

doi: 10.16118/j.1008-0392.2019.03.008

• 临床研究 •

DNA 倍体联合人乳头瘤病毒检测对宫颈 病变筛查的临床价值

王冬¹, 易祥华², 龚晨威¹, 徐祖德¹

(1. 上海市浦东新区妇幼保健院病理科, 上海 200120; 2. 同济大学附属同济医院病理科, 上海 200065)

【摘要】目的 比较 DNA 倍体分析联合人乳头瘤病毒(HPV)与液基细胞学检测(TCT)对早期宫颈癌筛查的敏感性和特异性,探讨 DNA 倍体分析在宫颈病变筛查中的临床价值。方法 选取 2018 年上海市浦东新区妇幼保健院进行宫颈癌筛查的患者,先进行 DNA 倍体分析;发现异常后再进行 TCT、HPV 联合检测,并分别与宫颈病变的活检病理符合率相比较。结果 共完成 9 850 例宫颈标本的 DNA 倍体检查,检查异常者有 1 306 例,经 TCT 检测及 HPV 联合检测后临床共完成阴道镜检查并活检送病理者 968 例。DNA 倍体分析异常并行活检的正常宫颈组织、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)、宫颈癌的比例分别为 35.5%(344/968)、44.7%(433/968)、18.2%(176/968)、1.5%(15/968)。DNA 倍体异常细胞≥3 个组的 LSIL 及以上的检出率为 81.8%(432/528),与 TCT 对 LSIL 及以上的检出率(83.5%,685/701)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。单独 DNA 倍体异常细胞≥3 个组的灵敏度为 69.2%(432/624),联合 HPV DNA 检查后对 LSIL 及以上的检出率提高到 95.8%(183/191),两组比较有统计学差异($P<0.05$),而特异度变化无差异($P>0.05$)。结论 DNA 倍体联合 HPV 检测,在特异度基本不变的情况下能够提高宫颈病变筛查的灵敏度,值得临床推广。

【关键词】 DNA 定量分析;液基细胞学检测;人乳头瘤病毒检测;宫颈癌;早期筛查

【中图分类号】 R711.74 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1008-0392(2019)03-0305-04

Clinical value of DNA ploidy analysis combined with HPV detection and thinprep liquid-based cytology test for screening of early cervical cancer

WANG Dong¹, YI Xiang-Hua², GONG Chen-wei¹, XU Zu-de¹

(1. Dept. of Pathology, Pudong New Area Maternal and Child Health Care Hospital, Shanghai 200120, China;

2. Dept. of Pathology, Tongji Hospital, Tongji University, Shanghai 200065, China)

【Abstract】 **Objective** To assess the clinical value of DNA ploidy analysis combined with human papilloma virus (HPV) detection and thinprep liquid-based cytology test (TCT) for screening of early cervical cancer. **Methods** A total of 9 850 women undergoing screening for cervical cancer in hospital from January to December 2018 were enrolled in this study. DNA ploidy analysis was performed, for those with DNA ploidy abnormalities, TCT and HPV detection were carried out afterward. The clinical value of DNA analysis combined with HPV detection and TCT in screening of cervical cancer was assessed with the pathological results of biopsy samples as gold standard. **Results** Among 9 850 cases of DNA ploidy analysis 1 306 were abnormal, of which 968 cases underwent colposcopic examination,

收稿日期: 2019-01-16

基金项目: 上海市科学技术委员会医学重点科技攻关专项基金(09411951600);上海市卫生局医学重点专项基金(20134034)

作者简介: 王冬(1978—),女,主治医师,硕士研究生.E-mail: 1009869795@qq.com

通信作者: 易祥华.E-mail: yixhxf@163.com

HPV detection and TCT, the biopsy and pathological examination were also performed. The pathological results confirmed that the percentages of normal cervical tissue, LSIL, HSIL and cervical cancer were 35.5% (344/968), 44.7% (433/968), 18.2% (176/968), 1.5% (15/968), respectively. The detection rates of LSIL lesions and above in DNA ploidy abnormal cells ≥ 3 group and TCT group were 81.8% (432/528) and 83.5% (685/701) ($P > 0.05$). The sensitivity of DNA ploidy abnormal cells ≥ 3 was 69.2% (432/624), and if combined with HPV detection it increased to 95.8% (183/19) ($P < 0.05$), but there was no difference in specificity ($P > 0.05$). **Conclusion** DNA ploidy analysis combined with HPV detection can improve the sensitivity of early cervical cancer screening without affecting specificity, which is worthy of clinical promotion.

【Key words】 DNA quantitative analysis; liquid-based cytology test; human papilloma virus testing; cervical cancer; early screening

宫颈癌是一种与人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染相关的妇科常见恶性肿瘤,极大地影响了广大妇女的身体健康。随着宫颈癌筛查的普及,我国宫颈癌的发病率及病死率也逐渐下降^[1]。目前宫颈癌筛查的方法主要有巴氏涂片、液基细胞学检测和HPV检测等;其中液基细胞学检测和HPV检测应用范围最广。然而,TCT在宫颈脱落细胞制片后需要专门的病理科医师显微镜下阅片诊断,而每年宫颈细胞学检测量大,经过专门培训的病理科诊断医师又严重不足,可能会影响TCT的诊断结果。

DNA定量细胞学技术是通过检测细胞核内DNA含量或倍体的测定来判断细胞的生理状态和病理改变;而全自动DNA定量分析系统是集成自动扫描、自动阅片、自动分析、自动生成图文检验报告于一体的诊断系统,能快速准确地定量、定性分析细胞学检测结果^[2]。本研究拟对2018年上海市浦东新区妇幼保健院宫颈癌筛查的部分女性进行DNA倍体分析,并联合HPV检测,与TCT联合HPV检测及宫颈活检的病理诊断做对比,以探讨DNA倍体分析联合HPV检测对宫颈癌及其癌前病变的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年1至12月在上海浦东新区妇幼保健院进行DNA倍体检测、宫颈癌筛查的患者的标本9850例;对宫颈DNA倍体分析有异常的患者,再分别进行TCT及HPV的联合检测;然后根据联合检测的结果,选择合适的患者进行阴道镜下宫颈活检并送病理学检查。

1.2 主要试剂和仪器

DNA倍体检测均采用武汉阿尔医疗科技发展有限公司的福尔根染液和全自动DNA定量分析系统;TCT检测采用美国BD公司试剂和仪器;HPV DNA定性检查采用瑞士罗氏公司的试剂和仪器。

1.3 方法

1.3.1 取材与制片 妇科医师按常规方法(将宫颈刷伸入宫颈口旋转3~5圈、刷取移行区部位的宫颈脱落细胞,退下刷头置入放有细胞保存液的标本瓶中)完成标本采集(以上耗材与试剂均由武汉阿尔医疗科技发展有限公司提供)^[2]。

1.3.2 制片及福尔根染色 标本采用Liquid-Prep液基方法制成细胞薄片,选取5000个细胞核进行扫描定量检测分析,以标本中正常细胞作为参照,经全自动细胞DNA定量图像分析系统(用武汉阿尔医疗科技发展有限公司全自动DNA定量分析系统,型号为SPICM-DNA)分析细胞形态特征、吸光特性、Markovian和非Markovian结构特征及长度特征等因素,自动完成细胞的分类和计数。

1.3.3 DNA倍体检测的诊断标准 DNA倍体检测结果异常判读为两类:组一,可见少量DNA倍体异常细胞(<3个);组二,可见DNA倍体异常细胞(≥ 3 个)。其他DNA检测结果数量很少所以不在统计范围。根据每个样本的DNA倍体检测结果,如有上述异常,则找到剩余的标本,再次采用Liquid-Prep液基方法制成第2张细胞薄片进行TCT,并在患者复诊时再次取样进行HPV DNA检测。

1.3.4 TCT结果按照TBS报告系统分为:(1)未见恶性细胞和上皮内病变细胞;(2)非典型鳞状上

皮细胞,不能明确意义;(3) 低度鳞状上皮内病变 (LSIL);(4) 高度鳞状上皮内病变 (HSIL);(5) 非典型鳞状上皮细胞,不能除外上皮内高度病变 (ASC-H);(6) 鳞状细胞癌(SCC) 等。

1.3.5 HPV DNA 检测 常规采集宫颈脱落细胞放置于专用的采集瓶中,并将采集瓶放置于 4℃ 冰箱中保存,并在 12 h 内对所得样本采用 PCR 扩增法对 HPV DNA 进行定性检验^[3]。

1.3.6 阴道镜活检标准 任意情况下的 DNA 倍体检测异常或 TCT 检测异常,同时高危型 HPV DNA 阳性的;DNA 倍体检测阳性(观察到 ≥3 个病变细胞)者;凡是临床可疑或 TCT 诊断为 ASC-US、ASC-H、LSIL、HSIL、SCC 或腺上皮病变者,均建议进行阴道镜检查,并对可疑部位进行活检送病理诊断。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 SPSS 22.0 软件进行统计处理。计数资料均以率(%)表示,各组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 宫颈活组织病理学检查的结果

共完成 9 850 例宫颈标本的 DNA 倍体检查,其中发现异常者 1 306 例,经 TCT 检测及 HPV 联合检测后临床共完成阴道镜检查并活检送病理者 968 例

(表 1)。病理学检查结果显示, DNA 倍体分析结果异常并行活检的病例,正常宫颈组织比例为 35.5%(344/968),LSIL、HSIL、宫颈癌比例分别为 44.7%(433/968)、18.2%(176/968)和 1.5%(15/968)。

2.2 DNA 倍体分析与 TCT 的结果比较

对于单独宫颈 DNA 倍体检查,总的 LSIL 及以上的检出率为 64.5%(624/968),但按照 DNA 倍体异常细胞 ≥3 个这一单独活检标准,则 LSIL 及以上的检出率为 81.8%(432/528),略低于 TCT 对 LSIL 及以上的检出率 83.5%(685/701),两组差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 DNA 倍体分析、HPV DNA 及两者联合检查的结果比较

单独的 HPV DNA 检查,对 LSIL 及以上的灵敏度为 88.5%(169/191),高于 DNA 倍体异常细胞 ≥3 个组的 69.2%(432/624),但特异度只有 23.1%(169/731);而 DNA 倍体联合 HPV DNA 检查对 LSIL 及以上的灵敏度为 95.8%(183/191),与单独 DNA 倍体组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而特异度为 21.8%(183/839),与单独 HPV 组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。由此可见,两者联合检测,在特异度未明显下降的情况下,明显提高了灵敏度(图 1 为 DNA 倍体与 HPV 均阳性,活检为 LSIL 及 HSIL)。

表 1 患者宫颈 DNA 倍体、TCT 与宫颈活组织病理学检查的结果
Tab.1 Cervical DNA quantitative analysis ,TCT and cervical biopsy results

宫颈活组织病理学检查	宫颈 DNA 倍体分析		TCT						合计
	少量异常细胞(<3 个)	异常细胞(≥3 个)	NILM	ASC-US	ASC-H	LSIL	HSIL	SCC	
炎症	248	96	228	112	0	4	0	0	344
LSIL	148	285	34	253	3	142	1	0	433
HSIL	44	132	5	127	15	21	8	0	176
宫颈癌	0	15	0	5	1	3	1	5	15
合计	440	528	267	497	19	170	10	5	968

表 2 患者宫颈 DNA 倍体检查、TCT 结果的比较
Tab.2 Comparison of cervical DNA quantitative analysis and TCT result

宫颈活组织病理学检查	宫颈 DNA 倍体分析检出率		TCT 检出率		P 值
	少量异常细胞(<3 个)	异常细胞(≥3 个)	NILM*	ASC-US 及以上	
炎症	56.4%(248/440)	19.2%(96/528)	85.4%(228/267)	16.5%(116/701)	>0.05
LSIL 或以上	43.6%(192/440)	81.8%(432/528)	14.6%(39/267)	83.5%(685/701)	
合计	100%(440/440)	100%(528/528)	100%(267/267)	100%(701/701)	

备注: * 未见上皮内病变及恶性病变

表 3 患者宫颈 DNA 倍体、HPV DNA 及两者联合检测结果的比较
Tab. 3 Comparison of cervical DNA quantitative analysis , HPV DNA and their combined detection result

宫颈活组织病理学检查	宫颈 DNA 倍体分析灵敏度		HPV DNA 灵敏度		2 组联合检测灵敏度		合计
	少量异常细胞	异常细胞≥3 个	阴性	阳性	阴性	阳性	
炎症	72.1% (248/344)	27.9% (96/344)	27.7% (215/777)	72.3% (562/777)	15.6% (121/777)	84.4% (656/777)	100%
LSIL 或以上	30.8% (192/624)	69.2% (432/624)	11.5% (22/191)	88.5% (169/191)	4.2% (8/191)	95.8% (183/191)	100%
合计	440	528	237	731	129	839	968
P 值	—		<0.05*		<0.05*		

与宫颈 DNA 倍体分析结果异常细胞≥3 个组比较,* P<0.05

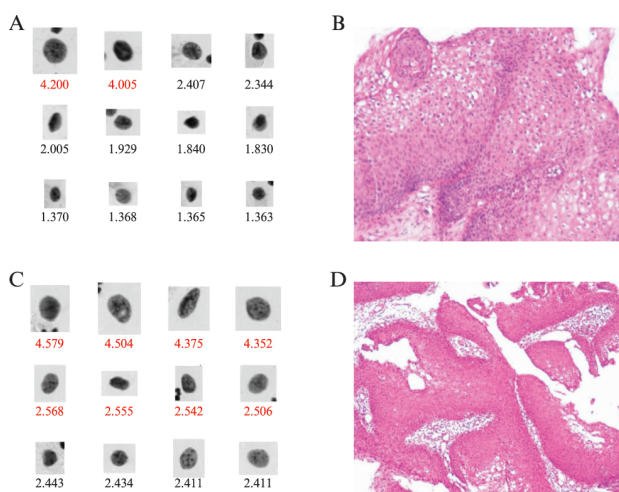


图 1 DNA 倍体及活检全部为异常的患者
Fig.1 The patients with abnormal DNA quantitative analysis and biopsy

病例 1: DNA 倍体检测可见少量 DNA 倍体异常细胞(A), 活检为 LSIL(B); 病例 2: DNA 倍体检测可见 DNA 倍体异常细胞(C), 活检为 HSIL(D)

3 讨论

宫颈癌居女性恶性肿瘤发病率的第二位,中国宫颈癌的病死率和发病率占全球的 1/3^[1]。目前研究表明,宫颈癌是经过医学干预能使发病率和病死率下降的人类恶性肿瘤^[4],降低宫颈癌病死率的关键是早期诊断和治疗癌前病变,因此合理而有效地筛查方案能够降低宫颈癌的发病率^[5]。宫颈 TCT 检测替代巴氏涂片已极大地提高了宫颈癌和癌前病变的早期诊断率,显著降低了宫颈癌的病死率^[6];但其需要专业的病理科医师人工阅片诊断,既增加了病理科医师的工作量,又可能因人为的误差而影响 TCT 检测的诊断结果。目前临床上另外一种普遍应用的宫颈癌筛查技术是 HPV 检测^[7],其中高危型 HPV 检测对子宫颈疾病的筛查的敏感度较高,但

其缺点是特异度低^[8],可能会引起患者的恐慌而常导致过度治疗的发生,需要与其他方法结合以提高特异度^[9]。

目前基层医院存在着病理科医师缺乏,尤其细胞病理医师水平参差不齐,工作量大,再加上系统培训及资质不够等问题,导致 TCT 检测存在难以避免的人为误差;因此,TCT 检测在宫颈癌前病变的筛查漏诊率较多,而与 HPV 等联合检测可减少漏诊率^[10]。DNA 定量分析系统由于能全视野扫描玻片上的所有细胞,并自动检测出少量异倍体细胞,提高了敏感性(降低漏诊率),尤其能够避免诊断过程中的人为误差^[11];但 DNA 倍体分析联合 HPV 检测的方法,目前少见文献报道。

本研究表明,DNA 倍体异常细胞≥3 个组 LSIL 及以上的检出率达 81.8%(432/528),与 TCT 对 LSIL 及以上的检出率(83.5%)比较差异无统计学意义,与文献报道的类似^[8];而 DNA 倍体联合 HPV DNA 检查对 LSIL 及以上的灵敏度由单独的 69.2%(432/624)提高到 95.8%(183/191),特异度无明显变化;该结果说明,两者联合检测,在特异度未明显下降的情况下,较 DNA 倍体单独检测明显提高了灵敏度(减少漏诊率);这与文献报道的细胞学检测与 HPV 联合检测的结果类似^[12],进一步验证了宫颈癌多种方法联合筛查的临床意义。但在实际的临床宫颈癌筛查中,若两种或两种以上方法同时检测,对患者来说是一笔不小的费用。

总之,DNA 定量联合 HPV 检测,由于机器自动扫描自动判读、不需要专业的病理科医生显微镜下肉眼阅片的原因,既能减轻病理医生的工作量,又能提高宫颈病变的检出率,值得临床推广。

(下转第 314 页)

- [7] SAKAI A , YOSHIDA N. The role of tumor-associated macrophages on serum soluble IL-2R levels in B-cell lymphomas [J]. *J Clin Exp Hematop* , 2014 , 54(1) : 49-57.
- [8] MORITO T , FUJIHARA M , ASAOKU H , et al. Serum soluble interleukin-2 receptor level and immunophenotype are prognostic factors for patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Cancer Sci* , 2009 , 100(7) : 1255-1260.
- [9] UMINO K , FUJIWARA S I , IKEDA T , et al. Prognostic value of the soluble interleukin-2 receptor level after patients with follicular lymphoma achieve a response to R-CHOP [J]. *Hematology* , 2017 , 22(9) : 521-526.
- [10] KUSANO Y , YOKOYAMA M , TERUI Y , et al. High pretreatment level of soluble interleukin-2 receptor is a robust prognostic factor in patients with follicular lymphoma treated with R-CHOP-like therapy [J]. *Blood Cancer J* , 2017 , 7(9) : e614.
- [11] MIR M A , MAURER M J , ZIESMER S C , et al. Elevated serum levels of IL-2R , IL-4RA , and CXCL9 are associated with a poor prognosis in follicular lymphoma [J]. *Blood* , 2015 , 125(6) : 992-998.
- [12] SONBOL M B , MAURER M J , STENSON M J , et al. Elevated soluble IL-2R α , IL-8 , and MIP-1 β levels are associated with inferior outcome and are independent of MIPI score in patients with mantle cell lymphoma [J]. *Am J Hematol* , 2014 , 89(12) : E223-E227.
- [13] KOMIYA I , TOMOYOSE T , GEN O C , et al. Low level of serum HDL-cholesterol with increased sIL-2R predicts a poor clinical outcome for patients with malignant lymphoma and adult T-cell leukemia-lymphoma [J]. *Cytokine* , 2018 , 105: 57-62.
- [14] YANG Z Z , GROTE D M , ZIESMER S C , et al. Soluble IL-2R α facilitates IL-2-mediated immune responses and predicts reduced survival in follicular B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. *Blood* , 2011 , 118(10) : 2809-2820.

(上接第 308 页)

【参考文献】

- [1] 郎景和.子宫颈上皮内瘤变的诊断与治疗 [J].*中华妇产科杂志* 2001 , 36(5) : 4-6.
- [2] 高亮 , 陈娥华 , 王少娜 , 等. FE 染色及 DNA 倍体分析技术在宫颈癌早期筛查中的应用 [J].*中国妇幼保健* , 2018 , 33(9) : 2100-2103.
- [3] 武晓敏 , 朱庆峰 , 周丽红 , 等. 宫颈高危型 HPV 感染患者与生殖器感染的关系及 HPV DNA 检测评价 [J].*中华医院感染学杂志* 2018 , 28(23) : 3643-3646.
- [4] SYRJÄNEN S , SHABALOVA I P , PETROVICHEV N , et al. Human papillomavirus testing and conventional pap smear cytology as optional screening tools of women at different risks for cervical cancer in the countries of the former Soviet Union [J]. *J Low Genit Tract Dis* , 2002 , 6(2) : 97-110.
- [5] 龚敏 , 严静静. 细胞 DNA 定量分析系统联合薄层液基细胞学检测宫颈病变的意义 [J].*江苏医药* 2015 , 41(22) : 2765-2766.
- [6] 阳艳 , 段洁 , 黄燕明 , 等. DNA 倍体分析和液基细胞学在宫颈病变早期筛查中的应用 [J].*实用预防医学* , 2016 , 23(4) : 444-446.
- [7] CHRYSOSTOMOU A C , STYLIANOU D C , CONSTANTINIDOU A , et al. Cervical cancer screening programs in Europe: the transition towards HPV vaccination and population-based HPV testing [J]. *Viruses* , 2018 , 10(12) : E729.
- [8] 张韦 , 韩萍 , 肖远革 , 等. HPV L1 壳蛋白、Survivin 蛋白及高危型 HPV 感染在不同程度宫颈病变中的相关性研究及临床价值 [J].*中国妇幼保健* 2018 , 33(22) : 5258-5261.
- [9] 许驰 , 何玉 , 李旭. 细胞学检测与 HPV 检测在宫颈疾病筛查中的应用 [J].*南京医科大学学报(自然科学版)* 2018 , 38(11) : 1593-1597.
- [10] 潘蕾 , 李娟 , 刘媛 , 等. 宫颈细胞学和高危型人乳头瘤病毒联合检测在宫颈腺癌中的辅助诊断价值 [J].*上海交通大学学报(医学版)* 2018 , 38(11) : 1366-1369.
- [11] 杨宝华 , 徐军 , 苏燕 , 等. 子宫内膜细胞 DNA 定量分析对子宫内膜癌的筛查价值 [J].*同济大学学报(医学版)* 2017 , 38(3) : 60-65.
- [12] 李霞 , 何跃东. 宫颈 DNA 倍体分析联合宫颈细胞学检查在宫颈癌筛查中的应用价值 [J].*中华妇幼临床医学杂志(电子版)* 2018 , 14(5) : 602-607.