

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.12.011

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.12.011>

## DNA倍体定量分析联合HR-HPV检测在宫颈病变中的应用价值

杨家佳, 周洁, 刘爽, 王艳芬

(扬州市第一人民医院病理科, 江苏 扬州 225000)

**[摘要]** 目的: 探讨DNA倍体定量分析联合高危型人乳头瘤病毒(high risk human papillomavirus, HR-HPV)检测技术在宫颈病变诊断中的应用价值。方法: 对94例具有明确病理诊断结果的宫颈病变患者行DNA倍体定量和HR-HPV检测数据分析, 分别计算单独和联合检测DNA异倍体、HR-HPV感染预测高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和诊断符合率, 绘制相应的ROC曲线; 分析DNA倍体定量的结果与HR-HPV检测的结果有无相关关系; 比较DNA异倍体阳性的不同宫颈病变组织中>5c和>9c细胞的个数。结果: 单独和联合检测DNA异倍体、HR-HPV感染预测HSIL及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为98.03%, 94.11%, 92.15%、41.86%, 53.48%, 72.09%、66.66%, 70.58%, 79.66%、94.73%, 88.46%, 88.57%、72.34%, 75.53%, 82.97%。从ROC曲线下面积可以直观地看出联合检测DNA异倍体和HR-HPV感染预测HSIL及以上病变的诊断价值最高。DNA异倍体阳性和阴性、HR-HPV阳性和阴性的不同宫颈病变发生率比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。DNA倍体分析结果与HR-HPV检测结果呈正相关趋势( $r_s = 0.281$ ,  $P < 0.01$ )。DNA异倍体阳性的不同宫颈病变组织每1 000个被测细胞中出现>5c的细胞个数, 在慢性宫颈炎、低度鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、HSIL和宫颈癌中分别为 $0.31 \pm 0.14$ 、 $0.40 \pm 0.16$ 、 $2.08 \pm 0.68$ 、 $2.37 \pm 0.81$ ; 慢性宫颈炎、LSIL患者分别与HSIL、宫颈癌患者比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。慢性宫颈炎、LSIL患者中未见>9c细胞, HSIL、宫颈癌患者中>9c细胞个数分别为 $1.31 \pm 0.65$ 、 $1.64 \pm 0.75$ , 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论: DNA倍体定量分析联合HR-HPV检测在宫颈病变, 特别是宫颈HSIL及以上病变的筛查中具有较高的诊断价值。>9c异倍体细胞的检出很大可能提示宫颈HSIL及以上病变的存在。

**[关键词]** DNA倍体分析; 高危型人乳头瘤病毒; 宫颈病变; 高级别鳞状上皮内病变

## Application value of DNA ploidy quantitative analysis combined with high risk type of human papillomavirus detection in cervical lesions

YANG Jiajia, ZHOU Jie, LIU Shuang, WANG Yanfen

(Department of Pathology, the First People's Hospital of Yangzhou, Yangzhou Jiangsu 225000, China)

收稿日期 (Date of reception): 2016-08-21

通信作者 (Corresponding author): 王艳芬, Email: wangyanfen315@126.com

基金项目 (Foundation item): 扬州市绿扬金凤计划优秀博士人才基金 (yzlyjfh2015YB105)。This work was supported by the Lvyang Jingfeng Plan Programs Foundation of Yangzhou Municipal Government (yzlyjfh2015YB105), P. R. China.

**Abstract** **Objective:** To investigate application value of DNA ploidy quantitative analysis combined with high risk type of human papillomavirus (HR-HPV) detection in cervical lesions. **Methods:** The data of DNA ploidy and HR-HPV were analyzed in 94 cases of cervical lesions with definite pathological diagnosis. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and diagnostic coincidence rate of HSIL and the above lesions were calculated by HR-HPV infection and the detection of DNA ploidy alone or combined respectively. Drew the corresponding ROC curve. Explored the correlation between DNA ploidy and HR-HPV detection, and compared the numbers of 5c-exceeding and 9c-exceeding cells in different cervical lesions. **Results:** DNA ploidy or HR-HPV detection could predict high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and the above lesions, and their sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and diagnosis accordance rate were 98.03%, 94.11%, 92.15%; 41.86%, 53.48%, 72.09%; 66.66%, 70.58%, 79.66%; 94.73%, 88.46%, 88.57%; 72.34%, 75.53, 82.97%; respectively. From the area under the ROC curve could be seen that the detection of DNA aneuploidy and HR-HPV infection in the diagnosis of HSIL and above lesions had the highest diagnostic value. The incidence rate of cervical lesions had significant difference between positive and negative case of DNA heteroploid or HR-HPV ( $P<0.01$ ). The results of DNA ploidy were positively correlated with HR-HPV detection ( $r_n=0.281$ ,  $P<0.01$ ). The amount of 5c-exceeding heteroploid cells among every 1 000 detected cells in chronic cervicitis, LSIL, HSIL and cervix cancer were respectively  $0.31\pm 0.14$ ,  $0.40\pm 0.16$ ,  $2.08\pm 0.68$ ,  $2.37\pm 0.81$ . And there were significant differences in cervicitis or low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) compared with HSIL or cervix ( $P<0.01$ ). There was no 9c-exceeding heteroploid cells detected in chronic cervicitis and LSIL, the amount in HSIL and cervix cancer were  $1.31\pm 0.65$ ,  $1.64\pm 0.75$ , with no significant difference ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** DNA ploidy quantitative analysis combined with HR-HPV detection in cervical lesions, especially HSIL and above lesions had a higher diagnostic value. 9c-exceeding heteroploid cells were likely to prompt the emergence of cervical HSIL and above the presence of lesions.

**Keywords** DNA ploidy analysis; high risk type of human papillomavirus (HR-HPV); cervical lesions; high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)

宫颈癌在全球女性恶性肿瘤发病率中居第三位并且呈现年轻化趋势<sup>[1]</sup>。近年来国内外大量文献<sup>[2-5]</sup>报道, DNA倍体定量分析作为一种新的光电自动检测技术在宫颈癌筛查中的具有优越性, 其与一般细胞形态学的检测相比, 结果更为敏感、客观、准确、重复性强。此外, 大量流行病学调查<sup>[6]</sup>已经证实持续感染高危型人乳头瘤病毒(high risk human papillomavirus, HR-HPV)是宫颈癌及癌前病变发生发展的必要条件, 2014年美国FDA批准HPV检测作为宫颈癌的一线筛查策略。本研究旨在探讨DNA倍体定量分析联合HR-HPV检测技术在宫颈病变诊断中的应用价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

收集本院2013年12月至2016年4月期间行DNA倍体定量分析和HR-HPV联合检查的患者9 407例,

其中DNA倍体和(或)HR-HPV检查结果阳性者共783例, 选取其中具有明确病理诊断结果的94例患者作为研究对象。患者年龄23~65岁, 中位年龄44岁。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 DNA 倍体分析

薄层细胞涂片制好后进行Feulgen DNA染色, 采用武汉兰丁全自动DNA倍体细胞定量分析检测仪对全片进行扫描分析。DNA异倍体阳性<sup>[7]</sup>分为: 1)DNA指数在1.5~2.5的3C、4C细胞>被测上皮细胞的10%(异常增生); 2)DNA指数>2.5的5C细胞数量 $\geq 3$ 个。凡是有DNA指数>2.5以上细胞的玻片, 都要细胞病理医生在显微镜下逐一对DNA指数>2.5以上细胞进行核实, 以排除系统将垃圾和重叠的细胞核误认为异常细胞。

#### 1.2.2 HPV 分型检测

按照HPV分型检测试剂盒(潮州凯普生物化学有限公司)的操作步骤进行, 包括病毒DNA的

提取, DNA的PCR扩增及分子导流杂交等步骤, 最后对杂交膜染色, 根据显色部位的不同确定不同的HPV分型。该方法可以检测出21种不同HPV基因型, 包括6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68和CP8304型, 其中16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59和68型为高危型。

### 1.2.3 阴道镜检查及病理活检

阴道镜检查按改良Reid评分标准进行评分<sup>[8]</sup>, 0分者常规在宫颈3, 6, 9, 12点活检;  $\geq 1$ 分者, 在阳性区活检。病理诊断结果分为: 慢性宫颈炎、低度鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) (CIN I)、高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) (CIN II和CIN III)、宫颈癌。

### 1.3 统计学处理

所有数据采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 定性资料采用 $\chi^2$ 检验以及Pearson相关分析; 定量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 多个均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

## 2 结果

### 2.1 DNA 倍体定量分析结果

#### 2.1.1 DNA 倍体定量分析与病理活检结果比较

DNA倍体分析中, 异倍体阳性者75例, 异倍

体阴性者19例。异倍体阳性者和阴性者不同宫颈病变发生率比较, 其差异有统计学意义( $P<0.01$ ); DNA异倍体阳性预测HSIL及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为98.03%、41.86%、66.66%、94.73%、72.34%(表1)。

#### 2.1.2 DNA 异倍体阳性的不同宫颈病变组织中异倍体细胞个数的比较

DNA异倍体阳性的不同宫颈病变组织中每1 000个被测细胞中出现的 $>5c$ 的细胞个数, 慢性宫颈炎与LSIL患者比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); HSIL与宫颈癌患者比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 但慢性宫颈炎、LSIL患者分别与HSIL、宫颈癌患者比较, 差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。慢性宫颈炎与LSIL患者中未见 $>9c$ 细胞, 而HSIL与宫颈癌患者每1 000个被测细胞中出现的 $>9c$ 细胞数分别为 $1.31\pm 0.65$ 、 $1.64\pm 0.75$ , 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表2)。

### 2.2 HR-HPV 检测结果与病理活检结果比较

HR-HPV阳性者68例, HR-HPV阴性者26例。HR-HPV阳性者和阴性者不同宫颈病变发生率比较, 其差异有统计学意义( $P<0.01$ ); HR-HPV阳性预测HSIL及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为94.11%、53.48%、70.58%、88.46%、75.53%(表3)。

表1 DNA倍体定量分析与病理活检结果的比较[例(%)]

Table 1 Comparison of DNA ploidy quantitative analysis and pathological results [No. (%)]

DNA异倍体	n	病理活检结果			
		慢性宫颈炎	LSIL	HSIL	宫颈癌
阳性	75	6 (8.0)	19 (25.3)	31 (41.3)	19 (25.3)
阴性	19	15 (78.9)	3 (15.8)	1 (5.3)	0 (0.0)
合计	94	21 (22.3)	22 (23.4)	32 (34.0)	19 (20.2)

表2 DNA异倍体阳性的不同宫颈病变组织中每1 000个被测细胞中出现的异倍体细胞数( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 The amount of heteroploid cells among every 1 000 detected cells in cervical lesions ( $\bar{x}\pm s$ )

病理活检结果	n	$>5c$	$>9c$
慢性宫颈炎	6	$0.31\pm 0.14$	0
LSIL	19	$0.40\pm 0.16$	0
HSIL	31	$2.08\pm 0.68$	$1.31\pm 0.65$
宫颈癌	19	$2.37\pm 0.81$	$1.64\pm 0.75$

### 2.3 DNA 倍体定量分析与 HR-HPV 检测结果的相关性

Pearson 相关分析显示, DNA 倍体定量分析与 HR-HPV 检测结果呈正相关趋势( $r_n=0.281$ ,  $P<0.01$ ) (表4)。

### 2.4 DNA 倍体定量分析联合 HR-HPV 检测与病理活检结果的比较

分析 DNA 异倍体联合 HR-HPV 感染检测结果, DNA 阳性/HR-HPV 阳性预测 HSIL 及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为 92.15%、72.09%、79.66%、

88.57%、82.97%。DNA 异倍体/HR-HPV 的四种检测结果的不同宫颈病变发生率比较, 其差异有统计学意义( $P<0.01$ , 表5)。DNA 异倍体与 HR-HPV 均为阳性时, HSIL 及以上病变的发生率为 79.7%, 而 DNA 异倍体与 HR-HPV 均为阴性时, HSIL 及以上病变的发生率为 0% (表5)。

### 2.5 单独和联合检测 DNA 异倍体、HR-HPV 感染预测 HSIL 及以上病变的诊断价值的比较

绘制 ROC 曲线, 从 ROC 曲线下面积可以直观地看出联合检测 DNA 异倍体和 HR-HPV 感染预测 HSIL 及以上病变的诊断价值最高 (图1)。

表3 HR-HPV 检测结果与病理活检结果的比较 [例(%)]

Table 3 Comparison of HR-HPV detection and pathological results [No. (%)]

HR-HPV 检测结果	n	病理活检结果			
		慢性宫颈炎	LSIL	HSIL	宫颈癌
阳性	68	8 (11.8)	12 (17.6)	30 (44.1)	18 (26.5)
阴性	26	13 (50.0)	10 (38.5)	2 (7.7)	1 (3.8)
合计	94	21 (22.3)	22 (23.4)	32 (34.0)	19 (20.2)

表4 DNA 倍体定量分析与 HR-HPV 检测结果的相关性

Table 4 The correlation between DNA ploidy analysis and HR-HPV detection

DNA	HR-HPV		$r_s$	P
	+	-		
+	59	16	0.281	0.006
-	9	10		

表5 DNA 倍体定量分析联合 HR-HPV 检测与病理活检结果的比较 [例(%)]

Table 5 Comparison of DNA ploidy analysis combined with HR-HPV detection and pathological results [No. (%)]

DNA 异倍体/HR-HPV 感染	n	病理活检结果			
		慢性宫颈炎	LSIL	HSIL	宫颈癌
+/+	59	2 (3.4)	10 (16.9)	29 (49.2)	18 (30.5)
+/-	16	4 (25.0)	9 (56.2)	2 (12.5)	1 (6.2)
-/+	9	6 (66.7)	2 (22.2)	1 (11.1)	0 (0)
-/-	10	9 (90.0)	1 (10.0)	0 (0)	0 (0)
合计	94	21 (22.3)	22 (23.4)	32 (34.0)	19 (20.2)



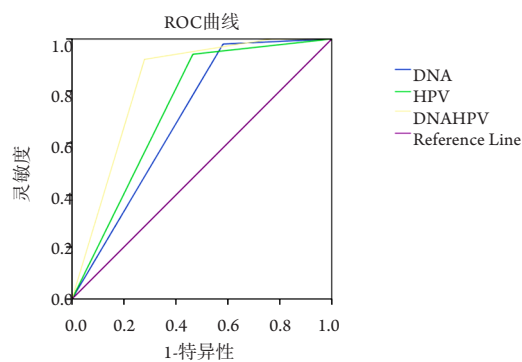


图1 单独和联合检测DNA异倍体、HR-HPV感染预测HSIL及以上病变的诊断价值的比较

Figure 1 Comparison of single and combined detection of DNA ploidy and HR-HPV infection in the diagnosis of HSIL and above lesions

### 3 讨论

本研究中病理活检结果根据第四版《女性生殖器官肿瘤分类》(2014)<sup>[9]</sup>的两层诊断系统,将CIN1及相关的HPV感染归为“LSIL”,而将CIN2和CIN3归为“HSIL”。此两层诊断系统具有更好的生物学相关性和组织学可重复性。

全自动细胞DNA倍体定量分析是宫颈细胞学由传统的形态学描述向定量分析发展中的进步。本研究发现DNA异倍体阳性者与阴性者不同宫颈病变的发生率有统计学差异,但由于每例患者取材的差异与局限性,每份样本中的细胞总数不可能相同,这样就需要一个可比性的指标来衡量样本中异倍体细胞的数量。因此为了确保可比性以及精确性,本研究计算了每份样本每1 000个被测细胞中出现的>5c的细胞个数和>9c的细胞个数,结果发现慢性宫颈炎与LSIL相比以及HSIL与宫颈癌相比,其差异均无统计学意义;但慢性宫颈炎、LSIL分别与HSIL、宫颈癌患者比较,其差异均有统计学意义。在慢性宫颈炎与LSIL患者中均未检出>9c细胞,而在HSIL与宫颈癌患者中每1 000个被测细胞中出现的>9c细胞数分别为 $1.31 \pm 0.65$ 、 $1.64 \pm 0.75$ ,其差异无统计学意义。以上结果表明,随着宫颈病变依次加重,>5c的细胞个数增加,同时>9c的细胞也开始出现。这与Demire等<sup>[10]</sup>和余小琴等<sup>[11]</sup>的研究结果相似。此外,本研究还发现一些慢性宫颈炎患者的DNA倍体定量分析出现了异倍体细胞。该结果提示单纯依赖DNA倍体定量分析来预测宫颈病变程度存在

一定局限性,其敏感度较高但特异度偏低。究其原因可能与炎症、激素治疗、放疗、维生素B12缺乏等影响细胞DNA含量的因素有关。

HPV感染是导致宫颈癌的主要病因,HPV基因型有200种,但是其中只有HR-HPV有较强导致宫颈癌的特性,95%的宫颈癌是由这些HR-HPV导致的。HR-HPV的致癌机制主要是通过其致癌基因E6、E7片段整合到宿主宫颈上皮细胞核DNA内,破坏细胞正常周期,引发染色体不稳定,从而促进感染细胞恶性转化,且高水平的HPV-DNA负荷量可促进宫颈病变的进展,宫颈病变程度与病毒负荷量呈明显正相关<sup>[12]</sup>。Bollmann等<sup>[13]</sup>和Feng等<sup>[14]</sup>研究表明HR-HPV感染与DNA异倍体细胞的出现有明显相关性。本研究也发现,DNA倍体定量分析与HR-HPV检测结果呈正相关趋势。本组病例中HR-HPV阳性和阴性者不同宫颈病变发生率比较,其差异有统计学意义。然而也观察到有一些慢性宫颈炎患者的HR-HPV检测阳性,分析原因可能与HR-HPV的暂时性感染有关。

本研究中DNA异倍体、HR-HPV单独和联合检测阳性预测HSIL及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断符合率分别为98.03%、94.11%、92.15%,41.86%、53.48%、72.09%,66.66%、70.58%、79.66%,94.73%、88.46%、88.57%,72.34%、75.53%、82.97%。该结果表明联合检测DNA异倍体和HR-HPV的灵敏度稍有降低,但是特异度有了明显提高,且诊断符合率也有提高。进一步分析本组病例发现DNA异倍体与HR-HPV均为阳性时,HSIL及以上病变的发生率为79.7%,而DNA异倍体与HR-HPV均为阴性时,HSIL及以上病变的发生率为0。并且从ROC曲线下面积可以直观地看出联合检测DNA异倍体和HR-HPV感染预测HSIL及以上病变的诊断价值最高。DNA倍体定量分析联合HR-HPV检测不仅克服了人为主观因素,得到客观的肿瘤生物学信息和科学的流行病学数据,而且为细胞形态学诊断提供了有价值的补充,提高了细胞病理医师对形态学的认识水平。

### 参考文献

1. Schiffman M, Solomon D. Clinical practice. Cervical-cancer screening with human papillomavirus and cytologic cotesting[J]. N Engl J Med,

- 2013, 369(24): 2324-2331.
- 周宏, 罗新. 细胞 DNA 倍体分析技术在人口大国宫颈病变先行筛查中的优势[J]. 中国计划生育和妇产科, 2016, 8(9): 11-15.  
ZHOU Hong, LUO Xin. Establishment of Cell DNA Ploidy Analysis in Pre-screening of Cervical Lesions in Large Population Countries[J]. Chinese Journal of Family Planning & Gynecotology, 2016, 8(9): 11-15.
  - Buys TP, Cantor SB, Guillaud M, et al. Optical technologies and molecular imaging for cervical neoplasia: a program project update[J]. Gend Med, 2012, 9(1): S7-S24.
  - 田玉旺, 刘光, 周建, 等. 细胞DNA定量分析技术在宫颈癌及癌前病变早期筛查中的应用价值[J]. 诊断病理学杂志, 2013, 20(7): 425-428.  
TIAN Yuwang, LIU Guang, ZHOU Jian, et al. Application of DNA image cytometry in the cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer screening[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2013, 20(7): 425-428.
  - Demirel D, Akyürek N, Ramzy I. Diagnostic and prognostic significance of image cytometric DNA ploidy measurement in cytological samples of cervical squamous intraepithelial lesions[J]. Cytopathology, 2013, 24(2): 105-112.
  - Goodman A. HPV testing as a screen for cervical cancer[J]. BMJ, 2015, 350: h2372.
  - 郑启忠, 丁华野, 张清萍, 等. 细胞DNA定量分析技术在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. 诊断病理学杂志, 2015, 22(8): 496-499.  
ZHENG Qizhong, DING Huaye, ZHANG Qingpin, et al. Value of cell DNA quantitative cytology in cervical cancer screening[J]. Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2015, 22(8): 496-499.
  - Bornstein J. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy[J]. Obstet Gynecol, 2012, 120(1): 166-172.
  - Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, et al. WHO classification of tumours of female reproductive organs[M]. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2014: 8-25.
  - Demirel D, Akyürek N, Ramzy I. Diagnostic and prognostic significance of image cytometric DNA ploidy measurement in cytological samples of cervical squamous intraepithelial lesions[J]. Cytopathology, 2013, 24(2): 105-112.
  - 余小琴, 江蓓蕾, 方勇. DNA倍体分析联合高危型HPV检测预测宫颈上皮内瘤变[J]. 中华妇产科杂志, 2013, 48(6): 459-461.  
YU Xiaoqin, JIANG Beilei, FANG Yong. DNA ploidy analysis combined with HR-HPV detection could predict cervical intraepithelial lesions[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2013, 48(6): 459-461.
  - Broccolo F, Fusetti L, Rosini S, et al. Comparison of oncogenic HPV type-specific viral DNA load and E6/E7 mRNA detection in cervical samples: results from a multicenter study[J]. J Med Virol, 2013, 85(3): 472-482.
  - Bollmann R, Méhes G, Speich N, et al. Aberrant, highly hyperdiploid cells in human papillomavirus-positive, abnormal cytologic samples are associated with progressive lesions of the uterine cervix[J]. Cancer, 2005, 105(2): 96-100.
  - Feng YC, Yang J, Liu CM, et al. DNA ploidy of cervical epithelial cells should be a cure criterion of high-risk HPV infection in Xinjiang Uygur women[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8: 827-833.

本文引用: 杨家佳, 周洁, 刘爽, 王艳芬. DNA倍体定量分析联合HR-HPV检测在宫颈病变中的应用价值[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(12): 1949-1954. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.12.011

**Cite this article as:** YANG Jiajia, ZHOU Jie, LIU Shuang, WANG Yanfen. Application value of DNA ploidy quantitative analysis combined with high risk type of human papillomavirus detection in cervical lesions[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(12): 1949-1954. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.12.011