp 含量较低等原因, 检测灵敏度较低, 在临床应用尚未成熟, 亦未能满足诊断神经梅毒的临床需求^[7]。目前, CSF 常规检查是神经梅毒诊断的重要依据之一, CSF-WBC、CSF-Pro 可辅助诊断神经梅毒^[8], 但其在其他神经系统感染性疾病, 如结核性脑膜炎、HIV 感染中也会出现异常^[9], 对于神经梅毒诊断缺乏灵敏度, 需要其他指标给予辅助诊断。

二、CXCL13 在神经梅毒诊断中的临床价值

CXCL13 是一种趋化因子配体, 与 B 淋巴细胞的归巢和运动有关, 在 B 淋巴细胞向 CSF 的迁移中起着关键作用^[10], 当 CNS 受到梅毒感染后, 细胞免疫应答发挥作用, CSF 中出现大量 B 细胞, 因而 CXCL13 水平升高^[11]。本研究发现, 神经梅毒患者 CSF-CXCL13 水平明显高于非神经梅毒患者 ($U=9\ 366.51, P<0.001$), 血清中神经梅毒患者与非神经梅毒患者 CXCL13 表达水平的差异无统计学意义, 这与梁丽贞等^[12]的研究一致。造成这一差异的原因可能是由于 CXCL13 是由 Tp 刺激细胞侵入神经系统后合成的, 而不是在外周血中通过血脑屏障进入 CSF。本研究发现, 随着 CSF-CXCL13 表达水平的升高, 梅毒患者发生神经梅毒的风险升高。本文结果

显示,以 CSF-CXCL13 表达水平为 45.78 pg/mL 为最佳诊断效能,此时的灵敏度为 68.42%,特异性为 96.74%,CSF-CXCL13 诊断神经梅毒的 AUC 为 0.89,与 Wang 等^[13]研究一致。本文结果显示,CSF-CXCL13 作为神经梅毒实验室诊断的辅助指标具有一定的临床意义。CSF-CXCL13 表达水平与神经梅毒的发生密切相关,其升高可能与梅毒感染造成炎症后 WBC 浸润引起内皮细胞受损有关,当 CSF-WBC、CSF-Pro 与 CSF-CXCL13 联合检测时,诊断神经梅毒的 AUC 为 0.93,灵敏度为 83.37%,特异性为 91.42%,Youden 指数为 0.75,提高了 CSF 异常的检出率,对病情诊治有较高的临床价值。然而,有研究表明 CSF-CXCL13 的表达水平在 HIV 感染、免疫系统失调性疾病和某些神经系统疾病,如莱姆病中也会升高,故在临床诊断中,应联合其他检测指标排除这类疾病^[9]。

综上所述,神经梅毒患者 CXCL13 表达异常,可作为 CSF 常规检测之外判断神经梅毒患者病情的辅助指标之一。受样本量的局限性,本文缺乏对 CSF-CXCL13 与常规指标协同诊断效能的评估,下一步需扩大样本量并动态观察指标变化,为神经梅毒的早期诊断和预后判断提供更灵敏的诊断参考,为能更好地诊治神经梅毒提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 殷晓云:实验研究、采集分析数据、统计分析、论文撰写及修改;胥萍、吴敏智、吴敏娟:研究指导、论文指导、经费支援;陈慧、杨玉婷:论文修改

参 考 文 献

- Jiang Y, Weng R, Zhang Y, et al. The performance of rapid plasma reagin (RPR) titer in HIV-negative general paresis after neurosyphilis therapy[J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 144. DOI: 10.1186/s12879-018-3062-4.
- Marra CM. Neurosyphilis[J]. *Continuum (Minneapolis, Minn)*, 2015, 21(6 Neuroinfectious Disease): 1714-1728. DOI: 10.1212/CON.0000000000000250.
- Shi M, Peng RR, Gao Z, et al. Risk profiles of neurosyphilis in HIV-negative patients with primary, secondary and latent syphilis: Implications for clinical intervention[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2016, 30(4): 659-666. DOI: 10.1111/jdv.13514.
- 练婷婷, 王千秋. 神经梅毒实验室诊断研究进展[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40(8): 635-639. DOI: 10.3760/cma.j.cn112309-20200331-00166.
- Hu R, Lu C, Lu S, et al. Value of CXCL13 in diagnosing asymptomatic neurosyphilis in HIV-infected patients[J]. *Int J STD AIDS*, 2016, 27(2): 141-146. DOI: 10.1177/0956462415577229.
- 中国疾病预防控制中心性病控制中心, 中华医学会皮肤性病学分会性病学组, 中国医师协会皮肤科医师分会性病亚专业委员会. 梅毒、淋病和生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2020 年)[J]. *中华皮肤科杂志*, 2020, 53(3): 168-179. DOI: 10.35541/cjd.20190808.
- 吴亚琼, 季必华. 神经梅毒的诊治进展[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2015, 29(4): 418-420. DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.201405138.
- Ghanem KG. Review: Neurosyphilis: A historical perspective and review[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2010, 16(5): e157-e168. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2010.00183.x.
- 李劲涛, 李小曼, 徐翠平, 等. 趋化因子 CXCL13 与神经莱姆病的研究进展[J]. *中国热带医学*, 2015, 15(12): 1534-1536. DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2015.11.36.
- Yu Q, Cheng Y, Wang Y, et al. Aberrant humoral immune responses in neurosyphilis: CXCL13/CXCR5 play a pivotal role for B-cell recruitment to the cerebrospinal fluid[J]. *J Infect Dis*, 2017, 16(5): 534-544. DOI: 10.1093/infdis/jix233.
- Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B. Chemokine ligand 13 (CXCL13) in neuroborreliosis and neurosyphilis as selected spirochetal neurological diseases: A review of its diagnostic significance[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2927. DOI: 10.3390/ijms21082927.
- 梁丽贞, 王俊, 张艳, 等. 神经梅毒患者外周血和脑脊液 Th1/Th2 型细胞因子及 CXCL13 的临床价值[J]. *中华临床感染病杂志*, 2018, 11(2): 102-107. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2018.02.006.
- Wang C, Wu K, Yu Q, et al. CXCL13, CXCL10 and CXCL8 as potential biomarkers for the diagnosis of neurosyphilis patients[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33569. DOI: 10.1038/srep33569.

(收稿日期:2023-08-24)