

• 论 著 •

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*

钱秀红, 邱承敏

上海市松江区中心医院病理科, 上海 201600

摘要:目的 探讨 P16/Ki-67 双染诊断宫颈上皮内病变(CIN)的价值,并分析其与宫颈活检的一致性。**方法** 选择 2021 年 11 月至 2023 年 4 月上海市松江区中心医院的 92 例疑似 CIN 患者为研究对象。所有患者均采用高危人乳头瘤病毒(HR-HPV)、P16/Ki-67 双染两种方法进行检测,以宫颈活检为金标准,探讨两种检测方式对 CIN 的诊断价值,并分析两种检测方式诊断 CIN 分级与宫颈活检的一致性。**结果** 宫颈活检结果显示,92 例疑似 CIN 患者中阳性 74 例(80.43%),其中 CIN I 级 26 例,II 级 32 例,III 级 16 例;阴性 18 例(19.57%);以宫颈活检结果为金标准,P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的准确度高于 HR-HPV 检查($P<0.05$);受试者工作特征曲线分析结果显示,HR-HPV、P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的曲线下面积分别为 0.760、0.890,均具有一定诊断价值;HR-HPV 评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性较为理想($Kappa=0.707, P<0.05$);P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性极好($Kappa=0.832, P<0.05$)。**结论** P16/Ki-67 双染在 CIN 中具有较高诊断价值,在判定 CIN 分级中与宫颈活检一致性极好,能够为临床诊断提供参考。

关键词: 宫颈上皮内病变; P16/Ki-67 双染; 高危人乳头瘤病毒; 宫颈活检

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.005

中图法分类号:R446.8

文章编号:1673-4130(2023)24-2970-05

文献标志码:A

P16/Ki-67 double dye the value of diagnosis of cervical intraepithelial lesions and cervical biopsy consistency analysis*

QIAN Xiuhong, QIU Chengmin

Department of Pathology, Shanghai Songjiang District Central Hospital, Shanghai 201600, China

Abstract: Objective To evaluate the role of P16/Ki-67 double dye in the diagnosis of cervical intraepithelial lesion (CIN) value, and to analyze its consistency with cervical biopsy. **Methods** A total of 92 patients with suspected CIN in Shanghai Songjiang District Central Hospital from November 2021 to April 2023 were selected as the research objects. All patients underwent high-risk human papillomavirus (HR-HPV) and P16/Ki-67 double dye. Taking cervical biopsy as the gold standard, the diagnostic value of the two detection methods for CIN was analyzed, as well as the consistency of the two detection methods in the diagnosis of CIN classification and cervical biopsy. **Results** The results of cervical biopsy showed that 74 cases (80.43%) of 92 suspected CIN patients were positive, including 26 cases of CIN I, 32 cases of CIN II and 16 cases of CIN III, and 18 cases (19.57%) were negative. Taking cervical biopsy results as the gold standard, P16/Ki-67 double dye was more accurate than HR-HPV test in the diagnosis of CIN ($P<0.05$). The receiver operating characteristic (ROC) curve showed that the area under the curve of HR-HPV and P16/Ki-67 double dye for CIN diagnosis was 0.760 and 0.890, respectively, all of them had certain diagnostic value. The consistency between HR-HPV evaluation of CIN classification and cervical biopsy was consistent ($Kappa=0.707, P<0.05$). The consistency between P16/Ki-67 double dye and cervical biopsy was excellent ($Kappa=0.832, P<0.05$). **Conclusion** P16/Ki-67 double dye with a high diagnostic value in CIN, consistency in determining CIN grade and cervical biopsy is wonderful, which can provide reference for clinical diagnosis.

Key words: cervical intraepithelial lesion; P16/Ki-67 double dye; high-risk human papillomavirus; cervical biopsy

宫颈癌是一种常见的妇科恶性肿瘤,可使患者出现阴道不规则流血、白带异常、腰腹酸痛等症状,若治疗不及时,还可能引起多器官功能衰竭,甚至危及患者生命^[1]。宫颈癌的发生、发展是由宫颈不典型增生

* 基金项目:上海市卫生系统优秀青年医学人才培养计划(PWRq2020-091)。

作者简介:钱秀红,女,技师,主要从事病理检验相关研究。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231212.1700.006.html\(2023-12-13\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231212.1700.006.html(2023-12-13))

连续发展至宫颈癌的过程。宫颈不典型增生是一种癌前状态,包括宫颈上皮内病变(CIN)Ⅰ级、CINⅡ级、CINⅢ级 3 个等级,若未能及时采取有效的干预措施,则其恶变率分别可达 15%、30%、60%^[2]。因此,寻找有效的诊断方法早期发现高危患者,并给予规范、科学的干预措施对防治宫颈癌具有重要意义。自 1950 年初宫颈巴氏涂片用于宫颈癌筛查以来,宫颈癌的早期病变检出率已明显提升了,宫颈癌病死率大大降低,但传统巴氏涂片的假阳性率约为 30%,假阴性率为 15%~50%,诊断准确度仍不理想^[3]。随着医疗技术发展,宫颈薄层细胞学检查被逐渐应用于宫颈癌筛查,通过将宫颈内、外细胞刷洗在细胞保存液中,并采用计算机控制程序化处理碎片,分离上皮细胞与血液、黏液,再均匀平铺于玻片上观察。与传统巴氏涂片相比,该检查方式具有细胞结构清晰、背景清晰易辨等优点,便于更好地发现 CIN^[4]。然而,宫颈薄层细胞学检查不典型鳞状细胞时,易出现模棱两可的诊断结果,如何筛查不典型鳞状细胞的 CIN 患者仍值得探讨。

近年研究表明,人乳头瘤病毒(HPV)与 CIN 及宫颈癌存在关系,尤其是 HPV-16、18 型等高危人乳头瘤病毒(HR-HPV),其中约 90% 的宫颈鳞状上皮癌患者可检出 HR-HPV, HPV-16 检出率超过 70%^[5-6]。而 P16 已被证实在 HR-HPV 感染中高表达,被认为是 CIN 的替代标志物^[7]。但 P16 高表达不仅存在于异常增生的细胞中,也存在于子宫内膜细胞、输卵管化生细胞及正常子宫颈柱状细胞中,特异性较低。Ki-67 是一种核抗原和细胞增殖标志物,正常生理状态下, Ki-67 与 P16 相互排斥。因此,有研究认为,细胞内同时出现 Ki-67 和 P16 高度表达则预示着细胞周期失调,可能发展为 HR-HPV 感染^[8]。基于此,本研究以疑似 CIN 患者为研究对象,探讨 P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的价值及分析其与宫颈活检的一致性,以为 CIN 患者的诊疗提供参考依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2021 年 11 月至 2023 年 4 月上海市松江区中心医院的 92 例疑似 CIN 患者为研究对象,年龄 31~69 岁,平均(46.38±7.63)岁;体重指数 19~29 kg/m²,平均体重指数(25.61±2.18)kg/m²;临床症状:白带增多 46 例,同房出血 10 例,白带夹血 28 例,绝经后出血 4 例,其他 4 例。

1.2 入组标准 纳入标准:(1)均完成 HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查;(2)接受宫颈活检;(3)检测报告完整;(4)患者或家属签署知情同意书。排除标准:(1)检测前接受放射治疗、化学治疗或生物免疫治疗;(2)合并宫颈息肉、宫颈尖锐湿疣等其他宫颈疾病;(3)合并自身免疫性疾病;(4)合并严重肝肾功能异常;(5)既往有子宫切除治疗史或存在其他子宫破坏性治疗;(6)合并认知功能障碍或精神异常;(7)妊娠或哺乳期女性。

1.3 方法 嘱咐受检者检查前 2~3 d 禁止性生活,以及阴道用药、妇科检查等。受检者取膀胱截石位,使用阴窥器充分暴露宫颈,采用细胞刷收集宫颈细胞,置入保存液中于 4℃ 环境下保存待测。

1.3.1 HR-HPV DNA 分析 取 1 mL 细胞学标本,采用 cobas HPV 检测法(美国 Roche Molecular Systems 公司)进行 HR-HPV 检测和基因分型。采用实时荧光定量 PCR 技术和自动制样技术检测 14 种 HR-HPV 基因型,分别为 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68 型, DNA 提取采用 KG203 快速 DNA 提取检测试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司], DNA 扩增采用 T100PCR 扩增仪(美国伯乐公司)。

1.3.2 P16/Ki-67 双染 取保存液中剩余细胞学标本置于离心管中,以 2 500 r/min 离心 10 min,去除上层液体,保留底部沉渣,加入“细胞快速固定剂组合物”(本院专利)使沉渣快速凝聚成团,取出后用滤纸纱布包好置于包埋盒中,中性福尔马林固定不少于 1 h,置于脱水机常规脱水,石蜡包埋,以 4 μm 的厚度连续切片石蜡标本 2 张,一张切片行常规 HE 染色,另一张切片采用 P16/Ki-67 检测试剂盒(河南赛诺特生物),遵循说明书行手工免疫组织化学双重染色,最后用水性封片剂封片,自然风干后读取检测结果。判读标准:1 个细胞内同时出现 P16 信号、Ki-67 信号胞核红染和胞质棕染视为阳性;P16 信号、Ki-67 信号均不显色或单独显色则视为阴性。所有载玻片均由 2 名资深病理医师进行盲检。见图 1、2。

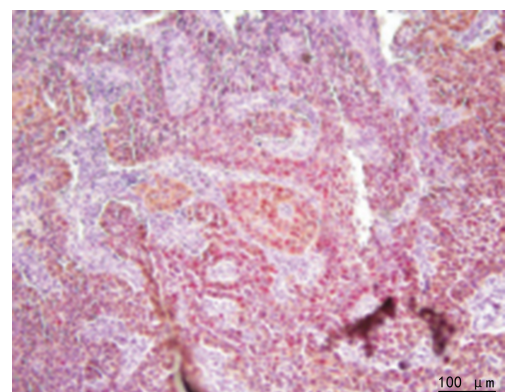


图 1 病例 1 细胞块 P16/Ki67 双染(×200)

1.3.3 宫颈活检 由具有 5 年以上经验的医师采用德国莱斯康公司生产的光学电子阴道镜(LEISEG-ANG-3ML 型)进行宫颈活检,受检者取膀胱截石位,阴窥器辅助暴露宫颈,清理宫颈表面分泌物,取 3%~5% 的冰醋酸涂抹于宫颈表面,观察宫颈转化区、柱状上皮、鳞状上皮等部位的宫颈上皮表面构型、血管形态、边界清晰度,并进行异常阴道镜图像筛查,再于宫颈涂抹 2% 的卢戈碘液,进一步观察病变,依据患者个体情况选择单一阴道镜检查取材或宫颈管搔刮术取材,由资深病理医师判读结果,完成 CIN 诊断,并判定 CIN 分级。阴道镜图像判定标准:阴道镜图像锁定范围内存在醋酸白斑、白色上皮、镶嵌、异型血管、点状

血管及碘阴性区、白环/白色腺体、真性糜烂等视为异常;受检者宫颈转化区、柱状上皮、原始鳞状上皮的阴道镜图像锁定范围内无任何病变迹象视为未发生异常。CIN 分级判定标准^[9]:依据国际宫颈病理与阴道镜联盟制定的 CIN 诊断标准判定 CIN 分级,所有诊断均依据受检者宫颈临床表现、颜色及醋酸反应、位置、边界清晰度、表面构型、病变面积和既往资料等综合判断。受检者宫颈存在轻度不典型增生为 CIN I 级,受检者宫颈存在中度不典型增生为 CIN II 级,受检者宫颈存在重度不典型增生和原位癌为 CIN III 级。见图 3、4。

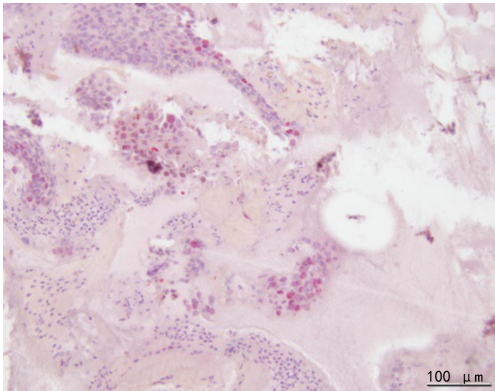


图 2 病例 2 细胞块 P16/Ki-67 双染(×200)

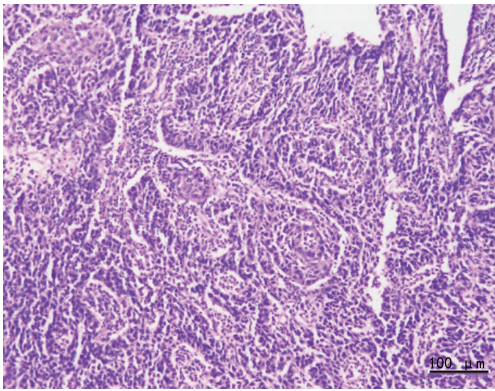


图 3 病例 1 细胞块 HE 切片(×100)

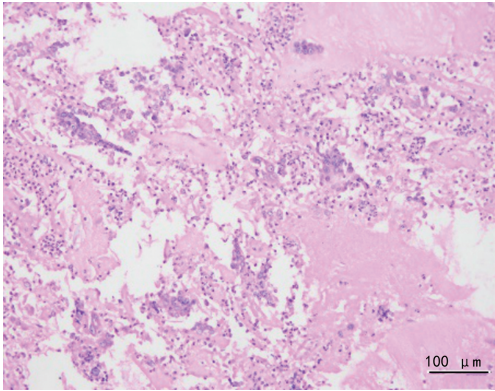


图 4 病例 2 细胞块 HE 切片(×100)

1.4 观察指标 (1)统计宫颈活检结果。(2)以宫颈活检结果为金标准,分析 HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查诊断 CIN 的效能。(3)分析 HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据分析和分析,计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 HR-HPV、P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的价值,曲线下面积(AUC) ≤ 0.50 视为无诊断价值; $0.50 < AUC \leq 0.70$ 视为诊断价值较低; $0.70 < AUC \leq 0.9$ 视为诊断价值中等; $AUC > 0.9$ 视为诊断价值较高;HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性,采用 Kappa 一致性检验, $Kappa > 0.75$ 表明一致性极好, $0.40 \sim 0.75$ 表明一致性较为理想, < 0.40 表明一致性差。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 宫颈活检结果 宫颈活检结果显示,92 例疑似 CIN 患者中阳性 74 例(80.43%),其中 CIN I 级 26 例,II 级 32 例,III 级 16 例;阴性 18 例(19.57%)。

2.2 HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查诊断 CIN 的价值 以宫颈活检结果为金标准,P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的准确度高于 HR-HPV 检查($P < 0.05$);两组诊断灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);ROC 曲线分析结果显示,HR-HPV、P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的 AUC 分别为 0.760、0.890,均具有一定诊断价值。见表 1~4。

表 1 HR-HPV 检查诊断 CIN 的价值(n)			
HR-HPV 检查	宫颈活检结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	59	5	64
阴性	15	13	28
合计	74	18	92

表 2 P16/Ki-67 双染检查诊断 CIN 的价值(n)			
P16/Ki-67 双染检查	宫颈活检结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	66	2	68
阴性	8	16	24
合计	74	18	92

表 3 HR-HPV、P16/Ki-67 双染对 CIN 的诊断效能(%)					
项目	灵敏度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
HR-HPV 检查	79.73	72.22	78.26	95.16	43.33
P16/Ki-67 双染检查	89.19	88.89	89.13	97.06	66.67
χ^2	2.522	0.709	3.983	0.011	2.920
P	0.112	0.400	0.046	0.916	0.088

2.3 HR-HPV、P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性 HR-HPV 评估 CIN 分级与宫颈活检一致性较为理想($Kappa = 0.707, P < 0.05$),

P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性极好(Kappa=0.832, $P<0.05$)。见表 5、6。

表 4 HR-HPV、P16/Ki-67 双染诊断 CIN 的效能

项目	AUC	标准误	<i>P</i>	95%CI	灵敏度	特异度	约登指数
HR-HPV 检查	0.760	0.067	0.001	0.628~0.892	0.722	0.797	0.519
P16/Ki-67 双染检查	0.890	0.048	<0.001	0.797~0.984	0.889	0.892	0.781

表 5 HR-HPV 评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性(*n*)

HR-HPV	宫颈活检结果			合计
	CIN I 级	CIN II 级	CIN III 级	
CIN I 级	21	2	1	24
CIN II 级	4	26	2	32
CIN III 级	1	4	13	18
合计	26	32	16	74

表 6 P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性(*n*)

P16/Ki-67 双染检查	宫颈活检结果			合计
	CIN I 级	CIN II 级	CIN III 级	
CIN I 级	23	2	0	25
CIN II 级	2	29	2	33
CIN III 级	1	1	14	16
合计	26	32	16	74

3 讨 论

现阶段,宫颈癌仍是威胁我国女性健康的严重公共卫生问题,积极探索合适的宫颈癌筛查方法十分必要。目前,发达国家常采用 HPV 检查联合液基细胞学检查筛查宫颈癌,诊断准确性较高,但该检查方式价格高昂,且对医生专业技能要求较高,导致其难以在基层医院推广应用^[10]。宫颈活检是临床诊断宫颈癌的金标准,但该检查方式属有创性操作,会对患者产生一定创伤,易诱发宫颈出血或宫颈炎症,不适用于宫颈癌普查^[11]。因此,积极探索无创、准确、价格低廉的宫颈疾病筛查方式成为研究热点。

当前,宫颈薄层细胞学检查联合 HR-HPV 检测是临床筛查宫颈癌的重要手段,但宫颈薄层细胞学检查对病理科医师的临床经验依赖性较强,诊断结果具有较高主观性,灵敏度较低,易出现漏诊情况;HR-HPV 检测难以区分转化型 HR-HPV 感染和一过性 HR-HPV 感染^[12]。HR-HPV 阳性、宫颈薄层细胞学检查结果阴性在临床较为常见,大量阴道镜转诊易造成过度医疗。因此,寻找一种分流 HR-HPV 阳性、宫颈薄层细胞学检查阴性患者的客观管理方法,明确 CIN 风险的生物学指标具有重要价值。

近年来,P16/Ki-67 双染检查逐渐应用于疑似 CIN 患者中,且取得理想诊断效能。P16 蛋白是多种肿瘤抑制基因所编码的蛋白,是细胞周期蛋白依赖性

抑制剂,该蛋白高度表达表明宫颈细胞处于细胞周期阻滞期^[13]。Ki-67 是在分裂细胞中表达的一种核蛋白,能够反映细胞增殖活跃和细胞周期进展,其染色阳性表示宫颈细胞处于细胞周期的增殖期^[14]。LORENZI 等^[15]研究指出,P16/Ki-67 双染阳性是检测宫颈癌风险的准确工具。TAKACS 等^[16]研究表明,P16/Ki-67 双染检查能够确定高级别宫颈病变。本研究对比 HR-HPV 检查与 P16/Ki-67 双染检查诊断 CIN,结果显示,以宫颈活检结果为金标准,P16/Ki-67 双染检查诊断 CIN 的准确度(89.13%)高于 HR-HPV 检查(78.26%)。P16 能够引起细胞周期紊乱,介导细胞的无限增殖,在 CIN 诊断、评估中应用广泛。有研究指出,P16 是一种抑癌基因,参与细胞周期的调控,在 CIN 的发生及发展中发挥重要作用,P16 持续高表达能够影响肿瘤细胞活性及细胞周期^[17]。国外研究表明,P16 被发现能转化为癌细胞的异常细胞,在一定程度上提示宫颈病变^[18]。但在细胞学标本中 P16 具有较强的非特异性着色,在发育不良的细胞、萎缩细胞或正常化生细胞中均可发现 P16 高表达,甚至染色于宫颈正常柱状细胞及子宫内膜细胞中,而在未经处理的液基细胞标本中,P16 阳性率超过 80%。此外,P16 染色结果判读需结合细胞形态,增加阅片医师工作量,单纯 P16 染色仍未能获得理想效果。一般情况下,Ki-67 属增殖性细胞核抗原,仅在 G₀ 期表达缺失,是一种细胞增殖标志物,在恶性肿瘤辅助诊断及预后评估中应用广泛^[19]。正常情况下,Ki-67 和 P16 表达相互制约,不会同时出现于同一细胞中。当 Ki-67 和 P16 同时染色阳性时则表明细胞周期调控失衡,提示 HPV 感染,高级别鳞状上皮内病变可能性较大,且可能发展为宫颈癌^[20]。因此,P16/Ki-67 双染能够进一步诊断病变细胞,且不依赖细胞形态学检测,能够保证检测结果的可重复性和客观性,便于更好地区分假阳性和真阳性结果,在临床诊疗中具有重要指导意义。

本研究结果还显示,P16/Ki-67 双染检查评估 CIN 分级与宫颈活检的一致性极好。考虑其原因在于,良性宫颈组织与恶性宫颈组织增殖情况不同,正常细胞需更新换代,但细胞增值率不足 3%,而良性肿瘤增值率在 5%~10%,恶性肿瘤增值率则超过 10%,且多数情况下 Ki-67 可随肿瘤细胞恶性程度增高而增殖^[21]。P16/Ki-67 双染诊断灵敏度及特异度均较高,能够提高宫颈癌筛查效能,预测宫颈癌发展

方向,提高疾病早期检出率。此外,P16/Ki-67 双染检查是无需依赖细胞形态学,对仪器、设备要求较低,学习周期较短,可有效减轻检验人员工作强度及压力,节约医疗资源。

综上所述,P16/Ki-67 双染在 CIN 中具有较高诊断价值,在判定 CIN 分级中与宫颈活检一致性极好,可作为一种有效的患者分流工具或细胞联合筛查工具,能够相对客观、明确地帮助医师判断是否需要做进一步检查,为临床诊疗提供依据。

参考文献

[1] HAN H Y, MOU J T, JIANG W P, et al. Five candidate biomarkers associated with the diagnosis and prognosis of cervical cancer[J]. Biosci Rep, 2021, 41(3):BRS20204394.

[2] PONTES V B, MARTINS L, SZKLO M, et al. Factors associated with cervical intraepithelial neoplasia (CIN2/CIN3), early stage and advanced stage of cervical cancer diagnosis in the Brazilian Amazonian region[J]. Eur J Cancer Prev, 2020, 29(4):342-345.

[3] MABOTJA M C, LEVIN J, KAWONGA M. Beliefs and perceptions regarding cervical cancer and screening associated with Pap smear uptake in Johannesburg: a cross-sectional study[J]. PLoS ONE, 2021, 16(2):e0246574.

[4] GUPTA R, SODHANI P, MEHROTRA R, et al. Cervical high-grade squamous intraepithelial lesion on conventional cytology: cytological patterns, pitfalls, and diagnostic clues[J]. Diagn Cytopathol, 2019, 47(12):1267-1276.

[5] ALMONTE M, MURILLO R, SANCHEZ G I, et al. Multi-centric study of cervical cancer screening with human papillomavirus testing and assessment of triage methods in Latin America: the ESTAMPA screening study protocol[J]. BMJ Open, 2020, 10(5):e035796.

[6] KONO K, MORISADA T, SAIKA K, et al. The first-round results of a population-based cohort study of HPV testing in Japanese cervical cancer screening: baseline characteristics, screening results, and referral rate[J]. J Gynecol Oncol, 2021, 32(3):e29.

[7] 康连杰, 郭胜香, 董昂. 宫颈上皮病变中高危型 HPV 感染与病变分级及 P53、p16INK4a 和细胞周期蛋白表达的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(4):391-394.

[8] LORENZI N P C, TERMINI L, FERREIRA-FILHO E S, et al. A positive HPV test with positive p16/Ki-67 double staining in self-sampled vaginal material is an accurate tool to detect women at risk for cervical cancer[J]. Cancer Cytopathol, 2022, 130(1):41-54.

[9] SASLOW D, SOLOMON D, LAWSON H W, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. Am J Clin Pathol, 2012, 137(4):516-542.

[10] ITO K, KIMURA R, KONISHI H, et al. A comparison of liquid-based and conventional cytology using data for cer-

vical cancer screening from the Japan Cancer Society[J]. Jap J Clin Oncol, 2020, 50(2):138-144.

[11] HU S Y, REZHAKE R, CHEN F, et al. Outcomes in women with biopsy-confirmed cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or normal cervix and related cofactors: a 15-year population-based cohort study from China-ScienceDirect[J]. Gynecol Oncol, 2020, 156(3):616-623.

[12] SONG F, BELINSON J L, YAN P, et al. Evaluation of p16INK4a immunocytology and human papillomavirus (HPV) genotyping triage after primary HPV cervical cancer screening on self-samples in China[J]. Gynecol Oncol, 2021, 162(2):322-330.

[13] EL-ZEIN M, GOTLIEB W, GILBERT L, et al. Dual staining for p16/Ki-67 to detect high-grade cervical lesions: results from the screening triage ascertaining intraepithelial neoplasia by immunostain testing study[J]. Int J Cancer, 2021, 148(2):492-501.

[14] SHI Q, XU L, YANG R, et al. Ki-67 and P16 proteins in cervical cancer and precancerous lesions of young women and the diagnostic value for cervical cancer and precancerous lesions[J]. Oncol Lett, 2019, 18(2):1351-1355.

[15] LORENZI N P C, TERMINI L, FERREIRA-FILHO E S, et al. A positive HPV test with positive p16/Ki-67 double staining in self-sampled vaginal material is an accurate tool to detect women at risk for cervical cancer[J]. Cancer Cytopathol, 2022, 130(1):41-54.

[16] TAKACS F Z, RADOSA J C, BOCHEN F, et al. Sec62/Ki67-and p16/Ki67 immunocytochemical dual-staining in vulvar cytology for the identification of intraepithelial neoplasms and vulvar cancer: a pilot study[J]. Arch Gynecol Obstet, 2020, 299(3):825-833.

[17] ZHANG S K, JIA M M, ZHAO D M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual staining in the detection of cervical pre-cancer and cancer in China[J]. Cancer Epidemiol, 2019, 11(59):123-128.

[18] VERMA S. To evaluate the role of p16^{INK4a} immunocytochemistry for detection of CIN 2+ in women detected screen positive by visual inspection using acetic acid[J]. J Cytol, 2020, 37(2):82-86.

[19] WENTZENSEN N, CLARKE M A, BREMER R. Clinical evaluation of human papillomavirus screening with p16/Ki-67 dual stain triage in a large organized cervical cancer screening program[J]. JAMA Intern Med, 2019, 179(7):881-888.

[20] PEETERS E, WENTZENSEN N, BERGERON C, et al. Meta-analysis of the accuracy of p16 or p16/Ki-67 immunocytochemistry versus HPV testing for the detection of CIN2+/CIN3+ in triage of women with minor abnormal cytology[J]. Cancer Cytopathol, 2019, 127(3):169-180.

[21] 徐瑶, 邓晓杨, 吴海燕, 等. 人乳头状瘤病毒感染与宫颈癌患者临床病理特征和 Ki-67、PCNA 的关系[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(14):2743-2746.