

论著·临床研究

## 荧光原位杂交技术联合尿脱落细胞学、膀胱肿瘤抗原对尿路上皮细胞肿瘤的诊断效能分析\*

熊 钻<sup>1</sup>, 梅玉峰<sup>1</sup>, 王春阳<sup>1</sup>, 魏宝珍<sup>1</sup>, 刘 萍<sup>1</sup>, 王 亚<sup>1</sup>, 沈利华<sup>2△</sup>, 刘 庆<sup>1</sup>

(1. 鄂州市鄂钢医院检验科, 湖北鄂州 436000; 2. 鄂州市妇幼保健院检验科, 湖北鄂州 436000)

**摘要:**目的 分析 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合膀胱肿瘤抗原(BTA)诊断上尿路上皮细胞癌的效能,为上尿路上皮细胞癌的诊断提供理论依据。方法 选取 2014—2017 年鄂州市鄂钢医院泌尿外科经膀胱镜活检确诊为上尿路上皮细胞癌患者 105 例作为观察组,选取同期来鄂州市鄂钢医院进行健康体检者 100 例作为对照组,观察并分析 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 诊断上尿路上皮细胞癌的效果。结果 UroVysion 荧光原位杂交技术检测诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度分别为 81.90%、92.00%,尿脱落细胞学联合 BTA 检测诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度分别为 37.14%、93.00%,前者灵敏度明显高于后者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而二者特异性比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。2 种方法随上尿路上皮细胞癌分级的升高检测阳性率逐渐升高,且各类型上尿路上皮细胞癌比较,UroVysion 荧光原位杂交技术检出率明显高于尿脱落细胞学联合 BTA,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 种方法联合检测诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、准确度均明显高于单独使用 UroVysion 荧光原位杂交技术、或尿脱落细胞学联合 BTA 检测。结论 UroVysion 荧光原位杂交技术检测上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度均较好,是一种快速、无创、安全的检测方法,联合尿脱落细胞学与 BTA 检测可显著提高诊断上尿路上皮细胞癌的准确度,具有良好的应用前景。

**关键词:**原位杂交,荧光; 尿/细胞学; 抗原,肿瘤/分析; 肿瘤; 敏感性与特异性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.012 **中图法分类号:**R737.15;R34

**文章编号:**1673-4130(2019)10-1201-04 **文献标识码:**A

### Performance analysis of fluorescence in situ hybridization combined with urinary exfoliative cytology and bladder tumor antigen in the diagnosis of urothelial cell carcinoma\*

XIONG Zuan<sup>1</sup>, MEI Yufeng<sup>1</sup>, WANG Chunyang<sup>1</sup>, WEI Baozhen<sup>1</sup>,  
LIU Ping<sup>1</sup>, WANG Ya<sup>1</sup>, SHEN Lihua<sup>2△</sup>, LIU Qing<sup>1</sup>

(1. Clinical Laboratory, Ezhou Iron and Steel Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China;

2. Clinical Laboratory, Ezhou Maternal and Child Health Hospital, Ezhou, Hubei 436000, China)

**Abstract: Objective** To analyze the effect of UroVysion fluorescence in situ hybridization, urine exfoliative cytology and bladder tumor antigen in the diagnosis of upper urinary tract carcinoma, and to provide a theoretical basis for the diagnosis of upper urinary tract epithelial cell carcinoma. **Methods** A total of 105 patients with urothelial cell carcinoma diagnosed by cystoscopy biopsy in the department of urology in Urinary Surgery of the hospital from 2014 to 2017 were selected as the observation group, and 100 cases that took the normal physical examination in the same period were selected as control group. To observe and analyze the effect of UroVysion fluorescence in situ hybridization, urine exfoliated cytology and bladder tumor antigen (BTA) in the diagnosis of upper urinary tract carcinoma. **Results** The sensitivity and specificity of UroVysion fluorescence in situ hybridization were 81.90% and 92.00% respectively, while the sensitivity and specificity of urine exfoliative cytology combined with BTA were 37.14% and 93.00%, respectively, and the sensitivity of the former is significantly higher than that of the latter, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ), but the specificity showed no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ). With the grading of upper urinary

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(201602378)。

作者简介:熊钻,男,主管技师,主要从事生化、免疫、PCR 方面的研究。△ 通信作者, E-mail:4458629@qq.com。

本文引用格式:熊钻,梅玉峰,王春阳,等. 荧光原位杂交技术联合尿脱落细胞学、膀胱肿瘤抗原对尿路上皮细胞肿瘤的诊断效能分析[J].

epithelial cell carcinoma, the positive rate of detection of two methods increased gradually. However, the detection rate of UroVysion fluorescence in situ hybridization was significantly higher than that of urine cytology and BTA, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The sensitivity, specificity and accuracy of the combination of three methods were significantly higher than those of UroVysion in situ hybridization alone, urine cytology combined with BTA. **Conclusion** The sensitivity and specificity of detection of UroVysion fluorescence in situ hybridization on urothelial cell carcinoma are better, with a safe rapid and noninvasive detection method, detection of antigen shedding cytology combined with BTA combined with urine can significantly improve the diagnosis of upper urinary tract transitional cell carcinoma of the accuracy, with good application prospect.

**Key words:** in situ hybridization, fluorescence; urine/cytology; antigens, neoplasm/analysis; neoplasms; sensitivity and specificity

上尿路上皮细胞癌是我国男性泌尿生殖系统最为常见的恶性肿瘤,因临床症状不是十分典型,容易被漏诊而延误治疗,导致患者预后较差<sup>[1-2]</sup>。上尿路上皮细胞癌的诊断方法较多,包括尿脱落细胞学、血清膀胱肿瘤抗原(BTA)、影像学(尿路造影、CT 和磁共振成像等)、内窥镜检查等。BTA 及尿脱落细胞学检测虽对肿瘤具有明确的提示作用,但灵敏度较低;影像学检查对上尿路上皮细胞癌的分期具有明确的指导意义,但对较小体积癌、早期癌的诊断灵敏度较低;内窥镜则是一种侵入性手术,将其纳入常规检查较为困难,故提高上尿路上皮细胞癌的早期诊断率、减少无创性操作一直是近年来上尿路上皮细胞癌的研究热点。目前,临床常使用的检测方法均不能完全满足此目的<sup>[3-4]</sup>。最新的临床研究表明,上尿路上皮细胞癌的发生与某些基因位点缺失、染色体数目异常等密切相关<sup>[5-6]</sup>。UroVysion 荧光原位杂交技术可准确、清晰地检测肿瘤细胞染色体改变,或许可成为早期诊断上尿路上皮细胞癌的一种新技术。故本研究选取泌尿外科经膀胱镜活检确诊为尿路上皮细胞癌患者 105 例作为研究对象,分别进行 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 检测,比较不同方法对上尿路上皮细胞癌诊断的差异,并分析了 UroVysion 荧光原位杂交技术的诊断效能,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究取得医学伦理委员会的审批同意。选取 2014—2017 年鄂州市鄂钢医院经膀胱镜活检确诊为上尿路上皮细胞癌患者 105 例作为观察组,选取同期鄂州市鄂钢医院健康体检者 100 例作为对照组。与两组研究对象讲明本研究目的,并获得同意后共同签订知情书。两组研究对象均分别接受 UroVysion 荧光原位杂交技术及尿脱落细胞学联合 BTA 检查。观察组患者中男 73 例,女 32 例;平均年龄( $51.58 \pm 6.37$ )岁;高分级乳头状尿路上皮癌 42 例,低分级乳头状尿路上皮癌 31 例,低度恶性倾向尿

路上皮乳头状癌 32 例。对照组研究对象中男 64 例,女 36 例;平均年龄( $51.24 \pm 6.78$ )岁。

## 1.2 方法

**1.2.1 采集尿液标本** 使用清洁、干燥的一次性大口杯的容器留取两组研究对象 50 mL 以上的新鲜晨尿,为防止时间较长的尿液成分会发生变化、出现细胞溶解或其他原因导致的污染,最好在留取后 1 h 内送检,每份样本分为 2 份,分别进行 UroVysion 荧光原位杂交技术及尿脱落细胞学检查。留取尿标本过程中防止精液、月经血、粪便、白带等掺入,并准确区分标记研究对象的个人信息。

**1.2.2 采集血液标本** 留取两组研究对象静脉血 5 mL,进行 BTA 检查。

**1.2.3 利用对照组设立正常阈值<sup>[7]</sup>** 对对照组研究对象的尿液标本进行 UroVysion 荧光原位杂交技术检查,每份标本采用 9p21 区带探针和 17、7、3 号染色体着丝粒探针组合计算 100 个尿路上皮细胞,统计出现正常细胞数目、不同类型异常细胞数目的百分比,建立参考阈值。检测指标若大于阈值计为阳性,小于阈值计为阴性。

## 1.2.4 结果判读

**1.2.4.1 尿脱落细胞学检查** 取新鲜尿液 40 mL,离心后将沉淀制成细胞涂片,常规苏木精-伊红染色后使用显微镜观察。每例研究对象均接受 3 次检测,发现 1 次异常细胞即判断为阳性。

**1.2.4.2 UroVysion 荧光原位杂交技术检查** 当 1 个位点有 2 种以上出现异常,如 p16 有 3 信号点异常或 0 信号点异常,即计为阳性,任意 2 个以上位点出现异常,如 7 号或 3 号染色体出现非整倍增加,计为阳性。若只有 1 个位点出现 1 种异常,需重新检测判断。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析,计数资料以率或构成比表示,采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 2 种方法诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度比较** UroVysion 荧光原位杂交技术诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度及特异度分别为 81.90%、92.00%，尿脱落细胞学联合 BTA 诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度及特异度分别为 37.14%、93.00%，2 种方法诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度比较，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，而特异度比较，差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1~3。

表 1 UroVysion 荧光原位杂交技术诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度

组别	n	UroVysion 荧光原位杂交技术(n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)
		阳性	阴性		
观察组	105	86	19	81.90	92.00
对照组	100	8	92		

表 2 尿脱落细胞学联合 BTA 诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度

组别	n	尿脱落细胞学联合 BTA(n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)
		阳性	阴性		
观察组	105	39	66	37.14	93.00
对照组	100	7	93		

表 3 2 种方法诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、特异度比较[n(%)]

项目	UroVysion 荧光原位杂交技术	尿脱落细胞学联合 BTA	$\chi^2$	P
灵敏度	86(81.90)	39(37.14)	5.321 2	0.001 4
特异度	92(92.00)	93(93.00)	0.452 1	0.547 8

**2.2 2 种方法对上尿路上皮细胞癌的分级检测分析** 2 种方法随上尿路上皮细胞癌分级的升高检测阳性率逐渐升高，且各类型上尿路上皮细胞癌比较，UroVysion 荧光原位杂交技术检出率明显高于尿脱落细胞学联合 BTA，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 2 种方法对上尿路上皮细胞癌的分级检测分析[n(%)]

类型	n	UroVysion 荧光原位杂交技术	尿脱落细胞学联合 BTA
低度恶性倾向尿路上皮乳头状癌	32	30(93.75)*	17(53.12)
低分级乳头状尿路上皮癌	31	28(90.32)*	15(48.39)
高分级乳头状尿路上皮癌	42	31(73.81)*	9(21.29)

注：与尿脱落细胞学联合 BTA 检测比较， $P < 0.05$

## 2.3 联合 3 种方法对上尿路上皮细胞癌的检测分析

联合 3 种方法诊断上尿路上皮细胞癌的灵敏度、准确度均明显高于单独 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 检测，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 联合 3 种方法对上尿路上皮细胞癌的检测分析(%)

检测项目	灵敏度	特异度	准确度
UroVysion 荧光原位杂交技术	81.90*	92.00	86.82*
尿脱落细胞学联合 BTA	37.14*	93.00	64.39*
联合 3 种方法	90.47	90.00	90.24

注：与联合 3 种方法检测比较，\*  $P < 0.05$

## 3 讨 论

上尿路上皮细胞癌是一种较为常见的泌尿系统肿瘤，由于临床症状不典型，常导致就诊时肿瘤分期已相对靠后。虽然上尿路上皮细胞癌经手术完全切除，但术后复发率较高，高达 45.00% 以上<sup>[8]</sup>。因此，如能对上尿路上皮细胞癌进行早期诊断，对患者的预后十分关键。临床 BTA、尿脱落细胞学、内窥镜检查是诊断上尿路上皮细胞癌较常用的方法。但由于尿脱落细胞学灵敏度较低，尤其是低级别肿瘤的灵敏度更低。

诊断上尿路上皮细胞癌的肿瘤标记物除常用的 BTA，还有人核基质蛋白 22(NMP22)、Im-munocyt 等，相关研究表明，对可疑上尿路上皮细胞癌患者进行 BTA 检查和膀胱镜检，BTA 的特异度为 85.90%，灵敏度不超过 60.00%，故 BTA 不能作为早期诊断的确诊依据，不能取代膀胱镜，而只能是一种筛选手段；诊断上尿路上皮细胞癌的“金标准”为内窥镜检查，其灵敏度可达 84.80%，但因其操作属侵入有创性、检测费用昂贵等缺点，不易在门诊对所有患者普遍使用<sup>[9,11]</sup>。因此，探索一种灵敏度及特异度均较高、创伤小的检查方法是上尿路上皮肿瘤早期诊断的研究热点问题。

UroVysion 荧光原位杂交技术可对 9p21 区带和 17、7、3 号染色体着丝粒进行检测，分别针对的是 p16 基因、HER2 基因、EGFR 基因和 RAF1 基因，最新研究表明，上尿路上皮细胞癌的发生与 p16 基因、HER2 基因、EGFR 基因和 RAF1 基因密切相关，而膀胱尿路上皮癌与上尿路上皮细胞癌细胞核型改变一致，故提出可使用 UroVysion 荧光原位杂交技术进行检测<sup>[12-13]</sup>。

UroVysion 荧光原位杂交技术可通过 4 种荧光标记的 DNA 探针检测肿瘤细胞染色体的改变情况，具有一定的可行性及可操作性<sup>[14-15]</sup>。近年来，国内外大量临床研究应用 UroVysion 荧光原位杂交技术检测上尿路上皮细胞癌，发现其灵敏度高于 BTA、尿脱落细胞学检查，且特异性差异不大<sup>[16,18]</sup>。2001 年

UroVysion 荧光原位杂交技术被美国食品和药物管理局认证可用于检测上尿路上皮细胞癌的术后复查,而 2005 年时便被指南更新,批准用于无上尿路上皮细胞癌病史的镜下或肉眼血尿患者中诊断上尿路上皮细胞癌<sup>[19-20]</sup>。

本研究选取 2014—2017 年鄂州市鄂钢医院泌尿外科经膀胱镜活检确诊为尿路上皮细胞癌的患者 105 例作为研究对象,分别进行 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 检测,结果显示,UroVysion 荧光原位杂交技术诊断尿路上皮细胞癌的灵敏度高达 81.90%,明显高于尿脱落细胞学联合 BTA 检测,且 2 种方法诊断尿路上皮细胞癌的特异度相似,说明前者具有较高的诊断效能。本研究在随后的细化讨论中发现,UroVysion 荧光原位杂交技术也可用于上尿路上皮细胞癌的分级诊断,且恶性程度越高,诊断灵敏度越高。最后将 3 种方法联合分析发现,联合 3 种方法确诊为尿路上皮细胞癌的灵敏度、准确度均明显高于单独使用 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 检测。

#### 4 结 论

UroVysion 荧光原位杂交技术因其技术特点尚不能完全取代内镜诊断,建议 UroVysion 荧光原位杂交技术、尿脱落细胞学联合 BTA 对可疑患者进行筛查,在可保证获得较高诊断水平的基础上节约成本、减少内镜检查次数、减轻患者痛苦,值得临床推荐应用。

#### 参考文献

- [1] 陈松,徐阿祥,孙圣坤,等. 荧光原位杂交技术在上尿路的尿路上皮癌诊断中的临床意义[J]. 微创泌尿外科杂志, 2014,3(3):181-185.
- [2] 朱峰宇,梁瑜,李洋. 膀胱癌肿瘤干细胞研究进展[J]. 转化医学电子杂志, 2017,4(5):4-10.
- [3] 贾海菊,刘淑敏,曾晓勇,等. 荧光原位杂交技术在尿路上皮细胞癌诊断中的应用[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2013,5(6):353-355.
- [4] GAYED B A, SEIDEMAN C, LOTAN Y. Cost-effectiveness of fluorescence in situ hybridization in patients with atypical cytology for the detection of urothelial carcinoma [J]. J Urol, 2013, 190 (4): 1181-1186.
- [5] 彭伟彬,徐秀红,张士祥,等. UroVysion 荧光原位杂交技术在上尿路上皮癌诊断中的应用价值[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2013,7(2):653-656.
- [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] 徐秀红,彭伟彬,郝钢跃,等. UroVysion 荧光原位杂交技术在膀胱癌诊断中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2013,12(19):1526-1528.
- [8] MU D W, ZHOU L Q, DING Y. Clinical utility of fluorescence in situ hybridization improves the sensitivity in the diagnosis of upper urinary tract urothelial carcinoma [J]. Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2010, 42 (4): 381-385.
- [9] 史炯,孟凡青,濮晓红,等. 尿脱落上皮细胞荧光原位杂交技术在尿路上皮癌诊断中价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015,29(11):1128-1130.
- [10] 叶庆,王志华,杨军,等. 尿脱落细胞荧光原位杂交检测对尿路上皮癌的诊断价值及漏诊原因分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011,27(8):863-868.
- [11] HUANG W T, LI L Y, PANG J, et al. Fluorescence in situ hybridization assay detects upper urinary tract transitional cell carcinoma in patients with asymptomatic hematuria and negative urine cytology [J]. Neoplasma, 2012, 59 (4): 355-360.
- [12] 柳家园,彭翔,宁向辉,等. 尿脱落细胞荧光原位杂交检查阳性在尿路上皮癌中的临床价值[J]. 北京大学学报:医学版, 2017,49(4):585-589.
- [13] 赵言廷,郭晓慧,白晶,等. 荧光原位杂交技术在尿路上皮癌辅助诊断中的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2016,20 (9):1522-1524.
- [14] 姚昊,韩永,蔡明,等. 荧光原位杂交技术诊断膀胱尿路上皮癌临床研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011,25 (6):535-538.
- [15] WANG J, WU J, PENG L, et al. Distinguishing urothelial carcinoma in the upper urinary tract from benign diseases with hematuria using FISH [J]. Acta Cytol, 2012, 56(5): 533-538.
- [16] 邱晓拂,胡卫列. 荧光原位杂交应用于尿路上皮癌尿液早期诊断的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11 (15):2986-2988.
- [17] FEMÁNDEZ M I, PARIKH S, GROSSMAN H B, et al. The role of FISH and cytology in upper urinary tract surveillance after radical cystectomy for bladder cancer [J]. Urol Oncol, 2012, 30(6):821-824.
- [18] 刘京生,刘桂华,唐健滨,等. FISH 和尿脱落细胞学检查诊断尿路上皮细胞癌效果比较[J]. 山东医药, 2016, 56 (2):66-67.
- [19] 陈伟,伊惠霞,张睿,等. FISH 技术及细胞学技术检测尿脱落细胞对膀胱尿路上皮肿瘤诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(22):3094-3096.
- [20] 林兴滔,葛岩,许洁,等. UroVysion 荧光原位杂交技术在尿路上皮癌细胞学检测中常见问题分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(8):933-935.