

# 荧光原位杂交技术在羊水染色体数量分析中的应用

钱源 肖雪 郭知 张兰 胡大军 马润玫

(昆明医科大学 妇产科细胞遗传实验室, 云南 昆明 650032)

**【摘要】** 目的 研究荧光原位杂交技术在快速诊断胎儿染色体数目异常的价值。方法 对 248 例孕 18~24 周, 具有产前诊断指征者, 在 B 超引导下经腹抽取 249 例羊水后, 应用特异性探针对未经过培养的羊水间期细胞进行荧光原位杂交。结果 共检出染色体数目异常 6 例, 异常率为 2.4%。异常类型包括 21 三体, 13 三体, XO 和嵌合型 XO, 以及 XXX。21 三体占全部异常的 33.3%。其中, B 超畸形提示异常诊断率最高, 唐氏筛查高风险为指征的诊断异常率次之。孕妇年龄大于 35 岁组中诊断的染色体数目异常率低于年龄组小于 35 岁。怀孕次数 1 次、2 次和 3 次组中分别有 3 例、1 例和 2 例染色体数目异常胎儿。生产次数分为 0 次和 1 次的组别中各有 3 例异常核型胎儿。结论 FISH 技术用于羊水细胞 13、18、21、X、Y 染色体数目检查时具有快速、准确的特点, 可以用于比例高的嵌合细胞的检测。血性羊水细胞可以进行 FISH 检测。

**【关键词】** 染色体异常; 荧光原位杂交; 产前诊断; 羊水细胞

**【中图分类号】** R714.53 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** To investigate the efficiency of detection of chromosome aneuploidy in uncultured amniotic fluid samples by FISH, discuss the importance of FISH in rapid prenatal diagnosis, and pay attention to the effect of maternal blood containinmant in detection. **Method** The interphase nuclei of amniotic fluid from 248 women at 18-24 weeks pf pregnancy were detected by chromose-specific DNA probe using FISH. **Results** 2 fetuses with trisomy 21 syndrome, 1 fetuses with trisomy 13 syndrome, 1 fetuses with XO, 1 fetuses with XO/XX, 1 fetuses with XXX syndrome were identified. The coincidence rate of diagnosis between FISH and conventional cytogenetics was 100%. The aneuploidy rate was highest in the group with abnormality in USD. The aneuploidy rate was higher in group MA<35 than group MA>35. There were 3 cases, 1case and 2 cases aneuploidy in different gestation groups. Both the parity group had the same cases aneuploidy. **Conclusions** FISH is fast, specific and sensitive. Some kind of mosaics aneuploidy type can be detected by FISH. Most of the aminotic fluid with maternal containinmant (blood) still can be detected by FISH with the same result of cytogenetics. The detection rate of FISH in different lab was little similar, with the various protocol according to the equipment.

**【Key words】** chromosomal abnormality; FISH; prenatal diagnosis; aminotic fluid

目前较为普遍的染色体疾病检测方法是细胞遗传学染色体核型分析, 该技术需要对处于分裂中期的细胞进行, 准确性高, 但需细胞培养后进行染色体

制备。FISH 技术是近分子细胞遗传学生物学方法中的一种, 它的检测无需细胞培养, 对于 13、18、21、X、Y 染色体数目异常的检测最快可在 48 小时内完

成,并且准确率高<sup>[1-3]</sup>。

需要进行羊膜腔穿刺的妊娠妇女一般都为产前筛查为高风险或者 B 超提示胎儿异常等指征,如等待染色体结果的时间较长,则会给孕妇的情绪带来较大的影响。FISH 检测能在较短的时间内获得结果,本研究拟回顾本实验室自开展 FISH 以来的检测结果,并与培养的羊水细胞染色体核型结果相比较,研究孕妇年龄、产孕次与胎儿异常类型的相关性,以及母血污染对结果的判读的影响。

### 1 材料与方 法

1.1 研究对象 选择本院自 2011 年 1 月至 2012 年 5 月期间进行羊膜腔穿刺的妊娠妇女共 248 名,其中 5 人为双胎样本,其中 4 例为单绒毛膜性,1 例为双绒毛膜性,故分别抽取 A 和 B 胎的羊水,所以羊水总例数为 249。所有羊水均培养成功进行核型分析。孕妇年龄 21~43 岁,孕周为 18~24 周。

#### 1.2 研究方法

1.2.1 羊水采集 在 B 超引导下,用 21G PTC 穿刺针经腹壁抽取羊水 25ml,置于无菌注射器中。留取 5ml 用于 FISH 检测,其余用于细胞培养。

1.2.2 羊水细胞 FISH 检测 步骤包括制片、杂交、洗脱和镜检部分。详细操作参考金菩嘉公司操作手册,并结合本实验室的条件。共使用 5 种染色体探针,分为 2 组,即 13/21 组和 18/X/Y 组。13/21 组的探针分别标记位于 13q14(绿色)和 21q22(红色)处。18/X/Y 探针组为 CSP 探针,探针分别定位于 18,X,Y 的 p11.1-q11.1 区域,分别标记水蓝色、绿色和红色。

1.2.3 结果判读 选择 50 个形态规整的间期核阅读杂交信号。正常信号方式细胞的比例达到 90% 以上即可定为正常。某种异常信号方式细胞的百分比达到 60% 以上,则可为异常。如结果判断为嵌合体类型则选择 100 个形态规整的间期核阅读杂交信号。

## 2 结 果

249 例羊水染色体检测中,染色体正常数目的有 243 例(其中 111 例 XY, 132 例 XX)。共检出染色体数目异常 6 例,异常率为 2.4%。异常类型包括 21 三体,13 三体,18 三体,XO 和嵌合型 XO,以及 XXX(见表 1)。21 三体有 2 例,占全部异常的 33.3%。所有 FISH 结果均与培养后羊水细胞核型分析结果相吻合,嵌合体的比例也与之相吻合。有 1 例双绒毛膜性双胎结果中 A 胎为 18 三体,B 胎正常。

表 1 249 例羊水细胞 FISH 检测结果以及 产前诊断指征(共 6 例异常)

指征类型	总例数	数目异常例数	异常类型
唐氏高风险	177	3	21 三体,XXX,XO/XX
唐氏低风险,母亲年龄>35	33	0	
唐氏低风险,母亲年龄<35	21	0	
NT 增厚	4	0	
双胎且 B 超异常	5	1	13 三体
单胎 B 超提示异常	5	2	21 三体,45,XO
近亲结婚	1	0	
异常生育史	1	0	
未做唐筛	2	0	

如果按照母亲年龄是否大于 35 岁为界,将样本分为 2 组,≥35 岁组和<35 岁组。总共 6 例异常样本中的 5 例分布于<35 岁组中。仅 1 例为>35 岁组,具体核型详细见表 2。

表 2 按年龄分组的异常检测结果

	MA≥35	MA<35
21 三体	1	1
13 三体	0	1
XO/XX	0	1
XO	0	1
XXX	0	1

按照母亲怀孕次数分为 3 组,怀孕次数 1 次、2 次和 3 次组中分别有 3 例,1 例和 2 例染色体数目异常胎儿,详细见表 3。按照生产次数分为 2 组,生产 0 次与生产 1 次组中各有 3 例异常类型(表 4)。

表3 按孕次分组的异常检测结果

	G=1	G=2	G=3
21 三体	1	0	1
13 三体	0	1	0
XO/XX	0	0	1
XO	1	0	0
XXX	1	0	0

表4 按产次分组的异常检测结果

	P=0	P=1
21 三体	1	1
13 三体	0	1
XO/XX	0	1
XO	1	0
XXX	1	0

### 3 讨论

产前诊断为侵入性宫内诊断,通过各种检测或者技术手段,对胎儿的先天性或者遗传性疾病做出诊断。传统方法为羊水细胞培养后的G带显色检测。该方法的局限性为检测周期长(通常为21天),可能面临细胞培养失败的问题。

FISH的基本原理是用已知的标记单链核酸为探针,按照碱基互补的原则,与待检材料中未知的单链核酸进行异性结合,形成可被检测的杂交双链核酸。FISH具有的最明显优点为检测速度快,不需细胞培养,所需羊水量小,与核型吻合率也较高<sup>[3-6]</sup>。

本研究FISH诊断的结果与核型分析相一致。249例样本中共检出染色体数目异常6例,21三体在异常类型中所占的比例最高。可见,唐氏综合征的筛查和诊断是非常重要的和必要的。

在本研究所有穿刺指征类别中,B超提示胎儿异常组中检出的异常比例较其他类别高,这提示B超对于胎儿染色体发生异常的提示作用是不容忽视的。本研究中惟一的1例13三体发生于1个双绒毛膜性的双胎之一A胎,B胎正常,该孕妇仅进行了B超检测结果显示有一胎异常,其并未进行唐筛等相关检查。另一名胎儿诊断为XO的孕妇B超提示15周胎儿胸腔积液,同时也未进行其他相关筛查检测。

所有6例数目异常样本中有5例母亲年龄小于35岁。一直以来,母亲年龄在评估胎儿染色体风险高低中占有重要地位,高龄孕妇被认为是必要进行产前诊断的主体。但从本研究的异常分布情况来看,更

需要关注母亲年龄小于35岁孕妇的胎儿情况。

已有报道支持上一次胎儿染色体异常的孕妇生育下一次异常胎儿的风险有所增加。由于本研究异常例数不多,我们并未对不同孕次和产次中异常胎儿染色体分布差异进行比较。期望以后收集更多的数据以扩大研究。

本研究中成功对1例XO(65%)/XX(35%)嵌合体进行了诊断,并且嵌合比例与核型分析保持一致。异常XO比例大于60%,所以容易判断其为嵌合型。另外,我们还正确诊断1例血性羊水的标本为21三体。在笔者收集的249例羊水中大约有20%样本离心后明显或者微量的血污染,按照操作手册要求FISH实验室接受的羊水须为无外观母血污染的样本,但实际临床医生在羊膜腔穿刺过程中,由于胎盘的位置等原因导致有母血污染,并不能拒绝对这些样本进行检测。这都需要在诊断中根据样本的情况排除影响因素最终才能准确诊断。所以,在FISH诊断方面还有各个实验室具体的经验,最终的目的就是保证诊断的准确性。

### 参 考 文 献

- [1] Witters I, Devriendt K, Legius E, et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence in situ hybridization (FISH) [J]. *Prenat Diagn*, 2002,22(1):29-33.
- [2] Hadzsiev K, Czako M, Veszpremi B, et al. Rapid diagnosis of fetal chromosomal abnormality by fluorescence in situ hybridization [J]. *Orv Hetil*, 2007,148(30):1401-1404.
- [3] Tepperberg J, Pettenati MJ, Rao PN, et al. Prenatal diagnosis using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): 2-year multi-center retrospective study and review of the literature [J]. *Prenat Diagn*, 2001,21:293-301.
- [4] 赵先兰,孙利敏,郭社珂,等. 荧光原位杂交技术在染色体非整倍体产前诊断中的应用研究 [J]. *现代妇产科进展*, 2010,19(11):872-873.
- [5] 张利平,刺红民,秦翠云,等. FISH技术在产前诊断胎儿染色体数异常中的应用 [J]. *中国妇幼保健研究*, 2011,2(22):192-194.
- [6] 王树玉,黄醒华,贾婵维,等. 国产探针荧光原位杂交技术用于产前诊断未培养羊水细胞染色体异常的研究 [J]. *中华妇产科杂志*, 2009,7(44):492-495.

编辑:刘邓浩

(收稿日期:2012-08-04)