

· 临床研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.03.020

# DNA 含量检测在尿脱落细胞病理学漏诊可疑膀胱癌患者中的临床价值

高渝霞<sup>1</sup>, 杨新<sup>2△</sup>

(1. 丰都县人民医院病理科, 重庆 408200; 2. 中国人民解放军陆军特色医学中心病理科, 重庆 400042)

**[摘要]** **目的** 探讨 DNA 含量检测在可疑膀胱癌但尿脱落细胞病理学检查(简称尿检)阴性或不确定患者中的应用价值。**方法** 挑选临床初诊怀疑膀胱癌但尿检(HE 染色)阴性或不确定的患者 56 例, 采用 Feulgen 染色检测尿脱落细胞 DNA 含量, 以手术切除标本组织病理学诊断结果作为“金标准”进行对比分析。**结果** 56 例患者中, 尿检阴性 35 例, 不确定 21 例; DNA 含量检测阴性 31 例, 阳性患者 25 例; 组织病理学诊断阴性 23 例, 阳性 33 例。DNA 含量检测的灵敏度为 51.52%(17/33), 特异度为 65.22%(15/23)。尿检准确度为 33.93%(19/56), DNA 含量检测准确度为 57.14%(32/56), 两者比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。DNA 含量检测在尿检阴性患者中的灵敏度和特异度分别为 25.00%(4/16)、73.68%(14/19); 在不确定患者中的灵敏度和特异度分别为 76.47%(13/17)、25.00%(1/4)。DNA 含量检测的检出率在漏诊的高级别膀胱癌患者中为 75.00%(6/8), 在低级别膀胱患者中为 44.00%(11/25), 在阴性患者中为 34.78%(8/23)。**结论** 尿脱落细胞 DNA 含量检测在尿检阴性和不确定患者中的灵敏度和特异度均较高, 可有效降低尿检漏检率。

**[关键词]** 尿; 脱落细胞; DNA 染色; 膀胱癌**[中图法分类号]** R446.9**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)03-0431-04

## The clinical value of DNA content detection in suspected bladder cancer patients with pathological missed diagnosis of urine exfoliated cells

GAO Yuxia<sup>1</sup>, YANG Xin<sup>2△</sup>

(1. Department of Pathology, People's Hospital of Fengdu, Chongqing 408200, China;

2. Department of Pathology, PLA Army Characteristic Medical Center, Chongqing 400042, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the application value of DNA content detection in patients with suspected bladder cancer but negative or uncertain urine cytology. **Methods** A total of 56 patients with suspected bladder cancer but negative or uncertain urine cytology (HE staining) were selected, and the results were analyzed. The pathological diagnosis of surgical specimen was used as the standard for comparative analysis. **Results** Among the 56 patients diagnosed by urine cytology, 35 cases were negative and 21 cases were uncertain. DNA content was negative in 31 cases and positive in 25 cases. Among the patients with negative pathological results of urine cytology, 23 patients had negative histopathological diagnosis and 33 patients had positive histopathological diagnosis. Among the LBP negative cases, the histological diagnosis was negative in 23 and positive in 33. In the 56 cases with negative or uncertain results of urine cytology, the sensitivity of DNA content detection was 51.52%(17/33) and the specificity was 65.22%(15/23). The accuracy of urine cytology detection was 33.93%(19/56), and the accuracy of DNA content detection was 57.14%(32/56), and the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The sensitivity and specificity of DNA content detection in urine negative patients were 25.00%(4/16) and 73.68%(14/19), respectively; The sensitivity and specificity in uncertain patients were 76.47%(13/17) and 25.00%(1/4), respectively. The detection rate of DNA content detection was 75.00%(6/8) in high-grade bladder cancer patients who missed diagnosis, 44.00%(11/25) in low-grade bladder patients, and 34.78%(8/23) in negative patients. **Conclusion** The sensitivity and specificity of DNA content detection in urine exfoliated cells are high in patients with negative and uncertain urine cytology, which can effectively reduce the missed detection rate of urine exfoliated cells.

**[Key words]** urine; exfoliated cell; liquid-based preparations; DNA staining; bladder cancer

膀胱癌是泌尿系统恶性肿瘤中最常见的恶性肿瘤,复发率较高<sup>[1]</sup>。临床上常用的检查方法包括尿脱落细胞病理学检查(简称尿检)和膀胱镜检查,但尿检的灵敏度较低<sup>[2-3]</sup>,且对于较早期的少量异型细胞并不足以通过形态学给予诊断。膀胱镜检查费用昂贵,又具有侵入性,且对于微小的肿瘤病灶依然难以发现<sup>[4]</sup>。故临床期待寻找一种灵敏度、特异度均较高且无创的膀胱癌诊断方法。DNA 染色是一种病理科常规的染色技术,用 Feulgen 染色法可显示 DNA 的含量,用于肿瘤的诊断和研究,有助于判断肿瘤的良好性及分化程度,并评估肿瘤患者的预后。对于泌尿系统肿瘤 DNA 含量检测是一项较新型的检测方法<sup>[5]</sup>,检测的标本类型可以是尿脱落细胞、常规手术切除组织等。本研究利用尿脱落细胞进行 DNA 含量检测,专门挑选常规尿检阴性的患者进行比对分析,探讨其临床应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2020 年 6 月在中国人民解放军陆军特色医学中心住院且病理科尿检 3 次为非阳性的患者 56 例,其中男 37 例,女 19 例,中位年龄 62.3 岁(25.0~86.0 岁)。纳入标准:(1)年龄 25~86 岁;(2)行膀胱术;(3)行组织病理学检查;(4)患者及家属签署知情同意书。排除标准:尿脱落细胞病理学检查确诊为膀胱癌。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 薄层白片制作

取清晨起床后第 1 次尿的中后段 100 mL 送检病理科。取 50 mL 500×g 离心 10 min,弃上清液,再取 50 mL,重复离心,至肉眼可观察到底部沉淀。向沉淀中加 5 mL 缓冲液,振荡均匀,转移至 10 mL 离心管中 500×g 离心 5 min,弃上清液。加 0.5~1.0 mL 缓冲液,振荡均匀,制成重悬细胞液,用于苏木素-伊红(HE)染色制片和 Feulgen 染色制片,HE 染色制片采用沉降液法细胞制片技术(liquid-based preparations, LBP):取 300~500 μL 重悬细胞液,滴到直径为 13 mm 的沉降仓,静置 30 min,倒掉上清液,滴无水乙醇 1 mL 固定细胞,倒掉,再滴无水乙醇 1 mL 再次固定,倒掉,制成薄层白片。Feulgen 染色制片采用离心甩片法:取 1 mL 重悬细胞液,滴入甩片仓,调整离心甩片机转速至 4 000 r/min,离心 4 min(要求在低倍镜下细胞紧凑平铺,不重叠,高倍镜下可见 8~12 个上皮细胞),取出玻片,即制成薄层白片。

#### 1.2.2 HE 染色

LBP 法所制细胞薄层白片苏木素染色 1 min,水洗,无水乙醇脱水 2 min×3 次,0.5%伊红染色 30 s,无水乙醇脱水 2 min×3 次,自然风干,封片。片子由

1 名住院医师初诊,1 名主治医师复诊,1 名副主任医师对疑难标本会诊。诊断结果按照 2022 版《尿液细胞学巴黎报告系统》<sup>[6]</sup>,将“未查见肿瘤细胞”“未见癌细胞”尿液巴黎 2 类划为阴性,“查见极个别非典型异型细胞”“不确定”尿液巴黎 3 类划为不确定,“癌”“可疑癌”尿液巴黎 4 类及以上划为阳性。

#### 1.2.3 Feulgen 染色

Feulgen 染色是一种 DNA 染色,所制细胞薄层白片染色后可用 DNA 定量图像分析仪自动分析,自动出具结果。Feulgen 染色步骤:离心甩片法所制细胞薄层白片,垂直放入 95%乙醇染缸中固定 10 min,再转入无水乙醇固定 15 min,在 320 mL 甲醇+60 mL 甲醛+20 mL 冰醋酸的混合液中分化 15 min,水漂洗 5~6 次。5 mol/L 盐酸 60 min,水漂洗 5~6 次。DNA 染液染色约 67 min(根据染液配制时间长短,可进行调整,需在 25℃电热恒温培养箱中避光操作),水漂洗 5~6 次。95%乙醇脱水 2 min,伊红染色约 15 s(具体时间根据染液使用情况定)。95%乙醇浸泡(2 次,2 min/次)洗去多余染液,无水乙醇(2 次,2 min/次)进一步洗去多余染液并脱水,晾干,封片。片子由 1 名住院医师初诊,1 名主治医师复诊,1 名副主任医师对疑难标本会诊。

#### 1.2.4 DNA 图像分析

本研究采用武汉兰丁医学高科技有限公司的全自动扫描分析系统,根据细胞着色深浅、形态、面积、积分光密度(integrated optical density, IOD),分析其 DNA 含量。这里的 DNA 含量不是绝对值,是一个相对值,标准对照细胞为同张玻片上的 100 个正常上皮细胞,对每张玻片上 6 000 个以上细胞核进行扫描,扫描细胞的变异系数(coefficient of variation, CV) < 5%。DNA 含量检测以 DNA 指数(DNA index, DI)来表示,DI 1~<2 为正常细胞,不正常细胞的情况有以下 3 种:(1) DI>2.5 的细胞;(2) DI=2 的细胞,即在 M 期,细胞数大于被检测细胞总数的 10%(正常细胞 M 期约占整个细胞生长周期的 5%~10%);(3) 出现非整倍体细胞峰。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件进行数据统计学分析,计数资料采用例数和百分比表示,比较行  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 尿检结果与组织病理学诊断结果比较

56 例患者中,尿检阴性 35 例,其中 16 例组织病理学诊断为阳性,19 例为阴性;尿检不确定 21 例,其中 17 例组织病理学诊断为阳性,4 例为阴性。尿检与组织病理学诊断一致率(即准确度)为 33.93%(19/56)。

## 2.2 DNA 含量检测与组织病理学诊断结果比较

组织病理学诊断为阳性的 33 例患者中, DNA 含量检测阳性 17 例(真阳), DNA 含量检测阴性 16 例(假阴);组织病理学诊断为阴性的 23 例患者中, DNA 含量检测阳性 8 例(假阳), DNA 含量检测阴性 15 例(真阴);故 DNA 含量检测的灵敏度为 51.52%(17/33), 特异度为 65.22%(15/23), 准确度为 57.14%(32/56), 高于尿检准确度, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

## 2.3 DNA 含量检测、尿检与组织病理学诊断比较

尿检阴性的 35 例患者中, DNA 含量检测阳性 9 例, 其中组织病理学诊断阳性 4 例, 组织病理学诊断阴性 5 例; DNA 含量检测阴性 26 例, 其中组织病理学诊断阳性 12 例, 组织病理学诊断阴性 14 例。尿检不确定的 21 例中, DNA 含量检测阳性 16 例, 其中组织病理学诊断阳性 13 例, 组织病理学诊断阴性 3 例; DNA 含量检测阴性 5 例, 组织病理学诊断阳性 4 例, 组织病理学诊断阴性 1 例。DNA 含量检测在尿检阴性患者中的灵敏度和特异度分别为 25.00%(4/16)、73.68%(14/19); 在不确定患者中的灵敏度和特异度分别为 76.47%(13/17)、25.00%(1/4)。

## 2.4 不同级别患者尿脱落细胞 DNA 含量检测结果对比

在组织病理学诊断为高级别膀胱癌的 8 例患者中,  $DI > 2.5$  的患者 6 例(75.00%), 1 例细胞数高达 627 个(图 1); 在组织病理学诊断为低级别膀胱癌的 25 例患者中,  $DI > 2.5$  的患者 11 例(44.00%), 1 例出现非整倍体细胞峰; 在组织病理学诊断为阴性 23 例中,  $DI > 2.5$  的患者 8 例(34.78%)。

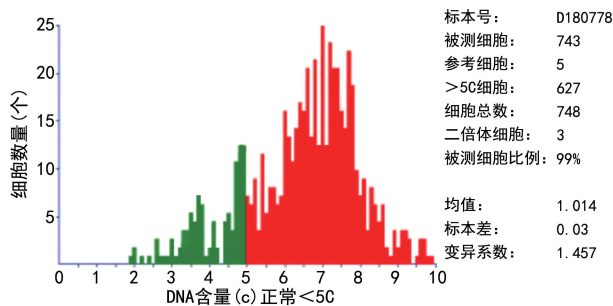


图 1 DNA 含量检测结果

## 3 讨论

尿液在肾脏形成, 流经肾小管、肾盂、输尿管、膀胱, 最后由尿道排出, 故尿液中混入了泌尿系统各部位的脱落细胞, 同时由于尿液中细胞易发生退变, 且细胞本身存在细胞形态非典型性特点, 时常给细胞学诊断带来困难, 漏诊颇多。DNA 含量检测, 并不是一种新兴技术, 但是在泌尿系统肿瘤方面的研究较少。

有研究显示, 非整倍体现象在正常情况下非常罕见, 是癌症的标志特征之一<sup>[7]</sup>。细胞发生癌变时, M 期(有丝分裂期)发生错误, 造成染色体的不稳定性

非整倍性<sup>[8-10]</sup>。近年研究发现, DNA 倍体分析在诸多恶性肿瘤的鉴别诊断中具有良好的应用价值, 如宫颈癌<sup>[11]</sup>、口腔癌<sup>[12-13]</sup>等。1992 年之前在美国主要盛行流式细胞术对细胞内 DNA 含量进行评估<sup>[14]</sup>, 但 1993 年的一篇研究利用自动图像分析系统分析了膀胱癌石蜡标本 DNA 含量, 确立了自动化图像分析的地位, 该技术也可应用于尿液沉淀物的涂片或经尿道切除的肿瘤切片<sup>[15]</sup>。本研究采用国内武汉兰丁医学高科技有限公司的全自动图像分析仪进行分析<sup>[16-18]</sup>, 对 DNA 采用 Feulgen 染色, 国内此技术在肺癌<sup>[19-22]</sup>、宫颈癌<sup>[23-26]</sup>等诸多癌症中已取得良好效果。

本研究前期成果证实, DNA 含量检测联合尿检, 可明显提高尿路上皮癌的检出率<sup>[27]</sup>。国内亦有很多研究证实了 DNA 倍体检测可提高早期癌变的诊断率, 并能客观评估癌症的恶性程度, 联合尿检能有效减少漏诊率<sup>[28-29]</sup>。本研究重点分析尿检结果不能佐证临床可疑膀胱癌的患者, 实验结果显示, 尿检为阴性和不确定的 56 例患者中, 经组织病理学诊断确诊为膀胱癌的患者 33 例, 证明尿检存在很大漏检。DNA 含量检测阳性的患者 25 例中有 17 例组织病理学确诊为真阳。之所以存在 DNA 含量检测检出率高于尿检, 很大一部分原因可能是细胞核内染色体数目的对数改变先于形态学改变, 故较早期的癌变很难用肉眼根据形态学做出正确评估。假阴患者可能与肿瘤的部位有关, 如果肿瘤部位较深, 脱落的肿瘤细胞不足或当次尿液中并没有癌细胞, 故不易检出。

综上所述, 尿脱落细胞 DNA 含量检测可通过对染色体倍数的测定诊断出病变, 对肿瘤细胞的良恶性鉴别做出判断, 尤其在怀疑膀胱癌患者但尿检阴性和不确定患者中, DNA 含量检测可为临床提供一个补充依据, 有效减少尿检的漏检率, 具有很高的临床应用价值。

## 参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71: 209-249.
- [2] MAAS M, BEDKE J, STENZL A, et al. Can urinary biomarkers replace cystoscopy? [J]. World J Urol, 2019, 37: 1741-1749.
- [3] 徐涛, 秦彩朋. 尿液 DNA 甲基化检测在膀胱癌无创诊断中的研究进展[J]. 中华泌尿外科杂志, 2020, 41: 721-723.
- [4] TSE R T, ZHAO H, WONG C Y, et al. Urinary cell-free DNA in bladder cancer detection[J].



- Diagnostics(Basel),2021,11:306.
- [5] 李金泽,曹德宏,魏强,等.尿游离 DNA 在膀胱癌诊治中应用的研究进展[J].中华泌尿外科杂志,2022,6(43):469-472.
- [6] WOJCIK E M,KURTYCZ D F I,ROSENTHAL D L.We'll always have paris the paris system for reporting urinary cytology 2022[J].J Am Soc Cytopathol,2022,11(2):62-66.
- [7] SIMONETTI G,BRUNO S,PADELLA A, et al. Aneuploidy: cancer strength or vulnerability? [J]. Int J Cancer,2019,144(1):8-25.
- [8] WILHELM T,SAID M,NAIM V. DNA replication stress and chromosomal instability: dangerous liaisons[J]. Genes (Basel),2020,11(6):642.
- [9] ROSS J S. DNA ploidy and cell cycle analysis in cancer diagnosis and prognosis[J]. Oncology, 1996,10(6):867-890.
- [10] 王文芳,吴忆寒,侯岩峰,等.机会性宫颈癌筛查中 DNA 倍体分析的临床价值[J].当代临床医刊,2022,35(3):51-52.
- [11] GUO Y,PENG Q,WANG Y, et al. The application of DNA ploidy analysis in large-scale population screening for cervical cancer[J]. Acta Cytol,2021,65(5):385-392.
- [12] LI CX,WU L,DENG Y W, et al. DNA aneuploidy with image cytometry for detecting dysplasia and carcinoma in oral potentially malignant disorders: a prospective diagnostic study [J]. Cancer Medicine,2020,9(17):6411-6420.
- [13] DATTA M,LARONDE D,PALCIC B, et al. The role of DNA image cytometry in screening oral potentially malignant lesions using brushings: a systematic review[J]. Oral Oncol,2019,9(96):51-59.
- [14] PALMEIRA C A,OLIVEIRA P A,SEIXAS F, et al. DNA image cytometry in bladder cancer: state of the art[J]. Anticancer Res,2008,28(1B):443-450.
- [15] STÖCKLE M,STEINBACH F,VOGES G, et al. Image analysis DNA cytometry of bladder cancer[J]. Recent Results Cancer Res,1993,126:151-163.
- [16] 王蕊,王珩,吴娟,等.全自动 DNA 图像分析系统在胰腺恶性肿瘤诊断中的价值[J].癌变·畸变·突变,2021,33(6):451-454.
- [17] 杨新,杨光,肖华亮.全自动 DNA 图像分析技术提高胸水细胞病理学的阳性检出率[J].现代肿瘤医学,2021,29(23):4093-4095.
- [18] 孙小蓉,车东媛,涂洪章,等.细胞 DNA 倍体分析评估宫颈上皮内瘤变[J].中华肿瘤杂志,2006,28(11):831-835.
- [19] 王娟,杨震,朱强,等.一种基于人工智能的细胞病理诊断系统在肺癌诊断中的初步应用[J].解放军医学院学报,2020,41(9):897-900.
- [20] 徐建平,叶伟,吕莉萍,等.细胞 DNA 图像自动扫描与分析(DNA-ICM)技术在胸科恶性肿瘤诊断中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2018,34(3):263-266.
- [21] 陈学敬,周立娟,杜伟丽,等.细胞 DNA 定量分析技术在肺癌诊断中的应用价值[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2021,5(15):331-334.
- [22] 王彩霞,刘崇梅,陈萍,等.细胞 DNA 倍体分析及 CYFRA21-1、CEA、CA125 水平检测在老年良恶性胸腔积液诊断中的价值[J].中华老年学杂志,2017,37(5):1158-1160.
- [23] 刘华,李青,曹磊,等. DNA 定量分析在子宫颈 ASC-US 患者中的分层管理作用[J].临床与实验病理学杂志,2021,37(4):455-457.
- [24] 杨雯迪,李亚军,张立静.细胞 DNA 定量分析检测在阴道镜检查中的应用[J].中国研究型医院,2021,8(1):52-56.
- [25] 王立锋,朱响恒,朱修香,等. DNA 异倍体定量检测用于中老年宫颈病变女性分流诊治的临床价值[J].中华老年医学杂志,2019,38(11):1285-1288.
- [26] 刘华,李青,朱修香,等. DNA 定量分析在子宫颈 ASC-US 患者中的分层管理作用[J].临床与实验病理学杂志,2021,37(4):455-457.
- [27] 魏世蓉,王秋实,杨新,等.细胞 DNA 定量分析在尿脱落细胞学鉴别诊断中的应用[J].诊断病理学杂志,2018,25(4):285-288.
- [28] 吴康,满艳茹,唐文潇,等.自动尿液细胞 DNA 定量分析对泌尿系统炎症与膀胱癌的鉴别诊断价值[J].中国临床医学,2016,23(5):629-632.
- [29] 王启龙,李明.尿液细胞 DNA 倍体检测对于泌尿系肿瘤诊断的意义[J].中国城乡企业卫生,2019,34(6):180-181.

(收稿日期:2023-08-18 修回日期:2023-10-27)

(编辑:姚雪)