

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.15.010

TCT 联合 DNA 定量分析在宫颈病变筛查中的临床应用*

李 敏¹,张春梅^{1△},周仕娴¹,向德兵²,孙贵银²,李 华³,张朝军⁴

(重庆市江津区中心医院 1. 病理科;2. 肿瘤科;3. 妇产科;4. 眼科 402260)

[摘要] **目的** 探讨液基薄层细胞学检查(TCT)联合 DNA 定量分析在宫颈病变筛查中的应用价值。**方法** 回顾性分析 TCT($n=2\ 883$)、DNA 定量分析($n=1\ 742$)及 TCT 联合 DNA 定量分析($n=333$)3 种方法对诊断宫颈病变的临床意义。**结果** TCT、DNA 定量分析和联合检查的阳性符合率分别为 43.86%、68.04%、81.16%,对宫颈上皮内瘤变(CIN) I 及以上病变的诊断,TCT 与 DNA 定量分析阳性符合率差异有统计学意义($P<0.01$),联合检查与 DNA 定量分析、TCT 相比,阳性符合率差异均有统计学意义($P<0.01$)。TCT 检查发现宫颈病变的敏感性、特异性为 69.44%、92.42%;DNA 定量分析发现宫颈病变的敏感性、特异性为 85.71%、87.89%;联合检查发现宫颈病变的敏感性、特异性为 96.55%、95.89%。**结论** DNA 定量分析和 TCT 在宫颈病变筛查中均有较高的临床诊断价值,联合检查更能有效地提高宫颈病变的检出率。

[关键词] 宫颈疾病;液基细胞学;DNA 定量分析;组织病理学**[中图分类号]** R711.74**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)15-2045-03**Clinical application of liquid-based cytology combined with DNA quantitative analysis in cervical lesions screening***Li Min¹, Zhang Chunmei^{1△}, Zhou Shixian¹, Xiang Debing², Sun Guiyin², Li Hua³, Zhang Chaojun⁴

(1. Department of Pathology; 2. Department of Oncology; 3. Department of Gynaecology and Obstetrics;

4. Department of Ophthalmology, Jiangjin District Central Hospital, Jiangjin, Chongqing 402260, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application value of the liquid-based cytology test (TCT) and the DNA quantitative analysis in cervical lesions screening. **Methods** 2 883 cases of TCT, 1 742 cases of DNA quantitative analysis and 333 cases of TCT combined with the DNA quantitative analysis were performed the retrospective analysis for investigating their clinical significance in diagnosing the cervical lesions. **Results** The positive coincidence rates of TCT, DNA quantitative analysis and their combined detection were 43.86%, 68.04% and 81.16% respectively. There was statistically significant difference in the positive coincidence rates for diagnosing CIN I and above between TCT and the DNA quantitative analysis ($P<0.01$); the positive coincidence rates of the combined detection had statistical difference compared with TCT and the DNA quantitative analysis ($P<0.01$). The sensitivity and the specificity of TCT for discovering the cervical lesions were 69.44% and 92.42% respectively; which of the DNA quantitative analysis were 85.71% and 87.89% respectively; while which of combined detection were 96.55% and 95.89% respectively. **Conclusion** The DNA quantitative analysis and TCT have the higher clinical diagnostic value in the cervical lesion screening. Their combined detection can more effectively increase the detection rate of cervical lesions.

[Key words] uterine cervical diseases; liquid-based cytology; DNA quantitative analysis; histopathology

宫颈癌是全球妇女恶性肿瘤中发病率仅次于乳腺癌的一种严重危害妇女健康的疾病^[1],其发病率以每年 2%~3% 的速度增长,且趋于年轻化^[2]。宫颈病变与宫颈癌发病密切相关,因此,早期发现宫颈病变是防治宫颈癌的关键^[3]。本文旨在通过液基薄层细胞学检查(TCT)、DNA 定量分析与组织病理学结果的比较,探讨 TCT、DNA 定量分析及二者联合使用在宫颈癌及癌前病变筛查中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取的患者来源于 2012 年 1 月至 2014 年 2 月在本院妇科检查的病例。2 883 例患者行 TCT 检查,年龄 20~65 岁,平均 45 岁;1 742 例患者行 DNA 定量分析,年龄 20~65 岁,平均 43 岁;333 例患者行 TCT 联合 DNA 定量分析,年龄 20~65 岁,平均 44.5 岁。以上患者均有 2 年以上性生活史,未使用避孕药及其他类固醇类药物,并详细询问其病史、月经史、性生活史及家族史等。

1.2 方法

1.2.1 TCT 标本采集 取材前要求患者为非月经期(建议在月经干净后 3~5 d)、24 h 内禁止性生活及阴道冲洗等,经过专业培训的妇科医生在窥阴器直视下暴露宫颈,使用特制的颈管刷在宫颈外口及宫颈管旋转 5 周收集宫颈管内及宫颈鳞柱交界区的脱落细胞,取样后将宫颈刷垂直浸泡于装有标本保存液的小瓶内,与宫颈 TCT 或 DNA 定量细胞学检查申请单一并送病理科。

1.2.2 宫颈液基细胞学诊断 TCT 经液基薄层细胞制片系统处理(广州鸿琪光学仪器科技有限公司, HQTCT-Thin plus D),制成薄层细胞涂片,95% 的乙醇固定,巴氏染色后镜检读片。根据 Bethesda 诊断标准分组^[4], (1)未见上皮内病变或癌变(NILM); (2)非典型鳞状细胞:包括不能明确意义的非典型鳞状细胞(ASC-US)和非典型鳞状细胞不能排除上皮内高度病变(ASC-H); (3)低度鳞状上皮内病变(LSIL); (4)高度鳞状上皮内病变(HSIL); (5)鳞状上皮癌(SCC); (6)非典型腺细胞(AGC); (7)腺癌细胞(AC)。液基细胞学检查阳性是指 ASC-

* 基金项目:卫生部医药卫生科技发展研究中心项目(W2011GJ25);重庆市江津区科委项目(Y12012022)。 作者简介:李敏(1977-),本科,主治医师,主要从事病理诊断方面的研究。 △ 通讯作者, E-mail: dzchunmei@163.com。

US 及其以上病变。

1.2.3 DNA 定量分析 DNA 经液基薄层细胞制片系统处理 [试剂和耗材由麦克奥迪(厦门)医疗诊断系统有限公司提供], 制成薄层细胞涂片, 95% 的乙醇固定, Feulgen 染色, 通过 Motic BA600 全自动高分辨率细胞 DNA 图像定量分析系统进行扫描。判定标准: (1) 阴性(未见 DNA 异倍体细胞); (2) 可见少量细胞增生(5%~10% 的细胞增生); (3) 可见少量 DNA 异倍体细胞(可见 1~2 个异倍体细胞, $DI \geq 2.5$); (4) 可见细胞异常增生($\geq 10\%$ 的细胞增生); (5) 可见 DNA 异倍体细胞(≥ 3 个异倍体细胞, $DI \geq 2.5$); (6) 可见异倍体细胞峰。其中结果 (1) 代表阴性, (2)、(3) 代表可疑或少量病变, (4)~(6) 代表阳性。所有 DNA 定量分析结果均经麦克奥迪提供的远程病理诊断平台请专家(妇科病理专家)对结果进行复核。DNA 定量分析检查阳性是指可疑或阳性病例。

1.2.4 宫颈 DNA 定量分析联合 TCT 标本用液基细胞制片系统处理, 每例同时制成 2 张薄层细胞片, 巴氏染色行 TCT, Feulgen 染色行 DNA 定量分析。本文检查阳性是指液基细胞学结果提示 ASC-US 及其以上病变和 DNA 定量分析提示可疑或阳性。

1.2.5 组织病理学检查 TCT 结果为 ASC-US 及其以上病变, 或 DNA 定量分析检查结果为可疑或阳性的病例均建议转至妇科门诊, 在阴道镜下观察宫颈的一般情况及宫颈上皮对冰醋酸和碘的反应, 选择可疑病变部位取材, 如无明显异常者, 在鳞柱交界区 3、6、9、12 点取组织活检。组织病理学诊断结果分为炎症、宫颈上皮内瘤变(CIN I、II、III)、鳞形细胞癌(包括微小浸润癌)。CIN I 及以上病变定义为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析, 以组织病理学诊断为标准, 用阳性符合率、敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值作为评价指标, 评价 TCT、DNA 定量分析对宫颈病变的诊断价值。采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TCT 与组织病理学结果的比较 2 883 例 TCT 结果为 NILM 2 778 例, 异常 105 例(3.64%), 其中 ASC-US 82 例(2.84%), ASC-H 12 例(0.42%), LSIL 5 例(0.17%), HSIL 6 例(0.21%), SCC 0 例。其中 458 例行病理活检, 以组织病理学诊断结果为标准, 在 TCT 诊断为阳性的 57 例中, 病理活检诊断为阳性者 25 例, 阳性符合率为 43.86%。TCT 的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 69.44%(25/36)、92.42%(390/422)、43.86%(25/57) 和 97.26%(390/401)。TCT 与组织病理学结果, 见表 1。

2.2 宫颈 DNA 定量分析与组织病理学结果的比较 1 742 例 DNA 定量分析结果为阴性病例 1 549 例, 异常 193 例(11.08%), 其中可疑病例 98 例(5.63%), 阳性病例 95 例(5.45%)。其中 333 例行病理活检, 以组织病理学诊断结果为标准, 97 例 DNA 阳性病例中, 诊断为阳性者 66 例, 阳性符合率为 68.04%。DNA 定量分析的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 85.71%(66/77)、87.89%(225/256)、68.04%(66/97) 和 95.34%(225/236)。宫颈 DNA 定量分析与组织病理学结果, 见表 2。

2.3 DNA 定量分析联合 TCT 结果 DNA 定量分析联合 TCT 病例 333 例, 其中阳性病例 65 例, 病理结果诊断阳性者 56 例, 阳性符合率 81.16%。联合检查的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 96.55%(56/58)、95.89%(210/212)、

219)、86.15%(56/75) 和 99.06%(210/212)。TCT 联合 DNA 定量分析结果, 见表 3。

表 1 TCT 与组织病理学结果比较(n)

TCT	n	炎症	CIN I	CIN II	CIN III 及原位癌	SCC
NILM	401	390	11	0	0	0
ASC-US	44	32	9	3	0	0
ASC-H	6	0	3	1	1	1
LSIL	3	0	3	0	0	0
HSIL	4	0	1	0	2	1
合计	458	422	27	4	3	2

表 2 宫颈 DNA 定量分析与组织病理学结果比较(n)

DNA 定量	n	炎症	CIN I	CIN II	CIN III 及原位癌	SCC
阴性	236	225	11	0	0	0
可疑	41	25	14	2	0	0
阳性	56	6	24	11	8	7
合计	333	256	49	13	8	7

2.4 χ^2 检验 对 CIN I 及以上病变的诊断, TCT 与 DNA 定量分析阳性符合率差异有统计学意义($\chi^2 = 8.685, P = 0.003$), 两种方法联合与 DNA 定量分析及 TCT 相比, 阳性符合率差异均有统计学意义($\chi^2 = 6.867, P = 0.009; \chi^2 = 24.347, P = 0.000$)。DNA 定量分析的敏感性高于 TCT($\chi^2 = 4.142, P = 0.042$), 但特异性低于 TCT, 差异有统计学意义($\chi^2 = 3.873, P = 0.049$); 联合检查的敏感性均高于 DNA 定量分析及 TCT, 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.465, P = 0.035; \chi^2 = 13.696, P = 0.000$); 联合检查的特异性高于 DNA 定量分析, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.795, P = 0.002$), 但与 TCT 的特异性差异无统计学意义($\chi^2 = 2.905, P = 0.088$)。

表 3 DNA 定量分析联合 TCT 结果(n)

组别	n	TCT 阴性		TCT 阳性	
		DNA 阴性	DNA 可疑或阳性	DNA 阴性	DNA 可疑或阳性
炎症	256	210	22	15	9
CIN I	50	2	9	9	30
CIN II	17	0	1	0	16
CIN III 及原位癌	5	0	0	0	5
SCC	5	0	0	0	5
合计	333	212	32	24	65

3 讨 论

宫颈癌的发生是由癌前病变演变为癌连续病理过程, 由宫颈不典型增生最终发展为浸润癌大约需要 10 年以上的时间^[5]。早期癌前病变和早期宫颈癌常无自觉症状, 宫颈细胞学检查是筛查癌前病变及宫颈癌的主要方法。近 40 年由于宫颈细胞学筛查的普遍应用, 使宫颈癌和癌前病变得以早期发现和治理, 宫颈癌的发病率和病死率已有明显下降^[6]。但传统的筛查方法受到样本收集及涂片质量的影响, 有一定的误诊率和漏诊率^[7]。随着国家对宫颈癌筛查的宣传和重视, 宫颈细胞学检测技术也随之得到不断的提高与发展, TBS 和 TCT 技术广泛应用于临床, 极大地克服了传统巴氏涂片检查中的不足, 明显

提高了标本的满意度与阳性检出率^[8],具有很大的优势^[9],成为宫颈和阴道细胞学检查的常规检查手段。TBS 和 TCT 技术的问世是制片技术的重大革新,但不能改变传统阅片方式,其正确率与人眼疲劳及阅片人的经验水平及责任心相关^[10]。寻求更高效、实用、简单、安全的筛查方法是临床医生面临的问题。

用 DNA 定量分析进行宫颈癌前病变及宫颈癌的诊断在国外已有大量报道^[11-12]。DNA 细胞定量分析技术正是克服了人为因素在制片和阅片技术方面的不足,采用先进的液基薄层细胞制片技术,以保证制片质量,再用 DNA 特异性染色,通过计算机自动扫描、阅片的方法,克服了人眼疲劳及阅片人的经验水平及责任心不足等人为因素,进一步保证了阅片质量,为宫颈病变筛查提供了更为客观的诊断数据。Karimi-Zarchi 等^[13]比较了传统细胞学、液基细胞学及阴道镜在宫颈病变筛查中的应用,结果显示传统细胞学敏感性、特异性为 51%、66.6%,液基细胞学为 55.3%、77.7%,阴道镜为 70.9%、44.4%,阴道镜敏感性最高,液基细胞学特异性最高。而对于 DNA、TCT 以及二者联合之间的比较国外报道得则比较少。在本研究中 DNA 定量分析与病理诊断阳性符合率为 68.04%,高于 TCT 的 43.86%,并且 DNA 定量分析(85.71%)的敏感性高于 TCT(69.44%),说明 DNA 定量分析方法较 TCT 在宫颈病变及宫颈癌的早期发现方面有更大的优势,使患者能得到及时的诊断和治疗,但 DNA 定量分析的特异性较 TCT 低,有可能造成部分患者过诊断,与文献^[14-16]的研究结果一致。因此,把 TCT 和 DNA 定量分析结合起来,可以同时提高宫颈病变早期诊断的敏感性和特异性。

宫颈 DNA 定量分析联合 TCT 检查已在欧美等发达国家广泛应用于临床诊断。本文结果显示 DNA 定量分析联合 TCT 检查对宫颈病变的检出率更高,其诊断结果与病理诊断阳性符合率为 81.16%,高于 TCT(43.86%)及 DNA 定量分析(68.04%),差异均有统计学意义($P < 0.01$);两种方法联合检测的敏感性高达 96.55%,明显高于 TCT(69.44%)及 DNA 定量分析(85.71%)($P < 0.05$);并且两种方法联合检测的特异性高达 95.89%,高于 DNA 定量分析(87.89%),差异有统计学意义($P < 0.01$),但与 TCT 相比差异无统计学意义($P > 0.05$),说明两种方法联合使检测结果更准确,且能减少漏诊或误诊率,能明显降低宫颈癌的发生率,减少过度治疗和医疗纠纷,为宫颈癌的预防和治疗提供可靠的依据。

综上所述,有效、准确的早期宫颈病变的筛查,有助于早期诊治,阻止其向宫颈癌转变。TCT 及 DNA 定量分析对宫颈病变的筛查均有较高的临床诊断价值,两种方法联合应用更能有效地提高宫颈病变的检出率,并能为临床寻找切实、有效、可行的诊疗方案提供更为客观可靠的依据。

参考文献

[1] Scarinci IC, Garcia FA, Kobetz E, et al. Cervical cancer prevention: new tools and old barriers[J]. *Cancer*, 2010, 116(11):2531-2542.

[2] 崔浩杰, 易有峰, 王晓娟, 等. 毛细式液基细胞学薄层染色技术对宫颈癌筛查应用价值的探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2011, 18(2):142-144.

[3] Renshaw AA, Young NA, Birdsong GG, et al. Comparison of performance of conventional and ThinPrep gynecologic preparations in the College of American Pathologists Gy-

necologic Cytology Program[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2004, 128(1):17-22.

- [4] Solomon D, Nayar R. 子宫颈细胞学 Bethesda 报告系统定义标准和注释[M]. 2 版. 北京:人民军医出版社, 2004: 37-40.
- [5] Michimata R, Watari H, Tomaru U, et al. Human papillomavirus 16-positive uterine cervical squamous cell carcinoma with coinfection with human papillomavirus 34 has a lower incidence with human papillomavirus 34[J]. *Pathobiology*, 2013, 80(5):259-264.
- [6] 丰有吉, 沈铿. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:316.
- [7] Siebers AG, Klinkhamer PJ, Vedder JE, et al. Causes and relevance of unsatisfactory and satisfactory but limited smears of liquid-based compared with conventional cervical cytology[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2012, 136(1):76-83.
- [8] Giordagze T, Kanhere R, Pang C, et al. Small cell carcinoma of the cervix in liquid-based Pap test: utilization of split-sample immunocytochemical and molecular analysis[J]. *Diagn Cytopathol*, 2012, 40(3):214-219.
- [9] Chen H, Shu HM, Chang ZL, et al. Efficacy of pap test in combination with thinprep cytological test in screening for cervical cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(4):1651-1655.
- [10] Remmerbach TW, Weidenbach H, Pomjanski N, et al. Cytologic and DNA-cytometric early diagnosis of oral cancer[J]. *Anal Cell Pathol*, 2001, 22(4):211-221.
- [11] Lorenzato M, Caudroy S, Nou JM, et al. Contribution of DNA ploidy image cytometry to the management of ASC cervical lesions[J]. *Cancer*, 2008, 114(4):263-269.
- [12] 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 1 555 patients with biopsy confirmation[J]. *Cancer*, 2006, 107(2):309-318.
- [13] Karimi-Zarchi M, Peighambari F, Karimi N, et al. A comparison of 3 ways of conventional pap smear, liquid-based cytology and colposcopy vs cervical biopsy for early diagnosis of premalignant lesions or cervical cancer in women with abnormal conventional pap test[J]. *Int J Biomed Sci*, 2013, 9(4):205-210.
- [14] 张永兵. 细胞 DNA 定量分析及液基细胞学在宫颈病变筛查中的临床观察[J]. *广西医科大学学报*, 2012, 29(2):253-255.
- [15] 陶林, 李峰, 杨安强, 等. 液基细胞学检查与 DNA 定量分析进行宫颈癌普查的临床研究[J]. *石河子大学学报*, 2009, 27(3):308-310.
- [16] 侯安丽, 张玉娟, 李秀芬, 等. 液基薄层细胞学联合 DNA 定量方法对宫颈病变诊断试验的评价[J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(4):653-655.