

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.23.015

P16 免疫组织化学检测评价高级别宫颈上皮内瘤变 锥形切除后残留的临床价值*

王兴民¹,傅锦坚^{2△},庞朗¹,吕健勇¹

(广西壮族自治区柳州市妇幼保健院:1. 病理科;2. 检验科 545001)

[摘要] **目的** 探讨 P16 免疫组织化学检测联合常规病理评判高级别宫颈上皮内瘤变(CIN)锥形切除后切缘病灶残留的可行性。**方法** 选择 2014 年 1 月至 2016 年 5 月到该院就诊的 CIN 行宫颈锥形切除的患者,根据患者的意愿分为 P16 免疫组织化学检测结合常规病理评价组和常规病理评价组评判切缘是否存在病灶残留。切缘残留的患者按照临床指南给予相应处理,在切缘无残留后 6 个月进行宫颈液基薄层细胞学(TCT)检测随访。以随访结果为金标准,分析两组灵敏度和准确率。**结果** P16 免疫组织化学检测结合常规病理评价组 104 例患者术后 6 个月 TCT 检查均为阴性,单纯常规病理评价组 112 例患者术后 6 个月 TCT 检查发现 7 例患者阳性。P16 免疫组织化学检测结合常规病理评价组的灵敏度和准确率均达到 100%,显著高于常规病理评价组。**结论** P16 免疫组织化学检测结合常规病理能够准确地判断高级别 CIN 锥形切除患者的切缘情况。

[关键词] P16;宫颈锥切;肿瘤;残余;宫颈液基细胞学检测**[中图分类号]** R737.33**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)23-3216-03

The value of P16 immunohistochemical detection in judge residue of patients with conization in high grade intraepithelial neoplasia*

Wang Xingmin¹,Fu Jinjian^{2△},Pang Lang¹,Lv Jianyong¹

(1. Department of Pathology;2. Department of Clinical Laboratory, Liuzhou Maternity and Child Healthcare Hospital, Liuzhou, Guangxi 545001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the feasibility of P16 immunohistochemistry combined with routine pathology in judging the residual lesion of high grade cervical intraepithelial neoplasia. **Methods** Patients with cervical conization for high grade cervical intraepithelial neoplasia in this hospital from January 2014 to May 2016 were chose and divided into P16 immunohistochemical detection combined with pathological diagnosis group and pathological evaluation group according to patient's motivation. Patients with residual margins were treated in accordance with the clinical guidelines and TCT was followed up for 6 months after no margin. Then sensitivity and accuracy of two group were analyzed by gold standard of follow-up results. **Results** 104 patients in P16 immunohistochemical detection combined with pathological diagnosis group were negative in TCT test after 6 month of following up after surgery. However, at the time of 6 months follow-up after surgery, 7 patients of 112 patients have been diagnosed with positive by TCT in pathological evaluation group. The Sensitivity and accuracy in P16 immunohistochemical detection combined with pathological diagnosis group were 100% which were higher than pathological evaluation group. **Conclusion** P16 immunohistochemical detection combined with conventional pathology can accurately diagnose the cervical cutting edge of conization.

[Key words] P16; cervical conization; neoplasm, residual; thinprep cytology test

宫颈癌已成为危害女性生殖健康和生命健康的常见疾病之一。近年来,宫颈癌发病率逐年增加,并呈年轻化趋势^[1]。因此,早期宫颈癌筛查对女性健康具有重要意义。目前,华夏病理网和安必平公司对基层医生进行相关培训,同时国家卫生和计划生育委员会对中国广大农村进行“两癌筛查”专项扶持^[2-3],这些工作已取得了显著的成就,使宫颈癌成为一种可以有效防治的恶性肿瘤。

宫颈癌是由宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)持续发展的结果。随着科技的发展和医疗卫生的进步, CIN 的检出率逐步增加^[2-3]。目前,为了降低宫颈癌的发生率,对活检病理诊断为高级别 CIN(CIN II、CIN III)的患者进行宫颈锥形切除,医疗行业已取得广泛的共识^[4]。但是高级别 CIN 残留是宫颈癌的重要危险因素,严重影响了宫颈锥形切除的治疗效果^[5-6]。由于临床医生进行宫颈锥形切除术时对宫颈组织过度钳夹及烧灼增加了病变残留的判定难度。因此,如何准确地判定宫颈锥形切除标本是否有高级别 CIN 残留成

为临床医生关注的难题。近年来,随着科技的进步,人们发现 P16 免疫组织化学染色可以提高 CIN 的诊断准确率^[7-8]。2014 年 WHO 女性生殖系统分类中,在宫颈鳞状细胞癌前病变中推荐使用 P16 免疫组织化学染色将鳞状上皮内病变进行两级分类,即低级别鳞状上皮内瘤变(LSIL)和高级别鳞状上皮内瘤变(HSIL)^[9]。但 P16 免疫组织化学检测是否可以提高对宫颈锥形切除标本残留的诊断准确率,特别是过度钳夹及烧灼的标本,目前尚无相关报道。本研究采用 P16 免疫组织化学检测评价宫颈高级别病变锥形切除后是否残留,探讨 P16 免疫组织化学检测能否降低宫颈癌的发病率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 1 月至 2016 年 5 月到本院就诊的高级别 CIN 患者,进行锥形切除治疗并对锥形切除标本送检病理。对患者进行知情同意告知,根据患者的意愿分为 P16 免疫组织化学检测结合常规病理评价组[患者 104 例,平均年龄(31.5±6.3)岁]和常规病理评价组[患者 112 例,平均年龄

* 基金项目:柳州市科学研究与技术开发计划(2014J030418)。

作者简介:王兴民(1982-),病理医师、助理研究员,博士,主要从事病理诊

断研究。△ 通信作者, E-mail: fujinjianaa@126.com。

(29.3±8.1)岁]。对病理诊断病灶残留的患者进行相关临床治疗,并随访 6 个月。纳入标准:年龄大于 18 岁;均有性生活史;无妇科肿瘤手术及相关治疗史;整个研究过程无妊娠状态;无免疫、内分泌系统疾病及相关药物使用史;整个研究过程中资料完善。排除标准:随访期间存在阴道炎等生殖系统疾病;锥形切除标本发现微浸润或癌者;因其他疾病,如子宫肌瘤、子宫脱垂等需行全子宫切除的患者。

1.2 方法

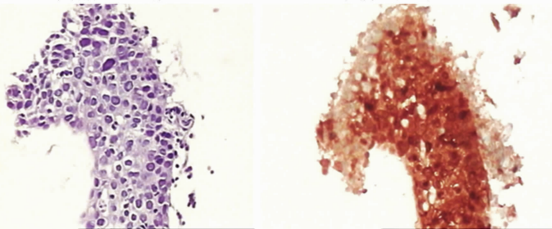
1.2.1 宫颈液基薄层细胞学(TCT)检查方法 用特制的宫颈刷完全打开,旋转 360°,收集宫颈管及宫颈外口的脱落细胞,装入保存液瓶中,采用全自动细胞制片法制片并进行巴氏染色,最后在显微镜下进行观察^[10-11]。

1.2.2 组织病理学诊断 将高级别 CIN 锥形切除标本进行 12 点取材,经脱水、包埋、切片、苏木素-伊红(HE)染色等一系列制片过程,最后显微镜下进行诊断。根据患者的知情同意情况,对切缘烧灼、钳夹过度、怀疑有残留的标本在患者同意行 P16 免疫组织化学检测时进行免疫组织化学检测(图 1),根据常规病理和免疫组织化学结果判断切缘是否干净;对患者不同意行 P16 免疫组织化学检测时只采用常规病理判定切缘是否残留。

1.2.3 随访 高级别 CIN 锥形切除标本病理诊断显示切缘干净后 6 个月进行 TCT 复查。TCT 提示标本满意,见可疑细胞进行阴道镜检查并活检送病理检查。

1.2.4 效果评判标准 术后 6 个月 TCT 复查阳性(见可疑细胞)且组织病理证实有 CIN 病变者为病变残留阳性;术后 6 个月 TCT 复查阴性(未见可疑细胞),为锥形切除治疗无残留阴性。以 6 个月随访结果为金标准,比较 P16 免疫组织化学检测联合常规病理与单纯常规病理评判宫颈锥形切除标本的灵敏度、特异度、准确率及临床符合率。

常规病理(HE 染色) 免疫组织化学(P16)



常规病理显示细胞核异型明显,切缘见可疑病灶残留。P16 免疫组织化学 P16 呈弥漫的强阳性表达,可以明确诊断出病灶残留

图 1 高级别 CIN 锥形切除标本切缘残留(×200)

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,计数资料以例(百分率)的形式表示,分别采用两样本 *t* 检验法和 χ^2 检验法进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

P16 免疫组织化学检测联合常评判组与常规平常组对宫颈高级别 CIN 锥形切除标本切缘残留的诊断:纳入研究的高级别 CIN 患者术后 6 个月进行 TCT 或/和活检病理复查。在 P16 免疫组织化学检测联合常规病理评判组,术后 6 个月复查 104 例均为阴性;但在单纯常规病理评判组中,术后 6 个月复查 112 例中 7 例(6.25%)诊断为阳性,105(93.75%)例诊断为阴性,提示有锥形切除残留。P16 免疫组织化学检测联合常规病理评判组的患者术后 6 个月复查阳性率显著低于单纯常规病理评判组($\chi^2 = 6.718, P < 0.05$);P16 免疫组织化学联合常规病理判定宫颈高级别 CIN 锥形切除标本切缘残留的灵敏度、准确率、临床符合率高于单纯常规病理组,特异度低于单纯常规病理组,见表 1。

表 1 两组方法对宫颈 CIN 锥形切除标本切缘的诊断[n(%)]

组别	n	灵敏度	特异度	准确率	临床符合率
P16 免疫组织化学联合常规病理评判组	104	104(100)	0(0)	104(100)	94(90.38)
常规病理评判组	112	105(93.75)	7(6.25)	105(93.75)	112(100)
χ^2		6.718	6.718	6.718	11.292
P		0.015	0.015	0.015	0.001

3 讨论

P16 是 1994 年美国冷泉港实验室 Kamb 等发现的新型抑癌基因,是一种周期依赖性蛋白激酶抑制剂,对细胞生长周期发挥抑制作用。已有研究证实 P16 与肺癌、乳腺癌、脑肿瘤、骨肿瘤、皮肤癌、膀胱癌、肾癌、卵巢癌、淋巴瘤、恶性黑色素瘤的发病有关^[12-14]。P16 在宫颈癌和 CIN 中高表达,是由人乳头瘤病毒(HPV)的早期基因 E7 蛋白通过抑制 Rb 蛋白释放的 E2F 而直接诱导 P16 产生^[15-17]。目前,P16 被认为是 CIN 和宫颈癌诊断敏感度和特异度均较高的标志物,作为宫颈组织病理和宫颈细胞病理的补充诊断已广泛应用于临床^[18]。在本项研究中,P16 免疫组织化学检测被用于宫颈锥形切除标本切缘烧灼、钳夹过度、怀疑有残留时的病灶辅助诊断。宫颈癌是 CIN 病情进展的结果,对 CIN 的有效治疗是降低宫颈癌发病率的重要手段。目前,对 CIN,尤其是高级别 CIN(CIN II、CIN III)的患者进行宫颈锥形切除是有效的治疗手段之一,但宫颈锥形切除标本的切缘病灶残留仍是影响治疗效果和宫颈病变复发的重要因素。在临床工作中,宫颈锥形切除标本通常

存在切缘烧灼、钳夹过度等问题。这些问题增加病理医生的切缘诊断难度,提高了切缘残留风险^[19]。本研究采用 P16 免疫组织化学检测降低病理医生的诊断难度,提高诊断准确率。

TCT 检查是一种无创的宫颈癌及癌前病变筛查方法,是医学界公认的宫颈癌筛查方法。年满 18 岁且有性生活的女性进行定期宫颈癌筛查已在医学界达成广泛共识。对于 CIN 已锥形切除的患者,TCT 检查亦是一种判断病灶残留和复发的方法^[20]。在本项研究中,在宫颈锥形切除后患者进行 TCT 随访,采用 P16 免疫组织化学联合常规病理评判组 104 例患者随访均为阴性,灵敏度和准确率均达到 100%。但在常规病理评判组 112 例患者有 7 例随访为阳性,提示常规病理对宫颈锥形切除标本的切缘评判可能存在锥形切除切缘病灶残留漏报情况。

综上所述,P16 免疫组织化学检查对宫颈病变的诊断具有较高的敏感度和特异度,是宫颈病变病理诊断的一种辅助手段。对锥形切除标本存在切缘烧灼、钳夹过度等问题时,P16 免疫组织化学联合常规病理是评判切缘有无残留的一种有效

方法。对常规病理评判切缘干净患者进行定期 TCT 筛查可以对宫颈癌防治起到防微杜渐的作用。

参考文献

- [1] Pimple S, Mishra G, Shastri S. Global strategies for cervical cancer prevention [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2016, 28(1):4-10.
- [2] 宋致琴, 屈芹, 闫琴. 农村适龄妇女“两癌”筛查中的组织管理方法与效果 [J]. *护理管理杂志*, 2015, 15(5):379-380.
- [3] 徐凯诗, 周仁武, 林智章. 基层单位筛查子宫颈癌方法探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(12):2251-2253.
- [4] 王悦, 李明珠, 魏丽惠. 宫颈锥切-预防宫颈癌的重要防线 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2015, 16(1):5-7.
- [5] 吴绪峰, 曾蓉, 高晗, 等. 宫颈锥切术后全子宫切除的 CIN III 患者病灶残留相关因素分析 [J]. *肿瘤防治研究*, 2014, 41(6):614-617.
- [6] Diaz ES, Aoyama C, Baquing MA, et al. Predictors of residual carcinoma or carcinoma-in-situ at hysterectomy following cervical conization with positive margins [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 132(1):76-80.
- [7] 李绍刚, 殷伟杰, 李赛飞. 238 例宫颈细胞学和组织学对照分析及 p16 在组织学诊断中的应用 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(3):330-332.
- [8] 陆晓青, 陈洁瑛, 朱晓萍, 等. 液基薄层细胞学及荧光定量聚合酶链反应技术与 P16 蛋白联合检查在宫颈癌早期诊断的研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(7):1478-1480.
- [9] Clinton LK, Miyazaki K, Ayabe A, et al. The LAST guidelines in clinical practice implementing recommendations for p16 use [J]. *Am J Clin Pathol*, 2015, 144(6):844-849.
- [10] 陆晓青, 陈洁瑛, 朱晓萍, 等. 液基薄层细胞学及荧光定量聚合酶链反应技术与 P16 蛋白联合检查在宫颈癌早期诊断的研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 7(25):1478-1480.
- [11] 罗思红, 罗晓红, 段朝晖. 薄层液基细胞学在宫颈癌筛查中的应用价值 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(8):1466-1467.
- [12] Lawrence NF, Hammond MR, Frederick DT, et al. Ki-67, p53, and p16 expression, and G691S RET polymorphism in desmoplastic melanoma (DM): A clinicopathologic analysis of predictors of outcome [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2016, 75(3):595-602.
- [13] Righi A, Gambarotti M, Sbaraglia M et al. P16 expression as a prognostic and predictive marker in high grade localized osteosarcoma of the extremities: An analysis of 357 cases [J]. *Hum Pathol*, 2016, 58:15-23.
- [14] Raspollini MR, Luque RJ, Menendez CL, et al. T1 high-grade bladder carcinoma outcome: the role of p16, topoisomerase II α , survivin, and E-cadherin [J]. *Hum Pathol*, 2016, 57:78.
- [15] 陈悦, 张晓薇, 邓志校, 等. P16 基因表达与宫颈癌预后相关性分析 [J]. *实用医学杂志*, 2014, 15(15):2417-2420.
- [16] 汪勤, 解正新, 张卫琴. p16、p53 和 Ki-67 蛋白在宫颈上皮内瘤变中的表达及意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2013, 29(5):551-553.
- [17] 朱梅娟. Ki67、P16 和 HPV 在宫颈病变组织中的表达及临床意义 [J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(19):3095-3097.
- [18] Griffin H, Soneji Y, Van Baars R, et al. Stratification of HPV-induced cervical pathology using the virally encoded molecular marker E4 in combination with p16 or MCM [J]. *Mod Pathol*, 2015, 28(7):977-993.
- [19] 彭莉, 姚吉龙, 徐波, 等. 高级别 CIN 宫颈锥切术后切缘残留 47 例临床分析 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2009, 22(1):49-51.
- [20] 杜建英, 徐琳瑛, 曲衍华. TCT 和 HPV 在宫颈病变锥形切除术预测宫颈病变残留或复发的价值 [J]. *现代妇产科进展*, 2009, 18(8):633-634.

(收稿日期:2017-03-22 修回日期:2017-04-23)

(上接第 3215 页)

- [7] Martin K, Andreas K, Michael W, et al. OPTA-malnutrition in chronic renal failure [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(Suppl 3):1113-1119.
- [8] Leinig CE, Moraes T, Ribeiro S, et al. Predictive value of malnutrition markers for mortality in peritoneal dialysis patients [J]. *J Ren Nutr*, 2011, 21(2):176-83.
- [9] 谭荣韶, 古琳琳, 钟小仕, 等. 口服营养补充对维持性血液透析患者蛋白质能量消耗的影响 [J]. *中国血液净化*, 2015, 14(9):550-553.
- [10] 何青莲, 钟慧, 付平, 等. 持续非卧床腹膜透析患者年龄与营养状况评价 [J]. *华西医学*, 2011, 26(3):338-340.
- [11] Young GA, Kopple JD, Lindholm B, et al. Nutritional assessment of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: an international study [J]. *Am J Kidney Dis*, 1991, 17(4):462-471.
- [12] 桂志红, 吴凌慧. 糖尿病肾病腹膜透析患者蛋白能量消耗状态 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2015, 14(3):219-222.
- [13] 王启鹏, 贾国瑜, 刘建香. 糖尿病肾脏病与非糖尿病肾脏病透析患者并发蛋白质-能量消耗的对照研究 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2015, 38(6):361-364.
- [14] 王爱霞. 阿托伐他汀联合阿魏酸钠治疗糖尿病肾病的疗效及对肾间质纤维化指标的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(1):98-101.
- [15] 吴珑芝, 朱辉. 老年腹膜透析患者微炎症与营养状况及透析充分性间关系的探讨 [J]. *临床军医杂志*, 2012, 40(1):143-144.

(收稿日期:2017-04-18 修回日期:2017-05-09)