

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.21.030

宫颈特殊染色法、液基薄层细胞学及人乳头瘤病毒检测对宫颈癌前病变的应用价值分析*

孟 侠 王静依[△] 刘海风 向 睿 何剑英

(成都医学院第二附属医院 / 核工业四一六医院妇产科 四川 成都 610051)

摘要 目的:探讨宫颈特殊染色法(FRD)、液基薄层细胞学(TCT)及人乳头瘤病毒(HPV)检测对宫颈癌前病变筛查的应用价值。**方法:**选取2015年1月~2018年1月于我院行宫颈癌筛查的1794例妇女作为研究对象,所有研究对象均接受FRD、TCT、HPV检测,以经阴道镜取样活检结果为阳性标准,对比分析三种不同检测方法以及联合检测的诊断效能。**结果:**病理科活检检出阳性111例,检出率为6.19%;FRD检测检出阳性114例,检出率为6.35%,漏诊率为16.22%;TCT检测检出阳性115例,检出率为6.41%,漏诊率为19.82%;HPV检测检出阳性108例,检出率为6.02%,漏诊率为19.82%;FRD检测与TCT、HPV检测的检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。FRD检测敏感度为83.78%,特异度为98.75%,阳性预测值为81.58%,阴性预测值为98.93%;TCT检测敏感度为80.18%,特异度为98.46%,阳性预测值为77.39%,阴性预测值为98.69%;HPV检测敏感度为80.18%,特异度为98.87%,阳性预测值为82.41%,阴性预测值为98.70%;FRD、TCT、HPV联合检测敏感度为93.69%,特异度为99.52%,阳性预测值为92.86%,阴性预测值为99.58%;FRD、TCT、HPV联合检测与FRD、TCT、HPV单独检测的敏感度、阳性预测值比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**FRD、TCT、HPV检测对宫颈癌前病变的诊断效能相当,而FRD、TCT、HPV联合检测的诊断效能优于各方法单独检测。

关键词:宫颈特殊染色法;液基薄层细胞学;人乳头瘤病毒检测;宫颈癌前病变;应用价值

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)21-4133-04

Analysis of Application value of Folate Receptor Mediated Cervical Special Staining, Thin-Cytologic Test and Human Papilloma Virus Test in Cervical Precancerous Lesions*

MENG Xia, WANG Jing-yi[△], LIU Hai-feng, XIANG Rui, HE Jian-ying

(Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College / Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu, Sichuan, 610051, China)

ABSTRACT Objective: To explore the application value of folate receptor mediated cervical special staining (FRD), Thin-Cytologic test (TCT) and human papilloma virus (HPV) tests in cervical precancerous lesions. **Methods:** 1794 women screened for cervical precancerous lesions in our Hospital were selected. All women received FRD, TCT and HPV tests. Pathological result was assigned as positive standard, and the diagnostic efficiency of three different detection methods and joint detection were compared and analyzed. **Results:** 111 cases were positive in pathological biopsy, the detection rate was 6.19%. 114 positive cases detected by FRD, the detection rate was 6.35%, the missed diagnosis rate was 16.22%. 115 positive cases detected by TCT, the detection rate was 6.41%, the missed diagnosis rate was 19.82%. 108 positive cases detected by HPV, the detection rate was 6.02%, the missed diagnosis rate was 19.82%. There was no significant difference in relevance ratio between FRD detection and TCT, HPV detection ($P>0.05$). For FRD, sensitivity was 83.78%, specificity was 98.75%, positive predictive value was 81.58% and negative predictive value was 98.93%. For TCT, sensitivity was 80.18%, specificity was 98.46%, positive predictive value was 77.39% and negative predictive value was 98.69%. For HPV test, sensitivity was 80.18%, specificity was 98.87%, positive predictive value was 82.41% and negative predictive value was 98.70%. For FRD joint detection of FRD, TCT, HPV, the sensitivity was 93.69%, the specificity is 99.52%, positive predictive value was 92.86%, and negative predictive value was 99.58%. There were significant differences in sensitivity, positive predictive value between joint detection of FRD, TCT, HPV and FRD, TCT, HPV separately ($P<0.05$). **Conclusion:** The diagnostic efficacy of FRD, TCT and HPV for cervical precancerous lesions is comparable, while the diagnostic efficiency of joint detection of FRD, TCT, HPV is superior to each other.

Key words: Folate Receptor Mediated Cervical Special Staining; Thin-Cytologic Test; Human Papilloma Virus Test; Cervical Precancerous Lesions; Application value

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)21-4133-04

* 基金项目:四川省卫生和计划生育委员会科研项目(17PJ253)

作者简介:孟侠(1973-),女,本科,副主任医师,研究方向:宫颈疾病诊治, E-mail: meng2012vip@sohu.com

[△] 通讯作者:王静依(1963-),女,本科,主任医师,研究方向:妇科肿瘤, E-mail: wjy416h@163.com

(收稿日期:2019-02-26 接受日期:2019-03-23)

前言

宫颈癌发病率在女性生殖系统恶性肿瘤中高居第一位,同时位居女性所有恶性肿瘤中的第四位^[1]。近年来,宫颈癌的发病率呈现出年轻化趋势,其已逐渐成为严重威胁女性健康的恶性肿瘤之一。随着对宫颈癌相关研究的深入,研究者发现宫颈癌前病变进展到宫颈癌通常需要数年的时间,通过筛查早期发现宫颈癌前病变,并给予患者适当的治疗能延缓甚至逆转宫颈癌前病变的发展进程,进而降低宫颈癌的发病率,因此宫颈癌前病变的筛查至关重要^[2]。当今初步筛查阶段,较为普及的手段是液基薄层细胞学(Thin-Cytologic Test, TCT)检测、传统细胞涂片高危型人乳头瘤病毒(Human Papilloma Virus, HPV)检测^[3],但 TCT 检测与 HPV 检测均存在检验时间长、成本高的缺点,难以大规模推广。以叶酸受体介导的宫颈特殊染色法(Folate Receptor-mediated Tumor Detection, FRD)检测是一种新型宫颈癌前病变的筛查方法^[4],其检测较为迅速,耗材成本较低,操作简便并且属于无创检测,患者依从性高,易于推广。本研究以病理科活检结果为标准,通过分析 FRD、TCT、HPV 以及 FRD、TCT、HPV 联合检测的诊断效能,以寻找宫颈癌前病变筛查的较优检测方法,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2015 年 1 月~2018 年 1 月我院行宫颈癌筛查的妇女 1794 例作为研究对象,年龄 20~67 岁,平均(45.15±6.33)岁。纳入标准:① 有性生活史,主诉接触性出血、外阴瘙痒、白带增多、分泌物异常等;② 愿意配合接受本研究所有检测者;③ 对本研究均知情同意并签署知情同意书。排除标准为:① 处于月经期内者;② 孕期内者;③ 急性炎症期内者;④ 既往有子宫切除术史者;⑤ 近期(3 个月内)接受宫颈治疗者;⑥ 近期(3 个月内)使用过性激素者。本研究经我院医学伦理委员会批准进行。

1.2 检测方法

1.2.1 FRD 检测 受检者取膀胱截石位暴露宫颈,以医用大棉签蘸取 FRD 上皮组织特殊染色液约 3s,使棉签接近饱和,于宫颈口画圈涂抹 5 圈,并于宫颈口按压约 5s,立即取出观察颜色;取医用小棉签蘸取染色液约 2s,沿宫颈管内壁逐步插入宫颈管约 2.5 cm 处,贴壁旋转 5 圈后取出,立即观察颜色。将棉签与显色卡对比,以棉签染色最深且直径不小于 2 mm 的区域为判读区域。阳性染色为蓝色、蓝黑色、黑色,即提示受检者宫颈可能存在宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)2 级以上病变;阴性染色为浅棕色、绿色。

1.2.2 TCT 检测 取宫颈专用细胞刷,伸入受检者宫颈管内,贴壁顺时针旋转 5 圈以收集脱落细胞,下拉取出后置于专用细胞保存液中,交由病理科医师进行制片、读片,并以国际癌症协会的 TBS(The Bethesda System)分级报告系统标准^[5]进行诊断。TBS 分级报告标准依次为:未见上皮内病变或恶性病变(Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM);无诊断意义的非典型鳞状上皮细胞(Atypical Squamous Cells of Undetermined Signification, ASC-US)与不排除高度鳞状上皮内病变(Atypical Squamous cells-Cannot exclude HSIL, ASC-H);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);鳞状细胞癌(Squamous Cell Carcinoma, SCC)。本研究中将 TCT 检测结果为 ASC-US/ASC-H 以上的受检者视为宫颈出现异常,即提示受检者宫颈可能存在病变。

1.2.3 HPV 检测 取宫颈专用细胞刷,伸入受检者宫颈管内,贴壁顺时针旋转 5 圈以收集脱落细胞,下拉取出后置于专用细胞保存液中,上交检验科。以第二代捕获杂交(Hybrid Capture II, HC-II)法对送检标本进行基因分型,若测得 HPV 属于 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV56、HPV35、HPV39、HPV58、HPV45、HPV51、HPV59、HPV52、HPV68 等 13 种高危型^[6],则视为 HPV 检测阳性,即提示受检者宫颈可能存在病变。

1.2.4 阴道镜检查 若受检者 FRD、TCT、HPV 检测任一检测出现异常,则行阴道镜检查,取可疑部位组织送病理科活检。使用阴道专用窥器暴露宫颈,采用棉签拭净宫颈表面后观察交界上皮及血管,再以 5%的冰醋酸涂抹宫颈 1 min 后,仔细观察宫颈鳞-柱上皮及转化区的形态、颜色及血管的变化。若发现异常阴道镜图像,再以复方碘液涂抹进行染色试验。若对阴道镜结果不满意,则进行宫颈管搔刮术,对取得的组织进行病理检查,以最后确诊。

1.3 观察指标

以阴道镜检查结果为金标准,比较 FRD、TCT、HPV 三种检测方法的检出率、漏诊率以及与病理活检的一致性,同时比较三种检测方法以及联合检测的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。其中,敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%;阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%。

1.4 统计学方法

采用 SPSS22.0 进行数据统计处理,FRD、TCT、HPV 检测以及联合检测的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等计数资料采用率表示,组间比较采用卡方检验,一致性采用 Kappa 检验, $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 FRD、TCT、HPV 检测结果比较

病理科活检检出阳性 111 例,检出率为 6.19%(111/1794);FRD 检测检出阳性 114 例,检出率为 6.35%(114/1794),漏诊率为 16.22%(18/111),与病理活检具有较好的一致性(Kappa=0.815, $P=0.000$);TCT 检测检出阳性 115 例,检出率为 6.41%(115/1794),漏诊率为 19.82%(22/111),与病理活检具有较好的一致性(Kappa=0.817, $P=0.000$);HPV 检测检出阳性 108 例,检出率为 6.02%(108/1794),漏诊率为 19.82%(22/111),与病理活检具有较好的一致性(Kappa=0.801, $P=0.000$);FRD 检测与 TCT、HPV 检测的检出率比较经卡方检验,差异无统计学意义($\chi^2=0.005, 0.173, P=0.946, 0.678$)。如表 1、2、3 所示。

2.2 不同检测方法的诊断效能比较

FRD 检测的敏感度为 83.78%,特异度为 98.75%,阳性预测值为 81.58%,阴性预测值为 98.93%;TCT 检测的敏感度为

表 1 FRD 检测与病理活检结果比较(n)

Table 1 Comparison of FRD detection and pathological biopsy results (n)

FRD	Biopsy		Total
	Positive	Negative	
Positive	93	21	114
Negative	18	1662	1680
Total	111	1683	1794

表 2 TCT 检测与病理活检结果比较(n)

Table 2 Comparison of TCT and pathological biopsy results (n)

TCT	Biopsy		Total
	Positive	Negative	
Positive	89	26	115
Negative	22	1657	1679
Total	111	1683	1794

表 3 HPV 检测与病理活检结果比较(n)

Table 3 Comparison of HPV detection and pathological biopsy results (n)

HPV	Biopsy		Total
	Positive	Negative	
Positive	89	19	108
Negative	22	1664	1686
Total	111	1683	1794

80.18%, 特异度为 98.46%, 阳性预测值为 77.39%, 阴性预测值为 98.69%; HPV 检测的敏感度为 80.18%, 特异度为 98.87%, 阳性预测值为 82.41%, 阴性预测值为 98.70%; FRD、TCT、HPV 三种检测方法的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。FRD 联合 TCT、HPV 检测的敏感度为 93.69%, 与 FRD、TCT、HPV 三种方法单独检测相比较,

差异有统计学意义($P<0.05$); 特异度为 99.52%, 与 FRD、TCT、HPV 三种方法单独检测相比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 阳性预测值为 92.86%, 与 FRD、TCT、HPV 三种方法单独检测相比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 阴性预测值为 99.58%, 与 FRD、TCT、HPV 三种方法单独检测相比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。如表 4 所示。

表 4 不同检测方法的诊断效能比较(%)

Table 4 Comparison of diagnostic efficacy of different detection methods (%)

Detection methods	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
FRD	83.78*	98.75	81.58*	98.93
TCT	80.18*	98.46	77.39*	98.69
HPV	80.18*	98.87	82.41*	98.70
FRD+TCT+HPV	93.69	99.52	92.86	99.58

Note: Compared with FRD+TCT+HPV, * $P<0.05$.

3 讨论

宫颈癌前病变无明显体征, 一般认为宫颈癌前病变进展至宫颈癌需要经历增生、上皮内瘤变、原位癌、早期浸润癌等阶段^[7]。由于宫颈癌前病变存在较长时间的进展过程, 因此针对宫颈癌前病变进行早期干预进而逆转癌变成为可能。当今卫生系统的实践^[8-10]证实, 早期发现宫颈癌及宫颈癌前病变有赖于大规模普及的宫颈癌前病变的筛查, 从而可以进行早期治疗, 进而可以降低宫颈癌的发生率与死亡率, 因此寻找适于普及的宫颈癌前病变筛查手段是研究的重点。

TCT 检测作为传统宫颈癌筛查手段之一^[11], 利用液基薄层

细胞检测系统^[12], 在对宫颈脱落细胞进行细胞学分类检测时, 能获得高质量的细胞结构图像, 进而更容易发现异常的宫颈细胞^[13]。统计表明^[14-16], TCT 检测对宫颈癌及宫颈癌前病变均具有较高的检出率, 但 TCT 检测确定结果需要 3-7 天时间, 而且制片要求较高^[17], 因此为快速普查增加了一定的难度。现今 HPV 检测一般是指利用 HC-II 法, 采取免疫化学手段, 放大样本中的基因信号, 从而检测样本中的微量 HPV 病毒, 并对所测样本中的 HPV 进行分型, 以判断是否属于高危型 HPV 的一种手段^[18]。由于 HPV 检测是一种基于宫颈癌病因学^[19]的检测手段, 客观性强, 可重复性高, 因此虽然 HPV 检测技术出现较晚, 但已逐渐成为宫颈癌前病变的主要初期筛查手段之一^[20-22]。在细

胞发生癌前病变或者癌变时,叶酸受体高度表达于细胞表面,而在正常细胞中叶酸受体几乎无表达^[23-25]。FRD检测即是利用叶酸受体的这一特性,以叶酸衍生物、还原态亚甲基蓝、乙酸等作为特殊染色液的主要成分,对癌前病变及癌变细胞进行特殊染色,从而达到筛查目的的一种新兴诊断技术^[26]。FRD检测中的染色剂还原态亚甲基蓝对肿瘤组织具有高度亲和性,且与不同阶段的肿瘤组织结合后呈现出不同的颜色光谱^[27,28]。乙酸作为pH调节剂,能在染色剂被肿瘤细胞内吞后调节细胞内环境,使异常表达叶酸受体与染色剂的主要活性成分叶酸衍生物分离^[29,30],从而发生氧化还原反应,迅速使还原态亚甲基蓝被氧化,并排出细胞外,进而在检测的棉签上呈现肉眼可辨别的特定显色反应。本研究将FRD检测技术应用于宫颈癌前病变的筛查,并分析比较其与TCT、HPV的诊断效能发现,FRD与传统筛查方法TCT、HPV相比,在敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值方面的差异均不存在统计学意义,但若将FRD、TCT、HPV检测结合,敏感度、阳性预测值的提升经卡方检验差异均具有统计学意义,因此FRD、TCT、HPV联合检测诊断效能更优。同时,FRD检测操作简便,出结果迅速,费用低廉^[30],较易加入现有的筛查体系。

综上所述,FRD、TCT、HPV检测诊断效能相当,但FRD、TCT、HPV联合检测在敏感度、阳性预测值等方面均有所提升,因此可以考虑在宫颈癌前病变的筛查方法中引入FRD检测,以达到更好的筛查效果。

参考文献(References)

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30
- [2] 郭瑞军,毛东伟.宫颈癌前病变及宫颈癌筛查方法的研究进展[J].医学综述, 2018, 24(10): 1908-1912
- [3] 罗丹霞,葛俊丽,赵丽莎,等. HPV联合TCT在宫颈癌前病变筛查中的临床价值分析[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(10): 143-145
- [4] Lu MH, Hu LY, Du XX, et al. An special epithelial staining agents: folic acid receptor-mediated diagnosis (FRD) effectively and conveniently screen patients with cervical cancer [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(5): 7830-7836
- [5] Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective. Acta Cytol, 2017, (4-5): 359-372
- [6] Gu Y, Ma C, Zou J, et al. Prevalence characteristics of high-risk human papillomaviruses in women living in Shanghai with cervical precancerous lesions and cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 24656-24663
- [7] de Oliveira C M, Levi JE. The Biological Impact of Genomic Diversity in Cervical Cancer Development[J]. Acta Cytol, 2016, 60(6): 513-517
- [8] 潘桂花. 宫颈癌的早期筛查及预防对策分析[J]. 中国医药指南, 2015, 13(13): 81-82
- [9] 燕云. 浅谈宫颈癌的早期防治和早期筛查 [J]. 航空航天医学杂志, 2015, 26(6): 756-760
- [10] Brodersen J, Siersma V, Thorsen H. Consequences of screening in cervical cancer: development and dimensionality of a questionnaire [J]. BMC Psychol, 2018, 6(1): 39
- [11] Liu Y, Zhang L, Zhao G, et al. The clinical research of Thinprep Cytology Test (TCT) combined with HPV-DNA detection in screening cervical cancer[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2017, 63(2): 92-95
- [12] Liang H, Fu M, Zhou J, et al. Evaluation of 3D-CPA, HR-HPV, and TCT joint detection on cervical disease screening [J]. Oncol Lett, 2016, 12(2): 887-892
- [13] 孙娟娟,宋晓婕,罗自娟,等. 高危型HPV筛查与TCT联合检查在宫颈癌筛查中的临床应用 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(12): 2336-2338
- [14] 米贤军,王莹,沈铿,等. 中山地区大规模宫颈癌筛查TCT结果及易感因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(18): 3802-3806
- [15] 肖雨竹,张洁红,宋伟奇. 内蒙古东部区79473例宫颈癌筛查TCT结果分析[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2017, 4(25): 3-4, 10
- [16] 周红霞. TCT联合阴道镜在宫颈癌前病变中的诊断价值[J]. 华夏医学, 2017, 30(02): 79-82
- [17] 甘穗荣. 门诊行TCT筛查宫颈癌患者取样准备及取样存在问题的研究[J]. 实用癌症杂志, 2015, 30(7): 1019-1022
- [18] Schiffman M, Boyle S, Raine-Bennett T, et al. The Role of Human Papillomavirus Genotyping in Cervical Cancer Screening: A Large-Scale Evaluation of the cobas HPV Test [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2015, 24(9): 1304-1310
- [19] Wardak S. Human Papillomavirus (HPV) and cervical cancer[J]. Med Dosw Mikrobiol, 2016, 68(1): 73-84
- [20] Samsonov RB, Klochkova TG, Evtushenko VI. Changes of infection of the prostate tissue by Herpesviridae family viruses and HPV in prostate cancer patients depending on the stage of the pathological process[J]. Vopr Onkol, 2016, 62(4): 504-507
- [21] Mittal S, Basu P, Muwonge R, et al. Risk of high-grade precancerous lesions and invasive cancers in high-risk HPV-positive women with normal cervix or CIN 1 at baseline-A population-based cohort study [J]. Int J Cancer, 2017, 140(8): 1850-1859
- [22] Walker H, Burrell M, Flatley J, et al. A metabolite profiling method for diagnosis of precancerous cervical lesions and HPV persistence[J]. Bioanalysis, 2017, 9(8): 601-608
- [23] Cheung A, Bax HJ, Josephs DH, et al. Targeting folate receptor alpha for cancer treatment[J]. Oncotarget, 2016, 7(32): 52553-52574
- [24] Assaraf YG, Leamon CP, Reddy JA. The folate receptor as a rational therapeutic target for personalized cancer treatment [J]. Drug Resist Updat, 2014, 17(4-6): 89-95
- [25] Yu Y, Chen Z, Dong J, et al. Folate receptor-positive circulating tumor cells as a novel diagnostic biomarker in non-small cell lung cancer[J]. Transl Oncol, 2013, 6(6): 697-702
- [26] Li D, Chen L, Wang H, et al. Clinical application of a rapid cervical cancer screening method: Folate receptor-mediated staining of cervical neoplastic epithelia[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2017, 13(1): 44-52
- [27] López-De IMCC, Cordero GJM, Martín-Francisco C, et al. Sentinel lymph node detection using 99mTc combined with methylene blue cervical injection for endometrial cancer surgical management: a prospective study[J]. Int J Gynecol Cancer, 2014, 24(6): 1048-1053
- [28] 窦荣章,熊斌. 亚甲基蓝在胃结肠癌外科手术中应用的研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(9): 133-136
- [29] Silksens SL, Schiffman M, Sahasrabudhe V, et al. Is It Time to Move Beyond Visual Inspection With Acetic Acid for Cervical Cancer Screening?[J]. Glob Health Sci Pract, 2018, 6(2): 242-246
- [30] 彭丹,李丽琴,莫翠梅,等. 叶酸受体介导宫颈特殊染色法在宫颈癌前病变筛查中的应用价值[J]. 国际医药卫生导报, 2017, 23(7): 961-962