

阴道微生物对生殖健康的影响及研究进展

巨秀能, 兰康云, 蒋红梅*

作者单位: 400042 重庆, 中国人民解放军陆军军医大学第三附属医院(野战外科研究所)妇产科

作者简介: 巨秀能, 毕业于中南大学, 本科, 护师, 研究方向为产科临床

* 通讯作者, E-mail: hcjhm@163.com

【关键词】阴道微生物; 菌群; 宿主; 防御反应; 生殖健康

【中图分类号】R 711 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2018)10-022-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2018.10.05

1 阴道微生物群落概述

寄生于阴道中的微生物可以与宿主发生一系列复杂的相互作用, 显著影响阴道的生理机能和免疫功能, 并在抵御机会性病原体的定植过程中发挥“第一道防线”作用^[1]。女性在不同的年龄阶段, 如青春期和更年期, 阴道微生物的组成会发生巨大变化, 从而对女性的生殖健康造成影响。最近的一项研究表明在育龄妇女中阴道微生物群落的组成具有多样性, 分为 5 种主要的阴道菌群, 也称集落类型 (community state type, CST), 其中 4 种 CST 以乳酸杆菌为主, 包括卷曲乳杆菌 (归类为 CST - I)、加氏乳杆菌 (归类为 CST - II)、惰性乳杆菌 (归类为 CST - III) 和简氏乳杆菌 (归类为 CST - V)。而 CST - IV 类主要由严格厌氧菌和兼性厌氧菌等多种微生物混合组成, 包括加德纳菌、阿托波氏菌、动弯杆菌、普雷沃氏菌和其他梭菌^[2]。这些 CST 在不同种族女性中的存在频率不同, CST - IV 在黑人 and 西班牙裔中最为常见 (40%)^[3]。患有细菌性阴道病 (bacterial vaginosis, BV) 女性的阴道缺乏乳酸杆菌, 主要以厌氧菌和严格厌氧菌为主, 与 CST - IV 型类似, 但是伴有阴道分泌物增多、恶臭等临床症状, 并与性传播疾病的感染风险增加有很强的相关性, 甚至包括人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)。而纵向分析的结果表明, 阴道微生物群落具有高度动态性, 特定 CST 类型的持续时间因人而异, 有的女性长期携带一种相对稳定的 CST 类型, 而其他女性可因月经、性行为或其他因素引起多种 CST 类型的转换, 以 CST - IV 型最常见^[4]。

以乳酸杆菌为主的阴道微生物群落与育龄妇女的生殖健康密切相关, 它们可以产生大量乳酸, 使阴道处于 pH < 4.5 的酸性环境, 从而对病原体 and 外来微生物的

感染、定植具有高度保护作用^[5]。乳酸杆菌还可为宿主提供细菌素或细菌素的基因 (如格氏菌素 T、细菌素 IIa 和 IIc 等), 抑制不良微生物生长^[6]。然而, 约 25% 的正常女性阴道中并不存在以乳酸杆菌为主的 CST 类型, 提示乳酸杆菌并非阴道健康的唯一因素, 这可能是由习俗、日常行为、基因及其他因素所致, 但这些正常女性患阴道疾病的风险显著增加^[7]。

2 阴道微生物对生殖道防御能力的影响

既往研究认为, 并非所有乳酸杆菌都会对机体产生益处和保护作用, 一些 CST - III 菌株可能携带有致病因子。例如, CST - III 分泌的胆固醇溶解蛋白可对宿主上皮细胞进行溶解或促进细胞孔形成; 而患有 BV 的妇女阴道中胆固醇溶解蛋白含量上调 6 倍。另外, 干扰素 (interferon, IFN) - γ 可以通过激活人吡啶胺 - 2, 3 - 双加氧酶使色氨酸分解, 最终使衣原体被清除。CST - IV 型菌群中的厌氧菌产生的吡啶类化合物和色氨酸能使衣原体有效避开宿主的防御机制, 导致长期感染^[8]。因此, 考察阴道微生物对宿主防御功能和生殖健康的影响应将其置于动态的、个性化的条件下进行评估。

阴道内有许多免疫相关细胞和受体, 如模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR)、toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 和 dectin - 1 受体等, 可以对微生物的基本序列进行识别, 以实现寄生和致病微生物的监测和感知^[9]。由微生物刺激产生的 PRR 可启动细胞因子/趋化因子的信号级联反应, 产生大量的白细胞介素 (interleukin, IL) - 1β 、IL - 6、IL - 8 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) - α 等因子, 进一步招募或激活 NK 细胞、巨噬细胞、CD 4 (cluster of differentiation

type 4)⁺T 细胞、CD 8⁺T 细胞和 B 淋巴细胞等免疫细胞^[10]。而阴道内免疫相关受体的基因变异则会对女性感染病原微生物的免疫应答及妊娠过程产生不同的影响。携带 CST - IV 型菌群的女性阴道中 IL - 1 α 、IL - 1 β 、TNF - α 、IFN - γ 、IL - 4、IL - 8 和 IL - 10 等细胞因子的含量较 CST - I 型显著增加;携带 CST - III 型菌群的女性阴道 IFN - γ 和 IL - 8 含量也较 CST - I 型明显升高^[7]。

纵向研究表明,女性阴道菌群从 CST - I 型转换为 CST - III 或 CST - IV 型的过程中,IL - 1 α 、IL - 1 β 和 TNF - α 显著升高。在 CST - I 和 CST - V 构成的阴道上皮模型中,并未观测到 IL - 1 β 或 IL - 8 的分泌增多,向该模型中加入 TLR 的激动剂可以出现炎症抑制反应^[11]。这些研究提示:阴道的天然免疫主要由菌群的类型主导,CST - IV 型可能比 CST - I 或 CST - II 型产生更加明显的促炎症反应,而 CST - III 型则会触发中间型反应。

阴道免疫防御的其他因子还包括甘露糖结合凝集素(mannose binding lectin, MBL),阴道抗菌肽(vaginal antimicrobial peptide, AMP)、免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 和 IgG 等。MBL 可以结合微生物细胞表面的甘露糖、N - 乙酰葡糖胺和岩藻糖碳水化合物部分,导致微生物细胞的裂解或被免疫系统靶向清除。IgA 和 IgG 有助于防止微生物被阴道上皮细胞的黏附和吸收,可中和并清除阴道内的病原体微生物。女性 AMP 的种类很多,它们可以通过趋化因子或抗内毒素活性募集免疫细胞,但具体作用机制及其与阴道菌群间的相互作用尚需要进一步研究^[12]。目前研究发现,防御素是一种带正电荷的双亲性 AMP,可通过不同的作用机制对阴道的多种病原体进行防御,包括细菌、HIV、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV) 和人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)。体外研究表明,CST - III、CST - IV 和双歧杆菌的定植可诱导人类 β - 防御素(human beta - defensins, HBD) - 2 的表达增加,CST - V 还可以激活 HBD - 2 的转录活性,CST - IV 则不能^[13]。人体分泌的多种防御素均可与病毒表面特异性的蛋白结合,从而防止病毒附着在宿主细胞的表面。除防御素外,阴道内还存在其他 AMP,包括白细胞蛋白酶抑制剂(secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI)、人附睾蛋白 4 (human epididymis protein 4, HE 4)、LL - 37 和表面活性蛋白(surfactant protein, SP) A 和 SP - D。SLPI 表达与导致 BV 菌群感染相关,但与 CST - I、CST - III 和阿托波菌等的感染无相关性^[14]。HE 4 与阴道加德纳菌感染有关,而 LL - 37 可使淋病奈瑟氏球菌失活,对利什曼原虫无影响,对 CST - III 的影响较小。由于乳杆菌可在阴道内定植,机体对其可能并不产生 AMP^[15]。SP - A 和 SP - D 还可以通过病毒蛋白 gp 120 和人类 CD 4 结合而抑制 HIV 病毒;SP - A 还可以促进 gp 120 与树突状细胞结

合,进而加速对 HIV 的清除^[16]。总体来讲,微生物、阴道环境、机体免疫调节和基因表达之间存在复杂的相互作用,共同调控阴道环境的稳态。

3 阴道微生物与炎症反应

阴道菌群为 CST - IV 型的女性可以表现为需氧菌性阴道炎(aerobic vaginitis, AV)或 BV,两种炎症均可引起阴道的免疫应答,症状均为瘙痒或灼烧;其主要区别在于 AV 的炎症主要由 B 链链球菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肠球菌引起,阴道局部的 IL - 6 和 IL - 1 增多,并可以查见白细胞或血细胞^[17]。而 BV 则往往表现为中性粒细胞的聚集、粘膜发红,且病情与 IL - 1 β 、IL - 2、IL - 4、IL - 6、IL - 10、IL - 12、TNF - α 、IFN - γ 和 SLPI 等免疫 - 炎症因子的表达并无明确相关性^[18]。但由于研究设计、BV 的诊断标准、不同个体免疫相关基因的变异或者机体自发性的抑炎反应,也有报道认为 IL - 1 β 、IL - 8、TNF - α 、C - C 类趋化因子配体(chemokine C - C motif ligand, CCL)5 和 IL - 1RA 等细胞因子在菌群类型为 CST - III 和 CST - IV 的阴道中显著增加^[19]。

BV 发生相关的单一菌种也可以引发体外免疫应答,如阴道阿托波氏菌可诱导趋化因子 CCL 20、HBD - 2 和 IL - 1 β 的表达升高;阴道加德纳菌可诱导 IL - 6 和 IL - 8 转录;惰性乳酸杆菌可刺激 PRR 的信号传导,但并不上调下游的炎症因子 IL - 6、IL - 8 或粘蛋白的表达^[20]。有些 BV 的患者阴道环境中的短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs),即乙酸、丁酸、丙酸酯和琥珀酸酯的检出率较高。体外研究认为 SCFAs 可能会抑制 BV 中细菌的趋化性和炎症反应,也可能促发炎症反应。较高浓度的乙酸和丁酸酯可诱导 IL - 6、IL - 8、IL - 1 β 和 TNF - α 等炎症因子的分泌,其中 IL - 8 和 TNF - α 与 TLR 2 和 TLR 7 配体呈剂量 - 时间双重依赖性关系^[21-22]。然而,BV 的致病机制目前尚不完全明确,且缺乏必要的纵向研究,所以机体对 BV 相关微生物的免疫应答和炎症反应还有待深入研究。

4 乳酸与生殖道免疫

阴道内的乳酸主要由寄居的微生物产生,可以酸化阴道环境,有助于保护阴道免受大多数病原体的感染,维持生殖道的健康状况。例如,乳酸可直接抑制沙眼衣原体感染和多数 BV 相关的微生物活性(pH < 4.5)^[23]。当 pH < 4 时甚至可以抑制 HSV - 2 和 HIV 的活性^[24]。此外,最近的研究还显示乳酸能够直接影响宿主生殖道的免疫功能。例如,乳酸可直接抑制 IL - 6、IL - 8 和 IL - 1RA 等促炎因子的产生,可通过 IL - 23 诱导 Th 17 淋巴细胞途径,以剂量依赖的方式促进脂多糖的产生;也可增加阴道上皮细胞释放细胞因子,协同促进转化生长因子 - β 释放以激活抗病毒反应^[25]。

发挥生殖道保护作用的乳酸主要由阴道微生物产

生,宿主细胞的乳酸产量仅占乳酸总量的4%~30%,主要分为D(-)型和L(+)型两种异构体。不同的乳酸异构体在生殖道健康和免疫反应中发挥不同的作用。上皮细胞脱落后,其糖原分解,有利于乳杆菌属的生长和D(-)型乳酸的积累。D(-)型乳酸异构体与 α -淀粉酶、SLPI、透明质酸酶和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-8等功能蛋白的体外表达相关^[14]。患有BV的女性缺乏这两种乳酸异构体,而生殖道念珠菌感染患者则含有较高水平的L(+)型乳酸,并伴有CD147和MMP-8的高表达^[26]。CST-III型菌群不能产生D(-)型乳酸,并且其产生的L(+)型乳酸含量较CST-I和CST-III型菌群更低,CST-V则只能产生D(-)型乳酸^[27]。这提示生殖道微生物种群的特异性,特别是其产生D(-)型乳酸的能力对于抑制病原体 and 炎症反应具有重要影响。

5 阴道微生物对生殖道黏膜的影响

生殖道黏膜是将宿主生殖道内环境与有害病原体进行物理分隔的天然屏障,发挥着极其重要的生理功能,阴道内的微生物则可以影响其完整性^[28]。BV相关的菌种(如加德纳菌)可分泌唾液酸酶,水解黏膜上的唾液糖蛋白,并逃避宿主的免疫攻击;还可以产生阴道溶血素,溶解阴道上皮细胞并形成小孔,加重BV的临床症状;在妊娠女性仍存在这样的反应。相反,有些类型的阴道菌群可以增强生殖道黏膜屏障的完整性。最近的一项研究显示,阴道CST-I型群落能够增强宫颈和阴道黏液的屏障作用,阻止HIV的扩散和渗透;而CST-III型群落则可促进HIV透过宫颈黏液屏障^[29]。因此,生殖道中微生物的群落组成与保护性黏液层的完整性密切相关,不同的菌群可显著改变生殖道黏膜对HIV等感染因素的易感性。

6 阴道微生物对妊娠的影响

阴道微生物与其他因素共同作用,可能导致一些不利于生殖健康的后果。有分析显示,在输卵管因素的不孕患者中,阴道微生物呈BV样的结果较为普遍,但菌群类型与妊娠率并无直接关系^[22]。研究发现,早产和足月分娩的启动均可能与阴道微生物组成的变化(加德纳菌和解脲支原体增多)有关,BV与非BV的妇女妊娠的孕龄存在着显著差异^[30]。然而这仍需要大量的数据验证,因为种族差异、生殖道微生物的检查和分析方法都可能影响研究结果。

母体炎症反应相关基因(如蛋白激酶C、酪氨酸激酶1、IL-6和TNF- α 等)的多态性与生殖道菌群之间的相互作用也对妊娠过程和生殖健康存在重要影响。例如,CST-IV群落可以促发相关的炎症因子和抗菌肽,侵入宫颈或羊膜腔,并引发一系列的促炎级联反应,最终可能导致早产的发生^[12]。有研究观察到阴道感染

B组链球菌的妊娠恒河猴在出现宫缩或任何感染的迹象之前,羊水水中的TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等细胞因子的含量已经明显增加^[31],提示该菌感染对早产可能具有直接作用。

生殖道感染BV相关的沙眼衣原体、淋病纳瑟菌等病原体,可以表达特定的AMP,从而触发免疫应答的信号通路和级联反应,最终导致流产、早产、宫内感染、输卵管异位妊娠等不良妊娠结局。例如,沙眼衣原体可以穿过子宫颈感染内生殖器,导致输卵管的瘢痕形成、不孕、异位妊娠和慢性盆腔疼痛^[32]。在妊娠期,真菌感染则可诱导胎盘中的IL-6分泌,导致NF- κ B增加和炎症反应^[33]。但阴道微生物对生殖健康影响的具体机制还需进一步探究。

7 总结与展望

女性生殖道是一个处于动态变化中的环境体系,微生物的组成及其生理特性可以影响宿主的防御能力和免疫功能。育龄女性阴道微生物主要由5种不同的群落类型组成,其中4种以乳杆菌为主,而另一种以厌氧菌为主。生殖道微生物的产物(如乳酸、细胞因子等)可防止黏液的降解、抑制病原体活性,对机体产生直接和间接的保护作用,因此,阴道微生物与生育年龄女性的生殖健康息息相关。以非乳酸杆菌主导的微生物群落(如BV、AV患者和CST-IV菌群)与宿主之间存在特殊的免疫-炎症反应,因此还有很多不明确的领域甚至对既往认识的诸多质疑,这些都要求我们对阴道微生物与宿主防御功能、阴道局部环境与生殖健康之间的相互作用进行更加深入的研究。

【参考文献】

- [1] CONLON M A, BIRD A R. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health [J]. *Nutrients*, 2015, 7 (1): 17-44.
- [2] GAJER P, BROTMAN R M, BAI Guo-yun, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota [J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4 (132): 132-152.
- [3] RAVEL J, GAJER P, ABDO Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (1): 4680-4687.
- [4] RAVEL J, BROTMAN R M, GAJER P, et al. Daily temporal dynamics of vaginal microbiota before, during and after episodes of bacterial vaginosis [J]. *Microbiome*, 2013, 1 (1): 29.
- [5] PETROVA M I, LIEVENS E, MALIK S, et al. Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health [J]. *Frontiers in Physiology*, 2015, 6 (3): 81.
- [6] STOYANCHEVA G, MARZOTTO M, DELLAGLIO F A. Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal Lactobacillus strains [J]. *Archives of Microbiology*, 2014, 196 (9): 645-653.
- [7] ANAHTAR M N, BYME E H, DOHERTY K E, et al. Cervicovaginal bacteria are a major modulator of host inflammatory

- responses in the female genital tract [J]. *Immunity*, 2015, 42 (5): 965–976.
- [8] AIYAR A, QUAYLE A J, BUCKNER L R, et al. Influence of the tryptophan – indole – IFN gamma axis on human genital Chlamydia trachomatis infection; role of vaginal co – infections [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014, 4 (7): 72.
- [9] USLUOGULLARI B, GUMUS I, GUNDUZ E, et al. The role of human Dectin – 1 Y238X gene polymorphism in recurrent vulvovaginal candidiasis infections [J]. *Molecular Biology Reports*, 2014, 41 (10): 6763–6768.
- [10] BROTMAN R M, RAVEL J, BAVOIL P M, et al. Microbiome, sex hormones, and immune responses in the reproductive tract: challenges for vaccine development against sexually transmitted infections [J]. *Vaccine*, 2014, 32 (14): 1543–1552.
- [11] ROSE I W, MCGOWIN C L, SPAGNUOLO R A, et al. Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures [J]. *PLOS One*, 2012, 7 (3): e32728.
- [12] YARBROUGH V L, WINKLE S, HERBST – KRALOVETZ M M. Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications [J]. *Human Reproduction Update*, 2015, 21 (3): 353–377.
- [13] DOERFLINGER S Y, THROOP A L, HERBST – KRALOVETZ M M. Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species – specific manner [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2014, 209 (12): 1989–1999.
- [14] NASIOUDIS D, BEGHINI J, BONGIOVANNI A M, et al. Amylase in vaginal fluid: association with conditions favorable to dominance of lactobacillus [J]. *Reproductive Sciences*, 2015, 22 (11): 1393–1398.
- [15] MONCLA B J, CHAPPELL C, DEBO B M, et al. The effects of hormones and vaginal microflora on the content of MUC1, MUC4, MUC5AC and MUC7 in the cervicovaginal fluid (CVF) [J]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2014, 30 (1): A29.
- [16] PANDIT H, GOPAL S, SONAWANI A, et al. Surfactant protein D inhibits HIV – 1 infection of target cells via interference with gp120 – CD4 interaction and modulates pro – inflammatory cytokine production [J]. *PLOS One*, 2014, 9 (7): e102395.
- [17] DONDERS G G. Definition and classification of abnormal vaginal flora [J]. *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2007, 21 (3): 355–373.
- [18] MITCHELL C, MARRAZZO J. Bacterial vaginosis and the cervicovaginal immune response [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2014, 71 (6, SI): 555–563.
- [19] WITKIN S S, LINHARES I M, GIRALDO P. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation [J]. *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2007, 21(3): 347–354.
- [20] PYLES R B, VINCENT K L, BAUM M M, et al. Cultivated vaginal microbiomes alter HIV – 1 infection and antiretroviral efficacy in colonized epithelial multilayer cultures [J]. *PLOS One*, 2014, 9 (3): e93419.
- [21] MIRMONSEF P, ZARIFARD M R, GILBERT D A, et al. Short – chain fatty acids induce pro – inflammatory cytokine production alone and in combination with Toll – Like receptor ligands [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2012, 67 (5): 391–400.
- [22] OHANLON D E, THOMAS R M, RICHARD A Cone. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota [J]. *PLOS One*, 2013, 8 (11): e80074.
- [23] GONG Z, LUNA Y, YU P, et al. Lactobacilli inactivate chlamydia trachomatis through lactic acid but not H₂O₂ [J]. *PLOS One*, 2014, 9 (9): e107758 – e107758.
- [24] ISAACS C E, XU Wei – min. Theaflavin – 3,3 – Digallate and lactic acid combinations reduce herpes simplex virus infectivity [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57 (8): 3806–3814.
- [25] HEARPS A, GUGASYAN R, SRBINOVSKI D, et al. Lactic acid, a vaginal microbiota metabolite, elicits an anti – inflammatory response from vaginal and cervical epithelial cells [J]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2014, 30 (1): A238 – A239.
- [26] BEGHINI J, LINHARES I M, GIRALDO P C, et al. Differential expression of lactic acid isomers, extracellular matrix metalloproteinase inducer, and matrix metalloproteinase – 8 in vaginal fluid from women with vaginal disorders [J]. *BJOG – An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2015, 122 (12): 1580–1585.
- [27] WITKIN S S I, MENDES – SOARES H, LINHARES I M, et al. Influence of vaginal bacteria and D – and L – lactic acid isomers on vaginal extracellular matrix metalloproteinase inducer: implications for protection against upper genital tract infections [J]. *MBio*, 2013, 4 (4): e00460–13.
- [28] ARNOLD K, BIRSE K, MCKINNON L, et al. Mucosal integrity factors are perturbed during bacterial vaginosis: a proteomic analysis [J]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2014, 30 (1): A30.
- [29] NUNN K, WANG Ying – ying, HARIT D, et al. Influence of vaginal microbiota on the diffusional barrier properties of cervicovaginal mucus [J]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2014, 30 (1): A234.
- [30] ROMERO R, HASSAN S S, GAJER P, et al. The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term [J]. *Microbiome*, 2014, 2 (1): 18.
- [31] GRAVETT M G, WITKIN S S, HALUSKA G J, et al. An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkeys [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1994, 171 (6): 1660–1667.
- [32] HAFNER L M. Pathogenesis of fallopian tube damage caused by Chlamydia trachomatis infections [J]. *Contraception*, 2015, 92 (2): 108–115.
- [33] TYUTYUNNIK V L, KAN N – e, LOMOVA N A, et al. Role of innate immunity in pregnant patients with vulvovaginal infections in the development of intrauterine infection in the newborn [J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, 158 (1): 74–76.