

• 论 著 •

# Urovysion FISH 检测尿液泌尿道肿瘤相关基因的异常 及在老年科体检中的应用

李 莉<sup>1</sup>, 徐 苓<sup>1</sup>, 谢国化<sup>1</sup>, 王根发<sup>2</sup>, 张 良<sup>3△</sup>

(上海交通大学医学院附属新华医院: 1. 检验科; 2. 老年医学科; 3. 泌尿外科 200092)

**摘 要:**目的 了解基于 Urovysion 荧光原位杂交技术(FISH)检测尿液脱落细胞中泌尿系统恶性肿瘤相关性染色体异常在老年科体检中的应用价值。方法 收集 1 350 例老年科患者的晨尿,采用 Urovysion FISH 检测尿液细胞中第 3、7、17 号染色体的非整数倍,以及第 9 号染色体长臂 21 区域的缺失。结果 1 350 例患者中共检测出 3 号染色体异常 55 例(4.07%),7 号染色体异常 68 例(5.04%),17 号染色体异常 41 例(3.04%),9 号染色体异常 36 例(2.67%)。经病理证实为膀胱癌 22 例(1.63%),其他泌尿系统恶性肿瘤 16 例(1.19%)。结论 Urovysion FISH 对于泌尿系统恶性肿瘤的早期诊断有较高的应用价值,可以作为老年科泌尿系肿瘤筛查的一线方法。

**关键词:**泌尿系肿瘤; 荧光原位杂交; 尿液细胞学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)11-1470-02

## Application of Urovysion FISH in the detection of aberrant chromosomes of urothelial malignancies: a study of geriatric patients by detecting urine specimens

LI Li<sup>1</sup>, XU Ling<sup>1</sup>, XIE Guohua<sup>1</sup>, WANG Genfa<sup>2</sup>, ZHANG Liang<sup>3△</sup>

(1. Departments of Clinical Laboratory; 2. Department of Gerontology, Xin Hua Affiliated Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200092, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the clinical application values of Urovysion fluorescent in situ hybridization (FISH) in the detection of aberrant chromosomes of urothelial malignancies in exfoliated urothelial cells of geriatric patients. **Methods** Morning urine samples from 1 350 cases of geriatric patients were collected. The aberrant chromosomes 3, 7 and 17 aneuploidy and 9p21 locus deletions were tested with Urovysion FISH assay. **Results** In total of 1 350 cases, 55 cases (4.07%) were detected as chromosome 3 aneuploidy; 68 cases (5.04%) were detected as chromosome 7 aneuploidy; 41 cases (3.04%) were detected as chromosome 17 aneuploidy and 36 cases (2.67%) were detected as 9p21 locus deletions. The final pathologic diagnosis confirmed that 22 cases (1.63%) were bladder cancer and 16 cases (1.19%) were other urothelial carcinomas. **Conclusion** Urovysion FISH has high application value for the screening of urothelial malignancies and can be used as routine diagnostic method.

**Key words:** urothelial malignancy; fluorescent in situ hybridization; urinary cytology

泌尿道肿瘤中膀胱癌是老年人群中发病率较高的恶性肿瘤,根据美国癌症学会的最新统计资料显示,2012 年全球膀胱癌新发病例 42.98 万例,死亡病例 16.51 万例。男女比例为 10:1,因而膀胱癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。膀胱癌的早期诊断对疾病的预后有极其重要的影响,早期诊断主要以尿液脱落细胞学诊断、膀胱镜组织活检病理学检查及影像学检查等方法为主。近期一种基于荧光原位杂交技术(FISH)原理的检测技术已经应用到临床实践中,此项技术主要检测尿液标本中第 3、7、17 号染色体的非整数倍,以及第 9 号染色体长臂 21 区域(9p21)的缺失。根据国外文献报道显示,FISH 对泌尿系肿瘤的诊断有较高的敏感度和特异性,同时对肿瘤的疗效和预后判断有较好的效果。本文采用 Urovysion FISH 试剂盒检测老年科患者泌尿系统脱落细胞中 4 种染色体的异常,评价 FISH 在老年人群中普查泌尿系肿瘤的意义,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院 2011 年 3 月至 2014 年 10 月老年医学科患者 1 350 例,其中男 965 例(71.48%),女 385 例(28.52%),平均年龄(72.3±12.3)岁。

**1.2 标本采集与制备** 所有参试者均于试验当天取晨尿 30~200 mL,置清洁容器中送至本院实验室待检。行初步尿液脱落细胞计数,如尿液脱落细胞数过少,则判定为不合格标本,嘱患者第 2 周再送尿液标本。所有标本均于当天进行处理。

**1.3 FISH 检测** FISH 检测按 Pathvysion Urovysion DNA Kit 试剂盒(USA)说明书操作,简要描述如下。将 20~50 mL 新鲜尿液以 2:1 比例与聚乙二醇混合,存放于 4℃冰箱中当天处理。将尿液置 500 r/min 离心 10 min 以取得泌尿道脱落细胞。用甲醇、冰醋酸混合液固定后 2 次离心沉淀,将沉淀的细胞用 15 μL 固定液重悬浮,制成细胞涂片。荧光探针包括 3 个重复序列,分别可以识别 3、7 和 17 号染色体的着丝粒片段。另有一特殊探针识别 9p21 片段。在 37℃潮湿环境下过夜完成杂交,冲洗后空气干燥,然后用 4'、6'-二脒基-2-苯基吡啶 II 进行反染色,随后上荧光显微镜分析结果。

**1.4 FISH 结果判断** 对至少 25 个形态学异常的细胞进行分析,直至出现大于或等于 4 个细胞获得复染色体,即 CEP3-红色,CEP-7 绿色,CEP-17 蓝绿色信号的异常;或者出现大于或等于 12 个细胞具有 9p21 片段的同源缺失(即 LSI 9p21 黄色

信号的缺失)。

## 2 结 果

**2.1 FISH 检测尿液中脱落细胞染色体异常的方法验证** 首先验证了 Urovysion FISH 在尿液脱落细胞中检测染色体异常的准确性,结果显示,FISH 能够准确检测出尿液脱落细胞中 3、7、17 号染色体的异常,以及 9p21 区段的缺失。4 种染色体异常的荧光显微镜下表现见图 1。图 1A 为正常尿液脱落细胞 FISH 结果,表现为红色、绿色、蓝绿色及黄色各 2 个信号;图 1B 为 FISH 阳性结果,表现为 3、7、17 号染色体多重信号增加;图 1C 为 7 号染色体异常结果,表现为绿色信号缺失;图 1D 为 17 号染色体异常,表现为蓝绿色信号缺失;图 1E 为 9p21 缺失异常,表现为黄色信号缺失;图 1F 为 3 号染色体异常,表现为红色信号缺失。

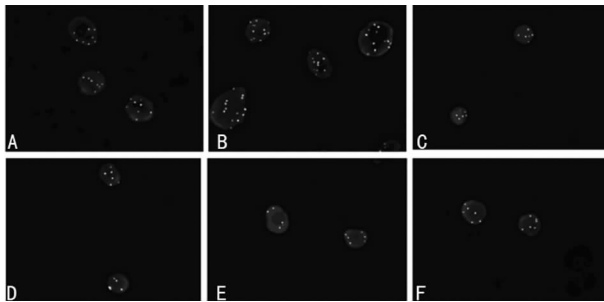


图 1 泌尿道脱落细胞 FISH 检测结果

**2.2 1 350 例老年患者尿液脱落细胞中染色体异常结果分析** Urovysion FISH 检测老年科患者尿液脱落细胞染色体正常 1 112 例(82.37%),异常 238 例(17.63%),其中 3 号染色体异常 55 例(4.07%),7 号染色体异常 68 例(5.04%),17 号染色体异常 41 例(3.04%),9p21 缺失 36 例(2.67%)。病理学确诊膀胱癌 22 例(1.63%),其他泌尿系肿瘤 16 例(1.19%)。

## 3 讨 论

目前,膀胱癌的诊断主要以膀胱镜活检、影像学表现及最终病理学诊断等手段,为临床医生提供准确的病例类型和临床分期。FISH 检测尿液脱落细胞学,分析膀胱上皮细胞中染色体的异常,可为膀胱癌的早期诊断提供重要的线索和依据。并且是一种无创性诊断方法,获得了美国食品药品监督管理局和国家药监局批准,用于普通人群膀胱癌的筛选检查。

FISH 的特点是方法稳定,可以避免标本处理和固定过程中的影响因素。其另一个优点是能对结果直接进行定性和定量分析,受观察者主观因素的影响较小。本研究晨尿中脱落细胞的数量决定了分析结果的可靠性。因而细胞数量低于分析前要求,本研究采取了重新采样的做法,以确保检验结果的准确性。

本研究结果显示,FISH 检测尿液脱落细胞染色体异常产生了较为满意的敏感度和特异性,与国外的报道结果相类似<sup>[2-4]</sup>。3、7、17 号染色体倍体异常,以及 9p21 区段的缺失在膀胱癌中呈现较高的发生率。Kim 等<sup>[5]</sup>的研究结果显示,尿液脱落细胞 FISH 阳性结果可以预测尿液细胞学可疑及膀胱镜检阴性的膀胱癌患者的复发和肿瘤进展,但需要的随访时间较长;阳性 FISH 结果预测复发的风险比( $HR=2.35, 95\% CI: 1.42 \sim 3.90, P=0.001$ ,预测肿瘤进展的  $HR=3.01, 95\% CI: 1.10 \sim 8.21, P=0.03$ 。在另一项前瞻性筛选研究中,Bonberg 等<sup>[6]</sup>报道,染色体的不稳定性与膀胱癌的发生密切相关,3、7、

17 号染色体的多倍体异常,以及 9p21 位点的缺失是膀胱癌最为常见的拷贝数变异(CNV)表现,此类异常具有累积性,且在肿瘤获得诊断前 3 年即可被发现;高分化性肿瘤比低分化性肿瘤有更高的累计性 CNV。Urovysion FISH 也可以检测上泌尿道脱落细胞中染色体的异常,Reynolds 等<sup>[7]</sup>报道,相对于尿液细胞学检查,FISH 有更高的检测敏感度和特异性,而二者联合应用可以显著提高诊断的准确性。Urovysion FISH 在非肌肉侵袭性膀胱癌的预后评估中具有显著意义,在多变量分析模型中均值大于 16% 的 CNV 是膀胱癌的预后影响因子( $P=0.048, OR: 6.07, 95\% CI: 1.02 \sim 57.45$ )<sup>[8]</sup>。同时 9p21 缺失大于 12% 是预后的独立影响因子( $P<0.001, OR: 3.24, 95\% CI: 1.85 \sim 5.62$ )。

综上所述,UroVysion FISH 适合在一般老年人群中作为一种普查试验来筛选膀胱恶性肿瘤,并且可以提前数年为临床医生提供诊断的线索,避免侵入性的检查方法。同时可以作为膀胱癌预后判断的一种有效方法。

## 参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Somoza AD, Aly FZ. Utility of molecular tests in cytopathology[J]. Cytojournal, 2014, 20(11): 5-12.
- [3] Dimashkieh H, Wolff DJ, Smith TM, et al. Evaluation of urovysion and cytology for bladder cancer detection; a study of 1835 paired urine samples with clinical and histologic correlation[J]. Cancer Cytopathol, 2013, 121(10): 591-597.
- [4] Ho CC, Tan WP, Pathmanathan R, et al. Fluorescence-in-situ-hybridization in the Surveillance of Urothelial Cancers; Can Use of Cystoscopy or Ureteroscopy be Deferred? [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(7): 4057-4059.
- [5] Kim PH, Sukhu R, Cordon BH, et al. Reflex fluorescence in situ hybridization assay for suspicious urinary cytology in patients with bladder cancer with negative surveillance cystoscopy[J]. BJU Int, 2014, 114(3): 354-359.
- [6] Bonberg N, Pesch B, Behrens T, et al. Chromosomal alterations in exfoliated urothelial cells from bladder cancer cases and healthy men: a prospective screening study[J]. BMC Cancer, 2014, 14(20): 854-860.
- [7] Reynolds JP, Voss JS, Kipp BR, et al. Comparison of urine cytology and fluorescence in situ hybridization in upper urothelial tract samples[J]. Cancer Cytopathol, 2014, 122(6): 459-467.
- [8] Matsuyama H, Ikemoto K, Eguchi S, et al. Copy number aberrations using multicolour fluorescence in situ hybridization (FISH) for prognostication in non-muscle-invasive bladder cancer (NIMBC)[J]. BJU Int, 2014, 113(4): 662-667.