

· 技术与方法 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.06.034

1 160 例孕早期绒毛染色体细胞遗传学分析*

欧阳鲁平, 陈少科, 费冬梅, 刘天盛, 黄红倩, 郑陈光[△]

(广西壮族自治区妇产医院/妇幼保健院遗传代谢中心实验室, 南宁 530003)

摘要:目的 评价绒毛细胞染色体核型分析在孕早期产前诊断中的应用价值。方法 对有产前诊断指征的孕妇在 B 超引导下经腹绒毛穿刺抽取绒毛组织行细胞培养、染色体制备及核型分析。结果 成功培养绒毛细胞 1 140 例, 成功率为 98.2% (1 140/1 160), 共检测出 62 例染色体非多态性结构异常。其中包括 32 例染色体数目异常, 5 例染色体平衡易位, 3 例染色体缺失, 22 例嵌合体。同时还检测出 20 例染色体倒位, 包括 19 例 9 号染色体倒位, 1 例 Y 倒位。结论 孕早期绒毛细胞染色体检查能及早发现胎儿染色体异常并早期干预, 对于减少染色体畸形儿的出生具有重要的意义。

关键词: 产前诊断; 核型分析; 早孕期; 绒毛细胞

中图分类号: R394

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2015)06-0813-03

Analysis of fetal chromosomal karyotypes in 1 160 pregnant women during the first trimester of gestation*

Ouyang Luping, Chen Shaoke, Fei Dongmei, Liu Tiansheng, Huang Hongqian, Zheng Chenguang[△]

(Department of Genetic Metabolism, Obstetrics and Gynecology Hospital/Maternal and

Children Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530003, China)

Abstract: Objective To evaluate the value of chorionic villus cells karyotype analysis in prenatal diagnosis during the first trimester of pregnancy. **Methods** Pregnant women with prenatal diagnosis indications were punctured by guiding abdominal B-mode ultrasound to get villi tissue which was then to develop cell culture, chromosome preparation and karyotype analysis. **Results** A total of 1 140 cases were successfully cultured, and the successful cultivating rate was 98.2% (1 140/1 160). Among them, chromosomes of 62 cases were detected to be non-polymorphic structural abnormalities, including 32 abnormal chromosome number, 5 chromosome balanced translocation, 3 chromosome deletion, and 22 chimeras. What's more, 20 cases were detected to be chromosomal inversion, 19 cases of chromosome 9 were inversion, and one with chromosome Y was inversion. **Conclusion** Karyotype analysis of villus cell could help to detect fetal chromosomal abnormalities during early pregnancy and get early intervention. It was significant to reduce the child's birth with chromosome abnormalities.

Key words: prenatal diagnosis; karyotype analysis; first trimester; chorionic villus cells

染色体畸变是常见的一类新生儿出生缺陷, 多表现为智力低下、发育滞后和多发畸形, 无有效的治疗方法。近年来有各种新方法、新检测技术开始用于临床, 但这些新方法、新技术存在价格昂贵、技术要求高等问题, 传统的细胞遗传学诊断是该领域不可替代的金标准^[1]。本研究通过绒毛染色体产前诊断可在胎儿发育早期诊断出染色体异常, 在妊娠早期及时诊断并及早处理, 从而有效降低出生缺陷率, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 1 月至 2013 年 12 月, 孕早期血清筛查高风险、孕妇年龄大于或等于 35 岁、超声检查异常或有不良孕产史等各种产前诊断指征就诊的孕妇 1 160 例, 年龄 22~44 岁, 孕周 11~13⁺⁶ 周。

1.2 方法

1.2.1 绒毛细胞培养 采用胶原酶消化绒毛组织培养技术来^[2]处理绒毛标本。无菌条件下, 在 B 超引导下经腹绒毛穿刺取绒毛组织 10~20 mg。去除红细胞及蜕膜组织等可疑的非绒毛组织。用无菌剪刀把绒毛组织剪碎, 每瓶加入培养基

2.5 mL, 接种于两个细胞培养瓶中, 37 ℃、5% CO₂ 培养箱静置培养, 视细胞生长情况于 7~10 d 换液, 换液后见上皮样或成纤维样细胞生长良好即可收获细胞。

1.2.2 制备绒毛染色体及分析 培养瓶内加入 10 μg/mL 秋水仙胺 60 μL, 于培养箱中继续培养 3.5 h, 保留培养液, 加入预温的 EDTA 胰酶消化液 2 mL, 置 37 ℃ 消化 10~12 min 后加入原保留的培养液终止消化。离心, 弃上清液, 加入已预温的低渗液 6 mL, 置 37 ℃ 水浴低渗 4 min。加入 1 mL 固定液预固定 1 次, 离心后弃上清液, 再固定 2 次。滴片, 胰酶显带, 每例标本核型计数至少 20 个中期分裂相, 分析不少于 5 个核型。异常则加倍计数和分析, 必要时做 C 带分析。按照人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN2009) 标准进行核型分析诊断。

2 结果

本实验室共接收 1 160 例绒毛标本, 分离接种。成功收获和制片 1 140 份, 培养成功率为 98.2% (1 140/1 160)。未获成功的 20 例中, 有因临床医生抽取绒毛过少; 标本本身原因; 收获时机未把握准确等。在成功培养的 1 140 例绒毛细胞, 共检

* 基金项目: 十二五国家科技支撑计划项目两项 (2012BAI09B04)。 作者简介: 欧阳鲁平 (1984—), 检验技师, 本科, 主要从事细胞遗传学与产前诊断。 [△] 通讯作者, E-mail: Piger561220@163.com。

表 1 82 例异常胎儿染色体与临床诊断

| 核型 | n | 临床诊断 |
|-----------------------------|----|---|
| 45,X | 15 | 胎儿全身皮肤水肿,颈部水囊瘤,水肿胎生育史,颈部水囊瘤,双方 α 地贫,孕早期用药史 |
| 47,+13 | 6 | 胎儿畸形,全身水肿,颈部水囊瘤引产,NT增厚,双方标准型 α 地贫 |
| 47,+18 | 5 | 高龄妊娠,死胎,胎儿水肿引产,NT增厚,颈部水囊瘤。 |
| 47,+21 | 5 | 高龄妊娠,NT增厚,双方 α 地贫,胎儿全身皮肤水肿。 |
| 47,+mar | 1 | NT增厚;不良孕产史 |
| 92,XXXX | 2 | 双方 α 地贫;双方 β 地贫 |
| 92,XXYY | 2 | 胎儿水肿、颈部水囊瘤(水肿胎S) |
| 45,X[m]/46,XX[n] | 2 | 胎儿水肿、颈部水囊瘤,双方 α 地贫 |
| 45,X[m]/46,XY[n] | 1 | 双方 α 地贫;双方 β 地贫 |
| 46,XY[m]/46,XX[n] | 7 | 双方 α 地贫;双绒毛膜双羊膜囊双胎;双方 β 地贫;巴氏儿引产;PGD |
| 46,del(1)(q12)[m]/46[5n] | 2 | 双方 α 地贫 |
| 46,del(10)(q11)[5]/46[45] | 1 | 双方 α 地贫 |
| 47,+2[m]/46,XY[n] | 3 | 双方 α 地贫;双方标准型 α 地贫、巴氏儿引产1次 |
| 92,[51]/46,[49] | 1 | 双方 α 地贫 |
| 46,inv(9)(p12q13) | 18 | 高龄妊娠,双方 β 地贫,双方 α 地贫,不良孕产史,巴氏儿引产史 |
| 46,inv(Y)pat | 1 | 双方 β 地贫。 |
| 45,X,t(1;2)(q25;q35) | 1 | NT增厚、IVF-ET妊娠 |
| 46,t(8;15)(q22;q24) | 1 | 男方t(8;15)(q22;q24) |
| 46,t(9;10)(p13;p13) | 1 | 男方t(9;10)、染色体异常儿生育史。 |
| 47,der(22)t(11;22)(q23;q11) | 1 | 女方染色体易位,不良孕产史,胎儿水肿。 |
| 45,XX,der(14;21)(q10;q10) | 1 | 女方染色体罗氏易位3.乙肝小三阳 |
| 46,rec(9)dup(9q)inv(9) | 1 | 女方inv(9)(p22q34) |
| 46,del(5)(p14) | 1 | 双方 α 地贫复合 β 地贫 |
| 46,del(21)(p10) | 1 | 双方 α 地贫 |
| 46,X,del(X)(p22) | 1 | 双方 β 地贫 |

测出 62 例染色体非多态性结构异常。其中包括染色体数目异常 32 例;5 例染色体平衡易位;3 例染色体缺失;22 例嵌合体。同时还检测出 20 例染色体倒位,包括 19 例 9 号染色体倒位,1 例 Y 倒位,主要临床表现与核型见表 1。

3 讨 论

随着产前筛查技术的不断改进,超声检查技术的迅速发展,人们对妊娠时期检查的重视,使得孕早期产前诊断的地位也越来越受人们的重视。选择妊娠 11~13⁺6 周进行,一方面可避免胎儿肢端发育障碍,另一方面孕 11 周后胎盘绒毛丰富,更易于 B 超下穿刺取材^[3]。相对而言目前国内中孕期或晚孕期行羊膜腔穿刺术或脐带穿刺术抽取标本后行胎儿相关疾病的产前诊断,一旦发现胎儿严重异常,终止妊娠较晚,引产并发症较多,患者心理及生理创伤较大^[4]。

染色体数目异常:本文中共发现 36 例染色体数目异常,占异常染色体核型的 43.9%(36/82)。胎儿染色体数目异常大多数是由于卵母细胞减数分裂时染色体不分离造成,孕妇年龄是重要因素之一^[5]。本研究中孕妇因高龄前来遗传咨询并抽绒毛染色体检查的有 12 例,其中检测出 47,18 三体、47,+21 三体。染色体数目异常通常会导致胚胎早期流产,这是因为染

色体数目异常的胚胎,遗传缺陷大,遗传物质不平衡,致死性高^[6]。对于以上检测出染色体数目异常的胎儿,可能在妊娠期间流产,或者出生后致畸,智力落后,发育不良等后遗症。临床医生应告知孕妇,终止妊娠。本研究还发现 1 例 47,+mar,B 超检查示 NT 增厚,孕妇主诉曾有不良孕产史。对于检测到这种标记染色体,建议行芯片以查找该标记染色体是来源何处,有无致病基因的增加,对胎儿是否继续妊娠做出进一步的分析。

嵌合体:检查出染色体嵌合体 17 例,镶嵌率为 1.4%(17/1160),与 Grati 等^[7]的报道较为接近。绒毛组织染色体出现嵌合现象,主要是因为:绒毛分离时,未把母体组织蜕膜挑除干净,就是所谓的胎盘限制性染色体镶嵌现象;绒毛细胞在培养过程中发生畸变;绒毛细胞是真嵌合体。一般认为,如果在两个或两个以上的培养物中都发现了两种或两种以上的染色体核型,而且异常核型是相同的,可以诊断为“真性嵌合体”^[8]。在检测分析结果中,若发现嵌合体,一般加倍计数和分析,另外可收获另外一瓶培养细胞;建议行羊膜腔穿刺来确定镶嵌现象是否仍然存在羊水培养细胞中。若与绒毛染色体相同,则为真性嵌合体,建议孕妇终止妊娠。绒毛细胞培养易出现嵌合体,可能与绒毛取材时受非绒毛组织污染或存在限制性胎盘嵌合

体及绒毛细胞培养时间比羊水培养时间长^[9]。

染色体倒位:本文中检测出 19 例 9 号染色体倒位;1 例 Y 倒位。9 号染色体对于染色体结构重排高度敏感,inv(9)是最常见的染色体结构变异之一,其发生率在国内接近 1.0%^[10]。本研究共发现 19 例,发生率为 1.6%(19/1 160),与报道接近。部分胎儿 9 号染色体倒位遗传至父母,虽然父母的表型正常,但是对于检测出 9 号染色体倒位的胎儿应该加强随访。近期有研究表明,9 号染色体倒位属于多态性,但是具有一定的临床效应,可能与生殖异常、外观异常及智力低下等相关^[11]。本研究中 Y 染色体倒位 1 例,检出率为 0.09%(1/1 160),而罗玉琴等^[12]的报道 inv(Y)在男性中发生率约为 0.08%,与其结果相差不大。查其父亲的外周血染色体,发现遗传至父亲。若 inv(Y)没有损伤到生精相关基因,且携带者有正常的表型,可将其视为多态,其携带者可以生育。Knebel 等^[13]对 9 例家族与新发的 Y 臂间倒位进行了全面的分子学分析和随访,观察 Y 臂间倒位不同断裂位点与生育异常的关系,但是没有发现不同断裂位点与生育异常明确的相关性。本例胎儿的父母已生育过子女,可以说具有正常生育的能力,故遗传门诊医生建议孕妇继续妊娠,胎儿生下来具有正常生育能力的概率很大。

染色体结构异常:共有 5 例染色体平衡易位;3 例染色体缺失。染色体易位会导致某些基因功能的丧失或失活等。贾蓓等^[14]报道染色体平衡易位男性携带者虽无遗传物质的丢失,但染色体的断裂重接可能使染色体断裂点或附近的精子生成相关基因发生异常,同时生精细胞减数分裂染色体的异常可能使精子的发生阻滞在精母细胞阶段而不能继续分化为成熟精子,继而引起生精障碍,导致不育。查临床资料发现,本文中异常染色体核型 47,der(22)t(11;22)(q23;q11),胎儿染色体易位遗传于女方,该名孕妇曾生育畸形胎儿,且其他检测显示胎儿水肿。说明 11 号染色体和 22 号染色体之间的易位可能影响到某些重要基因的区域。对于相互易位携带者,易位染色体片段的长短、断裂点的位置可能对下一代产生不同的临床效应^[15]。而对于染色体缺失而言,若缺失的位置处于某条染色体功能区域内,则可能造成携带者特定的临床表现。笔者建议胎儿做基因检测,来确定是否继续妊娠还是尽早流产,尚待以后的检测及参考国内外相关报道。

综上所述,产前诊断的原则是尽可能对患病胎儿做出早期干预,降低出生缺陷率。随着临床绒毛穿刺术这一技术的日益成熟,以及实验室绒毛细胞培养和染色体核型分析研究的不断深入,将更快、更早、更准确地检测出异常的染色体胎儿,减少出生缺陷率,达到优生优育,减轻社会和家庭负担的目的^[16]。

参考文献:

[1] 边旭明,戚庆炜.我国产前细胞遗传学诊断的现状与对策[J].中华妇产科杂志,2011,46(9):641-643.

- [2] 刘天盛,周元圆,韦波,等.胶原酶消化绒毛组织培养技术在产前诊断中的应用[J].中国优生与遗传杂志,2013,21(2):36-38.
- [3] 陈汝芳,孙雯雯,陈蔚瑜,等.孕早期经腹行绒毛活组织检查在地中海贫血基因产前诊断中的应用价值[J].实用医技杂志,2014,21(1):14-16.
- [4] 陈蔚瑜,睦建忠,黄沛清,等.绒毛活检技术在孕早期产前诊断中的应用[J].实用医学杂志,2013,29(16):2710-2712.
- [5] Bornstein E, Lenchner E, Donnenfeld A, et al. Advanced maternal age as a sole indication for genetic amniocentesis; risk-benefit analysis based on a large database reflecting the current common practice [J]. J Perinatal Med, 2009,37(2):99-102.
- [6] 孟茜,王绪云.47 例自然流产绒毛细胞培养及染色体核型分析[J].中国优生与遗传杂志,2010,18(10):33.
- [7] Grati FG, Grimi B, Frascoli G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi [J]. Eur J Hum Genet, 2006,14(3):282-288.
- [8] 高淑英,司艳梅,薛虹,等.关于产前诊断绒毛细胞和羊水细胞中嵌合现象[J].中国优生与遗传杂志,2007,15(11):11,52.
- [9] 许平,曾艳,范佳鸣.产前诊断中嵌合体的发现与处理[J].中华医学遗传学,2009,26(2):236.
- [10] 夏家辉,李麓芸.染色体病[M].北京:科学出版社,1989:273.
- [11] 段程颖,王丽娟,王挺,等.染色体多态性与临床生殖效应的研究[J].生殖与避孕,2009,29(10):643-647.
- [12] 罗玉琴,钱羽力,卢欢明,等.inv(Y)患者精子染色体荧光原位杂交分析[J].中华医学遗传学杂志,2009,26(1):54-56.
- [13] Knebel S, Pasantes JJ, Thi DA, et al. Heterogeneity of pericentric inversions of the human Y chromosome[J]. Cytogenet Genome Res, 2011,132(4):219-226.
- [14] 贾蓓,罗琛,宋兰林,等.染色体核型异常六例[J].中华医学遗传学杂志,2010,27(4):468.
- [15] Keify F, zhiyan N, Mirzaei F, et al. Two novel familial balanced translocations t(8;11)(p23;q21) and t(6;16)(q26;p12) implicated in recurrent spontaneous abortion [J]. Arch Iran Med, 2012,15(4):249-252.
- [16] 熊怡,江陵,陈咏莲.早孕期经腹绒毛穿刺 104 例临床分析[J].现代医院,2013,13(6):23-25.

(收稿日期:2014-09-08 修回日期:2014-11-10)

欢迎投稿 欢迎订閱