

DOI:10.13350/j.cjpb.230903

• 论著 •

基于 16SrDNA 高通量测序探究 HPV52 感染 对女性阴道微生态的影响^{*}

祝江红¹, 黄蕾^{2**}, 韦妹艳³

(1. 九江市第三人民医院妇科, 江西九江 332000; 2. 长沙市第一医院妇科; 3. 长沙市第一医院病理检验科)

【摘要】 目的 基于 16SrDNA 高通量测序探究 HPV52 感染对女性阴道微生态的影响。方法 选取 2022 年 4~12 月长沙市第一医院妇科、九江市第三人民医院妇科收治的女性患者 142 例, 进行阴道菌群检测和 HPV52 检测, 分析阴道菌群特征与 HPV52 感染之间的关系。结果 共检出阴道菌门 28 个, 阴道菌属 453 个, 其中主要菌门为厚壁菌门, 其它依次为放线菌门、拟杆菌门等。主要菌属为乳杆菌属, 其它依次为加德纳菌属、嗜酸菌属等。经测序共获得 8 689 个 OTU, 其中 HPV52 感染组特有 1 768 个, HPV 阴性组特有 2 114 个, 2 组共有 4 807 个。HPV52 阳性组 ACE 指数、Shannon 指数以及 Chaol 指数均稍高于 HPV52 阴性组, Simpson 指数稍低于 HPV52 阴性组。门水平以及属水平 HPV52 阳性患者与 HPV52 阴性患者菌群分布存在一定差异, 网络图直观反应 HPV52 阳性患者与 HPV52 阴性患者阴道菌群分布情况。结论 HPV52 阳性以及 HPV52 阴性患者主要感染菌门均为厚壁菌门, 均以乳杆菌属为优势菌, HPV52 阳性组患者阴道菌群多样性高于 HPV52 阴性患者, HPV52 感染可能与嗜酸菌属、纤毛菌属等水平升高有关, 因此可从维持阴道菌群平衡角度预防和治疗 HPV52 感染所致的相关疾病。

【关键词】 阴道菌群; 人乳头瘤病毒 52; 微生态; 高通量测序

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)09-1005-07

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Sep;18(9):1005-1011.]

Exploring the impact of HPV52 infection on female vaginal microecology based on 16SrDNA high-throughput sequencing

ZHU Jianghong¹, HUANG Lei², WEI Meiyang³ (1. Department of Gynecology, The Third People's Hospital of Jiujiang Jiangxi 332000, China; 2. Department of Gynecology, The First Hospital of Changsha; 3. Pathological Laboratory, The First Hospital of Changsha) ^{***}

【Abstract】 **Objective** Exploring the impact of HPV52 infection on female vaginal microbiota based on high-throughput 16SrDNA sequencing. **Methods** From April 2022 to December 2022, 142 female patients admitted to the gynecology department of Changsha First Hospital and the gynecology department of Jiujiang Third People's Hospital were selected for Vaginal flora detection and HPV52 detection, and the relationship between the characteristics of Vaginal flora and HPV52 infection was analyzed. **Results** A total of 28 vaginal bacteria and 453 vaginal bacteria were detected, of which the main bacteria was Bacillota, and the others were Actinomycetota, Bacteroidota, etc. The main bacteria are Lactobacillus, followed by Gardner and Peptoniphilus. After sequencing, a total of 8 689 OTUs were obtained, including 1 768 unique to the HPV52 infection group, 2 114 unique to the HPV negative group, and 4 807 unique to the two groups. The ACE index, Shannon index, and Chaol index of the HPV52 positive group were slightly higher than those of the HPV52 negative group, while the Simpson index was slightly lower than those of the HPV52 negative group. There is a certain difference in the distribution of flora between HPV52 positive patients and HPV52 negative patients at the gate level and genus level. The network diagram directly reflects the distribution of Vaginal flora between HPV52 positive patients and HPV52 negative patients. **Conclusion** The main infectious bacteria of HPV52 positive and HPV52 negative patients are Bacillota, and Lactobacillus is the dominant bacteria. The diversity of Vaginal flora of HPV52 positive patients is higher than that of HPV52 negative patients. HPV52 infection may be related to the increase of Peptoniphilus, ciliates and other levels. Therefore, related diseases caused by HPV52 infection can be prevented and treated from the perspective of maintaining the balance of Vaginal flora.

【Key words】 vaginal microbiota; human papillomavirus 52; microecology; high-throughput sequencing

* **【基金项目】** 长沙市自然科学基金项目(No. kq2202004)。

** **【通讯作者】** 黄蕾, E-mail: huanglei696969@163.com

【作者简介】 祝江红(1986-), 女, 江西樟树人, 主治医师, 硕士研究生。主要研究方向: 妇科。E-mail: 1484859702@qq.com

人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是目前临床常见的一种病毒类型,长存与自然界,主要侵袭人宫颈移行区的上皮细胞^[1-2]。根据其危害程度不同,可将其分为高危型 HPV(high risk HPV, HR-HPV)和低危型(low risk HPV, LR-HPV),其中 HR-HPV 可导致宫颈癌、外阴癌以及阴道癌的发生^[3-4]。HPV52 是亚洲地区较为常见的感染病毒型^[5],影响女性 HPV 感染的因素较多,其中年龄、吸烟、免疫缺陷、性活动、沙眼衣原体感染、口服避孕药等均有可能导致 HPV 感染的发生^[6]。研究表明,阴道微生态平衡与 HPV 感染同样存在密切联系,且已逐渐成为临床研究的热门课题^[7-8]。健康女性的阴道中含有多种微生物,其中包含乳酸杆菌、链球菌、肠球菌、加德纳菌等,正常情况下阴道内菌群的生长、繁殖相互制约以维持动态平衡状态^[9-10]。HPV 属于外源性病毒,入侵阴道后会打破原有平衡,改变阴道菌群分布^[11]。本研究采用 16S rDNA 测序技术对 HPV52 感染女性阴道微生物菌群进行鉴定,探究阴道菌群变化与 HPV52 感染之间的相关性,为 HPV52 感染相关疾病的治疗提供数据支持。

对象与方法

1 研究对象

选取长沙市第一医院妇科、九江市第三人民医院妇科 2022 年 4-12 月收治的女性患者 142 例,入组患者均经检查确定存在 HR-HPV 感染或经液基薄层细胞学检查显示异常。患者平均年龄(38.22±12.25)岁,其中已婚 122 例,未婚或离异 20 例;小学及以下文化程度 26 例,初中 44 例,高中 32 例,大专及以上 40 例;吸烟 5 例,被动吸烟 87 例;单一 HIV 感染 103 例, HIV 伴其它病原体感染(多重感染)39 例。

纳入标准:(1)入组患者均为本地长期居住居民;(2)有性生活史,且时间在 2 年以上;(3)均配合完成相关检查,且资料完整;(4)均为汉族,无少数民族及外籍人员;(5)对于本次研究内容知情并同意。

排除标准:(1)入组前 3 d 有性生活史;(2)妊娠期或哺乳期女性;(3)伴有其他恶性肿瘤者;(4)48 h 内进行阴道冲洗者;(5)有宫颈病变史或子宫切除手术史;(6)伴有自身免疫性疾病;(7)已接种 HPV 疫苗;(8)存在精神障碍或沟通障碍;(9)近期服用抗生素治疗。

2 方法

2.1 一般资料收集 在研究开展前对所有参与工作人员进行培训,并采用统一问卷进行资料收集,如年龄、是否吸烟、文化程度等。

2.2 标本采集 患者取膀胱截石位,在阴道侧壁上

1/3 处以及后穹隆处使用无菌拭子留取分泌物,放置于含有生理盐水的 EP 管中,确保阴道分泌物脱落于试管中。宫颈脱落细胞的采集使用宫颈刷进行,在宫颈口处顺时针旋转几周,标本置于取样管中于-80℃冰箱中保存。

2.3 HPV 感染及分型检测 采用导流杂交技术和 HPV 分型检测试剂盒检测 HPV 感染情况并进行分型,检测病毒种类包括 15 种高危型 HIV 和 6 种低危型 HIV。检测步骤:取含宫颈脱落细胞的细胞保存液 800 μL,按试剂盒说明提取 DNA,采用 PCR-200PCR 仪(中国孚光精仪有限公司生产)进行 PCR 扩增。反应体系为 25 μL,其中包括 Taq 酶 0.75 μL,PCR-Mix 23.25 μL, DNA 模板 1 μL。反应条件:95℃预变性 5 min;95℃变性 1 min,55℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,循环 40 次;72℃再延伸 5 min。取 20 μL PCR 产物在 HHM-2 医用核酸分子快速杂交仪(北京中西远大科技有限公司生产)上进行导流杂交,显色后根据 HPV 分型示意图判定结果,出现清晰可见的蓝紫色圆点为阳性。

2.4 阴道菌群检测 利用 16SrDNA 测序技术检测阴道菌群,测序平台为 Illumina Mi Seq2×300 bp。测序流程:(1)DNA 提取:在无菌离心管中加入 2 mL 阴道分泌物,室温条件下以 10 000 r/min(离心半径 10 cm)离心 3 min,弃上清,按试剂盒说明书提取 DNA,采用 2%琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的完整性。DNA PCR 扩增:(2)基因构建:DNA 定量后取 20 ng DNA 进行 DNA 文库构建,包括分离 DNA 大片段,回收 DNA 小片段,修复 DNA 末端、连接 A 接头,将 Illumina 测序试剂盒的专用接头连接至 DNA 两端,按照所需 DNA 片段大小进行磁珠筛选,PCR 扩增文库进行探针杂交捕获及测序实验。(3)捕获基因:予以 Geneseeq 杂交富集探针对所建 DNA 文库进行目标基因靶标富集、扩增,包括文库杂交和 DNA 捕获探针,清洗、回收捕获文库产物,链霉亲和素磁珠与捕获文库结合,清洗磁珠捕获文库,将非特异性结合文库除去。(4)测序:文库捕获后根据试剂盒操作说明书,进行 Illumina 高通量测序平台上样,在 Flow cell 试剂盒上生成 DNA 簇,经由合成单个碱基后暂停荧光检测、合成恢复的循环。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。服从正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;用中位数和四分位数间距 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 统计描述不服从正态分布的计量资料采用 Mann-Whitney 检验;计量资料以百分率(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

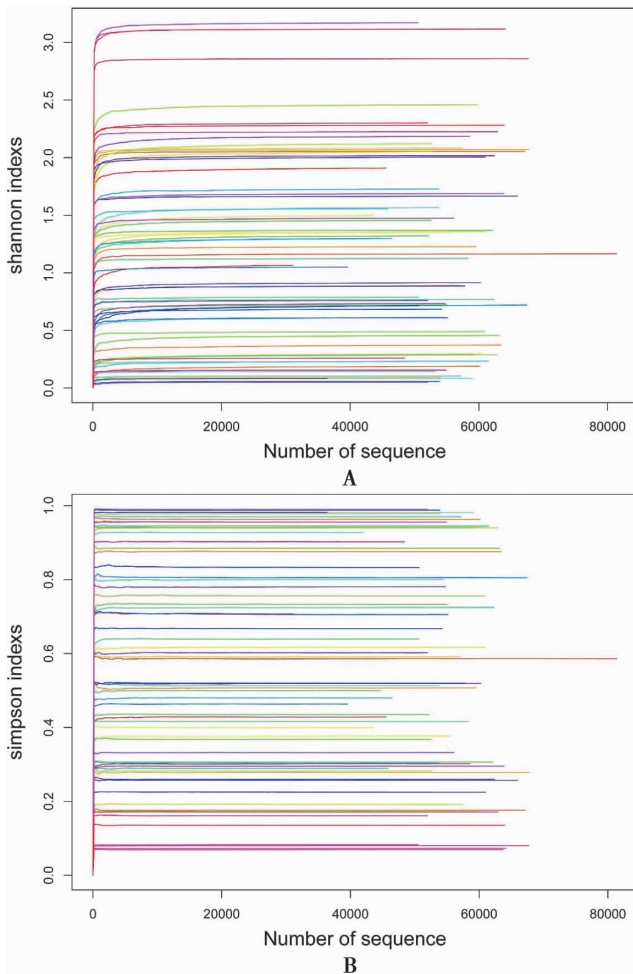
结果

1 阴道菌群 116SrDNA 测序分析

测序样品共 142 份,每个样品的原始 read 平均为 63 242 条,经质控过滤处理,每个样品的 reads 平均为 58 792 条,去除非靶区域的序列数目、比对到细胞器组织的序列数目以及嵌合体数目,每个样品的 reads 平均为 56 893 条。根据序列之间的距离将多条序列进行聚类,共获得 OUT 数为 8 689 个。

2 阴道菌群多样性分析

随着随机抽取序列数量的增加,Simpson 指数、Shannon 指数每个样品都达到了稀释曲线的平台期,说明测序数据量合理,基本涵盖样品中的所有物种。142 例患者 Coverage 指数分布范围在 98.9%~99.9%之间,中位数为 99.4%,物种累积曲线平坦,表明样品微生物群落检测比率饱和且样本量充足(图 1,图 2)。

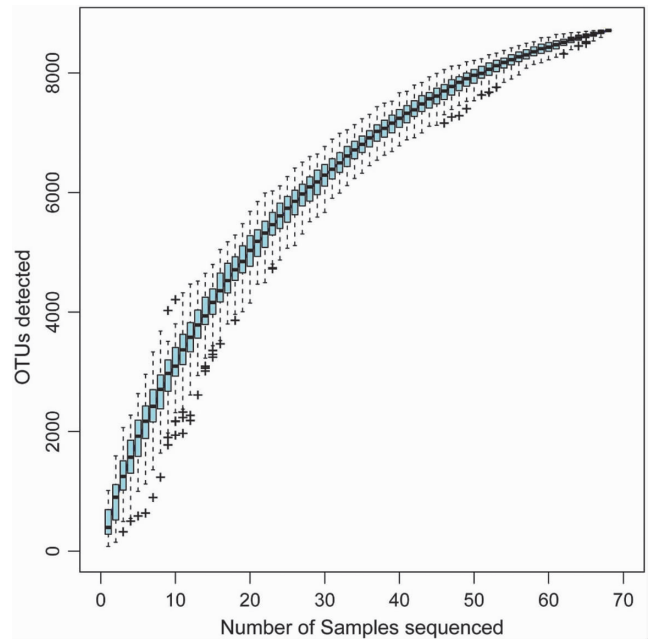


注:纵坐标为多样性指数,横坐标为随机抽取序列,一个样品一条曲线,曲线最高点为样品的多样性指数。

图 1 样品稀释曲线

Note: The ordinate is the Diversity index, and the abscissa is a random sampling sequence. Each sample has a curve. The highest point of the curve is the Diversity index of the sample.

Fig. 1 Sample dilution curve



注:纵坐标为抽样后的 OTU 数目,横坐标为样品数目。

图 2 物种累积曲线

Note: The vertical axis represents the number of OTUs after sampling, and the horizontal axis represents the number of samples.

Fig. 2 Species accumulation curve

3 阴道菌群分布

共检出 28 个阴道菌门,453 个阴道菌属,其中主要菌门为厚壁菌门(75.4%),其余占比由大到小顺序为放线菌门(15.7%)、拟杆菌门(4.4%)、梭杆菌门(2.5%)、软壁菌门(1.4%),其他剩余 23 个菌门(0.6%)。菌属主要为乳杆菌属(67.4%),其余占比由大到小顺序为加德纳菌属(16.5%)、嗜脲菌属(3.8%)、奇异菌属(3.0%)、纤毛菌属(2.5%)、吡啶单胞菌属(2.2%)、普氏菌属(1.9%)、链球菌属(1.7%),剩余 445 个菌属合计占比 1.0%(图 3)。

4 阴道菌群与 HPV52 感染关系分析

142 患者中 60 例 HPV52 阳性,82 例 HPV52 阴性。经测序共获得 8 689 个 OTU,其中 HPV52 阳性组特有 OTU 1 768 个,HPV 阴性组特有 OTU 2 114 个,两组共有 OTU 4 807 个(图 4)。

5 阴道菌群 Alpha 多样性分析

HPV52 阳性组与 HPV52 阴性组人群菌群多样性差异分析采用 Mann-Whitney U 检验,结果见表 1。两组间 ACE 指数、Shannon 指数以及 Chaol 指数差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

6 阴道菌群分布与 HPV52 感染关系分析

对阴道菌群门水平分布占比居前 5 的 HPV52 阳性/阴性患者进行分析,其中在 HPV52 阳性者占比由高至低依次为厚壁菌门(75.4%)、放线菌门(12.5%)、拟杆菌门(4.7%)、梭杆菌门(4.1%)、软壁菌门(2.3%),在 HPV52 阴性者占比由高至低依次为厚壁

菌门(75.1%)、放线菌门(18.0%)、拟杆菌门(4.2%)、梭杆菌门(1.3%)、软壁菌门(0.7%)。HPV52阳性者阴道菌群门水平占比由高至低依次为乳杆菌属(64.8%)、加德纳菌属(8.6%)、嗜脲菌属(5.1%)、纤毛菌属(4.0%)、普氏菌属(2.7%)，HPV52阴性占比依次为乳杆菌属(60.7%)、加德纳菌属(13.5%)、奇异菌属(3.8%)、嗜脲菌属(3.0%)、卟啉单胞菌属(2.3%)(表2)。

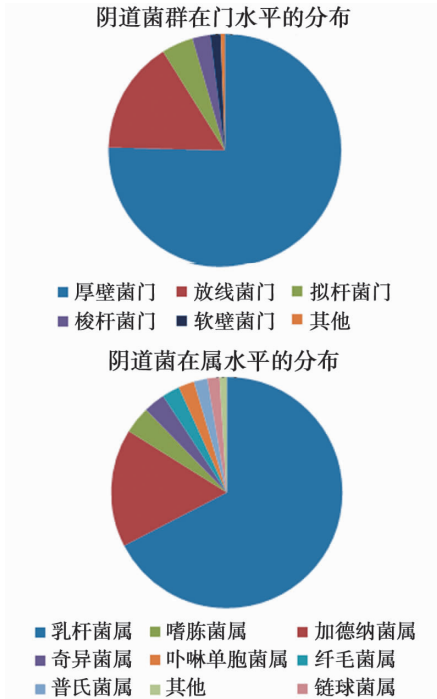
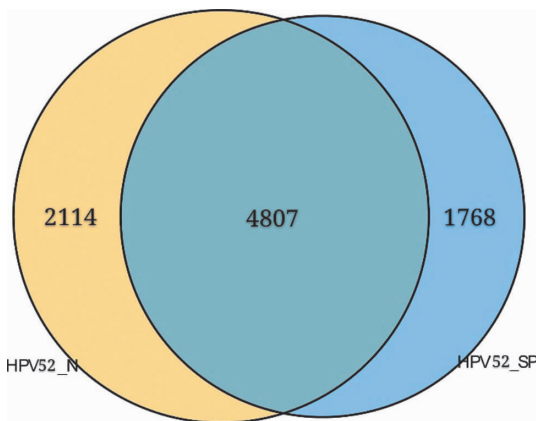


图3 阴道菌群分布
Fig.3 Distribution of vaginal flora



注: HPV52_N 为 HPV52 阴性组, HPV52_SP 为 HPV52 阳性组。

图4 HPV52 阴性与阳性 OTU 数目

Note: HPV52_N is the HPV52 negative group, HPV52_SP is the HPV52 positive group

Fig.4 Number of HPV52 negative and positive OTUs

绘制阴道菌群门、属水平网络图, 结果显示 HPV52 阳性组软壁菌门、梭杆菌门丰度高于 HPV52 阴性组, HPV52 阳性组普氏菌属、金黄葡萄球菌属、嗜

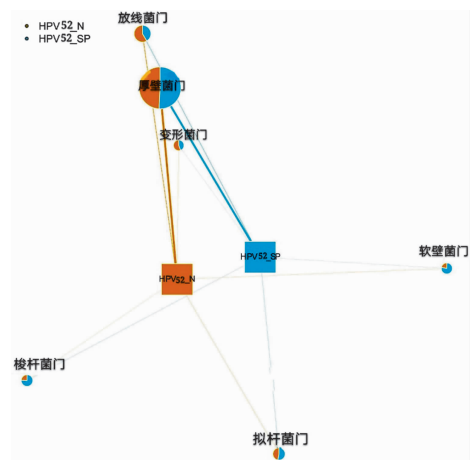
脲菌属、韦荣球菌属、链球菌属、脲原体属、双歧杆菌属、布雷德菌属、纤毛菌属以及 Saccharofermentans 高于 HPV52 阴性组(图5, 图6)。

表1 阴道菌群 Alpha 多样性分析 [$M(P_{25}, P_{75})$]
Table 1 Alpha diversity analysis of Vaginal flora [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别 Group	例数 No.	ACE 指数 Index of ACE	Shannon 指数 Index of Shannon	Chaol 指数 Index of Chaol	Simpson 指数 Index of Simpson
阳性组	60	2848.50 (1182.72, 12799.10)	1.53 (0.77, 2.50)	1721.80 (636.17, 2406.96)	0.49 (0.27, 0.74)
阴性组	82	2348.25 (1229.92, 3318.86)	1.42 (0.64, 2.20)	1243.65 (518.89, 2017.10)	0.64 (0.35, 0.88)
Z 值		2052	2253	2061	2109
P 值		0.092	0.394	0.100	0.147

表2 阴道菌群在门、属水平的分布情况分析 (%)
Table 2 Analysis of distribution of Vaginal flora at phylum and genus levels (%)

门属 Phylum or genus	HPV52 阳性组 Positive	HPV52 阴性组 Negative
厚壁菌门	75.4	75.1
放线菌门	12.5	18.0
拟杆菌门	4.7	4.2
梭杆菌门	4.1	1.3
软壁菌门	2.3	0.7
乳杆菌属	64.8	60.7
加德纳菌属	8.6	13.5
奇异菌属	/	3.8
嗜脲菌属	5.1	3.0
纤毛菌属	4.0	/
普氏菌属	2.7	/
卟啉单胞菌属	/	2.3



注: HPV52_N 为 HPV52 阴性组, 以黄色表示; HPV52_SP 为 HPV52 阳性组, 以蓝色表示; 丰度以面积代表, 面积越大代表其丰度越大。

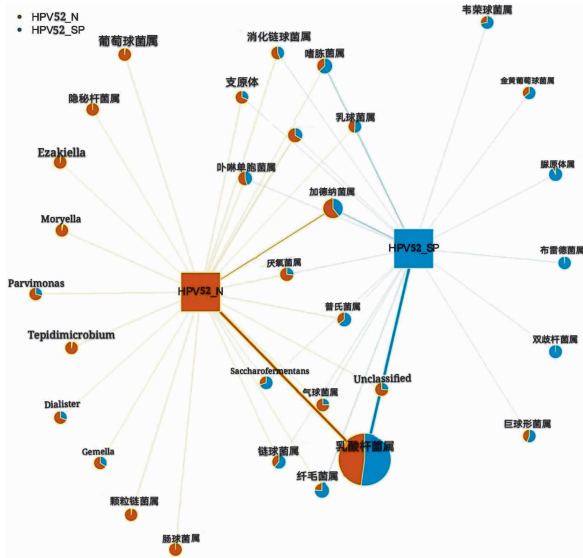
图5 基于门水平的网络关系图

Note: HPV52_N represents the HPV52 negative group, represented in yellow; HPV52_SP is the HPV52 positive group, indicated in blue; Abundance is represented by area, and the larger the area, the greater its abundance.

Fig.5 Network relationship diagram based on gate level

讨论

HPV 感染可能会导致宫颈癌、宫颈上皮内瘤变等疾病的发病^[12-13], HPV52 是临床上常见的致癌型别。阴道菌群分布动态平衡对于女性阴道健康有着关键的作用,而 HPV52 感染势必会导致阴道菌群失衡的发生^[14-15]。但是目前关于 HPV52 感染与阴道菌群分布特征之间的关系研究尚少,且无统一论。



注: HPV52_N 为 HPV52 阴性组,以黄色表示; HPV52_SP 为 HPV52 阳性组,以蓝色表示;丰度以面积代表,面积越大代表其丰度越大。

图 6 基于属水平的网络关系图

Note: HPV52_N represents the HPV52 negative group, represented in yellow; HPV52_SP is the HPV52 positive group, indicated in blue; Abundance is represented by area, and the larger the area, the greater its abundance.

Fig. 6 Network relationship diagram based on genus level

本研究显示,受地区影响,HPV 感染型别存在一定差异。通过对以往相关研究进行分析,长沙、九江等地区女性主要感染型别为 HPV52、16、18 和 31,主要感染年龄在 25~40 岁之间,且 HPV 感染的发生受文化程度、生活习惯等因素的影响^[16]。稀释曲线反映样本在不同深度时的微生物多样性,在一定程度上也可体现测序数量的合理性^[17]。本研究中每个样品的 Simpson 指数以及 Shannon 指数稀释曲线均达到平台期,物种累积曲线趋于平坦,显示出测序的合理性以及测序样本量充足,进一步证实该研究的可信度。有研究显示,厚壁菌门、放线菌门以及拟杆菌门是女性阴道内的主要菌门,普氏菌属、加德纳菌属以及乳杆菌属属于女性阴道内主要菌属^[18-19]。本研究对纳入患者的阴道菌群分布情况进行分析,结果显示女性阴道菌群在门水平主要为厚壁菌门,其次为放线菌门、拟杆菌门等,属水平主要为乳杆菌属,其次为加德纳菌属、嗜酸菌属、卟啉单胞菌属、普氏菌属等。

不同菌类在阴道平衡维持过程中发挥不同作用。乳酸杆菌可产生过氧化氢,而过氧化氢可通过产生羟

基自由基抑制过氧化氢酶阴性厌氧菌的生长^[20]。乳酸杆菌所产生的乳酸可使女性阴道 pH 值维持在 4 以下,使过氧化氢和细菌素的作用增强,降低致病菌入侵风险^[21]。加德纳菌属可产生唾液酸酶,该物质可降解阴道表面的粘液,而该粘液在阴道内主要起到保护阴道上皮细胞的作用,粘液破坏后可降低其屏障功能,增大生殖道感染的概率^[22]。加德纳菌属会产生细胞溶解素,促进阴道上皮细胞死亡,使阴道粘膜屏障进一步被破坏^[23]。乳酸杆菌属丰度下降以及纤毛菌属、奇异菌属等丰度的上升与宫颈病变之间存在密切联系,因此对阴道菌群结构变化进行分析,可进一步了解细菌性阴道病的发生情况,为宫颈病变的治疗提供参考^[24]。

目前临床常用的衡量样本中群落丰富度、物种多样性的指标为 ACE 指数、Chaol 指数、Simpson 指数、Shannon 指数等,进而分析 Alpha 多样性。Ibragimova 等^[25]报道 HPV 感染阳性者与 HPV 感染阴性者相比阴道菌群多样性更高。Santella 等^[26]的研究结果也证实了该结论。本研究结果显示,HPV52 阳性组 ACE 指数、Shannon 指数以及 Chaol 指数稍高于 HPV52 阴性组, Simpson 指数稍低于 HPV52 阴性组,但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。通过数据依旧可以看出,HPV52 感染的风险会随阴道菌群多样性的增加而增大,从而促进多种阴道、宫颈病变性疾病的发病。

研究发现,阴道乳杆菌属水平会因 HPV 感染而降低,而厌氧球菌属、加德纳菌属等会出现增加情况^[27-29]。在发生 HPV 感染后,梭杆菌门也会增加^[30]。梭杆菌门会影响阴道局部免疫,造成免疫抑制,还可引起上皮细胞感染,因此在 HPV 感染发生过程中梭杆菌门可能发挥一定作用。嗜酸菌属可吸附于阴道上皮细胞,增加细菌性阴道病的治疗难度,而且嗜酸菌属与 HPV 感染以及细菌性阴道病等存在正相关性,因此认为嗜酸菌属可促进 HPV 感染的发生。有研究指出,普氏菌属为 HR-HPV 感染妇女的阴道优势菌^[31],以乳酸杆菌为优势菌的妇女比以普氏菌属为优势菌的妇女发生 HR-HPV 感染的概率低^[32]。普氏菌属属于革兰阴性厌氧菌,可影响宫颈液中白细胞介素-8、白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 以及肿瘤坏死因子- α 等多种炎症因子释放,进而导致宫颈粘膜免疫失调,促进多种疾病的发生。纤毛菌属属于梭杆菌门,纤毛菌属在 HPV 感染患者中存在富集情况。对于多种促炎因子分泌纤毛菌属可起到促进作用,而且可以粘附宫颈上皮细胞,损伤局部粘膜,增加 HPV 感染风险^[33-34]。对 HPV16、52、58 感染与阴道菌群关系的分析结果显示,多种菌属可能会导致 HPV52 感染发生率增加^[35]。本

研究结果显示,软壁菌门、梭杆菌门、普氏菌属、嗜脲菌属、纤毛菌属、韦荣球菌属、布雷德菌属等与 HPV52 感染可能均存在相关性。脲原体属是 HPV52 感染患者的特征菌属,脲原体属属于支原体科,对于生殖道感染相关疾病发展可能有促进作用,与子宫颈炎、女性阴道炎等疾病存在密切联系,可能会增加 HPV52 感染的发生。也有研究中指出脲原体属会影响 HPV 感染者的 HPV 清除。

综上所述,HPV52 阳性以及 HPV52 阴性患者阴道菌群中均以厚壁菌门占比较高,乳杆菌属为优势菌属。HPV52 阳性患者阴道菌群多样性高于 HPV52 阴性患者,且 HPV52 感染可能与嗜脲菌属、纤毛菌属等水平升高有关。因此,可从维持阴道菌群平衡角度预防和治疗 HPV52 感染相关疾病。

【参考文献】

- [1] Kinoshita R, Mitamura T, Kato F, et al. Distribution of human papilloma virus genotypes and treatment outcomes in definitive radiotherapy for cervical cancer [J]. J Radiat Res, 2023, 64(2): 463-470.
- [2] 张艳慧,袁月,阎亮,等. 2 095 例女性宫颈乳头状瘤病毒感染情况调查[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(2): 203-206, 210.
- [3] Albuquerque A, Cappello C, Stirrup O. High-risk human papilloma virus, precancerous lesions and cancer in anal condylomas [J]. AIDS, 2021, 35(12): 1939-1948.
- [4] Munoz-Hernando L, Oliver-Perez R, Bravo-Violeta V, et al. Prevalence of anal high-risk human papilloma virus infection and abnormal anal cytology among women living with HIV [J]. J Pers Med, 2022, 12(11): 1778.
- [5] Yang Z, He ZH, Zhang Y, et al. Genetic variability in the E6 and E7 oncogenes of HPV52 and its prevalence in the Taizhou area, China [J]. Virol J, 2022, 19(1): 194.
- [6] Chernyshov PV, Semushyna T, Verbytska L, et al. Human papilloma virus vaccination knowledge, prevalence, risk factors, and HPV detection in 18-26 and 27-45-year-old men and women [J]. Acta Dermatovenerol Croat, 2022, 30(4): 203-8.
- [7] Sun Y, Xu J, Zhou H, et al. Influence of lacidophilin vaginal capsules plus rh-IFN-alpha2b on efficacy, vaginal microecology, and safety of patients with HPV infection [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 3632053.
- [8] Zhang Y, Qiu S, Guo Y, et al. Diagnostic value of vaginal microecology, serum miR-18a, and PD-L1 for identifying HPV-positive cervical cancer [J]. Technol Cancer Res Treat, 2021, 20: 1533.
- [9] Jia Q, Yu F, Ding Y, et al. Investigation and analysis of 4 9343 case women's vaginal microecology [J]. Iran J Public Health, 2022, 51(7): 1611-1617.
- [10] Shen L, Zhang W, Yuan Y, et al. Vaginal microecological characteristics of women in different physiological and pathological period [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 959793.
- [11] Zheng JJ, Song JH, Yu CX, et al. Difference in vaginal microecology, local immunity and HPV infection among childbearing-age women with different degrees of cervical lesions in Inner Mongolia [J]. BMC Womens Health, 2019, 19(1): 109.
- [12] Kechagias KS, Kalliala I, Bowden SJ, et al. Role of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV infection and recurrence of HPV related disease after local surgical treatment: systematic review and meta-analysis [J]. BMJ, 2022, 378: e070135.
- [13] Khairkhan N, Bolhassani A, Najafipour R. Current and future direction in treatment of HPV-related cervical disease [J]. J Mol Med (Berl), 2022, 100(6): 829-845.
- [14] Wang J, Li Z, Ma X, et al. Translocation of vaginal microbiota is involved in impairment and protection of uterine health [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4191.
- [15] 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.
- [16] 李萍,周燕飞,祖月娥,等. 长沙地区 12 459 例女性宫颈 HPV 感染的现状分析 [J]. 肿瘤药学, 2015, 5(3): 235-240.
- [17] Carrasquillo O, Seay J, Amofah A, et al. HPV self-sampling for cervical cancer screening among ethnic minority women in south florida: a randomized trial [J]. J Gen Intern Med, 2018, 33(7): 1077-1083.
- [18] Zhang H, Jin S, Ji A, et al. Correlation between vaginal microecological status and prognosis of CIN patients with high-risk HPV infection [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 3620232.
- [19] Zhang Y, Xu X, Yu L, et al. Vaginal Microbiota Changes Caused by HPV Infection in Chinese Women [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 814668.
- [20] Liang Y, Chen M, Qin L, et al. A meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia [J]. Infect Agent Cancer, 2019, 14: 29.
- [21] Chee WJY, Chew SY, Than LTL. Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health [J]. Microb Cell Fact, 2020, 19(1): 203.
- [22] Rosca AS, Castro J, Sousa LGV, et al. *Gardnerella* and vaginal health: the truth is out there [J]. FEMS Microbiol Rev, 2020, 44(1): 73-105.
- [23] Jung H, Ehlers MM, Peters RPH, et al. Growth forms of *Gardnerella* spp. and *Lactobacillus* spp. on vaginal cells [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 71.
- [24] Wei W, Xie L Z, Xia Q, et al. The role of vaginal microecology in the cervical cancer [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2022, 48(9): 2237-2254.
- [25] Ibragimova M, Tsyganov M, Shpileva O, et al. HPV status and its genomic integration affect survival of patients with cervical cancer [J]. Neoplasma, 2018, 65(3): 441-448.
- [26] Santella B, Schettino MT, Franci G, et al. Microbiota and HPV: The role of viral infection on vaginal microbiota [J]. J Med Virol, 2022, 94(9): 4478-4484.
- [27] Dols JA, Reid G, Kort R, et al. PCR-based identification of eight *Lactobacillus* species and 18 hr-HPV genotypes in fixed cervical samples of South African women at risk of HIV and BV [J]. Diagn Cytopathol, 2012, 40(6): 472-477.
- [28] Palma E, Recine N, Domenici L, et al. Long-term *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection [J]. BMC

- Infect Dis, 2018, 18(1):13.
- [29] Motevaseli E, Azam R, Akrami SM, et al. The effect of *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus rhamnosus* culture supernatants on expression of autophagy genes and HPV E6 and E7 oncogenes in the hela cell line [J]. Cell J, 2016, 17(4):601-607.
- [30] Bonner K, Banura C, Basta NE. HPV vaccination strategies targeting hard-to-reach populations: Out-of-school girls in LMICs [J]. Vaccine, 2018, 36(2):191-193.
- [31] Campisciano G, Iebba V, Zito G, et al. Lactobacillus iners and gasseri, prevotella bivia and HPV belong to the microbiological signature negatively affecting human reproduction [J]. Microorganisms, 2020, 9(1):39.
- [32] Ikeda Y, Uemura Y, Asai-Sato M, et al. Safety and efficacy of mucosal immunotherapy using human papillomavirus (HPV) type 16 E7-expressing lactobacillus-based vaccine for the treat-

- ment of high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL): the study protocol of a randomized placebo-controlled clinical trial (MILACLE study) [J]. Jpn J Clin Oncol, 2019, 49(9):877-880.
- [33] Mora-Palma JC, Rodriguez-Oliver AJ, Navarro-Mari JM, et al. Emergent genital infection by *Leptotrichia trevisanii* [J]. Infection, 2019, 47(1):111-114.
- [34] Mougeot JC, Beckman MF, Langdon HC, et al. *Haemophilus pittmaniae* and *Leptotrichia* spp. constitute a multi-marker signature in a cohort of human papillomavirus-positive head and neck cancer patients [J]. Front Microbiol, 2021, 12:794546.
- [35] 马啸, 蔡慧华, 何彦, 等. 复发性外阴阴道假丝酵母菌病患者阴道微生物的物种组成及其动态变化 [J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(2):192-198.

【收稿日期】 2023-04-05 【修回日期】 2023-06-20

(上接 1004 页)

【参考文献】

- [1] Hussain Z, Zhu J, Ma X. Metabolism and hepatotoxicity of pyrazinamide, an antituberculosis drug [J]. Drug Metab Dispos, 2021, 49(8):679-682.
- [2] Zhao H, Si ZH, Li MH, et al. Pyrazinamide-induced hepatotoxicity and gender differences in rats as revealed by a (1)H NMR based metabolomics approach [J]. Toxicol Res (Camb), 2017, 6(1):17-29.
- [3] Chopyk DM, Grakoui A. Contribution of the intestinal microbiome and gut barrier to hepatic disorders [J]. Gastroenterology, 2020, 159(3):849-863.
- [4] Albillos A, De Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy [J]. J Hepatol, 2020, 72(3):558-577.
- [5] Gong S, Lan T, Zeng L, et al. Gut microbiota mediates diurnal variation of acetaminophen induced acute liver injury in mice [J]. J Hepatol, 2018, 69(1):51-59.
- [6] Sun Y, Cong L, Yang S, et al. Moxifloxacin induced liver injury by causing lachnospiraceae deficiency and interfering with butyric acid production through gut-liver axis [J]. Dis Markers, 2022, 2022:9302733.
- [7] Tilg H, Adolph T E, Trauner M. Gut-liver axis: Pathophysiological concepts and clinical implications [J]. Cell Metab, 2022, 34(11):1700-1718.
- [8] Bajaj J S. Alcohol, liver disease and the gut microbiota [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(4):235-246.
- [9] Plaza-Diaz J, Solis-Urra P, Rodriguez-Rodriguez F, et al. The gut barrier, intestinal microbiota, and liver disease: Molecular mechanisms and strategies to manage [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21):8351.
- [10] 杨璐铭, 郝金奇, 王林, 等. 基于 16S rDNA 测序技术分析利福平致大鼠肝损伤中肠道菌群变化特征 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(9):1469-1474.
- [11] Zhao T, Wang H, Liu Z, et al. Recent perspective of lactobacillus in reducing oxidative stress to prevent disease [J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(3):769.
- [12] Wu S, Xia Y, Lv X, et al. Preventive use of hepatoprotectors yields limited efficacy on the liver toxicity of anti-tuberculosis agents in a large cohort of Chinese patients [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30(3):540-545.
- [13] Cani P D, Depommier C, Derrien M, et al. Akkermansia muciniphila: paradigm for next-generation beneficial microorganisms [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2022, 19(10):625-637.
- [14] Saito Z, Kaneko Y, Kinoshita A, et al. Effectiveness of hepatoprotective drugs for anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: a retrospective analysis [J]. BMC Infect Dis, 2016, 16(1):668.
- [15] De Vos W M, Tilg H, Van Hul M, et al. Gut microbiome and health, mechanistic insights [J]. Gut, 2022, 71(5):1020-1032.
- [16] Li X, Liu Y, Guo X, et al. Effect of Lactobacillus casei on lipid metabolism and intestinal microflora in patients with alcoholic liver injury [J]. Eur J Clin Nutr, 2021, 75(8):1227-1236.

【收稿日期】 2023-04-04 【修回日期】 2023-06-20