

• 临床论著 •

高危型人乳头瘤病毒以及病毒载量检测在诊断宫颈上皮内瘤变 II 级及以上病变中的应用

游珂 耿力* 郭艳利 乔杰 沈晓野 姚燕君 范晓红 司胜丹 白丽

(北京大学第三医院妇产科,北京 100083)

【摘要】 目的 探讨高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papillomavirus, Hr-HPV)在液基细胞学异常患者中对宫颈上皮瘤变 II 级(cervical intraepithelial neoplasia, CIN II)及以上病变(CIN III、宫颈癌)的辅助诊断作用。方法 选择 2179 例宫颈液基细胞学异常并行 Hr-HPV 检测以及阴道镜检查加宫颈活检的患者进行回顾性分析,统计采用 χ^2 检验,并行单因素 Logistic 回归分析。不能明确意义的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells undetermined significance, ASC-US)占 46.5% (1013/2179),不除外高度上皮内瘤变的不典型鳞状细胞(atypical squamous cell which cannot exclude high grade squamous intraepithelial lesion, ASC-H) 4.1% (89/2179),低度鳞状上皮内病变(low squamous intraepithelial lesion, LSIL) 34.7% (757/2179),高度鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)及以上占 11.6% (253/2179),非典型腺细胞(atypical gland cells, AGC) 3.1% (67/2179)。结果 经阴道镜下宫颈活检病理诊断 CIN II 10.3% (224/2179), CIN III 6.4% (140/2179),鳞癌 1.2% (27/2179),腺癌 0.4% (9/2179),其余 81.6% (1779/2179)为宫颈低度病变(包括 CIN I 与湿疣)或慢性宫颈炎。在各种细胞学中,高危型 HPV 阳性时检出 CIN II 及以上病变的机会增加,在 ASC-US、ASC-H、LSIL、 \geq HSIL 中,差异有显著性。当 Hr-HPV 病毒负电荷量在 0~0.9、1.0~9.9、10.0~99.9、100.0~999.9、 \geq 1000.0 时, CIN II 及以上病变占 2.2% (13/588)、9.7% (21/216)、24.9% (97/389)、29.8% (182/611)、23.2% (87/375)。将 HPV 载量做 10 的对数转化行 Logistic 回归检验, HPV 载量每增加一个对数单位, CIN II 及以上病变的机会增加 1.325 倍。结论 在宫颈细胞学异常的患者中检测 Hr-HPV 能辅助诊断 CIN II 及以上病变。

【关键词】 宫颈细胞学; 宫颈病变; 高危型 HPV 人乳头瘤病毒
 中图分类号: R737.33; R730.261 文献标识: A 文章编号: 1009-6604(2007)11-1096-03

High-risk Human Papillomavirus and the Detection of Viral Load in the Diagnosis of CIN II and III or Cervical Cancer You Ke, Geng Li, Guo Yanli, et al. Department of Gynaecology and Obstetrics, Peking University Third Hospital, Beijing 100083, China

【Abstract】 Objective To explore the role of high-risk human papillomavirus (Hr-HPV) DNA testing in the detection of cervical intraepithelial lesions (CIN) II and III, or cervical cancers for patients with abnormal cervical cytology. **Methods** A total of 2197 patients with abnormal cervical liquid-based cytology, who had received Hr-HPV detection and colposcopy, were enrolled into this study. The data were analyzed using χ^2 -test and Logistic regression. Among the patients, 1013 (46.5%) had atypical squamous cells undetermined significance (ASC-US), 89 (4.1%) had atypical squamous cell which cannot exclude high grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H), 757 (34.7%) low squamous intraepithelial lesion (LSIL), 253 (11.6%) high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), and 67 (3.1%) atypical gland cells (AGC). **Results** Pathological examination showed CIN II in 224 patients (10.3%), CIN III in 140 (6.4%), cervical cancer in 27 (1.2%), and adenocarcinoma in 9 (0.4%). The other patients (1779/2179, 81.6%) had CIN I, condyloma, or chronic cervicitis. The detection rate of CIN II and III, and cervical cancer was increased in the patients with Hr-HPV. The differences in the rate among ASC-US, ASC-H, LSIL, and HSIL patients were significant. The incidence rate of CIN II and III, or cervical cancer was 2.2% (13/588), 9.7% (21/216), 24.9% (97/389), 29.8% (182/611), and 23.2% (87/375) for the patients with a Hr-HPV load of 0-0.9, 1.0-9.9, 10.0-99.9, 100.0-999.9, and \geq 1000.0. Logistic regression showed that the risk of CIN II and III, and cervical cancer increased by 1.325 folds with the log of the HPV load. **Conclusions** Hr-HPV DNA test is helpful for the detection of CIN II and III or cervical cancer in patients with abnormal cervical cytology.

【Key Words】 Cervical cytology; Cervical neoplasia; High-risk human papillomavirus

在世界范围内,因宫颈癌导致的女性死亡仅次于乳腺癌。全世界每年的新发病例数约 466 000 例,我国占其中 1/3。近年宫颈癌的发病呈上升趋势

势以及年轻化趋势^[1,2]。高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papillomavirus, Hr-HPV)被认为是宫颈癌的明确病因,感染时可导致宫颈上皮瘤变

* 通讯作者

(cervical intraepithelial neoplasia, CIN), CIN II 及 III 级是宫颈癌的癌前病变。宫颈涂片被广泛用于筛查癌前病变和宫颈癌以及治疗后的随访, Hr-HPV 的检测也成为辅助诊断手段^[3,4]。阴道镜指导下宫颈活检获得病理诊断是诊断的金标准。本文对我院 2004 年 10 月 2006 年 ~12 月 2179 例宫颈病变门诊首次因细胞学异常就诊并行 Hr-HPV 检测以及阴道镜下宫颈活检的患者进行分析, 探讨 Hr-HPV 感染与宫颈活检病理诊断 CIN II 及以上病变的关系。

1 临床资料与方法

1.1 一般资料

本组 2179 例, 平均年龄 38.3 (18 ~ 73) 岁, 平均产次 0.8 (0 ~ 10) 次。宫颈刮片采用液基薄片技术和 Bethesda 诊断系统 (the Bethesda System, TBS)^[5]。细胞学报告中, 不能明确意义的不典型鳞状细胞 (atypical squamous cells undetermined significance, ASC-US) 占 46.5% (1013/2179), 不排除高度上皮内瘤变的不典型鳞状细胞 (atypical squamous cell which cannot exclude high grade squamous intraepithelial lesion, ASC-H) 4.1% (89/2179), 低度鳞状上皮内病变 (low squamous intraepithelial lesion, LSIL) 34.7% (757/2179), 高度鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 及以上占 11.6% (253/2179), 非典型腺细胞 (atypical gland cells, AGC) 3.1% (67/2179)。

1.2 方法

全部患者均行 Hr-HPV 检测及阴道镜指导下宫颈活检, 获得组织病理学诊断。Hr-HPV 检测采用 HPV DNA 杂交捕获 II 代试验 (hybrid capture II, HC-II) 和高危型 HPV DNA 的试剂盒 (美国 Digence 公司), 可同时检测 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 亚型共 13 种 HPV 病毒亚型。其结果以标本的相对荧光光度值 (relative light unit, RLU) 与阳性定标的域值 (cut off, CO) 的比值表示, RLU/CO ≥ 1.0 为阳性, 相当于标本中检出的 DNA 负荷量 ≥ 1.0 pg/ml, 反之 RLU/CO < 1.0 为阴性。

1.3 统计分析

利用 SPSS12.0 软件包, 差异显著性分析采用 χ^2 检验, 对 Hr-HPV 的载量与是否检出 CIN II 及以上病变进行 Logistic 回归检验, 显著性差异界值为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 细胞学异常与 CIN II 及以上病变的检出

宫颈活检病理诊断 CIN II 10.3% (224/2179), CIN III 6.4% (140/2179), 鳞癌 1.2% (27/2179), 腺癌 0.4% (9/2179), 其余 81.6% (1779/2179) 为宫颈低度病变 (CINI 与湿疣) 或慢性宫颈炎。ASC-US、ASC-H、LSIL、HSIL 以及可疑癌/癌、AGC 各组中检出 CIN II 及以上病变的机会分别是 10.7%

(108/1013), 19.1% (17/89), 14.7% (111/757)、62.5% (158/253)、9.0% (6/67)。

2.2 Hr-HPV 与 CIN II 及以上病变的检出

在异常宫颈细胞学中, Hr-HPV 的阳性率分别是 ASC-US 63.2% (640/1013), ASC-H 49.4% (44/89), LSIL 85.9% (650/757), HSIL 以及可疑癌/癌 93.3% (236/253), AGC 31.3% (21/67)。伴随 Hr-HPV 感染时, 组织学诊断为 CIN II 及以上病变机会增加, 见表 1。对各组分别进行 χ^2 检验。在宫颈细胞学报告为 ASC-US、ASC-H、LSIL、≥ HSIL 伴随 Hr-HPV 感染时, CIN II 及以上病变的机会较未感染的患者增加, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。

如果 Hr-HPV 为阴性, 细胞学为 ASC-US、ASC-H 或 LSIL 时诊断为 CIN II 及以上病变的机会分别为 1.3%, 2.2%, 0.9%, 低于 ≥ HSIL 组 (23.5%)。AGC 组尚需增加样本数量进行分析。

表 1 Hr-HPV 与宫颈活检 CIN 分级的关系

细胞学	组织学病理		合计	χ^2 值	P 值
	≥ CIN II n (%)	< CIN II n (%)			
ASC-US			1013	53.852	0.000
HPV +	103 (16.1)	537 (83.9)			
HPV -	5 (1.3)	368 (98.7)			
ASC-H			89	16.782	0.000
HPV +	16 (36.4)	28 (63.6)			
HPV -	1 (2.2)	44 (97.8)			
LSIL			757	18.770	0.000
HPV +	110 (16.9)	540 (83.1)			
HPV -	1 (0.9)	106 (99.1)			
≥ HSIL			253	11.773	0.000
HPV +	154 (65.3)	82 (34.7)			
HPV -	4 (23.5)	13 (76.5)			
AGC*			67	2.231	0.135
HPV +	4 (19.0)	17 (81.0)			
HPV -	2 (4.3)	44 (95.7)			

* AGC 采用 Continuity Correction

2.3 Hr-HPV 负荷量与病理结果的关系

在宫颈细胞学异常的患者中, 检出 CIN II 及以上病变的机会与是否伴随 Hr-HPV 感染有关, 与病毒载量相关, 见表 2。

表 2 Hr-HPV 的负荷量与检出 CIN II 及以上病变的机会

Hr-HPV 负荷量	组织学病理	
	< CIN II (%)	≥ CIN II (%)
0 ~ 0.9	97.8 (575/588)	2.2 (13/588)
1.0 ~ 9.9	90.3 (195/216)	9.7 (21/216)
10.0 ~ 99.9	75.1 (292/389)	24.9 (97/389)
100.0 ~ 999.9	70.2 (429/611)	29.8 (182/611)
≥ 1000.0	76.8 (288/375)	23.2 (87/375)

对 Hr-HPV 载量进行 10 的对数转换, 以此为自

变量,是否检出 CIN II 及以上病变为因变量,进行 Logistic 检验,建立回归模型如下:

$$\text{logit}(Y) = -1.765 + 0.282\lg X$$

OR 值为 1.325,即 Hr-HPV 每增加一个对数单位,检出 CIN II 及以上病变的机会增加 1.325 倍,95% 可信区间 1.160 ~ 1.514。

3 讨论

宫颈癌的发病及进展经历了一个长期过程,有效的筛查及恰当的治疗完全有可能将其阻断在癌前病变或早期癌阶段。我院宫颈细胞病理诊断中心每年接受门诊以及常规查体标本约 2 万余张,其中异常检出率约为 9%。虽然由于宫颈细胞学的使用已经大大降低了宫颈癌的死亡率,但是细胞学诊断由于取样与读片的种种影响,存在一定的假阴性率和假阳性率。

异常的细胞学包括鳞状上皮细胞的异常(ASC-US、ASC-H、LSIL、HSIL)与腺上皮的异常。在各种异常细胞学中均有 CIN II 及以上病变的可能,但是几率不同。正确地处理意味着:①能及早发现宫颈癌前病变,避免或降低漏诊;②避免过度治疗;③节省医疗费用。

在异常涂片中,ASC-US 组检出高度病变机会较小,美国阴道镜宫颈病理学会(American Society for Colposcopy and Cervical Pathology,ASCCP)建议可以选择:①重复细胞学检查;②立即阴道镜检查;③高危型 HPV 检测分流管理(即对阳性者立即行阴道镜检查,对于阴性患者无临床症状者可随访)^[6]。这三种方法中,立即阴道镜检查可能存在过度诊断;而细胞学随访又可能漏诊 CIN 病变,并且面临失追踪率高的困境^[7]。为了解这三种方法的效价比,对 ASC-US、LSIL 两类患者进行多中心临床试验,即 ALTS 试验(the Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study)。经大样本长期随访表明,Hr-HPV 分流管理效价比高^[8],避免过多的阴道镜检查,节省医疗资源,同时还将 CIN II 及以上病变的漏诊机会降到最低^[9,10]。我们的资料显示,ASC-US 中,Hr-HPV 阴性组与阳性组中 CIN II 及以上病变检出的机会分别是 1.3% 和 16.1%。对细胞学异常者行高危型 HPV 检测能够迅速划分出 CIN II 及以上病变的高风险人群,不受主观因素影响,可以用于临床辅助诊断宫颈病变。

ALTS 试验同时还分析了 Hr-HPV 对 LSIL 的分流管理作用。由于大量数据显示这组患者中 Hr-HPV 的感染率超过了 80%,ASCCP 不建议用其对这组患者进行分流管理意义。尽管如此,由于 Hr-HPV 阴性时 CIN II 及以上病变的机会低,有一些学者建议没有高危因素的患者进行细胞学随访。感染者的 Hr-HPV 病毒载量亦可帮助临床医生评估风险。

ASC-H 约占全部细胞学检查的 0.2%。细胞学

特征包括有组织碎片、非典型未成熟化生细胞、非典型成熟化生细胞、非典型小细胞和非典型修复细胞。细胞具有部分高度病变的特征,也可以是萎缩或者化疗等影响。这一组患者诊断为 CIN II 及以上病变的机会高于 ASC-US 但是低于 HSIL,ASCCP 推荐立即阴道镜检查。伴随 Hr-HPV 感染以及病毒载量的增加可以提示病变机会增加。

细胞学报告为 HSIL 时,CIN II 及以上病变的机会超过 50%,因此 ASCCP 推荐立即阴道镜检查。

细胞学报告为腺细胞异常(AGC)时,Hr-HPV 阳性率明显低于其他组,但是这组患者中,内膜病变以及 CIN II 及以上病变机会高,应立即进一步检查(阴道镜、诊断性刮宫)。

在宫颈细胞学异常的患者中,联合应用 Hr-HPV 检测,有助于诊断 CIN II 及以上病变,指导临床正确处理,个体化处理^[11]。

参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*, 2001, 94: 153 - 156.
- 2 Siemens FC, Boon ME, Kuypers JC, et al. Population-based cervical screening with a 5-year interval in the Netherlands. Stabilization of the incidence of squamous cell carcinoma and its precursor lesions in the screened population. *Acta Cytol*, 2004, 48(3): 348 - 354.
- 3 Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 1999, 189(1): 12 - 19.
- 4 张洁文, 王建捷, 蔺 莉, 等. 高频电波刀电圈切除术治疗宫颈高危型人乳头瘤病毒感染的效果. *中国微创外科杂志*, 2007, 7(3): 225 - 227.
- 5 Solomon D, Schiffman M, Taroner R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93: 293 - 299.
- 6 Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, et al. 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA*, 2002, 287: 2120 - 2129.
- 7 Lonky NM, Sadeghi M, Tsadik GW, et al. The clinical significance of the poor correlation of cervical dysplasia and cervical malignancy with referral cytologic results. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181(3): 560 - 560.
- 8 Kulasingam SL, Kim JJ, Lawrence WF, et al. Cost-effectiveness analysis based on the Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *J Low Geni Tract Dis*, 2006, 10(3): 211 - 212.
- 9 Shlay J C, 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: 410 - 416.
- 10 You K, Liang X, Qin F, et al. High-risk human papillomavirus DNA testing and high-grade cervical intraepithelial lesions. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2007, 47(2): 141 - 144.
- 11 Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA*, 2001, 285(11): 1500 - 1505.

(收稿日期: 2007 - 06 - 18)

(修回日期: 2007 - 09 - 06)

(责任编辑: 王惠群)