

高危型人乳头瘤病毒感染的转归特点及阴道微环境因子对其转归影响的研究

孟丹¹ 宋丽¹ 祁卓¹ 王捷¹ 刘虹¹ 吕元婧¹ 贾海霞¹ 丁玲¹ 郝敏² 田志强³
王金桃¹

¹山西医科大学公共卫生学院流行病学教研室,太原 030001; ²山西医科大学第二医院妇产科,太原 030001; ³山西医科大学口腔医院,太原 030001

通信作者:王金桃, Email:wangjt59@163.com

【摘要】目的 探讨高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)感染的转归特点及阴道微环境因子对其转归的影响。**方法** 从本课题组前期建立的社区队列中,选取HR-HPV感染、经病理学诊断为正常宫颈的421名女性为研究对象,进行24个月的随访。在收集基线资料的基础上,应用需氧菌性阴道炎/细菌性阴道病联合检测试剂盒测定阴道微环境因子,采用导流杂交技术检测HPV感染状况。根据基线和随访24个月后HR-HPV的感染状况,描述HR-HPV感染的转归特征,并探讨阴道微环境因子对HR-HPV感染转归的影响。**结果** 在390名完成24个月随访的HR-HPV感染女性中,HR-HPV持续感染率居前5位的型别依次为HPV16(24.1%)、HPV58(22.2%)、HPV53(21.7%)、HPV52(20.0%)和HPV39(11.8%)。阴道pH值(aOR=1.74, 95%CI: 1.08~2.80)、唾液酸苷酶(aOR=2.70, 95%CI: 1.52~4.83)和白细胞酯酶(aOR=3.41, 95%CI: 2.13~5.44)异常可增加HR-HPV持续感染的风险,其中唾液酸苷酶和白细胞酯酶异常均可增加同型和异型HR-HPV持续感染的风险。**结论** HPV16容易发生持续感染,阴道pH值、唾液酸苷酶和白细胞酯酶异常可增加HR-HPV持续感染的风险,特别是唾液酸苷酶、白细胞酯酶异常作用更为明显。

【关键词】 阴道微环境因子; 高危型人乳头瘤病毒; 转归

基金项目:国家自然科学基金(81872705,81473060,81703313);国家卫生和计划生育委员会公益性行业科研专项(201402010)

Prognosis of high-risk HPV infection and its influences by vaginal micro-environmental factors

Meng Dan¹, Song Li¹, Qi Zhuo¹, Wang Jie¹, Liu Hong¹, Lyu Yuanjing¹, Jia Haixia¹, Ding Ling¹, Hao Min², Tian Zhiqiang³, Wang Jintao¹

¹Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ³Stomatological Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China
Corresponding author: Wang Jintao, Email: wangjt59@163.com

【Abstract】 Objective To describe the characteristics of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) infection and its influences by vaginal micro-environmental factors. **Methods** A total of 421 women with HR-HPV infection and normal cervix diagnosed by pathology were selected from a community cohort established earlier by our research group for a 24-month follow-up. The baseline data were collected at enrollment. The vaginal micro-environmental factors were detected by using the combined detection kit of aerobic vaginitis and bacterial vaginosis. And the HPV was detected by

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200829-01107

收稿日期 2020-08-29 本文编辑 万玉立

引用本文:孟丹,宋丽,祁卓,等.高危型人乳头瘤病毒感染的转归特点及阴道微环境因子对其转归影响的研究[J].中华流行病学杂志,2021,42(6):1103-1107. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200829-01107.



using the flow-through hybridization technology. According to the HR-HPV infection status in baseline and 24 months of follow-up, with the prognosis characteristics of HR-HPV infection described, the impact of vaginal micro-environmental factors on the prognosis of HR-HPV infection was explored as well. **Results** Among 390 HR-HPV infected women who completed 24 months of follow-up, the top five types of persistent HR-HPV infection rate appeared as HPV16 (24.1%), HPV58 (22.2%), HPV53 (21.7%), HPV52 (20.0%), and HPV39 (11.8%), respectively. The results showed that women with abnormal vaginal pH ($aOR=1.74$, $95\%CI: 1.08-2.80$), abnormal neuraminidase ($aOR=2.70$, $95\%CI: 1.52-4.83$), or abnormal leucocyte esterase ($aOR=3.41$, $95\%CI: 2.13-5.44$), the risk of HR-HPV persistent infection increased. The abnormalities of neuraminidase and leucocyte esterase could increase the risk of persistent infection of homotype and heterotypic HR-HPV. **Conclusions** HPV16 was prone to persistent infection. Abnormalities of vaginal pH, neuraminidase, and leucocyte esterase might increase the risk of HR-HPV persistent infection. Both the abnormalities of neuraminidase and leucocyte esterase play an essential role in the HR-HPV persistent infection.

【Key words】 Vaginal micro-environmental factors; High-risk human papillomavirus; Prognosis

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81872705, 81473060, 81703313); Nonprofit Scientific Research Industry Special Fund of National Health and Family Planning Commission of China (201402010)

子宫颈癌位居全球女性恶性肿瘤第四位,对女性健康构成严重威胁^[1]。高危型 HPV(HR-HPV)持续感染是子宫颈癌发生的主要病因^[2],女性一生中感染 HR-HPV 的概率较高,但只有不到 10% 的感染者发生持续感染,甚至进展为子宫颈癌^[3]。因此,明确影响 HR-HPV 感染转归的因素并采取针对性的干预措施,对于降低子宫颈癌的发病率至关重要。鉴于子宫颈与阴道密切的生理关系,阴道微环境变化与 HR-HPV 的关系逐渐受到关注。已有研究表明阴道微环境紊乱可增加 HR-HPV 感染的风险^[4-5],但阴道微环境紊乱对 HR-HPV 感染转归的影响目前尚不清楚。本研究基于社区队列采用巢式病例对照研究的方法,旨在研究阴道微环境因子对 HR-HPV 感染转归的影响,以期对 HR-HPV 持续感染的预测和早期干预提供一定依据。

对象与方法

1. 研究对象:从本课题组于 2014 年 6-12 月在山西省介休市、阳曲县建立的社区已婚女性队列中,选取 HR-HPV 感染、经病理学诊断为正常宫颈的 421 名女性为研究对象,进行了 24 个月的随访,并于随访结束时对研究对象再次行 HPV 检测。研究对象的纳入排除标准参照本课题组前期研究^[6],本研究通过山西医科大学医学伦理委员会审查,研究对象均签署知情同意书。

2. 基线资料和标本的收集:由经过严格培训的调查员采用统一的结构式问卷面对面收集研究对

象的一般人口学特征、月经、婚育史、卫生习惯等基线资料。由临床医生使用扩阴器暴露宫颈,用无菌棉棒于阴道侧壁上 1/3 处采集分泌物,按课题组前期操作方法制备所需的分泌物样本液^[6],用于阴道微环境因子的检测。同时用宫颈刷于宫颈口处顺时针旋转 3-5 圈收集宫颈脱落细胞,将其放入专用细胞保存液中,用于 HPV 的分型检测。

3. 随访与分组:与基线 HPV 检测结果比较,将 24 个月 HR-HPV 转为阴性者归为 HR-HPV 感染转阴,仍为阳性者归为 HR-HPV 持续感染。对 HR-HPV 持续感染者进一步将两次检测结果为相同型别或多重感染中至少有一种型别相同者归为同型持续感染,两次检测结果为不同型别者归为异型持续感染。

4. 实验方法:

(1) HPV 检测:应用导流杂交技术,采用 HPV-DNA 提取试剂盒及凯普 21 种 HPV 分型检测试剂盒对基线及随访 24 个月时采集的宫颈脱落细胞进行 HPV 的分型检测,其中 HR-HPV 包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66 和 68。

(2) 阴道微环境因子检测:参照课题组前期建立的方法^[6],对基线收集的阴道分泌物进行阴道微环境因子的检测。阴道 pH 值采用 pH 精密试纸检测,pH 值 ≤ 4.5 判断为正常,pH 值 > 4.5 判断为异常;阴道清洁度 I~II 度判定为正常,III~IV 度判定为异常^[7];阴道分泌物预成酶谱采用北京中生金域需氧菌性阴道炎/细菌性阴道病五项联合测定试剂盒

检测,阴性或疑似阳性判断为正常,阳性判断为异常。

5. 统计学分析:采用 EpiData 3.1 软件录入问卷,进行双录入和双核查。采用 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析和作图。定量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,定性资料采用频数及构成比(%)表示。组间各因素比较采用 χ^2 检验、Fisher 精确检验;采用非条件 logistic 回归模型计算 OR 值及 95%CI。检验水准为 $\alpha=0.05$ (双侧)。

结 果

1. HR-HPV 感染的转归特点:421 名 HR-HPV 感染的女性中,390 名(92.6%)完成了 24 个月的随访,且失访组与未失访组在一般人口学特征方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。基线资料显示,390 名 HR-HPV 感染的女性中,位居前 4 位的型别分别为 HPV16 (22.3%)、HPV58 (9.2%)、HPV52 (7.7%) 和 HPV53 (5.9%)。随访 24 个月后,有 268 名(68.7%)HR-HPV 感染者转阴,122 名(31.3%)发生持续感染,其中 64 名(64/122, 52.5%)为同型持续感染。进一步以不同型别 HR-HPV 基线感染者为基数,对同型持续感染情况分析显示,HR-HPV 持续感染率居前 5 位的型别依次为 HPV16 (21/87, 24.1%)、HPV58 (8/36, 22.2%)、HPV53 (5/23, 21.7%)、HPV52 (6/30, 20.0%) 和 HPV39(2/17, 11.8%)。见图 1。

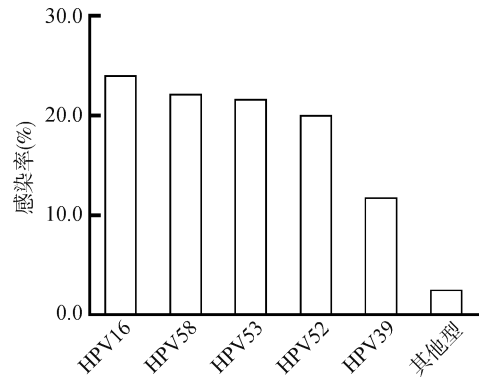


图 1 HR-HPV 持续感染的型别分布

2. HR-HPV 感染转归的相关因素:HR-HPV 感染转阴组和持续感染组的年龄分别为 46(40, 53)岁和 51(41, 56)岁,两组在年龄、文化程度、职业、婚姻状况、家庭年收入、洗澡频率、换内裤频率、性生活后清洗、非经期使用护垫、月经史、产次、流产史等方面均衡可比($P>0.05$),而在洗阴频率($\chi^2=6.80$, $P=0.033$)、绝经($\chi^2=5.12$, $P=0.024$)方面差异有统计学意义。进一步对 HR-HPV 感染转阴组、同型持续感染组、异型持续感染组比较后发现,3 组在洗阴频率($\chi^2=14.59$, $P=0.006$)、绝经($\chi^2=7.45$, $P=0.024$)方面差异仍有统计学意义。

3. 阴道微环境因子与 HR-HPV 感染转归的关系:阴道 pH 值、唾液酸苷酶、白细胞酯酶的异常率在 HR-HPV 感染转阴组与持续感染组差异均有统计学意义($P<0.05$),阴道 pH 值、唾液酸苷酶和白细胞酯酶异常的女性发生 HR-HPV 持续感染的风险增大(表 1)。

表 1 阴道微环境因子与 HR-HPV 感染转归的关系

阴道微环境因子	感染转阴 ^a	持续感染 ^a	χ^2 值	P 值	OR 值(95%CI)	aOR 值(95%CI) ^b
阴道清洁度			0.03	0.867	0.95(0.54~1.68)	0.84(0.47~1.50)
正常	220(82.1)	101(82.8)				
异常	48(17.9)	21(17.2)				
阴道 pH 值			7.30	0.007	1.89(1.19~3.00)	1.74(1.08~2.80)
正常	113(42.2)	34(27.9)				
异常	155(57.8)	88(72.1)				
过氧化氢			1.09	0.298	1.26(0.82~1.94)	1.20(0.77~1.87)
正常	125(46.6)	50(41.0)				
异常	143(53.4)	72(59.0)				
唾液酸苷酶			11.11	0.001	2.57(1.46~4.53)	2.70(1.52~4.83)
正常	239(89.2)	93(76.2)				
异常	29(10.8)	29(23.8)				
白细胞酯酶			30.34	<0.001	3.48(2.21~5.47)	3.41(2.13~5.44)
正常	205(76.5)	59(48.4)				
异常	63(23.5)	63(51.6)				

注:^a括号外数据为人数,括号内数据为构成比(%);^b调整洗阴频率、非经期使用护垫、绝经

4. 阴道微环境因子与同型及异型 HR-HPV 持续感染的关系:唾液酸苷酶、白细胞酯酶异常率在 HR-HPV 感染转阴组、同型持续感染组、异型持续感染组差异有统计学意义($P<0.05$),唾液酸苷酶、白细胞酯酶异常均可增加同型和异型 HR-HPV 持续感染的风险(表 2)。

讨 论

HR-HPV 持续感染是导致子宫颈癌及癌前病变的最主要病因,本研究结果显示,随访 24 个月后有 31.3% 的女性发生了 HR-HPV 持续感染,以 HPV16 的持续感染率最高,其次为 HPV58、53、52、39。Bulkman 等^[8]的研究显示 HPV16 的清除率最低,其次为 HPV31、33、18, Nielsen 等^[9]的研究表明 HPV16、58、31 相对于其他型别更容易发生持续感染。提示,尽管不同国家和地区 HPV 持续感染的型别有所不同,但 HPV16 容易发生持续感染为共同特征,特别值得注意的是,当地女性 HPV58、53、52 感染后也容易发生持续感染,在子宫颈癌变中的作用不容忽视。

阴道微生态是一个以乳杆菌为优势菌、pH 值为 3.8~4.5 的酸性微环境,阴道清洁度、pH 值、过氧化氢、唾液酸苷酶和白细胞酯酶作为重要的阴道微环境因子,对维持阴道微环境的平衡起着重要作用^[10]。我们课题组前期研究发现阴道微环境因子紊乱可增加宫颈病变的发生风险^[11], Clarke 等^[12]也

发现阴道 pH 值升高可使 HPV 感染的风险增加,但有关阴道微环境因子对 HR-HPV 感染转归影响的研究甚少。本次基于巢式病例对照研究发现,阴道 pH 值、白细胞酯酶、唾液酸苷酶异常可增加 HR-HPV 持续感染的风险,提示阴道微环境因子的异常可作为 HR-HPV 持续感染的预警标志。

有研究显示,同型 HR-HPV 持续感染 12 个月的妇女阴道过氧化氢、唾液酸苷酶、白细胞酯酶的异常率均高于健康人群^[13]。本研究在关注同型持续感染的同时,对异型持续感染也进行了分析,发现唾液酸苷酶、白细胞酯酶异常既可增加同型 HR-HPV 持续感染的风险,也可促进异型 HR-HPV 持续感染的发生。唾液酸苷酶可降解阴道黏液中的黏液蛋白,破坏阴道黏膜的物理屏障^[14],增加 HPV 和上皮细胞的接触机会,容易导致 HR-HPV 的持续感染。白细胞酯酶异常作为阴道黏膜受损的标志^[15],可通过破坏阴道黏膜屏障使 HR-HPV 入侵和持续感染的风险增大。同时,我们发现阴道 pH 值异常率在同型和异型 HR-HPV 持续感染组基本相近,但均较阴转组为高,而阴道过氧化氢这一乳酸菌分泌的主要产物异常更易增加异型 HR-HPV 持续感染的风险。提示保持阴道微环境的酸性状态,维持阴道乳酸菌的优势地位,恢复过氧化氢的正常比例,对于预防 HR-HPV 的持续感染具有重要意义。

本研究基于社区队列描述了 HR-HPV 感染转归的特点,获得当地容易发生持续感染的主要型

表 2 阴道微环境因子与同型及异型 HR-HPV 持续感染的关系

阴道微环境因子	HR-HPV 转归情况	人数	异常人数(率,%) ^a	χ^2 值	P值	OR值(95%CI)	aOR值(95%CI) ^b
阴道清洁度	感染转阴	268	48(17.9)	0.25	0.884	1.00	1.00
	同型持续	64	12(18.8)			1.06(0.53~2.13)	0.97(0.46~2.02)
	异型持续	58	9(15.5)			0.84(0.39~1.83)	0.75(0.34~1.67)
阴道pH值	感染转阴	268	155(57.8)	7.39	0.025	1.00	1.00
	同型持续	64	47(73.4)			2.02(1.10~3.69)	1.72(0.92~3.23)
	异型持续	58	41(70.7)			1.76(0.95~3.25)	1.65(0.88~3.09)
过氧化氢	感染转阴	268	143(53.4)	4.11	0.128	1.00	1.00
	同型持续	64	33(51.6)			0.93(0.54~1.61)	0.90(0.51~1.59)
	异型持续	58	39(67.2)			1.79(0.99~3.27)	1.68(0.91~3.09)
唾液酸苷酶	感染转阴	268	29(10.8)	11.27	0.004	1.00	1.00
	同型持续	64	16(25.0)			2.75(1.39~5.45)	3.45(1.67~7.14)
	异型持续	58	13(22.4)			2.38(1.15~4.93)	2.38(1.14~4.99)
白细胞酯酶	感染转阴	268	63(23.5)	30.47	<0.001	1.00	1.00
	同型持续	64	34(53.1)			3.69(2.09~6.50)	3.94(2.15~7.22)
	异型持续	58	29(50.0)			3.25(1.81~5.85)	3.29(1.80~6.04)

注:^a阴道微环境因子异常;^b调整洗阴频率、非经期使用护垫、绝经

别,揭示出唾液酸苷酶、白细胞酯酶在同型和异型 HR-HPV 持续感染中具有重要作用,为 HR-HPV 及不同型别的转归研究提供了重要证据,从阴道微环境因子的角度为 HR-HPV 持续感染的预测及早期干预开拓了新思路。然而,鉴于阴道微环境的多变性和 HPV 感染影响因素的复杂性,阴道微环境因子对 HR-HPV 感染转归的作用机制有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):E359-386. DOI:10.1002/ijc.29210.
- [2] Wang HY, Park S, Lee D, et al. Prevalence of type-specific oncogenic human papillomavirus infection assessed by HPV E6/E7 mRNA among women with high-grade cervical lesions[J]. *Int J Infect Dis*, 2015, 37:135-142. DOI: 10.1016/j.ijid.2015.06.018.
- [3] Fajardo-Ramírez OR, Barboza-Cerda MC, Ortiz-López R, et al. Prevalence and 3-year persistence of human papillomavirus serotypes in asymptomatic patients in Northern Mexico[J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2017, 136(1): 40-46. DOI:10.1002/ijgo.12009.
- [4] 张展,张岱,肖冰冰,等.高危型 HPV 感染与阴道菌群及子宫颈菌群关系的初步研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(7):471-480. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2018.07.006.
Zhang Z, Zhang D, Xiao BB, et al. Primary study on the relationship between high-risk HPV infection and vaginal cervical microbiota[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2018, 53(7): 471-480. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2018.07.006.
- [5] Mongelos P, Mendoza LP, Rodriguez-Riveros I, et al. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes and bacterial vaginosis presence in cervical samples from Paraguayan indigenous[J]. *Int J Infect Dis*, 2015, 39:44-49. DOI:10.1016/j.ijid.2015.08.007.
- [6] Li L, Ding L, Gao T, et al. Association between vaginal micro-environment disorder and cervical intraepithelial neoplasia in a community based population in China[J]. *J Cancer*, 2020, 11(2):284-291. DOI:10.7150/jca.35022.
- [7] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2006:234. Department of Medical Administration, Ministry of Health of the People's Republic of China. National guide to clinical laboratory procedures[M]. 3rd ed. Nanjing: Southeast University Press, 2006:234.
- [8] Bulkmands NW, Berkhof J, Bulk S, et al. High-risk HPV type-specific clearance rates in cervical screening[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(9):1419-1424. DOI:10.1038/sj.bjc.6603653.
- [9] Nielsen A, Kjaer SK, Munk C, et al. Persistence of high-risk human papillomavirus infection in a population-based cohort of Danish women[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(4): 616-623. DOI:10.1002/jmv.21750.
- [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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2016.10.001. Infectious Diseases Cooperative Group, Gynecology and Obstetrics Branch, Chinese Medical Association. Expert consensus on clinical application of vaginal microecological evaluation[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2016, 51(10):721-723. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2016.10.001.
- [11] 李俐,丁玲,吕元婧,等.阴道微环境改变与 HPV16 感染在宫颈上皮内瘤变中的作用及其交互效应[J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(11): 1486-1490. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.11.013.
Li L, Ding L, Lyu YJ, et al. Interaction between vaginal micro-environment alterations and HPV16 infection in cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(11):1486-1490. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.11.013.
- [12] Clarke MA, Rodriguez AC, Gage JC, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection [J]. *BMC Infect Dis*, 2012, 12(1):33. DOI: 10.1186/1471-2334-12-33.
- [13] 廖婵婵,瞿微微,吕杰强.高危型人乳头瘤病毒持续感染妇女阴道微生态状态分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(5):594-597. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.202005022.
Liao CC, Qu WW, Lyu JQ. Clinical analysis of vaginal microecology in women with high risk HPV infection[J]. *Chin J Microecol*, 2020, 32(5):594-597. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.202005022.
- [14] Lewis WG, Robinson LS, Gilbert NM, et al. Degradation, foraging, and depletion of mucus sialoglycans by the vagina-adapted *Actinobacterium gardnerella vaginalis*[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(17): 12067-12079. DOI: 10.1074/jbc.M113.453654.
- [15] Yue XA, Chen P, Tang Y, et al. The dynamic changes of vaginal microecosystem in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis: a retrospective study of 800 patients[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2015, 292(6): 1285-1294. DOI:10.1007/s00404-015-3774-2.