

阴道微环境改变与宫颈病变的相关性分析

杨少岩¹, 吴潇¹, 李杰¹, 赵卫东^{1,2}

(1. 安徽医科大学附属省立医院妇产科, 合肥 230001; 2. 安徽省肿瘤医院妇科科)

[摘要] **目的** 探讨阴道微环境改变与宫颈病变的相关性。**方法** 选取门诊就诊妇女为研究对象。根据病理学结果分组, 研究组 159 例为宫颈组织病理学结果提示宫颈癌和低级别、高级别鳞状上皮内病变患者, 对照组 159 例为宫颈组织病理学结果正常就诊者。检测两组研究对象阴道分泌物中人类乳头瘤病毒 (HPV)、病原体及阴道微生态指标, 结合病理结果进行比较分析。**结果** 研究组中 HPV、细菌性阴道病、需氧型阴道炎、滴虫检出率分别为 88.05%、39.62%、33.33% 和 13.21%, 明显高于对照组 ($P < 0.05$)。研究组患者阴道分泌物清洁度 III-IV 度、pH > 4.5、菌群多样性异常 (I、IV 级) 和过氧化氢阳性的比例分别为 50.31%、55.35%、59.75% 和 72.33%, 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** 阴道内病原体感染可能增加宫颈病变发生, 阴道微环境改变是参与宫颈病变发生发展的重要因素之一。

[关键词] 宫颈疾病; 阴道涂片

中图分类号: R711.74

文献标识码: A

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2017.03.006

Correlation between cervical cancer and squamous intraepithelial lesion with the vaginal microenvironment changes Yang Shaoyan*, Wu Xiao, Li Jie, Zhao Weidong (* Department of Obstetrics and Gynecology, Anhui Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

Corresponding author: Zhao Weidong, Email: victorzhao@163.com

[Abstract] **Objective** To research the correlation between cervical cancer and squamous intraepithelial lesion with the imbalance of vaginal microenvironment. **Methods** A total of 318 outpatients were assigned into two groups, of which 159 women diagnosed with cervical cancer or squamous intraepithelial lesion by pathology were selected as experimental group, and the other 159 women without cervical lesions were selected as control group. **Results** The detection rates of HPV, BV, AV, trichomonas of experiment group were 88.05%, 39.62%, 33.33% and 13.21% respectively, which significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). Proportion of experiment group with level III-IV of vaginal cleanliness, pH value exceed 4.5, level I or IV of flora diversity and H2O2 positive were 50.31%, 55.35%, 59.75% and 72.33% respectively, which were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). **Conclusion**

Pathogen infection in vagina may increase the possibility of cervical lesions. Imbalance of Vaginal microenvironment may be one of the important factors of cervical lesions.

[Key words] Uterine cervical diseases; Vaginal smears

宫颈癌是威胁女性健康和生命的恶性肿瘤, 高危型别人乳头瘤病毒的持续感染与宫颈癌和癌前病变密切相关^[1]。阴道微环境为阴道内正常的定植菌群、宿主免疫能力、体内外环境与宫颈阴道解剖结构之间构成动态平衡的微生态系统。正常情况下, 女性阴道微环境处于平衡状态, 当非优势菌群或病原体大量繁殖, 平衡被打破, 容易引起细菌性、念珠

菌性和滴虫性阴道炎等常见下生殖道感染性疾病^[2]。随着分子生物学及流行病学研究的深入, 阴道微生态平衡改变与宫颈癌的关系开始受到关注^[3]。目前国内关于阴道微生态平衡改变是否与宫颈病变相关的综合评价相对较少。本文通过对宫颈病变患者与宫颈正常女性的常见生殖道感染和阴道微生态相关指标进行检测与分析, 探究阴道微环境改变与宫颈癌的发生发展是否具有相关性, 为宫颈癌的病因学研究提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 1 月至 7 月期间安徽

基金项目: 安徽省科技厅资助项目 (16040804010)

作者简介: 杨少岩, 硕士在读, Email: yang20130914@163.com

通信作者: 赵卫东, 主任医师, 硕士生导师, Email: victorzhao@163.com

医科大学附属省立医院妇产科门诊就诊妇女,年龄21~63岁。研究组159例,鳞状上皮内病变(SIL)诊断标准参照 Bethesda Pathology 中的二级分类命名法:低级别鳞状上皮内病变(LSIL),包括鳞状上皮内瘤变(CIN) I、轻度非典型性增生、扁平湿疣以及挖空细胞等;高级别鳞状上皮内病变(HSIL),包括 CIN II、CIN III,中、重度非典型性增生以及鳞状上皮原位癌。根据宫颈病变程度分为 LSIL、HSIL 和宫颈癌三组,其中宫颈癌组22例,LSIL组59例,HSIL组78例。对照组为1:1配比选取的159例同时期已经病理结果排除宫颈病变的就诊妇女。所有研究对象均通过阴道镜下宫颈组织活检病理结果确诊。

1.2 研究方法 采用阴道微生态检测系统(山东仕达思 Comet-600)和微生物四联检试剂盒,采集上述两组妇女阴道分泌物样本,将取样结果进行阴道微生态系统检测与评价。微生态检测项目包括分泌物湿片镜检、革兰染色、干化学分析和阴道微生态评价结论和评估意见。

1.2.1 取样 样本采集为非经期,取样前24 h无性交、坐浴,无阴道检查、灌洗及用药史。采用一次性棉签拭子(2支)在阴道穹窿后部进行分泌物采集。一支用于制作分泌物涂布干片,进行快速革兰染色;另一支置于稀释管中加入试剂盒内配备的稀释液进行稀释,取一滴混悬液于玻片上,并覆盖盖玻片,置于相差显微镜下观察;另取稀释液分别加入阴道微生态检测干化学板相应检测孔中,置于干化学检测仪器中进行干化学检测。

1.2.2 HPV检测 使用 HPV 检测专用采样刷刷取宫颈管内标本,将取样刷放入保存液固定后送检,进行 HPV-DNA 检测及分型(上海之江),并记录结果。

1.2.3 细菌性阴道病(BV)检测 相差显微镜视野可见线索细胞,革兰染色油镜下可见优势乳杆菌减少,视野中加德纳菌、普雷沃菌和动弯杆菌占主导地位,干化学结果:过氧化氢(H_2O_2)阳性($\leq 2 \mu\text{mol/L}$)、白细胞酯酶(LE)阳性、Nugent 评分 ≤ 3 分阴性,4~6分为BV为弱阳性, ≥ 7 分为BV阳性。

1.2.4 需氧型阴道炎(AV)检测 高倍镜下中性粒细胞增多,出现中毒性颗粒细胞甚至脓细胞;革兰染色乳酸杆菌减少或缺失,革兰阳性(G^+)球菌及肠杆菌科的,革兰阴性(G^-)小杆菌增多;阴道分泌物 pH 值 >4.5 ,LE 阳性,AV 评分 >3 分,则诊断为 AV。

1.2.5 念珠菌与滴虫检测 相差显微镜下湿片见

到菌丝或芽生孢子即可诊断念珠菌感染;显微镜下发现梨形有鞭毛并呈波状运动的滋养体即可诊断滴虫感染。

1.2.6 阴道微生态评价指标检测 阴道分泌物清洁度分为4级, I—II级:乳酸杆菌($2+ \sim 4+$)/HP,杂菌或病原体(-),白细胞/脓细胞($0 \sim 15$)/HP,上皮细胞($2+ \sim 4+$)/HP; III—IV级:乳酸杆菌($0 \sim 1+$)/HP,杂菌或病原体(+),白细胞/脓细胞大于15个/HP,上皮细胞($0 \sim 1/2$ 视野)/HP;菌群的多样性分为4级, I级(+):能辨别1~3种细菌; II级(++):能辨别4~6种细菌; III级(+++):能辨别7~10种细菌; IV级(++++) :能辨别11种及以上细菌。

1.3 诊断标准 符合上述诊断标准即可诊断为相应的病原菌感染及阴道炎症类型;阴道微生态评价指标分别为阴道分泌物清洁度、菌群多样性和病原菌形态学等,并结合分泌物 pH 值、 H_2O_2 、白细胞酯酶和唾液酸酐酶等功能指标,对阴道微生态环境进行全面评价。本研究中将 Nugent 评分 ≥ 4 分归为 BV 阳性诊断;阴道清洁度 I—II 级为正常, III—IV 级为异常;菌群多样性 II—III 级为正常, I 和 IV 级为异常。分泌物中出现病原体即为异常,检出两种或两种以上病原菌为混合感染,本研究将不对混合感染进一步分析。

1.4 统计学处理 使用 sigmaplot 12.0 软件进行数据分析,使用 GraphPadPrism. v5.0 软件进行图表制作,各项指标与宫颈病变发病率相关性分析用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病原体检出率比较 研究组中病原体检出率最高为 HPV,其次是 BV、AV 及念珠菌,滴虫的检出率最低。从 LSIL、HSIL 至宫颈癌组, HPV、BV、AV 和滴虫的检出率均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而研究组中念珠菌的检出率为 21.38%,与对照组的 15.72% 相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。研究组和对照组中病原体检出率比较,见表 1。

2.2 HPV 检出率比较 HPV 感染依据基因型分为高危型和低危型 HPV 感染。研究组中病理类型从 LSIL、HSIL 至宫颈癌组,其高危型 HPV 比例分别为 80.85%、86.11% 和 95.24% 对照组高危型 HPV 比例为 16.13%,研究组和对照组高危型 HPV 比例结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。研究组中病理

表 1 各组中病原体的检出情况[例(%)]

组别	例数	HPV		BV		AV		念珠菌		滴虫	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
对照组	159	31(19.5)	128(80.5)	23(14.5)	136(85.5)	14(8.8)	145(91.2)	25(15.7)	134(84.3)	6(3.8)	153(96.2)
LSIL	59	47(79.7)	12(20.3)	15(25.4)	44(74.6)	16(27.1)	43(72.9)	8(13.6)	51(86.4)	5(8.5)	54(91.5)
HSIL	78	72(92.3)	6(7.7)	34(43.6)	44(56.4)	28(35.9)	50(64.1)	20(25.6)	58(73.4)	11(14.1)	67(85.9)
宫颈癌组	22	21(95.5)	1(4.5)	14(63.6)	8(36.6)	9(40.9)	13(59.1)	6(27.3)	16(72.7)	5(22.7)	17(77.3)
P 值		0.000		0.000		0.000		0.138		0.004	

类型从 LSIL、HSIL 至宫颈癌组,其低危型 HPV 比例分别为 19.15%、13.89% 和 4.76%,对照组低危型 HPV 比例为 83.87%,研究组和对照组低危型 HPV 比例差异有统计学意义($P<0.05$)。HPV 阳性宫颈癌及不同程度 SIL 患者与对照组 HPV 感染类型及比例见表 2。

表 2 研究组和对照组的 HPV 感染情况[例(%)]

组别	例数	HR-HPV		LR-HPV	
		阳性	阴性	阳性	阴性
对照组	159	5(3.1)	154(96.9)	26(16.4)	133(83.6)
LSIL	59	38(64.4)	21(35.6)	9(15.3)	50(84.7)
HSIL	78	62(79.5)	16(20.5)	10(12.8)	68(87.2)
宫颈癌组	22	20(90.9)	2(9.1)	1(4.5)	21(95.5)
P 值		0.000		0.492	

2.3 阴道微环境的检测结果 研究组中 LSIL、HSIL 至宫颈癌组,患者阴道分泌物清洁度Ⅲ—Ⅳ级比例明显高于对照组($P<0.05$);LSIL、HSIL 至宫颈癌组,患者阴道分泌物 pH 值大于 4.5 的比例高于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$);而宫颈癌组菌群多样性异常比例显著高于 SIL 组和对照组($P<0.05$);LSIL、HSIL 和宫颈癌组患者阴道分泌物菌群多样性异常的比例明显高于对照组同项目的比例($P<0.01$),但研究组的三组组间差异无统计学

意义($P>0.05$);LSIL、HSIL 和宫颈癌组患者阴道分泌物 H_2O_2 阳性比例高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

宫颈癌与 HPV 感染、过早性生活、生育、性伴侣过多、激素、年龄、吸烟等因素相关,其中持续性、高危型别的 HPV 感染,是宫颈癌和宫颈癌前病变的重要危险因素^[4]。在宫颈癌发生发展的过程中,生殖道感染性疾病及阴道微生态环境的改变起到重要作用^[5]。

正常情况下,阴道微环境处于平衡状态,当某种或几种病原体大量繁殖时,平衡被打破,容易引起生殖道感染性疾病^[6]。本文结果显示研究组患者阴道分泌物中 HPV 检出率明显高于对照组,但 HPV 感染后仅有少部分患者发展为 SIL 或者宫颈癌,因此,推测除 HPV 感染以外可能有其他相关因素对这一过程产生影响。研究表明,BV 往往出现在阴道内益生菌减少时,阴道内厌氧菌的增多、较高的 pH 值还可能与部分性传播疾病和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染相关^[7]。Li 等^[8]进行的一项大样本病例对照研究显示,滴虫感染与 HPV 感染具有相关性,并与 SIL 甚至宫颈癌的发生发展具有一定相关性。AV 则是指由链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌等需氧型细菌感染所致的阴道炎症^[9]。阴道内的念珠菌是较为常见的生殖道条件致病菌,一般不引起临

表 3 各组中阴道微环境评价指标检测结果[例(%)]

组别	例数	清洁度		多样性		pH		H_2O_2	
		Ⅲ/Ⅳ	I—II	I/Ⅳ	II—Ⅲ	>4.5	≤4.5	≤2 μmol/L	>2 μmol/L
对照组	159	38(23.9)	121(76.1)	41(25.8)	118(74.2)	32(21.1)	127(79.9)	27(17.0)	132(83.0)
LSIL	59	24(40.7)	35(59.3)	36(61.0)	23(40.0)	27(45.8)	32(54.2)	30(50.8)	29(49.2)
HSIL	78	41(52.6)	37(47.4)	45(57.7)	33(42.3)	42(53.8)	36(46.2)	64(82.1)	14(17.9)
宫颈癌组	22	15(68.2)	7(31.8)	14(63.6)	8(36.4)	19(86.4)	3(13.6)	21(95.5)	1(4.5)
P 值		0.000		0.000		0.000		0.000	

床症状,只有当全身或阴道内环境改变,尤其是细胞免疫功能受损时大量繁殖导致念珠菌性阴道炎,关于念珠菌性阴道炎与宫颈癌的相关性文献报道说法不一^[10],本组研究中,研究组和对照组念珠菌检出率差异无统计学意义,因而认为念珠菌性阴道炎与宫颈病变发生可能无显著相关性。

随着分子生物学及流行病学研究的深入,阴道微环境平衡改变影响宫颈癌发生发展的机制开始受到关注^[11]。阴道内聚集着大量微生物,正常条件下,阴道微环境中优势菌如乳杆菌等占主导地位,乳杆菌分泌乳酸、 H_2O_2 及细菌素等,维持阴道的酸性环境、杀死部分条件致病菌,维持阴道微环境平衡状态^[12]。当平衡被打破时,乳酸、 H_2O_2 及细菌素等分泌减少,阴道酸性环境无法维持($pH > 4.5$),致病菌迅速繁殖并占据主导地位,菌群多样性增加或极度减少,造成一系列常见下生殖道感染性疾病^[13]。一些特殊的下生殖道感染性疾病的发生可能对宫颈癌的发生发展过程产生影响。当发生BV时,致病菌感染时可以提高阴道微环境pH值,延长鳞状上皮内化生时期并促进上皮细胞发育不良,同时通过产生丙酸和丁酸等代谢产物造成上皮细胞损伤等,这一系列反应在导致宫颈上皮细胞发生损伤、病变的过程中更有利于HPV等致病因素的感染,并与后者在促进SIL和宫颈癌的发生发展过程中发挥协同作用^[7,14-15]。

综合分析,对于宫颈癌以及宫颈鳞状上皮内病变的患者,在积极治疗上述厌氧菌、需氧菌及原虫感染的同时,要密切关注患者宫颈病毒学及细胞学异常,对于合并HPV感染的阴道炎症性疾病应予高度重视,及时调节和纠正阴道微环境平衡改变,以期达到早期发现与防治宫颈病变的目的。

参考文献

- [1] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:565-577.
- [2] HUANG YE, WANG Y, HE Y, et al. Homogeneity of the vaginal microbiome at the cervix, posterior fornix, and vaginal canal in pregnant Chinese women[J]. Microb Ecol, 2015, 69(2):407-414.
- [3] 王颖,刘植华. 阴道乳酸杆菌与HPV感染、宫颈癌及癌前病变的相关性研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2013, 19(8):610-615.

- [4] 沈娟萍,潘敏珠. HPV病毒检测联合液基细胞学和鳞状细胞癌抗原检测在筛查宫颈癌中的价值[J]. 中国临床保健杂志, 2014, 17(2):155-157.
- [5] MAYER BT, SRINIVASAN S, FIEDLER TL, et al. Rapid and profound shifts in the vaginal microbiota following antibiotic treatment for bacterial vaginosis[J]. J Infect Dis, 2015, 212(5):793-802.
- [6] 廖琴平. 女性阴道微生态及阴道微生态评价[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26(2):81-83.
- [7] HAN C, WU W, FAN A, et al. Diagnostic and therapeutic advancements for aerobic vaginitis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2015, 291(2):251-257.
- [8] LI C, WU M, WANG J, et al. A Population-based study on the risks of cervical lesion and human papillomavirus infection among women in Beijing, People's Republic of China[J]. CEBP, 2010, 19(10):2655-2664.
- [9] JAHIC M, MULAVDIC M, HADZIMEHMEDOVIC A, et al. Association between aerobic vaginitis, bacterial vaginosis and squamous intraepithelial lesion of low grade[J]. Med Arch, 2013, 67(2):94.
- [10] DE BERNARDIS F, ARANCIA S, SANDINI S, et al. Studies of immune responses in candida vaginitis[J]. Pathogens, 2015, 4(4):697-707.
- [11] 逮彩虹,李保红,李小斌,等. 宫颈癌患者阴道微生物的分布特点[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(3):267-271.
- [12] MOTEVASELI E, SHIRZAD M, AKRAMI SM, et al. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(Pt 7):1065-1072.
- [13] KYRGIU M, MITRA A, MOSCICKI AB. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? [J]. Transl Res, 2017, 179:168-182.
- [14] FIORI PL, DIAZ N, COCCO AR, et al. Association of trichomonas vaginalis with its symbiont mycoplasma hominis synergistically upregulates the in vitro proinflammatory response of human monocytes[J]. Sex Transm Infect, 2013, 89(6):449-454.
- [15] LAZENBY GB, TAYLOR PT, BADMAN BS, et al. An association between trichomonas vaginalis and high-risk human papillomavirus in rural Tanzanian women undergoing cervical cancer screening[J]. Clin Thera, 2014, 36(1):38-45.

(收稿日期:2017-02-24)