

HPV 分子生物学检测方法研究进展

靳大川 梁彦玲 左雨点 路德荣 周 涛 郭宝强

〔作者简介〕 靳大川,主任医师。山东大学内科学消化系病专业医学博士(1998 年毕业),英国贝尔法斯特女王大学(The Queen's University of Belfast)分子医学专业 Ph. D. (2006 年毕业),美国德克萨斯大学博士后(2006 ~ 2013 年)。全国肝胆病咨询专家、河南省预防医学会流行病学循证预防医学专业委员会第一届委员会委员。作为河南省循证医学领域和国际医疗实践行业的先行者,曾获得《河南日报》、《河南工人报》、《医药卫生报》等多家报刊媒体报道,3 次接受大河健康网(河南省健康门户网站)视频专访。2011 年留美期间高分通过全部三步美国医师资格考试(USMLE STEP1、STEP2 CK、STEP2 CS、STEP3),获得 ECFMG 证书,并在美国 Methodist hospital 等多家知名医院临床轮转学习多年。现为河南省传染病医院(即郑州市第六人民医院)国际医疗部主任。《医学研究杂志》、《实用肿瘤学杂志》审稿专家,《现代生物医学进展》英文编辑。已在国内外学术期刊发表论文 40 余篇,包括《Cancer Research》、《Oncogene》等国际知名期刊。目前主要研究方向是人乳头状瘤病毒与恶性肿瘤的关系。

中图分类号 R73 文献标识码 A DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.001

人乳头状瘤病毒(human papillomaviruses, HPV)属乳多空病毒科的双链环状 DNA 病毒,其基因组有大约 8000 个碱基对^[1]。按照 DNA 序列差异分为 5 个属,即 α 、 β 、 γ 、 μ 、 ν ,每个属包括若干亚型。目前发现了 200 多种亚型,其中 α 属 65 种^[2]。对人类致病的 HPV 主要就是 α 属。作为世界上最常见的性传播病毒之一,HPV 不仅是女性宫颈癌的元凶,也与肛管癌、阴茎癌、口咽部癌症等有关^[3,4]。国际癌症研究机构(IARC)将 α 属 HPV 亚型按致癌潜力分为高危亚型(high-risk HPV, HR-HPV)和低危亚型(low-risk HPV, LR-HPV)^[5]。确认的 HR-HPV 有 12 种,即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 亚型;另有 13 种可能致癌亚型,即 26、30、34、53、66、67、68、69、70、73、82、85、97 亚型^[5]。市场上检测 HPV 的试剂盒,绝大部分是针对 α 属的 HPV 亚型^[2]。其中,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了 5 种用于原发性宫颈癌筛查的 HPV 检测技术,即第 2 代杂交捕获法(hybrid capture 2, HC2)、cervista HPV HR、cervista HPV 16/18、Cobas HPV 检测、APTIMA HPV 检测^[1]。本文对

常用的 HPV 分子生物学检测方法综述如下。

一、经典核酸杂交检测方法

这类技术都属于固相杂交技术,包括经典的 Southern 印迹、原位杂交、斑点印记杂交等,主要是采用放射性标记的同源性核酸探针,来检测标本中的 HPV 感染。

1. Southern 印迹杂交:方法特异性强,可以结合限制性片段多态性检测(restricted fragment length polymorphisms, RFLP)对 HPV 进行分型,但是敏感度差,操作步骤过于繁琐,不适用于大规模标本检测的情况。对所用 DNA 的产量(至少 10 μ g)和质量要求都比较高,必须是新鲜或冷冻的临床标本。因此对于石蜡固定的标本不太适用,因为这类标本的 DNA 分子往往已经发生了降解。

2. 斑点印记杂交:操作比 Southern 印迹简单,而且可以同时处理多个标本。其敏感度与 Southern 印迹结合 RFLP 相似,对标本的质量要求与 Southern 印迹相似,需要用新鲜或冷冻的标本,特异性也比较强。敏感度强于 Southern 印迹,需要 DNA 的量较少(0.5 μ g),但是操作过程中有一定的放射性,因此也不太适合临床广泛开展。

3. 原位杂交:其优点在于可以用于固定处理后的临床标本,并且可以进行细胞定位。这种方法的特异性和 Southern 印迹相似。缺点是检测的敏感度差,其敏感度低于斑点印记和 Southern 印迹法。另外,这种检测手段对操作者的经验要求较高,操作繁琐,而且操作过程中容易出现探针的交联,如果用于 HPV 的

基金项目:河南省新乡市科技发展计划项目(15SF30)

作者单位:450015 郑州,河南省传染病医院国际医疗部(靳大川、梁彦玲、左雨点);453000 新乡医学院第三附属医院消化内科(路德荣);250012 济南,山东大学齐鲁医院消化内科(周涛);M20 3LJ U. K., Manchester, Institute of Cancer Sciences, the University of Manchester(郭宝强)

通讯作者:靳大川,电子信箱:1452359342@qq.com

分型检测, 比较容易容易出现错误的结果。

总之, 以上检测由于操作较繁琐, 不太适用于处理大批量的临床标本, 且敏感度欠佳, 目前主要用于实验室研究, 而在临床上已经逐渐被其他方法所淘汰。

二、信号放大技术

1. 第2代杂交捕获法(HC2): 2003年获得FDA批准, 是第一种得到FDA批准的临床HPV检测方法。可用于新鲜宫颈细胞标本, 也可用于甲醛溶液固定、石蜡包埋的组织^[1]。该法检测18种HPV亚型, 包括13种HR HPV亚型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68)和5种LR HPV亚型(6、11、42、43、44)^[1]。

其基本原理是将标记好的与不同亚型HPV DNA互补的混合RNA探针和变性的单链靶HPV-DNA杂交, 再转移至锚定了可以与特定的HPV-DNA和RNA杂交物相结合的捕获抗体的微孔板上, 洗脱背景后, 通过抗体共轭结合碱性磷酸酶和化学发光底物, 得到阳性检测结果。

优点是标本处理简单、操作简便, 重复性好, 敏感度高(87%~96%), 最低可以检出0.2~1.0pg/ml的HPV DNA, 相当于1000~5000个拷贝的HPV DNA。可以判断高危/低危亚型, 也可以对病毒负荷进行半定量。缺点是费用较高; 并且不能区分具体的HPV亚型; 特异性相对较低(20%~85%)^[1, 2]。由于交叉反应的问题, 假阳性率约为10%~19%。另外没有内对照。在很多国家, HC2被广泛用于临床作为标准化的HPV检测方式。最近新一代的hybrid capture 3(HC3)自动化检测技术也已经出现, 仍是检测13种HR-HPV亚型, 但降低了非特异性的检测结果, 减少了假阳性的发生。

2. cervista HPV HR检测和cervista HPV 16/18检测试剂盒: 是FDA于2009年批准的临床HPV检测方法^[1]。基本原理也是采用的信号放大技术检测核酸序列, 具体是通过其专利的两个同步等温反应和信号放大反应检测特定的核酸序列, 同时检测人组蛋白2基因作为内对照, 从而更好地消除假阴性的结果。

cervista HPV HR试剂盒检测14种HR HPV(在HC2检测的13种亚型基础上增加了HPV66)。初始版本的cervista试剂盒有很多需要手工操作的步骤, 不适用于大批量标本的检测。2009年11月后出现了全自动操作版本, 敏感度和特异性与HC2检测相当。在CIN II和CIN III标本中, 敏感度分别高达

98%和100%^[15]。这种试剂盒设计的目的是用来快速区分高危和低危亚型HPV感染, 但不区分具体是哪一种或者哪几种亚型的感染。cervista HPV 16/18试剂盒采用的同样的检测技术, 但可以并只能区分HPV16/18亚型。这是FDA批准的第一种HPV基因分型检测方法, 相比cervista HPV HR试剂盒有更好的敏感度, 更低的假阳性率。通常作为一种随访检查手段和cervista HPV HR配合应用^[1]。

三、核酸扩增及衍生技术

1. 普通聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR): 一般认为, PCR技术有高敏感度、高特异性的特点, 简便快速, 临床应用广泛^[6]。如果选择针对HPV基因组保守序列的引物, 比如L1区序列, 可以同时扩增多种HPV。然后进一步采用RFLP、线性探针检测或者直接测序等手段进一步区分亚型。也可以开始就采用亚型特异性的引物进行PCR反应, 可以免去第二步分型的步骤。

PCR的缺点: 如果有多种亚型感染, 不同亚型的HPV DNA在扩增反应时, 会出现引物竞争, 这样含量较少的HPV亚型就可能竞争失败, 出现假阴性的检测结果。因为存在这个问题, PCR可能无法检测出标本中所有的被感染的HPV亚型。进一步测序需进行亚型分析, 操作较繁琐。如果直接用亚型特异性引物, 可省掉进一步分型的步骤, 但需要对目标亚型一一检测。PCR检测可以用于新鲜标本, 也可以用于石蜡包埋的标本, 但是甲醛溶液固定会导致DNA降解, 影响检测的准确性。

2. 巢式PCR: 是用第一轮PCR的产物为底物模板, 进行第二轮PCR。这种PCR比传统PCR的敏感度显著提高, 并且节省标本; 但是另一方面, 操作也比较繁琐, 需要更多的试剂, 也更昂贵。主要缺点是标本间容易出现交叉污染, 从而大大降低其临床应用的价值^[1]。

3. 聚合酶链反应-限制性酶切片段多态性(polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphisms, PCR-RFLP): 是将PCR扩增产物用限制性内切酶消化成为若干大小不一的片段, 然后电泳并对照参照物区分亚型。常用的内切酶包括Pst I、Hae III、Dde I和Rsa I, 可区分17种HR-HPV和11种LR-HPV^[7]。这种方法和基因芯片检测比较, 敏感度稍差, 可用作HPV初筛检测。但对HPV多重亚型感染的检出不理想, 检出率只有25%(20/80)。操作比测序容易, 也更经济, 不需要复杂的设备, 因此适

合资源欠缺地区对 HPV 进行分型检测。

4. 反向线性点杂交技术(reverse line-blot assay, RLB):这种技术是把寡核苷酸探针固定在固相尼龙膜上,PCR 产物加入液相,以检测有信号的产物。其优势在于可快速进行亚型分型检测。并在检测 HPV 阳性标本时,与 HC2 法有很高的一致性。缺点是比较耗时、操作繁琐^[8]。甲醛溶液固定的标本往往出现 DNA 的降解,会影响检测,不宜直接用 RLB 法检测^[8]。

5. 线阵检测法(linear array, LA):是 Roche 公司将广谱 PCR 和反向线点杂交技术结合,发明的一种新的 HPV 分型检测技术。可以检测 36 种高危和低危 HPV 亚型。缺点是温育步骤比较繁琐、耗时。2006 年 Matthew 等对这种方法进行了改良,用干风温育代替了水浴,而检测结果的敏感度和特异性都不受影响。但由于交叉非特异性杂交的存在,线阵分析的假阳性率高于 PCR 检测方法。

6. APTIMA HPV 检测技术:是 FDA 于 2011 年批准的一种基于转录介导的扩增和探针杂交的 HPV 检测,包括 3 个步骤:靶基因捕获、转录介导的扩增、杂交保护检测扩增的产物^[1]。它有自带的内对照,通过高度自动化的步骤同时检测 14 种高危亚型的 E6/E7 mRNA,是比较少见的以 HPV 的 L1 区为靶标、不直接检测 HPV DNA 的检测方法。它只得到一个 HR-HPV 合并阳性或者阴性的结果,不能区分亚型^[9,10]。其敏感度和 HC2 以及后文提到的 cobas HPV 检测相似,但特异性更好^[1,9,11]。HR-HPV 引起细胞恶性转化主要通过 E6/E7 区基因,以其为靶区也提高了筛查 HR-HPV 的特异性和敏感度。

7. 实时荧光定量 PCR 及衍生技术:这类方法不但能检出具体的 HPV 亚型,而且可以对病毒负载量进行检测。优点是敏感、快速、可靠,特异性也很好。与 HC2 检测有很高的一致性(91.4%~98.0%)^[12]。如果采用不同荧光,可以同时检测不同的 HPV 亚型。此类方法例如美国 FDA 于 2011 年批准的 cobas 4800 HPV 检测,就是一种高度自动化的实时荧光定量 PCR 检测^[1]。cobas 检测以 HPV 的 L1 区为靶区,以 β 球蛋白基因作为内对照。此类方法的优势在于检测成本低,用时也比较短,仅需约 2.5h^[13]。由于不同 HPV 高危亚型的致癌潜力不同,因此 HPV 分型检测技术得到越来越多的关注。cobas HPV 可以检测 14 种 HR-HPV,并对 16 和 18 亚型可以进行特异性的基因分型。

基于实时荧光定量 PCR 技术的 HPV 检测方法还有很多,例如 Anyplex II HPV28 检测试剂盒可以检测 19 种 HR-HPV 和 9 种 LR-HPV^[12]。AdvanSure HPV GenoBlot 检测方法是近年来发展的另一种荧光定量 PCR 技术^[14]。它采用单管巢式非对称实时 PCR,通过扩增 HPV L1 区和反向杂交,后续采用 AdvanSure GenoLine Station 系统自动分析 PCR 阳性的标本,可以同时检测 20 种高危 HPV 亚型(16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、69、70、73 和 82)和 15 种低危 HPV 亚型(6、11、32、34、40、42、43、44、54、55、57、61、62、81 和 83)。这种方法和 HC2 的检测一致性高达 98.5%,并且有更高的特异性^[14]。

8. 基因芯片技术:是将 PCR 产物和基因芯片杂交,经过洗脱步骤后,杂交的信号用专用的芯片扫描仪读出,常用 ADAT1 基因作为内对照^[15]。该法比普通的凝胶电泳检测方法的敏感度和特异性更高,敏感度接近 100%,特异性达到 97.4%。可以分型检测,也适合大量标本平行分析。与 HC2 相比,在检测宫颈上皮内瘤变 2 级的标本时,敏感度和特异性相似,并在 HPV 阳性标本检测上有很高的一致性^[16]。缺点是必须先进行 PCR 扩增,芯片比较昂贵,检测需要商业化的基因芯片扫描仪,检测成本较高^[16]。

9. 下一代测序技术(next-generation sequencing, NGS):和一般测序不同,NGS 可以在短时间内进行平行大批量测序,提供很多其他检测方法不能提供的信息,不仅包括病毒亚型、负荷量,还可以检测细胞染色体 DNA 水平的损害,例如 HPV DNA 的整合、插入位点等,但是检测试剂比较昂贵,设备比较复杂,对操作人员的水准要求也比较高^[17,18]。近年来 Helicos Biosciences 公司开发的基于 Illumina 平台的 NGS 与其他平台相比,大大降低了费用,并且检测效率大大提高,目前已经得到了很多临床实验室的认可^[1,19,20]。

10. Xpert HPV 检测:是近年来开发的一种新的实时定量 PCR 检测方法。其扩增和检测同时进行,采用全自动工作流程,并且反应体系完全内部质控,无需外部对照。可以对 14 种 HR-HPV 亚型分型检测,并可以提供病毒负荷量信息^[21]。除了新鲜细胞学标本,也可用于甲醛溶液固定的标本^[22]。与 HC2 比较,其敏感度稍强而特异性稍差,二者检测结果有非常好的一致性。并且此种方法成本低、操作更为迅速,一般 1h 左右即可,便于大批量处理标本,也可以

随时进行任意检测而无需批次检测^[22]。虽然目前还没有得到 FDA 的认定,但是很多研究者认为这是将来很有前景的一种 HPV 检测技术^[21,23]。

四、生物化学检测方法

1. 质谱分析法 (mass spectrometry): 可在短时间内检测大批量的临床标本,是一种快速、可靠、经济的检测方法^[24]。其快捷程度可以与基因芯片检测方法相比。敏感度和特异性均优于 HC2,并且可以用于甲醛溶液固定、石蜡包埋的组织标本的检测,可以检测各种高危和低危亚型 HPV。既可以检测 L1 区,也可以检测 E6/E7 区。

2. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOFMS): 是最近出现的一种软电离质谱检测技术,通过检测 HPV 的蛋白质指纹图谱,并与质谱图库对比,做出快速的检测。它同时检测 14 种 HR-HPV,比 PCR 基因测序检测更敏感,易于大批量自动化检测,并且快速、经济、准确,适合 HPV 的初筛。

3. 表面等离子共振技术 (surface plasmon resonance, SPR): 其原理是物质间的相互作用导致芯片表面质量变化,从而对 HPV 进行分型检测。优势在于快速、免标记、高通量、高灵敏,并可进行定量和亚型分析。它可以检测 16 种 HR-HPV 和 8 种 LR-HPV。研究表明其敏感度与 HC2 相似,而且特异性更高 (53.33% vs 33.33%)。

五、展望

HPV 是公认的 4 种致癌微生物之一,也是 IARC 认定的 11 个一类致癌生物因子之一。对其感染进行早期和正确的诊断,无疑对于宫颈癌及其他 HPV 相关恶性肿瘤的预防及诊治有重要的临床意义和社会价值^[25]。由于 HPV 不能培养,准确的诊断完全取决于适当的分子生物学检测技术。目前市场上的 HPV 检测药盒有数百种之多,采用不同的检测方法,有不同的检测敏感度、特异性和标本及临床适用性。根据具体的检测目的、要求、标本状况等因素选择适当的 HPV 检测技术是得到满意结果的保证。要得到一个同时具有高敏感度和高特异性的检查方法,理论上来说是互相矛盾的。每种 HPV 检测方法都有其优势和不足,总有一种或几种合适的选择。通过了解不同的检测手段,根据不同的检测要求,合理的权衡比较,选择正确的检测方法,一定会得到有效、经济、理想的结果。

参考文献

- 1 Tsakogiannis D, Gartzonika C, Levidiotou - Stefanou S, *et al.* Molecular approaches for HPV genotyping and HPV - DNA physical status [J]. *Exp Rev Mol Med*, 2017, 19(e1): e1 - e20
- 2 Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, *et al.* Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update [J]. *of Clin Virol*, 2016, 76(Suppl 1): S3 - S13
- 3 Thomas TL. Cancer prevention: HPV vaccination [J]. *Semi Oncol Nurs*, 2016, 32(3): 273 - 280
- 4 Mahmoudvand S, Safaei A, Erfani N, *et al.* Presence of Human Papillomavirus DNA in Colorectal Cancer Tissues in Shiraz, Southwest Iran [J]. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*, 2015, 16(17): 7883 - 7887
- 5 Burd EM, Dean CL. Human Papillomavirus. *Diagnostic Microbiology of the Immunocompromised Host* [M]. 2nd ed. Washington DC, USA: ASM Press, 2016:177 - 195
- 6 Rymasz T, Ribeiro EA, De LC, *et al.* Human papillomavirus detection using PCR and ATR - FTIR for cervical cancer screening [J]. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectroscopy*, 2018, 196(5): 238 - 246
- 7 Golfetto L, Alves EV, Martins TR, *et al.* PCR - RFLP assay as an option for primary HPV test [J]. *Brazil J Med Biol Res*, 2018, 51(5): e7098 - e7104
- 8 Pichler R, Borena W, Schäfer G, *et al.* Low prevalence of HPV detection and genotyping in non - muscle invasive bladder cancer using single - step PCR followed by reverse line blot [J]. *World Journal of Urology*, 2015, 33(12): 2145 - 2151
- 9 Arbyn M, Snijders PJF, Meijer CJLM, *et al.* Which high - risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(9): 817 - 826
- 10 Haedicke J, Iftner T. A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay [J]. *J Clin Virol*, 2015, 76(10): S40 - S48
- 11 Bhat S, Kabekkodu SP, Noronha A, *et al.* Biological implications and therapeutic significance of DNA methylation regulated genes in cervical cancer [J]. *Biochimie*, 2016, 121(2): 298 - 311
- 12 Pasquier C, Sauné K, Raymond S, *et al.* Comparison of Cobas? HPV and Anyplex? II HPV28 assays for detecting and genotyping human papillomavirus [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017, 87(1): 25 - 27
- 13 Pettus JR, Wilson TL, Steinmetz HB, *et al.* Utility of the roche cobas 4800 for detection of high - risk human papillomavirus in formalin - fixed paraffin - embedded oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Exp Mol Pathol*, 2017, 102(1): 47 - 49
- 14 Ko K, Yu S, Kwon MJ, *et al.* Comparison of AdvanSure HPV Genoblot and hybrid capture 2 assays for detection of HPV infection [J]. *J Clin Lab Anal*, 2017, 32(1): e22161 - e22163
- 15 Prankrakanant P, Wongsena M. Overview: detection of human papillomavirus in clinical samples [J]. *J Med Assoc Thai*, 2016, 99(Suppl 1): S89 - S96
- 16 Jun SY, Park ES, Kim J, *et al.* Comparison of the Cobas 4800 HPV

(下转第 82 页)

像的判读也存在差异性。

综上所述,甲状腺结节 TI-RADS 超声图像分级对良恶性结节的鉴别诊断价值较高,同时结合超声引导下 FNA 细胞学检查,更加有效地判断甲状腺结节性质,为指导临床治疗方案奠定坚实基础,因此,在临床工作中应加强超声新技术的应用和推广。

参考文献

- 1 Pacin F, Castagna MG. Approach to and treatment of differentiated thyroid carcinoma[J]. Med Clin North Am, 2012, 96(2): 369-383
- 2 Nguyen TQ. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer[J]. Am Health Drug Benefits, 2015, 8(1): 30-40
- 3 Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology II[J]. Acta Cytol, 2016, 60(5): 397-398
- 4 Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology[J]. Thyroid, 2017, 27(11): 1341-1346
- 5 谷伟军, 赵玲, 朱笑笑, 等. 甲状腺恶性结节超声危险因素探讨-2453 例甲状腺结节超声特点分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013, 29(7): 548-552
- 6 陈晶, 原韶玲, 李强, 等. 具有可疑超声征象甲状腺良性结节超声与病理对照分析[J]. 中华超声影像学杂志, 2016, 24(1): 24-27
- 7 Sung JY, Na DG, Kim KS, et al. Diagnostic accuracy of fine needle aspiration versus core needle biopsy for the diagnosis of thyroid malignancy in a clinical cohort[J]. Eur Radiol, 2012, 22(7): 1564-1572
- 8 Gertz RJ, Nikiforov Y, Rehauer W, et al. Mutation in BRAF and other members of the MAPK pathway in papillary thyroid carcinoma in the pediatric population[J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(2): 134-139
- 9 周伟, 倪晓枫, 詹维伟, 等. 超声引导下细针穿刺抽吸活检对甲状

腺病变的应用价值[J]. 中国介入影像与治疗学, 2016, 13(5): 272-275

- 10 Wong LQ, Baloch ZW. Analysis of the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology and similar precursor thyroid cytopathology reporting schemes[J]. Adv Anat Pathol, 2012, 19: 313-319
- 11 Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, et al. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis[J]. Acta Cytol, 2012, 56: 333-339
- 12 Williams BA, Bullock MJ, Trites JR, et al. Rates of thyroid malignancy by FNA diagnostic category[J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2013, 42: 61
- 13 郝莹, 田家玮, 刘微, 等. 改良甲状腺影像学报告及数据系统(TI-RADS)分级诊断甲状腺癌的可行性研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2015, 24(10): 878-881
- 14 Horvath E, Majlis S, Rossi R, et al. An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(5): 1748-1751
- 15 Park JY, Lee HJ, Jang HW, et al. A proposal for a thyroid imaging reporting and data system for ultrasound features of thyroid carcinoma[J]. Thyroid, 2009, 19(11): 1257-1264
- 16 Kwak JY, Han KH, Yoon JH, et al. Thyroid imaging reporting and data system for US features of nodules: a step in establishing better stratification of cancer risk[J]. Radiology, 2011, 260(3): 892-899
- 17 章晶, 徐辉雄, 张一峰, 等. 甲状腺影像报告和数据系统在甲状腺结节分类中的前瞻性验证[J/CD]. 中华医学超声杂志: 电子版, 2014, 11(2): 167-171

(收稿日期: 2018-05-07)

(修回日期: 2018-05-20)

(上接第 4 页)

- and HPV 9G DNA chip tests for detection of high-risk human papillomavirus in cervical specimens of women with consecutive positive HPV tests but negative pap smears[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0140336-e0140346
- 17 Akagi K, Li J, Broutian TR, et al. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability[J]. Genome Res, 2014, 24(2): 185-199
 - 18 Flores-Miramontes MG, Torres-Reyes LA, Alvarado-Ruiz L, et al. Human papillomavirus genotyping by linear array and Next-generation sequencing in cervical samples from Western Mexico[J]. Viro J, 2015, 12(1): 1-11
 - 19 Dijk ELV, Auger H, Yan J, et al. Ten years of next-generation sequencing technology[J]. Trends Genet, 2014, 30(9): 418-426
 - 20 Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies[J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(6): 333-351
 - 21 Mbulawa Z, Wilkin TJ, Goeieman B, et al. Xpert human papillomavirus test is a promising cervical cancer screening test for HIV-sero-

positive women[J]. Papillomavirus Res, 2016, 2(3): 56-60

- 22 Rabaan AA, Alfaraj SA, Alkhalifah MA. Comparison of the Cepheid Xpert HPV test and the HC2 High-Risk HPV DNA Test for detection of high-risk HPV infection in cervical smear samples in SurePath preservative fluid[J]. J Medical Microbio, 2018, 67(3): 676-680
- 23 Rabaan AA, Taylor DR, Dawamneh MF, et al. Comparison of Xpert(?) HPV and Hybrid Capture(?) 2 DNA Test? for detection of high-risk HPV infection in cervical atypical squamous cells of undetermined significance[J]. J Infect Public Health, 2017, 10(2): 219-223
- 24 Kriegsmann M, Wandernoth P, Lisenko K, et al. Detection of HPV subtypes by mass spectrometry in FFPE tissue specimens: a reliable tool for routine diagnostics[J]. J Clin Pathol, 2017, 70(5): 417-423
- 25 Giuliano AR, Kreimer AR, De SS. The beginning of the end: vaccine prevention of HPV-driven cancers[J]. J Nat Cancer Inst, 2015, 107(6): 128-129

(收稿日期: 2018-05-04)

(修回日期: 2018-05-06)