

# 1076 对自然流产夫妇外周血淋巴细胞染色体核型结果分析

张 倩<sup>1</sup>, 王玉萍<sup>1</sup>, 付 夏<sup>1</sup>, 胡卫华<sup>2</sup>, 武其文<sup>1</sup>

( 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 检验科; 2. 生殖医学科, 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 探讨染色体变异与自然流产的关系, 为本地区自然流产病例的遗传咨询指导。方法: 1076 对安徽皖南地区自然流产夫妇培养外周血淋巴细胞, 常规收获制片, G 显带处理, 进行染色体核型分析。对异染色质区异常等加做 C 带处理。结果: 共发现染色体异常 263 例, 异常率为 12.2%。其中染色体数目异常的 14 例, 倒位 25 例, 平衡易位 36 例, 罗氏易位 19 例, 复杂易位 1 例, 染色体多态性 168 例。流产 1 次、2 次与流产 3 次及以上者, 其染色体异常率频率分别为 10.5%、11.6% 和 16.8%, 具有统计学差异( $P < 0.01$ )。结论: 染色体异常是自然流产的重要因素且随流产次数增加异常率明显增加, 平衡易位是本地区染色体导致流产的主要变异。

**【关键词】**自然流产; 染色体异常; 易位; 多态性; 核型

**【中图分类号】**R 714.21 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10.3969/j.issn.1002-0217.2015.06.009

## Peripheral blood lymphocyte karyotype in 1076 couples with spontaneous abortion

ZHANG Qian, WANG Yuping, FU Xia, HU Weihua, WU Qiuwen

Clinical Laboratory, The first Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

**【Abstract】Objective:** To explore the association between chromosomal abnormalities and spontaneous abortion and to provide genetic counseling for couples with spontaneous abortion. **Methods:** A total of 1076 couples with history of spontaneous abortion were enrolled. Chromosome karyotype analysis was performed on the peripheral blood lymphocytes with standard G-banding that was additionally carried out with heterochromatin. **Results:** Of the 1076 couples, abnormal karyotypes were seen in 263 (12.2%), in which 14 were associated with abnormal numbers of chromosome 25 with inverted chromosome, 36 with balanced translocation, 19 with Roberts translocation and 1 with complex chromosomal rearrangement. Chromosomal polymorphism occurred in 168 cases. The incidence of chromosomal abnormalities was 10.5%, 11.6% and 16.8% respectively for women with spontaneous abortion of 1, 2, 3 events or more. The difference was significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Chromosomal abnormalities are essential etiological factors leading to spontaneous abortions, and increase with more events of abortion. Translocation and inversion are the major abnormal karyotypes in couples in Anhui area.

**【Key words】**spontaneous abortion; chromosomal abnormalities; polymorphism; translocation; karyotype

自然流产在临床妊娠中发生率约为 10% ~ 15%, 而解剖因素、年龄因素、免疫因素、内分泌因素、感染因素和遗传因素等均有可能导致自然流产, 其中约有 50% 的自然流产与遗传因素有关<sup>[1-2]</sup>。近年来, 遗传因素导致的自然流产在临床上备受重视, 生殖医学的发展也加快了学者对自然流产遗传学的研究。遗传因素包括染色体数目异常、结构异常(包括一些微小的病变)以及基因突变等。染色

体变异特征在不同地区和人群中可能存在差异。本文通过对 1076 对来自安徽地区的自然流产夫妇进行外周血染色体核型分析, 结果报道如下。

### 1 资料与方法

1.1 研究对象 以 2009 年 1 月 ~ 2014 年 12 月期间来我院性医学及生殖医学门诊就诊的 1076 对自然流产夫妇为研究对象, 患者均为安徽地区人群, 详

基金项目: 皖南医学院弋矶山医院人才引进基金项目(YR200904); 皖南医学院弋矶山医院三新项目(Y2011043)

收稿日期: 2015-04-02

作者简介: 张 倩(1991-), 女, 检验师, (电话) 15385875813, (电子信箱) 1062qz@sina.cn;

武其文, 男, 副主任医师, 硕士生导师, (电子信箱) yjslab@163.com, 通讯作者。

细询问病史和相关实验室检查 排除免疫因素、内分泌因素等影响 ,进行外周血淋巴细胞染色体检查。其中 1 次自然流产史有 214 对 ,2 次自然流产史有 696 对 ,3 次自然流产史及以上有 166 对。患者夫妇年龄 20 ~ 45 岁。

1.2 仪器与试剂 CO<sub>2</sub> 培养箱( Thermo 公司);超净工作台( 苏州安泰空气技术有限公司生产);BX51 显微镜( OLYMPUS);淋巴细胞培养基( 广州达晖生物技术有限公司生产);胰蛋白酶购自湖南湘雅生物技术有限公司;秋水仙素购自广州达晖生物技术有限公司;Giemsa 染液购自湖南湘雅生物技术有限公司;染色体核型分析系统( 以色列 ASI 产品)。

1.3 方法 经患者知情同意 ,采取患者外周血 2 ~ 3 mL 接种至培养基 经培养、收获、制片、G 显带 ,按照人类细胞遗传学国际命名体制( ISCN 1995) 标准进行核型分析诊断。常规计数 20 个分裂相 ,分析 5 个分散良好的核型 ,异常核型加倍分析 40 个分裂相。

1.4 统计分析 不同组别之间异常率的比较采用卡方检验  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同流产次数染色体异常率的比较 1076 对自然流产夫妇共检出异常染色体 263 例 ,异常率为 12.2%。流产 1 次、流产 2 次和流产 3 次及以上者 ,3 组之间染色体异常率有显著性差异  $\chi^2 = 9.63$  , $P = 0.008$ 。其中流产 3 次或以上者与流产 1 次和 2 次者比较 染色体异常发生率显著增高( $P < 0.01$ ) ,而流产 1 次和 2 次者之间染色体异常发生率无明显差别( $P > 0.05$ ) ,见表 1。

表 1 流产次数与染色体异常的关系

流产(次)	n(对)	核型异常(例)	异常率(%)
1	214	45	10.5
2	696	162	11.6
≥3	166	56	16.8
$\chi^2$		9.630	
P		0.008	

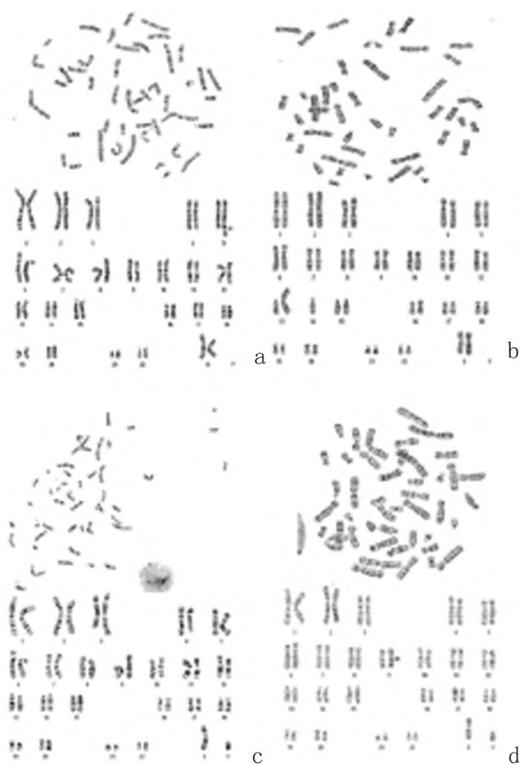
2.2 异常染色体核型分布 263 例异常染色体 ,其中数目异常 14 例包括含嵌合体 8 例。染色体易位 56 例(占受检者的 2.6% ) ,包括 2 条染色体间的平衡易位 36 例 ,罗氏易位 19 例 ,复杂重排 1 例。染色体倒位 25 例 (占受检者的 1.2% ) ,包括 9 号倒位 23 例 ,2 号和 10 号染色体倒位各 1 例。染色体多态性共 168 例 ,其中 Y 染色体多态 35 例 ,1、9、16、19

号染色体异染色质多态性 40 例 ,13、14、15 号染色体多态 64 例 ,21、22 号染色体多态 29 例。见表 2。

表 2 263 例染色体异常核型类型及分布

异常类型	异常核型	例数	
数目异常	47 ,XXX/46 ,XX	3	
	45 ,X/46 ,XX	5	
	45 ,X	3	
	47 ,XYY	3	
倒位	46 ,XX ,inv(9) 及 46 ,XY ,inv(9)	23	
	46 ,XY ,inv(2)	1	
	46 ,XX ,inv(10)	1	
	46 ,XX ,t(X;17)	3	
易位	46 ,XX ,t(8;18)	4	
	46 ,XX ,t(5;6)	5	
	46 ,XY ,t(4;5)	4	
	46 ,XX ,t(5;7)	4	
	46 ,XX ,t(X;8)	3	
	46 ,XY ,t(2;7)	3	
	46 ,XX ,t(6;8)	4	
	46 ,XX ,t(6;18)	3	
	46 ,XY ,t(5 ,13) (q31; q14)	1	
	46 ,XX ,t(2 ,6) (p14; q21)	2	
	复杂易位	46 ,XY ,t(3;4) t(18;19)	1
	罗氏易位	45 ,XX ,t(15;21)	3
	45 ,XY ,t(13;21)	3	
	45 ,XX ,t(14;2)	2	
	45 ,XY ,t(14;22)	2	
	45 ,XX ,t(13;14)	3	
	45 ,XY ,t(13;22)	4	
	45 ,XX ,t(21;21)	2	
染色体异态性	46 ,XY ,Yqh +	35	
	46 ,XX ,1qh + 及 46 ,XY ,1qh +	12	
	46 ,XY ,9qh + 及 46 ,XX ,9qh +	16	
	46 ,XX ,16qh + 及 46 ,XY ,16cenh +	11	
	46 ,XY ,13pstk +	7	
	46 ,XY ,13ps -	13	
	46 ,XY ,14pstk +	14	
	46 ,XY ,22ps +	14	
	46 ,XX ,15ps +	16	
	46 ,XY ,21ps +	15	
	46 ,XX ,19ph +	1	
	46 ,XY ,15ps -	14	

2.3 典型的染色体核型分析图 见图 1a ~ d。



a. 陈某夫妇 结婚 5 年内自然流产 3 次(1 次胎儿发育 3 月左右自然流产 2 次胎儿发育至 2 月左右胎停);核型分析结果: 46, XX, t( 5; 6) ( q35; p21) 10 × 100; b. 王某夫妇 结婚 2 年 ,自然流产 2 次(2 次胎儿发育至 40 d 左右流产)。核型分析结果: 45, XX, t( 13; 14) ( p11; p11) 10 × 100; c. 任某夫妇 结婚 4 年 ,自然流产 3 次(其中 2 次胎儿发育至 50 d 左右流产, 1 次胎儿发育 3 月左右胚胎停止发育)。核型分析结果: 46, XY, t( 3; 4) ( q29; q31) t( 18; 19) ( p11; p12) 10 × 100; d. 标本来自祁某夫妇 结婚 3 年内发生 1 次自然流产和 1 次人工流产( 胎儿发育超过 50 d 无胎心)。核型分析结果: 46, XY, inv( 9) ( p11; q13) 10 × 100

图 1 典型的染色体核型分析图

### 3 讨论

在自然状态下(非人为目的造成),妊娠不足 20 周发生的流产称为自然流产<sup>[3]</sup>。根据临床资料研究发现,多数自然流产发生在妊娠前 3 个月,约有二分之一的自然流产是由染色体及遗传物质的异常引起。父母双方的染色体通过精子卵子的减数分裂,到受精卵形成,将遗传物质传给下一代。因此,父母染色体的异常有可能导致减数分裂期间发生错误,出现胎儿染色体非整倍性、三体型,或者胎儿畸形等情况。胎儿染色体非整倍性是多数在妊娠小于 10 周发生流产的主要原因。自 1962 年 Schmid 报道在反复流产夫妇中发现染色体异常以来,在自然流产的病因研究中染色体核型分析应用越来越多。

本研究自然流产夫妇染色体异常检出染色体易位有 56 例,异常检出率为 2.6%。其中平衡易位 36

例,罗氏易位 19 例,复杂易位 1 例。染色体易位在多次流产的病例发生率在 0 ~ 30%<sup>[3]</sup>。平衡易位在染色体结构畸变占有很高的比重,是由两条非同源染色体均发生断裂后出现结构重排,在新生儿中发生率约 1/500 ~ 1/1000。罗伯逊易位又称罗氏易位,是发生率仅次于平衡易位的一种结构畸变,两条近端着丝粒染色体在着丝粒区断裂后,二者长臂连接成衍生染色体,而断臂部分结合后多在第二次分裂时丢失,染色体数目会减少。罗氏易位在新生儿中的发生率约为 1.23/1000<sup>[4]</sup>。平衡易位患者多因保留了原有的基因总数,对个体的遗传物质和生长发育影响不大。然而在孕育下一代时,如果在减数分裂时两条易位或者正常的染色体没有同时进入生殖细胞中,将会发生基因总数的不平衡,也就是所谓的不平衡配子。不平衡配子与正常配子结合后,形成的遗传物质平衡会被打破,从而导致畸胎或者流产。平衡易位患者会形成 18 种类型的配子,其中 1/18 是正常的,1/18 是平衡易位的,16/18 是不平衡配子。其不平衡配子有可能导致染色体某一易位节段的增多(部分三体型)或减少(部分单体性)。非同源的罗伯逊易位患者表型可以是正常的,其形成正常配子可能性为 1/6,易位携带配子可能性为 1/6,但其形成不平衡配子的可能性为 4/6,也就容易出现胎儿流产或畸形。目前试管婴儿(IVF)已经发展至第三代,试管婴儿 PGD 技术等可以对胚胎的染色体做基因诊断<sup>[5-6]</sup>。平衡易位患者极易发生流产,在遗传咨询中,我们建议通过胚胎植入前诊断(PGD)技术,IVF 辅助生育正常或易位染色体携带的下一代<sup>[7]</sup>。发生在 3 条染色体及以上的复杂易位只发现 1 例,而临床研究中复杂易位仅占自然流产的 0.1%。复杂易位的后代孕育表型正常或完全正常的后代几率比平衡易位更小,然而国外已经有报道发生在 3 条染色体复杂易位患者孕育了核型 46, XY 的正常后代<sup>[8]</sup>。

本组数据中染色体倒位的共有 25 例,9 号染色体的倒位 23 例,2 号和 10 号染色体倒位各 1 例。一条染色体上同时出现两处断裂,中间的片断扭转 180°后重接使该片段的基因的排列顺序颠倒称为倒位。颠倒片段包括着丝粒的倒位为臂间倒位,不包括着丝粒的称为臂内倒位。倒位染色体和正常染色体联会时出现倒位环,若发生交换会形成一个有两个着丝粒的染色单体和一个没有着丝粒的片断。前者往往由于断裂位置不一带来缺失导致配子死亡,后者多无法进入子细胞核中。9 号染色体异染色质区域的臂间倒位在过去的倒位报道中一直是发生率

最高的多态。部分研究针对9号倒位的自然流产病例,认为流产原因是由于减数分裂期间同样会出现倒位环而出现不平衡的染色体。然而Madonet al把9号臂间倒位归为一种正常的多态<sup>[9]</sup>。目前9号染色体的臂间倒位是否与自然流产发生有关尚存在争议。本组数据中9号倒位共有23例,二者有一定的相关性,9号染色体倒位影响生殖问题仍考虑减数分裂期间的联会出现遗传物质的缺失或增多。

染色体多态性一直以来是否作为染色体异常有很大的争议。有学者选取中国北方的人群作为研究组和对照组,认为染色体多态性和生殖问题无关<sup>[9]</sup>。另外也有一些文献报道染色体多态性在低生殖能力夫妇中扮演很重要的角色<sup>[10]</sup>。国内外的研究机构对染色体异常的标准并不一致。在本组自然流产夫妇的核型分析中,染色体多态性共168例,约占7.8%,明显高于文献报道正常人群2%~3%的比例<sup>[10]</sup>。染色体多态性主要表现为异染色质的变异,包括着丝粒、端粒、随体、次缢痕和Y染色体长臂及其大小。过去认为异染色质所含DNA多为转录不活跃的“非编码”的高度重复序列,也就没有功能,不会影响遗传物质传给下一代。但近年的研究表明异染色质可以在减数分裂期间加强着丝粒区,促进染色体全长的联会,甚至有可能导致某些基因的沉默。从本组数据看来,染色体多态性与自然流产有关联。我们更待于从分子水平对染色体多态性作进一步的研究。

在本组自然流产夫妇中,通过比较流产次数与染色体异常发生率的关系发现,流产次数增加,染色体异常发生率随之升高。因此多次自然流产患者进行染色体核型分析的必要性就越大。在本组病例中流产3次及以上患者的染色体异常占16.8%,较流产1~2次的患者染色体异常发生率显著增高( $P < 0.01$ )。本组病例中流产1次的患者染色体异常为10.5%,明显高于普通人群中染色体异常率(不足0.5%)。所以染色体核型分析对自然流产1次的患者也十分有意义。近年来因自然流产、不孕不育就诊生殖医学科患者越来越多,染色体核型分析应用更加广泛。随着生殖辅助技术的发展及应用于临

床,染色体核型分析可以与平衡易位植入前诊断等相结合,为明确有染色体异常的自然流产患者夫妇提供临床参考,预防再次流产。

#### 【参考文献】

- [1] Ananthapur V, Avvari S, Cingeetham V *et al.* A novel chromosomal translocation and heteromorphism in a female with recurrent pregnancy loss—a case study [J]. *J Assist Reprod Genet* 2012, 29 (7): 651–656.
- [2] Mojarrad M, Hassanzadeh-Nazarabadi M, Tafazoli N. Polymorphism of genes and implantation failure [J]. *Int J Mol Cell Med* 2013, 2 (1): 1–8.
- [3] Asgari A, Ghahremani S, Saeedi S *et al.* The study of chromosomal abnormalities and heteromorphism in couples with 2 or 3 recurrent abortions in Shahid Beheshti Hospital of Hamedan [J]. *Iran J Reprod Med* 2013, 11(3): 201–208.
- [4] Mahjoub M, Mehdi M, Brahem S *et al.* Chromosomal segregation in spermatozoa of five Robertsonian translocation carriers t(13;14) [J]. *J Assist Reprod Genet* 2011, 28(7): 607–613.
- [5] Chang LJ, Chen SU, Tsai YY *et al.* An update of preimplantation genetic diagnosis in gene diseases, chromosomal translocation and aneuploidy screening [J]. *Clin Exp Reprod Med* 2011, 38(3): 126–134.
- [6] Shamash J, Rienstein S, Wolf-Reznik H *et al.* Preimplantation genetic haplotyping a new application for diagnosis of translocation carrier's embryos—preliminary observations of two robertsonian translocation carrier families [J]. *J Assist Reprod Genet* 2011, 28 (1): 77–83.
- [7] Vozdova M, Oracova E, Kasikova K *et al.* Balanced chromosomal translocations in men: relationships among semen parameters, chromatin integrity, sperm meiotic segregation and aneuploidy [J]. *J Assist Reprod Genet* 2013, 30(3): 391–405.
- [8] Nonaka T, Ooki I, Enomoto T *et al.* Complex chromosomal rearrangements in couples affected by recurrent spontaneous abortion [J]. *Int J Gynaecol Obstet* 2015, 128(1): 36–39.
- [9] Dong Y, Jiang YT, Du RC *et al.* Impact of chromosomal heteromorphisms on reproductive failure and analysis of 38 heteromorphic pedigrees in Northeast China [J]. *J Assist Reprod Genet* 2013, 30 (2): 275–281.
- [10] Mierla D, Stoian V. Chromosomal polymorphisms involved in reproductive failure in the romanian population [J]. *Balkan J Med Genet* 2012, 15(2): 23–28.