

荧光原位杂交技术在泌尿系鳞癌诊断中的应用*

陈博文¹ 舒博¹ 柯春锦² 刘正浩² 朱俊雨² 曾星² 胡志全² 杨春光²

[摘要] 目的:利用荧光原位杂交技术(FISH)分析泌尿系鳞癌中染色体畸变情况,探讨泌尿系鳞癌与尿路上皮癌中染色体的畸变特征。方法:回顾性分析2016年1月—2021年8月华中科技大学同济医学院附属同济医院收治的8例泌尿系鳞癌伴血尿并行FISH检测的患者,同时选取523例FISH检测的血尿患者标本作为对照,其中尿路上皮癌340例,非尿路上皮癌183例。结果:8例泌尿系鳞癌伴血尿患者中,4例肾脏鳞癌,其中2例为原发性肾脏鳞癌,1例为食管癌来源的肾脏鳞癌,1例为肺癌来源的肾脏鳞癌;2例原发性膀胱鳞癌;2例输尿管鳞癌,均来源于宫颈鳞癌侵犯。尿FISH诊断泌尿系鳞癌的灵敏度为62.5%(5/8);阳性患者中3号、7号染色体基因扩增率均为100%(5/5),17号染色体基因扩增率为80%(4/5),GLPp16位点的基因缺失率为40%(2/5);与尿路上皮癌比较,FISH诊断泌尿系鳞癌的效能差异无统计学意义(62.5% vs 75.9%, $\chi^2=0.758, P=0.306$);3号、7号、17号染色体及GLPp16的基因扩增或缺失的比例在尿路上皮癌与泌尿系鳞癌中的差异无统计学意义($\chi^2=0.442, 0.352, 0.003, 0.566, P>0.05$);4例转移性泌尿系鳞癌的FISH灵敏度为50%(2/4)。结论:原发性或转移性泌尿系鳞癌患者尿FISH均可呈阳性;泌尿系鳞癌和尿路上皮癌尿FISH灵敏度无显著差异。

[关键词] 荧光原位杂交技术;UroVysion;鉴别诊断;鳞状细胞癌;尿路上皮癌

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2023.04.010

[中图分类号] R737.1 **[文献标志码]** A

Application of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of squamous cell carcinoma of urinary system

CHEN Bowen¹ SHU Bo¹ KE Chunjin² LIU Zhenghao² ZHU Junyu²
ZENG Xing² HU Zhiquan² YANG Chunguang²

(¹Department of Urology, The Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430014, China; ²Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology)

Corresponding author: YANG Chunguang, E-mail: beibingyangno4@163.com

Abstract Objective: To analyze the chromosome aberration in urinary squamous cell carcinoma and explore the characteristics of chromosome aberration in urinary squamous cell carcinoma and urothelial carcinoma by Fluorescence in situ hybridization (FISH). **Methods:** From January 2016 to August 2021, 8 patients with urothelial squamous cell carcinoma and hematuria detected by FISH in Tongji Hospital were analyzed retrospectively. At the same time, 523 patients with hematuria detected by FISH were selected as the control, including 340 cases of urothelial carcinoma and 183 cases of non-urothelial tumors. The expression of chromosomes 3, 7 and 17 and GLPp16 in 8 cases of urinary squamous cell carcinoma were detected by FISH. **Results:** Among the 8 cases of urinary squamous cell carcinoma and hematuria, 4 cases were renal squamous cell carcinoma, including 2 cases of primary renal squamous cell carcinoma, 1 case of renal squamous cell carcinoma arise from esophagus and 1 case of renal squamous cell carcinoma arise from lung. Other 4 cases included 2 cases of primary bladder squamous cell carcinoma and 2 cases of ureteral squamous cell carcinoma, all arise from cervical squamous cell carcinoma. The sensitivity of urinary FISH in the diagnosis of urinary squamous cell carcinoma were 62.5% (5/8). The gene amplification rate of chromosome 3 and 7 was 100% (5/5), the gene amplification rate of chromosome 17 was 80% (4/5), and the gene deletion rate of GLPp16 locus was 40% (2/5). Compared with urothelial carcinoma, there was no significant difference in the efficacy of FISH in the diagnosis of urinary squamous cell carcinoma (62.5% vs 75.88%, $\chi^2=0.758, P=0.306$). There was no significant difference in the proportion of amplification or deletion of chromosome 3, 7, 17 or GLPp16 gene between urothelial carcinoma and urinary squamous cell carcinoma ($\chi^2=0.442, 0.352, 0.003, 0.566, P>0.05$). The sensitivity of FISH in the diagnosis of squamous cell carcinoma

*基金项目:国家自然科学基金(No:81702989)

¹华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院泌尿外科(武汉,430014)

²华中科技大学同济医学院附属同济医院泌尿外科

通信作者:杨春光, E-mail: beibingyangno4@163.com

ma was 50% (2/4). **Conclusion:** There is no significant difference between the efficacy of FISH in the diagnosis of urinary squamous cell carcinoma and urothelial carcinoma. FISH detection can be used for the noninvasive diagnosis of urinary squamous cell carcinoma. Not all urinary FISH positive tumors are urothelial carcinoma.

Key words fluorescence in situ hybridization; UroVysion; differential diagnosis; squamous cell carcinoma; urothelial carcinoma

泌尿系统恶性肿瘤是泌尿外科的常见疾病,而泌尿系鳞癌少见,且临床表现缺乏特异性^[1-2]。相对于尿路上皮癌、前列腺癌和肾癌,泌尿系鳞癌恶性程度更高、预后更差^[3-4]。尿荧光原位杂交技术(FISH)检测诊断尿路上皮癌具有较高的灵敏度与特异度^[5],目前在国内的应用日益广泛,但目前尚无尿FISH应用于泌尿系鳞癌临床诊断的研究报道。临床实践中泌尿系鳞癌并血尿患者尿FISH可呈阳性,提醒泌尿外科医生对尿FISH阳性患者的诊断持开放性态度。故本研究以泌尿系鳞癌为主要研究对象,评估FISH在泌尿系鳞癌检测中的应用价值,探索泌尿系鳞癌染色体畸变的特征。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2016年1月—2021年8月华中科技大学同济医学院附属同济医院收治的8例泌尿系鳞癌伴血尿并行尿FISH检测的患者,一般资料见表1。纳入标准:①经病理和临床资料证实为泌尿系鳞癌患者;②患者在手术前接受了尿FISH检测。排除标准:有尿路上皮肿瘤病史或尿路感染的患者。同时,收集因血尿在我院接受FISH检测的其他523例患者的临床资料,其中尿路上皮癌340例,非尿路上皮癌183例,并将这些患者作为对照组。

表1 8例泌尿系鳞癌患者的一般情况

编号	性别	年龄/岁	FISH(+/-)	病理诊断	治疗
1	男	39	-	肾鳞状细胞癌	肾部分切除术
2	女	52	+	肾鳞状细胞癌	肾根治术
3	男	63	+	肾鳞状细胞癌(肺来源)	肾根治术
4	男	56	+	肾鳞状细胞癌(食管来源)	肾根治术
5	女	63	-	输尿管鳞状细胞癌(宫颈来源)	肾、输尿管切除术
6	女	61	-	输尿管鳞状细胞癌(宫颈来源)	肾、输尿管切除术
7	男	61	+	膀胱鳞状细胞癌	膀胱根治术
8	男	50	+	膀胱鳞状细胞癌	膀胱根治术

注:FISH(+)表示阳性;FISH(-)表示阴性。

1.2 FISH 检测方法

FISH检测使用p16基因位点特异性探针/17号染色体着丝粒特异性探针GLPp16/CSP17,3号/7号染色体着丝粒特异性探针CSP3/CSP7。术前留取晨尿200 mL,1 h内送检处理。

1.3 FISH 结果判定标准

正常上皮细胞的3、7、17号染色体丝粒探针以及9号GLPp16位点均为二倍体,表现为细胞核可见2个红色和2个绿色信号(图1,1号患者)。若细胞中出现不同于上述二倍体的非二倍体改变,即为阳性表现(图2,2号患者);其中,3、7、17号染色体主要是多倍体改变,即每个细胞核内出现的信号多于2个,9号GLPp16位点主要表现为缺失,即每个细胞核内出现的信号少于2个。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析,以术后的病理诊断为金标准。统计数据采用独立t检验和 χ^2 检验,当数据有限时,使用Fisher精确检

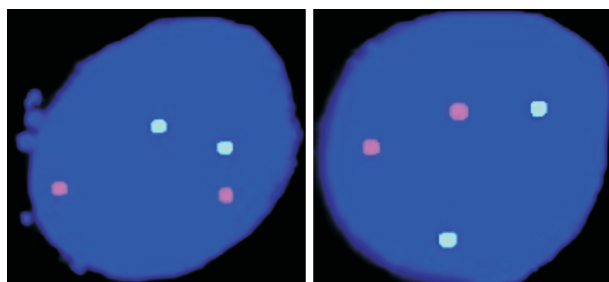
验。分别计算FISH在尿路上皮癌与泌尿系鳞癌中的灵敏度、特异度,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尿FISH在泌尿系鳞癌和尿路上皮癌检测中的情况

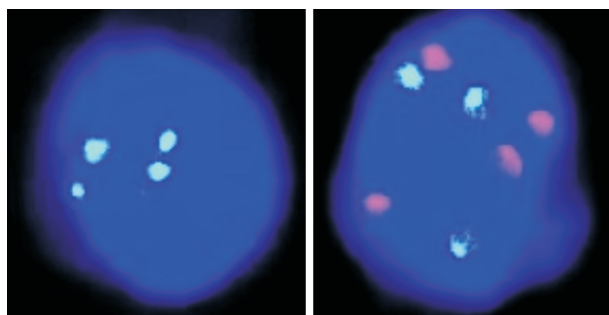
8例泌尿系鳞癌伴血尿患者中,4例为肾脏鳞癌,其中2例为原发性肾脏鳞癌,1例为食管癌继发的肾脏鳞癌,1例为肺癌继发的肾脏鳞癌;2例为原发性膀胱鳞癌;2例为输尿管鳞癌,均来源于宫颈癌侵犯。8例泌尿系鳞癌患者中,尿FISH阳性5例,尿FISH诊断泌尿系鳞癌的灵敏度为62.5%(5/8)。对照组523例,其中尿路上皮癌340例,阳性258例,阴性82例;非尿路上皮癌患者183例,阳性18例,阴性165例。尿FISH诊断尿路上皮癌的灵敏度和特异度分别为75.88%(258/340)和90.16%(165/183)。由此可得出,尿FISH在泌尿系鳞癌与尿路上皮癌的诊断效能无显著差异

(62.5% vs 75.88%, $\chi^2 = 0.758, P = 0.306$); 4 例转移性泌尿系鳞癌中,肾脏鳞癌的灵敏度较 100% (2/2) 输尿管鳞癌的灵敏度 0(0/2) 高。见表 2。



红色代表 CSP7 和 GLPp16,绿色代表 CSP3 和 CSP17。

图 1 1 号患者尿 FISH 检测结果



3、7、17 号染色体扩增, GLPp16 位点缺失; 红色代表 CSP7 和 GLPp16,绿色代表 CSP3 和 CSP17。

图 2 2 号患者尿 FISH 检测结果

表 2 尿 FISH 在泌尿系鳞癌、尿路上皮癌与非尿路肿瘤患者中的检测情况比较

组别	FISH		P 值
	+	-	
泌尿系鳞癌(8 例)	5	3	0.306 ¹⁾
尿路上皮癌(340 例)	258	82	<0.05 ²⁾
非尿路上皮癌(183 例)	18	165	<0.05 ³⁾

注: ¹⁾ 泌尿系鳞癌与尿路上皮癌比较; ²⁾ 尿路上皮癌与非尿路上皮癌比较; ³⁾ 泌尿系鳞癌与非尿路上皮癌比较。

2.2 尿 FISH 阳性在泌尿系鳞癌中遗传物质改变情况

5 例泌尿系鳞癌中,3 号、7 号染色体基因扩增率均为 100% (5/5), 17 号染色体基因扩增率为 80% (4/5), GLPp16 位点的基因缺失率为 40% (2/5), 3 号、7 号、17 号染色体及 GLPp16 的基因扩增或缺失在尿路上皮癌与泌尿系鳞癌中无显著差异 ($\chi^2 = 0.442, 0.352, 0.003, 0.566, P > 0.05$)。见表 3。

表 3 泌尿系鳞癌尿 FISH 阳性的染色体畸变情况

编号	性别	年龄/岁	染色体是否扩增/缺失			
			CSP3	CSP7	GLPp16	CSP17
1	女	52	1	1	1	0
2	男	61	1	1	1	1
3	男	50	1	1	0	1
4	男	63	1	1	0	1
5	男	56	1	1	0	1

注: 1=染色体扩增/缺失; 0=无染色体扩增/缺失。

3 讨论

虽然泌尿系鳞癌的发病率低,但相对于尿路上皮癌,其进展更快,浸润性更强,转移更早,预后更差。而且,泌尿系鳞癌血尿等临床表现不特异,极易误诊为尿路上皮癌。笔者在临床工作中发现,泌尿系鳞癌的患者尿 FISH 检测也可呈阳性,这引起了我们的研究兴趣。

FISH 技术结合了分子生物学技术灵敏与细胞遗传技术直观的特点,能检测核染色体数目和结构变化,且可早于病理变化,因而可以用于肿瘤的早期诊断^[6]。FISH 的原理是使用荧光标记的 GLPp16 位点特异性探针和与目标 DNA 原位杂交的 CSP3/CSP7/CSP17 染色体着丝粒特异性探针。如果肿瘤细胞在 3 号、7 号、17 号或 9p16 号染色体上出现畸变,且癌细胞脱落到尿液中,理论上尿 FISH 检测结果可能呈阳性。

许多研究评估了 FISH 在尿路上皮癌诊断中的应用^[7-8],而在非尿路上皮癌中研究较少。本研究发现,泌尿系鳞癌伴血尿的 FISH 阳性率为 62.5%,尿 FISH 在泌尿系鳞癌与尿路上皮癌的诊断灵敏度无显著性差异。同时,本研究表明,3 号、7 号染色体基因扩增率均为 100% (5/5), 17 号染色体基因扩增率为 80% (4/5), GLPp16 位点的基因缺失率为 40% (2/5), 3 号、7 号、17 号染色体及 GLPp16 的基因扩增或缺失在尿路上皮癌与泌尿系鳞癌中无显著差异。Zhou 等^[7]在中国对 4125 例行 FISH 检测的尿路上皮癌患者进行的一项多中心大数据研究中发现,3 号、7 号和 17 号染色体的多倍性以及 GLPp16 位点的基因变化分别占尿路上皮癌病例的 71.3% (2941/4125)、72.2% (2978/4125)、67.4% (2780/4125) 和 72.9% (3007/4125),这与本研究中泌尿系鳞癌的 3 号、7 号、17 号染色体及 GLPp16 的基因扩增或缺失的变化亦无明显差异 ($\chi^2 = 2.012, 1.925, 0.361, 2.733, P > 0.05$)。

有研究表明,对于转移性和高度恶性的肿瘤患者,肿瘤细胞有许多遗传异常^[9]。Kipp 等^[10]和 Reid-Nicholson 等^[11]发现一些泌尿系非尿路上皮癌患者,其组织学 FISH 结果呈阳性,揭示了泌尿

系肿瘤在染色体畸变方面有一定的共性特征,不过上述研究未行尿 FISH 检测以验证临床检测效能。本研究初步证实,对于原发性或转移性泌尿系鳞癌患者,尿 FISH 结果可以呈阳性。因此,对于尿 FISH 结果呈阳性的患者,除了尿路上皮癌,同时也应该考虑到泌尿系原发鳞癌或转移鳞癌等可能性。

有研究行膀胱鳞癌组织学检测发现行 3 号、7 号、17 号染色体的扩增与尿路上皮癌未见明显差异^[12],与本研究结果一致。对于肾脏鳞癌的辅助诊断,临床上主要是依靠影像学检查和尿脱落细胞学检查^[13],但阳性率低、特异性差的缺点使肾脏鳞癌的早期诊断非常困难。目前输尿管鳞癌染色体改变的研究较少,本研究中输尿管鳞癌的 FISH 阳性率低,可能是其遗传物质改变与所使用的探针不匹配。这提示我们可以基于输尿管鳞癌的染色体畸变特征,设计匹配的探针用于检测,以提高其诊断灵敏度和特异度。此外,邱晓拂等^[14]研究表明 FISH 在膀胱癌术后复发检测方面应用价值较高, Yoder 等^[15]研究中发现膀胱镜和尿细胞学检查阴性而尿 FISH 阳性的患者,随访中有 63.0% 复发,而尿 FISH 阴性的患者仅有 5.2% 复发。这表明尿 FISH 检测可以监测膀胱癌的复发情况;除此以外,该研究还发现,5 例非尿路上皮癌患者尿 FISH 检测阳性,认为 FISH 技术能检测膀胱腺癌的发生。上述结果提示,FISH 技术既可用于泌尿系鳞癌的诊断,也可以用于泌尿系鳞癌术后监测。

综上所述,尿 FISH 可以用于泌尿系鳞癌早期无创诊断。虽然 FISH 技术耗时、昂贵、无法定位肿瘤^[16],但其具有灵敏度高、特异度高、无创等优点,在尿路上皮癌、泌尿系鳞癌和腺癌的诊断中会继续扮演重要角色。由于本研究样本数较少,难免存在偏倚,需要前瞻性研究并加大样本量进一步明确 FISH 在泌尿系鳞癌诊断和监测中的应用价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Holmång S, Lele SM, Johansson SL. Squamous cell carcinoma of the renal pelvis and ureter: incidence, symptoms, treatment and outcome[J]. *J Urol*, 2007, 178(1):51-56.
- [2] Kirkali Z, Tuzel E. Transitional cell carcinoma of the ureter and renal pelvis[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2003, 47(2):155-169.
- [3] Lopez-Beltran A, Cheng L. Histologic variants of urothelial carcinoma: differential diagnosis and clinical implications[J]. *Hum Pathol*, 2006, 37(11):1371-1788.
- [4] Reuter VE. The pathology of bladder cancer[J]. *Urology*, 2006, 67(3 Suppl 1):11-7; discussion 17-18.
- [5] Song MJ, Lee H, Kim SH. Clinical usefulness of fluorescence in situ hybridization for diagnosis and surveillance of bladder cancer[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 198(2):144-150.
- [6] 杨涛,李燕,王刚,等. 尿脱落细胞 FISH 检测方法与 CT 扫描及尿细胞学检测在上尿路尿路上皮肿瘤诊断中的应用及对比[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(7):1727-1729.
- [7] Zhou L, Yang K, Li X, et al. Application of fluorescence in situ hybridization in the detection of bladder transitional-cell carcinoma: A multi-center clinical study based on Chinese population[J]. *Asian J Urol*, 2019, 6(1):114-121.
- [8] Kojima T, Nishiyama H, Ozono S, et al. Clinical evaluation of two consecutive UroVysion fluorescence in situ hybridization tests to detect intravesical recurrence of bladder cancer: a prospective blinded comparative study in Japan[J]. *Int J Clin Oncol*, 2018, 23(6):1140-1147.
- [9] Lopez-Beltran A, Requena MJ, Cheng L, et al. Pathological variants of invasive bladder cancer according to their suggested clinical significance [J]. *BJU Int*, 2008, 101(3):275-281.
- [10] Kipp BR, Tyner HL, Campion MB, et al. Chromosomal alterations detected by fluorescence in situ hybridization in urothelial carcinoma and rarer histologic variants of bladder cancer[J]. *Am J Clin Pathol*, 2008, 130(4):552-559.
- [11] Reid-Nicholson MD, Ramalingam P, Adeagbo B, et al. The use of Urovysion fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and surveillance of non-urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(1):119-127.
- [12] Nadler N, Kvich L, Bjarnsholt T, et al. The discovery of bacterial biofilm in patients with muscle invasive bladder cancer[J]. *APMIS*, 2021, 129(5):265-270.
- [13] 陈艺林,原发性肾鳞癌 4 例病例报告及文献复习[J]. *广西医科大学*, 2019, 34(8):52.
- [14] 邱晓拂,胡卫列,吕军,等. 荧光原位杂交技术检测尿脱落细胞在 TURBt 术后复发监测中的应用价值[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2011, 32(8):561.
- [15] Yoder BJ, Skacel M, Hedgepeth R, et al. Reflex UroVysion testing of bladder cancer surveillance patients with equivocal or negative urine cytology: a prospective study with focus on the natural history of anticipatory positive findings[J]. *Am J Clin Pathol*, 2007, 127(2):295-301.
- [16] 黄建文,安瑞华,李运伟,等. 荧光原位杂交技术在膀胱尿路上皮癌诊断中的应用价值[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2012, 33(12):918-921.

(收稿日期:2022-07-27)