

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.15.010

宫颈上皮内瘤变患者宫颈环形电切术后 HPV 持续感染的高危因素分析 及其对阴道微生态和免疫调节功能的影响*

张菲菲 高广云 张海燕[△] 周莉 李佳

(复旦大学附属妇产科医院妇产科 上海 200090)

摘要 目的:探讨宫颈上皮内瘤变(CIN)患者宫颈环形电切术(LEEP)后人乳头瘤病毒(HPV)持续感染的高危因素及其对阴道微生态和免疫调节功能的影响。**方法:**选取 2020 年 1 月~2021 年 1 月我院收治的 347 例行 LEEP 治疗的 CIN 患者,根据 LEEP 后 1 年是否 HPV 持续感染分为 HPV 持续感染组(n=41)和 HPV 转阴组(n=306)。收集患者临床资料,单因素及多因素 Logistic 回归分析 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的影响因素。比较 1 年后复诊时 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组阴道微生态状况和外周血细胞免疫、体液免疫指标水平。**结果:**与 HPV 转阴组比较,HPV 持续感染组年龄 ≥ 45 岁、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO、手术切缘 HPV 感染阳性比例更高,初次性生活年龄 < 20 岁比例更低($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示,年龄 ≥ 45 岁(OR=1.034, 95%CI: 1.009~1.060)、术前 HPV 多重感染(OR=1.371, 95%CI: 1.042~1.806)、术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO (OR=1.198, 95%CI: 1.058~1.356)、手术切缘 HPV 感染阳性 (OR=1.313, 95%CI: 1.144~1.507) 为 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的危险因素(P 均 < 0.05)。复诊时 HPV 持续感染组阴道优势菌为乳杆菌、菌群密集度和菌群多样性 II~III 级比例低于 HPV 转阴组, pH 值高于 HPV 转阴组($P < 0.05$)。复诊时 HPV 持续感染组外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、免疫球蛋白 A(IgA)、IgG、IgM 水平低于 HPV 转阴组, CD8⁺ 高于 HPV 转阴组($P < 0.05$)。**结论:**CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染与年龄、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量、手术切缘 HPV 感染有关, LEEP 后 HPV 持续感染可导致 CIN 患者阴道微生态和免疫调节功能受损。

关键词:宫颈上皮内瘤变;宫颈环形电切术;人乳头瘤病毒;阴道微生态;免疫

中图分类号:R711.74;R711.32 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)15-2854-06

Analysis of Risk Factors for HPV Persistent Infection after Loop Electrosurgical Excision Procedure in Patients with Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) and its Effect on Vaginal Microecology and Immunomodulatory Function*

ZHANG Fei-fei, GAO Guang-yun, ZHANG Hai-yan[△], ZHOU Li, LI Jia

(Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Obstetrics and Gynecology Hospital of Fudan University, Shanghai, 200090, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the analysis of risk factors for human papillomavirus (HPV) persistent infection after loop electrosurgical excision procedure (LEEP) in patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and its effects on vaginal microecology and immunomodulatory function. **Methods:** A total of 347 patients with CIN who were admitted to our hospital for LEEP treatment from January 2020 to January 2021 were selected, and they were divided into HPV persistent infection group (n=41) and HPV conversion group (n=306) according to whether HPV persistence was present 1 year after LEEP. Clinical data of patients were collected, and univariate and multivariate Logistic regression were used to analyze the influencing factors of HPV persistent infection after LEEP in patients with CIN. The vaginal microecological status, peripheral blood cellular immunity and humoral immunity were compared between the HPV persistent infection group and the negative HPV conversion group at the follow-up visit after 1 year. **Results:** Compared with the HPV conversion group, the HPV persistent infection group had higher proportions of age ≥ 45 years, preoperative HPV multiple infections, preoperative HPV viral load ≥ 100 RLU/CO, positive surgical margin HPV infection, and lower proportions of age at first sex < 20 years ($P < 0.05$). Multifactorial Logistic regression analysis showed that age ≥ 40 years (OR=1.034, 95% CI: 1.009~1.060), preoperative HPV multiple infections (OR=1.371, 95% CI: 1.042~1.806), preoperative HPV viral load ≥ 100 RLU/CO (OR=1.198, 95% CI: 1.058~1.356), and positive surgical incisional margin HPV infection (OR=1.313, 95% CI: 1.144~1.507) were risk factors for HPV persistent infection after LEEP in patients with CIN (all $P < 0.05$). The percentage of vaginal predominant bacteria in the HPV persistent infection

* 基金项目:上海市科学技术委员会科研项目(14ZR1404100)

作者简介:张菲菲(1988-),女,硕士研究生,研究方向:从事妇产医学方向的研究,E-mail: viviennefeifei1988@163.com

[△] 通讯作者:张海燕(1981-),女,博士,副主任医师,从事妇产医学方向的研究,E-mail: 676804169@qq.com

(收稿日期:2022-01-31 接受日期:2022-02-28)

group was Lactobacillus, flora density and flora diversity grade II~III at follow-up visit was lower than in the HPV conversion group, and pH was higher than in the HPV conversion group ($P<0.05$). Peripheral blood levels of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, immunoglobulin A (IgA), IgG and IgM in the HPV persistent infection group were lower than those in the HPV conversion group, and CD8⁺ was higher than in the HPV conversion group at follow-up visit ($P<0.05$). **Conclusions:** The HPV persistent infection after LEEP in patients with CIN is associated with age, preoperative HPV multiple infections, preoperative HPV viral load, and HPV infection at the surgical incision margin, and HPV persistent infection after LEEP can lead to impaired vaginal microecology and immune regulation in patients with CIN.

Key words: Cervical intraepithelial neoplasia; Loop electrosurgical excision procedure; Human papillomavirus; Vaginal microecology; Immunity

Chinese Library Classification(CLC): R711.74; R711.32 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)15-2854-06

前言

宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 是一组宫颈癌前病变, 反映了宫颈癌发生发展中的连续过程, 主要由人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 持续感染引起, 以宫颈肥大、充血、糜烂和白带增多、白带带血等为常见表现^[1]。宫颈环形电切术 (loop electrosurgical excision procedure, LEEP) 是临床治疗 CIN 的常用手术, 能切除病变组织和清除 HPV, 降低 CIN 进一步癌变风险^[2]。但仍有部分 CIN 患者在 LEEP 后会出现 HPV 持续感染, 增加宫颈癌变风险, 严重危及患者生命安全, 因此研究 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染高危因素具有重要意义。近年研究发现, CIN 患者常伴有阴道微生态紊乱, 与 HPV 感染后阴道局部免疫功能降低有密切关系^[3,4]。但目前关于 LEEP 后 HPV 持续感染对阴道微生态和免疫调节功能的影响尚无研究报道。本研究选取 2020 年 1 月~2021 年 1 月我院收治的 347 例行 LEEP 治疗的 CIN 患者为研究对象, 分析 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的高危因素, 并探讨 HPV 持续感染对阴道微生态和免疫调节功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月~2021 年 1 月我院收治的 347 例行 LEEP 治疗的 CIN 患者, 年龄: ≥ 45 岁 143 例、 <45 岁 204 例; 初次性生活年龄: ≥ 20 岁 304 例、 <20 岁 43 例; 产次: ≥ 1 次 279 例、0 次 68 例; 术前 CIN 分级^[5]: II 级 233 例、III 级 114 例。纳入标准: ① 经病理检查确诊, 符合《宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)》^[6] 诊断标准; ② HPV-脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 检测阳性; ③ 初次确诊, 并接受 LEEP 治疗; ④ 可接受随访; ⑤ 临床资料和随访资料完整; ⑥ 患者及家属均知情研究。排除标准: ① 妊娠及哺乳期妇女; ② 合并梅毒、艾滋病等性传播疾病; ③ 合并心肝肾功能损害; ④ 子宫切除史; ⑤ 近 3 个月免疫抑制剂、激素类使用史; ⑥ 近 2 周内抗菌药物使用史; ⑦ 合并造血、免疫系统损害; ⑧ 恶性肿瘤。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 收集患者临床资料, 包括年龄、初次性生活年龄、产次、术前 CIN 分级、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量、病变是否累及阴道壁、手术切缘 HPV 感染阳性或阴性。

1.2.2 HPV 检测方法 患者取膀胱截石位, 干棉球擦去宫颈

处分泌物, 将宫颈刷深入宫颈内口, 紧贴移行区黏膜并逆时针转动 4 周, 取出宫颈刷后分离刷头放于保存液中, 细胞裂解液提取 DNA, 进行第二代杂交捕获法检测, 使用微孔板判读器测量每份样本产生的光, 以相对光单位 (relative light unit, RLU) / 对照临界值 (control threshold, CO) 比值来判断结果, 若 RLU/CO ≥ 1 则表示 HPV 感染阳性。试剂盒购自美国 Digene 公司, 可检测 HPV16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68 共 13 个高危 HPV 基因型, 若存在 ≥ 2 种 HPV 基因型则表示 HPV 多重感染。患者 LEEP 后将手术切缘病理组织送检, 并采用第二代杂交捕获法检测手术切缘是否 HPV 感染阳性。

1.2.3 阴道菌群检测 复诊时患者取膀胱截石位, 将窥器放入阴道, 暴露子宫颈, 使用 2 根无菌棉拭子采集阴道侧壁 1/3 段分泌物 (旋转 3~5 次), 采集前 72 h 内无阴道内给药或冲洗, 第 1 根棉拭子使用精密 pH 试纸 (pH 值 3.8~5.4) 检测阴道 pH 值。将第 2 根棉拭子上的分泌物涂抹于载玻片上, 干燥、固定后, 行革兰染色, 油镜 (10 \times 100 倍) 下检查阴道菌群, 参考《阴道微生态评价的临床应用专家共识》^[7] 进行阴道菌群密集度、菌群多样性、优势菌评价: (1) 阴道菌群密集度: I 级: 油镜观察到各视野平均细菌数 1~9 个; II 级: 油镜观察到各视野平均细菌数 10~99 个; III 级: 油镜观察到各视野平均细菌数 ≥ 100 个; IV 级: 油镜观察细菌聚集成团或密集覆盖黏膜上皮细胞; II~III 级表示阴道菌群密集度正常。(2) 阴道菌群多样性: I 级: 涂片中细菌种类 1~3 种; II 级: 涂片中细菌种类 4~6 种; III 级: 涂片中细菌种类 7~9 种; IV 级: 涂片中细菌种类 ≥ 10 种; II~III 级表示阴道菌群多样性正常。(3) 优势菌: 油镜观察到优势菌为乳杆菌表示阴道微生物菌群正常。

1.2.4 外周血免疫指标检测 采集复诊时患者外周空腹静脉血 5 mL 分装为 2 管, 其中 1 管 1000 \times g 离心 10 min, 取上层血清置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存至检测, 采用免疫浊度法检测血清免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA)、免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 水平, 试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司, 所有操作严格按照仪器和试剂盒说明书进行。另 1 管采用 BD FACSCelestaTM 流式细胞仪检测外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 百分比, 并计算 CD4⁺/CD8⁺。

1.3 随访和分组

所有患者在 LEEP 治疗后随访 1 年复诊, 1 年后再次行 HPV 感染检测, 根据是否 HPV 持续感染分为 HPV 持续感染组 (n=41) 和 HPV 转阴组 (n=306)。

1.4 统计学分析

选用 SPSS28.0 统计学软件,计数资料以 n(%)表示, χ^2 检验;计量资料经 S-W 检验均呈正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间 t 检验;单因素及多因素 Logistic 回归分析 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的影响因素; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的单因素分析

HPV 持续感染组年龄 ≥ 45 岁、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO、手术切缘 HPV 感染阳性比例高于 HPV 转阴组,初次性生活年龄 < 20 岁比例低于高于 HPV 转阴组($P < 0.05$);两组患者产次、术前 CIN 分级、病变累及阴道壁的比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的单因素分析[n(%)]
Table 1 Univariate analysis of HPV persistent infection in patients with CIN after LEEP[n(%)]

Factors	n	HPV persistent infection group(n=41)	HPV conversion group (n=306)	χ^2	P
Age					
≥ 45 years	143	23(56.10)	120(39.22)	4.253	0.039
< 45 years	204	18(43.90)	186(60.78)		
Age at first sex					
≥ 20 years	304	32(78.05)	272(88.89)	3.913	0.048
< 20 years	43	9(21.95)	34(11.11)		
Times of birth					
≥ 1 times	279	36(87.80)	243(79.41)	1.616	0.204
0 times	68	5(12.20)	63(20.59)		
Preoperative CIN grading					
II grade	233	24(58.54)	209(68.30)	1.563	0.211
III grade	114	17(41.46)	97(31.70)		
Preoperative HPV multiple infections					
Yes	52	14(34.15)	38(12.42)	13.398	< 0.001
No	295	27(65.85)	268(87.58)		
Preoperative HPV viral load					
≥ 100 RLU/CO	125	28(68.29)	97(31.70)	21.008	< 0.001
< 100 RLU/CO	222	13(31.71)	209(68.30)		
Lesion involved the vaginal wall					
Yes	297	39(95.12)	258(84.31)	3.425	0.064
No	50	2(4.88)	48(15.69)		
Surgical margin HPV infection					
Positive	76	17(41.46)	59(19.28)	10.401	0.001
Negative	271	24(58.54)	247(80.72)		

2.2 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的多因素 Logistic 回归分析

以年龄(≥ 45 岁=1, < 45 岁=0)、初次性生活年龄(< 20 岁=1, ≥ 20 岁=0)、术前 HPV 多重感染(是=1,否=0)、术前 HPV 病毒载量(≥ 100 RLU/CO=1, < 100 RLU/CO=0)、手术切缘 HPV 感染(阳性=1,阴性=0)为自变量,LEEP 后 HPV 持续感染(是=1,否=0)为因变量,多因素 Logistic 回归分析显示,年龄 ≥ 45 岁、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO、手术切缘 HPV 感染阳性为 CIN 患者 LEEP 后

HPV 持续感染的危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 复诊时 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组阴道微生态状况比较

复诊时 HPV 持续感染组阴道优势菌为乳杆菌、菌群密集度和菌群多样性 II~III 级比例低于 HPV 转阴组,菌群多样性 IV 级比例、pH 值高于 HPV 转阴组($P < 0.05$);两组患者菌群密集度和菌群多样性 I 级比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 2 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of HPV persistent infection in patients with CIN after LEEP

Independent variable	β	SE	Wald χ^2	P	OR(95%CI)
Age \geq 45 years	0.034	0.013	6.974	0.008	1.034(1.009~1.060)
Age at first sex < 20 years	0.046	0.026	3.106	0.078	1.047(0.995~1.102)
Preoperative HPV multiple infections	0.316	0.140	5.062	0.024	1.371(1.042~1.806)
Preoperative HPV viral load \geq 100 RLU/CO	0.181	0.063	8.176	0.004	1.198(1.058~1.356)
Positive surgical margin HPV infection	0.272	0.070	8.214	0.004	1.313(1.144~1.507)

表 3 复诊时 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组阴道微生态状况比较

Table 3 Comparison of vaginal microecology between HPV persistent infection group and HPV conversion group at follow-up visit

Items	HPV persistent infection group(n=41)	HPV conversion group (n=306)	χ^2/t	P
Dominant bacterium was Lactobacillus [n(%)]	22(53.66)	233(76.14)	9.382	0.002
Flora density[n(%)]				
I grade	3(7.32)	15(4.90)	0.078	0.780
II ~ III grade	34(82.93)	285(93.14)	5.081	0.024
IV grade	4(9.76)	6(1.96)	7.850	0.005
Bacterial diversity[n(%)]				
I grade	3(7.32)	9(2.94)	0.970	0.325
II ~ III grade	28(68.29)	288(94.12)	26.550	<0.001
IV grade	10(24.39)	9(2.94)	28.128	<0.001
pH($\bar{x} \pm s$)	4.70 \pm 0.23	4.04 \pm 0.30	13.556	<0.001

2.4 复诊时 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组外周血细胞免疫和体液免疫指标比较 IgA、IgG、IgM 水平低于 HPV 转阴组, CD8⁺ 高于 HPV 转阴组 ($P < 0.05$)。见表 4。

复诊时 HPV 持续感染组外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、

表 4 复诊时 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组外周血细胞免疫和体液免疫指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of peripheral blood cellular immunity and humoral immunity between HPV persistent infection group and HPV conversion group at follow-up visit($\bar{x} \pm s$)

Indexes	HPV persistent infection group(n=41)	HPV conversion group (n=306)	t	P
CD3 ⁺ (%)	61.42 \pm 5.83	63.46 \pm 5.13	2.352	0.019
CD4 ⁺ (%)	19.50 \pm 3.67	28.08 \pm 3.99	13.047	<0.001
CD8 ⁺ (%)	33.14 \pm 4.60	30.39 \pm 3.20	4.875	<0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.59 \pm 0.15	0.92 \pm 0.21	9.729	<0.001
IgA(g/L)	0.51 \pm 0.19	0.66 \pm 0.19	4.747	<0.001
IgG(g/L)	5.18 \pm 1.04	7.03 \pm 0.86	12.602	<0.001
IgM(g/L)	0.51 \pm 0.16	0.58 \pm 0.11	3.601	<0.001

3 讨论

持续的高危型 HPV 感染是子宫癌前病变 "CIN" 和宫颈癌的首要因素, HPV 主要通过密切接触或性传播, 感染后能引起

人体皮肤黏膜上皮增生,并通过免疫逃逸机制增加其感染的持续性,90%以上的女性 HPV 感染可在 2 年内自然清除,但仍有不足 1%可发展为宫颈癌前病变和宫颈癌^[67]。LEEP 是一种电圈切除术,通过圆形或方形等电极切除宫颈组织,高频射频电波刀产生的超高频无线电波,在接触组织的瞬间组织自身吸收电波产生高热,使细胞内水分形成蒸汽波,达到切除病变组织和止血的目的,具有操作简便、手术时间短、出血量少、恢复快等优势,是治疗 CIN 的常规方法。LEEP 在切除 CIN 病变组织的同时,也能直接去除 HPV 寄生的表皮组织,达到清除 HPV 的效果,但部分潜伏于皮肤深处的 HPV 并不能完全消除,因此 LEEP 后 HPV 持续感染几率仍然较高,可导致 CIN 复发,需要再次行 LEEP 切除宫颈组织,可导致宫颈功能丧失,并增加孕妇不良妊娠结局的风险^[8-10]。本研究中,347 例 CIN 患者 LEEP 治疗 1 年后 HPV 持续感染发生率为 11.82% (41/347),与董蔼玲等^[11]和 Zang 等^[12]报道的 11.92% 与 14.20% 接近。

本研究结果显示,年龄 ≥ 45 岁、术前 HPV 多重感染、术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO、手术切缘 HPV 感染阳性为 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的危险因素,分析如下:(1)年龄:近年一项 13.8 万例妇科门诊患者的研究证据显示,45 岁后围绝经期是中国有性行为女性的 HPV 暴露高峰^[13]。同时研究报道,尽管 90%以上的女性 HPV 感染可在 2 年内自然清除,但 HPV 感染自然转阴率却与年龄有关,年轻妇女若无法自然清除 HPV 将会导致 HPV 进入持续感染阶段,其感染状况随着年龄增加而增加^[14]。因此笔者推测,年龄 ≥ 45 岁为 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的危险因素可能与该类患者年龄增加,无法自然清除 HPV 导致持续感染有关。同时随着年龄的增加,雌激素分泌会逐渐减少,可导致阴道黏膜萎缩、变薄,降低阴道抵抗力,导致未完全消除的 HPV 再次感染^[15]。(2)术前 HPV 多重感染:HPV 是一种双链环状 DNA 病毒,根据其致癌潜能可分为高危型与低危型,不同 HPV 类型存在不同的感染持续时间和致癌潜能,各种 HPV 类型整合 HPV DNA 到宿主 DNA 中,更难以清除^[16,17]。Ouh 等^[18]研究也报道,相比单一 HPV 感染,HPV 多重感染 CIN 患者术后有更高的持续感染率。但陶佳等^[19]研究报道,HPV 多重感染与 HPV 持续感染无关。目前关于 HPV 单一和多重感染与 CIN 患者术后 HPV 清除率的关系尚不明确,可能与术前 HPV 感染类型越多,机体清除 HPV 感染的时间越长,且对机体免疫等损害越严重,因此 HPV 持续感染率更高,但还需进一步证实。(3)术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO:HPV 病毒载量是指单位感染上皮细胞中 HPV 的拷贝数,HPV 病毒载量与感染的上皮细胞数量和感染细胞中病毒的数量直接相关,HPV 病毒载量高说明 HPV 复制更活跃^[20]。本研究结果显示,术前 HPV 病毒载量 ≥ 100 RLU/CO 为 CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染的危险因素,可能是 HPV 病毒载量越高,反映 HPV 复制更活跃,整合到宿主细胞的几率越高,越容易进入皮肤深处,LEEP 清除率低导致 HPV 持续感染。(4)手术切缘 HPV 感染:目前尚无针对 HPV 的特效药物和手术方法,LEEP 虽然能切除宫颈病变处的 HPV 寄生表皮组织,但 HPV 感染具有"多灶性",一个患者可能存在多个感染部位或多处感染,外阴和阴道也属鳞状上皮,而 HPV 嗜鳞状上皮,手术切缘 HPV 感染阳性说明患者存在多个感染部位或多处感

染,因此 LEEP 后易发生 HPV 持续感染^[21]。因此有学者建议,LEEP 后切缘阳性患者应根据生育要求和病理特征选择定期随访或二次手术,以增加 HPV 转阴率^[22]。

阴道微生态系统是女性人体生态系统的组成部分之一,由阴道内微生物菌群、局部免疫系统、内分泌调节系统和阴道解剖结构组成,阴道内微生物菌群种类繁多,相互共生和拮抗,维持阴道微生态平衡,构成女性局部防御的一道免疫屏障^[23]。阴道微生态平衡受体内各种因素影响,当阴道微生态平衡破坏,可导致阴道内菌群失调和免疫调节功能受损,增加病毒感染几率^[24]。早期研究发现,大多 HPV 感染可被宿主快速清除,近年来越来越多研究证实,阴道微生态能与宫颈局部免疫系统相互作用,影响 HPV 感染进程,CIN 行手术治疗时给予阴道微生物制剂能加快 HPV 病毒清除^[25,26]。正常的阴道微生物菌群以乳杆菌为优势菌,可伴有少量其他杂菌,阴道 pH 值为 3.8~4.5,阴道菌群的密集度和多样性为 II~III 级^[9]。本研究结果显示,两组患者在复诊时,阴道微生态均存在不同程度的破坏,但 HPV 持续感染组阴道优势菌为乳杆菌、菌群密集度和菌群多样性 II~III 级比例低于 HPV 转阴组,pH 值高于 HPV 转阴组,说明 HPV 持续感染与阴道微生态破坏有关,且随着 HPV 转阴,阴道 pH、优势菌、菌群密集度和菌群多样性逐渐恢复。细胞和体液免疫参与 HPV 感染过程,机体感染 HPV 后需要通过上皮进行感染,当 HPV 通过上皮的基底层时会激活细胞和体液免疫,产生相应的抗体、抗原,清除 HPV 并降低病毒载量,这也是大部分女性能通过宿主免疫反应自发清除 HPV 的主要原因^[27,28]。T 细胞是细胞免疫功能中最重要的细胞群,Ig 是体液免疫功能中最重要的蛋白家族,当细胞和体液免疫呈抑制状态时表现为 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IgA、IgG、IgM 降低,CD8⁺ 升高,本研究结果显示,复诊时 HPV 持续感染组外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IgA、IgG、IgM 水平低于 HPV 转阴组,CD8⁺ 高于 HPV 转阴组,说明 HPV 持续感染组细胞和体液免疫受到不同程度损伤,分析是 HPV 感染会大量消耗抗体、抗原,当患者免疫力不足以清除 HPV 时,HPV 能将自身给予整合到宿主基因合成 E6、E7 等蛋白,逃避免疫系统的监视,导致 HPV 持续感染,并进一步降低机体免疫力^[29]。目前开发的 HPV 疫苗也是通过激活免疫系统产生应激反应,使人体免疫系统对相关 HPV 产生相应的抗体,能与入侵的 HPV 项中和,发挥清除 HPV 的作用^[30]。阴道微生态系统作为女性局部防御的免疫屏障,能实现阴道上皮细胞和阴道局部免疫保护,在清除 HPV 感染中发挥作用,但目前关于阴道微生态与自身免疫和 HPV 感染的相互作用的机制尚处于起步阶段,其调控机制有待进一步研究。

综上所述,CIN 患者 LEEP 后 HPV 持续感染与年龄、HPV 多重感染、HPV 病毒载量、手术切缘 HPV 感染有关,LEEP 后 HPV 持续感染可导致 CIN 患者阴道微生态和免疫调节功能受损。但本研究仅随访了 1 年,部分 CIN 患者 LEEP 后再次 HPV 感染发生在 2 年内,可能影响高危因素研究结果。同时不同 HPV 类型的感染持续时间和致癌潜能不同,本研究仅分析了 HPV 持续感染组与 HPV 转阴组 1 年后阴道微生态和免疫功能变化,未进一步分析不同 HPV 感染类型 CIN 患者阴道微生态和免疫功能变化,且相关机制还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 中华医学会妇科肿瘤学分会, 中国优生科学协会阴道镜和宫颈病理学分会, 马丁, 等. 人乳头瘤病毒疫苗临床应用中国专家共识[J]. 协和医学杂志, 2021, 12(2): 189-201
- [2] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫颈癌诊断与治疗指南(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 474-489
- [3] Lin W, Zhang Q, Chen Y, et al. Changes of the vaginal microbiota in HPV infection and cervical intraepithelial neoplasia: a cross-sectional analysis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 2812
- [4] Mitra A, MacIntyre DA, Paraskevaidi M, et al. The vaginal microbiota and innate immunity after local excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Genome Med*, 2021, 13(1): 176
- [5] 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
- [6] 福建省海峡两岸精准医学协会 HPV 感染疾病专业委员会. HPV 感染疾病相关问题专家共识 (2017)[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(12): 1238-1241
- [7] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 宫颈癌诊断与治疗指南(第四版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(6): 613-622
- [8] Monti M, D'Aniello D, Scopelliti A, et al. Relationship between cervical excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia and obstetrical outcome [J]. *Minerva Obstet Gynecol*, 2021, 73 (2): 233-246
- [9] Loopik DL, van Drongelen J, Bekkers RLM, et al. Cervical intraepithelial neoplasia and the risk of spontaneous preterm birth: A Dutch population-based cohort study with 45,259 pregnancy outcomes[J]. *PLoS Med*, 2021, 18(6): e1003665
- [10] 陈见美, 符永帅, 周冬梅, 等. 宫颈冷刀锥切术治疗宫颈上皮内瘤变的疗效观察及术后切缘阳性的危险因素分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(1): 135-139
- [11] 董蕊玲, 宋晓婕, 孔繁丽, 等. 宫颈上皮内瘤变患者术后 HR-HPV 持续感染影响因素 [J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(20): 3191-3195
- [12] Zang L, Huang J, Zhu J, et al. Risk factors associated with the persistence of human papillomavirus after cervical excision in patients with high-grade squamous intra-epithelial neoplasia[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2021, 266(28): 175-181
- [13] Liao G, Jiang X, She B, et al. Multi-Infection Patterns and Co-infection Preference of 27 Human Papillomavirus Types Among 137,943 Gynecological Outpatients Across China [J]. *Front Oncol*, 2020, 10(9): 449
- [14] Vänskä S, Luostarinen T, Lagheden C, et al. Differing Age-Specific Cervical Cancer Incidence Between Different Types of Human Papillomavirus: Implications for Predicting the Impact of Elimination Programs[J]. *Am J Epidemiol*, 2021, 190(4): 506-514
- [15] R S J. The Immune Microenvironment in Human Papilloma Virus-Induced Cervical Lesions-Evidence for Estrogen as an Immunomodulator [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11 (30): 649815
- [16] World Health Organization. Electronic address: sageexecsec@who.int. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations[J]. *Vaccine*, 2017, 35(43): 5753-5755
- [17] Kops NL, Caieraõ J, Bessel M, et al. Behavioral factors associated with multiple-type HPV genital infections: data from a cross-sectional study in young women in Brazil[J]. *Reprod Health*, 2021, 18(1): 201
- [18] Ouh YT, Cho HW, Kim SM, et al. Risk factors for type-specific persistence of high-risk human papillomavirus and residual/recurrent cervical intraepithelial neoplasia after surgical treatment [J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2020, 63(5): 631-642
- [19] 陶佳, 朱艳, 刘雷, 等. 高级别宫颈上皮内瘤变患者阴道微生态对 HPV 感染转归的影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(4): 581-585
- [20] 王芳, 李卫民, 刘艳丽, 等. 高危型 HPV 亚型及病毒载量检测对宫颈癌筛查的价值探究[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(4): 647-650
- [21] Kim M, Choi MC, Lee C, et al. Long-term outcomes of photodynamic therapy for a positive resection margin after conization for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2022, 37(3): 102639
- [22] Abdulaziz AMA, You X, Liu L, et al. Management of high-grade squamous intraepithelial lesion patients with positive margin after LEEP conization: A retrospective study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(20): e26030
- [23] Wang J, Li Z, Ma X, et al. Translocation of vaginal microbiota is involved in impairment and protection of uterine health. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4191
- [24] 季璇, 蔡云朗. 阴道微生态与 HPV 感染及宫颈病变相关性的研究进展[J]. 东南大学学报(医学版), 2021, 40(3): 410-414
- [25] Zhai Q, Zhang W, Zhang Z, et al. Characteristics of the Cervicovaginal Microenvironment in Childbearing-Age Women with Different Degrees of Cervical Lesions and HR-HPV Positivity[J]. *Pol J Microbiol*, 2021, 70(4): 489-500
- [26] Li Y, Yu T, Yan H, et al. Vaginal Microbiota and HPV Infection: Novel Mechanistic Insights and Therapeutic Strategies[J]. *Infect Drug Resist*, 2020, 13(30): 1213-1220
- [27] Boilesen DR, Nielsen KN, Holst PJ. Novel Antigenic Targets of HPV Therapeutic Vaccines[J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(11): 1262
- [28] 李甜甜, 武丽, 吕霄, 等. 人乳头瘤病毒的感染现状及免疫治疗研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18): 2862-2867
- [29] McBride AA. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(2): 95-108
- [30] Jee B, Yadav R, Pankaj S, et al. Immunology of HPV-mediated cervical cancer: current understanding[J]. *Int Rev Immunol*, 2021, 40(5): 359-378