



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 117607432 B

(45) 授权公告日 2024. 04. 09

(21) 申请号 202410066811.5

US 2006281130 A1, 2006.12.14

(22) 申请日 2024.01.17

US 2019328750 A1, 2019.10.31

(65) 同一申请的已公布的文献号

US 4740467 A, 1988.04.26

申请公布号 CN 117607432 A

WO 2020165405 A1, 2020.08.20

(43) 申请公布日 2024.02.27

魏春波等. 有症状与无症状神经梅毒患者临床及实验室特征的比较. 中华实验和临床感染病杂志(电子版). 2013, 第07卷(第03期), 第59-62页.

(73) 专利权人 首都医科大学附属北京地坛医院

地址 100015 北京市朝阳区京顺东街8号

陈莉等. 41例梅毒患者脑脊液检测结果分析. 临床输血与检验. 2018, 第20卷(第04期), 第434-436页.

(72) 发明人 孔雅娴 杜娟 许东梅

(74) 专利代理机构 北京中理知识产权代理事务所(特殊普通合伙) 11806

专利代理师 张硕

窦曼曼. TSP-1/CD47信号通路调节动脉粥样硬化易损斑块的稳定性及其相关调控机制研究. 中国优秀硕士学位论文全文数据库. 2022, (第01期), 第1-47页.

(51) Int. Cl.

G01N 33/571 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

WILLIAM G. NELSON等. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Prostate Cancer. The Journal of Urology. 2005, 第172卷(第5期), S6-S12.

(56) 对比文件

CN 108490191 A, 2018.09.04

CN 116042678 A, 2023.05.02

RU 2473895 C1, 2013.01.27

US 2013287772 A1, 2013.10.31

CN 108490176 A, 2018.09.04

CN 110082542 A, 2019.08.02

CN 116519953 A, 2023.08.01

RU 2699057 C1, 2019.09.03

韩兴涛等. miR-34a调控MSR1蛋白对前列腺癌细胞迁移和侵袭的影响. 中国免疫学杂志. 2018, 第34卷(第04期), 第544-548页. (续)

审查员 郑晓莉

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

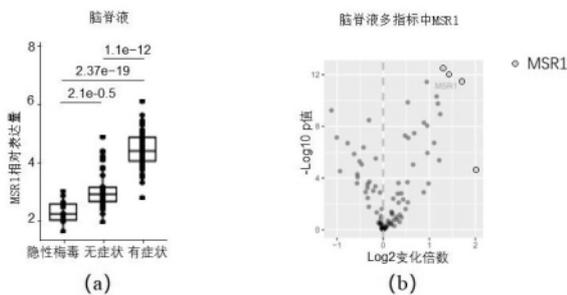
(54) 发明名称

MSR1蛋白及其特异性抗体在制备神经梅毒或神经损伤诊断产品中的应用

状神经梅毒的敏感性更高,可准确诊断出无症状神经梅毒和非神经梅毒患者,有利于对神经梅毒的早期诊断、治疗及预后管理。

(57) 摘要

本发明涉及生物医药技术领域,具体涉及脑脊液分子标志物MSR1作为神经梅毒患者早期诊断和分型检测以及评估神经损伤严重程度的标志物。本发明通过测定脑脊液中MSR1蛋白的浓度,作为神经梅毒早期诊断、临床分型、神经损伤程度评估等的指标,该指标可单独或作为主要参考指标与其他指标联合完成梅毒的诊断、分型和神经损伤评估。相较于已公开的神经梅毒标志蛋白检测和白细胞数目检测,该标志物对早期无症



CN 117607432 B

[接上页]

(56) 对比文件

余伟等.巨噬细胞清道夫受体1基因多态性与缺血性脑卒中遗传易感性的关系.职业与健康.2018,第34卷(第06期),第824-827页.

张磊等.以认知功能障碍及精神行为异常起病的神经梅毒治疗前后实验室指标的变化分析.中国实用神经疾病杂志.2022,第25卷(第06期),第729-735页.

Wurong Li等.Cerebrospinal Fluid

Cytokines in Patients with Neurosyphilis: The Significance of Interleukin-10 for the Disease.BioMed Research International.2020,第2020卷第1-8页.

于晓云等.神经梅毒患者脑脊液中细胞因子的表达及诊断价值分析.南京医科大学学报(自然科学版).2022,第42卷(第01期),第63-70页.

许东梅等.脑脊液寡克隆区带在神经梅毒诊断中的临床意义.中华实验和临床感染病杂志.2020,第14卷(第03期),第241-246页.

1. MSR1蛋白及其特异性抗体在制备神经梅毒诊断、分型检测或评估神经梅毒患者的神经受损程度的诊断产品或辅助诊断产品中的应用;其特征在于,所述诊断产品或辅助诊断产品是以MSR1蛋白为靶分子的检测试剂盒、蛋白芯片、或蛋白探针;所述分型为无症状神经梅毒和麻痹性痴呆;检测样品为脑脊液。

2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述检测试剂盒是以MSR1蛋白作为靶分子,检测MSR1蛋白在脑脊液中的表达水平。

3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述检测试剂盒为检测MSR1酶联免疫检测试剂盒或免疫组化试剂盒。

4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述检测试剂盒包括:可特异性识别MSR1的一抗、多肽染料、磁珠和生物素标记的二抗。

5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,所述检测试剂盒还包括枸橼酸盐缓冲液、PBS洗涤液、过氧化物酶阻断剂、山羊血清、链霉素抗生素-过氧化物酶、DAB溶液和苏木素液。

6. 根据权利要求3或4或5所述的应用,其特征在于,所述检测试剂盒还包括从患者分离脑脊液的试剂、工具或材料。

7. 用于神经梅毒患者神经损伤程度的评估系统,其特征在于,其包括检测模块和判断模块;其中,所述检测模块用于获取患者脑脊液MSR1蛋白浓度值;所述判断模块包括存储有判断规则的可读载体;

所述判断规则为:神经梅毒诊断的所述脑脊液MSR1蛋白浓度的Cut-Off值为2.66263NPX值;麻痹性痴呆诊断的所述脑脊液MSR1蛋白浓度的Cut-Off值为3.1681NPX值。

MSR1蛋白及其特异性抗体在制备神经梅毒或神经损伤诊断产品中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药技术领域,具体涉及MSR1蛋白及其特异性抗体在制备神经梅毒诊断、分型检测或评估神经受损程度的检测试剂盒、蛋白芯片、蛋白探针或蛋白检测仪中的应用。

背景技术

[0002] 梅毒是由梅毒螺旋体侵入人体后引起的一种全身感染性疾病。梅毒螺旋体在感染后几天内传播到中枢神经系统,并可能导致无症状脑膜炎和严重的症状性神经梅毒,即发生神经梅毒。

[0003] 神经梅毒(neurosyphilis)是由梅毒螺旋体侵犯神经系统出现脑膜、大脑、血管或脊髓等损害的一组临床综合征,表现多种多样,可无临床症状,也可以表现为神经系统广泛受累而出现复杂临床表现。因其临床表现不典型,因此其误诊率较高,可达到55.6%。例如神经梅毒引起的青壮年不明原因脑梗死,青壮年发生癫痫、智能障碍等经常被误诊。神经梅毒按其临床症状分为5型:无症状型,脑脊膜梅毒,脑膜血管梅毒,脊髓痨和麻痹性痴呆。无症状神经梅毒患者虽无明显症状或体征,但存在脑脊液异常改变,且脑脊液异常持续5年以上者其发展为有症状神经梅毒的概率高达87%。因为无症状神经梅毒患者无明显症状,需要更早且更灵敏的神经梅毒检测指标,尽早检测出无症状神经梅毒并及时治疗,从而减少其进展为有症状神经梅毒,延缓神经损伤的病情发展,使患者能够更早得到合理治疗,进而达到保证梅毒患者可以正常工作和生活的目的,从而减轻患者的痛苦和社会负担。

[0004] 神经梅毒的早期诊断非常重要,寻找到敏感的生物标志物将有助于神经梅毒的诊断,尤其是识别包括无症状神经梅毒在内的神经梅毒患者,对于预防严重且不可逆转的神经损伤后遗症具有重要意义。并且,神经梅毒可发生于梅毒病程的各个阶段,并非仅发生在晚期梅毒,因此所有梅毒患者都要进行严格的神经梅毒筛查。目前诊断神经梅毒主要依赖于有神经症状或体征、血浆和脑脊液等指标进行综合判断。脑脊液指标包括脑脊液性病研究实验室试验(VDRL)/快速血清反应素环状卡片试验(RPR)、脑脊液白细胞计数和脑脊液总蛋白水平。如果VDRL/RPR为阴性结果时,如果出现神经梅毒临床征象、血浆学检测阳性以及脑脊液细胞计数异常,也可以诊断为神经梅毒,但这个阶段确诊时患者已经有严重的神经损伤。此外,诊断过程中发现VDRL/RPP的敏感性仅为30%-70%,敏感性较低,并且对无症状神经梅毒的诊断不敏感,因此需要开发对无症状神经梅毒更敏感的诊断试剂,在发病早期进行准确诊断并提供相应治疗。

[0005] 综上所述,目前临床诊疗过程中主要对已出现神经梅毒症状的患者进行神经梅毒诊断和治疗,缺乏灵敏可信、有效区分神经梅毒的生物学标志物。目前对神经损伤程度的判断仅仅依赖于医生的经验,缺乏判断神经损伤程度的客观生物学指标。开发可用于神经梅毒诊断的新生物标志物,对神经梅毒的诊断、分型和神经损伤程度的评估具有重大意义。

发明内容

[0006] (一)要解决的技术问题

[0007] 鉴于现有神经梅毒诊断方法对早期无症状神经梅毒不敏感、对神经损伤程度的判断需依赖临床医生经验判断等问题,本发明提供一种用于神经梅毒早期诊断、分型检测和神经损伤评估的脑脊液标志物,利用该标志物可实现神经梅毒早期诊断、分型检测和神经损伤程度评估;相较于现有技术,该标志物敏感性更高,能准确地诊断出无症状神经梅毒和非神经梅毒患者,以便及时给予相应患者合理的治疗与管理。

[0008] (二)技术方案

[0009] 为了达到上述目的,本发明采用的主要技术方案包括:

[0010] 第一方面,本发明涉及MSR1作为神经梅毒患者早期诊断、临床分型和神经损伤检测的脑脊液标志物。

[0011] 第二方面,本发明提供MSR1蛋白及其特异性抗体在制备神经梅毒诊断、分型检测或评估神经受损程度的诊断产品或辅助诊断产品中的应用;其特征在于,所述诊断产品或辅助诊断产品是以MSR1蛋白或其特异性抗体为靶分子的检测试剂盒、蛋白芯片、蛋白探针或蛋白检测仪。

[0012] 根据本发明的较佳实施例,所述检测试剂盒是以MSR1蛋白或其特异性抗体作为生物标志物,检测MSR1蛋白或其特异性抗体在脑脊液中的表达水平。

[0013] 根据本发明的较佳实施例,所述检测试剂盒为检测MSR1酶联免疫检测试剂盒或免疫组化试剂盒。

[0014] 根据本发明的较佳实施例,所述试剂盒包括:可特异性识别MSR1的一抗、多肽染料、磁珠和生物素标记的二抗。

[0015] 根据本发明的较佳实施例,所述检测试剂盒还包括枸橼酸盐缓冲液、PBS洗涤液、过氧化物酶阻断剂、山羊血清、链霉素抗生素-过氧化物酶、DAB溶液和苏木素液。

[0016] 根据本发明的较佳实施例,所述检测试剂盒还包括从患者分离脑脊液的试剂、工具或材料。

[0017] 需要说明的是,在检测脑脊液MSR1蛋白表达水平时,也可采用Olink超高灵敏度蛋白检测平台以定量MSR1的表达水平。

[0018] 第三方面,本发明还涉及用于神经梅毒患者早期诊断、筛查、分型检测或评估神经受损程度的产品;其特征在于,所述产品能够定量检测脑脊液中MSR1的浓度;所述产品为以MSR1蛋白或其特异性抗体为靶分子的检测试剂盒、蛋白芯片、蛋白探针或蛋白检测仪;所述产品包含特异性识别MSR1的抗体。

[0019] 优选地,所述产品包含特异性结合MSR1的抗体及其他试剂可定量检测MSR1蛋白在血清和脑脊液中的浓度。如本申请实施例中用到的实验方法是Olink neurology panel (95801),可用于检测92种与神经功能相关的蛋白质生物标志物,也包括本专利中的MSR1蛋白。

[0020] 梅毒分型包括有症状神经梅毒、无症状神经梅毒或非神经梅毒即隐性梅毒等。

[0021] 第四方面,本发明涉及一种神经梅毒诊断系统,其包括:

[0022] 包括第一分析单元和第二分析单元;

[0023] 所述第一分析单元为用于检测脑脊液MSR1蛋白水平的检测试剂组合物、抗体芯片

或抗体探针；第二分析单元为用于检测脑脊液中白细胞水平的血液细胞计数板/血液细胞分析仪,或者用于检测脑脊液总蛋白水平的检测试剂组合物/生化分析仪。

[0024] 在上述方案中,在对神经梅毒进行诊断(包括早期诊断、分型分期和神经损伤评估)时,可将脑脊液MSR1蛋白水平与神经梅毒患者神经损伤相关的脑脊液白细胞和脑脊液总蛋白水平两个甚至三个指标联合用于对神经梅毒进行早期诊断、分型分期和神经损伤评估。

[0025] 其中,脑脊液中MSR1水平是通过Olink精密蛋白质组学即抗体的免疫分析与定量实时PCR结合方式检测确定。脑脊液白细胞数和脑脊液总蛋白含量通过任何已知方法检测即可。

[0026] 第五方面,本发明涉及用于神经梅毒患者神经损伤程度或梅毒分型的评估系统,其包括检测模块和判断模块;其中,所述检测模块用于获取患者脑脊液MSR1浓度值;所述判断模块包括存储有判断规则的可读载体;所述判断规则为:

[0027] 当检测模块获得的脑脊MSR1浓度值 ≥ 2.66263 NPX值时,判断为中度神经损伤风险或神经梅毒;反之,则判断为低度神经损伤风险或非神经梅毒;

[0028] 当检测模块获得的所述脑脊液MSR1浓度值 ≥ 3.1681 NPX值时,判断为高度神经损伤风险或有症状神经梅毒。

[0029] 所述参考值为从梅毒患者群中获得MSR1的Cut-off值;优选地,神经梅毒诊断的脑脊液Cut-off值为 2.66263 NPX值;有症状神经梅毒诊断的脑脊液Cut-off值为 3.1681 NPX值。上述Cut-off值是从88名梅毒患者获得的MSR1统计学分析临界值。

[0030] (三)有益效果

[0031] 本发明提供了一种新的用于神经梅毒早期诊断、分型检测和神经损伤评估的脑脊液标志物MSR1,通过检测患者脑脊液中MSR1的表达水平,实现对神经梅毒患者神经损伤程度的量化评估;或者通过检测患者脑脊液中MSR1的表达水平,实现对神经梅毒进行诊断,包括早期诊断和分型检测。利用该标志物可准确诊断无症状神经梅毒和非神经梅毒,相较于现有技术,该标志物敏感性更高(为90.41),特异性更强(为86.67)。

[0032] 由于在有症状神经梅毒、无症状神经梅毒或非神经梅毒中,有症状神经梅毒患者脑脊液中MSR1表达水平最高,MSR1表达水平对有症状神经梅毒的评估敏感性高达97.67,因此MSR1作为标志物对有症状神经梅毒可实现高灵敏度和高准确的筛查。

附图说明

[0033] 图1(a)示出采用Olink方法检测三种不同分型梅毒患者脑脊液中MSR1蛋白的表达情况;图1(b)示出Olink筛选的无症状神经梅毒与隐性梅毒脑脊液中多个差异显著甚至呈倍数变化的蛋白指标。

[0034] 图2示出梅毒患者的脑脊液与血清中MSR1蛋白水平为正相关,相关系数 $R=0.3335$ 。

[0035] 图3(a)和图3(b)分别示出脑脊液中MSR1的表达与神经梅毒损伤指标脑脊液蛋白和白细胞显著正相关。

[0036] 图4(a)示出以神经梅毒诊断(含无症状神经梅毒和有症状神经梅毒)为临床结局时,不同水平脑脊液MSR1浓度用于神经梅毒确诊情况的可能性,即ROC曲线下面积AUC;图4(b)示出以有症状神经梅毒诊断为临床结局时,不同水平脑脊液MSR1浓度用于有症状神经

梅毒确诊情况的可能性,即ROC曲线下面积AUC。

[0037] 图5(a)和图5(b)分别示出依据脑脊液MSR1的cut-off截断值2.66263NPX将所有患者区分为两组患者时,两组患者神经损伤指标脑脊液蛋白和白细胞的差异情况。

[0038] 图6(a)和图6(b)分别示出依据脑脊液MSR1截断值3.1681NPX将神经梅毒区分为两组患者时,两组患者神经损伤指标脑脊液蛋白和白细胞的差异情况。

具体实施方式

[0039] 为了更好的解释本发明,现对本发明作详细描述。

[0040] 神经梅毒的早期诊断非常重要,寻找敏感的生物标志物有助于神经梅毒的诊断,尤其需要识别包括无症状神经梅毒在内的神经梅毒患者,对于早期治疗、减少神经损伤和预防严重且不可逆转的神经损伤后遗症具有重要意义。发明人以开发可用于神经梅毒诊断和评估神经损伤的新生物标志物为目的进行了研究,并对无症状神经梅毒和隐性梅毒(即非神经梅毒)进行区分,对神经梅毒患者的与神经功能有关的96个指标进行了筛选,确定了在脑脊液中呈显著差异(呈倍数差异)的MSR1蛋白,该蛋白的高灵敏性使其对神经梅毒具有很好的诊断价值。

[0041] 经发明人研究发现,不同分型梅毒患者脑脊液MSR1蛋白水平差异显著。脑脊液MSR1蛋白水平与神经梅毒的分型有显著相关性,且脑脊液MSR1蛋白水平在非神经梅毒(隐性梅毒)组和无症状神经梅毒组之间存在显著性差异,而在有症状神经梅毒患者与无症状神经梅毒患者之间的差异也有统计学意义。以上研究说明MSR1蛋白水平可作为不同临床分型神经梅毒患者的指示物,并且可以有效区分无症状神经梅毒和隐性梅毒,以便对无症状神经梅毒患者及早给出治疗方案,减少其发展为有症状神经梅毒的几率。

[0042] 研究中发现,MSR1在血清中的表达水平与脑脊液中的表达水平存在一定相关性,但相关系数 $R=0.3335$,这表示相关性并不高,因此血清中MSR1表达水平在分型和评估神经损伤的发生中不理想,后续仅用脑脊液中MSR1表达水平进行相关实验。进一步研究发现,脑脊液MSR1的表达水平与神经梅毒损伤评价的检查指标脑脊液总蛋白水平和白细胞呈现显著的正相关,相关系数为 $R=0.8024$ 和 0.7122 ,因此推测标志物MSR1可用于评估神经梅毒的损伤程度。

[0043] 为了研究MSR1在神经梅毒诊断中的潜力和效果,下述实施例中对88名梅毒患者包括神经梅毒和隐性梅毒(又称非神经梅毒)进行研究,并采用受试者工作特征曲线(ROC)评估MSR1用于神经梅毒诊断的潜力(含无症状神经梅毒);实验结果为脑脊液MSR1的AUC为 0.9388 , $P<0.0001$,敏感性为 90.41 ,特异性为 86.67 ,因此通过MSR1评估神经梅毒诊断潜力具有统计学意义。据此,根据梅毒患者MSR1的水平高低可以有效地评估包括无症状神经梅毒在内的神经梅毒发生,其特异性强,敏感性高。

[0044] 接着,为明确MSR1在不同轻重程度的神经梅毒患者中的诊断潜力,下述实施例中对73名神经梅毒患者包括比较严重的有症状神经梅毒和早期的无症状神经梅毒进行研究,并采用ROC评估神经梅毒患者(含有症状和无症状神经梅毒患者)中MSR1评估有症状神经梅毒发生的潜力;实验结果为脑脊液MSR1的AUC为 0.9171 , $P<0.0001$,敏感性为 97.67 ,特异性为 76.67 。以上结果表明,根据神经梅毒患者脑脊液MSR1的水平高低可以较好地评估严重的有症状神经梅毒的发生,敏感性非常高。

[0045] 进一步地,实验又根据患者脑脊液神经梅毒诊断预测的MSR1 Cut-Off值2.66263将所有梅毒患者分为两组,高于该值的患者脑脊液损伤相关的指标脑脊液蛋白显著增加($P < 0.0001$),白细胞显著增加($P=0.0122$)但没有蛋白明显。结果发现,MSR1脑脊液高于2.66263NPX值时,脑脊液损伤相关的指标显著增加。因此,MSR1脑脊液低于2.66263NPX值时梅毒患者发生神经梅毒的风险较低,神经损伤风险较小;高于2.66263NPX值时梅毒患者发生神经梅毒的风险增加,神经损伤风险增加。接着,根据患者脑脊液有症状神经梅毒诊断预测的MSR1 Cut-Off值3.1681将所有神经梅毒患者分为两组,高于该值的患者脑脊液损伤相关的指标脑脊液蛋白和白细胞均显著增加($P < 0.0001$)。MSR1脑脊液低于3.1681NPX值时神经梅毒患者发生有症状神经梅毒的风险较低,神经损伤风险较小;而高于该值有症状神经梅毒风险较高,神经损伤风险增加。因此,本发明确定神经梅毒诊断中风险为Cut-Off 值为2.66263NPX,高风险Cut-Off 值为3.1681NPX。

[0046] 综上,本发明提供了脑脊液中MSR1作为神经梅毒(含无症状神经梅毒)的诊断、分型和神经损伤评估的应用。在实际使用过程中,可将脑脊液中MSR1蛋白水平作为梅毒早期诊断、分型和神经损伤评估的唯一指标,也可以作为主要参考指标或辅助参考指标。由于MSR1评估神经梅毒和有症状神经梅毒ROC曲线均大于0.9,因此脑脊液中MSR1对评估神经梅毒和有症状神经梅毒具有高敏感性。

[0047] 基于上述发现,本发明即通过设计检测脑脊液中MSR1的表达水平的检测试剂盒、蛋白芯片、蛋白探针或蛋白检测仪等,实现对梅毒尤其是神经梅毒进行高灵敏度地检测分型,还可对神经损伤的严重程度情况精确地量化评估。

[0048] 为了更好的理解上述技术方案,下面将参照附图更详细地描述本发明的示例性实施例。虽然附图中显示了本发明的示例性实施例,然而应当理解,可以以各种形式实现本发明而不应被这里阐述的实施例限制。相反,提供这些实施例是为了能够更清楚、透彻地理解本发明,并且能够将本发明的范围完整的传达给本领域的技术人员。

[0049] 下述实验例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的原料、试剂材料,如无特殊说明,均为市售购买产品。实验方案和实验结果如下:

[0050] (一)研究对象

[0051] 在知情同意及满足纳入条件的前提下,选择入组88例梅毒患者,其中隐性梅毒15例,无症状性神经梅毒30例和麻痹性痴呆43例,建立不同轻重程度的神经梅毒队列。诊断标准根据WS273-2007梅毒诊断标准执行。

[0052] (二)样本收集

[0053] 根据入组患者情况,行腰椎穿刺术以及肘静脉穿刺术留取脑脊液、血液进行常规检验,并留取脑脊液和血清标本。在患者知情同意下,腰穿收集脑脊液标5mL,静脉采集血液标本2mL。腰椎穿刺术收集脑脊液后,用冻存管分装,编码标记;静脉穿刺术收集血液后,置于4°C离心机中,离心10分钟,2000rpm,迅速分离上层血清置于冻存管中。

[0054] (三)采用Olink方法检测脑脊液中MSR1浓度

[0055] 采用Olink neurology panel 95801,检测包括MSR1蛋白在内的92种与神经功能相关的蛋白质。Olink精密蛋白质组学采用PEA方法,适合大规模筛选的精准蛋白质组学研究工具,具有良好的灵敏度、快捷性、高通量分析、以及在多重通道水平上的特异性。因此,本实施例采用Olink检测神经梅毒不同类型患者脑脊液中的标志物,发现MSR1蛋白在脑脊

液中有显著差异。脑脊液蛋白和脑脊液白细胞的检测根据WS273-2007所述的标准方法进行。

[0056] 对上述Olink检测结果进行如下统计与数据分析：

[0057] (1) 神经梅毒脑脊液中 MSR1蛋白显著增加

[0058] 采用Olink精密蛋白质组学检测血清和脑脊液中的神经相关蛋白表达差异，筛选到在脑脊液中有显著差异的MSR1蛋白。Olink检测结果参见图1及表1所示。发现有症状神经梅毒患者(有症状)比无症状神经梅毒(无症状)和隐性梅毒脑脊液中MSR1显著增加。因此，脑脊液MSR1水平可用于区分梅毒分型，并有望指示其严重程度。

[0059] 图1(a)中，隐性梅毒表示非神经梅毒，无症状表示无症状性神经梅毒，有症状表示有症状神经梅毒。由图1(a)图可以看出，有症状神经梅毒患者脑脊液中MSR1浓度>无症状神经梅毒患者脑脊液中MSR1浓度>隐性梅毒患者脑脊液中MSR1浓度；图1(b)是实验中筛选的无症状神经梅毒与隐性梅毒脑脊液中多个差异显著甚至呈倍数变化的蛋白指标；从中可发现，MSR1蛋白在脑脊液中的差异显著性是最明显的。

[0060] 表1：脑脊液MSR1的表达在三种不同梅毒类型中的差异统计数据

编号	检测指标	组织类型	比较组别	平均数差值	T检验值	差异P值	伪发现率	差异倍数log2FC
1	MSR1	脑脊液	隐性梅毒 & 无症状	42.3176	4.784159	2.11E-05	0.001606	0.748153
2	MSR1	脑脊液	隐性梅毒 & 有症状	44.23014	-15.3669	2.37E-19	2.26E-17	2.167449
3	MSR1	脑脊液	无症状 & 有症状	62.52853	-8.88543	1.09E-12	5.17E-11	1.419296

[0061] 表1为隐性梅毒、无症状神经梅毒、有症状神经梅毒三种分型梅毒患者的脑脊液MSR1浓度差异的统计值。平均数差值是反映各标志值与算术平均数之间的平均差异，差异值可以显示两组之前是否有显著性差异，而差异倍数可以显示这种差异的倍数。由表1的统计可看出，不同分型梅毒患者脑脊液MSR1蛋白水平有明显差异，差异有统计学意义。

[0062] (2) 脑脊液与血清中MSR1蛋白呈正相关

[0063] 如图2所示，血清中MSR1蛋白与脑脊液中该蛋白具有一定正相关性($R=0.3335$, $p=0.0015$)，但相关性不显著。因此，血清中MSR1蛋白不足以作为脑脊液该指标增高的指示标志，血清中MSR1蛋白水平也不能准确诊断神经梅毒。因此，后续的实验主要采用脑脊液作为分析样品进行实验。

[0064] (3) 脑脊液MSR1表达水平与脑脊液损伤指标呈显著正相关

[0065] 神经梅毒的重要诊断指标是脑脊液细胞计数和总蛋白水平。神经梅毒患者会伴随脑脊液细胞计数和蛋白水平异常，临床医生也公认这两个指标能指示神经梅毒的损伤严重程度。

[0066] 为了验证MSR1的指示作用，实验采用脑脊液的MSR1值与脑脊液蛋白和白细胞值进行相关性分析，结合图3(a)和图3(b)可知，脑脊液中MSR1蛋白表达水平与患者脑脊液中蛋白呈现显著的正相关(相关系数 $R=0.8024$, $p<0.0001$)，同时也与脑脊液中白细胞的数量呈现显著的正相关($R=0.7122$, $p<0.0001$)。因此，脑脊液中MSR1蛋白可以指示脑脊液中蛋白和白细胞的异常。

[0067] (4) 脑脊液MSR1表达水平用于神经梅毒诊断和分型

[0068] 为了明确脑脊液MSR1与神经梅毒诊断的关系，本实施例对88名梅毒患者(其中含隐性梅毒患者、无症状神经梅毒患者和有症状神经梅毒患者)进行研究。研究采用ROC曲线评估MSR1用于神经梅毒(即包括无症状神经梅毒和有症状神经梅毒)诊断的潜力。参见图4

(a)所示,实验结果为:脑脊液MSR1的ROC曲线下面积AUC(0.9388[95%CI 0.8867-0.9909]), $P<0.0001$,敏感性为90.41,特异性为86.67,具有统计学意义。为进一步明确脑脊液MSR1与有症状神经梅毒的关系,本实施例对73名神经梅毒患者(其中含无症状神经梅毒患者和有症状神经梅毒患者)进行ROC曲线评估研究。研究采用ROC 评估神经梅毒患者中MSR1水平用于有症状神经梅毒诊断的潜力。参见图4 (b)所示,实验结果为:脑脊液MSR1的ROC曲线下面积AUC(0.9171[95%CI 0.8481-0.9860]), $P<0.0001$,敏感性为97.67,特异性为76.67,具有统计学意义。

[0069] 以上结果表明,根据神经梅毒患者脑脊液MSR1的水平高低可较好地地区分隐性梅毒和无症状神经梅毒,更能准确地诊断出有症状神经梅毒。由此表明,根据梅毒患者脑脊液MSR1的水平高低可以高灵敏度地诊断出神经梅毒和有症状神经梅毒,敏感性高。

[0070] (5) 脑脊液MSR1表达水平用于评估神经损伤的程度

[0071] 首先,根据患者脑脊液MSR1的水平,利用Cut-Off值(临界值=2.66263NPX值),将这88名梅毒患者分为高MSR1浓度与低MSR1浓度两组。如图5所示,脑脊液MSR1高于2.66263NPX值的患者脑脊液损伤相关的指标脑脊液蛋白显著增加, $P<0.0001$ (见图5(a)),白细胞也显著增加但差异不如蛋白明显, $P=0.0122$ (见图5(b))。因此,脑脊液MSR1低于2.66263NPX值的患者神经梅毒的风险低,神经损伤风险小;而高于该值神经梅毒风险较高,神经损伤风险增加。进一步,利用临界值=3.1681NPX将73名神经梅毒患者分为高MSR1浓度与低MSR1浓度两组。如图6所示,脑脊液MSR1高于3.1681NPX值的患者脑脊液损伤相关的指标脑脊液蛋白和白细胞均显著增加, $P<0.0001$ 。因此,脑脊液MSR1低于3.1681NPX值的患者有症状神经梅毒的风险低,神经损伤风险相对较小;而高于该值有症状神经梅毒风险较高,神经损伤风险增大。

[0072] 综上所述,MSR1蛋白的浓度高低可作为神经梅毒早期诊断、有症状神经梅毒、无症状神经梅毒与隐性梅毒的分型检测、神经损伤程度评价等的指标,其既可单独用于神经梅毒的诊断、分型和神经损伤评价,也可作为主要参考指标与其他指标联合完成神经梅毒的诊断、分型和神经损伤评价。尤其重要的是,MSR1可区分无症状神经梅毒与隐性梅毒,对神经梅毒评估的AUC >0.9 ,敏感性非常高,通过比较患者脑脊液中MSR1蛋白的浓度与Cut-Off值(临界值=2.66263NPX值)的关系,可准确地从梅毒患者中将无症状神经梅毒诊断出来,以便对无症状神经梅毒患者及早给出治疗方案,减少发展成有症状神经梅毒的几率。

[0073] 最后应说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制。尽管参照实施例对本发明进行了详细说明,本领域的普通技术人员应该理解,对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,都不脱离本发明技术方案的精神和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围内。

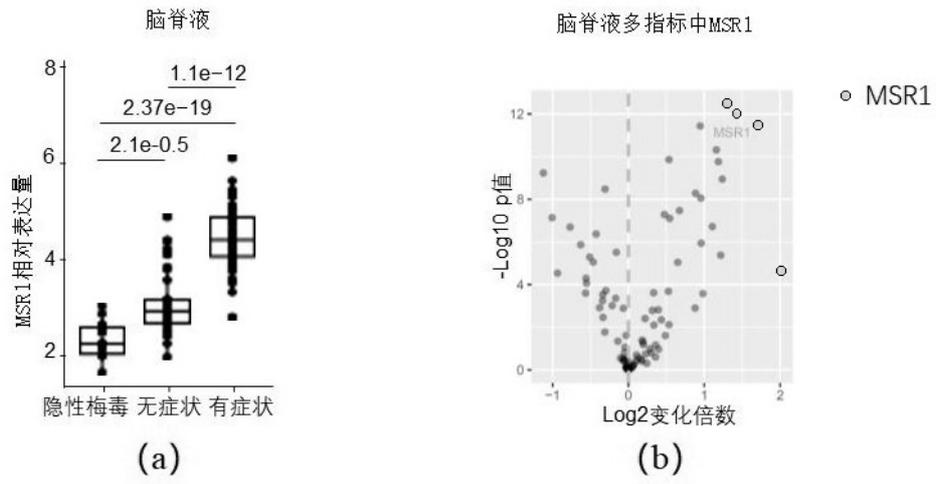


图 1

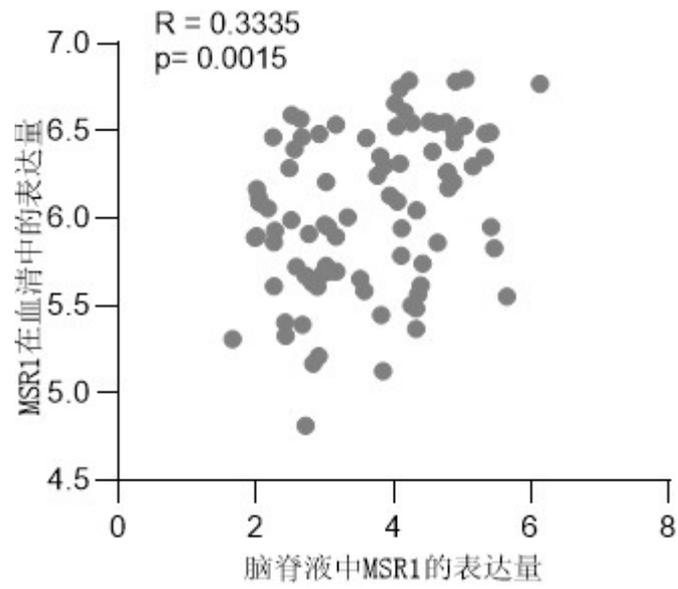


图 2

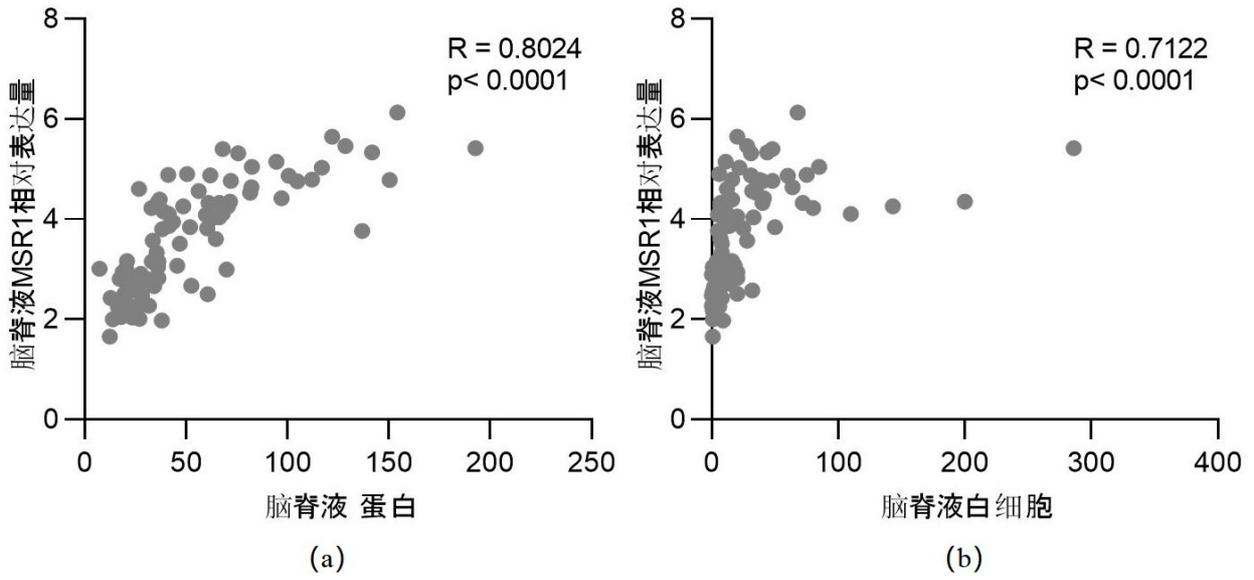


图 3

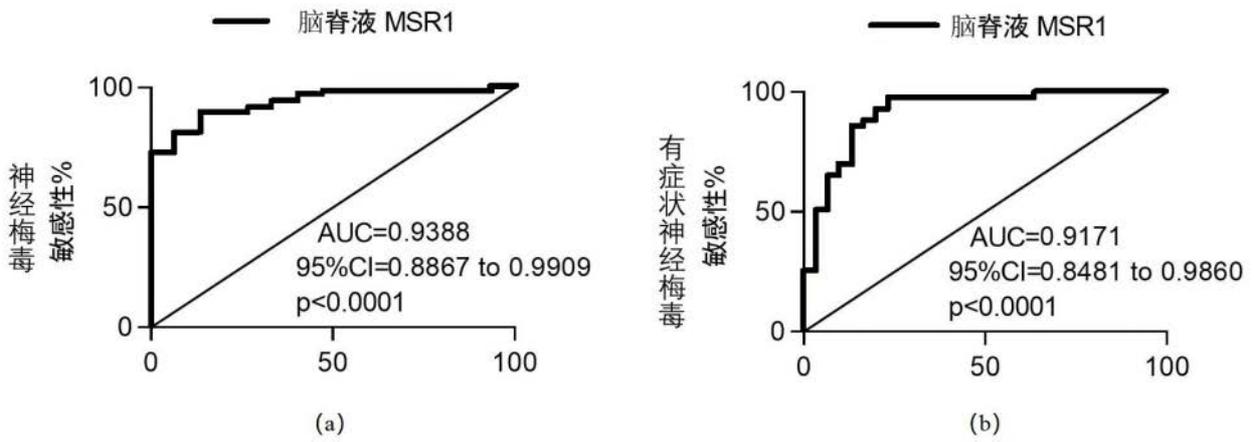


图 4

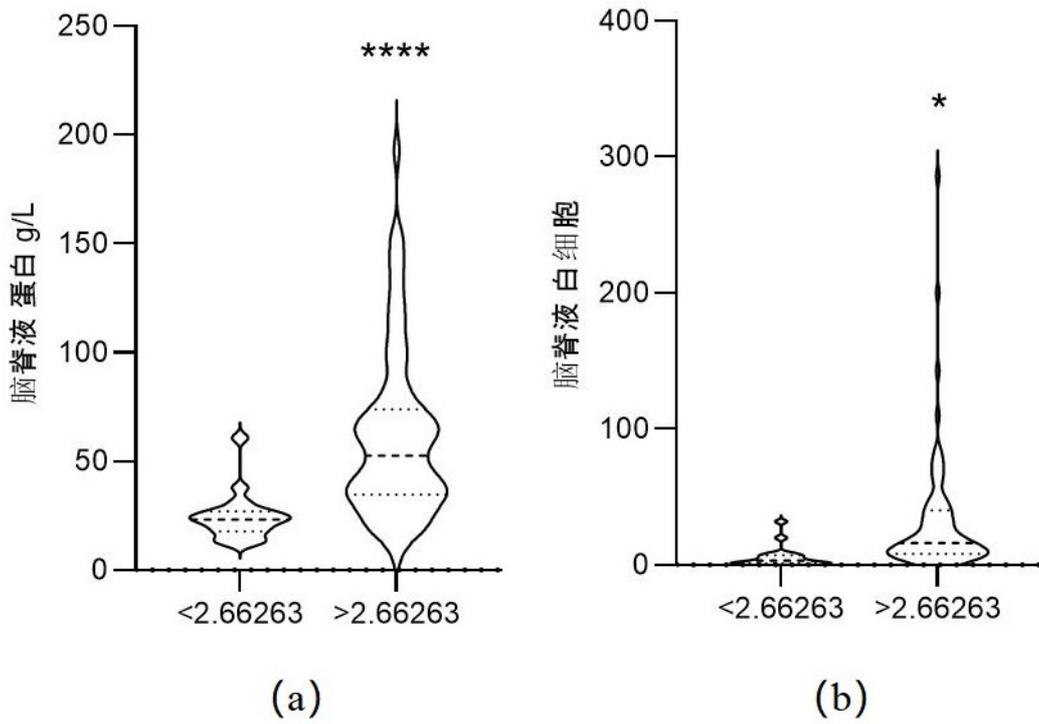


图 5

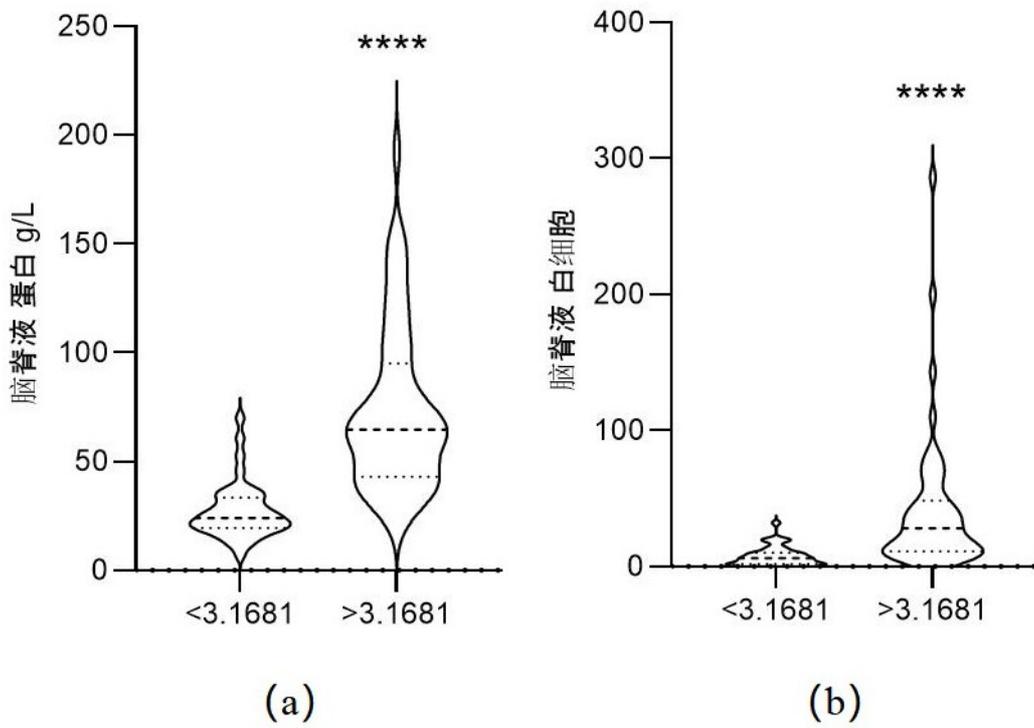


图 6