

高危型人乳头瘤病毒感染患者外周血 T 淋巴细胞及阴道微生物生态检验和意义

欧阳苏卉^{1*}, 王丽², 王影³

(1. 南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院检验科, 南京 210004; 2. 无锡市梁溪区扬名街道社区卫生服务中心检验科, 无锡 214000; 3. 南京市六合区龙袍街道社区卫生服务中心检验科, 南京 211500)

摘要:目的 对高危型 HPV 感染者进行外周血 T 淋巴细胞与阴道微生物生态检测, 评价检测结果的相关性及临床意义。方法 选 2021 年 1 月—2023 年 11 月 103 例 HPV 感染者, 根据《妇产科学》中相关指标, 分为高危型 HPV 组和非高危型 HPV 组, 采用多功能流式细胞仪进行外周血 T 淋巴细胞检测, 采用革兰染色法, 在油镜下对阴道微生物生态(乳酸杆菌和其他阴道菌群)进行观察, 计算并统计分析其相关性。结果 高危型 HPV 组患者支原体小体、衣原体小体、滴虫检出率和 Nugent 评分显著高于对照组 ($P < 0.05$), 乳酸杆菌检出率、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 水平显著低于非高危型 HPV 组 ($P < 0.001$); 两组患者 Nugent 评分与外周血 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 水平呈负相关关系 ($P < 0.001$), 与 CD8⁺ 水平呈正相关关系 ($P=0.004$)。结论 高危型 HPV 感染者随着病情的加重, 其阴道微生物生态指标逐渐上升, 免疫功能指标逐渐下降, 治疗时, 应纠正患者免疫功能, 改善阴道微生物生态情况。

关键词: 高危型 HPV 感染; 外周血 T 淋巴细胞; 阴道微生物生态检验; 相关关系

0 引言

高危型人乳头瘤病毒(High-risk human papilloma virus, HR-HPV)作为球状 DNA 病毒的一种, 具有较强的致癌性, 尤其高危型 HPV 的致癌性更强, 与子宫颈癌的发生存在密切关联^[1]。该病毒在进入女性宫颈时, 需通过阴道的微生物防线, 由于女性生殖系统特殊的生理构造、阴道内形成微生态系统, 且健康女性阴道微生态系统保持较为平衡的状态^[2], 但当其平衡受到破坏时, 可能影响其生殖系统健康, 并导致疾病的发生。另有研究^[3]显示, 在女性阴道微生态平衡遭到破坏时, 其机体免疫功能也收到一定影响。有研究^[4-5]指出, 患者阴道微生态环境失衡后, 其 T 淋巴细胞和 NK 细胞的免疫功能下降, 增加了子宫颈癌的发生风险。因此, 对 HPV 感染者外周血 T 淋巴细胞与阴

道微生物生态情况进行检测具有重要意义, 目前, 对外周血 T 淋巴细胞的检测多采用流式细胞仪, 该检查方法具有准确且便捷的优势。本次研究选择我院在 2021 年 1 月—2023 年 11 月期间收治的 103 例 HPV 感染者为对象, 利用旨在探讨 HR-HPV 感染者外周血 T 淋巴细胞与阴道微生物生态的关系, 为临床提供参考, 详细报告如下。

1 资料与方法

1.1 基础资料

便利选取 2021 年 1 月—2023 年 11 月在我院进行治疗的 103 例 HPV 感染者作为研究对象。根据《妇产科学》中相关指标, 将患者分为高危型 HPV 组和非高危型 HPV 组, 两组患者首次性生活年龄和产次差异存在统计学意义 ($P < 0.05$), 详见表 1。

表 1 两组患者基础资料

组别	患者数	年龄(岁)	首次性生活年龄(岁)	产次(次)
高危型 HPV 组	55	34.52±5.27	20.13±2.15	1.69±0.37
非高危型 HPV 组	48	35.43±6.09	21.06±1.98	1.52±0.41
<i>t</i>	—	0.813	2.272	2.212
<i>P</i>	—	0.418	0.025	0.029

1.2 纳入及排除标准

纳入标准: (1)患者实验室检查结果符合 HPV 感染相关标准; (2)患者在本研究前 1 个月内未进行相关治疗; (3)患者年龄 ≥ 18 岁; (4)患者有性生活史; (5)患者在检查前 24 h 内未

进行性生活; (6)患者对本研究知情同意。排除标准: (1)患者伴有宫颈治疗、子宫或宫颈手术史; (2)患者伴有糖尿病、感染或免疫系统疾病; (3)患者伴有严重意识障碍或精神类疾病; (4)患者处于妊娠期、月经期或哺乳期。

*通信作者: 欧阳苏卉, 主管检验师, 研究方向为临床医学检验微生物检验。E-mail: 916444902@qq.com

1.3 研究方法

1.3.1 阴道微生态检验

指导患者保持截石位, 对其外阴常规消毒后, 使用窥阴器充分暴露患者阴道, 随后采用一次性无菌采样拭子对患者阴道后穹隆和宫颈分泌物进行样本采集, 样本数量为 2 份。对患者进行形态学和功能学指标进行检测, 将 1 份样本制成湿片, 采用高倍数相差显微镜对支原体小体、衣原体小体和滴虫等病原体进行观察并计数。将另 1 份样本制成干片, 并采用革兰染色法, 在油镜下对乳酸杆菌和其他阴道菌群进行观察, 结合功能学对患者阴道微生态进行评价。

1.3.2 外周血 T 淋巴细胞检测

采集患者二乙胺四乙酸二钾抗凝静脉血 200 μ L, 分为两管, 其中一管中加入 CD4⁺ 单克隆抗体 20 μ L, 另一管中加入 CD3⁺、CD8⁺ 单克隆抗体 20 μ L, 进行双标记。室温环境下孕育 30 min, 随后向 2 管中加入溶血剂, 待融雪完全后, 采用美国热电公司 Pico17 进行告诉离心处理(转速: 1000 r/min, 持续 5 min), 弃上清液, 使用洗涤液洗涤 1 次, 并向 2 管中加入 15 μ L 固定剂, 使用 0.5 mL PBS 混匀制成悬液, 将细胞浓度调整至 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ /mL, 采用多功能流式细胞仪(美国 BD 公司 FACSCanto 流式细胞仪)对 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 水平进行检测, 并计算 CD4⁺/CD8⁺ 值, 样品试剂盒采用德国默克公司产品, 并根据仪器及试剂盒说明书进行操作。

1.4 观察指标

1.4.1 阴道微生态情况

记录并比较患者阴道病原体阳性情况, 包括乳酸杆菌、支原体小体、衣原体小体和滴虫。并根据阴道微生态情况进行 Nugent 评分评估, 该评分总分为 0~8 分, 0 分表示无杂菌, 评分与患者阴道杂菌数呈正相关关系, 其中, 0~3 分为正常水平, 评分 ≥ 7 分, 提示患者感染阴道炎。

1.4.2 外周血 T 淋巴细胞情况

比较两组患者 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 水平和 CD4⁺/CD8⁺ 值。

1.4.3 相关性

计算患者 Nugent 评分与外周血 T 淋巴细胞的相关性。

1.5 数据处理

应用 SPSS26.0 软件进行数据统计分析, 计量资料应用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 正态分布时采用 *t* 检验, 计数资料以 (%) 表示, 采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Pearson 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 阴道微生态情况

高危型 HPV 组患者支原体小体、衣原体小体、滴虫检出率和 Nugent 评分分别为 83.64%、87.27%、90.91% 和 (1.38 \pm 0.31) 分, 显著高于对照组 (*P* < 0.05), 而乳酸杆菌检出率为 34.55%, 显著低于非高危型 HPV 组 (*P* < 0.001), 提示患者阴道内菌群失衡。详见表 2。

表 2 两组患者阴道病原体阳性率和 Nugent 评分对比

组别	患者数	阴道病原体阳性率 [<i>n</i> (%)]				Nugent 评分(分)
		乳酸杆菌	支原体小体	衣原体小体	滴虫	
高危型 HPV 组	55	19(34.55)	46(83.64)	48(87.27)	50(90.91)	7.88 \pm 1.31
非高危型 HPV 组	48	27(56.25)	26(54.17)	29(60.42)	25(52.08)	6.83 \pm 0.79
<i>t</i>	—	4.886	10.580	9.796	19.519	4.837
<i>P</i>	—	0.027	0.001	0.002	< 0.001	< 0.001

2.2 外周血 T 淋巴细胞情况

高危型 HPV 组患者 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 水平分别为 (47.49 \pm 4.13)%、(45.18 \pm 3.52)% 和 (1.36 \pm 0.31), 显著低于非高危型 HPV 组, 而其 CD8⁺ 水平为 (32.87 \pm 2.54)%, 显著高于

非高危型 HPV 组 (*P* < 0.001), 提示高危型 HPV 患者免疫功能受到一定影响, 机体在感染 HPV 病毒后, 其免疫抑制作用减弱, 免疫应答能力降低, 宫颈部 T 淋巴细胞亚群紊乱, 对有害物质的清除能力下降。表 3。

表 3 两组患者外周血 T 淋巴细胞水平对比

组别	患者数	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
高危型 HPV 组	55	47.49 \pm 4.13	45.18 \pm 3.52	32.87 \pm 2.54	1.36 \pm 0.31
非高危型 HPV 组	48	55.69 \pm 4.08	51.76 \pm 4.35	25.76 \pm 3.17	2.05 \pm 0.37
<i>t</i>	—	10.109	8.481	12.628	10.297
<i>P</i>	—	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.3 相关性分析

两组患者 Nugent 评分与外周血 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺

水平呈负相关关系 (*P* < 0.001), 与 CD8⁺ 水平呈正相关关系 (*P*=0.004), 详见表 4。

表 4 Nugent 评分与外周血 T 淋巴细胞的相关性分析

组别	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
高危型 HPV 组	-0.505	0.006	-0.486	0.007	0.531	0.002	-0.497	0.005
非高危型 HPV 组	-0.513	0.001	-0.491	0.002	0.507	0.004	-0.486	0.009

3 讨论与结论

HPV感染作为导致女性发生宫颈癌的主要因素之一,严重威胁患者健康水平。研究^[6]显示,90%以上的宫颈癌患者伴有HPV感染。根据病毒的致病性,可将该病毒分为高危型、中危型和低危型,相关研究显示,高危型HPV以HPV16型为主,其占比可达到38%。相较于治疗而言,对HPV感染的临床诊断更为关键,而外周血T淋巴细胞及阴道微生态检测在患者诊断中具有重要意义。检测HPV感染患者阴道微生态十分关键。有研究^[7]显示,宫颈病变患者的阴道微环境多存在平衡失调等情况,且健康女性阴道内以乳酸杆菌为优势菌,其能够分解阴道上皮细胞内的糖原,并生成乳酸,使阴道内保持酸性环境,进而抑制病原菌的生长,结果发现,高危型HPV患者阴道内菌群失衡较为严重,其阴道病原体阳性检出率、Nugent评分都要比非高危型HPV组高。胡琴^[8]研究显示,当乳酸杆菌水平下降时,则提示感染HPV的风险升高^[9-10]。另外,衣原体、支原体和滴虫检出率的上升,表明其阴道内环境受到病原体侵袭,其可侵袭子宫颈黏膜,导致疾病的发生。伏晨阳^[11]等学者对宫颈癌变、HPV感染患者的阴道微生态环境进行研究后发现,患者阴道分泌物的过氧化氢(H₂O₂)、唾液酸酐酶(SNA)、白细胞酯酶(LE)、β-葡萄糖醛酸酶(β-GD)、凝固酶(GADP)、乳酸杆菌、清洁度以及细菌性阴道病(BV)、需氧菌性阴道炎(AV)检测结果均提示患者阴道微生态处于失衡状态,该结果也在一定程度上反映了HPV感染与宫颈病理学变化之间存在密切关联^[12]。

细胞免疫作为机体抗肿瘤的主要反应细胞,具有调节免疫反应和维持免疫平衡的功能,临床上将T淋巴细胞分为CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺等类型,其中,CD3⁺、CD4⁺T淋巴细胞具有抑制病毒的作用,而CD8⁺T淋巴细胞以辅助作用为主。流式细胞术能够利用细胞表面和内部的特殊标志物、成分或某些物理特性,根据细胞所产生的散射光和荧光信号进行分析或检测。外周血中的T淋巴细胞单个流过流式细胞仪中激光照射的区域,细胞受激光激发产生信号,经仪器接受和计算机处理可以对各种图形进行分析。近年来,随着流式细胞仪的广泛应用,其能够对人体血液中T细胞亚群的数量进行准确测量,进而反应机体的免疫功能。本研究对外周血T淋巴细胞水平进行检测后就发现,高危型HPV患者外周血T淋巴细胞情况明显差于非高危型HPV组,且相关性分析显示,两组患者Nugent评分与外周血CD3⁺、CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺水平呈负相关关系,与CD8⁺水平呈正相关关系。Nugent评分能够反映阴道微生态的总体情况,随着评分的升高,患生殖系统疾病的风险也随之提高,而免疫功能则逐渐下降。另外,孟凡玉^[13]等学者对宫颈癌前病变合并HPV患者NK细胞和阴道微生态情况进行研究后发现,由于NK细胞活性受CD4⁺T淋巴细胞所分泌的细胞因子调节,因此,当HPV患者CD4⁺T淋巴细胞水平降低时,NK细胞数量和活性也逐渐下降,同时,其还指出流产次数过多、衣

原体、解脲支原体感染均是HPV感染的危险因素,同时,阴道微生态环境失衡也是HPV感染的危险因素。

高危型HPV感染者随着病情的加重,其阴道微生态指标逐渐上升,免疫功能指标逐渐下降,在对该类患者进行治疗时,应纠正患者免疫功能,改善阴道微生态情况,进而缓解患者症状。

参考文献

- [1] 乔晓亮,贺小红,赵国红,等.高危型人乳头瘤病毒阳性患者不同级别宫颈病变阴道微生态特征分析[J].现代疾病预防控,2024,35(09):718-721.
- [2] 李雅玲,牛刚,王伟.高危型人乳头瘤病毒感染对妊娠结局及阴道微生态环境的影响[J].实用医学杂志,2024,40(15):2138-2141.
- [3] 赵权,孙红春,李萍萍,等.阴道微生态与HPV感染基因分型在子宫颈高危型HPV感染中的检测价值[J].中国性科学,2024,33(08):100-103.
- [4] 翟若昕,刘玉玲.阴道微生态与宫颈病变的相关性研究进展[J].中国现代医生,2024,62(13):109-111,116.
- [5] 孙振球.医学统计学第3版[M].北京:人民卫生出版社,2010.
- [6] MCCORMICK JP, SUH JD, LEE JT, et al. Role of High-Risk HPV Detected by PCR in Malignant Sinonasal Inverted Papilloma: A Meta-Analysis [J]. The Laryngoscope, 2022, 132(05):926-932.
- [7] 白雁飞,徐丽娟,宋雅伟.阴道微生态与宫颈HR-HPV感染及宫颈病变关系的研究进展[J].中国医药科学,2024,14(05):30-33.
- [8] 胡琴,王静依.乳酸菌阴道胶囊联合甲硝唑阴道给药治疗萎缩性阴道炎效果及对阴道微生态影响[J].中国计划生育学杂志,2024,32(07):1508-1512,1518.
- [9] 李京桦,陈彤华,张燕.臭氧联合阴道用乳酸杆菌胶囊对老年阴道炎患者阴道微生态及生化指标的影响[J].中国老年学杂志,2020,40(17):3722-3725.
- [10] 钟水娇,卢志勇,杨瑞娟,等.阴道微生态变化与宫颈人乳头瘤病毒感染及宫颈病变的相关性研究[J].检验医学与临床,2024,21(13):1890-1894.
- [11] 伏晨阳,周萍,张频,等.阴道微生态与人乳头瘤病毒感染和宫颈病变的相关性[J].实用临床医药杂志,2023,27(16):37-42.
- [12] 赵海丽,陈华,怡萍,等.高危型HPV感染宫颈上皮内瘤变患者阴道微生态及T细胞亚群变化[J].中华医院感染学杂志,2021,31(17):2633-2637.
- [13] 孟凡玉,尹清,金旭艳.宫颈癌前病变合并人乳头瘤病毒感染患者T淋巴细胞NK细胞及阴道微生态环境变化[J].中国妇幼保健,2023,38(23):4529-4532.