

· 短篇论著 ·

# 宫颈上皮非典型增生与阴道微生态的关系研究

徐忠淑, 杨刚, 徐敏

(重庆市武隆区妇幼保健院检验科, 重庆 408500)

**摘要:**目的 探讨宫颈上皮非典型增生与阴道微生态的关系。方法 收集 2017 年 1—12 月在该院体检的已婚女性 234 例的阴道分泌物、灌洗液标本, 检测其阴道微生态情况、pH 值、人乳头瘤病毒(HPV)感染及细胞因子表达情况, 并根据病变情况采集宫颈组织进行病理活检。根据细胞学和病理诊断结果, 将细胞学诊断为无明确诊断意义的鳞状细胞病变(ASCUS)但病理结果正常者作为对照组, 子宫颈上皮内瘤变(CIN) I 组、CIN II/III 组作为实验组。结果 阴道微生态正常者 43 例, 占 18.38%(43/234); 阴道微生态异常者 191 例, 占 81.62%(191/234); CIN I 组和 CIN II/III 组的阴道 pH 值均显著高于对照组, CIN II/III 组高于 CIN I 组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); CIN II/III 组 HPV 阳性率均高于对照组和 CIN I 组, 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ); CIN II/III 组阴道灌洗液中白细胞介素 10(IL-10)水平显著低于 CIN I 组和对照组, CIN I 组低于对照组, 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。多因素 logistic 回归分析结果显示阴道 pH 值升高、IL-10 表达降低及 HPV 阳性均是宫颈上皮发生非典型增生的危险因素。结论 阴道微生态变化对宫颈上皮非典型增生具有重要影响。

**关键词:** 宫颈上皮非典型增生; 阴道微生态; 宫颈癌

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.15.028

**中图法分类号:** R737.33

**文章编号:** 1673-4130(2019)15-1902-04

**文献标识码:** B

宫颈癌是威胁全球妇女健康最为严重的疾病之一, 是女性生殖道发病率和病死率最高的恶性肿瘤。宫颈上皮非典型增生是一种癌前病变, 从非典型增生发展至原位癌的一系列连续的癌前病变过程也称为子宫颈上皮内瘤变(CIN)<sup>[1]</sup>。阴道为开放性腔道, 是人体内重要微生态区, 正常情况下是以乳杆菌等优势菌为主组成的微生态系统, 阴道微生态是一个非常灵敏的系统, 在受到内源性和外源性因素影响时, 很容易发生改变, 继而导致疾病的发生。研究已证实人乳头状病毒(HPV)持续感染是导致宫颈上皮非典型增生的重要原因, 也有研究指出阴道微生态失衡后可导致生殖系统炎症及外阴发生上皮内非瘤样病变<sup>[2]</sup>, 阴道细菌性疾病与 CIN 的发生具有密切关系<sup>[3]</sup>。HPV 感染、宫颈上皮非典型增生与阴道微生态变化之间的关系尚不明确。因此, 本研究对宫颈上皮非典型增生患者的阴道微生态情况进行分析, 旨在揭示这两者之间可能存在的关系, 从而为宫颈癌的早期防治提供理论依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对 2017 年 1—12 月在本院体检的 234 例已婚女性采用宫颈脱落细胞学(TCT)检查, 采集标本进行 HPV-DNA 分型检测, 并在阴道镜下采集宫颈组织进行病理学诊断。根据细胞学和病理诊断结果, 将细胞学诊断为无明确诊断意义的鳞状细胞病变(ASCUS)但病理结果正常者作为对照组, CIN I 组、CIN II/III 组为实验组。其中, 对照组 91 例, 平均年龄(35.8 ± 13.5)岁; CIN I 组 78 例, 平均年龄(37.2 ± 13.7)岁; CIN II/III 组 65 例, 平均年龄

(36.3 ± 15.1)岁。纳入标准: 年龄 20~65 岁, 无宫颈锥切病史、检查前 3 d 未同房、近 1 个月内未进行阴道相关疾病治疗、对本研究知情同意。排除标准: 宫颈腺细胞异常者、ASCUS 及以上病变严重程度者、妊娠期或哺乳期、生殖器官其他感染性疾病患者、免疫功能低下或免疫性疾病患者、恶性肿瘤患者、合并其他严重脏器疾病患者。

**1.2 方法** 常规方法采集患者的阴道分泌物, 进行阴道微生态检测, 具体包括: (1) 采用涂片革兰染色法, 在显微镜下检查阴道分泌物中的滴虫、念珠菌、线索细胞等微生物情况; (2) 用 pH 精密试纸测定阴道 pH; (3) 爱必维试剂盒检测患者的阴道微生物功能情况, 首先将试剂盒复温至室温, 取出反应装置并在反应装置的 5 个孔中各滴加一滴经处理过的阴道分泌物样品, 在“唾液酸苷酶”反应孔中滴加一滴“显色液 A”, 置于 37 °C 水浴 10 min, 在“凝固酶”反应孔中滴加一滴“显色液 B”, 继续 37 °C 水浴 3 min 后判读结果, 具体检测方法及其结果判读参照试剂盒的说明书。用生理盐水冲洗宫颈及阴道上 1/3, 回收冲洗液并 2 000 r/min 离心 10 min, 收集上清。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测阴道灌洗液中细胞因子水平情况, 具体包括人树突状细胞趋化因子(CCL22)、白细胞介素 2(IL-2)、白细胞介素 10(IL-10)3 种细胞因子。常规方法采集宫颈口分泌物标本, 采用亚能生物 HPV(23 型)分型检测试剂盒进行 HPV 分型检测, 该试剂盒采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术, 主要步骤有 HPV DNA 提取、PCR 扩增、杂交、洗膜、显色等, 严格按照试剂盒的说明书

进行操作,显色后进行结果判定。在阴道镜下采集病变明显部位的宫颈组织,由病理科进行病理诊断。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计软件,计量资料采用 *t* 检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验;多因素分析采用多分类 logistic 回归分析。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 阴道分泌物检测阴道微生态情况** 阴道微生态正常者 43 例,占 18.38%(43/234);阴道微生态异常者 191 例,占 81.62%(191/234)。CIN I 组和 CIN II/III 组的阴道 pH 值均显著高于对照组, CIN II/III 组高于 CIN I 组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。各组研究对象的微生物菌群检测结果比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

**2.2 阴道灌洗液细胞因子表达情况** 随着宫颈上皮非典型增生程度加重,阴道灌洗液中的 IL-10 水平逐渐降低,其中 CIN II/III 组显著低于 CIN I 组和对照组, CIN I 组低于对照组,差异均具有统计学意义

( $P < 0.05$ )。另两种细胞因子水平在不同组间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 1 各组研究对象的阴道微生态检测情况比较

阴道微生态	对照组 (n=91)	CIN I 组 (n=78)	CIN II/III 组 (n=65)
pH 值( $\bar{x} \pm s$ )	4.5 ± 0.8	5.0 ± 0.9*	5.6 ± 0.8* <sup>△</sup>
细菌[n(%)]			
阳性	36(39.56)	32(41.03)	30(46.15)
阴性	55(60.44)	46(58.97)	35(53.85)
假丝酵母菌[n(%)]			
阳性	4(4.40)	3(3.85)	3(4.62)
阴性	87(95.60)	75(96.15)	62(95.38)
滴虫[n(%)]			
阳性	4(4.40)	5(6.41)	4(6.15)
阴性	87(95.60)	73(93.59)	61(93.85)
需氧菌[n(%)]			
阳性	3(3.30)	2(2.56)	2(3.08)
阴性	88(96.70)	76(97.44)	63(96.92)

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$ ;与 CIN I 组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

表 2 3 组研究对象阴道灌洗液细胞因子表达情况比较 (pg/mL)

组别	n	CCL22	IL-2	IL-10
对照组	91	1 369.25 ± 516.13	1 119.50 ± 342.75	429.65 ± 90.96
实验组				
CIN I 组	78	1 365.50 ± 620.88	1 123.50 ± 293.25	384.15 ± 130.75*
CIN II/III 组	65	1 236.50 ± 498.38	1 091.50 ± 283.88	326.28 ± 97.60* <sup>△</sup>

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$ ;与 CIN I 组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

表 3 3 组研究对象宫颈脱落细胞中 HPV 感染情况比较[n(%)]

组别	n	HPV 阳性	HPV 阴性
对照组	91	21(23.08)	70(76.92)
实验组			
CIN I 组	78	22(28.21)	56(71.79)
CIN II/III 组	65	53(81.54)* <sup>△</sup>	12(18.46)

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$ ;与 CIN I 组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

**2.3 宫颈脱落细胞中 HPV 感染情况** 随着宫颈上皮非典型增生程度加重,HPV 阳性率逐渐升高,其中 CIN II/III 组均高于对照组和 CIN I 组,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

**2.4 宫颈上皮非典型增生的危险因素分析** 将病变程度作为因变量,上述分析得出有统计学意义的指标作为自变量,进行多因素 logistic 回归分析。变量设为 X1、X2、X3,因素分别为 HPV 感染(阳性=1;阴性=2)、阴道 pH 值( $pH \leq 4.5 = 1$ ;  $pH > 4.5 = 2$ )、IL-10 表达( $IL-10 \leq 400 \text{ pg/mL} = 1$ ;  $IL-10 > 400 \text{ pg/mL} = 2$ )、病变程度(对照组=0; CIN I=2; CIN II/III=3)。结果显示:阴道 pH 值升高、IL-10 表达降低及 HPV 阳性均是宫颈上皮发生非典型增生的危险因素。宫颈上皮非典型增生影响因素 logistic 分析见表 4。

表 4 宫颈上皮非典型增生影响因素 logistic 分析

组别	变量	$\beta$	$S_b$	Wald $\chi^2$	P	OR	95%CI
对照组	常数项	3.575	0.491	53.004	<0.001	—	—
	X1	2.507	0.867	33.325	<0.001	14.067	2.027~47.168
	X2	1.936	0.785	6.271	<0.001	7.107	1.534~33.941
	X3	1.407	0.538	5.537	<0.001	4.207	1.103~7.612
CIN I 组	常数项	2.906	0.495	34.085	<0.001	—	—
	X1	2.737	0.906	28.559	<0.001	13.087	3.037~24.226
	X2	1.693	0.816	4.177	<0.001	4.904	1.125~19.408
	X3	1.733	0.515	13.593	<0.001	6.319	1.153~8.702

注:—表示无数据

**3 讨 论**

阴道在解剖上是半开放通道结构,有多种微生物

生存,形成局部的微生态系统,且通常情况下阴道具有维持微生态系统动态平衡的能力,取决于机体的内

分泌功能情况及阴道的局部免疫状况<sup>[6]</sup>。菌群生态平衡的任何改变对疾病的发生发展影响甚大,当因某些原因导致阴道微生态平衡被打破时,部分微生物菌群可能大量繁殖,从而导致阴道及宫颈发生各种疾病,常见有泌尿生殖道炎症、外阴上皮内出现非瘤样病变等<sup>[7-8]</sup>。近年来的一系列研究已经证实持续感染高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)是发生宫颈肉瘤样病变及宫颈癌的最重要的危险因素,本研究分析结果也显示 HPV 阳性是宫颈上皮非典型增生的危险因素,且 HPV 感染阳性率越高,病变程度越重。究其原因,pH 值是维持阴道微生态平衡的重要因素,健康女性的阴道 pH 值介于 3.8~4.5,弱酸性环境的维持得益于阴道内乳酸杆菌及机体雌激素维持动态平衡,一方面有助于抑制致病菌的生长繁殖,同时乳酸杆菌还通过调节其自身生长情况来阻止外环境中致病菌的侵入<sup>[9-10]</sup>。有研究指出,当阴道内乳酸杆菌数量减少、阴道菌群失调或免疫功能受到抑制时,pH 值可出现升高<sup>[11]</sup>。本研究分析结果显示,CIN I 组和 CIN II/III 组的阴道 pH 值均显著高于对照组,且 CIN II/III 组高于 CIN I 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),多因素分析结果显示阴道 pH 值升高是宫颈上皮非典型增生的危险因素。考虑到 pH 值升高,阴道内乳酸杆菌的生长受到抑制,菌群平衡被打破,进而可导致患者出现 HPV 持续感染;而 HPV 感染又进一步加剧阴道菌群失衡,使局部的免疫微环境形成的生物屏障遭到破坏,进而使宫颈局部的免疫功能出现异常,形成恶性循环,导致宫颈病变<sup>[12-13]</sup>。pH 值作为阴道微生态平衡状况的一项重要指示指标,与阴道微生物菌群的生长情况密切相关<sup>[14]</sup>,因而当阴道 pH 值变化时往往提示微生态平衡可能被打破,而微生态失衡是宫颈发生病变的重要危险因素。寻找各种体液生物标志物是肿瘤诊断或早期发现的重要技术手段,阴道灌洗液可被视作为最接近体液的一种局部体液,而局部微环境免疫状态的变化在局部体液中的各生物标志物的表现比在血液中的变化更为敏感,也更具特异性。既往一些研究指出宫颈发生 CIN 或 HPV 感染时,在患者的局部组织或血液中可出现 IL-2、IL-10 及 CCL22 等炎症指标的变化<sup>[15-16]</sup>,但在阴道灌洗液中的变化情况,国内外仍罕见相关报道,对其进行进一步探讨具有重要意义。另一方面,IL-10 等细胞因子作为重要的免疫调节因子,在阴道内的局部免疫功能中发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。IL-10 具有双向调节肿瘤发生发展的功能,一方面可通过抗炎作用对肿瘤的生长起到抗肿瘤作用,另一方面又可通过负向免疫调节途径起到促进肿瘤生长的作用<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,宫颈上皮非典型增生者(CIN II/III 组和 CIN I 组)阴道灌洗液的 IL-10 水平低于对照组,且 CIN II/III 组低于 CIN I 组,多因素分析结果显示 IL-10 降低是宫颈上皮非典型增生的危险因素。提示 IL-10 减低可以促进

宫颈上皮非典型增生的发生。但也有研究发现在一些 CIN III 患者中可出现 IL-10 升高现象,而持续的 HPV 感染可能激发 IL-10 干扰正常的免疫系统,从而导致宫颈癌<sup>[19-21]</sup>。因此,可以认为阴道 IL-10 水平的异常变化对宫颈病变具有重要的提示作用,IL-10 水平降低与宫颈癌前病变的发生有关,其变化或可作为宫颈病变的预测因子,值得深入研究。至于在本组研究中未观察到 IL-2 和 CCL22 有明显变化,提示这两种细胞因子可能在宫颈上皮非典型增生期无明显变化,这与曹建芳<sup>[18]</sup>研究报道的结果基本一致。至于阴道细菌性疾病与宫颈上皮非典型增生之间的关系,目前研究结果尚存在较大的争议。HPV 持续感染可破坏阴道局部免疫微环境生物屏障已得到诸多研究报道证实<sup>[19]</sup>。但本研究发现不同组别研究对象的微生物菌群检测结果差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),可能是研究对象较少或检测方法差异造成的,且本研究未比较 HPV 感染与未感染者在微生物菌群上的差异情况,这需要进行进一步探索。

综上所述,阴道微生态变化对宫颈上皮非典型增生具有重要影响,HPV 感染、阴道 pH 值升高及细胞因子 IL-10 的降低是宫颈上皮非典型增生的危险因素。

## 参考文献

- [1] 谢兰,常淑芳,孙江川,等. 435 例外阴上皮内非瘤样病变患者阴道微生态状况分析[J]. 解放军医学杂志,2016,41(2):136-139.
- [2] DE CASTRO-SOBRINHO J M, RABELO-SANTOS S H, FUGUEIREDO-ALVES R R, et al. Bacterial vaginosis and inflammatory response showed association with severity of cervical neoplasia in HPV-positive women[J]. *Diag Cytopathol*, 2016, 44(2): 80-86.
- [3] 秦勤,常淑芳,孙江川,等. 宫颈上皮内瘤变患者 HPV 感染与阴道微生态关系研究[J]. 重庆医科大学学报, 2017, 22(5): 587-590.
- [4] 王芳. 宫颈上皮内瘤变的中医证候与阴道微生态关系的临床研究[D]. 咸阳:陕西中医学院, 2012.
- [5] FAMULARO G, PERLUIGI M, COCCIA R, et al. Microecology, bacterial vaginosis and probiotics: perspectives for bacteriotherapy[J]. *Med Hypot*, 2001, 56(4): 421-430.
- [6] 王鹏程,宋静慧. 宫颈病变患者治疗前后阴道微生态变化与 HPV 感染的关系研究进展[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 21(5): 473-475.
- [7] 施晓,吕芸. 宫颈微生态与宫颈疾病发生发展的相关性研究[J]. 中国现代医生, 2013, 51(13): 120-122.
- [8] 钱芳,余胜进,陈建华,等. HPV 感染者阴道微生态状况及与宫颈异常上皮细胞病变之间关系[J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 32(20): 19-20.
- [9] SALMINEN S, SALMINEN E. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection[J].

- Scand J Gastroenterol, 2016, 32(2):45-48.
- [10] 关晓梅,王谨言,王艳华,等. 阴道微生态与高危型人乳头瘤病毒感染和宫颈病变的关系研究[J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(3):347-350.
- [11] 朱丽红,袁宁霞,杜冬青. 281 例宫颈上皮内瘤变患者阴道微生态研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(19):3144-3147.
- [12] SHARMA R. Microecology, intestinal epithelial barrier and necrotizing enterocolitis[J]. Pediatr Surg Inter, 2010, 26(1):11-21.
- [13] 俞亚媛,周梦妮,谭布珍. 阴道微生物群与子宫颈癌关系的研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2017, 37(4):320-324.
- [14] 刘建华,王耀玲. 阴道微生态变化与宫颈人乳头瘤病毒感染及相关病变的关系[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(8):807-809.
- [15] SHARMA A, RAJAPPA M, SAXENA A, et al. Cytokine profile in Indian women with cervical intraepithelial neoplasia and cancer cervix[J]. Inter J Gynecological Cancer, 2010, 17(4):879-885.
- [16] SCOTT M E, MA Y, KUZMICH L, et al. Diminished IFN-gamma and IL-10 and elevated Foxp3 mRNA expression in the cervix are associated with CIN 2 or 3[J]. Inter J Cancer, 2010, 124(6):1379-1383.
- [17] HUANG Y E, WANG Y, HE Y, et al. Homogeneity of the vaginal microbiome at the cervix, posterior fornix, and vaginal canal in pregnant Chinese women[J]. Microbial Ecology, 2015, 69(2):407-414.
- [18] 曹建芳. 阴道微环境多因素改变与宫颈上皮内瘤变的关系[D]. 太原:山西医科大学, 2015.
- [19] 卢玉,赵建武. 宫颈高危 HPV 持续感染与阴道微生态相关性研究进展[J]. 中国医药导报, 2018, 20(3):26-29.
- [20] 刘莉,林丽丽,唐韵. 宫颈病变与阴道微生态的认识及治疗进展[J]. 中国社区医师, 2018, 22(7):15.
- [21] 邢妍,崔李宁. 阴道微生态与慢性宫颈炎的相关性[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(22):5557-5558.

(收稿日期:2018-12-20 修回日期:2019-03-21)

• 短篇论著 •

## Tfh、IL-21 与抗血小板自身抗体检测在 CITP 中的意义\*

杨自华,张婕婕,何桂蓉,宋 丽

(深圳市人民医院检验科,广东深圳 518020)

**摘要:**目的 探讨慢性特发性血小板减少性紫癜(CITP)患者外周血滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)细胞数量变化及白细胞介素(IL)-21 与抗血小板自身抗体水平在 CITP 中的意义。方法 选取 30 例 CITP 患者和 30 例健康体检者分别作为 CITP 组和对照组;采用流式细胞仪(FACS)技术测定外周血 Tfh 细胞的数量与比例,ELISA 检测细胞因子 IL-21 水平,采用改良的血小板抗原单抗特异性固相化法(MAIPA)测定血液中抗 GP II b/III a、GP Ib/IX 自身抗体水平。结果 与对照组相比,CITP 组 Tfh 细胞比例显著升高,IL-21 的水平高于正常对照组,抗 GP II b/III a、GPIb/IX 抗体的阳性率分别为 46.7%、43.3%,两者之间存在一定的正相关。结论 Tfh 细胞、效应细胞因子 IL-21、血小板特异性自身抗体可能在 CITP 发病机制中发挥重要作用,其可为 CITP 的诊断与治疗提供一种新思路。

**关键词:**慢性特发性血小板减少性紫癜; 滤泡辅助性 T 细胞; 白细胞介素-21; 血小板自身抗体

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.15.029

**中图分类号:**R446.62

**文章编号:**1673-4130(2019)15-1905-03

**文献标识码:**B

慢性特发性血小板减少性紫癜(CITP)又称慢性免疫性血小板减少症,其病程持续时间大于或等于 12 个月,是一种发病机制尚未明确的自身免疫性疾病,常伴有抗血小板自身抗体及血小板减少等特征,除了体液免疫因素外,细胞免疫因素在其发病中发挥着重要的作用。目前,自身抗体与 Tfh 细胞的数量变化及其分泌的重要效应细胞因子 IL-21 的异常表达,在免疫性血小板减少症的研究中广受关注<sup>[1-5]</sup>,本研究拟通过观察 CITP 患者血液中滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)

细胞数量变化及其分泌的重要效应细胞因子 IL-21 的水平,与自身抗 GP II b/III a 和抗 GPIb/IX 血小板抗体的表达情况,初步探讨其与 CITP 的发病机制的关系与临床意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 CITP 患者 30 例作为 CITP 组,男 12 例、女 18 例,年龄 15~65 岁,中位年龄为 40 岁,为 2016 年 2 月至 2018 年 3 月于本院住院的患者。所有受试者均符合慢性 ITP 的诊断标准<sup>[6]</sup>。测试前

\* 基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20170307095922553)。