

人乳头状瘤病毒 DNA 检测在宫颈病变筛查中的应用研究

陈 跃¹ 刘青云¹ 陈国群¹ 喻利华¹ 李献忠¹ 张 怡²

(1 湖南宁乡县人民医院 湖南 宁乡 410600 2 中南大学湘雅医院 湖南 长沙 410007)

摘要 目的:探讨高危型人乳头状瘤病毒(HR-HPV)DNA 检测方法在宫颈病变筛查中的应用意义。**方法:**580 例妇女同时进行薄层液基细胞学(TCT)、第 2 代杂交捕获法(HC II)和阴道镜下宫颈组织活检,并以病理组织学检查结果作为确诊标准进行对比分析。**结果:**①580 例受检者中病理诊断为炎症 207 例(35.69%),CIN I 224 例(38.62%),CIN II 96 例(16.55%),CIN III 38 例(6.55%),浸润癌 15 例(2.58%);②TCT 检测异常者中炎症 52 例(25.12%),CIN I 177 例(79.02%),CIN II 85 例(88.54%),CIN III 36 例(94.74%),浸润癌 15 例(100%),其中 CIN II 和 CIN III 组间差异无统计学意义($P>0.05$),但显著高于炎症组和 CIN I 组,低于浸润癌组($P<0.01$ 或 0.05);③HPV DNA 检测阳性者中炎症 66 例(31.88%),CIN I 152 例(67.86%),CIN II 83 例(86.46%),CIN III 35 例(92.11%),浸润癌 15 例(100%),除 CIN II 和 CIN III 组间差异无显著性外($P>0.05$),其余各组间差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 0.01),且 HPV-DNA 检测阳性组 CIN 和浸润癌发病率明显高于阴性组($P<0.01$);④30 岁以下高危型 HPV 感染率(65.53%)显著高于 30 岁以上 34.47%感染率($P<0.01$);⑤联合应用 TCT、HPV-DNA 检测诊断宫颈癌及癌前病变的敏感度和特异度分别为 96.14%和 69.28%,高于 TCT 或 HPV-DNA 的单独检测。**结论:**宫颈高危型 HPV 感染是 CIN 及宫颈癌的主要发病因素,并与病变严重程度密切相关,而 HPV-DNA 和 TCT 联合应用可提高宫颈癌及癌前病变的检出率。

关键词: 宫颈癌;人乳头瘤病毒;薄层液基细胞学;宫颈上皮内瘤样病变

中图分类号: R711 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2011)12-2328-03

Application of DNA Test of Human Papilloma Virusin in Cervical Lesion Screening

CHEN Yue¹, LIU Qing-yun¹, CHEN Guo-qun¹, YU Li-hua¹, LI Xian-zhong¹, ZHANG Y²

(1 Department of gynaecology and obstetrics of Ningxiang People's Hospital, Ningxiang, 426100, China; 2 XiangYa hospital of Central South University, 410008, Changsha, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the application of human papillomavirus (HPV) test in screening cervical epithelial lesions. **Methods:** 580 cases were tested by thinprep cytology test (TCT), hybrid capture (HC-II) and histopathology, then comparative analysis was performed by using the results of pathologic examination as diagnosis criteria. **Results:** ① By pathological examination, 207 (35.69%), 224 (38.62%), 96 (16.55%), 38 (6.55%) and 15 (2.58%) women were diagnosed as inflammation, CIN I, CIN II, CIN III and cervical cancer, respectively. ② Among cases with abnormal cytology, 52 (25.12%) were inflammation, 177 (79.02%) CIN I, 85 (88.54%) CIN II, 36 (94.74%) CIN III, and 15 (100%) cervical cancer, and there was a significant difference within groups ($P<0.05$). ③ Among the HPV DNA positive cases, 66 (31.88%) were inflammation, 152 (67.86%) CIN I, 83 (86.46%) CIN II, 35 (92.11%) CIN III, and 15 (100%) cervical cancer, and significant difference were found among the groups ($P<0.05$ or 0.01), but not between CIN II and CIN III ($P>0.05$). Notably, the incidence of CIN and cervical cancer in HPV positive group were higher than HPV negative group ($P<0.01$). ④ HPV detection rates in ≥ 30 years group was 65.53%, significantly higher than 34.47% in <30 years group ($P<0.01$). ⑤ The combination of TCT and HPV-DNA test had better sensitivity (96.14%) and specificity (69.28%) than used alone. **Conclusion:** HPV infection is the main risk factor for CIN and cervical carcinoma, and plays an important role in the pathogenesis. The combination of HPV-DNA and TCT could improve detection rate of preinvasive and invasive cervical carcinoma.

Key words: Cervical cancer; Human papilloma virus; Thinprep cytology test; Cervical intraepithelial neoplasia

Chinese Library Classification(CLC): R711 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2328-03

宫颈癌为妇科常见恶性肿瘤之一,全球每年新增发病人数约为 50 万。宫颈癌的发生是一个由癌前病变逐步向癌转化的病理过程,因此对于癌前病变的筛查和相应治疗完全可以在早期阻断宫颈病变的继续发展,降低宫颈癌发病率^[1]。人乳头状瘤

病毒(human papillomavirus, HPV)根据在宫颈病变发生中的危险性不同可分为低危型(6、11、42、43、44 型)和高危型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型),其中高危型 HPV (high-risk human papilloma, HR-HPV) 的持续感染被公认为是宫颈癌及癌前病变发生的主要因素,因此对于 HR-HPV 的早发现、早诊断是目前宫颈癌筛查中的一个重要研究热点^[2]。本研究回顾性分析了本院采用第 2 代杂交捕获试验(hybrid capture, HC-II)对 580 例受检者进行高危型 HPV DNA 检测的结果,探

作者介绍:陈跃,女,副主任医师,主要从事妇产科相关疾病的研究, E-Mail: lqycs@126.com。

(收稿日期: 2011-01-10 接受日期: 2011-01-30)

讨了 HPV DNA 检测在宫颈病变筛查中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2008 年 10 月至 2010 年 4 月在我院妇科门诊及体检中心就诊的 580 例已婚妇女，年龄 17~78 岁，平均 36.49±7.42 岁，除外进行过子宫切除、宫颈手术及有盆腔放疗史者。

1.2 检测方法

TCT 检查 消毒棉球拭去宫颈表面分泌物，将宫颈细胞刷伸入宫颈管内，顺时针或逆时针旋转 5 圈后，放入含有保存液的样本瓶中，经 ThinPrep2000 系统处理，制成直径为 2cm 的细胞薄层涂片，巴氏染色后进行细胞学检查。细胞学诊断包括：正常细胞；非典型鳞状细胞和腺细胞（atypical squamous cell, ASC）；低度鳞状上皮内病变（Low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL），即 CIN I；高度鳞状上皮内病变（High-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL），即 CIN II 和 CIN III，鳞状细胞癌和腺癌。细胞学诊断以病理等级≥ASC 为细胞学异常。

1.2.2 HPV-DNA 检测 以美国 Digene 公司第二代杂交捕获 HC-II 试剂盒中的采样工具自患者子宫颈管取样，进行 13 种高危致癌型 HPV-DNA（即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68）的 HC-II 检测，实验操作严格按照试剂盒说明进行，计算样本相对光单位（relative light unit, RLU）与标准阳性对照的 RLU 比值，以大于或等于 1 作为阳性标准。

1.2.3 病理检测 在阴道镜下进行可疑病灶定位活检，对于病灶不明显者在转化区 3、6、9、12 处取材或行宫颈管内膜刮取术，

送病理检查。按病变程度分为 5 组：慢性炎症组、CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组和浸润癌组。

1.3 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计软件对所得计数资料进行 χ^2 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCT 与病理检查结果比较

经过病理学检查，580 例受检妇女中包括炎症 207 例（35.69%），CIN I 224 例（38.62%），CIN II 96 例（16.55%），CIN III 38 例（6.55%），浸润癌 15 例（2.58%）。受检者中 TCT 检测细胞学异常 365 例，其中炎症组 52 例（25.12%），CIN I 组 177 例（79.02%），CIN II 组 85 例（88.54%），CIN III 组 36 例（94.74%），浸润癌组 15 例（100%），其中 CIN II 和 CIN III 组间差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ），但显著高于炎症组和 CIN I 组，低于浸润癌组（ $P < 0.01$ 或 0.05 ）（表 1）。

2.2 HPV-DNA 检测与病理检查结果比较

580 例受检者中，HPV DNA 检测阳性 351 例，总感染率为 60.52%，其中炎症组 66 例（31.88%），CIN I 组 152 例（67.86%），CIN II 组 83 例（86.46%），CIN III 组 35 例（92.11%），浸润癌组 15 例（100%），除 CIN II 和 CIN III 组间差异无显著性外（ $P > 0.05$ ），其余各组间差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ 或 0.01 ），HPV-DNA 检测阳性组 CIN 及宫颈癌发生率均显著高于阴性组，差异有统计学意义（ $P < 0.01$ ），见表 2。

2.3 不同年龄段 HPV-DNA 检测结果

表 1 TCT 与病理检查结果比较(n %)

Table 1 Comparison between TCT evaluation and pathological examination

TCT	宫颈活检 cervical biopsy					总计 Total
	炎症 Inflammation	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈癌 Uterine cervix cancer	
异常 Abnor	52(8.97%)*	177(30.52%)*▲	85(14.66%)*▲▲	36(6.21%)*▲▲	15(2.58%)*▲▲#	365(62.93%)*
正常 Normal	155(26.72%)	47(8.10%)	11(1.89%)	2(0.34%)	0(0.00%)	215(37.07%)
总计 Total	207(35.69%)	224(38.62%)	96(16.55%)	38(6.55%)	15(2.58%)	580(100%)

注：TCT 异常组与 TCT 正常组比较，* $P < 0.01$ ，和炎症组比较，▲ $P < 0.01$ ，和 CIN I 组比较，* $P < 0.05$ ，和 CIN II 或 CIN III 组比较，# $P < 0.05$ 。
Note: TCT abnor group Compare with TCT normal group, * $P < 0.01$; Compare with inflammation group, ▲ $P < 0.01$; Compare with CIN I group, * $P < 0.05$; Compare with CINII or CIN III group, # $P < 0.05$.

表 2 HPV-DNA 检测与病理检查结果比较(n %)

Table 2 Comparison between HPV-DNA testing and pathological examination

HPV	宫颈活检 Cervical biopsy					总计 Ttotal
	炎症 Inflammation	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈癌 Uterine cervix cancer	
(+)	66(11.38%)*	152(26.21%)*▲	83(14.31%)*▲▲	35(6.03%)*▲▲	15(2.58%)*▲▲#	351(60.52%)*
(-)	141(24.31%)	72(12.41%)	13(2.24%)	3(0.52%)	0(0.00%)	229(39.48%)
总计 Total	207(35.69%)	224(38.62%)	96(16.55%)	38(6.55%)	15(2.58%)	580(100%)

注：HPV(+)组与 HPV(-)组比较，* $P < 0.01$ ，和炎症组比较，▲ $P < 0.01$ ，和 CIN I 组比较，* $P < 0.05$ ，和 CIN II 或 CIN III 组比较，# $P < 0.05$ 。
Note: HPV(+) group Compare with TCT normal HPV(-) group, * $P < 0.01$; Compare with inflammation group, ▲ $P < 0.01$; Compare with CIN I group, * $P < 0.05$; Compare with CINII or CIN III group, # $P < 0.05$.

351 例 HPV 阳性受检者平均年龄为 36.72±4.18 岁，其中 30 岁以下感染高危型 HPV 230 例，占总感染例数 65.53%，30 岁以上感染者 121 例，占总感染例数 34.47%，差异有显著性（ $P < 0.01$ ）（图 1）。

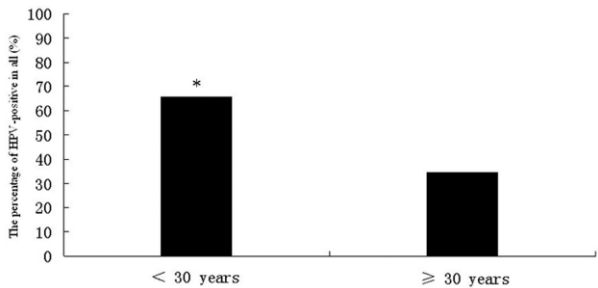


图 1 各年龄段 HR-HPV 检出率比较(%) *P<0.01 <30 岁组与≥ 30 岁组比较

Fig. 1 The comparison of HR-HPV-positive rate in every age segment
*P<0.01 < 30 years group compared with ≥ 30 years group

2.4 TCT 与 HPV-DNA 诊断效率比较

HPV-DNA 检测的敏感度(89.05%)与特异度(68.65%)均

略高于 TCT 检测方法中 87.37%的敏感度和 64.35%的特异度，而联合应用 TCT、HPV-DNA 检测可将敏感度提高至 96.14%，特异度提高至 69.28%(表 3)。

3 讨论

宫颈癌的发生需要经过从宫颈上皮内瘤样病变到浸润癌的一个长期转变过程 因此早发现、早诊断、早治疗可有效降低宫颈癌发病率与死亡率^[3]。目前常见的宫颈病变筛查技术主要包括细胞学检查、高危型 HPV DNA 检测、阴道镜下宫颈取材活检。薄层液基细胞学(thinprep cytology test, TCT)为宫颈病变细胞学检查中较为常用的方法 通过对样本采集与保存方法的改进,可有效提高细胞涂片质量,从而获得更高的异常细胞检出率^[4]。本研究中 TCT 在炎症、CIN I、CIN II、CIN III 和浸润癌中的阳性率分别为 25.12%、79.02%、88.54%、94.74%和 100%，对宫颈癌及癌前病变的敏感度为 87.37%，特异度为 64.35%，表

表 3 TCT 与 HPV-DNA 检测敏感度与特异度比较(%)

Table 3 The comparison of detection efficiency between TCT evaluation and HPV-DNA testing

检测项目 Detection item	敏感度 Sensitiveness	特异度 Specificity	阳性预测值 Positive predictive value	阴性预测值 Predictive value
TCT	87.37%	64.35%	56.86%	89.54%
HPV	89.05%	68.65%	71.63%	96.77%
TCT+HPV	96.14%	69.28%	59.25%	94.32%

明 TCT 对于宫颈病变诊断具有较高的准确率。

高危型 HPV 感染是宫颈上皮内瘤样病变与浸润癌发生的主要原因，本研究中 HPV-DNA 检测阳性组 CIN 及宫颈癌发生率均显著高于阴性组 差异有统计学意义(P<0.01) 同时 351 例高危型 HPV 阳性患者中慢性炎症发病率为 31.88% 而 CIN I、CIN II、CIN III 和浸润癌的发病率则分别提高为 67.86%、86.46%、92.11%和 100% 其中仅 CIN II 和 CIN III 组间差异无统计学意义(P>0.05) 其余各组间差异均有显著性(P<0.05 或 0.01) 提示高危型 HPV 感染与宫颈病变程度密切相关 感染率升高 病变程度也相应加重 符合 HR-HPV 感染为宫颈癌及癌前病变主因的相关报道^[5,6]。同时我们发现在 580 例受检妇女中 HPV 总感染率为 60.52%，其中 30 岁以下患者高危型 HPV 感染率为 65.53% 显著高于 30 岁以上 34.47%的感染率 可见 30 岁以下是 HPV 感染的高发期 但由于宫颈发病的高峰年龄相较于 HPV 感染有约 10 年左右的滞后，因此对 30 岁以上妇女进行 HPV DNA 检测更具有诊断价值。

研究表明 TCT 检查方法的推广将宫颈癌的发病率降低了 70~90%，但是受到样本取采是否合适等诸多因素的影响，TCT 仍存在 15~40%的假阴性率 产生漏诊或误诊的情况。因此本研究中引入了 HPV DNA 检测方法，其基本原理为以荧光、地高辛和生物素等标记探针 根据碱基互补配对原则 将探针与标本中靶序列特异性杂交 经信号放大后 获得检测结果^[7]。该方法灵敏性好 特异性强 可同时检测 13 种高危型 HPV 感染 是目前唯一经过美国食品药品监督管理局批准应用于宫颈癌初筛的检测手段 能进一步减少医务工作者主观因素对于判定结果的影响^[8]。本研究中 HPV DNA 检测单独使用的敏感度、特异度分别为 89.05%和 68.65% 而 TCT 与 HPV DNA 检测的联合应用将宫颈病变诊断的敏感度提高至 96.14%，阴性预测值达到 94.32% 说明两者联合 可通过优势互补 有效增加宫颈

病变的检出率 减少漏诊率和误诊率 避免宫颈浸润癌的发生。

总之 TCT 联合高危型 HPV DNA 检测敏感度高、特异性好、结果可靠 可作为宫颈内病变筛查的有效辅助手段 以提高筛查准确性。

参考文献(References)

[1] Reich O, Ballon M. DNA cytometry as a first-line method for diagnosis of cervical precancer with respect to clinical behavior [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2010,31(4):372-374

[2] Núñez-Troconis J, Delgado M, González J, et al. Human papillomavirus false positive cytological diagnosis in low grade squamous intraepithelial lesion [J]. Invest Clin, 2009, 50(4):447-454

[3] Leung SS, Leung I. Cervical cancer screening: knowledge, health perception and attendance rate among Hong Kong Chinese women [J]. Int J Women Health, 2010, 2:221-228

[4] Chansaenroj J, Lurchachaiwong W, Termrungruanglert W, et al. Prevalence and genotypes of human papillomavirus among Thai women. [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2010, 11(1):117-122

[5] McAdam M, Sakita J, Tarivonda L, et al. Evaluation of a cervical cancer screening program based on HPV testing and LLETZ excision in a low resource setting [J]. PLoS One, 2010, 5(10):e13266

[6] Clavel C, Bory JP, Caudroy S, et al. Usefulness of HPV testing in the follow-up of untreated cervical low grade lesions [J]. Histol Histopathol, 2005, 20(4):1085-1091

[7] Kumar K, Iyer VK, Bhatla N, et al. Comparative evaluation of smear cytology & hybrid capture II for the diagnosis of cervical cancer [J]. Indian J Med Res, 2007,126(1):39-44

[8] Ko V, Tambouret RH, Kuebler DL, et al. Human papillomavirus testing using hybrid capture II with SurePath collection: initial evaluation and longitudinal data provide clinical validation for this method [J]. Cancer. 2006, 108(6):468-474