

cobas 4800 HPV 检测在宫颈癌筛查中的应用价值

崔晓莉^① 王纯雁^① 王红^② 康乐妮^② 陈汶^② 陈凤^② 于露露^②
洪恩宇^② 潘秦镜^② 乔友林^②

摘要 目的:评价 cobas 4800 HPV 检测技术在宫颈癌及癌前病变筛查中的可行性及应用价值。方法:对河南省新密市 856 例年龄>21 岁有性生活的妇女进行宫颈癌筛查。每位妇女均接受了 cobas 4800 HPV 检测、高危型 HPV 第二代杂交捕获试验(hybrid capture 2 technology, HC2)检测、ThinPrep 液基细胞学和阴道镜检查。阴道镜下在可见病变处直接取活检;任意筛查结果阳性但无可见病变时,于宫颈外口鳞柱交界处行四象限随机活检和宫颈管搔刮术(endocervical curettage, ECC)。结果:cobas 4800 HPV 检测与 HC2 检测对宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)2 级以上(CIN2、CIN3 及宫颈癌)患者的灵敏度均为 94.4%(34/36),特异度分别为 63.2%(516/817)和 63.9%(522/817);一致率为 83.4%(711/853),两者具有高度一致性(Kappa=0.65)。cobas 4800 HPV 检测对于液基细胞学检查漏诊的患者具有 100%检出率。cobas 4800 HPV16 及 18 分型检测对于 CIN2 以上患者的阳性预测值 21.9%为 HC2 检测 10.3%的 2.13 倍。妇女感染 HPV16 及 18 型患 CIN2 以上病变的年龄比感染其他类型平均小 5.4 岁。结论:cobas 4800 HPV 检测与 HC2 检测具有相似的准确性和良好的一致性,比 ThinPrep 液基细胞学检查更为灵敏,并且能鉴别 HPV16 及 18 两种高风险类型 HPV 感染,利于医生更有针对性地随访宫颈病变中的高危病例。

关键词 宫颈癌 人乳头瘤病毒 筛查 cobas 4800

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.06.010

Application of cobas 4 800 human papilloma virus test in cervical cancer screening

Xiaoli CUI¹, Chunyan WANG¹, Hong WANG², Leni KANG², Wen CHEN², Feng CHEN², Lulu YU², Enyu HONG², Qijing PAN², Youlin QIAO²

Correspondence to: Wen CHEN; E-mail: chenwen@cicams.ac.cn

¹Department of Gynecologic Oncology, Liaoning Cancer Hospital and Institute, Shenyang 110042, China

²Department of Cancer Epidemiology, Cancer Hospital and Institute, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Abstract Objective: This study aimed to evaluate the feasibility and utility of cobas 4800 human papilloma virus (HPV) test as a primary screening test and a triage tool in cervical cancer screening. **Methods:** A total of 856 unscreened women subjects over 21 years of age and have engaged in sexual activities were recruited from Henan, China in 2011. All subjects were screened through cobas 4800 HPV, Hybrid Capture 2 (HC2) technology, ThinPrep liquid-based cytology, and colposcopy. Any visible lesion was directly biopsied through colposcopy. Random biopsies in four quadrants at the squamocolumnar junction and endocervical curettage were performed when apparent colposcopic abnormality was not observed, but at least one of the HPV tests was positive. Pathologic diagnosis was used as the golden standard to evaluate the performance of the screening tests. **Results:** Measured as a primary screening test, the sensitivity and specificity of the cobas 4 800 HPV test in detecting grade II cervical intraepithelial neoplasia (CIN2) and CIN2+ in patients reached 94.4% and 63.2%, respectively, compared with 94.4% and 63.9% of the HC2 test. The concordance rate in detecting HPV DNA between cobas 4800 HPV and HC2 tests was 83.4% ($\kappa=0.65$). The cobas 4800 HPV test could detect all CIN2+ cases that were undetected by the ThinPrep liquid-based cytologic test. The positive predictive value of the HPV 16/18 typing test in detecting CIN2+ lesions was twice as high as that of the HC2 test (2.13 \times). In the CIN2+ cases, the women subjects infected with HPV16/18 were 5.4 years younger than those infected with other types of HPV. **Conclusion:** Satisfactory consistency and similar accuracy between the cobas 4800 HPV and HC2 tests were observed. However, cobas 4 800 HPV test is superior in detecting high-risk HPV types. This test could provide more sensitive and efficient strategies compared with the ThinPrep liquid-based cytology. Cobas 4 800 HPV can also identify the sub-genotypes of high-risk HPV16/18, which can effectively help the doctors follow up high-risk cases among women with high-grade cervical lesions. Cobas 4 800 HPV test is expected to be a new method for cervical cancer screening.

Keywords: cervical cancer, HPV, screening, cobas 4800

作者单位:①辽宁省肿瘤医院妇科(沈阳市 110042);②中国医学科学院肿瘤医院研究所流行病学教研室

通信作者:陈汶 chenwen@cicams.ac.cn

宫颈癌是全球女性第二大恶性肿瘤。全世界每年约有53万新发病例,27.5万死亡病例,其中85%以上的病例发生在缺乏有效宫颈癌筛查及治疗的发展中国家。我国每年约有10万新发病例,约占世界新发病例总数的1/5^[1]。目前世界公认高危型人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)是引起宫颈癌的主要病因,高达99.7%的宫颈癌患者可检测出HPV DNA^[2]。在全部HPV高危型中,HPV16、18和45是宫颈癌报道中最常见的3种类型,全世界约75%的宫颈癌是由这3种型别引起^[3],而其中HPV16和HPV18与70%的宫颈浸润癌相关^[4]。这使得高危型HPV检测成为一种有效的宫颈癌筛查技术。目前临床大量使用的高危型HPV第二代杂交捕获试验检测,可检测13种与宫颈癌相关的高危型HPV,但是不能区分HPV类型。cobas 4800 HPV检测是一种通过PCR扩增检测高危型HPV DNA的体外检测技术,与HC2检测相比增加了HPV66高危型的检测,并能鉴别两种风险度最高的HPV16和HPV18。本研究从宫颈癌人群筛查的角度探讨其可行性及应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 2011年4月在河南省新密市两个宫颈癌高发乡镇(超化镇和平陌镇),以村为单位,招募了856例年龄>21岁、有性生活史、非妊娠期、无宫颈手术史的妇女进行宫颈癌筛查,所有参与对象均签署知情同意书。最终有853例完成了全部筛查流程并纳入统计分析,其中排除3例cobas 4800 HPV检测结果无效的妇女。研究方案通过中国医学科学院肿瘤医院及肿瘤研究所的伦理委员会批准。

1.1.2 筛查程序 对符合筛查条件且自愿接受筛查的妇女建立档案、注册登记、签署知情同意书、接受流行病学调查,进行cobas 4800 HPV检测、高危型HPV第二代杂交捕获试验检测、ThinPrep液基细胞学和阴道镜检查,必要时阴道镜下行宫颈活检术。病理诊断由中国医学科学院肿瘤医院的病理医生完成,以病理确诊的CIN2以上病例评价筛查方法的准确性。

1.2 方法

1.2.1 高危型HPV第二代杂交捕获试验检测 以窥器暴露宫颈,用干棉球轻轻擦去宫颈口分泌物,使用Qiagen宫颈取样刷顺时针旋转刷子3~5周刷取宫颈脱落细胞标本,并将带有标本的刷子放入DCM™样本收集液中,折断采样刷多余的部分,进行HC2检测。HC2是一种应用微孔板化学发光进行信号放大的核酸杂交检测方法,采用96孔平板法,可一次检测13种高危型HPV DNA的类型(HPV16、18、31、33、35、

39、45、51、52、56、58、59和68),并可同时检测样本中HPV DNA的病毒载量。阳性判断标准:光量读数与阴性测定值比值>1.0为阳性。

1.2.2 ThinPrep液基细胞学检查 使用ThinPrep细胞学采样刷,顺时针旋转3~5周刷取宫颈鳞柱交界处脱落细胞,将收集的细胞保存于PreservCyt细胞保存液中,保存液中的部分标本经ThinPrep 2000系统程序化处理后,制成直径为2 cm的薄层细胞涂片,95%酒精固定,巴氏染色。采用TBS(the Bethesda system)分级系统进行细胞学诊断。

1.2.3 cobas 4800 HPV检测 cobas 4800 HPV检测使用ThinPrep液基细胞学相同的标本。该项检测是一种通过多聚酶链反应(PCR)扩增检测高危型HPV DNA的体外定量检测技术,可分别检测HPV 16、HPV 18及其他12种高危HPV型(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66和68)。

1.2.4 阴道镜检查及活检 在盲法下行阴道镜检查。采用5%醋酸溶液涂抹于宫颈表面,1 min后在阴道镜下观察宫颈的变化,根据出现醋白上皮的厚度、范围、表面形态和浑浊度等做出初步诊断。正常宫颈无醋白上皮,低度鳞状上皮内病变(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)包括HPV感染或CIN1,为浅淡的醋白上皮,可以在鳞柱交界处或交界外;高度鳞状上皮内病变(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)包括CIN2、CIN3及宫颈原位癌,表现为厚的醋白上皮,边界清楚,且位于鳞柱交界处附近;宫颈浸润癌表现为醋白上皮表面不规则,厚而脆的肿块。宫颈活检的条件:若阴道镜下可见病变,在病变处直接取活检;若无可见病变,则查看妇女HPV检测和细胞学结果,当其中任一项结果为阳性时,则在宫颈第2、4、8、10点处进行随机活检,宫颈鳞柱交界处暴露不满意者行ECC;若筛查结果阴性,则不进行活检。

1.3 统计学分析

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。不同筛查方法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值比较均采用 χ^2 检验。比较不同筛查方法的一致程度采用Kappa值判断:0~0.20轻度一致性;0.21~0.40一致性尚好;0.41~0.60中度一致性;0.61~0.80高度一致性;0.81~1.00为一致性最强。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 组织病理学

最终纳入分析的853例妇女中,共检出CIN2以上患者36例,其中10例为CIN2,26例为CIN3。

2.2 cobas 4800 HPV检测结果及HC2检测结果

纳入分析的853例中,cobas 4800 HPV检测的阳性率为39.3%(335/853),灵敏度为94.4%(34/36),特异度为63.2%(516/817)。约登指数(%)=灵敏度+特异度-1。阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)和约登指数分别为10.1%(34/335)、99.6%(516/518)和57.6%。同时,HC2检测的阳性率为38.6%(329/853),灵敏度为94.4%(34/36),特异度为63.9%(522/817)。PPV、NPV和约登指数分别为10.3%(34/329)、99.6%(522/524)和58.3%(表1)。

表1 HPV检测结果与病理诊断的关系 例

Table 1 Relationship between HPV test results and pathological diagnosis

HPV test	Pathological diagnosis		Total
	Positive(≥CIN2)	Negative	
cobas 4800			
Positive	34	301	335
Negative	2	516	518
Total	36	817	853
HC2			
Positive	34	295	329
Negative	2	522	524
Total	36	817	853

2.3 cobas 4800 HPV检测与HC2检测的比较

在检出CIN2以上患者中,cobas 4800 HPV检测与HC2检测灵敏度均为94.4%(34/36),特异度分别为63.2%和63.9%,PPV分别为10.1%和10.3%,NPV均为99.6%,检测一致率为94.4%(Kappa=0.47)。在所有受检者中,cobas 4800 HPV检测与HC2检测的一致率为83.4%(711/853)(Kappa=0.65,表2)。

表2 cobas 4800 HPV检测与HC2检测的一致性 例

Table 2 Consistency between the cobas 4800 HPV and HC2 tests

cobas 4800 HPV test	HC2 test		Total
	Positive	Negative	
All cases			
Positive	261	74	335
Negative	68	450	518
Total	329	524	853
CIN2+ cases			
Positive	33	1	34
Negative	1	1	2
Total	34	2	36

2.4 ThinPrep液基细胞学检查

ThinPrep液基细胞学诊断CIN2以上患者的灵敏度为88.9%(32/36),特异度为63.0%(515/817)(表3)。细胞学假阴性病例中,HC2和cobas 4800 HPV检

测的阳性检出率均为100%(4/4)。

2.5 cobas 4800 HPV16及18分型检测

cobas 4800 HPV16及18分型检测对于CIN2以上患者的PPV为21.9%(28/128),是HC2检测(10.3%)的2.13倍。在CIN1以上病变(CIN1、CIN2、CIN3及宫颈癌)和CIN2以上病变的患者中,检测HPV16及18型别的阳性率分别为48.8%(40/82)和77.8%(28/36)。在ThinPrep液基细胞学假阴性的4例中,3例CIN2以上患者为HPV16及18型阳性。感染HPV16及18型HPV患者CIN2以上病变的平均年龄为46.9岁,感染其他高危型别HPV患者CIN2以上病变的平均年龄为52.3岁,差异无统计学意义(P>0.05)。

表3 ThinPrep液基细胞学结果与病理诊断的关系 例

Table 3 Relationship between the results of ThinPrep liquid-based cytologic test and pathological diagnosis

ThinPrep liquid-based cytology test	Pathological diagnosis		Total
	Positive(≥CIN2)	Negative	
Positive	32	302	334
Negative	4	515	519
Total	36	817	853

3 讨论

CIN是与宫颈浸润癌密切相关的癌前病变,根据细胞成熟度、核异型性等由轻到重分为CIN1、CIN2和CIN3,发展为浸润癌的危险性分别为正常人群的4、14.5和46.5倍^[5]。但从宫颈癌前病变进展为宫颈癌,大约需要10年,因此在宫颈病变进展过程中进行有效的筛查意义重大。

HPV感染是导致宫颈癌的主要病因。全球流行病学研究显示大约55%的宫颈肿瘤样本中能检出HPV16型;HPV18型是其次常见的类型,与大约12%的宫颈癌发病相关^[3]。最近我国进行的一次大规模HPV流行病学调查表明,HPV16及18型的DNA存在于84.5%的宫颈鳞癌样本中,在宫颈鳞癌患者中最常见的HPV型别为HPV16(76.7%)及HPV18(7.8%)^[6],与国外其他国家的流行病学数据基本一致。

目前国际认可的是以HC2检测为代表的HPV DNA检测法,其针对宫颈癌及癌前病变的灵敏度和特异度分别为95%和85%,极大地提高了宫颈癌筛查的水平^[7]。有研究证实HPV16及18型是主要的高危型HPV,持续HPV16及18型感染10年后罹患宫颈癌前病变或宫颈癌的风险是其他高危型HPV的17~20倍^[8],然而如何将CIN2以上患者从其他一过性HPV感染,或病变进展风险尚低的HPV阳性患者中优先筛查出来是目前宫颈癌筛查策略研究的重点^[9-10]。

cobas 4800 HPV检测系统于2011年4月获得了美

国FDA认证。本研究结果显示,与目前国际认可的HC2检测相比,cobas 4800 HPV检测对于CIN2以上患者的诊断具有相同的灵敏度和阴性预测值,在特异度和阳性预测值方面的差别<1%,经统计学分析,具有高度的一致性,说明两种HPV检测方法在诊断宫颈HSIL的准确率非常相似,均具有较高的准确性。这与国外学者采用cobas 4800 HPV与HC2检测比较的研究一致^[11],且本研究结果显示,cobas 4800 HPV检测CIN2以上患者的灵敏度和特异度均高于国外数据。此外,本研究将cobas 4800 HPV检测与ThinPrep液基细胞学检查进行对比,结果显示,对于CIN2以上的患者,cobas 4800 HPV检测比ThinPrep液基细胞学检查更为灵敏,其灵敏度分别是94.4%和88.9%,这与国外关于二者比较的研究基本一致^[12-13]。另外,cobas 4800 HPV检测对本研究中ThinPrep液基细胞学漏诊型别的HSIL,具有100%检出率。

同时,cobas 4800 HPV检测作为宫颈癌的初筛方法,与HC2检测相比,不仅能检测到更多的高危类型(HPV66),还能鉴别两种风险度最高的HPV16和HPV18型,起到优先筛查出高危患者的作用。本研究显示,HPV16及18型在HSIL中的阳性率为77.8%,而其他HPV型别在HSIL中的阳性率为16.7%,表明HPV16及18型是最常见的HPV型别。HPV16及18型对于CIN2以上患者的阳性预测值是HC2检测阳性预测值的2.13倍,表明HPV16及18型作为致癌HPV中的高危型别,对于HSIL具有更高的针对性和选择性。分析患者年龄,发现感染HPV16及18型比感染其他型类平均小5.4岁,这与国外的报道基本一致^[4]。结果提示,感染HPV16及18型与感染HPV其他类型相比,风险更高,可以在更短的时间内导致HSIL甚至宫颈癌的发生。但分析患者年龄差异无统计学意义的主要原因为:1)本研究中CIN2以上患者病例数较少,仅36例;2)CIN2以上患者中感染HPV16及18型的病例数(28例)与感染HPV其他类型的病例数(6例)相差较大。

综上所述,在宫颈癌筛查中,cobas 4800 HPV检测比ThinPrep液基细胞学检查更为敏感。在检测HPV型别方面,与HC2检测相比,能够检测出更多的高危型。由于该检测特异性鉴别HPV16及18型,提高了筛查的针对性,方便医生更好地指导患者,追踪随访,尽早发现高危病变并及时治疗,可以成为宫颈癌筛查中的一种新选择。

参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- 2 Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55

(4):244-265.

- 3 Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update[J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(3):621-632.
- 4 de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11):1048-1056.
- 5 来茂德,主编.上皮内瘤变[M].北京:高等教育出版社,2007:290.
- 6 Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18[J]. *Cancer Causes Control*, 2009, 20(9):1705-1713.
- 7 乔友林,章文华,李凌,等.子宫颈癌筛查方法的横断面比较研究[J]. *中国医学科学院学报*,2002,24(1):50-53.
- 8 Castle PE, Sideri M, Jeronimo J, et al. Risk assessment to guide the prevention of cervical cancer[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2008, 12(1):1-7.
- 9 Depuydt CE, Makar AP, Ruymbeke MJ, et al. BD-ProExC as adjunct molecular marker for improved detection of CIN2+ after HPV primary screening[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20(4):628-637.
- 10 Hesselink AT, Heideman DA, Steenbergen RD, et al. Combined promoter methylation analysis of CADM1 and MAL: an objective triage tool for high-risk human papillomavirus DNA-positive women[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2459-2465.
- 11 Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, et al. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study[J]. *Am J Clin Pathol*, 2011, 135(3):468-475.
- 12 Castle PE, Stoler MH, Wright TC Jr, et al. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(9):880-890.
- 13 Heideman DA, Hesselink AT, Berkhof J, et al. Clinical validation of the cobas 4800 HPV test for cervical screening purposes[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(11):3983-3985.

(2012-06-26收稿)

(2013-02-06修回)

(本文编辑:张俣)