

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 15. 018

广东惠州地区 2 117 例孕妇羊水染色体结果分析

闫 梅,李 辉,陈佛兰,叶建祥

广东省惠州市妇幼保健计划生育服务中心,广东惠州 516007

摘 要:**目的** 对孕中期羊水细胞染色体进行分析,比较不同临床指征的异常核型检出率及对特殊异常核型结果进行综合判读。**方法** 对 2015 年 5 月至 2018 年 7 月具有产前诊断指征的 2 117 例孕妇行羊膜腔穿刺术抽取适量羊水进行培养、收获、制片、显带及染色体核型分析。**结果** 2 117 例胎儿核型中共发现 142 例异常染色体核型(6.7%),199 例表现为染色体多态(9.4%),其中临床指征为无创产前筛查异常及夫妇一方染色体异常的异常染色体核型检出率偏高(41.4%、60.0%),唐氏筛查高风险与高龄异常染色体核型检出率分别为 3.3%、3.6%。142 例异常核型主要为染色体数量异常(75.4%),其中 21 三体占 57.9%,结构异常主要为平衡易位和嵌合体(37.1%、31.4%)。辅助染色体微阵列分析(CMA)与染色体核型分析比对,发现 577 例羊水中染色体核型分析的异常检出率为 6.9%(40/577);CMA 的异常检出率为 9.4%(54/577)。**结论** 无创产前筛查技术的使用提高了异常染色体的检出率;孕中期的羊水染色体异常种类多样,应多种检测方法联合使用,可有效地提高异常病例的检出率,既提高了人口素质,也降低了出生缺陷发病率。

关键词:羊水细胞; 产前诊断; 染色体

中图法分类号:R596.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)15-2171-04

Analysis on amniotic fluid chromosome results of 2 117 pregnant women in Huizhou area of Guangdong Province

YAN Mei, LI Hui, CHEN Folan, YE Jianxiang

Huizhou Municipal Maternal and Child Health Care Family Planning Service Center, Huizhou, Guangdong, China

Abstract: Objective To analyze the amniotic fluid cell chromosome in the middle stage of pregnancy, to compare the detection rate of abnormal karyotype in different clinic indications and to conduct the comprehensive interpretation on special abnormal karyotypes. **Methods** The amniocentesis was performed to extract appropriate amounts of amniotic fluid for conducting the culture, harvest, section preparation, banding and chromosome karyotype analysis in 2 117 pregnant women with antenatal diagnosis indication from May 2015 to July 2018. **Results** Among 2 117 cases of fetal karyotypes, 142 cases (6.7%) of abnormal karyotypes were found and 199 cases (9.4%) manifested by chromosome polymorphisms, in which the non-invasive prenatal screening group and couples chromosome abnormality group in the clinical indications had the higher detection rate of abnormal chromosome karyotype (41.4%, 60.0%), the detection rates of the Down's screening high-risk group and the advanced age group were 3.3% and 3.6% respectively. One hundred and forty-two cases of abnormal karyotypes were mainly the quantity abnormalities (75.4%), in which 21 trisomy accounted for 57.9%, the structural abnormalities were mainly the equilibrium transposition and chimera (37.1%, 31.4%). In the comparison between the assisted chromosome microarray analysis (CMA) and karyotype, the abnormal detection rate of chromosome karyotype analysis in 577 cases of amniotic fluid was 6.9% (40/577); the CMA abnormality detection rate was 9.4% (54/577). **Conclusion** The use of non-invasive prenatal screening technology increases the detection rate of abnormal chromosomes; the amniotic fluid chromosomal abnormalities in the middle pregnancy are various in types, and various detection methods should be conjunctively used, which can not only increase the population quality and also reduces the incidence of birth defects.

Key words: amniotic fluid cells; prenatal diagnosis; chromosome

染色体数目恒定及结构稳定是保证生物个体表型正常的前提,这种稳态失衡就会导致染色体病的发生,也是人类出生缺陷的重要原因,目前尚无特异的治疗方法,但可通过产前诊断预防患儿的出生,来达到提高人口素质及降低出生缺陷的发病率的目的。羊膜腔穿刺抽取适量羊水进行染色体核型分析是目前最常用的诊断技术。本研究对 2015 年 5 月至 2018 年 7 月在本院产前诊断中心进行产前诊断的 2 117 例孕妇的羊水细胞染色体进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 5 月至 2018 年 7 月来本院产前诊断中心进行遗传咨询并具有产前诊断指征的孕妇 2 117 例,年龄 19~46 岁,羊膜穿刺时间在孕 16~28 周。产前诊断指征包括:无创产前筛查异常(128 例)、唐氏筛查高风险(874 例)、高龄(530 例)、不良孕产史(127 例)、NT 增厚(40 例)、夫妇一方染色体异常(15 例)、超声提示异常(297 例)以及医生认为有必要进行产前诊断的其他指征(106 例)。

1.2 方法

1.2.1 培养瓶法 羊膜腔穿刺无菌抽取 20 mL 羊水,分别注入 2 支无菌的 15 mL 刻度管内,离心弃上清液,将沉渣分别接种在 2 瓶装有 4 mL 培养液的培养瓶内,在 37 ℃ 5%的 CO₂ 培养箱内培养 7 d 后,观察细胞生长情况后换液、传代、收获、制片、G 显带。

1.2.2 核型分析 以 ISCN2013 为核型分析诊断标准,计数在 2 个独立培养的培养瓶中平均分布的 20 个以上中期分裂象,分析 5 个以上核型,当出现 2 个或 2 个以上细胞系时增加细胞计数来鉴定嵌合情况。

1.2.3 辅助检查 必要时进行 C 显带排除异染色质多态,若胎儿染色体异常无法判断来源,抽取父母外周血检测进行辅助诊断,部分超声提示胎儿异常的病例同时外送至上级医院行辅助染色体微阵列分析(CMA)。

2 结 果

2.1 不同产前诊断指征胎儿异常核型及多态的发生率比较 2 117 例羊水标本中检测出胎儿异常核型 142 例,异常核型发生率 6.7%,多态发生率 9.4%。见表 1。

2.2 142 例异常染色体核型分布情况 142 例异常胎儿染色体核型中,染色体数量异常 107 例,占异常核型的 75.4%(107/142),其中 21 三体最常见,占 57.9%(62/107)。染色体结构异常 35 例,占异常核型的 24.6%(35/142);平衡易位比较常见,占结构异常核型的 37.1%(13/35),嵌合体核型 11 例,占结构异常核型的 31.4%,嵌合体的发生率为 0.52%(11/2 117)。见表 2。

2.3 CMA 结果与染色体核型分析结果的比较 577 例先后使用 CMA 及染色体核型分析的病例中,同时为正常结果的占 89.3%(515/577),同时为异常的病例占 5.5%(32/577);CMA 检测结果异常而染色体分析正常的病例占 3.8%(22/577);而染色体分析异常、CMA 结果正常的占 1.4%(8/577)。577 例羊水中染色体核型分析的异常检出率 6.9%(40/577),CMA 的异常检出率 9.4%(54/577)。见表 3。

表 1 不同产前诊断指征胎儿异常核型及多态的发生率比较[%(n)]

产前诊断指征	总例数	异常发生率	多态发生率
唐氏筛查高风险	874	3.3(29)	10.9(96)
高龄	530	3.6(19)	9.1(48)
超声提示异常	297	6.7(20)	5.1(15)
不良孕产史	127	1.6(2)	12.6(16)
无创产前筛查异常	128	41.4(53)	2.3(3)
NT 增厚	40	17.5(7)	7.5(3)
夫妇一方染色体异常	15	60.0(9)	6.7(1)
其他	106	2.8(3)	15.1(17)
总计	2 117	6.7(142)	9.4(199)

表 2 142 例异常染色体核型分布情况

异常染色体核型	n	异常染色体核型	n	异常染色体核型	n
结构异常		46,XY,add(9)(p24)	1	数量异常	
46,XX,1qh+,t(4;8)(q31.2;q22)	1	46,XY,add(5)(p15.3)	1	21 三体	62
46,XX,t(2;7)(p13;p13)	1	46,X,del(X)(q26)	1	18 三体	24
46,XX,t(2;3)(q35;p13)	1	46,XY,del(17)(p13)	1	13 三体	7
46,XX,t(4;10)(p15.2;p13)	1	46,X,i(X)(q10)	1	45,X	5
46,XY,t(7;21)(q36;q22)	1	47,XY,+mar	1	47,XXX	7
46,XX,t(1;19)(p35;q13.4)	1	mos45,X[127]/46,X,i(Y)(q10)[16]	1	47,XXY	2
46,XX,t(9;14)(p22;q22)	1	mos 45,X[32]/46,XX[68]	1	合计	107
46,XX,1qh+,t(4;8)(q31.2;q22)	1	mos 47,XY,+20[21]/46,XY[200]	1		
46,XX,t(7;12)(q22;p13)	1	mos 47,XX,+mar[5]/46,XX[58]	1		

续表 2 142 例异常染色体核型分布情况

异常染色体核型	<i>n</i>	异常染色体核型	<i>n</i>	异常染色体核型	<i>n</i>
46,XY,t(1;6)(p22;q21)	1	mos 47,XX,+22[29]/46,XX[71]	1		
46,XX,t(6;19)(p22.1;p13.2)	1	mos 47,XY,+20[21]/46,XY[200]	1		
46,XX,rob(14;21)(q10;q10)	1	mos 47,XY,+21[72]/46,XY[28]	1		
46,XX,t(2;14)(p14;p31)	1	mos 47,XY,+mar[22]/46,XY[78]	1		
46,XY,inv(3)(p22p24)	1	mos 47,XX,+9[78]/46,XX[50]	1		
46,XY,inv(10)(p12.2q11)	1	mos 45,X[16]/46,XY[84]	1		
46,XY,inv(1)(p12q12)	1	mos 47,XY,+i(12)(p10)[40]/46,XY[60]	1		
46,XY,add(4)(p16)	1	合计	35		
46,XY,add(17)(q25.3)	1				

表 3 577 例羊水 CMA 与染色体核型分析检测结果比较(*n*)

CMA	染色体核型		合计
	异常	正常	
异常	32	22	54
正常	8	515	523
合计	40	537	577

3 讨 论

根据《中国出生缺陷防治报告(2012)》统计,我国出生缺陷的发病率为 5.6%,每年新增的病例数约 90 万例,其中出生时明显可见的出生缺陷有 25 万例,而染色体异常是出生缺陷的重要原因。据报道,染色体异常在活产的新生儿中发病率在 0.5%^[1]左右,在死产中占 5%~13%^[2],在早期胚胎流产的比例高达 50%~60%^[3],目前尚无法对染色体病进行特异性治疗,因此对高危孕妇进行早、中期的产前诊断是降低围生儿死亡、预防异常胎儿出生、降低出生缺陷的重要手段。随着羊水穿刺术的开展,羊水细胞培养、收获技术的使用,以及染色体核型分析使产前诊断得以进行。本研究中异常核型检出率为 6.7%,多态的发生率为 9.4%,异常核型的检出率明显高于有关报道^[4-5],可能是因为本院严格地把握了产前诊断的相关指征,以及无创产前筛查技术的开展,也可能受本地区的环境特点及样本量的影响。本研究将 1、9、16、Y 染色体的倒位及其异染色质区的变异, D 组及 G 组染色体随体的变异均列为多态。多态是一种正常的变异,不会出现临床表型的改变,但是有学者认为 9 号倒位与孕妇发生孕早期的流产是相关的,在孕前植入技术中会导致胚胎流产^[6]。唐氏筛查高风险和高龄是产前诊断的主要指征,唐氏筛查高风险指征异常核型的阳性率为 3.3%,接近陆建英等^[7]报道的 3.1%,略低于钱飞燕等^[5]报道的 4.23%,可能与各地对唐氏筛查质控的把握及检测方法的局限性有关。

同时本研究发现唐氏筛查阳性标本在实际的产前诊断中,不仅仅表现为 21 三体及 18 三体的异常,有些性染色体异常及结构异常也会出现血清学指标的异常,而表现为唐氏筛查高风险。高龄指征的阳性率为 3.6%,低于国内其他地区的报道^[8]。高龄孕妇随着年龄的增长,生殖细胞的老化,很易出现染色体不分离现象。无创筛查作为新兴的产前筛查技术,其中异常者作为产前诊断的指征,阳性率明显升高,检出率可高达 41.4%,避免了阴性孕妇过多地使用了羊水穿刺技术,但是无创筛查仍然会局限于非整倍体的筛查,对于一些阳性的结构异常结果,准确性仍有待考证。

142 例染色体异常主要表现为数目异常,全部为非整倍体核型,其中 21 三体检出率最高(57.9%)。21 号染色体是人类最小的染色体,携带的基因数最少,大多数胎儿都能存活到孕中期,但是由于基因组异常的剂量效应,破坏了遗传物质间的平衡,出生的患儿表现为严重的智力低下、多发畸形、生长发育迟缓,是造成出生缺陷、严重威胁人口质量的重大疾病之一。因此,产前诊断核型分析技术的应用,大大地降低了染色体病的发病率。生殖细胞减数分裂或受精卵卵裂时发生的染色体不分离是常见的原因。通常认为高龄导致的卵子老化,减速分裂过程中染色体不分离的概率增高,但是本研究发现正值生育年龄的孕妇,非整倍体的发生率也在逐渐增加,应该与辐射、病毒感染、环境污染等也是有关系的。

本研究共检测出 35 例结构异常,主要为平衡易位和倒位,经检测父母外周血核型发现均为亲代来源,建议继续妊娠,但告知其下一代均有流产、死胎发生的风险。据文献报道新发的易位及倒位,由于受精卵卵裂过程中出现新的断裂点,可能会出现遗传物质总量的变化,出现微缺失或微重复,导致胚胎畸形或器官的发育异常。同时本研究发现片段来源不明的核型 4 例,经 CMA 检测证实有 3 例为部分片段三体,

均为新发突变,父母核型正常,超声提示器官畸形,建议终止妊娠。特异病例 46,XY,add(9)(p24),9 号染色体短臂末端出现明显的不明来源片段,父母核型正常,CMA 结果正常,考虑 9 号染色体多态性的存在;进行 C 显带的检测,发现不明来源的片段为一段异染色质区带,9 号的异染色质区在着丝粒的附近,出现在短臂的末端是非常少见的。由于各种检测技术都有其存在的局限性,多种检测技术的联合使用能够互补优缺点,也避免了一个正常胎儿的误诊,本病例建议继续妊娠。

嵌合体的存在一直是产前诊断的难点,由于真假嵌合体的存在,遗传咨询需谨慎对待。本研究共发现 11 例嵌合体(0.52%),低于吴坚柱等^[9]报道的 0.96%,也比一些报道的结果偏高^[10],可能与样本量的大小,或者一些真假嵌合标准的把握有关。嵌合体的评价分为 3 个等级^[11],一般第 3 等级才被认为是真性嵌合,但是苏林涓等^[10]通过对 56 例嵌合体的研究发现处于 2 级的嵌合体通过脐血的复查,有 3 例为真性嵌合,他们认为羊水细胞在培养时,异常细胞随机进入两个培养瓶中,致使真性嵌合的异常细胞可能只出现在一个培养瓶中,同时异常细胞贴壁生长失败也可能导致羊水真性嵌合体的漏诊。本实验室发现 1 例因超声异常进行产前诊断的病例,CMA 提示存在 15 号三体嵌合,而通过培养瓶法收获的细胞均未发现存在嵌合现象,可能原因为异常细胞比例过低,贴壁生长失败,或者由于异常细胞克隆过少或过小,传代后被优势生长的正常细胞稀释,而无法再次贴壁生长。

由于 G 显带染色体核型分析分辨率低,无法识别小于 10 Mb 的染色体异常片段,对一些微缺失及微重复会有漏诊现象,不能排除低比例嵌合,对于一些超声提示异常的病例,临床医生会同时加做 CMA。本研究在统计 577 例同时进行细胞及分子遗传检测的病例时发现 22 例羊水染色体检测正常,而 CMA 结果提示存在染色体微缺失和微重复的病例,尤其是一些唇腭裂及心脏畸形的胎儿,CMA 对于核型分析漏诊的嵌合体也有一定的检出。本研究有 8 例染色体异常,CMA 结果正常的病例。任何一种检测方法都有其相应的局限性,CMA 对于平衡易位和倒位等遗传

物质总量无改变的病例是无法检测的,对于异染色质区重复的 DNA 序列的增减,由于无相应的探针,也是无法检出的。

综上所述,产前诊断作为预防出生缺陷的重要手段,在遗传咨询时对结果要综合分析判断,既要保证预防有问题的胎儿出生,也要防止对正常胎儿的误判,因此多种方法的联合使用,可以有效地提高异常病例的检出率,既提高了人口素质,也避免了随之而来的医疗纠纷。

参考文献

- [1] DUARTE A C,CUNHA E,ROTH J M,et al. Cytogenetics of genetic counseling patients in Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil[J]. Genet Mol Res, 2004, 3: 303-308.
- [2] KORTEWEG F J,BOUMAN K,ERWICH J J,et al. Cytogenetic analysis after evaluation of 750 fetal deaths: proposal for diagnostic workup[J]. Obstet Gynecol, 2008, 111(4): 865-874.
- [3] 乐杰. 妇产科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 89-90.
- [4] 赖怡,刘之英,秦利,等. 25 510 份孕中期羊水细胞的染色体分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(1): 117-119.
- [5] 钱飞燕,许平,曾艳,等. 3 912 份胎儿羊水细胞染色体核型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(3): 393-394.
- [6] 刘念,阎炯,宋婕萍,等. 染色体多态性与复发性流产的关系研究[J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(1): 75-77.
- [7] 陆建英,王天飞,杨惠珠,等. 7 059 例孕妇唐氏综合征筛查及羊水产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007, 15(7): 24-25.
- [8] 俞菁,章莉,谭美玉,等. 上海地区高龄孕妇羊水染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(2): 41-42.
- [9] 吴坚柱,林少宾,张志强,等. 63 例羊水嵌合体的临床分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(4): 522-524.
- [10] 苏林涓,吴小青,李英,等. 56 例羊水细胞嵌合体产前诊断及妊娠结局分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2016, 33(1): 122-123.
- [11] 陆国辉. 遗传疾病产前诊断[M]. 广州: 广东科技出版社, 2012: 110.

(收稿日期: 2019-02-10 修回日期: 2019-06-15)