

934 例绒毛染色体核型分析

郭芬芬 徐盈 陈必良 王德堂 张建芳* 黎昱 徐慧 燕凤

(第四军医大学第一附属医院妇产科, 陕西 西安 710032)

【摘要】 目的 探讨绒毛取样产前诊断的有效性和安全性。**方法** B超定位经腹绒毛取材法,采用绒毛细胞短期培养法,制备染色体,G显带进染色体核型分析。**结果** 934例绒毛标本中,其中85例为流产胚胎,培养成功率为99.46%。849例绒毛活检术中,异常核型75例,异常率为8.83%。其中多倍体8例,12-三体2例,13-三体2例,16-三体10例,18-三体10例,21-三体7例,22-三体2例,标记染色体2例,性染色异常9例,分别是1例47,XXY和8例45,X0。嵌合体3例,结构异常6例,染色体多态性14例,涉及的染色体有16、15、13。85例胚胎终止发育后,清宫术绒毛取材,进行胎儿染色体核型分析,检测出27例染色体异常核型,检出率为31.76%。**结论** 绒毛染色体核型分析是孕早期产前诊断和胚胎停止发育原因分析常用的方法,是早期、快速、有效、安全的产前诊断方法。将绒毛染色体分析技术广泛应用于临床产前诊断,有效避免染色体异常儿的出生,对提高我国人口素质有重要的意义。

【关键词】 绒毛; 染色体; 核型分析; 流产胚胎

【中图分类号】 R394.2 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To investigate the efficacy and safety of chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. **Method** The chorionic villus were aspirated the transabdominal ultrasound localization method, using the chromosome and G band were analysed by villus cell short-stage culture method. **Results** In 934 cases villus samples, cultivate a success rate of 99.46%, 85 cases were abortus. Chorionic villus samplings of 849, there were 75 cases abnormal karyotype, abnormal rate of 8.83%. Including 8 cases of polyploidy, 2 cases of trisomy 12, 2 cases of trisomy 13, 10 case of trisomy 16, 10 cases of trisomy 18, 7 cases of trisomy 21, 2 cases of trisomy 22, 2 cases of marker chromosome. There were 9 cases of sex chromosome abnormalities, respectively, one case of 47, XYY, 8 cases of 45, XO. Chimera was 3 cases. Structural abnormalities chromosome were 6 cases. Chromosome polymorphism were 14 cases, involving chromosomes 16, 15, 13. In 85 cases abortus, There were 27 cases abnormal karyotype, abnormal rate of 31.76%. **Conclusions** The villi chromosome karyotype analysis was a common method in trimester prenatal diagnosis and the reason of abortus, which was an early, rapid, effective and safe method of prenatal diagnosis. The villi chromosome analysis technology is widely used in clinical prenatal diagnosis, which was an effective way was to avoid abnormalities chromosomal child's birth, to improve the quality of our population.

【Key words】 chorionic villus sampling; chromosome; karyotyping; abortus

绒毛是胚外组织,它和胚胎由同一受精卵发育而来^[1]。绒毛染色体分析技术是近30年来国内外使用较为广泛的一项产前诊断技术,主要用于孕早

期胎儿染色体分析和流产原因分析,是有效降低和杜绝先天出生缺陷患儿的有力手段^[2]。对于这一诊断方法的安全性和有效性医学界仍存在争议。在此,经本实验室开展的849例B超定位经腹绒毛穿刺取样和85例流产胚胎产前诊断及部分胎儿随访

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2015.03.008
* 通讯作者:张建芳, E-mail: zhangjianfang@fmmu.com

结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 自2009年1月至2015年6月底来本院产科门诊和遗传咨询门诊的934例孕早期(8~14周)孕妇,产前检查的指征包括高龄、孕期服药或接触有害物质史、自然流产史、胚胎停育史、曾生育过染色体异常的孩子、夫妻一方或双方染色体异常、胎儿B超异常等,结果见表1。

表1 934例受检者产前诊断的指征

指征	例数(例)	百分率(%)
高龄孕妇(≥ 35 岁)	270	28.91
不良孕产史	170	18.20
反复流产史	121	12.96
超声异常	69	7.39
唐氏高危	18	1.93
流产胚胎	85	9.10
夫妻一方染色体异常	24	2.57
近亲结婚家族史	3	0.32
孕期用药史	56	5.99
孕期接触致畸因子	34	3.64
其他	84	8.99
合计	934	100

1.2 方法 受检者妊娠孕周均在8~14周,B超定位经腹绒毛穿刺取样,每次取材的湿重为15~20 mg。采用绒毛短期培养法,一般为5~8天后收获细胞。用0.25%胰酶消化细胞,将细胞移入离心管中2000 r/min离心,用含1%柠檬酸钠和0.075%KCl(1:1)的低渗液低渗15分钟后,用3:1的固定液(甲醇:冰醋酸)预固定,1500 r/min离心弃上清,再固定两次后,常规制片,G显带,然后进行染色体核型分析。每份标本至少计数20个分裂象,分析5~10个核型。

2 结果

2.1 934例绒毛标本中,其中85例为流产胚胎。有5例因为污染或者取材过少而培养失败,培养成功率为99.46%。对于绒毛穿刺取样培养失败的受检者,待孕中期为其进行羊水穿刺取样,羊水细胞培养均成功。

2.2 849例绒毛活检标本中,异常核型75例,异常率为8.83%。常染色体数目异常33例,占异常核型的44.00%(33/75),其中12-三体2例,13-三体2例,16-三体10例,18-三体10例,21-三体7例,22-三体2例。多倍体8例,占异常核型的10.67%(8/75)。标记染色体2例,占异常核型的2.67%(2/75)。性染色体异常9例,占异常核型的12.00%(9/75),分别是1例47,XXY和8例45,XO。嵌合体3例,占异常核型的4.00%(3/75)。染色体易位6例,占异常核型的8.00%(6/75)。染色体多态性14例,涉及的染色体有16、15、13,结果见图1。

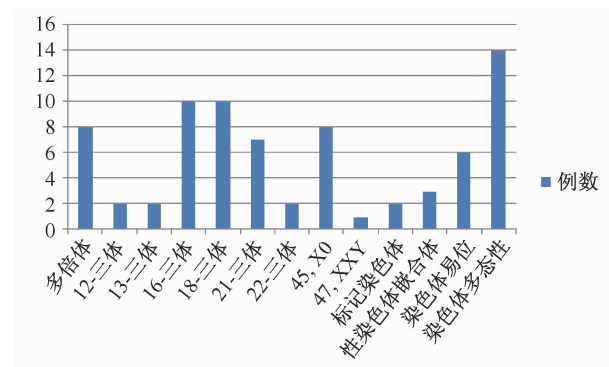


图1 绒毛活检染色体分析结果

2.3 849例经腹绒毛穿刺取样的孕妇中,经随访,有2人流产,其中一例胎儿染色体异常,为47,XX,+13,1例胎儿染色体正常的孕妇流产,流产率0.24%(2/849),流产率低于文献报道的1%。

2.4 85例流产胚胎中,检出异常核型27例,异常率31.76%(27/85)。其中,多倍体7例,21-三体1例,22-三体2例,16-三体10例,12-三体2例,性染色体嵌合体3例,染色体多态性2例,结果见图2。

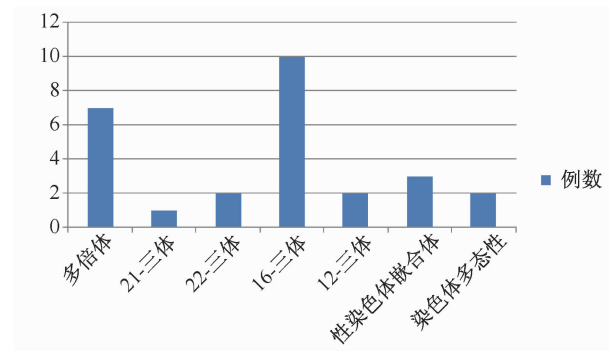


图2 流产胚胎染色体分析结果

3 讨 论

绒毛系胚胎的附属结构,它是胚胎和母体进行物质交换的重要组成部分^[2]。因此,绒毛穿刺取样的时间和取材量的多少很关键,一般认为妊娠8~14周是最佳的取材时间,孕周过早胚胎着床不够牢固,绒毛层较薄,取材容易导致流产;超过14周以后,囊胚较大表面张力大,取材很容易破水导致流产,另有绒毛细胞退变,滋养细胞开始减少,穿刺取绒毛组织太少^[3]。绒毛取材量的多少以及受损程度关系到胚胎的发育,我们一般取材量控制在15~20 mg(湿重)。经随访后,已出生的胎儿未出现发育及四肢畸形等影响,证实绒毛取材基本上不会影响胚胎发育,是一种安全有效的产前诊断方法。

849例绒毛活检标本中,异常核型75例,异常率为8.83%。常染色体数目异常33例,占异常核型的44.00%(33/75),其中12-三体2例,13-三体2例,16-三体10例,18-三体10例,21-三体7例,22-三体2例。多倍体8例,占异常核型的10.67%(8/75)。标记染色体2例,占异常核型的2.67%(2/75)。性染色体异常9例,占异常核型的12.00%(9/75),分别是1例47,XXY和8例45,XO。嵌合体3例,占异常核型的4.00%(3/75),对于绒毛取材来说,有可能混有母体细胞,国外报道,如果出现母体细胞污染小于10%,可认为是先天性代谢紊乱造成的假性嵌合体^[4]。因此对于嵌合体的病例,本实验室会建议孕妇孕中期再行羊膜腔穿刺术抽取羊水进行核型分析,以排除假性嵌合体。染色体易位6例,占异常核型的8.00%(6/75)。染色体多态性14例,涉及的染色体有16、15、13。在75例绒毛染色体异常核型中,查阅孕妇的临床资料,其中16例孕妇高龄,血清学筛查唐氏高危2例,胎儿无创DNA检测高风险的3例,反复流产史孕妇10例,B超显示胎儿发育异常15例,孕妇有不良生育史的16例,孕期服药史4例,夫妻一方或双方工作环境接触有毒有害物质史3例,夫妻一方染色体异常的6例。因此,对于有以上情况的孕妇进行孕早期产前诊断十分必要,可以早期发现染色体异常胎儿、在孕妇及家属知情同意的情况下及时终止妊娠,避免

染色体异常儿的出生,有效提高新生儿的出生质量。85例流产胚胎中,有27例染色体异常核型,其中,21-三体1例,多倍体7例,22-三体2例,16-三体10例,12-三体2例,性染色体嵌合体3例,染色体多态性2例,染色体异常率31.76%。有报道早期流产胚胎检查50%~60%有染色体异常,胚胎染色体异常是自然流产的主要原因^[6]。本次研究中,流产胚胎绒毛染色体异常率31.76%,明显高于产前诊断绒毛的染色体异常。由此可见,胚胎染色体异常是早期自然流产最常见的原因。在27例异常流产胚胎染色体核型中,染色体数目异常22例,占总异常例数的81.48%。由此可见,数目异常是导致胚胎早期自然流产的最主要原因。可能是由于数目异常的胚胎,遗传缺陷大,致死性高^[7]。对流产胚胎进行染色体核型分析查找胚胎停止发育或自然流产的原因,为孕妇下一次妊娠提供临床指导^[10]。对临床医师来说,在发现孕妇胚胎发育异常或停止发育后,不要盲目的去保胎,建议其及时进行孕早期产前诊断,排除染色体异常,为孕妇提供科学、合理的产前检查。

绒毛染色体检查会增加流产和胎盘嵌合的风险。849例绒毛穿刺取样的孕妇中,有2人发生流产,其中一例胎儿染色体异常,为47,XX,+13;1例胎儿染色体正常的孕妇流产,流产率0.24%。目前,绒毛穿刺取样的方法有两种,一种是B超定位经腹绒毛取材法,另一种是B超定位经宫颈绒毛吸取法。在我们的实际工作中,发现B超定位经腹绒毛取材法,进针次数少,孕妇出血量少,穿刺成功率高。经腹穿刺获取产前诊断绒毛比通过经宫颈绒毛吸取法获取的绒毛发生污染的几率低,吸取的绒毛的质量较高,更有利于培养以及母体细胞污染少,胎儿流产率低^[5]。849例中流产2人,流产率0.24%明显低于文献报道的1%。因此,建议选择B超定位经腹绒毛取材法为宜。

绒毛染色体核型分析是孕早期产前诊断和流产原因分析常用的方法,具有早期、快速、简便、有效的优点。虽然绒毛穿刺术的手术难度大,流产风险高,但经过本实验室的探索与改良,大大提高了绒毛穿刺术的安全性和细胞培养的成功率。将绒毛染色体

分析技术广泛应用于临床产前诊断,有效避免染色体异常儿的出生,对提高我国人口素质有重要的意义。

参 考 文 献

- [1] 杨巧芝,马长俊,陈园茶,等. 150例绒毛产前诊断及随访的研究[J]. 国外医学妇幼保健分册,2005,6(16):345-346.
- [2] 王秀娟,孙凤珍,80例孕早期绒毛直接制备染色体产前诊断分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2003,1(20):85.
- [3] 杨灿锋,朱瑞芳,王峻峰,等. 绒毛染色体相关技术在流产和产前诊断中的应用及注意事项[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,11(17):126-127.
- [4] Steinberg S, Katsanis S, Moser A, et al. Biochemical analysis of cultured chorionic villi for the prenatal diagnosis of peroxisomal disorders: biochemical thresholds and molecular sensitivity for maternal cell contamination detection[J]. J Med Genet. 2005,42(1):38-44.
- [5] 胡舜妍,廖灿,潘敏,等. 绒毛细胞长期培养法在产前诊断及早孕和早中孕期自然流产病因检测中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志,2010,7(18):35-36.
- [6] 丰有吉,沈铿. 妇产科学(供8年制及7年制临床医学等专用)[M]. 北京:人民卫生出版社,2005.
- [7] 王思慧,傅萍,姜萍. 629例难免流产患者绒毛染色体分析及病因研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2013,21(11):34-37.
- [8] 刘玉昆,刘梅兰,杜涛,等. 不同年龄和流产次数的复发性流产患者绒毛染色体核型分析[J]. 现代妇产科进展,2012,21(12):925-927.
- [9] 雷琼,王琼,周灿权,等. MLPA联合FISH检测自然流产绒毛组织中染色体嵌合现象[J]. 中国优生与遗传杂志,2008,16(10):49-51.
- [10] 李阳洋,章勤. 自然流产绒毛染色体核型分析的研究现状[J]. 实用妇产科杂志,2012,28(6):431-433.

(收稿日期:2015-07-30)

编辑:宋文颖

读者 · 作者 · 编者

本刊对文稿撰写的要求

文稿应具科学性、实用性,论点明确,资料可靠,数据准确,层次清楚,文字精练,用字规范,文稿附图量不限,提倡多附图片和视频(音频)内容。论著性文章4000字左右,综述、讲座5000字左右,论著摘要、经验交流、病例报告等一般不超过2000字,欢迎以图像为主的来稿,并贯穿文字说明和评析,专家视频讲座为30~40分钟(分成3~4段)。当报告是以人为研究对象的试验时,作者应该说明其遵循的程序是否符合负责人体试验的委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制定的伦理学标准并得到该委员会的批准,是否取得受试对象的知情同意。文题力求简明,且能反映出文章的主题。中文文题一般不超过20个汉字。

中国产前诊断杂志(电子版)编辑部