

非典型鳞状上皮细胞患者分流诊疗的研究进展

李 阳, 徐 颖, 刘培淑*

山东大学齐鲁医院妇产科, 山东 济南

收稿日期: 2024年4月19日; 录用日期: 2024年5月14日; 发布日期: 2024年5月21日

摘 要

无明确意义的非典型鳞状上皮细胞(ASCUS)属于异常细胞范畴, 其组织病理学具有不确定性和多样性, 是临床中最常见也最难决定诊疗对策的细胞学检测结果。因ASCUS的特异度低, 易发生诊断不足或过度诊断, 故关于ASCUS患者的分流诊疗问题在临床中逐渐引起重视, 并取得众多新进展。本文将从HPV基因分型、DNA定量分析、P16/Ki-67双染及PAX1甲基化在ASCUS患者分流诊疗中的临床价值入手, 以期ASCUS患者提供新的分流诊疗思路 and 选择。

关键词

无明确意义的非典型鳞状上皮细胞, HPV基因分型, DNA定量分析, P16/Ki-67双染, PAX1甲基化

Research Progress of Shunt Diagnosis and Treatment in Patients with Atypical Squamous Epithelial Cells

Yang Li, Ying Xu, Peishu Liu*

Department of Gynaecology and Obstetrics, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan Shandong

Received: Apr. 19th, 2024; accepted: May 14th, 2024; published: May 21st, 2024

Abstract

Atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) belong to the category of abnormal cells. Its histopathology is uncertain and diverse, and it is the most common and difficult cytological test result to determine the diagnosis and treatment strategy in the clinic. Due to the low specificity of ASCUS, it is prone to underdiagnosis or overdiagnosis. Therefore, the problem of shunt

*通讯作者。

diagnosis and treatment of ASCUS patients has gradually attracted attention in clinical practice, and much new progress has been made. This article will start with the clinical value of HPV genotyping, DNA quantitative analysis, P16/Ki-67 double staining and PAX1 methylation in the triage diagnosis and treatment of ASCUS patients, to provide new triage diagnosis and treatment ideas and choices for ASCUS patients.

Keywords

Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance, HPV Genotyping, DNA Quantitative Analysis, P16/Ki-67 Double Staining, PAX1 Methylation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

我国宫颈癌(cervical cancer, CC)每年新增病例约 14 万, 死亡率约 26.4% [1], 高危人乳头瘤病毒(high-risk human papilloma virus, HR-HPV)的持续感染与其发生发展密切相关, 以 HPV-16、18 最受关注。无明确意义的非典型鳞状上皮细胞(atypical squamous cell of undetermined significance, ASCUS)作为宫颈液基细胞学(tinprepcytology test, TCT)异常结果中最为常见的一类, 在病理形态上的异常变化已超出单纯反应性改变, 但又不足以诊断为宫颈鳞状上皮内病变(cervical squamous intraepithelial lesion, SIL), 可由 HPV 感染或者其他原因造成, 具有恶变可能[2]。随着我国 CC 筛查技术的发展及国人对于 CC 认识的提高, HPV 基因分型等用于 ASCUS 患者分流的方法逐渐引起重视, 并且在临床中取得了众多新进展。故本文将从 HPV 基因分型、DNA 定量分析、P16/Ki-67 双染及 PAX1 甲基化在 ASCUS 患者分流诊疗中的临床价值入手, 综合国内外文献做一综述, 以期降低 SIL 与 CC 的漏诊, 减少阴道镜转诊及组织活检率。

2. ASCUS 的细胞学与病理学及分流诊疗的意义

ASCUS 作为 TCT 中最常见的异常类型, 其细胞学特征为: (1) 单个或少量细胞受累; (2) 多数为发育成熟的中表层鳞状细胞, 少数为化生细胞; (3) 缺乏典型的 HPV 反应(挖空细胞); (4) 细胞核不同程度深染, 染色质及核型分布不规则。与 SIL 和组织学病变的密切相关性不同, ASCUS 病理结果具有多样性和不确定性。国外研究[3]发现, ASCUS 被证实为 CIN2+的病例为 8.40%。国内研究[4]提示, ASCUS 患者中, 病理学结果正常者约为 43%, 宫颈高级别鳞状上皮内病变(High-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)者约为 34%, 宫颈浸润癌者约为 1.3%。黄太胜等[5]的研究结果显示, ASCUS 患者中, 46.3%病理学结果为 CIN2+, 4.1%为子宫颈浸润癌。国内研究结果高于国外相关文献报道, 可能与诊断医师水平、地域、人种或 CC 疫苗接种率等有关。由此可见, ASCUS 中包含了更高级别的病变, 如果对这部分患者诊断不确切或重视不足, 可能会增加漏诊率, 延误治疗时机; 或过度诊疗, 增加阴道镜转诊率及组织活检率, 不仅浪费医疗资源, 而且给患者带来巨大精神压力及经济负担。因此使 ASCUS 患者得到合理有效的分流诊疗尤为重要。

3. ASCUS 患者分流诊疗的研究进展

3.1. HPV 基因分型在 ASCUS 患者分流中的临床价值

HR-HPV 持续感染是引起宫颈病变的主要病因, HPV 基因型不同, 其感染导致的宫颈病变发展为

HSIL 的累积发病风险也大不相同,故其对 ASCUS 患者的分流作用也不尽相同[6]。因此针对感染特定基因型 HPV 的 ASCUS 患者行阴道镜检查更具有临床价值。目前很多文献都证实了 ASCUS 患者病理学结果与 HPV 基因分型的相关性。向涛[7]等的研究发现:病理学结果为 CIN2 的 ASCUS 患者中,单一或多种感染 HPV-16、18、33、82、31、45、58、52 的患者占比 95%,而感染 HPV-26、35、39、51、53、56、59、66、68、73 的患者占比仅为 5%。一项前瞻性研究[8]显示:感染 HPV-16、58、33、31、18 的 ASCUS 患者最易发生 CIN2 病变。也有学者[9]对 2000~2019 年中国 HPV 基因型患病率及分布的相关研究进行 Meta 分析,结果显示造成 HSIL 最常见的 HPV 基因分型依次为: HPV-16、58、52、33、31。故上述类型 HPV 阳性的 ASCUS 患者需要立即行阴道镜转诊。

当然,临床中也存在病理诊断为 SIL 或 CC 但 HPV 阴性的 ASCUS 患者。有文献[10]报道,临床上诊断为 HPV 阴性 CC 的首要原因是判断错误,其次是非 HPV 依赖性 CC。因此,对于 HPV 阴性的 ASCUS 患者,需要结合病人临床特征及病史资料区分真阴性与假阴性,必要时可采用其他 HPV 检测方法进行复检或选用辅助检查协助诊断,以减少 HPV 假阴性宫颈病变的误诊并制定合理诊疗措施。

部分学者在研究时也将年龄因素考虑在内。有研究[4]表明:与老年女性相比,HR-HPV 阳性的年轻 ASCUS 患者发生 HSIL 的可能性更高,发生 CC 的可能性更低。效小莉等[11]的研究发现,HPV 阳性的 ASCUS 患者,病理确诊为 \geq CIN2+的检出率为 87%,并且 30~49 岁女性为高发人群,60 岁以上女性为低发人群,但合并 HPV16、52 和 58 型阳性者发生 \geq CIN2+病变的可能性大。老年女性由于宫颈萎缩,出现鳞柱交界区内移,致使 CC 筛查易出现假阴性结果,故对于 ASCUS 患者中的老年群体需加强警惕,推荐使用 HPV 基因分型检测联合 P16/Ki-67 双染进行辅助诊断,必要时相应放宽阴道镜检查指征[12]。

3.2. DNA 定量分析在 ASCUS 分流中的临床价值

由于 ASCUS 病理结果的不确定性与多样性,增加了临床诊断难度,凸显了 TCT 在 CC 筛查中的不足,故 DNA 定量分析在 ASCUS 诊断中起到的作用日益增加,并在中国各地逐渐普及开来。

早在 1902 年,德国动物学家 Boveri 就提出“由正常细胞分裂错误导致的非整倍体是癌症的起因”这一理论。DNA 定量分析用 DNA 含量(DNA Index, DI)表示, $DI \geq 2.5$ 的细胞即为非整倍体细胞。行 DNA 定量分析时,检出 1~2 个或未检出 $DI \geq 2.5$ 的细胞为阴性;检出 3 个及以上者则为阳性[13]。张敦兰等的研究[14]提示:DNA 定量分析筛查 CIN2+的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值均较高,结果阳性则 HSIL 和 CC 发生率增加。李小芳[13]等的研究结果显示:ASCUS 患者中, DNA 定量分析阳性组与阴性组的 HSIL 检出率分别为 45.63%和 13.93%,DNA 定量分析联合 HR-HPV 检测预测 HSIL 的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值均高于单独用 DNA 定量分析或 HPV 检测。苏士忠等学者的研究[15]也证实:DNA 定量分析能够显著提高 CC 筛查准确性,实现对 ASCUS 等宫颈病变早发现早治疗。因此 ASCUS 患者中,检出 $DI \geq 2.5$ 的细胞 ≥ 3 个者需转诊阴道镜检查, <3 个者可随访观察。故将 DNA 定量分析应用于临床可减少 ASCUS 患者中 HSIL 的漏诊,也可降低过度诊疗发生率,有利于 ASCUS 患者分流。

3.3. P16/Ki-67 双染在 ASCUS 分流中的临床价值

P16 为抑癌基因,在 SIL 或 CC 中发生突变出现异常高表达,免疫组化染色时表现为弥漫性染色,即 P16 阳性[16]。Ki-67 为仅在细胞周期活动期表达的非组蛋白细胞周期进展抗原,是用于确定组织生长状态良恶性的标记,在异常增殖细胞中 Ki-67 数值增加,数值越高,肿瘤恶性程度越高。在正常宫颈组织中两者相互拮抗不会同时出现,若免疫组化染色时显示两者均为阳性,则提示 HR-HPV 病毒引起了 SIL

或 CC [17]。

部分研究已证实该检测方法在 ASCUS 诊疗方面的优越性。Han Q.等的研究[18]表明: P16/Ki-67 双染对 ASCUS 患者的分诊特异性、敏感性、阴性预测值、阳性预测值均较高, 经其分诊后, 阴道镜转诊率降低了 48.5%。Uijterwaal 等的研究[19]发现: 经 P16/Ki-67 双染后阴道镜转诊率明显低于 HPV 检查, 在长期随访中, HPV 阳性 P16/Ki-67 双染阴性的妇女未出现 CIN3+病变。老年女性 TCT 筛查的准确度减低, 故对于该人群可补充 P16/Ki-67 双染以明确诊断[14]。因此, P16/Ki-67 双染阳性的 ASCUS 患者建议转诊阴道镜, 阴性者建议定期随诊复查, 根据复查结果, 决定后续治疗方案[20]。故 P16/Ki-67 双染在 ASCUS 分流中价值巨大, 是一种重要的 ASCUS 分流方法。

3.4. PAX1 甲基化在 ASCUS 分流中的临床价值

DNA 甲基化在癌症的发生发展中至关重要[21]。配对盒基因 1 (paired box-containing1, PAX1)是位于人 20p11.2 染色体上的抑癌基因, 其高甲基化沉默后会促进 CC 的发生发展[22] [23]。因此 PAX1 甲基化在 CC 筛查和诊断中潜力巨大。

朱琳教授等的研究[24]显示, 在 ASCUS 患者中, 病理结果为 CIN2+者, PAX1 甲基化程度明显高于结果正常及 CIN1 者。有学者[25]对宫颈病变标本行 PAX1 甲基化检测, 发现其甲基化水平在侵袭性 CC 和 HSIL 中显著升高, 正常宫颈组、CIN1 组、CIN2+组、浸润性 CC 组的甲基化水平依次递增。也有研究[26]对比了 PAX1 甲基化与 HPV DNA 二代杂交捕获(hybride Capture 2, HC2)对 ASCUS 中 CIN2+的检出效能, 发现 PAX1 甲基化检测的特异性、敏感性、准确性均高于 HC2 检测, 进一步验证了 PAX1 甲基化检测对于 ASCUS 分流的有效性。PAX1 甲基化检测是以亚洲人群尤其是中国人群作为研究对象所得出的研究结果, 因此将其纳入我国 CC 筛查步骤, 有助于早期识别 ASCUS 中的 HSIL, 帮助 ASCUS 患者分流、减少阴道镜的转诊率。

4. 小结

随着 CC 预防及发生发展的研究不断深入, 更加突出 ASCUS 分流在临床诊疗中的重要性。将 HPV 基因分型、DNA 定量分析、P16/Ki-67 双染、PAX1 甲基化测定等检测方法应用于 ASCUS 分流, 既减少了 HSIL 与 CC 的漏诊, 又降低了阴道镜病理组织活检率, 未来或将有更深入的研究, 更加精准地探索其在 ASCUS 分流中的作用。通过对 ASCUS 分流新方法的阐述, 促使我们筛选出合理且高效的 CC 筛查、诊断流程, 这对临床诊疗有重要意义。

基金项目

山东省自然科学基金(ZR2020MH272, ZR2020QH044)。

参考文献

- [1] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫颈癌诊断与治疗指南(2021 年版) [J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 474-489.
- [2] Nayar, R. and Solomon, D. (2004) Second Edition of 'The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology' Atlas, Website, and Bethesda Interobserver Reproducibility Project. *CytoJournal*, **1**, Article 4. <https://doi.org/10.1186/1742-6413-1-4>
- [3] Possati-Resende, J.C., Fregnani, J., Kerr, L.M., *et al.* (2015) The Accuracy of p16/Ki-67 and HPV Test in the Detection of CIN2/3 in Women Diagnosed with ASC-US or LSIL. *PLOS ONE*, **10**, e0134445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134445>
- [4] Wang, Z., Gu, Y., Wang, H., *et al.* (2020) Distribution of Cervical Lesions in High-Risk HPV (hr-HPV) Positive Women

- with ASC-US: A Retrospective Single-Center Study in China. *Virology Journal*, **17**, Article No. 185. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01455-2>
- [5] 黄太胜, 候从哲, 朱琳, 等. PAX1 甲基化检测在非典型鳞状细胞分流中的临床应用研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2022, 38(8): 847-850.
- [6] Schiffman, M., Vaughan, L.M., Raine-Bennett, T.R., *et al.* (2015) A Study of HPV Typing for the Management of HPV-Positive ASC-US Cervical Cytologic Results. *Gynecologic Oncology*, **183**, 573-578. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.06.040>
- [7] Tao, X., Austin, R.M., Yu, T., *et al.* (2022) Risk Stratification for Cervical Neoplasia Using Extended High-Risk HPV Genotyping in Women with ASC-US Cytology: A Large Retrospective Study from China. *Cancer Cytopathology*, **130**, 248-258. <https://doi.org/10.1002/cncy.22536>
- [8] Wang, W., Zhang, H., Lin, L., *et al.* (2021) Efficient Combination of Human Papillomavirus Genotyping for the Triage of Women with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance in Chinese Rural Population: A Population-Based Study. *Journal of Cancer*, **12**, 2815-2824. <https://doi.org/10.7150/jca.55771>
- [9] Zhang, J., Cheng, K. and Wang, Z. (2020) Prevalence and Distribution of Human Papillomavirus Genotypes in Cervical Intraepithelial Neoplasia in China: A Meta-Analysis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **302**, 1329-1337. <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05787-w>
- [10] Petry, K.U., Liebrich, C., Luyten, A., *et al.* (2017) Surgical Staging Identified False HPV-Negative Cases in a Large Series of Invasive Cervical Cancers. *Papillomavirus Research*, **4**, 85-89. <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2017.10.003>
- [11] 效小莉, 付凤仙, 宋紫晖, 等. 高危型 HPV 分型检测作为 ASCUS 分流管理手段的探讨[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(13): 2946-2949.
- [12] 吴玉梅, 王建国, 张师前, 等. 老年女性子宫颈病变筛查及异常管理中国专家共识(2023年版) [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2023, 39(5): 531-536.
- [13] 李小芳, 姜汉国, 陈永华, 等. DNA 定量分析及 HPV 检测在意义不明的非典型鳞状细胞患者分流中的意义[J]. 广东医学院学报, 2015, 33(5): 558-561.
- [14] 张敦兰, 阳艳, 周利敏. DNA 倍体分析在 ASCUS 分流诊断中的意义[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(4): 259-262.
- [15] 潘银燕, 李世宏, 苏士忠, 等. 液基细胞学、HPV 检测及 DNA 倍体定量分析在宫颈癌筛查中的价值[J]. 中国妇产科临床杂志, 2023, 24(1): 69-70.
- [16] 马希, 郝敏. p16、Ki67 及 FR α 预测低度宫颈上皮内瘤变转归的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(12): 2168-2172.
- [17] Yu, L., Fei, L., Liu, X., *et al.* (2019) Application of p16/Ki-67 Dual-Staining Cytology in Cervical Cancers. *Journal of Cancer*, **10**, 2654-2660. <https://doi.org/10.7150/jca.32743>
- [18] Han, Q., Guo, H., Geng, L., *et al.* (2020) p16/Ki-67 Dual-Stained Cytology Used for Triage in Cervical Cancer Opportunistic Screening. *Chinese Journal of Cancer Research*, **32**, 208-217. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2020.02.08>
- [19] Uijterwaal, M.H., Witte, B.I., Van Kemenade, F.J., *et al.* (2014) Triaging Borderline/Mild Dyskaryotic Pap Cytology with p16/Ki-67 Dual-Stained Cytology Testing: Cross-Sectional and Longitudinal Outcome Study. *British Journal of Cancer*, **110**, 1579-1586. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.34>
- [20] Wentzensen, N., Fetterman, B., Castle, P.E., *et al.* (2015) p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *Journal of the National Cancer Institute*, **107**, 257-265. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv257>
- [21] Dawson, M.A. and Kouzarides, T. (2012) Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. *Cell*, **150**, 12-27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.013>
- [22] Thompson, B., Davidson, E.A., Liu, W., *et al.* (2021) Overview of PAX Gene Family: Analysis of Human Tissue-Specific Variant Expression and Involvement in Human Disease. *Human Genetics*, **140**, 381-400. <https://doi.org/10.1007/s00439-020-02212-9>
- [23] Pun, P.B., Liao, Y.-P., Su, P.-H., *et al.* (2015) Triage of High-Risk Human Papillomavirus-Positive Women by Methylated *POU4F3*. *Clinical Epigenetics*, **7**, 85-93. <https://doi.org/10.1186/s13148-015-0122-0>
- [24] 梁婷婷, 王华丽, 朱琳, 等. PAX1 基因甲基化与宫颈高级别上皮内病变及高危型 HPV 分型的关联性[J]. 山东大学学报, 2015, 59(11): 48-52.
- [25] Liu, H., Meng, X. and Wang, J. (2020) Real Time Quantitative Methylation Detection of PAX1 Gene in Cervical Cancer Screening. *International Journal of Gynecological Cancer*, **30**, 1488-1492.

<https://doi.org/10.1136/ijgc-2019-001144>

- [26] Li, S.R., Wang, Z.M., Wang, Y.H., *et al.* (2015) Value of PAX1 Methylation Analysis by MS-HRM in the Triage of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **16**, 5843-5846.
<https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.14.5843>