

人乳头瘤病毒和液基薄层细胞联合检测 在宫颈癌筛查中的临床应用

殷先尧 陆勤云 方芳 夏成宏 周园

作者单位: 231200 安徽合肥, 肥西县中医院检验科(殷先尧、周园), 妇产科(陆勤云、夏成宏)

241001 安徽芜湖, 皖南医学院附属弋矶山医院检验科(方芳)

通信作者: 殷先尧, Email: 2110105851@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.02.013

【摘要】 目的 评价人乳头瘤病毒(HPV)检测联合液基薄层细胞检测(TCT)在宫颈癌筛查中的应用。方法 选择 2020 年 11 月—2021 年 4 月在肥西县中医院进行宫颈癌筛查的 109 名受检者作为研究对象, 均行 TCT、HPV 检查和宫颈病理组织学活检。计算 TCT、HPV 单独和联合检测所得结果与病理组织学诊断结果的符合率; 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 计算曲线下面积(AUC), 分析 TCT、HPV 单独与联合检测的诊断效能; 分析 HPV 感染亚型与宫颈病变程度的关系。结果 TCT、HPV 单独和联合检测与病理组织学诊断结果的符合率分别为 73.4%、76.1%、92.5%, 敏感度分别为 56.7%、95.0%、93.3%, 特异度分别 93.9%、53.1%、91.3%。TCT、HPV 联合诊断的 AUC 为 0.763 [95% 可信区间(95%CI)为 0.670~0.835], 明显高于 TCT 和 HPV 单独检测(AUC 分别为 0.352、0.732, 95%CI 分别为 0.249~0.430、0.650~0.818)。高级别宫颈上皮内瘤样病变(CIN)和宫颈癌患者以及低级别 CIN 和慢性炎症患者中, HPV 16 型的感染比例均最高[分别为 64%(32/50)和 41%(20/49)]。结论 HPV 和 TCT 联合应用是较完善的宫颈癌筛查方案。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 液基薄层细胞检测; 宫颈癌筛查

Application of human papillomavirus and thinprep cytologic test combined detection in cervical cancer screening

Yin Xianyao, Lu Qinyun, Fang Fang, Xia Chenghong, Zhou Yuan. Clinical Laboratory, Feixi County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hefei 231200, Anhui, China (Yin XY, Zhou Y); Department of Obstetrics and Gynecology, Feixi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hefei 231200, Anhui, China (Lu QY, Xia CH); Clinical Laboratory, Yijishan Hospital Affiliated to Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China (Fang F)

Corresponding author: Yin Xianyao, Email: 2110105851@qq.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the application of human papillomavirus (HPV) detection and thinprep cytologic test (TCT) in cervical cancer screening. **Methods** 109 women for cervical cancer screening in department of gynecology in Feixi County Hospital of Traditional Chinese Medicine from November 2020 to April 2021 were selected as research subjects and examined by TCT, HPV and pathological biopsy of cervix. The coincidence rates of TCT, HPV alone and combined detection and histopathological diagnosis were calculated; the receiver operator characteristic curve (ROC curve) was drawn and the area under curve (AUC) was calculated to analyze the diagnostic efficacy of TCT, HPV alone and combined detection; the relationship between HPV infection subtypes and cervical lesions degree was analyzed. **Results** The coincidence rates of TCT, HPV alone and combined detection and pathological results were 73.4%, 76.1%, 92.5%; sensitivity was 56.7%, 95.0%, 93.3%; specificity was 93.9%, 53.1%, 91.3%. AUC of TCT and HPV combined detection was 0.763 [95% confidence interval (95%CI) was 0.670-0.835], which was higher than those of TCT and HPV (AUC was 0.352, 0.732, 95%CI was 0.249-0.430, 0.650-0.818). In high cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and low CIN patients, HPV 16 had the highest infection rates [64% (32/50) and 41% (20/49)]. **Conclusion** HPV and TCT combined detection is a comprehensive cervical cancer screening program.

【Key words】 Human papillomavirus; Thinprep cytologic test; Cervical cancer screening

宫颈癌是临床高发的妇科肿瘤^[1], 它与人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)的密切关系已经得到广泛认可^[2-3]。HPV 感染是宫颈癌及其癌前病变发生的主要危险因素^[4]。由于 HPV 的感染特性以及宫颈癌及其癌前病变的发展进程较慢, 为宫

颈癌的预防提供了时机^[5]。将液基薄层细胞检测(thinprep cytologic test, TCT)与目前通用的泊塞斯达诊断系统(the Bethesda system, TBS)相结合, 是当前用于筛查宫颈癌及其癌前病变的重要方法。TCT 和 HPV 检测均为临床常用的宫颈癌筛查技术^[6]。由

于采用的技术原理有区别,所以两种方法的临床应用也各有优点和缺点。本研究以病理组织学诊断为确诊标准,通过对患者同时进行 TCT 和 HPV 检测,比较两种方法的敏感度和特异度,分析二者联合检测在宫颈癌及癌前病变筛查中的应用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象及一般资料 选择 2020 年 11 月—2021 年 4 月在本院进行宫颈癌筛查的 109 名受检者作为研究对象,年龄 20~63 岁,平均(39.8±8.0)岁。受检者均有性生活史,无子宫锥切、子宫切除手术史,无急性生殖道炎症等病史。

1.2 检查方法 受检者实施检查前 3 d 内勿行阴道冲洗,不使用阴道内药物,24 h 内禁止性行为,在非经期检查。所有受检者均行 TCT 检查、HPV 分型检测和阴道镜下宫颈病理组织学活检。从 109 名受检者中抽取 53 名联合应用 TCT 和 HPV 检测。

1.2.1 HPV 基因分型检测

1.2.1.1 宫颈细胞取样 由临床医生取样,将取样刷放入加有专用保存液的取样管中。标本置于 4℃ 冰箱保存,在 7 d 内检测。

1.2.1.2 HPV 分型检测步骤 ① DNA 分离和提取;② 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增;③ 核酸分子导流杂交。所需试剂由潮州凯普生物化学有限公司提供。

1.2.2 TCT 检测 采用膜式 TCT 方法制片后,由病理科细胞学医师阅片,出具报告并进行分析。

1.2.3 病理学检查 阴道镜下多点取材行病变处活检。阴道镜检查未见异常者行 0、3、6、9 点活检。将标本置于盛有 10% 甲醛溶液的标本瓶中保存送检。

1.3 诊断标准

1.3.1 TCT 采用 TBS 分类标准^[7]进行诊断,入选病例分为良性反应性改变(轻、中、重度炎症)、非典型鳞状细胞病变 (atypical squamous cell of undetermined significance, ASCUS)、低级别鳞状上皮内病变 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、高级别鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)。TCT 阴性为良性反应性改变;TCT 阳性为 ASCUS、LSIL 和 HSIL。

1.3.2 HPV 基因检测 无论检出何种型别,只要出现 HPV 阳性结果即判定为阳性。

1.3.3 病理组织学活检 高度病变为宫颈上皮内瘤样病变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) II 度及以上,包括 CIN II 度、CIN II~III 度、CIN III 度、宫颈

浸润癌;低度病变为慢性炎症、CIN I 度及 CIN I~II 度。以病理检测结果为确诊标准。

1.4 伦理学 本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》伦理准则,并通过肥西县中医院伦理委员会审批(审批号:20210506),对患者的检测均获得过本人或家属的知情同意。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件处理数据,计数资料以例表示,组间比较采用 χ^2 检验。对 $P>0.05$ 的结果采用 Kappa 指数对两种方法进行一致性分析,Kappa 值 0.40~0.75 为中、高度一致,>0.75 为一致性极好,<0.40 为一致性较差。绘制受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC 曲线)并计算曲线下面积 (area under curve, AUC),分析 TCT、HPV 单独与联合检测的诊断效能。

2 结果

2.1 TCT 检测与病理组织学活检诊断结果的比较 TCT 检测阳性 37 例,其中 ASCUS 21 例,LSIL 7 例,HSIL 9 例。TCT 检测与病理组织学活检诊断结果的符合率分别为:慢性炎症 94.9% (37/39);低级别 CIN 90.0% (9/10),高级别 CIN 51.1% (23/45),宫颈癌 73.3% (11/15)。TCT 与病理组织学诊断结果比较差异有统计学意义 ($\chi^2=42.983, P<0.01$)。见表 1。

表 1 TCT 检测与病理组织学活检诊断结果的比较

TCT	例数 (例)	宫颈病变病理学分类 (例)			
		慢性炎症	低级别 CIN	高级别 CIN	宫颈癌
良性反应性改变	72	37	9	22	4
ASCUS	21	1	0	14	6
LSIL	7	1	1	4	1
HSIL	9	0	0	5	4
合计	109	39	10	45	15

注:TCT 为液基薄层细胞检测,ASCUS 为非典型鳞状细胞病变,LSIL 为低级别鳞状上皮内病变,HSIL 为高级别鳞状上皮内病变,CIN 为宫颈上皮内瘤样病变

2.2 HPV 基因分型与病理组织学活检诊断结果的比较 HPV 与病理组织学活检诊断结果的符合率分别为:慢性炎症 56.4% (22/39),低级别 CIN 40.0% (4/10),高级别 CIN 95.6% (43/45),宫颈癌 93.3% (14/15)。HPV 检测与病理组织学诊断结果比较差异有统计学意义 ($\chi^2=83.283, P<0.01$)。见表 2。

表 2 HPV 检查与病理组织学活检诊断结果的比较

HPV 检测	例数 (例)	宫颈病变病理学分类 (例)			
		慢性炎症	低级别 CIN	高级别 CIN	宫颈癌
HPV 阳性	80	17	6	43	14
HPV 阴性	29	22	4	2	1
合计	109	39	10	45	15

注:HPV 为人乳头瘤病毒,CIN 为宫颈上皮内瘤样病变

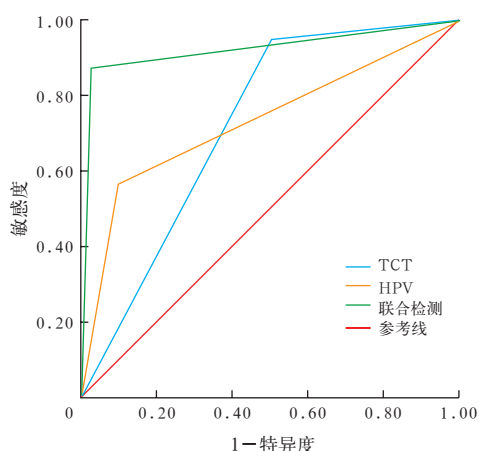
2.3 TCT 和 HPV 联合检测与病理组织学活检诊断结果的比较 53 份标本中,两种检查结果一致的标本数为 49 份,符合率为 92.5%,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。联合检测与病理组织学活检诊断结果的一致性极好 (Kappa 值为 0.862)。见表 3。

表 3 TCT 和 HPV 联合检测与病理组织学活检诊断结果的比较

联合检测	例数 (例)	宫颈病变病理学分类(例)	
		高度病变	低度病变
TCT、HPV 同时阳性	30	28	2
TCT、HPV 同时阴性	23	2	21
合计	53	30	23

注: TCT 为液基薄层细胞检测, HPV 为人乳头瘤病毒

2.4 TCT、HPV 单独与联合检测的诊断效能 TCT 和 HPV 联合检测诊断宫颈癌的 AUC 为 0.763 [95% 可信区间 (95%CI) 为 0.670 ~ 0.835], 明显高于 TCT 和 HPV 单独检测 (AUC 分别为 0.352、0.732, 95%CI 分别为 0.249 ~ 0.430、0.650 ~ 0.818), 差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。见图 1, 表 4。



注: TCT 为液基薄层细胞检测, HPV 为人乳头瘤病毒, ROC 为受试者工作特征曲线

图 1 TCT、HPV 单独及联合检测诊断宫颈癌的 ROC 曲线

表 4 TCT、HPV 单独及联合检测的诊断效能比较

检测项目	敏感度 (%)	特异度 (%)	假阳性率 (%)	假阴性率 (%)	符合率 (%)
TCT	56.7	93.9	6.1	43.3	73.4
HPV	95.0 ^a	53.1 ^a	46.9 ^a	5.0 ^a	76.1
联合检测	93.3 ^a	91.3 ^b	8.7 ^{ab}	6.7 ^a	92.5 ^{ab}

注: TCT 为液基薄层细胞检测, HPV 为人乳头瘤病毒; 与 TCT 比较, ^a $P<0.05$; 与 HPV 比较, ^b $P<0.05$

2.5 HPV 感染亚型与宫颈病变程度的关系 本研究 109 例患者中,有 HPV 多型别复合感染 24 例, HPV 阴性 29 例, HPV 单一型别感染 56 例。单一型别感染中,有我国居民常见型别感染 1 例,低危型别感染 1 例,高危型别感染 54 例,其中在单一型别和

多型别复合感染中,以 HPV 16 型的感染比例最高 [56%(45/80)]。高级别 CIN 和宫颈癌患者单一型别 HPV 感染中, HPV 16 型感染比例高达 64%(32/50), 低级别 CIN 和慢性炎症组中 HPV 16 型感染比例为 41%(20/49)。

3 讨论

HPV 与宫颈病变之间的关系已经明确^[8],但从宫颈病变发展到浸润性宫颈癌是一个渐进的连续发展过程,它的自然演变(从低度上皮瘤变到高度上皮瘤变,直至浸润性宫颈癌)一般需要 10 年左右。HPV 通过破坏宿主细胞的蛋白质调控引起染色体结构不稳定,从而导致细胞基因突变,随着时间的推移累积进而发展为癌症^[9]。

有大量研究和实验结果表明,严重威胁女性健康的宫颈癌是目前唯一可经医学干预使其发病率和病死率下降的恶性肿瘤,而且 CIN 具有进一步恶变或逆转为正常的双重性^[10]。癌前病变的早期诊断和治疗对预防宫颈癌发生以及降低病死率具有重要意义。TCT 和 HPV 检测是两种常用的宫颈癌筛查技术。TCT 检查弥补了传统检测方法操作上的缺陷,标本取出后立即放入细胞保存液中,充分保留取材器上的标本,经全自动制片使高质量、超薄层的细胞固定于载玻片上,明显提高了洗片满意率及异常细胞检出率。

TCT 检测技术采用 TBS 诊断系统,能客观反映异常细胞的形态学改变。Zur Hausen 等^[11]首次提出了女性生殖道 HPV 感染与宫颈癌有关。经过多年研究,现已明确 HPV 感染是导致宫颈癌及 CIN 的主要原因^[12-13]。导流杂交检测 HPV-DNA 的基本原理是将特定探针固定于 DNA 低密度芯片膜中,使待测标本的 PCR 扩增产物经负压导流穿过芯片膜并与膜中互补的探针结合,再经显色获得直观可见的结果。与传统方法相比,导流杂交法快速、敏感,检查成本较低。

本研究中, TCT 检测诊断宫颈癌的敏感度为 56.7%,假阴性率为 43.3%,特异度为 93.9%,假阳性率为 6.1%,与病理组织学活检诊断结果的符合率为 73.4%,说明 TCT 检测的敏感度有限但特异度较高。TCT 检查细小病灶易漏诊,不仅与病灶的大小和部位有关,还有赖于操作者是否经过严格的训练和具有丰富的经验。本研究结果显示, TCT 检查的假阴性率较高,尤其是在高级别 CIN 及宫颈癌的诊断中存在一定程度的漏诊,这会贻误治疗的最佳时机,造

成严重后果。因此, TCT 检测虽是宫颈癌及癌前病变筛查的有效方法, 但其假阴性率较高, 敏感度较低, 降低了其在临床中的应用价值。

本研究结果显示, HPV 检测的敏感度为 95.0%, 特异度为 53.1%, 假阴性率为 5.0%, 假阳性率为 46.9%, 与病理组织学诊断结果的符合率为 76.1%。说明 HPV 检测的特异度较低但敏感度较高。这与分子生物学检测的高敏感度以及 HPV 病毒感染人体的特性有关。有研究显示, 80% 的 HPV 初次感染者可通过机体自身免疫力清除病毒, 持续感染才会造成宫颈病变^[14]。另外, 有部分患者感染了 HPV, 但宫颈细胞形态学检查无法发现病毒存在, 或病毒确已在宿主细胞中复制, 但此时尚未出现细胞形态学改变。如果不对此类患者加以监测治疗, 宫颈细胞病变发生的可能性就会增大, 甚至发生宫颈癌变。HPV 阳性表明宫颈高度病变的存在或将来有可能发展为宫颈癌, HPV 阴性则意味着发生宫颈癌的概率较低。有研究显示, 连续 2 次 HPV 检测阳性者 10 年内 CIN III 度病变的发生率为 20%; 连续 2 次 HPV 检测阴性者 10 年内 CIN III 度病变的发生率仅为 2.3%, 5 年内仅为 0.5%^[15]。宫颈 HPV 检测具有高敏感性、高阴性预测值的特点, 是宫颈癌及癌前病变筛查的有效方法, 但其假阳性率较高, 容易造成过度治疗和患者不必要的恐慌^[16]。

本研究中, 单独检测 HPV 或 TCT 与病理组织学活检诊断结果比较差异均有统计学意义, 表明两种方法在宫颈癌筛查中都有一定不足, 但二者联合应用的敏感度和特异度都得到了提高, 与病理组织学活检诊断结果的符合率为 92.6%, 一致性极好。

本研究 15 例宫颈癌患者中, 除 1 例 HPV 检测为阴性外, 其余 14 例皆为高危型别感染, 说明高危型 HPV 感染与宫颈癌有关。HPV 16 型单一型别感染比例在 HPV 阳性的高级别 CIN 和宫颈癌患者中高达 64%, 在 HPV 阳性的低级别 CIN 和慢性炎症患者中感染比例为 41%, 说明宫颈病变程度越高, HPV 16 型感染比例也越高。有资料显示, HPV 16 型感染是宫颈病变的危险因素, 且主要诱发鳞癌^[17]。

综上所述, 本研究纳入的 109 例宫颈病变患者中, HPV 16 型的感染率最高。TCT 和 HPV 联合检测可提高宫颈癌筛查的准确度、敏感度和特异度。两种方法互为补充, 是目前较完善的宫颈癌筛查方案, 具有较高的临床应用价值^[18]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- PIMPLE S A, MISHRA G A. Global strategies for cervical cancer prevention and screening [J]. *Minerva Ginecol*, 2019, 71 (4): 313-320. DOI: 10.23736/S0026-4784.19.04397-1.
- 陈晓颖, 陈航, 谢书琳, 等. 福建省福清地区 10 971 例女性 HPV 感染状况及基因型流行病学分析 [J]. *中国当代医药*, 2021, 28 (6): 160-162. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4721.2021.06.047.
- 梁盛. LCT 与 HPV 不同组合方案在宫颈高度病变 (\geq CIN2) 筛查中的应用 [J]. *实用检验医师杂志*, 2017, 9 (1): 21-23. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.01.007.
- MA L, LEI J, MA L, et al. Characteristics of women infected with human papillomavirus in a tertiary hospital in Beijing China, 2014-2018 [J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19 (1): 670. DOI: 10.1186/s12879-019-4313-8.
- 陈丽. 中西医结合治疗宫颈炎合并持续性高危型人乳头瘤病毒感染临床观察 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19 (3): 184-185. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2012.03.021.
- 孙涛, 周喆焱, 徐开军, 等. 液基薄层技术在宫颈癌筛查中的应用价值研究 [J]. *中外医疗*, 2020, 39 (8): 23-25. DOI: 10.16662/j.cnki.1674-0742.2020.08.023.
- 徐传和, 刘明辉, 李琳. TBS 的临床应用及诊断早期宫颈癌的意义 [J]. *中国妇幼保健*, 2009, 24 (22): 3076-3077.
- 李婷婷, 王翠峰. 高危型人乳头瘤病毒联合宫颈液基薄层细胞学检测在宫颈上皮内瘤变筛查中的应用价值 [J]. *中国全科医学*, 2021, 24 (9): 1106-1110. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.443.
- LUCIDO C T, WYNJA E, MADEO M, et al. Innervation of cervical carcinoma is mediated by cancer-derived exosomes [J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 154 (1): 228-235. DOI: 10.1016/j.ygyno.2019.04.651.
- 李肖甫, 沈勇, 巩姣梅, 等. 宫颈液基细胞学与组织病理学诊断结果不一致性研究 [J]. *实用检验医师杂志*, 2012, 4 (3): 161-165. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2012.03.008.
- ZUR HAUSEN H, MAMMAS I N, SPANDIDOS D A. HPV vaccination in boys: determining the clinical relevance of this strategy [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14 (4): 3327-3328. DOI: 10.3892/etm.2017.5005.
- BIENKOWSKA-HABA M, LUSZCZEK W, ZWOLINSKA K, et al. Genome-wide transcriptome analysis of human papillomavirus 16-infected primary keratinocytes reveals subtle perturbations mostly due to E7 protein expression [J]. *J Virol*, 2020, 94 (3): e01360-19. DOI: 10.1128/JVI.01360-19.
- 卢晓燕. 高危备孕女性液基薄层细胞检测与人乳头瘤病毒联合检测对宫颈癌病变检出率的影响 [J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36 (8): 1738-1741. DOI: 10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2021.08.011.
- 王景妹, 韩凤贤, 徐世亮, 等. 宫颈病变患者阴道微生态及高危型人乳头瘤病毒感染分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31 (7): 1061-1066. DOI: 10.11816/cn.ni.2021-202032.
- 汪美容, 王艺, 邓潇. 251 例意义不明确非典型鳞状上皮细胞 (ASCUS) 体检女性的临床分析 [J]. *当代医学*, 2021, 27 (11): 135-136. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2021.11.058.
- 叶蕾, 石海燕, 姚晔丽, 等. TCT 和高危型 HPV 检测在子宫颈原位腺癌诊断中的临床价值 [J]. *中华妇产科杂志*, 2021, 56 (3): 212-215. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20200903-00690.
- 高雯, 丁玲, 宋志超, 等. 人乳头瘤病毒 16 早期基因 E2 和 E6 与核不均一核糖核蛋白 E2 在宫颈癌变中的作用及其交互效应 [J]. *中华预防医学杂志*, 2020, 54 (1): 92-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.01.017.
- 薛雯娣, 宫美丽, 李旭, 等. 高级别宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者宫颈液基薄层细胞学检查和高危型人乳头状瘤病毒检测结果分析 [J]. *中国药物与临床*, 2021, 21 (3): 492-494. DOI: 10.11655/zgywylc.2021.03.062.

(收稿日期: 2021-04-26)

(本文编辑: 邵文)