

# 阴道镜联合 p16/Ki-67 双染对不典型鳞状细胞诊断的应用价值

Colposcopy Combined with p16/Ki-67 Double Staining in the Diagnosis of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance// ZHANG Shuang-li, SONG Li, LIU Jun

张双丽<sup>1</sup>, 宋丽<sup>2</sup>, 刘军<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学附属北京地坛医院, 北京 100600;

2. 北华大学附属医院, 吉林 315800)

**摘要:** [目的] 探究阴道镜联合 p16/Ki-67 双染对不典型鳞状细胞(ASC-US)诊断中的应用价值。[方法] 选取 2016 年 1 月到 2019 年 1 月 410 例经液基细胞学检测确诊为 ASC-US 患者, 患者均行阴道镜和组织病理检查, 取其细胞学样本进行 p16/Ki-67 双染检测。[结果] 宫颈上皮瘤变 2 级及以上有(CIN2+)161 例, 其中 2 级 72 例, 3 级 82 例, 鳞癌 9 例。阴道镜检查发现 CIN2+ 的敏感度、特异性、诊断符合率分别为 82.0%、64.3% 和 71.2%; p16/Ki-67 双染检测发现 CIN2+ 的敏感度、特异性、诊断符合率分别为 77.6%、77.1% 和 68.9%; 阴道镜检查、p16/Ki-67 双染检测及联合诊断 CIN2+ 的 ROC 曲线下面积分别为 0.731、0.744 和 0.860。[结论] 阴道镜联合 p16/Ki-67 双染检测具有较高的敏感度和特异性, 准确率高于单一检测方法, 能较准确分流 ASC-US。

**关键词:** p16/Ki-67 双染; 阴道镜; 不典型鳞状细胞; 诊断价值

**中图分类号:** R737.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2020)01-0075-03

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.01.B017

宫颈癌大多为人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 感染, 其发展需要经历上皮细胞瘤变 1 (cervical intraepithelial neoplasia 1, CIN1)、CIN2、CIN3、原位癌、浸润癌等过程<sup>[1-2]</sup>。由癌前病变发展到宫颈癌时间较长, 但由于早期临床特征缺乏特异性, 多数患者发现时已是中晚期, 丧失最佳治疗时机, 因此早期筛查和干预尤为重要。阴道镜检查具有较高的敏感度和准确率, 但患者会产生疼痛等不适症状。高危型 HPV 检测能有效降低漏诊率, 但其特异性和阳性预测值低, 具有一定局限性<sup>[2]</sup>。多项研究发现, 肿瘤抑制基因 p16 和增殖细胞核抗原 Ki-67 在宫颈癌细胞中高表达, 可用于评价宫颈病变程度<sup>[3]</sup>。本次研究以我院收治的 410 例不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US)患者为研究对象, 探究阴道镜联合 p16/Ki-67 双染对 ASC-US 诊断效能。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 1 月到 2019 年 1 月收治的 410 例确诊为 ASC-US 患者, 纳入标准: (1) 经 TCT 检测确

**通信作者:** 刘军, 主任医师, 硕士; 首都医科大学附属北京地坛医院妇科, 北京市朝阳区京顺东街 8 号(100600); E-mail: sytysl@163.com  
**收稿日期:** 2019-08-13; **修回日期:** 2019-09-10

诊为 ASC-US, 参考 2001 版 TBS 分类系统<sup>[4]</sup>, 判断标准: ①细胞核面积为正常细胞的 2.5~3 倍; ②核浆比略增高; ③细胞核略深染, 染色质分布、核型不规则; ④非典型角化, 胞浆出现强嗜橘黄色改变; (2) 细胞学样本均为有效样本; (3) 行阴道镜及病理检查; (4) 知情并签署知情同意书。排除标准: (1) 有子宫切除手术史、宫颈手术史、盆腔放射治疗史和处于妊娠期; (2) 合并其他严重脏器功能异常者; (3) 合并传染病、意识不清、精神障碍者。入选患者年龄 18~70 岁, 平均年龄(53.6±7.2)岁。本次研究经医院医学伦理委员会审核通过。

### 1.2 方法

患者入院后均行阴道镜和组织病理学检查。

**阴道镜检查:** 采用光电一体电子阴道镜系统(德国莱斯康公司, S6E 型)评估阴道镜图像。患者取膀胱截石位, 医师放置窥镜, 暴露宫颈后用棉球拭去表面黏液和分泌物, 先肉眼观察, 然后在表面涂上 3%~5% 冰醋酸和碘溶液, 然后在阴道镜下观察宫颈鳞状上皮、柱状上皮及交界区, 采用改良 Reid 阴道镜评分(reid colposcope index, RCI)标准<sup>[5]</sup>对边界、颜色、血管及碘实验结果进行评估, 0 分为正常或慢性宫颈炎, 1~2 分为 CIN1, 3~4 分为 CIN2, 5 分及以上为 CIN3+, 以 RCI 评分 3 分及以上作为阳性。

**组织病理学检查:** 由妇科医师取可疑病灶, 将标

本固定后进行常规脱水、包埋和石蜡切片制作,然后进行 HE 染色,由我院两位病理医师进行独立阅片,根据上皮病变及宫颈癌诊断标准<sup>[6]</sup>,结果可包括炎症、CIN1、CIN2、CIN3、癌变等,将 CIN2 及以上样本作为阳性。采集患者细胞学样本进行 p16/Ki-67 双染检测:将收集的细胞学样本运用 TCT 制备薄片,然后采用全自动免疫组织化学染色机(罗氏公司, Ventana Benchmark XT 型)进行染色,试剂盒采用罗氏公司抗 p16(E6H4)/Ki-67(274-11AC3)单克隆抗体试剂。p16 信号表达在细胞核和细胞质上,显黄色, Ki-67 信号表达在细胞核上,显红色,两者均染色交叉部分细胞核呈棕褐色,以此作为阳性,单独显色或不显色为阴性。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验。采用受试者工作特征曲线分析诊断效能。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 病理检查结果

410 例样本中,其中炎症 182 例(44.4%),CIN1 级 67 例(16.3%),CIN 2 级 72 例(17.6%),CIN 3 级 80 例(19.5%),腺癌 4 例(1.0%),鳞癌 5 例(1.2%)。宫颈上皮瘤变 2 级及以上(CIN2+)共 161 例,阳性率为 39.3%。

### 2.2 阴道镜检查结果

阴道镜检查共检出 CIN2 及以上 221 例,其中 132 例病理检测为 CIN2 及以上,将病理检测结果作为金标准,阴道镜检查的敏感度、特异性、准确率分别为 82.0%、64.3%和 71.2%(Table 1)。

### 2.3 p16/Ki-67 双染检测结果

410 例细胞学样本中,采用 p16/Ki-67 双染检测共检出 CIN2 及以上病变 182 例(阳性率 44.4%),其中 125 例病理检测为 CIN2 及以上,将病理检测结果作为金标准,p16/Ki-67 双染检测的敏感度、特异

性、准确率分别为 77.6%、77.1%和 77.3%(Table 2)。

### 2.4 阴道镜联合 p16/Ki-67 双染检测

根据 p16/Ki-67 双染和阴道镜检查结果,ROC 曲线下面积为 0.744,阴道镜检查 AUC 为 0.731,两者联合诊断的 AUC 为 0.860(Table 3)。

## 3 讨论

宫颈癌上皮瘤变等级能反映宫颈病变发展的严重程度。CIN 早期发现、分流并干预是降低宫颈癌发生的重要手段<sup>[7]</sup>。现已明确,当处于 CIN1 时鳞状上皮细胞仍具有分化能力,此时宿主细胞尚未进入癌变或癌前病变状态,多为暂时性病毒感染。因此,临床工作主要是分流更多 CIN2+以上细胞,从而优化医师对患者的分层管理<sup>[8]</sup>。根据美国阴道镜宫颈病理学会提出的针对 ASC-US 处理指南,包括 3 种处理方式,细胞学随诊、阴道镜检查和高危型 HPV。细胞学随诊漏诊率高,且阴道镜检查易发生过度诊断<sup>[9]</sup>。高危型 HPV 检测能有效降低阴道镜检查 and CIN2+漏诊率,但特异性和阳性预测值低,具有一定局限性<sup>[10]</sup>。相关研究发现,p16/Ki-67 双染分流 CIN2+的敏感度和特异性较高,能明显降低阴道镜转诊率,从而减少一些不必要的阴道镜检查<sup>[11]</sup>。

p16/Ki-67 可在多数的宫颈癌细胞中高度表达,99%宫颈癌患者存在 HPV 感染。HPV 在侵犯宿主鳞

Table 1 Results of colposcopy in 410 cases

| Pathological examination | N   | Colposcopy |          |
|--------------------------|-----|------------|----------|
|                          |     | Positive   | Negative |
| Positive                 | 161 | 132        | 29       |
| Negative                 | 249 | 89         | 160      |
| Total                    | 410 | 221        | 189      |

Table 2 p16/Ki-67 double staining test results

| Pathological examination | N   | p16/Ki-67 |          |
|--------------------------|-----|-----------|----------|
|                          |     | Positive  | Negative |
| Positive                 | 161 | 125       | 36       |
| Negative                 | 249 | 57        | 192      |
| Total                    | 410 | 182       | 228      |

Table 3 Diagnostic efficacy of colposcopy combined with p16/Ki-67 double-stained shunt ASC-US

| Group                 | AUC(95%CI)         | Sensitivity (%) | Specificity (%) | Positive predictive value(%) | Negative predictive value(%) | Diagnostic accordance rate(%) |
|-----------------------|--------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Colposcopy            | 0.731(0.681~0.780) | 82.0            | 64.3            | 69.7                         | 78.1                         | 73.2                          |
| p16/Ki-67             | 0.744(0.725~0.821) | 77.6            | 77.1            | 68.7                         | 84.2                         | 77.3                          |
| Colposcopy+ p16/Ki-67 | 0.860(0.820~0.899) | 88.8            | 83.1            | 84.0                         | 88.1                         | 86.0                          |

状上皮细胞过程中,可通过 HPV E6 等多种蛋白质与 pRb 作用干扰宿主细胞生长从而引发癌变。p16 可参与 Rb 信号通路从而参与鳞状细胞癌变过程,而 Ki-67 可反映细胞增殖活性。多项研究发现,在同一个细胞中检测到 p16 和 Ki-67 共表达,可作为细胞周期失调的标志<sup>[12]</sup>。p16/Ki-67 双染检测可为区分潜在高级病变患者提供客观检测指标,且具有较高的敏感度和特异性。本次研究中发现,p16/Ki-67 双染检测的敏感度、特异性、准确率分别为 77.6%、77.1% 和 77.3%。

阴道镜检查是目前临床上确定宫颈癌和癌前病变的主要筛查方式之一。临床诊疗中常在阴道镜下观察宫颈鳞状上皮细胞变化,同时配合醋酸染色和碘实验,可及早发现癌前病变区域,对手术范围的确定具有一定指导意义。对可疑病变区域进行活检,是目前临床作为诊断宫颈癌的最准确方法,但具有一定创伤性。本次研究中阴道镜检查诊断 CIN2 及以上病变的敏感度、特异性和诊断符合率分别为 82.0%、64.3% 和 71.2%,其特异性偏低,假阳性率高,易造成医疗资源浪费和患者的过度紧张。

本次研究结果显示,阴道镜检查检测发现 CIN2+敏感度和阳性预测值均高于 p16/Ki-67 双染,提示阴道镜检查可弥补细胞学检查的不足,降低漏诊率。Norman 等<sup>[13]</sup>研究中发现,阴道镜检查相比 p16/Ki-67 双染具有更高的敏感度和特异性,分别为 80.4% vs 79.3% 和 78.2% vs 77.2%。p16/Ki-67 双染检测的敏感度偏低可能来自于实验中阳性标准判断的保守性。两者联合检测后能有效提高诊断符合率,可作为分流 CIN2+细胞较好方式之一。

综上所述,阴道镜相比 p16/Ki-67 双染检测具有较高的敏感度和特异性,而两者联合检测能提高检测的准确率,是分流 ASC-US 的较好方法。

## 参考文献:

- [1] Cheng J,Zhang Q. Diagnostic value of TCT and HPV detection by colposcopic biopsy on cervical lesions [J]. China Maternal and Child Health Study,2017,28 (3):349-351.[程静,张琼. 阴道镜下活检、TCT 及 HPV 检测对宫颈病变的诊断价值[J]. 中国妇幼保健研究,2017,28(3):349-351.]
- [2] Liu JF,Guan XM,Chen SF,et al. Value of HC2 2-HPV-DNA combined with TCT in the early diagnosis of cervical cancer[J].Cancer Progress,2017,15(8):917-919.[刘金舫,关晓梅,陈素芳,等. HC2-HPV-DNA 联合 TCT 早期诊断宫颈癌的价值分析[J]. 癌症进展,2017,15(8):917-919.]
- [3] Onuma T,Tajima K,Sato K,et al. Clinical significance of

atypical squamous cells of undetermined significance after treatment for cervical intraepithelial grade 3 neoplasia:a retrospective single center cohort study [J]. Molecular & Clinical Oncology,2017,7(6):1032-1038.

- [4] Wang Y,Bian ML,Liu J. Comment on diagnosis of atypical squamous cells using new the Bethesda system(2001)[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology,2004,5 (1): 27-29.[王莹,卞美璐,刘军. 对 2001 年 TBS 系统中不典型鳞状细胞分型及诊断标准的评价——附 1186 张宫颈细胞学涂片分析[J]. 中华妇产科杂志,2004,5(1):27-29.]
- [5] Wu Y,Kong J,Wu JP. Diagnosis of patients with atypical squamous cell of undetermined significance [J]. Journal of Clinical and Pathology,2018,38 (9):40-43.[吴瑛,孔晶,吴江平. 无明确诊断意义的不典型鳞状细胞患者诊断[J]. 临床与病理杂志,2018,38(9):40-43.]
- [6] Zhou Q,Wu XH,Liu JH,et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cervical cancer (fourth edition) [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics,2018,34 (6):613-622.[周琦,吴小华,刘继红,等. 宫颈癌诊断与治疗指南(第四版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2018,34(6):613-622.]
- [7] Tewari D,Novak-Weekley S,Hong C,et al. Performance of the cobas HPV test for the triage of atypical squamous cells of undetermined significance cytology in cervical specimens collected in sure path [J]. American Journal of Clinical Pathology,2017,148(5):450-457.
- [8] Liu SZ. Colposcopic cervical biopsy combined with detection of epidermal growth factor receptor,p16,p53 and Ki67 for the diagnosis of cervical diseases[J]. Chinese General Practice,2017,20(S2):155-157.[刘淑贞. 阴道镜下宫颈活检联合检测表皮生长因子受体、p16、p53、Ki67 对宫颈疾病诊断的研究 [J]. 中国全科医学,2017,20 (S2):155-157.]
- [9] Tai YJ,Chen YY,Hsu HC,et al. Risks of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or invasive cancers in ASCUS women with different management:a population-based cohort study[J]. Journal of Gynecologic Oncology,2018,29(4):e55.
- [10] Yu J. Clinical significance of human papillomavirus detection,thin layer liquid-based cytological screening and colposcopy in pre-lesion screening of cervical cancer patients [J].China Maternal and Child Health Care,2017,32(17): 4297-4299.[余杰. 人乳头瘤病毒检测、薄层液基细胞学筛查联合阴道镜检查对宫颈癌患者病变前筛选的临床意义[J]. 中国妇幼保健,2017,32(17):4297-4299.]
- [11] Ge XF,Zhang RY,You K,et al. Evaluation of p16/Ki67 dual--stained cytology for detecting cervical precancerous disease[J]. Chinese Journal of Family Planning,2017,25 (12):855-859.[葛雪飞,张睿怡,游珂,等. p16/Ki67 双染在宫颈病变检出中的作用 [J]. 中国计划生育学杂志,2017,25(12):855-859.]
- [12] Zhu Y,Ren C,Yang L,et al. Performance of p16/Ki67 immunostaining,HPV E6/E7 mRNA testing,and HPV DNA assay to detect high-grade cervical dysplasia in women with ASCUS[J]. BMC Cancer,2019,19(1):271-275.
- [13] Norman I,Hjerpe A,Dillner J. Risk of high-grade lesions after atypical glandular cells in cervical screening:a population-based cohort study[J]. BMJ Open,2017,7(12):170-175.