

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.024

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.024>

细胞DNA定量分析及高危型HPV-DNA检测 在宫颈病变筛查中的应用

王双双, 李惠, 唐福婷, 吴晓斌

(南京中医药大学附属江苏省中医院病理科, 南京 210029)

[摘要] 目的: 分析细胞DNA定量和高危型人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)DNA检测在宫颈病变筛查中的作用。方法: 选取2015年5月至2016年9月间在江苏省中医院同时行DNA倍体分析及薄层液基细胞学检查(thin-cytologic test, TCT)的5 042例妇女, 其中1 573例行HPV检测, 146例行病理活检。结果: 宫颈病变筛查病例中DNA倍体异常390例, 阳性率7.74%, TCT异常病例408例, 阳性率8.10%, 两者相比差异无统计学意义($P>0.05$)。其中 <3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者TCT阳性率为33.74%; ≥ 3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者, TCT阳性率为94.74%; $DI \geq 4.5$ 者, 其TCT阳性率为98.5%, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。不能明确意义的非典型鳞状上皮细胞, 低度鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)及高度鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)病例DNA倍体定量分析阳性率分别为45.42%, 97.14%和100%, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。高危型HPV总体感染率为24.5%, 并且随着DI指数的升高, 高危型HPV感染率也随之升高, 具有统计学意义($P < 0.01$), DNA倍体异常病例及DNA倍体异常且TCT异常病例高危型HPV感染率分别为56.8%和60.4%, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。DNA倍体异常病例阴道镜活检组织病理学阳性率为70.5%, TCT异常病例阳性率为65.9%, 两者差异无统计学意义($P > 0.05$), 总体检出率为74.6%。结论: 细胞DNA定量分析是一种有效的宫颈病变筛查方法。

[关键词] 细胞DNA定量分析; 高危型HPV-DNA检测; 液基薄层制片检查; 宫颈筛查

Application of DNA quantitative cytology and high-risk HPV-DNA test in screening cervical lesions

WANG Shuangshuang, LI Hui, TANG Futing, WU Xiaobin

(Department of Pathology, Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China)

Abstract **Objective:** To analysis the role of DNA quantitative cytology and high risk HPV-DNA testing in screening of cervical lesions. **Methods:** We analyzed the data of 5 024 patients who were detected both by DNA ploidy analysis and cervical liquid-based cytology from May 2015 to September 2016 in Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, among which 1 573 patients were detected by HPV. A total of 146 women were followed by colposcopic examination, where biopsies were taken. **Results:** Positive rate was 7.74% in 390 patients with DNA

收稿日期 (Date of reception): 2017-02-07

通信作者 (Corresponding author): 吴晓斌, Email: wuxbin2000@163.com

ploidy abnormality and it was 8.1% in 408 patients detected by TCT, there was no significant difference ($P>0.05$). The TCT positive rate were 33.7%, 94.7% and 98.5% when the $2.5 \leq DI < 4.5$ less than 3 cells, $2.5 \leq DI < 4.5$ more than 3 cells, $DI \geq 4.5$, respectively, and there was statistically significant difference ($P < 0.01$). The positive rates of DNA ploidy quantitative analysis of ASC-US, low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) were 45.4%, 97.1% and 100%, respectively. The difference was statistically significant ($P < 0.01$). The total high-risk HPV infection rate was 24.5%, and with the increase of DI index, the rate of high-risk HPV infection was increasing, with statistical significance ($P < 0.01$). Histologically positive rate of biopsy was 70.5% with DNA ploidy while TCT was 65.9%, the difference was not statistically significant ($P > 0.05$), the total detection rate was 74.6%. **Conclusion:** DNA quantitative cytology is an effective method of cervical lesion screening.

Keywords DNA quantitative cytology; high-risk HPV-DNA test; cervical liquid-based cytology; cervical lesion screening

宫颈癌在全球的发病率居女性恶性肿瘤的第2位, 仅次于乳腺癌, 而在发展中国家则居第1位^[1]。宫颈癌及其癌前病变是一个逐渐发展的过程, 在病变早期及时给予预防性治疗可使病变逆转。因此对已婚妇女定期进行宫颈癌筛查是最有效控制宫颈癌的途径。宫颈细胞DNA定量分析已成为一种进行宫颈癌病变诊断及预测常用的临床检测方法, 我们同时应用DNA定量分析及薄层液基细胞学检查(thin-cytologic test, TCT)进行筛查, 部分病例同时行二代基因杂交捕获法(hybrid capture II, HC2)检测高危型人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV), 部分异常病例进行阴道镜活检, 以探讨DNA定量分析在宫颈癌筛查中的应用价值。

1 对象与方法

1.1 对象

2015年5月至2016年9月在江苏省中医院就诊的同时行DNA倍体检测及TCT检测的5 042例妇女, 年龄19~68(平均35.7)岁, 其中1 573例行HPV检测, 146例行阴道镜检查+病理活检。

1.2 方法

1.2.1 TCT的诊断标准

TCT诊断采用Bethesda诊断系统, 分为正常、炎性反应性改变、非典型鳞状上皮细胞(atypical squamous cell, ASC)、低度鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、高度鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)及鳞状细胞

癌(squamous-cell carcinoma, SCC), TCT异常包括ASC及以上病变。

1.2.2 DNA倍体分析

武汉呵尔医疗科技发展有限公司提供宫颈癌筛查试剂及SPICM-DNA全自动细胞肿瘤筛查分析系统。刷取宫颈细胞装入固定液中, 用液基细胞制片仪制片, Feulgen染色进行DNA定量分析。每张玻片扫描5 000个以上细胞核, 依据DNA指数(DI)及异倍体细胞数分为4种结果及建议。未见DNA倍体异常细胞, $DI < 2.5$ 为正常, 建议1~2年后复查; 少量DNA倍体异常细胞, 出现1~2个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者建议4~6个月复查; 可见DNA倍体异常细胞, ≥ 3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者建议阴道镜活检; $DI \geq 4.5$, 异倍体细胞单个或多个者建议阴道镜活检。DNA倍体异常指 $DI \geq 2.5$ 。

1.2.3 高危型HPV-DNA检测

对于临床怀疑病变的病例, 同时采用HC2行高危型HPV-DNA检测。采集宫颈管分泌物装入特制保存液中, 采用QIAGEN公司careHPV Test检测高危型HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68。HC2检测结果的判读标准: ≥ 1 为阳性。

1.2.4 阴道镜活检方法

部分TCT及DNA异常病例及部分高危型HPV阳性患者进行阴道镜检查并多点活检。组织病理学异常病例是指尖锐湿疣、宫颈鳞状上皮内病变(CIN)及癌的病例。

1.3 统计学处理

应用SPSS13.0软件包进行统计学分析, 采用卡方检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DNA倍体分析与TCT结果比较

DNA倍体异常病例390例,阳性率7.74%(390/5042),TCT异常病例408例,阳性率为8.10%(408/5042),两者相比差异无统计学意义($P=0.44$)。其中 <3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者,TCT阳性率为33.74%(83/246), ≥ 3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者,TCT阳性率为94.74%(72/76), $DI > 4.5$ 者,其TCT阳性率为98.53%(67/68),后两者与前者相比,TCT阳性率明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。ASC-US,LSIL,HSIL病例DNA倍体定量分析阳性率分别为45.42%(154/339),97.14%(34/35)和100%(35/35),差异具有统计学意义($P < 0.01$,表1)。

2.2 不同程度DNA倍体及TCT异常病例高危型HPV感染比较

1573例行高危型HPV检测,总体阳性率为24.5%(386/1573),其中 $DI < 2.5$ 的感染率为18.2%(239/1314), <3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者感

染率为40.3%(60/149), ≥ 3 个细胞且 $2.5 \leq DI < 4.5$ 者感染率为68.9%(42/61), $DI > 4.5$ 者感染率为91.8%(45/49)。不同程度DNA倍体异常病例其高危型HPV感染差异有统计学意义($P < 0.01$)。DNA倍体异常病例及DNA倍体异常且TCT异常病例高危型HPV感染率分别为56.8%(147/259),60.4%(136/225),差异无统计学意义($P=0.67$)。

2.3 阴道镜活检组织病理学

共有146例行阴道镜活检,TCT异常或DNA定量异常的病例共有114例,总体检出率为74.6%(85/114)。其中,DNA倍体异常病例105例,组织病理学阳性率为70.5%(74/105),82例TCT异常患者行阴道镜检查,阳性率为65.9%(54/82),两者相比差异无统计学意义($P=0.46$)。1例 $DI > 4.5$,但是TCT为正常者,后经过多次扫描仍为1个细胞核 $DI > 4.5$,但是TCT多次阅片仍为正常病例,后行阴道镜组织病理活检也为炎性表现。另外32例均未见异常的病例感染高危型HPV,活检结果为14例为湿疣,其余为炎症性改变(表2~3)。

表1 5042例宫颈筛查患者的TCT与DNA定量分析

Table 1 Result of TCT and DNA quantitative cytology in 5042 patients

TBS	<i>n</i>	$DI < 2.5$	$2.5 \leq DI < 4.5 (n < 3)$	$2.5 \leq DI < 4.5 (n \geq 3)$	$DI \geq 4.5$
正常	4634	4466	163	4	1
ASC	339	185	79	43	32
LSIL	35	1	3	20	11
HSIL	34	0	1	9	24
合计	5042	4652	246	76	68

表2 TCT结果与病理活检结果比较

Table 2 Comparison of TCT and histopathology

病理活检	<i>n</i>	TCT			
		正常	ASC	LSIL	HSIL
炎症	83	55	24	4	0
CIN I	29	8	15	6	0
CIN II	16	1	9	4	2
CIN III	18	0	1	0	17
合计	146	64	49	14	19

表3 DNA倍体结果与病理活检结果比较

Table 3 Comparison of DNA quantitative cytology and histopathology

病理活检	n	DNA倍体分析			
		DI<2.5	2.5≤DI<4.5 (n<3)	2.5≤DI<4.5 (n≥3)	DI≥4.5
炎症	68	37	22	8	1
CIN I	35	3	16	11	5
CIN II	24	1	8	9	6
CIN III	19	0	3	5	11
合计	146	41	49	33	23

3 讨论

据国际癌症研究中心统计,目前每年全球大约有52万宫颈癌新发病例,其中80%发生在发展中国家^[2]。我国每年新发病例约13万以上,占世界宫颈癌新发病例总数的1/4。我国经过了数十年广泛的妇科普查,宫颈癌的发病率和病死率降低了近68%。但从全国范围来看,宫颈癌仍是妇科第一位的恶性肿瘤,且呈现出年轻化的趋势。

TCT检测技术是检测宫颈癌及癌前病变的最主要的方法,已得到广泛应用。但传统的巴氏涂片可能会由于标本收集及制片的原因产生假阴性,也可能会由于工作量太大或者经验不足等原因造成一定的假阳性和假阴性^[3-4]。异倍体细胞的出现象征着染色体结构和数量出现异常变化,也是细胞恶变的早期特征,用DNA定量分析系统进行宫颈癌及癌前病变的诊断早已在国外大量报道^[5]。DNA倍体分析通过将所取的脱落细胞样本收集到细胞保存液中,将标本悬液离心、分层,分离出诊断所需的细胞成分,去掉杂质,制成薄片,可以更清楚地观察细胞形态和结构的改变,在此基础上用全自动细胞图像分析系统,对宫颈细胞进行DNA定量分析,检测客观、准确、快速,避免了人为的疏漏及经验不足等缺陷,改进了以往巴氏涂片的不足。同时研究^[6-7]证明:宫颈癌的发生与高危型HPV感染密切相关。应用宫颈DNA倍体测定联合HPV分型筛查宫颈癌已经成为临床医学界一种新的选择方式^[8]。

本研究结果显示:DNA定量分析与TCT检测阳性率差异无统计学意义,DNA倍体分析异常病例与TCT异常病例HPV感染率差异也无统计学意义,高危型HPV总体感染率为24.5%,并且随着DI指数的升高,高危型HPV感染率也随之升高,差异具有统计学意义。结合阴道镜活检组织病理学显示:DNA倍体异常病例组织学阳性率为70.5%,

TCT异常病例组织学阳性率为65.9%,两者差异无统计学意义,总体检出率为74.6%。

持续感染高危型HPV与宫颈癌的发生发展密切相关,高危型HPV感染宫颈上皮细胞,将产生2种癌蛋白,E6和E7蛋白,癌蛋白可与宿主细胞的细胞周期调节蛋白(抑癌蛋白如P53, RB等)相结合,导致细胞周期控制失常,发生癌变^[9]。本研究高危型HPV感染总体阳性率为24.5%,具有DNA倍体异常者或者TCT异常者HPV感染率明显增高且有统计学意义,在组织病理学活检中,32例TCT和DNA倍体均正常的高危型HPV感染者,活检结果为14例为湿疣,其余为炎症性改变。

本研究结果显示:DNA倍体分析的检测及TCT的检测在宫颈病变筛查中的检出率并无差异,在活检诊断中的阳性率也无明显差异,并且在TCT诊断为HSIL病例中DNA倍体的检出率为100%。因此,将DNA倍体检测用于临床筛查是非常可行的。

目前随着我国居民收入的不断增加,居民对于健康的意识日益强烈,居民的体检需求不断增加。早期筛查可明显提高患者治愈率及减少后期治疗费用^[10]。而高准确率的筛查方式成为普通人群的期望。传统的巴氏涂片可能会由于标本收集及制片的原因产生假阴性,而随着宫颈病变筛查工作量越来越大,面对越来越繁重的工作及稀缺的细胞学诊断医师等各方面的问题,可否先行DNA定量分析及高危型HPV-DNA检测,而后再对异常的病例进行常规细胞学检查尚需更多的证据及进一步的大数据研究。

参考文献

1. Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications[J]. J Pathol,

- 2006, 208(2): 152-164.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(2): 153-156.
 3. Canda MT, Demir N, Sezer O, et al. Clinical results of the liquid-based cervical cytology tool, Liqui-PREP, in comparison with conventional smears for detection of squamous cell abnormalities[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009, 10(3): 399-402.
 4. 钟萍萍, 顾依群, 王军, 等. DNA定量分析在宫颈癌筛查中的应用[J]. *中华病理学杂志*, 2013, 42(7): 469-470.
ZHONG Pingping, GU Yiqun, WANG Jun, et al. Application of DNA quantitative analysis in screening of cervical cancer[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2013, 42(7): 469-470.
 5. Lorenzato M, Caudroy S, Nou JM, et al. Contribution of DNA ploidy image cytometry to the management of ASC cervical lesions[J]. *Cancer*, 2008, 114(4): 263-269.
 6. Zhao R, Zhang WY, Wu MH, et al. Human papillomavirus infection in Beijing, People's Republic of China: a population-based study[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(9): 1635-1640.
 7. 董云灿, 耿建祥, 张劲松, 等. 1722例已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒基因的分型[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(7): 817-818.
DONG Yuncan, GENG Jianxiang, ZHANG Jinsong, et al. Analysis of human papillomavirus genotyping in 1 722 cervical cell samples of married women[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2012, 33(7): 817-818.
 8. 焦红丽, 冶亚平, 张佳立, 等. DNA倍体分析联合HR-HPV检测在宫颈癌筛查中的作用[J]. *中国妇幼保健*, 2010, 25(24): 3399-3401.
JIAO Hongli, YE Yaping, ZHANG Jiali, et al. Functions of DNA ploidy analysis combined with high-risk human papillomavirus detection in screening of cervical cancer[J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2010, 25(24): 3399-3401.
 9. Melsheimer P, Vinokurova S, Wentzensen N, et al. DNA aneuploidy and integration of human papillomavirus type 16 e6/e7 oncogenes in intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9): 3059-3063.
 10. 林丹, 罗新, 蒋学风, 等. DNA倍体分析联合高危型人乳头瘤病毒检测筛查宫颈病变[J]. *实用妇产科杂志*, 2014, 30(7): 531-534.
LIN Dan, LUO Xin, JIANG Xuefeng, et al. Combining DNA ploidy analysis and high risk type of human papillomavirus detection to detect cervical lesions[J]. *Journal of Practical Obstetrics and Gynecology*, 2014, 30(7): 531-534.

本文引用: 王双双, 李惠, 唐福婷, 吴晓斌. 细胞DNA定量分析及高危型HPV-DNA检测在宫颈病变筛查中的应用[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(4): 791-795. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.024

Cite this article as: WANG Shuangshuang, LI Hui, TANG Futing, WU Xiaobin. Application of DNA quantitative cytology and high-risk HPV-DNA test in screening cervical lesions[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(4): 791-795. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.04.024