

细胞 DNA 定量分析法在宫颈癌及癌前病变筛查中的应用

Application of quantitative DNA analysis in screening cervical cancer and precancerosis

蔡小兰,单守勤,姚建云,侯方高 (济南军区青岛第二疗养院,青岛 266071)

[摘要] **目的:**用细胞 DNA 定量分析方法和 TBS 常规细胞学方法进行宫颈癌及癌前病变筛查,以提高宫颈癌普查的准确性。**方法:**对进行宫颈癌普查的 9 600 例妇女用 Autocyte prep 液基薄层细胞学技术、细胞 DNA 定量分析和 TBS 检查方法,对宫颈病变进行早期筛查。液基薄层制片后分别进行 DNA 染色和巴氏染色,对 DNA 染色片进行全自动细胞扫描诊断,对巴氏染色进行 TBS 常规细胞学诊断。**结果:**所有 468 例 DNA 定量分析阳性者均行阴道镜下宫颈活组织病理诊断。以病理诊断结果为标准,细胞 DNA 定量分析法在筛查 CIN II 以上宫颈病变的灵敏度为 82%,而常规细胞学方法为 60%。**结论:**在宫颈癌及癌前病变筛查中,细胞 DNA 定量分析法有较高的灵敏度。

[关键词] 细胞 DNA 定量分析;宫颈肿瘤;癌前病变;细胞学技术

[中图分类号] R 737.33 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2007)08-0926-02

宫颈细胞学检查是检测宫颈癌及癌前病变的主要方法。传统的宫颈巴氏涂片染色法用于宫颈病变的筛查,由于受到样本收集及制片误差的影响,致使宫颈癌诊断的假阴性率可高达 20%~40%^[1]。近 2 年来,随着细胞病理学专业医师的出现,以及宫颈细胞学检测技术的提高与发展,宫颈刷取代了宫颈刮片,液基薄层制片也广泛应用于宫颈细胞涂片中,宫颈病变的检出率得到明显提高。本研究采用液基薄层制片技术和计算机全自动读片系统,利用加拿大 BC 肿瘤研究所提供的全自动扫描分析软件,对每例宫颈普查病例进行逐个细胞分析。

1 资料和方法

1.1 资料 在 2006 年 7 月至 12 月间,我院与青岛玛丽妇产医院细胞 DNA 定量分析中心合作,对 9 600 例妇女进行宫颈癌及癌前病变筛查。年龄 22~55 岁,中位年龄 34 岁,绝大多数为青岛市城镇居民,应体检单位要求行细胞 DNA 定量分析。检测用宫颈刷、固定液、标本管及宫颈普查液的试剂盒均由武汉兰丁肿瘤早期诊断检测中心提供,由经过专业培训的细胞病理医师 1 名和妇科医师 2 名负责检查。所有妇女均已婚,且近 1 年内无药物及宫颈治疗史。

1.2 检测方法 由经过培训的妇科医师在扩阴器直视下,用专用宫颈刷,在宫颈外口及宫颈管末端顺时针旋转 3~5 圈,取下的宫颈刷垂直浸泡于附有标签的标本管的固定液中,送细胞实验室。液基薄层制片按操作步骤进行。常规细胞学检查组对液基薄层制片进行巴氏染色后做 TBS 诊断;细胞 DNA 定量分析组对液基薄层制片进行 FeulgenDNA 染色,采用 AoCell 细胞 DNA 细胞学检查全自动图像分析系统扫描处理,进行 DNA 定量测定诊断^[2]。

TBS 分级:根据 Bethesda 诊断分为(1)正常或良性;(2)非典型鳞状上皮增生(ASCUS);(3)低级别鳞状上皮内病变(LSIL);(4)高级别鳞状上皮内病变(HSIL)或原位癌(CIS);(5)癌(CC)。

AoCell 系统诊断软件将细胞 DNA 倍体分析结果分为:(1)正常,即 DNA 指数<2.5;(2)不正常:指 DNA 倍体>5C 的细胞数,1~2 个为轻度;3~14 个为中度;≥15 个为重度。凡细胞 DNA 指数>2.5 者均采用阴道镜对可疑部位取 4 点以上进行组织活检,并病理诊断。

病理诊断:(1)正常或炎症;(2)宫颈上皮内瘤变(CIN,即癌前病变):CIN I(轻)、CIN II(中)、CIN III(重)或原位癌(CIS);(3)癌(CC)。

TBS 分类系统:LSIL 包括人乳头状瘤病毒(HPV)感染和 CIN I;HSIL 包括 CIN II、CIN III 或 CIS。

1.3 统计学处理 所有数据行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 两种不同的细胞学方法检查结果 在 9 600 例进行体检的宫颈标本中,细胞 DNA 定量分析法检测有 468 例 DNA 指数>2.5,常规细胞学组中 ASCUS 以上(共 298 例)均行病理活检,常规细胞学检查正常而 DNA 指数>2.5 的 170 例亦均进行病理活检。病理诊断结果显示:常规细胞学方法检测到 298 例阳性者,占体检总数 3.1%,细胞 DNA 定量分析法检测到 DNA 指数>2.5 阳性者(即 DNA 倍体>5C 的细胞数)为 468 例,占体检总数 4.9%,两组阳性检出率比较有显著性差异($\chi^2=39, P<0.01$)。在 40 例 CIS 和癌中,常规细胞学诊断为低级别以上宫颈病变者 28 例,而细胞 DNA 定量分析法出现在异倍体细胞数>5C 中度(3~14 个)以上的病例 34 例;在所有 268 例病理诊断异常者中,常规细胞学方法检测到 146 例,占 55%,而 DNA 定量分析法全部能检测到,占 100%,二者相比,DNA 定量分析法显著提高了阳性检出率($\chi^2=155, P<0.01$),详见表 1。

[作者简介] 蔡小兰,硕士,主治医师。
E-mail:green_0819@163.com

表1 两种细胞学诊断方法结果比较

细胞学诊断方法	N	病理检查结果(n)				
		正常/ 宫颈炎	CIN I	CIN II/ CIN III	CIS	CC
TBS法						
正常	170	142	19	8	1	0
ASCUS	132	38	42	41	10	1
LSIL	90	12	37	29	10	2
HSIL/CIS	74	8	18	34	12	2
CC	2	0	0	0	0	2
DNA定量法(DNA指数>2.5)						
1~2	227	172	28	21	5	1
3~14	139	28	54	42	13	2
≥15	102	0	34	49	15	4

常规细胞学诊断为正常的病例中,DNA定量分析法发现 CIN I 19例(27%), CIN II/CIN III 8例(5%), CIS 1例(0.06%), CIN I 以上 28例(16%),与常规细胞学相比其阳性检出率有显著性差异($\chi^2=28, P<0.01$)。

2.2 灵敏度和特异性比较 在DNA指数>2.5的468例患者,常规细胞学组中ASCUS以上者经阴道镜下取活检病理诊断结果为标准,分别计算出常规细胞学与DNA定量分析诊断法的灵敏度和特异性。在268例活检样本中,若将LSIL定为筛查后需做活检标准,CIN II以上的病变中常规细胞学的灵敏度为60%,特异性为76%,而CIN I以上病变中的灵敏度和特异性分别为49%、90%。经细胞DNA定量分析系统筛查出阳性病例468例,若将3~14个细胞、DNA指数>2.5定为筛查后需做活检的标准,CIN II以上的病变的灵敏度和特异性分别为82%、63%;CIN I以上病变的灵敏度和特异性分别为72%、86%;1~2个异倍体细胞的灵敏度和特异性分别为100%、0。

3 讨论

人群进行宫颈脱落细胞学检查可使宫颈癌早发现、早诊断。随着超薄细胞检测技术(Thinprep pap Cell Test, TCT)应用于宫颈病变的筛查,灵敏度、特异度、阳性预测值均明显升高^[3-4]。液基薄层制片(Autocyte prep)技术只取上皮细胞,防止因异倍体细胞以外细胞的存在影响视野及清晰度^[5],从而减少了误差。此方法将阅片范围缩小到8 mm,更易于细胞病理学专家观察每个视野。但即使如此,细胞学专家根据细胞形态的改变所做的判断常带有一定主观性,并不能在显微镜下观察到细胞癌变早期核内DNA含量及其结构的改变。本研究中DNA制片过程是电脑全自动图像分析,制片细胞可以单独取出,并任意放大、缩小,完全杜绝了假阴性的发生。

以病理诊断为标准,CIN I~CIN III者,用常规细胞学方

法筛查,ASCUS以上者可检出205例,而用DNA定量分析法,1个以上异倍体细胞数者检出228例,比常规学方法多检出27例;在本实验中,DNA异倍体细胞者出现阴道镜下宫颈完全正常、TBS诊断正常,而细胞DNA定量分析时DNA指数>2.5者占80%,病理诊断结果部分为CIN I、CIN II、CIN III或CIS者,表明细胞DNA定量分析法比常规细胞学诊断法灵敏度高。以上结果表明:DNA定量分析法在宫颈癌筛查中有利于癌前病变的早期发现。本次普查结果与孙小蓉等^[6]的实验结果一致。

国外用DNA指数>4.5(9C)细胞作为细胞病理临床诊断阳性标准,其特异性很高,但敏感性低^[7]。本研究采用DNA指数>2.5(5C)作为细胞病理临床诊断阳性标准刚在国内用于临床实践。本研究表明,细胞DNA定量分析法仍有假阳性存在,故在用其进行宫颈癌筛查发现表现为阳性时,可结合常规细胞学诊断法的高特异性再进一步筛查。本研究中可见:468例中,DNA指数>2.5者有268例筛查出CIN I以上的癌前病变和宫颈癌,而用常规细胞学方法却只能检出240例阳性者,漏诊28例癌前病变样本,说明DNA定量分析法有利于早期宫颈病变检出,减少了漏诊率,也进一步说明DNA定量分析法比TBS常规细胞学方法灵敏度高,有利于早期宫颈病变的筛查和诊断。

总而言之,细胞DNA定量分析方法用于宫颈癌癌前病变筛查,可减少人为因素带来的误差,同时提高早期宫颈癌和癌前病变的灵敏度,使之成为妇女宫颈病变普查中最有效、方便、快捷、准确的检查方法。

[参考文献]

- [1] Stenkvis B, Soderstrom J. Reasons for cervical cancer despite extensive screening[J]. J Med Screen, 1996, 3: 204-207.
- [2] Telean S, Gamer E M, Lam P, et al. Analysis of thionin galloylanin and hematexylin for automated quantitative image cytometry of cervical samples[G]. 8th Annual Meeting, Clinical Applications of Cytometry, 1995: 15-18.
- [3] Schorge J O, Saboorian M H, Hynan L, et al. ThinPrep detection of cervical and endometrial adenocarcinoma: a retrospective cohort study[J]. Cancer, 2002, 96: 645.
- [4] 王 蓁, 刘丽芝, 王箴言, 等. LCT在宫颈癌和癌前病变筛查中的应用[J]. 青岛大学医学院学报, 2006, 42: 137-139.
- [5] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1966-1971.
- [6] 孙小蓉, 李玉兰, 丰东媛, 等. 用细胞DNA定量分析方法进行宫颈癌普查的临床研究[J]. 诊断病理学杂志, 2005, 12: 12-15.
- [7] Bocking A, Nguyen V Q. Diagnostic and prognostic use of DNA image cytometry in cervical squamous intraepithelial lesions and invasive carcinoma[J]. Cancer, 2004, 102: 41-54.

[收稿日期] 2007-01-14

[修回日期] 2007-06-04

[本文编辑] 尹 荼