

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.012

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.012>

HPVE6/E7 mRNA 联合液基薄层细胞学检查 在宫颈癌筛查中的应用

武振宇

(张家口市妇幼保健院微生物科, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 探讨人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)E6/E7 mRNA联合液基薄层细胞学检查(thinprep cytologic test, TCT)在宫颈癌筛查中的应用价值。方法: 选取2021年1月至2021年7月在张家口市妇幼保健院进行宫颈癌筛查并获得病理结果的975例患者为研究对象, 所有对象均行HPVE6/E7 mRNA和TCT检测, 根据筛查结果对HPVE6/E7 mRNA和TCT检测阳性病例进行阴道镜组织细胞学检查, 以组织病理结果为金标准, 比较HPVE6/E7 mRNA、TCT及二者联合诊断宫颈病变的价值。结果: 组织病理结果显示, 975例患者中有慢性宫颈炎352例, 低级别鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)315例、高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)263例, 宫颈癌45例。HPVE6/E7 mRNA阳性率随宫颈病变级别升高逐渐上升($P<0.05$)。HPVE6/E7 mRNA诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能高于TCT($P<0.05$), 二者联合诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能高于HPVE6/E7 mRNA、TCT单独检测($P<0.05$)。结论: HPVE6/E7 mRNA与TCT联合检测可以提高HSIL及以上级别的宫颈病变的诊断价值, 在宫颈癌筛查中有重要作用。

[关键词] 宫颈癌; 液基薄层细胞学; 人乳头瘤病毒E6/E7 mRNA; 宫颈癌筛查; 诊断价值

Application of HPVE6/E7 mRNA combined with TCT in cervical cancer screening

WU Zhenyu

(Department of Microbiology, Zhangjiakou Maternal and Child Health Hospital, Zhangjiakou Hebei 075000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the application value of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA combined with thinprep cytologic test (TCT) in cervical cancer screening. **Methods:** A total of 975 patients with cervical cancer who underwent cervical cancer screening and obtained pathological results in Zhangjiakou Maternal and Child Health Hospital from January to July 2021 were selected as the study subjects. All subjects underwent HPVE6/E7 mRNA and TCT. According to the screening results, colposcopy cytology was performed in the positive cases

收稿日期 (Date of reception): 2021-11-22

通信作者 (Corresponding author): 武振宇, Email: wyl8003238839@163.com

基金项目 (Foundation item): 张家口市重点研发计划项目 (2121092D)。This work was supported by the Zhangjiakou Key R & D Projects, China (2121092D).

of HPV E6/E7 mRNA and TCT. Taking histopathological results as the gold standard, the value of HPV E6/E7 mRNA, TCT, and their combination in the diagnosis of cervical lesions was compared. **Results:** Among the 975 patients, there were 352 chronic cervicitis, 315 low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), 263 high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and 45 cervical cancer. The positive rate of HPV E6/E7 mRNA increased with the grade of cervical lesions ($P < 0.05$). The efficacy of HPV E6/E7 mRNA in the diagnosis of HSIL and above cervical lesions was higher than that of TCT ($P < 0.05$). The efficacy of HPV E6/E7 mRNA combined with TCT in the diagnosis of HSIL and above cervical lesions was higher than that of HPV E6/E7 mRNA and TCT alone ($P < 0.05$). **Conclusion:** The combined detection of HPV E6/E7 mRNA and TCT can improve the diagnostic value of HSIL and above cervical lesions, and plays an important role in cervical cancer screening.

Keywords cervical cancer; liquid-based thin-layer cytology; human papilloma virus E6/E7 mRNA; cervical cancer screening; diagnostic value

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤, 严重威胁女性生命健康。据数据显示: 我国宫颈癌发病率、病死率远高于美国, 且呈逐年升高趋势^[1]。既往研究^[2]显示: 高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papillomavirus, HR-HPV)持续感染是引起宫颈癌的高危因素, 我国大陆常见的HR-HPV亚型有16、18、52、58型。因HPV感染至发展成宫颈癌的时间长、比例低, 宫颈癌筛查可有效降低其发病率和病死率。液基薄层细胞学检查(thinprep cytologic test, TCT)是目前全球筛查筛查宫颈癌最主要的方式, 但灵敏度有限, 存在一定漏诊^[3]。近年研究^[4]显示: HPV中的E6、E7基因是HPV诱发宫颈癌变的主要基因, HPV E6/E7 mRNA检测可以反映病毒转录活跃程度。为更好地开展宫颈癌筛查, 进一步降低宫颈癌病死率。本研究探讨HPV E6/E7 mRNA联合TCT检测在宫颈癌筛查中的应用价值, 以期对宫颈癌筛查工作的改进提供参考。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2021年1月至7月在张家口市妇幼保健院进行宫颈癌筛查并获得病理结果的975例患者, 年龄20~74(72.15±9.76)岁。

纳入标准: 1)年龄≥18岁; 2)有性生活史; 3)伴有白带异常、接触性出血、外阴瘙痒等症状; 4)均行HPV E6/E7 mRNA、TCT检测; 5)HPV E6/E7 mRNA、TCT检测阳性者在3个月内行阴道镜组织细胞学检查; 6)知情同意。排除标准: 1)合并其他恶性肿瘤; 2)既往有宫颈病变或治疗史; 3)存在自身免疫性疾病及免疫制剂治疗; 4)合并

妊娠。

本研究已通过张家口市妇幼保健院医学伦理委员会审批。

1.2 方法

1.2.1 样本采集

患者取截石位, 用一次性阴道窥器撑开阴道暴露出宫颈口, 将样本采集刷置于宫颈外口鳞-柱状上皮交界处, 顺时针旋转3~5圈, 然后折断刷头置于细胞保存液中, 贴上标签后送至检验科检验。

1.2.2 HPV E6/E7 mRNA 检测

标本细胞洗脱后, 采用支链DNA杂交技术对14种HR-HPV分型(包括16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68b)进行检测, 根据检测试剂盒(Kodia生物技术公司)说明书进行操作, HPV E6/E7 mRNA拷贝数<1 copy/mL为阴性, ≥1 copy/mL为阳性。

1.2.3 TCT 检测

将采集的标本细胞制成单层细胞涂片, 进行固定、染色, 液基薄层细胞学检测仪下观察细胞形态。采用国际癌症协会推荐的伯塞斯达系统(The Bethesda System, TBS)分类标准评估结果: 未见上皮内细胞病变(negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM)、不典型鳞状细胞(typical squamous cells of undetermined significant, ASCUS; 包括意义不明确、不排除高度病变2种)、低级别鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)、宫颈癌[包括宫颈鳞癌(squamous cell carcinoma, SCC)、非典型腺细胞(atypical glandular cells, AGC)、原位腺癌(adenocarcinoma in situ, AIS)]。

1.2.4 阴道镜及组织细胞学检查

在非月经期进行检查, 患者取截石位, 用一次性阴道窥器撑开阴道暴露出宫颈口, 用无菌棉签擦拭宫颈表面分泌物, 观察有无出血、糜烂等, 之后在宫颈上涂抹碘溶液(1%)及冰醋酸(3%), 在碘溶液不染色但冰醋酸染成白色处取材, 将组织标本置于10%甲醛溶液中, 送至病理科检查。组织细胞学结果包含慢性宫颈炎、LSIL、HSIL、宫颈癌。

1.2.5 联合检测

HPVE6/E7 mRNA联合TCT检测结果采用串联的方式, 两项检测结果均为阳性, 则为阳性, 否则为阴性。

1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析数据。计数资料用例(%)表示, 采用 χ^2 检验; 通过绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估HPVE6/E7 mRNA、TCT及二者联合诊断宫颈病变的效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织病理检查结果

975例患者中, 慢性宫颈炎352例, LSIL 315例、

HSIL263例, 宫颈癌45例。

2.2 HPVE6/E7 mRNA在不同宫颈病变中的阳性率分布

不同宫颈病变组HPVE6/E7 mRNA阳性率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 随着宫颈病变等级的升高, HPVE6/E7 mRNA阳性率逐渐上升($P < 0.05$, 表1)。

2.3 TCT诊断宫颈病变与组织病理检查结果的对照

TCT检测显示: NILM 309例(31.69%); ASCUS 83例(8.51%); LSIL 188例(19.28%); HSIL 348例(35.69%); 宫颈癌47例(4.82%, 表2)。

2.4 不同检测方法诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能比较

HPVE6/E7 mRNA、TCT、两者联合诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为0.823、0.776、0.882, 灵敏度分别为86.04%、74.68%、91.56%, 特异度分别为78.56%、75.26%、84.68%。HPVE6/E7 mRNA联合TCT诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能高于HPVE6/E7 mRNA、TCT单独检测($P < 0.05$), 且HPVE6/E7 mRNA诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能高于TCT($P < 0.05$; 表3, 图1)。

表1 HPVE6/E7 mRNA在不同宫颈病变中的阳性率分布

Table 1 Distribution of positive rates of HPVE6/E7 mRNA in different cervical lesions

HPVE6/E7mRNA	慢性宫颈炎/[例(%)]	LSIL/[例(%)]	HSIL/[例(%)]	宫颈癌/[例(%)]
阴性	314 (89.20)	209 (66.35)	43 (16.35)	1 (2.22)
阳性	38 (10.80)	106 (33.65)	220 (83.65)	44 (97.78)
χ^2	394.871			
P	<0.001			

表2 TCT诊断宫颈病变与组织病理检查结果的对照

Table 2 Comparison of TCT diagnosis of cervical lesions and histopathological examination results

TCT诊断结果	病理结果/[例(%)]			
	慢性宫颈炎	LSIL	HSIL	宫颈癌
NILM	297 (84.38)	11 (3.49)	1 (0.38)	0 (0.00)
ASCUS	40 (11.36)	34 (10.79)	9 (3.42)	0 (0.00)
LSIL	10 (2.84)	122 (38.73)	56 (21.29)	0 (0.00)
HSIL	5 (1.42)	148 (46.99)	190 (72.24)	5 (1.11)
宫颈癌	0 (0.00)	0 (0.00)	7 (2.67)	40 (88.89)

表3 不同检测方法诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的效能比较

Table 3 Comparison of the efficacy of different detection methods in diagnosing cervical lesions of HSIL and above

检测方法	AUC值	灵敏度/%	特异度/%	95%CI	P
HPVE6/E7 mRNA	0.823	86.04	78.56	0.798~0.846	<0.001
TCT	0.750	74.68	75.26	0.721~0.777	<0.001
HPVE6/E7 mRNA联合TCT	0.882	91.56	84.68	0.860~0.902	<0.001

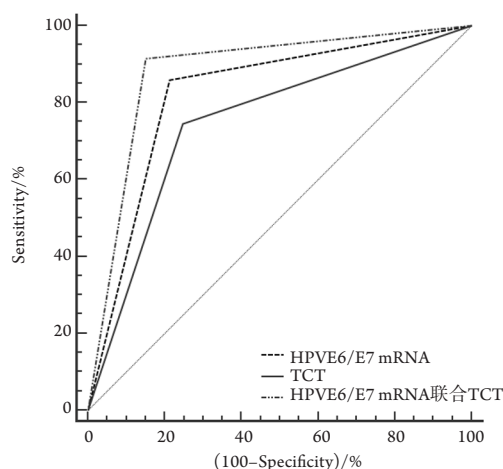


图1 不同检测方法诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of different detection methods in the diagnosis of cervical lesions of HSIL and above

3 讨论

很早以前人类就发现到宫颈癌周围组织存在癌前病变，而且意识到持续HR-HPV感染是进展为癌前病变及宫颈癌的必要因素，对宫颈病变的早期检测及治疗，可以有效降低宫颈癌的发病率及病死率^[5-6]。同时，宫颈癌也是已知的可以预防或消除的恶性肿瘤^[7]。目前我国部分地区正在推行适龄女性免费接种宫颈癌疫苗，以进一步降低宫颈癌发病率及病死率。

TCT检测是目前我国应用最广的宫颈癌筛查方案，虽然操作简单，但结果易受主观因素影响，存在一定漏诊及误诊^[8]。另外，TCT不能对检测结果中的ASCUS进行有效的分流管理，而ASCUS在异常细胞学涂片中的占比高，罹患HSIL的风险却只有约9.7%^[9]。根据《子宫颈癌筛查异常及癌前病变共识指南》^[10]，可知HSIL是宫颈癌治疗的阈值，如果不及时治疗，进展为宫颈癌的风险极大；LSIL主要表现为HPV生产型感染，

大多数可以自行消退。本研究中TCT检测结果显示：NILM 309例，ASCUS 83例，LSIL 188例，HSIL 348例，宫颈癌47例，其中ASCUS筛查率为8.51%(83/945)，这与薛雯娣等^[11]的研究结果接近，说明TCT无法有效识别宫颈高级别病变。本研究结果还显示：以组织病理结果为金标准，TCT诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的灵敏度、特异度分别为74.68%、75.26%，亦说明TCT检测在宫颈癌筛查中的价值有限。因此，临床亟需寻找一种方法提高宫颈癌筛查的准确性。

基于HR-HPV持续感染是宫颈癌重要发病机制之一，临床发现HPV DNA检测也能发现宫颈病变^[12-13]。但大多数HPV感染是一过性的，可随上皮细胞脱落而被清除，故HPV DNA检测不能确定病毒是否处于感染活跃期，无法准确评估宫颈病变的危险性^[14]。随着研究的进展，人类发现HPV由8个开放阅读框组成，其中E1、E2、E4、E5、E6、E7编码早期区蛋白，L1与L2编码晚期区蛋白^[15]。当宫颈上皮细胞发生损伤时，HPV会进入到宿主细胞核，并与宿主细胞DNA随机整合，此时E1、E2发生分裂，E2蛋白丧失对E6、E7基因的抑制作用，导致E6、E7利用宿主细胞转录出大量的E6、E7 mRNA，而E6、E7蛋白正是宫颈癌变的元凶^[16]。因此，HPVE6/E7 mRNA检测可以判断HPV是否处于活跃期，对宫颈癌筛查有重要意义，与TCT相比，可以提高宫颈癌筛查的灵敏度^[17]。陈瑛瑛等^[18]对TCT初筛异常且HPV DNA或HPVE6/E7 mRNA检测阳性的女性进行阴道镜检查，结果显示HPVE6/E7 mRNA阳性表达率与宫颈病变呈正相关，而且HPVE6/E7 mRNA诊断高级别功能病变的特异度、阴性预测值高于HPV DNA。本研究结果也显示：不同宫颈病变组HPVE6/E7 mRNA阳性率比较差异有统计学意义，随着宫颈病变级别的升高，HPVE6/E7 mRNA阳性率逐渐升高。这是因为宫颈病变级别越高，E6、E7越活跃，随之HPVE6/E7 mRNA阳性检出率越高。还有研究^[19]显示：HPVE6/E7 mRNA病毒载量与宫颈病

变的严重程度呈显著正相关。但HPVE6/E7 mRNA检测宫颈病变也存在不足,如HPVE6/E7 mRNA转录过程受到抑制时,其结果存在假阴性。

本研究通过绘制ROC曲线显示:HPVE6/E7 mRNA、TCT、两者联合诊断HSIL及以上级别的宫颈病变的AUC值分别为0.823、0.776、0.882,灵敏度分别为86.04%、74.68%、91.56%,特异度分别为78.56%、75.26%、84.68%,提示HPVE6/E7 mRNA与TCT联合检测可以提高HSIL及以上级别的宫颈病变筛查的准确性,有望成为高效能的宫颈癌筛查方式,指导宫颈病变的诊疗。既往临床多采用HPV DNA联合TCT的方案进行宫颈癌筛查^[20],但诊断价值有待提高,HPVE6/E7 mRNA与TCT联合可以相互补充,降低假阴性及漏诊概率,临床应用价值更高。

综上所述,HPVE6/E7 mRNA联合TCT检测在宫颈癌筛查中有较高的应用价值,可以提高HSIL及以上级别的宫颈病变的检出率,辅助临床进行宫颈病变分层管理。本研究存在局限性,主要是受限于客观条件,样本量相对较少,同时研究时限较短,故而仍需大样本量、长时间随访的研究数据对本研究结果进行验证。

参考文献

- Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- 杜丽芳, 马智静, 靳玉琴, 等. 中国大陆女性人群人乳头瘤病毒感染的回顾性分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2021, 41(12): 954-961.
DU Lifang, MA Zhijing, JIN Yuqin, et al. Retrospective analysis of human papillomavirus infection among women in China's mainland[J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2021, 41(12): 954-961.
- Kang YF, Sun PM, Mao XD, et al. PCR-reverse dot blot human papillomavirus genotyping as a primary screening test for cervical cancer in a hospital-based cohort[J]. *J Gynecol Oncol*, 2019, 30(3): e29.
- 魏彩平. 人乳头瘤病毒E6/E7蛋白在宫颈病变筛查中的应用[J]. *川北医学院学报*, 2017, 32(5): 670-672.
WEI Caiping. Application of human papilloma virus E6/E7 protein in screening cervical lesions[J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2017, 32(5): 670-672.
- Bruhn LV, Andersen SJ. HPV-testing versus HPV-cytology co-testing to predict the outcome after conization[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2018, 97(6): 758-765.
- 裴蕴锋, 经先振, 周娟, 等. 医院就诊人群HPV感染的流行病学特征及其与宫颈癌/癌前病变的关系[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2018, 47(3): 349-353.
PEI Yunfeng, JING Xianzhen, ZHOU Juan, et al. Analysis of epidemiological characteristics of HPV infection and its relationship with cervical cancer/cervical precancerous lesions in hospital patients[J]. *Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong*, 2018, 47(3): 349-353.
- Alfaro K, Maza M, Cremer M, et al. Removing global barriers to cervical cancer prevention and moving towards elimination[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(10): 607-601.
- 耿建祥, 黄华艺, 刘建华, 等. HPV感染疾病相关问题专家共识(2017)[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(12): 1238-1241.
GENG Jianxiang, HUANG Huayi, LIU Jianhua, et al. Expert consensus on HPV infection and HPV-associated diseases (2017)[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2017, 30(12): 1238-1241.
- D'Alessandro P, Arduino B, Borgo M, et al. Loop electrosurgical excision procedure versus cryotherapy in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Gynecol Minim Invasive Ther*, 2018, 7(4): 145-151.
- Perkins RB, Guido RS, Castle PE, et al. 2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines for abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors[J]. *J Lower Genital Tract Dis*, 2020, 24(2): 102-131.
- 薛雯娣, 宫美丽, 李旭, 等. 高级别宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者宫颈液基薄层细胞学检查和高危型人乳头状瘤病毒检测结果分析[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(3): 492-494.
XUE Wendi, GONG Meili, LI Xu, et al. Analysis of the results of cervical liquid-based thin-layer cytology and high-risk human papillomavirus detection in high-level cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer patients[J]. *Chinese Remedies & Clinics*, 2021, 21(3): 492-494.
- Reisner SL, Deutsch MB, Peitzmeier SM, et al. Test performance and acceptability of self- versus provider-collected swabs for high-risk HPV DNA testing in female-to-male trans masculine patients[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0190172.
- Iris B, Snoek BC, Novianti PW, et al. Triage of high-risk HPV-positive women in population-based screening by miRNA expression analysis in cervical scrapes; a feasibility study[J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10(1): 76-79.
- 蒋欣, 张亚军, 江月, 等. 高危HPVE6/E7 mRNA与HPV DNA检测对宫颈病变诊断及风险评估的价值[J]. *广东医学*, 2018, 39(S2): 132-136.
JIANG Xin, ZHANG Yajun, JIANG Yue, et al. The value of high-risk

- HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA detection in the diagnosis and risk assessment of cervical lesions[J]. *Guangdong Medical Journal*, 2018, 39(S2): 132-136.
15. Han L, Husaiyin S, Zhao F, et al. Clinical Value of human papillomavirus E6/E7 mRNA detection in screening for cervical cancer in women positive for human papillomavirus DNA[J]. *Clin Lab*, 2018, 64(9): 1363-1371.
16. 王军, 袁纯辉, 孙红, 等. 高危型人乳头瘤病毒16 E6蛋白通过外泌体传递热休克蛋白70调控巨噬细胞介导宫颈癌细胞增殖、侵袭和迁移[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40(7): 538-546.
- WANG Jun, YUAN Chunhui, SUN Hong, et al. High-risk human papillomavirus 16 E6 protein regulates tumor-associated macrophages through exosomal heat shock protein 70 to promote cervical cancer cell C33A proliferation, invasion and migration[J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2020, 40(7): 538-546.
17. 王俊飞, 沈树娜, 祝平. 液基薄层细胞学检查联合人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA检测在宫颈病变筛查中的价值分析[J]. *首都医科大学学报*, 2019, 40(4): 578-291.
- WANG Junfei, SHEN Shuna, ZHU Ping. Application value of detection of thinprep cytology test and human papillomavirus E6/E7 mRNA in cervical disease screening[J]. *Journal of Capital Medical University*, 2019, 40(4): 578-291.
18. 陈瑛瑛, 王凯怡, 董婕, 等. HPV E6/E7 mRNA检测在液基薄层细胞学异常女性患者宫颈病变筛查中的临床应用[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(10): 2380-2384.
- CHEN Yingying, WANG Kaiyi, DONG Jie, et al. Clinical application of HPV E6/E7 mRNA detection in screening of cervical lesions in female patients with abnormalities of liquid-based Thinprep cytology test[J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2019, 34(10): 2380-2384.
19. 段律芳, 杜辉, 肖爱民, 等. Cobas 4800 HPV检测的Ct值反映的型别特异性HR-HPV亚型病毒载量与宫颈病变关系的研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2019, 54(7): 458-463.
- DUAN Lüfang, DU Hui, XIAO Aimin, et al. Relationship between cervical lesions and the type-specific viral load of high-risk HPV reflected by the Ct value of Cobas 4800 HPV system[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2019, 54(7): 458-463.
20. Strang M, Gottschlich DA, Cook M, et al. Long-term cervical precancer outcomes after a negative DNA-or RNA-based human papillomavirus result[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2021, 225(5): S11.e1-S11.e7.

本文引用: 武振宇. HPV E6/E7 mRNA联合液基薄层细胞学检查在宫颈癌筛查中的应用[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(10): 2414-2419. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.012

Cite this article as: WU Zhenyu. Application of HPV E6/E7 mRNA combined with TCT in cervical cancer screening[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2022, 42(10): 2414-2419. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.012