

• 临床医学 •

文章编号: 1002-0217(2016) 04-0371-04

宫颈细胞 DNA 定量分析在宫颈癌筛查中的应用价值

闻 明¹, 田德明¹, 杨小苗², 怀建国²

(芜湖市第一人民医院 1. 妇产科; 2. 病理科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的: 探讨宫颈细胞 DNA 定量分析在已婚妇女宫颈癌早期筛查中的作用和意义。方法: 同时运用细胞 DNA 定量分析技术与液基薄层细胞学检测(TCT) 技术对已婚妇女进行宫颈癌筛查, 检查结果阳性的患者给予阴道镜下宫颈活检进行病理确诊。结果: 1000 例妇女行宫颈细胞 DNA 定量分析共查出 DNA 倍体异常者 188 例(18.8%) , 其中 DNA 异倍体 1~2 个 101 例, DNA 异倍体 ≥ 3 个 87 例, 经宫颈活检病理诊断, DNA 异倍体者确诊宫颈上皮内瘤变(CIN) I~III 级共 121 例, 宫颈癌 12 例, 细胞 DNA 定量分析检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的灵敏度为 89.3% , 特异度为 18.5% , 阳性预测值为 13.3% , 阴性预测值为 92.5% ; 1000 例妇女同时行液基薄层细胞学检测, 查出异常者共 65 例(6.5%) , 经活检病理诊断, 液基薄层细胞学检查异常者确诊宫颈上皮内瘤变(CIN) I~III 级 27 例, 宫颈癌 4 例, 液基薄层细胞学检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的灵敏度为 32.1% , 特异度为 72% , 阳性预测值为 13.8% , 阴性预测值为 88.3% 。结论: 宫颈细胞 DNA 定量分析灵敏度高于 TCT , 有助于宫颈癌及癌前病变的早期发现。

【关键词】子宫颈癌; 细胞 DNA 定量; 液基薄层细胞学检测; 组织学活检

【中图分类号】R 737.33 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2016.04.020

Application value of cell DNA quantitative analysis to cervical cancer screening

WEN Ming, TIAN Deming, YANG Xiaomiao, HUAI Jianguo

Department of Obstetrics & Gynecology, Wuhu No.1 People's Hospital, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the clinical significance of applying cell DNA quantitative analysis to early screening of cervical cancer in married women. **Methods:** Both automated quantitative image cytometry and thinprep cytology test (TCT) were randomly performed to screen for early cervical cancer in the married women. Patients with positive findings were undergone cervical biopsy under the colposcope for following pathological verification. **Results:** In 1000 women received cervical cell DNA quantitative measurements, abnormal DNA ploidy was detected in 188 (18.8%) , in whom the heteroploidy occurred between one and two in 101 and equal to or greater than three in 87. Pathological examination of the cervical biopsies in cases with heteroploidy cells indicated that 121 were cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I-III and 12 were cervical cancer. Cervical cell DNA quantitative analysis screening cervical lesion(CIN III and above) indicated that the sensitivity, specificity, positive predictive value(PPV) and negative predictive value (NPV) was 89.3% , 18.5% , 13.3% and 92.5% , respectively. TCT was also applied to 1000 women and revealed abnormal cell in 65 cases(6.5%) . Following pathology verified that 27 cases were CIN I-III and 4 cervical cancer. The sensitivity, specificity, PPV and NPV in screening cervical lesion(CIN III and above) by TCT 32.1% , 72% , 13.8% and 88.3% , respectively. **Conclusion:** Cervical cell DNA quantitative analysis may reveal higher sensitivity than TCT. The findings suggest that this technique can be more competent in early detection of cervical cancer and precancerous lesions in married women.

【Key words】cervical cancer; cell DNA quantitative analysis; Thinprep cytology test; biopsy

子宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤, 全世界每年约有新发病例 50 万, 我国约 14 万, 占总数的 1/3 , 且年轻化倾向十分明显^[1]。由于宫颈癌有一个可逆的、较长的癌前病变期, 故而是目前唯一可以早期发现并可能治愈的妇科恶性肿瘤^[2]。因此, 宫颈癌

的防治关键在于及时筛查, 尽早发现癌前病变。我院 2014 年开展宫颈细胞 DNA 定量分析联合液基薄层细胞学检测进行宫颈癌筛查共 1000 例, 研究发现细胞 DNA 定量分析灵敏度高于 TCT , 有一定临床应用价值, 现总结如下。

基金项目: 卫生部医药卫生科技发展研究中心基金项目(W2013GJ44)

收稿日期: 2015-09-24

作者简介: 闻 明(1975-), 女, 副主任医师, (电话) 15357882072 (电子信箱) 1948497833@qq.com;

怀建国, 男, 副主任医师, (电子信箱) 478205286@qq.com, 通信作者。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2014 年 1~12 月在我院就诊妇女 1000 名,年龄 20~79 岁,受检者均无宫颈疾病史,检查前 3 d 否认性生活、用药及阴道冲洗史,均自愿进行检查[宫颈细胞 DNA 定量分析及液基薄层细胞学检测(thinprep cytology test ,TCT)]。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集与制备 由经治医师使用宫颈刷在受检者宫颈鳞柱状上皮交界处行单向旋转 3 圈以上收集脱落细胞,将收集细胞连同采样刷头置入盛有保存液的标本瓶中,由病理技术人员使用液基薄层细胞制片仪将标本制备成直径 2 cm 的薄层细胞涂片 2 张,经 95%乙醇固定约 15~30 min,1 张予以巴氏染色,TCT 检测;1 张予以 Feulgen 染色,经细胞 DNA 定量分析,常规保存标本瓶 1 年。TCT 的细胞保存液为泰普医药有限公司产品,巴氏染色需 3 d 完成;细胞 DNA 定量分析细胞保存液为麦克奥迪(厦门)医疗诊断系统有限公司产品,全自动细胞定量分析仪为同一公司产品,做 Feulgen 染色,需 5 d 完成。

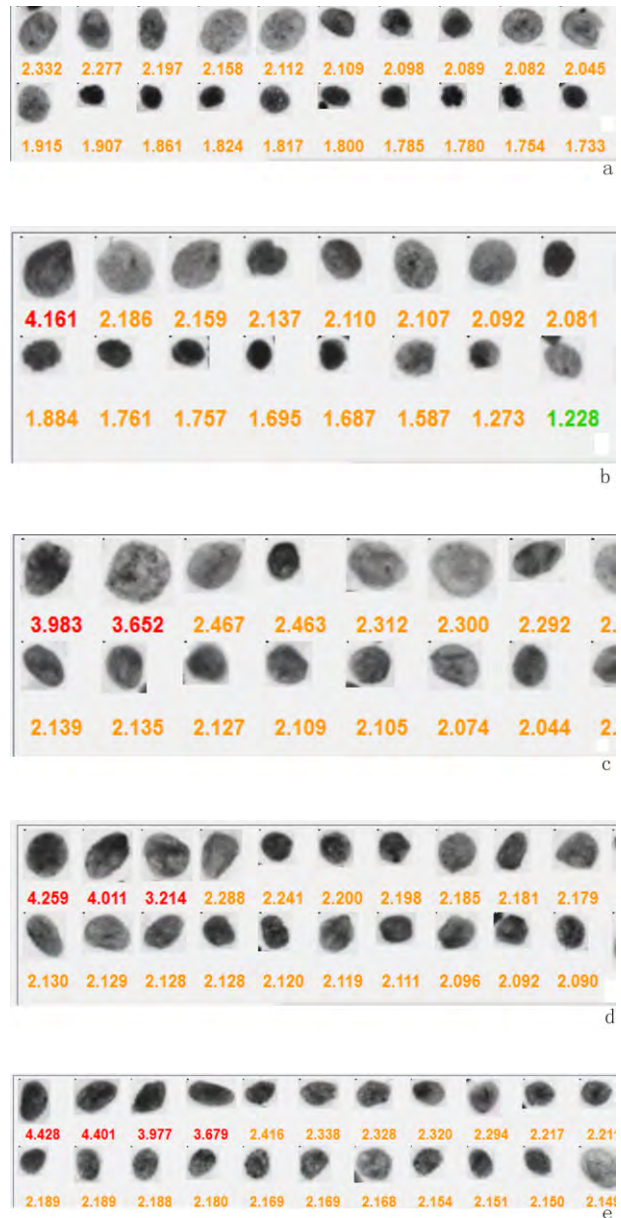
1.2.2 病理检查 凡宫颈 TCT 检测在无明显诊断意义的非典型鳞状细胞(atypical squamous cell of undetermined significance ,ASCUS)及以上级别者或 DNA 定量分析结果提示倍体异常的妇女,均予阴道镜检查,同时于宫颈可疑部位进行 4 点以上的组织活检,活检病例共 228 例。病理诊断顺次为正常、炎症、CIN-I、CIN-II、CIN-III(原位癌)及浸润癌,以病理结果为金标准。

1.3 统计学方法 统计学分析运用 SPSS 18.0 软件,进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞 DNA 定量分析 受检细胞与正常细胞的 DNA 含量进行比较的值为细胞 DNA 指数(DI),宫颈正常细胞的 DNA 指数大多为 1,增殖周期为 DNA 整倍体,没有异倍体峰出现,而肿瘤细胞的 DI 常 ≥ 2.5 ,增殖周期为非整倍体,如果宫颈有少数 DNA 异倍体时,DI 仍可为 1,即形成异倍体单峰,但有大量异倍体出现时,则 $DI \geq 2.5$,即形成异倍体双峰。因此,进行细胞核 DNA 含量测定,可用于判断宫颈癌前病变及宫颈癌的客观指标。

本研究中 1000 例患者共查出 DNA 倍体异常者 188 例(18.8%),DNA 1~2 个异倍体 101 例,DNA ≥ 3 个异倍体 87 例,见图 1。



a: 正常 DNA; b: 1 个异倍体; c: 2 个异倍体; d: 3 个异倍体; e: 4 个异倍体。

图 1 宫颈细胞核图像及 DI 值

2.2 TCT 使用 TBS 分类法,1000 例患者行 TCT,异常者共 65 例(6.5%),其中 ASCUS 44 例,高度鳞状上皮内病变(high squamous intraepithelial lesion ,HSIL) 11 例,低度鳞状上皮内病变(low squamous intraepithelial lesion ,LSIL) 10 例。

2.3 病理诊断 DNA 倍体异常者或 TCT 异常者均予阴道镜检查及宫颈活检,结果见表 1、2。将 CIN-I 级及以上病变均列为阳性,比较 DNA 异倍体 1~2 个及 ≥ 3 个患者活检病理结果,发现前者 101 位病例中活检病理阳性 55 例,而后者 87 位病例中阳性 78 例,见表 3。

表 1 DNA 倍体异常者宫颈活检病理结果

项目	正常或炎症	CIN-I	CIN-II	CIN-III	浸润癌	合计
例数	55	73	35	13	12	188
比率/%	29.26	38.83	18.62	6.91	6.38	100

表 2 TCT 异常者宫颈活检病理检测结果

项目	正常或炎症	CIN-I	CIN-II	CIN-III	浸润癌	合计
例数	34	16	6	5	4	65
比率/%	52.31	24.62	9.23	7.69	6.15	100

表 3 DNA 异倍体 1~2 个与 ≥3 个患者宫颈活检病理检测结果比较

项目	正常或炎症	CIN-I	CIN-II	CIN-III	浸润癌	合计
异倍体 1~2 个	46	37	11	5	2	101
比率/%	45.54	36.63	10.89	4.95	1.98	100
异倍体 ≥3 个	9	42	18	8	10	87
比率/%	10.34	48.28	20.69	9.20	11.49	100

2.4 TCT 将 ASCUS 以上病变均列为阳性 ,DNA 倍体定量分析将 1 个异倍体以上列为阳性 ,两种方法结果比较 ,后者检出率高于前者 ,有统计学差异($P < 0.05$) ,见表 4。以宫颈活检病理结果为标准 ,228 例活检病例中 ,发现 28 例 CIN-III 及以上级别的宫颈疾病 ,16 例为 CIN-III ,12 例为浸润性宫颈癌。若将 ASCUS 定为筛查后需活检的标准 ,TCT 检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的灵敏度为 32.1% ,特异度为 72% ,阳性预测值为 13.8% ,阴性预测值为 88.3%。若将 DNA 异倍体 ≥1 个以上定为筛查后需活检的标准 ,细胞 DNA 定量分析检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的灵敏度为 89.3% ,特异度为 18.5% ,阳性预测值为 13.3% ,阴性预测值为 92.5%。若将 DNA 异倍体 ≥3 个定为筛查后需活检的标准 ,检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的灵敏度为 64.3% ,特异度为 65.5% ,阳性预测值为 20.7% ,阴性预测值为 92.9% ,比较结果分析见表 5、6。

表 4 TCT 与细胞 DNA 定量分析比较

项目	阳性	阴性	阳性率/%	χ^2	P
TCT	65	935	6.5	68.46	0.00
DNA 定量细胞学检测	188	812	18.8		

表 5 TCT 与 DNA 异倍体 ≥1 个以上检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的统计学数据分析

项目	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
TCT	32.1	72.0	13.8	88.3
异倍体 ≥1 个以上	89.3	18.5	13.3	92.5
χ^2	67.98	57.37	0.04	0.93
P	0.00	0.00	0.84	0.33

表 6 TCT 与 DNA 异倍体 ≥3 个检测宫颈病变(CIN-III 及以上) 的统计学数据分析

项目	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
TCT	32.1	72.0	13.8	88.3
异倍体 ≥3 个	64.3	65.5	20.7	92.9
χ^2	20.51	1.03	1.70	1.45
P	0.00	0.31	0.19	0.23

比较数据可得出 ,细胞 DNA 定量分析灵敏度明显高于 TCT ,有统计学差异($P < 0.05$) ,若将异倍体 ≥1 个以上定为筛查后需做活检的标准时 ,特异度低于 TCT($P < 0.05$) ,而将异倍体 ≥3 个定为筛查后需做活检的标准则特异度升高 ,与 TCT 相比无统计学意义。阳性预测值、阴性预测值均无统计学意义。由此 ,更多宫颈癌早期患者可被发现 ,得到确诊和治疗 ,同时因筛查阳性而需做活检的病例数也会有所上升。我们会继续扩大样本采集并进行数据分析。

3 讨论

宫颈癌是严重影响妇女生活质量的常见妇科疾病^[3-4] ,宫颈细胞从感染到病变直至发展为宫颈癌需 3 至 15 年^[5-6] ,因此早期筛查、诊断及治疗 ,将其阻断在癌前病变阶段 ,在防治宫颈癌工作中起着极其重要的作用^[7]。宫颈细胞 DNA 定量分析即通过液基制片、Feulgen 染色 ,最后经扫描系统进行细胞 DNA 定量分析。正常细胞 DNA 指数大多为 1 ,肿瘤细胞常 ≥2.5 ,通过对细胞核内 DNA 含量或倍体的测定即可判断细胞的生理状态或病理改变 ,因此 ,测定细胞核 DNA 含量 ,可作为判断宫颈癌前病变及宫颈癌的客观依据。宫颈癌早期筛查使用 DNA 定量分析技术 ,国外早已有大量报道^[8] ,在北美及欧洲已作为常规检查之一^[9]。(下转第 377 页)

- [5] MERENDINO RA ,GANGEMI S ,RUELLO A *et al.* Serum level so finter leukin-18 and sICAM-1 in patients affected by breast cancer: preliminary considerations[J].*Int J BiolMarkers* ,2001 ,16(2) : 126-129.
- [6] ORENGO AM ,FABBI M ,MIGLIETTA L *et al.* Interleukin (IL) -18 biomarker of human ovarian carcinoma ,is pre-dominantly released as biologically inactive precursor [J].*Int J Cancer* ,2011 ,129(5) : 1116-1125.
- [7] 苏胜发 ,卢泰祥 ,赵充 ,等.基于调强放疗远期结果的鼻咽癌⁹分期 2008 分期结果比较[J].*中华放射肿瘤学杂志* ,2010 ,19(3) : 185-189.
- [8] STEIGMAN SA ,KUNISAKI SM ,WILKINS-HAUG L *et al.* Optical properties of human amniotic fluid: implications for video fetoscopic surgery [J].*Fetal Diagn Ther* 2010 ,27(2) : 87-90.
- [9] SCHRODER K ,TSCHOPP J. The inflammasomes [J].*Cell* ,2010 ,140(6) : 821-832.
- [10] RATHINAM VA ,JIANG Z ,WAGGONER SN *et al.* The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses [J].*Nat Immunol* 2010 ,11: 395-402.
- [11] MARIATHASAN S ,WEISS DS ,NEWTON K *et al.* Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP [J].*Nature* ,2006 ,440: 228-232.
- [12] HUANG YT ,SHEEN TS ,CHEN CL *et al.* Profile of cytokine expression in nasopharyngeal carcinomas: a distinct expression of interleukin 1 in tumor and CD4PT cells [J].*Cancer Res* ,1999 ,59(7) : 1599-1605.
- [13] ALLEN IC ,TEKIPPE EM ,WOODFORD RM *et al.* The NLRP3 inflammasome functions as a negative regulator of tumorigenesis during colitis-associated cancer [J].*The Journal of Experimental Medicine* ,2010 ,207(5) : 1045-1056.
- [14] ZHOU R ,TARDIVEL A ,TH RENS B *et al.* Thioredoxin-interacting protein link soxidative stressto iflammasome activation [J].*Nat Immunol* 2010 ,11(5) : 136 -140.
- [15] PAUGH SW ,BONTEN EJ ,SAVIC D *et al.* NALP3 inflammasome upregulation and CASP1 cleavage of the glucocorticoid receptor causeglucocorticoid resistance in leukemia cells [J].*Nat Genet* ,2015 ,47(6) : 607-614.
- [16] DUPAUL-CHICOINE J ,ARABZADEH A ,DAGENAIS M *et al.* The NLRP3 inflammasome suppresses colorectal cancer metastatic growth in the liver by promoting natural killer cell tumoricidal activity [J].*Immunity* 2015 ,43(4) : 751-763.
- [17] LI L ,LIU Y. Aging-related gene signature regulated by Nlrp3 predicts glioma progression [J].*Am J Cancer Res* ,2014 ,5(1) : 442-449.

(上接第 373 页)

我们通过 TCT、宫颈细胞 DNA 定量分析两种方法在宫颈癌筛查中的应用价值比较,结果显示:细胞 DNA 定量分析灵敏度高于 TCT,而将细胞 DNA 异倍体 ≥ 3 个定为活检标准则特异度也会明显升高,由此筛查出宫颈癌高危人群做进一步确诊,并提示该群体是重点随访对象,我们应该继续进行跟踪与诊治,预防宫颈癌的发生、发展。

综上所述,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,相对宫颈活检而言,具有取样简单、无损伤、操作简便^[10]等优点,同时采用该项技术进行宫颈癌筛查也有效解决了在基层开展大规模普查往往缺乏应有的技术和有经验的细胞学医生的问题,成本效益合理,可考虑作为适合基层大规模妇女普查宫颈癌一种筛查方法予以推广。

【参考文献】

- [1] 曹泽毅.中华妇产科学(临床版) [M].2 版.北京:人民卫生出版社 2010: 583-605.
- [2] 曹泽毅.中华妇产科学[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2004: 1848-1852,2012-2028.
- [3] 梅天琼,郑丽波,郭玲,等.宫颈液基细胞筛查在宫颈癌筛查中的临床应用[J].*中国实验诊断学* 2011 ,15(7) : 1180-1181.
- [4] 周权,黄民主,黄霜,等.中国已婚妇女宫颈癌发病影响因素 Meta 分析[J].*中国癌症杂志* 2011 ,21(2) : 125-129.
- [5] 张桂贤,孙琳,刘松,等.DNA 定量分析可用于宫颈癌及癌前病变的早期筛查[J].*中国计划生育学杂志* ,2005 ,13(11) : 681-683.
- [6] 王随郎.郟县妇科疾病普查中宫颈癌筛查的研究[J].*中国当代医药* 2010 ,17(30) : 134-135.
- [7] 温寿青,邱立,钟美莲.TCT 制片质量控制和宫颈癌诊断[J].*现代肿瘤医学杂志* 2009 ,17(8) : 1430-1431.
- [8] GROTE H J ,FRIEDRICH N ,POMJANSKI N *et al.* Prognostic significance of DNA cytometry in carcinoma of the uterine cervix FIGO Stage I B and II [J].*Anal cell Pathol* ,2001 ,23(1) : 97-105.
- [9] RENMERBACH TW ,WEIDENGBACH H ,POMJANSKI N *et al.* Cytologic and DNA Cytometric early diagnosis of oral cancer [J].*Anal Cell Pathol* 2001 ,23(4) : 211-221.
- [10] 方辉,戎寿德,乔友林,等.宫颈癌及其癌前病变筛查方法现状 [J].*中国医学科学院学报* 2001(6) : 638-641.