

尿液液基薄层细胞学检测联合 DNA 倍体分析对 168 例尿路上皮肿瘤诊断的意义

Urine Thin-layer Cytological Test Combined with DNA Ploidy Analysis in Diagnosis of 168 Cases with Urinary Tract Epithelial Tumors // CHEN Qiu-qin, LU Lei, SHA Cong-yi, QU Fu-yu

陈秋勤, 陆磊, 沙琮羿, 渠芙好

(上海中医药大学附属上海市中西医结合医院, 上海 200082)

摘要: [目的] 评价尿液液基薄层细胞学检测(thin-layer cytological test, TCT)联合 DNA 倍体分析对尿路上皮肿瘤诊断的意义。[方法] 收集 2017 年 6 月至 2019 年 5 月 168 例患者, 均有血尿(肉眼血尿或镜下血尿)或尿频、尿急、尿痛等排尿症状异常。所有患者均进行病理活检。收集患者早晨第 2 次新鲜中段尿液分别以传统涂片法、TCT 法和 TCT 联合 DNA 倍体分析法对尿脱落细胞进行检测, 并比较 3 种检测方法的敏感度和特异性。[结果] 168 例患者中病理报告尿路上皮肿瘤共 62 例, 传统涂片法、TCT 法和 TCT 联合 DNA 倍体分析法诊断尿路上皮肿瘤患者的敏感度分别为 48.4% (30/62)、69.4% (43/62) 和 79.0% (49/62) ($P < 0.05$); 3 种检测方法特异性无统计学差异 ($P > 0.05$)。[结论] TCT 联合 DNA 倍体分析法对尿路上皮肿瘤诊断的敏感度高于 TCT 法和传统涂片法, 值得临床推广应用。

关键词: 尿液; 液基薄层细胞学检测; DNA 倍体; 尿路上皮肿瘤

中图分类号: R737.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2021)02-0158-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.02.B013

尿路上皮肿瘤是一种发病率较高的肿瘤, 主要来源于膀胱、肾盂、肾盏、输尿管和尿道, 肿瘤性质大多为恶性。尿路上皮肿瘤的早期诊断和治疗对提高患者生存率和生活质量十分重要。传统尿脱落细胞手工涂片法常因取材不满意而灵敏性较低, 病理活检虽然是尿路上皮肿瘤诊断的金标准, 但其属于有创检查, 大规模临床应用受到限制。液基薄层细胞学检测(thin-layer cytological test, TCT)和 DNA 倍体分析技术在宫颈癌等肿瘤中具有较高的诊断价值^[1], 但在尿路上皮肿瘤中相关的应用报道较少。本研究旨在分析尿液 TCT 联合 DNA 倍体分析对尿路上皮肿瘤诊断的意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2017 年 6 月至 2019 年 5 月于上海中医药大学附属上海市中西医结合医院泌尿外科门诊就诊的患者 168 例, 患者均有血尿(肉眼血尿或镜下血尿)或尿频、尿急、尿痛等排尿症状异常, 其中男性 98 例, 平均年龄(68.52±13.17)岁; 女性 70 例, 平均

年龄(70.09±12.82)岁。排除标准: (1)既往有泌尿系肿瘤病史; (2)既往有腰背部及下腹部外伤史; (3)因膀胱或前列腺增生而引起的尿频、尿急患者; (4)近期有明显急性尿路感染(急性尿道炎、膀胱炎)患者; (5)临床资料不完整。患者在完成尿液标本检查后均进行泌尿系影像学检查以及膀胱镜或输尿管镜+病理活检术, 以病理结果为金标准。

1.2 检测方法

1.2.1 收集标本

收集患者早晨第 2 次新鲜中段尿液, 每次 50ml 以上, 每例患者均留取 3 份标本, 随机进入传统涂片组、TCT 组和 TCT 联合 DNA 倍体分析组。

1.2.2 传统涂片法

取 50ml 尿液标本放置于 4℃冰箱中 10min, 再以 2500 r/min 离心 5min, 弃去上清液, 用吸管吸取尿沉渣置于玻片上均匀涂片, 潮干后以 95%乙醇固定 15~20min, 常规苏木精伊红染色, 镜检。

1.2.3 TCT 法

将 50ml 尿液标本以 2500 r/min 离心 5min, 弃去上清液, 将沉渣置于带有细胞保存液的标本瓶后, 通过专用高精度过滤膜均匀细胞样本、采集细胞并进行全自动制作涂片(Thinprep 2000 制片机), 然后将样本置入 95%乙醇中固定 15~20min, 清水清洗干净后进行巴氏染色, 镜检。

通信作者: 陈秋勤, 副主任医师, 本科; 上海中医药大学附属上海市中西医结合医院病理科, 上海市虹口区保定路 230 号 (200082); E-mail: 543916115@qq.com

收稿日期: 2020-02-19; **修回日期:** 2020-03-24

1.2.4 传统读片法及 TCT 法读片标准

判断标准采用巴氏分级法:Ⅰ级:可见正常上皮脱落细胞,数量较少,无异常细胞或非典型细胞;Ⅱ级:细胞数量较Ⅰ级多,可见炎性细胞或反应性细胞,有非典型性细胞但无恶性细胞证据;Ⅲ级:涂片内可见形态可疑恶性的非典型细胞,但无法肯定需反复检查;Ⅳ级:涂片内有高度可疑的癌细胞,但不够典型需进一步证实;Ⅴ级:可见肯定的癌细胞。其中Ⅰ级和Ⅱ级为阴性,Ⅲ级、Ⅳ级和Ⅴ级为阳性。

1.2.5 DNA 倍体分析法

先行 TCT 制片,经 Feulgen 染色后再用全自动细胞 DNA 定量分析系统(麦克奥迪实业有限公司)对 Feulgen 染色片进行分析,要求每张玻片上>6000 个细胞核。该系统自动搜集并储存细胞核的图像,根据受检细胞核参数,使用分类软件对受检细胞进行分类和计数,最后打印细胞点阵分布图和 DNA 倍体分析直方图完成检测。

DNA 指数(DNA index,DI)判定检测结果:DI=1 提示结果正常,DI=1~2.5 提示细胞疑似癌变或细胞增生,DI≥2.5 提示细胞癌变。根据 DI 将结果分为 3 级:Ⅰ级:以正常二倍体细胞为主,未发现倍体异常细胞;Ⅱ级:DI 在 1~2.5 之间和 DI≥2.5 的细胞数超

过细胞总数的 10%;Ⅲ级:可见异倍体细胞峰和 5 个以上 DI≥2.5 的细胞。Ⅰ级判定为阴性,Ⅱ~Ⅲ级判定为阳性。

1.3 统计学处理

采用 IBM SPSS 统计软件 22.0 进行数据分析。计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

168 例患者经病理活检可见非肿瘤性病变 106 例,其中炎性改变 80 例,腺性膀胱炎 26 例;尿路上皮肿瘤 62 例,其中低度恶性潜能的尿路上皮肿瘤 6 例,尿路上皮癌 56 例(Table 1)。

传统涂片法检出阳性尿脱落细胞 30 例,TCT 法检出阳性尿脱落细胞 43 例,TCT 联合 DNA 倍体分析法检出阳性尿脱落细胞 49 例(Table 2)。

168 例患者中病理报告尿路上皮肿瘤共 62 例,3 种检测方法敏感度分别为 48.4%(30/62)、69.4%(43/62) 和 79.0%(49/62)($P<0.05$),3 种方法检测低度恶性潜能的尿路上皮肿瘤和低级别尿路上皮癌患者敏感度有统计学差异($P<0.05$)(Table 3)。

168 例病理检查阴性患者中,传统涂片法有 2 例假阳性,特异性为 98.1%(104/106),TCT 法和 TCT 联合 DNA 倍体分析法特异性均为 99.1%(105/106),3 种检测方法的特异性无统计学差异($P>0.05$)。

Table 1 Statistics of pathological results of 168 patients

Pathological results	N(%)	Age (years)			
		<60	61~70	71~80	>80
Non-neoplastic lesion(n=106)					
Inflammatory change	80(47.6)	17	28	26	9
Cystitis glandularis	26(15.5)	11	7	6	2
Neoplastic lesion(n=62)					
Urothelial tumors with low malignant potential	6(3.6)	2	2	1	1
Urothelial carcinoma	56(33.3)	6	19	23	8
Total	168(100)	36	56	56	20

Table 2 Detection results of three methods

Group	No suspicious cell or DNA ploidy analysis grade I	Suspected malignant atypical cells	Suspected cancer cell	Cancer cell	Ploidy grade II	Ploidy grade III
Traditional	138	7	13	10	—	—
TCT	125	6	15	22	—	—
TCT+DNA ploidy analysis	119	—	—	—	18	31

Table 3 Comparison of sensitivity of three detection methods

Grade	N	Traditional(%)	TCT(%)	TCT +DNA ploidy analysis(%)	χ^2	P
Urothelial tumors with low malignant potential	6	0(0)	2(33.3)	4(66.7)	6.000	0.049
Low grade urothelial carcinoma	32	14(43.8)	23(71.9)	25(78.1)	9.381	0.009
High grade urothelial carcinoma	24	16(66.7)	18(75.0)	20(87.5)	1.778	0.411
Total	62	30(48.4)	43(69.4)	49(79.0)	13.48	0.001

3 讨论

尿细胞学检查具有快捷、无创等优点,是诊断尿路上皮肿瘤重要的检查手段之一^[2]。传统涂片法常因制片质量差、取材时细胞丢失,假阴性率较高^[3]。TCT法可通过提高制片质量,增加异常细胞的检出率,进而提高诊断尿路上皮肿瘤的敏感度。TCT法相比传统涂片法具有以下优点^[4]:(1)尿液标本经处理后,背景较干净,细胞较完整;(2)制片速度快,且细胞分布均匀,质量干扰较少,检查可靠性得到提高;(3)细胞数量少的标本经液基薄层制片,标本中的细胞收集程度增加,涂片中的细胞数量有保证;(4)TCT法固定细胞在较小的范围内,检查者阅片面积小不易视疲劳,可减少漏诊进而提高阳性率。研究发现传统涂片法诊断膀胱癌的敏感度为66.2%,而TCT法敏感度为73.5%,差异有统计学意义。但TCT法同样有其局限型,尿脱落细胞良恶性的判定受医师水平和个人经验影响较大,很难保证结果的准确性和稳定性^[5]。

异倍体细胞的出现表明细胞核染色体数量和结构发生异常改变,这是早期细胞恶变的特征^[6]。DNA倍体分析系统可实现细胞检测的自动化、数字化和标准化^[7]。DNA倍体分析法不但避免了不同医师间的个人水平差异,还可弥补人工观测的缺陷,易获得准确客观的结果。我们选取了168例具有血尿或排尿异常症状的病例,应用3种检查方法对尿脱落细胞进行检测,168例患者中TCT法检出尿脱落细胞明显高于传统涂片法检出病例数,这与TCT法制片过程中细胞丢失少、成片质量高有关。有报道指出^[8],传统涂片法检查高级别尿路上皮细胞癌敏感度较高,约为50%~85%,而检查低度恶性尿路上皮肿瘤和低级别尿路上皮癌敏感度仅为20%~40%,TCT法这两个检查结果分别为80%~90%和50%~70%,明显高于传统涂片法。分化好的低级别尿路上皮肿瘤由于细胞间黏附作用,上皮细胞不易脱落,导致尿细胞学诊断的敏感度较低;而分化差的高级别肿瘤其肿瘤细胞容易脱落,故诊断阳性率较高^[9]。本文62例尿路上皮癌患者中,3种检测方法特异性无统计学差异,敏感度差异明显,TCT联合DNA倍体分析法敏感度高于TCT法和传统涂片法。这是由于DNA倍体分析法通过自动化程序检测DNA指数和异倍

体细胞数量,避免了主观因素导致的结果误差,因此TCT联合DNA倍体分析法敏感度最高。本文不足之处在于样本量有限,结果可能存在偏差,下一步应采用多中心、大样本的研究方式以提高研究结果的可信度。

综上所述,TCT联合DNA倍体分析法对尿路上皮肿瘤诊断的敏感度高于TCT法和传统涂片法,值得临床推广应用。

参考文献:

- [1] Lyu YJ, Ding L, Gao T, et al. Influencing factors of high-risk human papillomavirus infection and DNA load according to the severity of cervical lesions in female coal mine workers of China[J]. J Cancer, 2019, 10(23): 5764–5769.
- [2] Stanzone N, Ahmed T, Fung PC, et al. The continual impact of the Paris system on urine cytology, a 3-year experience[J]. Cytopathology, 2020, 31(1): 35–40.
- [3] 谢贤才, 胡萍, 王星程. 三种方法检测尿中有形成分的结果比较分析[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(8): 1822–1823. Xie XC, Hu P, Wang XC. Comparative analysis of the results of three methods for detecting tangible components in urine[J]. Modern Diagnosis and Treatment, 2014, 25(8): 1822–1823.
- [4] Rahimi S, Carnovale-Scalzo C, Marani C, et al. Comparison of conventional papanicolaou smears and fluid-based, thin-layer cytology with colposcopic biopsy control in central Italy: a consecutive sampling study of 461 cases[J]. Diagn Cytopathol, 2009, 37(1): 1–3.
- [5] 唐金琦, 谭万龙. 液基细胞学在膀胱肿瘤诊断中的进展[J]. 现代泌尿外科杂志, 2016, 21(4): 77–80. Tang JQ, Tan WL. Progress of liquid-based cytology in the diagnosis of bladder tumor[J]. Journal of Modern Urology, 2016, 21(4): 77–80.
- [6] Alaizari NA, Sperandio M, Odell EW, et al. Meta-analysis of the predictive value of DNA aneuploidy in malignant transformation of oral potentially malignant disorders[J]. J Oral Pathol Med, 2018, 47(2): 97–103.
- [7] Ersvaer EI, Hveem TS, Vlatkovic L, et al. Prognostic value of DNA ploidy and automated assessment of stroma fraction in prostate cancer[J]. Int J Cancer, 2019 Dec 17. [Epub ahead of print].
- [8] 陈卓. 尿液膜式液基薄层细胞学技术(TCT)在尿路上皮肿瘤筛查、诊断及术后随访中的应用[D]. 上海: 复旦大学, 2011. Chen Z. Application of urine membrane liquid-based thin layer cytology (TCT) in screening, diagnosis and postoperative follow-up of urothelial tumors [D]. Shanghai: Fudan University, 2011.
- [9] Faltas BM, Prandi D, Tagawa ST, et al. Clonal evolution of chemotherapy-resistant urothelial carcinoma[J]. Nat Genet, 2016, 48(12): 1490–1499.