

# 孕妇阴道微生物群与维生素D水平相关性的研究进展

侯晨阳<sup>1</sup>, 张利侠<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>西安医学院, 陕西 西安

<sup>2</sup>陕西省人民医院检验科, 陕西 西安

收稿日期: 2022年9月16日; 录用日期: 2022年10月5日; 发布日期: 2022年10月13日

## 摘要

妊娠期细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)是由于孕妇妊娠期生理状态及阴道内微环境改变而导致的阴道正常菌群失调。妊娠期妇女阴道微生物群失调将可能进一步引起宫内、胎儿感染以及各种不良妊娠结局。近年来有研究表明维生素D会影响生殖系统炎症及免疫调节的许多方面; 这些发现引导出维生素D缺乏可能与妊娠期BV存在关联, 并且提出不同维生素D状态可能改变阴道菌群这样的假设。如果能发现维生素D与阴道微生物群间存在联系, 便有可能通过补充维生素D改善BV孕妇症状。现就维生素D与阴道微生物群的相关性研究进展进行综述。

## 关键词

25-羟维生素D, 孕妇, 细菌性阴道病, 阴道菌群

# Research Progress on the Correlation between Vaginal Microbiota and Vitamin D Level in Pregnant Women

Chenyang Hou<sup>1</sup>, Lixia Zhang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

<sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Sep. 16<sup>th</sup>, 2022; accepted: Oct. 5<sup>th</sup>, 2022; published: Oct. 13<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Bacterial vaginosis (BV) during pregnancy is a disorder of normal vaginal flora caused by changes**

\*通讯作者。

文章引用: 侯晨阳, 张利侠. 孕妇阴道微生物群与维生素D水平相关性的研究进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(10): 9081-9085. DOI: 10.12677/acm.2022.12101313

in the physiological state of pregnant women and vaginal microenvironment. The imbalance of vaginal microflora in pregnant women will further lead to intrauterine and fetal infections and various adverse pregnancy outcomes. In recent years, studies have shown that vitamin D can affect many aspects of inflammation and immune regulation of the reproductive system. These findings lead to the hypothesis that vitamin D deficiency may be associated with BV during pregnancy and that different vitamin D status may alter the vaginal flora. If the relationship between vitamin D and vaginal microflora can be found, it is possible to improve the symptoms of BV pregnant women by vitamin D supplementation. This article reviews the research progress of the correlation between vitamin D and vaginal microbiota.

## Keywords

25-Hydroxyvitamin D, Pregnant Women, Bacterial Vaginosis, Vaginal Microbiota

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

阴道微生态菌群(vaginal microbiota, VMB)平衡[1]的维持依赖阴道正常解剖结构、雌激素水平、乳酸杆菌生长和代谢以及阴道局部免疫的共同作用。当 VMB 平衡遭到破坏后,就有可能发生各种病原体的感染及其他疾病。以往关于人类 VMB 的研究大多集中在健康无症状育龄妇女的微生物群上,而妊娠期雌孕激素水平及阴道局部黏膜免疫功能变化[2]是宿主 VMB 改变的高危时期。妊娠期细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)是与 VMB 异常变化相关的最常见的妊娠期阴道疾病之一。全世界孕妇的 BV 患病率[3]从 3.5%到 50%以上不等。维生素 D 作为一类特殊的类固醇激素,其可以调节钙、磷代谢、骨骼健康;当维生素 D 的活性形式在与维生素 D 受体结合后,可增强黏膜屏障、增强固有免疫[4]、抑制过度适应性免疫应答、抗感染等作用,从而间接影响到阴道菌群的结构。在我们既往的研究中发现孕妇血清中维生素 D 降低将增加妊娠期 BV 的发生风险。孕妇普遍存在维生素 D 缺乏,易引起 VMB 失调进而引起早产[5]、胎膜早破[6]等不良妊娠结局。因此,本文综述了孕妇血清总 25-羟维生素 D 水平与阴道菌群构成之间的相关性。

## 2. 研究进展

### 2.1. 阴道微生态菌群

#### 2.1.1. 正常阴道微生态菌群分布特征

人类微生物组计划[7]对口腔、鼻腔、胃肠道、阴道以及皮肤微生物菌群结构研究。阴道因为其特殊的解剖位置、激素变化、及各类乳酸杆菌的存在, VMB 也有其独特的分布特征。阴道菌群相对于其他四个部位  $\alpha$  多样性最低,属水平的  $\beta$  多样性相当低,但由于存在不同的乳杆菌属, OTU 中的  $\beta$  多样性非常高。女性阴道的不同种类的需氧菌、厌氧菌及兼性厌氧菌构成的 VMB 维持动态平衡。正常 VMB [8] 1 或 2 种乳杆菌为优势菌,其中卷曲、加式、惰性及詹氏乳杆菌作为优势乳杆菌较为常见。阴道内小部分 VMB 可由大量厌氧菌构成,包括普雷沃菌属、阴道加德纳尔菌、巨球菌属、纤毛菌属等。其他阴道优势菌构成为葡萄球菌、肠球菌、消化性球菌、韦荣球菌、链球菌;棒杆菌、类杆菌、双歧杆菌;支原体及真菌属等也可存在。Ravel 等[9]根据 VMB 的群落状态类型(community state type, GST),将 VMB 分为 5

型: CST I 型以卷曲乳杆菌优势菌群; CST II 型以加式乳杆菌优势菌群; CST III 型以惰性乳杆菌优势菌群; CST IV 型以厌氧菌为优势菌群, 乳杆菌含量无或低(其中 IV A 以厌氧球菌属, 普雷沃菌属等为主, IV B 以阴道阿托波氏菌和巨型球菌属为主); CST V 型以詹氏乳杆菌为优势菌群。阴道乳杆菌可以通过与阴道内的其他菌种竞争上皮细胞受体和营养成分、分泌乳酸等多种机制来维持 VMB 平衡, 从而免受其他微生物入侵。

### 2.1.2. 妊娠期阴道微生物生态菌群及细菌性阴道炎

阴道菌群的组成可受到种族、地理位置、年龄、外界刺激、激素水平、使用药物、温度、湿度等多种因素的影响。怀孕期间因缺乏激素水平波动, 无月经, 无性行为, 孕妇 VMB 的多样性和丰富性降低。与未孕妇女相比[10], 孕妇 VMB 中厌氧菌属的数量减少, 4 种乳杆菌属的数量增加。随着妊娠进展, 雌激素水平不断升高, 阴道内糖原堆积, 阴道微环境稳态打破, 可引起其他病原体的滋生及繁殖; 此外, 由于孕妇的阴道上皮细胞通透性升高, 阴道黏膜充血水肿, 从而导致阴道黏膜屏障功能减低[11], 容易引起 VMB 紊乱; 另一方面, 妊娠期免疫功能的变化也可引起 VMB 紊乱从而使孕妇易患 BV。BV 的特征是乳酸杆菌被耗尽并被多种微生物厌氧菌取代, 其中包括阴道加德纳菌、阴道异位菌、普氏菌属、巨型球菌等。全世界孕妇的 BV 患病率从 3.5% 到 50% 以上不等。虽然 BV 经常无症状, 但这种失调状态与其他临床症状显著相关, 例如性传播感染、早产、早期和晚期流产、反复流产、绒毛膜羊膜炎以及产后子宫内膜炎等。

### 2.1.3. 阴道菌群的研究方法

VMB 研究的关键在于阴道菌群结构的分析, 但临床现阶段对阴道菌群的认识很大程度上基于传统的分泌物染色涂片及生化鉴定、分泌物培养等方法[11]。然而阴道内大多数细菌是厌氧菌, 对营养要求苛刻, 在一般的实验室中很难培养。近年来的研究已在传统培养方法的基础上证实妊娠晚期 VMB 变化与母婴感染等结局相关, 但对于妊娠晚期 VMB 改变与不良妊娠结局的相关性研究尚不成熟。如今, 分子生物学化学的飞速发展, 非培养的方法在 VMB 的研究中逐渐受到重视; 第二代高通量测序技术[12]得以在临床中应用, 对了解妊娠晚期 VMB 变化及其对母婴结局影响提供了新方向。

阴道微生物生态评价的内容[13]包括阴道菌群密度、阴道菌群多样性、阴道优势菌群、致病菌等形态学方面; 以及阴道 pH 值、唾液酸酶、白细胞酯酶等生化指标。可通过单纯分泌物涂片、革兰染色及相关仪器试剂检测阴道菌群, 并可对 VMB 进行初步研究。

随着分子生物学技术的进步, 与宏基因组学相关的二代高通量测序技术得到迅速的发展, 并使 VMB 得以深入研究。宏基因组学的研究方向有两个: 扩增子的测序及全基因组测序。宏基因组学是以标本中微生物基因作为研究对象, 以筛选功能基因以及测序为研究方法, 以微生物的多样性、物种组成及差异、基因功能预测、与环境之间的关系及代谢通路等为研究目的的非传统微生物组学研究。近年来, 基于高通量技术的 16S rRNA 扩增子测序在阴道菌群研究中逐渐被应用。16S rDNA 在所有细菌的基因组中均存在, 其长约 1550 bp, 且作为编码原核生物 16S rRNA 的基因, 由保守区和可变区交错排列组成, 其可变区(V1~V9)具有种属特异性。研究表明, 选择扩增某几个高变区扩增且测序 16S rDNA 基因片段(400~600 个碱基), 所得的结果与现有的参考数据库作比对, 可初步估计样本中微生物的多样性, 以达到对细菌的鉴定和分类。在对人体菌群的研究中, 可变区选择以 V3 和 V4 区居多。高通量测序所得到的序列在经过了基因序列数据库的拼接、质控、比对、统计、优化数据、注释后, 可以得到所测序列不同分类水平相关信息, 根据所获得序列之间的相似程度对优质序列进行 OTU 聚类, 然后选取不同 OTU 的代表序列与现有的数据库进行对比, 之后进行 OTU 种属分类及丰度统计, 并同通过生物信息学分析软件检测平台进行物种组成分析,  $\alpha$  多样性分析,  $\beta$  多样性分析, 最终即可获得标本中菌群的物种组成、物种多样性和物

种丰度等信息, 并通过已有的数据库进行基因预测、功能注释、代谢通路等相关信息。高通量测序平台可以同时测序对几百万条 DNA 分子, 且具有快速准确、全面、高通量、低成本等优点。16S rDNA 高通量测序可以检测到的微生物种类包括细菌、真菌、古菌、病毒、原核生物; 且对于低丰度的细菌以及痕量细菌均敏感, 因此获得的菌群组成信息[13]会更加全面准确。

## 2.2. 维生素 D 与免疫及感染

维生素 D 的来源由两个方面, 内源性来源为的植物中的麦角固醇转化, 外源性来源为人体皮肤中的 7-脱氢胆固醇在紫外线的照射后形成。25(OH)D 循环半衰期为 2~3 周, 并反映了饮食和内源性来源, 且其水平基本不受妊娠影响, 被认为是反映维生素 D 状态的最有用指标[14]。中国疾病预防控制中心 2010~2012 年对孕妇营养状况调查表明农村[15]孕妇维生素 D 缺乏率为 75.38%; 城市[16]孕妇维生素 D 缺乏率为 74.3%。一项针对全球 17 个地区的妊娠期及哺乳期妇女研究[17]表明, 欧洲国家孕妇维生素 D 缺乏率为 30%~50%, 德国缺乏比例高达 77%, 非洲国家维生素 D 水平最低(1%), 亚洲孕妇维生素 D 不足的患病率非常高(69%~90%)。孕妇 25(OH)D 缺乏已经成为全球范围内普遍存在的现象[18]。最近研究表明维生素 D 不仅具有调节钙和磷酸盐稳态的经典作用, 同时具有非骨骼作用[19], 如减少氧化应激、抗菌防御、免疫调节、抗炎作用[20]等。维生素 D 缺乏与广泛的免疫疾病和慢性感染有关。维生素 D 可通过其受体(VDR)及其活化形式 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 来介导免疫及感染过程。由于几乎在所有细胞类型中都发现了 VDR, 它可作用于各种细胞, 通过诱导抗菌肽(如导管素、 $\beta$ -防御素)和自噬来促进抗菌防御。1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 桥接先天免疫和适应性免疫[21], 还作用于骨髓树突状细胞, 以促进耐受性抗原呈递细胞表型。

## 2.3. 维生素 D 与阴道菌群相关性

引起阴道微生态菌群失衡的原因尚不清楚, 目前推测其与孕妇生殖道免疫能力的降低密不可分, 而 VD 与机体免疫功能有关。国内杜亚琴[22]的研究也发现孕妇体内 25(OH)D 水平与 BV 发生之间呈负相关。国外 Bodnar 等[23]人的横断面分析显示, 25(OH)D 与妊娠早期 BV 患病率之间存在剂量反应关联, 随着维生素 D 状态改善到充足的水平[25(OH)D = 80 nmol/L (32 ng/mL)]时, BV 的可能性降低; 超过该水平时, 患病率达到稳定水平。美国 Kimberly K 等[11]人发现 25(OH)D < 30 ng/mL 的孕妇相比, 取样时 25(OH)D > 40 ng/mL 的女性阴道微生物组的乳酸菌含量更高。

鉴于原核生物没有 VDR, 关于维生素 D/VDR 轴对微生物群影响的相关研究内容较为缺乏。因此, 维生素 D 状态对阴道微生物群的影响很可能是宿主反应的间接结果[10]。维生素 D 可通过 VDR 促进阴道上皮细胞的生长、分化及功能, 增加阴道的厚度以防止其萎缩和改善屏障功能。其次, 充足的维生素 D 可能会影响阴道微环境[24], 通过维持和加强阴道上皮细胞, 通过诱导抗菌肽的表达; 以及通过诱导胰岛素合成并使糖原合成酶失活, 进而刺激糖原合成, 这种糖原作为乳酸菌的底物, 并通过产生乳酸帮助降低 pH 值, 支持有益菌群繁殖及生长。第三, 维生素 D 可通过对生殖系统免疫功能的影响来调节 BV 相关细菌的丰度。阴道内免疫细胞(树突状细胞、巨噬细胞以及 T 和 B 淋巴细胞)均表达 VDR, 且能够通过独立的调节途径合成 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 以影响阴道菌群及多种促炎剂、脂多糖和细胞因子(IL-1、IL-6、IL-12 和 TNF- $\alpha$ )。因此 25(OH)D 缺乏可能为阴道微生态菌群失调的环境触发因素。

## 3. 总结及展望

综上所述, 可通过设计前瞻性的研究, 采用 16S rDNA 高通量测序结合传统微生物涂片及培养的方法分析孕妇阴道微生态菌群与维生素 D 水平的相关性; 进而通过双盲随机对照临床实验, 来评估补充维生素 D 对孕妇阴道菌群及更多围产期不良结果的影响。妊娠期阴道微生态菌群的组成及其与维生素 D 的相互作用机制; 补充维生素 D 对于改善阴道菌群的临床应用价值仍有待深入研究。

## 参考文献

- [1] 马薇, 金措. 女性一生不同阶段阴道微生物群落特征研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 32(8): 817-820.
- [2] Saraf, V.S., Sheikh, S.A., Ahmad, A., *et al.* (2021) Vaginal Microbiome: Normalcy vs Dysbiosis. *Archives of Microbiology*, **203**, 3793-3802. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02414-3>
- [3] 细菌性阴道病诊治指南(2021 修订版) [J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(1): 3-6.
- [4] Charoengam, N. and Holick, M.F. (2020) Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease. *Nutrients*, **12**, E2097. <https://doi.org/10.3390/nu12072097>
- [5] Owens, D.K., *et al.* (2020) Screening for Bacterial Vaginosis in Pregnant Persons to Prevent Preterm Delivery: Recommendation Statement. *American Family Physician*, **102**, 105-109.
- [6] 梅莉. 细菌性阴道病与胎膜早破、早产的相关性及意义[J]. 河北医药, 2020, 42(21): 3311-3313+3317.
- [7] Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. *Nature*, **486**, 207-214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- [8] Gupta, P., Singh, M.P. and Goyal, K. (2020) Diversity of Vaginal Microbiome in Pregnancy: Deciphering the Obscurity. *Frontiers in Public Health*, **8**, Article No. 326. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00326>
- [9] Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., *et al.* (2011) Vaginal Microbiome of Reproductive-Age Women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 4680-4687. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>
- [10] Redelinguys, M.J., Ehlers, M.M., Dreyer, A.W., *et al.* (2016) Normal Flora and Bacterial Vaginosis in Pregnancy: An Overview. *Critical Reviews in Microbiology*, **42**, 352-363.
- [11] Jefferson, K.K., Parikh, H.I., Garcia, E.M., *et al.* (2019) Relationship between Vitamin D Status and the Vaginal Microbiome during Pregnancy. *Journal of Perinatology*, **39**, 824-836. <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0343-8>
- [12] Tvedte, E.S., Michalski, J., Cheng, S., *et al.* (2021) Evaluation of a High-Throughput, Cost-Effective Illumina Library Preparation Kit. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 15925. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94911-0>
- [13] Xu, H., Zhang, X., Yao, W., *et al.* (2019) Characterization of the Vaginal Microbiome during Cytolytic Vaginosis Using High-Throughput Sequencing. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **33**, e22653. <https://doi.org/10.1002/jcla.22653>
- [14] 夏维波, 章振林, 林华, 等. 维生素 D 及其类似物临床应用共识[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2018, 11(1): 1-19.
- [15] 胡貽椿, 李敏, 陈竞, 等. 2010-2012 年中国农村孕妇贫血及维生素 A、维生素 D 营养状况[J]. 卫生研究, 2017, 46(3): 361-366+372.
- [16] 胡貽椿, 陈竞, 李敏, 等. 2010-2012 年中国城市孕妇贫血及维生素 A、维生素 D 营养状况[J]. 中华预防医学杂志, 2017, 51(2): 125-131.
- [17] Palacios, C., Kostiuik, L.K. and Peña-Rosas, J.P. (2019) Vitamin D Supplementation for Women during Pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, **7**, CD008873. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008873.pub4>
- [18] Palacios, C. and Gonzalez, L. (2014) Is Vitamin D Deficiency a Major Global Public Health Problem? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **144**, 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.11.003>
- [19] Gil, Á., Plaza-Diaz, J. and Mesa, M.D. (2018) Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Annals of Nutrition & Metabolism*, **72**, 87-95. <https://doi.org/10.1159/000486536>
- [20] L Bishop, E., Ismailova, A., Dimeloe, S., *et al.* (2021) Vitamin D and Immune Regulation: Antibacterial, Antiviral, Anti-Inflammatory. *JBMR Plus*, **5**, e10405. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10405>
- [21] Miraglia del Giudice, M., Indolfi, C. and Strisciuglio, C. (2018) Vitamin D: Immunomodulatory Aspects. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **52**, S86-S88. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001112>
- [22] 杜亚琴. 孕期血清 25-羟维生素 D 水平与孕妇细菌性阴道病的相关分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(4): 489-492.
- [23] Bodnar, L.M., Krohn, M.A. and Simhan, H.N. (2009) Maternal Vitamin D Deficiency Is Associated with Bacterial Vaginosis in the First Trimester of Pregnancy. *The Journal of Nutrition*, **139**, 1157-1161. <https://doi.org/10.3945/jn.108.103168>
- [24] Jefferson, K.K., Parikh, H.I., Garcia, E.M., *et al.* (2019) Relationship between Vitamin D Status and the Vaginal Microbiome during Pregnancy. *Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association*, **39**, 824-836. <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0343-8>