

尿脱落细胞荧光原位杂交技术 在尿路上皮癌诊断中的应用

徐阿祥¹ 杨素霞¹ 孙圣坤¹ 宋勇¹ 张旭¹

[摘要] 目的:分析尿脱落细胞荧光原位杂交技术(FISH)在尿路上皮肿瘤诊断中的应用价值。方法:对 205 例临床疑诊尿路上皮肿瘤患者的尿脱落细胞进行 FISH 检测,并与组织病理学结果进行对照,总结 FISH 检测方法对尿路上皮癌诊断的敏感性与特异性。结果:153 例尿路上皮癌、52 例非尿路上皮癌患者在术前接受了尿脱落细胞 FISH 检测,术后均经病理检查确定诊断。FISH 检测尿路上皮癌的敏感性为 54.2%,特异性为 94.2%。结论:尿脱落细胞 FISH 检测对于诊断尿路上皮癌具有高度的特异性。

[关键词] 膀胱肿瘤;荧光原位杂交;尿路上皮癌

[中图分类号] R737.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2012)10-0753-03

Fluorescence in situ hybridization of urine exfoliative cells in diagnosis of urothelial carcinoma

XU Axiang YANG Suxia SUN Shengkun SONG Yong ZHANG Xu

(Department of Urology, Chinese PLA General Hospital, Beijing, 100853, China)

Corresponding author: XU Axiang, E-mail: xu_axiang@yahoo.com.cn

Abstract Objective: To investigate the value of fluorescence in situ hybridization of urine exfoliative cells in the diagnosis of urothelial carcinoma. **Method:** The urine samples were collected from 205 patients with suspected urothelial neoplasms. The specificity and sensitivity of FISH were analyzed on the basis of pathological diagnosis. **Result:** One hundred and fifty-three patients with urothelial carcinoma and 52 cases of non-urothelial neoplasms received one FISH assay of their urine exfoliative cells before operation. The sensitivity of FISH examination of malignant epithelial tumor was 54.2%. The specificity of FISH on urothelial carcinoma was 94.2%. **Conclusion:** The FISH assay of the urine exfoliative cells shows high specificity for the detection of urothelial carcinoma.

Key words bladder cancer; fluorescence in situ hybridization; urothelial carcinoma

尿路上皮癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,目前主要的诊断方法包括尿脱落细胞学检查和内镜(膀胱镜或输尿管镜)活检。前者敏感性较低,后者为有创检查。2000 年以来,荧光原位杂交(FISH)技术在尿路上皮癌诊断中应用逐渐增多。现将近 2 年来解放军总医院泌尿外科 FISH 检测经验报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2009 年 7 月~2011 年 10 月期间,解放军总医院泌尿外科对疑似尿路上皮肿瘤患者进行了 524 例次 FISH 检查,经病理证实 205 例,其中男 137 例,女 68 例,年龄 24~84 岁,平均(60.3±12.2)岁。

1.2 主要试剂及实验方法

FISH 探针购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。3、17 号染色体着丝粒探针为绿色荧光信号,7 号染色体着丝粒探针和杂交到 9 号染色体长臂(9p21)的 P16 探针为桔红色荧光信号。每例患者

于内镜检查前或手术前收集新鲜尿液 1 次,量约 300 ml 左右,按照试剂盒说明书方法进行 FISH 实验操作。

1.3 判断标准

荧光显微镜下观察,通过 FISH 点计数分析 2.0 软件控制的冷电荷耦合设备(CCD)相机摄取图像,每组探针分析 100~200 个细胞。判断标准:判定单体的标准为单个信号的核比例>15%;3 倍体及多倍体的标准为 3 个及多个信号的核>10% 细胞总数。组合探针阳性判定标准参照 UroVision 推荐标准:至少在 4 个细胞中同时存在 3、7、17 号中的 2 个染色体的扩增,或至少在 12 个细胞中存在 9p21 纯合性缺失。

1.4 组织学检查及结果分析

对内镜(膀胱镜或输尿管镜)活检组织或手术切除标本进行常规 HE 制片,以组织学结果为金标准,计算 FISH 的敏感性与特异性。敏感性=真阳性/(真阳性+假阴性),特异性=真阴性/(假阳性+真阴性)。

2 结果

非肿瘤性脱落细胞 FISH 结果显示各探针表

¹中国人民解放军总医院泌尿外科(北京,100853)

通信作者:徐阿祥, E-mail: xu_axiang@yahoo.com.cn

现为 2 红、2 绿杂交信号(图 1)。在尿路上皮癌脱落细胞中,FISH 结果可见不同程度的染色体数目异常(图 2)。153 例尿路上皮癌中,通过 FISH 检出其中 83 例存在染色体异常,敏感性为 54.2%。52 例非尿路上皮癌中,FISH 检测阴性 49 例,其特异性为 94.2%。由于其敏感性较低,我们根据肿瘤的分化程度进行了分层分析,结果发现,55 例低级别尿路上皮癌(病理证实低度恶性倾向乳头状瘤及低级别尿路上皮癌)中,36 例 FISH 未检测到肿瘤细胞,敏感性为 34.5%,而 98 例高级别尿路上皮癌中,只有 28 例 FISH 未检测到肿瘤细胞,敏感性为 71.4%。

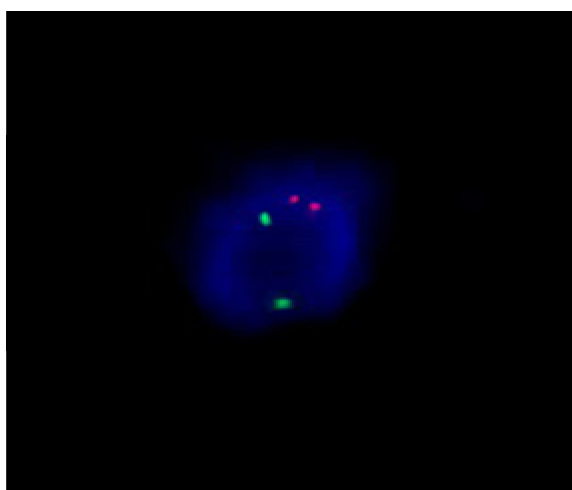


图 1 FISH 检测正常细胞为双倍体杂交信号

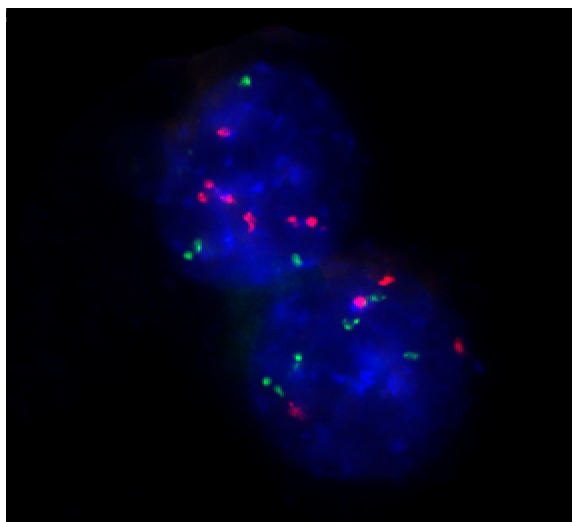


图 2 FISH 检测肿瘤细胞核为多倍体杂交信号

3 讨论

目前,膀胱镜或输尿管镜活检组织病理检查为诊断尿路上皮癌的金标准,但该检查为有创检查,严重时可导致出血、穿孔等并发症,患者常不愿接受。尿脱落细胞学检查方便、简单、无创、特异性

高,但灵敏度太低,文献报道阳性率为 20%~30%,因此仅依赖细胞学检查会造成大量患者漏诊^[1,2]。

FISH 技术是分子细胞遗传学最常使用的研究手段之一,主要用于染色体数目和结构畸变的研究。而染色体分析已被认为是许多恶性肿瘤的诊断和预后指标之一。研究发现膀胱癌中存在 30 多种染色体位点表达异常,其中 P16 基因缺失,3、7、17 号染色体非整倍性发生频率最高,研究认为四者联合诊断检测率敏感性最高^[3]。2001 年美国食品和药物管理局 FDA 批准商业化的 UroVysion FISH 试剂盒用于膀胱癌的诊断和复发监测^[3]。其后发现 UroVysion 检测各种分期和分级的尿路上皮癌敏感性均优于单纯传统的细胞学检测,2005 年 FDA 批准其应用于肉眼或镜下血尿的病因检查^[4]。

商业化的 UroVysion FISH 试剂盒,采用荧光标记的着丝粒探针以检测 3、7、17 染色体的非整倍性,以及位点特异性探针以检测 9p21 染色体,从而确定有无与尿路上皮癌相关的非整倍体来诊断膀胱尿路上皮癌。2000 年 SOKOLOVA 等^[5]报道尿液脱落细胞应用 UroVysion FISH 荧光探针检测出 3、7、17 号染色体非整倍性的敏感性分别为 73.7%、76.2%、61.9%,联合 9p21 探针,敏感性可以进一步提高。在石蜡包埋尿路上皮癌中,联合应用 4 种探针的敏感性达 95%^[6]。

FISH 技术在血尿患者膀胱癌筛查中的敏感性和特异性差别较大。最初关于 UroVysion 的研究认为其检测任何分期和分级的膀胱肿瘤敏感性都优于细胞学指标^[7],随后的资料显示,UroVysion 与传统细胞学检测相比敏感性略高,而特异性偏低。分别为 77%和 93%^[3]。FRITSCH 等^[2]对高级别非肌层浸润性膀胱癌的随访中,采用传统膀胱镜检查联合细胞学检查的敏感性和特异性分别为 78%和 83%,而 UroVysion FISH 检测相应指标提高为 94%和 93%。CARAWAY 等^[20]对 600 例患者进行了 1 006 例次尿液标本进行检测,FISH 对尿路上皮癌敏感性和特异性分别为 58%和 66%。国内报道尿路上皮癌的 FISH 敏感性为 94.3%,特异性为 81.3%^[21]。本研究中发现 FISH 检测尿路上皮癌的特异性极高,但敏感性仅为 54.2%。分析敏感性较低的原因可能有以下几方面:①肿瘤恶性度高时,脱落细胞增多,相反,肿瘤恶性程度低时脱落入尿液的肿瘤细胞较少,从而不易被发现。本研究观察到低级别尿路上皮癌中 65.5%FISH 为假阴性,明显高于高级别尿路上皮癌组,这是由肿瘤的生物行为决定的;②研究发现,多倍体性是原位癌和浸润性尿路上皮癌的共同特征,而非浸润性乳头状尿路上皮癌则不具备这一

特点^[12]。③由于经济原因本研究绝大部分患者仅收集了一次尿液标本,从而发现肿瘤性脱落细胞的几率降低。增加检测次数可能会提高阳性率;④我们并未对同期所有尿路上皮癌病例进行了检测,纳入检测的往往是诊断有疑难的情况,很多典型尿路上皮癌病例并未接受 FISH 检测。

此外,本研究尚发现数例透明细胞癌的患者其尿液标本 FISH 检测阳性,因此有理由推断 FISH 阳性并非尿路上皮癌所特有。肾癌组织脱落细胞是否具有类似的染色体改变尚需进一步研究。

综上所述,本研究证实,使用尿脱落细胞荧光原位杂交技术检测 3、7、9、17 号染色体数目畸变诊断尿路上皮癌具有无创、简便、迅速、特异性强的优点,对尿路上皮的诊断具有重要的临床应用价值,如何进一步提高检测的敏感性尚需在临床中继续研究应用。

参考文献

- [1] PLANZ B, JOCHIM S E, DEIX T, et al. The role of urinary cytology for detection of bladder cancer[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2005, 31: 304—308.
- [2] 王鹏, 靳风烁, 叶锦, 等. 荧光原位杂交检测尿脱落细胞染色体异常诊断膀胱肿瘤的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(10): 948—951.
- [3] HALLING K C, KING W, SOKOLOVA I A, et al. A comparison of cytology and fluorescence in situ hybridization for the detection of urothelial carcinoma[J]. *J Urol*, 2000, 165: 1768—1775.
- [4] SAROSDY M F, KAHN P R, ZIFFER M D, et al. Use of a multitarget fluorescence in situ hybridization assay to diagnose bladder cancer in patients with hematuria[J]. *J Urol*, 2006, 176: 44—47.
- [5] SOKOLOVA I A, HALLING K C, JENKINS R B, et al. The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine[J]. *J Mol Diagn*, 2000, 2: 116—123.
- [6] SAUTER G, GASSER T C, MOCH H, et al. DNA aberrations in urinary bladder cancer detected by flow cytometry and FISH[J]. *Urol Res*, 1997, 25 (suppl 1): S37—S43.
- [7] BUBENDORF L, GRILLI B, SAUTER G, et al. Multiprobe FISH for enhanced detection of bladder cancer in voided urine specimens and bladder washings[J]. *Am J Clin Pathol*, 2001, 116: 79—86.
- [8] BERGMAN J, REZNICHEK R C, RAJFER J. Surveillance of patients with bladder carcinoma using fluorescent in-situ hybridization on bladder washings[J]. *BJU Int*, 2008, 101: 26—29.
- [9] FRITSCH H M, BURGER M, DIETMAIER W, et al. Multicolor FISH (UroVysion) facilitates follow-up of patients with high-grade urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Am J Clin Pathol*, 2010, 134: 597—603.
- [10] CARAWAY N P, KHANNA A, FERNANDEZ R L, et al. Fluorescence in situ hybridization for detecting urothelial carcinoma: a clinicopathologic study[J]. *Cancer Cytopathol*, 2010, 118: 259—268.
- [11] 陈锐, 龚静, 曾浩, 等. 尿脱落细胞荧光原位杂交检测诊断膀胱肿瘤的价值[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2011, 42(1): 109—113.
- [12] KNOWLES M A. Molecular pathogenesis of bladder cancer[J]. *Int J Clin Oncol*, 2008, 13: 287—297.

(收稿日期: 2012-05-31)

(上接第 752 页)

- [11] 彭燕, 袁伟杰. 血液透析患者免疫缺陷与感染产生的机制探讨[J]. *中国血液净化*, 2007, 6: 328—332.
- [12] 陈江华, 何强, 徐莹. 维持性血液透析患者微炎症状态的认识与防治[J]. *中华肾脏病杂志*, 2005, 21: 117—118.
- [13] WU C F, PANG S T, SHEE J J, et al. Identification of genetic alterations in upper urinary tract urothelial carcinoma in end-stage renal disease patients[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49: 928—934.
- [14] SHILPA T, SREEDHAR M, ZAINAB Z K, et al. Comparison of stage at diagnosis of cancer in patients who are on dialysis versus the general population[J]. *Clin J Am Soc Nephro*, 2007, 2: 1008—1013.
- [15] KAGEYAMA Y, KIHARA K, ISHIZAKA K, et al. Endoscopic minilaparotomy radical nephrectomy for chronic dialysis patients[J]. *Int J Urol*, 2002, 9: 73—76.
- [16] WU C F, SHEE J J, HO D R, et al. Different treatment strategies for end stage renal disease inpatients with transitional cell carcinoma[J]. *J Urol*, 2004, 171: 126—129.

(收稿日期: 2011-07-16)