

阴道黏膜免疫与人乳头瘤病毒16/18感染对宫颈低级别上皮内瘤变患者艾拉-光动力疗法疗效的影响

华彩凤 高娟 夏亚芳 王进进 王颀

【摘要】目的 探究阴道黏膜免疫功能与人乳头瘤病毒(HPV) 16/18感染对宫颈上皮内瘤变(CIN)患者艾拉-光动力疗法(ALA-PDT)疗效的影响及交互作用。**方法** 收集江阴市中医院2021年6月至2023年3月收治的124例CIN患者为研究对象,根据ALA-PDT疗效将患者分为无效组(31例)和有效组(93例)。比较两组患者的一般资料、阴道黏膜免疫功能及HPV16/18感染情况,应用多因素Logistic回归分析CIN患者ALA-PDT治疗无效的影响因素,并应用广义多因子降维模型分析阴道黏膜免疫功能与HPV16/18感染对CIN患者ALA-PDT疗效的交互作用。**结果** 有效组和无效组CIN患者年龄($\chi^2=4.803$, $P=0.028$)和流产史($\chi^2=12.949$, $P<0.001$)差异具有统计学意义;有效组患者CD3⁺T淋巴细胞[(60.05±12.26)% vs. (48.82±9.63)%; $t=4.641$, $P<0.001$]、CD4⁺T淋巴细胞[(39.05±7.05)% vs. (33.10±5.21)%; $t=4.318$, $P<0.001$]、CD4⁺/CD8⁺T[(1.38±0.31) vs. (1.09±0.23); $t=4.783$, $P<0.001$]、IgA[(2.21±0.66) g/L vs. (1.61±0.43) g/L; $t=4.731$, $P<0.001$]、IgG[(13.68±4.18) g/L vs. (10.35±3.21) g/L; $t=4.051$, $P<0.001$]、IgM[(1.26±0.29) g/L vs. (1.07±0.23) g/L; $t=3.314$, $P=0.001$]及HPV16/18阳性占比[37 (39.78%) vs. 21 (67.74%); $\chi^2=7.299$, $P=0.007$]显著高于无效组;而CD8⁺T淋巴细胞[(27.50±6.08)% vs. (30.36±7.11)%; $t=2.172$, $P=0.032$]则显著低于无效组,差异均有统计学意义。Logistic回归分析显示,年龄($OR=1.864$ 、95%CI: 1.100~3.158、 $P=0.021$)、CD4⁺/CD8⁺T($OR=0.586$ 、95%CI: 0.433~0.792、 $P=0.001$)、IgA($OR=0.657$ 、95%CI: 0.497~0.868、 $P=0.003$)及HPV16/18感染($OR=2.767$ 、95%CI: 1.239~6.180、 $P=0.013$)均为CIN患者ALA-PDT治疗无效的独立影响因素。GMDR交互作用分析显示,CD3⁺T淋巴细胞、CD4⁺T淋巴细胞、CD8⁺T淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺T、IgA及HPV16/18感染在CIN临床疗效中呈交互作用(检验样本准确度=0.7342、 $P<0.01$)。**结论** 年龄、CD4⁺/CD8⁺T、IgA水平及HPV16/18感染均为CIN患者ALA-PDT治疗无效的独立影响因素,根据以上因素建立的Logistic回归模型可对ALA-PDT疗效进行预测。

【关键词】 阴道黏膜免疫功能; 人乳头状瘤病毒; 宫颈上皮内瘤变; 艾拉-光动力疗法

Effect of vaginal mucosal immunity and human papilloma virus infection on aminolevulinic acid-photodynamic therapy efficacy in patients with low-grade intraepithelial neoplasia Hua Caifeng, Gao Juan, Xia Yafang, Wang Jinjin, Wang Di. Department of Obstetrics and Gynecology, Jiangyin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangyin 214400, China

Corresponding author: Wang Di, Email: 419549098@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the effect and interaction of vaginal mucosal immune function and human papilloma virus (HPV)16/18 infection on therapeutic efficacy of aminolevulinic acid-photodynamic therapy (ALA-PDT) in patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN). **Methods** Total of 124 patients with CIN admitted to Jiangyin Traditional Chinese Medicine Hospital from June 2021 to March 2023 were collected. According to the efficacy of ALA-PDT, the patients were divided into ineffective group (31 cases) and effective group (93 cases). The general information, vaginal mucosal immune function and HPV16/18 infection status of the two groups were compared. The influencing factors of ineffective ALA-PDT in CIN patients were analyzed by multiple Logistic regression analysis, and the interaction between vaginal mucosal immune function and HPV16/18 infection on ALA-PDT efficacy in CIN patients were

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2025.02.005

基金项目: 2022年度无锡市妇幼健康科研项目及适宜技术推广项目 (No. FYKY202212)

作者单位: 214400 江阴市, 江阴市中医院妇产科

通信作者: 王颀, Email: 419549098@qq.com

analyzed by a generalized multi factor dimensionality reduction model. **Results** Age ($\chi^2 = 4.803$, $P = 0.028$) and history of miscarriage ($\chi^2 = 12.949$, $P < 0.001$) between effective group and ineffective group were significantly different. CD3⁺ T lymphocytes [(60.05 ± 12.26)% vs. (48.82 ± 9.63)%; $t = 4.641$, $P < 0.001$], CD4⁺ T lymphocytes [(39.05 ± 7.05)% vs. (33.10 ± 5.21)%; $t = 4.318$, $P < 0.001$], CD4⁺/CD8⁺ T [(1.38 ± 0.31) vs. (1.09 ± 0.23); $t = 4.783$, $P < 0.001$], IgA [(2.21 ± 0.66) g/L vs. (1.61 ± 0.43) g/L; $t = 4.731$, $P < 0.001$], IgG [(13.68 ± 4.18) g/L vs. (10.35 ± 3.21) g/L; $t = 4.051$, $P < 0.001$], IgM [(1.26 ± 0.29) g/L vs. (1.07 ± 0.23) g/L; $t = 3.314$, $P = 0.001$] and the proportion of HPV16/18 positivity [37 (39.78%) vs. 21 (67.74%); $\chi^2 = 7.299$, $P = 0.007$] of patients in effective group were significantly higher than those of the ineffective group; CD8⁺ T lymphocytes of patients in effective group [(27.50 ± 6.08)% vs. (30.36 ± 7.11)%; $t = 2.172$, $P = 0.032$] was significantly lower than that of the ineffective group, with significant differences. Logistic regression analysis showed that age ($OR = 1.864$, 95%CI: 1.100-3.158, $P = 0.021$), CD4⁺/CD8⁺ T ($OR = 0.586$, 95%CI: 0.433-0.792, $P = 0.001$), IgA ($OR = 0.657$, 95%CI: 0.497-0.868, $P = 0.003$) and HPV16/18 ($OR = 2.767$, 95%CI: 1.239-6.180, $P = 0.013$) were independent influencing factors for ALA-PDT failure in CIN patients. GMDR interaction analysis results showed that CD3⁺ T lymphocyte, CD4⁺ T lymphocyte, CD8⁺ T lymphocyte, CD4⁺/CD8⁺ T, IgA and HPV16/18 infection interacted with each other in the clinical efficacy of CIN (test sample accuracy = 0.7342, $P < 0.01$). **Conclusions** Age, CD4⁺/CD8⁺ T, IgA level and HPV16/18 infection were all independent influencing factors for the efficacy of ALA-PDT in CIN patients. Logistic regression model established based on the above factors could predict the clinical efficacy of ALA-PDT.

【Key words】 Vaginal mucosal immune function; Human papilloma virus; Cervical intraepithelial neoplasia; Aminolevulinic acid-photodynamic therapy

宫颈癌 (cervical cancer, CC) 是常见的女性恶性肿瘤, 全球每年有超过50万例CC新增病例。宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 是CC进展过程中的必经阶段, 分为CIN I~III共3级病变^[1,2]。CIN早期诊断与及早治疗可大大降低CC的发生^[3]。CIN的发展和最终导致侵袭性癌症的主要原因是人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 的持续感染, 其中HPV16型和18型 (HPV16/18) 与CC相关度最高^[3]。艾拉光动力疗法 (aminolevulinic acid-photodynamic therapy, ALA-PDT) 是由光源照射和氨基乙酰丙酸光敏剂相结合的治疗方法, 破坏病变细胞的结构, 加速其凋亡过程并阻断病变细胞的营养供应, 还可参与机体的免疫应答中, 协同免疫系统共同清除病变细胞^[4], ALA-PDT在清除HPV感染和CIN治疗中具有积极意义, 但仍有患者治疗无效, 原因目前仍不清楚。女性阴道构成了一个特有的微生态系统, 该系统由微生物菌群、阴道解剖结构、局部免疫防御机制以及内分泌调节功能协同作用, 共同保持阴道微生态的动态平衡。在这一系统中, 局部免疫功能对于防御病原体侵入、阻止其黏附及繁殖起到了至关重要的作用^[5-7], 故推测ALA-PDT疗效可能与阴道黏膜免疫功能相关。本研究将探讨阴道黏膜免疫功能与HPV16/18感染在CIN患者ALA-PDT疗效的交互作用, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

回顾性分析江阴市中医院2021年6月至2023年3月收治的124例CIN患者的临床资料, 患者年龄26~57岁, 平均年龄 (38.26 ± 4.26) 岁。纳入标准: ①明确诊断为CIN^[8]; ②至少2年性生活史; ③HPV感染者; ④48 h内无阴道冲洗、放药及性生活; ⑤近3个月内未进行阴道相关疾病治疗。排除标准: ①严重心功能异常者; ②恶性肿瘤患者; ③妊娠或哺乳期妇女; ④严重肾功能异常者。

研究通过本院医学伦理委员会批准 (审批号: ZYGZY2021-LL-05)。

二、研究方法

1. 资料收集: 患者的文化程度、饮酒、主动或被动吸烟、月收入、年龄、月经规律、经期同房、首次性生活年龄、孕次、产次、宫颈癌家族史及流产史等。

2. 阴道黏膜免疫功能检测: 患者采取膀胱截石位, 使用一次性阴道窥器暴露宫颈, 用20 ml无菌注射器抽取10 ml 0.9%的生理盐水, 对阴道上1/3区域、阴道穹隆及宫颈表面进行全面清洗。清洗后, 生理盐水在阴道内停留5 s, 然后用无菌注射器吸出灌洗液, 并将其置于离心管中。3 000 r/min离心5 min (离心半径 $r = 4.5$ cm), 取上清液-20 °C保存待测。采用酶联

免疫吸附法检测免疫球蛋白G (immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白A (immunoglobulin A, IgA) 及免疫球蛋白M (immunoglobulin M, IgM) 水平, 采用流式细胞仪检测CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T淋巴细胞水平, 并计算CD4⁺/CD8⁺T。

3. HPV检测: 患者入院时进行HPV检测, 使用阴道窥器充分暴露宫颈, 宫颈刷采集宫颈脱落上皮细胞样本, 将宫颈刷浸入细胞保存液中, 检测时将该样本离心1 min (10 000 r/min、离心半径 $r = 3$ cm) 弃上清液, 加入裂解酶液, 提取DNA。

PCR溶液反应体系: PCRmix 23.25 μ l + DNA *taq*酶 0.75 μ l + 1 μ l模板。反应条件: 95 $^{\circ}$ C预变性5 min; 95 $^{\circ}$ C变性1 min、55 $^{\circ}$ C退火30 s、72 $^{\circ}$ C延伸30 s, 共40个循环; 72 $^{\circ}$ C终延伸5 min。

导流杂交: ①取PCR产物20 μ l, 95 $^{\circ}$ C加热5 min, 冰水浴至少2 min; ②1 μ l杂交液预热45 $^{\circ}$ C, 温育至少2 min后; ③将DNA样品溶液加入0.5 ml预热至45 $^{\circ}$ C的杂交液, 温育10 min后, 进行导流杂交; 使用0.8 ml杂交液冲反复洗膜3次; ④杂交仪设定25 $^{\circ}$ C, 加入0.5 ml酶标液温育4 min开泵, 再设定温度36 $^{\circ}$ C彻底洗膜4次, 加入NBT/BCIP溶液0.5 ml, 盖上盖板显色3~6 min; ⑤阳性点为蓝紫色远点, 根据试剂盒HPV分型比对图 (潮州凯普生物化学有限公司) 判断HPV分型。

4. 治疗方法: 采用ALA-PDT法进行治疗。

光敏剂使用盐酸氨酮戊酸外用散 (aminolevulinic acid hydrochloride topical powder, ALA), 1次3支 (118 mg/支), 可根据患者病变面积调整用药量, 使用半导体激光治疗仪、LED治疗仪及大功率He-Ne激光作为光源, 波长调整为635 nm, 光功率密度为80 mw/cm²。患者取截石位, 暴露宫颈和阴道, ALA混合于2 ml温敏凝胶, 均匀涂抹于宫颈管和宫颈表面, 敷药3 h后行光动力治疗, 光斑覆盖病灶照射30 min。治疗6次, 1次/周。

5. 疗效评估: 治疗结束后3个月进行复查时, 病灶完全消失并且液基薄层细胞学检查、阴道镜检查以及组织学检均显示无异常为治愈; 治疗后病灶消失, 同时CIN级别有所下降为有效; 治疗后病灶未见缩小, 细胞学检查仍持续异常为无效^[9]。有效率 = (治愈 + 有效) 例数/总例数 $\times 100\%$ 。入组124例CIN患者接受ALA-PDT治疗, 其中治愈和有效者纳入有效组 (93例), 治疗无效者纳入无效组 (31例)。

三、统计学处理

应用SPSS 22.0软件进行统计学分析, 计数资料 (年龄、月收入、文化程度、饮酒、主动或被动吸烟、月经规律、经期同房、首次性生活年龄、孕次、产次、宫颈癌家族史、流产史、HPV16/18感染情况) 采用[例 (%)]表示, 组间比较采用Pearson卡方检验。呈正态分布的计量资料 (CD3⁺T淋巴细胞、CD4⁺T淋巴细胞、CD8⁺T淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺T、IgA、IgG和IgM) 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。将具有显著差异的因素纳入多因素Logistic回归分析CIN I患者ALA-PDT治疗无效的独立危险因素, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

采用广义多因子降维模型 (generalized multifactor dimensionality reduction, GMDR) 进行交互作用分析并筛选出最优模型。

样本量计算: 应用相关系数检验的样本量计算^[10]: 相关系数 $\rho = 0.5$, 取双侧 $\alpha = 0.05$ 、 $\beta = 0.10$, 计算 $Z_{\alpha/2} = 1.96$ 、 $Z_{\beta} = 1.28$, 代入公式计算得37.8, 本研究共纳入CIN患者124例 ($n > 37.8$)。计算公式:

$$n = 4[(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) / \ln(\frac{1+\rho}{1-\rho})]^2 + 3$$

结 果

一、HPV16/18检测

HPV分型检测结果如表1所示, 124例患者共检出17种HPV亚型, 其中15种为高危型HPV, 2种为低危型HPV, 不同病理分级CIN患者中, HPV感染亚型占比最高且均为HPV 16型, CIN I患者HPV 16型感染率为38.71% (16/31), CIN II患者HPV 16型感染率为41.07% (23/56), CIN III患者HPV 16型感染率为43.24% (16/37)。

二、有效组和无效组CIN患者的一般资料

有效组和无效组CIN患者月收入、饮酒、文化程度、首次性生活年龄、主动或被动吸烟、月经规律、孕次、经期同房、产次及宫颈癌家族史的差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05), 而两组患者年龄 ($\chi^2 = 4.803$ 、 $P = 0.028$) 和流产史 ($\chi^2 = 12.949$ 、 $P < 0.001$) 差异均有统计学意义, 见表2。

三、无效组和有效组CIN患者阴道黏膜免疫功能及HPV16/18感染情况

有效组CIN患者CD3⁺T淋巴细胞 ($t = 4.641$ 、

$P < 0.001$)、 $CD4^+$ T淋巴细胞 ($t = 4.318$ 、 $P < 0.001$)、 $CD4^+/CD8^+$ T ($t = 4.783$ 、 $P < 0.001$)、IgA ($t = 4.731$ 、 $P < 0.001$)、IgG ($t = 4.051$ 、 $P < 0.001$)、IgM ($t = 3.314$ 、 $P = 0.001$) 及 HPV16/18阳性 ($\chi^2 = 7.299$ 、 $P = 0.007$) 患者比例显著高于无效组患者, $CD8^+$ T淋巴细胞则显著低于无效组患者 ($t = 2.172$ 、 $P = 0.032$), 差异均有统计学意义, 见表3。

四、CIN患者疗效的影响因素

将CIN患者ALA-PDT疗效(有效 = 0、无效 = 1) 作为因变量, 将单因素分析筛选出差异有统计学意义的年龄、流产史、 $CD3^+$ T淋巴细胞、 $CD4^+/CD8^+$ T、IgA、IgG、IgM及HPV16/18感染作为自变量赋值(表4) 后进行多因素Logistic回归分析, 结果显示年龄 ($OR = 1.929$ 、95%CI: 1.150~3.238、 $P = 0.013$)、 $CD4^+/CD8^+$ T ($OR = 0.549$ 、95%CI: 0.407~0.741、 $P < 0.001$)、IgA ($OR = -0.505$ 、95%CI: 0.459~0.795、 $P <$

表1 不同 CIN 患者 HPV 分型 [例 (%)]

HPV分型	CIN I (31例)	CIN II (56例)	CIN III (37例)
HR-HPV			
16	12 (38.71)	23 (41.07)	16 (43.24)
18	3 (9.68)	6 (10.71)	4 (10.81)
31	0 (0.00)	1 (1.79)	0 (0.00)
33	4 (12.90)	6 (10.71)	5 (13.51)
35	0 (0.00)	2 (3.57)	0 (0.00)
39	1 (3.23)	1 (1.79)	1 (2.70)
45	0 (0.00)	1 (1.79)	1 (2.70)
51	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (2.70)
52	3 (9.68)	6 (10.71)	4 (10.81)
53	1 (3.23)	2 (3.57)	1 (2.70)
56	0 (0.00)	1 (1.79)	0 (0.00)
58	4 (12.90)	9 (16.07)	5 (13.51)
59	1 (3.23)	1 (1.79)	1 (2.70)
66	0 (0.00)	1 (1.79)	1 (2.70)
LR-HPV			
6	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (2.70)
11	1 (3.23)	2 (3.57)	1 (2.70)

表2 ALA-PDT 无效组和有效组 CIN 患者的一般资料 [例 (%)]

一般资料	无效组 (31例)	有效组 (93例)	χ^2 值	P值
年龄 (岁)			4.803	0.028
≤ 40	12 (38.71)	57 (61.29)		
> 40	19 (61.29)	36 (38.71)		
月收入 (元)			0.387	0.534
≤ 4 000	17 (54.84)	45 (48.39)		
> 4 000	14 (45.16)	48 (51.61)		
文化程度			0.013	0.910
高中及以下	9 (29.03)	28 (30.11)		
高中以上	22 (70.97)	65 (69.89)		
饮酒	7 (22.58)	19 (20.43)	0.065	0.799
主动或被动吸烟	11 (35.48)	28 (30.11)	0.312	0.577
月经规律	21 (67.74)	66 (70.97)	0.116	0.734
经期同房	4 (12.90)	11 (11.83)	0.025	0.874
首次性生活年龄 (岁)			0.013	0.908
≤ 20	9 (29.03)	26 (27.96)		
> 20	22 (70.97)	67 (72.04)		
孕次 (次)			0.043	0.835
< 2	17 (54.84)	49 (52.69)		
≥ 2	14 (45.16)	44 (47.31)		
产次 (次)			0.291	0.590
< 2	21 (67.74)	58 (62.37)		
≥ 2	10 (32.26)	35 (37.63)		
宫颈癌家族史	5 (16.13)	14 (15.05)	0.021	0.886
流产史	11 (35.48)	8 (8.60)	12.949	< 0.001

注: 统计学分析采用 Pearson 卡方检验

0.001) 及HPV16/18 ($OR = 2.648$ 、95% CI : 1.123~6.242、 $P = 0.026$) 均为CIN患者ALA-PDT治疗无效的独立影响因素, 见表5。

五、Logistic回归模型建立及验证

建立Logistic回归方程: $P = e^a / (1 + e^a)$, $a = -0.782 + 0.657 \times \text{年龄赋值} - 0.600 \times \text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T 赋值} - 0.505 \times \text{IgA 赋值} + 0.974 \times \text{HPV16/18 赋值}$, 具体赋值见表4。预测模型中 e 为指数函数, P 为Logistic回归模型预测CIN患者ALA-PDT治疗无效的概率。模型准确度为88.4%, 灵敏度为86.4%, 特异度为90.3%, 见表6。

通过10折交叉验证来验证预测模型的稳定性(表7), 结果表明训练集和验证集的参数相似, 预测模型稳定。

七、HPV16/18阳性和阴性时CIN患者阴道黏膜免疫功能与疗效的交互关系

交互关系分析显示, $\text{CD3}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD8}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、IgA、IgG及IgM水平与HPV16/18感染情况(阳性和阴性)对CIN患者疗效无显著影响, 而 $\text{CD4}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T}$ 与HPV16/18感染情况(阳性和阴性)对CIN疗效存在交互作用($P_{\text{交互}} < 0.05$), 见表8。

八、阴道黏膜免疫功能与HPV16/18感染对CIN患者ALA-PDT疗效的交互作用

阴道黏膜免疫功能与HPV16/18感染影响CIN疗效的交互作用: 将 $\text{CD3}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD4}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T}$ 、IgA、IgG、IgM水平及HPV16/18赋值后引入GMDR模型并进行交互作用分析。结果显示, 调整年龄和流产史后, $\text{CD3}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD4}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD8}^+ \text{ T 淋巴细胞}$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T}$ 、IgA、IgG、IgM水平及HPV16/18组成的6阶交互模型为最佳模型, 置换检验有统计学意义(P 均 < 0.01), 见表9。

表 4 各因素赋值表

因素	赋值
年龄(岁)	$\leq 40 = 0$, $> 40 = 1$
流产史	无 = 0, 有 = 1
$\text{CD3}^+ \text{ T } (\%)$	$\leq 52.43 = 1$, $> 52.43 = 0$
$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T}$	$\leq 1.23 = 1$, $> 1.23 = 0$
IgA (g/L)	$\leq 1.96 = 1$, $> 1.96 = 0$
IgG (g/L)	$\leq 11.82 = 1$, $> 11.82 = 0$
IgM (g/L)	$\leq 1.10 = 1$, $> 1.10 = 0$
HPV16/18	阴性 = 0; 阳性 = 1

表 3 无效组和有效组 CIN 患者阴道黏膜免疫功能指标和 HPV16/18 感染

指标	无效组 (31例)	有效组 (93例)	统计量	P 值
$\text{CD3}^+ (\bar{x} \pm s, \%)$	48.82 \pm 9.63	60.05 \pm 12.26	$t = 4.641$	< 0.001
$\text{CD4}^+ (\bar{x} \pm s, \%)$	33.10 \pm 5.21	39.05 \pm 7.05	$t = 4.318$	< 0.001
$\text{CD8}^+ (\bar{x} \pm s, \%)$	30.36 \pm 7.11	27.50 \pm 6.08	$t = 2.172$	0.032
$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T } (\bar{x} \pm s)$	1.09 \pm 0.23	1.38 \pm 0.31	$t = 4.783$	< 0.001
IgA ($\bar{x} \pm s$, g/L)	1.61 \pm 0.43	2.21 \pm 0.66	$t = 4.731$	< 0.001
IgG ($\bar{x} \pm s$, g/L)	10.35 \pm 3.21	13.68 \pm 4.18	$t = 4.051$	< 0.001
IgM ($\bar{x} \pm s$, g/L)	1.07 \pm 0.23	1.26 \pm 0.29	$t = 3.314$	0.001
HPV16/18 [例 (%)]			$\chi^2 = 7.299^a$	0.007
阳性	21 (67.74)	37 (39.78)		
阴性	10 (32.26)	56 (60.22)		

注: HPV16/18 阳性: HPV16 和 (或) HPV18 阳性; ^a: Pearson 卡方检验

表 5 CIN 疗效影响因素的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	β 值	$S.E.$ 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄	0.657	0.264	6.188	1.929	1.150~3.238	0.013
流产史	0.400	0.228	3.080	1.492	0.954~2.334	0.079
$\text{CD3}^+ \text{ T}$	-0.445	0.370	1.450	0.641	0.311~1.322	0.229
$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ \text{ T}$	-0.600	0.153	15.369	0.549	0.407~0.741	< 0.001
IgG	-0.630	0.383	2.700	0.533	0.251~1.129	0.100
IgA	-0.505	0.140	12.933	0.604	0.459~0.795	< 0.001
IgM	-0.265	0.161	2.730	0.767	0.560~1.051	0.098
HPV16/18	0.974	0.437	4.955	2.648	1.123~6.242	0.026

表 6 所建立模型在不同概率下对 CIN 患者 ALA-PDT 治疗无效的预测效果

概率	准确度 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	假阳性 (%)	假阴性 (%)	约登指数
0.95	87.6	94.6	80.5	19.5	5.4	75.1
0.90	87.9	93.0	82.7	17.3	7.0	75.7
0.85	86.9	89.7	84.1	15.9	10.3	73.8
0.80	86.7	87.4	86.0	14.0	12.6	73.4
0.75	86.5	85.9	87.2	12.8	14.1	73.0
0.70	86.3	83.4	89.2	10.8	16.6	72.6
0.65	85.3	81.0	89.6	10.4	19.0	70.6
0.60	83.2	75.1	91.2	8.8	24.9	66.3
0.55	80.4	68.1	92.8	7.2	31.9	60.9
0.50	77.0	60.6	93.3	6.7	39.4	53.9
0.45	75.1	56.3	93.9	6.1	43.7	50.2
0.40	71.4	48.8	94.0	6.0	51.2	42.7
0.35	71.1	47.8	94.5	5.5	52.2	42.3
0.30	68.6	42.2	94.9	5.1	57.8	37.1
0.25	67.6	39.6	95.6	4.4	60.4	35.2
0.20	67.1	38.5	95.7	4.3	61.5	34.3
0.15	65.3	33.3	97.2	2.8	66.7	30.6
0.10	57.4	15.1	99.7	0.3	84.9	14.8
0.05	50.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0

表 7 10 折交叉验证预测模型的稳定性 (%)

概率	准确度	灵敏度	特异度	假阳性	假阴性
训练集	87.9	82.7	93.0	7.0	17.3
验证集	87.8	82.4	93.2	6.8	17.6

表 8 HPV16/18 阳性和阴性情况下 CIN 患者阴道黏膜免疫功能与疗效的交互关系 [例 (%)]

指标	HPV16/18阳性		HPV16/18阴性		P值交互
	无效	有效	无效	有效	
CD3 ⁺ T (%)					0.265
≤ 52.43	15 (71.43)	15 (40.54)	8 (80.00)	24 (42.86)	
> 52.43	6 (28.57)	22 (59.46)	2 (20.00)	32 (57.14)	
CD4 ⁺ T (%)					0.004
≤ 35.26	16 (76.19)	13 (35.14)	7 (70.00)	26 (46.43)	
> 35.26	5 (23.81)	24 (64.86)	3 (30.00)	30 (53.57)	
CD8 ⁺ T (%)					0.743
≤ 28.21	6 (28.57)	25 (67.57)	2 (20.00)	29 (51.79)	
> 28.21	15 (71.43)	12 (32.43)	8 (80.00)	27 (48.21)	
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T					< 0.001
≤ 1.23	17 (80.95)	11 (29.73)	7 (70.00)	27 (48.21)	
> 1.23	4 (19.05)	26 (70.27)	3 (30.00)	29 (51.79)	
IgA (g/L)					0.420
≤ 1.96	14 (66.67)	13 (35.14)	8 (80.00)	27 (48.21)	
> 1.96	7 (33.33)	24 (64.86)	2 (20.00)	29 (51.79)	
IgG (g/L)					0.847
≤ 11.82	18 (85.71)	15 (40.54)	9 (90.00)	20 (35.71)	
> 11.82	3 (14.29)	22 (59.46)	1 (10.00)	36 (64.29)	
IgM (g/L)					0.175
≤ 1.10	16 (76.19)	15 (40.54)	7 (70.00)	24 (42.86)	
> 1.10	5 (23.81)	22 (59.46)	3 (30.00)	32 (57.14)	

表9 阴道黏膜免疫功能与 HPV16/18 感染对 CIN 临床疗效交互作用的 GMDR 分析

模型	检验样本准确度	置换检验 (P值)	交叉检验一致性
A8	0.6532	7 (0.0732)	6/10
A1/A8	0.6640	8 (0.0526)	7/10
A1/A3/A8	0.6714	9 (0.0113)	7/10
A1/A4/A5/A8	0.6885	10 (0.0010)	9/10
A1/A2/A3/A7/A8	0.7037	10 (0.0010)	10/10
A1/A2/A3/A4/A6/A8 ^a	0.7342	10 (0.0010)	10/10
A1/A2/A3/A4/A5/A7/A8	0.7282	10 (0.0010)	10/10
A1/A2/A3/A4/A5/A6/A7/A8	0.7286	10 (0.0010)	10/10

注: A1、A2、A3、A4、A5、A6、A7、A8 分别代表 CD3⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ T、IgG、IgA、IgM、HPV16/18。^a 为最佳模型

讨 论

CIN常被视为CC的癌前病变。随着宫颈筛查技术的发展, CIN发现率也在逐年增高, 使CC可提前被发现并治疗, 大幅降低了CC发病率^[11-13]。目前, CIN常用治疗包括冷冻、锥切及激光治疗等, 但均具有一定治疗风险和复发率; 有研究证明, PDT治疗CIN效果更好更为可靠, 配合ALA光敏剂涂抹于患者宫颈的病变区域, 破坏病变细胞结构, 加速其凋亡过程^[14]。ALA-PDT疗法不仅通过损害病变部位的组织血管来切断病变细胞的营养来源, 还参与机体免疫应答, 进而协同免疫系统共同清除病变细胞^[15]。但有研究表明, ALA-PDT治疗CIN仍有治疗无效情况^[16-17], 故进一步提高CIN治疗有效率, 探寻ALA-PDT疗效的影响因素尤为重要。

有关CC或CIN患者HPV感染率的研究发现, 超过90%的CC患者均感染高风险HPV, 感染率较高的HPV亚型为HPV33、58、52、16和18, 其中感染HPV16和HPV18型是引发CC和CIN的主要原因, 也是筛查宫颈癌前病变的主要根据^[18]。邓勇^[19]在HPV与CIN相关性分析研究中发现, HPV16/18亚型患者的HPV转阴率低于其他HPV类型。本研究CIN患者接受ALA-PDT治疗3个月后复查发现, HPV16/18感染的CIN患者治疗有效率显著低于非HPV16/18感染者, 提示在CIN治疗过程中应特殊关注HPV16/18感染者, 提供定制化治疗方案。

大多数病原微生物感染主要发生在黏膜表层, 黏膜免疫系统构成了机体抵御病原体的第一道重要屏障。这一局部免疫系统与机体全身系统免疫不同, 其能在感染部位生成分泌型抗体, 有效阻挡病原微生物经由黏膜侵入体内^[20-21]。本研究发现,

IgA水平为CIN患者ALA-PDT治疗无效的独立影响因素, 在阴道分泌物中, IgA主要以二聚体形态存在, 其从浆细胞中被分泌出来后, 会与黏膜上皮细胞所产生的多聚体免疫球蛋白受体通过共价键结合, 形成复合物。这一复合物随后通过内吞作用和胞吐方式被运送到黏膜表层, 并与分泌片结合, 形成分泌型IgA, 存在于外分泌液中。当抗原触发局部免疫应答时, 会分泌出IgA抗体和记忆性IgA细胞。这些成分通过与相应病原微生物结合, 参与黏膜局部免疫反应, 有效阻止病原体附着在细胞表面, 从而在局部发挥抗感染作用^[22]。T淋巴细胞在机体对抗外来病原体的防御机制中占据重要地位。CD3⁺ T淋巴细胞表达水平能够反映机体细胞免疫功能, 而CD4⁺ T淋巴细胞则扮演着调控免疫反应的关键角色, 是免疫系统的核心枢纽。CD8⁺ T淋巴细胞则在免疫反应中直接发挥杀伤作用。CD4⁺/CD8⁺ T可以评估机体的免疫功能平衡状态^[23-24]。本研究结果显示, CD4⁺/CD8⁺ T与ALA-PDT临床疗效独立相关, 可能由于CD4⁺/CD8⁺ T下降, 阴道黏膜细胞的免疫功能会随之减弱。此时, 若外源性病原微生物侵入机体, 或者潜伏在体内的病原菌发生易位, 机体免疫反应将难以迅速启动。这会导致抵抗病原体的能力下降, 清除被病原体感染细胞的能力也会减弱, 从而影响疗效^[25]。

综上, 年龄、CD4⁺/CD8⁺ T、IgA水平及HPV16/18感染均为CIN患者ALA-PDT治疗无效的独立影响因素, 根据以上因素建立的Logistic回归模型可对ALA-PDT疗效进行预测。但本研究尚存在一定局限性, 纳入的样本数据来自同一医疗中心, 结果难免存在偏倚; 研究对象均为中国汉族, 未涉及其他民族、国家的CIN患者, 后续研究还需

进一步扩大样本量;另外,研究缺少除ALA-PDT之外其他治疗方法相关数据,分析深度和广度需进一步提升,可在后续研究中加以改进。

参 考 文 献

- [1] Junya Z, Keyan C, Zhilian W. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia in China: a meta-analysis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2020, 302(6): 1329-1337.
- [2] 李杏, 陈亦乐, 廖木兰, 等. 宫颈上皮内瘤变Ⅲ级子宫全切术后影响人乳头瘤病毒清除相关因素的研究进展[J]. 中国医师杂志, 2020, 22(1): 151-154.
- [3] 刘明月, 韩旭. 高级别宫颈上皮内瘤变治疗及转归预测因素的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(3): 337-342.
- [4] 王贺永, 吴丽丽, 刘鑫, 等. 宫颈癌患者HPV16/18型病毒感染及阴道菌群观察[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(02): 206-209, 215.
- [5] 焦楨, 付娟娟, 王琳. 宫颈上皮内病变患者人乳头状瘤病毒感染与Th17细胞, Treg细胞及相关细胞因子表达的相关性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2019, 13(4): 281-286.
- [6] Zeng H, Liu M, Xiao L, et al. Effectiveness and immune responses of focused ultrasound ablation for cervical intraepithelial neoplasia[J]. Int J Hyperthermia, 2022, 39(1): 539-546.
- [7] 张依喜, 张妍, 陈芳. 阴道、宫颈微生态及局部免疫与子宫颈鳞状上皮内病变的相关性研究进展[J]. 中国临床医生杂志, 2024, 52(5): 522-524.
- [8] 张菲菲, 高广云, 张海燕, 等. 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[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(15): 2854-2859.
- [9] 谢幸主编. 妇产科学[M]. 第9版, 北京: 人民卫生出版社, 2018: 402-403.
- [10] 吕亚奇, 冯国双. 医学研究中常见的样本量估算方法[J]. 慢性病学杂志, 2016, 17(4): 359-361.
- [11] 范丰田, 安百芬, 袁启霞. 子宫颈人乳头瘤病毒感染与宫颈癌的相关性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017, 11(1): 81-84.
- [12] 仲君, 张彭南. 阴道微生态与宫颈HPV感染, 宫颈病变的关系[J]. 现代妇产科进展, 2021, 30(9): 703-705, 709.
- [13] 张冠红, 高丽萍, 黄健妹. 宫颈上皮内瘤变的研究概况及中西医结合治疗探讨[J]. 中国医药导刊, 2021, 23(12): 902-906.
- [14] 高娟, 王霞, 夏亚芳, 等. 光动力治疗宫颈低级别上皮内瘤变的疗效观察[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(23): 106-109.
- [15] 李玉兰, 拓晓娟, 鲁明霞, 等. 艾拉光动力疗法治疗宫颈上皮内瘤变38例分析[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2023, 15(01): 37-40.
- [16] 王喜英, 孟健, 冯育洁, 等. ALA-PDT治疗轻中度宫颈上皮内瘤样病变伴高危型HPV感染临床观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017, 31(9): 975-977.
- [17] 成乐楠, 葛利葱, 卢晓莉, 等. 5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗子宫颈低级别鳞状上皮内病变合并高危型人乳头瘤病毒感染的疗效观察[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(6): 20-24.
- [18] Zhang J, Liu G, Cui X, et al. Human papillomavirus genotypes and the risk factors associated with multicentric intraepithelial lesions of the lower genital tract: a retrospective study[J]. BMC Infectious Diseases, 2021, 21(1): 554-554.
- [19] 邓勇. 人乳头瘤病毒感染与宫颈低级别上皮内瘤变的相关性分析[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(22): 147-148.
- [20] López-Fillooy M, Cortez FJ, Gheit T, et al. Altered vaginal microbiota composition correlates with human papillomavirus and mucosal immune responses in women with symptomatic cervical ectopy[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 884272.
- [21] 吴洪丽, 刘恋, 周柯宁. 腹腔镜下子宫全切术后宫颈残端感染与阴道黏膜免疫功能的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(4): 755-759.
- [22] 侯颖, 李艳梅, 李秀兰, 等. HPV感染与宫颈病变患者免疫调节失衡及细胞异常增殖状态的相关性[J]. 河北医学, 2023, 29(8): 1274-1279.
- [23] 付泉, 王蓉, 陈智慧, 等. 宫颈感染HPV患者相关免疫指标水平的变化及意义[J]. 国际病毒学杂志, 2022, 29(6): 492-495.
- [24] 陈玉晴, 李晓聪, 王波, 等. 免疫系统和阴道微生态在人乳头瘤病毒感染中的作用[J]. 临床检验杂志, 2023, 41(10): 769-773.
- [25] 江海燕, 周燕, 陈晓玲. 人乳头瘤病毒感染患者阴道菌群分布及宫颈局部免疫功能变化的分析[J]. 中国性科学, 2022, 31(4): 83-87.

(收稿日期: 2025-01-08)

(本文编辑: 孙荣华)

华彩凤, 高娟, 夏亚芳, 等. 阴道黏膜免疫与人乳头瘤病毒 16/18 感染对宫颈低级别上皮内瘤变患者艾拉-光动力疗法疗效的影响 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2025, 19(2): 96-103.