

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.01.022

阴道内环境、阴道病原体感染性疾病与高危型 HPV 感染的相关性研究

李 磊¹, 王月妹¹, 吴 娟^{2△}

1. 上海市静安区市北医院检验科, 上海 200435; 2. 上海市皮肤病医院性病科, 上海 200443

摘 要: **目的** 探讨阴道内环境、阴道病原体感染性疾病与高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)感染的相关性。**方法** 选择 2020 年 8—12 月在上海市静安区市北医院妇科及皮肤性病科门诊就诊的 221 例女性患者, 根据人乳头瘤病毒(HPV)-DNA 基因分型结果分为研究组和对照组。检测两组研究对象病原体感染情况及阴道内环境相关指标(pH 值、H₂O₂、白细胞酯酶、唾液酸苷酶), 并进行统计分析。**结果** 221 例患者分为研究组 173 例, 对照组 48 例。14 种 HR-HPV 基因型检测结果显示, 较常见的感染类型为 HPV52(46 例, 20.8%)、HPV16(29 例, 13.1%)、HPV58(29 例, 13.1%)。221 例患者中诊断为细菌性阴道病(BV)、滴虫性阴道炎(TV)、念珠菌性阴道炎(VVC)的患者例数分别为 108 例(48.9%)、5 例(2.3%)、60 例(27.1%)。研究组 BV、VVC 患者比例明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。二元 Logistic 回归分析结果显示, 合并 VVC 是 HR-HPV 感染的危险因素($P < 0.05$)。**结论** VVC 是 HR-HPV 感染的危险因素, 而 BV 与 HR-HPV 感染无关。

关键词: 阴道内环境; 高危型人乳头瘤病毒; 菌群失调

中图分类号: R711.31

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)01-0093-04

Correlation between vaginal internal environment and vaginal pathogens caused infectious diseases with high-risk human papillomavirus infection

LI Lei¹, WANG Yuemei¹, WU Juan^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, Jing'an District Shibei Hospital, Shanghai 200435, China;

2. Department of Sexually Transmitted Diseases, Shanghai Municipal

Dermatological Hospital, Shanghai 200443, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the vaginal internal environment and vaginal pathogens caused infectious diseases with high-risk human papillomavirus (HR-HPV) infection. **Methods** A total of 221 female patients treated in the Department of Gynecology and Department of Dermatology and Sexually Transmitted Diseases of Jing'an District Shibei hospital from August to December, 2020 were collected and divided into the study group and control group according to the results of HPV-DNA genotyping. The pathogenic infection situation and vaginal internal environment related indicators (pH value, H₂O₂, leucocyte esterase, sialidase) were detected in the two groups. Then the statistical analysis was performed. **Results** Among 221 cases, 173 cases were in the study group and 48 cases were in the control group. The 14 kinds of HR-HPV genotype detection results showed that the more common infection types were HPV52(46 cases, 20.8%), HPV16(29 cases, 13.1%) and HPV58(29 cases, 13.1%). Among 221 cases, 108 cases (48.9%) were diagnosed as bacterial vaginosis (BV), 5 cases (2.3%) as trichomonad vaginitis (TV) and 60 cases (27.1%) as vulvovaginal candidiasis (VVC). The proportion of the patients of BV and VVC in the study group were higher than those in the control group, and the difference were statistically significant ($P < 0.05$). The binary Logistic regression analysis results showed that complicating VVC was the risk factor for HR-HPV infection ($P < 0.05$). **Conclusion** VVC is a risk factor of HR-HPV infection, while BV has no relation with HR-HPV infection.

Key words: vaginal internal environment; high-risk human papillomavirus; flora imbalance

宫颈癌是女性最常见的下生殖道恶性肿瘤, 全球 每年新诊断宫颈癌近 53 万例, 其中超过 13 万例患者

来自中国^[1]。高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)感染是引起宫颈癌和癌前病变的最主要因素,几乎全部的宫颈癌病理组织及接近 90%的宫颈上皮内瘤变中能检测出 HR-HPV 感染^[2]。对于大多数女性来说,人乳头瘤病毒(HPV)感染是短暂的,HPV 可以被宿主自行清除。然而,仍有 5%~10%的 HPV 感染不能被清除,它们会成为导致宫颈癌和其他类型癌症的持续性感染^[2]。阴道内环境为阴道内正常的定植菌群、宫颈阴道解剖结构、宿主免疫功能及体内外环境之间构成一个重要的微生态。在正常情况下,女性阴道内环境处于平衡状态,当非优势菌群或病原体繁殖时,优势菌群不再为乳酸杆菌,动态平衡被打破,容易被外来微生物侵袭^[3]。目前越来越多的研究发现,阴道菌群失衡、pH 值变化、清洁度改变等阴道内环境动态失衡后导致的一些生殖道感染性疾病在某种程度上与 HPV 感染、宫颈上皮内瘤变及宫颈癌有关联^[4-5]。通过深入探讨阴道内环境、阴道感染与宫颈 HPV 感染之间相互作用,可为宫颈癌预防、治疗提供更多有力依据。国内外关于 HPV 感染与阴道内环境、阴道感染的相关性研究较少,尤其是缺乏大样本量的研究。因此,本研究选择上海市静安区市北医院 2020 年 8—12 月收治的妇科及皮肤性病科门诊女性患者,着重分析阴道病原体感染性疾病及阴道内环境与 HR-HPV 感染的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 8—12 月在上海市静安区市北医院妇科及皮肤性病科门诊就诊的女性患者 221 例,年龄 17~65 岁,平均(43.0±13.8)岁,通过采集阴道分泌物检测阴道内环境(pH 值、H₂O₂、白细胞酯酶、唾液酸苷酶)、阴道病原体及 HPV 分型。所有患者均满足以下标准:(1)月经规律,有性生活史;(2)怀疑 HR-HPV 感染和阴道内感染;(3)确诊前 1 周,无性行为史,未使用阴道塞及进行阴道冲洗等治疗;(4)非月经期;(5)近期末行 HPV 分型检测。排除标准:(1)因其他疾病行全子宫切除术;(2)怀孕;(3)有严重恶性肿瘤、艾滋病及其他免疫缺陷疾病。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 (1)阴道病原体检测标本的取样:患者取膀胱截石位,将扩阴器润滑后放入阴道内暴露子宫颈,以干棉签从阴道上 1/3 侧壁取材,在清洁载玻片上均匀涂抹;另取 1 根棉签于相同部位刮取分泌物,置于试管内。(2)HPV 检测标本的取样:用扩阴器暴露子宫颈,棉拭子将子宫颈口过多的分泌物擦去,使用专用的子宫颈刷置于子宫颈管内,顺时针旋转 3~5 周,然后抽出子宫颈刷,将其放入装有保存液的标本管中,由检验医师检测及报告结果。在采集标本前均取得患者的知情同意。主要试剂:阴道炎联合

检测试剂盒、HR-HPV 分型核酸检测试剂盒。

1.2.2 阴道病原体及阴道内环境检测 (1)滴虫:生理盐水湿片于低倍镜下观察有无滴虫、孢子等。(2)细菌:取阴道分泌物涂片置于高倍显微镜下观察线索细胞数量,取少许阴道分泌物放到载玻片上,加入 10%氢氧化钾 1~2 滴进行胺试验。(3)念珠菌:将取得的分泌物放到载玻片上,加 10%氢氧化钾,盖上一片薄且平的玻璃片于显微镜下观察。(4)pH 值、H₂O₂、唾液酸苷酶、白细胞酯酶:取阴道分泌物涂在联合检测试剂盒上进行检测。阳性判定标准:(1)阴道病原体感染性疾病,参照细菌性阴道病(BV)、滴虫性阴道炎(TV)、念珠菌性阴道炎(VVC)^[6]诊断标准。(2)阴道内环境指标(pH 值,以及 H₂O₂、唾液酸苷酶、白细胞酯酶)阳性判定标准,根据阴道炎联合检测试剂盒(干化学酶法,江苏硕世生物科技股份有限公司)说明书判定结果。

1.2.3 HPV 分型检测 (1)检测步骤:参照试剂盒[HR-HPV 分型核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法),上海之江生物科技股份有限公司]说明书提取子宫颈细胞 DNA 于 ABI7500 荧光 PCR 检测仪(Applied Biosystems,美国)进行 PCR 扩增,最后收集荧光信号,分析、判断 HPV 的型别。(2)阳性判定标准:对照试剂盒说明书,通过分析各孔中 HPV 核酸荧光 PCR 检测混合液对应荧光通道的 Ct 值及扩增曲线,判断该型 HPV 检测阳性,共 14 种 HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68),结果为单一或者混合 HR-HPV 感染。

1.2.4 分组 根据 HPV-DNA 分型结果分组,HR-HPV 阳性者为研究组,HR-HPV 阴性者为对照组。

1.3 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件进行数据处理和统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用二元 Logistic 回归分析 HR-HPV 感染的危险因素,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HR-HPV 检测结果 14 种 HR-HPV 基因型检测结果显示,221 例研究对象中 HR-HPV 感染 173 例(78.3%),较常见的感染类型分别为 HPV52(46 例,20.8%)、HPV16(29 例,13.1%)、HPV58(29 例,13.1%)。相对其他型别的 HR-HPV,HPV31、HPV35 更易出现单一感染,而 HPV45 及 HPV66 更易与其他类型共同感染。见表 1。

2.2 阴道内环境、阴道病原体感染性疾病与 HR-HPV 感染关系 根据 HPV-DNA 基因分型结果分组,研究组 173 例,对照组 48 例。两组年龄差异无统计学意义[(42.0±13.8)岁 vs. (44.5±13.9)岁, $P>0.05$]。221 例研究对象中诊断为 BV、TV、VVC 的患

者例数分别为 108、5、60 例,占总人数的 48.9%、2.3%、27.1%;pH 值 ≥ 4.8 ,H₂O₂、白细胞酯酶、唾液酸苷酶检测阳性例数分别为 130、99、123、42 例,占总人数的 58.8%、44.8%、55.7%、19.0%。研究组 BV 及 VVC 患者比例高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),而两组阴道内 pH 值 ≥ 4.8 ,H₂O₂、白细胞酯酶、唾液酸苷酶阳性,TV 患者比例差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 HR-HPV 各型别检测结果[n(%)]

HR-HPV 基因型	感染 ^a	单一感染 ^b	与其他类型合并感染 ^c
HPV16	29(13.1)	16(55.2)	13(44.8)
HPV18	8(3.6)	4(50.0)	4(50.0)
HPV31	7(3.2)	6(85.7)	1(14.3)
HPV33	12(5.4)	7(58.3)	5(41.7)
HPV35	7(3.2)	5(71.4)	2(28.6)
HPV39	16(7.2)	10(62.5)	6(37.5)
HPV45	2(0.9)	0(0.0)	2(100.0)
HPV51	23(10.4)	12(52.2)	11(47.8)
HPV52	46(20.8)	30(65.2)	16(34.8)
HPV56	19(8.6)	10(52.6)	9(47.4)
HPV58	29(13.1)	19(65.5)	10(34.5)
HPV59	14(6.3)	5(35.7)	9(64.3)
HPV66	16(7.2)	4(25.0)	12(75.0)
HPV68	4(1.8)	2(50.0)	2(50.0)

注:^a 为各型 HR-HPV 感染人数占 221 例研究对象的百分比;^b 为各型 HR-HPV 单一感染人数占各型 HR-HPV 感染人数的百分比;^c 为各型 HR-HPV 混合感染人数占各型 HR-HPV 感染人数的百分比。

表 2 阴道病原体感染性疾病患病情况及阴道内环境指标阳性率在两组间比较[n(%)]

项目	合计 (n=221)	研究组 (n=173)	对照组 (n=48)	P
BV	108(48.9)	91(52.6)	17(35.4)	<0.05
TV	5(2.3)	5(2.9)	0(0.0)	0.52
VVC	60(27.1)	56(32.4)	4(8.3)	<0.05
pH 值 ≥ 4.8	130(58.8)	98(56.6)	32(66.7)	0.112
H ₂ O ₂ 阳性	99(44.8)	72(41.6)	27(56.3)	0.101
白细胞酯酶阳性	123(55.7)	93(53.8)	30(62.5)	0.360
唾液酸苷酶阳性	42(19.0)	34(19.7)	8(16.7)	0.796

2.3 HR-HPV 感染的危险因素分析 以是否存在 HR-HPV 感染为因变量,以合并 BV、VVC 为自变量,二元 Logistic 回归分析结果显示,VVC 是 HR-HPV 感染的危险因素,当合并 VVC 时,HR-HPV 感染风险为非感染者的 5.122 倍(95%CI:1.74~15.078, $P<0.05$)。而其他指标均不是 HR-HPV 感

染的危险因素($P>0.05$)。见表 3。

表 3 HR-HPV 感染的多因素二元 Logistic 回归分析

变量	B	SE	Wald χ^2	P	OR	95%OR	
						下限	上限
VVC	1.633	0.551	8.792	0.003	5.122	1.740	15.078
BV	0.425	0.346	1.515	0.218	1.530	0.777	3.012
常数	0.833	0.247	11.413	0.001	2.301	—	—

注:—表示无数据。

3 讨 论

HPV 是一类无包膜的球形小 DNA 病毒,其感染的细胞有两种存在形式:自由状态和整合状态。目前已发现超过 100 种不同类型的 HPV,其中 40 种可以感染生殖道^[7]。根据 HPV 诱发子宫颈癌的能力,它们又被分为低风险和高风险类别,低风险 HPV-DNA 在宿主细胞中相对游离,而大多数高风险 HPV-DNA 则整合到宿主基因组中,易导致基因缺失和突变,干扰癌基因和抑癌基因的表达,引起宫颈上皮内瘤变和侵袭性癌的发生。HR-HPV 筛查已成为宫颈癌前病变治疗和一级预防的重点^[7-8]。本研究发现,173 例 HPV 感染者中最常见的感染类型分别为 HPV52、HPV16、HPV58,这也是目前我国最常见的 HPV 感染类型,且 HPV58、HPV16、HPV52 病毒载量及持续感染与宫颈上皮内瘤变Ⅱ、Ⅲ级密切相关^[9-11],尤其是 HPV58 的感染率在我国的宫颈上皮内瘤变Ⅱ、Ⅲ级或者宫颈癌患者中为 90%^[11]。

BV、TV 和 VVC 是目前最常见的阴道感染性疾病,感染各种类型的病原体可促使厌氧菌增殖,而厌氧菌及其代谢物可降解宫颈黏液,刺激阴道上皮细胞,并影响阴道内环境的天然防御功能。天然防御机制一旦被打破,会增加女性其他生殖道感染的风险^[12-13]。有研究表明,阴道感染者菌群失调会促进 HPV 持续感染^[14]。本研究发现,相对于非 HR-HPV 感染者,HR-HPV 感染者 BV 及 VVC 比例显著增高($P<0.05$),然而两组间 TV 患者比例差异无统计学意义($P>0.05$)。大量研究证实 BV 与 HPV 感染密切相关^[14-15],BV 是成年女性最常见的阴道感染疾病,厌氧菌过度生长和伴随阴道 pH 值升高(>4.8),一方面使微生态环境改变及阴道防御能力下降,另一方面 BV 患者阴道分泌物中唾液酶增加,破坏保护性黏膜屏障,导致上皮细胞微损伤或改变,增加宫颈 HPV 的易感性^[15],从而促进 HPV 感染及持续存在状态。但本研究二元 Logistic 回归分析发现,以 BV、VVC 阴性为控制值,结果显示 BV 感染并不是 HR-HPV 感染的独立危险因素,BV 和 HPV 之间的关系仍需大样本临床数据进一步探讨及证实。

念珠菌是另一种常见的机会性阴道致病微生物,仅在机体免疫力低下或者阴道酸性环境改变的情况

下易患 VVC^[16-17]。LIANG 等^[18]的一项回顾性 Meta 分析发现,VVC 与 HPV 感染无相关性,同时念珠菌感染有助于机体减少 HPV 感染的概率。WANG 等^[19]对 4 449 例患者的分析也发现,VVC 与 HPV 感染无相关性,推测可能的原因是念珠菌感染的女性可能具有以乳酸杆菌为主的阴道微生物菌群,阴道内环境未发生明显改变,因此,更不容易感染 HPV^[19]。但在笔者的研究中发现,173 例 HR-HPV 感染者中 VVC 患者人数为 56 例,占 32.4%,而 48 例非 HR-HPV 感染人群中仅有 4 例感染 VVC,占 8.3%,研究组 VVC 患者比例显著高于对照组,且 OR 为 5.122,合并 VVC 是 HR-HPV 感染的危险因素。与以上研究结果不一致可能和样本类型及例数有关,VVC 与 HPV 之间的关系仍需大样本临床数据进一步证实。TV 和 HPV 感染之间的关系尚存争议,本研究发现 TV 与 HR-HPV 感染无关,这与 LIANG 等^[18]的研究结果一致。

有研究表明,阴道内 pH 值与 HPV 持续性感染及宫颈上皮内瘤变发展至宫颈癌密切相关^[18]。还有研究针对 9 165 例女性患者展开的一项临床研究发现,阴道 pH 值不仅与 HPV 感染有关,而且与年龄密切相关^[20],但本研究发现 pH 值与 HR-HPV 感染无关,可能由于本研究样本量小且研究受到横断面调查的限制,阴道感染和 HR-HPV 感染的的数据为同时收集。阴道感染、阴道内环境失衡和 HPV 感染之间的关系,尚待进一步的纵向研究和分子研究。

综上所述,VVC 与 HR-HPV 感染有关,而合并 BV、TV、pH 值、年龄与 HR-HPV 感染无关。

参考文献

- [1] 孟令昊,胥秋艳,李科,等. 1990—2019 年中国女性宫颈瘤疾病负担变化的分析[J]. 中国询证医学杂志,2021,21(6):648-653.
- [2] 李盛勇,牛犇,张帝开. 阴道微生态改变与 HPV 感染的相关性[J]. 海南医学,2019,30(9):1147-1150.
- [3] 岳红霞. 妊娠期阴道内环境改变与霉菌性阴道炎的相关性分析[J]. 首都食品与医药,2019,26(10):19-21.
- [4] 王爱喜. 宫颈癌患者阴道内环境及菌群检测结果分析[J]. 河南医学研究,2018,27(3):428-430.
- [5] CHENG W, XU F, GAO L, et al. The correlation between the determination of vaginal micro-ecological composition and the outcome of HPV infection by high-throughput metagenome sequencing information technology on the illumina platform[J]. J Infect Public Health, 2020, 13(12): 1961-1966.
- [6] 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.
- [7] LONG W, YANG Z, LI X, et al. HPV-16, HPV-58, and HPV-33 are the most carcinogenic HPV genotypes in Southwestern China and their viral loads are associated with severity of premalignant lesions in the cervix [J]. Virol J, 2018, 15(1):94.
- [8] 孙大伟,黄健,耿建祥,等. 女性生殖道疾病 HPV 感染型别的对比分析[J]. 东南国防医药,2022,24(2):128-132.
- [9] ZHANG J, CHENG K, WANG Z. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia in China: a Meta-analysis [J]. Arch Gynecol Obstet, 2020, 302(6):1329-1337.
- [10] LI K, LI Q, SONG L, et al. The distribution and prevalence of human papillomavirus in women in Chinese mainland[J]. Cancer, 2019, 125(7):1030-1037.
- [11] NASIOUDIS D, LINHARES I, LEDGER W, et al. Bacterial vaginosis; a critical analysis of current knowledge [J]. BJOG, 2017, 124(1):61-69.
- [12] 陈燕明. 解脲支原体、沙眼衣原体及淋球菌联合检测在女性泌尿生殖道感染诊断中的价值[J]. 中国医药指南, 2020, 18(22):111-113.
- [13] 张国英. 女性 1 000 例生殖道感染性疾病病原学分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(10):2396-2397.
- [14] GILLET E, MEYS J F, VERSTRAELEN H. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and Meta-analysis [J]. PLoS One, 2012, 7(10):e45201.
- [15] MITRA A, MACINTYRE D A, MARCHESI J R, et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next[J]. Microbiome, 2016, 4(1):58.
- [16] WILLEMS H M E, AHMED S S, LIU J, et al. Vulvovaginal candidiasis: a current understanding and burning questions[J]. J Fungi (Basel), 2020, 6(1):27.
- [17] BLOSTEIN F, LEVIN-SPARENBERG E, WAGNER J, et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis [J]. Ann Epidemiol, 2017, 27(9):575-582.
- [18] LIANG Y, CHEN M, QIN L, et al. A Meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia [J]. Infect Agent Cancer, 2019, 14:29.
- [19] WANG W, ZHANG X H, LI M, et al. Association between vaginal infections and the types and viral loads of human papillomavirus: a clinical study based on 4 449 cases of gynecologic outpatients [J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2020, 2020:9172908.
- [20] 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.