



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

p16/Ki-67双染对高危型人乳头瘤病毒阳性妇女的分流作用

杨宝华, 徐灵, 朱修香, 夏子茵, 谢晓丽, 曹云桂

引用本文:

杨宝华, 徐灵, 朱修香, 等. p16/Ki-67双染对高危型人乳头瘤病毒阳性妇女的分流作用[J]. 中国临床医学, 2021, 28(6): 1016–1020.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210257>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

宫颈癌及癌前病变中Ki-67、P16蛋白的表达差异及诊断价值

Expression of Ki-67, P16 in cervical cancer and precancerous lesions and their diagnostic value
中国临床医学. 2018, 25(2): 278–281 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20170798>

妊娠期宫颈液基细胞学检查异常孕妇产后的临床转归

Postpartum prognosis of women with cervical cytology abnormality during gestation
中国临床医学. 2017, 24(5): 701–704 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170403>

绝经后女性阴道微生态与阴道上皮内瘤变的相关性

Relationship between vaginal intraepithelial neoplasia and vaginal microecology in postmenopausal women
中国临床医学. 2021, 28(4): 574–580 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202583>

喉癌、喉良性病变及声带息肉组织HPV-DNA及P16蛋白的表达差异

Expression of HPV-DNA and P16 protein in laryngeal cancer, benign laryngeal lesions, and vocal cord polyps
中国临床医学. 2017, 24(5): 744–747 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170552>

表观弥散系数术前评估胰腺神经内分泌肿瘤病理分级的价值

Evaluating value of apparent diffusion coefficient for pathological grade of pancreatic neuroendocrine neoplasms before surgery
中国临床医学. 2021, 28(5): 864–868 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210160>

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210257

p16/Ki-67 双染对高危型人乳头瘤病毒阳性妇女的分流作用

杨宝华¹, 徐 灵¹, 朱修香¹, 夏子茵¹, 谢晓丽², 曹云桂^{3*}

1. 上海市闵行区中心医院妇产科, 上海 201199

2. 上海市闵行区中心医院病理科, 上海 201199

3. 上海市嘉定区妇幼保健院, 上海 201800

引用本文 杨宝华, 徐 灵, 朱修香, 等. p16/Ki-67 双染对高危型人乳头瘤病毒阳性妇女的分流作用[J]. 中国临床医学, 2021, 28(6): 1016-1020. YANG B H, XU L, ZHU X X, et al. Role of p16/Ki-67 dual-stained cytology in triaging women with high-risk human papilloma virus [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28(6): 1016-1020.

【摘要】 目的:探讨 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染对高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papilloma virus, HR-HPV)阳性妇女的分流作用。**方法:**选取 2019 年 9 月至 2020 年 5 月于上海闵行区中心医院妇科门诊就诊的 HR-HPV 阳性女性 776 例,行 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染和宫颈液基薄层细胞学检测(thinprep cytologic test, TCT),同时进行阴道镜下宫颈活检。以宫颈活检组织病理结果为金标准,比较 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染和 TCT 对 HR-HPV 阳性女性宫颈病变筛查的预测价值。计算不同阴道镜转诊策略每发现 1 例宫颈高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)阳性所需的阴道镜转诊频数。**结果:**p16/Ki-67(趋势 $\chi^2=141.324, P<0.001$)和 TCT(趋势 $\chi^2=81.328, P<0.001$)的预测阳性率均随宫颈病变病理级别的升高而升高。p16/Ki-67 与 TCT 比较预测宫颈病变的特异度(80.3% vs 84.0%, $P=0.07$)和阳性预测值(28.9% vs 24.8%, $P=0.405$)相当,p16/Ki-67 灵敏度(75.7% vs 50.0%, $P=0.001$)和阴性预测值(96.9% vs 94.1%, $P=0.019$)更高。其他 12 种 HR-HPV 阳性受试者中,p16/Ki-67 每检出 1 例宫颈 HSIL⁺(HSIL 及以上病变)所需的阴道镜转诊例数少于 TCT($P=0.036$)。**结论:**对于下生殖道 HR-HPV 阳性的女性,p16/Ki-67 双染操作简单、结果易判读,且较 TCT 有更高的灵敏度和阴性预测值及较低的阴道镜转诊率,有望成为阴道镜医师缺乏地区 HR-HPV 阳性女性分流的新方法。

【关键词】 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染;人乳头瘤病毒;宫颈鳞状上皮内病变;子宫颈癌筛查;分流

【中图分类号】 R 271.1 **【文献标志码】** A

Role of p16/Ki-67 dual-stained cytology in triaging women with high-risk human papilloma virus

YANG Bao-hua¹, XU Ling¹, ZHU Xiu-xiang¹, XIA Zi-yin¹, XIE Xiao-li², CAO Yun-gui^{3*}

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Minhang Central Hospital, Shanghai 201199, China

2. Department of Pathology, Shanghai Minhang Central Hospital, Shanghai 201199, China

3. Jiading Women and Children's Hospital, Shanghai 201800, China

【Abstract】 Objective: To assess the performance of p16/Ki-67 dual-stained cytology in triaging high-risk human papilloma virus (HR-HPV) positive women. **Methods:** A total of 776 HR-HPV positive women in Shanghai Minhang Central Hospital from September 2019 to May 2020 were included. The cervical exfoliated cells from eligible women were collected for p16/Ki-67 dual-stained cytology and thinprep cytologic test (TCT), and cervical biopsy using colposcopy was conducted. Histology diagnosis was used as the gold standard, the predictive value of p16/Ki-67 dual-stained cytology and TCT for cervical lesion in HR-HPV positive women was compared. Furthermore, the number of colposcopies required per high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL⁺) detected was calculated. **Results:** The positive rates of p16/Ki-67 dual-stained cytology ($\chi^2=141.324, P<0.001$) and TCT ($\chi^2=81.328, P<0.001$) were significantly increased with the increased histologic severity of the cervical lesion. For detection of HSIL⁺, p16/Ki-67 dual-stained cytology and TCT had similar specificity (80.3% vs 84.0%, $P=0.070$) and positive predictive value (28.9% vs 24.8%, $P=0.405$), but p16/Ki-67 dual-stained cytology had higher sensitivity (75.7% vs 50.0%, $P=0.001$) and negative predictive value (96.9% vs 94.1%, $P=0.019$). In other 12

【收稿日期】 2021-02-05 **【接受日期】** 2021-04-26

【基金项目】 上海市闵行区自然科学基金(2018MHZ080). Supported by Natural Science Foundation of Shanghai Minhang District (2018MHZ080).

【作者简介】 杨宝华, 硕士, 副主任医师. E-mail: baohuayang@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-67070000, E-mail: cygui@126.com

types of HR-HPV, p16/Ki-67 dual-stained cytology required fewer colposcopies per HSIL⁺ detected compared with TCT ($P=0.036$). **Conclusions:** Among HR-HPV positive women, compared with TCT, p16/Ki-67 dual-stained cytology has higher sensitivity, negative predictive value, and requires fewer colposcopies, with simple operation and easy interpretation of results. This method will be beneficial for the regions where there is in shortage of cytologists and colposcopy physicians.

[Key Words] p16/Ki-67 dual-stained cytology; human papilloma virus; cervical squamous intraepithelial lesion; cervical cancer screening; triage

子宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,且近年有年轻化趋势。2020 年 GLOBOCAN 报告^[1]显示:在中低人类发展指数国家中,宫颈癌的发病率和死亡率均高居女性恶性肿瘤的第 2 位。人乳头状瘤病毒感染常见,多为一过性感染,易被人体自身免疫系统清除,其中高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papilloma virus, HR-HPV)持续感染是宫颈癌的重要病因^[2-3]。因此,2019 年美国阴道镜和宫颈病理协会(ASCCP)《基于风险的宫颈癌筛查结果异常的管理共识》^[4]建议将单独 HR-HPV 或 HR-HPV 与细胞学检查联合用于作为宫颈癌初筛,对单独 HR-HPV 初筛呈阳性的妇女采用细胞学检查进行分流。但细胞学主观性强,且我国细胞学医师较少。

2020 年 11 月 WHO 发布《加速消除宫颈癌全球战略》,要求 2030 年 70% 的 35~45 岁女性接受宫颈癌精准筛查。为了达到这一目标,须寻找新的生物学标志物,从而对 HR-HPV 呈阳性妇女进行有效分流,这是我国亟待解决的问题。已有研究^[5-7]发现,HR-HPV 的 E7 癌基因整合至宫颈上皮细胞,破坏了细胞的正常周期,引起包括 Ki-67、p16 蛋白在内的原本正常的细胞增殖蛋白异常表达。因此,本研究探讨 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染对 HR-HPV 阳性患者的分流作用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2019 年 9 月至 2020 年 5 月于上海市闵行区中心医院妇科门诊就诊,初筛为 HR-HPV 阳性的妇女 776 例,对其进行以下 3 项检查:宫颈液基薄层细胞学检测(thinprep cytologic test, TCT)、p16/Ki-67 细胞学双染以及阴道镜定位下宫颈活检。本研究获得上海市闵行区中心医院伦理委员会批准(2018-批件-011-01K),患者经知情告知表示愿意参加本次课题。

纳入标准:(1)年龄 25~65 岁;(2)有宫颈;(3)有性生活史;(4)身体状况允许进行宫颈癌筛查。排除标准:(1)既往因子宫颈病变或宫颈癌接受过

治疗;(2)合并严重影响生命体征平稳的疾病;(3)妊娠期妇女;(4)接诊前 48 h 内有阴道用药史;(5)接诊前 48 h 内有性生活;(6)盆腔急性炎症;(7)急性阴道炎;(8)阴道流血;(9)不愿意参加本研究或未进行阴道镜下宫颈活检。

1.2 脱落细胞采集及 HPV 分型检测 用扩阴器将宫颈充分暴露,将宫颈刷尖端置入宫颈管内,宫颈刷其余部分尽可能覆盖宫颈移行带,用一定的压力按照逆时针或顺时针同方向旋转宫颈刷 5~8 周。将宫颈刷头推入装有保存液瓶中,宫颈脱落细胞采集完成。脱落细胞用于 TCT 和 p16/Ki-67 免疫细胞化学双染检查。采集的脱落细胞用于 HPV 分型时用 HPV 专用刷,用同样的方法取材,刷头置于 HPV 细胞保存液。根据 HPV 与宫颈癌的关系,将 HPV 分为低危型、中危型和高危型。

用罗氏聚合酶链式反应技术进行 HR-HPV 分型,分为 HPV16、HPV18 和 HPV 其他 12 型(HPV31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68 型)。

1.3 观察指标及判读

1.3.1 TCT TCT 由 2 位高年资中级职称医师进行判读,如有疑义,由高级职称医师进行复验。细胞学阅片采用 2001 版 the Bethesda System(TBS)描述性诊断系统,结果分为鳞状上皮细胞异常和腺细胞异常。鳞状上皮细胞异常分为未见上皮内病变细胞和恶性细胞(NILM)、无明确诊断意义的不典型鳞状细胞(ASCUS)、不能除外高级别鳞状上皮内病变的不典型鳞状细胞(ASC-H)、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)和鳞状细胞癌。腺细胞异常分为不典型腺上皮、原位腺癌和腺癌。将 ASCUS 及以上病变(ASCUS、ASC-H、LSIL、HSIL、鳞状细胞癌、不典型腺上皮、原位腺癌和腺癌)记为细胞学阳性。

1.3.2 p16/Ki-67 蛋白双染 p16/Ki-67 检测采用罗氏公司的 CINtec PLUS 技术,结果由 2 位经过培训的病理科医师判读。p16 位于细胞质中,呈棕色染色,Ki-67 的位于细胞核内,呈红色染色。1 个及

以上宫颈上皮细胞内同时存在棕色细胞质染色和红色细胞核染色为细胞学阳性,反之为阴性。

1.3.3 组织学病理 由经验丰富的宫颈专科医师进行阴道镜检查以及活检,活检组织进行苏木精-伊红(H-E)染色和 p16 免疫组化染色。活检结果由 2 位高年资中级职称以上医师进行判读,如有疑问,由高级职称医师进行复验。HSIL、宫颈原位腺癌和宫颈癌为组织学阳性(HSIL⁺);LSIL、湿疣样变、宫颈慢性炎、宫颈息肉等为组织学阴性(HSIL⁻)。

1.4 阴道镜转诊策略及 HSIL⁺ 检出比较 出现以下情况时转诊阴道镜:HPV16/18 阳性(策略 1);HR-HPV 其他 12 型阳性且 p16/Ki-67 双染阳性(策略 2);HR-HPV 其他 12 型阳性且 TCT 阳性(策略 3)。比较 3 种阴道镜转诊策略宫颈 HSIL⁺ 的检出率,以及每发现 1 例 HSIL⁺ 所需的阴道镜转诊频数,频数=阴道镜转诊例数/HSIL⁺ 例数。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 χ^2 检验。以组织病理学诊断为金标准,计算不

同的宫颈病变筛查方法诊断宫颈 HSIL⁺ 的灵敏度、特异度、阳性预测值(positive predictive value, PPV)、阴性预测值(negative predictive value, NPV)、阳性似然比(positive likelihood ratio, LR⁺)和阴性似然比(negative likelihood ratio, LR⁻)。

2 结果

2.1 基本情况 776 例 HR-HPV 阳性受试者, HPV16/18 型阳性 152 例,其他 12 型阳性 624 例,患者平均年龄为(43.16±12.97)岁。其中正常或炎性病变 430 例,LSIL 患者 272 例,HSIL 患者 65 例,鳞状细胞癌 9 例。

2.2 2 种检测方法宫颈病变检出率比较 结果(表 1)显示:776 例 HR-HPV 呈阳性受试者中,p16/Ki-67(趋势 $\chi^2=141.324, P<0.001$)和 TCT(趋势 $\chi^2=81.328, P<0.001$)的检出率均随宫颈病变病理级别的增高而上升。其中,p16/Ki-67 对 HSIL 的检出率明显高于 TCT 阳性率(72.3% vs 47.7%, $P=0.004$)。

表 1 p16/Ki-67 和 TCT 对 HR-HPV 阳性受试者宫颈病变的检出情况比较

检测方法	n(%)			
	正常或炎性病变(n=430)	LSIL(n=272)	HSIL(n=65)	鳞状细胞癌(n=9)
p16/Ki-67	56(13.0)	82(30.1)	47(72.3)	9(100.0)
TCT	41(9.5)	71(26.1)	31(47.7)	6(66.7)
χ^2 值	2.614	1.100	8.205	3.600
P 值	0.106	0.294	0.004	0.058

TCT:宫颈液基薄层细胞学检测;LSIL:低级别鳞状上皮内病变;HSIL:高级别鳞状上皮内病变。

2.3 2 种检测方法检出 HSIL⁺ 病变有效性比较 p16/Ki-67 显示 HSIL⁺ 病变阳性 56 例、阴性 18 例, TCT 显示 HSIL⁺ 病变阳性 37 例、阴性 37 例。结果(表 2)显示:与 TCT 比较,p16/Ki-67 预测

HSIL⁺ 病变有更高的灵敏度(75.7% vs 50.0%, $\chi^2=10.445, P=0.001$)和阴性预测值(96.9% vs 94.1%, $\chi^2=5.482, P=0.019$);2 种方法特异度和阳性预测值差异无统计学意义。

表 2 2 种检测方法检出 HR-HPV 阳性受试者宫颈 HSIL⁺ 有效性比较

评价指标	p16/Ki-67		TCT		χ^2 值	P 值
	%(n/N)	95% CI	%(n/N)	95% CI		
灵敏度	75.7(56/74)	64.1~84.6	50.0(37/74)	38.3~61.7	10.445	0.001
特异度	80.3(564/702)	77.2~83.2	84.0(590/702)	81.1~86.6	3.290	0.070
PPV	28.9(56/194)	22.7~35.8	24.8(37/149)	18.3~32.7	0.694	0.405
NPV	96.9(564/582)	95.1~98.1	94.1(590/627)	91.9~95.8	5.482	0.019
LR ⁺	3.85	3.16~4.69	3.13	2.36~4.16		
LR ⁻	0.30	0.20~0.45	0.59	0.47~0.75		

TCT:宫颈液基薄层细胞学检测;HSIL⁺:高级别鳞状上皮内病变及以上病变;PPV:阳性预测值;NPV:阴性预测值;LR⁺:阳性似然比;LR⁻:阴性似然比。

2.4 不同阴道镜转诊策略 HSIL⁺检出情况 在 HPV 阳性受试者中,转诊阴道镜后检出 74 例 HSIL⁺患者,结果(表 3)显示:策略 1 与策略 2 对宫颈 HSIL⁺ 的检出率相似;策略 1 每发现 1 例 HSIL⁺ 所需的阴道镜转诊频数最少,与策略 3 差异有统计学差异($\chi^2=4.41, P=0.036$)。

表 3 不同阴道镜转诊策略每检出 1 例
宫颈 HSIL⁺ 所需的阴道镜转诊频数

转诊策略	总计	HSIL ⁺ (n = 74)	频数 n
策略 1	152	31(41.89)	4.90
策略 2	132	30(40.54)	4.33
策略 3	118	23(31.08)	5.13

TCT:宫颈液基薄层细胞学检测;策略 1: HPV16/18 阳性;策略 2: HPV 其他 12 型阳性且 p16/Ki-67 双染阳性;策略 3: HPV 其他 1 型阳性且 TCT 阳性. 频数 = 阴道镜转诊例数/HSIL⁺ 检出例数。

3 讨 论

p16 蛋白是一种细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂,参与 pRB 介导的细胞周期调控,是细胞周期的制动剂,在 G0 期表达。当 HR-HPV 持续感染,而将 E7 癌基因整合至宫颈上皮细胞时,E7 蛋白高表达,破坏 pRB 与 E2F 的结合,使其功能受损,进而引起细胞增殖失调,p16 的过度表达。有研究^[8]认为≥99%的宫颈鳞状上皮内高级别病变及以上组织中 p16 为阳性,而正常宫颈组织中 p16 阳性率不到 5%。Ki-67 是一种标志细胞周期进展及增殖期细胞的核抗原基因,G0 期表达缺失,仅在 G1、S、G2 期和 M 期表达。因此,一般生理机能正常的细胞中,p16 和 Ki-67 表达不会同时出现。p16 和 Ki-67 在同一细胞中同时被检测到可作为细胞周期失调的标志^[9-11]。有研究将 p16/Ki-67 双染检测应用于细胞学分流^[7,12] 和 HR-HPV 分流^[13-15]。本研究采用罗氏 CINtec PLUS 技术,即 p16/Ki-67 全自动免疫细胞化学双染法,对 HR-HPV 阳性患者进行分流。结果发现,p16/Ki-67 与 TCT 对 HR-HPV 阳性受试者宫颈病变检出率随宫颈病变病理级别的增高而上升,与相关研究^[16-17]一致。

本研究中,在 HR-HPV 阳性受试者中,p16/Ki-67与 TCT 检出 HSIL⁺ 病变的特异度和阳性预测值相似,但有更高的灵敏度和阴性预测值($P<0.05$),与国内外研究^[18-19] 结果相符。究其原因可能与以下因素有关:(1)p16/Ki-67 免疫细胞双染为

在细胞水平进行蛋白检测,而蛋白的变化较 TCT 形态学的改变更早。(2)p16/Ki-67 双染阅片中识别异常细胞时主要根据 p16/Ki-67 的颜色分布,较根据细胞形态判断容易,只要经过短期培训即可掌握,且不同的阅片医师判断结果之间具有较高的符合度。而 TCT 阅片主要依赖于细胞形态,缺乏客观指标,细胞学医师经验不足或其他主观因素可导致宫颈癌前病变和宫颈癌的漏诊或误诊^[20]。此外,细胞学检查医生的培训、质量控制等都对医疗资源需求较大,使其培训难于免疫蛋白染色。

《基于风险的宫颈癌筛查结果异常的管理共识》^[2]指出:对于 HPV16/18 型阳性受检者,即使细胞学阴性,其发生高级别鳞状上皮内病变和隐匿性癌的风险也较高,建议进行阴道镜检查。根据指南,本研究比较了 3 种 HPV 阳性受检者的阴道镜转诊策略,HPV16/18 阳性直接转诊阴道镜,HR-HPV 其他 12 阳性且 p16/Ki-67 双染阳性以及 HR-HPV 其他 12 阳性且 TCT 阳性转诊阴道镜,发现 HR-HPV 其他 12 阳性且 p16/Ki-67 双染阳性转诊阴道镜 HSIL⁺ 检出率与 HPV16/18 阳性直接转诊阴道镜相似,但阴道镜转诊率低且每发现 1 例 HSIL⁺ 所需的阴道镜转诊频数更少,因此该策略可以减少医疗资源浪费,进而提高经济效益。该结果与 Wright 等^[21] 和 Uijterwaal 等^[22] 的研究相吻合。因此,在细胞学医师和阴道镜专业医师缺乏的情况下,用该方法能提高宫颈癌及其癌前病变的检出率。

综上所述,p16/Ki-67 免疫细胞化学双染操作简单、结果容易判读,具有较好的客观性和可重复性。HR-HPV 阳性受检者用 p16/ Ki-67 分流具有较高应用价值,尤其对于 HSIL⁺ 病变分流有较高的灵敏度、特异度和较低的阴道镜转诊率。因此,该方法有望成为病理学和阴道镜医师缺乏地区 HR-HPV 阳性妇女宫颈癌及其癌前病变筛查的新方法。本研究对象为随机抽取的门诊就诊患者,属于机会性筛查,病例相对较少,须扩大 HR-HPV 阳性受试者 p16/Ki-67 双染样本量,并进行多中心、群体筛查来进一步证实该方法的有效性。

利益冲突:所有作者声明不存在利益冲突。

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] ZHANG H, MA D. The precision prevention and therapy of HPV-related cervical cancer; new concepts and clinical implications[J]. *Cancer Med*, 2018,7(10):5217-5236.
- [3] 王琳,屠蕊沁. 液基薄层细胞学检查联合人乳头状瘤病毒基因分型检测在宫颈病变筛查中的应用[J]. *中国临床医学*, 2014,21(2):200-201,205. WANG L, TU E Q. Application of thinprep cytologic test combined with human papillomavirus genotyping in cervical lesion screening [J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2014, 21 (2): 200-201,205.
- [4] PERKINS R B, GUIDO R S, CASTLE P E, et al. 2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines for abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors [J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2020, 24(2):102-131.
- [5] YU L, FEI L, LIU X, et al. Application of p16/Ki-67 dual-staining cytology in cervical cancers [J]. *J Cancer*, 2019, 10 (12):2654-2660.
- [6] BALASUBRAMANIAM S D, BALAKRISHNAN V, OON C E, et al. Key Molecular Events in Cervical Cancer Development[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019,55(7):384.
- [7] ZHU Y H, REN C C, YANG L, et al. Performance of p16/Ki67 immunostaining, HPV E6/E7 mRNA testing, and HPV DNA assay to detect high-grade cervical dysplasia in women with ASCUS[J]. *BMC Cancer*, 2019,19(1):271.
- [8] GALGANO M T, CASTLE P E, ATKINS K A, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies [J]. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34 (8): 1077-1087.
- [9] SILVA D C, GONÇALVES A K, COBUCCI R N, et al. Immunohistochemical expression of p16, Ki-67 and p53 in cervical lesions-a systematic review [J]. *Pathol Res Pract*, 2017,213(7):723-729.
- [10] CALIL L N, EDELWEISS M I A, MEURER L, et al. p16 INK4a and Ki67 expression in normal, dysplastic and neoplastic uterine cervical epithelium and human papillomavirus (HPV) infection[J]. *Pathol Res Pract*, 2014, 210(8):482-487.
- [11] 刘峰,张春霞,张莉,等. 宫颈癌及其癌前病变中 Ki-67、P16 蛋白的表达差异及诊断价值[J]. *中国临床医学*, 2018,25 (2): 278-281. LIU F, ZHANG C X, ZHANG L, et al. Expression of Ki-67, P16 in cervical cancer and precancerous lesions and their diagnostic value [J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2018,25(2):278-281.
- [12] ZHANG R Y, GE X F, YOU K, et al. p16/Ki67 dual staining improves the detection specificity of high-grade cervical lesions[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2018, 44(11): 2077-2084.
- [13] AREÁN-CUNSC, MERCADO-GUTIÉRREZ M, PANIELLO-ALASTRUEY I, et al. Dual staining for p16/Ki-67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women[J]. *Virchows Arch*, 2018,473(5):599-606.
- [14] LEWITOWICZ P, NASIEROWSKA-GUTTMEJER A, ROKITA W, et al. HPV genotyping and p16/Ki-67 test significantly improve detection rate of high-grade cervical squamous intraepithelial lesion[J]. *Arch Med Sci*, 2019, 16(1): 87-93.
- [15] 贾漫漫,赵冬梅,郭珍,等. p16/Ki-67 双染监测在高危型人乳头瘤病毒阳性人群中的分流效果评价[J]. *中华预防医学杂志*, 2020,54(2):192-197. JIA M M, ZHAO D M, GUO Z, et al. Evaluation the triage performance of p16/Ki-67 dual staining for HR-HPV positive women[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2020,54(2):192-197.
- [16] 王海瑞,廖光东,陈汶,等. p16/Ki67 免疫细胞双染在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2017, 39(8): 636-640. WANG H R, LIAO G D, CHEN W, et al. Clinical value of p16/Ki-67 immunocytochemical dual staining in cervical cancer screening [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2017, 39 (8):636-640
- [17] WENTZENSEN N, SCHWARTZ L, ZUNA R E, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population[J]. *Clin Cancer Res*, 2012,18(15):4154-4162.
- [18] WENTZENSEN N, FETTERMAN B, CASTLE P E, et al. p16/Ki-67 dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015,107(12):djv257.
- [19] 廖光东,康乐妮,李静,等. p16/微小染色体维持蛋白 2 和 p16/Ki-67 双重染色对高危型人乳头瘤病毒呈阳性妇女的宫颈病变筛查[J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2017, 13 (4): 425-431. LIAO G D, KANG L N, LI J, et al. p16/minichromosome maintenance protein 2 and p16/Ki-67 double staining in cervical lesions screening of highrisk human papillomavirus positive women [J]. *Chin J Obstet Gynecol Pediatr(Electron Ed)*, 2017, 13(4):425-431.
- [20] DAVEY E, BARRATT A, IRWIG L, et al. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review [J]. *Lancet*, 2006,367(9505):122-132.
- [21] WRIGHT T C JR, BEHRENS C M, RANGER-MOORE J, et al. Triage HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial[J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 144(1):51-56.
- [22] UIJTERWAAL M H, POLMAN N J, WITTE B I, et al. Triage HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing; baseline and longitudinal data[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136 (10):2361-2368.