

• 论 著 •

HPV-DNA 与液基制片法在宫颈癌前病变检测中的临床价值研究*

闫泓霖¹, 王登兰¹, 李 莉²(1. 新疆医科大学第二附属医院妇产科, 乌鲁木齐 830028; 2. 华中科技大学同济医学院
附属同济医院妇产科, 武汉 430030)

摘要:目的 比较人乳头瘤病毒(HPV)-DNA 检测法与液基制片细胞学检测法在宫颈癌前病变诊断中的临床价值。**方法** 将200例新疆医科大学第二附属医院收集的宫颈病变患者作为研究对象,予以 HPV-DNA 法和液基制片法检测,比较 HPV-DNA 法和液基制片法在宫颈癌前病变检测中的准确性。**结果** 采用 HPV-DNA 检测法的检测阳性率为 7.5%,液基制片法为 8.5%,两组之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。以宫颈上皮内瘤变(CIN) I 级为癌前病变的诊断标准,HPV-DNA 检测法筛查宫颈癌前病变的符合率为 80.0%,液基制片法为 41.2%,两组之间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。并且 HPV-DNA 检测法的灵敏度和特异度均高于液基制片法。受试者工作特征曲线(ROC)统计分析显示,HPV-DNA 法、液基制片法和 HPV-DNA 联合液基制片法这 3 种检测方法的曲线下面积(AUC)分别为 0.761, 0.715 和 0.867。**结论** HPV-DNA 联合液基制片法是宫颈癌前病变检测较为敏感和准确的方法。

关键词: 宫颈癌前病变; 人乳头瘤病毒; 液基细胞学; 筛查

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)15-2087-03

Study of clinical value of HPV-DNA and thinprep cytologic test for detecting cervical precancerous lesion*

YAN Honglin¹, WANG Denglan¹, LI Li²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumchi, Xinjiang 830028, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Tongji Hospital, Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

Abstract: **Objective** To compare the clinical value of HPV-DNA detection and thinprep cytologic test (TCT) in the diagnosis of cervical precancerous lesion. **Methods** A total of 200 patients with cervical lesion in the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University served as the research subjects and performed the HPV-DNA detection and TCT for comparing their accuracy for detecting cervical precancerous lesion. **Results** The positive detection rate was 7.5% for HPV-DNA detection and 8.5% for TCT, the difference between them had no statistical significance ($P>0.05$). With the CIN class I as the diagnostic standard, the coincidence rate of HPV-DNA detection for screening cervical precancerous lesion was 80.0%, which of TCT was 41.2%, the difference between them had statistical significance ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of HPV-DNA detection were higher than those of TCT. The ROC curve statistical analysis displayed that the area under the curve (AUC) of HPV-DNA, TCT and HPV-DNA combined with TCT was 0.761, 0.715 and 0.867 respectively. **Conclusion** HPV-DNA detection combined with TCT is the relatively sensitive and accurate method for detecting cervical precancerous lesion.

Key words: cervical precancerous lesion; human papillomavirus; liquid based cytology; screening test

宫颈癌是妇女最为常见的生殖道恶性肿瘤,宫颈癌前病变的早期诊断和治疗是降低宫颈癌发病率和提高患者生存率的关键。以往,巴氏涂片法被广泛的应用于临床宫颈癌和癌前病变的筛查,降低了宫颈癌的病死率和发病率。但是,巴氏涂片法由于假阳性较高^[1],在临床防治宫颈癌的效果不佳。目前已经应用于临床的宫颈癌病变筛查方法为液基制片法和人乳头瘤病毒(HPV)-DNA 检测法,它们均取代了传统的巴氏涂片法。液基制片法是对细胞学标本的采集以及玻片制备的重大改进,而 HPV-DNA 检测是从病因学的角度对宫颈癌病变进行筛查。两者的方法显著不同,目前两者在宫颈癌和癌前病变筛查中的作用已有相关报道^[2-4],但是结论不尽相同。本研究以组织学诊断为金标准,评价液基制片法和 HPV-DNA 检测法对宫颈癌前病变的筛查价值,以期为提高宫颈癌的早期诊断和早期治疗,及降低其病死率和发病率提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集新疆医科大学第二附属医院妇产科 2012 年 1 月至 2014 年 12 月门诊和住院患者 200 例作为研究对象,其均有病理组织学诊断作为依据。所有患者都进行液基制片法和 HPV-DNA 法检测。患者年龄 40~61 岁,平均(40.4±4.4)岁,入选标准:(1)无宫颈手术既往史;(2)术前行活检病理检测;(3)无肝肾功能不全、心功能不全等并发症。其中,有 52 例为高危型 HPV 感染,20 例为低危型 HPV 感染。

1.2 方法

1.2.1 液基制片法 宫颈经窥阴器暴露后,清洁棉球擦拭宫颈表面的分泌物,采样专用小刷在宫颈管内旋转 3 圈左右,取出并置入含有保存液的标本收集管内,予以震荡摇晃;加入 0.1% 二碘铬氨酸(DIT)消化液后在振荡器上振荡约 2 h,然后对细胞悬液予以 800 r/min 离心 5 min;吸弃上清,用 50% 乙醇

* 基金项目:新疆医科大学科研创新基金(XYDCX201534)。

作者简介:闫泓霖,女,副主任医师,主要从事妇科肿瘤方向的研究。

予以清洗2次;加入固定液后置入细胞涂片离心机进行甩片,制成直径1.3 cm薄层细胞学片,最后固定并巴氏染色。液基细胞学诊断:结果均采用TBS分级系统,以意义不明的不典型鳞状上皮细胞或腺细胞的以上病变为细胞学阳性诊断。

1.2.2 HPV-DNA 检测法 标本的采集方法同液基制片法,细胞悬液进行1 500 r/min离心5 min,吸弃上清液,采用96孔板方法,利用高危型肿瘤相关HPV-DNA混合探针试剂盒进行宫颈癌前病变的筛查。HPV-DNA基因分型标准:低危型HPV病毒亚型共有5型,分别为6、11、42、43和81型;高危型HPV病毒亚型共有18型,分别为16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82和83型。

1.2.3 病理学活镜检查 所有患者均行阴道镜检查,对疑似宫颈部位予以活检。病理诊断的结果包括正常或宫颈炎、宫颈上皮内瘤变(CIN) I级、CIN II级、CIN III级和宫颈癌。以CIN I级认为阳性病变的阈值。

1.3 统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析,计数资料采用百分率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 来表示,建立受试者工作特征曲线(ROC),并计算曲线下面积(AUC),横轴表示特异度,纵轴表示灵敏度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 阳性率的检测结果 液基制片检测组宫颈癌前病变的阳性率为8.5%(15/200),HPV-DNA检测法的检测阳性为7.5%(17/200),两组之间阳性率的比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.136, P = 0.712$)。

2.2 宫颈活检的结果 HPV-DNA检测法中宫颈炎3例,CIN I级5例,CIN II级7例;液基制片组中宫颈炎10例,CIN I级3例,CIN II级3例,CIN III级1例。以CIN I级活检结果为癌前诊断标准,HPV-DNA检测组的上皮内瘤变的检出率为80.0%,液基制片组的上皮内瘤变的检出率为41.2%,两者之间的差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.979, P = 0.026$)。见表1、2。

表1 HPV-DNA检测法与活检病理学法对照

活检结果	阳性例数(n)	ASCUS(n)	LSIL(n)	AGUS(n)
宫颈炎	3	3	0	0
CIN I级	5	3	1	1
CIN II级	7	5	1	1
CIN III级	0	0	0	0
合计	15	11	2	2

注:ASCUS,意义不明的不典型鳞状上皮细胞;LSIL,鳞状上皮内低度病变;AGUS,意义不明的不典型腺细胞。

表2 液基制片法与活检病理学法对照

活检结果	阳性例数(n)	异倍体细胞、异常增生(n)	
		1~2个	≥3个或异常增生
宫颈炎	10	10	0
CIN I级	3	2	1
CIN II级	3	1	2
CIN III级	1	0	1
合计	17	13	4

2.3 两种筛选方法的灵敏度、特异度比较 HPV-DNA检测法检测宫颈癌前病变的灵敏度和特异度均高于液基制片法,但只有灵敏度(80.0% vs. 41.2%)差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.979, P = 0.026$),特异度(98.4% vs. 95.0%)差异无统计学意

义($\chi^2 = 1.375, P = 0.241$)。

2.4 3种方法检测宫颈癌前病变的ROC曲线分析 HPV-DNA联合液基制片法检测的ROC AUC为0.867,大于单独HPV-DNA或液基制片法检测的ROC AUC,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 3种方法检测宫颈癌前病变的ROC AUC

检测方法	AUC	P
HPV-DNA法检测	0.761	0.011
液基制片法检测	0.715	0.003
HPV-DNA联合液基制片法检测	0.867	0.000

3 讨 论

随着人们健康意识的不断改进,对健康体检的越来越重视,目前妇女自觉至医院进行宫颈癌筛查的数量日益增多。宫颈癌以及癌前病变的主要筛查方法是宫颈细胞学检查,通过有效的宫颈细胞学诊断能显著降低妇女宫颈癌的发病率并提高患者的生存率^[5-6]。但寻找一种有效、简单、价廉的宫颈癌或癌前病变的筛查方法是目前大多数患者所期望的^[7]。

近年来,宫颈癌细胞学在取材与制片方面取得了重大改良,使宫颈癌及癌前病变的检出率显著增加^[8]。目前研究表明高危型HPV持续感染是宫颈癌发生的必要条件,其会增加妇女宫颈上皮高度病变发生风险250~300倍^[9]。HPV病变目前认为是从感染的基底细胞增殖而开始的,通过局部轻微的摩擦引起的上皮屏障的损伤,有限复层上皮基底细胞暴露于HPV病毒中产生的^[10]。在HPV感染的年轻妇女中,大多数是暂时的,时间一般为1~2年,但是,对于某些高危型的病毒来说,可能会潜伏10~15年才发展宫颈浸润癌^[11]。有研究报道宫颈细胞学检测联合HPV-DNA检测能提高宫颈癌的筛查敏感度,并且可以使筛查次数降低为每2~3年1次,普查成本显著降低^[12]。HPV-DNA检测方法的临床价值主要体现在如下:(1)特异度和灵敏度均较高,操作方便,有利于在临床中广泛推广;(2)能单独应用或者与其他方法联合对宫颈癌进行初筛,有利于提高检出率,避免镜下活检导致的不必要的损害;(3)由于HPV亚型对宫颈上皮致病能力的不同,筛查间隔时间可随着HPV-DNA检测亚型的不同而变化;(4)HPV检测可以预测接受手术治疗的宫颈癌前病变患者的术后复发或病情发展的风险,可以作为术后疗效评估和随访的措施之一。

液基制片法是近年来宫颈细胞学诊断过程中的新技术,其将物理学技术与现代计算机技术很好的结合,制成的薄层涂片细胞结构清晰,成分齐全,背景干净,异常的宫颈上皮易于被辨认,特别是对于那些体积小,细胞数量少的宫颈鳞状上皮内瘤的高度病变,能显著增加宫颈癌的阳性诊断率,明显降低宫颈癌的漏诊率,并且减轻了病理科医师阅片时的疲倦感^[13-15]。有研究报道应用液基制片筛查宫颈癌前病变的有效率达到95.0%以上。液基制片检测法显著改进了巴氏涂片由于血液和分泌物等因素导致的样本质量不高的不足,降低了假阴性率。在以往的宫颈癌筛查工作中,液基制片能显著提高癌前病变细胞的筛查率,降低常规巴氏涂片样本模糊导致的误差,以便对早期癌变筛查者进行及时有效的治疗。

目前于液基制片宫颈细胞学检测与HPV-DNA检测在宫颈癌病变临床筛查的应用价值报道不一。本研究认为,液基制片组的检测阳性率为7.5%,HPV-DNA检测组为8.5%,两种方法比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。然后以CIN I级为癌前病变的诊断阈值,HPV-DNA筛查宫颈癌前病变的符

合率为 80.0%，液基制片宫颈细胞学检测组为 41.2%，两种方法比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。在宫颈癌前病变方面，HPV-DNA 检测的灵敏度和特异度均高于液基制片宫颈细胞学检查。

在本研究中，ROC 曲线越是靠近左上角，其准确性就越高。将各种方法的 ROC 曲线绘制到同一个坐标内来比较不同方法对疾病的诊断价值，需要通过计算和比较各个方法的 AUC，其值越大表示此方法的诊断价值越高。研究结果显示 HPV-DNA 联合液基制片法检测宫颈癌前病变的 AUC 最高。

综上所述，本研究认为 HPV-DNA 联合液基制片法检测可以作为诊断宫颈癌前病变一个有临床价值的指标，有助于宫颈癌病变的早期诊断与治疗，从而提高患者的生存率以及降低其病死率。

参考文献

[1] 欧阳秋茹, 陈文静. 宫颈癌及其癌前病变筛查与预防的研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(22): 3212-3214.

[2] 陈广莉, 徐又先, 李立, 等. 宫颈细胞 DNA 倍体分析与液基细胞学联合 HPV 检测宫颈癌前病变的临床应用价值[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(7): 1179-1181.

[3] 路光明, 南玉勇, 张冬青. 薄层液基细胞学联合 HPV-DNA 检测对宫颈癌筛查的临床价值[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(30): 5002-5004.

[4] 周斌, 左新华, 傅新文. 高危型人乳头状瘤病毒 16, 18 型 DNA 检测在宫颈病变筛查中的应用价值[J]. 检验医学, 2012, 27(5): 393-395.

[5] Porras C, Hildesheim A, González P, et al. Performance of self-collected cervical samples in screening for future precancer using human papillomavirus DNA testing [J]. J Natl Cancer Inst, 2015, 107(1): 400.

[6] Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJ, et al. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(2): 172-183.

[7] Porras C, Wentzensen N, Rodríguez AC, et al. Switch from cytology-based to human papillomavirus test-based

cervical screening; implications for colposcopy [J]. Int J Cancer, 2012, 130(8): 1879-1887.

[8] Vink MA, Bogaards JA, van Kemenade FJ, et al. Clinical progression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia; estimating the time to preclinical cervical Cancer from doubly censored National registry data [J]. Am J Epidemiol, 2013, 178(7): 1161-1169.

[9] Bory JP, Cucherousset J, Lorenzato M, et al. Recurrent human papillomavirus infection detected with the hybrid capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions: a longitudinal study of 3,091 women [J]. Int J Cancer, 2002, 102(5): 519-525.

[10] Lozza V, Pieralli A, Corioni S, et al. HPV-related cervical disease and oropharyngeal Cancer [J]. Arch Gynecol Obstet, 2014, 290(2): 375-379.

[11] Choudhury M, Singh S. Detection of HPV16 and 18 by in situ hybridization in precancerous and cancerous lesions of cervix [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2006, 49(3): 345-347.

[12] Cochand-Priollet B, Cartier I, de Cremoux P, et al. Cost-effectiveness of liquid-based cytology with or without hybrid-capture II HPV test compared with conventional pap smears: A study by the French Society of Clinical Cytology [J]. Diagn Cytopathol, 2005, 33(5): 338-343.

[13] 王凤莲. 阴道镜诊断早期宫颈癌与癌前病变的临床应用 [J]. 医学综述, 2012, 18(21): 3698-3699.

[14] 胡昕, 蔡丽萍, 宋淑慧, 等. 液基薄层细胞学检测宫颈癌及癌前病变 55221 例临床分析 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2012, 52(9): 61-63.

[15] 宋淑珍, 贺惠琼, 廖小凤. 液基细胞学联合阴道镜在宫颈疾病中的诊断价值 [J]. 广东医学, 2010, 31(24): 3228-3230.

(收稿日期: 2016-01-22 修回日期: 2016-03-19)

(上接第 2086 页)

饮食对肝功能指标的影响较小, 进食早餐后可随时进行肝功能测定, 此结论也与绝大多数文献报道一致。

参考文献

[1] 冯慧艳, 袁敏, 刘妙娥. 转氨酶水平检验在脂肪肝诊断中的应用价值 [J]. 中国医药指南, 2012, 10(30): 228-229.

[2] 张玉波, 贾继东. 浅谈肝功能试验 [J]. 中国乡村医药, 2010, 17(4): 10-11.

[3] 赵冬莹, 何振娟, 朱建幸, 等. 血清总胆汁酸联合 γ 谷氨酰转肽酶检测在评估延迟性黄疸病因中的价值 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2013, 33(7): 931-935.

[4] Patsch JR, Karlin JB, Scott LW, et al. Inverse relationship between blood levels of high density lipoprotein subfraction 2 and magnitude of postprandial lipemia [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1983, 80(5): 1449-1453.

[5] 韩玲玲, 张晓蕾, 李佳, 等. 糖尿病患者餐后血脂、同型半

胱氨酸水平与动脉粥样硬化的关系研究 [J]. 医学临床研究, 2013, 30(3): 507-509.

[6] 王少玉. 测量不确定度在临床生化检验中的应用价值 [J]. 中外医疗, 2014(14): 183-184.

[7] Leppänen E, Dugué B. When to collect blood specimens: midmorning vs fasting samples [J]. Clin Chem, 1998, 44(12): 2537-2542.

[8] 郝光洛, 李文生, 贺齐华, 等. 餐前餐后采血对肝功能试验结果影响的初步探讨 [J]. 中原医刊, 1991(5): 17-18.

[9] 张淑艳, 王海英, 杨永昌. 普通饮食对肝功能检测结果的影响 [J]. 中国临床医学卫生杂志, 2006, 4(4): 44-45.

[10] 张红旭, 胡学基, 李会芝. 早餐前后肝功能变化的临床观察 [J]. 中国误诊学杂志, 2002, 2(8): 1178-1179.

[11] 侯耀斌. 餐前餐后抽血检测肝功能的对比分析 [J]. 实用医技杂志, 2001, 8(5): 323-324.

(收稿日期: 2016-02-16 修回日期: 2016-04-21)