

• 论 著 •

复发性自然流产夫妇染色体核型的检验分析*

吴亚敏,李超强,黎丽芬,伍春蓉
(广东省东莞市东华医院生殖中心 523110)

摘要:目的 探讨复发性自然流产与染色体核型之间的相关性,为临床自然流产的诊治提供参考依据。方法 选取 2010 年 3 月至 2013 年 3 月该地区 51 对夫妇外周血进行淋巴细胞培养,均进行染色体核型分析,观察染色体异常分布情况,同时比较流产次数和染色体之间相关性。结果 51 对 102 例受试者中,复发性自然流产(RSA)患者染色体异常 32 例(31.37%),其中以多态变异比率最高,占染色体异常数的 56.25%,占总数的 17.65%,明显高于其他染色体异常率,且与其他变异比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);RSA 和染色体异常核型中男 10 例(31.25%),女 22 例(68.75%);女性显著高于男性,且差异具有统计学意义($P<0.05$);其中以多态变异最常见,占 56.25%;染色体多态性中以 46XY($Y\geq 18$)发生率最高,占 33.33%,流产次数最高,占 30.77%;RSA 次数和染色体异常率中以流产 3 次异常率最高,占 43.48%。结论 染色体异常是复发性流产的一个重要因素,复发性流产不仅和染色体结构有关,同时和染色体多态性变异也有一定关联性。

关键词:复发性自然流产; 染色体核型; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.011 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)01-0029-03

Examination and analysis of recurrent spontaneous abortion couples karyotype*

WU Yamin, LI Chaoqiang, LI Lifen, WU Chunrong
(Dongguan Tung Wah Hospital Reproductive Center, Dongguan, Guangdong 523110, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between recurrent spontaneous abortion and karyotype correlation, and provide reference for clinical diagnosis and treatment of spontaneous abortion. Methods 51 couples peripheral blood lymphocyte were collected and cultured from March 2010 to March 2013 in the region. Karyotype analysis were performed to observe the distribution of the rate of chromosomal abnormalities situation. Meanwhile the correlation between the number of abortions and chromosomes were compared. Results Among the 102 subjects, 32 cases (31.37%) of them were found chromosomal abnormalities in RSA. The ratio of polymorphic mutation accounted for 56.25% of the chromosome abnormality, accounting for 17.65% the total. Which was significantly higher than other chromosomal abnormalities ($P<0.05$). Among the RSA and chromosomal karyotype cases, females accounted for 68.75%, which was significantly higher than males (31.25%) ($P<0.05$). 46XY ($Y\geq 18$) has the highest incidence in chromosome polymorphism, accounting for 33.33%, while abortions accounting for 30.77%. RSA number and incidence of chromosomal abnormalities to miscarriages three times the highest rate of abnormal, accounting for 43.48%. Conclusion Chromosomal abnormalities is an important factor in recurrent spontaneous abortion. Recurrent abortion is not only related to the structure of chromosomes, but also has a certain relationship with the variation of chromosome polymorphism.

Key words: recurrent spontaneous abortion; karyotype; correlation

复发性自然流产(RSA)是指与同一性伴侣连续遭受 2 次或以上妊娠 20 周胎儿丢失者,是育龄妇女常见病,该疾病病因复杂,常和染色体异常、解剖异常、内分泌异常和免疫紊乱等均有关联。研究称,临床上有 3%~8% 妇女存在染色体异常,包括易位、缺失和倒位等^[1]。目前临床尚无对 RSA 处理的特异方法,但随着生殖技术的提高,基本实现通过胚胎植入等医学方式作出预防和诊断,为植入前遗传学、生产前诊断和生殖遗传咨询等提供重要线索,故寻求两者之间相关性,为孕前指导提供可靠信息。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 3 月至 2013 年 3 月本地区 51 对夫妇,共 102 例受试者外周血进行淋巴细胞培养。男女各 51 例;年龄最小 19 岁,最大 41 岁,平均(28.9±3.9)岁;女性流产次数最少 2 次,最多 6 次,平均流产(2.7±1.3)次。RSA

诊断标准参考《生殖医学》中关于 RSA 诊断标准进行,排除解剖异常、内分泌异常、感染、免疫紊乱等因素造成的流产,均签署知情同意书,征得医院伦理委员会同意后进行。

1.2 方法 对 RSA 夫妇均进行外周淋巴细胞染色体检测,抽取静脉血 2~5 mL 进行淋巴细胞培养,常规制备染色体,无菌条件下用含有 20% 小牛血清 RPM11640 培养基中,在恒温下培养 72 h 后用浓度为 0.14 μg/mL 秋水仙素作用于细胞 3 h 后,再离心收集淋巴细胞,用 0.075 mol/L KCl 处理 30 min 后加入固定液固定 0.5 h 后进行制片,经胰酶分带,然后染色显带,常规选取 20 个分裂良好的中期分裂相,对其中 5 个核型进行比较,对出现嵌合体则加大核型数量,一般以 100 个为准。必要时进行核型分析,加做 C 带和 N 带等分析。

1.3 统计学处理 应用 SPSS15.0 统计软件进行统计学分析,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学

* 基金项目:东莞市科技局 2015 年年度计划项目(DK2015014)。
作者简介:吴亚敏,女,主治医师,主要从事胚胎实验室方向的研究。

意义。

2 结 果

2.1 异常染色体核型例数和构成比 51 对夫妇 102 例受试者 RSA 中染色体异常 32 例,未出现同 1 对夫妇均为染色体异常,比率为 31.37%,其中以多态变异比率最高,占染色体异常总数的 56.25%,占总数的 17.65%,明显高于其他染色体异常率。见表 1。

表 1 异常染色体核型例数和构成比			
异常核型	<i>n</i>	占异常比例(%)	占总数比例(%)
数目异常	6	18.75	5.88
平衡易位	4	12.50	3.92
罗伯逊易位	2	6.25	1.96
倒位	2	6.25	1.96
多态变异	18	56.25	17.65
合计	32	100.00	31.37

表 2 RSA 和染色体异常核型统计情况比较				
序号	性别	年龄	流产次数(<i>n</i>)	异常染色体核型
1	男 [△]	34	5	46XY,1qh+
2	女 [△]	31	4	46XY(Y≥18)
3	男	26	4	45XY(13;13)(q10;q10)
4	女	24	4	46XX,inv(6)(q25q25)
5	女	19	3	46XX,ins(11;18)(p12;q23q21)
6	女 [△]	28	3	46XX,22p+
7	女	25	3	46XY(Y=18)
8	女 [△]	27	3	46XX,22p+
9	男 [△]	26	3	46XY(Y≤G)
10	女 [△]	23	2	46XY,1qh+
11	女	22	2	46XY,(Y=18)
12	男 [△]	38	2	46XY(Y≤G)
13	女 [△]	35	2	46XY(Y≥18)
14	女 [△]	30	2	46XY(Y≥18)
15	女	29	2	45XY(13;13)(q10;q10)
16	男	30	2	46XX,21p+
17	女	25	2	46XX,inv(6)(q25q25)
18	男 [△]	28	5	46XY(Y≥18)
19	女	27	3	46XY,1qh+
20	男	24	2	46XX,22p+
21	女	28	4	45XY(13;13)(q10;q10)
22	女 [△]	31	5	46XY(Y≥18)
23	女	33	6	46XY(Y=18)
24	女	26	2	46XX,22p+
25	男	32	4	46XY(Y≤G)
26	女	40	5	46XX,21p+
27	女 [△]	36	4	46XY(Y≥18)
28	女	27	3	45XY(13;13)(q10;q10)
29	男	32	6	46XX,ins(11;18)(p12;q23q21)
30	女	34	5	46XY,1qh+
31	女	28	2	46XY(Y=18)
32	男	26	2	46XY(Y≤G)

注:△表示多态变异。

2.2 RSA 和染色体异常核型统计情况比较 RSA 和染色体异常核型中男 10 例(31.25%),女 22 例(68.75%);女性显著高于男性($\chi^2=6.783,P<0.05$);其中以多态变异最常见,占 56.25%,见表 2。

2.3 染色体多态性和 RSA 之间关系比较 染色体多态性中以 46XY(Y≥18)发生率最高,占 33.33%,(46XY,1qh+),(46XX,22p+),46XY(Y≤G)异常率均一致。见表 3。

表 3 染色体多态性和 RSA 之间关系比较			
序号	核型	<i>n</i>	构成比(%)
1	46XY,1qh+	4	22.22
2	46XX,22p+	4	22.22
3	46XY(Y≤G)	4	22.22
4	46XY(Y≥18)	6	33.33
合计	4 种	18	100.00

2.4 RSA 次数和染色体异常率比较 RSA 次数和染色体异常率的相关性分析,流产 3 次异常率最高,占 43.48%,流产次数和异常率之间无相关性,见表 4。

表 4 染色体多态性和 RSA 之间关系比较			
流产次数(次)	受检人数(<i>n</i>)	异常数(<i>n</i>)	异常率(%)
5	9	2	22.22
4	27	6	22.22
3	23	10	43.48
2	43	14	32.56
合计	102	32	31.37

3 讨 论

研究称,染色体异常是 RSA 最常见原因之一^[2],本次研究中染色体异常率为 31.37%,较文献[2]报道的 5.2%高,一方面说明 RSA 和染色体异常紧密相关,另外一方面可能和本次研究对象均为流产患者,样本量较小,同时纳入病例较单一有关。

染色体异常包括数目异常、结构异常和染色体多态性等。染色体数目异常是因表型而受影响,而染色体结构包括平衡易位、罗伯逊易位、倒位和缺失等,本次染色体异常中结构异常分布较多,这也是引起流产主要因素之一。相关研究认为,易位染色体在减数分裂中至少形成 18 个类型配子,分别和正常配子结合后形成 18 种合子,而这 18 种仅仅有 1 种是正常的,1 种为表型携带者,其他 16 种均为缺失或部分缺失,在临床上主要表现为流产、死胎、畸形等,均无法成活^[3]。罗伯逊易位指的是近端着丝粒染色体着丝融合染色体减少 1 条,贾颐肪等^[4]称其 99%以上均携带有遗传物质,其可细分为同源性和非同源性,同源性染色体不能正常配子,故不能生育后代,非同源可分成正常配子、易位平衡配子和不平衡配子 3 种类型,故其健康新生儿正常率为 1/3~2/3,流产或畸形率较高。而对于倒位,研究称 9 号染色体臂间倒位有遗传效应,臂间倒位在第一次减数分离中形成倒位圈,倒位圈在配子形成过程中分别带有一段重复或缺失,但因其含有着丝粒,故为稳定性畸变^[5]。但其规律是倒位片段越短,则重复或缺失部分越大,其配子和合子正常发育可能性越小,临床表现为月经期延长、早期流产等发

生率升高,娩出畸形儿可能性越小,相反,则畸形儿和早期流产发生率越高。

染色体多态性在本次研究中比例较高,占染色体异常率的 56.25%, 占有例数异常率的 17.65%, 这和临床实际情况是一致的。染色体多态性主要以正常染色体各种微小变异,主要是异染色质变异,常发生在 1、9、16 号染色体核 Y 染色体异染色质区和每条染色体着丝粒区,而这些区域含有高度重复 DNA 结构异染色质^[6]。相关研究认为,Y 染色体多是异染色质 DNA 序列片段过多重复产生剂量效应或 DNA 螺旋化程度的改变,造成有丝分裂发生错误或影响基因调节和细胞分化,从而造成不良妊娠^[7-8]。另外本次研究中发现有 G 染色体异常,结合刘丽等^[9]研究认为,其和染色体结构、功能和变异等不分离有关,其机制可能是生殖细胞分裂。

研究结果显示,染色体异常发生率和自然流产次数之间无相关性,但在临床上对 2 次以上的 RSA 患者均尽可能进行必要染色体核型检查。研究还发现在染色体异常中女性更常见,其原因可能与平衡易位失调有关。虽然平衡易位因遗传物质未丢失而染色体结构发生异常,故虽然患者在智力和表型上无明显异常,但有危害后代的风险。另外一个因素可能是男性再生殖细胞形成时可产生携带平衡易位精子,但精子有选择优势性^[10]。而女性卵子数量有限,故其频率高于男性。

综上所述,核型异常夫妇中 RSA 发生率较高,其中 RSA 主要原因有易位、多态性等,对育龄夫妇在临床上要常规进行染色体检测,这很有必要,而对已知携带染色体变异夫妇要进行染色体和相关遗传学检查,这有助于对复发性流产原因分析,同时做好产前检查对优生优育进行有效指导,能减轻社会和家庭负担。

参考文献

[1] 滕奔琦,范建辉,章钧,等.初次自然流产与复发性自然流

(上接第 28 页)

[3] Dirlikov E, Raviglione M, Scano F. Global tuberculosis control; toward the 2015 targets and beyond[J]. Ann Intern Med, 2015, 163(1): 52-58.

[4] Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century; new tools to tackle an old enemy[J]. Chest, 2007, 131(6): 1898-1906.

[5] Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB; a metaanalysis[J]. Chest, 2010, 137(4): 952-968.

[6] Fathy MM, Asaad A, Mansour M, et al. Cellular interferon-gamma based assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. Egypt J Immunol, 2007, 14(1): 33-41.

[7] Arend SM, Thijsen SF, Leyten EM, et al. Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(6): 618-627.

[8] Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, et al. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the

产绒毛组织细胞遗传学分析[J]. 新医学, 2011, 42(11): 723-726.

[2] 刘玉昆,陈欣,刘颖琳,等.高龄早期复发性流产患者流产原因分析[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2013, 34(4): 646-650.

[3] 王晶晶,王蕴端,陈锡泉,等. 394 对复发性自然流产夫妇染色体核型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 5(1): 49-50.

[4] 贾颀舫,彭文,石东红,等. 染色体微阵列分析技术在妊娠早期复发性自然流产病例绒毛组织体外培养失败后的应用[J]. 中华围产医学杂志, 2014, 8(12): 832-835.

[5] 陈慧,宋小侠,杜涛,等. 染色体异常的复发性自然流产夫妇妊娠结局及子代染色体状况的临床研究[C]//中华医学会第十次全国妇产科学术会议论文集, 厦门, 2012: 202-203.

[6] 张楚. 染色体核型分析及荧光原位杂交检测助孕夫妇自然流产绒毛组织染色体异常[D]. 济南: 山东大学, 2014.

[7] 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): 925-928.

[8] 肖卓妮,徐望明,杨菁. 湖北地区 1725 例不育男性的外周血染色体核型分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(16): 4671-4674.

[9] 刘丽,徐凤琴,邸建永,等. 二代测序技术检测早期自然流产胚胎染色体异常[J]. 天津医药, 2015, 4(8): 932-935.

[10] 李亚丽,高健,余小平,等. 复发性流产与染色体相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(22): 3615-3618.

(收稿日期:2016-08-05 修回日期:2016-10-24)

development of active tuberculosis disease after recent infection with Mycobacterium tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(10): 1164-1170.

[9] Ariga H, Harada N. Evolution of IGRA researches[J]. Kekkaku, 2008, 83(9): 641-52.

[10] Desem N, Jones SL. Development of a human gamma interferon enzyme immunoassay and comparison with tuberculin skin testing for detection of Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1998, 5(4): 531-536.

[11] 陈奎霖. 结核抗体在诊断结核病中的意义[J]. 中国热带医学, 2008, 8(9): 1608.

[12] 张裕君. 蛋白芯片三种抗原检测结核抗体对肺结核的诊断价值[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(9): 985-986.

[13] Su WL, Perng WC, Huang CH, et al. Identification of cytokines in whole blood for differential diagnosis of tuberculosis versus pneumonia[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(5): 771-777.

(收稿日期:2016-08-02 修回日期:2016-10-24)