

多中心尿路上皮肿瘤克隆起源的 FISH 研究

王官峰¹ 李泉林²

[摘要] 目的:探讨多中心尿路上皮肿瘤的克隆起源。方法:通过荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术对 28 例患者 70 枚肿瘤的 3、7、9、17 号染色体的变异类型进行检测,判断多中心灶间染色体变异类型是否一致。结果:28 例患者中,26 例(92.9%)被认为来自相同的克隆起源,2 例来自不同的克隆起源。2 例独立克隆起源的患者均为异时性肿瘤,且原发肿瘤与随后发生的肿瘤间隔时间较长,分别约为 5 年和 11 年。结论:大多数多中心尿路上皮肿瘤有相同的克隆起源,为单克隆起源可能,且多为同时性肿瘤。多克隆起源多见于异时性肿瘤,时间间隔越久,独立克隆起源的可能性越大。

[关键词] 尿路上皮癌;荧光原位杂交;克隆;多发;复发

[中图分类号] R737.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2013)04-0251-05

The clonal origin of multifocal urothelial carcinoma studied by fluorescence in situ hybridization

WANG Guanfeng¹ LI Quanlin²

(¹Department of Urology, 3201 Hospital, Hanzhong, Shanxi, 723000, China; ²Department of Urology, First Affiliated Hospital, Dalian Medical University)

Corresponding author: LI Quanlin, E-mail: qlli2002@yahoo.com.cn

Abstract **Objective:** To investigate the clonal origin of multifocal urothelial carcinoma. **Method:** There were 28 cases of multifocal urothelial carcinoma with total of 70 tumors included in the study. Twenty-one of them were simultaneous urothelial carcinoma and 9 were metachronous. Two cases have both simultaneous tumor and metachronous tumor. Aberration of urothelial carcinoma with high frequency at 3, 7, 9, 17 chromosomes were selected and detected by using CSP3/CSP7 DNA probe combinations and GLP p16/ CSP17 DNA probe combinations. Chromosomal aberrations type was analyzed and compared to determine the clonality of multifocal tumors. **Result:** Of the 28 cases, 26 cases (92.9%) shared concordant type of chromosomal aberrations, and considered of common clonal origin, 2 cases were detected of discordant type of chromosomal aberrations and were considered independent clonal origin. And both of them were metachronous tumors, and the primary tumor and subsequent tumor had an interval of more than 5 years. **Conclusion:** Multifocal urothelial carcinomas are mostly of monoclonal origin. Some metachronous tumors are most probably polyclonal origin and always with a long intervals.

Key words urothelial carcinoma; fluorescence in situ hybridization; clonality; multifocality; recurrence

尿路上皮肿瘤是最常见的泌尿系肿瘤,90%以上为尿路上皮(移行)细胞癌。尿路上皮癌具有较高的多中心发生率和复发率,形成多中心尿路上皮肿瘤。目前对尿路上皮癌多中心发生的克隆机制及克隆起源还不清楚。本研究通过荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术对多中心尿路上皮肿瘤 3、7、17 号染色体及 9 号染色体 p16(9p16)位点的变异进行检测,以探讨多中心尿路上皮肿瘤的克隆起源。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本组多中心尿路上皮肿瘤患者 28 例,共 70 枚肿瘤,均来自大连医科大学附属第一医院泌尿外科手术患者。男 18 例,女 10 例。其中同时性尿路上

皮肿瘤 21 例,肿瘤 46 枚;异时性 9 例,为病理科存档的蜡块,肿瘤 24 枚,其中 2 例既有同时性又有异时性肿瘤。所有同时性多中心尿路上皮癌均为同一时间发现的单器官多发肿瘤或多器官肿瘤,异时性肿瘤发现时间为 3 个月~10 年。同时留取远离肿瘤组织的正常尿路上皮组织 20 例。所有肿瘤标本均经病理检查确诊为尿路上皮癌。分期根据 2002 年 AJCC 癌症分期标准,T₀ 期肿瘤 10 枚,T₁ 期 35 枚,T₂ 期 22 枚,T₃ 期 3 枚。分级依据 2004 年 WHO 标准,G₁ 23 枚,G₂ 32 枚,G₃ 15 枚。

1.2 研究方法步骤

研究方法步骤如下:①将组织蜡块制成 1 μm 组织石蜡切片。②标本经脱蜡、复水和消化进行预处理。③分别将 3/7 染色体着丝粒探针(CSP3/CSP7)及 9p16 位点/17 号染色体着丝粒探针(GLP p16/CSP17)与杂交缓冲液混合物加于玻片杂交区域在杂交仪中变性杂交。④杂交后洗涤

¹3201 医院泌尿外科(陕西汉中,723000)

²大连医科大学附属第一医院泌尿外科

通信作者:李泉林,E-mail:qlli2002@yahoo.com.cn

玻片,暗处自然干燥,滴加 DAPI 复染剂后暗处放置 10 min。⑤荧光显微镜下观察结果:满意的标本应是 75% 以上细胞核中均有杂交信号,且各通道信号均清晰可辨、杂交均匀,细胞核轮廓不清、重叠、破损及淋巴细胞不计数。遵循随机计数的原则,由两名专业人员同期计数,结果偏差较大则重新计数。在 CSP3/CSP7 组中,CSP3 荧光信号为绿色,CSP7 为橘红色;在 GLP p16/CSP17 组中,GLP p16 荧光信号为橘红色,CSP17 为绿色。正常细胞的 CSP3、CSP7、CSP17 及 GLP p16 均为二倍体,即细胞核分别可见 2 红 2 绿信号。出现多于或少于 2 个信号的非整倍性改变(染色体丢失或数目增加)、缺失或扩增即为异常。用 20 例正常尿路上皮组织的 FISH 结果建立阈值,每个探针组合计数 100 个细胞,计算出出现上述异常的细胞数所占百分比,由其均数加 3 个标准差计算出正常阈值,其特异性达 99.9%^[1]。

1.3 结果判断

计数 100 个肿瘤细胞。在 CSP3、CSP7、CSP17,少于 2 个信号点的细胞比例大于阈值为染色体丢失,多于 2 个信号点的比例大于阈值为染色体数目增加,介于两阈值之间为正常。在 GLP p16,无信号点或只有一个信号点的细胞比例大于阈值为 p16 缺失,多于 2 个信号点的比例大于阈值为 p16 扩增,介于两阈值之间为正常。分别比较各多中心灶瘤灶间 CSP3、CSP7、CSP17 及 GLP p16 异常的类型是否一致,一致则认为多中心灶为同一克隆起源,否则为独立克隆起源。

2 结果

2.1 正常尿路上皮的 FISH 检测结果及建立阈值

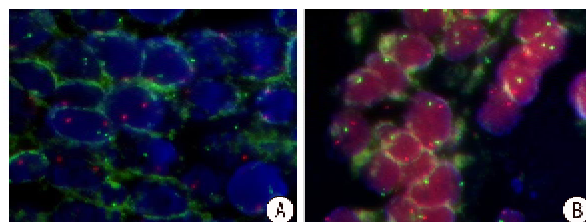
正常组织的 FISH 图像见图 1。阈值=平均值(M)+3×标准差(SD)。CSP3、CSP7、CSP17 染色体数目增加的阈值分别为 9.6%、10.8%、11.2%,染色体丢失的阈值分别为 7.2%、7.8%、6.4%;GLP p16 定位于 9p21 区带,其扩增的阈值为 5.4%,缺 1 个信号点的阈值为 13.2%,缺 2 个信号点的阈值为 6.8%。

2.2 多中心尿路上皮肿瘤的 FISH 检测结果

肿瘤组织的 FISH 图像见图 2。70 枚肿瘤中,3、7、17 号染色体数目增加的分别有 38 枚、48 枚、42 枚,染色体丢失分别有 24 枚、17 枚、18 枚,染色体无明显异常的分别有 8 枚、5 枚、10 枚。p16 位点缺失 52 枚,扩增 12 枚,无明显改变的有 6 枚。

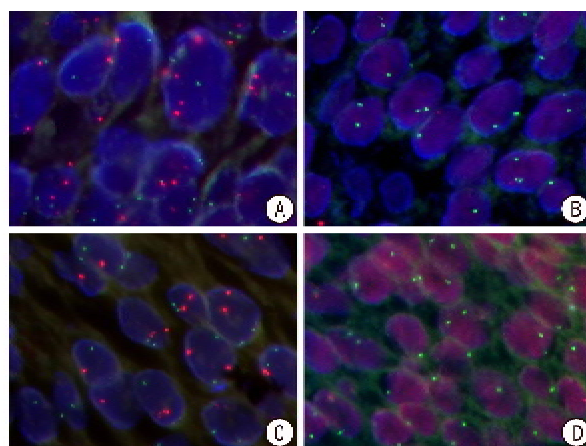
28 例患者中,18 例(同时性 17 例,异时性 1 例)多中心灶各瘤灶间 CSP3、CSP7、CSP17 及 GLP p16 变异类型完全一致;10 例(同时性 2 例,异时性 6 例,既有同时性又有异时性肿瘤 2 例)不完全一致(表 1),其中 8 例 GLP p16 变异相同(缺

失 6 例,非缺失 2 例),CSP3、CSP7、CSP17 变异不完全相同。异时性病例中,后发肿瘤比先发肿瘤染色体改变多。2 例 GLP p16 变异不同的均为异时性肿瘤,CSP3、CSP7、CSP17 变异亦不完全相同,初发肿瘤比随后发生的肿瘤染色体改变多。



A: CSP3/CSP7 DNA 探针组合杂交后荧光显微镜下图像; B: GLP p16/CSP17 DNA 探针组合杂交后荧光显微镜下图像,多为 2 红 2 绿信号

图 1 正常尿路上皮的 FISH 检测结果(×100)



A: CSP3/CSP7 DNA 探针组合杂交后图像,表现为 3、7 染色体数目增加; B: GLP p16/CSP17 DNA 探针组合杂交后图像,表现为 p16 缺失,17 号染色体数目增加; C: CSP3/CSP7 DNA 探针组合杂交后图像,表现为 3、7 染色体丢失; D: GLP p16/CSP17 DNA 探针组合杂交后图像,表现 p16 缺失,17 号染色体丢失

图 2 多中心灶 FISH 检测后荧光显微镜下图像(×100)

3 讨论

多中心尿路上皮肿瘤包括泌尿系统单个器官的多发肿瘤,及多个器官同时和(或)异时发生的肿瘤和外科手术后不同部位的复发。多中心尿路上皮肿瘤具有高复发率,高进展率和高死亡率的特点^[2]。目前对其克隆机制及克隆起源尚未阐明,主要有两种学说:场效应学说(field cancerization)^[3]认为整个尿路上皮在共同的致癌物质作用下,多中心肿瘤形成于转化细胞的独立克隆,即多克隆起源。单克隆学说认为多中心肿瘤形成于单个癌变细胞的腔内种植(intraluminal seeding)^[4]或上皮内迁移(intraepithelial migration)^[5]。由此产生的多中心灶起源于同一克隆,即单克隆起源。

表 1 多中心尿路上皮癌染色体改变不完全一致的类型

例序	肿瘤	部位	同时/异时	时间	CSP3	CSP7	GLPp16	CSP17
1	1	肾盂	同时	2011-05	+	+	—	+
	2	膀胱	同时	2011-05	0	+	—	+
2	1	输尿管	同时	2011-04	+	+	—	—
	2	膀胱	同时	2011-04	—	+	—	+
3	1	膀胱	异时	2008-09	—	—	—	0
	2	膀胱	异时	2009-02	—	+	—	0
	3	膀胱	异时	2009-08	—	—	—	—
	4	膀胱	异时	2010-10	+	+	—	—
	5	膀胱	同时	2011-03	+	+	—	—
	6	膀胱	同时	2011-03	+	+	—	—
4	1	膀胱	异时	2007-05	+	0	—	+
	2	膀胱	异时	2008-01	+	0	—	+
	3	膀胱	异时	2009-08	+	+	—	+
5	1	膀胱	异时	2008-07	0	—	—	0
	2	膀胱	异时	2009-02	—	+	—	—
	3	膀胱	异时	2010-05	—	+	—	—
	4	膀胱	异时	2010-09	—	+	—	—
6	1	输尿管	异时	2008-06	0	+	—	+
	2	膀胱	异时	2009-02	+	+	—	+
7	1	肾盂	异时	2010-08	+	+	0	0
	2	膀胱	异时	2010-11	+	+	0	+
8	1	膀胱	异时	2010-02	+	0	+	0
	2	膀胱	异时	2010-08	+	+	+	+
9	1	膀胱	异时	2004-10	+	—	+	+
	2	膀胱	异时	2009-12	0	—	—	+
	3	膀胱	异时	2010-03	—	—	—	+
	4	膀胱	同时	2011-02	+	+	—	+
	5	膀胱	同时	2011-02	+	+	—	+
10	1	膀胱	异时	1999-02	+	+	0	—
	2	膀胱	异时	2010-01	0	—	—	0

注: +表示 CSP3、CSP7、CSP17 染色体数目增加, GLP p16 扩增; —表示 CSP3、CSP7、CSP17 染色体丢失, GLP p16 缺失; 0 表示染色体改变在正常阈值范围。3、7、9、17 号染色体改变不完全一致, 9p16 位点改变相同, 表现为缺失的有 1~6 例患者, 表现为非缺失的有 7、8 例患者; 9 号染色体改变不一致的有 9、10 例患者

多中心尿路上皮癌顺尿流发生率明显高于逆尿流发生率, 一直以来单克隆学说占主导地位。然而, 对于同时或异时出现的双侧上尿路肿瘤、逆流流发生的肿瘤以及顺尿流发生但间隔时间较长的肿瘤, 难以用单克隆学说解释。Jones 等^[6]通过对多发尿路上皮癌患者 58 枚肿瘤 3 个微卫星位点的杂合性缺失分析 (LOH) 及 X 染色体失活分析 (女性 11 例), 发现大多数肿瘤间 LOH 及 X 染色体失活类型均不一致, 提示这些肿瘤为多克隆起源。研究多中心尿路上皮肿瘤的发生机制及克隆起源对于了解其生物学特性、判断预后, 以及指导临床治疗及术后监测均有重要意义。

最常见的单克隆关系的解释是肿瘤有相同的祖细胞。祖细胞分化生成很多子细胞, 子细胞通过不同的突变积累引起新的肿瘤生成, 可表现为复发

或多发肿瘤。要证明肿瘤有相同的起源, 就要证明它们有相同的祖细胞, 亦或有相似的肿瘤事件^[2]。

最近研究发现, 尿路上皮癌的发生发展与 3、7、9、17 号染色体的频发异常 (数目异常和结构畸变) 密切相关, 其中 9 号染色体的改变为早期染色体改变, 而定位于 9P21 区带的 p16 位点缺失为尿路上皮癌发生过程中一系列遗传事件中最早的染色体改变, 3、7、17 号染色体的非整倍性改变为肿瘤进展过程中染色体变异的重要环节^[7~11]。FISH 技术可检测这些染色体的改变。相同的染色体改变提示肿瘤来自同一克隆。目前已有成功将 FISH 技术用于膀胱透明细胞腺癌、肾多中心性乳头状肾癌等多项肿瘤克隆起源研究的报道^[1, 12]。

以往对多中心尿路上皮肿瘤克隆起源的研究主要集中在高级别浸润性肿瘤, 运用的分子生物学

技术如 P53 基因突变、LOH、X 染色体失活等也主要是针对染色体结构变异的分析。少数通过 FISH 技术进行克隆起源研究的报道也多是集中在对单一染色体结构变异的研究。在我们的研究中,相当一部分肿瘤为低级别非浸润性肿瘤,且通过 FISH 技术同时对 9p16 位点的结构畸变(扩增或缺失)及 3、7、17 号染色体的数目异常(增加或丢失)进行了分析,使对多中心灶染色体变异类型的比较更全面。

本组研究中,3、7、17 染色体数目增加发生率分别为 54.3%、68.6%、60.0%,9p16 缺失率为 74.3%,与文献报道基本一致^[4,5,13]。本组所有肿瘤的染色体变异类型分四种情况。

其一,多中心灶间 3、7、9、17 号染色体变异类型完全相同,为同一克隆起源。

其二,多中心灶间染色体变异不完全一致,9p16 均为缺失改变(病例 1~6)。众所周知,肿瘤发展早期出现的基因变化对判断多中心灶是否来自同一个祖细胞至关重要。定位于 9p21 区带的 p16 位点缺失作为尿路上皮癌发生过程中最早的染色体改变如果相同,该多中心灶就为共同的克隆起源,而随后出现的 3、7、17 号染色体改变为肿瘤发展的晚期事件,可出现不一致的染色体变异。本类型病例多中心灶的 9p16 位点均为缺失改变,这些多中心灶来自相同的克隆起源。

其三,多中心灶间染色体变异不完全一致,9p16 为相同的非缺失改变(病例 7、8)。Bollmann 等^[14]研究发现肿瘤细胞染色体异常的严重程度与膀胱癌的进展密切相关。也就是说,在单克隆起源肿瘤中,后发肿瘤作为原发肿瘤进展的一种表现形态,其应该比原发肿瘤有更多、更复杂的染色体改变,否则为多克隆起源可能。本类型病例虽然 P16 位点非缺失性改变不能提供最早期的遗传信息,但作为相对早期的 9 号染色体改变如果相同,且随后出现的 3、7、17 号染色体改变在肿瘤 2(后发肿瘤)多于肿瘤 1(原发肿瘤),均为从正常到染色体数目增加的进展过程,符合上述肿瘤进展规律,为单克隆起源。

其四,多中心灶的 9 号染色体改变不同。病例 9 为反复发生 4 次的膀胱尿路上皮癌,最后 1 次为多发灶(肿瘤 4、5)。初发肿瘤(肿瘤 1)9p16 位点为扩增,而随后发生的肿瘤(肿瘤 2、3、4、5)9p16 位点均为缺失。且 3 号染色体在肿瘤 1 为数目增多,肿瘤 2 为正常。根据第二、三种类型的判断方法,肿瘤 2、3、4、5 来自同一克隆起源,肿瘤 1 为独立克隆起源。同理,病例 10 肿瘤 1、2 的 9p16 位点改变不同,且 3、17 号染色体改变不符合肿瘤进展规律,为独立克隆起源。

综上所述,本研究中,26 例(92.9%)可能为相

同克隆起源,即单克隆起源,另外 2 例来自不同的细胞克隆,即多克隆起源可能。进一步比较发现,2 例被认为来自不同克隆起源的肿瘤均为异时性肿瘤,10 例同时性肿瘤均被证明来自同一克隆起源。且在异时性肿瘤中的间隔时间较短的肿瘤(3~30 个月)为单克隆,间隔时间较长的 2 枚肿瘤(分别约为 5 年和 11 年)为多克隆起源,提示多中心尿路上皮肿瘤间隔时间越久,独立克隆起源的可能性越大。

[参考文献]

- 1 Sung M T, Zhang S, Gregory T, et al. Histogenesis of clear cell adenocarcinoma in the urinary tract: evidence of urothelial origin[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14: 1947-1955.
- 2 Höglund M. On the origin of syn- and metachronous urothelial carcinomas[J]. Eur Urol, 2007, 51: 1185-1193.
- 3 Harris A L, Neal D E. Bladder cancer-field versus clonal origin[J]. N Engl J Med, 1992, 326: 759-761.
- 4 Hafner C, Knuechel R, Zanardo L, et al. Evidence for oligoclonality and tumor spread by intraluminal seeding in multifocal urothelial carcinomas of the upper and lower urinary tract[J]. Oncogene, 2001, 20: 4910-4915.
- 5 Hafner C, Knuechel R, Stoehr R, et al. Clonality of multifocal urothelial carcinomas: 10 years of molecular genetic studies[J]. Int J Cancer, 2002, 101: 1-6.
- 6 Jones T D, Wang M, Eble J M, et al. Molecular evidence supporting field effect in urothelial carcinogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11: 6512-6519.
- 7 Hurst C D, Fiegler H, Carr P, et al. High-resolution analysis of genomic copy number alterations in bladder cancer by microarray-based comparative genomic hybridization[J]. Oncogene, 2004, 23: 2250-2263.
- 8 Schlomer B J, Ho R, Sagalowsky A, et al. Prospective validation of the clinical usefulness of reflex fluorescence in situ hybridization assay in patients with atypical cytology for the detection of urothelial carcinoma of the bladder[J]. J Urol, 2010, 183: 62-67.
- 9 Veeramachaneni R, Nordberg M L, Shi R, et al. Evaluation of fluorescence in situ hybridization as an ancillary tool to urine cytology in diagnosing urothelial carcinoma[J]. Diagn Cytopathol, 2003, 28: 301-307.
- 10 Gallucci M, Guarani F, Marzano R, et al. Status of the p53, p16, RB1, and HER-2 genes and chromosomes 3, 7, 9 and 17 in advanced bladder cancer: correlation with adjacent mucosa and pathological parameters[J]. J Clin Pathol, 2005, 58: 367-371.
- 11 Phillips J L, Richardson I C. Aneuploidy in bladder cancer: the utility of fluorescent in situ hybridization in clinical practice[J]. BJU Int, 2006, 98: 33-37.

(下转第 257 页)

膀胱电切镜行输尿管口切除并未增加术后局部肿瘤种植及膀胱肿瘤复发率。本组病例有1例术后出现膀胱内新发肿瘤不能判断为种植转移,因为本组病例均有明确的木通类植物用药史,尿毒症原因为马兜铃酸肾病可能性大。而马兜铃酸除引起间质性肾炎外导致尿毒症外,还可诱发尿路上皮癌,并且有多发趋势^[1,12,13],本组病例就有3例先后双侧尿路发生。

术中应尽量保证无瘤原则,减少肿瘤种植:可先电灼患侧输尿管口防止肿瘤种植腹膜外;电切时逐层环形切开输尿管口膀胱黏膜层、浅肌层、深肌层至膀胱外脂肪,并及时止血,避免于一处挖洞式切除,易导致解剖层次不清,切除过深;后腹腔镜切肾时,先找到输尿管后于病变下端夹闭,再尽快离断肾动、静脉;直视下分离输尿管尽量向下至髂总动脉分叉以下,远离移植肾血管吻合区后,再牵拉出输尿管末端,并检查是否有电灼结痂,保证输尿管的完整性;电切术中保持电切镜清晰即可,防止膀胱内压力过高、水过多流入后腹膜,术中、术后保持尿管引流通畅并防止膀胱痉挛。另外,本组病例均为肾盂和输尿管中上段肿瘤,无下段肿瘤,我们认为,对于接近膀胱的下段肿瘤需慎重选择,因为最后输尿管末段的拖拽有可能导致因积水变薄的输尿管破裂污染术野。

在腹腔镜肾输尿管全长切除术中,远端输尿管的处理方法到目前来讲,还没有一种方法占绝对优势,而是各有优劣。总体上讲,开放术式应用最广,疗效也经过时间考验,其他术式病例尚少,随访时间也不长,尚需时间检验,各种术式还需要互相比。随着腹腔镜技术的发展,特别是单孔腹腔镜的开展,相信完全腹腔镜下的全长切除将得到更广泛的应用。

[参考文献]

- 1 范宇,钱叶勇,石炳毅,等.肾移植术后并发恶性肿瘤分析[J].解放军医学杂志,2007,32(5):529-530.
- 2 王云彬,谢立平.腹腔镜肾输尿管全长切除术研究进展[J].国际泌尿系杂志,2006,26(4):486-489.

- 3 Lutz J, Heemann U. Tumours after kidney transplantation [J]. Curr Opin Urol, 2003, 13: 105-109.
- 4 方自林,周晓峰,杨志豪,等.国内肾移植后并发尿路恶性肿瘤85例分析[J].中国性科学,2009,18(2):9-11.
- 5 张旭,叶章群,何延瑜,等.腹腔镜根治性肾输尿管切除术治疗上尿路肿瘤[J].临床泌尿外科杂志,2003,18(11):653-655.
- 6 黄健,许可慰,韩金利,等.完全腹腔镜下肾输尿管全切术(附9例报告)[J].中国内镜杂志,2004,10(11):25-31.
- 7 Valdivia Uriá J G, López López J A, Bayo Ochoa A, et al. Endoscopic ureterectomy [J]. Arch Esp Urol, 1991, 44: 573-575.
- 8 El Fettouh H A, Rassweiler J J, Schulze M, et al. Laparoscopic radical nephroureterectomy: results of an international multicenter study [J]. Eur Urol, 2002, 42: 447-452.
- 9 Manabe D, Saika T, Ebara S, et al. Comparative study oncologic outcome of laparoscopic nephroureterectomy and standard nephroureterectomy for upper tract transitional cell carcinoma [J]. Urology, 2007, 69: 457-461.
- 10 Hattori R, Yoshino Y, Gotoh M, et al. Laparoscopic nephroureterectomy for transitional cell carcinoma of renal pelvis and ureter: Nagoya experience [J]. Urology, 2006, 67: 701-705.
- 11 Ko R, Chew B H, Hickling D R, et al. Transitional-cell carcinoma recurrence rate after nephroureterectomy in patients who undergo open excision of bladder cuff vs transurethral incision of the ureteral orifice [J]. J Endourol, 2007, 21: 730-734.
- 12 刘广华,李汉忠,王惠君,等.肾移植术后恶性肿瘤的发病类型和治疗[J].中国医学科学院学报,2009,31(3):288-291.
- 13 胡小鹏,马麟麟,张小东,等.肾移植术后并发尿路上皮肿瘤的临床分析[J].中华泌尿外科杂志,2006,27(7):493-495.

(收稿日期:2012-02-14)

(上接第254页)

- 12 Jones T D, John N, Eble J N, et al. Molecular genetic evidence for the independent origin of multifocal papillary tumors in patients with papillary renal cell carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11: 7226-7233.
- 13 Ishiwata S, Takahashi Y, Tanka Y, et al. Noninvasive detection and prediction of bladder cancer by fluorescence in situ hybridization analysis exfoliated urothelia

cell in voided urine [J]. J Urol, 2001, 57: 811-815.

- 14 Boolmann M, Heller H, Bankfalvi A, et al. Quantitative molecular urinary cytology by fluorescence in situ hybridization: a tool for tailoring surveillance of patients with superficial bladder cancer [J]. BJU Int, 2005, 95: 1219-1225.

(收稿日期:2012-10-08)