

## ·综述·

## 高危型人乳头瘤病毒阳性患者宫颈病变风险预测方法及进展

李博涵, 谭桂春, 曲芃芃<sup>△</sup>

【摘要】 宫颈癌的主要致病机制与高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的持续性感染密切相关。HR-HPV 检测已成为宫颈病变筛查的一个主要手段,其敏感度高、特异度差。因此,对持续性 HR-HPV 阳性患者的病变风险评估及分流判读尤为重要。随着对宫颈病变机制研究的深入,许多新兴分流手段逐步应用于临床:HR-HPV 载量检测可以除外一些一过性感染患者;P16/Ki67 细胞学双染使细胞学检查更为客观;HPV DNA 甲基化、宿主 DNA 甲基化和微小 RNA (miRNA)宫颈癌筛查不仅敏感度高、特异度相对较高,同时使患者自采样成为可能;免疫微环境可以反映宫颈病变程度及免疫状态。这些新型检查手段在提供 HR-HPV 患者阴道镜分流的同时,对于宫颈病变风险预测均有很好的临床应用价值。现综述 HPV 阳性后除细胞学检测外新的检测分流手段,为临床 HPV 阳性后的进一步检查及风险预测提供参考。

【关键词】 子宫颈;普查;乳头状瘤病毒科;宫颈上皮内瘤样病变;风险调节

The Progression of Methods for Risk Prediction of Cervical Lesions in HR-HPV Positive Patients LI Bo-han, TAN Gui-chun, QU Peng-peng. Tianjin Central Hospital of Obstetrics and Gynecology, Tianjin 300100, China

Corresponding author: QU Peng-peng, E-mail: qu.pengpeng@hotmail.com

【Keywords】 The main mechanism of cervical cancer is closely related to the persistent infection of high risk human papillomavirus (HR-HPV), and HR-HPV tests have become a main means of recognizing cervical lesions. But they have high sensitivity and poor specificity. Therefore, it is crucial to assess the risk of cervical lesions and screen out abnormality from patients with persistent HR-HPV infection. With the in-depth study for mechanism of cervical lesions, several new detection technologies are gradually applied in clinic. HR-HPV load detection can exclude some patients with transient infection. P16/Ki67 detection makes cytological examination more objective. HPV DNA methylation, host cell DNA methylation and miRNA cervical cancer screening not

基金项目:天津市卫生行业重点攻关项目(15KG140)

作者单位:300100 天津市中心妇产科医院

通信作者:曲芃芃, E-mail: qu.pengpeng@hotmail.com

<sup>△</sup>审校者

- One, 2018, 13(5):e0197029.
- [19] Kollmorgen G, Palme K, Seidl A, et al. A re-engineered immunotoxin shows promising preclinical activity in ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):18086.
- [20] Alewine C, Hassan R, Pastan I. Advances in anticancer immunotoxin therapy[J]. Oncologist, 2015, 20(2):176-185.
- [21] Kreitman RJ, Hassan R, Fitzgerald DJ, et al. Phase I trial of continuous infusion anti-mesothelin recombinant immunotoxin SS1P[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(16):5274-5279.
- [22] Hassan R, Bullock S, Premkumar A, et al. Phase I study of SS1P, a recombinant anti-mesothelin immunotoxin given as a bolus I.V. infusion to patients with mesothelin-expressing mesothelioma, ovarian, and pancreatic cancers [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13 (17):5144-5149.
- [23] Fan CA, Reader J, Roque DM. Review of Immune Therapies Targeting Ovarian Cancer[J]. Curr Treat Options Oncol, 2018, 19(12):74.
- [24] Hassan R, Schweizer C, Lu KF, et al. Inhibition of mesothelin-CA-125 interaction in patients with mesothelioma by the anti-mesothelin monoclonal antibody MORAb-009: Implications for cancer therapy [J]. Lung Cancer, 2010, 68(3):455-459.
- [25] Hassan R, Cohen SJ, Phillips M, et al. Phase I clinical trial of the chimeric anti-mesothelin monoclonal antibody MORAb-009 in patients with mesothelin-expressing cancers [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(24):6132-6138.
- [26] Le DT, Brockstedt DG, Nir-Paz R, et al. A live-attenuated Listeria vaccine (ANZ-100) and a live-attenuated Listeria vaccine expressing mesothelin (CRS-207) for advanced cancers: phase I studies of safety and immune induction [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(3):858-868.
- [27] Quanz M, Hagemann UB, Zitzmann-Kolbe S, et al. Anetumab ravtansine inhibits tumor growth and shows additive effect in combination with targeted agents and chemotherapy in mesothelin-expressing human ovarian cancer models[J]. Oncotarget, 2018, 9(75):34103-34121.
- [28] Golfier S, Kopitz C, Kahnert A, et al. Anetumab ravtansine: a novel mesothelin-targeting antibody-drug conjugate cures tumors with heterogeneous target expression favored by bystander effect [J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(6):1537-1548.

(收稿日期:2018-09-25)

[本文编辑 王琳]

only has relatively high sensitivity and specificity, but also makes self-sampling possible. Immune microenvironment can reflect the degree of lesion and immune status. Meanwhile, these new examination methods provide a good clinical value for the risk prediction of cervical lesions while providing colposcopy triage in patients with HR-HPV. The paper summarizes some new methods of the triage for HPV positive patients, and provides a reference for further examination and risk prediction after HPV positive.

**【Keywords】** Cervix uteri; Mass screening; Papillomaviridae; Cervical intraepithelial neoplasia; Risk adjustment

(J Int Obstet Gynecol, 2019, 46:98-103)

目前高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)检测已成为宫颈病变筛查的一个主要手段,其敏感度高、特异度差。因此,对持续性 HR-HPV 阳性患者的宫颈病变风险评估及分流判读尤为重要。当前宫颈癌筛查的主要方式为:①以 HR-HPV 作为初筛,16、18 型转诊阴道镜,其余高危型通过细胞学检查进行分流,未明确诊断意义的不典型鳞状上皮细胞(ASCUS)以上转诊至阴道镜;②以细胞学检查作为初筛,宫颈低级别鳞状上皮内病变(LSIL)及以上直接转诊阴道镜,如为 ASCUS 进行 HPV 检测进行分流,如为高危型则转诊阴道镜;③细胞学与 HPV 联合筛查,筛查的目的是发现宫颈高级别鳞状上皮内病变(HSIL)。美国的多学科团体(HUH)指南及 ARTISTIC 临床试验证实 HPV 初筛比联合筛查具有更高性价比,推荐 HPV 作为初筛首选<sup>[1]</sup>。以 HR-HPV 阳性作为初筛需考虑以下几点:①一次特定 HPV 基因型检测不能区分患者为暂时性感染还是持续性感染;②HR-HPV 阳性可预示未来宫颈癌发生风险增加,但不提示是否发生病变;③筛查中纳入何种分型需综合考虑感染率及感染该分型的患病风险<sup>[2]</sup>。因此对于 HR-HPV 阳性患者需进行必要的分流及风险预测,目前通常是采用细胞学及 HR-HPV 分型进行分流。但细胞学筛查敏感度低,有一定的漏诊率,可重复性差,其检查的主观性强,过度依赖病理医师的经验;而 HR-HPV 分型检测对单纯的 HPV16、18 型感染转诊同样增加了阴道镜转诊率,提高了筛查成本,且两者均无预测病变进展风险的能力。持续性 HR-HPV 感染是否进展为细胞病变并不确定,即使发生细胞学改变也有一定的时间差,如何判读 HPV 阳性结果成为临床需要考虑的一个重要问题。由于 HPV 疫苗逐步推广以及大众对 HPV 感染知识的普及,宫颈病变筛查在要求具备更高的敏感度及特异度、客观反应宫颈病变程度的基础上,对于 HR-HPV 感染后病变风险的预测同样提出了新的要求。近期的研究如载量检测、DNA 甲基化、微小 RNA(miRNA)等技术在满足宫颈筛查的同时在风险预测方面也表现出极大的临床应用价值。

## 1 HR-HPV 载量检测

目前 HR-HPV 载量检测应用相对广泛,多应用基因探针或聚合酶链反应(PCR)技术<sup>[3]</sup>。2014 年,美国食品药品监督管理局(FDA)一个咨询小组曾建议单独使用 HR-HPV 载量检测。该建议基于一项统计数据,其显示积极进行 HR-HPV 检测具有长期预测宫颈病变及宫颈癌风险的价值<sup>[4]</sup>。对于规律检查的女性而言,HR-HPV 载量变化先于细胞学改变,HR-HPV 载量较低的女性往往提示宫颈病变风险较低,其风险预测能力是细胞学检测结果阴性的 2 倍。以 HR-HPV 载量进行分流可以减少监测频率,确保对宫颈癌高危妇女进行有效的跟踪和随访<sup>[5]</sup>。一些 HPV 检测通常只能用于定性检测是否存在病毒,其阳性结果作为分流手段往往造成阴性转诊率的升高,导致过度医疗,从而降低了筛查的意义。第二代杂交捕获技术(HC2)通过基因探针杂交测定病毒载量,并设定检测阈值,超过阈值代表其患病高风险。研究表明宫颈病变的严重程度与 HR-HPV 病毒载量相关,同时通过 HC2 进行病毒载量测定可对病变风险进行预测,总体 HPV 载量较高的患者在 9 个月内有更高的概率发展为 HSIL<sup>[5-6]</sup>。但是目前以 HPV 载量作为宫颈病变风险指标也存在广泛争议,不同研究得出的病毒载量与宫颈病变程度的关系差异较大,其原因在于:①多数病毒载量测定没有对宫颈上皮数量进行标准化。②单纯的载量检测无法具体分出 HPV 病毒型别,而不同病毒型别的载量与病变之间的关联也有所不同。近期研究发现,载量与宫颈病变之间的关系与病毒亚型有关。目前病毒负荷的研究主要集中于 16 及 18 型,病毒载量对于病理学的影响主要集中于对 HPV 16 型的研究,其随病变的发展而载量增加。而对于 HPV 18 型的研究则提示载量与组织病理学无明显相关性,一些研究同样提示 HPV18 的 HSIL 载量较低。对于 HPV 16 及 18 以外型别的研究发现,不同 HPV 型别导致的病变与载量之间的关系也有所不同,总体而言,HR-HPV 型别接近 HPV16 的亚型(A9)病毒载量(HPV 31、33、35、52 及 58)与病变发展呈正相关,而接近 HPV18 的亚

型(A7)病毒载量(HPV 39、45 及 59)变化不明显<sup>[7-8]</sup>(见图 1)。其余各型别的变化也有所差异。

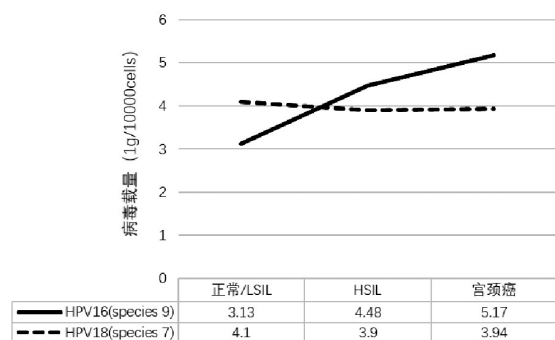


图 1 HPV 16、18 载量与宫颈病变的关系

目前病毒载量已广泛应用于 HPV DNA 检测。而应用于临床分流及宫颈病变风险预测还需与 HPV 分型检测结合,同时进行细胞数量标准化也是提高载量准确性的一个重要要求。

## 2 P16/Ki67 细胞学双染

P16 是一种肿瘤抑制蛋白,属于细胞周期蛋白依赖性激酶抑制家族(INK4)。通过对宫颈细胞荧光原位杂交技术(FISH)研究发现宫颈病变与 P16 基因拷贝数呈正相关。P16 表达异常主要是由于 HPV E7 蛋白造成 *Rb* 基因负反馈的结果。因此 P16 的表达水平与宫颈病变呈正相关,并且成为可以检测宫颈癌前病变的一个独立指标。由于 P16 反应细胞周期的变化,其准确性相较于 HPV E7 蛋白更为突出。相对于 HR-HPV 阳性的分流方法——细胞学检测, P16 对于 HSIL 诊断更为准确。对于 HR-HPV 感染患者,细胞学提示 ASCUS 而 P16 阴性表达提示宫颈病变风险较低。然而, P16 可以表达于 HPV 阴性的宫颈标本及细胞系中,如 C33A(HPV DNA 及 RNA 阴性的宫颈癌细胞系),这可能与 *Rb* 基因突变相关。此外,研究证明 P16 阳性表达的 HPV 感染患者病情进展较阴性表达者快,同时其还可以作为宫颈癌淋巴转移及高危风险的预测因素。与 HPV 联合细胞学检查相比, P16 联合细胞学检查的敏感度稍低但特异度更高,因此其可作为 HPV 筛查的辅助手段,用于细胞学检查中将炎症反应型及 LSIL 从 ASCUS 中分流出来。Carozzi 等<sup>[9]</sup>对 P16 单染的 HPV 阳性妇女分诊准确性研究发现, HPV+/P16+ 患者 3 年内患宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅲ的风险为 4.7%,而 HPV+/P16- 的患者仅为 0.8%。此外,随访发现 83.75% 的 CINⅢ 的患者 P16+。Ki67 是一种非组蛋白

核蛋白,除了 G<sub>0</sub> 及 G<sub>1</sub> 早期阶段,其表达于其他细胞周期,是反应细胞增殖状态的一个有效标志物,且与宫颈病变程度有关。Ki67 还有助于区分 LSIL 与 HSIL 之间的异型性,可作为一个宫颈病变的独立风险评估指标<sup>[10]</sup>。

P16/Ki67 的检测方式是通过免疫细胞化学(或组织化学)进行双重标记染色,相较于细胞学的形态学诊断, P16/Ki67 检测的阳性标准为单个细胞同时呈褐色胞质和红色胞核。在 Athena 实验中对细胞学及 P16/Ki67 双染进行对比发现,细胞学双染对于 CINⅢ 诊断的敏感度高于细胞学(87.6% vs. 77.6%),特异度相同(均为 36.0%)<sup>[11]</sup>。而 HPV16、18 阳性患者细胞学双染诊断 CINⅢ 的特异度最高,接近 100%。最近苏格兰的一项研究显示,与常规细胞学相比, P16/Ki67 双染的敏感度低(68.3% vs. 85.0%),特异度相对较高(89.1% vs. 76.7%)<sup>[12]</sup>。细胞学对于病理科医师的培训水平要求较高,不同观察者之间的重复性诊断差异较大, P16/Ki67 双染相较而言是一个可靠的工具,较细胞学有其特有的优势<sup>[10]</sup>。

## 3 HPV DNA 甲基化

HPV DNA 甲基化逐渐成为宫颈病变筛查的一种新方法。病毒的甲基化通常导致病毒基因沉默,是人类宿主细胞抑制病毒侵袭的众多保护机制之一。但 Vinokurova 等<sup>[13]</sup>研究发现 E2 蛋白可以通过 URR 区段的结合位点,对 HPV 起到激活/抑制双重调控作用,而 E2 调控作用异常是 HPV E6、E7 高表达的一个主要原因, HPV DNA URR 区段甲基化可以抑制 E2 蛋白与其位点结合,从而丧失对 E6、E7 蛋白表达的调控作用,导致其表达量的增加,进而造成 P53 及 *Rb* 蛋白降解以及上皮细胞增殖,促进病情进展。此外,研究发现不同型别的 HR-HPV 均出现不同程度的甲基化。目前 HPV16、18 的 L1、L2 基因中胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpGs)岛显示出与病变程度相一致的甲基化水平, HPV 的其余基因也有不同程度甲基化,见表 1。

近年来随着对各个型别 HR-HPV DNA 甲基化研究的增多,其方法逐渐成熟。Lorincz 等<sup>[18]</sup>研究表明病毒特异性 CpGs(HPV 16、18、31-L2、33-L1)对于 CINⅢ 及以上的分流敏感度约为 84%,特异度约为 63%。Clarke 等<sup>[19]</sup>研究了 12 个型别 HR-HPV DNA 甲基化发现,与细胞学相比,其敏感度(80.0% vs. 76.6%)、诊断阳性率(48.7% vs. 38.5%)均表现优异,可提示宫颈病变风险。病毒 DNA 甲基化的优势在于



表 1 HPV 16 型别不同基因区甲基化与宫颈病变关系

作者	年份	病例数	基因区	标本	结论
Sun 等 <sup>[14]</sup>	2011	85	上游调控区 L1	<CIN II, CIN II, CIN III+	当宫颈病变达到 CIN III 及以上时 L1 甲基化显著增加
Brandsma 等 <sup>[15]</sup>	2009	13	基因组	阴性, ASCUS, LSIL, CIN I 以及 CIN II/III	基因甲基化程度随病变程度的加重而增加, 尤其在 E5/L2/L1 上相对显著
Piyathilake 等 <sup>[16]</sup>	2011	75	上游调控区 E6	CIN I, CIN II+	较高的甲基化常出现在病变早期
Mirabello 等 <sup>[17]</sup>	2012	108	基因组	感染清除, 持续性感染尚未到 CIN II 以上, CIN III	L1/L2/E2/E3/E4 基因甲基化随病变程度的加重而增加, 并且 L1/L2 甲基化可用于评估风险

其不需要细胞学基础设备, 可以适应高资源及低资源环境, 结果客观, 有可能实现患者自采样, 并且可以提示 HPV 阳性患者的宫颈病变风险, 因此多型别 HPV DNA 甲基化检测法可作为 HPV 阳性妇女分流的有效方案<sup>[20]</sup>。

#### 4 宿主 DNA 甲基化分析

宿主细胞基因组甲基化是宫颈癌中常见的表观遗传学现象, 通过 HPV E6、E7 活化调节后的 DNA 甲基化及染色质重塑导致宿主细胞基因组内 CpGs 超甲基化<sup>[21]</sup>, 从而导致一些基因组出现转录抑制。宫颈癌中的一些抑癌基因常发生上述改变, 呈持续甲基化状态。宫颈癌细胞中的一些基因(包括 *CADM1*、*MAL*、*miR124-2*、*JAM3*、*TERT*、*C13ORF*、*EPB41L3*、*ANKRD18CP*、*GFRA1*、*CDH6*、*LHX8*、*GATA4*、*PRDM14* 及 *FAM19A4* 等)甲基化水平随宫颈病变的严重程度而增加<sup>[22-24]</sup>。此外, *CADM1*、*MAL*、*miR124-2* 及 *FAM19A4* 基因可以识别持续性 HR-HPV 感染及一过性感染<sup>[22]</sup>。*FAM19A4* 甲基化的应用相对广泛, 不论是在宫颈抹片亦或是自我取样中其甲基化水平均与宫颈病变严重程度相一致。而 *CADM1*、*MAL*、*miR124-2* 及 *FAM19A4* 的甲基化应用于宫颈癌的诊断敏感度相对较高, 在一些研究中, 其敏感度可达 100%。宿主基因甲基化分析联合 HPV 检测同样表现优异。对美国宫颈病变阴道镜筛查人群进行 DAPK1 甲基化分析联合 HPV 检测发现, CIN II 及以上的筛查敏感度可达 80%, 特异度为 89%<sup>[25]</sup>。英国的一项研究采用 *EPB41L3* 甲基化分析联合 HPV 检测同样具有高达 90% 的敏感度<sup>[26]</sup>, 受试者工作特征曲线下面积为 0.78。宿主 DNA 甲基化对 HPV 阳性患者 CIN III+ 的筛查敏感度、特异度见表 2。由于宿主 DNA 甲基化分析的客观性、一致性以及自动化、适用于患者自采样, 其在未来可有效改善临床宫颈病变的筛查方法。

表 2 宿主 DNA 甲基化对 HPV 阳性患者 CIN III+ 筛查敏感度、特异度比较 (%)

检测方法	CIN III+	
	敏感度(95%CI)	特异度(95%CI)
<i>CADM1</i> / <i>MAL</i> <sup>[27]</sup>	69.4(57.9~80.8)	71.2(66.1~76.3)
<i>FAM19A4</i> / <i>miR124-2</i> <sup>[28]</sup>	84.7(76.4~93.0)	54.9(47.7~62.2)
细胞学检查 <sup>[27]</sup>	77.4(67.0~87.8)	73.8(68.9~78.8)

#### 5 miRNA 用于宫颈癌筛查

除上述筛查手段, miRNA 对于宫颈癌前病变的筛查也逐步应用于临床。miRNA 既可以作为促癌基因亦可以作为抑癌基因, HPV 相关的恶性肿瘤中致癌及抑癌 miRNA 均有报道。Agarwal 等<sup>[29]</sup>研究发现 miRNA 的失调常发生于宫颈癌变及进展的早期阶段。目前已证实 miR-9、miR-106b、miR-93、miR-21 和 miR-155 等可用于鉴别 HPV 感染及 HPV 感染所导致的鳞状上皮癌变<sup>[30]</sup>。因为病毒无法产生自己的 miRNA, 这些指标可以代表宿主对 HPV 感染的反应。同时 miR-17~92 簇及 miR-106b~25 簇可在 HPV 相关的上皮鳞癌中表达上调。这些改变均可协助早期诊断宫颈癌。miRNA 的优势在于无需完整的宿主细胞, 可以用于阴道灌洗液的自收集检测。Verhoef 等<sup>[31]</sup>研究对宿主 *MAL* 及 *miR124-2* 进行甲基化特异性 PCR 检测发现, *miR124-2* 对 CIN II 及以上的宫颈病变检出率不亚于细胞学检查 (90/515 vs. 75/509)。同样有证据表明, 某些 miRNA 阴性的患者可以提示宫颈病变风险较低, 其在短期内发展为高级别上皮内瘤变及癌变的概率相对较低<sup>[28]</sup>。一项对于 *FAM19A4* 及 *miR124-2* 的研究表明, 其联合 HPV16、18 阳性基因分型结果可以显著提高 CIN II 及以上的筛查敏感度。另一项研究对 HR-HPV 阳性妇女进行 *FAM19A4* 及 *miR124-2* 检测并随访 14 年, 结果表明 *FAM19A4*/*miR124-2* 甲基化分析为阴性的 30 岁及以上 HPV 阳性妇女宫颈癌风险较低, 提示 *FAM19A4*/*miR124-2* 甲基化分析可作为基于

HPV 初筛的宫颈筛查程序的分流检测<sup>[32]</sup>。随着研究的深入以及患者自采样相关研究的进展,miRNA 在宫颈癌筛查中展现出其独特的重要作用。

## 6 免疫微环境

宫颈黏膜是 HPV 的主要感染部位,一过性 HPV 感染会造成黏膜产生急性反应,正常情况下这种炎症环境可以有效清除病毒,而该环境的改变往往是 HPV 持续性感染的主要机制。HPV 感染造成的生殖器病变的逆转超过 80%是由宫颈局部免疫应答清除的。在此期间,细胞的固有免疫系统[包括角质细胞、树突状细胞、朗格汉斯细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)和 T 细胞等]发挥重要作用,其通过促进炎症反应清除病毒感染。因此,局部的炎症环境可以反映机体的免疫状态及对病毒的清除能力,从而反映病变程度以及预测感染后宫颈病变风险。目前研究多集中于 HPV 抗原的体液免疫应答,对 E6、E7 抗体的报道相对较多。Combes 等<sup>[33]</sup>研究发现 CIN 与 E7 抗体相关,E7 抗体阳性的患者发生宫颈病变的风险高于 E7 抗体阴性的患者。E4 抗体也同样可以用于宫颈病变的诊断。流行病学研究表明,宫颈癌前病变女性 E4 抗体阳性率明显高于普通人群,进一步研究发现其可作为病毒拷贝的标记从而提示宫颈病变风险<sup>[34]</sup>。采用不同的 HPV 抗原(E2、E4、E5、E6、E7 和 L1)进行抗原抗体检测,可实现对感染不同阶段(瞬态、潜伏和持续)的诊断。另外,研究表明 1 型辅助性 T 细胞/2 型辅助性 T 细胞(Th1/Th2)漂移理论在 HPV 持续感染患者中扮演重要角色,因此相关细胞因子同样可以作为预测 HR-HPV 感染患者宫颈病变风险的良好指标。一项对 HR-HPV 持续感染宫颈局部 8 种细胞因子的研究发现,随着病变程度的加重,IL-2 浓度逐渐降低,IL-6 浓度逐渐升高<sup>[35]</sup>。然而细胞因子应用于宫颈病变筛查仍需进一步的前瞻性研究确定其能否成为 HPV 阳性患者风险监测的指标。

## 7 结语

随着对宫颈病变进展到宫颈癌机制的深入研究,宫颈病变的筛查策略从原来的单以细胞学为基础的筛查转变为以 HR-HPV 为基础的多种筛查手段并存,这也给妇产科医师带来了新的挑战。尽管 HPV 感染极为普遍,但人们错误的认知也往往给女性患者带来压力,从而造成患者生活和心理问题,进一步挑战了宫颈筛查的方式。因此,宫颈筛查的关注

点除了病变防治也要重视 HPV 阳性患者的风险预测,同时评估宫颈病变筛查指标的客观化也是临床面临的挑战。目前 P16/Ki67 双染已作为分子筛查分流标记物进入临床,宿主 DNA 甲基化、HPV 基因组甲基化和 miRNA 检查是具有应用前景的宫颈病变风险监测检查,对于宫颈病变局部微环境免疫状态的研究也为 HPV 阳性患者的风险预测提供了新的思路。同时以 HPV 为基础的筛查手段还应注重对患者的健康教育,强调 HPV 阳性不表明其是宫颈癌或将要发展为宫颈癌;筛查出癌前病变并及时干预治疗即可以阻止宫颈癌的发生。临床医师在进行宫颈病变治疗的同时也要注意减轻 HPV 阳性患者的痛苦情绪,从而真正发挥宫颈病变筛查的优势。

## 参 考 文 献

- [1] Huh WK, Ault KA, Chelmow D, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(2):178-182.
- [2] Cuschieri K, Ronco G, Lorincz A, et al. Eurogin roadmap 2017: Triage strategies for the management of HPV-positive women in cervical screening programs [J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(4):735-745.
- [3] Goodman A. HPV testing as a screen for cervical cancer [J]. *BMJ*, 2015, 350:h2372.
- [4] Smelov V, Elfström KM, Johansson AL, et al. Long-term HPV type-specific risks of high-grade cervical intraepithelial lesions: a 14-year follow-up of a randomized primary HPV screening trial [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):1171-1180.
- [5] Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer [J]. *Lancet*, 2002, 360(9328):228-229.
- [6] Lowe B, O'Neil D, Loeffert D, et al. Distribution of Human papillomavirus load in clinical specimens [J]. *J Virol Methods*, 2011, 173(1):150-152.
- [7] Fu Xi L, Schiffman M, Ke Y, et al. Type-dependent association between risk of cervical intraepithelial neoplasia and viral load of oncogenic human papillomavirus types other than types 16 and 18 [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(8):1747-1756.
- [8] Wang W, Zhang XH, Li M, et al. Association between viral loads of different oncogenic human papillomavirus types and the degree of cervical lesions in the progression of cervical Cancer [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 483:249-255.
- [9] 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(2):168-176.
- [10] Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening [J]. *Cancer Cytopathol*, 2014, 122(12):

- 914–920.
- [11] Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of Cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a–Ki–67 to Define the Management of Human Papillomavirus (HPV)–Positive Women in Cervical Cancer Screening [J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145(1):35–45.
- [12] Stanczuk GA, Baxter GJ, Currie H, et al. Defining Optimal Triage Strategies for hrHPV Screen–Positive Women–An Evaluation of HPV 16/18 Genotyping, Cytology, and p16/Ki–67 Cytoimmunochemistry [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2017, 26(11):1629–1635.
- [13] Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Differential methylation of the HPV 16 upstream regulatory region during epithelial differentiation and neoplastic transformation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e24451.
- [14] Sun C, Reimers LL, Burk RD. Methylation of HPV16 genome CpG sites is associated with cervix precancer and cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(1):59–63.
- [15] Brandsma JL, Sun Y, Lizardi PM, et al. Distinct human papillomavirus type 16 methylomes in cervical cells at different stages of premalignancy [J]. *Virology*, 2009, 389(1/2):100–107.
- [16] Piyathilake CJ, Macaluso M, Alvarez RD, et al. A higher degree of methylation of the HPV 16 E6 gene is associated with a lower likelihood of being diagnosed with cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Cancer*, 2011, 117(5):957–963.
- [17] Mirabello L, Sun C, Ghosh A, et al. Methylation of human papillomavirus type 16 genome and risk of cervical precancer in a Costa Rican population [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2012, 104(7):556–565.
- [18] Lorincz AT, Brentnall AR, Scibior–Bentkowska D, et al. Validation of a DNA methylation HPV triage classifier in a screening sample [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(11):2745–2751.
- [19] Clarke MA, Gradissimo A, Schiffman M, et al. Human Papillomavirus DNA Methylation as a Biomarker for Cervical Precancer: Consistency across 12 Genotypes and Potential Impact on Management of HPV–Positive Women [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(9):2194–2202.
- [20] Luttmer R, De Strooper LM, Steenbergen RD, et al. Management of high–risk HPV–positive women for detection of cervical (pre)cancer [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2016, 16(9):961–974.
- [21] Groves IJ, Coleman N. Pathogenesis of human papillomavirus – associated mucosal disease [J]. *J Pathol*, 2015, 235(4):527–538.
- [22] De Strooper LM, Meijer CJ, Berkhof J, et al. Methylation analysis of the FAM19A4 gene in cervical scrapes is highly efficient in detecting cervical carcinomas and advanced CIN2/3 lesions [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2014, 7(12):1251–1257.
- [23] Boers A, Wang R, van Leeuwen RW, et al. Discovery of new methylation markers to improve screening for cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 [J]. *Clin Epigenetics*, 2016, 8:29.
- [24] Luttmer R, De Strooper LM, Berkhof J, et al. Comparing the performance of FAM19A4 methylation analysis, cytology and HPV16/18 genotyping for the detection of cervical (pre)cancer in high–risk HPV–positive women of a gynecologic outpatient population (COMETH study) [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(4):992–1002.
- [25] Kalantari M, Osann K, Calleja–Macias IE, et al. Methylation of human papillomavirus 16, 18, 31, and 45 L2 and L1 genes and the cellular DAPK gene: Considerations for use as biomarkers of the progression of cervical neoplasia [J]. *Virology*, 2014, 448:314–321.
- [26] Lorincz AT. Virtues and Weaknesses of DNA Methylation as a Test for Cervical Cancer Prevention [J]. *Acta Cytol*, 2016, 60(6):501–512.
- [27] Verhoef VM, van Kemenade FJ, Rozendaal L, et al. Follow–up of high–risk HPV positive women by combined cytology and bi–marker CADM1/MAL methylation analysis on cervical scrapes [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 137(1):55–59.
- [28] De Strooper LMA, Verhoef VMJ, Berkhof J, et al. Validation of the FAM19A4/mir124–2 DNA methylation test for both lavage– and brush–based self–samples to detect cervical (pre)cancer in HPV–positive women [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 141(2):341–347.
- [29] Agarwal SM, Raghav D, Singh H, et al. CCDB: a curated database of genes involved in cervix cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue):D975–D979.
- [30] Park S, Eom K, Kim J, et al. MiR–9, miR–21, and miR–155 as potential biomarkers for HPV positive and negative cervical cancer [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):658.
- [31] Verhoef VM, Bosgraaf RP, van Kemenade FJ, et al. Triage by methylation–marker testing versus cytology in women who test HPV–positive on self–collected cervicovaginal specimens (PROHTECT–3): a randomised controlled non–inferiority trial [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(3):315–322.
- [32] De Strooper LMA, Berkhof J, Steenbergen RDM, 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.
- [33] Combes JD, Pawlita M, Waterboer T, et al. Antibodies against high–risk human papillomavirus proteins as markers for invasive cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(10):2453–2461.
- [34] Vázquez–Corzo S, Trejo–Becerril C, Cruz–Valdez A, et al. Association between presence of anti–Ras and anti–VPH16 E4/E7 antibodies and cervical intraepithelial lesions [J]. *Salud Publica Mex*, 2003, 45(5):335–345.
- [35] 张玲, 曲芃芃. HR–HPV 持续感染宫颈局部 8 种细胞因子变化的研究[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2018, 19(1):6–8.

(收稿日期:2018–10–22)

[本文编辑 杨晓园]