

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.21.022

宫颈 HPV16 持续感染阶段宫颈 P16 和 Ki67 的表达及其与宫颈癌变的关系 *

孙丽艳¹ 陶萍萍¹ 杨宾烈^{1Δ} 原杰彦¹ 王宇华¹ 张 蕾¹ 张 爱¹ 余 雯² 李 芳²

(1 上海市浦东新区人民医院妇科 上海 201200; 2 同济大学附属第一妇婴保健院妇科 上海 200126)

摘要 目的: 探讨宫颈人乳头状瘤病毒 (HPV)16 持续感染阶段宫颈 P16 和 Ki67 的表达及其与宫颈癌变的相关性。**方法:** 采用 P16/Ki67 免疫组化双染法检测 102 例 HPV16 持续感染者、136 例非持续感染者宫颈组织 P16、Ki67 蛋白的表达,并根据免疫组化结果分组为双染阳性组、双染阴性组。所有患者随访观察 2 年,比较两组患者的结局及宫颈癌前病变的发生率。**结果:** P16、Ki67 及 P16/Ki67 双染的阳性率分别为 40.3%、44.5% 及 34.0%, HPV16 持续感染患者 P16、Ki67 及 P16/Ki67 双染的阳性率均显著高于非持续感染患者 ($P < 0.05$)。HPV16 持续感染患者的 P16、Ki67 蛋白表达呈显著正相关 ($P < 0.05$)。HPV16 持续感染患者中,双染阳性组的病情持续和进展比例明显高于双染阴性组,也明显高于 HPV16 非持续感染(双染阴性组、双染阳性组)患者 ($P < 0.05$)。HPV16 持续感染患者中,双染阳性组进展为 HSIL 及以上病变发生率为 32.5% (13/40),显著高于双染阴性组 6.5% ($P < 0.05$)。**结论:** P16、Ki67 双染阳性在 HPV16 持续感染阶段与宫颈上皮内病变疾病进展成正相关,对 HPV16 持续感染进展为宫颈高度病变有预警价值,可作为 HPV16 阳性早期治疗的敏感指标。

关键词: HPV16; 宫颈癌; 持续感染; P16; Ki67; 转归

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)21-4103-04

Expression of P16/Ki67 in Patients with Cervical HPV16 Persistent Infection and Its Correlation with the Incidence of Cervical Cancer*

SUN Li-yan¹, TAO Ping-ping¹, YANG Bin-lie^{1Δ}, YUAN Jie-yan¹, WANG Yu-hua¹, ZHANG Lei¹,ZHANG Ai¹, YU Wen², LI Fang²

(1 Department of Gynecology, People's Hospital of Pudong New Area, Shanghai, 201200, China;

2 Gynecology, First Maternal and Child Health Hospital, Tongji University, Shanghai, 200126, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression of cervical P16/Ki67 in patients with cervical human papillomavirus 16 (HPV16) persistent infection and its correlation with the incidence of cervical cancer. **Methods:** P16/Ki-67 dual immunostaining was performed to detect the expression of P16/Ki67 in 102 cases of patients with cervical HPV16 persistent infection, 136 patients with cervical HPV16 non-persistent infection, all the patients were divided into dual stain positive group and dual stain negative group according to the immunohistochemical results. All the patients were followed up for 2 years, the difference in the outcome and early-stage cervical cancer and incidence of cervical cancer were compared between the two groups. **Results:** The positive rate of P16, Ki67 and P16/Ki67 dual stain were 40.3%, 44.5% and 34.0% respectively. The positive rate of P16, Ki67 and P16/Ki67 dual stain in HPV16 persistent infection patients was significantly higher than that in non-persistent infection patients ($P < 0.05$). P16, Ki67 were significantly and positively correlated in persistent infection patients ($P < 0.05$). The outcome in dual stain negative group was superior to that in dual stain positive group ($P < 0.05$). In HPV16 persistent infection patients, the outcome in dual stain positive group was inferior to that in dual stain negative group, and inferior to that in dual stain negative and positive group of persistent infection patients, the proportion of advance patients increased significantly ($P < 0.05$). In HPV16 persistent infection patients, the progression towards cervical HSIL in dual stain positive group was 32.5%, which was significantly higher than that in dual stain negative group that was 6.5% ($P < 0.05$). **Conclusions:** P16 and Ki67 dual-stain positive were correlated with the progression of cervical intraepithelial neoplasia in the stage of HPV16 persistent infection. It has an early warning value for the progression of HPV16 persistent infection to cervical high-grade lesions. It can be used as a sensitive indicator of HPV16 positive early treatment.

Key words: HPV16; Cervical cancer; Persistent infection; P16; Ki67; Outcome

Chinese Library Classification (CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)21-4103-04

* 基金项目: 上海市浦东新区人民医院科技项目 (PRKT2014-08); 上海市浦东新区卫生系统重点专科项目 (PWZz2013-14)

作者简介: 孙丽艳 (1982-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 妇科感染, E-mail: janel204@126.com

Δ 通讯作者: 杨宾烈 (1961-), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 妇科肿瘤, E-mail: fckybl@sina.com

(收稿日期: 2018-02-25 接受日期: 2018-03-21)

前言

目前研究显示高危型 HPV(Hr-HPV)持续感染是宫颈癌以及癌前病变的关键病因,其发病过程是 Hr-HPV 持续感染 - 宫颈上皮内瘤变(CIN)- 宫颈癌^[1,2]。现研究发现的高危亚型 HPV 共有 15 种,按递减顺序排列分别为:16、18、45、31、33、52、58、35、59、56、39、51、73、68 和 66。HPV16 是导致宫颈恶性病变的 Hr-HPV 中最常见、致病力最强的一种病毒。上海市近 10 万人的大样本调查 HPV 流行亚型结果显示第一位为 HPV16,继而为 58、33、52、31^[3,4]。因此,针对 HPV16 型感染的研究尤为重要。

以往通常采用液基薄层细胞(TCT)+HPV 检测 + 阴道镜活检的 "三阶梯" 方案对宫颈癌和 CIN 筛查,但该方案是以细胞癌变后的形态变化为指标,筛选异常结果往往已达到癌变的中晚期^[5-7]。因此,建立更早期的筛查指标对 HPV 持续感染阶段有癌变标志的患者进行进一步检验对于早期发现、并实施微创治疗及改善预后具有重要意义。近年来,越来越多的研究显示 P16、Ki67 基因的表达式在 HPV 感染阶段即存在异常表达,且与宫颈癌的发生密切相关^[8,9]。本研究采用 P16/Ki67 免疫组化法 - 双染法检测 Hr-HPV16 持续性感染患者 P16、Ki67 蛋白的表达式,探索 P16 和 Ki67 在持续感染阶段对宫颈病变的筛查效果及疾病预后的预测作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2014 年 01 月至 2015 年 12 月在浦东新区人民医院宫颈门诊就诊的 HPV16 感染患者 238 例,所有患者均行 TCT 检查及高危 HPV DNA 检测,且为单一 HPV16 感染者,排除孕产妇、既往宫颈息肉、尖锐湿疣、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)等宫颈病变史者。随访 12 个月后复查,HPV16 仍呈阳性则视为 HPV16 持续感染,共 102 例;HPV16 转为阴性则视为 HPV16 非持续感染^[10],共 136 例。年龄 32~69 岁,平均(45.8±6.4)岁;病程 3 个月~8 年,平均(2.6±0.8)年。所有患者均为宫颈低级别鳞状上皮内病变(LSIL),包括 CIN I 144 例,湿疣 94 例。

1.2 标本采集及检测

1.2.1 Hr-HPV DNA 型检测 使用导流杂交芯片技术的采样工具包对所有纳入研究的患者从宫颈管采集标本,检测 HPV DNA 型并作出分析,主要包括目前已知的 13 种致癌型 HPV DNA(16,18,31,33,35,39,45,51,56,58,59 和 68),检测阳性的标准标本 HPV DNA≥ 1.0 ng/L。

1.2.2 P16/Ki67 检测及结果判读

1.2.2.1 免疫组化染色 选择 Hr HPV16 及 TCT 检测结果为阴性的剩余标本,采用 Thin-Prep 2000 处理仪重新制作切片,无水酒精(95%)固定 24 h 风干后用 10%中性甲醛固定、石蜡包埋、切片、染色。蒸馏水彻底冲洗 3~5 min,加入 5%乙二胺四乙酸,强力高火行抗原修复 10 min。冷却至室温后,利用 0.3% H₂O₂ 室温孵育 15 min,抑制内源性过氧化物酶的活性。磷酸盐缓冲液洗片 3~5 次。免疫组化采用 P16/Ki67 双染法,实验中所需鼠抗人单克隆抗体、DAB 显色剂、SP 试剂盒等均由福州迈新生物技术有限公司提供,操作者均严格按照试剂盒说明书。

1.2.2.2 P16、Ki67 阳性评判标准 P16 的着色部位位于细胞

核和(或)细胞质,Ki-67 着色部位位于细胞核,呈黄色或棕黄色者判定为阳性。判读结果包括两个部分,分别为染色强度和染色细胞数量。具体方法如下:(1)染色强度:随机选择十个视野,计数 1000 个阳性细胞数进行半定量分级计分,包括无着色(0 分)、淡黄色(1 分)、棕黄色(2 分)、棕黄色(3 分);(2)染色细胞数量(以染色的阳性细胞数百分比表示),分为≤ 5%(0 分)、6%~24%(1 分)、25%~50%(2 分)、>50%(3 分)。将染色强度与染色细胞数量的得分相乘后即得到阳性评分,其中 0、1 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~6 分为中度阳性(++),7~9 分为强阳性(+++)。按免疫组化结果将患者分为双染阳性组和双染阴性组,若 P16、Ki67 中任一个为阴性则纳入双染阴性组。

1.3 病例随访

1.3.1 随访内容及方法 所有患者仅接受生活方式干预并随访 2 年,每 6 个月随访一次,每次随访检测内容包括 Hr-HPV、TCT、阴道镜,必要时以及随访第 24 个月时进行阴道镜下宫颈活检和(或)宫颈刮搔刮术。随访期间,宫颈活检病理结果若提示:CINII~III 或宫颈癌,立即终止随访,CIN 采取手术切除治疗,而宫颈癌则进行相应检查和治疗。

1.3.2 随访转归分类 将随访结束时的转归结局三类,分别为消退、持续、进展。其中消退是指随访结束时阴道镜下病理检查未见 LSIL 及以上级别的病变,如 CIN II、CIN III、宫颈癌;持续是指随访结束时阴道镜下病理检查仍为 LSIL;进展是指阴道镜下宫颈活检和(或)宫颈管搔刮术的病理结果发现 HSIL 及以上级别的病变。

1.4 统计学处理

所用统计软件为 SPSS 20.0 版本。计数资料以例数或百分率表示,采用 χ^2 检验,P16 与 Ki67 表达的相关性采用 Spearman 秩相关分析,以 $P<0.05$ 时视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV16 持续感染和非持续感染患者的 P16/Ki67 阳性率比较

所有患者 P16、Ki67 及 P16/Ki67 双染的阳性率分别为 40.3%、44.5%及 34.0%,而 HPV16 持续感染患者 P16、Ki67 及 P16/Ki67 双染的阳性率均较非持续感染患者明显升高,二者比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 宫颈 HPV16 持续感染患者 P16 与 Ki67 蛋白表达的相关性

Spearman 秩相关分析结果显示:宫颈 HPV16 持续感染患者的 P16、Ki67 蛋白表达呈显著正相关性关系($r=0.625$, $P<0.05$),见表 2。

2.3 随访结果

随访 2 年,HPV16 持续感染患者中,双染阳性组的病情持续和进展比例明显高于双染阴性组,也明显高于 HPV16 非持续感染(双染阴性组、双染阳性组)患者,进展患者比例明显增多($P<0.05$)。HPV16 非持续感染患者中,双染阳性组、双染阴性组的病情持续和进展比例比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。HPV16 持续感染患者中,双染阳性组进展为 HSIL 及以上病变发生率 32.5%(13/40),双染阴性组进展为 HSIL 及以上病变为 6.5%(4/62),显著低于双染阳性组($P<0.05$)。

表 1 不同 HPV16 感染情况的 P16/Ki67 阳性率比较[例(%)]

Table 1 Comparison of the P16/Ki67 positive rate between different kinds of HPV16 infection[n(%)]

HPV16 infection	N	P16 positive rate	Ki67 positive rate	P16/Ki-67 dual stain positive rate
Non-persistent infection	136	38(27.9)	46(33.8)	29(21.3)
Persistent infection	102	58(56.9)	60(58.9)	40(39.2)
P		<0.05	<0.05	<0.05

表 2 宫颈 HPV16 持续感染患者的 P16、Ki67 蛋白表达的相关性(例)

Table 2 Correlation of P16, Ki67 protein expression in cervical HPV16 persistent infection patients(n)

P16 protein expression	Ki67 protein expression				r	P
	-	±	+	++		
-	8	12	4	0	0.625	<0.05
±	11	12	9	0		
+	4	0	24	4		
++	0	0	4	10		

表 3 P16/Ki67 双染阴性组和阳性组转归结局比较[例(%)]

Table 3 Comparison of the prognosis of patients with dually positive and negative P16/Ki67[n(%)]

HPV16 infection		N	Regression	Persistent	Progression
Non-persistent infection	Dual stain negative group	107	78(72.9)	29(27.1)	0(0)
	Dual stain positive group	29	23(79.3)	4(13.8)	2(6.9)
Persistent infection	Dual stain negative group	62	39(62.9)	19(30.6)	4(6.5)
	Dual stain positive group	40	2(5.0)	25(62.5)	13(32.5)

3 讨论

研究已证实,宫颈癌是迄今为止仅有的可通过医学干预降低发病率、死亡率下降的恶性肿瘤,而关键在于早期诊断和治疗癌前病变—CIN,防止其进展为宫颈癌的潜在危险^[1]。HPV16 是导致宫颈恶性病变的 Hr-HPV 中最常见、致病力最强的一种病毒,国际癌症研究中心曾提出 HPV16 感染是宫颈癌和 CIN 发生的必要因素,没有持续的 Hr-HPV 感染,就不会有宫颈癌的发生^[12-14]。研究显示虽然宫颈 HPV16 病毒感染率较高,但多数患者可在感染后 0.5~1 年内自行清除,仅 4% 的持续感染者最终发展为宫颈癌^[15,16]。因此,临床实践中不仅需要加强对 hr HPV 感染的监测,还应积极探寻宫颈病变的敏感预测指标,从而对 HPV16 持续感染患者实施分流管理,避免过度治疗。

P16 作为一种抑癌基因,细胞周期蛋白 D 依赖性激酶(CDK) 抑制剂是其主要的编码产物,在宫颈感染 hrHPV 后,HPV E7 蛋白可竞争性抑制视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)与细胞周期蛋白依赖性激酶 4(CDK4)的结合,使 pRb 功能失活,解除 pRb 对 P16 表达的抑制,导致细胞周期处于阻滞期,呈现细胞的恶性增殖状态^[17,18]。Ki67 是一种细胞增殖核抗原,参与细胞分裂与增殖,是目前应用最多的肿瘤增殖活性细胞标记物^[19,20]。国外相关研究显示 p16、Ki67 双染法检测蛋白表达对 HPV 阳性、TCT 阴性而漏诊患者人群的进一步诊断分流具有重要价值,有助于更早期发现其中具有潜在宫颈高度病变的患者^[21,22]。p16、Ki67 应用于宫颈病变辅助诊断已取得共识,但对 HPV16

持续感染阶段患者的病变是否具有预示作用尚缺乏足够证据。本研究结果发现,对于 LSIL 患者,P16、Ki67、P16/Ki67 双染的阳性率分别为 40.3%、44.5%及 34.0%,HPV16 持续感染患者的阳性率均显著高于非持续感染患者,说明 HPV16 感染的 LSIL 患者 P16、Ki67 均呈过度表达状态,且随着感染持续时间增加而增长。同时,LSIL 患者的 P16 与 Ki67 蛋白表达之间呈显著正相关,由此可见 P16、Ki67 的高表达存在一定协同机制,二者可能共同促进了宫颈病变的发生、进展。

根据美国国家综合癌症网络(NCCN)关于宫颈癌筛查的建议,LSIL 及以下病变不需要临床干预,仅随访观察即可;若进展为 CIN II 及以上病变,则应进行相应的干预治疗^[23]。但目前对 HPV16 持续感染的 LSIL 患者的转归并不明确,有研究^[24,25]显示此类患者 5 年内发生 CIN III 及宫颈癌的风险约为 5.0%,主张对其进行分流管理,纳入高风险管理,进行严密的随访并给予必要的治疗。但也有研究主张随访观察即可^[26]。本研究随访结果显示 HPV16 持续感染患者中,双染阳性组的转归结局明显不如双染阴性组,也明显差于 HPV16 非持续感染患者,且双染阳性组早期宫颈癌的发生率明显高于双染阴性组,说明 P16、Ki67 可作为 HPV16 持续感染的宫颈病变患者预后的预测指标,从而实现更早期、更微创进行干预,有利于更好地保留宫颈解剖和功能,降低宫颈高度病变及宫颈癌的发生率。但 HPV16 非持续感染患者中,双染阳性组、双染阴性组的转归结局无明显差异,考虑与 HPV16 的短期内自清作用有关。

综上所述,P16、Ki67 双染阳性在 HPV16 持续感染阶段与

宫颈上皮内病变疾病进展成正相关,对 HPV16 持续感染进展为宫颈高度病变有预警价值,可作为 HPV16 阳性早期治疗的敏感指标。有助于把筛查诊疗窗口前移,为宫颈癌的早发现、早诊早治提供了新的思路。

参考文献(References)

- [1] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials[J]. *Lancet*, 2014, 383(12): 524-532
- [2] Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening[J]. *Cancer Cytopathol*, 2014, 122(7): 914-920
- [3] 周爱枝,张蕾,杨宾烈,等.上海东南地区妇科门诊患者子宫颈高危型人乳头瘤病毒感染型别分布的流行病学调查[J].*上海医学*, 2015, 38(3): 245-250
Zhou Ai-zhi, Zhang Lei, Yang Bing-lie, et al. Distribution of cervical high-risk human papillomavirus infection in the outpatients women in southeast area of Shanghai-an epidemiologic survey [J]. *Shanghai Medical Journal*, 2015, 38(3): 245-250
- [4] Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(12): 1550-1557
- [5] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, 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]. *J Low Genit Tract Dis*, 2012, 16(10): 175-204
- [6] Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L, et al. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(9): 78-88
- [7] Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors[J]. *Obstet Gynecol*, 2013, 121(12): 829-846
- [8] Sari AF, Safaei A, Pourjabali M, et al. Evaluation of Ki67, P16 and CK17 markers in differentiating cervical intraepithelial neoplasia and benign lesions[J]. *Iran J Med Sci*, 2013, 38(1): 15-21
- [9] Huh WK, Ault KA, Chelmon D, et al. Einstein Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance[J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(11): 178-182
- [10] 宋妮娜,唐荣荣,刘佳佳,等.TLRs 在宫颈 HPV16 持续性感染及宫颈病变中的作用研究[J].*实用妇产科杂志*, 2012, 33(2): 132-134
Song Ni-na, Tang Rong-rong, Liu Jia-jia, et al. Effects of TLRs on Cervical HPV16 Persistent Infection and Cervical Lesions[J]. *Journal of Practical Obstetrics and Gynecology*, 2012, 33(2): 132-134
- [11] Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, 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
- [12] 李广太.HPV 检测在子宫颈癌筛查中的意义[J].*中华妇产科杂志*, 2015, 50(4): 241-244
Li Guang-tai. The meaning of detection of HPV in cervical cancer screening[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2015, 50(4): 241-244
- [13] Donà MG, Vaccaro A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: correlation with histology, human papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy [J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 126(18): 198-202
- [14] Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel M, et al. p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities [J]. *Cancer Cytopathol*, 2012, 120(26): 294-307
- [15] Uijterwaal MH, Witte BI, Van Kemenade FJ, et al. Triage of borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: cross-sectional and longitudinal outcome study [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(5): 1579-1586
- [16] Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results [J]. *Cancer Cytopathol*, 2015, 123(19): 373-381
- [17] Margot H, Uijterwaal N, Nicole J, et al. Triage of HPV-positive women with normal cytology by P16/Ki67 dual-stained cytology testing: Baseline and longitudinal data [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(12): 2361-2368
- [18] Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triage of HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(12): 2361-2368
- [19] Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a)/Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology[J]. *Cancer Cytopathol*, 2015, 123(25): 212-218
- [20] 钟萍萍,顾依群,孙笑非,等.p16 和 Ki-67 在低级别鳞状上皮内病变预测持续性高危型 HPV 感染中的应用价值[J].*诊断病理学杂志*, 2017, 24(1): 45-48
Zhong Ping-ping, Gu Yi-qiu, Sun Xiao-fei, et al. Value of p16 and Ki-67 protein in prediction of persistent infection of high risk human papillomavirus with low-grade squamous intraepithelial neoplasia[J]. *Chinese Journal of Diagnostic Pathology*, 2017, 24(1): 45-48
- [21] Donà MG, Amina V, Massimo G, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy [J]. *Gynecologic Oncology*, 2012, 126: 198-202
- [22] Tjalma WA. Diagnostic performance of dual-staining cytology for cervical cancer screening: A systematic literature review[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 210(12): 275-280
- [23] 谢幸,苟文丽,主编.妇产科学[M].8 版.北京:人民卫生出版社, 2014: 303
Xie Xing, Gou Wen-li, Chief editor. *Obstetrics and gynecology*[M]. 8 edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014: 303
- [24] Katki HA, Schiffman M, Castle PE, et al. Benchmarking CIN 3+ risk as the basis for incorporating HPV and Papcotesting into cervical screening and management guidelines [J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2013, 17(5 Suppl 1): S28-S35
- [25] Piri R, Ghaffari A, Azami-Aghdash S, et al. Ki67 /MIB- 1 as a Prognostic Marker in Cervical Cancer-a Systematic Review with Meta-Analysis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(16): 6997-7002
- [26] Kisser A, Zechmeister-Koss I. A systematic review of p16/Ki67 immunotesting for triage of low grade cervical cytology[J]. *BJOG*, 2015, 122(1): 64-70