

M 5.分类号: R47

密 级:

单位代码: 10312

学 号: 2017120844



南京医科大学

# 硕 士 学 位 论 文

( 专 业 学 位 )

题 目: 阴道润滑障碍女性阴道上皮组织差异

**circRNA 的筛选及功能分析**

研 究 生: 张晶晶

指导教师: 顾 平 副教授  
马洁桦 助理研究员

学科专业: 护理学

学院名称: 南京医科大学护理学院

完成时间: 二〇二〇年五月

# 南京医科大学

## 学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除了文中特别加以标注引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写的成果作品。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

作者签名：张晶晶 日期：2020年06月09日

导师签名：王红 日期：2020年06月09日

## 学位论文授权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权南京医科大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

本学位论文属于（请在以下相应方框内打“√”）：

1、保密□，在\_\_\_年解密后适用本授权书。

2、不保密√。

作者签名：张晶晶 日期：2020年06月09日

导师签名：王红 日期：2020年06月09日

# 目 录

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 中文摘要.....                     | 1  |
| Abstract .....                | 3  |
| 第一章 前 言.....                  | 7  |
| 一、研究背景.....                   | 7  |
| 二、研究目的.....                   | 13 |
| 三、研究内容.....                   | 13 |
| 四、技术路线.....                   | 13 |
| 第二章 研究材料与方法.....              | 14 |
| 一、研究材料.....                   | 14 |
| 二、研究方法.....                   | 16 |
| 第三章 实验结果.....                 | 21 |
| 第四章 讨 论.....                  | 32 |
| 一、研究的创新之处.....                | 33 |
| 二、研究的局限性.....                 | 33 |
| 参考文献.....                     | 34 |
| 综述.....                       | 40 |
| 个案报告.....                     | 53 |
| 附录.....                       | 60 |
| 附录一 缩略词表.....                 | 60 |
| 附录二 焦虑自评量表(SAS).....          | 61 |
| 附录三 抑郁自评量表(SDS).....          | 63 |
| 附录四 中文版女性性功能障碍量表(CVFSFI)..... | 65 |
| 附录五 伦理审批意见书.....              | 67 |
| 附录六 研究成果.....                 | 69 |
| 致谢.....                       | 70 |

# 阴道润滑障碍女性阴道上皮组织差异 circRNA 的筛选及功能分析

## 中文摘要

### 背景

女性性功能障碍（Female sexual dysfunction, FSD）是指女性个体在性反应周期中的一个或几个阶段发生障碍或出现与性交有关的疼痛，而不能参与或不能达到其所预期的性关系，造成心理痛苦；包括欲望、唤醒、性高潮和性疼痛障碍。良好的阴道润滑是性生活开始阶段的重要生理表现，其障碍将导致女性性交疼痛、性高潮障碍等后续 FSD 的一系列问题。然而目前无论是在科学实验还是在临床研究中，女性性医学领域常常被忽略。女性性医学发展滞后及 FSD 的诊断标准不明确，往往导致 FSD 发病率的准确性降低。因此，探索女性性功能障碍尤其是女性阴道润滑障碍的发病机制以及可能的治疗方法变得尤为重要。近年来，环状 RNA（circular RNA, circRNA）作为 microRNA（miRNA）海绵被证实在许多疾病中具有重要的病理地位。然而，circRNA 在女性性功能障碍尤其是润滑障碍（Lubrication disorder, LD）中的作用尚不清楚。本研究通过新一代测序技术（Next generation sequencing, NGS）及生信分析筛选并分析了患有阴道润滑障碍女性阴道上皮组织中差异表达的 circRNA 调控的靶基因和途径，为进一步探索发病发生的分子机制以及调控通路提供依据。

### 目的

分析正常女性与存在阴道润滑障碍的女性阴道上皮组织中差异表达 circRNA 的染色体定位、预测其调控的候选靶基因，对靶基因进行相应的生物学功能分类并建立靶基因的信号通路和生物功能网络。

## 方法

1、使用中文版女性性功能指数量表（Chinese Version of Female Sexual Function Index, CVFSFI）评分从美容整形外科行阴道紧缩术的、无其他妇科疾病的女性中筛选出 3 名存在润滑障碍问题的女性与 3 名性功能正常女性，并于术中取其阴道上皮组织。

2、利用 RNABase 数据库软件等生物信息学手段分析差异表达 circRNA 的染色体定位、预测其调控的候选靶基因，对靶基因进行相应的生物学功能分类并建立靶基因的信号通路和生物功能网络。

3、采用 Quantitative Real-time PCR (RT-qPCR) 技术，对差异表达 circRNA 进行分析，并以此基础通过 RT-qPCR 验证随机选择的差异 circRNA 的表达。

## 结果

通过 NGS 共检测到 7746 个 circRNA，其中已知 circRNA 共 5097 个，首次检测到的未知 circRNA 共计 2649 个；共有 73 个 circRNA 差异表达，其中 53 个下调，20 个上调。随机选择 6 个差异表达 circRNA 进行 RT-qPCR 验证，最终结果与测序结果一致。此外，我们通过琼脂糖凝胶电泳验证了六种差异表达的 circRNA 的环状特性。circRNA/microRNA 相互作用预测结果显示，共有 34 个 miRNA 与 20 个 circRNA 间存在相互作用关系，其中 9 个节点数最多的 circRNA 均下调表达。

## 结论

根据测序结果分析，阴道润滑障碍患者的 circRNA 表达与正常对照组有显著差异。GO 和 KEGG 通路分析表明，这些差异表达的 circRNA 可能参与了疾病的发生和发展，并预测了它们与 miRNA 的潜在相互作用。为了进一步了解 circRNA 的作用机制以及如何调控相关基因的表达，还需要更多的探索性实验和机制研究。

**关键词：**女性性功能障碍，润滑障碍，环状 RNA，阴道上皮

## **Abstract**

### **Identification and functional analysis of differentially expressed circRNA in vaginal epithelial tissues in women with vaginal lubrication**

#### **Background**

Female sexual dysfunction (FSD) means that female individuals develop disorders or pain related to sexual intercourse at one or more stages of the sexual response cycle, and are unable to participate in or achieve their expected sexual relationship, resulting in psychological pain, including desire, arousal, the most exciting part of sex and sexual pain disorder. Favorable vaginal lubrication is an important physiological manifestation at the beginning of sexual life, and its obstacles will lead to a series of problems in follow-up FSD, such as pain in female intercourse, a climax of sexual excitement and so on. However, at present, the field of female sexual medicine is often ignored in both scientific experiments and clinical research. The development of female sexual medicine lags behind and the diagnostic criteria of FSD are not clear, which often lead to the decrease of the accuracy of the incidence of FSD. Therefore, it is particularly important to explore the pathogenesis and possible treatment of female sexual dysfunction, especially vaginal lubrication disorder. In

recent years, as a microRNAs (miRNAs) sponge, circular RNA (circRNA) has been proved to have an important pathological status in many diseases. However, the role of circRNA in female sexual dysfunction (FSD), especially in lubrication disorder (LD) is not clear. In this study, the target genes and pathways of differentially expressed circRNA in vaginal epithelium of women with vaginal lubrication disorder were screened and analyzed by new generation sequencing technique (NGS) and bioinformatics analysis, so as to provide a basis for further exploring the molecular mechanism and regulatory pathway of the disease.

## **Objective**

To analyze the chromosomal location of differentially expressed circRNA in vaginal epithelium of normal women and women with vaginal lubrication disorders and predict the candidate target genes for regulation. Additionally, the purpose of classifying the biological functions of target genes and establishing signal pathways and biological function networks of target genes were also included.

## **Methods**

1. Three women with lubrication problems and three women with normal sexual function were selected from women who underwent vaginal

contraction surgery in cosmetic plastic surgery by using the Chinese Version of Female Sexual Function Index (CVFSFI), and the vaginal epithelium was collected during the operation.

2. Bioinformatics methods such as RNABase database software were applied to analyze the chromosome location of differentially expressed circRNA, predict the candidate regulated target genes, classify the biological properties of target genes, and establish the signal pathway and biological function network of target genes.

3. The differentially expressed circRNAs were analyzed by Quantitative Real-time PCR (RT-qPCR) technology, and the expression of randomly selected differential circRNA was verified by RT-PCR.

## **Results**

A total of 7746 circRNA were detected by NGS, of which 5097 were known circRNA. A number of 2649 unknown circRNA were detected for the first time, and a total of 73 circRNA were differentially expressed, of which 53 were down-regulated and 20 were up-regulated. Six differentially expressed circRNA were randomly selected for RT-qPCR verification, and the final results were consistent with the sequencing results. In addition, we verified the cycling characteristics of six



differentially expressed circRNA by agarose gel electrophoresis. The predicted results of circRNA/microRNA interaction showed that there was an interaction between 34 miRNA and 20 circRNA, among which 9 circRNA with the largest number of nodes were down-regulated.

## **Conclusion**

According to the sequencing results, the expression of circRNAs in patients with vaginal lubrication disorder is significantly different from those in normal controls. GO and KEGG pathway analysis showed that these differentially expressed circRNAs may be involved in the occurrence and development of the disease, and predicted their potential interaction with miRNAs. To further understand the role of circRNA in disease development and how to regulate the expression of related genes, more exploratory experiments and mechanism studies are needed.

**Key words:** female sexual dysfunction, lubrication disorder, circular RNA, vaginal epithelium

# 第一章 前言

## 一、研究背景

性 (sexuality) 是生活中自然而重要的一部分, 性行为是伴侣之间的亲密表现, 是自我认同的基础, 具有很强的生理和心理成分, 并受到文化的影响, 而性健康 (sexual health) 则是良好性生活的前提与保障。根据世界卫生组织的 2002 年通过的 *Defining sexual health: Report of a technical consultation on sexual health*, 性健康被定义为“与性有关的身体、情感、精神和社会健康的状态; 它不仅仅是指没有疾病、功能障碍或虚弱的状态”; “所有人的性权利都必须得到尊重、保护和实现”<sup>1,2</sup>。我国学者李芝兰在其编写的《性与生殖健康教育》一书中也指出: 性健康是指具有性欲的人在躯体、情感、智力方面和社会适应能力上的健康的总和, 从而使个体表现出积极完善的人格、美好的人际关系等, 其内涵包括生殖健康、性心理健康、性社会适应良好等方面<sup>3,4</sup>。

随着社会人文的进步, 人类文化层次的提升以及生活需求的完善, 性健康对个人健康、家庭关系稳定、社会和谐等的影响日益增加<sup>5</sup>。近 10 年来, 妇产科医生和性学专家逐渐意识到了性健康的重要性, 尤其是女性性健康的重要意义, 对性功能障碍的理解、概念化和治疗都发生了重大变化<sup>6</sup>。美国妇产科医师学会 (ACOG, American College of Obstetricians and Gynecologists) 2017 年发表了一项委员会意见, 意见中指出妇产科医生处于“能够就性健康相关问题展开对话的独特地位”, 同时承认性健康是重要的“整体健康要素”, 并支持了世界卫生组织的声明<sup>7</sup>。此声明在指出性健康重要性的同时, 也暴露了目前性学领域存在的诸多问题, 比如临床医生缺乏对解决该领域问题的理论与技术指导, 且缺少获取性病史的时间和途径, 患者 (尤其是女性) 不愿主动寻求帮助以及全球范围内对性功能障碍患病率的低估。

以下, 本研究将针对本课题涉及的相关问题进行概述:

## 1 女性性功能障碍概述

女性性功能障碍（Female sexual dysfunction, FSD）是指女性个体在性反应周期中的一个或者几个阶段发生障碍或出现与性交有关的疼痛，而不能参与或不能达到其所预期的性关系，从而造成一系列的心理痛苦的发生；包括欲望、唤醒、性高潮和性疼痛障碍<sup>8</sup>。目前关于 FSD 的发病率和流行率的数据有限，缺乏大规模的基于人群的 FSD 流行病学调查。同时由于性功能障碍的定义、使用的诊断类别、样本人群的构成和数据收集方法的不同，导致现有的数据差异很大<sup>6,9</sup>。据报道，全球大约有 40%~50% 的女性患有至少一项与 FSD 相关的症状<sup>10,11</sup>。目前 FSD 全球发生率 25.8%~91.0% 不等，我国发生率高达 37.6%<sup>12</sup>。美国一项<sup>13</sup>针对成年人群性行为的国家健康和社会生活调查（National Health and Social Life Survey）数据的分析结果显示性功能障碍的发生率在女性（43%）中比在男性（31%）中更普遍，FSD 在女性（年龄范围为 18~59 岁）中的总体流行率为 43%。到 2008 年，另一项研究<sup>14</sup>结果同样显示大约 43% 的美国女性存在性功能障碍问题，并且相对于更年轻（10.8%）或年长（8.9%）的女性，年龄在 45~64 岁的女性中 FSD 的发生率更高（14.8%），其中 12% 的人因性功能障碍问题感到痛苦。Hayes 等<sup>15</sup>对已有研究整理分析后发现 64% 的女性普遍存在性欲障碍，31% 的女性有性唤醒困难，35% 的女性有性高潮困难，26% 的女性有性疼痛。在一项“全球性态度和性行为研究”中<sup>16</sup>，研究者对来自 29 个国家的 27500 名 40 岁以上的人调查结果显示：有 28% 的男性和 39% 的女性表示他们受到性功能障碍中至少一项的困扰，其中 16% 的女性存在阴道润滑障碍。虽然数据有限，但从目前已有的数据来看，FSD 显然已经成为了困扰广大女性的问题。

近年来，越来越多的研究证实了 FSD 的普遍性，同时对 FSD 的研究已经从一般人群中的患病率估计扩大到对特定患者亚群的研究，如产后妇女、患有糖尿病、艾滋病和心脏病的妇女<sup>17</sup>。性功能也已被重新概念化为强调社会、心理、激素、环境和生物因素多个因素共同参与的循环（而非线性）过程<sup>9,18</sup>。但无论

是在科学实验还是在临床研究中，女性性医学领域依旧常常被忽略。尤其在中国传统伦理道德里，女性性功能障碍属于极其保守的话题，甚至被视为一种禁忌，由此使得 FSD 长期成为一种隐匿的疾病，其危害一直未受到重视<sup>12</sup>。FSD 会显著影响女性的生理健康与受孕，甚至影响伴侣的性功能，是破坏夫妻感情的直接导火索<sup>9,19,20</sup>；另一方面，FSD 对于女性心理健康的影响更为严重，将导致自卑、焦虑、抑郁等不良情绪的发生，这些不良情绪引发的自杀率可达 10~15%<sup>21,22</sup>，从而成为危害婚姻家庭与社会稳定的重要因素。近年来，随着经济的快速发展，人们日益重视整体生活质量，其中毫无疑问地包括性健康。Ventegot<sup>23</sup> 等研究者在 2460 名丹麦公民（18~88 岁）的代表性样本中发现，存在性功能障碍的人群生活质量比人口平均水平低 1.2% 到 19.1%。Berman 等<sup>24</sup> 的调查显示，有性健康问题的妇女中有 42% 的人会寻求妇科医生帮助，而没有寻求帮助的女性中也有 54% 的人表示她们乐于接受帮助。女性在门诊中主诉性功能障碍的日益增加，促使生殖健康方面的医疗与科研人员有必要迅速跟进国际上性医学的发展，探索 FSD 的发病机制，寻找治疗方法。

## 2 阴道润滑障碍概述

第四版《精神疾病诊断和统计手册》中将 FSD 的诊断划分为四类：性欲低下、性唤起障碍、性高潮障碍以及性疼痛障碍，其中性唤起障碍又包括主观性兴奋唤起障碍和生殖器性唤起障碍<sup>25</sup>。主观性兴奋唤起障碍指任何类型的性刺激都不能获得和维持足够的性兴奋，但阴道润滑或其他身体反应的迹象可能会发生；而生殖器性唤起障碍则主要指因任何类型的性刺激无法引起生殖器的外阴肿胀或阴道润滑反应<sup>18,26,27</sup>。在性反应过程中涉及两个基本的生理反应：生殖器血管充血以及全身神经肌肉张力增加，其中流经生殖器的血流量增加会使生殖器血管充血，是促进阴道润滑的重要因素<sup>28</sup>。在 2000 年由 Rosen<sup>27,29</sup> 等人编制的女性性功能指数量表（The Female Sexual Function Index, FSFI）中，研究者们将对 FSD 的评估分为六个方面：性欲低下、性唤起障碍、润滑障碍（Lubrication

disorder, LD)、高潮障碍、性满意度下降和性交痛。研究指出,良好的阴道润滑是性生活开始阶段的重要生理表现,其障碍将导致女性性交疼痛、性高潮障碍等后续的一系列问题<sup>30,31</sup>。同时阴道润滑不足会导致外阴和阴道上皮的摩擦和微伤,同样也是阴道干燥和引发性交痛的主要原因之一<sup>32</sup>。

2011年娄文佳<sup>33</sup>等人在北京东城区和顺义区对4697名成年妇女进行了基于多阶段整群抽样的横断面研究,研究结果显示北京地区成年女阴道润滑障碍发生率约为32.4%。本课题所在课题组在临床工作中,长期关注FSD,并对500名22~60岁女性进行了调查研究,研究结果发现:中国城市女性的FSD患病率以及低欲望,唤醒障碍,润滑障碍,性高潮障碍和性交痛的患病率分别为37.6%, 23.6%, 25.4%, 36.8%, 30.6%和21.8%。其中阴道润滑障碍发病率占FSD总发病率的97.9%<sup>12</sup>。由此可见,在我国阴道润滑障碍已成为成年女性不可忽视的重要问题。

阴道润滑障碍的病理生理机制研究进展相对缓慢。从有限的文献报道可知,阴道润滑的可能机制为:当机体受到刺激,随着阴道血流动力学的改变,阴道黏膜下层毛细血管中的液体漏出,通过阴道上皮层到达阴道黏膜表面润滑阴道;另外,宫颈、尿道周围腺体也会分泌粘液参与阴道润滑<sup>34,35</sup>。发生障碍的生理原因主要涉及内分泌紊乱、血管内皮损伤、神经系统异常等;主要病变组织包括神经、血管、阴道平滑肌和阴道上皮<sup>36</sup>。上皮组织作为阴道润滑的最后关卡,负责离子、水分子等的转运和重新配比,对阴道润滑液的形成具有重要作用<sup>37</sup>。因此,流体转运(Fluid transport)在阴道润滑中的作用日益受到重视<sup>38,39</sup>,主要包括水、甘油、离子等小分子的转运<sup>40,41</sup>。研究发现,雌激素、雄激素、孕激素、离子通道调控、水通道蛋白、P<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>等<sup>38</sup>可能与阴道上皮的流体转运调控相关,为理解阴道润滑障碍的发生发展机制提供了一定的分子基础和线索。但是当前研究尚不能解决临床治疗难题,仍需深入挖掘阴道上皮流体转运功能的调控机制。

阴道润滑障碍的治疗由于缺乏单一致病因素、经过验证的治疗方案选择有限、医生不熟悉可用的治疗方法、患者经常同时合并有多种类型性功能障碍、治疗的可获得性有限以及治疗女性性功能障碍的专业知识有限等多种原因而变得复杂<sup>42</sup>。目前有关阴道润滑障碍的治疗研究还处于起步阶段，已有的治疗方法还存在很多不足<sup>43</sup>。当前只有一种药物被食品药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）批准的可以用于治疗性欲减退障碍的——氟班色林（Addyi）<sup>14</sup>。雌激素替代治疗可缓解围绝经期、卵巢早衰等由于雌激素缺乏而引起的阴道润滑问题，但是并非对所有患者都有疗效，且激素治疗可能存在公知的不良反应和局限性<sup>44</sup>。磷酸二酯酶 5（PDE-5）抑制剂可以扩张血管，增加生殖器的血流量，代表药物如西地那非，自 20 世纪 90 年代末以来一直被用于治疗男性勃起功能障碍。由于女性和男性的生殖功能在生理学上是相似的，而 PDE-5 抑制剂可以通过 NO 的形成和释放来刺激血管充血，男性表现为勃起，女性则表现为阴道润滑<sup>45</sup>，所以目前也开始被尝试用于治疗 LD<sup>46,47</sup>，但是在临床应用研究中许多患者服用后出现了不适反应<sup>45</sup>。同样的，血管活性肠肽（VIP）与前列腺素（PGs）在生殖器血管充血、刺激阴道分泌物产生也有一定的积极作用，但应用效果并不显著<sup>48</sup>。一氧化氮(NO)供体在血管应对多种刺激的舒张反应中起重要作用，研究显示可以增加阴道血流量<sup>49</sup>。NO 供体与精氨酸和育亨宾的联合治疗已经完成了 1 期和 2a 期临床试验，但目前这些疗法最终效果尚不清楚<sup>50</sup>。此外，包括组织选择性雌激素复合物（TSEC）<sup>51</sup>、抗抑郁药物、性心理治疗<sup>20</sup>在内的许多报道，均缺乏明确的有效性和可行性。可见更进一步探明阴道润滑障碍的发病机制，寻找治疗靶标，对于预防和治疗阴道润滑障碍十分必要。

### 3 circRNA 概述

环状 RNA（circular RNA, circRNA）是一种闭合的单链转录物，最早于 20 世纪 70 年代晚期被发现<sup>52</sup>，具有结构稳定、丰度高和组织特异性表达等特征<sup>53</sup>。它将分子的 3'和 5'末端通过反向剪接连接在反向剪接过程中，下游剪接供体位

点与上游剪接受体位点共价连接，最终形成了一个闭合环形结构。circRNA 按照剪接来源的不同可分为内含子来源 circRNA 以及外显子来源 circRNA，主要参与转录及转录后基因表达的调节。内源性 circRNA 是不同于传统线性 RNA 的一类新型 RNA，大量存在于真核转录组中<sup>54</sup>。大多数的 circRNA 均来源于 mRNA 前体，并以低水平表达并在细胞浆中富集，但某些 circRNA 的丰度远远高于其线性对应物，这可能是由于 circRNA 比线性 RNA 更稳定造成的<sup>55</sup>。CircRNA 是一个闭合结构，而核酸酶一般需要通过识别线性 RNA 分子的末端才能发挥作用，因此 circRNA 对核酸酶具有高耐受性，这使得 circRNA 在作为新型临床诊断标记物的开发应用上具有明显优势。目前在各种类型的细胞和组织中，技术上已经实现了在人类细胞中使用高通量 RNA 测序（RNA-seq）来全面检测 circRNA 的功能<sup>55</sup>。

近年来，学者们发现 circRNA 在基因调节和表达等方面具有潜在功能。研究显示，circRNA 能竞争性结合 miRNA 而调控靶基因的表达继而在疾病调控中发挥着重要作用，起到 miRNA 海绵的作用，因此被称为竞争性内源 RNA（ceRNA）<sup>56,57</sup>。2013 年 Nature 上发表的两篇<sup>58,59</sup> 文章揭示了 circRNA 可以充当分子“海绵”结合并封闭 microRNA，因此通过 circRNA，miRNA 以及疾病三者之间的关系研究者推导 circRNA 可能在疾病的发生中发挥着调节作用<sup>60</sup>。虽然 circRNA 在一些疾病发生机制的研究中已取得一些进展，但在性功能障碍及其相关致病机制，尤其是在阴道润滑障碍领域还未见报道。到目前为止，circRNA 确实已被证实与包括糖尿病、神经疾病、心血管疾病、慢性炎症性疾病和癌症等多种可能导致女性性功能障碍尤其是阴道润滑障碍的疾病的发生有关<sup>61-65</sup>。多项研究已经报道了 circRNA 在包括调控血管生成、平滑肌细胞功能、卵巢老化等与阴道润滑障碍相关的生物学过程中的调节活性<sup>66-68</sup>。而在鲜少的已有报道当中，我们发现 circEGFR 过表达能够促进颗粒细胞分泌雌二醇(E2)，而敲除 circEGFR 基因能够促进孕酮的产生同时抑制 E2 的分泌<sup>69</sup>；circRNA-9119 可以通过降低 miR-26a 的表达继而下调前列腺素-过氧化物合成酶 2（PTGS2）在体外奶山羊子宫内膜上皮细胞(EECS)中的表达<sup>70</sup>。这些研究均为我们的研究开展提

供了一定的思路，并证明了开展相关的研究去发现调控阴道润滑障碍发病进程功能的 circRNA 具有一定的实施价值和较为重要的意义。

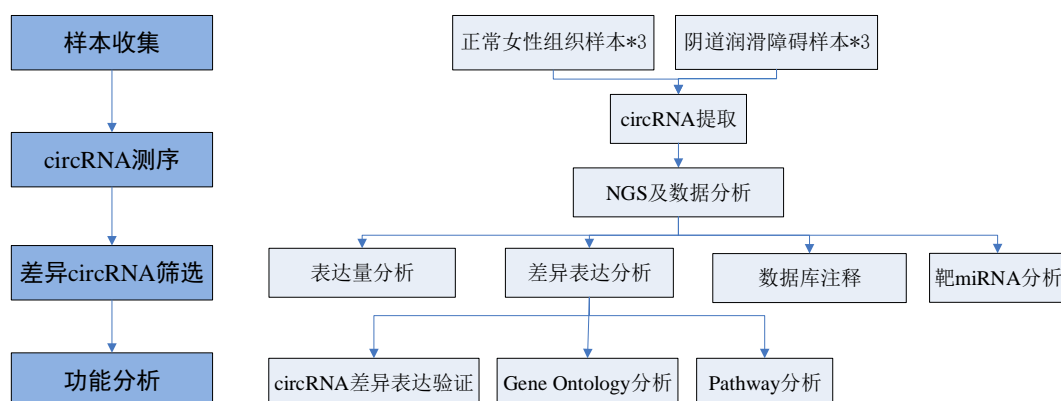
## 二、研究目的

本课题旨在通过此项研究为今后深入探讨 circRNA 在阴道润滑功能机制中的生物学功能及作用机制奠定理论基础，并可能为利用基因治疗方法治疗女性性功能障碍提供新的理论线索和潜在的 circRNA 干预靶标。

## 三、研究内容

本研究使用中文版女性性功能指数量表（Chinese Version of Female Sexual Function Index, CVFSFI）评分从美容整形外科行阴道紧缩术的、无其他妇科疾病的女性中筛选润滑障碍女性，并于术中取其阴道上皮。采用 RT-qPCR 技术，对差异表达 circRNA 进行分析，并以此基础利用 RNABase 数据库软件等生物信息学手段分析差异表达 circRNA 的染色体定位、预测其调控的候选靶基因，对靶基因进行相应的生物学功能分类并建立靶基因的信号通路和生物功能网络。通过 RT-qPCR 验证随机选择的差异 circRNA 的表达。通过琼脂糖凝胶电泳和 Rnase R 消化验证 circRNA 的环状特性。

## 四、技术路线





## 第二章 研究材料与方法

### 一、研究材料

#### 1、研究对象

本研究由南京医科大学附属南京妇幼保健院机构伦理委员会授权并监督（宁妇伦字〔2014〕64号、宁妇伦字〔2014〕65号）。研究对象来源于南京医科大学附属南京妇幼保健院美容整形外科，于2017年10月至2018年5月间对在此科室行阴道紧缩术的、无其他妇科疾病的女性，使用自制问卷、焦虑自评量表（SAS）、抑郁自评量表（SDS）、中文版女性性功能指数量表（Chinese Version of Female Sexual Function Index, CVFSFI）收集志愿者的一般资料，并评估其焦虑抑郁情况及性功能障碍程度。剔除存在焦虑抑郁症状的患者后，随机选择3名阴道润滑维度单项评分 $<3.9$ 者作为实验组（LD）以及3名总体评分 $>25$ 且LD单项评分 $>3.9$ 者为对照组（NC）。

研究对象纳入标准：（1）中国成年汉族妇女，具有中等或高等教育水平；（2）有计划的行阴道紧缩手术；（3）无其他妇科疾病。

#### 2、主要工具及技术

##### 2.1 中文版女性性功能指数量表（Chinese Version of Female Sexual Function Index, CVFSFI）

女性性功能指数量表由Rosen等<sup>29</sup>于2000年根据国际会议对女性性功能达成的共识分类而制定的，它是一个包含19个项目的多维自我报告测量工具，量化了FSD的包括欲望、唤醒、润滑、性高潮、满足感和疼痛在内的六个领域。2011年中国医学科学院北京协和医院妇产科孙晓光<sup>71</sup>等人的研究团队修订了中文版的女性性功能指数量表（CVFSFI），属于自评式量表，一共包含6个维度，19个条目，分别为性欲维度（条目1~2）、性唤起维度（条目3~6）、阴道润滑维度（条目7~10）、性高潮维度（条目11~13）、性满意度维度（条目14~

16)、性交疼痛维度(条目 17~19)。第 1、2、15、16 个条目采用 5~1 分 5 级反向计分,其他条目均采用 0~5 分 6 级正向计分,评分越高,性生活的感觉与反应越好。CVFSFI 的 Cronbach's  $\alpha$  系数为 0.91,各维度 Cronbach's  $\alpha$  系数为 0.86~0.94,具有较好的信效度和内部一致性。

## 2.2 新一代测序技术(NGS)

新一代测序技术(NGS)<sup>72</sup>可以生成高通量 RNA-seq 数据,深入研究转录组,能够更快速、更准确地为人们提供更多的生物体转录信息,已被广泛应用于医学研究、生物学研究、药物研发和临床研究等领域。

## 2.3 实时定量 PCR 技术

实时定量 PCR 技术(Quantitative Real-time PCR, RT-qPCR)是在 PCR 反应体系中加入荧光基团,通过发生变化的荧光信号对 PCR 扩增反应的每一个循环扩增产物量进行实时监测,最终通过标准曲线和 Ct 值快速检测出目标基因的表达情况。实时定量 PCR 技术由于具有成本低、使用方便、特异性强、无 EB 污染、定量、准确高效等优点,已被应用于病原检测、食品安全和基因表达差异分析等方面。RT-qPCR 可以检测 circRNA 以及 mRNA 的表达强度,RT-qPCR 的结果将有助于阐明循环 circRNA 的可靠性和稳定性,证明其可作为潜在的生物标志物。

# 3、主要试剂

RNAlater、液氮、QIAzol 裂解试剂、Ribo-Zero<sup>TM</sup> Magnetic Kit、Ribonuclease R 酶、NEBNext Ultra RNA 文库制备试剂盒、KAPA 文库定量试剂盒、HiScript<sup>®</sup>III RT SuperMix、琼脂糖、1×TAE 溶液、EB 终结者 Green 凝胶核酸染料、6×DNA loading buffer、PowerUP SYBR Green Master Mix。

# 4、主要仪器

超净工作台、离心机、恒温水浴锅、加样枪、Agilent 2100 生物分析仪、NanoDrop ND-1000 型紫外分光光度计、Illumina HiSeq 2500 V4、电泳仪、PCR 仪、-80℃冰箱、涡旋振荡器、基因扩增仪。

## 二、研究方法

### 1 样本处理

#### 1.1 样本收集

本研究已获得患者知情同意和医院伦理委员会批准，NGS 所用样本均来自南京医科大学附属妇幼保健院美容整形外科行阴道紧缩术的、无其他妇科疾病的女性，在术前使用 CVFSFI 量表进行对所有志愿患者进行 FSFI (Female Sexual Function Index, FSFI) 评分，所有患者均无其他妇科疾病。随机选择 3 名阴道润滑维度单项评分 $<3.9$  者以及 3 名总体评分 $>25$  且 LD 单项评分 $>3.9$  者，手术中在距宫颈口 3~4cm 处取  $1\text{cm} \times 1\text{cm}$  大小的阴道上皮组织，半小时内封存于灭菌冻存管中，做好采集时间、样本号等记录工作，并置于液氮中暂时保存。标本带回至实验中心，经生理盐水冲洗、RNAlater 试剂处理后，立刻置于 $-80^{\circ}\text{C}$  保存，备用。

#### 1.2 RNA 提取

所有样本的总 RNA 均采用符合制造商说明的 QIAzol 裂解试剂 (Tiangen, Beijing) 提取，具体操作步骤按说明书内容进行。使用 Agilent 2100 生物分析仪 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) 评估 RNA 完整性，并使用 NanoDrop ND-1000 型紫外分光光度计 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) 评估 RNA 纯度并测量 RNA 浓度。满足以下要求的总 RNA 样品用于测序实验：RNA 完整性数 (RIN)  $\geq 7.0$  以及 OD 值在 1.8~2.0 之间。RNA 提取完成后立即放置在 $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中储存备用。

## 2 转录组测序

### 2.1 cDNA 文库制备和测序

测序文库由 CapitalBio Technology (Beijing, China) 公司生成并实施测序。在提取总 RNA 后, 采用 Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Epicentre) 对 Total RNA 中的 rRNA 进行分离去除。再使用 Ribonuclease R 酶 (Epicentre) 消化, 去除线性 RNA。每个样品总共使用 3μg RNA。根据 TruSeq 文库制备方案构建 cDNA 文库。使用 NEBNext Ultra RNA 文库制备试剂盒 (NEB, USA) 用于构建测序文库。具体如下: 在 NEBNext 第一链合成反应缓冲液 (5X) 中将 RNA 片段切割成长度约为 200 个碱基对的片段。通过逆转录酶和随机六聚体引物从 RNA 片段合成第一链 cDNA, 然后在第二链合成反应缓冲液中以 dUTP Mix (10x) 合成第二链 cDNA。对该 cDNA 片段的末端进行末端修复过程, 添加单个“A”碱基, 并连接衔接子。通过聚合酶链反应 (PCR) 纯化和富集产物以扩增文库 DNA。最终的文库通过 Agilent 2100 鉴定, 并使用 KAPA 文库定量试剂盒 (KAPA Biosystems, South Africa) 进行定量。最后, 使用 Illumina HiSeq 2500 V4 (Applied Biosystems, USA) 平台对文库进行配对末端测序, 配对末端的碱基对长度为 150 个碱基。将测序结果导出为 FASTQ 格式的文件备用。

### 2.2 测序数据过滤

使用 FastQC 软件评估 fastq 格式的原始数据的测序质量; 使用 NGSQC 软件对原始数据进行过滤, 删除低质量及含 N 高于 5% 的不满足分析标准的 reads, 得到可用于后续比对、统计以及后续分析的 clean reads; 选用人类基因组的 hg19 (UCSC) 基因组作为参考, 使用具有默认参数的 Tophat2 将高质量的纯净读段与参考基因组进行比对。

## 2.3 circRNA 数据分析

### 2.3.1 circRNA 鉴定与注释

使用 CIRI 软件获得 circRNA 的反向剪接点读数。利用 circRNA 数据库与本实验检测到的 circRNA 进行比较，注明 circRNA 是否在 circBase 数据库中有记录。将 circRNA 的反向剪接位点与基因组进行比较，得到 circRNA 在参考基因组上对应的基因信息，基于此信息对 circRNA 进行注释，得到注释文件。

### 2.3.2 circRNA 差异表达分析

使用 SRPBM 软件对样品间 circRNA 的表达量进行归一化，比较不同样品间的 circRNA 的表达量。利用 limma 包进行生物学重复的差异比较，利用 DESeq 包进行没有生物学重复的差异比较。差异 circRNA 筛选标准为： $|\log_2FC| \geq 1$  且  $P \text{ value} \leq 0.05$ 。 $\log_2FC$  即差异表达倍数再取以 2 为底的对数， $\log_2FC \geq 1$  即为上调的差异 circRNA， $\log_2FC \leq -1$  为下调的差异 circRNA。通过筛选 RNABase 数据库，搜索 circRNA 在染色体上的定位，并进行聚类分析。

### 2.3.3 circRNA 结合的 microRNA 预测

circRNA 能够靶向与 microRNA 结合，然后通过 microRNA 间接调节 mRNA。本研究使用 miRanda (<http://cbio.mskcc.org/mirnaviewer/miranda.html>) 对 circRNA-miRNA 相互作用进行了预测。利用该数据库对 circRNA 上的 Micro-RNA 响应元件 (MREs) 进行搜索，并用种子匹配序列筛选 miRNA。

### 2.3.4 GO 和 KEGG 生物途径分析

利用 DAVID 生物信息学资源 6.8 (<https://DAVID.ncifcrf.gov/home.jsp>) 对异常表达的 circRNA 的亲本基因功能进行了研究。Gene Ontology 分析是根据细胞成分 (CC)、分子功能 (MF) 和生物过程 (BP) 构建的对基因和基因产物的注释，将靶基因向 GO 数据库的各节点映射，计算每个节点的基因数目，可提供

基因功能分类标签和基因功能研究的背景知识，发掘与基因差异表达现象关联的单个特征基因功能类或多个特征功能类的组合。KEGG 途径分析则用于确定相关的生物途径，通过建立信号通路和生物功能网络，将差异基因与相关的信号通路进行比较、整合，找出基因之间的相互关系，进行通路动态仿真。并根据统计检验方法 ( $P$  value) 筛选显著差异的代谢通路，以期对基因构建模拟疾病状态的通路网络，对目的基因进行分析，发现目的基因与阴道润滑障碍在生物学通路或生化途径上的关联。计算  $-\log(P \text{ value})$ ，并将其视为表示路径相关性的富集分数。

### 3 RT-qPCR 检测

#### 3.1 引物设计和常规 PCR (R-PCR)

使用 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 设计引物，引物合成由 Realgene (Nanjing, China) 完成，引物序列如表 1 所示。使用 HiScript®III RT SuperMix 引物 (Vazyme, Nanjing) 合成 qPCR (+gDNA-wiper) 互补 DNA (cDNA)。20  $\mu$ L 的 cDNA 反应体系中含有 1  $\mu$ g 总 RNA，反应在 37°C 下进行 15 分钟，85°C 失活 5 秒。用凝胶电泳对扩增产物进行表征。结果表明，扩增产物中只有一条亮带，没有非特异性扩增产物或引物二聚体，分子量等于目标片段的大小。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

| CircRNA          | Forward (5' – 3')        | Reverse (5' – 3')       |
|------------------|--------------------------|-------------------------|
| CBT15_circR_3896 | TGCAAGGCTCTGGCTTCCTA     | ATCTCACAGCCAACCTGTGC    |
| CBT15_circR_6041 | TCAGAAAACAGTTTCAGAGTGGCA | ACACGGCGGTTTGTTCCTC     |
| CBT15_circR_6841 | CCGATCCCACTGAAACCTGTA    | GTGAGGCCATTATGTTCTTTCCA |
| CBT15_circR_136  | TCAGCAGCAGCAGGTGAAAC     | GAGTGACCGTTGAAGGGCAG    |
| CBT15_circR_3691 | TTTTCGCTTGCTGGAGGATGTA   | TTTGGCAGCAGCACAATCAT    |

### 3.2 通过 RT-qPCR 验证差异表达的 circRNA

根据制造商的说明,使用 RNase R (Lucigen, America) 处理总 RNA。使用 RT-qPCR 试剂盒 (Vazyme Biotech, Nanjing) 分别从经 RNase R 消化的总 RNA 和未经消化的总 RNA 合成 cDNA。将 RNase R 处理的 circRNA 水平标准化为未经酶处理的 circRNA 水平。在确保最佳退火温度后,在 Life Tech-ViiA7 系统 (Applied Biosystems, USA) 上进行 RT-qPCR,以测量相关的 circRNA 表达水平。RT-qPCR 反应体系为 20 $\mu$ L,包括 2 $\times$ ChamQ 通用 SYBR-qPCR 主混合物、0.5 $\mu$ mol/L 特异性前向引物、0.5 $\mu$ mol/L 特异性后向引物和 1 $\mu$ L 反转录产物。qPCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 秒, 95 $^{\circ}$ C 变性 40 次 10s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30s, 用溶解曲线测定 qPCR 产物的特异性。以磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算各 circRNA 的相对表达水平。所有数据用 GraphPad Prism 6.0 进行分析,显示为平均值 $\pm$ 标准偏差 (SD)。采用 t 检验分析数据的统计学意义。当 p 值  $<0.05$  时,差异有统计学意义。

### 第三章 实验结果

#### 一、样本收集

本研究选取了 2017 年 10 月至 2018 年 5 月间在我院美容整形外科行阴道紧缩术的、无其他妇科疾病的、通过 SAS, SDS 评估排除心理因素的 53 名女性。使用 CVFSFI 量表对 53 名女性的性功能进行评估, 其中阴道润滑维度单项评分 <3.9 者共 26 名, 总体评分 >25 且 LD 单项评分 >3.9 者共 27 名。两组志愿者在年龄、体重、分娩方式等方面比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。从两组中采用随机数字法各随机选择 3 名作为实验组 (LD) 及对照组 (NC), 于术中获取组织样本。

#### 二、样品总 RNA 质量检测

使用 QIAzol 裂解试剂 (Tiangen, Beijing) 提取总 RNA。Agilent 2100 生物分析仪与 NanoDrop ND-1000 型紫外分光光度计被用于评估总 RNA 的完整性、纯度以及浓度。检测结果显示, RNA 完整性数 (RIN)  $\geq 7.0$ , 6 个样本的 OD 值 (A260/A280) 均在 1.8~2.0 的范围内, 纯度和完整性均较好 (表 2)。

表 2 总 RNA 样品质量

| Sample | Conc. (ng/ul) | A260   | A280   | 260/280 | 260/230 | Constant (uL) |
|--------|---------------|--------|--------|---------|---------|---------------|
| 1_2    | 237.12        | 5.928  | 3.136  | 1.89    | 1.03    | 40            |
| 1_5    | 551.22        | 13.781 | 6.834  | 2.02    | 1.2     | 40            |
| 1_7    | 232.3         | 5.808  | 2.911  | 2.0     | 0.27    | 40            |
| 2_3_A  | 946.15        | 23.663 | 12.68  | 1.87    | 0.93    | 40            |
| 2_3_B  | 1174.6        | 29.365 | 14.97  | 1.96    | 1.16    | 40            |
| 2_4    | 859           | 21.475 | 11.574 | 1.86    | 0.89    | 40            |

Sample: 样品; Conc.: 浓度; A260/A280: RNA 在 260nm/280nm 紫外波长下的吸光度; Constant: 体积



### 三、测序质量控制

样品总 RNA 质量检测达标后，可以用上机测序并获取原始数据。而数据质量下游分析异常重要，所以在进行下游分析之前需要对原始数据进行质控，删除不满足分析标准的 reads，以得到适用于下游数据分析的高质量序列。检测处理后所得 clean reads 数据的 Clean rate、Q20、Q30（表 3）。

表 3 测序数据质量控制情况

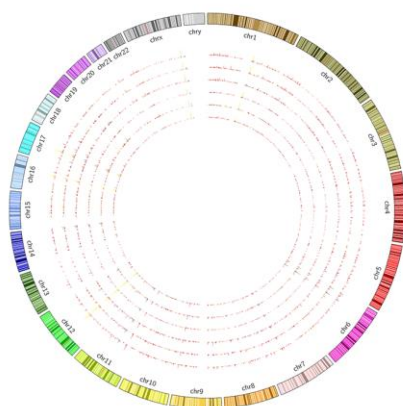
| Sample | Raw reads number | Raw bases   | Clean reads number | Clean bases | Clean rate(%) | Q20(%) | Q30(%) |
|--------|------------------|-------------|--------------------|-------------|---------------|--------|--------|
| 1_2    | 86635348         | 12915619577 | 84486738           | 12603652519 | 97.52         | 98.65  | 95.97  |
| 1_5    | 86643048         | 12929202946 | 84662860           | 12638822524 | 97.71         | 98.58  | 95.74  |
| 1_7    | 83806052         | 12485913713 | 81268916           | 12112139205 | 96.97         | 98.22  | 94.93  |
| 2_3_A  | 86616240         | 12923680374 | 84589438           | 12629908694 | 97.66         | 98.64  | 96.03  |
| 2_3_B  | 86628052         | 12906836395 | 84289666           | 12567168500 | 97.3          | 98.32  | 95.13  |
| 2_4    | 86623556         | 12943598328 | 84581152           | 12645120847 | 97.64         | 98.63  | 96.01  |

Sample: 样品; Raw/Clean reads number: 原始/过滤后序列 (reads) 条数; Raw/Clean bases: 原始/过滤后数据总碱基数; Clean rate (%): 过滤后的总 reads 数占原始数据总 reads 的比例。Q20/30 (%): Clean reads 中, 质量值大于 20/30 的碱基数占总碱基数的比例。

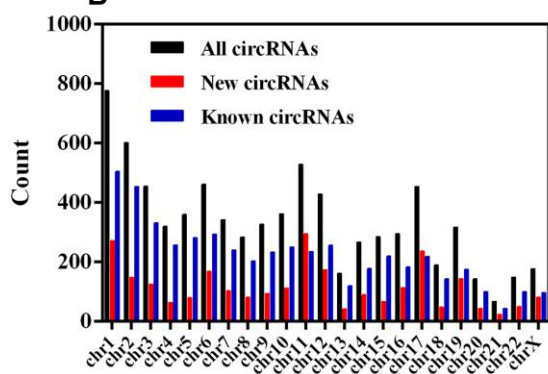
### 四、circRNA 的测序结果

所有样本共检测到 7746 个 circRNA，其中根据 circBase (<http://circrna.org/>) 发现已知 circRNA 共 5097 个，首次检测到的 circRNA 共 2649 个。circos 图（图 1A）描述了来自 LD 组和 NC 组的所有被评估的 circRNA 的注释分析结果。所有 circRNA 亲本基因的分布具体如图 1（B）所示，所有 circRNA 的类别如图 1（C）所示。结果显示，circRNA 的亲本基因分布在所有女性染色体上。两大类 circRNA 在转录本中分别占 65.2%（exon）和 21.3%（in transcript）。

A



B



C

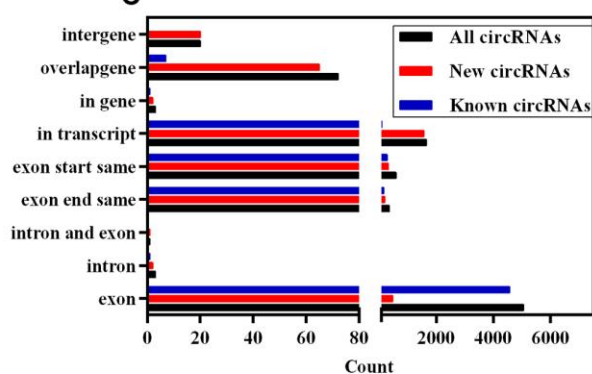
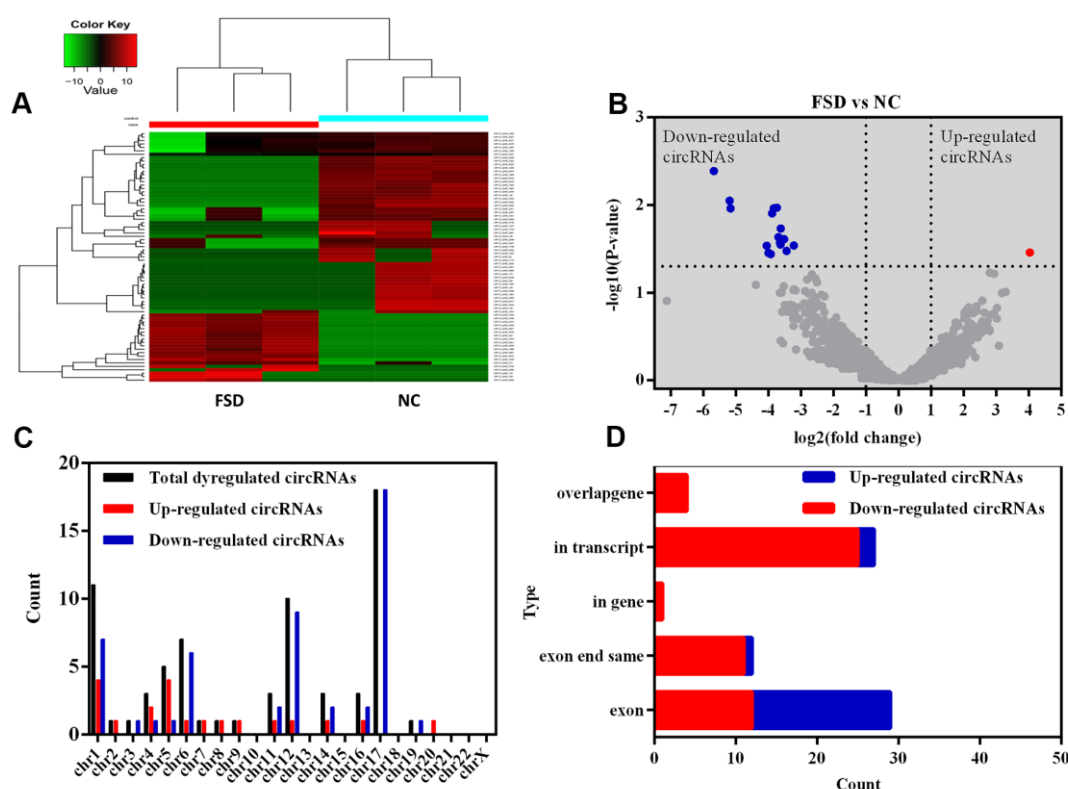


图 1 LD 和 NC 组 circRNA 测序结果。(A) circos: 柱子高度代表 circRNA 的表达式, 颜色代表 circRNA 的类型; (B) circRNA 的亲本基因分布; (C) circRNA 的种类。

## 五、差异表达的 circRNA

聚类分析图展示了差异 circRNA 在 LD 组和 NC 组中的表达水平 (图 2A)。火山图以表达量差异倍数变化 (FC) >2.0 和 p 值 <0.05 的标准来区分 LD 组和 NC 组之间差异表达的 circRNA, 如图 2 (B) 所示。通过聚类分析图和火山图可以相对直观看出 LD 组和 NC 组差异 circRNA 表达情况。分析数据显示, LD 组与 NC 组相比, 共有 73 个 circRNA 差异表达, 其中 53 个下调, 20 个上调。在上调的 circRNA 中, 有 19 个 circRNA 显示有 SRPBM, 而在下调的 circRNA 中,

有 37 个 circRNA 显示没有 SRPBM。表 3 中列举了上调和下调的 circRNA 中差异表达前 20 条 circRNA。由此可以得出结论：LD 组的 circRNA 表达与 NC 组的差异很大。此外，图 2（C）总结了差异表达的 circRNA 的亲本基因分布。图中显示，排在前 3 位的分布是 Chrom 17、Chrom 1 和 Chrom 12，分别占 24.7%、15.1%和 13.7%。图 2（D）描述了差异表达的 circRNA 的类别，大多数上调的 circRNA 主要来源于外显子，而下调的 circRNA 主要在转录本中。



**图 2** 润滑功能障碍患者差异表达 circRNA 分析。(A) 差异 circRNA 聚类分析图：显著上调或下调表达的 circRNA 聚类分析；(B) 差异 circRNA 火山图：根据  $FC > 2.0$  和  $p < 0.05$  标准绘制，横轴表示表达量差异倍数的  $\log_2$  值，纵轴表示差异表达分析中  $P$  value 取负对数后的值；图中红点代表上调显著的 circRNA，蓝点代表下调显著的 circRNA，灰色的点代表无显著差异的 circRNA；(C) 差异表达的 circRNA 亲本基因分布。(D) 下调的 circRNA 种类。

表 4 上调/下调前 20 的 circRNA

| CircRNA    | CircRNA Type    | Regulation | FSD SRPBM | NC SRPBM | FC    | P value  |
|------------|-----------------|------------|-----------|----------|-------|----------|
| circR.1646 | exon            | up         | 1219.77   | 0.00     | N/A   | 8.91E-05 |
| circR.2290 | exon            | up         | 768.73    | 0.00     | N/A   | 1.64E-03 |
| circR.6841 | exon            | up         | 245.58    | 0.00     | N/A   | 8.67E-03 |
| circR.6041 | exon            | up         | 242.77    | 0.00     | N/A   | 9.02E-03 |
| circR.160  | exon            | up         | 2637.13   | 0.00     | N/A   | 9.41E-03 |
| circR.172  | exon            | up         | 3719.41   | 0.00     | N/A   | 1.28E-02 |
| circR.5702 | exon            | up         | 255.41    | 0.00     | N/A   | 1.53E-02 |
| circR.7078 | exon            | up         | 173.88    | 0.00     | N/A   | 2.08E-02 |
| circR.1996 | exon            | up         | 171.13    | 0.00     | N/A   | 2.17E-02 |
| circR.5700 | exon            | up         | 159.70    | 0.00     | N/A   | 2.56E-02 |
| circR.2932 | exon            | up         | 152.54    | 0.00     | N/A   | 2.83E-02 |
| circR.5810 | exon            | up         | 149.70    | 0.00     | N/A   | 3.03E-02 |
| circR.4672 | exon            | up         | 141.66    | 0.00     | N/A   | 3.31E-02 |
| circR.7249 | exon            | up         | 138.05    | 0.00     | N/A   | 3.56E-02 |
| circR.6056 | exon            | up         | 135.77    | 0.00     | N/A   | 3.74E-02 |
| circR.6378 | exon            | up         | 133.05    | 0.00     | N/A   | 3.87E-02 |
| circR.225  | exon start same | up         | 133.32    | 0.00     | N/A   | 3.91E-02 |
| circR.6001 | in transcript   | up         | 125.28    | 0.00     | N/A   | 4.37E-02 |
| circR.4498 | in transcript   | up         | 123.90    | 0.00     | N/A   | 4.56E-02 |
| circR.312  | exon            | up         | 286.93    | 8.96     | 32.02 | 3.47E-02 |
| circR.2289 | in transcript   | down       | 0         | 350.79   | N/A   | 1.27E-04 |
| circR.136  | in transcript   | down       | 0         | 330.68   | N/A   | 1.39E-03 |
| circR.6417 | exon start same | down       | 0         | 258.96   | N/A   | 9.81E-04 |
| circR.3242 | in transcript   | down       | 0         | 214.47   | N/A   | 2.27E-03 |
| circR.3245 | in transcript   | down       | 0         | 206.26   | N/A   | 6.27E-04 |
| circR.1984 | in transcript   | down       | 0         | 140.23   | N/A   | 2.16E-03 |
| circR.1782 | exon end same   | down       | 0         | 126.77   | N/A   | 1.19E-02 |
| circR.1779 | in transcript   | down       | 0         | 126.52   | N/A   | 1.11E-02 |
| circR.3324 | in transcript   | down       | 0         | 113.95   | N/A   | 3.73E-03 |
| circR.1983 | exon start same | down       | 0         | 84.97    | N/A   | 9.54E-03 |
| circR.3289 | overlapgene     | down       | 0         | 82.20    | N/A   | 9.55E-03 |
| circR.2916 | exon            | down       | 0         | 80.67    | N/A   | 1.12E-02 |

|            |                    |      |   |       |     |          |
|------------|--------------------|------|---|-------|-----|----------|
| circR.3276 | exon start<br>same | down | 0 | 79.38 | N/A | 1.12E-02 |
| circR.1967 | in transcript      | down | 0 | 71.53 | N/A | 2.41E-02 |
| circR.142  | exon start<br>same | down | 0 | 69.24 | N/A | 1.57E-02 |
| circR.5592 | in transcript      | down | 0 | 65.90 | N/A | 1.88E-02 |
| circR.3896 | exon               | down | 0 | 62.57 | N/A | 1.93E-02 |
| circR.3282 | in gene            | down | 0 | 59.86 | N/A | 2.28E-02 |
| circR.179  | exon               | down | 0 | 53.58 | N/A | 2.79E-02 |
| circR.5906 | exon               | down | 0 | 53.58 | N/A | 2.79E-02 |

CircRNA Type: circRNA 类型; Regulation: 表达水平 FSD/NC SRPBM: circRNA 在 FSD/NC 组样本中的表达量; FC: 差异倍数

## 六、RT-qPCR 对 circRNA 表达的验证

为了验证预测的差异表达的 circRNA, 我们随机选择 6 个失调 circRNA, 包括 4 个上调 circRNA (CBT15\_circR\_3896; CBT15\_circR\_136; CBT15\_circR\_3691; CBT15\_circR\_3245) 和 2 个下调 circRNA (CBT15\_circR\_6041; CBT15\_circR\_6841) 进行 RT-qPCR 验证。表 5 展示了这六种 circRNA 的表达水平。如图 3 (A) 所示, RT-qPCR 结果与测序结果一致, 因此鉴定 circRNAs 的表达谱是可靠的。此外, 本研究通过琼脂糖凝胶电泳和 Rnase R 消化验证了六种差异表达的 circRNA 的环状特性 (图 3B), 以及所用引物的扩增产物中没有非特异性扩增产物或引物二聚体, 分子量等于目标片段的大小。

表 5 六个随机选择的 circRNA 的基本特征

| CircRNA          | Regulation | P value  | Strand | Symbol   | Chrom |
|------------------|------------|----------|--------|----------|-------|
| CBT15_circR_3896 | down       | 0.019347 | -      | FCGBP    | 19    |
| CBT15_circR_136  | down       | 0.001388 | +      | SPRR1A   | 1     |
| CBT15_circR_3691 | down       | 0.031025 | -      | SERPINB4 | 18    |
| CBT15_circR_3245 | down       | 0.000627 | +      | KRT13    | 17    |
| CBT15_circR_6041 | up         | 0.00902  | +      | MAP3K1   | 5     |
| CBT15_circR_6841 | up         | 0.008675 | -      | RNF216   | 7     |

Strand: circRNA 所在的链信息; Symbol: 参考基因的基因名字; Chrom: circRNA 所在的染色体信息

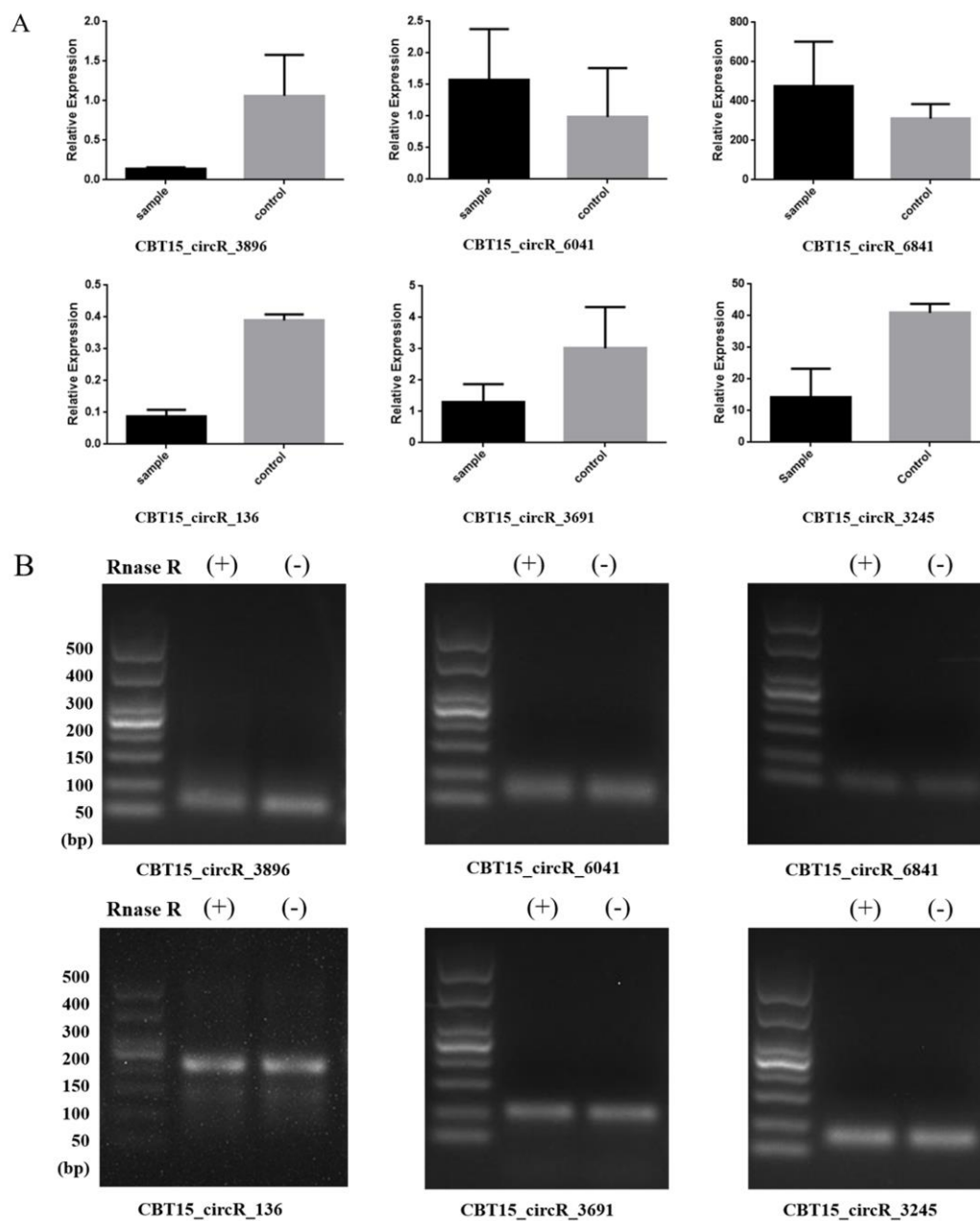


图 3 6 种 circRNA 的表达验证及环状鉴定。(A) RT-qPCR 对 circRNA 表达水平的验证；(B)琼脂糖凝胶电泳对 circRNA 环状的鉴定，条带代表 RT-qPCR 的产物，RNase R(+)/(-)分别代表经/未经 RNase R 处理过的总 RNA。

## 七、circRNA 功能预测分析

Gene Ontology 分析被用于描述差异表达的 circRNA 的生物学功能，包括细胞成分（Cellular component, CC），分子功能（Molecular function, MF）和生物过程（Biological process, BP）三个方面。对于 BP，信号生物过程是基因最多的术语（GO:0044699, count=37），最显著的富集术语是角化（GO:0031424,  $P=2.22E-08$ ），如图 4（A）所示；对于 CC，如图 4（B）所示，基因最多的术语是细胞（GO:0005623, count=39），最显著的富集项是角质化包膜（GO:0001533,  $P=3.48E-07$ ）；对于 MF，如图 4（C）所示，具有最多基因的项是结合（GO:0005488, count=38），最显著的富集项是结构分子活性（GO:0005198,  $P=2.79E-09$ ）。此外，在 KEGG 通路分析中，差异基因共涉及 64 条通路。根据 p 值，前 20 个富集途径如图 4（D）所示。最丰富的途径分别是病毒性心肌炎、HTLV-I 感染、移植排斥反应、自身免疫性甲状腺疾病和致心律失常性右心室心肌病。

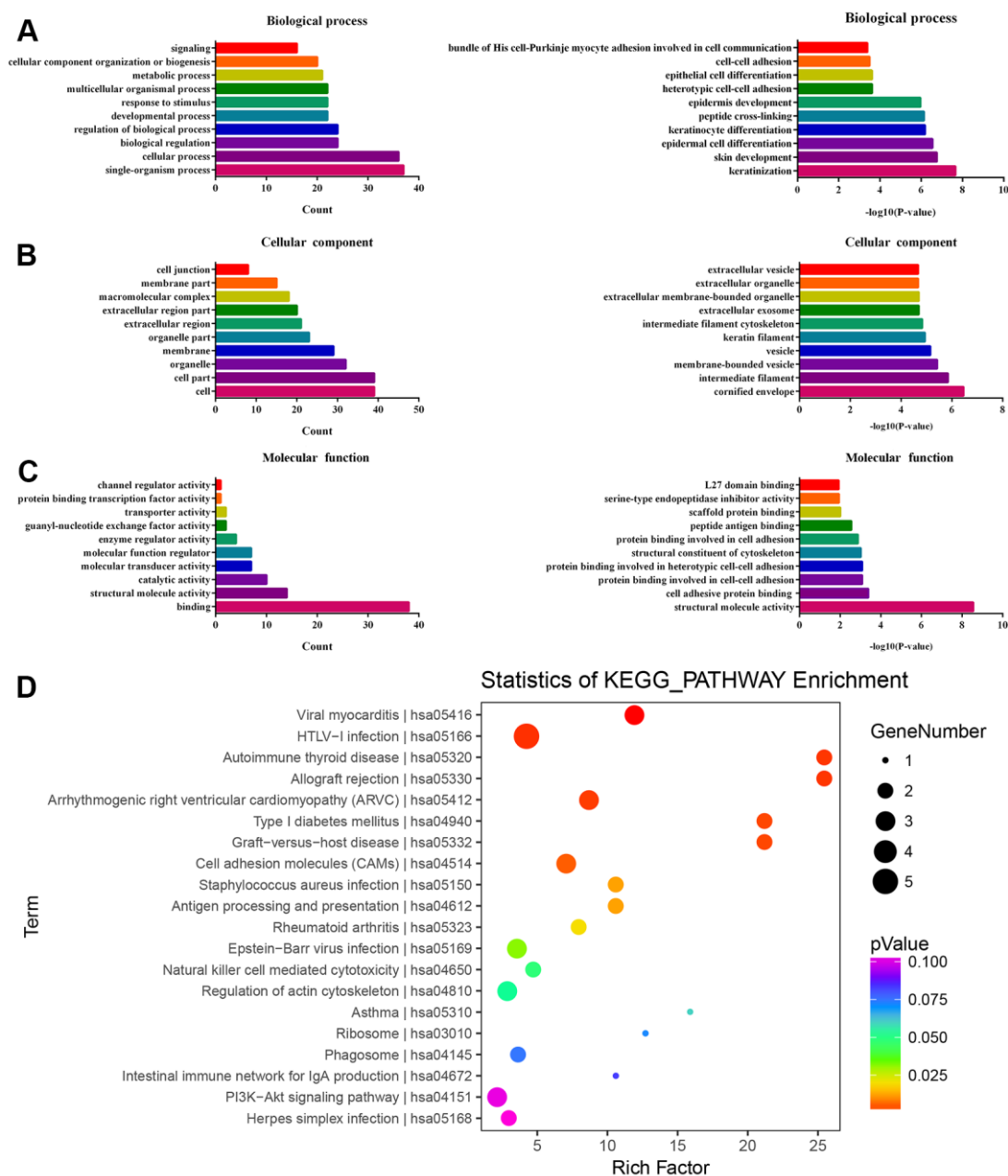


图 4. circRNA 基因注释与功能分类。GO 包括分子功能（MF）、细胞成分（CC）和生物过程（BP）三大类。(A) 差异表达的 circRNA 亲本基因生物过程；(B) 差异表达的 circRNA 亲本基因细胞成分；(C) 差异表达的 circRNA 亲本基因分子功能；(D) 差异表达的 circRNA 亲本基因 KEGG 富集分析。图中仅展示了前 20 条富集的 KEGG 途径。



## 八、circRNA/microRNA 相互作用的预测

据报道, circRNA 能够通过 miRNA 的海绵机制调控基因表达<sup>73</sup>。本研究使用 miRanda 软件根据 MREs 预测了不同 circRNA 与 miRNA 的相互作用关系。结果表明, 2530 个 miRNA 与 73 个差异表达的 circRNA 之间存在相互作用关系, 这表明一些差异表达的 circRNA 具有一个以上的 miRNA 结合位点。如图 5 所示, 我们选择了 34 个 miRNA 与 20 个 circRNA 绘制了差异 circRNA 的靶 microRNA 网络图。其中, 9 个节点数最多的 circRNA 均显著下调。在前期工作当中我们发现 miR-137 在润滑障碍女性的阴道上皮组织中高表达, 通过结合目标预测和检查, 我们确定了 miR-137 可以通过靶向 aquaporin-2 (AQP2) 影响女性阴道润滑功能。同时, 通过体外功能研究我们也证实了 miR-137 在调节阴道上皮细胞水渗透性中的重要作用, 研究结果指出 miR-137 可以作为针对润滑障碍及其相关疾病的治疗目标<sup>74</sup>。在本研究中, hsa-miR-137-5p 被预测到与表 6 中列出的 10 个 circRNA 配对。

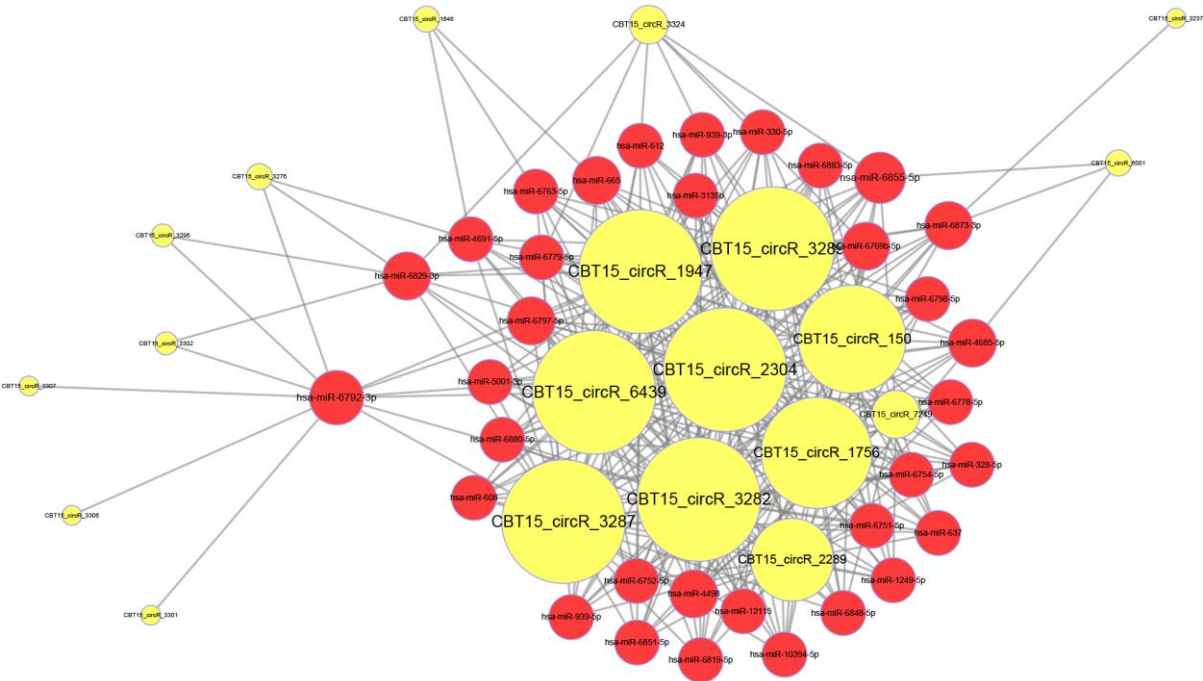


图 5 差异 circRNA 的靶 microRNA 网络图。黄色的点代表差异 circRNA，红色代表 microRNA，节点越大代表与之相连的节点越多。

表 6 10 个与 hsa-miR-137-5p 配对的 circRNA

| CircRNA          | Number of binding sites | Regulation |
|------------------|-------------------------|------------|
| CBT15_circR_136  | 4                       | down       |
| CBT15_circR_2304 | 2                       | down       |
| CBT15_circR_3691 | 2                       | down       |
| CBT15_circR_6439 | 2                       | down       |
| CBT15_circR_99   | 2                       | down       |
| CBT15_circR_1756 | 1                       | down       |
| CBT15_circR_1942 | 1                       | down       |
| CBT15_circR_3896 | 1                       | down       |
| CBT15_circR_5280 | 1                       | down       |
| CBT15_circR_6417 | 1                       | down       |

## 第四章 讨 论

FSD 受多种因素的影响, 其中心理因素占很大比例, 使得生理因素在一定程度上被忽略。LD 是 FSD 的重要组成部分, 严重影响了女性的生活质量<sup>20</sup>。因此, 我们选择阴道上皮组织作为研究对象, 探讨 circRNA 在 LD 发病中的作用, 为进一步了解 LD 发病机制提供依据, 为 LD 的诊断提供新思路。

近年来, 由于 circRNA 在组织或疾病的不同阶段、不同时期普遍存在, 因而越来越受到人们的重视。circRNA 通过剪接因子、RNA 聚合酶 II、核小核糖核蛋白 (snRNP) 和 miRNA<sup>75</sup> 等分子调控 mRNA 的表达。本研究首次建立了 circRNA 与 FSD 的关系, 特别是与阴道润滑障碍的关系, 为该病的发展和发病机制提供了一个新的切入点。本研究首次探讨了女性 FSD 患者阴道上皮组织中 circRNA 的表达谱, 探讨了 circRNA 与 LD 发病的关系。

在对 7746 个 circRNA 进行测序后, LD 组与 NC 组按  $\log FC > 2$ 、 $P \text{ value} < 0.05$  的标准共筛选出 73 个差异表达的 circRNA。结果表明, LD 组与 NC 组的 circRNA 表达谱存在差异。半数以上 (53.4%) 的差异 circRNA 位于 12、1 和 17 号染色体上。我们利用 GO 和 KEGG 途径分析预测了显著差异调节的 circRNA 亲本基因的生物学功能和潜在途径。GO 分析提供了在疾病发展过程中调控 BP、CC 和 MF 的靶基因信息, 本研究中显著差异表达 circRNA 与 BP、CC 和 MF 相关的最显著的富集项分别是角质化、包膜和结构分子活性。KEGG 信号通路分析结果显示, 所有显著差异调节的 circRNA 共涉及 64 条信号通路, 包括“细胞粘附分子”、“肌动蛋白细胞骨架调控”和“PI3K-Akt 信号通路”等。这些途径可能与润滑障碍密切相关。细胞粘附分子是一类调节细胞与细胞、细胞和细胞外基质粘附的糖蛋白。它种类繁多, 功能广泛。它在信号转导<sup>76,77</sup>和细胞通透性<sup>78,79</sup>中起重要作用, 并参与血管舒张<sup>80</sup>。此外, 肌动蛋白细胞骨架的动态重塑是大多数细胞活动的关键部分, 一旦出现功能障碍可能导致多种人类疾病<sup>81</sup>。这些信息对了解 LD 的发生发展及致病机制都给予了一定的启示。

circRNA 作为 miRNA 分子海绵能够有效地结合 miRNA 以调节 miRNA 相关的 mRNA 的表达。在这项研究中,我们发现大多数差异表达的 circRNA 都有一个以上的 miRNA 结合位点。例如,下调的 CBT-circR-u1947 可以与 34 种不同的 miRNA 结合,其中包括具有 13 个结合位点的 hsa-miR-6797-5p 和具有 3 个结合位点的 hsa-miR-6829-3p。因此,我们推测 circRNA 通过调节 miRNA 相关 mRNA 的表达参与疾病的发生和发展。此外,有报道称,以水通道蛋白-2<sup>74</sup> 为靶点的 miR-137 对调节 FSD 患者的阴道润滑功能有一定影响。综上所述, circRNA 参与阴道润滑障碍疾病发生发展的机制仍需也值得进一步的深入探讨。

综上所述,根据 NGS 分析, LD 患者的 circRNA 表达与正常对照组有显著差异。GO 和 KEGG 通路分析表明,这些差异表达的 circRNAs 可能参与了疾病的发生和发展,并进一步预测了它们与 miRNAs 的潜在相互作用。然而,为了进一步了解 circRNA 的作用机制及其如何调控相关基因的表达,还需要更多的探索性实验和机制研究。

## 一、研究的创新之处

迄今为止,国内外尚无 circRNA 在阴道润滑障碍中关于功能与机制的报道,因此本研究具有源头创新性。本研究首次采用 NGS 技术筛选阴道润滑障碍女性阴道上皮组织中差异表达的 circRNA,并进行相关生物信息学分析。该研究结果将为今后深入探讨 circRNA 在阴道润滑功能机制中的生物学功能及作用机制奠定理论基础,并可能为利用基因治疗方法治疗女性性功能障碍提供新的理论线索和潜在的 circRNA 干预靶标。

## 二、研究的局限性

本研究首次揭示了润滑障碍的潜在发病机制,但只分析了 circRNA 在 FSD 中的表达谱,没有进一步证实或提出其具体机制,目前仅有初步的认识,需要更多的研究 circRNA 靶向的 miRNA 的表达,探索 FSD 治疗的靶点。

## 参考文献

- [1] Organization WH. Defining sexual health: Report of a technical consultation on sexual health. *Geneva*. 28–31 January 2002;Geneva.
- [2] Kleinstäuber M. Factors associated with sexual health and well being in older adulthood. *Current opinion in psychiatry*. Sep 2017;30(5):358-368.
- [3] 李芝兰, 薛红丽. 性与生殖健康教育[M]. 兰州: 兰州大学出版社. 2015; 第一版(4-8).
- [4] 李致远. 甘肃省女性性功能障碍患病现状及影响因素研究 [D], 兰州大学; 2018.
- [5] Rohleder P, Flowers P. Towards a psychology of sexual health. Feb 2018;23(2):143-147.
- [6] Isbill K. Thoughts on Sexual Health. *The Permanente journal*. 2018;22:17-188.
- [7] Committee Opinion No 706: Sexual Health. *Obstetrics and gynecology*. Jul 2017;130(1):e42-e47.
- [8] Female Sexual Dysfunction: ACOG Practice Bulletin Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists, Number 213. *Obstetrics and gynecology*. Jul 2019;134(1):e1-e18.
- [9] Clayton AH, Valladares Juarez EM. Female Sexual Dysfunction. *The Medical clinics of North America*. Jul 2019;103(4):681-698.
- [10] McCabe MP, Sharlip ID, Atalla E, et al. Definitions of Sexual Dysfunctions in Women and Men: A Consensus Statement From the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. *The journal of sexual medicine*. Feb 2016;13(2):135-143.
- [11] McCabe MP, Sharlip ID, Lewis R, et al. Incidence and Prevalence of Sexual Dysfunction in Women and Men: A Consensus Statement from the Fourth International Consultation on Sexual Medicine 2015. *The journal of sexual medicine*. Feb 2016;13(2):144-152.
- [12] Ma J, Pan L, Lei Y, Zhang A, Kan Y. Prevalence of female sexual dysfunction in urban chinese women based on cutoff scores of the Chinese version of the female sexual function index: a preliminary study. *The journal of sexual medicine*. Apr 2014;11(4):909-919.
- [13] Laumann EO, Paik A, Rosen RC. Sexual dysfunction in the United States: prevalence and predictors. *Jama*. Feb 10 1999;281(6):537-544.
- [14] Shifren JL, Monz BU, Russo PA, Segreti A, Johannes CB. Sexual problems and distress in United States women: prevalence and correlates. *Obstetrics and gynecology*. Nov 2008;112(5):970-978.
- [15] Hayes RD, Bennett CM, Fairley CK, Dennerstein L. What can prevalence studies tell us about female sexual difficulty and dysfunction? *The journal of*

- sexual medicine*. Jul 2006;3(4):589-595.
- [16] Nicolosi A, Laumann EO, Glasser DB, Moreira ED, Jr., Paik A, Gingell C. Sexual behavior and sexual dysfunctions after age 40: the global study of sexual attitudes and behaviors. *Urology*. Nov 2004;64(5):991-997.
- [17] Sobecki-Rausch JN, Brown O, Gaupp CL. Sexual Dysfunction in Lesbian Women: A Systematic Review of the Literature. *Seminars in reproductive medicine*. Sep 2017;35(5):448-459.
- [18] Khajehei M, Doherty M, Tilley PJ. An update on sexual function and dysfunction in women. *Archives of women's mental health*. Jun 2015;18(3):423-433.
- [19] Lo SS, Kok WM. Sexual functioning and quality of life of Hong Kong Chinese women with infertility problem. *Human fertility (Cambridge, England)*. Dec 2016;19(4):268-274.
- [20] Nappi RE, Cucinella L, Martella S, Rossi M, Tiranini L, Martini E. Female sexual dysfunction (FSD): Prevalence and impact on quality of life (QoL). *Maturitas*. Dec 2016;94:87-91.
- [21] Randall JR, Walld R, Finlayson G, Sareen J, Martens PJ, Bolton JM. Acute risk of suicide and suicide attempts associated with recent diagnosis of mental disorders: a population-based, propensity score-matched analysis. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*. Oct 2014;59(10):531-538.
- [22] Blais RK, Monteith LL, Kugler J. Sexual dysfunction is associated with suicidal ideation in female service members and veterans. *Journal of affective disorders*. Jan 15 2018;226:52-57.
- [23] Ventegodt S. Sex and the quality of life in Denmark. *Archives of sexual behavior*. Jun 1998;27(3):295-307.
- [24] Berman L, Berman J, Felder S, et al. Seeking help for sexual function complaints: what gynecologists need to know about the female patient's experience. *Fertility and sterility*. Mar 2003;79(3):572-576.
- [25] Kleinplatz PJ. History of the Treatment of Female Sexual Dysfunction(s). *Annual review of clinical psychology*. May 7 2018;14:29-54.
- [26] Frank JE, Mistretta P, Will J. Diagnosis and treatment of female sexual dysfunction. *American family physician*. Mar 1 2008;77(5):635-642.
- [27] Meston CM, Freihart BK, Handy AB, Kilimnik CD, Rosen RC. Scoring and Interpretation of the FSFI: What can be Learned From 20 Years of use? *The journal of sexual medicine*. Jan 2020;17(1):17-25.
- [28] Calmasini FB, Klee N, Webb RC, Priviero F. Impact of Immune System Activation and Vascular Impairment on Male and Female Sexual Dysfunction. *Sexual medicine reviews*. Oct 2019;7(4):604-613.
- [29] Rosen R, Brown C, Heiman J, et al. The Female Sexual Function Index

- (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *Journal of sex & marital therapy*. Apr-Jun 2000;26(2):191-208.
- [30] Edwards D, Panay N. Treating vulvovaginal atrophy/genitourinary syndrome of menopause: how important is vaginal lubricant and moisturizer composition? *Climacteric : the journal of the International Menopause Society*. Apr 2016;19(2):151-161.
- [31] Andelloux M. Products for sexual lubrication: understanding and addressing options with your patients. *Nursing for women's health*. Jun-Jul 2011;15(3):253-257.
- [32] Archer DF, Kimble TD, Lin FDY, Battucci S, Sniukiene V, Liu JH. A Randomized, Multicenter, Double-Blind, Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Estradiol Vaginal Cream 0.003% in Postmenopausal Women with Vaginal Dryness as the Most Bothersome Symptom. *Journal of women's health (2002)*. Mar 2018;27(3):231-237.
- [33] Lou WJ, Chen B, Zhu L, et al. Prevalence and Factors Associated with Female Sexual Dysfunction in Beijing, China. *Chinese medical journal*. Jun 20 2017;130(12):1389-1394.
- [34] D'Amati G, di Gioia CR, Proietti Pannunzi L, et al. Functional anatomy of the human vagina. *Journal of endocrinological investigation*. 2003;26(3 Suppl):92-96.
- [35] Shabsigh A, Buttyan R, Burchardt T, et al. The microvascular architecture of the rat vagina revealed by image analysis of vascular corrosion casts. *International journal of impotence research*. Sep 1999;11 Suppl 1:S23-30.
- [36] Traish AM, Botchevar E, Kim NN. Biochemical factors modulating female genital sexual arousal physiology. *The journal of sexual medicine*. Sep 2010;7(9):2925-2946.
- [37] Pastor Z, Chmel R. Differential diagnostics of female "sexual" fluids: a narrative review. *International urogynecology journal*. May 2018;29(5):621-629.
- [38] Sun Q, Huang J, Yang DL, Cao XN, Zhou WL. Activation of  $\beta$ -adrenergic receptors during sexual arousal facilitates vaginal lubrication by regulating vaginal epithelial Cl(-) secretion. *The journal of sexual medicine*. Aug 2014;11(8):1936-1948.
- [39] Gorodeski GI. Aging and estrogen effects on transcervical-transvaginal epithelial permeability. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Jan 2005;90(1):345-351.
- [40] Narita K, Takeda S. Cilia in the choroid plexus: their roles in hydrocephalus and beyond. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2015;9:39.
- [41] Bednar AD, Beardall MK, Brace RA, Cheung CY. Differential expression and

- regional distribution of aquaporins in amnion of normal and gestational diabetic pregnancies. *Physiological reports*. Mar 2015;3(3).
- [42] Kleinplatz PJ. History of the Treatment of Female Sexual Dysfunction(s). *Annual review of clinical psychology*. 2018;14(1):29-54.
- [43] Miller MK, Smith JR, Norman JJ, Clayton AH. Expert opinion on existing and developing drugs to treat female sexual dysfunction. *Expert opinion on emerging drugs*. Sep 2018;23(3):223-230.
- [44] González M, Viáfara G, Caba F, Molina E. Sexual function, menopause and hormone replacement therapy (HRT). *Maturitas*. Aug 20 2004;48(4):411-420.
- [45] Jannini EA, Buisson O, Rubio-Casillas A. Beyond the G-spot: clitorurethrovaginal complex anatomy in female orgasm. *Nature reviews. Urology*. Sep 2014;11(9):531-538.
- [46] Lo Monte G, Graziano A, Piva I, Marci R. Women taking the "blue pill" (sildenafil citrate): such a big deal? *Drug design, development and therapy*. 2014;8:2251-2254.
- [47] Gao L, Yang L, Qian S, Li T, Han P, Yuan J. Systematic review and meta-analysis of phosphodiesterase type 5 inhibitors for the treatment of female sexual dysfunction. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. May 2016;133(2):139-145.
- [48] Kielbasa LA, Daniel KL. Topical alprostadil treatment of female sexual arousal disorder. *The Annals of pharmacotherapy*. Jul-Aug 2006;40(7-8):1369-1376.
- [49] Pacher P, Mabley JG, Liaudet L, et al. Topical administration of a novel nitric oxide donor, linear polyethylenimine-nitric oxide/nucleophile adduct (DS1), selectively increases vaginal blood flow in anesthetized rats. *International journal of impotence research*. Dec 2003;15(6):461-464.
- [50] Allahdadi KJ, Tostes RC, Webb RC. Female sexual dysfunction: therapeutic options and experimental challenges. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*. Oct 2009;7(4):260-269.
- [51] Pickar JH, Boucher M, Morgenstern D. Tissue selective estrogen complex (TSEC): a review. *Menopause (New York, N.Y.)*. Sep 2018;25(9):1033-1045.
- [52] Hsu MT, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. *Nature*. Jul 26 1979;280(5720):339-340.
- [53] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function. *RNA (New York, N.Y.)*. Dec 2014;20(12):1829-1842.
- [54] Wilusz JE. A 360° view of circular RNAs: From biogenesis to functions. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA*. Jul 2018;9(4):e1478.
- [55] Lyu D, Huang S. The emerging role and clinical implication of human exonic



- circular RNA. *RNA biology*. Aug 3 2017;14(8):1000-1006.
- [56] Li X, Yang L, Chen LL. The Biogenesis, Functions, and Challenges of Circular RNAs. *Molecular cell*. Aug 2 2018;71(3):428-442.
- [57] Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, Ebbesen KK, Hansen TB. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. Nov 2019;20(11):675-691.
- [58] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*. Mar 21 2013;495(7441):333-338.
- [59] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*. Mar 21 2013;495(7441):384-388.
- [60] Hentze MW, Preiss T. Circular RNAs: splicing's enigma variations. *The EMBO journal*. Apr 3 2013;32(7):923-925.
- [61] Piwecka M, Glažar P, Cerda Jara CA, et al. Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. Sep 22 2017;357(6357).
- [62] Hsiao KY, Lin YC, Gupta SK, et al. Noncoding Effects of Circular RNA CCDC66 Promote Colon Cancer Growth and Metastasis. *Cancer research*. May 1 2017;77(9):2339-2350.
- [63] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, Sanoff HK, Wang Z, Sharpless NE. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk. *PLoS genetics*. Dec 2 2010;6(12):e1001233.
- [64] Zhong Z, Lv M, Chen J. Screening differential circular RNA expression profiles reveals the regulatory role of circTCF25-miR-103a-3p/miR-107-CDK6 pathway in bladder carcinoma. *Scientific reports*. Aug 3 2016;6:30919.
- [65] Correa-Medina M, Bravo-Egana V, Rosero S, et al. MicroRNA miR-7 is preferentially expressed in endocrine cells of the developing and adult human pancreas. *Gene expression patterns : GEP*. Apr 2009;9(4):193-199.
- [66] Liu Y, Yang Y, Wang Z, et al. Insights into the regulatory role of circRNA in angiogenesis and clinical implications. *Atherosclerosis*. Apr 2020;298:14-26.
- [67] Sun J, Zhang Z, Yang S. Circ\_RUSC2 upregulates the expression of miR-661 target gene SYK and regulates the function of vascular smooth muscle cells. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*. Dec 2019;97(6):709-714.
- [68] Xi X, Zou Q, Wei Y, et al. Dynamic Changes of DNA Methylation and Transcriptome Expression in Porcine Ovaries during Aging. 2019;2019:8732023.
- [69] Jia W, Xu B, Wu J. Circular RNA expression profiles of mouse ovaries during

- postnatal development and the function of circular RNA epidermal growth factor receptor in granulosa cells. *Metabolism: clinical and experimental*. Aug 2018;85:192-204.
- [70] Zhang L, Liu X, Che S, et al. CircRNA-9119 regulates the expression of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) by sponging miR-26a in the endometrial epithelial cells of dairy goat. *Reproduction, fertility, and development*. Nov 2018;30(12):1759-1769.
- [71] Sun X, Li C, Jin L, Fan Y, Wang D. Development and validation of Chinese version of female sexual function index in a Chinese population-a pilot study. *The journal of sexual medicine*. Apr 2011;8(4):1101-1111.
- [72] Pinto AM, Ariani F, Bianciardi L, Daga S, Renieri A. Exploiting the potential of next-generation sequencing in genomic medicine. *Expert review of molecular diagnostics*. Sep 2016;16(9):1037-1047.
- [73] Fu L, Yao T, Chen Q, Mo X, Hu Y, Guo J. Screening differential circular RNA expression profiles reveals hsa\_circ\_0004018 is associated with hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. Aug 29 2017;8(35):58405-58416.
- [74] Zhang H, Liu T, Zhou Z, et al. miR-137 Affects Vaginal Lubrication in Female Sexual Dysfunction by Targeting Aquaporin-2. *Sexual medicine*. Dec 2018;6(4):339-347.
- [75] Sui W, Shi Z, Xue W, et al. Circular RNA and gene expression profiles in gastric cancer based on microarray chip technology. *Oncology reports*. Mar 2017;37(3):1804-1814.
- [76] Dalva MB, McClelland AC, Kayser MS. Cell adhesion molecules: signalling functions at the synapse. *Nature reviews. Neuroscience*. Mar 2007;8(3):206-220.
- [77] Ponta H, Sherman L, Herrlich PA. CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nature reviews. Molecular cell biology*. Jan 2003;4(1):33-45.
- [78] Vaish V, Zhang Q, Khare S. Tu1248 Ursodeoxycholic Acid Modulates Cell-Cell Adhesion Molecules to Reduce the Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 05/01 2014;146:S-794.
- [79] Quispe Calla NE, Vicetti Miguel RD, Glick ME, Kwiek JJ, Gabriel JM, Cherpes TL. Exogenous oestrogen inhibits genital transmission of cell-associated HIV-1 in DMPA-treated humanized mice. Jan 2018;21(1).
- [80] Tuzcu ZB, Asicioglu E, Sunbul M, Ozben B, Arikan H, Koc M. Circulating endothelial cell number and markers of endothelial dysfunction in previously preeclamptic women. *American journal of obstetrics and gynecology*. Oct 2015;213(4):533.e531-537.
- [81] Lee SH, Dominguez R. Regulation of actin cytoskeleton dynamics in cells. *Molecules and cells*. Apr 2010;29(4):311-325.

## 综述

### 产后性功能障碍的研究进展

**【摘要】** 目前全球超过一半的女性正在经历性健康不良问题的困扰，越来越多的研究开始关注女性的性功能障碍，尤其是产后性功能障碍的发生机制和治疗方法。由于产后生理、解剖结构等的改变，产后性功能障碍被指出受到分娩方式、会阴创伤程度、母乳喂养、激素及心理因素变化等多种因素的影响；随之盆底肌肉锻炼、电刺激理疗、心理治疗等在内多种治疗方式也逐渐被发现。现针对产后性功能障碍的病因、分类、诊断和治疗的研究进展进行综述。

**【关键词】** 产后；性功能障碍；盆底肌功能障碍

女性性功能障碍（female sexual dysfunction: FSD）是指女性个体在性反应周期中的一个或几个阶段发生障碍或出现与性交有关的疼痛，而不能参与或不能达到其所预期的性关系，造成心理痛苦<sup>1,2</sup>。女性性功能障碍包括性欲低下、性唤起障碍、性交疼痛或性交困难以及性高潮障碍<sup>3</sup>。近年来，越来越多的研究证实了 FSD 的普遍性，同时对 FSD 的研究已经从一般人群中的患病率估计扩大到对特定患者亚群的研究，包括产后妇女、患有妇科癌症、糖尿病、艾滋病和心脏病等的妇女<sup>4,5</sup>。由于分娩会导致女性机体发生一系列解剖结构和生理的改变<sup>6</sup>，因此产后女性性功能障碍的问题也随之而来。然而鉴于产后女性的特殊身体机体状态，产后 FSD 虽然对产妇及其性伴侣的性生活质量产生重要影响<sup>5,7</sup>，却由于社会不够重视、传统文化加持、患者缺乏求医途径等原因使得产后 FSD 未得到合理的诊断和治疗。此外，由于产后 FSD 导致的产后性生活质量下降，夫妻间出现的情感及精神问题，不仅影响着家庭的和谐关系，也危及社会的稳定状态<sup>5</sup>。因此，产后 FSD 值得引起医学界的重视与研究，以便有力解决一直以来困扰广大女性的问题。

## 1. 流行病学

女性产后性功能障碍的发生率在世界范围内存在一定差异，从剖宫产的 5-35% 到会阴切开术后经阴道分娩的 40-80%<sup>8</sup>。一项英国的研究表明，产后 3 个月内发生性功能障碍的女性占 41-83%，到产后 6 个月时下降到 64%，而孕前这一比率仅为 38%<sup>9,10</sup>。初产妇在产后一年盆底功能障碍相关的 FSD 患病率高达 58%<sup>11</sup>。一项纳入了 530 位产后 2-12 个月产妇的土耳其研究表明其中 74.3% 的产妇存在产后性功能障碍<sup>12</sup>。另一项澳大利亚的研究对产妇产后 12 个月内的性功能进行了全面的调查发现 64.3% 的女性经历过不同形式的性功能障碍，尤其是产后 5 个月内<sup>2</sup>。泰国学者 Chayachinda 等人的研究纳入了 190 位产妇，研究结果发现性功能障碍在产后 3 个月时的发生率为 66.7%，产后 6 个月时下降到 31%，产后一年性功能障碍的发生率为 14.9%<sup>13</sup>。由此可见，产后性功能障碍普遍存在于世界各个地区的产妇中，因此对产后 FSD 的病因、诊断和治疗等问题进行探究就显得尤为重要。

## 2. 病因

女性产后性功能障碍受生理因素、产后激素水平变化、心理精神方面的变化、社会文化和伦理道德问题以及宗教信仰等在内的许多因素的影响，进而使得女性产后生活质量降低<sup>2,10,12</sup>。这些变化主要表现在会阴不同程度的撕裂、产后雌孕激素水平降低等内分泌水平的变化以及由于营养丰富而少动导致的体态肥胖等。

### 2.1 分娩方式

当前对于分娩方式对产妇产后性功能障碍是否有影响仍具争议。有研究表明分娩方式对女性产后性功能没有影响，而另一些研究则报告说剖宫产妇女的性交困难相对较少<sup>14</sup>。Kahramanoglu 等人的前瞻性研究提示不论是采用剖宫产还是自然分娩的方式，在保留正常性功能方面并无明显差别，分娩后 6 个月的性功能与孕前相似<sup>15</sup>。而 Fan 等人对生产方式和我国初产妇产后性功能关系分析

的荟萃分析结果发现生产方式对产后性功能并无明显影响<sup>16</sup>。此外, McDonald 等人的多中心前瞻性队列研究显示紧急剖宫产的产妇在产后 18 个月时遭受性交困难的几率也相对较高<sup>17</sup>。该研究的结果同时还揭露了在产后 6 个月时, 产钳助产下的生产与性交困难有关, 而选择剖宫产的产妇则发生性交困难的几率并不大。Lurie 等人对产后 4-6 周的顺产的女性与剖宫产的女性进行比较, 发现前者虽然性欲较低, 但性满意度却相对较高<sup>18</sup>。因此, 若因担心产后性功能障碍而选择剖宫产的方式仍需慎重, 而生产方式究竟对产后性功能影响如何也需更进一步研究。此外, 由于当前研究普遍缺乏长期的产后随访, 所以长期的产后随访在未来也是必要的。

## 2.2 会阴创伤

盆底肌肉的张力、强度和收缩能力在性交过程中对高潮时的肌肉反应和双方愉悦感的作用至关重要<sup>19</sup>, 因为它在一定程度上能够改善性唤起的程度并改善性高潮的体验<sup>20</sup>。而产后下生殖道的解剖学改变可能会给产妇及其性伴侣带来一定的影响。会阴撕裂伤在欧洲的报道发生率为 1-3%, 而在美国的发生率为 2.2-19%<sup>21</sup>。经阴道分娩在一定程度上增加了会阴撕裂伤发生的可能, 而与未发生会阴撕裂伤的产妇相比, 有会阴撕裂伤的产妇产后性交疼痛的发生率相对增加了 270%<sup>6</sup>。经阴道分娩的产妇由于会阴切开术也增加了严重盆底损伤的几率<sup>6</sup>, 同时行会阴切开术的产妇性交疼痛较会阴撕裂伤的产妇发生率更高<sup>6</sup>。而严重的会阴撕裂伤除了导致产后性生活恢复时间较轻症会阴撕裂伤长<sup>22</sup>, 还会导致产后 FSD 发生率较轻症会阴撕裂伤者高<sup>22,23</sup>。

## 2.3 激素变化和母乳喂养

由于怀孕期间高水平性腺激素的迅速解除导致产后女性雌孕激素的迅速降低<sup>24</sup>, 产后母体本身激素水平会发生改变, 而母乳喂养则可能通过改变激素水平而影响母体产后性功能的状况。虽然母乳喂养一直是产科和儿科都提倡的一种喂养方式<sup>25</sup>, 但母乳喂养可能进一步加重母体孕激素、雌激素以及雄激素低水平

的影响<sup>26,27</sup>，而低性激素水平与低性欲是相关的<sup>28,29</sup>。然而一项纳入 576 位产妇的大型研究却并未发现母乳喂养会明显影响女性的性功能以及体验度<sup>30</sup>；但另一项纳入了 366 名产妇的研究则表明母乳喂养的女性性功能得分较非母乳喂养的女性高<sup>31</sup>；更有研究者表示母乳喂养是产妇产后性功能障碍的危险因素之一<sup>32,33</sup>。

## 2.4 心理因素

产后心理问题主要表现为产妇抑郁，产后抑郁的患病率估计在 13-19%，且对激素变化敏感<sup>34</sup>，而产后抑郁会对女性产后性功能障碍产生影响<sup>35</sup>。一项为期两年的纵向研究表明，产后 24 个月性功能障碍是产妇产后抑郁的危险因素<sup>36</sup>，这表明产后抑郁有可能会加重产后性功能障碍的程度。此外，产后激素水平迅速下降会增加女性产后抑郁症的发病率<sup>24,27</sup>。因此，临床医生在诊治过程中需要重视心理因素对产后 FSD 的影响。

除了以上提到的四个方面，包括孕前性交困难、真空抽吸、初产妇以及产妇疲劳程度等也同样被发现是产后性功能障碍的潜在危险因素<sup>10,17,37</sup>，亟待更多的研究来证明。

## 3. 分类

女性产后性功能障碍尚无统一的分类方法。可以按照症状表现分为临床表现，通常有性欲低下、性唤醒障碍、性交疼痛或性交困难以及性高潮障碍<sup>3,38</sup>。具体简述如下：

### 3.1 性欲低下

女性性欲低下的基本特征是性幻想和性欲望的缺乏或缺失，从而导致明显的痛苦或人际交往困难<sup>27</sup>。在产后期间，相对较低的雌激素水平以及母乳喂养所致泌乳素水平的增加，除了对性欲有抑制作用外，还会导致阴道干燥、性交困难以及性欲降低<sup>27</sup>，而泌乳素的水平又会反过来抑制卵巢功能，导致雌激素和雄激素水平可能进一步下降。这些因素综合使得产后女性性欲表现为低下。

### 3.2 性唤醒障碍

性唤醒障碍是指以生殖器血管充血、生殖器和乳头敏感性增加等唤醒症状为特征的主观唤醒感觉的缺乏<sup>39</sup>。性唤醒障碍导致的痛苦与羞耻感、孤立感和自杀意念相关<sup>39</sup>，而这会对家庭及社会造成一定程度的影响。由于分娩，产后的产妇刚经历生理以及心理的改变，尤其是激素水平难以恢复的暂时性改变<sup>28,29</sup>，这就可能会造成性唤醒障碍的问题。

### 3.3 性交疼痛或性交困难

产后性交疼痛或性交困难是指夫妻性交时感到的不适甚至疼痛感，从而导致性交难以进行，包括产后心理因素及激素水平的改变均可能会导致产后性交疼痛或性交困难的发生<sup>40</sup>。例如：低雌激素状态可导致阴道润滑和血管充血减少以及阴道上皮萎缩，在没有额外的性刺激的情况下阴道润滑不足可能会导致性交不适甚至疼痛等进而导致性交难以持续<sup>40</sup>；此外，产后会阴撕裂等产科并发症也会导致产后性交疼痛或困难。性交疼痛或困难的高发（尤其是在初产妇）及其对产后夫妻生活质量的影响，提示有必要对孕妇特别是初产妇产后性行为进行进一步的调查和广泛的咨询<sup>40</sup>。

### 3.4 性高潮障碍

女性性高潮障碍是指正常的性兴奋阶段后持续或反复延迟性高潮或性高潮缺失<sup>41</sup>。目前认为女性性功能高潮障碍主要是由生理和心理因素等的主客观因素所共同导致的<sup>38,41</sup>，而产后女性心理发生的一系列变化更可能加重这种障碍，导致痛苦心理的持续延续。然而由于其具体因素不明，因此女性性高潮障碍被认为是难以治疗的<sup>42</sup>；此外，产后初期经阴道产的产妇可能由于阴道紧致程度的改变也会导致性高潮的难以到达。一项研究表明患有女性性功能高潮障碍的女性阴蒂感觉下降，而感觉缺陷和觉醒障碍可能是导致其患性功能高潮障碍的因素之一<sup>42</sup>。

## 4. 诊断

对于产后性功能障碍，目前尚无统一的诊断标准，大多数还是采用 FSD 的诊断方法。和 FSD 一样，对于产后 FSD 的评估存在着病人主诉少、诊断困难、缺乏求医途径和治疗方案选择有限的困难<sup>43</sup>。尽管性健康是初级保健的一个重要组成部分，但大多数医生很难开口询问并收集患者的性史<sup>44</sup>。目前临床研究中已经有部分的量表和问卷可以用于评估女性性功能，如女性性功能指数量表（Female Sexual Function Index, FSFI），但多数情况下主要应用于研究当中<sup>45</sup>。

女性性功能量表由 Rosen 等<sup>46</sup>于 2000 年在 DSM-IV 和 ICD-10 中描述的模型的基础上制定，它是一个包含 19 个项目的多维自我报告测量工具，量化了 FSD 的包括欲望、唤醒、润滑、性高潮、满足感和疼痛在内的六个领域。2010 年，通过检查 FSFI-19 各项的受试者工作特征曲线，筛选出 6 个项目开发了一个包含 6 个项目的版本（FSFI-6）来测量 FSD<sup>47</sup>。FSFI-19 和 FSFI-6 已近被作为 FSD 的筛查工具以及在临床试验中作为结果衡量标准而广泛用于临床实践。目前 FSFI-19 已被翻译成包括中文<sup>48</sup>在内的 33 种语言。

此外，研究发现在临床实践中，医生还可以通过盆腔检查来发现患者是否存在激素水平降低、感染、盆底肌肉低张或高张、粘连和疼痛等问题<sup>49</sup>。虽然也一些专家主张可以通过检测绝经后妇女或性欲下降的妇女的荷尔蒙水平来辅助诊断，但荷尔蒙水平与性功能之间并没有可靠的相关性<sup>50</sup>。

## 5. 治疗

尽管女性产后性功能障碍发病率较高，但仅有一小部分女性能够得到有效治疗<sup>2</sup>，因为目前尚无针对产后性功能障碍的特殊治疗；并且由于产后特殊情况，大部分遭受产后性功能障碍的女性由于哺乳的原因均不会采用药物治疗的方式，而非药物治疗的方式主要包括盆底肌功能锻炼、电刺激理疗、心理治疗、使用阴道润滑剂、生活方式的改变、身体形象的改善等<sup>37</sup>。



## 5.1 盆底肌功能锻炼

由于历经分娩，女性盆底肌肉功能及状态的相对改变使得其暂时难以恢复产前的状态，在初产妇更是如此<sup>51</sup>。因此，致力于通过改变盆底肌肉状态的盆底肌肉运动的研究层出不穷。一项研究纳入了 79 名产后 8 周的产妇，她们被随机分配为干预组和实验组，实验组产妇经 8 周的盆底肌肉锻炼，其后的评价结果表明经过 8 周的盆底肌肉锻炼能够在一定程度上改善女性的性功能<sup>52</sup>；另一项纳入了 12 篇研究性论文的荟萃分析表明通过盆底肌肉的锻炼确实能够改善女性产后性功能体验较差的状况<sup>53</sup>。然而该荟萃分析的缺陷在于缺乏高质量研究文献的纳入，同时文献中使用的方法也不尽相同，这使得文献之间存在着较高的异质性，而这些都可能会对报告结果产生影响。除了正向作用外，也有研究报道盆底肌肉锻炼对女性性功能障碍并无显著改善。一项来自于挪威的随机对照试验对产后 6 个月有性功能障碍相关的阴道症状的初产妇经盆底肌肉锻炼后，虽然实验组女性出现阴道感觉松弛的几率要低 45%，但是其产后性功能障碍的症状并未得到显著改善<sup>54</sup>。因此，盆底肌肉锻炼的效果仍需大型前瞻性试验加以验证。

## 5.2 电刺激理疗

另外一部分研究重点关注了电刺激理疗这一特殊的治疗方式。中南大学湘雅三院的研究人员探讨了手法治疗结合电刺激和生物反馈治疗产后性功能障碍的可能性。其治疗结果显示手法治疗结合电刺激和生物反馈能有效促进产后女性功能障碍的恢复，提高产后性功能障碍患者的性生活质量<sup>55</sup>。然而另一项关于手法治疗结合电刺激和生物反馈治疗的多中心前瞻性随机对照试验虽然提示产后早期神经肌肉电刺激和生物反馈治疗能明显改善盆底电生理指标，但是对女性产后性生活状况并无明显改善<sup>56</sup>。Wallace 等人通过对近期盆底理疗的研究文献进行整合后发现盆底理疗对性功能障碍是有益处的<sup>57</sup>。综上所述，电刺激治疗一方面治疗方案标准差异很大，另一方面其长期应用的有效性仍需要进行大规模的实验来验证。

### 5.3 心理治疗

产后性功能障碍的心理治疗研究目前较少涉及，而且当前产后心理治疗主要针对有产后抑郁的女性。这可能是由于产后女性即使存在性功能障碍等不适，也较少求助于心理医生所导致。一项人际心理治疗产后抑郁的研究表明，心理治疗在治疗产后抑郁的同时，也改善了女性产后性功能障碍的状况<sup>58</sup>。这提醒临床医生在治疗女性产后功能障碍的同时也应该要注意女性产后抑郁的情况。

### 5.4 其他

最近，有研究者提出了通过妇女产后性健康计划(Women's Postpartum Sexual Health Program: WPSHP)来改善女性产后性功能障碍的状况。WPSHP 是指一个由一家家庭医疗中心的跨学科护理团队提供的以小组和夫妇为基础的四期项目，专门针对产后妇女和她们的伴侣共同关心的问题而设计的治疗方法<sup>59</sup>。Zamani 等人通过 WPSHP 证实了该计划确实能提高产后夫妻双方的性满意度<sup>60</sup>。

此外，润滑液的使用、改变生活方式以及改善身体形象可能也在一定程度上解决女性性功能障碍的问题。

## 6. 总结

分娩对女性来说是一种巨大的创伤，而产妇分娩方式的选择、会阴创伤的程度、母乳喂养、激素水平等的改变均会导致产后 FSD。产后 FSD 主要表现为性欲低下、性唤起障碍、性交疼痛或性交困难以及性高潮障碍等问题，使得产妇身心俱疲。虽然产后 FSD 的发病率一直居高不下，却由于产妇产后行动不便、社会文化因素、就医困难等使其并未得到有效解决。当前对于产后 FSD 的治疗方式包括盆底肌功能锻炼、电刺激理疗、心理治疗以及 WPHSP 等，但这些方法都未能有效解决当前产后 FSD 的问题。因此，未来需要更多的研究去探讨产后 FSD 的病因及治疗等各方面显得十分必要。

## 参考文献

- [1] Haylen BT, de Ridder D, Freeman RM, Swift SE, Berghmans B, Lee J, Monga A, Petri E, Rizk DE, Sand PK, Schaer GN. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *International urogynecology journal* 2010, 21(1): 5-26.
- [2] Khajehei M, Doherty M, Tilley PJ, Sauer K. Prevalence and risk factors of sexual dysfunction in postpartum Australian women. *The journal of sexual medicine* 2015, 12(6): 1415-1426.
- [3] IsHak WW, Tobia T. DSM-5 Changes in Diagnostic Criteria of Sexual Dysfunctions. *Reprod Sys Sexual Disorders* 2013, 2(2): 122.
- [4] Rogers RG, Leeman LL. Postpartum genitourinary changes. *The Urologic clinics of North America* 2007, 34(1): 13-21.
- [5] Nappi RE, Cucinella L, Martella S, Rossi M, Tiranini L, Martini E. Female sexual dysfunction (FSD): Prevalence and impact on quality of life (QoL). *Maturitas* 2016, 94: 87-91.
- [6] Khajehei M, Doherty M, Tilley PJ. An update on sexual function and dysfunction in women. *Archives of women's mental health* 2015, 18(3): 423-433.
- [7] Khajehei M, Ziyadlou S, Safari RM, Tabatabaee H, Kashefi F. A comparison of sexual outcomes in primiparous women experiencing vaginal and caesarean births. *Indian J Community Med* 2009, 34(2): 126-130.
- [8] Barrett G, Pendry E, Peacock J, Victor C, Thakar R, Manyonda I. Women's sexual health after childbirth. *BJOG* 2000, 107(2): 186-195.
- [9] Gutzeit O, Levy G, Lowenstein L. Postpartum Female Sexual Function: Risk Factors for Postpartum Sexual Dysfunction. *Sexual medicine* 2020, 8(1): 8-13.
- [10] Durnea CM, Khashan AS, Kenny LC, Tabirca SS, O'Reilly BA. The role of prepregnancy pelvic floor dysfunction in postnatal pelvic morbidity in primiparous women. *International urogynecology journal* 2014, 25(10): 1363-1374.
- [11] Alp Yilmaz F, Avci D, Arzu Aba Y, Ozdilek R, Dutucu N. Sexual Dysfunction in Postpartum Turkish Women: It's Relationship with Depression and Some Risk Factors. *African journal of reproductive health* 2018, 22(4): 54-63.
- [12] Chayachinda C, Titapant V, Ungkanungdech A. Dyspareunia and sexual dysfunction after vaginal delivery in Thai primiparous women with episiotomy. *The journal of sexual medicine* 2015, 12(5): 1275-1282.

- [13] Hicks TL, Goodall SF, Quattrone EM, Lydon-Rochelle MT. Postpartum sexual functioning and method of delivery: summary of the evidence. *Journal of midwifery & women's health* 2004, 49(5): 430-436.
- [14] Kahramanoglu I, Baktiroglu M, Hamzaoglu K, Kahramanoglu O, Verit FF, Yucel O. The impact of mode of delivery on the sexual function of primiparous women: a prospective study. *Archives of gynecology and obstetrics* 2017, 295(4): 907-916.
- [15] Fan D, Li S, Wang W, Tian G, Liu L, Wu S, Guo X, Liu Z. Sexual dysfunction and mode of delivery in Chinese primiparous women: a systematic review and meta-analysis. *BMC pregnancy and childbirth* 2017, 17(1): 408.
- [16] McDonald EA, Gartland D, Small R, Brown SJ. Dyspareunia and childbirth: a prospective cohort study. *BJOG* 2015, 122(5): 672-679.
- [17] Lurie S. Caesarean delivery is associated with higher risk of depressive symptoms, pain and sexual dysfunction. *Evidence-based nursing* 2016, 19(3): 70.
- [18] Lawson S, Sacks A. Pelvic Floor Physical Therapy and Women's Health Promotion. *Journal of midwifery & women's health* 2018, 63(4): 410-417.
- [19] Mohktar MS, Ibrahim F, Mohd Rozi NF, Mohd Yusof J, Ahmad SA, Su Yen K, Omar SZ. A quantitative approach to measure women's sexual function using electromyography: a preliminary study of the Kegel exercise. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2013, 19: 1159-1166.
- [20] Mous M, Muller SA, de Leeuw JW. Long-term effects of anal sphincter rupture during vaginal delivery: faecal incontinence and sexual complaints. *BJOG* 2008, 115(2): 234-238.
- [21] Andreucci CB, Bussadori JC, Pacagnella RC, Chou D, Filippi V, Say L, Cecatti JG. Sexual life and dysfunction after maternal morbidity: a systematic review. *BMC pregnancy and childbirth* 2015, 15: 307.
- [22] Sayed Ahmed WA, Kishk EA, Farhan RI, Khamees RE. Female sexual function following different degrees of perineal tears. *International urogynecology journal* 2017, 28(6): 917-921.
- [23] Yang R, Zhang B, Chen T, Zhang S, Chen L. Postpartum estrogen withdrawal impairs GABAergic inhibition and LTD induction in basolateral amygdala complex via down-regulation of GPR30. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 2017, 27(8): 759-772.
- [24] Kramer MS, Kakuma R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. *The Cochrane database of systematic reviews* 2012(8): Cd003517.

- [25]Barrett G, Pendry E, Peacock J, Victor C, Thakar R, Manyonda I. Women's sexuality after childbirth: a pilot study. *Archives of sexual behavior* 1999, 28(2): 179-191.
- [26]Warnock JJ. Female hypoactive sexual desire disorder: epidemiology, diagnosis and treatment. *CNS drugs* 2002, 16(11): 745-753.
- [27]Turna B, Apaydin E, Semerci B, Altay B, Cikili N, Nazli O. Women with low libido: correlation of decreased androgen levels with female sexual function index. *International Journal of Impotence Research* 2005, 17(2): 148-153.
- [28]Cappelletti M, Wallen K. Increasing women's sexual desire: The comparative effectiveness of estrogens and androgens. *Hormones and behavior* 2016, 78: 178-193.
- [29]Avery MD, Duckett L, Frantzich CR. The experience of sexuality during breastfeeding among primiparous women. *Journal of midwifery & women's health* 2000, 45(3): 227-237.
- [30]Anbaran ZK, Baghdari N, Pourshirazi M, Karimi FZ, Rezvanifard M, Mazlom SR. Postpartum sexual function in women and infant feeding methods. *JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association* 2015, 65(3): 248-252.
- [31]Wallwiener S, Müller M, Doster A, Kuon RJ, Plewniok K, Feller S, Wallwiener M, Reck C, Matthies LM, Wallwiener C. Sexual activity and sexual dysfunction of women in the perinatal period: a longitudinal study. *Archives of gynecology and obstetrics* 2017, 295(4): 873-883.
- [32]Matthies LM, Wallwiener M, Sohn C, Reck C, Müller M, Wallwiener S. The influence of partnership quality and breastfeeding on postpartum female sexual function. *Archives of gynecology and obstetrics* 2019, 299(1): 69-77.
- [33]O'Hara MW, McCabe JE. Postpartum depression: current status and future directions. *Annual review of clinical psychology* 2013, 9: 379-407.
- [34]Chivers ML, Pittini R, Grigoriadis S, Villegas L, Ross LE. The relationship between sexual functioning and depressive symptomatology in postpartum women: a pilot study. *The journal of sexual medicine* 2011, 8(3): 792-799.
- [35]Chang SR, Lin WA, Lin HH, Shyu MK, Lin MI. Sexual dysfunction predicts depressive symptoms during the first 2 years postpartum. *Women and birth : journal of the Australian College of Midwives* 2018, 31(6): e403-e411.
- [36]Monteiro MN, Medeiros KS, Vidal I, Matias I, Cobucci RN, Gonçalves AK. Non-pharmacological interventions for treating sexual dysfunction in postpartum women: a systematic review protocol. *BMJ open* 2019, 9(9): e028660.
- [37]Helpman L, Greenstein A, Hartoov J, Abramov L. Genito-sensory analysis in women with arousal and orgasmic dysfunction. *The journal of sexual medicine*

- 2009, 6(4): 1039-1044.
- [38]Jackowich RA, Pink L, Gordon A, Pukall CF. Persistent Genital Arousal Disorder: A Review of Its Conceptualizations, Potential Origins, Impact, and Treatment. *Sexual medicine reviews* 2016, 4(4): 329-342.
- [39]Lagaert L, Weyers S, Van Kerrebroeck H, Elaut E. Postpartum dyspareunia and sexual functioning: a prospective cohort study. *The European journal of contraception & reproductive health care : the official journal of the European Society of Contraception* 2017, 22(3): 200-206.
- [40]Rellini AH, Clifton J. Female orgasmic disorder. *Advances in psychosomatic medicine* 2011, 31: 35-56.
- [41]Gruenwald I, Lauterbach R, Gartman I, Aharoni S, Lowenstein L. Female Sexual Orgasmic Dysfunction and Genital Sensation Deficiency. *The journal of sexual medicine* 2020, 17(2): 273-278.
- [42]Crisp CC, Fellner AN, Pauls RN. Validation of the Female Sexual Function Index (FSFI) for web-based administration. *International urogynecology journal* 2015, 26(2): 219-222.
- [43]Bachmann G. Female sexuality and sexual dysfunction: are we stuck on the learning curve? *The journal of sexual medicine*. Jul 2006;3(4):639-645.
- [44]Nusbaum MR, Hamilton CD. The proactive sexual health history. *American family physician*. Nov 1 2002;66(9):1705-1712.
- [45]Meston CM, Derogatis LR. Validated instruments for assessing female sexual function. *Journal of sex & marital therapy*. 2002;28 Suppl 1:155-164.
- [46]Rosen R, Brown C, Heiman J, et al. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *Journal of sex & marital therapy*. Apr-Jun 2000;26(2):191-208.
- [47]Isidori AM, Pozza C, Esposito K, et al. Development and validation of a 6-item version of the female sexual function index (FSFI) as a diagnostic tool for female sexual dysfunction. *The journal of sexual medicine*. Mar 2010;7(3):1139-1146.
- [48]Sun X, Li C, Jin L, Fan Y, Wang D. Development and validation of Chinese version of female sexual function index in a Chinese population-a pilot study. *The journal of sexual medicine*. Apr 2011;8(4):1101-1111.
- [49]Basson R. Women's sexual dysfunction: revised and expanded definitions. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. May 10 2005;172(10):1327-1333.
- [50]Davis SR, Davison SL, Donath S, Bell RJ. Circulating androgen levels and self-reported sexual function in women. *Jama*. Jul 6 2005;294(1):91-96.

- [51] Kahyaoglu Sut H, Balkanli Kaplan P. Effect of pelvic floor muscle exercise on pelvic floor muscle activity and voiding functions during pregnancy and the postpartum period. *Neurourol Urodyn*. Mar 2016;35(3):417-422.
- [52] Golmakani N, Zare Z, Khadem N, Shareh H, Shakeri MT. The effect of pelvic floor muscle exercises program on sexual self-efficacy in primiparous women after delivery. *Iran J Nurs Midwifery Res*. May-Jun 2015;20(3):347-353.
- [53] Hadizadeh-Talasaz Z, Sadeghi R, Khadivzadeh T. Effect of pelvic floor muscle training on postpartum sexual function and quality of life: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Taiwan J Obstet Gynecol*. Nov 2019;58(6):737-747.
- [54] Kolberg Tennfjord M, Hilde G, Staer-Jensen J, Siafarikas F, Engh ME, Bø K. Effect of postpartum pelvic floor muscle training on vaginal symptoms and sexual dysfunction-secondary analysis of a randomised trial. *Bjog*. Mar 2016;123(4):634-642.
- [55] Zhou Y, Li X, Sun S, Yan W, Tang Y, Xiang Y. [Efficacy of physical therapy for female sexual dysfunction]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. Nov 28 2018;43(11):1236-1240.
- [56] Sun Z, Zhu L, Lang J, et al. [Postpartum pelvic floor rehabilitation on prevention of female pelvic floor dysfunction: a multicenter prospective randomized controlled study]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. Jun 2015;50(6):420-427.
- [57] Wallace SL, Miller LD, Mishra K. Pelvic floor physical therapy in the treatment of pelvic floor dysfunction in women. *Curr Opin Obstet Gynecol*. Dec 2019;31(6):485-493.
- [58] Moel JE, Buttner MM, O'Hara MW, Stuart S, Gorman L. Sexual function in the postpartum period: effects of maternal depression and interpersonal psychotherapy treatment. *Arch Womens Ment Health*. Dec 2010;13(6):495-504.
- [59] McBride HL, Olson S, Kwee J, Klein C, Smith K. Women's Postpartum Sexual Health Program: A Collaborative and Integrated Approach to Restoring Sexual Health in the Postpartum Period. *J Sex Marital Ther*. Feb 17 2017;43(2):147-158.
- [60] Zamani M, Latifnejad Roudsari R, Moradi M, Esmaily H. The effect of sexual health counseling on women's sexual satisfaction in postpartum period: A randomized clinical trial. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. Jan 2019;17(1):41-50.

## 个案报告

### 一例因性交痛导致阴道插入困难的性功能障碍患者的个案护理计划

**【摘要】** **目的** 总结一例因性交疼痛导致阴道插入困难以及性欲低下的临床案例及护理干预计划。**方法** 针对性地制定了 2020 年 5 月南京医科大学附属医院妇科内分泌门诊收治的一名已婚未育，婚后 2 年以来尝试性生活失败，自觉处女膜未破妇女的护理干预方案。**结论** 该患者因剧烈性交痛导致阴道插入困难及性欲低下，计划使用以艾灸法为主的护理干预缓解性交痛症状，调节患者负性情绪。

**【关键词】** 性交痛；艾灸；女性性功能障碍；个案护理

女性性功能障碍（Female sexual dysfunction, FSD）是指女性个体在性反应周期中的一个或几个阶段发生障碍或出现与性交有关的疼痛，而不能参与或不能达到其所预期的性关系，造成心理痛苦；包括欲望低下、唤醒困难、性高潮障碍和性疼痛障碍<sup>1</sup>。女性性疼痛障碍包含性交痛和阴道痉挛，其中性交痛指反复地或持续地性交时出现阴道疼痛，中国城市女性性交痛的患病率约为 21.8%<sup>2</sup>。性交痛可能由阴道感染等妇科疾病引起，也可继发于心理或情感障碍<sup>3</sup>。本个案报告介绍了一例我院 2020 年 5 月 27 日收治入院的由于性交痛导致的阴道插入困难的性功能障碍患者，针对该患者制定了以艾灸法、心理疗法、饮食指导为主的护理干预方案，现将其报告如下：

## 1 病例介绍

### 1.1 一般资料

患者，女，32 岁，0-0-0-0，主诉性交困难且性欲低下 2 年。患者结婚 2 年未孕，男方精液常规检查正常。近 2 年性生活男方阴茎不能完全插入，性交时感到困难且疼痛难忍，因性交时阴道从未见红自觉处女膜未破，患者主诉近一



年来性欲较前低下。平素月经规律，量中，偶有痛经。LMP 2020-05-20，量色正常。既往体健，无慢性疾病，无手术史，无过敏史。否认家族遗传病史，否认外伤史。患者一般情况良好，外阴未见明显异常，阴道通畅。妇科检查：小号扩阴器能插入阴道且患者无明显不适；后逐渐缓慢单个手指插入阴道，患者也无明显不适；遂逐渐缓慢两个手指插入阴道，患者自诉有疼痛不适感但亦可忍受。

## 1.2 治疗经过

患者 B 超未见明显异常。体成分分析得分 78 分，未见明显偏倚。患者性激素 6 项检查符合所在月经周期激素水平。综合以上结果告知患者其并不存在器质性异常，嘱其尝试克服心理障碍并再次尝试性交一段时间，必要时进行专业心理咨询。

## 2 护理计划

### 2.1 护理评估

使用中文版女性性功能指数量表（Chinese Version Female Sexual Function Index, CVFSFI）<sup>4</sup>、女性性痛苦量表（Female Sexual Distress Scale, FSDS）<sup>5</sup>、数字疼痛评分法对患者过去 4 周内性功能情况、因性造成的心理状况、性交疼痛程度进行评估。

### 2.2 护理问题

性功能障碍：与性交痛有关；

疼痛：与阴茎插入有关；

焦虑：与多次尝试性生活失败，担忧夫妻感情有关；

知识缺乏：与疾病认知不足有关

## 2.3 护理措施

2.3.1 心理疗法：患者在院期间给予心理指导，指导内容包括学习性表露、调情及“情感响应”。

性表露鼓励夫妻双方相互吐露有关性方面的秘密。指导该患者性交时保持室内光线柔和，营造一个适宜于与配偶交流感受的氛围以及能够促使性反应和性高潮发生的环境条件。交流彼此性感受时可以使用语言或非语言方式刺激性快感产生。充分了解配偶的性偏爱，尝试不同性交方式，姿态，时间和环境与喜好。

调情对于性生活的启动及成功具有重要意义，它不仅可以促进性兴奋与性器官的唤醒，还可促使夫妻心灵的贴合和性欲的增强。夫妻双方性生活开始前的调情过程中的角色应是平等的，若一方较为含蓄腼腆，则可由另一方主导。该患者主诉在婚后两年的性生活尝试中大多数时间处于被动角色，指导患者尝试展示自身的性诱惑力，在性生活中扮演主导角色。

“情感响应”是指一方应该对另一方的亲密行为给予对等的亲密反应。在本案例中，患者因剧烈性交痛而对性生活产生抵触心理，主诉近一年来性欲低下，多次拒绝配偶性交需求，期间曾尝试阴道插入，但均因剧烈疼痛无法忍受而失败。根据患者情况告知患者“情感响应”的重要性以及其有义务对配偶的爱抚和亲昵给予回馈，性行为不光是性冲动的释放，更是情感的亲和。指导患者采取除阴道插入以外的如爱抚，亲昵等性情感响应方式，积极回应配偶的性需求，通过此过程循序渐进增进夫妻感情，降低对阴道插入的恐惧情绪。

2.3.2 艾灸法：中药学中记载，艾灸具有温经散寒、止痛益气、活血通络的功效；现代基础医学研究认为温和灸可以通过热辐射、光辐射等理化因子，作用于人体经络和神经系统，起到缓解疼痛、抗菌、预防疾病的作用<sup>6</sup>。

温和灸是艾条灸的一种，主要操作方法：点燃艾条在距离施灸部位皮肤2-3cm处进行熏灸，以皮肤局部有温热感但无灼热感为宜，一般每穴灸5-7分钟，

至皮肤稍呈红晕为度。穴位选择：三阴交、关元穴、肾俞穴。该疗法以一个月经周期为一个疗程，经期停灸。疗程内嘱患者每日前来中医科门诊，由专业人员指导操作直至患者能够自行掌握操作流程。一个疗程后，给患者发放医院自制《肾阳虚型女性性功能障碍健康教育手册》，指导其居家艾灸相关注意事项，每日电话随访，嘱患者认真填写《每日艾灸实施记录表》。

2.3.3 饮食疗法：指导患者合理搭配饮食，可以食用韭菜、麻雀肉、核桃仁及羊肉等具有补中益气，安心止痛，固肾暖腰功效的食物，辅助缓解性冷淡，肾虚腰痛，腹中冷痛等症状。

## 2.4 护理评价

参照《中药新药临床研究指导原则》和《中医病证诊断疗效标准》对艾灸治疗疗效进行判定，使用中文版女性性功能指数量表及女性性痛苦量表分别于干预开始前、一个疗程治疗后和干预结束时进行评分，比较患者干预前、中、后三阶段性交痛及性欲低下的改善情况

## 3 讨论

女性性功能障碍会显著影响女性的生理健康与受孕，甚至影响伴侣的性功能，是破坏夫妻感情的直接导火索<sup>7</sup>。另一方面，FSD 对于女性心理健康的影响更为严重，将导致自卑、焦虑、抑郁等不良情绪的发生，这些不良情绪引发的自杀率可达 10~15%<sup>8</sup>，从而成为危害婚姻家庭与社会稳定的重要因素。

女性性疼痛障碍是《精神疾病诊断与统计手册》第 5 版中新增的诊断类别，它将之前诊断的阴道痉挛和性交困难合并为与阴道穿透相关的单一的性疼痛障碍。女性性疼痛障碍是性满意度低、幸福感降低和关系困难的主要原因。有研究指出，患有性疼痛障碍的妇女会对性产生负面认知和信念，对性刺激、色情电影和其他色情材料有消极回避反应<sup>9</sup>。这种类型的回避/恐惧反应可由心理刺激、身体刺激或两者共同作用导致。

研究发现负性情绪和疼痛的发生共享生物途径和神经递质，该发现对同时干预负性情绪和疼痛的方案构建提供了方向。疼痛经历涉及多个大脑区域的激活，并可能导致精神疾病和生活质量下降。在没有组织损伤的情况下，负面的情绪体验会产生疼痛感，加剧疼痛或降低治疗效果<sup>10</sup>。艾灸作为中医的重要组成部分，已成为临床实践中公认的辅助疗法和替代疗法。而在大量的研究中，该疗法已被证明对于调节控制焦虑抑郁等负性情绪以及缓解疼痛具有显著效果，且治疗后不良反应较少<sup>11-14</sup>。

本文选取了一例因性交痛导致阴道插入困难及性欲低下的性功能障碍患者，该患者主诉婚后两年因剧烈性交痛无法参与正常性生活，现因对家庭和睦和夫妻关系存在担忧而产生明显焦虑抑郁情绪，进而致使其消极回避性生活，自感性欲低下。本文针对该患者情况制定了个体化护理干预方案，以期通过干预计划的实施改善患者性交痛、性欲低下等严重影响夫妻性生活和谐的问题，具体干预效果将在后续研究中进行考察。

## 参考文献

- [1] Clayton AH, Valladares Juarez EM. Female Sexual Dysfunction. The Medical clinics of North America. 2019;103: 681-98.
- [2] Ma J, Pan L, Lei Y, Zhang A, Kan Y. Prevalence of female sexual dysfunction in urban chinese women based on cutoff scores of the Chinese version of the female sexual function index: a preliminary study. The journal of sexual medicine. 2014;11: 909-19.
- [3] 白文俊, 王晓峰. 女性性功能障碍研究现状. 中华泌尿外科杂志. 2001;22: 697-99.
- [4] Sun X, Li C, Jin L, Fan Y, Wang D. Development and validation of Chinese version of female sexual function index in a Chinese population-a pilot study. The journal of sexual medicine. 2011;8: 1101-11.
- [5] Derogatis LR, Rosen R, Leiblum S, Burnett A, Heiman J. The Female Sexual Distress Scale (FSDS): initial validation of a standardized scale for assessment of sexually related personal distress in women. Journal of sex & marital therapy. 2002;28: 317-30.
- [6] 郝峻, 赵楠, 彭娟. 从"卫气"浅探艾灸治疗痛证的机理. 光明中医. 2019;034: 1795-97.
- [7] Lo SS, Kok WM. Sexual functioning and quality of life of Hong Kong Chinese women with infertility problem. Human fertility (Cambridge, England). 2016;19: 268-74.
- [8] Randall JR, Walld R, Finlayson G, Sareen J, Martens PJ, Bolton JM. Acute risk of suicide and suicide attempts associated with recent diagnosis of mental disorders: a population-based, propensity score-matched analysis. Canadian journal of psychiatry Revue canadienne de psychiatrie. 2014;59: 531-8.
- [9] Cherner RA, Reissing ED. A psychophysiological investigation of sexual arousal in women with lifelong vaginismus. The journal of sexual medicine. 2013;10: 1291-303.
- [10] Yang Z, Zhao L, Xie X, et al. The effectiveness of acupuncture for chronic pain with depression: A systematic review protocol. Medicine. 2017;96: e8800.
- [11] Qin Z, Liu X, Wu J, Zhai Y, Liu Z. Effectiveness of Acupuncture for Treating Sciatica: A Systematic Review and Meta-Analysis. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2015;2015: 425108.
- [12] Bosch P, van den Noort M, Staudte H, Lim S. Schizophrenia and Depression: A systematic Review of the Effectiveness and the Working Mechanisms Behind

- Acupuncture. *Explore* (New York, NY). 2015;11: 281-91.
- [13] Vickers AJ, Cronin AM, Maschino AC, et al. Acupuncture for chronic pain: individual patient data meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2012;172: 1444-53.
- [14] Sniezek DP, Siddiqui IJ. Acupuncture for Treating Anxiety and Depression in Women: A Clinical Systematic Review. *Medical acupuncture*. 2013;25: 164-72.

## 附录

## 附录一 缩略词表

| 英文缩写    | 英文全称  | 中文全称         |
|---------|---|--------------|
| ACOG    | American College of Obstetricians and Gynecologists | 美国妇产科医师学会    |
| FSD     | female sexual dysfunction                           | 女性性功能障碍      |
| circRNA | circular RNA  | 环状 RNA       |
| LD      | lubrication disorders                               | 润滑障碍         |
| NC      | normal control                                      | 正常对照         |
| miRNA   | microRNA  | 微小 RNA       |
| NGS     | next-generation sequencing                          | 下一代测序        |
| KEGG    | Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes             | 京都基因与基因组百科全书 |
| GO      | Gene Ontology                                       | 基因本体论        |
| CVFSFI  | Chinese Version of the Female Sexual Function Index | 中文版女性性功能指数量表 |
| ceRNA   | competitive endogenous RNA                          | 竞争性内源 RNA    |
| cDNA    | complementary DNA                                   | 互补 DNA       |
| GAPDH   | glyceraldehyde phosphate dehydrogenase              | 磷酸甘油醛脱氢酶     |
| CC      | cell component                                      | 细胞成分         |
| MF      | molecular function                                  | 分子功能         |
| BP      | biological process                                  | 生物过程         |
| MREs    | micro RNA response elements                         | 微小 RNA 反应元件  |
| SD      | standard deviation                                  | 标准差          |
| RT-qPCR | Quantitative Real-time PCR                          | 实时定量 PCR     |

## 附录二 焦虑自评量表(SAS)

本量表包含 20 个项目，分为 4 级评分，请您仔细阅读以下内容，根据最近一星期的情况如实回答。

填表说明：所有题目均共用答案，请在 A、B、C、D 下划“√”，每题限选一个答案。

姓名：          住院号：

自评题目：

答案：

A 没有或很少时间；B 小部分时间；C 相当多时间；D 绝大部分或全部时间。

1. 我觉得比平时容易紧张或着急

A          B          C          D

2. 我无缘无故在感到害怕

A          B          C          D

3. 我容易心里烦乱或感到惊恐

A          B          C          D

4. 我觉得我可能将要发疯

A          B          C          D

\*5. 我觉得一切都很好

A          B          C          D

6. 我手脚发抖打颤

A          B          C          D

7. 我因为头疼、颈痛和背痛而苦恼

A          B          C          D

8. 我觉得容易衰弱和疲乏

A          B          C          D

\*9. 我觉得心平气和，并且容易安静坐着

A          B          C          D

10. 我觉得心跳得很快

A          B          C          D

11. 我因为一阵阵头晕而苦恼

A          B          C          D

12. 我有晕倒发作，或觉得要晕倒似的



|                    |   |   |   |   |
|--------------------|---|---|---|---|
| *13. 我吸气呼气都感到很容易   | A | B | C | D |
| 14. 我的手脚麻木和刺痛      | A | B | C | D |
| 15. 我因为胃痛和消化不良而苦恼  | A | B | C | D |
| 16. 我常常要小便         | A | B | C | D |
| *17. 我的手脚常常是干燥温暖的  | A | B | C | D |
| 18. 我脸红发热          | A | B | C | D |
| *19. 我容易入睡并且一夜睡得很好 | A | B | C | D |
| 20. 我做恶梦           | A | B | C | D |

评分标准：正向计分题 A、B、C、D 按 1、2、3、4 分计；反向计分题（标注\* 的题目题号：5、9、13、17、19）按 4、3、2、1 计分。总分乘以 1.25 取整数，即得标准分。低于 50 分者为正常；50-60 分者为轻度焦虑；61-70 分者为中度焦虑，70 分以上者为重度焦虑。

### 附录三 抑郁自评量表(SDS)

本量表包含 20 个项目，分为 4 级评分，请您仔细阅读以下内容，根据最近一周的情况如实回答。

填表说明：所有题目均共用答案，请在 A、B、C、D 下划“√”，每题限选一个答案。

姓名：          住院号：

自评题目：

答案：A 没有或很少时间；B 小部分时间；C 相当多时间；D 绝大部分或全部时间。

- |                        |   |   |   |   |
|------------------------|---|---|---|---|
| 1. 我觉得闷闷不乐,情绪低沉        | A | B | C | D |
| *2. 我觉得一天之中早晨最好        | A | B | C | D |
| 3. 我一阵阵哭出来或想哭          | A | B | C | D |
| 4. 我晚上睡眠不好             | A | B | C | D |
| *5. 我吃得跟平常一样多          | A | B | C | D |
| *6. 我与异性密切接触时和以往一样感到愉快 | A | B | C | D |
| 7. 我发觉我的体重在下降          | A | B | C | D |
| 8. 我有便秘的苦恼             | A | B | C | D |
| 9. 我心跳比平时快             | A | B | C | D |
| 10. 我无缘无故地感到疲乏         | A | B | C | D |
| *11. 我的头脑跟平常一样清楚       | A | B | C | D |
| *12. 我觉得经常做的事情并没困难     | A | B | C | D |

|                        |   |   |   |   |
|------------------------|---|---|---|---|
| 13. 我觉得不安而平静不下来        | A | B | C | D |
| *14. 我对将来抱有希望          | A | B | C | D |
| 15. 我比平常容易生气激动         | A | B | C | D |
| *16. 我觉得做出决定是容易的       | A | B | C | D |
| *17. 我觉得自己是个有用的人，有人需要我 | A | B | C | D |
| *18. 我的生活过得很有意思        | A | B | C | D |
| 19. 我认为如果我死了别人会生活得更好些  | A | B | C | D |
| *20. 平常感兴趣的事我仍然照样感兴趣   | A | B | C | D |

评分标准：正向计分题 A、B、C、D 按 1、2、3、4 分计；反向计分题（标注\* 的题目，题号：2、5、6、11、12、14、16、17、18、20）按 4、3、2、1 计分。总分乘以 1.25 取整数，即得标准分。低于 50 分者为正常；50-60 分者为轻度焦虑；61-70 分者为中度焦虑，70 分以上者为重度焦虑。

## 附录四 中文版女性性功能障碍量表(CVFSFI)

该量表主要针对您最近 4 周的性感受和性反应，请您根据自身情况尽可能诚实地回答下列问题，我们将完全保密您的回答。

| 分类  | 问题（过去四周性生活情况）               | 评分等级 |            |      |      |       |      |
|-----|-----------------------------|------|------------|------|------|-------|------|
|     |                             | 0    | 1          | 2    | 3    | 4     | 5    |
| 欲望  | 1.你感到有性欲的频率是？               |      | 几乎没有/没有    | 少于一半 | 多于一半 | 大多数   | 经常   |
|     | 2.你性欲的程度是？                  |      | 非常低/没有     | 低    | 温和的  | 高     | 非常高  |
| 性唤起 | 3.在性生活时，你性唤醒的频率是？           | 无性生活 | 几乎没有/没有    | 小于一半 | 大约一半 | 大于一半  | 几乎经常 |
|     | 4.在性生活时，你性唤醒的程度是？           | 无性生活 | 非常低/没有     | 低    | 温和的  | 高     | 非常高  |
|     | 5.在性生活时，你对性唤起的自信程度是？        | 无性生活 | 非常低/没有     | 低    | 温和的  | 高     | 非常高  |
|     | 6.在性生活时，你对自己的性唤起感到满意的频率是？   | 无性生活 | 几乎没有/没有    | 小于一半 | 大约一半 | 大于一半  | 几乎经常 |
| 润滑度 | 7.在性生活时，阴道湿润的频率是？           | 无性生活 | 几乎没有/没有    | 小于一半 | 大约一半 | 大于一半  | 几乎经常 |
|     | 8.在性生活时，使阴道湿润是否困难？          | 无性生活 | 非常困难/根本不可能 | 非常困难 | 困难   | 轻微的困难 | 没困难  |
|     | 9.从开始性生活到性生活结束都能保持阴道湿润的时间是  | 无性生活 | 几乎没有/没有    | 小于一半 | 大约一半 | 大于一半  | 几乎经常 |
|     | 10.从开始性生活到性生活结束都能保持阴道湿润是否困难 | 无性生活 | 非常困难/根本不可能 | 非常困难 | 困难   | 轻微的困难 | 没困难  |
| 性高潮 | 11.当你有性刺激或性生活时，能到达性高潮的频率是？  | 无性生活 | 几乎没有/没有    | 小于一半 | 大约一半 | 大于一半  | 几乎经常 |
|     | 12.当你有性刺激或性生活时，到达性高潮是否困难？   | 无性生活 | 非常困难/根本不可能 | 非常困难 | 困难   | 轻微的困难 | 没困难  |
|     | 13.在性生活时，你对自己到达             | 无性生活 | 非常不满       | 有点   | 一半   | 比较    | 非常   |

|     |                                 |        |         |         |      |      |      |
|-----|---------------------------------|--------|---------|---------|------|------|------|
|     | 性高潮能力的满意程度是                     | 生活     | 意       | 不满<br>意 | 满意   | 满意   | 满意   |
| 满意度 | 14.在性生活时，你和你性伴侣之间情感亲密度感到满意的程度是？ | 无性生活   | 非常不满意   | 有点不满意   | 一半满意 | 比较满意 | 非常满意 |
|     | 15.你与你性伴侣之间的性关系感到满意的程度是？        |        | 非常不满意   | 有点不满意   | 一半满意 | 比较满意 | 非常满意 |
|     | 16.你对你总体性生活感到满意的程度是？            |        | 非常不满意   | 有点不满意   | 一半满意 | 比较满意 | 非常满意 |
| 疼痛度 | 17.在性生活时你感到阴道不适或疼痛的频率是？         | 从未尝试插入 | 几乎没有/没有 | 小于一半    | 大约一半 | 大于一半 | 几乎经常 |
|     | 18.在性生活之后你感到阴道不适或疼痛的频率是？        | 从未尝试插入 | 几乎没有/没有 | 小于一半    | 大约一半 | 大于一半 | 几乎经常 |
|     | 19.在性生活时或性生活后疼痛或不适的程度是？         | 从未尝试插入 | 非常高     | 高       | 轻微的  | 低    | 非常低  |

## 附录五 伦理审批意见书

# 南京市妇幼保健院文件

宁妇伦字〔2014〕65号



### 关于“阴道润滑障碍女性与阴道润滑正常女性阴道上皮组织中差异 miRNA 的筛选”的伦理委员会审批意见

生殖健康科：

由马洁桦提供的“阴道润滑障碍女性与阴道润滑正常女性阴道上皮组织中差异 miRNA 的筛选”课题研究方案、患者知情同意书等，经机构伦理委员会审查后决定，同意该研究方案中的设计，对受试者的入选标准及获取知情同意书的方法是适当的，向患者提供的有关信息资料是完整易懂的，对试验中可能遭受的风险程度介绍是合适的。由南京市妇幼保健院生殖健康科马洁桦负责该研究的具体实施，需按照试验方法的具体要求组织有关人员开展工作，实施前签署知情同意书，在实施过程中一旦出现不良事件要及时采取相应的处理措施，并详细记录，随时上报伦理委员会。

南京市妇幼保健院医学伦理委员会

二〇一四年二月八日

伦理委员会

# 南京市妇幼保健院文件

宁妇伦字〔2014〕66号



## 关于“miR-137 调控 AQP2: 阴道上皮细胞流体转运功能的新机制”的伦理委员会审批意见

生殖健康科:

由马洁桦提供的“miR-137 调控 AQP2: 阴道上皮细胞流体转运功能的新机制”课题设计方案、患者知情同意书等,经机构伦理委员会审查后决定,同意该设计方案中的设计,对受试者的入选标准及获取知情同意书的方法是适当的,向患者提供的有关信息资料是完整易懂的,对试验中可能遭受的风险程度介绍是合适的。由南京市妇幼保健院生殖健康科马洁桦负责该研究的具体实施,需按照试验方法的具体要求组织有关人员开展工作,实施前签署知情同意书,在实施过程中一旦出现不良事件要及时采取相应的处理措施,并详细记录,随时上报伦理委员会。

南京市妇幼保健院医学伦理委员会

二〇一四年十二月六日



## 附录六 研究成果

1. 张晶晶, 顾平, 马婉贞, 易怀秀. 妊娠期糖尿病孕期餐后血糖监测与妊娠结局相关性的研究进展[J]. 护士进修杂志, 2019, 34(12):1103-1106.
2. Zhang J, Xia H, Zhang A, Zhu Y, Pan L, Gu P, Ma J. Circular RNA Expression Profiles in Vaginal Epithelial Tissue of Women With Lubrication Disorders [published correction appears in J Sex Med. 2020 Feb;17(2):359]. J Sex Med. 2019;16(11):1696–1707. 2



## 致谢

写完论文正文部分的最后一个字，打开致谢部分，千丝万绪涌上心头。一番迁思回虑后，我决定跳出写论文时的严肃氛围，换一个心境来完成这一部分。

读研三年时间，不长不短，但却完完全全是我的一段新的人生的开始。在期间遇到的每一位老师，每一位同学，每一个朋友都有着不可或缺的价值。

首先，感谢南京医科大学护理学院。感谢学院给了我宝贵的研究生学习机会，2017年3月复试时，参加的学生不乏佼佼者。而在众多优秀的学生当中，学院的各位研究生导师将这个宝贵的学习机会给了普通的我，真正实现了我想在南京医科大学读书的高考梦想，更是对我一年多认真备战考研的努力的肯定。

第二，感谢我的导师顾平副教授和南京市妇幼保健院的张爱霞主任。感觉您一路上在我学习、生活和思想上的指导。治学严谨、生活积极、思想端正，每一句叮嘱让我受益的并不止这几年，更会影响着我今后所走的每一步。在课题方面，您为我打开了新世界的大门，以护理研究生的身份投身于基础研究当中，张主任则为我树立起了坚强的后盾：“护理研究不应存在边界，前沿的护理研究已经广泛的关注到健康相关的各个方面，无论护士还是临床医生，在发表SCI和做基础研究上的机会是均等的，但护理研究人员要能跨得出去，敢于深入的探讨，未来护理与基础研究的结合一定会有一席之地。”

第三，感谢南京市妇幼保健院医学研究中心的马洁桦老师。马老师认真贯彻落实了对任何学生都要不抛弃不放弃的原则，即使我学习不够积极，工作不够努力，还是认真耐心的指导我，在她的指导下，我发表了人生的第一篇SCI，完成了课题，带着我从无到有。感谢您在我研究生学习期间的一路相伴，也为我在工作中的不足和犯过的错表示悔过。

第三，感谢我的师姐马婉贞。马婉贞师姐对于我来说不仅是师姐，也是我的半个小老师，是朋友，是知己，是让我每每想起都会心存感动的姐姐。从我研究生入学开始指导现在她已步入工作岗位，都未曾停止过对我的帮助。同样还要感谢石志宜、王颖师姐，刘言师妹，很幸运能和你们同一师门。感谢罗丹师姐、汤一帆师姐、陈晨师姐等其他师门的师姐妹的帮助。

第四，感谢江苏省妇幼保健院康馨产科俞蓉护士长、妇科戎明梅护士长、江苏省人民医院ICU宋燕波护士长、周晶副护士长等在我轮转期间给予的指导；感谢南京医科大学护理学院董玲老师、唐慧婷老师、汪璐老师在我任职助教期间树立教书育人的榜样，教学办林玉华老师，丁晓彤老师等给予的工作上的帮助。

第五，感谢我亲爱的朋友们，何瑾，周丽，凌钟慧，曹旭，李春艳，张舒纯，钱斌，谢谢你们陪我扛过每一段艰难的时光，不停给我加油，给我坚持的力量；感谢实验室的师姐们，小姐妹们在实验上对我的指导；感谢我的室友和同学们以及所有向我伸出援手的朋友们在生活上对我帮助；感谢我的男朋友范翀一直以来的陪伴和支持。

第六，感谢我的爸爸妈妈和弟弟，家人永远是最安心的后盾和港湾，让我能够无所畏惧的在外闯荡。

最后，感谢对本课题做出指导的所有老师，以及对本论文评审和批评的各位专家。

论文表述的是我微不足道的研究成果，是对我这三年学习交的一份作业，而致谢才是我整个三年的人生。

谢谢你们的参与。