

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.19.022

不同程度宫颈病变患者阴道微生态变化及与 HPV-DNA 的关系

林蓉蓉, 刘 佳, 邱德稳, 曾俊萍

江西省妇幼保健院检验科, 江西南昌 330006

摘 要:**目的** 探讨不同程度宫颈病变患者阴道微生态变化情况及与人乳头瘤病毒 DNA(HPV-DNA)之间的关系。**方法** 选取 2018 年 6 月至 2020 年 6 月该院收治的经病理活检或宫颈液基薄层细胞学检查诊断为宫颈上皮内瘤变及宫颈鳞状细胞癌(CSCC)的患者 509 例为研究对象,并将其分为低度鳞状上皮内病变(LSIL)组 217 例、高度鳞状上皮内病变(HSIL)组 209 例及 CSCC 组 83 例。同时选取未发生宫颈病变的健康育龄女性 272 例为对照组,分别检测 4 组的阴道微生态各项指标[包括加德纳菌、滴虫、孢子、乳酸杆菌、pH 值、白细胞酯酶(LE)、唾液酸苷酶(SNA)],计算 Nugent 评分,检测 HPV-DNA 载量。从所有研究对象中随机选取 261 例,根据 HPV-DNA 检测结果分为 HPV 阴性组(100 例)、HPV 阳性组(161 例),分析 2 组阴道微生态各项指标的情况。**结果** 4 组加德纳菌、滴虫、乳酸杆菌检出率,阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例,以及 LE、SNA 阳性率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);4 组孢子检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。两两比较,HSIL 组加德纳菌检出率高于 LSIL 组及对照组;对照组滴虫检出率高于 HSIL 组及 LSIL 组;CSCC 组乳酸杆菌检出率低于 HSIL 组、LSIL 组及对照组,HSIL 组低于对照组;CSCC 组阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例高于 HSIL 组、LSIL 组及对照组,HSIL 组高于 LSIL 组及对照组;LSIL 组 LE 阳性率低于 CSCC 组、HSIL 组及对照组;HSIL 组 SNA 阳性率高于 LSIL 组及对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HPV 阳性组 Nugent 评分 ≥ 7 分(细菌性阴道炎)、阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例,LE 阳性率、SNA 阳性率均高于 HPV 阴性组,乳酸杆菌检出率则低于 HPV 阴性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而孢子和滴虫的检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 阴道微生态变化可能是导致宫颈病变的主要原因,也可能是 HPV 持续感染及宫颈病变发生、发展的潜在因素。

关键词: 阴道微生态; 人乳头瘤病毒; 低度鳞状上皮内病变; 高度鳞状上皮内病变; 宫颈鳞状细胞癌

中图法分类号:R737.33 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)19-2866-04

Changes of vaginal microecology and its relationship with HPV-DNA in patients with different degrees of cervical lesions

LIN Rongrong, LIU Jia, QIU Dewen, ZENG Junping

Department of Clinical Laboratory, Jiangxi Maternal and Child Health Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China

Abstract: Objective To investigate the changes of vaginal microecology and its relationship with human papillomavirus DNA (HPV-DNA) in patients with different degrees of cervical lesions. **Methods** A total of 509 patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma (CSCC) diagnosed by pathological biopsy or cervical thinprep cytologic test in the hospital from June 2018 to June 2020 were selected as the study subjects, and they were divided into low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) group (217 cases), high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) group (209 cases) and CSCC group (83 cases). And 272 healthy women of reproductive age without cervical intraepithelial lesion were taken as the control group. Detected the indicators of vaginal microecology [Gardnerella, trichomonas, spores, Lactobacillus, pH value, leukocyte esterase (LE), sialidase (SNA)], calculated Nugent score and detected HPV-DNA viral load of 4 groups. In addition, 261 cases were randomly selected from all study subjects and divided into HPV negative group (100 cases) and HPV positive group (161 cases) according to the results of HPV-DNA, the changes of various indicators of vaginal microecology in the two groups were analyzed. **Results** The detection rates of Gardnerella, trichomonas and Lactobacillus, the proportion of subjects with vaginal pH value ≥ 4.6 ,

作者简介:林蓉蓉,女,主管技师,主要从事临床检验诊断方面的研究。
本文引用格式:林蓉蓉,刘佳,邱德稳,等. 不同程度宫颈病变患者阴道微生态变化及与 HPV-DNA 的关系[J]. 检验医学与临床,2021,18(19): 2866-2869.

and the positive rates of LE and SNA were significantly different among the 4 groups ($P < 0.05$). There was no significant difference in the detection rate of spores in the 4 groups ($P > 0.05$). Pairwise comparison, the detection rate of Gardnerella in the HSIL group was higher than that in the LSIL group and the control group; the detection rate of trichomonas in the control group was higher than that in the HSIL group and the LSIL group; the detection rate of Lactobacillus in the CSCC group was lower than that in the HSIL group, the LSIL group and the control group, and the detection rate of Lactobacillus in the HSIL group was lower than that in the control group; the proportion of subjects with vaginal pH ≥ 4.6 in the CSCC group was higher than that in the HSIL group, the LSIL group and the control group, and the HSIL group was higher than that in the LSIL group and the control group; the positive rate of LE in the LSIL group was lower than that in the CSCC group, the HSIL group and the control group; the positive rate of SNA in the HSIL group was higher than that in the LSIL group and the control group, and the differences were all statistically significant ($P < 0.05$). The proportion of subjects with Nugent score ≥ 7 (bacterial vaginitis), vaginal pH ≥ 4.6 , LE positive rate and SNA positive rate in the HPV positive group were higher than those in the HPV negative group, while the detection rate of Lactobacillus was lower than that in the HPV negative group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The detection rate of spores and trichomonas had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** Vaginal microecological changes may be the main cause of cervical lesions, and it may also be a potential factor for persistent HPV infection and the occurrence and development of cervical lesions.

Key words: vaginal microecology; human papillomavirus; low-grade squamous intraepithelial lesion; high-grade squamous intraepithelial lesion; cervical squamous cell carcinoma

宫颈癌是我国女性最常见的恶性肿瘤之一。近年来,宫颈癌发病呈年轻化趋势,其中宫颈鳞状细胞癌(CSCC)是宫颈癌最常见的一种病理类型。人乳头瘤病毒(HPV)持续感染是宫颈上皮内瘤变(CIN)及宫颈癌发生、发展的主要原因^[1-2]。有研究表明,除 HPV 感染外,阴道微生态也参与了 CIN 及宫颈癌的发生、发展^[3-4]。本研究通过检测 CIN、CSCC 患者阴道分泌物中反映阴道微生态的指标及 HPV-DNA,以探讨不同程度宫颈病变下阴道微生态变化情况及与 HPV-DNA 的潜在关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 6 月至 2020 年 6 月本院收治的经病理活检或宫颈液基薄层细胞学(TCT)检查确诊为低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)、CSCC 的患者共 509 例作为研究对象,其中 217 例 LSIL(CIN 1 级)患者作为 LSIL 组,209 例 HSIL(CIN 2 级、CIN 3 级)患者作为 HSIL 组,83 例 CSCC 患者作为 CSCC 组。另外选取同期 TCT 检查未发生宫颈病变的 272 例健康育龄女性作为对照组。纳入标准:CSCC 组、LSIL 组、HSIL 组患者经病理活检或 TCT 检查分别确诊为 CSCC、LSIL、HSIL;有性生活史;年龄 18~65 岁;未停经者月经结束 3~7 d;近 3 d 无性生活史、阴道疾病治疗史;近 1 个月无抗菌药物服用史。排除标准:CIN 锥切术后,物理治疗后的患者;宫颈癌放化疗后及合并其他疾病的患者。

1.2 方法

1.2.1 阴道微生态检测 所有受试者取膀胱截石位,取 2 根干净棉签,从阴道侧壁上 1/3 处刮取分泌

物。1 根棉签在清洁载玻片上均匀涂抹,革兰染色后常规显微镜镜检,记录加德纳菌、孢子、滴虫、乳酸杆菌等的检出情况,并计算 Nugent 评分(Nugent 评分 ≥ 7 分为 2006 年美国疾病控制与预防中心推荐的实验室细菌性阴道炎诊断金标准);另 1 根棉签采用联合检测试剂盒(干化学酶法)检测 pH 值、白细胞酯酶(LE)、唾液酸苷酶(SNA)。

1.2.2 HPV-DNA 检测 在宫颈管内用采样刷取标本,用 HPV-DNA 专用保存液固定保存,使用杂交捕获实验技术试剂盒检测 HPV-DNA,并记录其具体载量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析。计数资料以频数、率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组受试者阴道微生态指标比较 4 组加德纳菌、滴虫、乳酸杆菌检出率,阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例,以及 LE、SNA 阳性率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),4 组孢子检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。两两比较,HSIL 组加德纳菌检出率(35.9%)高于 LSIL 组(22.1%)及对照组(16.9%);对照组滴虫检出率(4.8%)高于 HSIL 组(0.5%)及 LSIL 组(0.0%);CSCC 组乳酸杆菌检出率(20.5%)低于 HSIL 组(46.4%)、LSIL 组(53.0%)及对照组(59.2%),HSIL 组(46.4%)低于对照组(59.2%);CSCC 组阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例(92.8%)高于 HSIL 组(67.9%)、LSIL 组(49.3%)及对照组(44.5%),HSIL 组(67.9%)高于 LSIL 组(49.3%)

及对对照组(44.5%)；LSIL 组 LE 阳性率(32.3%)低于 CSCC 组(66.3%)、HSIL 组(52.6%)及对照组(45.6%)，对照组(45.6%)低于 CSCC 组(66.3%)；HSIL 组 SNA 阳性率(31.6%)高于 LSIL 组(14.3%)及对照组(15.4%)，差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 HPV 阴性组、HPV 阳性组阴道微生态指标比较 从所有研究对象中随机选取 261 例，根据 HPV-

DNA 检测结果分为 HPV 阴性组(HPV-DNA ≤ 1)100 例、HPV 阳性组(HPV-DNA > 1)161 例。HPV 阳性组 Nugent 评分 ≥ 7 分(细菌性阴道炎)、阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例，LE 阳性率、SNA 阳性率均高于 HPV 阴性组，而乳酸杆菌检出率则低于 HPV 阴性组，差异均有统计学意义($P<0.05$)；2 组的孢子和滴虫检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 4 组受试者阴道微生态指标比较[n(%)]

组别	n	加德纳菌	孢子*	滴虫*	乳酸杆菌	pH 值 ≥ 4.6	LE 阳性	SNA 阳性
对照组	272	46(16.9)	8(2.9)	13(4.8)	161(59.2)	121(44.5)	124(45.6)	42(15.4)
LSIL 组	217	48(22.1)	11(5.1)	0(0.0) ^a	115(53.0)	107(49.3)	70(32.3) ^a	31(14.3)
HSIL 组	209	75(35.9) ^{ab}	9(4.3)	1(0.5) ^a	97(46.4) ^a	142(67.9) ^{ab}	110(52.6) ^b	66(31.6) ^{ab}
CSCC 组	83	18(21.7)	0(0.0)	1(1.2)	17(20.5) ^{abc}	77(92.8) ^{abc}	55(66.3) ^{ab}	16(19.3)
χ^2		24.380	—	—	39.973	76.246	33.941	25.639
P		<0.01	0.13	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注：* 表示比较采用 Fisher 确切概率法。与对照组比较，^a $P<0.05$ ；与 LSIL 组比较，^b $P<0.05$ ；与 HSIL 组比较，^c $P<0.05$ ；—表示无数据。

表 2 HPV 阴性组(HPV-DNA ≤ 1)、HPV 阳性组(HPV-DNA > 1)阴道微生态指标比较[n(%)]

组别	n	Nugent 评分 ≥ 7 分	乳酸杆菌	pH 值 ≥ 4.6	LE 阳性	SNA 阳性	孢子*	滴虫*
HPV 阴性组	100	14(14.0)	85(85.0)	31(31.0)	36(36.0)	15(15.0)	4(4.0)	1(1.0)
HPV 阳性组	161	44(27.3)	47(29.2)	137(85.1)	129(80.1)	65(40.4)	6(3.7)	2(1.2)
χ^2		6.341	76.858	78.697	51.649	18.682	—	—
P		0.012	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1.000	1.000

注：* 表示比较采用 Fisher 确切概率法；—表示无数据。

3 讨 论

感染 HPV 的患者中，有 15% CIN 1 级、30% CIN 2 级和 45% CIN 3 级患者发展为宫颈癌^[5-6]。研究发现，除 HPV 感染外，其他因素如生殖道感染、阴道微生态失衡、吸烟、性伴侣过多、过早性生活等对 CIN 及宫颈癌的发生、发展起到一定作用^[3-4]。女性阴道微生态系统是由解剖结构、微生物群、局部免疫、内分泌调节共同构成^[7]。正常女性阴道内大约有 200 多种微生物，是由不同种类的细菌、真菌、支原体等组成，其中 95% 是乳酸杆菌，这些微生物在阴道环境内形成动态平衡^[8-9]。正常情况下，阴道微生态的动态平衡主要是由以乳酸杆菌为优势菌的各种微生物组成。当阴道菌群的多样性、密集度、优势菌、阴道分泌物白细胞计数、LE 等炎性反应指标、pH 值、SNA、乳酸杆菌功能中任何一项出现异常改变，即称为阴道微生态失衡^[10]。当平衡被打破时，乳酸杆菌数量减少或者功能受损会增加其他病原微生物感染的概率，导致阴道微生态固有的保护机制被破坏^[11]。

有研究发现，重建阴道微生态动态平衡是降低 HPV 感染风险的关键，补充阴道乳酸杆菌有利于 HPV 的清除，且该研究经过 9~30 个月的随访发现，长期使用益生菌治疗 HPV 的治愈率比短期使用益生

菌高出 2 倍^[12-13]。GODOY-VITORINO 等^[14]的研究发现，CIN 3 级病变患者的阴道中出现加德纳菌和奇异菌属的富集，李晴等^[15]研究发现，HSIL 患者阴道菌种结构多样性和复杂性更明显，其中短普雷沃菌、加德纳菌和犬布鲁氏菌的长期存在与 HPV 持续感染并进展至 HSIL 密切相关。也有研究发现，正常的阴道 pH 值可能逆转 CIN 的进展^[16]。在宫颈癌前病变患者行宫颈环形电刀切除术(LEEP)后应用阴道用乳酸杆菌活菌胶囊治疗可降低阴道微生态各项指标(pH 值 ≥ 4.6 、SNA、H₂O₂ 和 LE)的阳性率，可减少阴道感染的发生，进而减少 HPV 感染的机会^[17-18]。检出加德纳菌、SNA 阳性是诊断细菌性阴道炎的两个重要条件，本研究结果显示，HSIL 组加德纳菌检出率、SNA 阳性率较 LSIL 组及对照组高，差异有统计学意义($P<0.05$)，提示 HSIL 组较 LSIL 组、对照组细菌性阴道炎的发生风险增加。CSCC 组乳酸杆菌检出率(20.5%)低于 HSIL 组(46.4%)、LSIL 组(53.0%)及对照组(59.2%)，差异有统计学差异($P<0.05$)，说明随着宫颈病变严重程度的增加，乳酸杆菌逐渐减少，杂菌逐渐增多。CSCC 组阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例(92.8%)高于 HSIL 组(67.9%)、LSIL 组(49.3%)及对照组(44.5%)，HSIL 组(67.9%)高

于 LSIL 组(49.3%)及对照组(44.5%),差异有统计学差异($P<0.05$),结果提示,随着宫颈病变的加重, pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例也在增加,说明乳酸杆菌的功能受损加重。LE 是阴道炎症指标,本研究 LSIL 组 LE 阳性率(32.3%)低于 CSCC 组(66.3%)、HSIL 组(52.6%),差异有统计学意义($P<0.05$),结果提示 HSIL 组和 CSCC 组炎症反应更重。4 组的孢子检出率差异无统计学意义($P>0.05$),对照组滴虫检出率高于 HSIL 组及 LSIL 组($P<0.05$),提示霉菌性阴道炎、滴虫性阴道炎并不会随着宫颈病变程度的加重而出现阳性率增加的情况。

本研究还比较了 HPV 阳性组和 HPV 阴性组阴道微生态的差异,结果显示,HPV 阳性组 Nugent 评分 ≥ 7 分(细菌性阴道炎)、阴道 pH 值 ≥ 4.6 的受试者比例,LE 阳性率、SNA 阳性率均高于 HPV 阴性组,而乳酸杆菌检出率则低于 HPV 阴性组,差异均有统计学意义($P<0.05$);而 2 组孢子和滴虫的检出率差异无统计学意义($P>0.05$),提示阴道微生态与 HPV 感染关系密切。宫颈癌与阴道微生态关系的研究尚处于初步阶段,有待更多的研究去证实二者之间的关联。明确 HPV、阴道微生态与 CIN、宫颈癌的相互关系,可能会为预防、治疗 HPV 感染及降低宫颈癌的发病率提供一个新方向。

综上所述,阴道微生态变化可能是导致宫颈病变的主要原因,也可能是 HPV 持续感染及宫颈病变发生、发展的潜在因素。

参考文献

- [1] 王颖. 宫颈癌发病相关因素的研究分析[J]. 实用预防医学, 2014, 21(3): 345-347.
- [2] DEPUYDT C E, JONCKHEERE J, BERTH M, et al. Serial type-specific human papillomavirus (HPV) load measurement allows differentiation between regressing cervical lesions and serial virion productive transient infections[J]. Cancer Med, 2015, 4(8): 1294-1302.
- [3] 冯顺. 探析宫颈癌的危险因素分析及预防保健[J/CD]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2018, 5(19): 11-14.
- [4] 蒋燕明, 李力. 宫颈上皮内瘤变的进展预警[J]. 国际妇产科学杂志, 2018, 45(1): 71-75.
- [5] KURMYSHKINA O V, KOVCHUR P I, VOLKOVA T O. Drawing a molecular portrait of CIN and cervical cancer: a review of GenomeWide molecular profiling data[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(11): 4477-4487.
- [6] SMELOV V, ELFSTRÖM K M, JOHANSSON A L, et al. Long-term HPV type-specific risks of high-grade cer-

- vical intraepithelial lesions: a 14-year follow-up of a randomized primary HPV screening trial[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): 1171-1180.
- [7] MARTIN D H. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease[J]. Am J Med Sci, 2012, 343(1): 2-9.
- [8] PIERSSMA S J. Immunosuppressive tumor microenvironment in cervical cancer patients[J]. Cancer Microenviron, 2011, 4(3): 361-375.
- [9] BHANDARI P, PRABHA V. Evaluation of pro-fertility effect of probiotic Lactobacillus plantarum 2 621 in a murine model[J]. Indian J Med Res, 2015, 142(1): 79-84.
- [10] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道微生态评价的临床应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(10): 721-723.
- [11] AUDIRAC-CHALIFOUR A, TORRES-POVEDA K, BAHENA-ROMÁN M, et al. Cervical microbiome and cytokine profile at various stages of cervical cancer: a pilot study[J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0153274-e0153297.
- [12] PALMA E, RECINE N, DOMENICI L, et al. Long-term lactobacillus rhamnosus BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1): 13-19.
- [13] ZHENG J J, SONG J H, YU C X, et al. Difference in vaginal microecology, local immunity and HPV infection among childbearing-age women with different degrees of cervical lesions in Inner Mongolia [J]. BMC Womens Health, 2019, 19(1): 109-116.
- [14] GODOY-VITORINO F, ROMAGUERA J, ZHAO C Y, et al. Cervicovaginal fungi and bacteria associated with cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infections in a hispanic population [J]. Front Microbiol, 2018, 9(10): 2533-2544.
- [15] 李晴, 汪艳珠, 李欢梓, 等. HPV 感染及高级别 CIN 患者阴道微生态研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(11): 1457-1460.
- [16] CLARKE M A, RODRIGUEZ A C, GAGE J C. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection [J]. BMC infect Dis, 2012, 12(1): 33-41.
- [17] 闵秋思, 徐琳, 李秋萍, 等. 阴道微生态与宫颈 HPV 感染及 CIN 相关性研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(12): 2147-2149.
- [18] 陈忆, 李柱南, 张峥嵘, 等. 阴道用乳杆菌活菌胶囊在宫颈癌前病变 LEEP 术后应用价值的临床研究[J]. 中国微生态杂志, 2018, 30(7): 832-835.

(收稿日期: 2020-12-16 修回日期: 2021-07-09)