

173 对生育异常夫妇的外周血染色体核型分析

王艳丽 位婷婷 张超楠 刘新新 郝戈芳 李乐瑶 郭文文*

(河南省生殖健康科学技术研究院、国家卫生健康委出生缺陷预防重点实验室、河南省人口缺陷干预技术研究重点实验室,河南 郑州 450002)

【摘要】 目的 探讨外周血染色体核型异常和染色体多态性对生育异常(不孕不育、不良孕产史)的影响。**方法** 对2016年9月至2019年3月期间来本院遗传咨询的173对夫妇,通过培养其外周血,制备染色体标本,G显带处理,进行染色体核型分析。**结果** 173对夫妇即346例患者中检出15对夫妇核型异常,总异常检出率为8.6%(15/173)(指至少有一方核型异常的夫妇占有所有夫妇的比例);检出22对夫妇染色体核型多态性,检出率为12.7%(22/173)(指至少有一方染色体核型多态性的夫妇占有所有夫妇的比例);173对夫妇中因不良孕产史就诊的有124对(异常核型检出率为5.7%,染色体多态性检出率为8%),因不孕症/不育症就诊的有49对(异常核型检出率为2.9%,染色体多态性检出率为4.6%)。**结论** 夫妻双方染色体核型异常和染色体多态性是生育异常的重要因素之一,因此,有必要对生育异常的夫妇进行染色体检查,为临床治疗提供参考依据。

【关键词】 生育异常;染色体核型异常;染色体多态性

【中图分类号】 R446 **【文献标识码】** A

Analysis of chromosome karyotype in peripheral blood of 173 couples with abnormal fertility

Wang Yanli, Wei Tingting, Zhang Chaonan, Liu Xinxin, Hao Gefang, Li Leyao, Guo Wenwen*

Henan Institute of Reproductive Health Science and Technology, National Health Commission Key Laboratory of Birth Defects Prevention, Henan Key Laboratory of Population Defects Prevention, Zhengzhou 450002, Henan, China

【Abstract】 Objective To explore the influence of chromosomal karyotype abnormalities and chromosome polymorphism on fertility abnormality (infertility or negative reproductive history). **Methods** Selecting 172 couples who came to our hospital from September 2016 to March 2019. Through the cultivation of their peripheral blood, prepared chromosome specimens to analysis karyotype by G banding treatment. **Results** Among the 173 couples, 15 couples had abnormal karyotypes, and the total abnormality detection rate was 8.6% (15/173) (referring to at least one karyotype abnormality accounts for the proportion of all couples). 22 couples had chromosome polymorphism, the detection rate was 12.7% (22/173) (referring to at least one Chromosome polymorphism accounts for the proportion of all couples). There were 124 pairs of 173 couples who had a history of adverse pregnancy (abnormal detection rate was 5.7%, chromosome polymorphism detection rate was 8%), and 49 pairs of infertility treatments (abnormal detection rate was 2.9%, chromosome polymorphism detection rate was 4.6%). **Conclusions** Chromosomal karyotype abnormalities and chromosomal polymorphisms in couples are important factors of fertility abnormalities, therefore, it is necessary to carry out chromosome examination for couples with fertility abnormalities, to provide reference for clinical treatment.

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2021.03.005

* 通信作者:郭文文, E-mail: gwwzdx@126.com

基金项目:河南省属科研院所基本科研业务费专项资金项目(JBKY2017201)

【Key words】 Reproductive abnormalities; Chromosomal karyotype abnormalities; Chromosome polymorphism

生育异常在临床上比较常见,主要包括不孕不育(指育龄夫妇同居且未避孕,女方1年未受孕),不良孕产史(指既往有异常妊娠史,主要包括胚胎停育、胎儿畸形、死胎、流产史、产后大出血等)。引起不良孕产史夫妇的原因十分复杂,包括免疫、遗传、内分泌、感染、环境等因素^[1]。随着现代人们生活方式的改变、环境的改变、性传播疾病发生率逐年增加和年轻化等因素,导致不孕不育症的发病率呈增长趋势,对社会和家庭带来很大困扰^[2,3]。

遗传因素是生育异常的重要原因之一,目前临床上尚无有效手段治疗染色体病。夫妻双方行染色体检查是出生缺陷一级预防的重要手段,有助于临床遗传咨询工作。本文通过回顾性分析来本院就诊的173对夫妇染色体核型结果,探讨外周血染色体核型异常和染色体多态性对生育的影响,为优生优育,遗传咨询提供临床借鉴。

1 资料和方法

1.1 研究对象 筛选2016年9月至2019年3月期间来本院就诊的173对夫妇,年龄19~40岁,平均30岁,临床诊断为不孕不育,不良孕产史(临床表型主要包括胚胎停育、胎儿畸形史、复发性流产等)。

1.2 方法

1.2.1 实验原理 染色体带型是指运用一种或多种显带技术,使得染色体某个区域和附近的片段比较起来,显得深染或浅染,这个明显和周围区别的区域就命名为带。本文采用G显带方法,通过培养人外周血细胞,获取大量增殖的有核细胞(主要指淋巴细胞),经过一系列处理,使核内处于分裂中期的染色体暴露出来,固定在载玻片上,并通过胰酶消化和吉姆萨染色方法,使染色体呈现深浅不同的带型,DNA结合疏松的组蛋白被胰蛋白酶分解掉,染色后这些区段成为浅带,而那些组蛋白和DNA结合牢固的区段可被染成深带。通过条带识别,核型分析,判断染色体是否存在异常及异常的方式。

1.2.2 实验步骤

1.2.2.1 接种收获 取样均取得患者同意并签署前知情同意书。采患者外周血2~3ml于肝素钠抗凝管中,使用注射器将外周血接种到2个培养瓶(含培养基6ml)内,每瓶用2.5ml注射器注入30滴,在37℃恒温培养箱中孵育72h。提前半小时从培养箱中取出外周血培养瓶,每瓶加入8~10滴秋碱(浓度为0.03%~0.04%),37℃水浴20min,将外周血转移至15ml离心管内,1800rpm离心6min,每管加入低渗液(0.075mol/l KCl)至10ml刻度,37℃水浴35min,用固定液(甲醇:冰乙酸=2:1)进行预固定及第一次固定,再用固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)进行第二次固定及第三次固定。

1.2.2.2 滴片显带 将上述细胞悬液悬空滴2~3滴于洁净冰冻载玻片上,每片滴4张片子。过火焰,80℃烤片2h,用胰酶显带,吉姆萨染液染色后,使用染色体核型分析软件进行分析处理。

1.2.3 外周血染色体核型分析原则 本研究结果处理原则:每个样本分析5个细胞,所分析细胞的染色体分辨率应达到320条带水平。至少计数20个细胞,记录任何观察到的染色体数目或结构异常。对可能有性染色体异常病例的标本,至少计数30个细胞。对于嵌合体(由2种或多种具有不同核型的细胞系所组成的个体称为嵌合体),依据计数100个核型中异于主细胞系的核型 ≥ 3 个,则结果报为嵌合体,并标注嵌合比例。本研究则在400~550条带水平对外周血染色体进行核型分析,分辨率更高,可分辨 $>5\text{Mb}$ 的染色体数目异常和结构异常。命名原则依据人类细胞基因组学国际命名体系(2016)^[4]的有关规定命名。

2 结果

173对夫妇按就诊原因中不良孕产史分为胚胎停育、胎儿畸形、复发性流产及其他4组。173对夫妇的就诊原因和占比情况见表1。

173对夫妇共346例染色体结果中异常核型16例(其中2对夫妇双方核型都异常,13对夫妇只有

一方核型异常),异常检出率为4.6%。其中女性异常6例,占总异常核型的37.5%;男性异常10例,占总异常核型的62.5%。染色体多态性24例。

表1 173对夫妇的就诊原因和占比情况($n=173$)

就诊原因	例数 (对)	百分比 (%)	染色体异常* [例(%)]
胚胎停育	40	23.1	6(3.4)
胎儿畸形史	10	5.7	0(0)
复发性流产	14	8.0	1(0.6)
其他不良孕产史	60	34.6	3(1.7)
不孕症	49	28.3	5(2.9)
总计	173	100	15(8.6)

注:*指夫妇双方至少有一方为核型异常

表2 染色体异常核型和染色体多态性列表

类型	性别	核型	例数(例)	临床诊断
异常核型	女	46,XX,t(5;6)(q11.1;q11.1)	1	原发性不孕症
	女	46,XX,t(3;20)(p21.3;p12)	1	4次胚停
	女	46,XX,t(5;13)(q13.1;q14.1)	1	1次胚停
	女	46,XX,t(6;8)(q23;q13)	1	不良孕产史
	女	46,XX,t(2;10)(q33;q22)	1	不良孕产史
	女	46,XX,t(2;20)(p15;q13.1)	1	原发性不孕症
	男	46,XY,t(7;21)(p13;q22.1)	1	其妻有胚停史
	女	46,XX,t(10;14)(q22;q11.2)	1	有胚停史
	女	45,XX,rob(13;13)(p10;p10)	1	不良孕产史
	男	45,XY,rob(13;21)(q10;q10)	1	不育症
	男	45,XY,rob(13;14)(q10;q10)	2	胚停1次,葡萄胎1次;不育症
	男	46,XY,add(21)(p11.2)	1	其妻继发性不孕
	男	46,XY,inv(11)(p15.2;q21)	1	其妻反复流产
	男	47,XXY	1	胚停3次
染色体多态性	男	46,XY,inv(9)(p11q13)	1	其妻不良孕产史
	女	46,XX,inv(9)(p11q13)	3	2次胚停;不良孕产史;不孕症
	男	46,XY,9qh+	1	不育症
	女	46,XX,13pstk+	1	胚停1次
	女	46,XX,14pstk+	1	有胚停史,多次停止发育
	女	46,XX,1qh+,14pstk+	1	原发性不孕症,输卵管炎
	男	46,XY,15pstk+	2	其妻反复流产,生过一眼睑下垂婴儿;反复性流产
	女	46,XX,15pstk+	2	有胚停史,曾产一唇腭裂女婴;连续2次自然流产
	女	46,XX,21pstk+	3	胚停1次;不良孕产史;胚胎发育不良
	男	46,XY,21pstk+	1	胚停1次
	女	46,XX,22pstk+	3	停育3次;不孕症
	男	46,XY,22pstk+	1	胎儿发育畸形,右腿腓骨缺失
	男	46,XY,Yqh+	3	4次胚停;胚停史;不育症
	男	46,XY,Yqh-	1	原发性不育症

3 讨论

染色体存在于细胞核内,是遗传信息的主要携带者,是遗传基因的载体。染色体异常是导致新生儿出生缺陷的主要原因,可以引起女性不孕不育、流产、死胎、胎儿畸形及胎儿生长发育受限等不良后果^[5]。

染色体异常包括染色体数目异常和结构异常。

本文异常核型中检出数目异常核型1例,男方核型为超雄综合征47,XXY,临床表现为无家族史,外貌正常,智力发育正常,肌张力正常。女方核型正常,但生育异常。检出染色体结构异常12例,平衡易位核型11例,未知结构增加核型1例。检出11号染色体臂间倒位1例,临床表现为其妻复发性流产。染色体多态性核型中检测出9号倒位4例,异染色质区增加4例,异染色质区减少1例,随体柄增加15例。具体异常染色体和染色体多态性核型统计见表2,本文典型正常核型分析图见图1,本文典型异常核型和染色体多态性核型分析图见图2。

染色体数目异常分为亚二倍体、超二倍体、三倍体、多倍体等;染色体结构异常包括缺失、重复、倒位、易位等。染色体异常会导致染色体病,如Patau综合征(47XX/XY,+13)、爱德华氏综合征(47XX/XY,+18)、唐氏综合征(47XX/XY,+21)、特纳综合征(45,X)、猫叫综合征(46,XX/XY,5P-)等^[6]。一般在胚胎早期即引起自发流产,存活者通常表现有

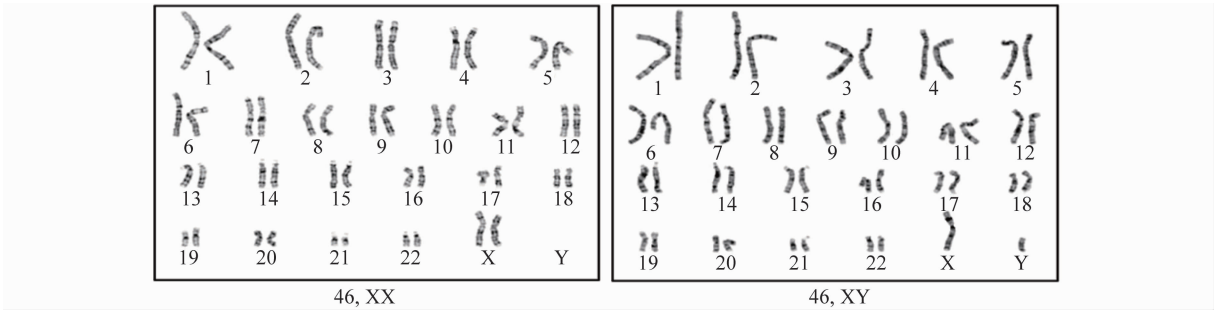


图 1 本文典型正常核型分析图

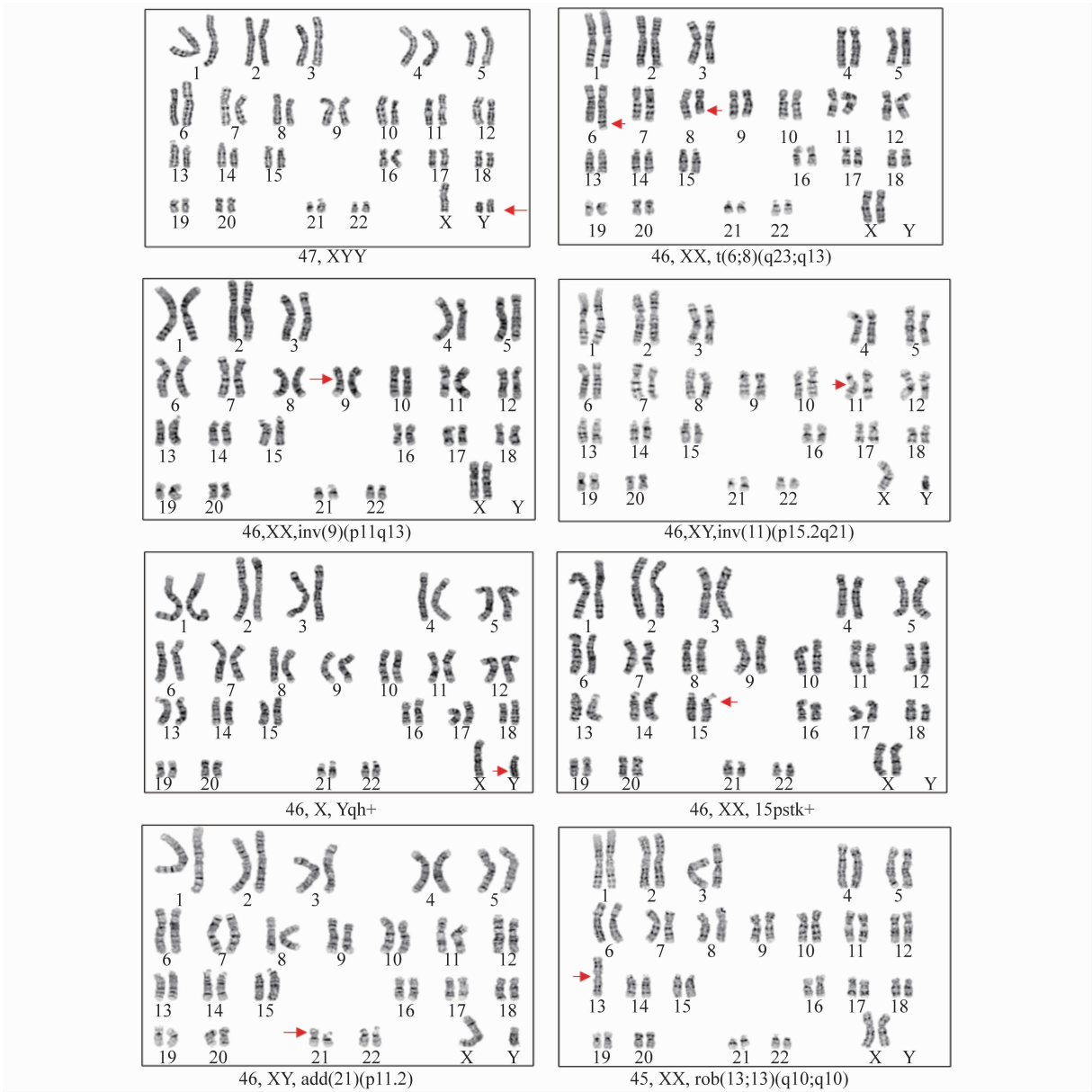


图 2 本文典型异常核型和染色体多态性核型分析图,箭头所指为异常核型定带位置

生长发育迟缓、智力低下、先天性畸形和性发育异常等^[7],给家庭带来感情上的创伤和社会经济上的严

重负担。染色体异常胚胎的形成,除了高龄的原因外,大部分是由于父母一方或者双方染色体异常,在

受精卵形成过程中形成了异常的配子导致的。

3.1 染色体核型异常与生育异常的相关性 本文结果显示,染色体核型异常检出率为4.6%,其中染色体结构异常的检出率为3.7%,结构异常中易位核型占比3.5%(平衡易位占比2.3%,罗伯逊易位占比1.2%);倒位核型占比0.3%;未知染色体增加核型占比0.3%。染色体数目异常的检出率为0.3%,远低于染色体结构异常。

3.1.1 平衡易位并不导致染色体整体性的减少或增加,通常无表型异常,因此很难发现。本文结果显示,平衡易位者大多不影响怀孕,但却是导致胎儿流产、死胎、新生儿畸形的重要原因^[8-10]。夫妻一方为染色体平衡易位携带者时,生育正常核型后代的概率是1/18,生育平衡易位携带者后代的概率是1/18,胚胎早期停育或生育严重染色体病患儿的概率是16/18。该夫妇严格避孕,若自然受孕,胎儿发育至孕18~24周时需进行产前诊断,或该夫妇可行胚胎植入前遗传学诊断(preimplantation genome diagnosis, PGD)技术获取后代,以避免因新生儿出生缺陷给家庭带来的不良后果。

3.1.2 罗伯逊易位属于特殊类型的易位,分为同源型和异源型,通常发生在D组和G组核型之间,两个染色体的长臂和短臂分别相连,因短臂只有异染色质区,易丢失,因此核型命名为45条染色体。对于同源罗氏易位核型,该种罗氏易位患者生育时,因为所有胚胎都会携带单体或三体,而这些染色体是有问题的,建议通过供体配子(供体人工授精、供体卵)获取后代。若夫妻一方为非同源罗伯逊易位携带者,生育正常后代的概率是1/6,生育罗氏易位携带者后代的概率是1/6,胚胎早期停育或流产的几率是4/6,该夫妇若自然受孕,胎儿发育至孕18~24周时需进行临床遗传咨询,做产前诊断检测,该夫妇也可通过技术获取后代^[11]。

3.1.3 染色体倒位分为臂内倒位和臂间倒位,倒位不影响携带者表型,但倒位的长短,影响胎儿成活,易引起流产^[12]。若夫妻一方为臂间倒位携带者时,其子代1/4染色体正常,1/4为染色体倒位携带者,2/4为染色体不平衡性异常;若夫妻一方为臂内倒位携带者时,其子代1/4染色体正常,3/4为染色体异常。建议该夫妇若自然受孕,胎儿发育至孕18~24周时需进行临床遗传咨询,做产前诊断检测,该夫妇也可通过PGD技术获取后代。

3.1.4 染色体数目异常中,47, XYY综合征,又称超雄综合征,在临床上较少见,属于性染色体异常疾病,患者多数具有生育能力,但少数有生精障碍,可能原因是多余的Y染色体影响了精子的生成引起的^[13]。

染色体多态性属于非病理性差异,但是近年来有研究发现染色体多态性与不孕不育,复发性流产等临床表现相关^[14]。其中,1、9、16号染色体由于高度重复的DNA序列引起有丝分裂的异常进行,而染色体短臂增长可形成异常配子,导致生育异常的发生^[5]。染色体多态性核型中以随体柄增加(stk+)和异染色质区(qh+)增加或减少(qh-)为主。

研究报道,9号染色体臂间倒位与不孕不育、流产、胎儿发育异常相关^[15]。有学者认为9号染色体臂间倒位是否有临床意义与其具体倒位发生的区段有关系^[16]。临床中的9号染色体臂间倒位通常指的核型为46, XX, inv(9)(p11q13),目前临床工作中尚未见9号染色体臂间倒位有位于9p11q13区间以外的形式,本研究共检出9号染色体臂间倒位者3例,其中女性2人,男性1人,占总人数的0.87%,与梁济慈等^[18]报道的9号染色体臂间倒位在生育异常中的比例0.87%相近^[17],而略高于代海兵等报道的0.46%。夫妻一方为9号染色体臂间倒位携带者,若自然受孕,胎儿发育至孕18~24周时需进行临床遗传咨询,做产前诊断检测。

综上所述,染色体核型异常和染色体多态性与生育异常密切相关。因此,对生育异常夫妇进行外周血染色体检查是必要的检测手段,为临床孕前遗传咨询提供依据,有利于做好出生缺陷防控工作,促进优生优育,减轻家庭和社会负担。

参 考 文 献

- [1] 王月华,钟秀宏,尤淑霞,等. 探析阴道毛滴虫感染致女性不孕症原因及预防[J]. 中国妇幼保健,2014,29(16):2648-2650.
- [2] 凌丽,凌秀花. 女性不孕不育症相关因素及病因分析[J]. 中国医学创新,2016,16(89):225.
- [3] 欧阳鲁平,费冬梅,黄红倩,等. 3025对不良孕产史夫妇中男性染色体异常情况分析[J]. 山东医药,2016,56(18):66-67.
- [4] MCGOWAN-JORDAN J, SIMONS A, SCHMID M. An international system for human cytogenomic nomenclature (ISCN)[M]. Basel, Freiburg: Karger, 2016.
- [5] 谢德纯. 染色体异常及多态变异与不良生育患者染色体核型的相关性研究[J]. 检验医学与临床,2016,13(14):1985-1986.
- [6] 左俊,顾鸣敏,张咸宁. 医学遗传学[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:165-182.

(下转48页)

- [3] 刘玉鹏, 秦炯. 编外标记染色体与 18p 染色体异常[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 31(8): 561-564.
- [4] LIEHR T, EWERS E, KOSYAKOVA N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(4):317-324.
- [5] BLENNOW E, NIELSEN KB, TELENUS H, et al. Fifty probands with extra structurally abnormal chromosomes characterized by fluorescence in situ hybridization[J]. Am J Med Genet, 1995, 55(1): 85-94.
- [6] 左伾. 医学遗传学[M]. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2019.
- [7] SHAIKH TH, BUDARF ML, CELLE L, et al. Clustered 11q23 and 22q11 breakpoints and 3:1 meiotic malsegregation in multiple unrelated t(11; 22) families[J]. Am J Hum Genet, 1999, 65(6):1595-1607.
- [8] CARTER MT, PIERRE SAS, ZACKAI EH, et al. Phenotypic delineation of emanuel syndrome (supernumerary derivative 22 syndrome): clinical features of 63 individuals[J]. Am J Med Genet A, 2009, 149A(8):1712-1721.
- [9] 余慕雪, 李晓瑜, 陈东平, 等. 染色体平衡易位 t(11;22)携带者一例三次妊娠分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13(4):49-50.
- [10] 傅文婷, 赵文忠, 江惠华, 等. 11 例 t(11;22)(q23;q11)染色体平衡易位患者的临床与遗传学分析[J]. 重庆医学, 2018, 47(20):2700-2702,2705.
- [11] ATLI Eİ, GÜRKAN H, VATANSEVER Ü, et al. A case with Emanuel syndrome; extra derivative 22 chromosome inherited from the mother[J]. Balkan J Med Genet, 2016, 18(2):77-82.
- [12] 李付广, 唐江, 谢小雷, 等. 产前诊断 11q23.3q25 和 22q11.1q11.21 三体胎儿一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(6):632-635.
- [13] 杜柳, 谢红宁, 李丽娟, 等. 胎儿室间隔缺损与染色体异常的相关性研究[J]. 中华妇产科杂志, 2013, 48:809.
- [14] 赵颖, 雷彩霞, 李笑天, 等. 176 例胎儿心脏超声异常表现与染色体异常的关系[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(6):54-57.
- [15] KLAASSENS M, SCOTT DA, DOOREN MV, et al. Congenital diaphragmatic hernia associated with duplication of 11q23-qter[J]. Am J Med Genet, 2006, 140A(14):1580-1586.
- [16] 李笑天, 张斌, 严英榴, 等. 胎儿疾病多学科会诊指导手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2018.
- [17] PARK JP, MCDERMET MK, DOODY AM, et al. Familial t(11;13)(q21;q14) and the duplication 11q, 13q phenotype[J]. Am J Med Genet, 1993, 45(1):46-48.

(收稿日期:2020-08-26)

编辑:宋文颖

(上接第 28 页)

- [7] 张野. 外周血染色体核型在染色体病诊断中的应用价值[J]. 中国医药指南, 2019, 12(17):89-90.
- [8] 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.
- [9] 魏莉, 倪璟, 朱红芬. 染色体罗伯逊易位与女性不良孕产关系探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(12):79-80.
- [10] TURKI RF, ASSIDI M, BANNI HA, et al. Associations of recurrent miscarriages with chromosomal abnormalities, thrombophilia allelic polymorphisms and/or consanguinity in Saudi Arabia[J]. BMC Medical Genetics, 2016, 17(1): 69.
- [11] 代鹏, 赵干业, 侯雅勤, 等. 河南地区 1126 对不良孕产史患者的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(12): 55-56.
- [12] YU MC, LEE CW, LEE YS, et al. Prediction of early-stage hepatocellular carcinoma using OncoScan chromosomal copy number aberration data[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(44):7818-7829.
- [13] HOLZER M, HANANEL EG. Recurrent implantation failure: gamete and embryo factors[J]. 2012, 97(5): 1021-1027.
- [14] CHENG R, MA Y, NIE Y, et al. Chromosomal polymorphisms are associated with female infertility and adverse reproductive outcome after infertility treatment: a 7-year retrospective study[J]. Report Biomed Online, 2017, 35(1):72-80.
- [15] 林慧, 段金良. 9 号染色体臂间倒位的研究概述[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(3): 127-129.
- [16] 王贺, 肖晓素, 纪玲, 等. 9 号染色体臂间倒位与不孕不育相关性的探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(3): 47-48.
- [17] 梁济慈, 王兴, 郭媛媛, 等. 9 号染色体臂间倒位与生育异常的相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(12): 55-56.
- [18] 代海兵, 宋洁, 刘侠, 等. 6 例 9 号染色体倒位的遗传学分析[J]. 实验室科学, 2019, 2(22): 33-34+37.

(收稿日期:2020-06-30)

编辑:宋文颖