

## ·诊疗技术·

## DNA 定量分析系统在宫颈病变中的应用

梁海红, 王文普, 沈 莹, 张爱丽, 张 凯, 张 丹

(天津港口医院病理科, 天津 300456)

**摘要:**目的 探讨细胞 DNA 定量分析系统在宫颈癌及癌前病变诊断中的应用价值。方法 选择 2019 年 7 月~2020 年 4 月在天津港口医院门诊就诊并进行检查的 1226 例患者为研究对象, 将其中采用 DNA 定量分析技术(包括 DNA 倍体分析和液基细胞学 TCT 技术)检测的 704 例设为实验组, 行单一液基细胞学检测的 522 例设为对照组。以宫颈活检病理结果为诊断标准, 对两组检出阳性率及实验组组内两种方法的敏感性和特异性进行比较。结果 实验组共检出阳性患者 129 例(18.32%), 活检阳性患者 57 例(58.16%); 对照组检出阳性患者 72 例(13.79%), 活检阳性患者 30 例(41.67%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。实验组组内 DNA 倍体分析以可见 DNA 倍体异常细胞, TCT 检查以 LSIL 及以上病变, 病理诊断结果 CIN II 级及以上宫颈病变为评价标准时 DNA 倍体分析、TCT 及两种方法联合应用在筛查中的诊断敏感性和特异性分别为 78.05%、70.18%和 60.98%、89.47%和 87.80%、91.22%。DNA 倍体分析诊断敏感性高于 TCT 检测, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 实验组内两种方法联合应用的诊断敏感性高于单独应用 TCT 检测, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 细胞 DNA 定量分析系统对宫颈癌及癌前病变有较高的诊断敏感性, 适合常规筛查及大规模普查。

**关键词:** DNA 倍体分析; 液基细胞学; 癌前病变

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.15.052

文章编号: 1006-1959(2020)15-0164-03

## Application of DNA Quantitative Analysis System in Cervical Lesions

LIANG Hai-hong, WANG Wen-pu, SHEN Ying, ZHANG Ai-li, ZHANG Kai, ZHANG Dan

(Department of Pathology, Tianjin Port Hospital, Tianjin 300456, China)

**Abstract:** Objective To explore the application value of cellular DNA quantitative analysis system in the diagnosis of cervical cancer and precancerous lesions. Methods A total of 1,226 patients who were examined in the outpatient clinic of Tianjin Port Hospital from July 2019 to April 2020 were selected as the research subjects, and DNA quantitative analysis techniques (including DNA ploidy analysis and liquid-based cytology TCT technology) were used for detection. Of 704 cases were set as the experimental group, and 522 cases with single liquid-based cytology were set as the control group. Using the pathological results of cervical biopsy as the diagnostic criteria, the positive rates of the two groups and the sensitivity and specificity of the two methods in the experimental group were compared. Results A total of 129 positive patients (18.32%) were detected in the experimental group, 57 cases (58.16%) were positive for biopsy; 72 cases (13.79%) were positive for the control group, and 30 cases (41.67%) were positive for biopsy, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). In the experimental group, DNA ploidy analysis was performed to detect abnormal DNA ploidy cells. TCT examination used LSIL and above lesions, and pathological diagnosis results were CIN grade II and above cervical lesions. DNA ploidy analysis, TCT and the combination of the two methods were used in screening the diagnostic sensitivity and specificity during the check were 78.05%, 70.18%, 60.98%, 89.47%, 87.80%, 91.22%, respectively. The diagnostic sensitivity of DNA ploidy analysis was higher than that of TCT, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); the diagnostic sensitivity of the combination of the two methods in the experimental group was higher than that of TCT alone, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Conclusion The cellular DNA quantitative analysis system has high diagnostic sensitivity for cervical cancer and precancerous lesions, and is suitable for routine screening and large-scale general investigation.

**Key words:** DNA ploidy analysis; Liquid-based cytology; Precancerous lesions

宫颈癌(cervical cancer)是妇科常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率均居全球第 4 位, 2018 年全球新增宫颈癌病例 57.0 万例, 死亡 31.1 万例, 分别占有女性癌症发病和死亡的 6.6%和 7.5%, 宫颈癌标化发病率为 13.1/10 万<sup>[1]</sup>。近年来, 宫颈癌的发病率不断上升, 且诊断年龄越来越小<sup>[2]</sup>。WHO 建议在世界范围内开展子宫颈癌筛查, 通过简便无创的检查技术进行大规模的人群筛查, 使许多宫颈癌及癌前病变得早期防治<sup>[3]</sup>。本研究通过与单一液基薄层细胞学检查进行比较, 探讨细胞 DNA 定量分析技术在宫颈癌及癌前病变检测中的诊断价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2019 年 7 月~2020 年 4 月在天

津港口医院妇科门诊就诊并进行宫颈细胞学检查的妇女 1226 例为研究对象。实验组 704 例, 年龄 26~67 岁, 平均年龄 45 岁; 对照组 522 例, 年龄 28~78 岁, 平均年龄 48 岁。

**1.2 材料** 标本收集瓶、宫颈刷、细胞固定剂、DNA 染色剂、巴氏染液及 DNA 自动检测分析仪均由武汉兰丁医学高科技有限公司提供。

**1.3 方法** 实验组采用 DNA 定量分析, 对照组采用单一液基细胞学检测。

**1.3.1 宫颈脱落细胞的采集** 窥阴器暴露宫颈, 由专业妇科医生用宫颈刷尖端伸入宫颈管内, 顺时针或逆时针旋转 3~5 圈, 取出宫颈刷, 将刷头迅速浸泡在样本收集瓶的固定液中, 拧紧瓶盖, 摇动数次, 然后贴上写有病人信息的标签, 送到病理科制片。

**1.3.2 制片** 实验组用 DNA 制片机制成薄层细胞学

作者简介: 梁海红(1981.10-), 女, 河北沧州人, 硕士, 主治医师, 主要从事病理诊断工作

片 2 张, 一张玻片行巴氏染色做 TCT 诊断及一张 DNA Feulgen 染色做 DNA 倍体分析。对照组应用液基细胞制片系统制成薄层细胞学片 1 张, 行巴氏染色做常规 TCT 诊断。所有巴氏染色片经有经验的病理医生阅片。

**1.3.3 活检** 实验组中以检出 DNA 异倍体或 TCT 阳性的患者行阴道镜检查并取可疑病变活检; 对照组中以液基细胞学检出阳性患者行阴道镜检查并取可疑病变活检。活检病理切片由两名经验丰富的病理医师做出诊断。以活检结果为标准, 计算两组内检测阳性率和实验组内两种方法的敏感性和特异性, 并进行比较分析。

#### 1.4 判定标准

**1.4.1 DNA 倍体分析** 经 Feulgen 染色后的玻片由全自动细胞 DNA 定量分析系统进行扫描处理。DNA 倍体异常细胞指 DNA 含量在 5C 以上的细胞用 N 表示。①未见 DNA 倍体异常细胞: N=0; ②少量 DNA 倍体异常细胞: N 为 0~3; ③可见 DNA 倍体异常细胞: N 为 3~15; ④可见大量 DNA 倍体异常细胞: N ≥ 15; ②~④为 DNA 倍体分析阳性。

**1.4.2 TCT 检查** 液基细胞学(TCT)诊断: 根据 2014 年修订的第 3 版 TBS 系统<sup>[4]</sup>进行分级: ①未见上皮内病变和恶性病变(NILM); ②不能明确诊断的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US); ③非典型鳞状上皮细胞不除外高级别鳞状上皮内病变(ASC-H); ④低级别鳞状上皮内病变(LSIL); ⑤高级别鳞状上皮内病变(HSIL)或原位癌(CIS); ⑥鳞状细胞癌(SCC)。②~⑥为 TCT 阳性。

**1.4.3 宫颈活检病理学诊断标准** 病理学检查结果分为: ①良性; ②宫颈鳞状上皮内病变(CIN I、CIN II、CIN III); ③宫颈癌。②③为宫颈活检阳性。

**1.5 统计学方法** 应用软件 SPSS 19.0 进行统计学处

理, 计数资料比较进行  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。敏感性=真阳性/(真阳性+假阴性) × 100%。特异度=真阴性/(真阴性+假阳性) × 100%。

## 2 结果

**2.1 两组检测的阳性率比较** 实验组共检出阳性患者 129 例 (18.32%), 对照组检出阳性患者 72 例 (13.79%)。两组阳性率比较差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.48, P < 0.05$ )。实验组中 98 例行阴道镜下活检, 检出阳性 57 例 (58.16%), 其中 CIN I 16 例, CIN II 24 例, CIN III 16 例, 宫颈癌 1 例; 对照组筛查阳性者进行阴道镜活检, 检出阳性患者 30 例 (41.67%), 其中 CIN I 7 例, CIN II 8 例, CIN III 14 例, 宫颈癌 1 例。两组比较差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.52, P < 0.05$ )。

**2.2 实验组内 DNA 倍体分析与 TCT 检测结果比较** 在 98 例活检病例中, 检测出 41 例 CIN II 级及以上宫颈病变, 将 DNA 倍体异常细胞数 (N ≥ 3) 定为评价标准, DNA 倍体分析筛查 CIN II 及以上宫颈病变的诊断敏感性为 78.05%, 诊断特异性为 70.18%。将 LSIL 及以上病变作为评价标准, 发现 TCT 筛查 CIN II 级及以上宫颈病变的诊断敏感性为 60.98%, 诊断特异性为 89.47%, 见表 1。

**2.3 实验组内两种方法联合应用与宫颈组织病理学诊断的关系** 将 DNA 倍体异常细胞数 (N ≥ 3) 定为评价标准, TCT 将 LSIL 及以上病变作为评价标准, 两者联合筛查 CIN II 及以上宫颈病变的诊断敏感性为 87.80%, 诊断特异性为 91.22%。DNA 倍体分析联合应用 TCT 与单独应用 TCT 检测诊断敏感性比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 9.09, P < 0.05$ ); 诊断特异性比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 实验组内联合应用两种方法诊断敏感性高于单独应用 TCT 检测方法, 见表 2。

表 1 实验组内两种方法与病检结果的比较 (n)

病理结果	n	DNA 倍体分析				TCT 结果				
		N=0	0<N<3	3≤N<15	N≥15	NILM	ASC-US	LSIL	ASC-H	HSIL
正常/炎症	41	10	25	6	0	16	23	2	0	0
CIN I	16	2	3	9	2	2	10	4	0	0
CIN II	24	0	5	15	4	1	10	9	2	2
CIN III	16	0	4	7	5	0	5	4	3	4
SCC	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
合计	98	12	37	37	12	19	48	19	5	7

表 2 DNA 倍体分析和 TCT 联合检测与组织病理学结果的比较 (n)

DNA 倍体+TCT	n	病理结果				
		正常或炎症	CIN I	CIN II	CIN III	SCC
0≤N<3 或 LSIL 以下	57	41	11	5	0	0
N≥3 或 LSIL 及以上	41	0	5	19	16	1
合计	98	41	16	24	16	1

### 3 讨论

肿瘤的早期诊断与细胞学诊断技术密不可分。目前, 宫颈癌及癌前病变的诊断方法主要靠细胞学诊断, 包括传统细胞学、液基细胞学和 DNA 倍体分析。传统细胞学法筛查法由于受取材方法、涂片制作方法、染色方法及阅片水平等因素影响, 导致其具有较高的假阴性率。液基超薄细胞学技术的出现, 使得细胞制片具有固定及时、细胞形态保存完好、数量适中、涂片薄且均匀、背景干净等优点, 提高了阅片的阳性率<sup>[9]</sup>, 但这两种方法均需有经验的医生参与, 且敏感度低。细胞 DNA 定量分析系统可对涂片内的所有细胞进行定量分析检测, 客观、准确, 能发现肉眼所不能观察到的细微改变, 显著提高诊断的阳性率, 对宫颈癌的早诊早治有至关重要的作用<sup>[6]</sup>。本研究实验中阳性率高于对照组, 且经阴道镜活检进一步确诊, 实验组活检阳性率高于对照组, 可能与本研究对象为门诊患者, 多有症状有关。

DNA 是细胞生长、分化和繁殖的基础, 也是遗传的物质基础。生理状态下, 人体细胞大多数处于静止期, 除生殖细胞外, 染色体数均为二倍体, DNA 含量恒定。当细胞受到致癌物刺激或细胞内 DNA 损伤时, 细胞会发生染色体畸变断裂或基因突变, 细胞增殖早期细胞核内出现 DNA 结构、含量及染色体数量改变, 即产生单条或多条染色体, 成为异倍体, 最终发展为细胞形态异常和恶性肿瘤<sup>[7]</sup>。因此通过检测细胞核内 DNA 含量的变化, 可对宫颈癌及癌前病变做出早期诊断。DNA 倍体分析包括随机细胞筛选、摄像、二值化等重要环节, 其中随机细胞抽样降低了人为因素的影响, 且分析细胞的数量远大于系统本身要求的数量, 使结果更稳定<sup>[8]</sup>。对于诊断宫颈病变 CIN II 级及以上病变, 宫颈细胞 DNA 倍体分析更为敏感<sup>[9]</sup>。

本研究同时对实验组内进行阴道镜活检的患者进行 DNA 倍体分析和 TCT 检测分别与组织病理学结果比较, 将 DNA 倍体异常细胞数 ( $N \geq 3$ ) 定为评价标准, TCT 将 LSIL 及以上病变作为评价标准, 得出宫颈病变的诊断敏感性和诊断特异性, 采用 DNA 倍体分析分别为诊断敏感性 78.05%, 特异性 70.18%, 而采用 TCT 检查方法, 其诊断敏感性为 60.98%, 特异性为 89.47%, DNA 倍体分析诊断敏感性高于 TCT。DNA 倍体分析和 TCT 联合检测 CIN II 及以上宫颈病变的诊断敏感性为 87.80%, 诊断特异性为 91.22%, 因此, 实验组内联合应用两种方法诊断特异性高于单独应用 DNA 倍体分析, 诊断敏感性要高于单独应用 TCT 检测方法, 与汪俊等<sup>[10]</sup>报道基本一致。细胞学诊断医师对 ASC-US 的认识受主观影响较大, 可重复性差, 是宫颈细胞学诊断中的难点。有研究指出 ASC-US 中包含了少数更高级的病变, 应严格掌握诊断标准, ASC-US 伴 DNA 倍体阳性者

宫颈病变检出率较高, 可对其合理分流, 避免漏诊<sup>[11]</sup>。本研究实验组内 ASC-US 患者 48 例, 经组织学证实, 阴性为 47.92% (23/48), 阳性为 52.08% (25/48), 其中 CIN II 及以上宫颈病变 15 例 (31.25%), 其中 DNA 倍体分析检出异倍体的有 37 例 (77.08%), 因此对于检出异倍体的 ASC-US 患者建议活检有重要的意义。有研究评估了 DNA 倍体分析这种宫颈筛查方法的成本效益, 认为与液基细胞学相比较时, DNA 定量分析是一种经济有效的选择<sup>[12]</sup>。

综上所述, DNA 定量分析系统为宫颈癌筛查提供了一种有效、快速的辅助临床诊断的方法, 可提供除形态学更深一步的 DNA 含量和结构的信息。DNA 细胞定量分析技术可明显提高宫颈癌及癌前病变的阳性检出率, 可以作为客观指标来评价宫颈病变, 适合常规筛查及大规模普查。

### 参考文献:

- [1] 王宁, 刘硕, 杨雷, 等. 2018 全球癌症统计报告解读 [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(1): 87-97.
- [2] Wang B, He M, Chao A, et al. Cervical Cancer Screening Among Adult Women in China, 2010 [J]. Oncologist, 2015, 20(6): 627-634.
- [3] Hofmeister S. Cervical cancer screening: How our approach may change [J]. J Fam Pract, 2016, 65(8): 551-553.
- [4] Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. Third Edition [J]. Anticancer Res, 2015, 35(10): 5708.
- [5] Budak M, Senturk MB, Kaya CL, et al. A comparative study of conventional and liquid-based cervical cytology [J]. Ginek Pol, 2016, 87(3): 190-193.
- [6] 王铁. DNA 倍体分析联合液基细胞学检查在宫颈癌诊断中的价值 [C] // 中华医学会第九届全国细胞学学术会议论文集. 2011: 164-167.
- [7] 常方媛, 赵久飞, 常学洪, 董建凤. 术中冰冻组织印片细胞 DNA 倍体分析的研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(16): 180-181.
- [8] Dong Y, Bai J, Zhang Y, et al. Automated Quantitative Cytology Imaging Analysis System in Cervical Cancer Screening in Shanxi Province, China [J]. Cancer and Clinical Oncology, 2017, 6(2): 51-59.
- [9] 付蒙, 杨静, 吕晓杰. DNA 倍体定量分析及宫颈液基细胞学诊断宫颈上皮内瘤变 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(4): 77-79.
- [10] 汪俊, 王芳, 田琪. DNA 倍体分析联合薄层液基细胞学检测在早期宫颈癌前病变筛查中的价值研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(18): 2596-2598.
- [11] 张雪梅, 覃福宁, 以敏. 未明确诊断意义的非典型鳞状细胞伴 DNA 倍体异常的临床意义分析 [J]. 医学信息, 2017, 30(13): 65-66.
- [12] Nghiem VT, Davies KR, Beck JR, et al. Economic evaluation of DNA ploidy analysis vs liquid-based cytology for cervical screening [J]. Br J Cancer, 2015, 112(12): 1951-1957.

收稿日期: 2020-05-12; 修回日期: 2020-05-25

编辑/宋伟