



学 校 代 码 10459
学号或申请号 201422443874
密 级 公 开

郑 州 大 学

专业硕士学位论文

<http://www.ixueshu.com>
宫颈细胞学与 HPV 检测及宫颈活检
的相关性分析

作 者 姓 名：王 延

导 师 姓 名：张红新 教授

专 业 学 位 名 称：临床病理学

培 养 院 系：郑州大学第一附属医院

完 成 时 间：2017 年 5 月

A thesis submitted to
Zhengzhou University
for the degree of Master

The Correlation Analysis among Cervical Cytology, HPV
Testing and Cervical Biopsy

By Yan Wang

Supervisor: Prof. Hongxin Zhang

Clinical Pathology

The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University

May, 2017

原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者：王延

日期：2017 年 5 月 30 日

学位论文使用授权声明

本人在导师指导下完成的论文及相关的职务作品，知识产权归属郑州大学。根据郑州大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权郑州大学可以将本学位论文的全部或部分编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或者其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。本人离校后发表、使用学位论文或与该学位论文直接相关的学术论文或成果时，第一署名单位仍然为郑州大学。保密论文在解密后应遵守此规定。

学位论文作者：王延

日期：2017 年 5 月 30 日

宫颈细胞学与 HPV 检测及宫颈活检的相关性分析

硕士研究生：王延

导师：张红新 教授

郑州大学第一附属医院病理科

河南 郑州 450052

摘 要

背景及目的

宫颈癌在发展中国家仍然是一个重要的公共卫生问题，中国也不例外。据国际癌症研究所统计，2012年全球约有266000例宫颈癌患者死亡，占女性所有癌症死亡人数的7.5%，并且宫颈癌85%以上分布在发展中国家。中国人口数量占世界人口的1/5左右，宫颈癌所产生的负担对全球产生了重要影响。自一些筛查措施推广和普及以来，许多癌前病变和早期癌得到了早期防治。据卫生部统计，上世纪50年代到90年代，宫颈癌的检出率从145/100000下降到8.2/100000。然而，从2003年到2010年的数据比较表明，宫颈癌的发生率和死亡率在21世纪反而增加。有研究估计，2012年中国宫颈癌新发病例是61691例，预计到2030年，宫颈癌新发病例将上升到93500例，而到2050年将达到186600例，其社会、经济等负担将会对全球产生重要影响。

宫颈癌是最常见的与感染相关的肿瘤。经研究发现，宫颈癌及癌前病变的发生均与人乳头状瘤病毒（human papillomavirus, HPV）的感染有关。已发现有超过100种HPV亚型，其中13种被确定为致癌亚型，而HPV16和18是最主要的致癌亚型。女性感染的高峰年龄是20岁左右。据估计，80%的性活跃期女性一生中某时刻将感染HPV，但超过90%的感染呈短暂的一过性，虽然会发生相同亚型HPV的重新感染或不同HPV亚型的感染，但一般在6-18个月内通过免疫反应就可被清除。HPV检测只能判断有无HPV感染，但无法明确其是否为持续性感染。因此，HPV检测对于宫颈癌及癌前病变的筛查仍存在一定的局限

性。

宫颈细胞学技术简单、方便，在宫颈癌的筛查中起着十分重要的作用，尤其是近年来宫颈液基细胞学（thinprep cytology test, TCT）的应用。但阅片人员的专业能力有限、主观性强等特点对宫颈癌的筛查也产生了重要的影响。

本研究主要通过妇科 TCT 与 HPV 分型检测及宫颈活检的对比，分析其中的相关性，并为宫颈癌及癌前病变的筛查提供一些资料。

方法

搜集 2014 年 7 月~2015 年 12 月郑州大学第一附属医院病理科宫颈薄层液基细胞学诊断为非典型鳞状上皮细胞（atypical squamous cells, ASC）及以上的病例，且所有病例均已在检验科进行 HPV 分型检测，按宫颈细胞学病变严重等级分为以下 4 组：非典型鳞状上皮细胞、低级别鳞状上皮内病变（low grade squamous intraepithelial lesions, LSIL）、高级别鳞状上皮内病变（high grade squamous intraepithelial lesions, HSIL）、鳞状细胞癌（squamous cell carcinoma, SCC）。

比较各组高危型人乳头状瘤病毒（high risk human papillomavirus, HR-HPV）阳性率之间的差异，并以阴道镜宫颈组织活检为诊断标准，比较分析 ASC 患者中已进行阴道镜宫颈组织活检的不除外高级别鳞状上皮内病变的非典型鳞状上皮细胞（atypical squamous cells, not the exception of high grade squamous intraepithelial lesions, ASC-H）和不能明确意义的非典型鳞状上皮细胞（atypical squamous cells of undetermined signification, ASC-US）患者的病理活检结果及 ASC-US 患者的 HPV 分型检测与病理活检结果的关系。

使用 SPSS17.0 软件进行统计学分析，以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。有 2 种或 2 种以上 HPV 感染时为多重感染，对于多重感染，各 HPV 亚型重复计数。

结果

1、586 例 TCT 结果异常的病例中，ASC 组、LSIL 组、HSIL 组和 SCC 组 HR-HPV 阳性率分别为 47.56%（175/368）、66.67%（42/63）、76.34%（100/131）和 83.33%（20/24）。4 组之间进行 HR-HPV 阳性率之间的 χ^2 检验，差异有统计学意义（ $\chi^2=42.55$ ， $P<0.05$ ）。

2、368 例 ASC 中行阴道镜宫颈组织活检的 ASC-US 和 ASC-H 分别有 215、

74 例，二者阴道镜下病理活检 HSIL 及以上的检出率分别为 15.35%和 66.22%。
2 组之间进行 χ^2 检验，差异有统计学意义 ($\chi^2=70.09, P<0.05$)。

3、215 例 ASC-US 病例中 HR-HPV 阳性有 93 例，阳性率为 43.26%。宫颈活检证实 215 例 ASC-US 病例中炎症有 146 例，占 ASC-US 患者的 67.91%；LSIL 36 例，占 16.74%；HSIL 33 例，占 15.35%。HR-HPV 阳性组 HSIL 的检出率为 29.03% (27/93)，HR-HPV 阴性组 HSIL 的检出率为 4.92% (6/122)，HR-HPV 阳性组和阴性组活检 HSIL 的检出率比较差异有统计学意义 ($\chi^2=23.62, P<0.05$)。

4、ASC-US 患者中 HR-HPV 阳性有 93 例，分型检测检出高危亚型 110 次（其中包括二重、三重和四重感染）。HPV 分型检测检出 15 种高危亚型，其中 6 种主要亚型依次为 HPV16、58、52、33、18、51。HPV16 型阳性率最高，达 36.56%，其次为 HPV58 型，阳性率 27.96%。HPV16 亚型感染者中 HSIL 的检出率为 17.20% (16/93)，HPV58 亚型感染者中 HSIL 的检出率为 5.38% (12/93)，差异有统计学意义 ($\chi^2=5.02, P<0.05$)。

结论

- 1、随着宫颈细胞学病变程度的升高，HR-HPV 阳性率呈逐渐增高的趋势。
- 2、ASC-US 组检出的 6 种主要高危亚型依次为 HPV16、58、52、33、18、51，以单一型为主，其次为二重感染，部分为高/低危型混合性感染。高危亚型中以 HPV16 最常见，其次为 HPV58。

关键词：宫颈癌筛查 人乳头状瘤病毒 液基细胞学 宫颈病变

The Correlation Analysis among Cervical Cytology, HPV Testing and Cervical Biopsy

Postgraduate: Yan Wang

Supervisor: Prof. Hongxin Zhang

Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University
Zhengzhou 450052 Henan

Abstract

Background and objective

The uterine cervical carcinoma remains a serious public health problem in developing countries, and China is no exception. According to the statistics of International Agency for Research on Cancer in 2012, there were about 266,000 cases of cervical cancer deaths in the world, and accounting for 7.5% of all female cancer deaths, and 85% of cervical cancers distributed in developing countries. China's population accounted for about 1/5 of the world, the burden arising from cervical cancer had a significant impact on global. With the promotion and popularization of some screening measures, many precancerous lesions and early cancers of cervical have got prevention and treatment. According to statistics of the Ministry of Health, from the 1850s to 1890s, the rate of cervical cancer detection was from 145/100,000 to 8.2/100,000. However, the data from 2003 to 2010 showed that the incidence and mortality of cervical cancer in the 21st century conversely increased. Study estimated that new cases of cervical cancer were 61,691 in 2012. By 2030, new cases of cervical cancer will rise to 93,500, and by 2050 will reach to 186,600, of which the burdens such as social, economic and so on would have important implications in the world.

Cervical cancer is the most common tumor associated with infections. Studys

have found that the occurrence of cervical cancer and precancerous lesions are associated with the infection of human papillomavirus (HPV). More than 100 types of HPV subtypes have been found, and 13 types of them are identified as subtypes of cancer. But the type HPV16 and 18 are the most important. The average age of the women infected is about 20 years old. It is estimated that 80% percent of sexually active women will be infected with HPV at a time. But more than 90% percent of infections are temporary. Although reinfection of same subtypes of HPV or infections of different subtypes of HPV may occur, the infections may be cleared through immune response in 6-18 months in general. HPV testing can only be judged whether with HPV infection, but it is unable to determine whether it is a persistent infection. Therefore, HPV testing for the screening of cervical cancer and precancerous lesions still has some limitations.

Technical of cervical cytology is simple and convenient, which plays a very significant role in the screening of cervical cancer, especially the application of thinprep cytology test of cervical in recent years. But the professional competence of cytology doctor is limited and subjectivity is obvious, which have a significant impact on Cervical cancer screening.

This study compares and analyzes the correlation between cervical cytology, HPV typing testing and cervical biopsy, which will provide materials for screening of cervical cancer and precancerous lesions.

Methods

Collecting the cases which came from Department of Pathology in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from July of 2014 to December of 2015. Thinprep cytology test of cervical of these cases which all had taken an HPV testing in Department of Laboratory were atypical squamous cells (ASC) and above. According to the lesion severity of cervical cytology, these cases were divided into the following four groups: atypical squamous cells, low grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), squamous cell carcinoma (SCC).

A comparison of the difference of high risk human papillomavirus (HR-HPV) positive rates between each group had been made in this study. In addition, we compared and analyzed the cervical biopsy by colposcopy in patients with atypical squamous cells, not the exception of high grade squamous intraepithelial lesions (ASC-H) and atypical squamous cells of undetermined signification (ASC-US), and the relationship of HR-HPV in patients of ASC-US with results of pathological biopsy by colposcopy. In this study, we all regarded the cervical biopsy by colposcopy as a diagnostic criteria.

SPSS17.0 statistical analysis software was used in this study with $\alpha=0.05$ as the test standards. We regard it as multiple infections when there are two or more types of HPV infections. For multiple infections, we take the various HPV subtypes repeat.

Results

1. The HR-HPV positive rates of ASC, LSIL, HSIL and SCC group were respectively 47.56% (175/368), 66.67% (42/63), 76.34% (100/131) and 83.33% (20/24) in the 586 cases with TCT abnormal. The HR-HPV positive rates between four groups used χ^2 test, and there was a statistically significant difference ($\chi^2=42.55$, $P < 0.05$).

2. The cases of ASC-US and ASC-H who had cervical biopsy by colposcopy in the 368 cases of ASC were respectively 215, 74. The detection rates of HSIL and above in cervical biopsy were respectively 15.35% and 66.22% in the group of ASC-US and ASC-H. The detection rates of HSIL and above between two groups used χ^2 test, and there was a statistically significant difference ($\chi^2=70.09$, $P < 0.05$).

3. There were 93 HR-HPV positive cases in the 215 cases of ASC-US, and the HR-HPV positive rate was 43.26%. We had confirmed that patients with inflammation were 146 cases through cervical biopsy in 215 cases of ASC-US, and accounting for 67.91%. The cases of LSIL, HSIL were respectively 36, 33, and respectively accounting for 16.74%, 15.35%. The detection rate of HSIL was 29.03% (27/93) in group of HR-HPV positive cases, and 4.92% (6/122) in group of HR-HPV negative cases. The detection rates of HSIL between HR-HPV positive group and

HR-HPV negative group used χ^2 test, and there was a statistically significant difference ($\chi^2=23.62$, $P < 0.05$).

4. There were 93 HR-HPV positive cases in the patients of ASC-US. 110 times of HR-HPV were detected in HPV typing testing (including double, triple and even quadruple infections). 15 subtypes of high HR-HPV were detected, including six major subtypes followed by HPV16, 58, 52, 33, 18, 51. The highest rate of HPV positive was the subtype 16, accounting for 36.56%. The following subtype was HPV58, with a positive rate of 27.96%. The detection rate of HSIL was 17.20% (16/93) in the group of HPV16 positive cases, and 5.38% (12/93) in the group of HPV58 positive cases. The detection rates of HSIL between HPV16 positive group and HPV58 positive group used χ^2 test, and there was a statistically significant difference ($\chi^2=5.02$, $P < 0.05$).

Conclusions

1. With the increasing of severity of cytology, the HR-HPV positive rates showed an increasing trend.

2. Six major high risk subtypes followed by HPV16, 58, 52, 33, 18, 51 were checked out in the group of ASC-US. A single infection was the main, followed by double infections, partly for mixed infections of high risk HPV and low risk HPV. In the high risk subtypes, HPV16 was the most common type, and followed by HPV58.

Key words: cervical cancer screening, human papillomavirus, thinprep cytology test, cervical lesions

目 录

正文部分

中英文缩略词表	I
宫颈细胞学与 HPV 检测及宫颈活检的相关性分析	1
引 言	1
对象与方法	1
结 果	4
讨 论	9
结 论	13
参考文献	14

综述部分

宫颈细胞学和 HPV 检测的相关研究进展	17
参考文献	33

附录部分

个人简历、研究生期间发表的期刊论文	41
致 谢	42

中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
WHO	World Health Organization	世界卫生组织
HPV	human papillomavirus	人乳头状瘤病毒
HR-HPV	high risk human papillomavirus	高危型人乳头状瘤病毒
STI	sexually transmitted infection	性传播感染
CIN	cervical intraepithelial neoplasia	宫颈上皮内瘤变
CCS	cervical cancer screening	宫颈癌筛查
SIL	squamous intraepithelial lesions	鳞状上皮内病变
ASCCP	American Society for Colposcopy and Cervical Pathology	美国阴道镜及宫颈病理学会
NILM	no intraepithelial lesion or malignant cells	未见上皮内病变或恶性细胞
ASC	atypical squamous cells	非典型鳞状上皮细胞
LSIL	low grade squamous intraepithelial lesions	低级别鳞状上皮内病变
HSIL	high grade squamous intraepithelial lesions	高级别鳞状上皮内病变
SCC	squamous cell carcinoma	鳞状细胞癌
AGC	atypical glandular cells	非典型腺细胞
ASC-US	atypical squamous cells of undetermined signification	不能明确意义的非典型鳞状细胞
TCT	thinprep cytology test	液基细胞学检查
ACOG	American Congress of Obstetricians and Gynecologists	美国妇产科医师学会
ECM	extracellular matrix	细胞外基质
CDK	cyclin dependent kinase	细胞周期蛋白依赖性激酶
HDACs	histone deacetylases	组蛋白去乙酰化酶
IRF1	interferon regulatory factor 1	干扰素调节因子 1
TERT	telomerase reverse transcriptase	端粒酶逆转录酶
FDA	Food and Drug Administration	美国食品药品监督管理局
ASCC	The American Association for Cancer Control	美国癌症控制学会

LBC	liquid-based cytology	液基细胞学
ASC-H	atypical squamous cells, not the exception of high grade squamous intraepithelial lesions	不除外高级别鳞状上皮内病变的非典型鳞状上皮细胞
PPV	positive predictive value	阳性预测值
NPV	negative predictive value	阴性预测值
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮生长因子
DIM	diindolylmethane	二吲哚甲烷

<http://www.ixueshu.com>

宫颈细胞学与 HPV 检测及宫颈活检的相关性分析

硕士研究生：王 延

导 师：张红新 教授

郑州大学第一附属医院病理科

河南 郑州 450052

引 言

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一，其发病率仅次于乳腺癌。据统计，2008 年全球约有 529800 例宫颈癌新发病例，约 27500 例宫颈癌死亡病例^[1]，给女性的生命安全和生活质量造成了严重影响。目前，约 85% 的宫颈癌发生于发展中国家^[2]，而我国人口基数大，经济水平相对落后且不均衡，致使中国宫颈癌占全球的比例相当高。2002 年世界卫生组织（World Health Organization, WHO）国际癌症研究数据显示，中国的宫颈癌病例占全球的 28.8%，约 13.15 万/10 万^[3]。由于国内不同地区对于宫颈癌的筛查和预防能力的参差不齐，文献所报道的中国各地宫颈癌发病率有一定的差异，这也导致了国内一直没有全面的宫颈癌统计数据。

多种因素共同参与导致了宫颈癌的发生与发展，其中的病因及发病机制十分复杂。有研究显示，宫颈癌的发病可能与多种危险因素有关，如宫颈糜烂、性生活紊乱、早孕、早产、多产、长期使用避孕药、吸烟等^[4]。但许多统计学资料及临床研究均提示高危型人乳头状瘤病毒（high risk human papillomavirus, HR-HPV）与宫颈癌的发病有紧密联系^[5]。宫颈癌最重要的病因是持久性 HPV 感染。几乎 100% 的宫颈癌有 HPV 的感染，特别是致癌亚型例如 HPV16 和 18^[6]。而与持续 HPV 感染的相关因素包括年龄、免疫机能丧失、吸烟、口服避孕药和沙眼衣原体感染^[7]。由于具有致肛门生殖道/口腔癌和疣的特点，HPV 感染已经成为影响全球女性健康的重要问题^[8]。众所周知，约 40 种 HPV 亚型可感染宫颈，其中 13 种（16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 66）被列为高危致癌型^[9,10]，其他 HPV 亚型可导致最常见的性传播感染（sexually transmitted infection, STI），生殖道 HPV 感染常见于性行为活跃的年轻妇女^[11]。

Villa 等^[12]研究发现,高达 70%的年轻妇女 HPV 阳性,这个概率随着性伴侣的增多而增加。幸运的是,大多数年轻女性(30 岁以下) HPV 感染是短暂的,仅有少数转变成持续性感染进而进展为宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)或宫颈癌。因此,用简单的方法来鉴定是否有持续性 HPV 感染是限制大于等于 30 岁妇女筛查的重要因素。持续性的 HPV 感染被认为是多次检测具有相同亚型的 HPV 呈阳性,这种情况下不推荐明确的抗病毒治疗以根除 HPV 感染^[13]。抗病毒治疗主要针对 HPV 感染引起的宏观或病理的癌前病变。

目前,我国常使用的宫颈癌筛查(cervical cancer screening, CCS)方法是 HPV 检测和宫颈细胞学检查。

HPV 检测自 2008 年推出以来,在发达国家得到广泛的使用,于发展中国家逐渐使用并推广,显著降低了宫颈浸润性癌的发病率和死亡率^[14]。宫颈侵袭性癌和癌前病变与持续性 HR-HPV 感染有关。HR-HPV 具有高度传染性。大多数感染没有干预可自愈,而仅少数可能持续存在,并最终导致鳞状上皮内病变(squamous intraepithelial lesions, SIL)。HPV 已被认为是宫颈癌最重要的因素。Colombo 等^[15]曾报道,宫颈癌中 HPV16/18 至少占有 HPV 的 2/3;其次是 HPV31、33、35、45、52 和 58。针对 HPV16/18 的疫苗可以预防全球超过 2/3 的宫颈癌和 50%的高级别鳞状上皮内病变。由于对 HPV 其他亚型的交叉性保护,这些比例可能会更高。另外,HPV18 DNA 的存在可能与预后不良有关。

TBS 报告系统首次出版于 1988 年,以规范的术语来描述宫颈细胞学结果。自此,它成为了日常实践和美国阴道镜及宫颈病理学会(American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP)处理宫颈细胞学筛查异常时的准则。也可以作为其他检查如甲状腺、尿液、胰胆管以及位置较低的肛门生殖道细胞学标准化报告的一种发展模式。

由于缺乏足够的医疗资源、有效的卫生系统及女性因性别歧视而不能获得同等的卫生保健等,宫颈癌的发生具有一定的年龄分布和地域性。随着近年预防 HPV 感染的疫苗的应用,宫颈癌的地域性和年龄分布也发生了一定程度的变化。

本研究主要通过宫颈液基细胞学(thinprep cytology test, TCT)与 HPV 分型检测及宫颈活检的对比,分析其中的相关性,并为宫颈癌及癌前病变的筛查提供一些资料。

对象与方法

1 研究对象

1.1 病例来源

回顾性分析 2014 年 7 月~2015 年 12 月郑州大学第一附属医院病理科宫颈薄层液基细胞学诊断为非典型鳞状上皮细胞 (atypical squamous cells, ASC) 及以上的病例, 且所有病例均已在检验科进行 HPV 分型检测。

1.2 纳入标准

入选者年龄在 20~75 岁, 均有性生活史。

1.3 排除标准

- (1) 既往有宫颈和子宫手术史。
- (2) 妊娠期及哺乳期妇女。
- (3) 检查前 3 天有性活动或阴道局部用药史。

2 研究方法

2.1 试验设计

基于郑州大学第一附属医院妇科 TCT 异常病例的宫颈细胞学、HPV 分型检测及宫颈组织活检的相关性研究分析。

2.2 研究内容

(1) 按宫颈细胞学病变严重程度分为四组: 非典型鳞状上皮细胞 (ASC)、低级别鳞状上皮内病变 (low grade squamous intraepithelial lesions , LSIL)、高级别鳞状上皮内病变 (high grade squamous intraepithelial lesions , HSIL)、鳞状细胞癌 (squamous cell carcinoma , SCC) , 比较各组 HR-HPV 阳性率之间的差异。

(2) 以阴道镜宫颈组织活检为诊断标准, 比较分析 ASC 患者中已进行阴道

镜宫颈组织活检的不除外高级别鳞状上皮内病变的鳞状上皮细胞（ atypical squamous cells, not the exception of high grade squamous intraepithelial lesions, ASC-H ）和不能明确意义的非典型鳞状上皮细胞（ atypical squamous cells of undetermined signification , ASC-US ）患者的病理活检结果。

（3）以阴道镜宫颈组织活检为诊断标准，分析 ASC-US 患者的 HPV 分型检测与病理活检的关系。

2.3 检查方法

2.3.1 TCT 筛查

使用辛柏氏一次性宫颈采样拭子，将拭子的刷头柔和的放在宫颈鳞柱交界处，沿同一方向旋转五周，旋转后将拭子刷头放入辛柏氏细胞保存液中，然后均匀晃动数次。经过离心、震荡、再离心，然后使用 THINPREP 2000 系统制成薄层细胞涂片，巴氏染色。妇科 TCT 的诊断采用 TBS 报告系统：未见上皮内病变或恶性病变（ no intraepithelial lesion or malignant cells, NILM ）、非典型鳞状上皮细胞(ASC)、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、鳞状细胞癌（ SCC ）。检查要求患者处于非月经期，检查前 3 天无性活动、无宫颈手术及阴道局部用药史。宫颈细胞学由 2 位副高以上细胞病理专业医师共同诊断。

2.3.2 HPV 分型检测

使用专用毛刷放入宫颈处沿同一方向旋转数周，获取足够量脱落细胞后立即放入细胞保存液中，标记后使用亚能生物技术（深圳）有限公司生产的亚能 HPV 核酸分型试剂盒进行 HPV 分型检测。高危型 HPV 包括：16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83 亚型，低危型 HPV 包括：6、11、42、43、81 亚型。

HPV 分型检测原理：采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术，利用 HPV 的基因特点设计特异引物，可以扩增出 23 种 HPV 基因型的目标片段，再将扩增出的产物与分型探针进行杂交，分型探针固定在膜条上，包括 18 种高危亚型和 5 种低危亚型，根据固定膜条上有无杂交信号来判断是否有 HPV 基因型的存在，并判断为何种基因型。

2.3.3 阴道镜宫颈组织活检

TCT 诊断为 ASC 的患者中部分患者根据临床表现进行阴道镜宫颈组织活检。阴道镜下辨别并用复方碘涂抹宫颈外口，尤其注意涂抹鳞柱交界处，3 分钟后观察着色浅黄处是否有糜烂、炎症、息肉、湿疣、白斑等，并取材。若未发现病变，常规截石位于宫颈 3、6、9、12 点依次取材，然后置于 10%的中性福尔马林缓冲液中固定后进一步病理检查。

宫颈组织病理学诊断依据 2014 版女性生殖系统 WHO：根据宫颈鳞状上皮病变程度，分为慢性炎症、低级别鳞状上皮内病变（包括 HPV 感染、CIN I 及湿疣）、高级别鳞状上皮内病变（CIN II、CIN III 及鳞状细胞原位癌）和鳞状细胞癌。

组织病理诊断由 2 位副高级妇科专业组医师共同完成。

2.4 统计学方法

使用 SPSS17.0 软件进行统计学分析，以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。有 2 种或 2 种以上 HPV 感染时为多重感染，对于多重感染，各 HPV 亚型重复计数。

结 果

1 TCT 与宫颈活检的形态学表现

1.1 宫颈液基细胞学

HPV 感染：典型表现是鳞状上皮细胞稍增大，单核或双核、核稍增大、轻度深染、核膜略不规则，核周具有穴样空泡（即核周空晕），胞浆呈蓝色、红色或嗜双色。

ASC-US：细胞核增大，面积比正常中层细胞核大 2.5~3 倍，核浆比轻度增加，核与细胞形状有些不一致，可见到双核，细胞核轻度深染，染色质分布均匀，核轮廓光滑、规则，少见不规则的核轮廓。

ASC-H：细胞常常散在或不超过 10 个细胞的小片状排列，化生细胞核比正常增大 1.5~2.5 倍，核浆比近似 HSIL 并伴核染色质灶性分布不均，但诊断为 HSIL 的证据尚不充分。

LSIL：核增大于正常中层细胞核面积至少 3 倍，核大小形状中度不一致，双核或多核常见，核深染，染色质分布均匀，核仁少见。

HSIL：细胞大小比 LSIL 小，细胞核异常，其大多数鳞状上皮具有“不成熟”胞浆，核增大在 LSIL 范围内，但胞浆面积减少而使核浆比明显增大，核深染明显，染色质可能细颗粒状或块状，但分布均匀，核轮廓可能不规则，核仁常常不明显。

SCC：细胞核明显增大，不规则，染色质增多，核浆比重度失常，粗颗粒状并分布不均匀，出现块状。常常可见明显的核仁。细胞的大小和形状可相差悬殊。

宫颈细胞学各级病变见图 1。

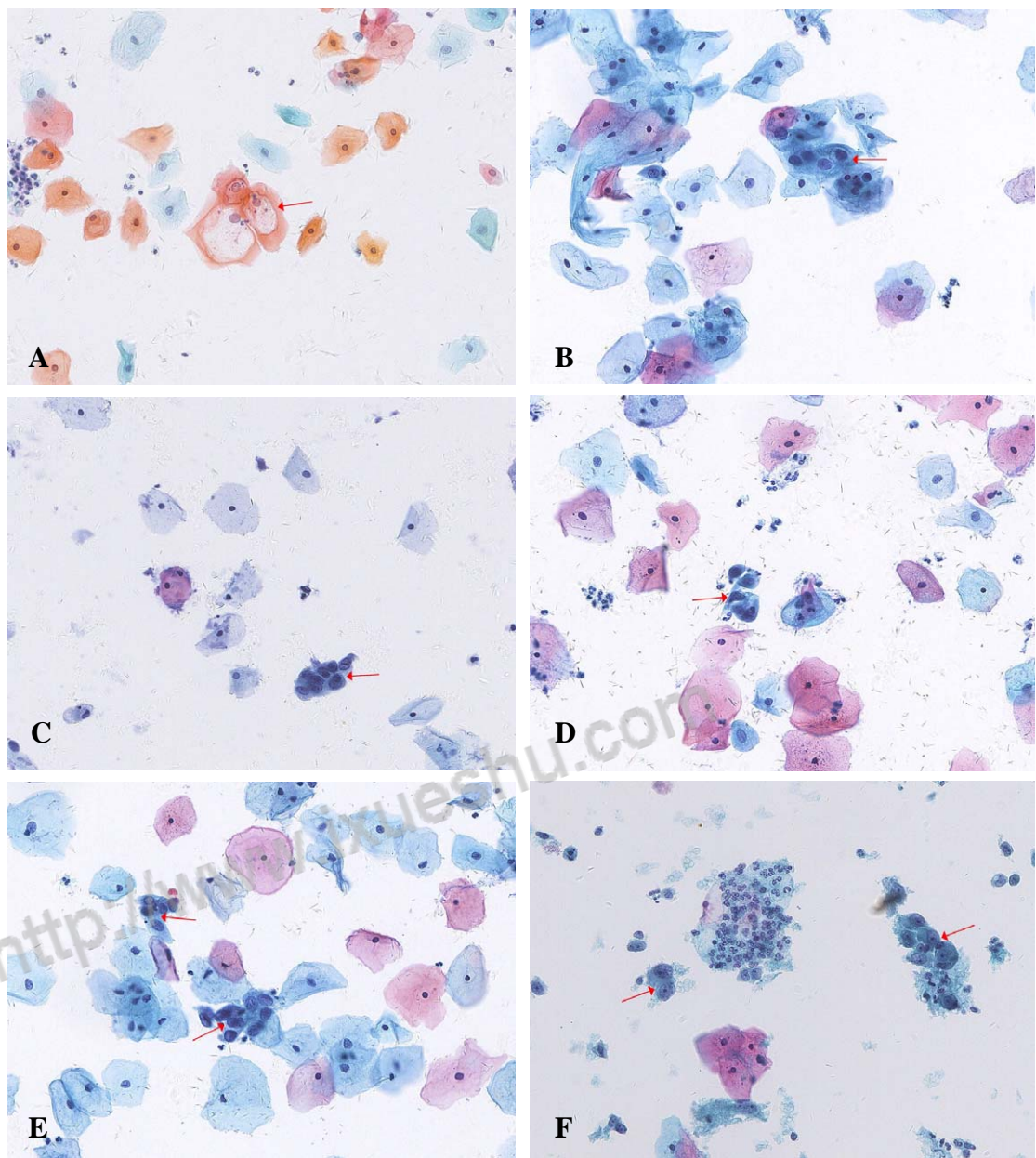


图 1 TCT 检查中宫颈各级病变的细胞学形态 (箭头所示为异常细胞)

A.HPV 感染 B.ASC-US C.ASC-H D.LSIL E.HSIL F.SCC (20×10 倍)

1.2 宫颈组织活检的形态学结果

宫颈低级别鳞状上皮内病变包括 CIN I、HPV 感染和湿疣，主要是 CIN I，而 CIN I 是指异型细胞局限于鳞状上皮层的下 1/3。

宫颈高级别鳞状上皮内病变包括 CIN II、CIN III 及宫颈原位癌。CIN II：异型细胞累及鳞状上皮层的下 1/3 至 2/3；CIN III：增生的异型细胞超过鳞状上皮

全层的 2/3，但未累及上皮全层；宫颈原位癌：异型增生的细胞累及宫颈鳞状上皮全层，但病变仍局限于上皮层内，未突破基膜。

鳞状细胞癌：癌组织突破基底膜，向间质内浸润性生长，形成一些不规则的癌细胞巢或条索。

LSIL、HSIL 及 SCC 见图 2。

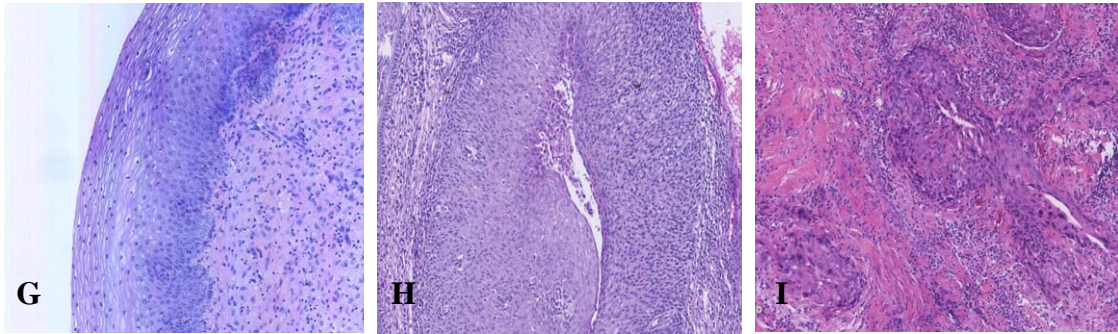


图 2 宫颈活检中各级宫颈上皮内病变的形态学表现

G. LSIL H. HSIL I. SCC (HE 10×10 倍)

2. 各检查结果之间的比较

2.1 HPV 检测结果

586 例宫颈细胞学异常的病例中，368 例为 ASC，HR-HPV 阳性率为 47.56% (175/368)；LSIL 为 63 例，HR-HPV 阳性率为 66.67% (42/63)；HSIL 为 131 例，HR-HPV 阳性率为 76.34% (100/131)；SCC 为 24 例，HR-HPV 阳性率为 83.33% (20/24)。4 组之间进行 HR-HPV 阳性率之间的 χ^2 检验，差异有统计学意义 ($\chi^2=42.55$ ， $P<0.05$)。见表 1。

表 1 妇科 TCT 异常的各组的 HR-HPV 阳性率结果 (n (%))

分组	HR-HPV 阳性	HR-HPV 阴性	合计	χ^2	P
ASC	175 (47.56)	193 (52.44)	368	42.55	0.00
LSIL	42 (66.67)	21 (33.33)	63		
HSIL	100 (76.34)	31 (23.66)	131		
SCC	20 (83.33)	4 (16.67)	24		

2.2 ASC 病例中 ASC-US 与 ASC-H 组活检结果的对比

368 例 ASC 病例中行阴道镜下宫颈组织活检的 ASC-US 和 ASC-H 分别有 215、74 例，二者活检 HSIL 及以上的检出率分别为 15.35% 和 66.22%。2 组之间进行 χ^2 检验，差异有统计学意义 ($\chi^2=70.09$, $P<0.05$)。见表 2。

表 2 ASC-US 与 ASC-H 组活检结果的对比 (n)

分组	组织学病理结果			χ^2	P
	炎症和 LSIL	HSIL 及以上	合计		
ASC-US	182	33	215	70.09	0.00
ASC-H	25	49	74		

2.3 ASC-US 病例的 HPV 分型检测及其与阴道镜下宫颈活检的关系

215 例 ASC-US 病例中 HR-HPV 阳性为 93 例，阳性率为 43.26%。宫颈活检证实 215 例 ASC-US 病例中炎症有 146 例，占 ASC-US 患者的 67.91%，LSIL 有 36 例，占 16.74%，HSIL 有 33 例，占 15.35%。HR-HPV 阳性组活检 HSIL 的检出率为 29.03% (27/93)，HR-HPV 阴性组活检 HSIL 的检出率为 4.92% (6/122)，2 组比较差异有统计学意义 ($\chi^2=23.62$, $P<0.05$)。见表 3。

表 3 215 例 ASC-US 病例的 HPV 分型检测及宫颈活检病理结果 (n)

HR-HPV 检测 结果	宫颈活检病理检查		χ^2	P
	炎症和 LSIL	HSIL		
阳性	66	27	23.62	0.00
阴性	116	6		
合计	182	33		

行阴道镜活检的 ASC-US 患者中 HR-HPV 阳性有 93 例，分型检测检出高危亚型 110 次（其中包括二重、三重和四重感染）。HPV 分型检测检出 15 种高危亚型，其中 6 种主要亚型依次为 HPV16、58、52、33、18、51。HPV16 型感染率最高，达 36.56%，其次为 HPV58 型，感染率 27.96%。HPV16 亚型感染者中活检 HSIL 的检出率为 17.20% (16/93)，HPV58 亚型感染者中活检 HSIL 的检出

率为 5.38% (12/93) , 差异有统计学意义 ($\chi^2=5.02$, $P < 0.05$) 。见表 4。

表 4 ASC-US 中 HPV 主要高危亚型与活检病理检查结果 (n (%))

HPV 主要 高危亚型	组织学病理结果		合计
	炎症和 LSIL	HSIL	
HPV16+	18 (19.35)	16 (17.20)	34 (36.56)
HPV58+	21 (22.58)	5 (5.38)	26 (27.96)
HPV52+	16 (17.21)	4 (4.30)	20 (21.51)
HPV33+	8 (8.60)	4 (4.30)	12 (12.90)
HPV18+	5 (5.38)	2 (2.15)	7 (7.53)
HPV51+	5 (5.38)	1 (1.08)	6 (6.46)

注：部分病例存在多重感染。

讨 论

据统计,随着人们生活行为习惯的改变,宫颈癌在我国的发病率呈现逐年增高且有年轻化的趋势^[16]。通过早期筛查和及时治疗可以明显降低宫颈癌发病率和死亡率^[17]。因此,宫颈癌的筛查已成为降低宫颈癌发病率和死亡率的重要方法。

HPV是性关系中最常见的感染,通常发生在女性性活动的早期。2005年,HPV检测成为筛查宫颈癌的一种必要手段^[18]。HPV是乳多空病毒科的一种环状双链DNA病毒,其持续性感染是宫颈癌及癌前病变发生、发展的重要因素。研究报道70%左右的女性一生会出现HPV感染,但大部分患者机体抵抗力恢复后感染会自行消退^[19]。Carozzi等^[20]发现HPV检测具有较高的阴性预测值和较高的阳性预测值,若ASC-US阳性但阴道镜活检阴性,可以通过HPV分型检测来指导下一步的临床处理。因此,HPV检测对于宫颈癌的筛查具有不可替代的作用。

宫颈液基细胞学检查简单、方便,制片的过程中已去除了粘液等干扰因素,提高了宫颈鳞状上皮内病变的检出率,在宫颈癌及癌前病变的筛查中已逐渐取代常规刮片巴氏涂片法,但仍有较高的漏检率^[21]。2004年版宫颈细胞学Bethesda报告系统虽规范了宫颈细胞学的诊断,但由于阅片主观性较强,各地区诊断标准仍未达成统一的标准。有研究表明^[22],TCT具有更高的阳性预测值和灵敏度,而HPV检测具有较高的阴性预测值和特异性,2种检测方法各有千秋。一些发达国家建议在宫颈癌的筛查中将HPV和TCT进行联合检测^[23]。

本研究结果中 TCT 筛查异常的 4 组患者即 ASC、LSIL、HSIL、SCC,其HR-HPV 阳性率分别为 47.56%、66.67%、76.34%、83.33%,随着宫颈细胞学病变程度的升高,HR-HPV 感染率呈升高趋势,与国内此类资料基本一致^[24],部分结果相差较大者可能是由于送检标本量、处理方法等不同而致。研究表明,无 HPV 的持续感染,女性基本无发生宫颈癌的可能^[25],但本研究 SCC 组 HR-HPV 阳性率为 83.33%,未达 100%,可能与检测手段有局限性而无法检测出病毒有关,也可能是感染的 HPV 类型特殊,目前还尚未发现与辨别,但同时我们也无法除外存在 HPV 真阴性宫颈癌的可能。这种 HPV 真阴性的宫颈癌的可能发病机制包括以下: HPV 阴性的宫颈癌中常常显示 P53 基因发生了突变,P53 基因发生突变与 HPV 的 E6 蛋白具有类似的致癌性^[26,27]; PRAD1 基因异常,PRAD1

定位于 11q13 , 可促进细胞周期从 G0 期进入 G1 期^[28]。Kurrock 等人^[29]的研究显示 ,13 个来自外阴或宫颈的鳞状细胞癌细胞系 ,其中 7 个细胞系检测到 PRAD1 发生了突变 ,表明 PRAD1 基因异常可能是宫颈癌的另一种发生机制。总之 ,多种因素的综合作用导致了宫颈癌的发生与发展 ,而 HPV 感染是其中一个重要病因 ,但独立于 HPV 感染之外的其他发病机制亦不能排除。

随着 HPV 各亚型与宫颈病变相关性研究的逐渐深入 , HPV 分型检测亦越来越受关注。ASC-US 患者的活检查结果差别较大 ,可能是炎性病变 ,也可能为宫颈浸润性癌。资料表明 , ASC-US 患者中有相当部分的宫颈活检结果为宫颈上皮内病变^[22]。本研究 215 例 ASC-US 宫颈活检 HSIL 的检出率为 15.35% (33/215)。因此 , TCT 诊断为 ASC-US 时宫颈可能存在着潜在的病变 , 其进一步处理策略十分重要 , 需引起足够的重视。若 ASC-US 患者的 HR-HPV 阳性 , 需要行阴道镜宫颈组织活检 , 进一步提高宫颈高级别鳞状上皮内病变的检出率 , 若 HR-HPV 阴性 , 可宫颈液基细胞学随访 , 定期复查。ASC-US 组检出的 6 种主要高危亚型依次为 HPV16、58、52、33、18、51 , 以单一型为主 , 其次为二重感染 , 部分为高/低危型混合感染。高危亚型中以 HPV16 最常见 , 其次为 HPV58 , 二者阳性率分别为 36.56%、27.96% , HPV16 阳性组和 HPV58 阳性组宫颈活检 HSIL 的检出率分别为 17.20%、5.38% , 与董秀珍等^[30]报道的存在着一定的差异 , 考虑可能与区域或年龄组差异有关 , 也可能与不同实验室之间检测的方法及其准确度有关。

2012 年 , 美国妇产科医师协会 (American Congress of Obstetricians and Gynecologists , ACOG) 指出 , 对于 HPV16 和 18 型感染的患者 , 细胞学检查阴性时 , 也建议行阴道镜检查^[31]。因此 , 临床处理 ASC-US 患者时 , 也最好能结合 HPV 分型检测。当 HPV16、58、52、33、18 阳性时 , 应警惕其宫颈上皮内病变的可能 , 尤其对于 ASC-US 伴 HPV16 感染的女性 , 可立即行阴道镜宫颈组织活检。有文献报道 , 相当比例的宫颈腺癌患者伴有 HPV18 感染^[16] , 对于 HPV18 感染的 ASC-US 患者 , 也需要注意宫颈腺癌的可能。

本研究中 ASC-H 组与 ASC-US 组病理活检结果相比 , HSIL 及以上的检出率 (66.22%) 明显较高 , 其发展为高级别鳞状上皮内病变和宫颈癌的风险很大。因此 , 对于 ASC-H 组的后续处理要引起重视。ASC-H 的细胞学诊断是一种相对较新的细胞学分类 , 是非典型鳞状细胞的子集 , 这在 2001 年 Bethesda 系统中被正式提出^[32]。ASC-H 的细胞学特点介于 ASC-US 和 HSIL。作为一种少见的细胞学解释 , ASC-H 报告的很少 , 并且不同实验室之间巴氏涂片检查诊断为 ASC-H

的流行病学有很大差别,美国 ASC-H 的报告率为 0.43%^[33]。有研究发现,ASC-H 患者高危型 HPV 常常阳性^[34],有相对较高的发展为 CIN 或 CIN 的潜在风险,范围分别是 13%-66%^[35]、从 11%-35%^[36]。相比之下,ASC-US 是更为普遍的细胞学分类,其发展为 CIN 和 CIN 的可能性较低^[37]。对宫颈细胞学异常的管理取决于病变的严重性和其未来发展为宫颈高级别鳞状上皮内病变或宫颈癌的风险^[38]。证据一致支持使用 HPV 检测分流妇女 ASC-US 的建议^[37],共识普遍建议所有 TCT 诊断为 HSIL 的妇女直接行阴道镜检查^[39],但国际上对中间严重程度的细胞学异常如 LSIL、非典型腺细胞(atypical glandular cells, AGC)和 ASC-H 的管理存在分歧。美国和欧洲指南推荐 ASC-H 的妇女立即行阴道镜下宫颈组织活检^[38]。2006 年美国阴道镜和宫颈病理学会(ASCCP)共识主要是基于 ASC-US/LSIL 的数据分流研究,该共识指出,ASC-H 的高危型 HPV 阳性率较高(84%),与 ASC-US 相比,其患有高级别鳞状上皮内病变的潜在风险较高^[40]。因此,更新的 2012 年准则继续建议无论 HPV 结果如何,细胞学为 ASC-H 的妇女立即阴道镜检查^[38],虽然这项建议的证据水平分级为中等。然而,匹兹堡大学医学中心(UPMC)进行了回顾性的研究了 885 例 ASC-H 但 HPV 阴性患者的随访结果。随访平均 29 个月,仅 14 例(1.6%)显示为 CIN,无一例被诊断为浸润性宫颈癌^[41]。这些数据表明 HPV 分流在 ASC-H 妇女的管理中可能会有用。为了减轻诊断检查的负担、防止过度医疗和切除病变的相关副作用^[42],提高 ASC-H 女性管理的安全性和有效性是有必要的。

2014 年出台的美国宫颈癌初筛的中期指南指出,高危型 HPV 检测阴性对于预测宫颈上皮内瘤变 < CIN 比细胞学检测阴性可靠性更强。大多数指南也推荐单独的细胞学检测和细胞学联合 HPV 检测。而当前美国普遍认为 HR-HPV 检测至少和宫颈细胞学同样有效。因此,HPV 可以被认为是目前美国宫颈癌的替代筛查方案。指南建议 HPV 检测阳性的妇女的分流措施是联合 HPV16/18 基因分型检测,若 HPV16/18 阳性,则立即行阴道镜下宫颈组织活检;其他 12 种 HPV 高危亚型阳性时需行宫颈细胞学检测,细胞学 ASC-US,则继续行阴道镜下宫颈组织活检,细胞学为 NILM 时,则 1 年内随访;HPV 初筛阴性时,则以后常规筛查。

中期指南指出 HR-HPV 不应应用于年龄小于 25 岁女性的宫颈癌初筛,HR-HPV 初筛年龄过早会导致阴道镜下宫颈活检的数量大大增加。建议单独进行宫颈细胞学检查的初始年龄为 21 岁,而细胞学联合 HPV 检测筛查的初始年龄为 30 岁。在筛查最佳时间间隔上,HR-HPV 初筛为阴性的女性,再次筛查时间

间隔不应低于 3 年；单独的细胞学检测每 3 年 1 次，细胞学联合 HR-HPV 检测每 5 年 1 次，联合筛查较细胞学单独检测时安全性更好。同时，指南认为 HR-HPV 初筛阴性后间隔 3 年至少与间隔 5 年的联合性筛查具有同等的效果。因此，许多人认为 HR-HPV 检测是细胞学检测的一种替代方法，但需要注意筛查人群年龄的问题。

结 论

- 1、随着宫颈细胞学病变程度的升高，HR-HPV 阳性率呈逐渐增高的趋势。
- 2、ASC-US 组检出的 6 种主要高危亚型依次为 HPV16、58、52、33、18、51，以单一型为主，其次为二重感染，部分为高/低危型混合性感染。高危亚型中以 HPV16 最常见，其次为 HPV58。

参考文献

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F et al. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [on-line] 2010, <http://globocan.iarc.fr>
- [2] Ferlay J, Parkin DM, Pisani P. GLOBOCAN 1: cancer incidence and mortality worldwide. In. 3 ed. Lyon: IARC Press: IARC CancerBase, 1998.
- [3] 王临红, 岳琇. 妇科肿瘤流行病学. 见: 曹泽毅主编. 中国妇科肿瘤学. 北京: 人民军医出版社, 2011, 51-71.
- [4] 吴亚猛, 陈思瑶, 张琳娜, 等. 宫颈癌治疗机制的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2014(05): 383-386.
- [5] Khan MJ, Castle PE, Lorinez AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human Papilloma virus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice [J]. Natl Cancer Inst, 2005, 97(14): 1072-1079.
- [6] Colombo N, Carinelli S, Colombo A, et al. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol. 2012 Oct, 23 Suppl 7: vii27-32.
- [7] Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next?[J]. Microbiome. 2016, Nov 1;4(1):58.
- [8] Seaman WT, Andrews E, Couch M, et al. Detection and quantitation of HPV in genital and oral tissues and fluids by real time PCR. Virol J. 2010, 7(1): 194.
- [9] IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; 2012. Available: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100B/mono100B.pdf> (Accessed 7/2014).
- [10] Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. The Lancet. 2007, 370(9590): 890-907.
- [11] Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, et al. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): A randomized controlled trial. Lancet Oncol. 2009, 10(7): 672-682.
- [12] Villa L, Denny L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. Int J Gynecol Obstet. 2006, 94(Suppl 1): 71-80.
- [13] Nielsen A, Kjaer SK, Munk C, et al. Persistence of high-risk human papillomavirus infection in a population based cohort of Danish women. J Med Virol. 2010, 82: 616-623.
- [14] Mark AK. Preventing cancer with vaccines: progress in the global control of cancer[J]. Cancer Prev Res 2012, 5: 24-29.
- [15] Colombo N, Carinelli S, Colombo A, et al. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice

- Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Annals of Oncology*. 2012, 23 (Supplement 7): vii27–vii32.
- [16] 张保华,王泽华,卢实. 76例宫颈癌患者的临床特征及预后影响因素分析[J]. *山东医药*, 2014, 44(27): 47-48.
- [17] 马莉,丛笑,卞美璐,等. 高危型HPV分型检测作为子宫颈癌及其癌前病变初筛手段的探讨[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(4): 246-252.
- [18] 刘国忠,于黎明,宋海燕,等. HPV分型检测在子宫颈病变诊断中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(6): 446-450.
- [19] 常小垒,郭科军,张颐. HPV亚型与子宫颈癌前病变及癌变的关系探讨[J]. *中国医科大学学报*, 2014, 43(8): 720-723.
- [20] Carozzi FM, Iossa A, Scalisi A, et al. hr-HPV testing in the management of women with ASC-US+ and in the follow-up of women with cytological abnormalities and negative colposcopy. Recommendations of the Italian group for cervical cancer screening (GISCI)[J]. *Epidemiol Prev*. 2015 May-Jun, 39(3 Suppl 1): 84-90.
- [21] Goodrich SK , Pretorius RG , Du H , et al. Triage of women with negative cytology and positive high-risk HPV: an analysis of data from the SHENCCAST II /III studies[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2014, 18(2): 122-127.
- [22] 喻焱,郭变琴,罗光丽,等. 液基细胞学与高危型HPV-DNA联合检测在宫颈病变筛查中的意义[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(11): 1550-1554.
- [23] Jin XW, Lipold L, McKenzie M, et al. Cervical cancer screening: what's new and what's coming?[J]. *Cleveland J Med*, 2013, 80(3): 153-160.
- [24] 周玲,刘正飞,邹萍. HPV亚型感染与宫颈病变的临床观察[J]. *四川医学*, 2012, 33(6): 1012-1014.
- [25] Cox JT. Human papilloma virus testing in primary cervical screening and abnormal papanicolaou management [J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2006, 61(6): 15-25.
- [26] Crook T WD, Vousden KH. P53 point mutation in HPV negative human cervical carcinoma cell lines[J]. *Oncogene*, 1991, 6:873-875.
- [27] Crook T VK. Properties of P53 mutations detected in primary and secondary cervical cancers suggest mechanisms of metastasis and involvement of environmental carcinogens [J]. *EMBO J*, 1992, 11: 3935-3940.
- [28] Hunter T PJ. Cyclins and cancer :cyclin D and CDK inhibitors come of age[J]. *Cell*, 1994, 79: 573-582.
- [29] Kurzrock R SKM, Talpaz M. Abnormalities in the PRAD1(cyclin D1/BCL 1) oncogene are frequent in cervical and vulval squamous cell lines[J]. *Cancer Res*, 1995, 75: 584-590.
- [30] 董秀珍,倪淑芳,杨传崇. HPV-DNA分型检测在ASCUS分层处理中的临床价值[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(28): 4745-4747.
- [31] Carozzi FM, Iossa A, Scalisi A, et al. Committee on Practice Bulletins Gynecology. ACOG Practice Bulletin Number 131: Screening for cervical cancer[J]. *Obstet Gynecol*, 2012, 120(5): 1222-1238.

- [32] Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system: terminology for reporting results of cervical cytology[J]. JAMA. 2002;287:2114-2119.
- [33] Davey DD, Greenspan DL, Kurtycz DF, Husain M, Austin RM. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion: review of ancillary testing modalities and implications for follow-up[J]. J Low Genit Tract Dis. 2010;14:206-214.
- [34] Zhao C, Moriarty AT, Ghofrani M, et al. Human papillomavirus testing and reporting rates in 2012: results of a College of American Pathologists national survey[J]. Arch Pathol Lab Med. 2015;139: 757-761.
- [35] Pretorius RG, Peterson P, Novak S, et al. Comparison of two signal-amplification DNA tests for high-risk HPV as an aid to colposcopy[J]. J Reprod Med. 2002;47:290-296.
- [36] Monsonego J, Pollini G, Evrard MJ, et al. Detection of human papillomavirus genotypes among high-risk women: a comparison of Hybrid Capture and Linear Array tests[J]. Sex Transm Dis. 2008;35: 521-527.
- [37] Arbyn M, Roelens J, Simoens C, et al. Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions[J]. Cochrane Database Syst Rev. 2013;3:1-201.
- [38] Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors[J]. J Low Genit Tract Dis. 2013; 17:S1-S27.
- [39] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. Am J Clin Pathol. 2012;137:516-542.
- [40] Sherman ME, Castle PE, Solomon D. Cervical cytology of atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H): characteristics and histologic outcomes[J]. Cancer. 2006;108:298-305.
- [41] Cohen D, Austin RM, Gilbert C, et al. Follow-up outcomes in a large cohort of patients with human papillomavirus-negative ASC-H cervical screening test results[J]. Am J Clin Pathol. 2012;138:517-523.
- [42] Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, et al. Peri-natal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a meta-analysis[J]. BMJ. 2008; 337: a1284.

综述

宫颈细胞学和 HPV 检测的相关研究进展

王 延 综述

张红新 校审

摘要

宫颈癌是女性第二常见的癌症，2008年全球估计约529828例新发病例，同时有275128例宫颈癌死亡病例，全球超过85%的宫颈癌分布在发展中国家，而发展中国家的宫颈癌约占妇女所有癌症的13%^[1]。宫颈癌在发展中国家年龄标准化死亡率是10/10000，比发达国家高出三倍之多^[2]，并且随着人们行为习惯的改变，我国宫颈癌的发病率呈现逐年增高且年轻化的趋势^[3]，对女性的生命健康和生存质量均产生严重的影响。

据估计，全球每年有 1%至 2%的妇女发展成宫颈鳞状上皮内病变（CIN 和 CIN⁺）^[4]，这些病变最终可能进展为宫颈鳞状细胞癌，80%至 90%的宫颈癌由此发展而来^[5,6]。因此，对 CIN 和 CIN⁺ 的筛选和早期治疗是重要的，它可以成功地降低宫颈癌的病死率^[7]。这种通过既定的筛查程序减少死亡率主要归因于以下几个方面：在浸润性癌的早期阶段增加检测；对宫颈癌前病变的检测和治疗，降低了浸润性癌的整体发病率^[8]。WHO 宫颈癌综合防治基本实践指南中提出，宫颈癌的预防包括以下三级：

一级预防：对 9-13 岁女童接种 HPV 疫苗，使她们在开始性行为前产生免疫。

二级预防：对 30 岁以上的女性进行 VIA（醋酸着色后肉眼观察）或 HPV 检测等筛查项目，然后对检出的有发展成宫颈癌风险的癌前病变进行治疗。

三级预防：向宫颈癌患者提供癌症相关管理和治疗，包括手术治疗、化疗和放疗，必要时姑息治疗。

在世界范围内将人乳头状瘤病毒（human papillomavirus, HPV）阴性病例重新检测的流行病学研究表明，几乎所有的宫颈癌可以检测到 HPV 感染，且基本均为 HPV 高危亚型^[9]，而宫颈癌是女性死于癌症的第二大原因，约半数进展期宫颈癌的妇女死于该病。比较乐观的是一些 HPV 的疫苗的问世，特别是在发展

中国家，但是对于那些已经感染 HPV 的相当数量的男性和女性，就意味着这部分 HPV 相关性疾病在几十年后将仍然是一个重大的公共卫生问题。因此，对于宫颈癌的筛查仍然是重中之重。宫颈癌的预防主要包括初级预防和二级预防，初级预防通过接种疫苗来预防 HPV 感染，而二级预防则是筛查检测和治疗宫颈癌前病变。目前我国宫颈癌的筛查主要采用 HPV 检测和宫颈细胞学检查。

在这篇综述中，我们总结了宫颈癌的常用筛查方法即宫颈细胞学和 HPV 检测的相关研究进展，如 miRNA 在 HPV 相关的癌症中的作用机制、干细胞生物学在 HPV 阳性宫颈癌患者中的意义、HPV 疫苗、p16INK4a/Ki-67 在免疫细胞学上的应用、宫颈液基细胞学的 TBS 报告系统的内容更新及宫颈癌及癌前病变的治疗。

1 与 HPV 相关的各种因素在宫颈癌发生、发展中的作用

众所周知，宫颈癌最重要的致病风险因素之一是持续性的 HPV 感染。99% 的宫颈癌可以检测到 HPV 的感染，特别是致癌亚型如 HPV16 和 18。传统的宫颈癌初步筛查技术是巴氏涂片检查，但 2008 年推出的 HPV-DNA 检测，在许多发达国家得到了广泛应用，在发展中国家也逐渐推广，显著减少了进展期宫颈癌的发生率和死亡率^[10]。

在 HPV 疫苗接种的时代，我们期望宫颈癌的发病率会降低，尤其是在那些已经推出了大规模的预防接种的发达国家。大多数发达国家已经常规免疫接种 HPV 疫苗，在 2010 年已接种超过 6000 万剂量的疫苗，保护率达 70%^[11]。然而，宫颈癌在经济发达的国家和地区仍然是一重大的公共卫生问题。欧洲每年有 54517 例新发病例被诊断为浸润性子宫颈癌，24874 例妇女死于这种疾病^[11]，而发展中国家的情况更是不容乐观。

人类乳头状瘤病毒是一组小的、无包膜的双链 DNA 病毒，分类属于乳头瘤病毒科家族。目前已经发现了大约 200 种 HPV 亚型。HPV 不仅是一种特殊的微生物，而且表现为嗜鳞状上皮细胞的特点。一大部分的 HPV 亚型主要感染皮肤的鳞状上皮细胞，其他一些亚型感染黏膜鳞状上皮细胞^[12]，而感染黏膜的这些 HPV 亚型可以被分为“高危”和“低危”，这取决于病毒导致恶性鳞状上皮内病变的能力。低危型 HPV 可以引起生殖器疣，如 HPV6 和 11。高危型 HPV 可以引起鳞状上皮内病变，可能发展为恶性，如 HPV16 和 HPV18^[13]。

1.1 高危型 HPV E6/7 的分子活动

高危型HPV与几乎100%的宫颈癌、一部分的肛门外生殖器肿瘤及大约1/4的口咽部肿瘤有关^[14,15]。病毒癌基因蛋白E6和E7联合作用，破坏了控制细胞周期的细胞调控通路和细胞的存活^[16,17]。E7癌基因蛋白将绑定到20种以上细胞目标，并干扰许多细胞周期，导致细胞周期进程的失控、恶性转化、中心体扩增、DNA损伤、失巢（脱落）凋亡损失和非依赖型细胞贴壁生长、免疫监视逃逸，然后感染持续。E7癌基因蛋白终止了细胞生长抑制和凋亡，诱导基因组不稳定性、体细胞突变，激活端粒酶、端粒酶逆转录酶，促进无限增殖，扰乱细胞极性，防止失巢凋亡，并允许细胞增长，但同时细胞外基质(extracellular matrix, ECM)无增长。总之，这些发现都表明，E6和E7是一种多功能蛋白质，调控着HPV的肿瘤发生的转化与主要的致癌性。

高危型HPV的E6和E7癌基因蛋白最突出的目标是肿瘤抑癌基因p53和pRb家族蛋白质^[16,17]。E7癌基因蛋白与大量的宿主蛋白互相作用^[18]，尤其是高危型HPV的E7蛋白，它的靶目标是pRb家庭蛋白质的降解，从而抑制pRb介导抑制的E2F应答基因。此外，它还抑制细胞周期蛋白依赖性激酶（cyclin dependent kinase, CDK）抑制剂p21和p27，并激活细胞周期蛋白A/CDK2和E/CDK2^[19]。E7还与组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylases, HDACs）互相作用，从而影响细胞基因的表达^[20]。因此，E7破坏了细胞周期控制和诱导过度增殖。E7的过表达通过加强CDK2活性和与 γ -微管蛋白的相互作用而刺激中心体扩增，有助于染色体变化的积累，增加了基因组不稳定性的风险^[21]。此外，E7与p600的相互作用，阻止失巢（脱落）凋亡和贴壁非依赖型细胞生长^[22]。最后，E7可以使干扰素调节因子1（Interferon regulatory factor 1, IRF1）失活，有助于逃避免疫监视和建立持续性感染^[23]。各型HPV的E6癌基因蛋白与各种各样的宿主蛋白质互相作用^[24]。p53是其中最重要的目标。高危型HPV的E6癌基因蛋白与E6相关蛋白(E6AP)、p53蛋白形成三聚体，导致p53蛋白的降解^[25,16]。E6与组蛋白乙酰转移酶p300、CREB结合蛋白（CBP）、变更/缺失激活酶-3（ADA3）相互作用，以阻止p53蛋白的乙酰化作用，从而抑制转录p53蛋白的基因^[26]。因此，p53依赖的细胞对异常增殖、基因组不稳定性及突变的反应，是通过E6被抑制的。通过与IRF3的相互作用^[27]，E6将中断干扰素的应答反应。E6/E7通过抑制生长抑制因子诱导细胞凋亡，并通过BAX和BAK的退化阻止TNF- α -FADD（FAS 相关蛋白与死亡域）半胱氨酸蛋白酶8信号^[28,29,30,31]。另外E6激活端粒酶逆转录酶（telomerase reverse

transcriptase, TERT) 和端粒酶, 因此阻止了端粒在持续增殖、无限增殖反应中的缩短^[32,33]。此外, E6介导的几个结构域蛋白抗体的退化降解包含宿主蛋白, 这就导致了细胞极性的消失, 诱导增生^[34]。

在最近的一份研究报告中, White等人^[35]应用大量的光谱测定依赖法的平台, 以系统地识别和描述HPV癌基因蛋白与宿主细胞蛋白之间的相互作用。他们发现了HPV E6与宿主蛋白在常见的种属中相互作用或具体的方式。E6相互作用数据集不仅包含先前报道的E6相互作用蛋白, 例如p300/CBP、E6AP及p53, 而且新发现的蛋白质如Ccr4-Not与E6也有复杂的相互作用。Ccr4-Not作为一种腺嘌呤酶从酵母菌到人类都存在, 并影响mRNA代谢^[36]。另外, 它拥有链接泛素化和蛋白酶体之间泛素连接酶的作用。这些研究结果, 一方面, 为HPV不同的生物学研究提供一个全面的数据库。另一方面, 他们认为当前对HPV癌基因蛋白的功能的理解并不全面。因此, 对HPV癌基因蛋白多方面作用的继续探索在控制细胞增殖和癌变的过程中是必要的。

1.2 miRNA 在与 HPV 相关癌症中的作用

miRNAs是非编码的18-25个核苷酸大小的调控RNAs。他们来源于RNA聚合酶II编码或非编码基因的转录产物^[37]。miRNAs的表达是组织特定的分化。他们在转录后水平通过与互补的核苷酸序列的目标mRNA的碱基配对来调节基因的表达, 这就导致mRNA的退化或翻译的抑制^[38,39]。作为转录组的一部分, 这些小的非编码RNA因为其起源和调节基因表达的能力已经引起越来越多的关注。已经发现的是miRNA表达是在高危型HPV的染色体的脆性位点或整合位点附近^[40]。HPV癌基因的整合可能通过删除、放大或基因组重排来改变miRNA表达^[41]。大量的miRNA基因受转录因子c-Myc、p53、和E2F的控制, 这些转录因子是致癌HPV的E6和E7的靶因子^[42]。例如, E6介导的p53蛋白的降解作用降低了miR-34a的表达^[43,44]和miR-23b的转录水平^[45]。此外, E6和E7癌基因蛋白与多个细胞因子进行相互作用, 这些相互作用可能会导致细胞miRNA的表达增加或减少。miR-16、miR-25、miR-92a、miR-378的增加和miR-22、miR-27a、miR-29a及miR-100的减少可以归因于病毒癌基因蛋白E6和/或E7的调节功能。作者建议miR-25/92a组与miR-22/29a组的表达的比率 1.5可能用于从正常宫颈中区分出宫颈癌^[46]。

1.3 干细胞的生物学含义与 HPV 相关癌症的治疗

干细胞是一组未分化的细胞，它可以作为一种储存的细胞来以取代有缺陷或坏死的细胞。干细胞的基本特征自我更新能力，并且可以分化成不同类型的细胞。目前关于肿瘤干细胞的研究表明这些细胞有维持正常组织的功能，如无限自我再生和分化成不同种类的细胞类型。肿瘤干细胞通过对称扩散和在单个细胞基础上表达肿瘤干细胞特异性标志物启动恶性肿瘤的发生。肿瘤干细胞的这些特征造成了肿瘤具有持续性和转移的能力，可能也造成了肿瘤对化疗和放射的抵抗性。

研究人员描述了宫颈癌肿瘤干细胞表面标志物的特点，例如p63、细胞角蛋白17(CK17)、Nanog、Musashi-1 (Msi1)、核干细胞因子 (NS)、CD49f、ALDH1、CD44等。相对于正常的宫颈组织，Nanog、NS 和Msi1被发现在宫颈癌组织中高度表达，因此认为这些分子标志物参与了宫颈癌变的过程^[47]。胚胎干细胞标记物 (Sox2, Oct4) 和Wnt信号通路 (β -catenin) 对人类各种恶性肿瘤的进展至关重要。Ji等人^[48]表明，Sox2和Oct4在宫颈鳞状细胞癌组织中高度表达，Wnt信号被激活。因此，Sox2可能是这种病变预后差的一个新型的预测指标。Lopez等人^[49]使用一种不同的方法，研究了宫颈癌HeLa和SiHa系列的肿瘤起始细胞，并发现在这些细胞中CD49f是高表达的，而Gu等人^[50]显示肿瘤起始细胞在 HeLa癌症细胞系表现为CD44 (高) /CD24 (低) 的表达模式。HPV感染干细胞，被认为可能是宫颈上皮性癌的起源。干细胞也可能是潜伏感染细胞来源，它可以持续很长一段时间。HPV的致癌E6和E7具有在致癌过程中调节多种细胞通路的相应作用。Michael等人^[51]研究了HPV16 E6/E7在毛囊凸起的干细胞的影响。结果表明：HPV16癌基因的表达减少了静止细胞的数量，是毛囊干细胞的典型特征，而毛囊干细胞标志物也降低。该作者认为，HPV感染可能诱发干细胞异常调动。这些影响可能在病毒的生命周期和/或随后癌变中发挥作用。

Tang等人^[52]研究了头颈部鳞状上皮细胞癌的干细胞是否受HPV感染的影响。它显示在头颈部的鳞状细胞癌中HPV状态与肿瘤干细胞的比例并不相关。HPV阳性和那些有E6/E7转导的HPV细胞比HPV阴性的细胞拥有较大的单克隆。与非肿瘤干细胞相比，头颈部鳞状细胞癌的肿瘤干细胞对顺铂的耐药更强。因此，HPV不会影响到肿瘤干细胞对顺铂的反应，进一步支持人乳头状瘤病毒的功能与肿瘤干细胞不重叠这一概念。

综上所述，宫颈干细胞的特征给宫颈癌的发病机制提供了新的理解方式。然

而，HPV 的致癌 E6/E7 在宫颈肿瘤干细胞形成中所发挥的何种作用在很大程度上仍然是未知的，在 HPV 阳性的癌症治疗中，肿瘤干细胞可能存在着潜在意义。

1.4 HPV 疫苗

防止某些类型HPV感染的疫苗已经研制出。目前，HPV的4价和2价疫苗在美国已经获得使用许可。前者产生的免疫力是针对HPV 6、11、16、18，而后者给药为了防止HPV16和18的感染。两种疫苗都是基于病毒样颗粒的L1衣壳蛋白质。如果在暴露于这些类型的HPV之前接种，两种疫苗都具有高效性和免疫原性^[53]。这两种疫苗都是3剂量系列。二价疫苗的保护期限是超过10年并以此计数。最近研究表明，2价疫苗也可以提供有效的保护^[54,55]。为了增加保护性能，一种9价HPV疫苗VLP(HPV6/11/16/18/31/33/45/52/58)已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA) 批准^[56]。一个以L2为基础的交叉反应性预防性疫苗正在发展^[57]。几种具有治疗性能的疫苗正在患有宫颈癌的妇女中进行临床试验^[58,59]。这些疫苗针对HPV16 E6或E7蛋白产生免疫反应。因此，增强机体免疫力在一定程度上可以杀死肿瘤细胞或阻止他们继续增长。预防HPV16和18感染的疫苗已经在许多国家获得使用许可，而且具有良好的安全性，也可以与其他疫苗联合使用。另外，HPV疫苗不能治疗已经存在的HPV感染和与HPV感染相关的疾病。因HPV疫苗只针对某些特定类型的HPV感染，因此已接种过HPV的女性以后仍需进行宫颈癌的筛查。

2 宫颈细胞学的研究新进展

当 HPV 检测在八十年代末首次商业化时，宫颈癌筛查成为日常预防保健工作的一部分已经至少 20 多年，最初的筛查是使用巴氏涂片，这项技术在 1910 年首次使用。这项技术由康奈尔大学解剖学系乔治·巴氏开发，在几内亚最初主要用于对猪的月经周期的研究。1917 年他发表了一篇文章证明了经阴道收集的宫颈脱落细胞学涂片的显微镜检查的方法可以用于确定发情周期的阶段。因此巴氏染色法然后被用于人类。随后乔治·巴氏开始从患有各种妇科疾病妇女采集标本。巴氏检查发现，几乎所有宫颈癌患者的标本细胞学表现异常。他在 1928 年公布了自己的发现，然而病理协会对此反应消极，以至于十年过去后才与康奈尔大学的妇科病理学家 Herbert Traut 合作，巴氏涂片技术才重新应用于癌症检

测。他们在 1941 年出版了其第一份文件，到 1948 年，技术获得机构支持：国家卫生研究院开始提供大规模的资金来研究应用巴氏涂片的宫颈癌筛查，美国癌症协会和公共卫生机构提供了培训病理学家课程的经费。20 世纪 60 年代，巴氏涂片在美国妇女中得到了广泛应用。

然而，巴氏涂片技术的极不稳定性在医疗实践中都得到了验证；从 20 世纪 40 年代最早被临床采用，巴氏涂片技术得到反复的修改，包括对涂片过程、技术、分类系统和治理制度的更改以确保其安全性和有效性。

在美国的预防性保健中，巴氏涂片检查已经成为宫颈癌筛查的重要基石。然而，在巴氏进入临床实践之前的几十年妇女被鼓励要定期进行盆腔检查。在二十世纪初高级的肿瘤外科医生开始相信早期癌症是可以治愈的，似然性越大，治疗成功的可能性越大^[60]。美国癌症控制学会（The American Association for Cancer Control, ASCC）于 1913 年成立，其主要的目的是促进医生和公众的早期检查^[61]。虽然宣传的是癌症控制的消息，但所使用的例子一般都是女性的癌症即乳腺癌或子宫颈癌。截止到 1930 年代，妇女组织协会（如基督教女青年会）大量健康中心检查设施的建设，宣传了每年阴道检查的重要性。在 1930 年代和 40 年代政府机构如美国国家癌症研究所和美国公共卫生服务提出了早期干预的原因^[60,62]。

现在许多人预言 HPV 分子检测最终将取代脱落细胞学检查，为临床宫颈癌的筛查带来根本性改变。然而按目前的情况来看，这两种技术不仅和谐共存，而且彼此互补。目前细胞学已逐渐摒弃巴氏涂片技术而广泛采用新型细胞学技术：液基细胞学检查（liquid-based cytology, LBC）和切片自动阅读。

液基细胞学于近些年问世，主要依赖于二十世纪前半世纪的巴氏涂片技术。传统的巴氏涂片是从宫颈刮取细胞，并在载玻片涂上薄薄一层。然后将细胞染色，由细胞病理学专家在显微镜下观察是否异常。上世纪 90 年代液基细胞学技术开始取代传统的巴氏涂片技术，这种技术将细胞放入保存液中，过滤去除杂质后制片，然后通过显微镜观察。然而，液基细胞学成为常规筛查方法之前，一项更新的替代技术也在发展。1983 年，当科学家克隆两种致癌 HPV 亚型（HPV16 和 18），提供了足够的证据来证明宫颈癌和 HPV 之间的联系。此后，公司开始开发 HPV 检测技术。

宫颈癌是女性第二最常见的癌症。国际癌症研究机构 2012 年曾进行过统计，全球范围内约 7.5% 的妇女因宫颈癌而死亡。这些全球统计数字掩盖了一种极不

平等的疾病负担：宫颈癌现在主要分布于低收入和中等收入国家，因为自 20 世纪60年代以来，其发病率和死亡率在许多发达国家已大幅降低，很大一部分原因在于对宫颈癌采取了筛查。宫颈癌筛查在与许多西方国家已经变得无处不在，以确保女性有机会获得定期筛查。2012年美国妇产科医师协会统计了30多年来美国宫颈癌的发病率和死亡率，发现二者均降低了至少50%，这普遍归因于宫颈癌的筛查，虽然这种疾病在美国的死亡率仍然有大约2.38/10万。病死率的下降，主要是由于筛选可以发现早期病变，在发展为宫颈浸润性癌之前及时治疗^[63]。

尽管花费了漫长的时间和昂贵的代价来替换细胞学或使其过程自动化^[62,64]，但宫颈细胞学家敏锐的视触觉仍然是宫颈癌筛选的关键。替代方法包括阴道镜检查，涂抹醋酸（VIA）或卢戈氏碘（VILI）的情况下肉眼观察、实时成像和肿瘤标志物，而宫颈细胞学的诊断主要依据TBS诊断系统。

TBS 自首次出版已修订两次，最后一次更新是在 2001 年。在过去的十年期间，由于对宫颈癌的分子机制、生物标志物的发展、更多敏感分子（HPV）检测，HPV 疫苗接种、ASC-US 到 LSIL 分类的研究（ALTS）以及先进的液基细胞学技术和自动化的理解，我们对 TBS 分级系统的认识也大大增加。此外，随着 HPV 疫苗的接种率在美国的巨大提高，巴氏涂片检测在接种 HPV 疫苗的患者中阳性预测值已证明是呈现减少的趋势。综上，有必要更新和推进 TBS 准则。

宫颈细胞学检查的 TBS 系统的第三次更新，是由 Nayar 和 Wilbur 编辑，美国社会细胞病理学赞助，更新有三个主要目标：1）对 2001 版 TBS 报告系统必要时的地方更新术语，标准和从 TBS 的解释性说明，并发表了 2014 版 TBS（第三版）系统；建立一个 TBS 2014 网络站点手册，以创建 TBS 2001 网络站点的流行特征，并添加更多教育组件；3）进行第二次的 TBS 观察者的重复性研究（BIRST 2）。这个过程期间，许多病理学家、妇科医生、流行病学家和细胞学家一起为 TBS 系统的更新工作。在 2014 年定稿之前，这项建议的草案被发布到网上供全世界开放评论 3.5 个月。超过 59 个国家的共 2500 个人对此进行了评论，工作队对这些意见重新进行了审查。

第三版的 TBS 内容明显多于 2001 年版，这也反映了我们当前的知识和经验，并提高了成像能力。第三版保留了第 1 版和第 2 版文本和图像的一部分。新的这版增加了疾病的基本生物学和当前病人管理准则的讨论。此次更新包含 12 章，其中 6 章对应专业 TBS 解释，其余的对应于其他恶性肿瘤，肛门细胞学、辅助检测报告、计算机辅助筛选，教育笔记和评估宫颈癌风险的新的篇章。每

章包括讨论的背景、定义和细胞学标准、包括鉴别诊断、示例报告和参照的简短解释性说明。为了强调良性病变的范围之大和反应性改变、不寻常的模式和诊断的陷阱，这一版 TBS 对于鳞状上皮和腺上皮的非肿瘤性病变的讨论有显著的增加。此更新还包括各种类型的样品的准备工作，包括传统的基于液体的细胞块和免疫细胞化学。也增加了一些总结鉴别诊断的表格。由于计算机软件和硬件及数字显微镜的进步，很多新的图像质量也提高了。

在此更新中，术语的变化是最小的。两个主要变化是出现良性子宫内膜细胞的年龄变化和TBS建议报告ASC-H。基于公布的数据、HPV相关宫颈癌的生物学和公众的意见，良性的子宫内膜细胞在年龄45岁以上的妇女会报告，2014版TBS将保留LSIL /HSIL两级报告系统。

3 HPV 检测与宫颈细胞学检查的比较分析

宫颈癌是世界各地女性常见的癌症，仅次于乳腺癌。它是发展中国家女性癌症死亡的重要原因，而许多发达国家的这种疾病已很少见^[65]。定期宫颈脱落细胞学筛查已成为全球范围内宫颈癌的基础预防^[66]。巴氏涂片是一种简单和易于接受的有效检测，通过宫颈脱落细胞学检查，可以检测出潜在的与 HPV 相关的宫颈癌前病变^[67]。然而，反复的检查导致宫颈癌细胞学筛查花费较昂贵。此外，这种传统的筛选方案（即阴道镜下定向活检后进行宫颈巴氏涂片）大多数医疗资源稀少的国家既没有充分发展，也不能持久^[68]。在许多发达国家较新型的液基细胞学已取代传统的宫颈巴氏细胞学。LBC 的优点包括更快速的幻灯片筛选，不合格的宫颈样本复检率大量减少，残留的细胞也可用于 HPV 检测^[69]。然而，即使是这样，常规筛查中改进的液基细胞学检测也可能会漏掉 15%至 35% 的 CIN 或癌症^[70]。因此，在宫颈癌的筛查中，HPV 检测的重要性就显而易见了。目前，对于致癌型 HPV 感染的 HPV 检测正在考虑代细胞学检查，甚至在低收入国家^[68]。宫颈细胞学阴性并不能保证无癌症的发生，但 HPV 检测阴性基本可以除外子宫颈癌的可能性^[71]。此外，只有约 1/3 的 HPV 感染的女性细胞病理学异常。因此，细胞学异常与 HPV 分子检测相比不敏感。HPV 分子检测已经用来提高筛查效率，使宫颈癌筛查的敏感性达到最大化。最重要的是，致癌 HPV 的检测阴性对于除外宫颈癌和癌前病变提供了更大的依据，与宫颈细胞学检查相比具有更强的重复性^[72]。HPV 检测虽然敏感性很强，但与细胞学相比，其在

一定程度上对 CIN⁺、CIN²⁺ 和宫颈癌检出的特异性较低^[73]。无论宫颈细胞学检测结果如何，单独的 HPV 检测阴性是可以确保妇女 5 年以上无宫颈癌的发生，因为在这个时期他们患有 CIN²⁺ 或癌症的风险很低^[71]。国际癌症研究机构已认可致癌型 HPV 检测在子宫颈癌筛查中的单独使用^[72]。高危型 HPV 检测已成为细胞核轻度异常的女性和 CIN 治疗后妇女的强制性检查方法^[74]。

基于检出 CIN²⁺ /宫颈癌的效率和初步的成本效益分析，高危型 HPV 检测联合宫颈细胞涂片似乎是最好的筛查方式^[74]。HPV 检测与细胞学检查联合检测在具有宫颈癌高风险患病的妇女可以早期识别发现，尤其是腺癌（宫颈细胞学检查常常会漏诊），并且降低 30 岁以上女性的癌症发生率^[71]。它也预测十年后其癌症增加的风险（即高的阴性预测值）^[75]。宫颈癌的初级和次级筛查不同的报告中都强调了 HPV 检测的补充作用^[76,77]。在标本的自我采样技术和检测这种病毒的其他体液（如尿液）方面，HPV 检测的实用性和可接受性已表现出更好的前景^[78,79]。这就避免了由于社会文化和/或宗教问题所引起的几个宫颈癌筛查障碍，这些障碍减少了目前常规筛选方法的可接受性。最近，人们认为 HPV 检测可能会取代常规细胞学，节省宫颈癌的筛查成本，也可以提供更多的安全性^[80,81]。尼日利亚的几项研究报告显示不同的人群宫颈 HPV 感染的患病率不同。然而用于比较宫颈 HPV 感染与其相应的组织病理学特点的可用资料非常缺乏。

在一项研究中，参与者年龄大多数是 30 岁以上，他们适合 HPV 检测并将 HPV 检测作为宫颈癌筛查的适当方式，因此其 HPV 检测阳性时，大部分女性可能有持续性 HPV 感染，而这些感染是宫颈癌发生和发展的主要风险因素^[82]。在另一项研究中，15.1%的年龄 30 岁以上的妇女 HR-HPV 持续阳性，而细胞学表现正常^[83]。这就迫切需要一种额外的/替代的筛查方法来联合细胞学检查。HR-HPV 检测和细胞学的联合使用，是宫颈癌筛查的最佳方案，即使是在一些医疗资源匮乏的地区^[84]。此外，HPV 与细胞学的联合检测会更好地区筛查，尤其是对细胞学方法常常漏诊的腺癌的筛查^[71]。法国的一项研究报告显示，高达 82% 的 CIN²⁺ / 妇女 HPV 检测阳性^[85]，几乎一半（41.7%）的妇女宫颈炎症没有 HPV 的变化。而包括 HPV 在内的感染是宫颈炎症的常见原因。宫颈炎症已被发现可能与宫颈高级别鳞状上皮内病变有关，它可能是妇女致癌 HPV 阳性时宫颈高级别病变的辅助因子^[86]。有研究显示，通过聚合酶链反应（PCR）证实的 HPV 感染妇女，只有 50%被发现有相应的细胞学变化，暗示存在着感染^[87]。也有研究显示，仅有 1/3 的 HPV 感染妇女有明确的细胞病理学改变，这可能与宫颈 HPV

感染的清除先于细胞学改变这一事实有关^[72,88]。Manga 等人^[87]的研究发现，与宫颈 HPV 检测相比，宫颈细胞学检查具有相对的低灵敏度（16.2%）和高特异性（85.0%），阳性预测值（positive predictive value, PPV）和阴性预测值（negative predictive value, NPV）分别是 50%、52%，进一步肯定了仅有一半的女性可以通过细胞学检测来观察其有或没有 HPV 的感染。宫颈细胞学检测在反映 HPV 感染这方面的效果不佳，因此在筛查的同时需行 HPV 检测，尤其是对年龄 30 岁以上、感染持续存在、最终可能转化为宫颈癌的妇女。

据报道，HPV 与宫颈细胞学的联合检测可以提高筛查效果，同时通过增加筛选的时间间隔建立一个更有效、更安全的初步筛选程序^[83,89]。

总之，除了筛查间隔较长这一优点，细胞学检查与 HR-HPV 的联合检测基本不会遗漏任何临床相关的宫颈病变，这就使它成为最好的宫颈癌筛查方案，即使在发展中国家。最近新增的其他检测标本比如尿液的使用，宫颈自我取样拭子和自动化 HPV 检测方法很少或不用培训，甚至可以由非专业人员操作，宫颈癌筛查的未来将会聚焦到 HPV 检测上。

4 p16INK4a/Ki-67 在组织学和细胞学中的应用

4.1 p16INK4a 在组织学上的应用

考虑到 HPV 感染各个阶段的生物学特征和它们与生物标记物表达的关系，最近出台了一项会议共识，旨在统一与 HPV 相关的肛门与生殖器鳞状上皮病变的组织学术语^[90]。该共识提出了一个两级分类系统，将 LSIL 从 HSIL 中区分出来。LSIL 主要代表一种致癌型 HPV 感染的生产阶段，而 HSIL 表示转型阶段。研究表明，使用 p16 INK4a 免疫组织化学极大地提高了组织病理学结果的重复性和准确性。副基底鳞状上皮细胞 p16 INK4a 的弥漫性强阳性染色被认为是阳性反应。建议采用免疫组化 p16 来鉴别 HSIL 和与癌前病变相似的病变，如上皮不成熟化生，上皮萎缩或修复性变化。p16 免疫组化也被建议用于 HE 染色形态下 LSIL 和 HSIL 的鉴别。2014 版 WHO 宫颈肿瘤的分类修改了癌前病变的术语，将“宫颈上皮内瘤变”一词替换为只有两级的分级系统“上皮内病变”，与细胞学术语类似^[91]。

4.2 p16INK4a /Ki-67 在细胞学中的作用

与 HPV 分子检测相比，p16 INK4a 免疫细胞化学显著提高了宫颈癌筛查的特

异性，而且 also 具有良好的敏感性。然而，p16 INK4a免疫细胞化学技术单染色需要观察免疫反应阳性细胞的形态学，来区分p16 INK4a阳性的上皮内瘤变细胞和那些偶尔表达p16 INK4a的宫颈细胞，后者表达p16 INK4a是一种对异常鳞状上皮分化的应急反应，阻止了细胞周期的进行，如鳞状上皮化生的细胞和宫颈管细胞。偶尔表达p16 INK4a的宫颈细胞中断了细胞周期，p16 INK4a抗体与Ki-67结合使用可以在一个细胞中明确标记出该细胞是否有真正的HPV感染后改变。这种方法的临床价值和性能在细胞学为ASC-US和LSIL的患者中得到了试验和评估。将细胞学诊断为ASC-US和LSIL的剩余标本进行p16/Ki-67细胞双染色，提示p16/Ki-67双染对检出HSIL具有高度敏感性，而这种形态独立的双重生物标记法的特异性也得到了大大提高^[92,93]。

4.3 HPV 阳性妇女的分类处理

随机对照试验表明HPV检测与细胞学检查相比，能更早的检测出持续性HSIL，最大效能的防止其进一步发展为宫颈癌^[94]。然而，若所有HPV阳性妇女直接行阴道镜下宫颈组织检查，就会导致阴道镜检查的数量显著增加。因此，我们需要某种方法来从HPV阳性的妇女中筛选出那些阴道镜检查癌前病变概率非常低的女性，这些女性不需要立即阴道镜检查。欧洲指南附录推荐细胞学阳性的妇女行HPV检测，细胞学与HPV阳性均异常（ASC-US或更严重）的女性建议立即阴道镜检查，而对于HPV阳性、细胞学阴性的妇女1年后复查^[95]。p16/Ki-67双染色法对HPV阳性妇女的分流作用中可能承担着重要的作用^[96]。

5. 宫颈癌的病理组织学诊断及相关治疗

5.1 宫颈癌的组织病理诊断

世界卫生组织指出三类子宫颈上皮性肿瘤：鳞状上皮源性（鳞状细胞癌）、腺上皮源性（腺癌）和其他上皮源性肿瘤，包括神经内分泌癌和未分化的癌。鳞状细胞癌占70%-80%，腺癌占10%-15%。早期的子宫颈癌通常是无症状的，然而晚期的子宫颈癌可以引起各种症状，包括阴道的异常出血、接触性出血，分泌物异常，下腹部疼痛和性交疼痛。大体表现是多种多样的，癌可以是外生性的，长出表面，或是内生性生长伴间质浸润。一些早期癌症并不明显，甚至高度侵袭性肿瘤可能也会有欺骗性。如果检查具有一定的困难，或是涉及阴道/

子宫旁有不确定性，这应该麻醉下进行并行放射学检查。乳头状肿瘤通常是腺癌。这里我们主要介绍鳞状细胞癌。

鳞状细胞癌是由鳞状上皮组成，但鳞状上皮会发生增长模式或细胞学形态的变化。最初是使用布罗德斯系统进行分型；之后，被分成了角化型、非角化型和小细胞型鳞状细胞癌。在最新的 WHO 分类中，小细胞癌被归入到神经内分泌肿瘤中。角化型鳞状细胞癌的特点角化珠的存在。核分裂并不多见。非角化鳞状细胞癌不形成角蛋白，但可能会表现为单个细胞的角化。肿瘤细胞的透明细胞变在一些肿瘤中可以十分明显，但不应被误解为透明细胞癌。

5.2 靶向治疗

基于国际准则，宫颈癌的治疗是早期的手术治疗和晚期的局部同步放化疗。转移时通常采用姑息化疗的治疗方案。抑制细胞生长的药物表现出大量副作用和有限的疗效。因此，在肿瘤微环境中通过干扰分子靶点的表达或肿瘤细胞本身的新药抗癌药物的发现，表明这是一个挑战癌症的机会。宫颈癌中血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）可以促进血管生成，从而导致疾病的进展。贝伐珠单抗，一种人性化的抗 VEGF 的单克隆抗体，该药物联合化疗已在持久性、转移性或复发的宫颈癌患者中进行了测试。疾病的进展或生存时间相对于单纯化疗增加了 3-4 个月^[97]。另一种药物是帕唑帕尼，该药是一种多酪氨酸激酶抑制剂（多使用 TKI 药物治疗），已被用来治疗肾细胞癌和卵巢癌。最近的临床试验已验证了血管生成抑制剂在进展期和复发性宫颈癌中的作用。然而，此类药物在进展生存期上仅增加了 3 个月^[98]。

5.3 药物治疗 HPV 诱导的宫颈上皮内瘤变

癌前病变如宫颈上皮内瘤变（CIN）的标准治疗方法有冷冻治疗、激光治疗和锥切术。研究人员提出了是否可以用药物替代治疗 CIN。DeI 等人^[99]用二吲哚甲烷（diindolylmethane, DIM）治疗 CIN₁、CIN₂ 患者 12 周，DIM 是一种在芸薹属植物中发现的吲哚-3-原醇（I3C）的组成成分。这项研究每 3-4 个月进行评估，评估包括巴氏涂片、HPV、阴道镜检查、活检和随访。结果表明：确诊为 CIN₁ 或 CIN₂ 的患者口服二吲哚甲烷，1 年内有较高的临床显著改善率。然而，DIM 组和安慰剂治疗组之间并无统计学差异。另一项研究设计了随机对照试验，用来评估 CIN₁ 患者使用抗病毒药物西多福韦的局部治疗^[100]。通过组织学和原

位杂交技术判断，虽然相比安慰剂组更频繁地取得回归分析，但是更加敏感的2-代杂交捕获检测未发现两组患者有显著性差异。因此得出结论，局部化疗是一种有前途的候选治疗方法，但就目前来说还不能取代宫颈锥切术。

最有前途的试剂是咪喹莫特，该药物可以调节免疫反应。这是一种常用的用来治疗某种类型皮肤疾病、表浅恶性黑色素瘤以及生殖器疣（尖锐湿疣）的乳膏。应用咪喹莫特治疗的几组 CIN 和 ，与安慰剂治疗组相比，具有较高的组织学回归^[101]。更重要的是，与安慰剂组（14%）相比，咪喹莫特组（60%）HPV 的清除率增加了。在 HPV16 感染的女性，完全缓解率是 47%，而安慰剂组是 0%。因此，肛门和外阴上皮内瘤变患者单独使用咪喹莫特或与 HPV 治疗性疫苗联合使用都产生相似的结果^[58]。病变反应中 CD8 及 CD4 T 细胞的局部浸润有了大幅增加。结合以上所述，目前的临床试验表明 5%的咪喹莫特乳膏外用可能有益于肛门与生殖器上皮内瘤变的治疗。

结论

HPV 在育龄期女性中的感染十分普遍，许多情况下无任何临床表现、体征及病理形态学上的改变，而且感染可自然消退。尽管 HPV 持续感染是宫颈癌前病变及宫颈癌发病的必要条件，但仅有 HPV 感染并不能完成鳞状上皮的完全恶性转化，还需要多步骤、多种分子机制的共同作用。因此，我们在宫颈癌的筛查过程中也要注意该种情况。

HPV 疫苗已投入使用，接种对象主要是 9-13 岁无性行为的青春早期女性。疫苗的接种使全球宫颈癌的病死率已经显著降低，但发展中国家 HPV 疫苗使用率低。所以，仍然有相当数量的宫颈癌及癌前病变高风险人群需要引起重视。

宫颈癌筛查试验的性能一直都是有局限性的，如巴氏涂片检查特异性稍差，而 HPV 检测缺乏敏感性。这是令病人不安的，也是卫生预防保健成本高的主要原因。许多研究已经表明，HPV 检测与细胞学有互补作用，联合应用时明显提高了宫颈癌及癌前病变的筛查效率。但发展中国家的许多地区因经济、医疗资源缺乏或分布不平衡等原因，HPV 检测与宫颈细胞学的联合检测并未理想的实施。所以，寻找一种可靠性强而性价比又高的筛查方案十分必要。

2014年美国宫颈癌初筛的中期指南指出，HR-HPV检测阴性对于预测CIN < 级比宫颈细胞学检测阴性可靠性更强。大多数指南也推荐单独的细胞学检查

和细胞学联合HPV检测。而当前美国普遍接受HR-HPV检测至少和细胞学同样有效，因此，HPV已被视为美国宫颈癌的替代筛查方案。指南建议HPV阳性的妇女的分流措施是联合HPV16/18分型检测，若HPV16/18阳性，则立即行阴道镜下宫颈组织检查；其他12种HPV高危亚型阳性时需行宫颈细胞学检测，宫颈细胞学 ASC-US，则继续行阴道镜下宫颈组织检查，细胞学为NILM时，则1年内随访；HPV初筛阴性时，则以后常规筛查。HPV检测的初筛后分流流程如下图1：

中期指南指出 HR-HPV 检测不应用于年龄小于 25 岁女性的宫颈癌初筛，HR-HPV 初筛年龄过早会导致进行阴道镜检查的数量大大增加。建议单独进行宫颈细胞学检查的初始年龄为 21 岁，HPV 检测联合宫颈细胞学的筛查的初始年龄为 30 岁。在最佳筛查时间间隔上，高危型 HPV 初筛为阴性的女性，再次筛查

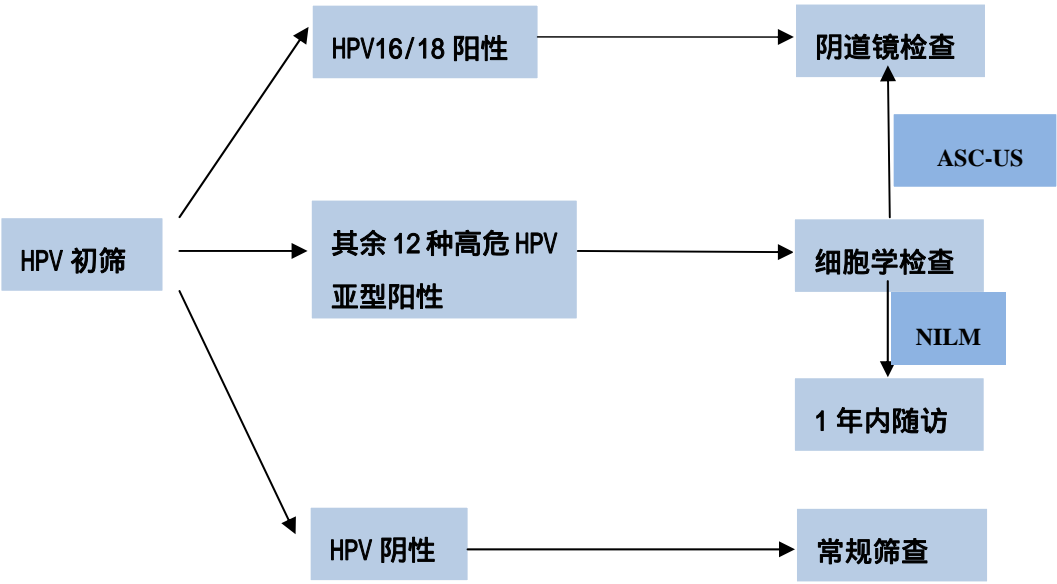


图 1 美国宫颈癌中期指南推荐的 HPV 初筛分流流程图

注：ASC-US 为不能意义明确的非典型鳞状细胞，
NILM 为未见上皮内病变和恶性细胞

间隔不应低于 3 年；细胞学单独使用时每 3 年 1 次，细胞学联合 HR-HPV 检测每 5 年 1 次，联合筛查较细胞学单独检测时安全性更好。同时，指南认为 HR-HPV 初筛结果阴性后间隔 3 年至少与间隔 5 年的联合性筛查具有同等的效果。所以，许多人认为 HR-HPV 检测是一种可以替代细胞学检测的方法，但需要注意筛查人群年龄的问题。

p16INK4a 作为 HPV 感染的宫颈鳞状上皮细胞恶性转化的特定标记,允许用于细胞病理学标本的 HPV 转化细胞。相对于分类轻微的细胞异型性(如 ASC-US 或 LSIL)的 HPV 分子检测,16 INK4a/Ki-67 免疫化学双染显著提高了特异性,同时具有良好的相对灵敏度。HPV 检测对于持续性 HSIL 的早期检测相比于细胞学,更能有效地预防浸润性宫颈癌。HPV 筛查程序下的一个挑战是找到一种最佳方法,从 HPV 阳性的妇女选择那些需要立即阴道镜检查患者,因为他们具有发展为癌前病变高的风险。HSIL 细胞学结果和(或)p16/Ki-67 双染色可能是最好的候选方法,但在这些方法应用在日常实践之前,需要进一步研究。

Lan Xu等^[102]研究发现ASC-H但HR-HPV阴性的女性,CIN₁和CIN₂的风险分别是8%、5%,比ASC-H、HR-HPV阳性的女性低的多,但仍比ASC-H女性恢复正常后随访风险高的多。50岁以上HR-HPV阴性的ASC-H患CIN₂的风险比年轻女性偏低。共识普遍建议将所有HSIL的妇女直接行阴道镜检查。而细胞学ASC-H有发展为宫颈癌前病变的高风险,一般情况下也立即阴道镜检查。然而,HR-HPV检测、p16INK4a免疫细胞化学对于这部分人群是有效的。积极分流结果可能不会起到决定性作用,但对一些保守的国家,这些检测阴性时可以6至12个月后重复检测。对阴道镜检查结果正常或不满意的ASC-H患者,HR-HPV检测或p16INK4a细胞免疫化学可能会发挥一定作用。

另外,Mitra等^[103]认为,宫颈阴道微生物在病毒的持续性感染或转归和继发性疾病方面起着重要的作用。阴道菌群平衡似乎在人乳头状瘤病毒于人类阴道持久存在、其后续发展和CIN的进展起重要的作用,但还需要进一步的研究来验证。因此,在新的治疗药物、预防HPV感染、促进感染女性HPV的清除、减少宫颈不典型增生和未来不良生殖的风险方面,阴道微生物菌群平衡可能是一个切入点。

参考文献

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F et al. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [on-line] 2010; <http://globocan.iarc.fr>.
- [2] Arbyn M, Castellsague X, Sanjose S et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008[J]. *Ann Oncol* 2011, 22: 2675–2686.
- [3] 张保华,王泽华,卢实. 76 例宫颈癌患者的临床特征及预后影响因素分析[J]. *山东医药*, 2014, 44(27): 47-48.
- [4] Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 2012; <http://globocan.iarc.fr>. Accessed 11/20, 2015.
- [5] Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology. 8th ed[M]: Saunders Elsevier; 2007.
- [6] Agorastos T, Miliaras D, Lambropoulos A, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in uterine cervixes with coexistent grade I and grade III intraepithelial neoplasia: biologic progression or independent lesions?[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005, 121(1): 99-103.
- [7] Nieminen P, Kallio M, Hakama M. The effect of mass screening on incidence and mortality of squamous and adenocarcinoma of cervix uteri[J]. *Obstet Gynecol*. 1995, 85(6): 1017.
- [8] Cannistra SA, Niloff JM. Cancer of the uterine cervix[J]. *N Engl J Med*. 1996, 334(16): 1030.
- [9] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. *J Pathol*. 1999; 189: 12-19.
- [10] Mark AK. Preventing cancer with vaccines: progress in the global control of cancer[J]. *Cancer Prev Res* 2012, 5: 24–29.
- [11] Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS. et al. HPV screening for cervical cancer in rural india[J]. *N Engl J Med* 2009, 360: 1385–1394.
- [12] Bravo IG, Félez-Sánchez M. Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine. *Evol Med Public Health*, 2015: 32–51.
- [13] zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account[J]. *Virology*, 2009, 384: 260–265.
- [14] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. *J Pathol*, 1999, 189: 12–19.
- [15] Mirghani H, Amen F, Moreau F, et al. Do high-risk human papillomaviruses cause oral cavity squamous cell carcinoma? [J]. *Oral Oncol*, 2015, 51: 229–236.
- [16] McLaughlin-Drubin ME, Munger K.. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J].

- Virus Res, 2009, 143: 195–208.
- [17] Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10:550–560.
 - [18] White EA, Sowa ME, Tan MJ, et al. Systematic identification of interactions between host cell proteins and E7 oncoproteins from diverse human papillomaviruses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 260–267.
 - [19] Nguyen CL, Münger K. Direct association of the HPV16 E7 oncoprotein with cyclin A/CDK2 and cyclin E/CDK2 complexes[J]. Virology, 2008, 380: 21–25.
 - [20] Longworth MS, Laimins LA. The binding of histone deacetylases and the integrity of zinc finger-like motifs of the E7 protein are essential for the life cycle of human papillomavirus type 31[J]. J Virol, 2004, 78:3533–3541.
 - [21] Duensing S, Lee LY, Duensing A, et al. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 10002–10007.
 - [22] Huh KW, DeMasi J, Ogawa H, et al. Association of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein with the 600-kDa retinoblastoma protein-associated factor, p600[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102: 11492–11497.
 - [23] Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, et al. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 oncoprotein. Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis[J]. J Biol Chem, 2000, 275: 6764–6769.
 - [24] Howie HL, Katzenellenbogen RA, Galloway DA.. Papillomavirus E6 proteins[J]. Virology, 2009, 384: 324–334.
 - [25] Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, et al. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53[J]. Cell, 1993, 75: 495–505.
 - [26] Thomas MC, Chiang CM. E6 oncoprotein represses p53-dependent gene activation via inhibition of protein acetylation independently of inducing p53 degradation[J]. Mol Cell, 2005, 17: 251–264.
 - [27] Ronco LV, Karpova AY, Vidal M, et al. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity[J]. Genes Dev, 1998, 12: 2061–2072.
 - [28] Boccardo E, Noya F, Broker TR, et al. HPV-18 confers resistance to TNF-alpha in organotypic cultures of human keratinocytes[J]. Virology, 2004, 328: 233–243.
 - [29] Garnett TO, Filippova M, Duerksen-Hughes PJ. Accelerated degradation of FADD and procaspase 8 in cells expressing human papilloma virus 16 E6 impairs TRAIL-mediated apoptosis[J]. Cell Death Differ, 2006, 13: 1915–1926.
 - [30] Liu HC, Chen GG, Vlantis AC, et al. Inhibition of apoptosis in human laryngeal cancer cells by E6 and E7 oncoproteins of human papillomavirus 16[J]. J Cell Biochem, 2008,

103:1125–1143.

- [31] Underbrink MP, Howie HL, Bedard KM, et al. E6 proteins from multiple human betapapillomavirus types degrade Bak and protect keratinocytes from apoptosis after UVB irradiation[J]. *J Virol*, 2008, 82: 10408–10417.
- [32] Klingelhutz AJ, Foster SA, McDougall JK.. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16[J]. *Nature*, 1996, 380: 79–82.
- [33] Xu M, Katzenellenbogen RA, Grandori C, et al. An unbiased in vivo screen reveals multiple transcription factors that control HPV E6-regulated hTERT in keratinocytes[J]. *Virology*, 2013, 446: 17–24.
- [34] Pim D, Bergant M, Boon SS, et al. Human papillomaviruses and the specificity of PDZ domain targeting[J]. *FEBS J*, 2012, 279: 3530–3537.
- [35] White EA, Kramer RE, Tan MJ, et al. Comprehensive analysis of host cellular interactions with human papillomavirus E6 proteins identifies new E6 binding partners and reflects viral diversity[J]. *J Virol*, 2012a, 86: 13174–13186.
- [36] Collart MA, Panasenko OO. The Ccr4--not complex[J]. *Gene*, 2012, 492: 42–53.
- [37] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116: 281–297.
- [38] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120: 15–20.
- [39] Bueno MJ, Gómez de Cedrón M, Laresgoiti U, et al. Multiple E2F-induced microRNAs prevent replicative stress in response to mitogenic signaling[J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30: 2983–2995.
- [40] Georgakilas AG, Tsantoulis P, Kotsinas A, et al. Are common fragile sites merely structural domains or highly organized functional” units susceptible to oncogenic stress? [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71: 4519–4544.
- [41] The Cancer Genome Atlas Network (TCGA). Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature*, 2015, 517: 576–582.
- [42] Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1809: 668–677.
- [43] Wang X, Wang HK, McCoy JP, et al. Oncogenic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive miR-34a through viral oncoprotein E6[J]. *RNA*, 2009, 15: 637–647.
- [44] Li B, Hu Y, Ye F, et al. Reduced miR-34a expression in normal cervical tissues and cervical lesions with high-risk human papillomavirus infection[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2010, 20: 597–604.
- [45] Au Yeung CL, Tsang TY, Yau PL, et al. Human papillomavirus type 16 E6 induces cervical cancer cell migration through the p53/microRNA-23b/urokinase-type plasminogen activator pathway[J]. *Oncogene*, 2011, 30: 2401–2410.
- [46] Wang X, Wang HK, Li Y, et al. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014b, 111: 4262–4267.

- [47] Ye F, Zhou C, Cheng Q, et al. Stem-cell-abundant proteins Nanog, Nucleostemin and Musashi1 are highly expressed in malignant cervical epithelial cells[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 108–112.
- [48] Ji J, Wei X, Wang Y. Embryonic stem cell markers Sox-2 and OCT4 expression and their correlation with WNT signal pathway in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 2470–2476.
- [49] Lopez J, Poitevin A, Mendoza-Martinez V, et al. Cancer-initiating cells derived from established cervical cell lines exhibit stem-cell markers and increased radioresistance[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12:48.
- [50] Gu W, Yeo E, McMillan N, et al. Silencing oncogene expression in cervical cancer stem-like cells inhibits their cell growth and self-renewal ability. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18: 897–905.
- [51] Michael S, Lambert PF, Strati K. The HPV16 oncogenes cause aberrant stem cell mobilization[J]. *Virology*, 2013, 443: 218–225.
- [52] Tang AL, Owen JH, Hauff SJ, et al. Head and neck cancer stem cells: the effect of HPV--an in vitro and mouse study[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 149: 252–260.
- [53] Schiller JT, Lowy DR. Understanding and learning from the success of prophylactic human papillomavirus vaccines[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10: 681–692.
- [54] Romanowski B, Schwarz TF, Ferguson LM, et al. Immune response to the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered as a 2-dose or 3-dose schedule up to 4 years after vaccination: results from a randomized study[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10: 1155–1165.
- [55] Dobson SR, McNeil S, Dionne M, et al. Immunogenicity of 2 doses of HPV vaccine in younger adolescents vs 3 doses in young women: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2013, 309: 1793–1802.
- [56] Serrano B, Alemany L, Tous S, et al. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease[J]. *Infect Agent Cancer*, 2012, 7:38.
- [57] Wang JW, Jagu S, Wang C, et al. Measurement of neutralizing serum antibodies of patients vaccinated with human papillomavirus L1 or L2-based immunogens using furin-cleaved HPV Pseudovirions[J]. *PLoS One*, 2014a, 9: e101576.
- [58] Hibbitts S. TA-CIN, a vaccine incorporating a recombinant HPV fusion protein (HPV16 L2E6E7) for the potential treatment of HPV16-associated genital diseases[J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2010, 12: 598–606.
- [59] Tran NP, Hung CF, Roden R, et al. Control of HPV infection and related cancer through vaccination. *Recent Results Cancer Res*[J], 2014, 193: 149–171.
- [60] Lowy, I. (2011) *A Woman's Disease: The History of Cervical Cancer*. Oxford: OUP
Luchtefeld, L. (2006) 'Driving awareness'. MDDI Online, September. Available online at: www.mddionline.com/article/driving-awareness.
- [61] Gardner, K. (2006) *Early Detection: Women, Cancer and Awareness Campaigns in the*

Twentieth-century United States. Chapel Hill: University of North Carolina Press.

- [62] Casper M, Clarke E. Making the Pap smear into the “right tool” for the job: cervical cancer screening in the USA, circa 1940–1995[J]. *Social Studies of Science*, 1998, 28, pp. 255–290.
- [63] Saslow D, Solomon D, Lawson H. et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. *Am J ClinPathol* 2012, 2012, 137, pp. 516–42.
- [64] Keating, P. and Cambrosio, A. (2003) *Biomedical Platforms: Realigning the Normal and the Pathological in Late-Twentieth-Century Medicine*. Cambridge MA: MIT Press.
- [65] Anorlu RI. Cervical cancer: The sub-Saharan African perspective[J]. *Reprod Health Matters*. 2008;16(32):41–9.
- [66] Kitchener HC, Gilham C, Sargent A, et al. A comparison of HPV DNA testing and liquid based cytology over three rounds of primary cervical screening: Extended follow up in the ARTISTIC trial. *Eur J Cancer*. 2011, 47(6): 864–871.
- [67] McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. *Virus Res*. 2009;143(2):195–208.
- [68] Gage JC, Ajenifuja KO, Wentzensen NA, et al. The age-specific prevalence of human papillomavirus and risk of cytologic abnormalities in rural Nigeria: Implications for screen-and-treat strategies[J]. *Int J Cancer J Int Cancer*. 2012, 130(9): 2111–2117.
- [69] Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, et al. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): A randomized controlled trial[J]. *Lancet Oncol*. 2009, 10(7): 672–682.
- [70] Chaiwongkot A, Pientong C, Ekalaksananan T, et al. Evaluation of primers and PCR performance on HPV DNA screening in normal and low grade abnormal cervical cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*. 2007, 8(2): 279–282.
- [71] Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: A population-based study in routine clinical practice[J]. *Lancet Oncol*. 2011, 12(7): 663–672.
- [72] Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer[J]. *The Lancet*. 2007, 370(9590): 890–907.
- [73] Villa L, Denny L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility[J]. *Int J Gynecol Obstet*. 2006, 94(Suppl I): 71–80.
- [74] Meijer CJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, et al. Human papillomavirus and screening for cervical cancer: State of art and prospects[J]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2000, 144(35): 1675–1679.
- [75] Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, et al. Human Papillomavirus Testing in the Prevention of Cervical Cancer[J]. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2011, 103(5): 368–383.
- [76] Elfstrom KM, Smelov V, Johansson ALV, et al. Long term duration of protective effect for

- HPV negative women: Follow-up of primary HPV screening randomised controlled trial[J]. *BMJ*. 2014, 348(1): g130–g130.
- [77] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: Follow-up of four European randomised controlled trials[J]. *The Lancet*. 2014, 383(9916): 524–532.
- [78] Lazcano-Ponce E, Lőrincz AT, Torres L, et al. Specimen self-collection and HPV DNA screening in a pilot study of 100,242 women[J]. *Int J Cancer*. 2014, 135(1):109–116.
- [79] Munoz M, Camargo M, Soto-De Leon SC, et al. Classical molecular tests using urine samples as a potential screening tool for human papillomavirus detection in human immunodeficiency virus-infected women[J]. *J Clin Microbiol*. 2013, 51(11): 3688–3693.
- [80] Isidean SD, Franco EL. Embracing a new era in cervical cancer screening[J]. *The Lancet*. 2014, 383(9916): 493–494.
- [81] Dijkstra MG, Snijders PJF, Arbyn M, et al. Cervical cancer screening: On the way to a shift from cytology to full molecular screening[J]. *Ann Oncol*. 2014, 25(5): 927–935.
- [82] Levert M, Clavel C, Graesslin O, et al. Human papillomavirus typing in routine cervical smears. Results from a series of 3778 patients[J]. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 2000, 28(10): 722–728.
- [83] Park IU, Wojtal N, Silverberg MJ, et al. Cytology and human papillomavirus co-test results preceding incident high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. *PLoS ONE*. 2015, 10(3): e0118938.
- [84] Fowotade A, Manga MM. Utilization of human papillomavirus (HPV) DNA detection for cervical cancer screening in developing countries: A myth or reality[J]. *Afr J Microbiol Res*. 2013, 7(20): 2135–2139.
- [85] Dalstein V, Riethmuller D, Prétet JL, et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: A longitudinal French cohort study[J]. *Int J Cancer*. 2003, 106(3): 396–403.
- [86] Castle PE, Hillier SL, Rabe LK, et al. An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus (HPV)[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001, 10(10): 1021–1027.
- [87] Manga MM, Fowotade A, Abdullahi YM, et al. Comparative Analysis of Cervical Human Papillomavirus DNA Testing and Cytological Findings among Women Presenting for “Pap” Smear in a Tertiary Health Centre in Northern Nigeria[J]. *International Journal of TROPICAL DISEASE & Health* 2016, 13(2): 1-8.
- [88] Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, et al. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear[J]. *The Lancet*. 2001, 358(9295): 1782–1783.
- [89] Ratnam S, Franco EL, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000, 9(9): 945–951.
- [90] Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, et al. The lower anogenital squamous terminology

- standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology[J]. *J Low Genit Tract Dis* 2012, 16: 205–242.
- [91] Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, Ferenczy A, Herrington CS, Loening T, et al: Squamous cell tumors and precursors; in Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young CS (eds): *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. Lyon, IARC, 2014, chapt 7, pp 1-12.
- [92] Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study[J]. *Cancer Cytopathol* 2011, 119: 158-166.
- [93] Ziemke P, Marquardt K, Griesser H. Predictive value of the combined p16 INK4a and Ki-67 immunocytochemistry in low-grade squamous intraepithelial lesions[J]. *Acta Cytol* 2014, 58: 489-494.
- [94] Ronco G, Dillner J, Elfstr KM, et al. Efficacy of HPVbased screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials[J]. *Lancet* 2014, 383: 524-532
- [95] Ronco G, Arbyn M, Meijer CJLM, Snijders PJF, Cuzick J: S1 screening for cervical cancer with primary testing for human papillomavirus[C]. In: Anttila A, Arbyn M, eds. *Supplements to European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening*, ed 2-Supplements. Luxembourg: European Commission, 2015.
- [96] Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4A results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol* 2013, 14: 168-176.
- [97] Tewari KS, Sill MW, Long HJ 3rd, et al. Improved survival with bevacizumab in advanced cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370: 734–743.
- [98] Monk BJ, Mas Lopez L, Zarba JJ, et al. Phase II, open-label study of pazopanib or lapatinib monotherapy compared with pazopanib plus lapatinib combination therapy in patients with advanced and recurrent cervical cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 3562–3569.
- [99] Del Priore G, Gudipudi DK, Montemarano N, et al. Oral diindolylmethane (DIM): pilot evaluation of a nonsurgical treatment for cervical dysplasia[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 116:464–467.
- [100] Van Pachterbeke C, Bucella D, Rozenberg S, et al. Topical treatment of CIN 2+ by cidofovir: results of a phase II, double-blind, prospective, placebo-controlled study[J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115: 69–74.
- [101] Grimm C, Polterauer S, Natter C, et al. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia with topical imiquimod: a randomized controlled trial[J]. *Obstet Gynecol*, 2012, 120: 152–159.
- [102] Xu L, Verdoodt F, Wentzensen N, et al. Triage of ASC-H: A meta-analysis of the accuracy

of high-risk HPV testing and other markers to detect cervical precancer[J]. *Cancer Cytopathol.* 2016 Apr;124(4):261-72.

- [103] Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR et al. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next?[J]. *Microbiome.* 2016, Nov 1;4(1):58.

个人简历、研究生期间发表的期刊论文

一般情况：

姓 名：王 延 性 别：女 民 族：汉 族
出生日期：1990 年 10 月 籍 贯：河南商丘

学习经历：

第一学历：本科	最高学历：硕士研究生
学校：新乡医学院	郑州大学第一附属医院
专业：临床医学	临床病理学
时间：2009.9-2014.7	2014.9-2017.7
学位：医学学位	医学硕士

实习经历：

2013.7-2017.6	新乡医学院第一附属医院	本科实习
2014.9-2016.2	郑州大学第一附属医院病理科	硕士实习

发表的论文情况：

- [1] 王延, 许晶晶, 张红新. TCT 阳性病例与其 HPV 的相关性及 HPV 分型在 ASC-US 临床处理中的价值[J]. 实用医学杂志. 2016, 32(22): 3735-3738.
- [2] 卵巢硬化性间质瘤 16 例临床病理分析（第一作者，审理中）。

致 谢

岁月如歌，光阴似箭，三年的研究生生涯即将结束。经历了找工作的喧嚣与坎坷，论文的写作也已接近尾声。回首三年的求学历程，对于那些在学习上、工作上和生活上支持我、引导我、帮助我、激励我的人，我心中充满了无限感激。

首先要感谢我的导师张红新教授，从论文选题、写作到定稿都倾注老师大量的心血。在我攻读硕士研究生期间，深深受益于张老师的关心、爱护和谆谆教导。他作为老师，点拨迷津，让人如沐春风；作为长辈，关怀备至，让人感念至深。能师从张老师，我为自己感到庆幸。在此向张老师表示我最诚挚的敬意和感谢！

感谢郑州大学第一附属医院病理科各位领导和老师对我的指导、帮助和关怀，让我在科室学习的三年受益良多，不仅在学习上满载而归，更明白了做人的道理！

感谢师姐贺璐璐和同学李秋雨、胡培珠、李蒙蒙、张晶、石克、王超、王玉豪在学习上和生活上给我的热情帮助和支持。

感谢所有一直关心和支持我的同学及舍友！三年来，我们朝夕相处，共同进步，感谢你们给予我的所有关心和帮助。同窗之谊，我将终生难忘！

感谢陪我一路走来的家人和朋友，谢谢你们对我不断的鼓励、理解和支持。

在此要感谢我生活学习了三年的母校——郑州大学，母校给了我一个宽阔的学习平台，让我不断的汲取新知识，充实自己。



知网查重限时 7折 最高可优惠 120元

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>
