

· 论 著 ·

## 液基涂片细胞学检查联合高危型 HPV 检测 在宫颈病变诊断中的价值

张 飞<sup>1</sup>, 朱湘玉<sup>2</sup>, 杨瑞宁<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 探讨液基涂片细胞学(TCT)检查联合高危型人乳头瘤病毒(HPV)检测在宫颈病变诊断中的价值。方法 收集 500 例宫颈脱落细胞标本,采用宫颈细胞学检查、HPV DNA 检测或 2 种方法联合检查后,选择所有的 HPV 阳性和 TCT 报告为意义不明确的不典型鳞状细胞(ASC-US)以上者,均通过阴道镜取活检,以组织学诊断为金标准,比较宫颈细胞学检查、HPV DNA 检测及以上 2 种方法联合检查与组织病理学诊断的符合率、灵敏度和特异度。结果 313 名 TCT 报告为 ASC-US 以上者,与组织病理学诊断的符合率为 82.4%。268 名检测结果为 HPV DNA 阳性的女性与组织病理学诊断的符合率为 77.2%。2 种方法联合检查 251 名女性,与组织病理学诊断的符合率为 92.0%。TCT 联合 HPV DNA 检测与单纯 HPV DNA 检测比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。TCT 联合 HPV DNA 检测与单纯 TCT 比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。HPV DNA 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 83.8%,特异度为 75.9%,TCT 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 93.5%,特异度为 75.4%,TCT 检查联合 HPV DNA 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 96.3%,特异度为 87.5%。结论 TCT 联合 HPV DNA 检测在宫颈病变筛查中比单纯 TCT 或单纯 HPV DNA 检测更具有实用价值。

**[关键词]** 宫颈癌;液基细胞学检查;人乳头瘤病毒

**[中图分类号]** R737.33;R711.7 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.01.008

### The value of diagnosing cervical lesions by Thinprep cytologic test (TCT) combined with high-risk type HPV DNA testing

ZHANG Fei<sup>1</sup>, ZHU Xiang-yu<sup>2</sup>, YANG Rui-ning<sup>1</sup>. 1. Department of Laboratory, 81 Hospital of PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing, Jiangsu 210008, China

**[Abstract]** **Objective** To study the value of diagnosing cervical lesions using the methods of thinprep cytologic test (TCT) combined with high-risk type HPV DNA testing. **Methods** 500 cases of cervical cytology specimens were detected by DNA HPV test or DNA HPV test or combined with the two methods. All the specimens which were HPV positive or reported by TCT as atypical squamous cells and glandular cells (ASC-US) were selected for biopsy. Compared the accuracy, sensitivity and specificity of TCT, DNA HPV test or combined with the two methods on the basis of histopathological diagnosis. **Results** The coincidence of 313 patients reported by TCT as ASC-US with histopathological diagnosis was 82.4%. Comparing the histopathologic diagnosis, the coincidence of 268 patients with HPV DNA positive was 77.2%. Comparing the histopathologic diagnosis, the coincidence of 251 patients with the positive result of TCT combined with HPV DNA testing was 92.0%. To compare single HPV DNA testing with TCT combined with HPV DNA testing, the difference had statistical significance ( $P<0.01$ ); To compare single TCT testing with TCT combined with HPV DNA testing, the difference had statistical significance ( $P<0.01$ ). The sensitivity and specificity of HPV DNA testing in diagnosing uterine cervix cancer was 83.8% and 75.9% respectively. The sensitivity and specificity of TCT testing in diagnosing uterine cervix cancer was 93.5% and 75.4% respectively. The sensitivity and specificity of TCT combined with HPV DNA testing in diagnosing uterine cervix cancer was 96.3% and 87.5% respectively. **Conclusion** TCT joint HPV DNA testing in cervical lesions is more useful than single TCT test or single HPV DNA test.

**[Key words]** uterine cervix cancer; thinprep cytologic test; human papilloma virus

宫颈癌是常见的女性生殖道恶性肿瘤之一,其

发展过程中有较长的、可逆转的癌前病变期<sup>[1]</sup>。宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)是宫颈癌的癌前病变,预防和降低宫颈癌发生率的关键在于 CIN 的早期诊断。目前我国采取的方法是“三阶梯”诊断步骤,即细胞学-阴道镜检-组织学检查。巴氏涂片、宫颈细胞学检测、人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)-DNA 检测、阴道

作者单位: 1. 210002 江苏南京,解放军 81 医院检验科; 2. 210008 江苏南京,南京鼓楼医院妇产科

通讯作者: 杨瑞宁, E-mail: jsnjyrm@163.com

引用格式: 张 飞, 朱湘玉, 杨瑞宁. 液基涂片细胞学检查联合高危型 HPV 检测在宫颈病变诊断中的价值 [J]. 东南国防医药, 2016, 18(1): 28-31.

镜检查是宫颈癌早期筛查的常用方法<sup>[2]</sup>。巴氏涂片筛查宫颈癌准确性差,膜式液基细胞学制片技术(thinprep cytologic test, TCT)属无创性检查,并改进了细胞检查技术,适用于多种脱落细胞检查(宫颈细胞、浆膜腔细胞、痰液、尿液、乳头溢液等)<sup>[3-4]</sup>。

HPV 是可引起宿主组织疣状病变及乳头状瘤的 DNA 病毒。当人感染了高危型 HPV 后,可导致细胞的恶性增生,最终形成肿瘤<sup>[5]</sup>。女性宫颈癌被认为与高危型 HPV 感染相关<sup>[6]</sup>。荧光定量 PCR (FQ-PCR) 是检测 HPV 病毒的常用方法,具有快速、简便、灵敏度高、特异性强等优点<sup>[7-9]</sup>。

本研究将 TCT 技术和 HPV DNA 检测 2 种方法联合应用于诊断宫颈病变的诊断,与单独分别利用 TCT 技术和 HPV DNA 检测诊断宫颈病变相比较,观察其与病理诊断的符合率,以期为临床诊断和治疗提供更准确依据。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 收集自 2014 年 3 月-2014 年 9 月,在解放军 81 医院和南京鼓楼医院就诊及体检的 500 名妇女宫颈脱落细胞标本,年龄 24~65 岁。临床症状包括白带异常、接触性出血、阴道流血或无任何自觉症状。分别进行宫颈细胞学检查、HPV DNA 检测及以上 2 种方法联合检查后,对其中 HPV 阳性(268 例)、TCT 报告为意义不明确的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US)以上者(313 例)以及 TCT 联合 HPV DNA 检测阳性者(251 例)通过阴道镜取活检进行比较,以组织病理学诊断为金标准。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 宫颈细胞学检查** 将细胞采集器直接放入装有细胞保存液的收集瓶中,自然沉淀将标本中的黏液、血液和炎细胞分离,收集余下的上皮细胞制成直径 13 mm 的细胞层于载玻片上。在此后的制片过程中,采用了不同于 TCT 的离心沉淀技术,每次处理 48 份标本,并且在全自动制片过程中完成细胞染色,做出细胞病理报告。报告方式按照国际癌症协会(NCI)推荐的 TBS(2001)分类标准:①无上皮内病变或肿瘤细胞;②意义不明确的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US)和腺细胞(atypical glandular cells of undetermined significance, AGUS);③不除外高度鳞状上皮病变不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance-high grade-cervical lesion, ASC-H);④低度鳞状上皮内病变(lower-grade

squamous intraepithelial lesions, LSIL);⑤高度鳞状上皮内病变(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL);⑥鳞状细胞癌和腺癌(carcinoma, CA)。

**1.2.2 HPV DNA 检测** 使用窥阴器暴露宫颈,先用棉拭子将宫颈黏膜表面粘液拭去,再用专用的 HPV 采样刷置于宫颈口,逆时针方向转 3 圈,并停留 10 s。把采样刷放入专用的标本储存瓶里,折断采样刷多余的部分,将采样刷留在标本储存瓶里,以保留足够量标本,盖好盖子,作好标记送检。利用深圳匹基公司 HPV DNA 检测试剂盒,按试剂盒手册进行操作,步骤如下:①吸取 200  $\mu$ L 洗脱下的细胞悬液于微量离心管(EP 管)中,离心 13 000 rpm, 10 min;②将离心后的上清液吸取并弃去,吸取 50  $\mu$ L 细胞处理液于 EP 管中并振荡使沉淀和处理液充分混合,将 EP 管放于加热器中 100  $^{\circ}$ C 10 min;③将加热后 EP 管立即放入 4  $^{\circ}$ C 冰箱瞬时冷却,然后离心 13 000 rpm 10 min,吸取所得到的上清液 2  $\mu$ L 与所配制的引物、酶以及反应缓冲液 23  $\mu$ L 混合,用罗氏 Lightcycle PCR 扩增仪进行检测。采用实时荧光定量 PCR 技术对通过宫颈刷取得的脱落宫颈细胞标本进行高危型 HPV DNA 检测。本研究中 HPV DNA 检测为定性分析并加入阴性和阳性对照,根据达到规定荧光值各标本所需的 PCR 循环数来判定为高危型 HPV 病毒阳性或阴性。

**1.2.3 阴道镜下病理组织学检查方法** 对 TCT 报告为 ASC-US 以上者和 HPV 阳性者均进行阴道镜检查,所取组织行石蜡切片检查,并作出组织学报告。报告结果分为:无上皮内病变(NILM)、CIN I(宫颈轻度不典型增生)、CIN II(宫颈中度不典型增生)、CIN III(宫颈重度不典型增生和/或子宫原位癌)及 CA(宫颈癌)。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 10.0 统计软件,组间计数资料比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TCT 报告为 ASC-US 以上的妇女的组织学诊断** 313 名 TCT 报告为 ASC-US 以上者的组织学诊断结果阳性者(包括 CIN I、CIN II、CIN III 及 CA)为 258 例, TCT 与组织病理学诊断的符合率为 82.4% (258/313),见表 1。

**2.2 HPV DNA 阳性妇女的组织学诊断** 共有 268 名妇女 HPV DNA 检测结果为阳性。其中无上皮内病变者为阴性 61 例, CIN I、CIN II、CIN III 及浸润性鳞癌为阳性,分别为 124、46、17、20 例。268 例中

表 1 TCT 检查与病理学检查的一致性比较[*n*(%) ]

病理学诊断	<i>n</i>	细胞学检测			
		ASC	LSIL	HSIL	CA
NILM	55	46(43.8)	9(12.3)	0	0
CIN I	186	104(56.2)	62(84.9)	20(28.2)	0
CIN II/CIN III	51	0	2(2.8)	49(69.0)	0
CA	21	0	0	2(2.8)	19(100)
总计	313	150(100)	73(100)	71(100)	19(100)

组织病理学诊断阳性者 207 例,HPV DNA 检测与组织病理学诊断的符合率为 77.2%(207/268),与 TCT 结果比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 2 种方法联合检查结果与组织学诊断的比较** 对 TCT 与 HPV DNA 检测 2 种方法均为阳性的 251 例行组织学诊断,其中组织病理学诊断阳性 231 例,符合率为 92.0%(231/251)。其中 CIN I、CIN II、CIN III 及浸润性鳞癌分别为 123、49、20、39 例。与单独 HPV DNA 检测或 TCT 检测比较,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。

**2.4 3 种方法诊断的灵敏度和特异度比较** HPV DNA 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 83.8%,特异度为 75.9%;TCT 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 93.5%,特异度为 75.4%;TCT 检查联合 HPV DNA 检测诊断宫颈癌的灵敏度为 96.3%,特异度为 87.5%,联合检测与单独 1 项指标检测结果相比,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

### 3 讨 论

宫颈癌是从宫颈上皮内瘤样病变至早期浸润癌发展为浸润癌的由量变到质变的连续发展过程,早期宫颈癌的治疗效果好。据临床随访研究,宫颈浸润癌 5 年生存率为 67%,早期癌为 90%,原位癌为 100%。因此对宫颈癌及癌前病变的高效筛查和正确处理是防治宫颈癌的关键。

细胞学方法是诊断和筛查宫颈病变的第一步<sup>[10]</sup>,在宫颈癌诊断中的作用很重要。但是,由于传统制片技术具有取材不全面、涂片不均匀、细胞丢失较多,过多的黏液及血液遮盖异常细胞等诸方面的不足,使其存在一定的漏诊和不确定因素<sup>[11]</sup>。膜式液基细胞学制片技术解决了以上问题,该技术采用固定样式的扫帚式刷子按规定手法进行操作,旋转式刷拭,不留死角,刷头全部进入细胞保存液,不会丢失标本。经混合后制成的涂片均匀一致,使细胞具有代表性,也更有利于提高阅片的诊断准确率,另外此项技术还具有可重复的优点,可以提高

宫颈病变的检出率<sup>[12]</sup>。综上所述,TCT 方法取材明显优于普通涂片,且收集到的细胞可存放在细胞保存液中 10~15 d,可以重复制片,也可进一步用于 HPV DNA 检测。TCT 检查,能显著地提高 CIN I 级以上病变的检出率,是较准确和具有实用价值的宫颈癌筛查方法,可替代传统巴氏涂片方法,降低漏诊率,提高细胞学检查质量并及时发现宫颈早期病变,对临床诊治、疗效观察、预后判断均有重要的辅助作用。

宫颈正常组织发生癌变要经过由量变到质变的漫长过程,而癌前病变就处于向癌细胞转化的量变过程中。大量实验证明,HPV 感染与宫颈癌整个发生发展过程密切相关。HPV 感染与 CIN 均具有暂时性、一过性的特点。有研究发现,无 HPV 感染患者 CIN 逆转的发生是 HPV 持续感染的 4 倍<sup>[13]</sup>。因此,HPV 检测对于及时预测 CIN 的转归及临床正确处理 CIN,无疑是重要的。此外,在临床应用方面,HPV 检测还具有如下优势:①发现高危型 HPV 阳性而细胞学涂片阴性正常的患者,该人群如果不加干预极有可能发展为 CIN。②筛查并浓缩高危人群,便于进行有效监控并早期发现宫颈癌。③HPV 检测通过排除可疑的低度病变,从而提高诊断的可信度,降低漏诊率。④术后随访,通过 HPV 检测可预测病变恶化或术后复发的风险,有效指导术后追踪。术后 6 个月和 12 个月检测 HPV 阴性,提示病灶切除干净。若术后 HPV 检测阳性,提示有残留病灶及有复发的可能<sup>[7]</sup>。

TCT 检查及 HPV DNA 检测在宫颈病变筛查中仍存在不足之处,如 TCT 检查会受样本采集者和细胞阅片者主观因素的影响,使所采集的样本缺乏代表性或诊断结果不够标准;HPV DNA 检测受样本中脱落细胞的取样量和宫颈病变大小因素的影响等。2 种方法联合应用,会减少以上不利影响因素,提高诊断的准确性。此外,虽然 HPV 检测阳性率高,有利于宫颈癌的早防早治,但是特异性较低,是该技术较突出的缺点,而 TCT 检查特异性高于 HPV 检



测方法。因此,将两者结合可使宫颈 CIN 和早期癌的筛查准确性明显提高<sup>[14]</sup>。本研究显示,单纯 TCT 检查阳性结果( $\geq$ ASC-US)与组织病理学诊断阳性结果( $\geq$ CIN I)的符合率为 82.4%,HPV DNA 检测阳性结果与组织病理学诊断的符合率为 77.2%,而 TCT 和 HPV DNA 联合检查与组织病理学诊断的符合率为 92.0%,其诊断灵敏度和特异度也高于单纯 TCT 检查或 HPV DNA 检测,这显示 TCT 联合 HPV DNA 检查明显优于 TCT 或 HPV DNA 单独检查的效果。HPV DNA 检测与 TCT 检查结果比较,差异无统计学意义;TCT 联合 HPV DNA 检测与单独 HPV DNA 检测及单独 TCT 检查结果比较,差异有统计学意义。这说明 TCT 联合 HPV DNA 检测在宫颈病变筛查中更具有实用价值,对提示宫颈上皮细胞癌变倾向,及时发现和预防、治疗早期宫颈癌有较大意义,同时可以减少不必要的阴道镜检查 and 宫颈活检,降低漏诊率和误诊率,减轻患者的经济负担,为临床提供更准确和具有实用价值的诊断。

# 【参考文献】

- [1] Burns A, Sanghvi H, Lu R, et al. Saving women's lives from cervical cancer[J]. Lancet, 2011, 377(9774): 1318.
- [2] 赵方辉,戎寿德,乔友林.宫颈癌及其癌前病变筛查方法现状[J].中国医学科学院院报, 2007, 23(6): 638-641.
- [3] 周桂华,陈翠兰.液基薄层细胞学(ThinPrep)方法在宫颈癌筛

查中的应用[J].中国医师杂志, 2004, 6(11): 1566-1567.

- [4] 黄旭映,杨翠英,李艳萍,等.液基薄层细胞学检测在临床上的运用[J].检验医学与临床, 2009, 9(6): 734-735.
- [5] Neuzil KM, Canh do G, Thiem VD, et al. Immunogenicity and reactogenicity of alternative schedules of HPV vaccine in Vietnam: a cluster randomized noninferiority trial [J]. JAMA, 2011, 305(14): 1424-1231.
- [6] 朱皓峰,于晓红,杜丽英,等.宫颈癌中激活蛋白 1 通路的活化及临床意义[J].东南国防医药, 2014, 16(2): 128-131.
- [7] 刘丽静,任科,张忠梅.人乳头瘤病毒检测对诊治宫颈病变的价值研究进展[J].人民军医, 2009, 52(7): 463-464.
- [8] 陈宝莲.HPV-DNA 检测筛查宫颈癌价值探讨[J].重庆医学, 2009, 38(7): 854-855.
- [9] 吴江平.妇科学查对筛查早期宫颈癌的临床意义[J].当代医学, 2009, (9): 533-534.
- [10] Ngan HY, Garland SM, Bhatla N, et al. Asia oceania guidelines for the implementation of programs for cervical cancer prevention and control[J]. J Cancer Epidemiol, 2011, 2011: 794861.
- [11] Juric D, Mahovlić V, Rajhvajn S, et al. Liquid-based cytology- new possibilities in the diagnosis of cervical lesions [J]. Coll Antropol, 2010, 34(1): 19-24.
- [12] Skaznik-Wikiel ME, Ueda SM, Frasure HE, et al. Abnormal cervical cytology in the diagnosis of uterine papillary serous carcinoma: earlier detection of a poor prognostic cancer subtype? [J]. Acta Cytol, 2011, 55(3): 255-260.
- [13] Saito T. New staging system for uterine cervical neoplasms [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2011, 38(2): 207-210.
- [14] 邵红艺,张佳立,张江宇,等.比较人乳头瘤病毒检测与薄层液基细胞学在宫颈癌筛查中的应用价值[J].国际医药卫生导报, 2007, 13(8): 8-11.

(收稿日期:2015-08-24; 修回日期:2015-10-29)

(本文编辑:齐名; 英文编辑:王建东)

(上接第 12 页)

# 【参考文献】

- [1] 郑杰,郭和清,潘广新,等.缺氧或+Gz 暴露对大鼠肾结石形成影响的实验研究[J].中华航空航天医学杂志, 2012, 23(2): 98-101.
- [2] 刘永胜,郭和清,汪泽厚,等.1991~2007 年泌尿外科飞行员住院疾病谱分析[J].空军总医院学报, 2009, 25(3): 134.
- [3] 金磊,徐斌先,向军吉,等.驻苏某飞行部队泌尿系结石相关因素调查和分析[J].东南国防医药, 2014, 16(5): 529-530.
- [4] 孙斌,郭和清,李建业,等.飞行员肾脏小结石带石飞行初步观察[J].中华航空航天医学杂志, 2013, 24(1): 40-42.
- [5] 魏日胞,王永新,詹皓,等.复方天葡片对高+Gz 应激致大鼠肾损伤的保护作用[J].中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(3): 206-209.
- [6] Hirose M, Yasui T, Okada A, et al. Renal tubular epithelial cell injury and oxidative stress induce calcium oxalate crystal formation in mouse kidney[J]. Int J Urol, 2010, 17(1): 83-92.
- [7] Touhami M, Laroubi A, Elhabazi K, et al. Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model[J]. BMC Urol, 2007, 7: 18.
- [8] 向松涛,甘澍周,建甫,等.广金钱草水提取液对肾尿酸钙结

石模型大鼠氧化应激的影响研究[J].中华泌尿外科杂志, 2014, 35(6): 465-468.

- [9] Davaios M, Konno S, Eshghi M, et al. Oxidative renal cell injury induced by calcium oxalate crystal and renoprotection with antioxidants: a possible role of oxidative stress in nephrolithiasis [J]. J Endourol, 2010, 24(3): 339-345.
- [10] Khan SR. Calcium oxalate crystal interaction with renal tubular epithelium, mechanism of crystal adhesion and its impact on stone development [J]. Urol Res, 1995, 23(2): 71-79.
- [11] Khan SR. Renal tubular damage/dysfunction: key to the formation of kidney stones [J]. Urol Res, 2006, 34(2): 86-91.
- [12] 刘建彬,王洪波,刘丽,等.离心机训练对大鼠脑及其它组织 IL-6 和 TNF- $\alpha$  基因表达水平的影响[J].中国生物化学与分子生物学报, 2002, 18(5): 649-653.
- [13] 马良,胡敏,孙振宇,等.持续性高正加速度重复作用导致大鼠损伤的自然修复模型[J].军医进修学院学报, 2005, 26(6): 401-403.
- [14] 蔡辉,赵凌杰,董晓蕾,等.吡格列酮对高脂血症大鼠 SOD 活性和 MDA 水平的影响[J].东南国防医药, 2011, 13(2): 97-99.

(收稿日期:2015-10-18; 修回日期:2015-11-22)

(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)