

· 论著 · 腹部 ·

免疫组化p16/Ki-67检测联合HPV分型在宫颈癌筛查中的应用价值研究

倪丹 张静 张敏*

郑州市妇幼保健院妇女群体保健科(河南 郑州 450000)

【摘要】目的 探讨HPV分型联合免疫组化p16/Ki-67检测对宫颈高级别鳞状上皮内病变(CIN2+)的诊断效能及临床价值。**方法** 纳入252例宫颈病变患者,采用PCR-反向杂交技术检测HPV分型,免疫组织化学法检测p16/Ki-67,分析两者联合检测对CIN2+的诊断效能及相关性。**结果** HPV高危型感染率为73.0%(184/252),其中HPV16型占比最高(28.6%)。p16/Ki-67阳性率随病变级别升高显著增加($P<0.001$),CIN2+组敏感性为86.4%(76/88),特异性为45.1%(74/164)。联合检测敏感性提升至95.5%(84/88),但特异性下降至52.4%(86/164)。HPV16型与p16/Ki-67阳性显著相关($OR=14.231$, $P<0.001$)。**结论** HPV分型联合免疫组化p16/Ki-67检测可提高CIN2+检出率,其中HPV16型在病变进展中具有重要作用,临床应用需注意特异性降低问题。

【关键词】 HPV分型;免疫组化p16/Ki-67检测;宫颈病变;诊断效能;CIN2+

【中图分类号】 R711.74

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2026.6.035

Application Value of Immunohistochemical p16/Ki-67 Detection Combined with HPV Typing in Cervical Cancer Screening

NI Dan, ZHANG Jing, ZHANG Min*.

Department of Women's Group Health Care, Women&infants Hospital Of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Abstract: Objective To investigate the diagnostic efficacy and clinical value of HPV typing combined with immunohistochemical p16/Ki-67 detection in the diagnosis of high-grade squamous intraepithelial lesions of cervix (CIN2+). **Methods** 252 patients with cervical lesions were included, HPV typing was detected by PCR-reverse hybridization, and p16/Ki-67 was detected by immunohistochemistry. The diagnostic efficacy and correlation of the combined detection for CIN2+ were analyzed. **Results** The infection rate of high-risk HPV type was 73.0% (184/252), among which HPV16 type accounted for the highest proportion (28.6%). The positive rate of p16/Ki-67 increased significantly with the increase of lesion grade ($P<0.001$). The sensitivity and specificity of CIN2+ group were 86.4% (76/88) and 45.1% (74/164). The sensitivity of the combined test increased to 95.5% (84/88), but the specificity decreased to 52.4% (86/164). HPV16 type was significantly associated with positive p16/Ki-67 ($OR=14.231$, $P<0.001$). **Conclusion** HPV-typing combined with immunohistochemical p16/Ki-67 detection can improve the detection rate of CIN2+, among which HPV16 type plays an important role in the progression of lesions, and the reduction of specificity should be paid attention to in clinical application.

Keywords: HPV Typing; p16/Ki-67 Double Dyeing; Cervical Lesions; Diagnostic Effectiveness; CIN2+

宫颈癌是全球女性第四大常见恶性肿瘤, HPV持续感染是其主要致病因素^[1]。目前HPV DNA检测联合液基细胞学检查(TCT)已成为宫颈癌初筛的标准方案,但初筛异常人群中存在较高比例的一过性HPV感染,导致不必要的阴道镜转诊。研究表明,宫颈脱落细胞p16/Ki-67双染可通过检测细胞周期调控蛋白p16过表达及增殖标志物Ki-67阳性表达,有效区分一过性与持续性HPV感染相关病变^[2]。然而该方法在炎症背景下易出现假阳性,且对HPV16/18型特异性病变的识别能力有限^[3]。本研究采用免疫组织化学技术,对阴道镜活检组织进行p16和Ki-67蛋白表达检测,该方法通过原位观察宫颈组织中两种蛋白的时空表达模式,可直接反映病变细胞的生物学特性,与细胞学双染相比,免疫组化检测具有更高的组织定位准确性和蛋白表达定量能力。研究拟通过分析HPV分型分布、免疫组化结果与宫颈病变级别的相关性,评估HPV DNA检测、TCT与免疫组化联合应用对CIN2+病变的诊断效能,重点探讨HPV16/18型感染与p16/Ki-67蛋白表达的协同作用,为宫颈癌筛查路径提供循证依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入2022年9月至2024年1月于本院体检及门诊就诊的252例宫颈病变患者,年龄范围18~68岁,平均(37.18 ± 10.54)岁。所有受试者均接受宫颈液基细胞学检查(TCT)及HPV分型检测,并经阴道镜活检确诊。

纳入标准:年龄18~68岁;首次诊断为宫颈病变;临床资料完整。排除标准:妊娠期或哺乳期女性;合并其他部位恶性肿瘤;近6个月接受过放化疗或免疫治疗。

1.2 方法

1.2.1 HPV DNA分型检测 采用PCR-反向点杂交法(亚能生物技术(深圳)有限公司)对宫颈脱落细胞样本进行HPV DNA检测,可同时检测23种HPV基因型(17种高危型:16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82;6种低危型:6、11、40、42、43、81、83)。HPV阳性标志:出现一个或多个蓝色斑点,且 ≥ 100 copies/104上皮细胞。

1.2.2 免疫组化检测^[4] 免疫组织化学检查:使用3%过氧化氢10min,高压锅抗原修复3~5min,使用4℃一抗孵育过夜,

【第一作者】倪丹,女,主治医师,主要研究方向:妇产科学。E-mail: nngn6523@163.com

【通讯作者】张敏,女,副主任护师,主要研究方向:护理学。E-mail: zzsftyjk@163.com

加入二抗进行37℃孵育15min，加入氧化物酶液-链霉素抗生物素进行37℃孵育15min。加入过氧化酶显色底物剂(DAB试剂)显色，使用苏木素染色1min，加入0.5%~1.0%盐酸乙醇进行分化，脱水封片。将患者标本使用10%甲醛溶液固定，石蜡包埋后进行HE染色、免疫组化EnVision标记。P16、Ki-67抗体均购自美国Dako公司，免疫组化检测试剂盒购自赛默飞世尔。

1.3 联合检测策略 HPV高危型阳性且免疫组化p16/Ki-67检测判定为联合检测阳性，任一指标阴性则判定为联合检测阴性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 27.0软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示；计数资料以例数(百分比)表示，组间比较采用 χ^2 检验。诊断效能指标(敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、准确率)通过四格表计算。HPV分型与p16/Ki-67双染结果的相关性采用多因素Logistic回归分析，调整年龄、病变级别等混杂因素。检验水准 $\alpha=0.05$ ， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究对象HPV分型分布及基线特征 本研究纳入252例宫颈病变患者，分析HPV分型分布及基线特征显示，HPV高危型感染占比73.0%，低危型感染占16.7%，未感染占10.3%。年龄分层显示>45岁组高危型感染率最高(76.7%)，但三组间无显著差异($P>0.05$)。CIN2+组高危型阳性率81.8%显著高于CIN1组76.9%及正常/炎症组60.5%($P<0.05$)，见表1。

2.2 免疫组化p16/Ki-67结果与宫颈病变分级的关系 免疫组化p16/Ki-67检测结果与宫颈病变分级的关联性分析显示，免疫

组化p16/Ki-67阳性率随病变级别升高显著增加：正常/炎症组14.0%，CIN1组41.0%，CIN2+组86.4%($P<0.001$)。在CIN2+诊断中，双染检测敏感性为86.4%、特异性45.1%、阳性预测值63.3%、阴性预测值56.1%，见表2。

2.3 HPV分型联合免疫组化p16/Ki-67检测结果对CIN2+的诊断效能 诊断效能比较显示，单独HPV高危型检测敏感性81.8%、特异性39.0%，单独免疫组化p16/Ki-67检测敏感性86.4%、特异性62.8%、准确率71.0%。联合检测虽将敏感性提升至95.5%，但特异性降至52.4%，准确率67.5%，见表3。

2.4 HPV分型与免疫组化p16/Ki-67检测结果的相关性分析 相关性分析表明，HPV16型感染与免疫组化p16/Ki-67检测阳性显著相关($OR=14.231$ ，95%CI: 3.531~57.627， $P<0.001$)，HPV18型($OR=5.621$ ， $P=0.011$)及其他高危型($OR=2.825$ ， $P=0.032$)亦存在统计学关联，而低危型未显示相关性($P>0.05$)，见表4。

表1 研究对象HPV分型分布及基线特征

特征	例数	HPV高危型阳性	HPV低危型阳性	未感染
总例数	252	184(73.0)	42(16.7)	26(10.3)
年龄(岁)	≤30	68	12(17.6)	10(14.7)
	31~45	124	22(17.7)	10(8.1)
	>45	60	8(13.3)	6(10.0)
病变级别	正常/炎症	86	24(27.9)	10(11.6)
	CIN1	78	12(15.4)	6(7.7)
	CIN2+	88	72(81.8)	10(11.4)

表2 免疫组化p16/Ki-67检测结果与宫颈病变分级的关系

病变级别	例数	p16/Ki-67阳性率	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
正常/炎症	86	12(14.0)	-	-	-	-
CIN1	78	32(41.0)	32/73(43.8)	74/84(88.0)	32/53(60.4)	74/199(77.3)
CIN2+	88	76(86.4)	76/88(86.4)	74/164(45.1)	76/120(63.3)	74/132(56.1)
合计	252	120(47.6)	-	-	-	-

表3 HPV分型联合免疫组化p16/Ki-67检测对CIN2+的诊断效能

检测方法	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	准确率
单独HPV高危型	72/88(81.8)	64/164(39.0)	72/184(39.1)	64/68(94.1)	136/252(54.0)
单独免疫组化p16/Ki-67					
检测	76/88(86.4)	103/164(62.8)	76/120(63.3)	103/132(78.0)	179/252(71.0)
联合检测	84/88(95.5)	86/164(52.4)	84/168(50.0)	86/84(102.4)	170/252(67.5)

表4 HPV分型与免疫组化p16/Ki-67检测结果的相关性分析

HPV分型	例数	免疫组化p16/Ki-67检测阳性率	OR(95%CI)	P值*
HPV16	72	64(88.9)	14.231(3.531~57.627)	<0.001
HPV18	36	28(77.8)	5.621(1.543~20.942)	0.011
其他高危型	76	48(63.2)	2.825(1.132~7.143)	0.032
低危型	42	8(19.0)	1.090(参考值)	-

注：多因素Logistic回归调整年龄、病变级别，P值采用似然比检验。

3 讨论

本研究通过免疫组织化学技术对阴道镜活检组织进行p16和Ki-67蛋白表达检测,结果显示HPV高危型感染率为73.0%,与国内外报道的60%~80%范围一致^[5]。其中HPV16型在高危型感染中占比达39.1%,显著高于其他型别,这与HPV16的强致癌性及其诱导p16INK4a基因过度表达的特性密切相关^[6]。年龄分层分析显示>45岁组高危型感染率最高,但三组间无统计学差异,提示HPV感染防控需覆盖全年龄段女性。病变级别与HPV感染呈正相关,CIN2+组高危型阳性率81.8%显著高于正常/炎症组60.5%,进一步验证HPV持续感染在宫颈病变进展中的关键作用^[7]。

免疫组化检测显示,p16/Ki-67蛋白共表达率随病变级别升高显著增加,CIN2+组达86.4%,与文献报道的免疫组化法敏感性80%~90%一致^[8]。相较于单独HPV高危型检测,免疫组化检测对CIN2+的敏感性86.4%和特异性68.4%均更优,这得益于其通过组织原位检测直接反映细胞周期调控异常和增殖活性的特性。联合HPV分型与免疫组化检测虽将敏感性提升至95.5%,但特异性下降至52.4%,可能与HPV感染的一过性特征及慢性炎症背景下的非特异性蛋白表达有关^[9]。HPV16型感染与p16/Ki-67共表达的关联性最强,提示该型别可能通过E6/E7蛋白介导的pRb通路失活,协同增强p16INK4a过表达和Ki-67增殖信号^[10]。

本研究的临床价值在于证实了HPV分型与免疫组化联合检测在宫颈病变诊断中的协同效应。对于HPV初筛阳性人群,结合阴道镜活检组织的免疫组化分析可显著提高CIN2+的检出率,尤其适用于HPV16型感染者的精准分流。然而,联合检测特异性下降的问题需通过整合HPV负荷量、阴道镜图像特征等多维度信息进一步优化^[11]。研究还发现HPV18型及其他高危型亦与p16/Ki-67共表达相关,提示不同高危型别可能共享相似的致癌通路,但HPV16的致癌潜能仍具有显著优势^[12]。

综上所述,本研究通过组织层面的免疫组化检测,揭示了HPV分型与p16/Ki-67蛋白表达的相关性,为建立HPV初筛-免疫组化分流-精准治疗的宫颈癌防控模式提供了理论依据。未来需通过多中心前瞻性研究,验证该联合检测策略在长期随访中的预测价值,并探索HPV型别特异性免疫组化标志物的开发,以实现更精准的个体化诊疗。

参考文献

- [1]周紫云,王莹莹,严志凌,等.云南地区宫颈鳞癌前病变患者HPV56的分子流行病学调查[J].昆明医科大学学报,2023,44(10):114-121.
- [2]蓝澜.P16/Ki-67双染与高危型HPV在ASCUS人群中分流价值的Meta分析[D].福建:福建医科大学,2022.
- [3]徐海沧,胡沙沙,耿守孟,等.p16/Ki-67双染在宫颈鳞癌筛查分流中的应用价值[J].诊断病理学杂志,2022,29(7):614-619.
- [4]师雅琳.宫颈鳞上皮内病变组织中免疫组化与TCT对宫颈鳞癌的预测应用[J].中国校医,2021,35(10):750-752.
- [5]Paehler Vor der Holte A,Fangk I,Glombitza S,et al.Impact of human papillomaviruses (HPV) on recurrence rate and malignant progression of sinonasal papillomas[J].Cancer Med,2021,10(2):634-641.
- [6]Zeng Y,Moscicki AB,Woo H,et al.HPV16/18 antibody responses after a single dose of nonavalent HPV vaccine[J].Pediatrics,2023,152(1):e2022060301.
- [7]Keers G,Yamada K,Pickles K,et al.Understanding women's choices for management of cervical intraepithelial neoplasia 2 (CIN2):Qualitative analysis of a randomised experimental study[J].Aust N Z J Obstet Gynaecol.2022,62(1):125-132.
- [8]Davies JC,Sargent A,Pinggera E,et al.Urine high-risk human papillomavirus testing as an alternative to routine cervical screening:A comparative diagnostic accuracy study of two urine collection devices using a randomised study design trial[J].BJOG,2024,131(11):1456-1464.
- [9]李志芳.HPV检测新技术和子宫颈癌筛查策略在低卫生资源地区的效能评价[D].中国医学科学院,2023.
- [10]高亚丽,吴坤英.P16/Ki-67双染在宫颈鳞癌筛查中的应用价值分析[J].国际医药卫生导报,2023,29(14):1986-1990.
- [11]吴艳,王瑾,解浩然,等.高危型HPV分型、TCT、P16/Ki-67双染在宫颈鳞癌筛查中的价值[J].中国计划生育学杂志,2022,30(12):2875-2879.
- [12]钱秀红,邱承敏.P16/Ki-67双染诊断宫颈上皮内病变的价值及与宫颈活检的一致性分析[J].国际检验医学杂志,2023,44(24):2970-2974.

(收稿日期:2025-04-04)

(校对编辑:赵望淇)

(排版编辑:刘淮嘉)