

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.12.002

❖ 基础研究 ❖

基于 16S rRNA 测序分析高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤前后患者阴道微生态的变化

唐丽萍^{1,2}, 刘晓芳^{1,2}, 黄国华³, 景亚玲^{1,2}, 彭乔^{1,2}, 赵明才⁴, 林芳^{1,2}

(遂宁市中心医院, 1. 产前诊断中心; 2. 生殖医学中心; 3. 妇产科; 4. 检验科, 四川 遂宁 629000)

【摘要】目的: 从菌群总体角度分析和比较高强度聚焦超声(HIFU)治疗子宫肌瘤前后患者阴道微生态的变化, 探讨 HIFU 治疗子宫肌瘤对患者阴道微生态的影响。**方法:** 选取 10 例因单发子宫肌瘤接受 HIFU 治疗的女性入院时的阴道分泌物为对照组, 同时采集 10 例在 HIFU 治疗后 1 个月的阴道分泌物为实验组。提取菌群总基因组 DNA, 扩增 16S rRNA V4 区基因片段后测序, 利用生物信息学分析技术分析 20 例样本的微生物组成及微生物菌群差异。**结果:** 基于菌门级别分类, 文库内所有序列分属 10 大门, 厚壁菌门在两分组文库中的数量都是最多, 其中乳酸杆菌为优势菌属, HIFU 治疗前后阴道菌群结构未见显著差异, 而以个体为特点区分聚类; α 多样性分析表明 HIFU 治疗前后 α 多样性无显著差异 ($P > 0.05$); β 多样性分析表明 HIFU 治疗前后两组生殖道细菌谱有广泛的相似性和重叠性; 对照组与实验组之间物种总数及微生物多样性无显著差异 ($P > 0.05$); ANOSIM 相似性分析展示组间无统计学差异 ($P > 0.05$)。**结论:** HIFU 治疗子宫肌瘤不会破坏患者阴道微生态, 具有较高的安全性及良好的预后, 能有效改善患者生活质量降低并发症发生率, 可成为子宫肌瘤新的重要治疗模式, 值得临床推广与应用。

【关键词】 阴道微生态; 高强度聚焦超声; 子宫肌瘤; 16S rRNA 测序

【中图分类号】 R711.74 **【文献标志码】** A

Changes of the vaginal microbiota before and after high-intensity focused ultrasound treatment for uterine fibroids based on 16S rRNA sequencing

TANG Li-ping^{1,2}, LIU Xiao-fang^{1,2}, HUANG Guo-hua³, JING Ya-ling^{1,2}, PENG Qiao^{1,2}, ZHAO Ming-cai⁴, LIN Fang^{1,2}

(1. Prenatal Diagnosis Center; 2. Reproductive Medicine Center; 3. Gynaecology and Obstetrics; 4. Department of Clinical Laboratory, Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To analyze and compare the changes in vaginal microbiota before and after High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) treatment of uterine fibroids from a microbial community perspective, and to preliminarily elucidate the impact of HIFU treatment on the vaginal microbiota of patients with uterine fibroids. **Methods:** Vaginal secretions were collected from 10 female patients who were admitted to our hospital for solitary uterine fibroids and treated with HIFU, both at the time of admission and 1 month after HIFU treatment. Total microbial genome DNA was extracted, 16S rRNA V4 region gene fragments were amplified and sequenced, and bioinformatics analysis techniques were used to analyze the microbial composition and the differences in microbial communities in 20 samples. **Results:** Based on phylum-level classification, all sequences in the library belonged to 10 phyla, with Firmicutes being the most abundant in both groups, and Lactobacillus was the dominant bacterium. There was no significant difference in the variety of vaginal microbiota before and after HIFU treatment, with clustering distinguished by individual characteristics. α diversity analysis showed that there was no significant difference in alpha diversity before and after HIFU treatment ($P > 0.05$). β diversity analysis showed a wide similarity and overlap in the reproductive tract bacterial spectrum before and after HIFU treatment. There was no significant difference in the total number of species and microbial diversity between the control group and the experimental group ($P > 0.05$). ANOSIM similarity analysis showed no significant difference between groups ($P > 0.05$). **Conclusion:** HIFU treatment demonstrates minimal impact on the vaginal microbiota in patients with uterine fibroids, thereby ensuring a high level of safety and favorable prognosis. Furthermore, this treatment has shown efficacy in enhancing patient quality of life and reducing the occurrence of complications. Consequently, HIFU treatment holds promise as a significant and valuable therapeutic approach for uterine fibroids, deserving of further clinical endorsement.

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2021YFS0358); 遂宁市中心医院科研项目(2021y03)

作者简介: 唐丽萍(1995-), 女, 硕士, 主管技师。E-mail: 759916201@qq.com

通讯作者: 林芳, 博士。E-mail: 282541952@qq.com

and utilization.

【Key words】 Vaginal microbiota; High intensity focused ultrasound; Uterine fibroid; 16S rRNA sequencing

子宫肌瘤,又称子宫纤维瘤,其在育龄妇女中发病率为 25%~30%,严重影响女性尤其是育龄期妇女的身心健康^[1]。目前,临床治疗子宫肌瘤的方法很多,包括手术治疗、药物治疗、聚焦超声治疗、介入治疗等,其中手术治疗为主要治疗方案^[2-3]。但子宫肌瘤患者往往在接受手术治疗后会发生产道菌群失调,使阴道炎的发生概率升高,从而影响其生活质量^[4]。随着医疗水平的提高,更应重视患者的预后。开展阴道微生态系统评价以选取更好的治疗方法显得尤为重要。

阴道微生态是由宿主的内分泌调节系统、阴道微生物菌群、阴道的解剖结构及局部黏膜免疫系统共同组成的一种动态的生态系统,四者之间相互影响、相互制约,共同维持阴道微生态体系平衡,这在维持女性生殖健康方面具有显著的作用^[5]。但在某些因素的影响下,阴道微生态的平衡体系可被打破,表现为阴道菌群失调、异常的炎症反应及免疫应答等,最终导致多种妇产科并发症的发生^[6]。关注阴道微生态的平衡对于预防、诊治相关妇科疾病及维持女性生殖健康具有重要意义^[7]。

高强度聚焦超声 (high intensity focused ultrasound, HIFU) 是一种非介入的无创治疗方法,近年来广泛应用于各种妇科疾病治疗及多种肿瘤的治疗中^[8-9]。将超声波进行聚焦后,穿透到人体内,将能量密度较低的超声波汇聚至体内的病灶部位,利用焦点处超声波的热效应,在靶区形成 60℃ 以上的高温,导致蛋白质变性及组织细胞凝固性坏死或不可逆的严重损伤,通过空化效应和机械效应使靶区聚焦产生热效应的同时,引起一系列生化反应,导致靶细胞破坏,从而达到治疗的目的^[10]。HIFU 在临床应用中相比以往的传统治疗手段具有创伤小、恢复快、安全性有效高等优点,临床应用日益广泛^[11-12]。子宫肌瘤传统的手术治疗方法会破坏患者阴道微生态环境,而 HIFU 因其无创性或可减少对患者阴道微环境的破坏。但子宫肌瘤患者经 HIFU 治疗后阴道微生态是否发生改变,目前尚无相关报道。本研究利用 16S rRNA 测序技术结合生物信息学分析技术,全面精确地探究子宫肌瘤患者经 HIFU 治疗前后阴道菌群结构的变化,观察 HIFU 治疗是否会对子宫肌瘤患者阴道微生态造成影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 4 月至 2022 年 6 月遂宁市中心医

院收治的 10 例经影像学诊断为单发子宫肌瘤的患者作为研究对象,患者自愿选择 HIFU 治疗并签署知情同意书。纳入标准:(1)符合单发子宫肌瘤诊断标准者;(2)年龄 35~49 岁,近半年无生育计划者;(3)肌瘤直径 ≤ 10 cm;(4)具备随访条件,依从性好。排除标准:(1)有各种阴道炎症、感染性疾病、免疫缺陷病患者;(2)有生育要求的粘膜下肌瘤及蒂过长的浆膜下肌瘤患者;(3)既往 3 个月内有应用抗生素、免疫制剂或阴道用药史;(4)既往接受手术治疗。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 分别采集治疗前(对照组)和治疗后 1 个月(实验组)阴道分泌物样本。用一次性无菌阴道拭子于阴道后穹窿处阴道壁取分泌物。将阴道拭子置于无菌干燥试管中,用于提取细菌总 DNA。标本采集后做好标记,治疗前标记为:PRE + 编号(如:PRE01, PRE02...);治疗后标记为:AF + 编号(如:AF01, AF02...),放于 -20℃ 保存待检。

1.2.2 细菌总 DNA 的提取 使用 DNA 提取试剂盒 (DNeasy PowerSoil) 提取实验组和对照组菌群总 DNA,再通过荧光定量 (Qubit 4 荧光定量仪) 测定浓度,4℃ 保存备用。

1.2.3 16S rRNA V4 区基因片段的扩增与测序 以样品总 DNA 为模板,与相应的 16S V4 区引物 515F 和 806R 配置 PCR 反应体系,PCR 扩增,通过胶回收(胶回收试剂盒 Thermo Scientific 公司)纯化扩增产物,使用建库试剂盒 (New England Biolabs 公司) 进行文库的构建,定量,使用 MiSeq 进行上机测序(重庆浦洛通公司)。

1.2.4 生物信息学分析 (1) 测序数据处理。将下机数据 (Raw Data) 进行数据拆分;将拆分的数据使用 FLASH (V1.2.11) 对每个样品的 reads 进行拼接,得到的拼接序列为原始 Tags 数据 (Raw Tags); Raw Tags 通过 Qiime (V1.9.1) 过滤处理得到高质量的 Clean Tags,用于后期分析。(2) OTU 分析及物种注释。用 Usearch 软件 (Usearch v 9.2.64) 将 Tag 序列聚类为 OTUs (Operational Taxonomic Unit) 序列。然后利用 RDP Classifier (Version 2.2) 软件将 OTU 代表性序列与 GreenGene 数据库比对进行物种注释分析(设定阈值为 0.8~1)。(3) 物种 α 多样性分析、 β 多样性分析以及样本分组分析:①样本内的多样性分析(即 α 多样性),使用 QIIME 计算指数,绘制稀释曲线,使用 Mothur 软件确定 Chao1 指数和 Shannon 指数,绘制 Chao1 指数曲线和 Shannon

指数曲线,进行单个样品多样性分析。②样品间多样性分析(即 β 多样性),首先根据所有样品的物种注释结果和 OTUs 的丰度信息,得到物种丰度信息表;同时,利用 PyNAST 构建 OTUs 之间的系统发生关系,进一步计算 Unweighted Unifrac 及 Weighted Unifrac 距离,最后,通过主成分分析(PCA 分析)和主坐标分析(PCoA 分析)比较不同样本间菌群的差异性 & 相似性。③样本分组分析,利用相似性分析(ANOSIM)来检验实验组与对照组的组间差异是否显著大于组内差异。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。计数资料采用 $[n(\%)]$ 进行描述,满足正态分布计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,组间比较采用独立样本 t 检验,非正态分布资料用秩和检验,组内比较用配对样本 t

检验,组间比较采用独立样本 χ^2 检验;多组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 测序信息

进行了 16S rRNA 基因序列测序。通过多重测序对这些样品的微生物区系进行了分析,最终用于分析的 Tags 总数共读取了 953 991 reads(平均每个样本 47 699.55 个),用于构建 OTUs 并且获得分类信息的 Tags 总数目(Taxon_Tag)为 875 111。通过以 97% 的序列相似性阈值折叠读数产生了 765 个物种水平的 OTU(图 1A 及图 1B)。样品间稀释曲线随着测序数目的增加,最终趋于平稳,表明实验组和对照组的数据量合格(图 1C)。

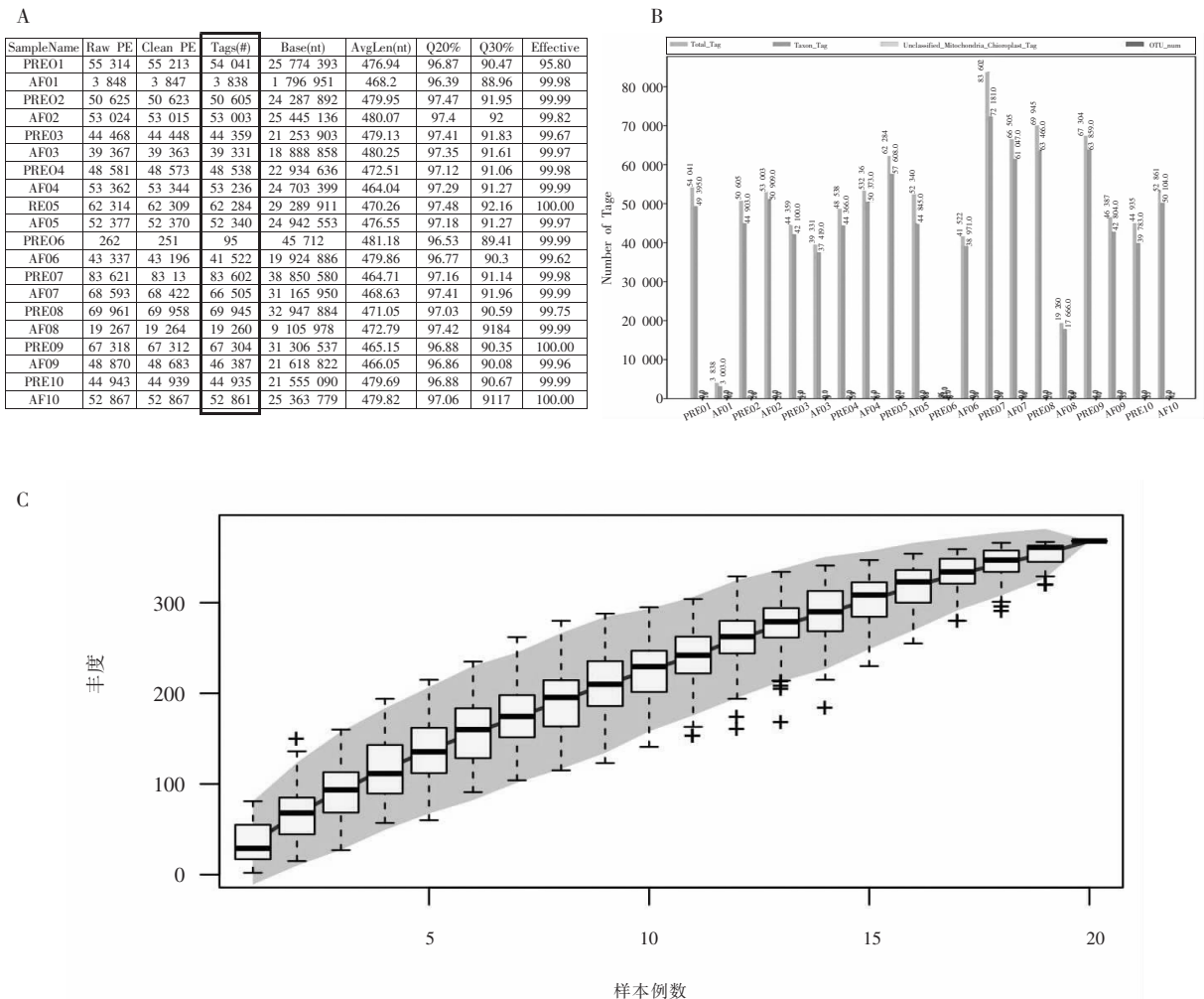


图 1 测序信息

A. 原始下机数据;B. 用于 OTU 分析的 Reads 及样本 OTU 数目;C. 样品间稀释曲线。PRE:HIFU 治疗前;AF:HIFU 治疗后。

2.2 α 多样性分析

用 Chao 指数来估计物种总数,Chao 越大说明群落中含有的 OTU 数目越多,群落的丰富度越大。用 Shannon 指数来估算样品中微生物的多样性,

Shannon 值越大,说明群落多样性越高(包括丰富度和均匀度)。实验组与对照组 α 多样性无统计学差异($P > 0.05$),表明 HIFU 治疗前后菌群的 α 多样性没有明显变化(图 2)。

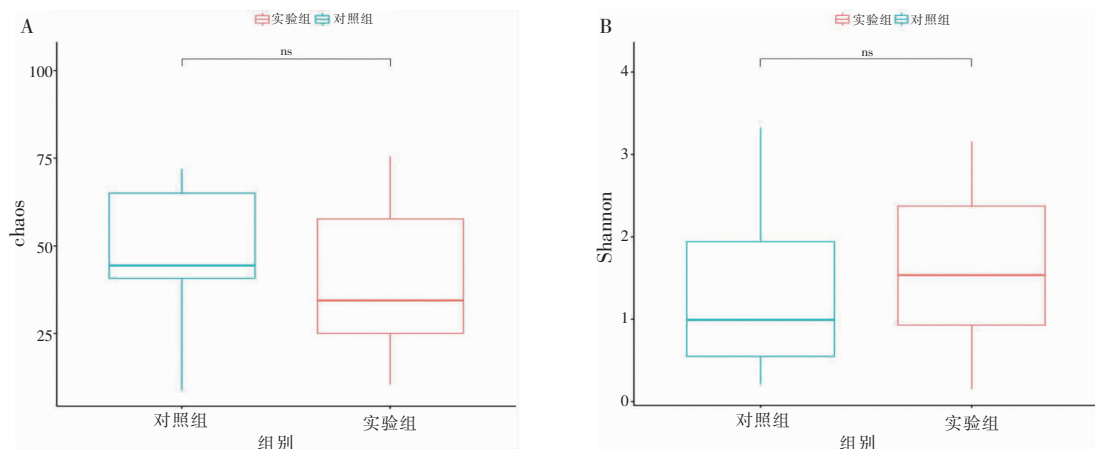


图 2 α 多样性分析

A. 基于 α 多样性的 chaos 指数分析; B. 基于 α 多样性的 Shannon 指数分析。ns $P>0.05$ 。

2.3 β 多样性分析与 ANOSIM 相似性分析

基于纲水平,对两组原始样本组间进行主成分分析(PCA 分析)。通过样本间的距离观察,如果样品的距离越接近,表示样品的物种组成结构越相似。对照组与实验组的物种组成相似,而样本与样本间的差异较大(图 3A)。主坐标分析(PCoA)图显示,对照组上细菌群落的置信椭圆(蓝色)与实验组的置信椭圆(橙色)大部分区域相交,这表明 HIFU 治

疗子宫肌瘤前后,生殖道细菌谱有广泛的相似性和重叠性(图 3B)。进一步进行统计学差异分析发现,治疗前后 β 多样性分析无明显差异($P > 0.05$)(图 3C)。ANOSIM 相似性分析用于展示样本在组内和组间的相似性情况。HIFU 治疗前和治疗后的菌群差异无统计学意义($P > 0.05$),此外同组内不同样本间的菌群相似性略低于治疗前后组间样本的菌群相似性(图 3D)。

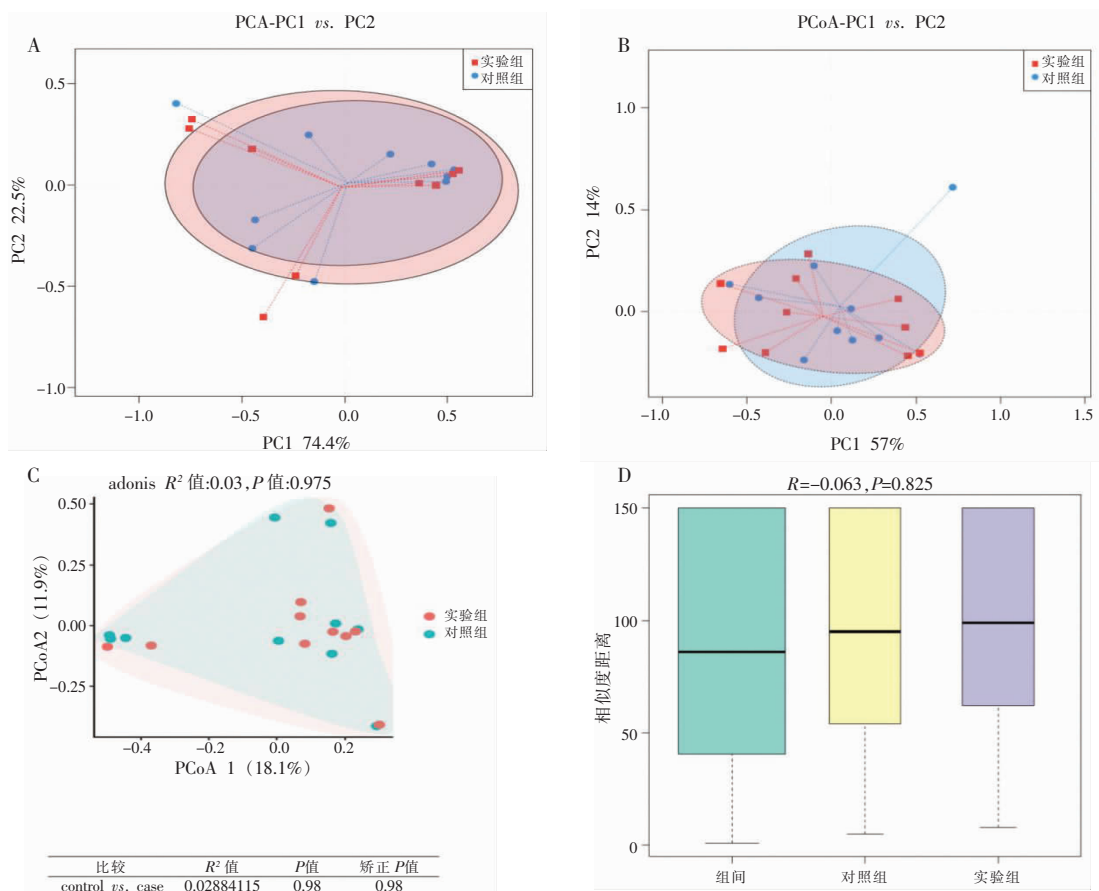


图 3 β 多样性分析及 ANOSIM 相似性分析

A. 基于纲水平 PCA 分析图; B. 基于 Weighted Unifrac 距离矩阵的 PCoA 分析图, 每一个点代表一个样本; C. 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的 PCoA 分析图, β 多样性差异分析; D. ANOSIM 相似性分析。

2.4 菌群层次聚类分析

基于门类水平 weighted unifracc 距离的层次聚类树,对样本进行 UPGMA 聚类分析发现,治疗前与治疗后 02、05 和 07 的样本间相似性较高,表明这些样品间没有明显的物种差异。样本 AF02 和样本

AF03 的门类单一,样本 PRE05 和 AF07 门类分类超过 5 种,说明其微生物种类比较多样。实验组与对照组优势菌未能以治疗前后显著区分,而是以个体菌群为特征聚类,同一患者治疗前后菌群种类较一致(图 4)。

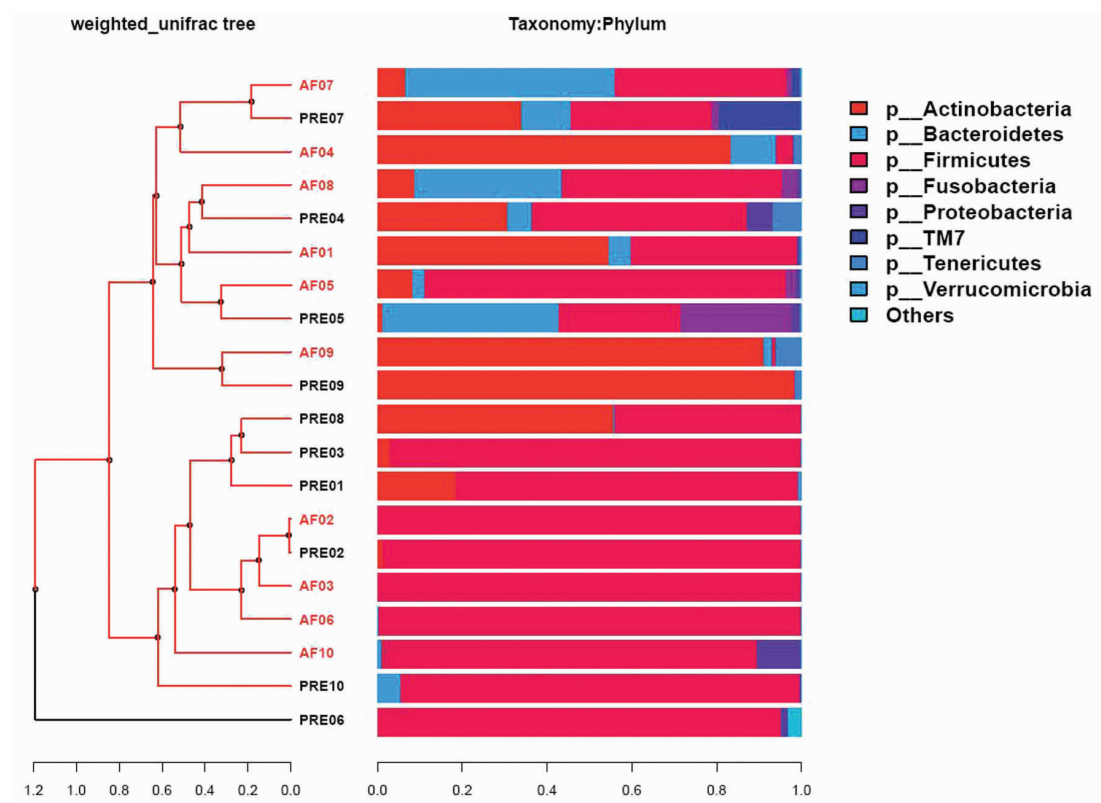
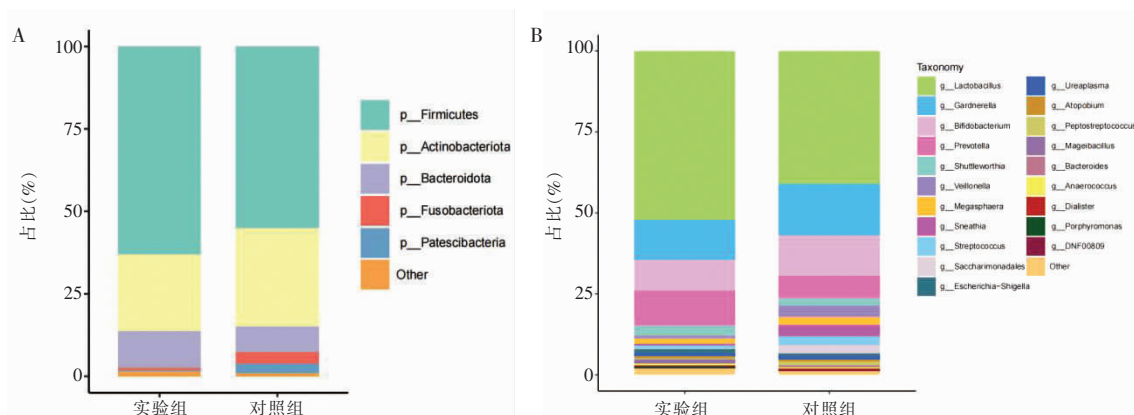


图 4 UPGMA 聚类分析

2.5 菌群结构比较

根据物种注释,统计了每个样品在各分类水平上的序列数目。门分类水平发现在 20 个样本中,厚壁菌门(k-Bacteria. P-Firmicut)类丰度最广,其次是放线菌门(k-Bacteria. p-Actinobacteria)(图 5A)。在属水平上,实验组与对照组的优势菌均为乳酸杆菌,其次加德纳菌属含量较高(图 5B)。对比前五的门

类微生物数,实验组和对照组间无统计学差异($P > 0.05$)(图 5C)。进一步细化分类范围,比较了前十属水平的微生物,发现实验组和对照组也无统计学差异($P > 0.05$)(图 5D)。表明 HIFU 治疗子宫肌瘤前后,患者阴道菌群在组成结构上没有发现分离现象。



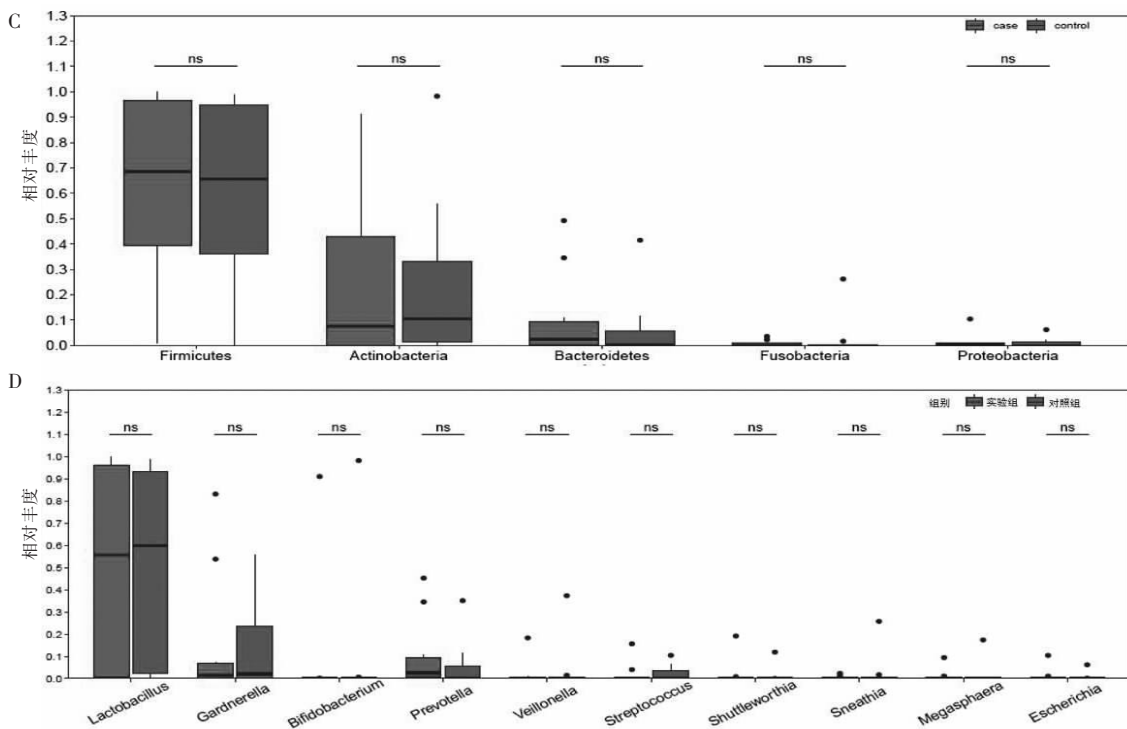


图 5 物种丰度柱状图

A. 门水平物种丰度柱状图; B. 属水平物种丰度柱状图; C. 前 5 门水平箱线图; D. 前 10 属水平箱线图。

3 讨论

子宫肌瘤不仅会降低育龄期妇女生育能力,造成不孕,还容易诱发产科并发症,导致不良妊娠结局^[1],因此重视子宫肌瘤的治疗及预后具有重要的意义。子宫肌瘤的传统的手术治疗方法会影响患者的内分泌激素水平^[13],进而破坏患者阴道微生态环境,而 HIFU 因其无创性或许可减少对患者阴道微环境的破坏。阴道微生态与阴道菌群密不可分,阴道菌群的变化与女性多种疾病的发生存在相关性,因此,研究阴道微生物种类和数量,对女性疾病的影响意义重大。近年来随着高通量测序的飞速发展,16S rRNA 测序成为研究样品中微生物组成结构的重要手段^[14]。16S rRNA 位于原核细胞核糖体小亚基上,长度约 1 500 bp 左右,包括 10 个保守区域和 9 个高变区域,其中保守区反映了物种间的亲缘关系,高变区反映物种间的差异^[15]。16S rRNA 扩增子测序通常利用保守区设计通用引物进行 PCR 扩增,然后对高变区进行测序分析和菌种鉴定。测序技术能克服培养技术只能分离培养有限微生物的缺点,从而全面精确地获得物种信息,进而更好的探究并揭示物种的多样性^[16]。故本研究选用该技术对子宫肌瘤患者 HIFU 治疗前后的阴道分泌物进行检测,再结合生物信息学分析技术,从多维度全面分析 HIFU 治疗子宫肌瘤前后患者阴道菌群是否变化。

本研究显示,在纲水平上, α 多样性分析和 β 多

样分析均显示两组之间无统计学差异 ($P > 0.05$); PCoA 分析显示治疗前后生殖道细菌谱有广泛的相似性和重叠性;ANOSIM 相似性分析也展示组间无统计学差异 ($P > 0.05$),同组内不同样本间的菌群相似性略低于治疗前后组间样本的菌群相似性(图 3D),提示 HIFU 治疗并未造成相同研究对象的生殖道菌群变化,其差异主要来自研究对象之间的个体差异。这些结果表明 HIFU 治疗前后阴道菌群的多样性没有明显改变。UPGMA 聚类分析发现,实验组与对照组优势菌不以治疗前后显著区分,而是以个体菌群为特征聚类,同一患者治疗前后菌群种类较一致。根据物种注释,基于菌门级别分类,文库内所有序列分属 10 大门。对比前五的门类微生物数,治疗前后无显著差异。进一步细化分类范围,比较了前十属水平的微生物,发现治疗前后菌群结构也无统计学差异。厚壁菌门在两分组文库中的数量都是最多,其中乳酸杆菌含量最多为优势菌。在非孕妇中,健康的阴道微生物群以乳杆菌种类为主^[17]。乳酸菌一直被认为是阴道微生物群的关键物种,具有抵抗病原菌生长繁殖的作用,在维持阴道微生态平衡中起着重要作用。本研究选取的实验对象为排除了阴道炎症及感染的子宫肌瘤患者,故其优势菌为乳酸杆菌;且 HIFU 治疗后优势菌较治疗前无明显差异,表明 HIFU 治疗未明显破坏阴道菌群。随着 HIFU 治疗应用越来越广泛,其相关研究也日益完善。有研究^[18]表明 HIFU 治疗阴道微生态正常的 HR-HPV 阳

性患者,HIFU 不干扰其阴道微生态。这与本研究的结果具有一致性。因此 HIFU 或许可成为治疗子宫肌瘤而不破坏患者阴道微生态的重要治疗方案。

此外,本研究结果虽然显示同一患者治疗前后阴道菌群一致性较高,但同组内不同样本见菌群差异相对较大。如样本 02、04 的菌群种类较单一,而 05、07 的丰富度较高;其中除了乳酸杆菌外,部分样本阴道加德纳菌,双歧杆菌,普雷沃氏菌的含量也比较高。Ravel 等^[19]的研究表明,正常女性阴道优势菌属除了以乳杆菌外,其他多种微生物,如加特纳菌属、普雷沃菌属等均可以为优势菌属。Mao 等^[20]的研究发现肠道菌群的失调会影响生殖道微生态,是子宫肌瘤的危险因素,其中就包括双歧杆菌与普雷沃氏菌菌群的改变。所以本研究出现的组内菌群差异相对较大的情况,一方面这可能是由于样本量较少,阴道菌群的个体差异所致;另一方面也可能是这些菌群或许与子宫肌瘤及生殖道环境有一定的相关性。

本研究中所有患者经 HIFU 治疗后效果明显(肌瘤明显缩小至消失)且术后恢复快(全部患者治疗后 2 h 均可以正常活动)并发症较少。术后 1 个月复查,无现明显临床不适,个别患者术后出现的轻微腹痛也已恢复。与 Tonguc 等^[21]研究一致。治疗原理主要是热效应、机械效应及空化效应,在热传导的过程中,可能对周围组织带来一些损伤,腹痛腹胀是最常见的并发症,就像女性月经期腹痛感一样,但在大多数患者中,仅观察到轻微的、短暂的和自限性的并发症。本研究中所有患者均未发现术后感染、宫颈粘连、溃疡、异常炎症等不良反应,表明 HIFU 具有较高的安全性。

综上,本研究提示 HIFU 治疗对子宫肌瘤患者阴道微生态影响较小,且具有较高的安全性及良好的预后,能有效改善患者生活质量降低并发症发生率,可成为子宫肌瘤的重要治疗模式,值得临床推广与应用。

参考文献

[1] 常悦,钱景锋,高丽军,等. 有生育要求的子宫肌瘤患者的治疗进展[J]. 实用妇产科杂志,2018,34(3):186-189.

[2] 史莎莎,余成浩. 子宫肌瘤的治疗进展[J]. 中国妇幼保健,2020,35(16):3122-3125.

[3] 樊梦麟,樊庆泊,邢菲菲. 子宫肌瘤治疗方法研究进展及选择[J]. 中国现代医药杂志,2020,22(7):106-108.

[4] 左常婷,刘新民. 子宫肌瘤手术治疗进展[J]. 实用妇产科杂志,2000,16(4):183-185.

[5] 王慧慧,李焕荣,马晓彤,等. 阴道微生态的研究进展[J]. 中国微生态学杂志,2020,32(4):469-471.

[6] 李姝庆,张阳阳,伊艳茹,等. 阴道微生态菌群与宫颈疾病相关性的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志,2020,47(2):223-226.

[7] 董梦婷,李星烁,王辰,等. 乳酸维持正常阴道微生态的研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2019,39(4):311-315.

[8] 常梦茹,卢美松,张丹丹. 磁共振引导高强度聚焦超声手术治疗子宫腺肌病的临床研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科,2018,10(9):6-9.

[9] 贾淑平,赵亮,蒋荷娟. 高强度聚焦超声消融术在肿瘤治疗方面的应用进展[J]. 中国医疗器械信息,2019,25(9):48-50.

[10] 刘继辉,李成海,刘雅璐,等. 空化增效高强度聚焦超声治疗研究进展[J]. 中国医学物理学杂志,2020,37(6):758-761.

[11] 寸江平,赵卫,范宏杰,等. 微泡造影剂用于高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤研究进展[J]. 中国介入影像与治疗学,2019,16(10):639-642.

[12] Zhu B, Li J, Diao L, *et al.* High-intensity focused ultrasound ablation for advanced pancreatic cancer [J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*,2019,15(4):831-835.

[13] 何海兵,冯白露,金红梅,等. 不同手术方式治疗子宫肌瘤对妇科内分泌状态的影响[J]. 实用妇科内分泌电子杂志,2023,10(18):54-56.

[14] Youssef N, Sheik CS, Krumholz LR, *et al.* Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys [J]. *Applied and Environmental Microbiology*,2009,75(16):5227-5236.

[15] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, *et al.* Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2011,108(Suppl 1):4516-4522.

[16] Hess M, Sczyrba A, Egan R, *et al.* Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen [J]. *Science*,2011,331(6016):463-467.

[17] Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, *et al.* Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods [J]. *Microbiology (Reading, England)*,2004,150(Pt 8):2565-2573.

[18] Tao H, Zeng D, Chen W, *et al.* Focused ultrasound: a novel therapy for improving vaginal microecology in patients with high-risk HPV infection [J]. *International Journal of Hyperthermia*,2023,40(1):2211276.

[19] 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(Suppl 1):4680-4687.

[20] Mao X, Peng X, Pan Q, *et al.* Uterine fibroid patients reveal alterations in the gut microbiome [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*,2022,12:863594.

[21] Tonguc T, Recker F, Ganslmeier J, *et al.* Improvement of fibroid-associated symptoms and quality of life after US-guided high-intensity focused ultrasound (HIFU) of uterine fibroids [J]. *Scientific Reports*,2022,12(1):21155.

(收稿日期:2024-04-23

修回日期:2024-07-06)