

宫颈细胞学阴性患者高危型 HPV 含量与 CIN2 及更高级别病变的相关性

金瑞英¹, 周坚红²

(1. 台州市椒江区计划生育宣传技术指导站, 浙江 台州 318000;

2. 浙江大学医学院附属妇产科医院, 浙江 杭州 310006)

摘要: [目的] 探讨高危型人乳头状瘤病毒(HPV)检测对宫颈液基细胞学阴性妇女宫颈上皮内瘤变(CIN)的诊断价值。[方法] 收集宫颈癌筛查中细胞学阴性而高危型 HPV 阳性的妇女 498 例, 行阴道镜下宫颈活检。分析高危型 HPV 负荷量与 CIN2⁺ 的相关性。[结果] 在 498 例患者中, CIN2⁺ 病变者共 65 例, 占 13.1%。高危型 HPV<10 的 257 例中患 CIN2⁺ 有 13 例, 占 5.1%。高危型 HPV10~100 和 >100 的病例中患 CIN2⁺ 比例分别为 18.2%(26/143) 和 26.5%(26/98)。各组之间的 CIN2⁺ 比例差异有统计学意义($\chi^2=93.673, P=0.000$)。在调整年龄因素后, 高危型 HPV 10~100 患 CIN2⁺ 的风险是 <10 者的 2.356 倍 (95%CI: 1.449~8.828), 而 >100 者患 CIN2⁺ 的风险是 <10 者的 3.595 倍 (95%CI: 2.214~13.533)。[结论] 高危型 HPV 负荷量与 CIN 病变级别密切相关, 高危型 HPV 负荷量越高, 患 CIN2⁺ 的危险度越高。

关键词: 宫颈上皮内瘤变; 人乳头状瘤病毒; 液基细胞学

中图分类号: R711.74 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)03-0233-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.03.B014

Relationship Between High-risk Human Papillomavirus and CIN 2 or High Grade in Patients with Negative Cervical Cytology

JIN Rui-ying¹, ZHOU Jian-hong²

(1. Family Planning Publicity and Technical Guidance Station, Jiaojiang District, Taizhou City, Taizhou 318000, China; 2. Women's Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the value of high-risk human papillomavirus(HR-HPV) in the diagnosis for cervical intraepithelial neoplasia(CIN) with negative liquid-based cytology. [Methods] A total of 498 women with positive HR-HPV and negative cytology were enrolled. All cases underwent colposcopic guided biopsy. The relationship of the load of HR-HPV and CIN2 or worse was analyzed. [Results] Of 498 patients, 65 patients were CIN2⁺ lesions, accounting for 13.1%. The ratio of CIN2⁺ was 5.1% in HR-HPV<10 group, while it was 18.2% (26/143) in HR-HPV10~100 group and 26.5% (26/98) in HR-HPV >100 group, with significant difference among the 3 groups ($\chi^2=93.673, P=0.000$). After adjustment of the age, the risk of CIN2⁺ in patients with HR-HPV 10~100 was higher than that in patients with HR-HPV <10 (OR=2.356, 95% CI: 1.449~8.828), while the risk of CIN2⁺ in patients with HR-HPV >100 was higher than that in patients with HR-HPV<10 (OR=3.595, 95% CI: 2.214~13.533). [Conclusions] The load of HR-HPV closely relates to grade of CIN. The higher the load of HR-HPV, the higher the risk of CIN2⁺.

Subject words: cervical intraepithelial neoplasia; human papillomavirus; liquid-based cytology

研究显示高危型人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)持续感染是宫颈癌及宫颈上皮内瘤变的主要致病因素^[1]。随着高危型 HPV 检测作为宫

颈癌筛查方案的推广应用, 在提高筛查敏感性、延长筛查间隔和发现更多潜在病变的同时, 也出现了大量高危型 HPV 阳性但不伴有组织与细胞学异常改变妇女需要长期随访所带来的问题^[2]。本文旨在探讨高危型 HPV 病毒含量对细胞学正常、高危型 HPV 阳性妇女患宫颈癌与癌前病变的辅助诊断价值。

通讯作者: 周坚红, 主任医师, 博士生导师, 博士; 浙江大学医学院附属妇产科医院, 浙江省杭州市上城区学士路 1 号 (310006); E-mail: zhoujh1117@zju.deu.cn

收稿日期: 2014-06-16; **修回日期:** 2014-08-19

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2012 年 1 月至 2013 年 12 月在浙江大学医学院附属妇产科医院因宫颈疾病门诊就诊,同时行宫颈细胞学检查和高危型 HPV 检测,检查结果为宫颈细胞学检查阴性但高危型 HPV 阳性,并阴道镜下活检患者作为研究对象。共入组 498 例患者,年龄 21~68 岁,平均年龄(40.39±8.87)岁。

1.2 检测方法

宫颈细胞学检测采用新柏氏公司的 Thinprep 仪器,取样时间为月经干净 3d 后,且近期无性生活及阴道用药史。充分暴露受检者宫颈,以宫颈外口为圆心,在宫颈外口鳞柱状上皮交界处和宫颈管内,用宫颈管细胞刷刮取 1~2 周,收集脱落细胞标本,以 TBS 系统为诊断标准诊断。宫颈细胞学诊断为不能明确意义的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of unknown significance,ASCUS) 以上者定义为宫颈细胞学阳性。宫颈细胞学诊断为阴性者定义为宫颈细胞学阴性。

高危型 HPV 检测:采用杂交捕获 II(HC-II)的方法,HC-II 试剂盒购自美国 Digene 公司。月经干净后至少 3d,检查 3d 内无性生活史、无阴道用药及冲洗史。高危型 HPV 检测严格参照试剂盒说明操作。样本产生的光由 DML2000 微孔板判读器测量,表达为相对光单位(relative light units,RLU),通过它与设置的标准阳性对照比较来判定结果。RLU 与阳性对照平均值的比值(RLU/CO)≥1 为高危型 HPV 阳性。

阴道镜下宫颈活检:在月经周期 8~12d,3d 内无性生活及阴道用药史。在阴道镜下宫颈阴道部先后以 5%醋酸和卢戈氏碘液涂抹宫颈,镜下观察,阴道镜检查不满意均行颈管搔刮术,发现可疑病症于阴道镜指示下活检,其中点活检钳取深度为 3~5mm,

宫颈管搔刮用小号刮匙深入宫颈管约 2cm。宫颈不同点活检标本分瓶保存,福尔马林液固定。患者阴道镜检查前均签署知情同意书。

宫颈标本均连续切片行组织学检查。因 CIN 和宫颈癌患者需进一步切除部分宫颈或切除子宫者则以宫颈切除和子宫切除标本病理检查结果为最终诊断。

1.3 统计学处理

数据分析采用 SPSS16.0 统计软件。不同程度宫颈病变细胞学阴性高危型 HPV 负荷量的比较采用非参数检验 Kruskal-Wallis H 检验。不同高危型 HPV 水平中 CIN2+比例比较和不同年龄段患者细胞学阴性而高危型 HPV 阳性的宫颈病变比较采用 χ^2 检验。年龄、高危型 HPV 与 CIN2+病变间的关系采用 Logistic 回归分析。P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 年龄与宫颈病变间的关系

在 498 例细胞学阴性、高危型 HPV 阳性的患者中,宫颈炎 370 例(74.3%),CIN1 患者 63 例(12.7%),CIN2 39 例(7.8%),CIN3 20 例(4.0%),宫颈癌 6 例(1.2%)。CIN2+共 65 例,占 13.1%。

不同年龄段细胞学阴性而高危型 HPV 阳性患者的宫颈病变情况比较可见(Table 1),对于宫颈细胞学阴性高危型 HPV 阳性患者,在<30 岁组、30~39、40~49、50 岁以上组 CIN2+的阳性率分别为 3.7%、14.9%、15.3%和 14.1%。以<30 岁年龄妇女组为参照,30~39 岁组、40~49 岁、50 岁以上组患 CIN2+的比例高,且差异有统计学意义(P 分别为 0.008、0.007 和 0.018)。

2.2 高危型 HPV 含量与宫颈病变间的关系

在 498 例细胞学阴性高危型 HPV 阳性的患者中,高危型 HPV 含量介于 1.43~2400 之间,经正态检验显示为非正态性分析(Kolmogorov-Smirnov Z=

Table 1 Age distribution of cervical lesions with positive high-risk human papillomavirus and negative cytology

Age groups (years old)	N	Cervical lesions					CIN2+		χ^2	P
		Cervicitis	CIN1	CIN2	CIN3	Cervical cancer	N	Percentage		
<30	82	67	12	3	0	0	3	3.7	-	-
30~39	161	114	23	16	6	2	24	14.9	6.960	0.008
40~49	170	122	22	14	11	1	26	15.3	7.354	0.007
50~68	85	67	6	6	3	3	12	14.1	5.585	0.018
Total	498	370	63	39	20	6	65	13.1	-	-

8.831, $P=0.000$), 平均值为 110.64, 中位值为 88.70, Q25 为 28.17, Q75 为 196.18。高危型 HPV<10 的 257 例病例中患 CIN2+ 有 13 例, 占 5.1%; 10~100、>100 的病例中患 CIN2+ 比例则分别为 18.2%(26/143) 和 26.5%(26/98)。各组之间的 CIN2+ 比例差异有统计学意义 ($\chi^2=93.673, P=0.000$) (Table 2)。随着高危型 HPV 负荷量增加, 患 CIN2+ 比例增加。

2.3 不同程度宫颈病变高危型 HPV 负荷量的比较

宫颈疾病越严重, 高危型 HPV 负荷量越大 (Table 3)。宫颈炎、CIN1、CIN2、CIN3 和宫颈癌患者的高危型 HPV 负荷量中位值分别为 8.55、29.00、39.30、404.00 和 954.00。经非参数秩和检验, 各组间的高危型 HPV 含量差异有统计学意义 (Kruskal-Wallis Test $H=51.962, P<0.001$)。

2.4 年龄、高危型 HPV 含量与 CIN2+ 病变的 Logistic 回归分析

以年龄和高危型 HPV 含量进入 Logistic 回归方程, 可见, 高危型 HPV 含量与 CIN2+ 病变间呈密切相关性 (Table 4)。在调整年龄因素后, 高危型 HPV 含量 10~100 患 CIN2+ 的风险是高危型 HPV 含量 <10 的 2.356 倍 (95%CI: 1.449~8.828), 而高危型 HPV

含量 >100 患 CIN2+ 的风险是高危型 HPV 含量 <10 的 3.595 倍 (95%CI: 2.214~13.533)。

3 讨论

2012 年美国癌症学会 (ACS)、美国阴道镜检查与宫颈病理学会 (ASCCP) 和美国临床病理学会 (ASCP) 建议, 宫颈癌筛查的最佳策略是既能识别可能进展为浸润癌的癌前病变, 又能避免对未必会有恶性进展的一过性 HPV 感染及其相应良性病变的探查和不必要治疗^[3]。近年来, 高危型 HPV 检测以其高灵敏度、快速、客观的特点, 联合细胞学检测成为宫颈癌筛查的最佳方案, 并得到美国预防服务工作组 (USPSTF) 发布的 2012 年新版宫颈癌筛查指南, 以及 ACS、ASCCP 和 ASCP 联合发布的 2012 年新版宫颈癌筛查指南的推荐^[4]。将 HPV 检测联合宫颈细胞学检查作为宫颈癌初筛方案, 在临床上产生了一些宫颈细胞学阴性而 HPV 阳性患者, 出现了大量单纯高危型 HPV 阳性而不伴有组织与细胞学异常改变妇女需要长期随访所带来的问题。本文分析

显示在细胞学阴性而高危型 HPV 阳性的患者的 CIN2+ 以上的病例, 占 13.1% (65/498), 即 86.9% 的病例需继续随访。

文献报道, 在 HPV 感染的自然过程中, 大多数感染是暂时的, 尤其是对于年轻女性, 只有很少一部分人存在 HPV 持续感染, 通常在超过 10 年的持续感染后可能会发展成宫颈癌^[5]。宫颈癌筛查的目的是要发现更多 CIN2 及更高级别病变, 而非单纯地检测 HPV 病毒感染。美国大型的宫颈癌筛查临床研究 A-THENA 研究^[6], 入组 47 208 例女性、持续随访 5 年, 细胞学阴性但 HPV16 阳性的女性发生 CIN2+ 病变的风险为 13.6%; 细胞学阴性但 HPV18 阳性的女性发生 CIN2+ 病变的风险为 7%。

文献报道, CIN 的级别随年龄增长而递增^[7]。张凌等^[8]收集宫颈液基细胞学联合 HC II 法检测高危型 HPV 进行宫颈癌筛查的细胞学阴性、HPV 阳性 906 例, 并行阴道镜下宫颈活检, 结

Table 2 CIN2+ ratio in patients with high-risk HPV

HPV	N	Cervicitis	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	CIN2+ (%)
<10	257	221	23	9	4	0	13(5.1)
10~100	143	96	21	24	1	1	26(18.2)
>100	98	53	19	6	15	5	26(26.5)
Total	498	370	63	39	20	6	65(13.1)

Table 3 Comparison of high-risk HPV level in cervical lesions with negative cytology (RLU/CO)

Groups	N	Mean	Median	Q25	Q75
Cervicitis	370	62.91	8.55	3.25	32.32
CIN1	63	130.57	29.00	4.25	169.00
CIN2	39	151.21	39.30	12.51	164.00
CIN3	20	616.76	404.00	74.02	1090.00
Cervical cancer	6	890.40	954.00	128.35	1419.75
Total	498	110.64	88.70	28.17	196.18

Table 4 Logistic regression analysis results of age, high-risk HPV and CIN2+

Parameter	B	S.E.	Wald	df	P	RR	95%CI
Age	0.028	0.015	3.676	1	0.055	1.029	0.999~1.059
HR-HPV<10			27.812	2	0.000		
HR-HPV 10~100	1.471	0.360	16.666	1	0.000	2.356	1.449~8.828
HR-HPV>100	1.886	0.367	26.450	1	0.000	3.595	2.214~13.533
Constant	-4.115	0.698	34.753	1	0.000	0.016	

Note: HR-HPV=high-risk HPV.

果显示 30~49 岁年龄段的患 $\geq$ CIN3 的风险是 <30 岁妇女的 3.4(1.02~11.40) 倍。本文结果显示细胞学阴性而高危型 HPV 阳性患者, 在 <30 岁组、30~39、40~49、50 岁以上组 CIN2⁺ 的阳性率分别为 3.7%、14.9%、15.3% 和 14.1%。以 <30 岁年龄妇女组为参照年龄, 30~39 岁组、40~49 岁、50 岁以上组患 CIN2⁺ 风险高 (P 分别为 0.008、0.007 和 0.018)。这一年龄分布特点提示 30~49 岁是高危型 HPV 感染致 CIN 的高发年龄, 与文献报道一致。美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准对于年龄 $\geq$ 30 岁者才可以在宫颈癌初级筛查中将 HPV 检测作为细胞学检查的辅助手段^[9]。

高危型 HPV 持续感染被认为是宫颈癌及其癌前病变的主要因素。单纯 HPV 阳性不代表宫颈癌的发生, 但是可以用于判断宫颈癌发生的风险。检测高危型 HPV 能早期发现宫颈癌的高危患者、癌前病变。Dalstein 等^[10]对 781 例不同级别 CIN 妇女进行随访研究, 随访间隔每 6 个月 1 次, 中位随访时间 22 个月, 发现高危型 HPV 低载量 (RLU/CO 值 < 10) 的病毒清除率较高载量 (RLU/CO 值 $\geq$ 10) 组为高。说明高危型 HPV 载量高者可能因病毒复制活跃及不易被清除, 而更倾向于发展为持续性感染, 进而增加患病与病变进展的风险。张凌等^[8]报道 HPV 检测 RLU/CO 值 $\geq$ 100 的患 CIN3⁺ 风险是 RLU/CO < 10 者的 12.44(2.89~53.5) 倍。本文结果显示宫颈疾病越严重, 高危型 HPV 含量越大。Logistic 回归显示, 在调整年龄因素后, 高危型 HPV 含量 10~100 患 CIN2⁺ 的风险是高危型 HPV 含量 < 10 的 2.356 倍 (95%CI: 1.449~8.828), 而高危型 HPV 含量 > 100 患 CIN2⁺ 的风险是高危型 HPV 含量 < 10 的 3.595 倍 (95%CI: 2.214~13.533)。说明高危型 HPV 含量与 CIN 级别密切相关, 高危型 HPV 含量越高, 患宫颈癌的危险度越高, 与文献报道的一致^[9,11]。

综上, 30~49 岁是高危型 HPV 感染所致 CIN 的高发年龄, 高危型 HPV 负荷量与 CIN 级别密切相关, 高危型 HPV 负荷量越高, 患宫颈癌的危险度越高。HPV 阳性而细胞学检查正常者, 高危型 HPV 含量可作为辅助诊断指标协助确定是否需要行阴道镜检查及活检, 有利于减少宫颈癌与 CIN 的漏诊。

参考文献:

[1] Elfström KM, Smelov V, Johansson AL, et al. Long-term

HPV type-specific risks for ASCUS and LSIL: A 14-year follow-up of a randomized primary HPV screening trial[J]. Int J Cancer, 2014 May 20. [Epub ahead of print]

- [2] Rosa M, Mohammadi A. Cervical cytology and human papillomavirus testing in adolescent women: implications in management of a positive HPV test [J]. Patholog Res Int, 2014, 2014: 165690. Epub 2014 Mar 24.
- [3] Lee CH, Peng CY, Li RN, et al. Risk evaluation for the development of cervical intraepithelial neoplasia: Development and validation of risk-scoring schemes[J]. Int J Cancer, 2014 May 20. [Epub ahead of print]
- [4] Heinzelmann-Schwarz VA, Kind AB, Jacob F. Management of human papillomavirus-related gynecological malignancies[J]. Curr Probl Dermatol, 2014, 45: 216-24.
- [5] Cox JT, Castle PE, Behrens CM, et al. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study[J]. Am J Obstet Gynecol, 2013, 208(3): 184.e1-184.e11.
- [6] Castle PE, Stoler MH, Wright TC Jr, et al. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study[J]. Lancet Oncol, 2011, 12(9): 880-890.
- [7] Daily LR, Erickson BK, Smith HJ, et al. High rates of cervical intraepithelial neoplasia 2 and cervical intraepithelial neoplasia 3 in high-risk young women with low-grade cervical cytology screening [J]. Obstet Gynecol, 2014, 123(Suppl 1): 91S.
- [8] Zhang L, Du H, Liu ZH, et al. The role of age and HR-HPV load in evaluation of cervical intraepithelial neoplasia with negative liquid-based cytology results [J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics And Gynecology, 2011, 12(4): 256-260. [张凌, 杜辉, 刘志红, 等. 年龄与 HPV 载量对细胞学阴性宫颈上皮内瘤变的辅助诊断价值[J]. 中国妇产科临床杂志, 2011, 12(4): 256-260.]
- [9] Lapierre SG, Sauthier P, Mayrand MH, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA triage of women with atypical squamous cells of undetermined significance with cobas 4800 HPV and Hybrid Capture 2 tests for detection of high-grade lesions of the uterine cervix[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(4): 1240-1244.
- [10] Dalstein V, Riethmuller D, Prétet JL, et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study[J]. Int J Cancer, 2003, 106(3): 396-403.
- [11] Xu XY, Zhao W, Li GJ, et al. Clinical significance of combined detection of Thinprep cytology test and high risk human papillomavirus hybrid capture 2 assay in the screening and recurrence predication of cervical intraepithelial neoplasia [J]. National Medical Journal of China, 2012, 92(35): 2503-2505. [徐兴云, 赵蔚, 李桂军, 等. 细胞学联合人乳头瘤病毒杂交捕获检测在宫颈上皮内瘤样病变筛查中应用 [J]. 中华医学杂志, 2012, 92(35): 2503-2505.]