

论 著

(临床研究)

多点活检在隐匿性子宫颈上皮内瘤变 II 级及以上病变诊断中的价值

宋娟, 王莉, 张琼, 杨鸿, 蔡春华

【摘要】 目的 探讨多点活检在隐匿性子宫颈上皮内瘤变(CIN) II 级及以上病变诊断中的价值。方法 选取 2020 年 1 月至 2021 年 1 月成都市第三人民医院行宫颈癌筛查, 且经病理确诊为 CIN II 级及以上病变的 103 例患者的 198 个石蜡标本象限作为研究对象。所有研究对象均经“三明治”法重制为 5 张连续切片, 使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS 法)对白片的人乳头瘤病毒(HPV)分型进行检测, 并使用×10 显微镜测量病灶鳞状上皮厚度。在阴道镜指示下分别对标本中可见病灶进行活检, 并通过子宫颈随机多点活检发现隐匿性病变。结果 确诊的 103 例患者的 198 个石蜡标本象限中, 发现隐匿性病变 31 例, 占 52 个象限; 可见病变 72 例, 占 146 个象限。经 MALDI-TOF-MS 法检测, 可见病变中 HPV16 型所占象限的比例为 52.05%, 高于隐匿性病变的 42.31% ($P < 0.05$)。可见病变中病灶 >1 个象限的病例占比为 79.17%, 高于隐匿性病变的 48.39% ($P < 0.01$), 可见病变的病灶范围更大。可见病变的鳞状上皮厚度平均(159.38±12.98) μm, 亦厚于隐匿性病变平均厚度(135.94±10.05) μm ($P < 0.01$)。HPV16 型阳性患者中病灶 >1 个象限的病例占比为 84.31%, 高于非 HPV16 型阳性患者的 55.77% ($P < 0.01$), HPV16 型阳性患者的病灶范围更大。HPV16 型阳性病例的鳞状上皮厚度亦厚于非 HPV16 型阳性病例 ($P < 0.01$)。结论 非 HPV16 型阳性导致的 CIN II 级及以上病灶鳞状上皮相对较薄和病灶范围小可能是导致隐匿性 CIN 不易发现的主要原因。对于非 HPV16 型阳性感染的患者在阴道镜检查中同时行宫颈转化区域的病灶活检和多点随机活检, 有助于提升隐匿性病灶的检查率, 使患者获得早期干预。

【关键词】 阴道镜; 宫颈上皮内瘤变; 隐匿性病变; 宫颈癌筛查; 多点随机活检

【中图分类号】 R713.4

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2021)06-0604-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.06.009

Value of multi-point biopsy in the diagnosis of occult cervical intraepithelial neoplasia above grade II

SONG Juan, WANG Li, ZHANG Qiong, YANG Hong, CAI Chun-hua

(Department of Gynecology, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610014, Sichuan, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the value of multi-point biopsy in the diagnosis of occult cervical intraepithelial neoplasia (CIN) above grade II. **Methods** From January 2020 to January 2021, 198 paraffin quadrants of 103 patients with CIN II and/or above diagnosed by pathology who underwent cervical cancer screening in Chengdu Third People's hospital were selected as the research objects. All the subjects were reconstituted into 5 serial sections by sandwich method. The HPV typing of white sections was detected by MALDI-TOF-MS method, and the thickness of squamous epithelium was measured by x 10 microscope. The visible lesions detected by biopsy under colposcopy and the occult lesions detected by cervical random multi-point biopsy were observed. **Results** Among the 198 quadrants of paraffin specimens of 103 patients, 31 cases were found with occult lesions, accounting for 52 quadrants; 72 cases were found with visible lesions, accounting for 146 quadrants. MALDI-TOF-MS showed that the proportion of HPV16 type in quadrant of lesions (52.05%) was higher than that of occult lesions (42.31%) ($P < 0.05$). The proportion of visible lesions with more than one quadrant (79.17%) was higher than that of occult lesions (48.39%) ($P < 0.01$). The thickness of squamous epithelium in visible lesions was (159.38±12.98) μm, which was thicker than that in occult lesions (135.94±10.05) μm

作者单位: 610014 成都, 成都市第三人民医院妇科(宋娟、王莉、张琼、杨鸿、蔡春华)

通信作者: 蔡春华, E-mail: tanjiugen777@163.com

($P < 0.01$). The proportion of HPV16 positive patients with more than one quadrant lesions (84.31%) was higher than that of non HPV16 positive patients (55.77%) ($P < 0.01$). The thickness of squamous epithelium in HPV16 positive cases was also thicker than that in non HPV16 positive cases ($P < 0.01$). **Conclusion** Non HPV16 positive CIN grade II and above lesions with relatively thin squamous epithelium and small lesion size may be the main reason for the difficulty in the detection of occult CIN. It is suggested that for patients with non HPV positive infection, biopsy and multi-point random biopsy of cervical transformation area should be performed simultaneously in colposcopy, which is helpful to improve the detection rate of occult lesions, reduce clinical missed diagnosis, and enable patients to obtain early intervention.

[Key words] colposcopy; cervical intraepithelial neoplasia; occult lesions; cervical cancer screening; multipoint random biopsy

0 引 言

阴道镜检查是子宫颈癌筛查中的重要环节,旨在通过这项光学检查技术对宫颈细胞学或 HPV 检测阳性患者进行病变观察和活检标本提取^[1]。但受限结果判断过分依赖操作医师的主观性,阴道镜检查可能导致部分较高级别(II 级及以上级别)的宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)漏诊。这种观点也得到国内外诸多专家学者的认同,甚至有学者经统计认为,阴道镜对高级别 CIN 的活检诊断敏感度仅为 43.4%^[2]。这也为隐匿性 CIN 的客观存在事实提供了循证医学支持^[3]。随机多点活检方案的提出和应用,是对阴道镜检查的有效补充,但其对隐匿性 CIN 病变的诊断价值目前尚无定论。本研究选取行宫颈癌筛查,且经病理确诊为 CIN II 级及以上病变患者的石蜡标本象限作为研究对象,探讨多点活检在隐匿性 CIN II 级以上病变诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 1 月我院行宫颈癌筛查的患者进行前瞻性研究,年龄 39~72 岁,平均年龄(57.1±3.9)岁。筛查内容根据《外科学》^[4]中相关标准,为高危型 HPV 检查联合宫颈液基细胞学检查。对于出现一项及以上阳性结果的患者,进行阴道镜检查以及宫颈随机多点活检。以阴道镜下可见病灶活检和未见病灶象限随机多点活检样本作为病理检查对象,共确诊 103 例患者的 198 个石蜡标本象限发生 CIN II 级及以上病变(其中 CIN II 级 71 例,共 129 个标本象限; CIN III 级 32 例,共 69 个标本象限)。本研究已通过医院医学伦理委员会批准(批准号:200312),所有

筛查对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 根据《外科学》中定义,以阴道镜可见病灶活检确诊的病例定义为可见病变,以阴道镜下不可见而由随机多点活检确诊的病例定义为隐匿性病变。使用“三明治”法将研究对象标本逐一重制为 5 张连续切片,首张和尾张进行 HE 染色用以明确诊断,并确保连续切片包含同样级别病灶。取第 2~4 张白片使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS 法)对 HPV 分型进行检测。每个蜡块切片后均更新刀片并清洁台面,确保交叉污染不发生。

1.2.2 MALDI-TOF-MS 法检测 HPV 分型 使用手术刀将标本中间 3 张白片病灶组织刮入 1.5 mL 离心管,12 000×g 离心 30 s,加入 180 μL 孵育液和 20 μL 蛋白酶 K,70 °C 恒温孵育过夜。次日,按照说明书使用 Promega 公司生产的 DNA 自动提取仪提取组织中 HPV DNA。使用 MALDI-TOF-MS 法对所收集的 DNA 进行检测。

1.2.3 病灶鳞状上皮厚度的测量 使用日本 Olympus 公司生产的 BX41 显微镜在×10 镜头下对连续切片中首尾两片选取的病变连续、完整的鳞状上皮部位进行厚度测量。垂直放置测微尺,测量从基底层到鳞状上皮表层的厚度,取最厚和最薄部位的平均值作为鳞状上皮厚度。

1.3 统计学分析 使用 PASW 18.0 软件包对以上数据进行分析。使用探索菜单验证数据正态分布性。年龄、鳞状上皮厚度等计量资料使用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 student *t* 检验方法进行比较; HPV 阳性等计数资料使用百分比的形式表示,进行 χ^2 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 可见病变与隐匿性病变 HPV 亚型分布比较 确诊的 103 例患者的 198 个石蜡标本象限中,发现隐匿性病变 31 例,占 52 个象限;可见病变 72 例,占 146 个象限。经 MALDI-TOF-MS 法检测,可见病变中 HPV16 型所占象限的比例高于隐匿性病变 ($P < 0.05$)。其他 HPV 亚型分布的差异则无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

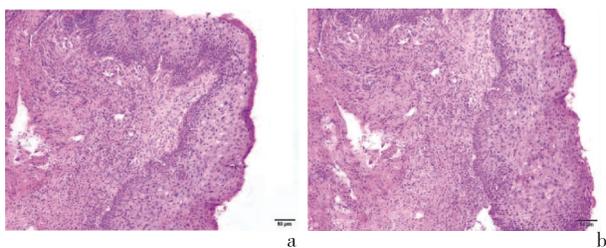
表 1 宫颈上皮内瘤变患者可见病变与隐匿性病变 HPV 亚型分布比较 [n (%)]

病变类型	象限数	HPV16 型	HPV58 型	HPV18 型	其他 HPV 分型
可见病变	146	76(52.05)	43(29.45)	18(12.33)	9(6.16)
隐匿性病变	52	22(42.31)	12(23.08)	12(23.08)	6(11.54)
χ^2 值		5.588	1.033	3.446	1.582
P 值		0.018	0.309	0.063	0.209

2.2 可见病变与隐匿性病变范围及鳞状上皮厚度比较 可见病变中病灶 >1 个象限的病例占比高于隐匿性病变 ($P < 0.01$),可见病变的病灶范围更大。可见病变的鳞状上皮厚度亦厚于隐匿性病变 ($P < 0.01$)。见表 2,图 1。

表 2 宫颈上皮内瘤变患者可见病变与隐匿性病变范围及鳞状上皮厚度比较

病变类型	n	病灶 >1 个象限的病例 [n (%)]	鳞状上皮厚度 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)
可见病变	72	57(79.17)	159.38 \pm 12.98
隐匿性病变	31	15(48.39)	135.94 \pm 10.05
χ^2/t 值		9.758	8.956
P 值		0.002	0.003



a: 隐匿性病变; b: 可见病变

图 1 宫颈上皮内瘤变患者病灶鳞状上皮病理 (HE 染色 $\times 10$)

2.3 HPV 不同亚型病灶中病变范围及鳞状上皮厚度比较 HPV16 型阳性患者中病灶 >1 个象限的病例占比高于非 HPV16 型阳性患者 ($P < 0.01$),

HPV16 型阳性患者的病灶范围更大。HPV16 型阳性病例的鳞状上皮厚度亦厚于非 HPV16 型阳性病例 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 HPV 不同亚型病灶中病变范围及鳞状上皮厚度比较

HPV 亚型	n	病灶 >1 个象限的病例 [n (%)]	鳞状上皮厚度 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)
HPV16 型阳性	51	43(84.31)	158.41 \pm 9.57
非 HPV16 型阳性	52	29(55.77)	132.08 \pm 11.61
χ^2/t 值		9.972	9.065
P 值		0.002	0.003

3 讨 论

子宫颈癌筛查的“三阶梯”程序目前已在临床上广泛开展,作为其中的重要组成部分,阴道镜下宫颈活检的重要性不言而喻^[5]。伴随该操作实施数量的增加,其短板也日益引起重视,并逐渐成为相关领域的研究热点:如何弥补因敏感度不足而导致阴道镜检查中高级别宫颈病变被漏诊。国外有学者研究认为,宫颈随机多点活检能够有效提升阴道镜检查对 II 级以上 CIN 的敏感度^[6]。但国内相关的报道较少,且缺乏对宫颈随机多点活检发现 CIN 临床和生物学特点的深入研究^[7]。故笔者选取我院行宫颈癌筛查的患者,确保每例患者均接受细胞学检测和 HPV 病毒学检测筛查,并对阳性患者行阴道镜活检+随机多点活检+自宫颈管搔刮术,在尽可能避免高级别宫颈病变漏诊的同时,对经阴道镜可见病灶活检确诊和阴道镜不可见而经随机多点活检确诊的组织进行对比分析。

本研究中,阴道镜可见病变和隐匿性病变石蜡标本象限中 HPV 亚型的分布差异具有统计学意义,前者的高危 HPV16 亚型所占比例更高,这可能提示隐匿性病变的疾病进展风险相对较低。但也有报道称,对隐匿 CIN 和可见 CIN 的 p16 蛋白表达水平进行分析后发现差异不具有统计学意义,故推测隐匿 CIN 与可见 CIN 具备相似的恶变潜能^[8]。笔者认为这为隐匿 CIN 进展风险的研究提供了一种思路,可在下一步研究中结合中长期临床随访进行探讨。

有国外学者对 CIN 病变程度和鳞状上皮厚度的相关性进行分析,结果显示 CIN 病变程度越重,组织鳞状上皮厚度越大^[9]。而本研究结果显示,经随机多点活检发现的 CIN 病变,其鳞状上皮厚度较

阴道镜可见病变的鳞状上皮厚度薄,这可能提示两种病变的生物学特征不尽相同。子宫颈表面的醋酸白反应是子宫颈 CIN 病变在阴道镜下可见的关键因素,当病变的鳞状上皮较薄,会导致醋酸涂抹在子宫颈表面后的醋酸白反应弱,使病灶难以在阴道镜下观察和显示^[10]。这也是隐匿性 CIN 客观存在的依据。因此,对初筛阳性的病例行随机多点活检是必要的,因为针对隐匿性病变的发生机制,仅依靠提升阴道镜检查医师的技能水平,价值有限^[11]。

对 HPV 不同亚型病灶中病变范围及鳞状上皮厚度比较,显示 HPV16 型阳性病变的范围更大,鳞状上皮更厚,这也是这类病变更容易在阴道镜下被观察到的重要原因^[12]。笔者认为这与 HPV16 型的高致癌性和自然病史密切相关。此外,还有学者认为高龄患者更易感染 HPV16^[13],而这类患者较低的雌激素水平会使鳞状上皮变薄,子宫颈鳞柱交界向上移动至子宫颈管,大大增加了阴道镜的识别难度^[14]。这种观点有待于进一步流行病学分析论证^[15]。

综上所述,非 HPV16 型阳性导致的 CIN II 级及以上病灶鳞状上皮相对较薄,病灶范围小,可能是导致隐匿性 CIN 不易发现的主要原因。临床中在行宫颈癌筛查时,建议对于非 HPV 型阳性感染的患者在阴道镜检查中同时行宫颈转化区域的病灶活检和多点随机活检,有助于提升隐匿性病灶的检查率,减少临床漏诊,使患者获得早期干预。

【参考文献】

- [1] Zawua Z, Omietimi JE, Jeremiah I, *et al.* 872P Comparison of colposcopy, pap smear test and visual inspection with acetic acid (VIA) as screening tests for precancer of the cervix (CIN2+) in high risk patients[J]. *Anna Oncol*, 2020, 4(31):S642.
- [2] Gonzalez-Bosquet E, Gibert M, Serra M, *et al.* Candidate HPV genotypes not included in the 9-valent vaccine for prevention of CIN 2 - 3[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2020, 30(7):954-958.
- [3] Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, *et al.* Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPV-mRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(11): 3114-3123.
- [4] 陈孝平,汪建平. 外科学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社, 2013.
- [5] St-Martin G, Thamsborg LH, Andersen B, *et al.* Management of low-grade cervical cytology in young women. Cohort study from Denmark[J]. *Acta Oncol*, 2021, 60(4):444-451.
- [6] De Vuyst H, Chung MH, Baussano I, *et al.* Comparison of HPV DNA testing in cervical exfoliated cells and tissue biopsies among HIV-positive women in Kenya[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(6): 1441-1446.
- [7] Cornall AM, Brotherton JML, Callegari ET, *et al.* Assessment of attribution algorithms for resolving CIN3-related HPV genotype prevalence in mixed-genotype biopsy specimens using laser capture microdissection as the reference standard[J]. *Vaccine*, 2020, 38(40):6312-6319.
- [8] 钟继生,毛毅影,梁罕超. HPV16/18 型病毒感染与宫颈上皮类癌样变及宫颈癌的关系[J]. *临床医学*, 2019, 39(4): 43-44.
- [9] 陈晴,杜辉,王纯,等. 阴道镜下隐匿子宫颈上皮内瘤变 III 级病变的 HPV 亚型感染特征及鳞状上皮厚度分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(3):172-177.
- [10] Hughes RG, Norval M, Howie SE. Expression of major histocompatibility class II antigens by Langerhans' cells in cervical intraepithelial neoplasia[J]. *J Clin Pathol*, 1988, 41(3):253-259.
- [11] Tan WK, Shaheen NJ. Random biopsy of the neosquamous epithelium is a waste of time and money[J]. *Gastrointest Endosc*, 2019, 90(3):404-406.
- [12] Parga-Pazos M, López Pouso Ó, Fenwick JD, *et al.* A mathematical model of dynamics of cell populations in squamous epithelium after irradiation[J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(9):1165-1172.
- [13] Gutnik H, Kastelic P, Oštrbenk Valencak A, *et al.* Histomorphologic assessment and distribution of high-risk human papillomavirus (HPV) types in cervical high-grade squamous intraepithelial lesions with unusual histomorphologic features[J]. *Virchows Arch*, 2020, 476(2):251-260.
- [14] 朱来芳,李芳,王璐,等. 宫颈上皮内病变环形电切术病理结果与术后结局的相关因素分析[J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(6):622-627.
- [15] 陈晔,黄健,耿建祥,等. 宫颈鳞癌患者单一人乳头瘤病毒感染型别分布及发病年龄的研究[J]. *东南国防医药*, 2020, 22(6):581-586.

(收稿日期:2021-03-23; 修回日期:2021-06-14)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一起)