论著

文章编号:1000-5404(2014)08-0834-04

尿路炎症对细胞学和荧光原位杂交检测膀胱肿瘤结果的影响

徐述雄[1*],白晓峰[1*],朱建国[1],石 华[1],罗光恒[1],刘 军[1],王元林[1],孙兆林[1],冯 梅[2] (550002 贵阳,贵州省人民医院:泌尿外科[1],高压氧科[2])

[摘要] **目的** 探讨尿路炎症对膀胱肿瘤细胞学和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)检测结果的影响。**方法** 回顾分析2009年1月至2013年5月收住我院的均有尿脱落细胞学、FISH和膀胱镜等检查结果的155例血尿疑似膀胱肿瘤患者,比较尿路炎症对细胞学和FISH假阳性结果的影响。**结果** 74例(47.7%)患者为膀胱癌,81例(52.3%)患者无膀胱癌。在膀胱癌患者和非膀胱癌患者中存在尿路炎症者分别为16例(21.6%)和21例(25.9%)(P=0.530)。在无尿路炎症和尿路炎症患者,细胞学假阳性率分别为15.0%和19.0%(P=0.664);FISH假阳性率分别为18.3%和23.8%(P=0.587),均无显著性差异。**结论** 尿路炎症并不影响细胞学和FISH检测膀胱肿瘤的结果,对于细胞学和FISH结果提示膀胱肿瘤的患者,如果同时合并炎症,应在控制炎症后及时行膀胱镜检。

[关键词] 尿路炎症;尿脱落细胞学检查;荧光原位杂交技术;膀胱癌

[中图法分类号] R691.3;R730.4;R737.14 [文献标志码] A

Influence of urinary tract inflammation on cytological examination and fluorescence *in situ* hybridization for detection of bladder cancer

Xu Shuxiong[1*], Bai Xiaofeng[1*], Zhu Jianguo[1], Shi Hua[1], Luo Guangheng[1], Liu Jun[1], Wang Yuanlin[1], Sun Zhaolin[1], Feng Mei[2] ([1]Department of Urology, [2]Department of High Pressure Oxygen, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou Province, 550002, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the impact of urinary tract inflammation on the results of cytological examination and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in hematuria patients, and provide a reasonable way to use cytology, FISH and cystoscopy for the detection of bladder cancer (BC). **Methods** From January 2009 to May 2013, patients with asymptomatic microscopic or gross hematuria who were suspicious for BC were enrolled in the study. Cytology, FISH and cystoscopy were performed. The presence of inflammation was evaluated by microscopy. False-positive results were compared with regard to the presence or absence of inflammation in patients. **Results** Of 155 patients, 74 (47.7%) had BC and 81 (52.3%) had no evidence of BC. A total of 37 patients (23.9%) had inflammation according to the defined criteria. The rate of inflammation in patients with BC was 21.6% versus 25.9% in patients without BC (P=0.530). False-positive cytology and FISH in patients without signs of inflammation were present in 15.0% and 18.3% of patients. In patients with inflammatory changes in the urine, false-positive result rates were 19.0% (P=0.664), and 23.8% (P=0.587). **Conclusion** Urinary tract inflammation did not impair the performance of cytological examination and FISH. Hence, patients with positive cytology and FISH results should undergo diagnostic cystoscopy, even in the case of concomitant urinary tract inflammation.

---

* 同等贡献者

[基金项目] 贵州省科技厅基金[黔科合J字(2011)2249号]

[通信作者] 冯 梅,E-mail:506099278@qq.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140219.1114.011.html(2014-02-19)

[**Key words**] urinary tract inflammation; cytology; fluorescence *in situ* hybridization; bladder cancer

Supported by Foundation of Guizhou Provincial Science and Technology Department (2011-2249). Xu Shuxiong and Bai Xiaofeng are the cofirst author who contributed equally to the article. Corresponding author: Feng Mei, E-mail: 506099278@qq.com

膀胱镜是诊断膀胱肿瘤的金标准[1],但是膀胱镜也有自身的局限性,如给患者带来痛苦和难以区分原位癌与炎症[2],因而近年来非侵入性尿液肿瘤标记物的检测吸引了越来越多的关注[3]。目前被临床广泛采用的诊断膀胱肿瘤的非侵入性尿液肿瘤标记物检测手段是细胞学和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)技术[4]。既往研究表明,血尿、结石病、良性前列腺增生症和肾功能受损等因素会影响尿液细胞学和 FISH 的检测结果[5]。国外 Todenhofer 等[6]认为,尿路炎症不会影响细胞学和 FISH 检测膀胱肿瘤的结果,而国内尚少见相关报道。本研究回顾性分析我院 2009 年 1 月至 2013 年 5 月收治的均有尿脱落细胞学、FISH 和膀胱镜等检查结果的 155 例患者的资料,阐明尿路炎症对细胞学和 FISH 检测结果的影响,为在可疑膀胱肿瘤患者中合理应用细胞学、FISH 和膀胱镜奠定基础。

1 资料与方法

1.1 临床资料

无症状性镜下或肉眼血尿患者共计 155 例,其中男性 116 例,女性 39 例,年龄 24~85 岁,平均 62.3 岁。所有患者取清晨清洁中段尿,行尿常规、细胞学和 FISH 检查。所有患者接受上尿路影像学检查(包括超声、泌尿系 CT 或者泌尿系 MRI)和膀胱镜检。

1.2 尿检程序

尿液标本分成 3 份分别用于尿常规、细胞学和 FISH 检测。

全自动尿分析仪检测尿常规后显微镜下复检,白细胞数≥100/μL,同时红细胞数 >1/μL 或白细胞数≥100/μL,同时尿中有亚硝酸盐为尿路炎症。

细胞学检测:细胞离心、涂片后染色,由 2 名病理学医师根据世界卫生组织和世界泌尿外科病理协会 2004 年分类系统镜下评估。尿路上皮癌细胞的特征如下:细胞核大小不等、呈偏心性、染色体粗、细胞核边缘不规则、细胞核与细胞质比例增加。

FISH 检测试剂盒购自北京金菩嘉医疗科技有限公司,按说明书检测 3、7、17 号染色体(分别缩写为 CSP3、CSP7 和 CSP17)和 9 号染色体 p16 基因(9p16)。计数结果由两人独立完成,结果一致方可认定。即先用 10 例排除了泌尿系肿瘤的健康志愿者的尿液标本建立阈值(阈值 = 平均值 + 3 × 标准差),根据阈值对每例标本探针进行定性。FISH 判读阳性标准:①指标阴性,检测值要小于阈值结果;②指标阳性,检测值要 9P16 异常≥15% 和(或)CSP3、CSP7、CSP17≥10%;③灰区,当检测值大于阈值时但小于 15%(9p16)和(或)10%(CSP3、CSP7、CSP17),考虑用形态学的方法进行评估;④同时出现两种以上异常指标。形态学的分析方法:①分析形态异常的脱落细胞时可供计数细胞数目少于 100 个,探针组合每组大于 25 个细胞,其中 3、7、17 号染色体当中每 1 个指标≥4 个细胞提示染色体多体(单个细胞有 3 个或 3 个以上信号点),9p16 异常≥12 个细胞提示 p16 基因杂合性缺失(单个细胞内有 1 个信号点)或 p16 基因纯合性缺失(单个细胞内无信号点);②有 2 个指标阳性;③每 1 个异常指标的细胞数≥4,1 个指标复杂异常,同一种染色体至少有 2 种以上的异常指标(如 3 个信号或 5 个信号异常)存在。

1.3 膀胱镜检

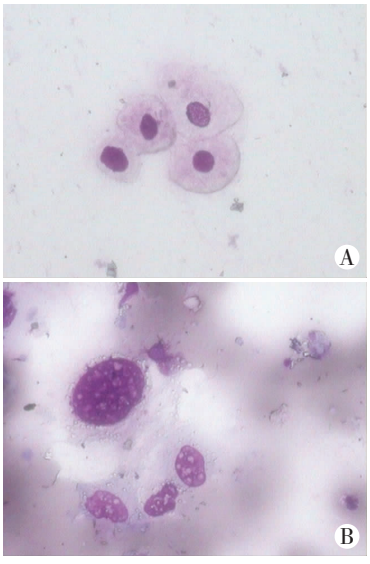
膀胱镜检由有经验的医师完成,镜检发现有可疑病灶者行活检和/或可疑病灶的切除。病理标本由 2 名病理科医师观察,诊断结果一致,方作为最终诊断,必要时课题组会诊。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行 χ^2 检验。

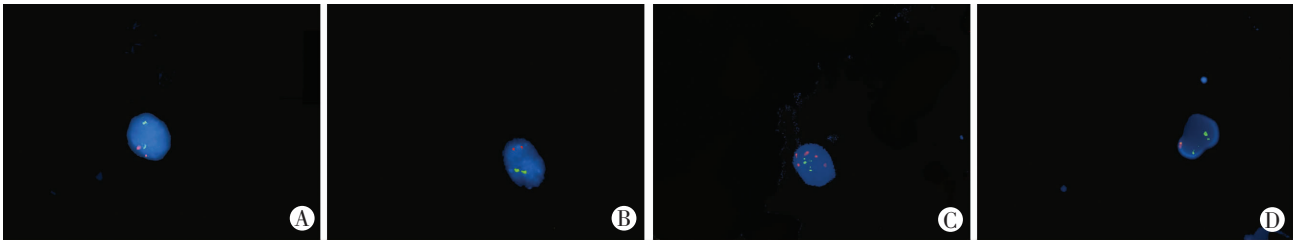
2 结果

155 例患者中,74 例(47.7%)患者确认为膀胱癌,其中 56 例(75.7%)为非肌层浸润性肿瘤,18 例(24.3%)为肌层浸润性肿瘤,余 81 例(52.3%)患者无膀胱癌。膀胱癌和无膀胱癌患者尿脱落细胞的细胞学和 FISH 结果分别见图 1 和图 2。93 例(60.0%)无膀胱癌史患者中 55 例(59.1%)被诊断为膀胱癌,62 例(40.0%)既往有膀胱癌史者中 19 例(30.6%)诊断为肿瘤复发。



A:正常尿路上皮细胞,细胞大小正常,结构清楚,核大小正常,染色均匀,核质比例无改变,细胞质丰富;B:癌性尿路上皮细胞,细胞核大小不等,呈偏心性、染色体粗,细胞核边缘不规则,核质比例增加

图 1 正常和癌性尿路上皮细胞的细胞学检测结果 (HE×40)



A:正常尿路上皮细胞CSP3(2红色)和CSP7(2绿色)为二倍体信号;B:正常尿路上皮细胞CSP17(2绿色)和9p16(2红色)为二倍体信号;C:癌性尿路上皮细胞CSP3(5红色)和CSP7(5绿色)呈非整倍体信号;D:癌性尿路上皮细胞CSP17(5绿色)呈非整倍体信号,9p16(1红色)信号杂合性缺失

图2 荧光原位杂交检测正常和癌性尿路上皮细胞的结果 (×1 000)

尿常规显示,总共37例(23.9%)有炎症。尿路炎症在膀胱癌患者和非膀胱癌患者中分别为16例(21.6%)和21例(25.9%)($P=0.530$),在非肌层浸润性和肌层浸润性膀胱癌分别为11例(19.6%)和5例(27.8%)($P=0.466$)。

细胞学和FISH的总体灵敏度分别为71.6%和65.8%,在非肌层浸润性膀胱癌中分别为64.3%和62.5%,在肌层浸润性膀胱癌中分别为94.4%和83.3%;总体特异度分别为84.0%和80.2%。

在无尿路炎症和尿路炎症患者细胞学假阳性率分别为15.0%(11例)和19.0%(4例)($P=0.664$),FISH假阳性率分别为18.3%(11例)和23.8%(5例)($P=0.587$),均无显著性差异。

3 讨论

对于临床工作中可疑为膀胱肿瘤的患者,尿路影像学、尿液肿瘤标记物和膀胱镜3个检测手段均必不可少;三者中没有任何一种检测手段能够替代另外一种检测手段[7]。尿液肿瘤标记物检测不仅可以协助诊断尿路影像学和膀胱镜漏诊的膀胱肿瘤,还可预知膀胱肿瘤的生物学特性[6]。常用的诊断膀胱肿瘤的尿液肿瘤标记物检测手段是细胞学和FISH[4]。可疑为膀胱肿瘤的患者,往往同时合并尿路炎症。本研究主要分析尿路炎症对细胞学和FISH检测膀胱肿瘤结果的影响。

在膀胱癌患者中,引起尿路炎症常见有两种情况:一种是患者尿路被动感染;一种是用于治疗目的的BCG膀胱灌注引起的炎症[8]。通常认为,当患者满足下列条件之一者,可确诊为尿路炎症:①典型尿路感染症状+脓尿(离心后尿沉渣镜检白细胞>5/HP)+尿亚硝酸盐实验阳性;②清洁离心中段尿沉渣白细胞数>10/HP;③有尿路感染症状+正规清晨清洁中段尿细菌定量培养菌落数$\geq 10^5$/mL,且连续2次尿细菌计数$\geq 10^5$/mL,2次的细菌及亚型相同者;④膀胱穿刺尿培养,如细菌阳性(不论细菌数多少);⑤典型尿路感染症状,治疗前清洁中段晨尿离心尿沉渣革兰染色找细菌,细菌>1/油镜视野。由于本研究是回顾性研究,为了便于客观比较,我们主要依据全自动尿分析仪检测尿常规结果判断患者是否有尿路炎症[9],即:白细胞数$\geq$100/μL,同时红细胞数>1/μL;或者白细胞数$\geq$100/μL,同时尿中有亚硝酸盐为尿路炎症。

尿脱落细胞学反映的是膀胱肿瘤和尿路上皮细胞的形态学改变。膀胱肿瘤细胞具有异型性,尿路炎症如果对其有影响,也应该是加重其异形性,而不会使异形细胞变为正常细胞。因而,人们更关注尿路炎症会不会导致正常的尿路上皮细胞形态学改变,从而在细胞学检测时出现假阳性结果。关于尿路炎症是否导致尿细胞学检测假阳性有诸多观点,但是真正研究尿路炎症对尿细胞学检测结果影响的研究极少[10]。Pesch等[11]和Todenhofer等[6]研究发现,患者尿路被动感染时,尿路炎症中的白细胞不会影响尿细胞学检测结果。临床上对于膀胱原位癌和膀胱癌进展风险较高的患者,经常进行BCG膀胱灌注治疗[1]。BCG膀胱灌注引起的病理改变与结核性膀胱炎类似,即围绕干酪样坏死的肉芽肿性慢性和急性炎症与尿路上皮剥蚀和溃疡有关的反应性上皮异形化。尽管BCG膀胱灌注引起的尿路上皮细胞异形化有自己特征性改变,但是要将肿瘤细胞和反应性尿路上皮细胞的改变区分仍很难[8]。在本组病例中,对于浅表性非肌层浸润性膀胱癌患者,我们用羟基喜树碱或吡柔比星膀胱灌注治疗,没有接受BCG膀胱灌注治疗。本研究结果与Pesch等[11]和Todenhofer等[6]的研究结果一致,即尿路炎症不会导致尿细胞学出现明显的异型性改变。Yafi等[12]报道,细胞学检测结果敏感度与肿瘤分期有关。对低分期肿瘤,细胞学敏感度为10%;而对高分期肿瘤,细胞学敏感度为51%。与之相比,本研究细胞学的敏感度为71.6%,相对较高,这可能与本研究中观察细胞形态学的病理医师有关,他们能很好地将炎症

反应性细胞与恶性肿瘤细胞的改变作准确区分。与Yafi等[12]报道的细胞学特异性波动在83%～88%区间比较,本研究中细胞学特异度为84.0%,无明显不同。

细胞内染色体含量的不平衡是引起膀胱肿瘤的根本原因,细胞遗传学表现为染色体数目异常或结构畸变,分子水平表现为DNA片段扩增、缺失或碱基改变等。由于DNA分子在染色体上是沿着染色体纵轴呈线性排列,因而探针可以直接与染色体进行杂交从而将特定的基因在染色体上定位。FISH技术用荧光标记的已知单链核苷酸为探针,按照碱基互补的原则,与待检材料中未知的单链核苷酸进行特异性结合,形成可被检测的杂交双链核苷酸。FISH检测的是与膀胱肿瘤相关的细胞染色体数目异常和结构畸变[13]。研究显示,与细胞学相比,FISH敏感性高但特异性低[14]。长期慢性炎症可以导致染色体数目异常或结构畸变,这一点已在肝癌和前列腺癌等肿瘤中得到证明。但是,尿路炎症是否会在短期内引起膀胱尿路上皮细胞染色体数目异常或结构畸变,进而影响FISH检测结果,目前相关文献报道较少。研究认为,尿路被动感染引起的炎症和接受BCG膀胱灌注治疗引起的炎症,均不会导致FISH检测结果假阳性增加[11],FISH检测结果的特异性不受尿路炎症的影响[4, 15-16]。本研究结果与上述文献报道结果一致,即FISH检测结果不受尿路炎症的影响。

总之,本研究系统评估了尿路炎症对细胞学和FISH检测结果的影响。结果显示,血尿患者尿路炎症对细胞学和FISH检测均无影响。对于细胞学或FISH检测阳性的患者,如果同时合并尿路炎症,应该在控制炎症或感染基础上及时作进一步检查(如膀胱镜),以明确膀胱肿瘤的诊断。本研究没有对血尿分级(不同程度血尿对尿液标记物的检测结果影响不同[11]),且研究的病例数偏少,故本研究结果还有待进一步的临床研究证实。

参考文献:

[1] Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, *et al*. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update [J]. Eur Urol, 2011, 59(6): 997-1008.

[2] Babjuk M. What are the limitations of endoscopic management of urothelial carcinoma of the upper urinary tract? [J]. Eur Urol, 2011, 60(5): 961-963.

[3] Dal-Moro F, Valotto C, Guttilla A, *et al*. Urinary markers in the every-day diagnosis of bladder cancer[J]. Urologia, 2013, 80(4): 265-275.

[4] Savic S, Zlobec I, Thalmann G N, *et al*. The prognostic value of cytology and fluorescence in situ hybridization in the follow-up of nonmuscle-invasive bladder cancer after intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy[J]. Int J Cancer, 2009, 124(12): 2899-2904.

[5] Henenlotter J, Witstruk M, Wagner V, *et al*. Impact of renal function on the diagnostic accuracy of urine-based tests for the detection of bladder cancer[J]. J Urol, 2011, 185(4): e497-e498.

[6] Todenhofer T, Hennenlotter J, Kuhs U, *et al*. Influence of urinary tract instrumentation and inflammation on the performance of urine markers for the detection of bladder cancer[J]. Urology, 2012, 79(3): 620-624.

[7] Grossfeld G D, Wolf J S Jr, Litwan M S, *et al*. Asymptomatic microscopic hematuria in adults: summary of the AUA best practice policy recommendations[J]. Am Fam Physician, 2001, 63(6): 1145-1154.

[8] Lopez-Beltran A, Luque R J, Mazzucchelli R, *et al*. Changes produced in the urothelium by traditional and newer therapeutic procedures for bladder cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(9): 641-647.

[9] Todenhofer T, Hennenlotter J, Witstruk M, *et al*. Influence of renal excretory function on the performance of urine based markers to detect bladder cancer[J]. J Urol, 2012, 187(1): 68-73.

[10] Sullivan P S, Chan J B, Levin M R, *et al*. Urine cytology and adjunct markers for detection and surveillance of bladder cancer[J]. Am J Transl Res, 2010, 2(4): 412-440.

[11] Pesch B, Nasterlack M, Eberle F, *et al*. The role of haematuria in bladder cancer screening among men with former occupational exposure to aromatic amines[J]. BJU Int, 2011, 108(4): 546-552.

[12] Yafi F A, Brimo F, Auger M, *et al*. Is the performance of urinary cytology as high as reported historically? A contemporary analysis in the detection and surveillance of bladder cancer[J]. Urol Oncol, 2014, 32(1): 27 e1-e6.

[13] Bubendorf L. Multiprobe fluorescence in situ hybridization (UroVysion) for the detection of urothelial carcinoma - FISHing for the right catch[J]. Acta Cytol, 2011, 55(2): 113-119.

[14] Tilki D, Burger M, Dalbagni G, *et al*. Urine markers for detection and surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer[J]. Eur Urol, 2011, 60(3): 484-492.

[15] Shariat S F, Karam J A, Lotan Y, *et al*. Critical evaluation of urinary markers for bladder cancer detection and monitoring[J]. Rev Urol, 2008, 10(2): 120-135.

[16] Kipp B R, Tyner H L, Campion M B, *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.

(**收稿**:2013-11-15;**修回**:2014-01-23)

(编辑 龙 亮)