

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2013.07.010

DNA 定量分析和高危型 HPV-DNA 检测在 ASCUS 分流诊断中的意义

阳 艳,吴绪峰,张敦兰

Significance of DNA Quantitative Cytology and High-risk HPV-DNA Test in ASCUS Triage Diagnosis

YANG Yan, WU Xufeng, ZHANG Dunlan

Department of Gynecology, Hubei Maternal and Child Health Hospital, Wuhan 430070, China

Corresponding Author: WU Xufeng, E-mail: zwxufeng@163.com

Abstract: Objective To explore the significance of DNA quantitative cytology and High-risk HPV-DNA testing in ASCUS triage diagnosis. **Methods** The DNA quantitative cytology group included 193 cases and the high-risk HPV-DNA comprises 134 cases. ASCUS diagnosed by TBS undergone with automatic cell tumour check analysis system or High-risk HPV-DNA test later, were both done colposcopy directed biopsy soon. There was a comparison between these two cases in pathological results. **Results** Of the 327 ASCUS cases, 204 cases were histologically diagnosed as inflammation (62.39%), 70 cases were CIN I (21.41%), 13 cases were CIN II (3.98%), 30 cases were CIN III (9.17%), and 10 cases were cervical invasive cancer (3.05%). The histological diagnosis were no statistical distinction between HR-HPV-DNA and DNA Quantitative cytology groups. The negative predictive values of HPV-DNA and DNA Quantitative cytology were 94.74% and 98.93%, respectively. Compared with the percentage of DNA amount greater than 5C (DNA Index>2.5) cells, the histological diagnosis were significantly different between <0.1% and ≥0.1%. DNA heteroploid more than or equal to three were used to predict CIN II or more severe pathological changes, and its sensitivity, specificity, positive predictive values and negative predictive values were 80.64%, 47.06%, 40.99%, 84.21%, respectively. **Conclusion** DNA Quantitative cytology and High-risk HPV-DNA test can be used for ASCUS triage, but the cost of DNA Quantitative cytology is cheaper than High-risk HPV-DNA test.

Key words: Atypical squamous cells of undetermined signification; DNA quantitative cytology; High-risk HPV-DNA test; Colposcopy

摘 要:目的 探讨细胞 DNA 定量分析和高危型 HPV-DNA 定量检测在未明确意义非典型鳞状上皮细胞(atypical squamous cells of undetermined signification, ASCUS)诊断分流中的意义。**方法** DNA 定量分析组:193 例行 DNA 定量分析;高危型 HPV-DNA 检测组:134 例行高危型 HPV-DNA 检测。巴氏(the Bethesda system, TBS)系统诊断为 ASCUS 的 327 例患者均行阴道镜检及镜下活检。**结果** 327 例 ASCUS 中,阴道镜活检病理诊断为炎症者 204 例(62.39%),CIN I 70 例(21.41%),CIN II 13 例(3.98%),CIN III 30 例(9.17%),宫颈癌 10 例(3.05%)。高危型 HPV-DNA 检测组和 DNA 定量分析组之间阴道镜活检病理检查结果比较差异无统计学意义。DNA 定量分析和 HPV-DNA 检测预测 CIN II 及以上的阴性预测值分别为 98.93%和 94.74%。每 100 个被测细胞数中异倍体细胞不同百分比比较,<0.1%和≥0.1%的阴道镜活检结果差异有统计学意义。≥3 个 DNA 异倍体预测 CIN II 及以上病理改变,其敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为 80.64%、47.06%、40.99%、84.21%。**结论** DNA 定量分析和高危型 HPV-DNA 检测可用于 ASCUS 的分流,但 DNA 定量分析更经济。**关键词:** 未明确意义非典型鳞状上皮细胞(ASCUS);细胞 DNA 定量分析;高危型 HPV-DNA 检测;阴道镜

中图分类号:R737.33;R711 文献标识码:A

收稿日期:2012-03-27;修回日期:2012-08-29
作者单位:430070 武汉,湖北省妇幼保健院妇科
通信作者:吴绪峰, E-mail: zwxufeng@163.com
作者简介:阳艳(1973-),女,硕士,主治医师,主要从事
妇科内分泌的研究

0 引言
未明确意义的非典型鳞状上皮细胞(atypical squamous cells of undetermined signification, AS-

CUS)是一种排除性诊断,是对存在病变危险的提示而不是异常病变的明确诊断。与细胞学报告为高度鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)和组织学高度病变的密切相关性不同,细胞学报告为 ASCUS 时,阴道镜下病理活检结果相差巨大,可以是正常宫颈,也可以是早期浸润癌^[1]。ASCUS 病变可能导致过度诊断、过度治疗,也可能低估存在的 CIN 病变甚至宫颈癌。对 ASCUS 的分流一直没有定论。本研究分别采用宫颈脱落细胞学 DNA 定量分析和 13 种高危型 HPV-DNA 检测,并同时以阴道镜活检病理检查结果进行对照的两组 ASCUS 患者资料进行分析,探讨 DNA 定量分析和 13 种高危型 HPV-DNA 检测这两种方法在 ASCUS 分流诊断中的作用和意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析 2010 年 9 月 1 日—2011 年 8 月 30 日在湖北省妇幼保健院宫颈病变中心经液基细胞学检查(TCT)为 ASCUS 的患者共 327 例,标本采取方法:宫颈细胞刷紧贴宫颈鳞柱交界处顺时针旋转 5~10 次,采集宫颈及阴道脱落细胞,将细胞刷放入细胞保存液瓶内充分洗涤,并在月经干净 3~10 天内行电子阴道镜活检。其中,DNA 定量分析组 193 例,年龄 20~59 岁,平均 33.8 岁;HPV-DNA 检测组 134 例,年龄 21~65 岁,平均 35.2 岁。

1.2 检测方法

1.2.1 DNA 定量分析采用武汉呵尔全自动细胞肿瘤筛查分析系统,通过全自动扫描系统对宫颈脱落细胞进行 DNA 定量分析。DNA 指数(DI) = 被测细胞 DNA IOD 值/正常细胞 DNA (G_0/G_1) IOD 平均值。DI:0.8~1.2(2 倍体细胞即 2C 细胞)为正常。DI:1.2~1.8(出现非整倍体细胞);DI:1.8~2.2(4 倍体细胞即 4C 细胞);DI:2.2~2.5(非整倍体细胞);DI $\geq$ 2.5(异倍体细胞即 5C 细胞)。出现以下三种情况之一诊断为 DNA 倍体异常:非整倍体细胞或 4 倍体细胞增生 $\geq$ 10%;出现 DI $\geq$ 2.5 的细胞;出现非整倍体细胞峰。

1.2.2 HPV-DNA 检测 采用深圳港龙生物技术有限公司的 HPV-DNA-PCR 荧光检测试剂盒,可检测出 13 种高危型 HPV-DNA(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68)。将参考值设置为 Ct 值 = 37, Ct 值 $<$ 37 判断为高危型 HPV-DNA 阳性。

1.2.3 阴道镜检查 采用深圳金科威公司的 SLC-2000B 电子阴道镜检查。阴道镜显示异常图像的标准按 1990 年第 7 次国际宫颈病理及阴道镜会议统

一的新分类和标准,并按 Reid 评分标准进行评分。阴道镜检查评分 0 分者,常规 3、6、9、12 点活检;阴道镜检查评分 1 分以上,于阳性区定位活检。阴道镜操作均由宫颈中心主治医师以上人员进行。

1.3 统计学方法

采用 SAS 9.0 软件进行统计分析,计量资料结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 阴道镜活检病理检查结果

炎症 204 例(62.39%), CIN I 70 例(21.41%), CIN II 13 例(3.98%), CIN III 30 例(9.17%), 宫颈癌 10 例(3.05%)。DNA 定量分析检查共计 193 例,高危型 HPV-DNA 检测共计 134 例,DNA 定量分析异常和高危型 HPV-DNA 阳性两组与阴道镜活检病理检查结果之间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.065, P = 0.1507$),而 DNA 定量分析和高危型 HPV-DNA 两组均为阴性者与阴道镜活检病理检查结果比较分析差异有统计学意义($\chi^2 = 4.0199, P = 0.045$)。DNA 定量分析阳性组和阴性组 CIN 的检出率间差异有统计学意义($\chi^2 = 61.6708, P < 0.0001$)。高危型 HPV-DNA 阳性组和阴性组 CIN 的检出率间差异也有统计学意义($\chi^2 = 14.2882, P = 0.0002$)。DNA 定量分析预测 CIN II 及以上的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别 96.88% (31/32)、57.76% (93/161)、31.31% (31/99)、98.93% (93/94)。HPV-DNA 检测预测 CIN II 及以上的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值 90.47% (19/21)、31.85% (36/113)、19.79% (19/96)、94.74% (36/38),见表 1。

2.2 每 100 个被测细胞中 5c 细胞不同百分比比较 $< 0.1\%$ 和 $\geq 0.1\%$ 的阴道镜活检结果差异有统计学意义($\chi^2 = 13.9654, P = 0.0002$)。其中 5c $< 0.1\%$ 的鳞癌、腺癌各 1 例, 5c $\geq 0.1\%$ 的鳞癌 3 例、腺癌 4 例,见表 2。

DNA 异倍体细胞个数 < 3 和 ≥ 3 的阴道镜活检结果差异有统计学意义($\chi^2 = 9.1718, P = 0.0025$)。 ≥ 3 个 DNA 异倍体预测 CIN II 及以上病理改变,其敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为 80.64%、47.06%、40.99%、84.21%,见表 3。

3 讨论

宫颈液基细胞学检查是宫颈病变首选的初筛方法,当其诊断结果为未明确诊断意义的不典型鳞状上皮细胞(ASCUS)时,对其的处理让临床医生非常

表 1 DNA 定量分析和 HPV-DNA 检测的阴道镜活检结果比较

Table 1 The comparision of pathologic diagnosis by colposcopy directed biopsy between DNA quantitative cytology and High-risk HPV-DNA test

Groups	Results	n	Pathologic diagnosis[n = 327,n(%)]				
			Chronic cervicitis	CIN I	CIN II	CIN III	Cervix cancer
DNA pathologic diagnosis(n = 193)	+	99	41(41. 42)	27(27. 27)	5(5. 05)	17(17. 17)	9(9. 09)
	-	94	89(94. 68)	4 (4. 26)	0	1 (1. 06)	0
HPV-DNA (n = 134)	+	96	43(34. 79)	34(35. 42)	7(7. 29)	11(11. 46)	1(1. 04)
	-	38	31(81. 58)	5(13. 16)	1(2. 63)	1 (2. 63)	0

Note:of the 327 ASCUS cases, 204 cases were histologically diagnosed as inflammation (62. 39%), 70 cases were CIN I (21. 41%), 13 cases were CIN II (3. 98%), 30 cases were CIN III (9. 17%), and 10 cases were cervical invasive cancer (3. 05%). The histological deagnosis were no statistical distinction between HR-HPV-DNA and DNA quantitative cytology groups. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of DNA quantitative cytology negative, (DNA ploid>3) and high-risk HPV test in screening CIN II or sever lesions were respectively 96. 88%(31/32) and 90. 47%(19/21), 57. 76%(93/161) and 31. 85%(36/113), 31. 31%(31/99) and 19. 79%(19/96), 98. 93%(93/94) and 94. 74%(36/38)

表 2 每 100 个被测细胞数中 5c 的不同百分比阴道镜活检结果比较

Table 2 The comparasion of pathologic diagnosis in the different percentage of DNA amount greater than 5c (DNA Index> 2. 5) cells

Percentage of 5c cells(%)	Pathologic diagnosis[n = 99,n(%)]				
	Chronic cervicitis	CIN I	CIN II	CIN III	Cervix cancer
<0. 1(n = 43)	26(60. 47)	11(25. 58)	2(4. 65)	2(4. 65)	2(4. 65)
≥0. 1(n = 56)	15(26. 78)	16(28. 58)	3(5. 36)	15(26. 78)	7(12. 50)

Note; compared with the percentage of DNA amount great than 5c (DNA Index>2. 5) cells, the histological diagnosis were significant differences between <0. 1% and ≥0. 1% ($\chi^2 = 13. 9654, P = 0. 0002$)

表 3 DNA 异倍体细胞个数在不同级别宫颈病变中的比较

Table 3 Comparison of DNA heteroploid quantities between different levels of cervical lesions

Percentage of 5c cells(%)	Pathologic diagnosis[n = 99,n(%)]				
	Chronic cervicitis	CIN I	CIN II	CIN III	Cervix cancer
1 - 2(n = 38)	21(55. 26)	11(28. 94)	3(7. 90)	3(7. 90)	0
≥3(n = 61)	20(32. 79)	16(26. 23)	2(3. 28)	14(22. 95)	9(14. 75)

Note; when DNA heteroploid is more than or equal to three are used to predice CIN II or more severe pathological changes, and its sensitivity, specificity, positive predictive values and negative predictive values was 80. 64%(25/31), 47. 06%(32/68), 40. 99%(25/61), 84. 21%(32/38), respectively

困惑。ASCUS 行阴道镜活检, 结果相差巨大, 可能是正常的宫颈, 也可能是早期宫颈癌。2012 年 NC-CN 宫颈癌筛查指南中指出: ASCUS 有 3 种处理方式^[2]: (1) 高危型 HPV-DNA 检测, 阳性者行阴道镜检查, 阴性者按常规行细胞学筛查。(2) 6 月后复查细胞学, 阴性者按常规行细胞学筛查, ASCUS 行阴道镜活检。(3) 直接阴道镜检查。

本研究中 ASCUS 患者阴道镜活检病理结果显示, 慢性宫颈炎占 62. 39%, CIN I 占 21. 41%, CIN II 占 3. 98%, CIN III 占 9. 17%, 宫颈癌占 3. 05%。刘

霞等^[3]研究显示, ASCUS 中, 炎症占 41. 02%, CIN I 级占 29. 39%, CIN II / III 级占 23. 27%, 宫颈癌占 6. 33%, 所以, ASCUS 4~6 月随访可能会漏诊一些高度上皮内瘤变甚至宫颈癌。

本研究显示, 高危型 HPV-DNA 阴性 38 例中仅 1 例活检为 CIN II, HPV-DNA 预测 CIN II 及以上的阴性预测值为 94. 74%, 与国外文献结果相似。Cox 等^[4]认为, 对 ASCUS 年轻患者检测 HPV-DNA 可以发现 90% 的 HSIL, HPV-DNA 高危型的 CIN II 和 CIN III 阴性预测可信度为 98%, 对于

HPV-DNA 阴性患者可 4~6 月后复查涂片,减少 50% 的阴道镜检查。

DNA 异倍体是肿瘤细胞形成过程中的一个生物标记,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。通过 DNA 定量分析系统对细胞核 DNA 含量与倍体状况进行测定和分析,是近十年来应用在恶性肿瘤诊断中的一种新方法。DNA 定量分析和其他方法相结合可以用于宫颈癌的早期筛查。

本研究中,ASCUS 患者 DNA 倍体异常者和 13 种高危型 HPV-DNA 阳性阴道镜活检结果差异无统计学意义,DNA 定量分析和 HPV-DNA 检测预测 CIN II 及以上的阴性预测值分别为 98.93% 和 94.74%,提示 DNA 定量分析和 13 种高危型 HPV-DNA 均可用于 ASCUS 的分流诊断。每 100 个被测细胞中 5c 细胞不同百分比比较, $<0.1\%$ 和 $\geq 0.1\%$ 的阴道镜活检结果差异有统计学意义,说明宫颈病变程度越重,宫颈细胞染色体结构发生变化,异倍体细胞出现,且数量增加,即 5c 细胞百分比增加。DNA 异倍体细胞个数 <3 和 ≥ 3 的阴道镜活检结果差异有统计学意义, ≥ 3 个 DNA 异倍体预测 CIN II 及以上病理改变,其敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为 80.64%、47.06%、40.99%、84.21%。DNA 定量分析可见异常细胞的 ASCUS 患者 99 例,其病检为 CIN 49 例(49.49%),宫颈癌 9 例(9.09%)。国内学者报道,ASCUS 伴有异倍体检测阳性者,其病检检出阳性率达到 58.6%,与本研究结果一致^[5]。故 ASCUS 伴有异倍体细胞者需行阴道镜活检病理检查,明确诊断,及时治疗,避免漏诊。DNA 定量未见倍体异常 94 例,仅 4 例 CIN I、1 例 CIN III, CIN II 及以上的阴性预测值为 98.93%,提示 ASCUS 患者中,DNA 定量分析未见异常细胞,患宫颈高度病变和宫颈癌的概率忽略不计,可以定期随访。

孙小蓉等^[6]报道宫颈液基细胞学和 DNA 定量分析可以用于宫颈癌的筛查,ASCUS 患者处理如下:DNA 定量分析正常,定期复查;1~2 个 $>5c$ 细

胞、4c 细胞 $>10\%$ 、多个 5c 细胞、多倍体均行阴道镜下活检。从本研究中也得出相同结论,DNA 定量分析可以用于宫颈癌的筛查和 ASCUS 的分流诊断。在液基细胞学筛查结果为 ASCUS, DNA 定量分析见异倍体细胞再行阴道镜活检,未见异倍体可以随访。

从本研究中得出结论,DNA 定量分析和高危型 HPV-DNA 检测可用于 ASCUS 的分流,但是 AU-CUS 患者行 DNA 定量分析,费用比 HPV-DNA 检测低廉,适合我国国情,是一种值得推广的 ASCUS 分流的方法。

参考文献:

[1] Montz FJ, Monk BJ, Fowler JM, *et al.* Natural history of the minimally abnormal Papanicolaou smear[J]. *Obstet Gynecol*, 1992, 80(3 Pt 1): 385-8.

[2] NCCN. Org. Cervical Cancer Screening version 2. 2012[S]. NCCN Clinical Practice Guidelines Oncology (NCCN Guidelines), 2012, 5: 10.

[3] Liu X, Huo YL, Zhang SL. Clinical significance and treatment of ASCUS diagnosed by cervical pathological examination[J]. *Zhongguo Fu You Bao Jian*, 2010, 25(13): 1750-2. [刘霞, 霍云龙, 张淑兰. 宫颈细胞学 ASCUS 诊断的临床意义及处理[J]. *中国妇幼保健*, 2010, 25(13): 1750-2.]

[4] Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, *et al.* Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1995, 172(3): 946-54.

[5] Sun XR, Wang J, Alfred Boecking. Diagnosing and prognostic use of DNA-Image-Cytometry in Cervical Squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2005, 34(7): 435-7. [孙小蓉, 汪键, Alfred Boecking. DNA 倍体分析系统用于宫颈癌及上皮内瘤变的诊断及预测[J]. *中华病理学杂志*, 2005, 34(7): 435-7.]

[6] Sun XR, Wang J. DNA quantitative cytology[M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 2006: 58. [孙小蓉, 汪键. DNA 定量细胞学的研究[M]. 武汉: 湖北科技出版社, 2006: 58.]

[编辑校对: 安 凤]