

· 临床论著 ·

高危型人乳头状瘤病毒检测在非典型鳞状细胞中的临床意义

孙笑非 顾依群 王军 汪颖南 钟萍萍 张晓波

【摘要】 目的 探讨高危型人乳头状瘤病毒(HR-HPV) DNA检测在液基细胞学诊断为ASC-US和ASC-H的两种非典型鳞状细胞(ASC)中的价值及意义。方法 收集细胞学诊断为ASC且有完整的HR-HPV DNA检测结果和组织病理学诊断结果的病例共1817例,并对其临床资料进行分析。结果 1691例ASC-US患者的组织病理学诊断结果显示, CIN2~3级占5.2% (88/1691); 浸润性癌占0.1% (2/1691); 126例ASC-H患者的组织病理学诊断结果显示, CIN2~3级占28.6% (36/126); 浸润性癌占3.2% (4/126)。ASC-US及ASC-H病例中HR-HPV检测对于CIN2级及以上病变的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为94.4%、31.9%、7.2%、99.0%和100%、43.0%、45.0%、100%。结论 ASC-US和ASC-H患者具有不同的临床结局。HPV DNA检测对ASC-US患者的分流管理具有重要临床意义,而ASC-H的患者均应进行阴道镜检查。

【关键词】 薄层液基细胞学; 二代基因杂交捕获; 宫颈上皮内瘤变

Clinical significance of HR-HPV detection in atypical squamous cells SUN Xiao-fei, GU Yi-qun, WANG Jun, WANG Ying-nan, ZHONG Ping-ping, ZHANG Xiao-bo. Department of Pathology, Haidian Maternal and Child Health Hospital, Beijing 100080, China

Corresponding author: GU Yi-qun, Email: gyqygyqy181818@163.com

【Abstract】 Objective To explore the value and significance of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) detection in atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) and atypical squamous cells (ASC), which cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H). **Methods** Total of 1817 cases with cytologic diagnosis as ASC were furtherly investigated by Hybrid Capture II (HC-II) test for high-risk HPV DNA and biopsy histopathological diagnosis. The results of the above were compared, respectively. **Results** Among 1691 cases with the cytologic diagnosis as ASC-US, the CIN II-III cases accounted 5.2% (88/1691) and invasive cervical carcinoma cases accounted 0.1% (2/1691). Among the 126 ASC-H cases, the CIN II-III cases accounted 28.6% (36/126) and invasive cervical carcinoma cases accounted 3.2% (4/126). Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of CIN2 level and above in cases with ASC-US and ASC-H by HR-HPV detection were 94.4%, 31.9%, 7.2%, 99.0% and 100%, 43.0%, 45.0% and 100%, respectively. **Conclusions** The clinical outcomes of patients with ASC-US and ASC-H are different. It is beneficial for managing the patients of ASC-US based on HPV detection, and colposcopy is proposed for all ASC-H patients.

【Key words】 Thinprep cytologic test (TCT); Second-generation hybrid capture; Cervical intraepithelial neoplasia

我国宫颈癌每年新发病例约13万^[1]。TBS (The Bethesda System) 诊断报告中非典型鳞状细胞(atypical squamous cell, ASC) 由于在诊断中特异性低、重复性较差成为公认的难点。2001年分级系统把ASC分为意义不明确的非典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) 和非典型性鳞状细胞-不排除高级别鳞状上皮内病变(atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial

lesion, ASC-H)。本研究通过对1817例ASC病例的HR-HPV检测结果以及病理结果进行分析总结,旨在深化理解并规范不同类型ASC的诊断标准,同时为临床医师解读不同类型ASC的诊断结果以及对此类患者的进一步处理及随访提供一定的依据。

资料与方法

一、临床资料

回顾性分析自2003年1月至2012年6月就诊于北京市海淀区妇幼保健院薄层液基细胞学(thinprep cytologic test, TCT)提示为ASC的患者,根据知情同

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.03.009

基金项目: 北京市海淀区科技项目 (No. K2008058)

作者单位: 100080 北京, 北京市海淀区妇幼保健院病理科

通讯作者: 顾依群, Email: gyqygyqy181818@163.com

意和自愿的原则筛选其中行HR-HPV DNA检测, 同时行阴道镜检查并进行宫颈活体确诊的患者共1817例, 其中ASC-US患者1691例, ASC-H患者126例。

二、方法

1. HR-HPV检测: 应用美国Digene公司生产的DML-2000基因杂交扩大仪, 检测13种高危型HPV, 包括HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59和68的DNA含量。以HPV DNA ≥ 1.0 pg/L定为检测阳性。

2. TCT检查: 采用美国新柏氏公司的薄层液基细胞制片机, 经旋涡震荡将宫颈外口及宫颈管的脱落细胞进入液基细胞保存液中, 经系统程序化处理制成直径为13 mm超薄涂片, 再经95%酒精固定, 人工巴氏染色, 封片后镜下观察。依据TBS分级系统(2001)诊断标准进行诊断。

3. 组织病理学: 电子阴道镜检查并进行宫颈活体组织检查, 病理切片均由至少两位高年资病理学诊断医师共同做出诊断结果。组织病理学诊断结果的报告形式为慢性宫颈炎、宫颈湿疣/CIN1级、CIN2级或CIN2~3级、浸润性癌。由于湿疣改变常合并CIN1级, 故本研究将二者合并为一类诊断。

三、统计学处理

应用Excel表录入数据, 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析, 以组织病理学诊断结果作为金标准, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验标准, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、一般资料

1817例ASC患者年龄19~72岁, 平均年龄(34.3 \pm 8.5)岁。其中ASC-US组患者1691例, 占93% (1691/1817), 平均年龄(34.2 \pm 8.5)岁; ASC-H组患者126例, 占6.9% (126/1817), 平均年龄(35.4 \pm 9.1)岁。

二、ASC患者的组织病理学诊断结果

ASC-US病例占ASC病例的93.0% (1691/1817), ASC-H病例占ASC病例的7.0% (126/1817)。1691例ASC-US患者中慢性宫颈炎者占73.5% (1243/1691); 湿疣/CIN1级者占21.2% (358/1691); CIN2~3级者占5.2% (88/1691); 浸润性癌者占0.1% (2/1691); 126例ASC-H组患者组织病理学诊断结果中, 慢性宫颈炎者占48.4% (61/126), 湿疣/CIN1级者占19.8% (25/126); CIN2~3级者占28.6% (36/126); 浸润性癌占3.2% (4/126); 慢性宫颈炎者占48.4% (61/126)。ASC-US与ASC-H两组的病理诊断级别构成比差异有统

计学意义($\chi^2 = 137.383, P = 0.000$), 见表1。

三、ASC-US的组织病理学诊断结果与HR-HPV的相关性

本研究1691例ASC-US组中HR-HPV阳性患者1175例, 包括浸润性癌1例、CIN2~3级者84例, CIN2级及以上病变的检出率为7.2% (85/1175); 而ASC-US组中HR-HPV阴性患者516例, 包括浸润性癌1例、CIN2~3级者4例, CIN2级及以上病变的检出率为0.1% (5/516)。ASC-US组中HR-HPV检测对于病理诊断为CIN2级及以上病变的检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 27.928, P = 0.000$), 见表2。

四、ASC-H的组织病理学诊断结果与HR-HPV的相关性

126例ASC-H组中HR-HPV阳性患者89例, 包括浸润性癌4例、CIN2~3级者36例, CIN2级及以上病变的检出率为45.0% (36/89); 而ASC-H组中HR-HPV阴性患者37例, 无浸润性癌及CIN2~3级的病例, CIN2级及以上病变的检出率为0% (0/37)。ASC-H组中HR-HPV检测对于病理诊断为CIN2级及以上病变的检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 24.364, P = 0.000$), 见表3。

五、HR-HPV检测对ASC患者CIN2级及以上病变的敏感性、特异性、阳性和阴性预测值

本研究1691例ASC-US病例中HR-HPV检测对于CIN2级及以上病变的灵敏度、特异度、假阴性率、假阳性率、阳性预测值和阴性预测值分别为94.4%、31.9%、5.6%、68.1%、7.2%和99.0%; 126例ASC-H病例中HR-HPV检测对于CIN2级及以上病变的灵敏度、特异度、假阴性率、假阳性率、阳性预测值和阴性预测值分别为100.0%、43.0%、0.0%、60.0%、45.0%和100.0%, 见表4。

讨 论

2001版TBS分级系统将ASC细胞定义为提示鳞状上皮细胞的异型性改变, 但是在质量上和数量上不足以作出明确诊断, 并将其细化为ASC-US和ASC-H两种类型。ASC-US细胞的形态特点为细胞核增大至正常中层细胞核的2.5~3倍, 出现核质比轻度增高, 核染色质轻度加深, 分布尚均匀, 并可出现细胞核异常或伴有胞浆的强嗜橘黄色改变; 此为对存在病变的危险提示, 而非对不正常细胞的明确诊断^[2]; ASC-H细胞的形态特点是细胞核为正常中层细胞核的1.5~2.5倍, 分为不成熟化生型及拥挤成片型两种类型, 细胞核染色深呈粗颗粒状, 核质比增加, 类似于HSIL, 故与ASC-US不同的是ASC-H诊断提示存在更严重的病变, 当不能分辨是HSIL还是癌的时候, 判读为ASC-H更为恰当。

表1 TCT诊断与组织病理学诊断结果 [例 (%)]

TCT诊断	病理诊断				合计
	慢性宫颈炎	湿疣/CIN1	CIN2~3	浸润癌	
ASC-US	1243 (73.5)	358 (21.2)	88 (5.2)	2 (0.1)	1691
ASC-H	61 (48.4)	25 (19.8)	36 (28.6)	4 (3.2)	126
合计	1304	383	124	6	1817

注: $\chi^2 = 137.383$, $P = 0.000$

表2 1691例ASC-US的组织病理学诊断结果与HR-HPV的相关性 [例 (%)]

HR-HPV	组织病理学诊断				合计
	浸润癌	CIN2~3	湿疣/CIN1	慢性宫颈炎	
阳性	1 (0.1)	84 (7.1)	319 (27.1)	771 (65.6)	1175
阴性	1 (0.2)	4 (0.8)	39 (7.6)	472 (91.5)	516
合计	2	88	358	1243	1691

注: $\chi^2 = 27.928$, $P = 0.000$

表3 126例ASC-H的组织病理学诊断结果与HR-HPV的相关性 [例 (%)]

HR-HPV	组织病理学诊断				合计
	浸润癌	CIN2-3	湿疣/CIN1	慢性宫颈炎	
阳性	4 (4.5)	36 (40.4)	22 (24.7)	27 (30.3)	89
阴性	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (8.1)	34 (91.9)	37
合计	4	36	25	61	126

注: $\chi^2 = 24.364$, $P = 0.000$

表4 HR-HPV检测对ASC患者CIN2级及以上病变的评价指标 (%)

HR-HPV	敏感度	特异度	假阴性率	假阳性率	阳性预测值	阴性预测值
ASC-US	94.4	31.9	5.6	68.1	7.2	99.0
ASC-H	100.0	43.0	0.0	60.0	45.0	100.0

漏诊ASC-H常导致高度鳞状上皮内病变 (high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 甚至癌症的发生。

有文献报道显示ASC-US病例中包含约10%~60%的鳞状上皮内病变^[3], 同时, ASC-US病例中5%~10%为潜在的HSIL病例, 应立即治疗^[4-5]; 另外, 约1/1000的ASC-US病例可进一步发展为宫颈浸润癌^[6]。本研究结果与上述文献报道一致。本研究中ASC-H组中病理确诊的CIN2~3级者显著高于ASC-US组, 与文献报道类似, 文献中ASC-H中HSIL比例高于ASCUS中HSIL比例, 常达30%~60%^[7]。提示ASC-US和ASC-H具有截然不同的临床结局, ASC-US的诊断中绝大多数为良性反应性改变, 存在于该类诊断中CIN2级及以上病变所占比例明显低于ASC-H。而细胞学诊断为ASC-H的病例应提示此类诊断更倾向于宫颈高度病变, 存在于该类诊断中的CIN2级及以上病变的检出率显著提高, 甚至还存在小部分浸润性癌的病例, 该类诊断更应引起临床妇产科医师的高度重视。

HR-HPV检测在ASC诊断中的作用至关重要, 本研究结果显示ASC-H对CIN2~3级的检出率显著高于ASC-US组, 且全部为HR-HPV阳性患者。HR-

HPV阳性病例中ASC-H组CIN2级及以上病变的检出率为45.0% (40/89), 显著高于ASC-US组的7.2% (85/1175)。比较HR-HPV检测在ASC-US和ASC-H组病例中CIN2级及以上病变的灵敏度、特异度、假阴性率、假阳性率、阳性预测值和阴性预测值, 结果显示HR-HPV检测显著提高ASC病例中宫颈CIN2级及以上病变的灵敏度和阴性预测值, 尤其是在ASC-H组中灵敏度和阴性预测值均达到100%, 提示HR-HPV检测对CIN2级及以上病变ASC-H组比ASC-US组有更高的灵敏度及阴性预测值。HR-HPV检测结果阴性为ASC病例, 尤其是ASC-H病例中CIN2级及以上病变阴性的预测指标, 这些患者患CIN2级及以上病变的风险非常低^[8]。HR-HPV检测结果中ASC-H组中阳性预测值高于ASC-US, 却低于明确诊断为HSIL的病例^[9]。且ASC-H组中假阴性率明显下降, HR-HPV检测可将ASC-US病例中CIN2级及以上病变的假阴性率降低至5.6%, 与文献中报道的能将CIN2及以上病变的漏诊风险降到最低相近^[10-11]。本研究中ASC-H组中假阴性率降至0%。

因此, 对于ASC-H病例的进一步处理以及随访均应与ASC-US病例不同。HR-HPV可以作为ASC-US进

一步处理的分流指标。依据2011年美国NCCN宫颈癌筛查指南中关于ASC-US的3种处理,即①直接阴道镜检查。②1年内每6个月重复1次宫颈细胞学检查,若结果 \geq ASC-US,则行阴道镜检查;若结果正常,6月后重复细胞学检查。③HPV检测,结果阳性即做阴道镜检查,结果阴性12个月后再重复细胞学检查。ASC-US患者行HR-HPV检测能够快速分出宫颈癌前病变和宫颈癌的高危人群,故HR-HPV阳性患者应行阴道镜检查,必要时阴道镜下取宫颈组织活检;HR-HPV阴性患者则不必行阴道镜检查,随访即可。本研究ASC-US病例中HR-HPV阴性患者经病理金标准确诊后仍存有一定数量的CIN级病变,不容忽视。所以,即使ASC-US患者检测的HR-HPV结果为阴性,仍需密切观察,一旦出现HR-HPV结果为阳性,应行阴道镜检查并且必要时取活体组织做病理检查。然而,由于ASC-H的诊断存在较大比例的CIN2级及以上病例,故其提示更倾向于宫颈高度病变,故ASC-H的处理应更积极,2011年美国NCCN宫颈癌筛查指南及异常结果处理中ASC-H的处理首选阴道镜检查。结合本院具体情况,实际工作中可能会遇到病理学诊断结果并无异常,这就需要医者再次复习细胞学诊断、阴道镜检查及组织病理学的诊断,必要时进行宫颈管搔刮术(endocervical curettage, ECC)检查。但是由于ECC标本取材有限,送检组织量少,所以在病理诊断中存在一定的局限性。本研究复诊病例中宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)仅存在个别腺体或局灶区域,还有个别病例是深切蜡块才找到局灶累腺的情况,所以对待此类病例,无论从取材还是阅片均应格外认真,尽量避免漏诊的发生。

本研究ASC-US组和ASC-H组患者中阴性病例分别为73.5%和48.4%,假阳性率即误诊率分别高达68.1%和60.0%。提示ASC病例中经病理金标准证实存在较大比例的阴性病例,即存在较高的假阳性率。分析原因可能与细胞学诊断医师对于ASC诊断标准的掌握不严格,将一些反应性改变的细胞如炎症反应、退变、化生细胞以及修复细胞等良性细胞误判为有病变的细胞。如何提高ASC病例的诊断准确率,降低假阳性率成为ASC诊断的重点。细胞病理学质量控制在其中的作用是不容忽视的,结合本院对细胞病理质控的实际工作,有以下重要几点:①规范细胞病理学的制度及流程。②开展全员质量教育活动,定期参加细胞诊断的讲座以及全市读片会,有计划的组织细胞诊断

医师定期进修。③严把质量控制关,每月进行一次质量管理会议,包括细胞学诊断与病理诊断的符合情况,细胞学阳性涂片与高危型HPV阳性一致性的比较,病理切片与液基细胞学制片质量讨论,每年进行一次全年细胞学诊断与病理诊断符合率的质量管理汇总会议,总结不足之处,并根据质量检查结果及时进行整改。④技术组每月对切片质量的抽查,按标准评定优良率,对不满意的切片查找原因并加以改进;对实验室试剂的使用情况及实验结果进行总结,发现问题后及时进行整改。

总之,ASC-US和ASC-H虽同属非典型鳞状细胞,但具有截然不同的诊断标准和临床结局,应严格加以区分,以明确临床的进一步处理以及随访。从而在保证高风险患者得到及时、准确诊治的同时,最大程度地避免对患者的过度诊断以及过度治疗。

参 考 文 献

- 1 Pankin DM, Pisan IP, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers. *Int Cancer*,2007,80(6):827-841.
- 2 梅平,刘艳辉,李旻,等. 高危型人乳头状瘤病毒检测在不除外高度鳞状上皮内病变的不典型鳞状上皮细胞中的意义. *中华病理学杂志*,2009,38(5):337-339.
- 3 Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal papanicolaou results. *JAMA*,1999,281(17):1605-1610.
- 4 Sherman ME, Tabbara SO, Scott DR, et al. "ASCUS, rule out HSIL": cytologic features, histologic correlates, and human papillomavirus detection. *Mod Pathol*,1999,12(4):335-342.
- 5 马博文,郭云泉,马丽骊,等. 液基薄层细胞学技术对宫颈上皮细胞异常筛查作用的研究. *中华病理学杂志*,2004,33(3):287-290.
- 6 Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*,2002,287(16):2114-2119.
- 7 Lee SJ, Jung KL, Lee JW, et al. Analyses of atypical squamous cells refined by the 2001 Bethesda System: the distribution and clinical significance of follow-up management. *Int J Gynecol Cancer*,2006,16(2):664-669.
- 8 Bandyopadhyay S, Austin RM, Dabbs D, et al. Adjunctive human papillomavirus DNA testing is a useful option in some clinical settings for disease risk assessment and triage of females with ASC-H papanicolaou test results. *Arch Pathol Lab Med*,2008,132(12):1874-1881.
- 9 毕蕙,赵健,李克敏,等. HPV-DNA分型检测在不同类型的ASC中的意义. *中华实验和临床病毒学杂志*,2009,23(4):296-298.
- 10 Lin CT, Tseng CJ, Lai CH, et al. High-risk HPV DNA detection by Hybrid Capture II: an adjunctive test for mildly abnormal cytologic smears in women \geq or = 50 years of age. *J Report Med*,2000,45(4):345-350.
- 11 Shlay JC, Dunn T, Byers T, et al. Prediction of cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 using risk assessment and human papillomavirus testing in women with atypia on papanicolaou smears. *Obstet Gynecol*,2000,96(3):410-416.

(收稿日期: 2012-12-27)

(本文编辑: 孙荣华)