Modern Practical Medicine, December 2025, Vol. 37, No. 12

·临床研究·

p16/ki-67 双染检测在非 16/18 型高危 HPV 阳性患者分流筛查中的应用

陈杰，项艳，徐玲超

【摘要】目的　探讨 p16/ki-67 双染检测在非 16/18 型高危人乳头瘤病毒（HPV）阳性患者分流筛查中的作用。方法　选择 2023 年 1 月至 2024 年 12 月在丽水市妇幼保健院接受阴道镜下宫颈活检的 354 例非 16/18 型高危 HPV 阳性患者作为研究对象，均接受液基薄层细胞学、HPV、p16/ki-67 双染检测和宫颈活检，以宫颈活检结果为“金标准”，分析 p16/ki-67 双染检测与宫颈活检阳性[高级别鳞状上皮内病变（HSIL）及宫颈癌]的一致性，采用受试者工作曲线（ROC）分析 p16/ki-67 双染检测对 HSIL 及宫颈癌的鉴别价值。结果　宫颈活检发现阳性 131 例，双染检测阳性 127 例，双染检测和宫颈活检结果的一致性良好（*Kappa*=0.782，$P<0.05$）。在 HPV31、35、35、39、45、51、52、58、59、66、68 等高危 HPV 亚型中双染检测阳性结果均与宫颈活检一致性良好（均 $P<0.05$）。双染检测对非 16/18 型高危 HPV 致 HSIL 及宫颈癌的预测灵敏度、特异度、*AUC* 分别为 86.3%、93.7%、0.900（0.864 ～ 0.929）。双染检测对 HPV58、59、39、66、33 等高危 HPV 亚型致 HSIL 及宫颈癌具有中等偏上的鉴别能力（*AUC* 0.825 ～ 0.871），对 HPV31、68、45、51、52、35 等高危 HPV 亚型致 HSIL 及宫颈癌具有良好的鉴别能力（均 *AUC* ＞ 0.9）。结论　p16/ki-67 双染检测对非 16/18 型高危 HPV 致 HSIL 及宫颈癌的鉴别与宫颈活检的一致性良好。非 16/18 型高危 HPV 阳性患者分流筛查中联合 p16/ki-16 双染检测可减少过度医疗。

【关键词】宫颈癌；人乳头瘤病毒；阴道镜；液基薄层细胞学；细胞核增殖指数
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.12.005
【中图分类号】R737.33　【文献标志码】A　【文章编号】1671-0800(2025)12-1230-04

宫颈癌发病率居全球癌症发病率第四位，2020 年报告新发病例 60 万，死亡病例 34 万[1]。人乳头瘤病毒（human papilloma virus，HPV）是宫颈癌最主要的致病因素之一，超过 90%的宫颈癌与高危 HPV 感染相关[2]。HPV16 和 HPV18 是最普遍和常见的高危 HPV 亚型，分别占癌症病例的 55%～ 60%和 10%～ 15%，其余高危 HPV 亚型癌症病例的比例在 25%～ 35%[3]。非 16/18 型高危 HPV 分流进行宫颈活检，可能存在过度检查 [4]。ki-67 是细胞肿瘤增殖标志物，常用于评估细胞增殖的活跃程。通过检测 ki-67 表达，可间接评估细胞的增殖活性和宫颈上皮病变的严重程度。在高危 HPV 亚型阳性患者中，结合 ki-67 检测结果可进一步精确指导分流，减少过度诊疗和漏诊。但其在非 16/18 型高危 HPV 阳性中的应用较少见[5]。鉴于此，本研究观察 p16/ki-67 双染检测对非 16/18 型高危 HPV 阳性患者中的指导价值，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2023 年 1 月至 2024 年 12 月在丽水市妇幼保健院接受阴道镜下宫颈活检的非 16/18 型高危 HPV 阳性患者，纳入标准：（1）年龄＞ 18 岁；（2）高危型 HPV 检测提示为阳性，并排除 HPV16/18 阳性；（3）液基薄层细胞检测（thinprep cytologic test，TCT）提示最高为宫颈低级别鳞状上皮内病变（low-grade squamous intraepithelial lesion，LSIL）。排除标准：（1）既往有宫颈手术史，（2）妊娠期妇女，（3）对相关检查不耐受，（4）合并宫颈之外的其他部位原发肿瘤，（5）合并精神疾病或严重认知功能障碍者。共纳入 354 例患者，年龄 21 ～ 63 岁，平均（41.0±10.9）岁。本研究获得丽水市妇幼保健院医学伦理委员会批准，所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2　HPV 检查　采用导流杂交基因芯片技术检测

基金项目：丽水市科技计划项目（2023GYX48）
作者单位：323000 浙江省丽水，丽水市妇幼保健院
通信作者：项艳，Email：Mly-0928@163.com

HPV 基因型。取保存宫颈细胞的细胞保存液 0.5 ml，以 4 000 r/min 离心 1 min，收集管底细胞，利用 DNA 提取试剂盒抽取宫颈细胞总 DNA，通过聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）扩增、杂交前准备、PCR 产物杂交、显色，在一张 2 cm×2 cm 大小的基因芯片薄膜上一次性显示 21 种 HPV 基因型，高危型包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、58、59、66、68，低危型包括 HPV6、11、42、43、44。本研究纳入非 16/18 型高危 HPV。

1.3　TCT 检查　患者取膀胱截石位，暴露宫颈，用毛刷中间凸起的部分插入宫颈管，外侧毛刷毛抵住宫颈外口，力度适中推向宫颈，按顺时针方向旋转 3 ～ 5 圈。将刷头置入装有保存液的小瓶中，保证细胞刷收集的细胞 100%用于制片。制片的薄片为直径 13 mm 的细胞区域，总数调控在 5 000 ～ 12 000 个，染色、封片后进行遴片。根据贝塞斯达系统（the Bethesda system，TBS）诊断标准[6]分为正常、反应性细胞改变、无明确诊断意义的不典型鳞状上皮细胞（atypical squamous cells of undetermined significance，ASC-US）、不典型鳞状上皮不除外高度鳞状上皮内病变（atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion，ASC-H）、LSIL、高度鳞状上皮内病变（high-grade squamous intraepithelial lesion，HSIL）及鳞状细胞癌等，见图 1 ～ 2。

1.4　p16/ki-67 双染检测　细胞采集和制片方法同 1.3，采用 p16/ki-67 双染试剂盒对制片进行染色，严格按照说明书操作，在荧光显微镜下观察结果。判定标准：至少 1 个细胞质呈红色（p16）而细胞核呈棕色（ki-67）的细胞为阳性，反之为阴性，见图 3 ～ 4。

1.5　宫颈活检　患者取膀胱截石位，卧于妇科检查台上。放置窥器边进入边不断开启前后叶，逐渐暴露宫颈，接通光源，根据光斑位置调整合适位置，对可疑病变位置进行多点活检。2 名病理科医师根据世界卫生组织（world health organization，WHO）女性下生殖道肿瘤分类标准 [7] 进行独立判定，炎症、LSIL 判定为阴性，HSIL 及宫颈癌判定为阳性。

1.6　统计方法　采用 SPSS 23.0 统计学软件包进行数据分析，计数资料用例数和百分比表示，一致性分析采用 *Kappa* 分析；采用受试者工作（receiver operating characteristic curve，ROC）曲线绘制 p16/ki-67 双染检测预测 HSIL 及宫颈癌的灵敏度、特异性、曲线下面积（area under the curve，*AUC*）和 95%置信区间（confidence interval，*CI*）。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　宫颈活检结果　阴性 223 例，占 62.99%，其中慢性炎症 113 例（50.67%），LSIL110 例（49.33%）；阳性 131 例，占 37.01%，其中 HSIL105 例（80.15%），鳞癌 21 例（16.03%），腺癌 5 例（3.82%）。

2.2　双染检测与宫颈活检的一致性分析　宫颈活检发现阳性 131 例，双染检测阳性患者 127 例，双染检测和宫颈活检的一致性良好（*Kappa*=0.782，$P <$

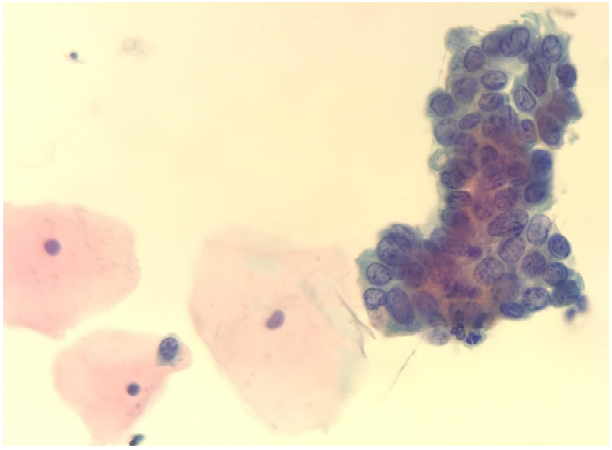


图 1　液基薄层细胞检测的不典型鳞状上皮细胞不除外高度鳞状上皮内病变（巴氏染色法，×400）

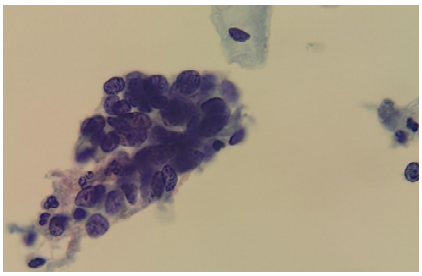


图 2　液基薄层细胞检测的高度鳞状上皮内病变（巴氏染色法，×400）

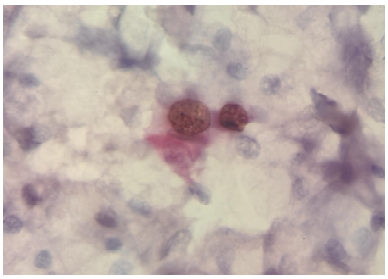


图 3　p16/ki-67 双染后阳性（免疫细胞化学法，×400）

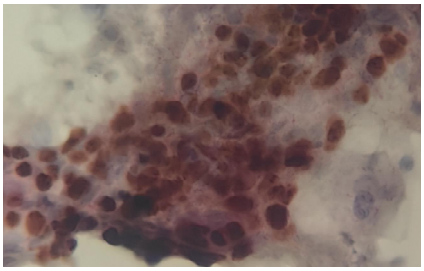


图 4　p16/ki-67 双染后 ki-67 阳性（免疫细胞化学法，×400）

0.05），见表 1。

2.3　不同高危型 HPV 双染检测与宫颈活检的一致性分析　HPV31、35、35、39、45、51、52、58、59、66、68 等高危 HPV 亚型中双染检测阳性结果均与宫颈活检一致性良好（均 $P < 0.05$），见表 2。

2.4　双染检测对 HSIL 及宫颈癌的鉴别价值　双染检测对非 16/18 型高危 HPV 致 HSIL 及宫颈癌的预测灵敏度、特异度和 *AUC* 分别为 86.3%、93.7%、0.900（0.864 ～ 0.929）。双染检测对 HPV58、59、39、66、33 等高危 HPV 亚型致 HSIL 及宫颈癌具有中等偏上的鉴别能力（*AUC* 0.825 ～ 0.871），对 HPV31、68、45、51、52、35 等高危 HPV 亚型致 HSIL 及宫颈癌具有良好的鉴别能力（均 $AUC > 0.900$），见表 3。

3　讨论

高危 HPV 持续感染是宫颈上皮内瘤和浸润性癌发生发展的重要因素[8]。对女性而言，多数性活跃的女性会暴露于生殖器HPV感染，超过 90%的感染在 1 ～ 2 年内清除，不会导致进一步伤害[9]。根据指南推荐，对细胞学结果提示 ASC-US 患者行高危 HPV 检测；结果提示 LSIL 者行宫颈活检，但仅有 12%～ 40%的LSIL患者组织学证实为≥HSIL，导致过度诊疗[10]。目前接种 HPV16/18 疫苗的人群已进入宫颈癌筛查期，该类女性仍然易感染其他高危亚型，而非 16/18 型高危 HPV 的宫癌患病率存在明显异质性，意味着过度诊治的风险会增加[11]。本研究结果显示，354 例非 16/18 型高危HPV阳性患者中，宫颈活检阳性率为 37.01%，与既往研究[5，11]类似。这提示对非 16/18 型高危 HPV 阳性患者全部进行宫颈活检有过度诊疗的风险。

p16 和 ki-67 是常用于宫颈癌的筛查。p16 为细胞周期蛋白抑制剂，当细胞受到高危 HPV 感染时，细胞产生过量的 p16 蛋白表达[12]。ki-67 是一个核成分，当细胞活跃增殖时，ki-67 蛋白会显著上调。在

表 1　双染检测和宫颈活检结果比较　例

双染检测	宫颈活检		合计
	阳性	阴性	
阳性	113	14	127
阴性	18	209	227
合计	131	223	354

表 2　不同高危 HPV 亚型双染检测与宫颈活检的一致性分析　例

HPV 亚型	双染检测	宫颈活检		*Kappa* 值	*P* 值
		阳性	阴性		
31	阳性	12	1	0.819	＜ 0.05
	阴性	2	20		
33	阳性	5	1	0.742	＜ 0.05
	阴性	1	10		
35	阳性	13	1	0.892	＜ 0.05
	阴性	1	26		
39	阳性	13	2	0.717	＜ 0.05
	阴性	3	18		
45	阳性	11	1	0.858	＜ 0.05
	阴性	1	16		
51	阳性	12	2	0.840	＜ 0.05
	阴性	1	29		
52	阳性	11	1	0.861	＜ 0.05
	阴性	1	17		
58	阳性	7	1	0.718	＜ 0.05
	阴性	3	31		
59	阳性	7	1	0.713	＜ 0.05
	阴性	2	12		
66	阳性	7	2	0.694	＜ 0.05
	阴性	1	10		
68	阳性	15	1	0.839	＜ 0.05
	阴性	2	20		

表 3　双染检测对非 HPV16/18 高危型 HPV 的鉴别价值

HPV 亚型	灵敏度（%）	特异度（%）	*AUC*	95%*CI*
31	85.7	95.5	0.906	0.761 ～ 0.977
33	83.3	90.9	0.871	0.622 ～ 0.982
35	92.9	96.3	0.946	0.827 ～ 0.992
39	81.2	90.0	0.856	0.699 ～ 0.950
45	91.7	94.1	0.929	0.769 ～ 0.991
51	92.3	93.5	0.929	0.810 ～ 0.985
52	91.7	94.4	0.931	0.775 ～ 0.991
58	70.0	95.0	0.825	0.643 ～ 0.939
59	77.8	91.7	0.847	0.625 ～ 0.965
66	87.5	84.6	0.861	0.641 ～ 0.971
68	88.2	95.2	0.917	0.781 ～ 0.982
合计	86.3	93.7	0.900	0.864 ～ 0.929

宫颈癌筛查中，通过检测宫颈细胞中 ki-67 的表达水平，可以评估细胞增殖活性[13]。p16/ki-67 双染检测可以更准确地评估宫颈癌的发展风险[14]。p16 的阳性表达提示存在 HPV 感染的可能性，而 ki-67 的高表达则意味着细胞的增殖活性增加，两者结合可以提供更全面的信息，帮助医生做出更准确的宫颈癌筛查结果。此外，p16/ki-67 双染检测也可以用于评估宫颈上皮内瘤变的严重程度和预后分析，对决定治疗方案和预测患者的生存率具有重要意义。国内外研究均显示，p16/ki-67 双染检测在宫颈癌筛查中表现出较高的灵敏度和特异度[15-16]。Wright 等[17]研究显示，p16/ki-67 在非 16/18 型高危 HPV 阳性患者分流中具有重要作用。

本研究结果显示，p16/ki-67 检测与宫颈活检结果具有良好的一致性。为了探讨 p16/ki-67 对不同高危 HPV 亚型的鉴别价值，本研究对 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、58、59、66、68 阳性患者 p16/ki-67 检查和宫颈活检的一致性进行分析，结果发现各亚型中 p16/ki-67 检测结果均与宫颈活检一致性良好。ROC 分析显示，p16/ki-67 对非 16/18 型高危 HPV 致 HSIL 及宫颈癌均具有较高的鉴别效能。这提示 p16/ki-67 在非 16/18 型高危 HPV 阳性患者分流筛查具有重要价值。

综上所述，联合 p16/ki-67 双染检测对非 16/18 型高危 HPV 阳性患者有鉴别价值，可减少过度医疗。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　陈杰：实验操作、论文撰写；陈杰、徐玲超：数据整理、统计学分析；项艳：研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] MUKERJEE N, MAITRA S, GORAI S, et al. Revolutionizing Human papillomavirus (HPV)-related cancer therapies: Unveiling the promise of Proteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) and Proteolysis Targeting Antibodies (PROTABs) in cancer nano-vaccines[J]. J Med Virol, 2023, 95(10): e29135.

[3] SARVESAN G K, PARTHASARATHY K, PADHIAR C, et al. Genotypic characterization of HPV serotypes in cervical samples from Indian women: A multi centric study[J]. VirusDisease, 2023, 34(3): 395-401.

[4] JIN X, LIU F F, ZHANG Y, et al. Diagnostic value of high-risk HPV E6/E7 mRNA in patients with ASC-US[J]. BMC Womens Health, 2023, 23(1): 489.

[5] ΨVESTAD I T, DALEN I, ANDERSLAND M S, et al. Triaging HPV-positive cervical samples with p16 and ki-67 dual stained cytology within an organized screening program—a prospective observational study from western Norway[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(8): 7158.

[6] 匡泱漾. TCT、TBS 及阴道镜下多点组织活检在宫颈癌筛查中的应用探讨[J]. 现代诊断与治疗,2013(16):3743-3744.

[7] 戈文舜,包磊,鲁波,等. HR-HPV 检测与 p16 和 ki67 在宫颈腺上皮病变中的诊断价值[J]. 中国妇幼健康研究,2019,30(3):311-315.

[8] AHMAD MIR B, AHMAD A, FAROOQ N, et al. Increased expression of HPV-E7 oncoprotein correlates with a reduced level of pRb proteins via high viral load in cervical cancer[J]. Sci Rep, 2023, 13: 15075.

[9] SAGLAM H, ATALAY F. Effect of pap smear cytology, HPV genotyping on the concordance of colposcopy and conization results[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2023, 33(9):972-977.

[10] BRUNO M T, BONANNO G, SGALAMBRO F, et al. Overexpression of E6/E7 mRNA HPV is a prognostic biomarker for residual disease progression in women undergoing LEEP for cervical intraepithelial neoplasia 3[J]. Cancers, 2023, 15(17): 4203.

[11] SIMION L, ROTARU V, CIRIMBEI C, et al. Inequities in screening and HPV vaccination programs and their impact on cervical cancer statistics in Romania[J]. Diagnostics, 2023, 13(17): 2776.

[12] DAI Y, CHEN T T, LI X Y, et al. Evaluation of the clinical performance of p16/Ki-67 dual-staining cytology for cervical lesion detection in premenopausal and postmenopausal Chinese women[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(12): 10645-10658.

[13] HARPER D M, ANDERSON R J, BAKER E, et al. Cost-effectiveness of p16/ki-67 dual-stained cytology reflex following co-testing with hrHPV genotyping for cervical cancer screening[J]. Cancer Prev Res, 2023, 16(7): 393-404.

[14] CSIZMAR S, VYBOHOVA D, MEST'ANOVA V, et al. Expression of fascin in association with p16 and Ki-67 in cervical lesions: Immunohistochemical study[J]. Pol J Pathol, 2022, 73(3): 208-214.

[15] PAN W, ZHANG C, CHEN M, et al. Expression of Ki-67 and P16 are related with HPV in squamous cell carcinoma of the external auditory canal[J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2022, 51: 40.

[16] 李赟,王彩红,潘晋兵. p16/Ki67 双染检测预测宫颈非典型鳞状上皮增生病变转归价值[J]. 中国计划生育学杂志,2023,31(6):1465-1468,1498.

[17] WRIGHT T C Jr, STOLER M H, RANGER-MOORE J, et al. Clinical validation of p16/Ki-67 dual-stained cytology triage of HPV-positive women: Results from the IMPACT trial[J]. Int J Cancer, 2022, 150(3): 461-471.

收稿日期：2025-06-03

（本文编辑：孙海儿）