

DOI:10.13350/j.cjpb.260201

• 论著 •

高危型 HPV 与阴道菌群互作机制在宫颈癌发生中的作用*

石华新¹, 田琴², 任婕^{2*}

(1. 贵州医科大学附属医院妇科, 贵州贵阳 550004; 2. 贵州医科大学临床医学院妇科)

【摘要】 **目的** 探讨阴道微生物群落在宫颈癌发生发展中的作用及其潜在机制。 **方法** 选取健康对照组 40 例、HPV 感染组 40 例、CIN 组 35 例、宫颈癌组 35 例, 采用 16S rRNA 测序分析阴道菌群组成与多样性。检测阴道微环境指标(pH 值、乳酸浓度、Nugent 评分)、炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10)、上皮屏障蛋白(claudin-1、occludin)及 HPV E6/E7 mRNA 表达水平。采用卷曲乳杆菌和加德纳菌与 HeLa 细胞共培养进行体外功能验证。 **结果** 随疾病进展, 阴道菌群 α 多样性显著升高($P < 0.01$), 乳杆菌丰度从 74.85% 降至 19.87%, 加德纳菌丰度从 2.14% 增至 24.35% (均 $P < 0.01$)。阴道 pH 值从 4.18 ± 0.29 升至 6.28 ± 0.39 , 乳酸浓度从 179.45 mg/L 降至 44.67 mg/L, 降幅 75.08% (均 $P < 0.01$)。促炎因子 IL-6 水平增加 8.85 倍, 抗炎因子 IL-10 降低 70.98% (均 $P < 0.01$)。上皮屏障蛋白 claudin-1 和 occludin 分别下降 71.05% 和 70.56% (均 $P < 0.01$)。相关性分析显示乳杆菌丰度与 HPV 载量、炎症因子呈显著负相关 ($r = -0.721 \sim -0.834$, 均 $P < 0.01$)。多因素逻辑回归分析显示加德纳菌丰度 $> 15%$ (OR = 4.23, 95% CI: 2.15-8.32)、乳杆菌丰度 $< 30%$ (OR = 3.78, 95% CI: 1.89-7.56) 和 IL-6 > 100 pg/mL (OR = 2.94, 95% CI: 1.52-5.68) 是 CIN/宫颈癌发生的独立危险因素。体外实验证实卷曲乳杆菌抑制 HeLa 细胞增殖, 加德纳菌促进细胞增殖并激活 TLR4/NF- κ B 信号通路。 **结论** 阴道菌群失调通过重塑局部微环境、诱发慢性炎症、破坏上皮屏障等多种途径协同促进宫颈癌发生发展, 菌群组成特征有望成为疾病进展风险评估的生物标志物。

【关键词】 宫颈癌; 阴道微生物群; 人乳头瘤病毒; 炎症反应; 上皮屏障

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2026)02-0141-06

[Journal of Pathogen Biology, 2026 Feb.; 21(02): 141-146, 152.]

Role of high-risk HPV and vaginal microbiota interactions in cervical carcinogenesis

SHI Huaxin¹, TIAN Qin², REN Jie² (1. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou 550004, China; 2. Department of Gynecology, Clinical Medical College of Guizhou Medical University) * **

【Abstract】 **Objective** To investigate the role of the vaginal microbiome in the development and progression of cervical cancer and its potential mechanisms. **Methods** 40 healthy controls, 40 HPV-infected controls, 35 CIN controls, and 35 cervical cancer controls were enrolled. 16S rRNA sequencing was used to analyze the composition and diversity of the vaginal microbiome. Vaginal microenvironmental markers (pH, lactate concentration, and Nugent score), inflammatory factors (IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IL-10), epithelial barrier proteins (claudin-1 and occludin), and HPV E6/E7 mRNA expression levels were measured. In vitro functional validation was performed by co-culturing *Lactobacillus crispatus* and *Gardnerella* with HeLa cells. **Results** With disease progression, the α -diversity of the vaginal microbiome increased significantly ($P < 0.01$). The abundance of *Lactobacillus* decreased from 74.85% to 19.87%, while the abundance of *Gardnerella* increased from 2.14% to 24.35% (both $P < 0.01$). Vaginal pH increased from 4.18 ± 0.29 to 6.28 ± 0.39 , and lactate concentration decreased from 179.45 mg/L to 44.67 mg/L, a decrease of 75.08% (both $P < 0.01$). Levels of the proinflammatory cytokine IL-6 increased 8.85-fold, while the anti-inflammatory cytokine IL-10 decreased 70.98% (both $P < 0.01$). Epithelial barrier proteins claudin-1 and occludin decreased by 71.05% and 70.56%, respectively (both $P < 0.01$). Correlation analysis showed that *Lactobacillus* abundance was significantly negatively correlated with HPV load and inflammatory factors ($r = -0.721$ to -0.834 , all $P < 0.01$). Multivariate logistic regression analysis revealed that a *Gardnerella* abundance $> 15%$ (OR = 4.23, 95% CI: 2.15-8.32), a *Lactobacillus* abundance $< 30%$ (OR = 3.78, 95% CI: 1.89-7.56), and IL-6 > 100 pg/mL (OR = 2.94, 95% CI: 1.52-5.68) were independent risk factors for CIN/cervical cancer. In vitro experiments demonstrated that *L. crispatus* inhibited HeLa cell proliferation, while *Gardnerella* promoted cell proliferation and activated the TLR4/NF- κ B signaling pathway. **Conclusion** Vaginal dysbiosis

* **【基金项目】** 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK [2021]-一般 469)。

** **【通信作者】** 任 婕, E-mail: rj624@163.com

【作者简介】 石华新(1983-), 男, 贵州贵阳人, 在职研究生, 副主任医师, 主要从事妇科肿瘤相关研究工作。E-mail: doctorshx@qq.com

synergistically promotes the development and progression of cervical cancer through multiple pathways, including remodeling the local microenvironment, inducing chronic inflammation, and disrupting the epithelial barrier. The composition of the vaginal microbiota may serve as a biomarker for assessing the risk of disease progression.

【Keywords】 cervical cancer; vaginal microbiota; human papillomavirus; inflammatory response; epithelial barrier

宫颈癌作为全球女性第四大常见恶性肿瘤,每年新发病例超过60万例,严重威胁女性健康^[1]。研究表明,高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papillomavirus, hr-HPV)持续感染是宫颈癌发生致病因素之一,HPV16和HPV18型占有宫颈癌病例的70%以上^[2]。尽管hr-HPV感染极为普遍,但仅有少数感染者最终进展为宫颈癌,提示宿主因素在病毒致癌过程中发挥关键调节作用^[3]。

阴道微生态作为女性生殖道的天然屏障,维持着局部pH值稳定和免疫平衡。正常情况下,乳杆菌属占据阴道菌群的主导地位,通过产生乳酸、细菌素等代谢产物抑制病原微生物定植^[4]。近年来研究表明,阴道菌群失调与多种妇科疾病密切相关,菌群多样性增加和乳杆菌相对丰度下降可能促进HPV感染的持续化^[5]。

当前关于HPV感染与阴道微生态关系的研究主要集中在菌群组成的描述性分析,缺乏对两者相互作用分子机制的深入探讨。部分研究提示某些阴道细菌可能通过调节局部免疫微环境影响HPV清除^[6],但具体的信号通路和关键调节因子尚未明确。特别是在宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)进展过程中,病毒-宿主-微生物三者间的动态平衡机制仍有待阐明。

本研究采用多组学技术系统分析不同疾病进展阶段的阴道微生态特征,结合体外功能验证实验,旨在揭示hr-HPV感染与阴道菌群的双向调节机制,探讨微生态失调在宫颈癌发生发展中的作用,为基于微生物标志物的疾病风险评估和精准干预策略提供依据。

对象与方法

1 研究对象

选取2022年1月至2023年5月期间在贵州医科大学附属医院妇科门诊及住院部就诊的女性患者作为研究对象,年龄21~65岁。所有受试者均为性活跃女性,具有完整的宫颈,近3个月内未使用抗生素、益生菌制剂或阴道局部用药。排除妊娠期、哺乳期、月经期女性,以及合并严重内科疾病、免疫缺陷病、恶性肿瘤病史或正在接受放疗化疗的患者。

根据HPV检测结果、细胞学检查和组织病理学诊断,将研究对象分为4组:健康对照组纳入HPV DNA检测阴性且液基细胞学检查正常的女性40例;

HPV感染组包括高危型HPV DNA检测阳性但液基细胞学检查正常的女性40例;CIN组收集经组织病理学确诊为CIN2-3级且HPV阳性的患者35例;宫颈癌组纳入新诊断的浸润性鳞状细胞癌患者35例。所有病例均经病理组织学确诊且临床分期为IA-IIB期。

本研究受试者均签署知情同意书,研究方案经贵州医科大学附属医院伦理委员会审批通过,研究过程符合《赫尔辛基宣言》伦理准则。

2 方法

2.1 样本采集与处理 受试者取膀胱截石位,使用无菌生理盐水清洁外阴和阴道,依次获取宫颈细胞学标本、阴道后穹窿分泌物和宫颈活检组织。宫颈细胞学标本采集使用专用宫颈刷在宫颈外口和宫颈管内旋转取材,细胞悬浮于液基细胞学保存液中,4℃保存并于24 h内送检。阴道后穹窿分泌物采用无菌棉拭子采集,避免接触宫颈表面,液氮速冻后-80℃保存用于微生物组学分析。CIN组和宫颈癌组患者在阴道镜引导下行宫颈活检,选择醋酸白上皮明显区域或碘试验阴性区域取材。活检组织分别置入10%中性福尔马林固定液和RNA保护剂中,前者用于病理诊断,后者4℃保存4 h后-80℃保存用于分子检测。

2.2 HPV检测与细胞学检查 采用PCR技术检测HPV DNA,检测高危型HPV包括16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、73、82等型别。HPV分型检测采用基因芯片杂交技术,能够同时检测并区分HPV16、18及其他高危型别。反应条件为95℃变性5 min,随后进行40个循环(95℃ 15 s, 60℃ 60 s),根据熔解曲线和Ct值判读结果。HPV载量采用标准曲线法定量分析,以拷贝数/细胞表示。

液基细胞学检查采用ThinPrep技术制片,巴氏染色后由2名细胞病理医师独立阅片。诊断标准采用2014年Bethesda系统,包括正常或炎症、非典型鳞状细胞意义不明确(ASC-US)、非典型鳞状细胞不排除高级别病变(ASC-H)、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)和鳞状细胞癌。

2.3 阴道微生物组分析 阴道分泌物总DNA采用QIAamp DNA Stool Mini Kit提取,DNA浓度和纯度通过NanoDrop 2000分光光度计检测。采用通用引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增

细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 高变区。PCR 产物纯化后使用 Illumina MiSeq PE300 平台进行高通量测序。生物信息学分析基于 QIIME2 平台进行,原始序列经质控、去嵌合体 and 聚类分析后获得操作分类单元 (OTU),相似度阈值设定为 97%。物种注释基于 Silva 数据库,计算 α 多样性指数 (Shannon、Simpson、Chao1 指数) 和 β 多样性 (Bray-Curtis 距离)。采用 LefSe 算法筛选组间差异显著的细菌类群, LDA score 阈值设为 2.0。功能预测分析使用 PICRUS2 软件, 基于 KEGG 数据库预测微生物群落的代谢功能。

2.4 阴道微环境与炎症标志物检测 阴道 pH 值测定采用精密 pH 试纸,将试纸贴附于阴道后穹窿分泌物 30 s 后读取数值,测定范围 4.0~7.0,精度 0.2。乳酸浓度检测使用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法。细菌性阴道病评估采用 Nugent 评分系统,通过革兰染色观察阴道分泌物涂片中乳杆菌、加德纳菌和弯曲菌的相对数量。评分 0~3 分为正常,4~6 分为中间状态,7~10 分诊断为细菌性阴道病。炎症因子检测采用多重细胞因子检测技术 (Luminex xMAP 平台) 定量检测阴道灌洗液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 IL-10 浓度。上皮屏障蛋白 claudin-1 和 occludin 采用 ELISA 法检测。

2.5 HPV 相关分子标志物检测 HPV E6/E7 mRNA 表达水平采用 qRT-PCR 检测。宫颈组织总 RNA 浓度和纯度通过分光光度计测定, A_{260}/A_{280} 比值在 1.8~2.0。采用逆转录试剂盒合成 cDNA,反应条件为 37 $^{\circ}$ C 15 min, 85 $^{\circ}$ C 5 s。

HPV16 E6/E7 和 HPV18 E6/E7 特异性引物设计基于 GenBank 数据库序列,内参基因选择 β -actin。qRT-PCR 反应在 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪上进行并计算相对表达量。

CIN 组和宫颈癌组标本进行 p16/Ki-67 双重免疫细胞化学染色。石蜡切片常规脱蜡水化后,采用柠檬酸缓冲液高温高压抗原修复。使用 p16/Ki-67 双染试剂盒, p16 抗体孵育浓度 1:100, Ki-67 抗体孵育浓度 1:200, 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育。DAB 显色后苏木精复染,中性树胶封片。p16 胞质和胞核棕色着色、Ki-67 胞核棕色着色判定为阳性。

2.6 体外细胞功能验证实验 阴道优势菌株分离培养采用 MRS 培养基 (乳杆菌) 和哥伦比亚血琼脂培养基 (加德纳菌), 37 $^{\circ}$ C 厌氧培养 48 h。菌株鉴定通过 16S rRNA 基因测序确认,选择卷曲乳杆菌 (*L. crispatus*) 和阴道加德纳菌 (*G. vaginalis*) 作为代表性菌株。细菌悬液调整至 1×10^8 CFU/mL 浓度用于后续共培养实验。宫颈癌细胞系 HeLa 采用 DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素) 在 37 $^{\circ}$ C、

5% CO₂ 培养箱中常规培养。细胞接种于 24 孔板,密度为 2×10^5 个/孔,培养 24 h 至 80% 融合度后加入细菌悬液,菌细胞比例为 100:1,共培养 24 h 和 48 h。细胞增殖活性采用 CCK-8 法检测,培养结束后加入 CCK-8 试剂孵育 2 h,在 450 nm 波长下测定吸光度值。炎症因子分泌检测采用 ELISA 法测定培养上清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度。基因表达分析采用 qRT-PCR 检测 TLR2、TLR4、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 水平,内参基因为 GAPDH。蛋白表达验证采用 Western blot 检测 TLR4、NF- κ B p65 和 claudin-1 蛋白,内参为 β -actin。

3 统计学分析

数据分析采用 SPSS 26.0 软件完成。连续性变量采用均数 \pm 标准差或中位数 (四分位数间距) 表示,分类变量采用例数和百分比表示。连续性变量多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验,分类变量比较采用 χ^2 检验。微生物组数据分析基于 R 语言 vegan 包和 phyloseq 包进行。 α 多样性指数组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验, β 多样性分析采用主坐标分析 (PCoA) 和置换多元方差分析 (PERMANOVA)。差异菌群筛选采用 LefSe 分析。采用 Spearman 秩相关分析评估 HPV 载量、炎症因子浓度与菌群丰度关系。多因素分析用逻辑回归模型识别 CIN/宫颈癌发生的独立危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 基线特征

共纳入研究对象 150 例,健康对照组 40 例,HPV 感染组 40 例,CIN 组 35 例,宫颈癌组 35 例。各组间年龄、孕产史、性行为史等基线特征比较无显著统计学差异 (均 $P > 0.05$) (表 1)。

表 1 研究对象基线特征比较

特征	健康对照组 (n=40)	HPV 感染组 (n=40)	CIN 组 (n=35)	宫颈癌组 (n=35)	统计量	P 值
年龄 (岁)	32.18 \pm 6.42	34.12 \pm 7.23	36.45 \pm 7.89	41.87 \pm 8.12	<i>F</i> = 2.847	0.062
孕次 [M(P25-P75)]	1.0 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-3.0)	2.0 (1.0-3.0)	<i>H</i> = 3.245	0.356
产次 [M(P25-P75)]	1.0 (1.0-2.0)	1.0 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-2.0)	<i>H</i> = 2.891	0.409
初次性生活年龄 (岁)	20.45 \pm 2.67	19.78 \pm 2.84	19.23 \pm 3.12	18.92 \pm 3.18	<i>F</i> = 1.923	0.128
BMI (kg/m ²)	22.51 \pm 2.89	23.08 \pm 3.01	23.79 \pm 3.24	24.03 \pm 3.15	<i>F</i> = 1.567	0.201

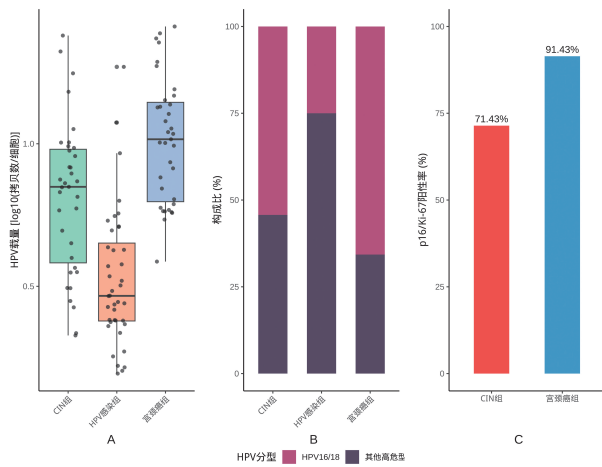
2 HPV 感染与细胞学检查

健康对照组均为 HPV 阴性, HPV 感染组、CIN 组和宫颈癌组 HPV 阳性率均为阳性 (均 100%)。HPV16/18 型感染率在宫颈癌组最高 (77.14%), 其次为 CIN 组 (51.43%) 和 HPV 感染组 (32.50%) (表 2)。HPV 载量随病变严重程度显著增加,宫颈癌组 HPV16/18 型感染率和 p16/Ki-67 阳性率均显著高于

CIN 组($P < 0.01$)(图 1)。

表 2 HPV 感染状况和细胞学检查结果

指标	健康对照组 (n=40)	HPV 感染组 (n=40)	CIN 组 (n=35)	宫颈癌组 (n=35)	统计量	P 值
HPV 阳性率 (%)	0.00	100.00	100.00	100.00	-	-
HPV16/18 感染率 (%)	0.00	32.50	51.43	77.14	$\chi^2 = 15.832$	< 0.01
HPV 载量 (拷贝数/细胞)	0	2.45 (1.58-4.12)	4.28 (2.89-6.75)	8.15 (5.67-12.34)	$F = 28.765$	< 0.01
细胞学诊断						
正常/炎症	40(100.00)	40(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	-	-
ASC-US	0(0.00)	0(0.00)	5(14.29)	0(0.00)	-	-
LSIL	0(0.00)	0(0.00)	18(51.43)	0(0.00)	-	-
HSIL	0(0.00)	0(0.00)	12(34.29)	15(42.86)	-	-
鳞状细胞癌	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	20(57.14)	-	-
p16/Ki-67 双染阳性率 (%)	-	-	68.57	94.29	$\chi^2 = 8.942$	< 0.01



A 各组 HPV 载量分布比较 B 各组 HPV16/18 分型构成 C CIN 组和宫颈癌组 p16/Ki-67 双重染色阳性率比较

图 1 HPV 感染特征分析

Fig. 1 Analysis of HPV infection characteristics

3 阴道微生物组特征分析

α 多样性分析显示 Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数在各组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)(表 3),随病变严重程度增加呈上升趋势,乳杆菌丰度显著下降而病原菌丰度增加(图 2A)。 β 多样性 PCoA 分析显示各组微生物群落结构存在显著差异(PERMANOVA, $P < 0.01$)(图 2B)。健康对照组以乳杆菌(74.85±12.34%)属为绝对优势菌,而 CIN 组和宫颈癌组中加德纳菌属、普雷沃菌属等厌氧菌丰度显著增加(均 $P < 0.05$)(表 4、图 2C)。

4 阴道微环境与炎症状态

如表 5 所示,阴道 pH 值随病变严重程度显著增加($F = 267.345, P < 0.01$),从健康对照组的 4.18±0.29 升高至宫颈癌组的 6.28±0.39。乳酸浓度呈相反趋势($F = 189.567, P < 0.01$),从 179.45 mg/L 降

至 44.67 mg/L,降幅 75.08%。Nugent 评分从 1.0 分增至 8.0 分($H = 125.678, P < 0.01$)(图 3A)。

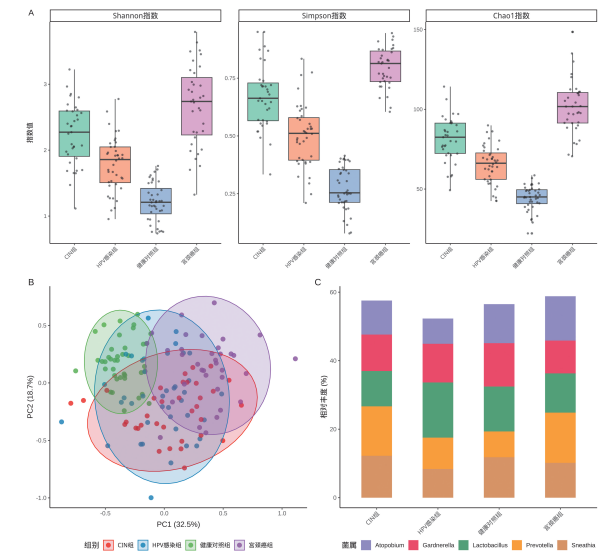
促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平分别增加 10.18 倍、8.85 倍和 10.04 倍(均 $P < 0.01$),抗炎因子 IL-10 降低 70.98%($F = 156.789, P < 0.01$)。上皮屏障蛋白 claudin-1 和 occludin 分别下降 71.05% 和 70.56%(均 $P < 0.01$)(图 3B)。HPV E6/E7 mRNA 表达从 HPV 感染组的 1.48 倍增至宫颈癌组的 8.56 倍($F = 189.456, P < 0.01$)(图 3C)。

表 3 阴道微生物组 α 多样性指数比较

多样性指数	健康对照组 (n=40)	HPV 感染组 (n=40)	CIN 组 (n=35)	宫颈癌组 (n=35)	F 值	P 值
Shannon 指数	1.19±0.28	1.82±0.41	2.31±0.49	2.78±0.57	89.342	< 0.01
Simpson 指数	0.30±0.09	0.51±0.14	0.69±0.16	0.81±0.11	126.785	< 0.01
Chao1 指数	44.87±7.92	64.23±11.85	84.67±14.32	104.89±17.65	152.674	< 0.01

表 4 主要菌属相对丰度比较 (%)

菌属	健康对照组	HPV 感染组	CIN 组	宫颈癌组
乳杆菌属	74.85±12.34	54.67±15.67	34.23±18.92	19.87±14.56
加德纳菌属	2.14±1.89	7.89±4.32	14.67±6.78	24.35±8.91
普雷沃菌属	1.23±0.87	4.56±2.34	11.78±5.67	17.92±7.23



A α 多样性指数(Shannon、Simpson、Chao1)在各组间的比较 B 基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(PCoA)显示各组微生物群落结构差异 C 主要菌属相对丰度组成

图 2 阴道微生物组特征分析

Fig. 2 Analysis of vaginal microbiome characteristics

5 微生物与临床指标相关性及体外验证

Spearman 相关分析显示乳杆菌丰度与 HPV 载量、炎症因子呈显著负相关($r = -0.721 \sim -0.834$, 均 $P < 0.01$),与 pH 值、Nugent 评分呈负相关($r = -0.798, -0.823$, 均 $P < 0.01$)。加德纳菌和普雷沃菌丰度与上述指标呈显著正相关(图 4)。多因素逻辑回归分析显示(图 5A),加德纳菌丰度 $> 15\%$ (OR=4.23,

表 5 阴道微环境与炎症标志物水平比较
Table 5 Comparison of vaginal microenvironment and inflammatory marker levels

指标	健康对照组(n=40)	HPV 感染组(n=40)	CIN 组(n=35)	宫颈癌组(n=35)	统计量	P 值
微环境参数						
阴道 pH 值	4.18±0.29	4.82±0.41	5.51±0.48	6.28±0.39	$F=267.345$	<0.01
乳酸浓度(mg/L)	179.45(145.67-221.34)	119.78(89.23-156.89)	79.34(58.67-108.45)	44.67(32.18-61.89)	$F=189.567$	<0.01
Nugent 评分	1.0(0.0-2.0)	3.0(1.0-5.0)	6.0(4.0-8.0)	8.0(7.0-9.0)	$H=125.678$	<0.01
炎症因子(pg/mL)						
IL-1 β	14.67(11.23-19.45)	34.89(26.78-45.67)	84.56(65.34-112.78)	149.23(118.67-189.45)	$F=234.567$	<0.01
IL-6	24.78(19.56-32.45)	59.67(45.23-78.34)	119.45(89.67-156.78)	219.34(167.89-278.45)	$F=267.890$	<0.01
TNF- α	17.89(13.67-23.45)	44.56(34.78-58.67)	94.78(72.34-123.45)	179.67(134.56-234.78)	$F=245.678$	<0.01
IL-10	84.67(67.89-105.34)	64.78(49.56-83.45)	44.89(34.67-58.78)	24.56(18.34-32.67)	$F=156.789$	<0.01
屏障蛋白(ng/mL)						
Claudin-1	119.78(95.67-149.34)	94.56(72.34-123.45)	64.89(49.78-84.67)	34.67(26.89-45.23)	$F=178.234$	<0.01
Occludin	84.56(67.89-105.23)	67.78(52.34-88.45)	44.67(34.56-58.89)	24.89(19.45-32.67)	$F=145.678$	<0.01
分子标志物						
HPV E6/E7 mRNA	0	1.48(0.89-2.34)	4.23(2.78-6.45)	8.56(5.67-12.78)	$F=189.456$	<0.01

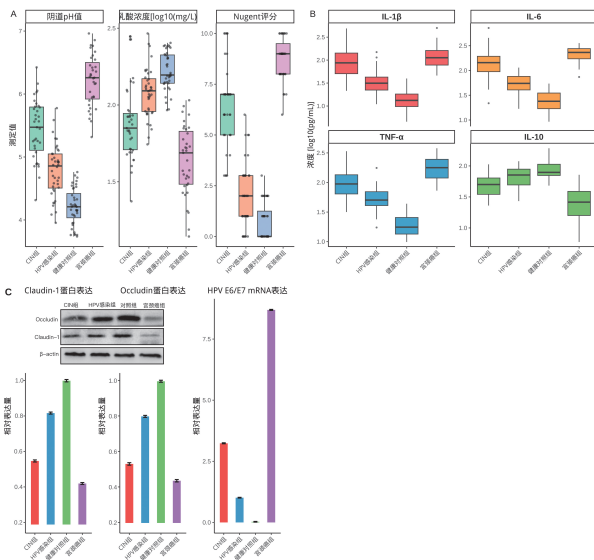


图 3 阴道微环境与炎症状态分析
A 阴道微环境参数(pH 值、乳酸浓度、Nugent 评分)比较 B 炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10)水平分析 C 上皮屏障蛋白(Claudin-1、Occludin)和 HPV E6/E7 mRNA 表达水平

Fig. 3 Analysis of vaginal microenvironment and inflammatory status

95%CI:2.15-8.32)、乳杆菌丰度<30%(OR=3.78, 95%CI:1.89-7.56)和 IL-6>100 pg/mL(OR=2.94, 95%CI:1.52-5.68)是 CIN/宫颈癌发生的独立危险因素。体外验证显示卷曲乳杆菌显著抑制 HeLa 细胞增殖和炎症因子分泌,而加德纳菌促进细胞增殖并上调 TLR4、NF- κ B p65 表达,下调 claudin-1 表达(均 $P < 0.05$)(图 5B)。

讨论

本宫颈癌发生是多阶段、多因素累积的复杂过程,高危型 HPV 持续感染是明确的致病因素^[7-8],但病毒感染本身并不足以导致癌症发生^[9]。阐明促进 HPV 感染持续化并驱动宫颈上皮恶性转化的关键宿主因素,是当前宫颈癌病因学研究的重点。本研究综合分

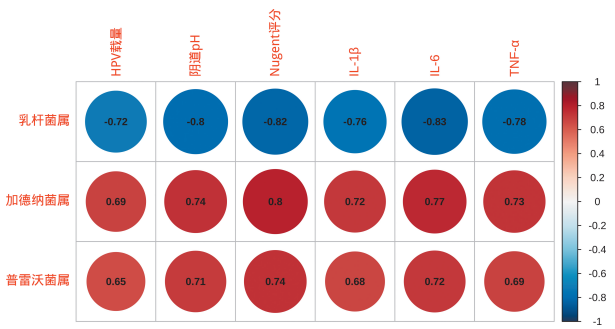


图 4 微生物菌属与临床指标相关性热图
Fig. 4 Heat map of the correlation between microbial genus and clinical indicators

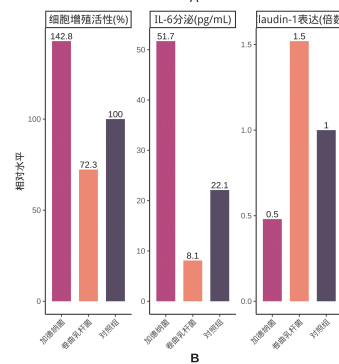
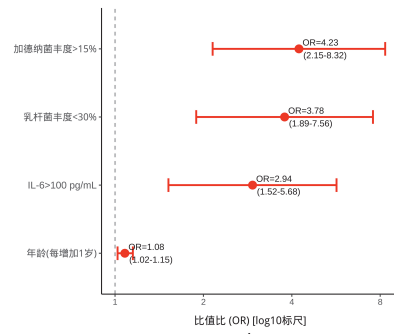


图 5 微生物与临床指标相关性森林图 B 体外细胞功能验证显示卷曲乳杆菌抑制 HeLa 细胞增殖和炎症反应,加德纳菌促进细胞增殖并损害上皮屏障功能

Fig. 5 Correlation between microorganisms and clinical indicators and in vitro validation

析了从健康状态到宫颈癌的疾病进程中,阴道微生态、局部微环境与免疫应答的动态演变,并通过体外实验验证特定菌群与宿主细胞相互作用的分子机制。

随着宫颈病变进展,阴道菌群 α 多样性显著升高,群落结构发生深刻重塑。健康女性中以卷曲乳杆菌为主的乳杆菌占绝对优势,符合健康阴道微生态特征^[10]。乳杆菌通过产生乳酸维持酸性环境、分泌抗菌物质并调节免疫稳态^[11-12],构筑抵御 HPV 感染的天然屏障。但在 HPV 感染后,特别是进展至 CIN 和宫颈癌时,乳杆菌丰度急剧下降,加德纳菌、普雷沃菌等厌氧菌显著增加^[13-14]。这种以厌氧菌占优的失调状态已被荟萃分析证实与 HPV 感染获得、持续及清除延迟密切相关^[15],提示乳杆菌优势地位的丧失可能是促使 HPV 感染走向持续化的关键转折点。

菌群失调使局部生化与免疫微环境发生改变^[16],阴道 pH 值升高、乳酸浓度降低反映了产酸乳杆菌的耗竭,削弱了对 HPV 的直接抑制作用。菌群失调诱发的慢性炎症更为关键,促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平持续升高,抗炎因子 IL-10 下降,形成促炎环境。微生物导致的慢性炎症损害宫颈上皮屏障功能^[5],与本研究 claudin-1 和 occludin 蛋白表达下调结果一致,为病毒接触基底细胞创造条件。高水平 IL-6 激活 STAT3 等致癌信号通路^[17],促进细胞增殖、抑制凋亡,在分子水平协同 HPV E6/E7 癌蛋白推动恶性转化。本研究多因素分析证实 IL-6 是 CIN 及宫颈癌发生的独立危险因素,为“菌群-炎症-癌症”轴线提供了临床证据。

体外共培养实验对“菌群-宿主”互作进行了功能验证,卷曲乳杆菌有效抑制 HeLa 细胞增殖,而加德纳菌表现出显著促增殖效应。加德纳菌可能通过细胞壁成分或代谢产物激活 TLR4,进而激活 NF- κ B 信号通路^[18],上调促炎因子表达。NF- κ B 持续激活是多种实体瘤发生发展的关键环节^[19]。加德纳菌还下调 claudin-1 表达,直接破坏上皮屏障完整性。这些发现将特定细菌与特定信号通路及细胞生物学行为联系起来,为理解菌群失调促进宫颈癌发生提供了具体分子靶点。

基于临床关联分析与体外功能验证,阴道菌群在宫颈癌发生中的作用模式表现为在高危型 HPV 感染背景下,以加德纳菌增高和乳杆菌降低为特征的菌群失调通过多种途径协同促进宫颈癌进展^[20-21]。偏碱性微环境利于病毒存活,激活 TLR/NF- κ B 通路诱发慢性炎症损害免疫监控,破坏上皮屏障增加病毒整合机会,以及直接调控细胞增殖凋亡加速恶性转化^[22]。本研究将加德纳菌丰度 $>15\%$ 和乳杆菌丰度 $<30\%$ 确定为 CIN/宫颈癌的独立危险因素,提示阴道菌群组成特

征有望成为评估 hr-HPV 感染者疾病进展风险的生物标志物^[23-25],为高危人群精准管理提供新策略。

本研究为横断面研究,虽然揭示了强烈关联性,但无法完全确立菌群失调与宫颈癌发生的因果关系,需要前瞻性队列研究验证。研究仅在属水平分析,同属不同种细菌可能具有不同功能,需要更高分辨率的宏基因组研究。体外实验采用单一菌种与癌细胞系共培养,是对体内复杂微生态的简化模拟。

本研究整合多组学数据与功能验证,为深入理解 HPV 与阴道菌群在宫颈癌发生中的互作机制提供了重要证据,并为开发基于微生态的宫颈癌早期预警和干预策略指明了方向。

【参考文献】

- [1] Wei F, Georges D, Man I, et al. Causal attribution of human papillomavirus genotypes to invasive cervical cancer worldwide: a systematic analysis of the global literature [J]. *Lancet*, 2024, 404 (10451): 435-444.
- [2] Bruni L, Albero G, Rowley J, et al. Global and regional estimates of genital human papillomavirus prevalence among men: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2023, 11(9): e1345-e1362.
- [3] Cassani C, Dominoni M, Pasquali MF, et al. The role of multiple high-risk human papillomavirus infection on the persistence recurrence of high-grade cervical lesions after standard treatment: A systematic review and a meta-analysis [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2024, 103(6): 1028-1035.
- [4] 惠月红, 顾燕芳, 顾劲松, 等. 绝经前后女性细菌性阴道炎菌群和激素水平的比较研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2025, 20(06): 703-707.
- [5] Ye J, Qi X. Vaginal microecology and its role in human papillomavirus infection and human papillomavirus associated cervical lesions [J]. *APMIS*, 2024, 132(12): 928-947.
- [6] 张展, 宗晓楠, 白会会, 等. 高危型 HPV 持续感染女性 HPV 转归与阴道微生态的关系一项前瞻性队列研究 [J]. *中华妇产科杂志*, 2025, 60(2): 121-127.
- [7] Reynders C, Lerho T, Goebel EA, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma (usual type and variants): A systematic review and meta-analysis [J]. *J Med Virol*, 2023, 95(10): e29190.
- [8] Maver PJ, Poljak M. Primary HPV-based cervical cancer screening in Europe: implementation status, challenges, and future plans [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(5): 579-583.
- [9] Kaur CP, Vadivelu J, Chandramathi S. Impact of *Klebsiella pneumoniae* in lower gastrointestinal tract diseases [J]. *J Dig Dis*, 2018, 19(5): 262-271.
- [10] 孙佳慧, 宋丽雅. 卷曲乳杆菌对女性生殖道健康的影响及抑菌和抗炎机制 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2024, 45(01): 28-34.
- [11] Pendharkar S, Skafte-Holm A, Simsek G, et al. Lactobacilli and their probiotic effects in the vagina of reproductive age women [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(3): 636.

(下转 152 页)