

荧光原位杂交检查在上尿路尿路上皮癌诊断中的应用价值

朱文标¹ 陈会林¹ 郑少秋¹ 肖焕钦¹ 谢寿城¹ 江惠明²

[摘要] 目的:评价荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)检查作为一种无创方法辅助诊断上尿路尿路上皮癌(upper tract urothelial carcinoma,UTUC)的临床应用,并评价 FISH 检查解决细胞学检查结果中定义不明确但常用的不典型类别的局限性的价值。**方法:**回顾性分析 2017 年 10 月—2023 年 3 月梅州市人民医院连续纳入的可疑 UTUC 经输尿管镜检查及病理活检明确诊断并术前行细胞学检查及 FISH 检查的 136 例患者的临床资料,其中肾盂或输尿管尿路上皮癌 119 例,良性病变 17 例。比较细胞学检查及 FISH 检查对 UTUC 诊断的灵敏度和特异度;对于细胞学检查结果归入不典型细胞学类别的病例,绘制 FISH 检查的受试者工作特征(receiver operator characteristic curve,ROC)曲线,评价 FISH 检查解决这类局限性的价值。**结果:**细胞学检查及 FISH 检查对 UTUC 诊断的灵敏度分别为 24.4%、67.2%;特异度分别为 100%、94.1%,FISH 检查对 UTUC 诊断优于细胞学检查($\chi^2=13.862, P<0.01$)。对细胞学检查结果归类为不典型类别的病例,FISH 检查对 UTUC 诊断的灵敏度为 74.4%,特异度为 100%;阳性预测值为 100%;阴性预测值为 15.4%;ROC 曲线下面积(area under ROC,AUC)为 0.872(95%置信区间:0.737~1.000)。**结论:**FISH 检查对 UTUC 诊断优于细胞学检查,可作为术前诊断 UTUC 的无创诊断方法之一;FISH 检查可以成为解决细胞学检查结果定义不明确但常用的不典型细胞学类别的局限性的有用工具。

[关键词] 荧光原位杂交;上尿路尿路上皮癌;应用价值

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2023.11.008

[中图分类号] R737.14 **[文献标志码]** A

Utility of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of upper tracturothelial carcinoma

ZHU Wenbiao¹ CHEN Huilin¹ ZHENG Shaoqiu¹ XIAO Huanqin¹
XIE Shoucheng¹ JIANG Huiming²

(¹Department of Pathology, Meizhou Clinical Institute of Shantou University Medical College, Meizhou People's Hospital, Meizhou, Guangdong, 514031, China;²Department of Urology, Meizhou Clinical Institute of Shantou University Medical College, Meizhou People's Hospital)
Corresponding author: JIANG Huiming, E-mail: jianghm0228@163.com

Abstract Objective: To evaluate the clinical utility of fluorescence in situ hybridization (FISH) in the detection of upper tract urothelial carcinoma (UTUC). **Methods:** From October 2017 to March 2023, 136 cases of consecutive patients with suspected UTUC and confirmed by pathologic diagnosis were enrolled. There were 119 cases of renal pelvis or ureteral urothelium carcinoma and 17 cases of benign lesions. Sensitivity and specificity of FISH test and cytology were determined and compared. For cases classified as atypical cytological categories that were not clearly defined but commonly used in cytology, receiver operator characteristic curve(ROC) was drawn for FISH examination to evaluate the value of FISH in interpreting these limitations. **Results:** For FISH analysis, the sensitivity was 67.2% and specificity was 94.1%. For cytology, the sensitivity was 24.4% and specificity was 100%. FISH was superior to cytology on the performance for diagnosis of UTUC($\chi^2=13.862, P<0.01$). For cases classified as atypical by cytology, the sensitivity and specificity of FISH were 74.4%, 100%, respectively. The positive predictive value was 100%. The negative predictive value was 15.4%. The area under the ROC curve (AUC) was 0.872(95% confidence interval: 0.737—1.000). **Conclusion:** FISH has superior sensitivity and similar specificity in the detection of UTUC, compared with cytology. In patients with equivocal cytology, a reflex FISH assay may help avoid unnecessary evaluation while identifying those who would need further evaluation.

Key words fluorescence in situ hybridization; upper tract urothelial carcinoma; utility

¹汕头大学医学院梅州临床学院(梅州市人民医院)病理科(广东梅州,514031)

²汕头大学医学院梅州临床学院(梅州市人民医院)泌尿外科

通信作者:江惠明,E-mail:jianghm0228@163.com

上尿路尿路上皮癌(upper tract urothelial carcinoma, UTUC)较少见,仅占所有尿路上皮癌的5%~10%;与膀胱癌相比,UTUC的分级和分期较高,预后较差^[1]。根治性肾输尿管切除术合并同侧膀胱袖状切除已成为UTUC的标准治疗方法^[2]。由于这种手术将不可逆的切除一侧肾脏,可导致不同程度的肾功能不全,因此UTUC术前准确诊断是至关重要的。输尿管镜检查及可疑部位活检病理诊断是UTUC诊断的金标准^[1-2]。但该检查是一种有创性检查,具有较高的医疗成本及风险,如可能带来的疼痛和对比剂反应、尿路粘连狭窄、尿路感染等。近年来,UTUC的无创诊断技术受到广泛关注^[3]。尿细胞学检查经证明是一种无创、成本低而有效的膀胱癌检查方法,也应用于UTUC的诊断及术后监测,具有较高的特异度,但其灵敏度相对较低,特别是还有一个定义不明确但常用的诊断类别:不典型细胞学类别,其意义不确定,给临床医师带来很大困惑^[4]。多探针荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检查可望成为解决这些问题的有用工具。一种包含染色体的着丝粒3、7、17和p16位点9p21的FISH探针在膀胱癌的术前诊断及术后监测中广泛应用。细胞遗传学研究表明,UTUC的核型异常与膀胱癌类似^[5],因此,考虑将FISH检查应用于UTUC的诊断;研究显示FISH检查比细胞学检查具有更高的灵敏度和等效的特异度^[6],FISH检查对于澄清归类为不典型的细胞学发现有较大价值^[5-7]。但FISH检查作为一种诊断UTUC的无创方法的临床应用尚未取得共识,部分研究结果认为FISH检查对UTUC的监测效果有限^[8]。本研究采用连续纳入的方法,回顾性分析单中心较长时间较大样本的临床可疑UTUC且经金标准明确诊断并术前行细胞学检查及FISH检查的病例资料,评价FISH检查作为一种辅助诊断UTUC的无创方法的临床应用,并评价其解决细胞学检查结果中定义不明确但常用的不典型类别的应用价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

纳入标准:纳入2017年10月—2023年3月在梅州市人民医院临床及影像检查可疑UTUC,并经输尿管镜检查病理活检诊断或手术病理诊断获得标准诊断,输尿管镜检查前或手术前有细胞学检查及FISH检查结果的病例。排除标准:合并膀胱癌、尿道癌等下尿路癌的病例。

符合标准连续纳入患者136例,男89例,女47例;年龄25~94岁,平均(66.6±11.7)岁,中位年龄70岁。肾盂或输尿管癌119例,其中高级别UTUC 100例,低级别UTUC 19例;良性病变17例。

1.2 细胞学检查及诊断结果分组

病例的细胞学检查方法均遵循以下标准操作流程:收集患者清晨中段尿10 mL,按细胞学检查常规制片:离心半径15 cm,2 000 r/min离心10 min,将离心后的尿液沉渣标本采用推片法制作细胞涂片2~3张,苏木精-伊红染色,交由细胞病理医师诊断。以细胞学检查病理报告为标准分组:查见癌细胞、可疑或考虑癌细胞分为阳性组;未见癌细胞及见不典型细胞归为阴性组。每个病例连续送检3次以上,只要有1次检查结果报告为阳性,则归入阳性组。

1.3 FISH检查及诊断结果分组

病例的FISH检查方法均遵循以下标准操作流程:收集患者清晨中段尿>50 mL,按尿液脱落细胞学染色体及基因异常FISH检查标准作业程序进行制片。检查试剂盒为广州安必平有限公司膀胱癌细胞染色体及基因异常检查试剂盒。样品简要处理过程为:离心半径15 cm,2 000 r/min离心10 min,去上清,沉淀经0.075 mmol/L氯化钾低渗处理后,加适量固定液(固定液为甲醇及冰醋酸混合溶液,比例为甲醇:冰醋酸=3:1)混匀固定30 min,2 000 r/min离心5 min,去上清后加少量固定液混匀继续固定2 h以上,取细胞悬液10 μ L滴加到载玻片上制成细胞滴片;然后雅培 Thermo-Brite 原位杂交仪上按设定的程序进行变性、杂交,洗涤及复染后交由病理医师判读,判读程序及标准严格遵循试剂说明书,简要的标准为:当杂交液Ⅰ区(CSP3、CSP7和CSP17探针)至少4个细胞中,三色信号有2或3色出现点增多或有一色点出现增多并杂交液Ⅱ区(GSP P16和CSP3探针)至少12个细胞有红色点缺失,结果判定为阳性;整张玻片都被分析过了,未发现满足上述条件的情况判读为阴性。以存档病历FISH检查报告为标准分为阳性组及阴性组。

1.4 统计学方法

应用SPSS 23.0统计软件进行数据分析,以组织病理检查结果为金标准,统计细胞学检查、FISH检查诊断UTUC的灵敏度、特异度;采用配对 χ^2 检验比较2种检查方法的差异;对细胞学检查结果归类为不典型的病例,采用受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)评价FISH检查澄清细胞学检查结果归类为不典型的病例的诊断价值。检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞学检查及FISH检查对UTUC的诊断灵敏度及特异度比较

经金标准诊断UTUC 119例,细胞学检查及FISH检查对UTUC的诊断结果见表1,细胞学检查阳性29例,诊断灵敏度为24%(29/119),特异度

为 100%(17/17);阳性预测值为 100%(29/29)阴性预测值为 16%(17/107)。FISH 检查阳性 80 例,诊断灵敏度为 67%(80/119),特异度为 94%(16/17);阳性预测值为 99%(80/81),阴性预测值为 29%(16/55)。FISH 检查的灵敏度显著优于细胞学检查($\chi^2=13.862, P<0.01$);FISH 检查的特异度与细胞学检查差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 136 例临床及影像可疑 UTUC 的细胞学检查及 FISH 检查结果

金标准	细胞学		FISH		合计
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	29	90	80	39	119
阴性	0	17	1	16	17
合计	29	107	81	55	136

2.2 FISH 检查对细胞学检查结果归类为不典型病例的诊断价值

细胞学检查结果归类为不典型的病例 45 例,见表 2。其中 UTUC 43 例,FISH 检查阳性 32 例,诊断灵敏度为 74%(32/43);特异度为 100%(2/2);ROC 曲线下面积(area under ROC, AUC)为 0.872(95%置信区间:0.737~1.000)。FISH 检查对细胞学检查结果归类为不典型的病例的诊断具有较高价值。

表 2 临床及影像可疑 UTUC 细胞学检查结果归类为不典型的病例的 FISH 检查结果

金标准	FISH		合计
	阳性	阴性	
阳性	32	11	43
阴性	0	2	2
合计	32	13	45

3 讨论

本研究结果支持 FISH 检查诊断 UTUC 优于细胞学检查,对于在临床实践中细胞学检查报告上定义不明确但常用的不典型细胞学类别,FISH 检查可以成为解决这些局限性的有用工具。本研究是采用连续纳入的方法对单中心的较长时间较大样本的存档病例的资料进行的分析,尽可能地避免了分析者的主观偏倚。但部分偏倚及混杂因素不可避免:首先是细胞学检查及 FISH 检查均是以形态学为基础的评估,尽管有相应的培训及规范指导,但检查结果很大程度上取决于观察者的培训、经验和诊断信心,尤其是不典型细胞学类别的归类^[4,6-8]。其次,纳入研究的病例均为临床可疑 UTUC 并同时满足存档组织病理、细胞学检查及 FISH 检查结果资料的病例,临床确诊但未行病理检查的晚期患者被排除在外,对灵敏度的评估造成一定的偏差。再次,研究的对象为疑诊患者,无法

评估检查方法对一般人群的诊断特异度。

Sassa 等^[9]前瞻性的评估了 FISH 检查在 UTUC 中的效用。FISH 检查和细胞学检查在高级别尿路上皮癌中的灵敏度分别为 60.0%(45/75)和 28.0%(21/75)。FISH 检查表现出比细胞学检查更高的灵敏度。FISH 检查和细胞学检查的特异度分别为 84.0%(21/25)和 100%(25/25);FISH 检查和细胞学检查之间的特异度差异无统计学意义,其研究结果与本文一致,作者认为细胞学检查与 FISH 检查相结合可以提高 UTUC 的诊断准确性。Eismann 等^[10]回顾性分析了德国慕尼黑大学附属医院因局限于肾盂输尿管的 UTUC 而行根治性肾输尿管切除术的 155 例患者,评估 FISH 检查对最终病理诊断 T 期的影响。与术前先行 FISH 检查的队列比较,术前行 FISH 检查的队列的最终 T 分期小于 T₁ 期的病例比例明显提高,部分原因可能是 FISH 检查对小或浅表的 UTUC 患者的诊断有帮助,FISH 检查对 UTUC 术后病理分期具有重要的预测作用。Xu 等^[11]分析了北京大学第一附属医院因 UTUC 而行根治性肾输尿管切除术,并同时满足单个肿瘤、细胞学检查未发现高级别肿瘤和 CT 检查未发现肿瘤浸润性生长的条件而术前被评估为“低危”UTUC 的病例 129 例,评估 FISH 检查在预测术前“低危”UTUC 的术后病理分级的价值。结果提示 FISH 检查对术前“低危”UTUC 的患者术后病理分级具有较高的预测价值,术前“低危”UTUC 患者 FISH 检查阳性,术后病理分级为高级别的可能性较大,选择保留肾单位的手术可能需要特别谨慎。

在过去的几十年中,开发了多种用于早期检测膀胱癌的标记物,但欧洲泌尿外科学会指南没有推荐任何标记物用于 UTUC 的诊断或随访^[12]。Xpert[®] BC-Detection 是一种新型尿液标记物,使用预装试剂盒中的实时逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测量尿液样本中 5 种目标 mRNA(ABL1、CRH、IGF2、UPK1B、ANXA10)的水平,对怀疑患有尿路上皮癌的患者进行早期诊断。D'elia 等^[13]评估了 Xpert[®] BC-Detection 在 UTUC 检测中的性能和临床实用性,并将其与细胞学检查和 FISH 检查进行比较。结果为 FISH 检查的灵敏度为 92.6%,特异度为 85%;Xpert[®] BC-Detection 的灵敏度为 100%,但特异度仅为 16.7%;细胞学检查的灵敏度为 51.9%,特异度为 95%,总的来说,FISH 检查的综合性能占优势。CellDetect 专利高敏检测技术是以色列维兹曼研究院的一个由细胞病理学专家、泌尿外科医生和护士组成的科研团队研发的新技术。Shang 等^[14]比较了 CellDetect、FISH 检查及尿细胞学检查在尿路上皮癌诊断中的应用价值,结果为 CellDetect 和 FISH 检查的灵敏

度明显优于传统尿液细胞学检查;然而,3种技术的特异度差异无统计学意义,得出 CellDetect 和 FISH 检查在诊断尿路上皮癌方面具有同等价值的结论。到目前为止,尚未有 CellDetect、FISH 检查及细胞学检查在 UTUC 中的应用价值比较。Bladder EpiCheck 测试是一种基于 15 种尿路上皮癌基因组 DNA 甲基化的尿液标记物。Pycha 等^[15]比较了 Bladder-Epicheck[®]、Xpert[®] BC-Detection、FISH 检查以及细胞学检查在诊断 UTUC 中的应用效能,输尿管肾镜收集的 97 份尿液标本同时用上述 4 项检测,以组织学结果作为金标准,其灵敏度分别为 64.5%、100%、87.1%、41.9%,特异度方面,Xpert[®]-BC-Detection 的特异度仅为 4.5%,与 Bladder-Epicheck[®]、FISH 检查以及细胞学检查差异有统计学意义;而 Bladder-Epicheck[®]、FISH 检查以及细胞学检查的特异度差异无统计学意义,作者认为 Bladder-Epicheck[®] 和 FISH 检查以及细胞学检查可能是 UTUC 诊断和随访的有用辅助方法,由于 Xpert[®] BC-Detection 检测的特异度较低,其用途似乎有限。总之,对于 UTUC, FISH 检查的价值并不劣于 Xpert[®] BC-Detection、CellDetect、Bladder-Epicheck[®]等。

澄清模棱两可的非典型细胞学检查结果可能成为 FISH 检查有价值的应用之一^[6-9]。尽管灵敏度有限,细胞学检查已经证实是诊断 UTUC 的一种廉价、方便及可及的方法^[4]。我们谨慎的建议疑诊 UTUC 患者可同时预留细胞学检查及 FISH 检查的尿液样本,先行细胞学检查:如细胞学检查结果为阴性或归类为不典型类别,则进一步行 FISH 检查。FISH 检查阴性表明存在良性细胞学改变,可谨慎的临床观察,避免不必要的侵入性检查及手术;如 FISH 检查阳性则 UTUC 的可能性较大,建议行输尿管镜检查并病理活检。

综上所述,无创检查在 UTUC 诊断中已被证明有显著的临床应用价值,本研究支持 FISH 检查具有较高的灵敏度和可接受的特异度,可作为细胞学检查的辅助方法;然而,目前的数据大多数是单中心的回顾性研究,因此,研究应该继续进行,特别是前瞻性的多中心随机对照的研究,对于阐明 FISH 检查对诊断 UTUC 的优势及局限非常重要。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Fero KE, Shan Y, Lec PM, et al. Treatment Patterns, Outcomes, and Costs Associated With Localized Upper Tract Urothelial Carcinoma [J]. JNCI Cancer Spectr, 2021, 5(6):pkab085.
[2] Rouprêt M, Babjuk M, Burger M, et al. European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: 2020 Update [J]. Eur Urol, 2021, 79(1):62-79.

[3] Bialek L, Bilski K, Dobruch J, et al. Non-Invasive Biomarkers in the Diagnosis of Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma-A Systematic Review [J]. Cancers (Basel), 2022, 14(6):1520.
[4] Zhang ML, VandenBussche CJ, Hang JF, et al. A review of urinary cytology in the setting of upper tract urothelial carcinoma [J]. J Am Soc Cytopathol, 2021, 10(1):29-35.
[5] Ke C, Hu Z, Yang C. UroVysion™ Fluorescence In Situ Hybridization in Urological Cancers: A Narrative Review and Future Perspectives [J]. Cancers (Basel), 2022, 14(21):5423.
[6] Aalami AH, Aalami F. Diagnostic performance of fluorescence in situ hybridization (FISH) in upper tract urothelial carcinoma (UTUC): a systematic review and meta-analysis [J]. Int J Clin Oncol, 2022, 27(10):1605-1615.
[7] Vlajnic T, Gut A, Savic S, et al. The Paris System for reporting urinary cytology in daily practice with emphasis on ancillary testing by multiprobe FISH [J]. J Clin Pathol, 2020, 73(2):90-95.
[8] McHale T, Ohori NP, Cieply KM, et al. Comparison of urinary cytology and fluorescence in situ hybridization in the detection of urothelial neoplasia: An analysis of discordant results [J]. Diagn Cytopathol, 2019, 47(4):282-288.
[9] Sassa N, Iwata H, Kato M, et al. Diagnostic Utility of UroVysion Combined With Conventional Urinary Cytology for Urothelial Carcinoma of the Upper Urinary Tract [J]. Am J Clin Pathol, 2019, 151(5):469-478.
[10] Eismann L, Mumm JN, Bohn L, et al. The Impact of Fluorescence in situ Hybridization on the Staging of Upper Tract Urothelial Carcinoma [J]. Urol Int, 2021, 105(7-8):631-636.
[11] Xu B, Zhang JE, Ye L, et al. Evaluation of the diagnostic efficiency of voided urine fluorescence in situ hybridization for predicting the pathology of preoperative "low-risk" upper tract urothelial carcinoma [J]. Front Oncol, 2023, 13:1225428.
[12] Rouprêt M, Seisen T, Birtle AJ, et al. European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: 2023 Update [J]. Eur Urol, 2023, 84(1):49-64.
[13] D'Elia C, Trenti E, Krause P, et al. Xpert[®] bladder cancer detection as a diagnostic tool in upper urinary tract urothelial carcinoma: preliminary results [J]. Ther Adv Urol, 2022, 14:17562872221090320.
[14] Shang D, Liu Y, Xu X, et al. Diagnostic value comparison of CellDetect, fluorescent in situ hybridization (FISH), and cytology in urothelial carcinoma [J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1):465.
[15] Pycha S, Trenti E, Mian C, et al. Diagnostic value of Xpert[®] BC Detection, Bladder Epicheck[®], Urovysion[®] FISH and cytology in the detection of upper urinary tract urothelial carcinoma [J]. World J Urol, 2023, 41(5):1323-1328.

(收稿日期:2023-08-08)