

• 临床研究 •

PAX1 基因甲基化用于子宫颈癌临床应用价值探讨

福建医科大学附属福州市第一医院妇产科 (福州 350009) 黄勉 林珺 沈张 金琼 陶红¹
吴三山 刘禹利²

【摘要】 目的 探讨 PAX1 基因甲基化、液基薄层细胞学、高危型人乳头瘤病毒 (hrHPV), 与 HPV16 或 HPV18 型阳性在女性患者宫颈脱落细胞中筛查宫颈鳞状上皮内病变的临床应用价值。**方法** 选取 2016 年 1 月至 2019 年 8 月就诊于本院的女性患者 465 例, 收集宫颈脱落细胞并行 PAX1 基因甲基化、液基薄层细胞学、高危型 HPV 检测 (hrHPV)、(HPV16/18) 检测, 以阳性患者进行阴道镜下活检病理诊断为金标准, 比较宫颈脱落细胞中不同检测方法学。**结果** PAX1 基因甲基化灵敏度、特异度分别为 81.3% (95%CI: 70.3%, 89.1%) 和 96.6% (95%CI: 92.5%, 98.6%), 四种检测比较中, PAX1 具有最高特异度 96.63%, 细胞学与 hrHPV 检测特异度在 17%~70%。细胞学 (ASCUS+) 的灵敏度为 94.7% (95%CI: 86.2%, 98.3%) 显著高于 PAX1 基因甲基化检测 ($P=0.013$), 但 ASCUS+ 的特异度为 18.0% (95%CI: 12.8%, 24.6%) 显著低于 PAX1 基因甲基化检测 ($P<0.001$)。以 PAX1、HPV16/18 与 hrHPV 作为 ASCUS 分流时, PAX1 具最高特异性 (100% at cut off CIN2 与 98.9% at cut off CIN3), 其次为 HPV16/18。**结论** 本院结合细胞学与 PAX1 基因甲基化检测, 可以降低 HPV 感染需长期随访人群的恐慌, 此结果尤其对于育龄妇女或欲保留生育人群, 可提供一种有效的检测与随访方法。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 宫颈上皮内瘤样病变; PAX1 基因甲基化; 临床筛查; 宫颈癌; 高危型 HPV; ASCUS

【中图分类号】 R737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2020)03-0003-06

Clinical application value of methylated PAX1 gene in cervical cancer HUANG Mian, LIN Jun, SHEN Zhang, JIN Qiong, TAO Hong, WU SanShan, LIU Yuli. Department of Gynecology, the First Hospital of Fuzhou, Fuzhou, Fujian 350009, China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical application values of methylation of PAX1 gene, liquid-based cytology, high-risk human papilloma virus (hrHPV), and HPV16/18 genotyping tests for cervical intraepithelial lesions screening using exfoliated cells. **Methods** A total of 465 women were enrolled in the First Hospital of Fuzhou from January 2016 to August 2019. The cervical exfoliated cells were collected for PAX1 gene methylation, liquid-based cytology, high-risk HPV, and HPV16/18 genotyping tests in the study. Compared the different tests with colposcopy biopsy pathological diagnosis was showed in this paper. **Results** The sensitivity and specificity of methylated PAX1 gene were 81.3% (95%CI: 70.3%, 89.1%) and 96.6% (95%CI: 92.5%, 98.6%). The methylated PAX1 gene had the highest specificity of 96.63% in the four compared tests. The specificity of liquid-based cytology and hrHPV detection were ranged from 17% to 70%. The sensitivity of cytology (ASCUS+) (94.7%, 95%CI: 86.2%, 98.3%) was significantly higher than the methylated PAX1 gene test ($P=0.013$), but the specificity of cytology (ASCUS+) (18.0%, 95%CI: 12.8%, 24.6%) was significantly lower than the methylated PAX1 gene test ($P<0.001$). When methylated PAX1 gene, HPV16/18 and hrHPV tests were used as triage tools for ASC, the methylated PAX1 gene test had the highest specificity (100% at cut off CIN2 and 98.9% at cut off CIN3), followed by HPV16/18. **Conclusion** Combining cytology and PAX1 gene methylation detection in our hospital can reduce the panic of people with long-term follow-up of high risk HPV infection. This result provides a hospital evidence and follow-up methodology to reduce panic women especially for women want to keep fertility.

【Key words】 human papilloma virus; cervical intraepithelial neoplasia; PAX1 methylated gene; cervical cancer; high-risk HPV; ASCUS

子宫颈癌是威胁女性生殖健康常见的恶性肿瘤 之一, 在 2018 年全球估计有 570 000 新发病例, 死

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2017J01340); 福建省级临床重点专科 (妇科); 福州市妇产医学中心建设项目 (2018080301)

1 湖南宏雅基因技术有限公司; 2 通信作者, Email: 1265676573@qq.com; 中南大学湘雅医学检验所

亡人数 311 000, 是女性第四大最常见癌症, 但是在发展中国家和地区, 子宫颈癌仍在女性恶性肿瘤的发病率和死亡率居于第二位^[1]。欧美主要国家实施的子宫颈癌初筛、阴道镜检查与组织病理学检查的三阶梯宫颈癌筛查方法, 降低了子宫颈癌死亡率, 近十多年来的 HPV 预防性疫苗的应用亦大幅降低了宫颈癌的死亡率和发病率^[2-3]。

基于国内宫颈癌诊疗已达到初步成效, 但仍然是威胁国内妇女生命的重要癌症, 在 2015 年仍有 98 900 名子宫颈癌新发病例并造成 30 500 死亡人数, 依据国家癌症中心公布数据显示宫颈癌具趋于年轻化发病趋势^[4]。目前我国子宫颈初筛方案为细胞学 (cytology) 与高危型人乳头瘤病毒 (hrHPV) 单独或联合检测。

宫颈脱落细胞学检查仍然是国际上最普遍使用的宫颈癌筛查方法学^[5-6], 细胞学主要以巴氏涂片 (the bethesda system, TBS) 为主, 近年来液基薄层细胞学检查 (TCT) 发展, 增加了细胞学的准确性但却增加了意义未明的非典型鳞状上皮细胞 (ASCUS) 检出率, 在国内虽然大部分医院皆使用 TCT 方法进行细胞学检测, 细胞学诊断主要根据细胞病理医师的个人经验, 但个人主观判断常造成不同细胞病理师针对同一标本的结果不一致, 其灵敏度仍为 50%~70%, 常有漏诊或是存在 ASCUS 较多的可能性, 存在子宫颈癌或高级别病变漏检风险, 许多医院为降低漏检风险, 在门诊疑诊时常进行阴道镜检与活检。

美国阴道镜与宫颈病理学会 (ASCCP) 对细胞学检查结果为鳞状上皮内低度病变 (LSIL)、鳞状上皮内高度病变 (HSIL) 或无法排除高度鳞状上皮细胞内病变的不典型细胞 (ASC-H) 应立即进行阴道镜检查。如果细胞学结果为 ASCUS 时, 可检测高危型人乳头瘤病毒 (hrHPV) 分流或是半年后再行细胞学检测, 高危型 HPV 阳性时进一步行阴道镜检查, 细胞学检查阴性结果时, 可以每三年再到医院进行宫颈癌细胞学检查^[7]。

超过 90% 的子宫颈癌患者检测出 HPV 病毒感染, 而大部分感染人群属于一过性感染而并不一定发展成癌症。高危型 HPV 中在国内最常见型别为 16、18、31、33、35、45、52、58 型, 且 HPV16 或 HPV18 (HPV16/18) 型阳性在子宫颈癌患者中占 71%, 结果显示这两型 HPV 持续感染与宫颈癌发生具有高度相关性^[8]。ASCCP 建议初筛为 HPV16/18 型别感染者直接行阴道镜检查, 而对高

危型非 HPV16/18 型别感染者进行细胞学分流, 如结果呈现 ASCUS 及以上等级病变时进行阴道镜检查^[9]。在国内已推行以高危型 HPV 检测作为子宫颈癌初筛, 却也造成了许多女性患者因 HPV 感染而造成高度恐慌, 四处重复求医间接造成重复检查与医疗资源浪费与负担。

流行病学显示, 大多数女性一生中可能存在 HPV 一次性感染, 仅有约 10% 左右女性患者持续感染数十年后才可能发展为宫颈癌, 表示还有其他癌化的机制或协同因子共同作用才会快速发展成为宫颈癌, 包含基因甲基化作用或宫颈癌遗传易感变异位点等, 皆可能对目前子宫颈癌筛查或分流作出最符合我国国情贡献, 许多国际临床研究显示, 子宫颈癌基因高度甲基化与宫颈高度癌前病变及子宫颈癌具有高度相关性, 尤其是 PAX1 配对盒家族基因 1 (paired boxed gene 1) 的高度甲基化率和子宫颈鳞癌具有密切相关^[10-11], 许多研究说明 PAX1 高度甲基化检测在多个联合筛查中扮演重要角色^[12-13]。

本院于 2016 年致力研究新生物标记物临床意义并发表相关研究, 由 103 例患者中验证 PAX1 基因甲基化检测 (PAX1m) 的灵敏度、特异度与准确度分别为 78.6%、97.8% 和 95.1%。本院结果显示 PAX1 基因甲基化检测在 ASCUS 与高危型 HPV 分流时具有最佳临床应用结果。如果以 hrHPV 检测作为第一线筛查时, 以 PAX1m 检测作为分流时, 较 TCT 细胞学法分流减少 20.6% 阴道镜检率, 以 TCT、hrHPV、PAX1 基因甲基化比较医院机会性筛查的经济分析中得到以 PAX1 基因检测较其他两种方法学作为检测费用时, 挽救一个患者寿命成本为 11 942 元, 为最经济方法学^[14]。

本临床研究, 以先前研究为基础, 扩大病例数, 旨在探讨以不同方法学作为宫颈癌检测时, 验证福建闽南人群 PAX1 基因甲基化在临床作为宫颈癌初筛或是分流时与宫颈病变的相关性, 并探讨与其他临床研究的差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 本院妇科选取 2016 年 1 月至 2019 年 8 月共 465 例自愿接受子宫颈癌检查的女性患者, 入选标准为 20 岁以上、有性行为史且非妊娠妇女, 以 TCT 为院内宫颈病变筛查基础, 经与医师讨论并同意需要增加 PAX1 基因甲基化检测 (PAX1m) 或是 HPV 分型检测患者, 排除标准为其他肿瘤病史与治疗史及子宫切除史的妇女, 收集患者的基本信息建立病历档案与随访数据。TCT

阳性结果或是医师在妇检中有可疑病变者进行阴道镜检查, 医师在阴道镜检查时发现组织异常处进行活检, 并行组织病理检查, 此临床研究不影响医师临床诊疗行为, 最终病理检查结果包含活检、锥切或手术为诊断的金标准。

1.2 方法

1.2.1 TCT 细胞学检查: 采用新柏氏 (ThinPrep) 细胞采集瓶收集宫颈脱落细胞, 细胞学结果采用 TBS 分级系统作为结果判断标准, 有疑义细胞学结果须经第二位病理医师进行判读, 异常结果包括: 未见上皮内病变恶性细胞 (NILM)、ASCUS、ASC-H、LSIL、HSIL, SCC 等, 结果为 ASCUS 及以上者判定为细胞学阳性作为后续分析。

1.2.2 HPV 基因分型检测: 宫颈脱落细胞经由 DNA 提取后, 采用亚能生物人乳头瘤病毒基因分型检测试剂盒 (PCR-反向点杂交法) 依据产品说明书说明基于杂交技术对样本进行 HPV 分型检测, 具高危型 HPV 感染标本判定为阳性, HPV16 或 18 型别单独分类为 HPV16/18。

1.2.3 PAX1 基因甲基化检测: 本院采集的宫颈脱落细胞依照在中南大学湘雅医学检验所采集说明进行采集后以冷链运输至湘雅医学检验所进行检测。进行 DNA 提取与亚硫酸氢盐处理化学修饰后, 按照派仕安 (PAX1) 基因甲基化检测试剂盒 (湖南宏雅基因) 产品说明书操作。反应条件: 预变性 95 °C/10 min; 50 个 PCR 循环 95 °C/10 sec 与 60 °C/40 sec。反应结束后由罗氏公司 LightCycler 480 仪器显示 PAX1 基因与内参基因的 Cp 值, 计算 ΔCp (样本 PAX1 Cp 值 - 内参 Cp 值), $\Delta Cp \leq 9$ 判定为高风险作为后续统计分析使用。

1.3 统计学方法: 采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计学分析, 数量小部分以费希尔精确检验 (Fisher's exact test) 进行统计分析, 以卡方检验 (Chi-squared) 对数据进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料分析: 465 例门诊患者参与本临床研究, 基本资料见表 1。年龄 21~82 岁, 平均年龄 45.18 岁, 20~50 岁占 269 例 (57.85%), 50 岁以上占 32.47%。活检病理 257 例, 较细胞学 ASCUS 以上 (221 例) 多出 36 例 (15% 细胞学正常人群; 含自愿者或 5 年以上未进行宫颈癌筛查者及门诊疑义者, 包含出血或炎症等), CIN3 以上活检病理为 79 例 (包含宫颈癌与内膜癌) 占活检病理例数

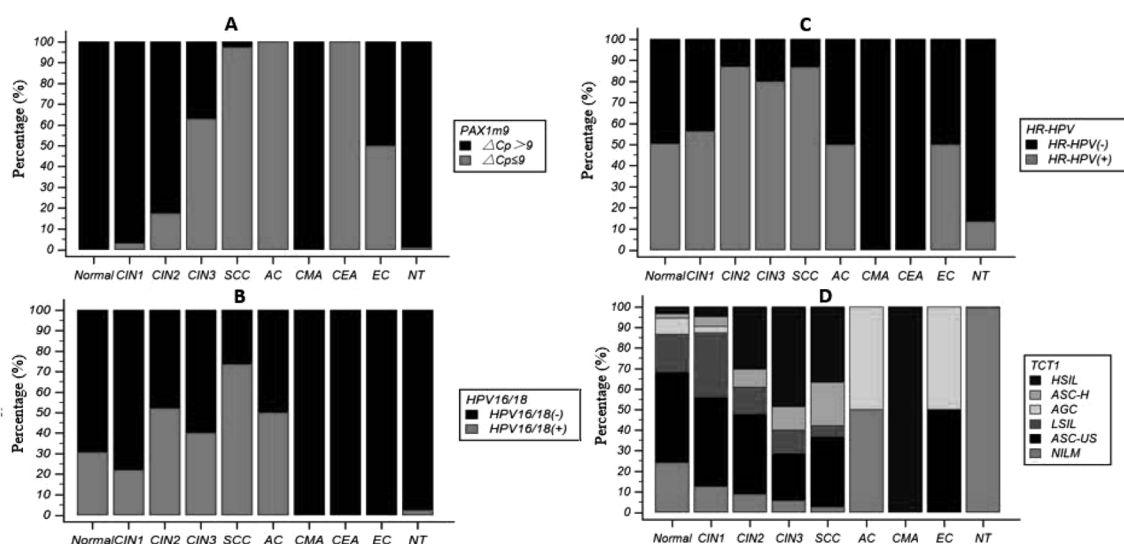
30.74%, 正常/炎症活检结果为 91 例 (19.57%)。

液基薄层细胞学 HSIL 以上有 46 例, 但 ASC (ASCUS/AGC 与 ASC-H) 占 27.75%。分子检测阳性率由高到低: hrHPV 为 41.51%, HPV16/18 为 20.86%, PAX1m 为 14.41%。不同宫颈癌检测与活检病理关联性百分比如图 1 所示。

表 1 基本资料分析

指标	例数	百分比/%
年龄		
<30 岁	45	9.68
30~50 岁	269	57.85
≥50 岁	151	32.47
活检病理结果		
内膜 (样腺) 癌	3	0.65
混合型腺癌	1	0.22
SCC/AC	40	8.60
CIN3	35	7.53
CIN2	23	4.95
CIN1	64	13.76
正常或炎症	91	19.57
未进行病理诊断	208	44.73
LBC (液基薄层细胞学结果)		
SCC or HSIL	46	9.89
LSIL	46	9.89
ASC-H	19	4.09
ASCUS or AGC	110	23.66
正常或炎症	243	52.26
无结果数据	1	0.22
高危型 HPV (hrHPV)		
阳性	193	41.51
16 或 18 型人乳头瘤病毒 (HPV16/18)	97	20.86
PAX1 基因甲基化 (PAX1m)	67	14.41

2.2 检测结果分析: 以病理学 CIN3+ 病变为分界点分析不同子宫颈癌检测方法学的灵敏度与特异度, 其结果见表 2。PAX1 基因甲基化灵敏度特异度分别为 81.3% (95%CI: 70.3%, 89.1%) 和 96.6% (95%CI: 92.5%, 98.6%), 四种检测比较中 PAX1m 具有最高特异度 96.63%, TCT 与 hrHPV 检测特异度为 17%~70%。细胞学 (ASCUS+) 的灵敏度为 94.7% (95%CI: 86.2%, 98.3%), 显著高于 PAX1 基因甲基化检测 ($P=0.013$); 但细胞学 (ASCUS+) 的特异度 18.0% (95%CI: 12.8%, 24.6%) 显著低于 PAX1 基因甲基化检测 ($P<0.001$)。高危型 HPV 检测的灵敏度为 82.7% (95%CI: 71.8%, 90.1%) 与 PAX1 基因甲基化检测相当 ($P=1.000$)。



注：A PAX1 基因高甲基化■与低甲基化■；B HPV16/18+■与 HPV16/18-■；C 高危型 HPV+■与高危型 HPV-■；D 不同级别细胞学结果

图 1 不同检测方法阳性率占组织病理百分比

表 2 不同检测方法学灵敏度、特异度与准确度分析 (%)

检测指标	灵敏度	特异度
细胞学 (ASCUS)	94.67	17.98
高危型 HPV (hrHPV)	82.67	42.70
16 或 18 型人乳头瘤病毒 (HPV16/18)	57.33	69.66
PAX1 基因甲基化 (PAX1m)	81.33	96.63

hrHPV 检测联合 TCT (ASCUS+) 的灵敏度和特异度分别为 96.0% (95% CI: 88.0%, 99.0%) 与 3.4% (95% CI: 1.4%, 7.5%)。hHPV 检测联合 PAX1m 的灵敏度与特异度分别为 93.3% (95% CI: 84.5%, 97.5%) 和 42.1% (95% CI: 34.9%, 49.8%)。TCT 联合 PAX1m 的灵敏度、特异度分别为 97.3% (95% CI: 89.8%,

99.5%) 和 17.4% (95% CI: 12.3%, 24.0%)。三种联合筛查的灵敏度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，hrHPV 检测、TCT 分别联合 PAX1m 的特异度显著高于 hrHPV 检测联合 TCT ($P < 0.001$)。

以细胞学为初筛时共有 128 例 (27.53%) 结果呈现非典型鳞状细胞 (atypical squamous cell, ASC)，包含 99 例 ASCUS、10 例 AGC 与 19 例 ASC-H，扣除 1 例 ASCUS 内膜癌患者后共 127 例进行分析结果见表 3。在 ASCUS 与 AGC 族群中共有 21 例 (19.44%) 病理结果呈现 CIN3+，ASC-H 中有 12 例 (63.16%) 活检呈现。以 PAX1m，HPV16/18 与 hrHPV 作为 ASC 分流时，PAX1m 具最高特异性 (100% at cut off CIN2 与 98.9% at cut off CIN3)，其次为 HPV16/18。见表 4。

表 3 细胞学为非典型鳞状细胞分类与活检病理分析

			Biopsy 细胞学						合计
			Normal	CIN1	CIN2	CIN3	SCC	AC	
TCT	ASC-US	计数	40	28	9	8	13	0	98
		百分率/%	81.6	84.8	81.8	66.7	61.9	0.0	77.2%
	AGC	计数	7	2	0	0	0	1	10
		百分率/%	14.3	6.1	0.0	0.0	0.0	100.0	7.9%
	ASC-H	计数	2	3	2	4	8	0	19
		百分率/%	4.1	9.1	18.2	33.3	38.1	0.0	15.0%
合计	49	33	11	12	21	1	127		

表 4 细胞学 ASCUS 中不同检测方法学灵敏度、特异度与准确度分析

检验方法	切点	敏感度	特异度	Kappa 值
PAX1m	CIN2	62.2%	100.0%	0.680
	CIN3	79.4%	98.9%	0.830
HR-HPV	CIN2	88.9%	63.4%	0.465
	CIN3	91.2%	58.1%	0.369
HPV16/18	CIN2	55.6%	85.4%	0.426
	CIN3	58.8%	81.7%	0.394

3 讨论

DNA 甲基化修饰是真核生物生长发育中重要过程,亦是目前研究发现在肿瘤发生学中的关键因素。通过宫颈癌特定 DNA 高度甲基化检测结果可知子宫宫颈癌发生的高风险,并作为子宫颈癌筛查、分流与随访检测工具^[15-16]。

2010 年, Lai 等人在 Cancer 杂志报道,应用特异性甲基化实时聚合酶链 (QMSP) 方法发现 PAX1m 在区分宫颈 CIN3 以上与 CIN2 以下病变具有显著意义,其 PAX1 基因甲基化检测灵敏度为 78%,特异度为 91%,从 PAX1 基因高度甲基化在不同宫颈癌前病变与癌症病理程度分析中显示, PAX1 基因在病理结果 CIN 3 与癌症组中呈现高度甲基化趋势,提示 PAX1 基因高度甲基化检测可作为宫颈癌检测方法学。本临床研究结果显示 PAX1 基因甲基化的灵敏度为 81.33%、特异度为 96.63%,在 91 例细胞学结果为宫颈正常与慢性炎症中 PAX1 基因皆呈现低度甲基化结果,在宫颈鳞状细胞癌中 PAX1 基因高度甲基化为 97.37%。在本临床研究中亦观察到 PAX1 基因高度甲基化程度与病理进展关联呈现正相关性结果,其结果显示与其他研究结果趋势相似^[17-18]。

由本研究观察到 2 例子宫颈腺癌均表现为 PAX1m 阳性,显示 PAX1 甲基化与子宫颈鳞癌或腺癌都具有高度关联性。而且 PAX1m 阳性在 CIN3 中占 62.86%,其余的 37.14% CIN3 是否会快速进展到癌症或较长时间停留在 CIN3,可能需要通过需保留生育功能患者的随访,才能比较其与 PAX1m 阳性之差异性,本次研究中 3 例子宫内膜癌患者 (1 例内膜腺鳞癌与 2 例内膜样腺癌) 有 75% PAX1m 阳性结果,此 PAX1 高度甲基化与内膜癌关联性为世界上第一次提出的结果,未来是否可成为宫颈细胞预测子宫内膜癌需要更多实验验证。

HPV 持续感染是子宫颈癌发展的重要关联因素,但单纯依照 HPV 病毒检测结果常会造成感染者长期患癌恐慌, HPV 常为一次性感染,在病毒感

染一年内大部分会被清除,在 HPV 持续感染过程中患者可能发生异常 miRNA 与特定 DNA 高度甲基化的结果,有些抑癌基因启动子被高度甲基化后造成表达沉默现象。本研究中发现高危型 HPV 灵敏度较其他文献低,可能与 HPV 试剂盒与其他文献使用试剂盒的差异性有关。

从 HPV 阳性者的心理状况调查发现, HPV 检查结果阳性者存在不同程度的心理与生理异常情况,常呈现紧张、疲惫、烦躁、失眠等症状,亦呈现消极的心理状态,说明 HPV 阳性结果对感染者心理产生负面影响^[19]。在本院进行 HPV 筛查数年来,高危型 HPV 阳性尤其是 HPV16 阳性患者常表现非常焦虑或短时间内多次反复检查等情况。本研究通过本院完整细胞学检测系统与基因甲基化检测结合,旨在判断是否可以提升高级别宫颈病变检测与治疗并降低患者恐慌情绪,而非处理 HPV 病毒感染。通过对新检测技术与目前医院使用的宫颈癌检测方法学进行统计分析比较,企图寻找更合适目前医院宫颈癌检测并降低因 HPV 阳性造成的医疗资源浪费,同时提高宫颈癌检测准确率。

ASC 是细胞学检查最常见的异常诊断结果,其比例远高于其他细胞学 (LSIL、HSIL、及 SCC) 分类结果。Chao 等在 ASCUS 族群中比较以 PAX1 基因甲基化检测与高危型 HPV (HC2) 的敏感度及特异度发现 PAX1 基因较高危型 HPV 具有更准确判定 CIN3 以上结果,亦减少 CIN2 以下阳性率^[20]。本临床研究证明 PAX1 基因甲基化检测可作为 ASCUS 分流的新生物标记物,确实比目前指南所建议的高危型 HPV 或是 HPV16/18 型检测方法体现出更精准的结果。

Liou 等研究提出 PAX1/ZNF582 基因甲基化结合临床诊断意义与 HPV16/18 的临床公式,可以减少子宫颈癌漏诊率^[21]。在本研究中 PAX1m 在 91 例病理正常人中阳性百分率为 0, CIN1 人群中为 3%,与 Liou 研究不同之处是加上检测费用作为临床差异性,本研究发现比较其他文献,其 PAX1m 检测的特异度与灵敏度更高,显示价格因素可使患者与医师更谨慎使用不同检测工具,达到临床更精准结果。

本研究延续之前经扩大研究 465 例患者后进行分析,结果显示在本院结合细胞学与 PAX1 基因甲基化检测,可以降低因感染 HPV 而反复复查宫颈防癌涂片及 HPV 筛查的检查人群数,此结果尤其对于育龄妇女或欲保留生育人群,可提供一种有效

的医院检测与随访方法。

参考文献

- [1] Freddie B, Jacques F, Isabelle S, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68 (2): 394-424.
- [2] 宋学红. 宫颈癌前病变: 三阶梯诊疗程序筛查诊治宫颈癌前病变 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2007, 23 (7): 499-501.
- [3] Jennifer S, Noel T B, Debbie S, et al. Recommendations for a national agenda to substantially reduce cervical cancer [J]. *Cancer Causes & Control*, 2013, 24 (8): 1583-1593.
- [4] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, et al. Cancer statistics in China [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2015, 66 (2): 115-132.
- [5] Joy M, James N, Andrew R W, et al. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis [J]. *Obstet Gynecol*, 1998, 92 (4): 727-735.
- [6] Arbyn M, Roelens J, Cuschieri K, et al. The APTIMA HPV assay versus the Hybrid Capture 2 test in triage of women with ASC-US or LSIL cervical cytology: a meta-analysis of the diagnostic accuracy [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132 (1): 101-108.
- [7] Hedman E, Thompson P, Hansen K. Compliance With Asccp Guidelines for Evaluation and Management of Abnormal Pap Smears [28e] [J]. *Obstetrics & Gynecology*, 2017, 129 (5): 59S.
- [8] De Sanjose S, Quint W G, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. *Lancet Oncology*, 2010, 11 (11): 1048-1056.
- [9] Saslow D, Solomon D, Lawson H W, et al. ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guideline Committee. 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]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62: 147-172.
- [10] Farkas S A, Nina M G, Grace M, et al. Genome-wide DNA methylation assay reveals novel candidate biomarker genes in cervical cancer [J]. *Epigenetics*, 2014, 8: 1213-1225.
- [11] Lai H C, Lin Y W, Huang T H, et al. Identification of novel DNA methylation markers in cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123 (1): 161-167.
- [12] Kong L Y, Du W, Wang L, et al. PAX1 methylation hallmarks promising accuracy for cervical cancer screening in Asians: results from a meta-analysis [J]. *Clin Lab*, 2015, 61 (10): 1471.
- [13] Liou Y L, Zhang T L, Yan T, et al. Combined clinical and genetic testing algorithm for cervical cancer diagnosis [J]. *Clinical Epigenetics*, 2018, 8 (1): 66.
- [14] 黄勉, 林珺, 沈张, 等. PAX1 基因启动子甲基化用于子宫颈癌临床应用价值探讨 [J]. *中南药学*, 2019, 17 (4): 142-147.
- [15] Wu N Y Y, Zhang X, Chu T, et al. High methylation of ZNF582 in cervical adenocarcinoma affects radiosensitivity and prognosis [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7 (14): 328.
- [16] Tian Y, Wu N Y Y, Liou Y L, et al. Utility of gene methylation analysis, cytological examination, and HPV-16/18 genotyping in triage of high-risk human papilloma virus-positive women [J]. 2017, 8 (37): 62274-62285.
- [17] Lai H C, Lin Y W, Huang R L, et al. Quantitative DNA methylation analysis detects cervical intraepithelial neoplasms type 3 and worse [J]. *Cancer*, 2010, 116: 4266-4274.
- [18] Fang C, Wang S Y, Liou Y L, et al. The promising role of PAX1 (aliases: HUP48, OFC2) gene methylation in cancer screening [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7 (3): e506.
- [19] 王燕, 潘一红, 章月桃, 等. 高危 HPV 感染者心理状况及个性化护理干预效果分析 [J]. *中国现代医生*, 2019, 57 (15):
- [20] Chao T K, Ke F Y, Liao Y P, et al. Triage of cervical cytological diagnoses of atypical squamous cells by DNA methylation of paired boxed gene 1 (PAX1) [J]. *Diagn Cytopathol*, 2013, 41 (1): 41-46.
- [21] Liou Y L, Zhang T L, Tian Y, et al. Combined clinical and genetic testing algorithm for cervical cancer diagnosis [J]. *Clin Epigenetics*, 2016, 8 (1): 66.