

细胞 DNA 定量分析联合 HR-HPV、SCCA、CYFRA21-1 检测在早期宫颈癌筛查中的价值

The Value of DNA Quantitative Cytology with HR-HPV, SCCA and CYFRA21-1 Test in Early Screening of Cervical Cancer//WANG Fei-xia, YANG Rui-li, HAN Shuang

王飞霞¹, 杨瑞利², 韩 双²

(1. 西安天博医学检验所, 陕西 西安 710018; 2. 长安医院, 陕西 西安 710016)

摘要: [目的] 探讨宫颈细胞 DNA 定量分析联合高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)、鳞状细胞相关抗原(SCCA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)检测在早期宫颈癌筛查中的价值。[方法] 采用细胞 DNA 倍体定量分析、实时荧光 PCR 法及电化学发光法对 84 例宫颈癌患者、92 例宫颈良性病变者和 92 例健康对照者的宫颈细胞 DNA 倍体、高危型 HPV 及肿瘤标志物 SCCA、CYFRA21-1 进行检测, 以病理诊断为标准对其单独和联合检测的诊断效能进行评价。[结果] 宫颈癌组细胞 DNA 倍体、HPV、SCCA、CYFRA21-1 的阳性率明显高于宫颈良性病变组和健康对照组($P < 0.05$); 联合检测的敏感度、特异性、诊断符合率、阳性预测值、阴性预测值、Youden 指数等都明显提高, 其中四项联合检测诊断宫颈癌的敏感度为 97.62%, 特异性为 99.44%, 诊断符合率达 98.86%, Youden 指数为 0.971, 高于任一单项指标和其他联合方式。[结论] 宫颈细胞 DNA 定量分析联合 HR-HPV、SCCA、CYFRA21-1 检测具有高敏感度、高特异性和高准确性的特点, 在宫颈癌早期筛查中有较高的应用价值。

关键词: 细胞 DNA 定量分析; 高危型 HPV; 鳞状细胞相关抗原; 细胞角蛋白 19 片段; 宫颈癌

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2018)03-0281-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.03.B021

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤。宫颈癌的发病过程较长, 是从子宫颈上皮内瘤变至原位癌至早期癌再到浸润癌连续发展过程^[1], 从宫颈的癌前病变逐步发展到宫颈癌, 大约要花费 5~15 年^[2]。因此, 早期诊断对于有效防治宫颈癌具有极其重要的意义。目前, 临床上诊断宫颈癌的金标准是阴道镜活检, 属有创检查。因此, 寻找无创的、有效的宫颈癌筛查方法已成为医学研究的热点之一。近年来, 细胞 DNA 定量分析、HPV、肿瘤标志物检测等方法相继应用于临床。但这些方法单独检测对宫颈癌诊断价值有限。本文主要通过宫颈细胞 DNA 定量分析与高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)、鳞状细胞相关抗原(SCCA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)等联合检测, 探讨联合检测在宫颈癌早期筛查中的价值。

通讯作者: 王飞霞, 副主任技师, 本科; 西安天博医学检验所检验医学部, 陕西省西安市经济技术开发区草滩十路智巢空间(710018);
E-mail: wangzhangyue1996@163.com
收稿日期: 2017-02-27; 修回日期: 2017-06-09

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 3 月至 2016 年 12 月在我院就诊的 84 例宫颈癌患者, 明确诊断为 I~II 期宫颈癌, 且肿瘤直径 ≤ 2 cm, 另选取 92 例宫颈良性病变者和 92 例健康对照者, 所有研究对象进行宫颈细胞 DNA 倍体定量分析、HR-HPV 检测, 以及肿瘤标志物 SCCA、CYFRA21-1 检测。所有受检者均无子宫切除、宫颈锥切及盆腔放疗史, 且排除不适检查的各种情况。

1.2 标本采集

患者于非经期取材, 标本采集前 24h 禁止盆浴、性交、阴道检查、阴道灌洗及局部上药等。采用窥阴器充分暴露子宫颈, 先用棉球拭去分泌物, 再用专用宫颈刷在子宫颈口顺时针旋转 3~5 圈, 取出宫颈刷后脱去刷头, 将刷尖向下垂直方向浸泡在取样管的细胞保存液中, 盖紧, 贴好标签送检。4℃保存不超过

24h, 进行宫颈细胞 DNA 倍体定量分析。同时取宫颈细胞行高危型 HPV 检测。另外采集受检者空腹静脉血 3~5ml, 离心分离血清, 进行 SCCA 和 CYFRA21-1 检测。

1.3 方 法

1.3.1 DNA 定量分析

仪器和试剂: 武汉兰丁医学科技有限公司提供的全自动细胞 DNA 定量分析系统及配套 DNA 染液。

检测方法: 将获取的宫颈细胞制成细胞学薄片, 进行 Feulgen 染色。采用全自动细胞 DNA 定量图像分析系统进行扫描处理。阴性: 以正常 2C 细胞为主, 未见异倍体细胞及异倍体细胞峰; 阳性: 非整倍体细胞或 4 倍体细胞增生 $\geq 10\%$, 出现 DNA 指数 (DI) ≥ 2.5 的细胞, 出现非整倍体细胞峰。DI ≥ 2.5 的样本需经细胞诊断医师在显微镜下再次确认。

1.3.2 高危型 HPV 检测

仪器和试剂: 仪器为罗氏 Cobas 4800 HPV 检测系统, 试剂由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供。

检测方法: 以磁珠法进行全自动核酸提取, 采用实时荧光 PCR 法进行核酸扩增检测。对 HPV16/18 型单独分型, 其他 12 种高危型 HPV (31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68) 进行混合检测。

1.3.3 SCCA、CYFRA21-1 检测

SCCA 采用新产业 MAGLUMI 2000 Plus 全自动化学发光仪及配套试剂; CYFRA21-1 所用仪器为罗氏 e601 全自动电化学发光仪, 试剂为配套罗氏电化学发光检测试剂盒。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 以病理诊断为金标准, 采用 χ^2 检验对 4 项检测在不同人群中的检出率进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计算 4 种方

法单独检测和联合检测对筛查宫颈病变的敏感度、特异性、诊断符合率、阳性预测值、阴性预测值及 Youden 指数。

2 结 果

2.1 DNA 定量分析、HR-HPV、SCCA 与 CYFRA21-1 在人群中检出率的比较

4 种方法在 3 组间阳性检出率均不相同 ($P < 0.01$); 4 种方法均为宫颈癌组表达最高, 宫颈良性病变组次之, 健康组最低 (Table 1)。

2.2 四种方法单独检测诊断宫颈癌的效能评价

根据 4 种方法的检测结果与病理诊断进行比较, 敏感度从大到小依次为 DNA 定量分析、HR-HPV、SCCA、CYFRA21-1; 特异性从高到低分别是 DNA 定量分析、SCCA、CYFRA21-1、HR-HPV; 诊断符合率从高到低分别是 DNA 定量分析、SCCA、CYFRA21-1、HR-HPV; Youden 指数从大到小分别是 DNA 定量分析、HR-HPV、SCCA、CYFRA21-1 (Table 2)。

2.3 四种方法联合检测诊断宫颈癌的效能评价

将 DNA 定量分析、HR-HPV、SCCA 和 CYFRA21-1 分别进行 2 项、3 项、4 项联合检测, 结果显示, 与单一检测方法比较, 联合检测时各诊断效能显著性提高, 其中以 4 项联合检测为最高, 敏感度和特异性分别是 97.62% 和 99.44%, 诊断符合率为 98.86%, Youden 指数高达 0.973 (Table 3)。

Table 1 The positive rate of DNA quantitative cytology and HR-HPV, SCCA and CYFRA21-1 in different populations [n(%)]

Groups	N	DNA quantitative cytology	HR-HPV	SCCA	CYFRA21-1
Healthy control	92	1(1.09)	9(9.78)	2(2.17)	1(1.09)
Cervical benign lesion	92	6(6.52)	14(15.22)	7(7.61)	10(10.87)
Cervical cancer	84	78(92.86)	60(71.43)	48(57.14)	54(64.29)
χ^2		211.809	94.313	94.843	109.122
P		0	0	0	0

Table 2 The diagnosis efficiency with four individual tests of DNA quantitative cytology, HR-HPV, SCCA and CYFRA21-1

Index	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Diagnostic accordance rate (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	Youden index
DNA Quantitative cytology	84.52	90.56	88.64	80.68	92.61	0.751
HR-HPV	70.23	67.78	68.56	50.43	82.99	0.380
SCCA	44.05	81.67	69.70	52.86	75.77	0.257
CYFRA21-1	42.85	77.78	66.67	47.37	74.47	0.206

Table 3 The diagnosis efficiency with combination tests of DNA quantitative cytology, HR-HPV, SCCA and CYFRA21-1

Index	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Diagnostic accordance rate (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	Youden index
1	86.90	93.33	91.29	85.88	93.85	0.802
2	80.95	88.89	86.36	77.27	90.91	0.698
3	89.29	93.89	92.42	87.21	94.94	0.832
4	97.62	99.44	98.86	98.80	98.89	0.971

Note: 1; DNA quantitative cytology +HPV; 2; HPV+SCCA+CYFRA21-1; 3; DNA quantitative cytology +SCCA+ CYFRA21-1; 4; DNA quantitative cytology +HPV+SCCA+CYFRA21-1

3 讨 论

细胞 DNA 定量分析是近几年发展起来的一种肿瘤早期诊断新技术,该系统通过对细胞核内遗传物质 DNA 倍体定量检测,目前国外已广泛用于宫颈癌及癌前病变的辅助诊断^[3,4],尤其在北美及欧洲已是常规临床检查方法之一^[3]。在宫颈细胞恶变过程中, DNA 含量的改变较形态学变化要早,故此, DNA 定量分析是早期筛查宫颈癌前病变及宫颈癌的有力手段^[5]。DNA 作为遗传物质,是细胞生长、分化和繁殖的基础,其结构和功能的异常也是细胞癌变的分子基础^[6],肿瘤发生的一个重要指标就是非整倍体染色体的出现,主要是超二倍体和多倍体细胞。有研究表明,在大多数宫颈癌和 HSIL 病例中可出现 DNA 倍体异常细胞^[7]。细胞 DNA 定量分析系统将显微镜自动阅片和软件自主分析相结合,它能提供形态学之外的肿瘤生物学信息,并且全自动图像分析系统有效降低了人为因素的影响。DNA 定量分析系统在宫颈癌筛查中具有优越性,其与一般细胞形态学的检测相比,结果更为敏感、客观、准确、重复性强^[8],有效地弥补了细胞病理学诊断的不足。

高危型 HPV 病毒感染是宫颈癌病变的重要诱因,也是目前最为普遍的宫颈癌初筛手段。并且 HPV 感染阳性率随宫颈上皮内病变程度的增加而增高,在宫颈癌发展的预测上有很大的作用^[9]。据文献报道,大约 95% 的宫颈癌患者体内可检出高危型 HPV^[10],其中 HPV16 与 HPV18 均处于高感染前列^[11]。

肿瘤标志物检测也是早期发现肿瘤的有效手段,SCCA 是一种特异性较好的鳞癌肿瘤标志物,对宫颈鳞状细胞癌的辅助诊断、治疗效果监测、预测预后具有重要意义^[12]。熊樱等^[13]研究表明,宫颈癌患者血清中 SCCA 升高与肿瘤分化程度、淋巴结转移、临床分期、肿瘤浸润的深度及肿瘤大小有关。另一种肿

瘤标志物 CYFRA21-1 是细胞角蛋白 19 的可溶性片段,当机体发生癌变时,上皮细胞坏死溶解使 CYFRA21-1 水平明显升高,以往主要用于肺癌的诊断,随着对 CYFRA21-1 的深入研究,一些学者发现 CYFRA21-1 与宫颈癌之间存在一定的联系。

上述单项宫颈癌筛查手段虽然早已广泛应用于临床,但仅靠某一检验方法仍会造成临床上的误诊、漏诊。国内外不少学者采用多项指标联合检测来提高对恶性肿瘤的早期诊断。本文以阴道镜下宫颈组织活检为金标准,对宫颈细胞 DNA 定量分析、高危型 HPV、肿瘤标志物 SCCA 和 CYFRA21-1 等进行了 2 项、3 项、4 项联合检测,与单一检测方法比较,任一联合检测手段诊断宫颈癌的敏感度、特异性、诊断符合率、阳性预测值、阴性预测值、Youden 指数等都明显提高,其中以四项联合检测为最高,其敏感度为 97.62%,特异性高达 99.44%,诊断符合率为 98.86%,Youden 指数 0.971,高于任一单项指标和其他联合检测方式,此结果与黄伟强等^[14]的研究结果一致。说明 DNA 定量分析+HPV+SCCA+CYFRA21-1 联合检测可弥补单一检测方法的弊端和不足,能更好地用于宫颈癌的早期诊断,减少漏诊和误诊。

参考文献:

- [1] Ma BW, Guo WQ, Ma LL. Study on the abnormal screening of cervical epithelial cells by liquid based cytology[J]. Chinese Journal of Pathology, 2004, 33(3): 287-290. [马博文, 郭文泉, 马丽丽. 液基薄层细胞学技术对子宫颈上皮细胞异常筛查作用的研究[J]. 中华病理学杂志, 2004, 33(3): 287-290.]
- [2] Tan JL, Chen Q, Qiao SS, et al. Clinical application of DNA quantitative analysis combined with liquid based cytology in cervical cancer screening [J]. Hebei Medicine, 2016, 22(2): 261-264. [谭景浪, 陈琼, 乔莎莎, 等. 细胞 DNA 定量分析联合液基细胞学在宫颈癌筛查中的临床

- 应用研究[J].河北医学, 2016, 22(2): 261-264.]
- [3] Guillaud M, Benedet JL, Cantor SB, et al. DNA ploidy compared with human papilloma virus testing (Hybrid Capture II) and conventional cervical cytology as a primary screening test for cervical high-grade lesions and cancer in 1555 patients with biopsy confirmation[J]. *Cancer*, 2006, 107(2): 309-318.
 - [4] Liu J, Ping J, Wang CF, et al. Value of joint application of multiple methods in screening of cervical lesions in women of Zhuang nationality in western Guangxi [J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2011, 26(33): 5133-5135. [刘洁, 平静, 王春芳, 等. 多种方法联合应用在桂西壮族妇女宫颈病变筛查中的价值[J]. *中国妇幼保健*, 2011, 26(33): 5133-5135.]
 - [5] Wen M, Tian DM, Yang XM. Application value of cell DNA quantitative analysis to cervical cancer screening[J]. *Acta Academiae Medicinae Wannan*, 2016, 35(4): 371-377. [闻明, 田德明, 杨小苗. 宫颈细胞 DNA 定量分析在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. *皖南医学院学报*, 2016, 35(4): 371-377.]
 - [6] Haroske G, Baak JP, Danielsen H, et al. Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry[J]. *Anal Cell Pathol*, 2001, 23(2): 89-95.
 - [7] Chatelain R, Schunck T, Schindler EM, et al. Diagnosis of prospective malignancy in koilocytic dysplasia of the cervix with DNA cytometry[J]. *J Reprod Med*, 1989, 34(8): 505-510.
 - [8] Yang JJ, Zou J, Liu S, et al. Application value of DNA ploidy quantitative analysis combined with high risk type of human papillomavirus detection in cervical lesions[J]. *Journal of Clinical Medicine and Pathology*, 2016, 36(12): 1949-1954. [杨家佳, 周洁, 刘爽, 等. DNA 倍体定量分析联合 HR-HPV 检测在宫颈病变中的应用价值[J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(12): 1949-1954.]
 - [9] Yu Qi, Li N, Yang JH, et al. The Thinprep cytology test and human papilloma virus typing in cervical lesions screening application[J]. *Labeled immunoassays and clinical Medicine*, 2010, 17(3): 171-174. [余琦, 李宁, 杨江辉, 等. TCT 技术与 HPV 分型技术在子宫颈病变筛查中的应用价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2010, 17(3): 171-174.]
 - [10] Donders GG, Gabrovska M, Bellen G, et al. Knowledge of cervix cancer, human papilloma virus (HPV) and HPV vaccination at the moment of introduction of the vaccine in women in Belgium [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2008, 277(4): 291-298.
 - [11] Liu AL, Gao JY. Diagnostic value of DNA ploidy quantification and HPV typing in cervical lesions [J]. *Jiangsu Medical Journal*, 2017, 43(4): 296-298. [刘阿林, 高金瑜. DNA 倍体定量分析和 HPV 分型检测对宫颈病变的诊断价值[J]. *江苏医药*, 2017, 43(4): 296-298.]
 - [12] Micke O, Bruns F, Schafer U, et al. The impact of squamous cell carcinoma (SCC) antigen in patients with advanced cancer of uterine cervix treated with chemo-radiotherapy[J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(3A): 1663-1666.
 - [13] Xiong Y, Liang LZ, Zhen M, et al. Relationship between squamous cell carcinoma antigen and clinicopathological features and prognosis of squamous cell carcinoma of cervix [J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2007, 42(1): 29-33. [熊樱, 梁立治, 郑敏, 等. 鳞状细胞癌抗原与子宫颈鳞状细胞癌的临床病理特征及预后的关系[J]. *中华妇产科杂志*, 2007, 42(1): 29-33.]
 - [14] Huang WQ, Yang YM. Clinical value of CA125, CYFRA21-1, HPV detection combined with TCT in diagnosis of cervical cancer[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2015, 36(12): 1644-1646. [黄伟强, 杨艳梅. CA125、CYFRA21-1、HPV 联合检测 TCT 诊断宫颈癌的临床价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(12): 1644-1646.]