

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.18.011

高龄妊娠与唐氏筛查高风险的产前诊断染色体异常分析*

胡丹,李海军,李志华,陈敏,孙筱放[△]

(广州医科大学附属第三医院妇产科研究所/广东省产科重大疾病重点实验室/

广东省普通高校生殖与遗传重点实验室,广州 510150)

[摘要] **目的** 探讨唐氏筛查高风险对高龄妊娠染色体异常是否具有预测意义,为高龄孕妇选择唐氏筛查筛选染色体异常提供科学依据。**方法** 回顾该院 2010 年 1 月至 2013 年 6 月因高龄妊娠唐氏筛查高风险有产前诊断指征前来咨询的病例共 2 335 例,所有孕妇年龄均大于或等于 35 岁,平均(37.43±2.93)岁。病例均进行了羊水或脐带血细胞绒毛培养染色体核型分析,培养成功率 99.5%,然后对染色体核型结果进行分析。**结果** 2 335 例高龄孕妇中产前诊断染色体结果异常的共有 177 例,异常率为 7.58%。在异常的病例中,年龄越大,染色体异常的比率越高,除染色体多态性外,染色体三体及染色体臂间倒位为最常见的染色体异常。**结论** 高龄孕妇进行唐氏筛查能提高胎儿染色体异常的筛查率,对于高龄妊娠唐氏筛查高风险的孕妇,需进行产前诊断以排查胎儿染色体异常。

[关键词] 妊娠;唐氏综合征;新生儿筛查;染色体畸变**[中图分类号]** R714**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)18-2480-03**The analysis of advanced age pregnancy and Down's screening for fetal chromosomal abnormalities in the prenatal***Hu Dan, Li Haijun, Li Zhihua, Chen Min, Sun Xiaofang[△]

(Institute of Obstetrics and Gynaecology, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University/

Key Laboratory for Major Obstetric Diseases of Guangdong Province/Key Laboratory of

Reproduction and Genetics of Guangdong Higher Education Instituted, Guangzhou, Guangdong 510150, China)

[Abstract] **Objective** To explore if the high-risk of Down's screening can predict the fetal chromosomal abnormalities for the advanced age pregnant women, provide a scientific basis for the advanced age pregnant women to select the Down's screening. **Methods** Reviewed the patients which had the indications of prenatal diagnostic because of advanced age and the high-risk of Down's screening from January 2010 to June 2013, a total of 2 335 cases. All the maternal age were ≥ 35 years old and the average age was 37.43±2.93. All the cases were carried out karyotype analysis that the samples were from amniotic fluid, umbilical cord blood or villus, the training success rate is 99.5%. **Results** We found 177 cases abnormal fetal chromosome in the 2 335 cases advanced age women, the abnormal rate is 7.58%. The greater the age, the higher of the chromosomal abnormalities rate in the unusual cases. In addition to chromosomal polymorphism, the trisomy of the chromosome and inversions between chromosome arms are the most common chromosomal abnormalities. **Conclusion** Conducted the Down's screening in the advanced age women can improve the screening rates of the fetal chromosomal abnormalities. It is necessary for the high-risk of Down's screening in advanced age pregnant women to have the prenatal diagnosis to investigate the fetal chromosomal abnormalities.

[Key words] pregnancy; Down's syndrome; neonatal screening; chromosomal abnormalities

高龄妊娠及染色体异常之间的关系已被广泛研究,胚胎植入前诊断学的应用,发现孕妇胚胎的质量随着年龄的增加而不断降低^[1]。由于高龄孕妇随着年龄的增长,卵巢功能不断衰竭,使高龄孕妇发生胎儿染色体异常的概率增高。因此高龄孕妇中产前筛查及产前诊断对于筛查异常胎儿,终止异常胎儿的出生具有重要意义^[2]。但是产前诊断的侵入性检查给孕妇带来一定的风险及精神压力。本文旨在探讨唐氏筛查高风险对高龄孕妇产前诊断的意义,为唐氏筛查在高龄孕妇中的应用提供一定的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2013 年 6 月,对有产前诊断指征来本院进行遗传咨询的 10 291 病例进行筛选,选出高龄妊娠唐氏筛查高风险有产前诊断指征的孕妇并进行了绒毛、羊水或脐血等介入性产前诊断的病例 2 335 例,对其染色体结果进行分析。所有高龄妊娠的孕妇年龄均大于或等于 35 岁,平均

(37.43±2.93)岁。

1.2 材料 二氧化碳培养箱,烤箱,细胞培养基,秋水仙素,1%柠檬酸三钠低渗液,EDTA-胰酶,枸橼酸钠,KCl,固定液为 2:1 的甲醇和冰乙酸混合液。

1.3 方法 对所有唐氏筛查高风险的高龄孕妇根据不同的孕周分别进行绒毛、羊水或脐带血的核型分析,均先经过接种培养,再进行染色体核型分析,具体操作参考文献[3-4],在所有样品准备好后,获得制备染色体。常规采用染色体 G 显带操作,根据不同样品,通常按照每例孕妇的 15~30 个分裂相进行计数。

1.4 统计学处理 患者的相关信息如姓名、孕周、风险值、取样标本、染色体核型结果等录入 SPSS13.0 数据包,并进行数据整理与分析。

2 结果

2.1 高龄妊娠产前诊断情况分析 见表 1。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81270745);广东省科技厅对外合作项目(2013B051000087)。 作者简介:胡丹(1988-),硕士在读,主要从事生殖与遗传研究。 [△] 通讯作者, E-mail: xiaofangsun@hotmail.com。

表 1 高龄妊娠产前诊断情况分析 (n)

年份	有产前诊断指征	高龄妊娠	异常
2010 年	2 270	629	47
2011 年	2 959	601	45
2012 年	3 522	731	63
2013 年	1 054	374	22
合计	9 805	2 335	177

2.2 各年龄段分布情况 见表 2。

表 2 各年龄段分布情况

年龄段(岁)	咨询人数(n)	染色体异常人数(n)	异常率(%)
35	480	44	9.17
36	431	20	4.64
37	355	22	6.20
38	345	29	8.41
39	247	14	5.67
40	195	19	9.74
41	152	12	7.89
42	82	7	8.54
43	26	6	23.08
44	10	4	40.00
45	8	0	0
46	2	0	0
47	2	0	0

2.3 异常染色体核型分布 见表 3。

表 3 异常染色体核型分布

异常染色体核型	例数
21 三体	33
18 三体	11
13 三体	2
47,XXY	3
47,XYY	1
嵌合体	11
染色体多态性	58
45,XO	2
45,XO,染色体臂间倒位	2
染色体臂间倒位	39
染色体平衡易位	4
染色体缺失	3
染色体转位	3
不确定染色体异常	6

3 讨 论

3.1 高龄妊娠使胎儿染色体异常的比例增加 卵巢功能的衰退与年龄的增长呈正相关性^[5],由于高龄孕妇的卵巢渐趋老

化,生殖细胞或受精卵在细胞分裂时易发生染色体不分离或染色体畸变,导致染色体三倍体或异常染色体胎儿的发生。有研究表明 35 岁以下发生自然流产的概率约为 14%,而 40 岁以上者自然流产的概率则高达约 40%^[6-7],主要原因是高龄引起的胎儿染色体畸变。本研究中发现随着孕妇年龄的增大,胎儿染色体异常的比率也不断增大,由此可以证实孕妇年龄的增大是胎儿染色体异常的主要原因之一。随着年龄的增大特别会使 21-三体异常或其他任何染色体异常的风险增加,当孕妇年龄达到 45 岁时,受孕率明显降低的同时其胎儿患染色体异常的风险增加 10%^[8]。目前有很多研究对高龄孕妇患染色体异常胎儿进行了分析发现,并不完全是孕妇内分泌的原因导致胚胎的染色体异常,而更多的是由于高龄孕妇本身受精卵发生异常而导致了胚胎的染色体异常,而这其中的机制尚未清楚。更重要的是,在妊娠期间,越早发生流产的胎儿染色体异常的情况越严重,而能在妊娠中后期存活下来的,都不是致死性的染色体异常。

3.2 产前诊断技术能提高高龄妊娠胎儿染色体异常的检出率

目前应用于临床的胎儿染色体产前诊断的技术主要有核型分析(绒毛、羊水、脐血)、FISH 检测、分子生物学检测、DNA 芯片检测、孕妇外周血浆胎儿 DNA 无创基因产前检测技术等,这些技术各有优势。然而染色体核型分析技术仍然是产前诊断染色体异常的传统方法^[9],它具有直观、全面的特点,但穿刺可能给孕妇带来胎儿丢失的风险。而对于染色体平衡易位携带者、不良孕产史、双胎指征的孕妇,传统的核型分析技术及最新的 DNA 芯片技术能达到明确的诊断目的。本研究中染色体多态性、染色体平衡易位、染色体臂间倒位、染色体缺失及染色体转位等均是通过对核型分析技术实现的,同时部分也是通过 DNA 芯片技术获得。自 1997 年胎儿 DNA 在母体血浆中被发现后,基于 21-三体综合征胎儿的 21 号染色体基因在母体血浆中较正常增多这一特点^[10-11],2008 年香港中文大学和美国斯坦福大学的研究人员应用第 2 代测序技术从母体血浆 DNA 中检测出胎儿 21-三体^[12],同时于 2009 年香港中文大学和美国 Sequenom 公司先后开展了一定规模的临床试验,检测了 753 例高危孕妇血浆,准确诊断出 86 例唐氏综合征胎儿,灵敏度达 100%,无假阴性,仅 3 例假阳性。理论上该技术可以检测染色体单体及染色体三体异常,但需要更多的临床资料来证实该技术的准确性。该技术的缺陷是目前尚无法检测胎儿染色体嵌合体及染色体倒位、易位等异常。虽然该项技术在胎儿产前诊断中具有巨大的潜在意义,减少了孕妇丢失胎儿的风险,考虑到其存在的局限性,不能过分地夸大其在染色体异常胎儿产前诊断中的作用。常见染色体病产前诊断的指征为高龄孕妇,这与生育年龄延后及社会的发展对培育下一代的高成本有关。但是高龄孕妇异常染色体胎儿的检出率尚不确定,各研究的检出率有高低。自血清学唐氏筛查开展后,血清学唐氏筛查高危及高龄使大多数大于 35 岁的孕妇进行产前诊断,然而近年来对唐氏筛查的临床评价不一。目前我国孕妇人群以 1/270 为唐氏筛查高危胎儿罹患的风险切割值,筛查阳性率为 6.55%,结合本研究唐氏筛查高风险合并高龄检测异常胎儿率为 5.10%(排除染色体多态性),此数据较其他研究中高龄孕妇染色体异常检测率为 0.69%^[13]和 0.97%^[14],对产前诊断胎儿异常染色体的检测尚还有意义。近年来很多报道指出孕中、晚期胎儿超声中生物学标志被证实与胎儿染色体异常有密切关系。近年来认为超声异常提示胎儿染色体异常风险增

高的主要有:(1)NT 增厚;(2)颈部水囊瘤;(3)某些类型的心脏畸形如房室共道畸形等。超声检出的胎儿异常已成为产前诊断染色体异常的重要指征,然而并不是所有超声异常都与胎儿染色体异常有关。因此对于高龄孕妇这一胎儿染色体异常的高危群体,应参考结合血清学唐氏筛查结果及早、中孕期超声学检测分析后再进行产前诊断,才能更准确地对胎儿进行明确的诊断。

3.3 高龄妊娠引起的染色体异常类型 本研究中发现高龄孕妇的染色体异常(除染色体多态性为正常变异外)以染色体三体异常及染色体臂间倒位最为常见。纳入本研究中进行唐氏筛查的所有孕妇孕周均已超过 11 周,进行产前诊断的孕妇孕周均已超过 16 周。在胚胎植入前诊断的研究中发现^[15],在高龄孕妇植入前的囊胚中发生单个染色体非整倍体异常的以 16 号染色体发生率最高,而发生多个染色体非整倍体异常的染色体中以 15 号染色体合并其他染色体异常的发生率最高。因此在临床上经常发现高龄孕妇 8~12 周发生早期流产胚胎染色体检查多为 16 号染色体三倍体,然而在高龄孕妇的产前诊断中则多以 21、18、13 号染色体三体最为常见。因此在妊娠后期胎儿染色体多以非致死性的染色体异常为多见。染色体臂间倒位是在本研究中发现的仅次于染色体三体异常最常见的染色体异常。有资料表明,它在人群中的发生率为 0.182%,一般认为无表型效应,但却能影响胎儿成年后的生育功能,可能与习惯性流产、畸形以及不孕有关。染色体臂间倒位最常见于 9 号染色体,其他染色体也有可能发生,这类染色体异常的形成中,同源染色体的配对形成特有的倒位圈,如果倒位圈内不发生交换,将形成一个正常配子,一个携带倒位染色体的配子,如果倒位圈中发生一次交换,将形成两种不平衡的配子,以上 4 种配子与正常配子结合,将形成不同类型的 4 种合子,其中一种为染色体正常,一种倒位染色体携带者,其余两种为部分重复或部分缺失的异常染色体携带者。因此,这类染色体的异常,在产前诊断中应该查父母双方的染色体核型,以确定这类异常染色体的来源。

本研究中发现最多的是染色体多态性,如 16qh+、Yq+、1qh+、15cenh+、15ps+ 等,报道对于这些染色体多态性的影响说法不一。通常认为上述染色体变异不会引起临床症状,而将其归于染色体多态性,但有学者认为这些染色体多态性易受环境因素或遗传因素的影响而诱发异常,但是具体的影响将有待更多的研究发现。

参考文献

[1] Munne S, Chen S, Colls P, et al. Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos[J]. *Reprod Biomed Online*, 2007, 14(5): 628-634.

[2] Nakata N, Wang YE, Bhat S. Trends in prenatal screening and diagnostic testing among women referred for ad-

vanced maternal age[J]. *Prenat Diagn*, 2010, 30(3): 198-206.

- [3] 孔舒,孙筱放,郑育红,等. 孕早期流产 1 012 例绒毛细胞培养及遗传学分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2012, 20(9): 638, 646.
- [4] 潘倩莹,孙筱放,孔舒,等. 探讨羊水染色体检查在产前诊断中的应用[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(13): 223-225.
- [5] Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical Consequences[J]. *Endocr Rev*, 2009, 30(5): 465-493.
- [6] Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, et al. Guidelines of the American thyroid association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum[J]. *Thyroid*, 2011, 21(10): 1081-1125.
- [7] Kroon B, Harrison K, Martin N, et al. Miscarriage karyotype and its relationship with maternal body mass index, age, and mode of conception[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(5): 1827-1829.
- [8] Heffner LJ. Advanced maternal age-How old is too old [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(19): 1927-1929.
- [9] Garcia-Sagredo JM. Fifty years of cytogenetics; A parallel view of the evolution of cytogenetics and genotoxicology [J]. *Bioc Biophys Acta Regul Mech*, 2008, 1779(6/7): 363-375.
- [10] Reeves RH, Baxter LL, Richtsmeier JT. Too much of a good thing: mechanisms of gene action in Down syndrome [J]. *Trends Genetics*, 2001, 17(2): 83-88.
- [11] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet*, 1997, 350(9176): 485-487.
- [12] Lun FM, Chiu RW, Chan K, et al. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(10): 1664-1672.
- [13] 山丹,王欣,范玲,等. 2 262 例羊水穿刺孕妇产前诊断指征及结果的分析[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2010(6): 451-452.
- [14] 姚宏,徐聚春,胡华,等. 产前诊断染色体异常与妊娠结局的临床分析[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(2): 106-109.
- [15] Liang L, Wang CT, Sun X, et al. Identification of chromosomal errors in human preimplantation embryos with oligonucleotide DNA microarray [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e61838.

(收稿日期:2014-12-08 修回日期:2015-01-16)