

· 临床研究 ·

子宫颈细胞学 PAX1/JAM3 双基因甲基化检测用于子宫颈癌筛查的多中心研究

商晓¹ 孔令华¹ 肖晓萍¹ 万茹¹ 王婧² 吴焕文² 陈小燕³ 寿华峰³

费菁⁴ 周建维⁴ 郎景和¹ 李雷¹

¹中国医学科学院北京协和医院妇产科, 北京 100730; ²中国医学科学院北京协和医院病理科, 北京 100730; ³浙江省人民医院妇科, 杭州 310000; ⁴浙江大学医学院附属第二医院妇科, 杭州 310003

通信作者:李雷, Email: lileigh@163.com

【摘要】目的 探讨宫颈细胞学 PAX1/JAM3 双基因甲基化检测在子宫颈癌筛查中的应用价值。

方法 本研究为一项多中心前瞻性研究。2022年5至10月,在中国医学科学院北京协和医院、浙江大学医学院附属第二医院和浙江省人民医院妇科门诊行子宫颈癌机会性筛查的女性中,将接受液基薄层细胞学检测(TCT)、高危型人乳头瘤病毒(hrHPV)DNA 检测与 PAX1/JAM3 双基因甲基化(PAX1^m/JAM3^m)检测者为研究对象,共 1 184 例。基于 hrHPV 和细胞学结果,根据现行指南对于需要转诊阴道镜的女性提供相关检查和活检。根据组织病理学结果,研究比较各项检测方法及其组合用于子宫颈癌筛查的准确性。**结果** 1 184 例研究对象的年龄 [$M(Q_1, Q_3)$] 为 39(32, 51)岁,其中子宫颈良性或慢性子宫颈炎(正常)、子宫颈上皮内瘤变(CIN)1、CIN2、CIN3 和子宫颈癌分别为 541 例(45.7%)、273 例(23.1%)、168 例(14.2%)、140 例(11.8%)和 62 例(5.2%)。根据病理学结果,PAX1^m/JAM3^m 检测诊断 CIN2 或更严重病变(CIN2+)的灵敏度、特异度分别为 74.1% 和 95.9%,诊断 CIN3+ 的灵敏度、特异度分别为 87.6% 和 86.8%。受试者工作特征曲线显示,对于诊断 CIN3+, PAX1^m/JAM3^m 优于 TCT 或 hrHPV 检测,曲线下面积(AUC)(95%CI) 分别为 0.872(0.847~0.897)、0.580(0.551~0.610) 和 0.503(0.479~0.515)(均 $P < 0.05$)。**结论** 子宫颈脱落细胞中 PAX1^m/JAM3^m 检测对于诊断 CIN2+ 和 CIN3+ 均具有优异的准确性,优于传统的筛查方案和筛查策略。

【关键词】 宫颈肿瘤; 子宫颈上皮内瘤变; DNA 甲基化; 高危 HPV DNA 检测; 细胞学; 前瞻性研究

基金项目:北京市科技计划(Z211100002921068);北京市自然科学基金(Z220013);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2022-I2M-C&T-B-033)

临床试验注册:美国临床试验数据库(NCT05290428)

A multicenter study on the accuracy of PAX1/JAM3 dual genes methylation testing for screening cervical cancer

Shang Xiao¹, Kong Linghua¹, Xiao Xiaoping¹, Wan Ru¹, Wang Jing², Wu Huanwen², Chen Xiaoyan³, Shou Huafeng³, Fei Jing⁴, Zhou Jianwei⁴, Lang Jinghe¹, Li Lei¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China; ²Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China;

³Department of Gynecology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310000, China;

DOI: 10.3760/cma.j.cn12137-20231004-00630

收稿日期 2023-10-04 本文编辑 梁明修

引用本文:商晓,孔令华,肖晓萍,等.子宫颈细胞学 PAX1/JAM3 双基因甲基化检测用于子宫颈癌筛查的多中心研究[J].中华医学杂志,2024,104(20):1852-1859. DOI: 10.3760/cma.j.cn12137-20231004-00630.



中华医学杂志社

版权所有 侵权必究

⁴Department of Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China

Corresponding author: Li Lei, Email: lileigh@163.com

[Abstract] **Objective** To explore the value of cervical cytologic DNA methylation for screening cervical cancer. **Methods** This study was a prospective multicenter study conducted from May to October 2022 in Peking Union Medical College Hospital, Zhejiang Provincial People's Hospital, and the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine. Women who accepted opportunistic cervical cancer screening in gynecological outpatient clinics were subjected to liquid-based thin-layer cytology testing (TCT), high-risk human papillomavirus (hrHPV) DNA testing and PAX1/JAM3 dual-genes methylation testing (PAX1^m/JAM3^m). Colposcopy evaluation and biopsy were offered to women according to current guidelines. The accuracies of various testing methods and their combinations were compared based on histological diagnosis. **Results** A total of 1 184 samples diagnosed by histopathology were included in this study, consisting of 541 cases (45.7%) of benign cervical tissue or chronic cervicitis, 273 (23.1%) of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 1, 168 (14.2%) of CIN2, 140 (11.8%) of CIN3, and 62 (5.2%) of cervical cancer. The sensitivity and specificity of PAX1^m/JAM3^m testing for detecting CIN2 or more severe lesions (CIN2+) were 74.1% and 95.9%, respectively. The sensitivity and specificity of PAX1^m/JAM3^m testing for detecting CIN3+ were 87.6% and 86.8%, respectively. Receiver operating characteristic curve analysis showed that, for detecting CIN3+, the area under curve of PAX1^m/JAM3^m testing (0.872, 95%CI: 0.847-0.897) was significantly superior to TCT testing (0.580, 95%CI: 0.551-0.610) or hrHPV testing (0.503, 95%CI: 0.479-0.515) (all P values <0.05). **Conclusions** The PAX1^m/JAM3^m test in cervical exfoliated cells has excellent accuracy for the diagnosis of both CIN2+ and CIN3+, which is superior to traditional screening protocols and screening strategies.

[Key words] Uterine cervical neoplasms; Cervical intraepithelial neoplasia; DNA methylation; High-risk HPV DNA testing; Cytology; Prospective studies

Fund program: the Beijing Science and Technology Projects (Z211100002921068); the Key Research Project of Beijing Natural Science Foundation (Z220013); the CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (CIFMS) (2022-I2M-C&T-B-033)

Trial registration: Clinicaltrials.gov(NCT05290428)

子宫颈癌是威胁女性健康的重大卫生经济问题^[1-2]。高效和精准的筛查策略是实现“消除子宫颈癌”的关键措施之一。在传统筛查方案中,高危型人乳头状瘤病毒(high-risk human papillomavirus positive, hrHPV)DNA检测是目前首选的筛查方案^[3-4],但特异度较低^[5-6],亟需能够改善筛查特异度的分流方案以减少筛查的假阳性率和阴道镜转诊率,从而减少过度诊疗。目前主流的细胞病理学分流方案易受评估者的主观影响,可重复性差,敏感度也因受主观判定的影响在不同研究中存在差异^[4-8]。因此,开发新的筛查或分流技术方案已经成为子宫颈癌诊疗领域的重点和热点方向。

DNA甲基化作为一种表观遗传学的生物标志物,目前在子宫颈病变筛查诊断中的应用已涵盖多个临床的应用场景,包括作为hrHPV阳性患者的管理^[9-12]、细胞学微小异常筛查结果的管理^[13-14],以及子宫颈三型转化区与腺癌患者的管理等^[15-17]。PAX1^[18-20]和JAM3^[21-22]这两个靶基因的联合甲基化检测用于子宫颈高级别病变的筛查诊断已见于报道^[10]。

本研究旨在多中心前瞻性研究中,根据组织病理结果,评价PAX1/JAM3双基因甲基化(PAX1^m/JAM3^m)检测、hrHPV分型检测和细胞学分析对子宫颈癌筛查人群子宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)2及CIN2+、CIN3+的检测效果,同时对PAX1^m/JAM3^m甲基化检测作为hrHPV分流方案的可能性进行探讨。

对象与方法

一、研究对象

本研究为前瞻性多中心研究,在中国医学科学院北京协和医院、浙江大学医学院附属第二医院和浙江省人民医院3个单位中实施。在医院妇科门诊筛查队列中开展hrHPV DNA检测和细胞学分析,剩余样本则进行PAX1和JAM3甲基化检测。主要研究目的是比较不同筛查方案及其组合对于诊断CIN2+、CIN3+的准确性。

以2022年5至10月在上述医院妇科门诊行机会性子宫颈癌筛查的女性作为研究对象。纳入标



准包括:(1)≥18岁,有性生活史,具有完整子宫颈;(2)无HIV感染、器官移植史、使用免疫抑制剂治疗等严重的免疫缺陷疾病或问题;(3)同意接受常规子宫颈筛查和甲基化检测。排除标准:已知女性生殖道恶性肿瘤或其他部位仍在治疗中的恶性肿瘤。所有研究对象均自愿参加本次研究,并签署知情同意书。本研究通过了中国医学科学院北京协和医院伦理委员会审核,批号:KS2021211。总计入组了6262例行宫颈机会性筛查的女性,其中5078例依据国内现行诊疗指南进行随访观察,1184例进行了阴道镜检查并经子宫颈组织病理学诊断。

二、子宫颈癌筛查方案

1. 液基细胞学检测:使用新柏氏液基细胞学检查(thinprep cytologic test, TCT)。将宫颈刷插入子宫颈并顺时针旋转5~6次,收集宫颈口和宫颈管的脱落细胞,置于专用液基细胞保存液PreservCyt[®]液体(豪洛捷医疗科技有限公司,北京)。由2名以上有经验医师根据2014年The Bethesda System分类法对细胞学进行评估和诊断^[23]。

2. hrHPV DNA检测:使用Cobas HPV检测试剂盒(罗氏诊断产品有限公司,上海)进行基因分型检测,包括HPV16、18型和其他12种hrHPV(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66和68型)。Cobas HPV检测按照厂家说明书使用Cobas 4800平台进行检测。

3. PAX1^m/JAM3^m检测:使用人PAX1和JAM3基因甲基化检测试剂盒(PCR-荧光探针法)(北京起源聚禾生物科技有限公司)进行基因甲基化检测。甲基化判断标准为 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$ 或 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$,二者任一满足标准定义为PAX1^m/JAM3^m阳性。试验步骤和判定标准参见研究者既往方案^[9,24-25]。

三、阴道镜检查与病理评估

根据《中国子宫颈癌筛查指南》^[26]与《中国子宫颈癌筛查及异常管理相关问题专家共识》^[27-28],对hrHPV和(或)细胞学筛查结果异常的女性提供阴道镜转诊和子宫颈活检。甲基化阳性并不作为转诊阴道镜检查的指征。阴道镜的应用参考《阴道镜应用的中国专家共识》^[29],由参与研究医院具有资质的术者完成。两名有经验的病理医师对子宫颈活检结果进行诊断,诊断结果作为判定筛查方案的金标准。

四、统计学分析

采用SPSS 26.0统计软件包进行数据整理和统

计学分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间的差异采用方差分析。非正态分布的计量资料用 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,两组间的差异采用Mann-Whitney U检验。计数资料采用率或百分比(%)进行统计描述,组间比较采用 χ^2 检验。以病理诊断结果为金标准,利用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线下的面积(area under curve, AUC)评估hrHPV DNA检测、TCT检测和PAX1^m/JAM3^m检测对筛查人群中CIN2+与CIN3+检出的灵敏度、特异度、阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)及其95%CI值。双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、基本情况

1184例研究对象的年龄为39(32,51)岁。组织病理提示,子宫颈良性或慢性子宫颈炎(正常)、CIN1、CIN2、CIN3和子宫颈癌分别为541例(45.7%)、273例(23.1%)、168例(14.2%)、140例(11.8%)和62例(5.2%)。子宫颈癌患者中鳞癌和腺癌分别为57和5例。不同组织病理患者的TCT、HPV与PAX1^m/JAM3^m检测结果见表1。在正常、CIN1、CIN2、CIN3、子宫颈鳞癌和子宫颈腺癌的人群中,PAX1^m(+)的比例分别为2.4%(13/541)、6.2%(17/273)、50.0%(84/168)、71.4%(100/140)、100.0%(57/57)和80.0%(4/5)($P<0.001$),JAM3^m(+)的比例分别为1.7%(9/541)、4.0%(11/273)、44.6%(75/168)、65.0%(91/140)、96.5%(55/57)和100.0%(5/5)($P<0.001$),PAX1^m/JAM3^m(+)的比例分别为2.6%(14/541)、7.0%(19/273)、57.7%(97/168)、82.1%(115/140)、100.0%(57/57)和100.0%(5/5)($P<0.001$)。

二、PAX1^m/JAM3^m结果与细胞学、hrHPV检测和组织病理学结果的关系

PAX1^m/JAM3^m与子宫颈病变严重程度的相关性见表2。以PAX1^m/JAM3^m(-)组为参考,PAX1^m/JAM3^m(+)的患者发生CIN1、CIN2、CIN3的OR值(95%CI)分别为2.8(1.4~5.8)、50.5(28.2~97.0)和168.0(87.3~344.0)(均 $P<0.05$)。以PAX1^m/JAM3^m(-)组为参考,PAX1^m/JAM3^m(+)的患者发生细胞学低度鳞状上皮内病变或更严重病变的OR值(95%CI)为3.7(2.7~5.3),发生HPV16/18(+)的OR值(95%CI)为2.1(1.2~3.9)(均 $P<0.05$)。



表 1 不同子宫颈组织病理学诊断结果患者的临床特征比较

项目	总体 (n=1 844)	良性/炎症 (n=541)	CIN1 (n=273)	CIN2 (n=168)	CIN3 (n=140)	子宫颈鳞癌 (n=57)	子宫颈腺癌 (n=5)	Z/ χ^2 值	P 值
年龄(岁) ^a	39 (32, 51)	40 (32, 53)	37 (31, 48)	38 (30, 47)	38 (32, 48)	56 (43, 65)	43 (38, 45)	0.47	<0.001
细胞学检查 ^b								0.65	<0.001
NILM	351 (29.6)	207 (38.3)	62 (22.7)	49 (29.2)	24 (17.1)	8 (14.0)	1 (20.0)		
ASCUS	419 (35.4)	208 (38.4)	118 (43.2)	58 (34.5)	32 (22.9)	2 (3.5)	1 (20.0)		
ASC-H	27 (2.3)	9 (1.7)	7 (2.6)	4 (2.4)	6 (4.3)	1 (3.7)	0 (0.0)		
LSIL	320 (27.0)	113 (20.9)	81 (29.7)	72 (42.9)	52 (37.1)	1 (1.8)	1 (20.0)		
HSIL	100 (8.5)	4 (0.7)	4 (1.5)	10 (6.0)	39 (27.9)	42 (73.7)	1 (20.0)		
AGC	4 (0.3)	0 (0.4)	1 (0.6)	1 (0.6)	0 (0.0)	1 (1.8)	1 (20.0)		
SCC	4 (0.3)	0 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (7.0)	0 (0.0)		
hrHPV 检测								0.70	<0.001
阴性 ^b	65 (5.5)	38 (7.0)	8 (2.9)	7 (4.2)	7 (5.0)	4 (7.0)	1 (20.0)		
HPV16/18(+) ^b	372 (31.4)	101 (18.7)	82 (30.0)	70 (41.7)	75 (53.6)	41 (71.9)	3 (60.0)		
hrHPV12others(+) ^b	747 (63.1)	402 (74.3)	183 (67.0)	91 (54.2)	58 (41.4)	12 (21.1)	1 (20.0)		
$\Delta CtPAX1^a$	14.56 (7.38, 17.15)	16.44 (13.50, 17.68)	15.04 (9.51, 17.50)	6.62 (3.79, 13.85)	4.06 (2.93, 7.52)	2.47 (0.93, 3.78)	6.38 (3.54, 6.57)	1.39	<0.001
$\Delta CtPAX1>6.6^b$	909 (76.8)	528 (97.6)	256 (93.8)	84 (50.0)	40 (28.6)	0 (0.0)	1 (20.0)	2.00	<0.001
$\Delta CtPAX1\leqslant 6.6^b$	275 (23.2)	13 (2.4)	17 (6.2)	84 (50.0)	100 (71.4)	57 (100.0)	4 (80.0)		
$\Delta CtJAM3^a$	15.59 (11.79, 17.05)	16.52 (15.38, 17.61)	15.81 (13.78, 17.29)	12.44 (5.64, 15.81)	6.72 (4.76, 11.85)	4.34 (3.24, 6.22)	6.13 (4.26, 6.66)	1.91	<0.001
$\Delta CtJAM3>10.0^b$	938 (79.2)	532 (98.3)	262 (96.0)	93 (55.4)	49 (35.0)	2 (3.5)	0 (0.0)	2.67	<0.001
$\Delta CtJAM3\leqslant 10.0^b$	246 (20.8)	9 (1.7)	11 (4.0)	75 (44.6)	91 (65.0)	55 (96.5)	5 (100.0)		
PAX1 ^m /JAM3 ^m (-) ^b	877 (74.1)	527 (97.4)	254 (93.0)	71 (42.3)	25 (17.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	2.67	<0.001
PAX1 ^m /JAM3 ^m (+) ^b	307 (25.9)	14 (2.6)	19 (7.0)	97 (57.7)	115 (82.1)	57 (100.0)	5 (100.0)		

注:^a $M(Q_1, Q_3)$; ^b例(%); NILM 为无上皮内瘤变; ASCUS 为不明意义非典型鳞状上皮内病变; ASC-H 为不能排除高级鳞状上皮内病变的不典型鳞状上皮细胞; LSIL 为低度鳞状上皮内病变; HSIL 为高度鳞状上皮内病变; AGC 为不典型腺上皮细胞; SCC 为鳞状细胞癌; HPV 为人乳头状瘤病毒; hrHPV 为高危型 HPV; hrHPV 为 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68 型, 其中一种或多种阳性; HPV16/18(+) 为 HPV16 和(或)18 阳性; hrHPV 12others(+) 为非 16、18 型高危 HPV 阳性; PAX1^m/JAM3^m(-) 的标准为 $\Delta CtPAX1>6.6$ 且 $\Delta CtJAM3>10.0$; PAX1^m/JAM3^m(+) 的标准为 $\Delta CtPAX1\leqslant 6.6$ 或 $\Delta CtJAM3\leqslant 10.0$; CIN 为子宫颈上皮内瘤变

三、不同筛查方案对于子宫颈癌前病变和子宫颈癌的准确性

不同检测方式用于检测子宫颈病变与子宫颈癌的 ROC 曲线结果见图 1。以组织病理结果作为

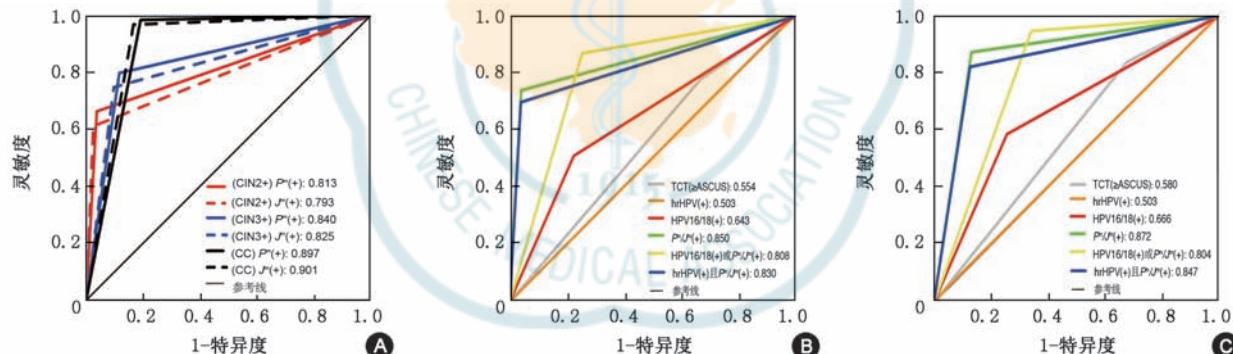
金标准, PAX1^m/JAM3^m(+) 检测 CIN2+ 病变的灵敏度、特异度、PPV、NPV 分别为 74.1% (69.6%~78.5%)、95.9% (94.6%~97.3%)、89.3% (85.8%~92.7%) 和 89.1% (87.0%~91.1%)。TCT 结果为不明



表 2 不同 PAX1^m/JAM3^m患者细胞学、hrHPV 和组织病理结果构成及其多因素 logistic 回归模型分析[例(%)]

项目	PAX1 ^m /JAM3 ^m (-)(n=877)	PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)(n=307)	OR 值(95%CI) ^a	P 值
细胞学结果				
NILM	292(33.3)	59(19.2)	-	-
ASCUS	349(39.8)	70(22.8)	1.0(0.7~1.5)	0.968
LSIL+	236(26.9)	178(58.0)	3.7(2.7~5.3)	<0.001
hrHPV 检测结果				
阴性	49(5.59)	16(5.21)	-	-
hrHPV 12others(+)	606(69.1)	141(45.9)	0.7(0.4~1.3)	0.269
HPV16/18(+)	222(25.3)	150(48.9)	2.1(1.2~3.9)	0.015
组织病理学结果				
良性/炎症	527(60.1)	14(4.56)	-	-
CIN1	254(29.0)	19(6.19)	2.8(1.4~5.8)	0.004
CIN2	71(8.1)	97(31.6)	50.5(28.2~97.0)	<0.001
CIN3	25(2.9)	115(46.9)	168.0(87.3~344.0)	<0.001
子宫颈鳞癌	0	57(18.6)	-	-
子宫颈腺癌	0	5(1.6)	-	-

注:^a均以 PAX1^m/JAM3^m(-)组为参考;PAX1^m/JAM3^m阳性的标准为 $\Delta CtPAX1 \leq 6.6$ 或 $\Delta CtJAM3 \leq 10.0$;NILM 为无上皮内瘤变;ASCUS 为不明意义非典型鳞状上皮内病变;LSIL+为低度鳞状上皮内病变或更严重病变;HPV 为人乳头状瘤病毒;hrHPV 为高危型 HPV, 即 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68 型中 1 种或多种阳性;hrHPV 12others(+)为非 16、18 型高危 HPV 阳性;HPV16/18(+)为 HPV16 和(或)18 阳性;CIN 为子宫颈上皮内瘤变



注:CIN 为子宫颈上皮内瘤变;CC 为子宫颈癌, 包括子宫颈鳞癌和子宫颈腺癌;P^m(+) $\Delta CtPAX1 \leq 6.6$;J^m(+) 为 $\Delta CtJAM3 \leq 10.0$;TCT(≥ASCUS)(+) 为细胞学检测结果为不明意义非典型鳞状上皮内病变及以上病变;HPV 为人乳头状瘤病毒;hrHPV(+) 为高危型 HPV 阳性;HPV16/18(+) 为 HPV16 和(或)HPV18;P^m/J^m(+) [即 PAX1^m/JAM3^m(+)] 的标准为 $\Delta CtPAX1 \leq 6.6$ 或 $\Delta CtJAM3 \leq 10.0$;HPV16/18(+) 或 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 HPV16 和(或)18 阳性, 或 $\Delta CtPAX1 \leq 6.6$, 或 $\Delta CtJAM3 \leq 10.0$;hrHPV(+) 且 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 hrHPV 阳性且 $\Delta CtPAX1 \leq 6.6$, 或 hrHPV 阳性且 $\Delta CtJAM3 \leq 10.0$

图 1 不同检测方法用于子宫颈病变与子宫颈癌检测的受试者工作特征曲线 A:PAX1^m(+)和JAM3^m(+)检测 CIN2+、CIN3+、子宫颈癌的 ROC 曲线;B:不同筛查方案对于 CIN2+ 检测的 ROC 曲线;C:不同筛查方案对于 CIN3+ 检测的 ROC 曲线

意义非典型鳞状上皮内病变或更严重病变(atypical squamous cells of undetermined significance or worse, ≥ASCUS)、hrHPV(+)、HPV16/18(+)或 PAX1^m/JAM3^m(+)、hrHPV(+)且 PAX1^m/JAM3^m(+)对 CIN2+ 的筛查效果详见表 3。不同筛查方案检测 CIN2+ 的准确性见图 1B。PAX1^m/JAM3^m(+)与 TCT(≥ASCUS)、hrHPV(+)、HPV16/18(+)或 PAX1^m/JAM3^m(+)、hrHPV(+)且 PAX1^m/JAM3^m(+)联合筛查方案相比, 均有更高的 AUC(0.850, 95%CI: 0.827~0.873; 均 $P < 0.001$)。

以组织病理结果作为金标准, PAX1^m/JAM3^m

(+)检测 CIN3+ 病变的灵敏度、特异度、PPV、NPV 分别为 87.6% (83.1%~92.2%)、86.8% (84.6%~88.9%)、57.7% (52.1%~63.2%) 和 97.1% (96.6%~98.3%)。TCT(≥ASCUS)、hrHPV(+)、HPV16/18(+)或 PAX1^m/JAM3^m(+)、hrHPV(+)且 PAX1^m/JAM3^m(+)对 CIN3+ 病变的筛查效果详见表 4。不同筛查方案检测 CIN3+ 的准确性见图 1C。PAX1^m/JAM3^m(+)与 TCT(≥ASCUS)、hrHPV(+)、HPV16/18(+)或 PAX1^m/JAM3^m(+)、hrHPV(+)且 PAX1^m/JAM3^m(+)联合筛查方案相比, 均有更高的 AUC(0.872, 95%CI: 0.847~0.897;



均 $P < 0.001$)。

对于检测 CIN2+ 或 CIN3+, hrHPV (+) 且 PAX1^m/JAM3^m (+) 均具有较高的特异度, 分别为 96.6% (94.7%~97.4%) 和 87.7% (85.2%~89.4%), CIN2+ 中灵敏度最高的为 hrHPV (+), 为 94.1% (89.6%~96.8%), CIN3+ 灵敏度最高的为 HPV16/18 或 PAX1^m/JAM3^m (+), 为 95.5% (92.1%~98.0%), 见表 3 和 4。

讨 论

本研究采用了多中心前瞻性研究设计, 全面评估了不同检测方式对于子宫颈癌筛查的有效性。本研究结果表明, 采用子宫颈脱落细胞 PAX1^m/JAM3^m 在检测 CIN2+ 与 CIN3+ 方面表现出良好的准确性。同时本研究还探讨了 PAX1^m/JAM3^m 联合 hrHPV 检测用于子宫颈癌筛查的检测效能, 研究发现 HPV16/18 (+) 或 PAX1^m/JAM3^m (+) 在检测 CIN2+ 与 CIN3+ 方面有着较高的灵敏度, 而 hrHPV (+) 且 PAX1^m/JAM3^m (+) 在检测 CIN2+ 与 CIN3+ 方面有着

最优的特异度和良好的灵敏度, hrHPV 分型检测与 PAX1^m/JAM3^m 检测的合理搭配有望最大程度发挥二者在子宫颈癌筛查中的作用。

甲基化检测应用于子宫颈癌筛查已经成为日益成熟可靠的技术方案。2021 年 7 月 WHO 指出了未来甲基化检测在子宫颈癌筛查中应用的可行性^[30-31]。在以往的一些研究中 PAX1 与 JAM3 甲基化在子宫颈癌筛查中展现出较好的检测效能^[22,32-34]。本课题组前期的一项在国内开展的 DNA 甲基化应用于子宫颈癌筛查的研究表明, 对于 CIN2+ 的检测, EPB41L3 和 JAM3 基因甲基化状态检测与 hrHPV 联合甲基化检测具有相同的 PPV (0.930 比 0.954, $P=0.395$), 并且对于 HPV 阴性的女性, EPB41L3 和 JAM3 基因甲基化状态能够很好地区分 CIN2+ 的患者^[9], 并在其验证集研究中证明无论 hrHPV 状态如何甲基化检测都可以作为独立的筛查方法^[25]。本研究结果显示, PAX1^m/JAM3^m 可对子宫颈癌(包括鳞癌和腺癌)100% 的检出, 这提示了在未来的研究中可以对 PAX1^m/JAM3^m 是否能成为子宫颈癌筛查的独立工具进行进一步的探究。

表 3 以 CIN2+ 为终点不同检测方式对子宫颈病变的筛查效果

检测方法	AUC(95%CI)	灵敏度 [% (95%CI)]	特异度 [% (95%CI)]	阳性预测值 [% (95%CI)]	阴性预测值 [% (95%CI)]
TCT(≥ASCUS)(+)	0.554(0.528~0.581)	77.8(73.6~82.1)	33.3(29.8~36.3)	34.6(31.3~37.8)	76.6(72.2~81.1)
HPV16/18(+)	0.643(0.614~0.672)	51.1(46.0~56.3)	77.5(74.7~80.4)	50.8(45.7~55.9)	77.7(74.8~80.6)
hrHPV(+)	0.503(0.489~0.516)	94.9(92.6~97.1)	5.7(4.1~7.2)	31.4(28.6~34.1)	70.8(59.7~81.8)
PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.850(0.827~0.873)	74.1(69.6~78.5)	95.9(94.6~97.3)	89.3(85.8~92.7)	89.1(87.0~91.1)
HPV16/18(+)或PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.808(0.785~0.831)	87.7(83.6~90.5)	74.4(71.6~77.6)	60.0(56.7~65.0)	92.2(90.7~94.7)
hrHPV(+)且PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.830(0.806~0.855)	70.0(65.3~74.7)	96.6(94.7~97.4)	89.9(85.4~92.6)	87.7(85.4~89.7)

注: CIN2+ 为子宫颈上皮内瘤变 2 级及更严重病变; TCT(≥ASCUS)(+) 为细胞学检测结果为不明意义非典型鳞状上皮内病变及以上病变; HPV16/18 (+) 为 HPV16 和 (或) 18 阳性; hrHPV (+) 为高危型 HPV 阳性; PAX1^m/JAM3^m (+) 的标准为 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$ 或 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; HPV16/18(+) 或 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 HPV16 和 (或) 18 阳性, 或 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$, 或 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; hrHPV(+) 且 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 hrHPV 阳性且 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$, 或 hrHPV 阳性且 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; AUC 为受试者工作特征曲线下面积

表 4 以 CIN3+ 为终点不同检测方式对子宫颈病变的筛查效果(95%CI)

检测方法	AUC(95%CI)	灵敏度 [% (95%CI)]	特异度 [% (95%CI)]	阳性预测值 [% (95%CI)]	阴性预测值 [% (95%CI)]
TCT(≥ASCUS)(+)	0.580(0.551~0.610)	83.7(78.6~88.8)	32.4(29.5~35.3)	20.3(17.6~23.0)	90.6(87.5~93.7)
HPV16/18(+)	0.666(0.629~0.702)	58.9(52.1~65.7)	74.2(71.5~77.0)	32.2(27.2~36.7)	89.8(87.7~91.9)
hrHPV(+)	0.503(0.479~0.515)	94.1(89.6~96.8)	5.4(4.1~7.0)	17.0(14.9~19.3)	82.9(80.8~85.1)
PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.872(0.847~0.897)	87.6(83.1~92.2)	86.8(84.6~88.9)	57.7(52.1~63.2)	97.1(96.6~98.3)
HPV16/18(+)或PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.804(0.783~0.825)	95.5(92.1~98.0)	65.5(62.7~68.7)	36.6(32.2~40.4)	98.8(97.5~99.4)
hrHPV(+)且PAX1 ^m /JAM3 ^m (+)	0.847(0.819~0.876)	82.2(76.9~87.5)	87.7(85.2~89.4)	57.7(51.4~62.7)	96.6(94.7~97.3)

注: CIN3+ 为子宫颈上皮内瘤变 3 级及更严重病变; TCT(≥ASCUS)(+) 为细胞学检测结果为不明意义非典型鳞状上皮内病变及以上病变; HPV16/18 (+) 为 HPV16 和 (或) 18 阳性; hrHPV (+) 为高危型 HPV 阳性; PAX1^m/JAM3^m (+) 的标准为 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$ 或 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; HPV16/18(+) 或 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 HPV16 和 (或) 18 阳性, 或 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$, 或 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; hrHPV(+) 且 PAX1^m/JAM3^m(+) 为 hrHPV 阳性且 $\Delta Ct_{PAX1} \leq 6.6$, 或 hrHPV 阳性且 $\Delta Ct_{JAM3} \leq 10.0$; AUC 为受试者工作特征曲线下面积



hrHPV 基因分型与 TCT 检查是目前临床对子宫颈癌进行筛查的主要手段,但是 TCT 的灵敏度比较低,容易产生假阴性,HPV 基因分型与 TCT 联合检测的灵敏度虽然得到了提升,但特异性并没有得到改善^[26]。本研究将 HPV 基因分型与 PAX1^m/JAM3^m 检测进行联合,有效地提升了检测的灵敏度与特异性。对于初筛 hrHPV 检测异常的患者 PAX1^m/JAM3^m 提供了一个可行的、无创的辅助诊断方法,PAX1^m/JAM3^m 在组织病理良性/炎症组和 CIN1 组的低阳性率(2.6% 和 7.0%)与子宫颈组织病理 CIN2、CIN3 高阳性率(57.7% 和 82.1%),表明 PAX1^m/JAM3^m 能够将子宫颈筛查结果异常的患者分流到不同的管理策略。已有文献研究提到,甲基化作为 HPV 阳性女性分流的价值相当于甚至优于细胞学检测,特别是在基于 HPV 筛查的人群中对于 CIN3+ 的分流效果^[35-39]。甲基化也可以作为细胞学初筛异常的管理方式^[40-41],并且甲基化还可以用于预测子宫颈病变进展^[22]。一项欧洲的多中心研究表明细胞学 FAM19A4/miR124-2 DNA 甲基化状态可以预测 CIN2/3 的消退状态^[42]。本研究中 hrHPV 联合 PAX1^m/JAM3^m 双基因甲基化在 CIN2+ 与 CIN3+ 的高准确性与高特异度表明 hrHPV 联合 PAX1^m/JAM3^m 具有潜在的子宫颈癌筛查价值。DNA 甲基化检测使得对子宫颈癌大规模筛查和监测成为可能,从而提高了对子宫颈癌早期诊断的可行性。对于低风险患者,甲基化联合 HPV 筛查可能有助于减少进一步的检查和干预,在降低了漏诊的风险的同时也避免了过度治疗和避免造成患者不必要的焦虑。这将有助于优化子宫颈癌筛查策略,使其更加精确和个性化。

总之,本研究发现,子宫颈脱落细胞中 PAX1^m/JAM3^m 检测对于 CIN2+ 和 CIN3+ 均具有优异的准确性,优于传统的筛查方案和筛查策略。由于 hrHPV 联合甲基化检测具备最佳的特异性,因此 PAX1^m/JAM3^m 检测有望替代细胞学成为 hrHPV(+) 女性的分流方案。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

志谢 北京起源聚禾生物科技有限公司为本研究提供了甲基化分析试剂盒;刘沛、刘禹利、王林海、靳希桐为本研究提供了技术支持

作者贡献声明 商晓:数据整理、统计学分析、论文撰写;孔令华、肖晓萍、万茹:细胞病理学分析;王婧、吴焕文:组织病理学分析;陈小燕、寿华锋、费菁、周建维:样本收集、研究设计、检测分析;郎景和:研究指导、经费支持;李雷:研究设计与指导、论文修改

参 考 文 献

- [1] Erratum: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(4): 313. DOI: 10.3322/caac.21609.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. 2021, 71(3):209-249.
- [3] WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, Second edition[EB/OL]. [2023-10-04]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030824>.
- [4] 中国优生科学协会阴道镜和子宫颈病理科分会,中华医学会妇科肿瘤学分会,中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会等.中国子宫颈筛查指南(一)[J].现代妇产科进展,2023, 32(7):481-487.
- [5] 中华预防医学会肿瘤预防与控制专业委员会,中国医师协会妇产科医师分会阴道镜与宫颈病变专业委员会,中国优生科学协会阴道镜和子宫颈病理科分会,等.人乳头状瘤病毒核酸检测用于宫颈癌筛查中国专家共识(2022)[J].中华医学杂志, 2023, 103(16):1184-1195. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20230117-00096.
- [6] 赵爽,陈号,赵方辉.全球子宫颈癌前病变及宫颈癌治疗指南制订现状的系统综述[J].中华医学杂志, 2022, 102(22): 1666-1676. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211106-02466.
- [7] 李乐,王瑞.14 962 例体检女性 HPV 感染特征及联合 TCT 筛查宫颈病变的价值[J].第三军医大学学报, 2020, 42(15): 1548-1554. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202004176.
- [8] WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition: use of mRNA tests for human papillomavirus (HPV) [EB/OL]. [2023-10-04]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240040434>.
- [9] Kong L, Wang L, Wang Z, et al. DNA methylation for cervical cancer screening: a training set in China[J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1): 91. DOI: 10.1186/s13148-020-00885-7.
- [10] 李翔,贺斯黎,赵行平,等.高危型人乳头瘤病毒感染患者宫颈脱落细胞 JAM3/PAX1 高甲基化诊断宫颈高级别病变[J].中南大学学报(医学版), 2023, 48(12):1820-1829.
- [11] Li N, Hu Y, Zhang X, et al. DNA methylation markers as triage test for the early identification of cervical lesions in a Chinese population[J]. Int J Cancer, 2021, 148(7): 1768-1777. DOI: 10.1002/ijc.33430.
- [12] Li B, Guo R, Lai T, et al. The application of PAX1 methylation detection and HPV E6/E7 mRNA detection in cervical cancer screening[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2021, 47(8):2720-2728. DOI: 10.1111/jog.14869.
- [13] Chao TK, Ke FY, Liao YP, et al. Triage of cervical cytological diagnoses of atypical squamous cells by DNA methylation of paired boxed gene 1 (PAX1)[J]. Diagn Cytopathol, 2013, 41(1):41-46. DOI: 10.1002/dc.21758.
- [14] Li SR, Wang ZM, Wang YH, et al. Value of PAX1 Methylation analysis by MS-HRM in the triage of atypical squamous cells of undetermined significance[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14): 5843-5846. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.14.5843.
- [15] Liu G. CDH1 promoter methylation in patients with



- cervical carcinoma: a systematic meta-analysis with trial sequential analysis[J]. Future Oncol, 2018, 14(1): 51-63. DOI: 10.2217/fon-2017-0267.
- [16] Wu N, Zhang X, Zhu M, et al. ZNF582 promoter methylation predicts cervical cancer radiosensitivity and ZNF582 protein overexpression reduces radiosensitivity by cell cycle arrest in S phase[J]. Epigenetics, 2022, 17(12): 1786-1799. DOI: 10.1080/15592294.2022.2080995.
- [17] Zhao Z, Zhang X, Zhao X, et al. SOX1 and PAX1 are hypermethylated in cervical adenocarcinoma and associated with better prognosis[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020:3981529. DOI: 10.1155/2020/3981529.
- [18] Xu L, Sheng F, Xia C, et al. Genetic variant of PAX1 gene is functionally associated with adolescent idiopathic scoliosis in the Chinese population[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2018, 43(7): 492-496. DOI: 10.1097/BRS.0000000000002475.
- [19] Liu H, Meng X, Wang J. Real time quantitative methylation detection of PAX1 gene in cervical cancer screening[J]. 2020, 30(10):1488-1492.
- [20] Liang H, Li GL, Liu J, et al. The application value of PAX1 and ZNF582 gene methylation in high grade intraepithelial lesion and cervical cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2021, 23(2): 283-288. DOI: 10.1007/s12094-020-02416-5.
- [21] Yin A, Zhang Q, Kong X, et al. JAM3 methylation status as a biomarker for diagnosis of preneoplastic and neoplastic lesions of the cervix[J]. Oncotarget, 2015, 6(42): 44373-44387. DOI: 10.18632/oncotarget.6250.
- [22] Guo Z, Hu Y, Yuan L, et al. A prospective study on the predictive value of DNA methylation in cervical intraepithelial neoplasia prognosis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 298(3): 589-596. DOI: 10.1007/s00404-018-4796-3.
- [23] Wilbur DC, Nayar R. Bethesda 2014: improving on a paradigm shift[J]. Cytopathology, 2015, 26(6): 339-342. DOI: 10.1111/cyt.12300.
- [24] 孔令华, 肖晓萍, 万茹, 等. DNA 甲基化检测在绝经后女性子宫内膜癌筛查中的应用价值[J]. 中华医学杂志, 2023, 103(12): 907-912. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220929-02058.
- [25] Kong L, Wang L, Wang Z, et al. Cytological DNA methylation for cervical cancer screening: a validation set [J]. Front Oncol, 2023, 13: 1181982. DOI: 10.3389/fonc.2023.1181982.
- [26] 孔北华, 马丁, 魏丽惠. 中国子宫颈癌筛查指南(一)[J]. 中国妇产科临床杂志, 2023, 24(4):437.
- [27] 魏丽惠, 赵昀, 沈丹华, 等. 中国子宫颈癌筛查及异常管理相关问题专家共识(一)[J]. 中国妇产科临床杂志, 2017, 18(2): 190-192. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2017.02.032.
- [28] 魏丽惠, 沈丹华, 赵方辉, 等. 中国子宫颈癌筛查及异常管理相关问题专家共识(二)[J]. 中国妇产科临床杂志, 2017, 18(3): 286-288. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2017.03.041.
- [29] 陈飞, 尤志学, 隋龙, 等. 阴道镜应用的中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(7):443-449. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20200320-00240.
- [30] 胡尚英, 赵雪莲, 张勇, 等.《预防宫颈癌:WHO 宫颈癌前病变筛查和治疗指南(第二版)》解读[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(34): 2653-2657. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20210719-01609.
- [31] Das M. WHO launches strategy to accelerate elimination of cervical cancer[J]. Lancet Oncol, 2021, 22(1): 20-21. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30729-4.
- [32] Liou YL, Zhang TL, Yan T, et al. Combined clinical and genetic testing algorithm for cervical cancer diagnosis[J]. Clin Epigenetics, 2016, 8: 66. DOI: 10.1186/s13148-016-0232-3.
- [33] Zhang L, Yu J, Huang W, et al. A sensitive and simplified classifier of cervical lesions based on a methylation-specific pcr assay: a Chinese cohort study[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 2567-2576. DOI: 10.2147/CMAR.S246103.
- [34] Luan T, Hua Q, Liu X, et al. PAX1 methylation as a potential biomarker to predict the progression of cervical intraepithelial neoplasia: a meta-analysis of related studies[J]. Int J Gynecol Cancer, 2017, 27(7): 1480-1488. DOI: 10.1097/IGC.0000000000001011.
- [35] Leeman A, Del Pino M, Marimon L, et al. Reliable identification of women with CIN3+using hrHPV genotyping and methylation markers in a cytology-screened referral population[J]. Int J Cancer, 2019, 144(1):160-168. DOI: 10.1002/ijc.31787.
- [36] 王三锋, 布俏雯, 张亮, 等. 宫颈脱落细胞中 FAM19A4 基因启动子甲基化的检测分析[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(25): 1963-1967. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.25.012.
- [37] Vink FJ, Lissenberg-Witte BI, Meijer C, et al. FAM19A4/miR124-2 methylation analysis as a triage test for HPV-positive women: cross-sectional and longitudinal data from a Dutch screening cohort[J]. Clin Microbiol Infect, 2021, 27(1): 125. e1-125. e6. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.03.018.
- [38] De Strooper LM, Hesselink AT, Berkhof J, et al. Combined CADM1/MAL methylation and cytology testing for colposcopy triage of high-risk HPV-positive women[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2014, 23(9): 1933-1937. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0347.
- [39] De Strooper L, Berkhof J, Steenbergen R, et al. Cervical cancer risk in HPV-positive women after a negative FAM19A4/mir124-2 methylation test: a post hoc analysis in the POBASCAM trial with 14 year follow-up[J]. Int J Cancer, 2018, 143(6):1541-1548. DOI: 10.1002/ijc.31539.
- [40] Singh P, Kitkumthorn N, Yanatatsaneejit P. Identification of malignancy in PAP smear samples using the CGB3 and NOP56 genes as methylation markers[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2022, 23(10): 3541-3551. DOI: 10.31557/APJCP.2022.23.10.3541.
- [41] Lin H, Chen TC, Chang TC, et al. Methylated ZNF582 gene as a marker for triage of women with Pap smear reporting low-grade squamous intraepithelial lesions-a Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study[J]. Gynecol Oncol, 2014, 135(1): 64-68. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.08.012.
- [42] Kremer WW, Dick S, Heideman D, et al. Clinical regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia is associated with absence of FAM19A4/miR124-2 DNA methylation (CONCERVE Study) [J]. J Clin Oncol, 2022, 40(26):3037-3046. DOI: 10.1200/JCO.21.02433.

