

• 临床检验研究论著 •

112 例自然流产夫妇染色体核型分析*

张 春¹, 蒋 红², 何 城^{3,4}, 刘青松^{3,4}, 张国元^{3,4}, 唐 中^{3,4}, 蔡 燕^{3,4△}

(1. 南充市西充县人民医院妇产科, 四川南充 637200; 川北医学院附属医院; 2. 风湿免疫研究所;
3. 检验科, 四川南充 637000; 4. 川北医学院检验系, 四川南充 637000)

摘 要:目的 通过对自然流产夫妇进行外周血染色体核型分析, 探讨自然流产与染色体异常的关系。方法 收集川北医学院附属医院产科门诊 112 例自然流产夫妇(共 56 对)的临床资料, 抽取静脉血进行外周血淋巴细胞培养, 常规制备染色体及 G 显带, 分析染色体核型。结果 112 例标本中有 11 例为染色体异常(均为单方), 检出率 9.82%, 包括染色体平衡易位 3 例、罗伯逊易位 1 例、9 号染色体臂间倒位 4 例及染色体多态性 3 例, 分别占异常染色体的 27.27%、9.09%、36.37%、27.27%。结论 染色体异常是导致自然流产的重要原因, 临床上应对不明原因的自然流产夫妇双方皆进行染色体检查, 以明确病因, 指导优生优育。

关键词:流产; 自然; 核型分析; 染色体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.07.012

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)07-0787-02

Karyotype analysis on 112 cases of spontaneous abortion*

Zhang Chun¹, Jiang Hong², He Cheng^{3,4}, Liu Qingsong^{3,4}, Zhang Guoyuan^{3,4}, Tang Zhong^{3,4}, Cai Yan^{3,4△}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Xichong County People's Hospital of Nanchong, Nanchong, Sichuan 637200, China; 2. Rheumatology Research Institute; 3. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 4. Department of Clinical Laboratory, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To explore the correlate between spontaneous abortion and chromosome dysfunction through karyotype analysis on couples. Methods 112 cases (total 56 couples) who experienced spontaneous abortion were recruited from the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College. Clinical data were collected. Chromosomes from cultured peripheral blood lymphocytes were analyzed using Giemsa Trypsin Giemsa (GTG) banding method. Results There were 11 cases with abnormal chromosomes among the 112 cases (positive rate 9.82%), including 3 balanced translocation, 1 Robertsonian translocation, 4 pericentric inversion of chromosome 9 and 3 chromosome polymorphism. The ratio among abnormal chromosomes was 27.27%、9.09%、36.37%、27.27% respectively. Conclusion The dysfunction chromosome is an important reason which cause spontaneous abortion. In order to provide aristogenesis instruction the clinicians should provide chromosome examination for the couples who experienced unexplained spontaneous abortion.

Key words: abortion, spontaneous; karyotyping; chromosomes

自然流产是指妊娠在 28 周前自行终止, 胎儿体质量小于 1 000 g 者。有文献报道, 40%~60% 自然流产与胚胎染色体异常有关且流产发生越早胚胎染色体异常频率越高^[1]。父母的染色体异常可导致胎儿染色体异常。本文拟通过外周血染色体分析探讨夫妇双方染色体异常与自然流产的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1~9 月在川北医学院附属医院妇产科门诊就诊的自然流产夫妇共 112 例, 男女各 56 例, 均非近亲结婚, 男方做精液检查均正常。流产次数 1~4 次, 以早期流产为主。孕期无有毒有害物质接触史, 流产原因不明。

1.2 方法 染色体核型分析分别采集外周血 2 mL, 取 250 μ L 加至 5 mL 外周血淋巴细胞培养基(购自广州拜迪生物医药有限公司)进行培养, 3 d 后按染色体 G 显带步骤进行低渗、固定、制片、消化和 Giemsa 染色, 每组各计数 30 个分裂象, 分析其中 5 个, 按国际人类细胞遗传学命名体制 (ISCN-1995) 进行 G 显带核型分析。

2 结 果

核型分析结果为平衡易位 3 例(占总数率 2.68%, 占异常

率 27.27%)与多态性变异结果一样; 罗伯逊易位 1 例(占总数率 0.89%, 占异常率 9.09%); 倒位 4 例(占总数率 3.57%, 占异常率 36.37%); 正常核型 101 例(占总数率 90.18%)。染色体异常核型情况为 45, XX, der(14; 21)(q10; q10)、46, XX, inv(9)(p12; q21)、46, XX, t(2; 4)(q35; p12)、46, XY, t(3; 7)(p21; p22)、46, XY, Yqh+、46, XY, t(6; 7)(p25; q11)各 1 例; 3 例 46, XY, inv(9)(p12; q21); 2 例 46, XX, 9qh+。

3 讨 论

在早期自然流产中有 50% 左右的胚胎有染色体异常^[1]。可见染色体异常是导致自然流产的主要原因之一。除了环境因素的影响, 胚胎的染色体异常主要来自于父母^[2]。本研究自然流产夫妇染色体异常率为 9.82%, 与国内文献^[3-5]报道相符。

本研究中含 3 例非同源染色体平衡易位携带者, 该异常核型在群体中的发病率为 1/673~1/1 000^[6], 虽然没有遗传物质的缺失或重复, 就携带者本身而言其表型和智力可正常, 但减数分裂时可能形成 18 种配子, 其中只有 1/18 可能为正常, 1/18 为平衡易位携带者, 16/18 为异常配子, 当与正常配子进行

* 基金项目: 四川省教育厅资助项目(10ZB069); 四川省卫生厅资助项目(100165)。 作者简介: 张春, 女, 主治医师, 主要从事自然流产机制研究。 △ 通讯作者, E-mail: caiyandd@163.com。

受精时,胚胎仅 2/18 的可能具有正常表型,而 16/18 则可能为染色体缺失或重复而发生自然流产、死胎或畸胎;罗伯逊易位 1 例,该异常核型虽然有易位染色体短臂的缺失,但该短臂基本无编码基因,其遗传效应不明显,携带者的表型和智力也一般发育正常,如果为同源罗伯逊易位其配子皆为异常,无生育正常后代的可能,本例为非同源罗伯逊易位,理论上可形成 6 种配子,其中只有 1/6 可能为正常,1/6 为平衡易位携带者,4/6 为异常配子,收集后有 2/6 的可能生育表型正常的后代,余为染色体异常患者,多发生流产。

9 号染色体臂间倒位虽然被认为是群体中的多态现象,在人群中的发生率为 1%~3%^[7],与不良妊娠密切相关^[8]。本研究臂间倒位染色体理论上可形成 4 种配子,1/4 正常,1/4 为倒位携带,2/4 为异常染色体(部分重复或缺失),与婚后不育、月经期延长、早期流产和死产的关系密切;染色体长臂异染色质增加亦属于染色体多态现象,本流产群体中发现 3 例 9 号染色体长臂异染色质增加和 1 例 Y 染色体长臂异染色质增加,均行 C 带检测证实。目前关于 Y 染色体长臂异染色质增加与流产的关系尚存在争议。晋学飞等^[9]研究认为,Y 染色体中异染色质过度重复的 DNA 可能与有丝分裂发生错误、基因调节和细胞分化等有关,从而导致不良妊娠,应重视 Y 染色体异常。

综上,父母的染色体异常与流产密切相关,临床上应重视对自然流产患者尤其是原因不明的反复自然流产的夫妻双方进行外周血染色体检查,以明确病因,指导优生优育^[10-12]。

参考文献

[1] 孟茜,王绪云,骆秀翠,等. 早期自然流产胚胎染色体核型分析

[J]. 山东医药,2011,51(51):37-38.
[2] 张静,刘丽益. 平衡易位伴不良妊娠两例[J]. 中华医学遗传学杂志,2006,, 23(5):560.
[3] 张亚杰,许宗革,高元奇,等. 124 例反复自然流产病例临床病因分析[J]. 中国妇幼保健,2008,23(35):5029-5032.
[4] 钟小焯,崔艳萍. 复发性自然流产 150 例病因分析[J]. 当代医学,2012,18(23):86-87.
[5] 曹芳,虞斌,张晓青,等. 反复自然流产夫妇染色体核型分析[J]. 现代生物医学进展,2010,10(24):4707-4709.
[6] 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.
[7] Dana M,Stoian V. Association of pericentric inversion of chromosome 9 and infertility in romanian population[J]. Maedica (Buchar),2012,7(1):25-29.
[8] 耿茜,罗福薇,李娟,等. 167 例胎儿先天畸形与染色体异常的相关性研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2011,28(5):589-590.
[9] 晋学飞,刘楠,那万里,等. 染色体异常男性不育实验诊断分析[J]. 中国实验诊断学,2010,14(9):1470-1471.
[10] 高久春,祁聪阳,郑贤红,等. Y 染色体异常对男性生育力的影响[J]. 中国妇幼保健,2007,22(35):5011-5013.
[11] 米莹,刘春莲,徐仙. 男性因素与复发性流产关系的研究进展[J]. 宁夏医学杂志,2012,34(9):935-937.
[12] 兰旭青,张明,陈志英. 染色体核型异常所致反复流产的分析[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(6):382-384.

(收稿日期:2012-12-18)

(上接第 786 页)

3 讨 论

近年来,人们发现慢性荨麻疹中有约半数为自身免疫性荨麻疹。根据患者向皮内注射自体血清(ASST)后出现红斑-风团反应,可以提示患者体内存在功能性自身抗体。ASST 试验虽然不是自身免疫性荨麻疹的确证试验,但是当反应在 30 min 内,且红斑-风团直径比注射生理盐水处不小于 1. 5 mm 时,该试验的敏感度和特异度分别可达 71%和 81%^[2]。因此,临床常将 ASST 作为自身免疫性荨麻疹的筛选试验。本次研究显示 53 例慢性荨麻疹患者中有 33 例(62. 26%)为阳性,20 例(37. 74%)为阴性,与国际报道几率接近^[3]。

调节性 T 细胞的主要功能是在体内和体外抑制 CD4、CD8 或 B 细胞的活化、增殖和免疫效应,在抑制自身免疫性疾病发展、移植耐受、肿瘤免疫逃逸等方面发挥重要作用。IL-35 是 2007 年新发现的细胞因子,它由 Treg 特异性产生,可能是促使 Treg 细胞发挥最大免疫抑制功能的关键细胞因子^[4]。在体外,IL-35 能促进 Treg 的分化,抑制 Th17 细胞的分化。因此,IL-35 是通过调节 CD4⁺ 细胞的分化实现对自身免疫疾病的调控。

IL-23 与 IL-35 虽同属 IL-12 家族,但功能不同。IL-23 有促进 Th1 型免疫反应,激活记忆性 T 细胞,记忆性 T 细胞被激活后,分泌大量 IFN-γ、IL-17,从而调节 Th17 细胞的功能,引起机体炎症反应。IL-23 不仅是 Th17 细胞分化的促进者,也是 Th17 细胞增殖、存活和发挥免疫功效的必要因素。Th17 细胞和 Treg 细胞对免疫系统的调节作用相反,其分化过程相互抑制。许多研究显示 Th17/Treg 失衡是导致自身免疫性疾病的发病机制之一^[5]。

均明显升高,提示 Treg 细胞的分化有可能增高,CD4⁺、CD8⁺ 或 B 细胞的活化增殖可能受抑制。两组患者 IL-23 浓度明显降低,说明由 IL-23 介导 Th1 型免疫反应有可能降低,Th17 细胞免疫效应下降。从细胞免疫功能检测结果分析发现,两组患者 CD8⁺ 细胞百分比降低,提示 CD8⁺ 细胞活化增殖受抑制,间接导致 CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,B 细胞比值下降,与 IL-35、IL-23 检测结果的变化相一致。以上说明慢性荨麻疹患者机体不仅存在 Th/Th2 失衡,还极有可能存在 Th17/Treg 不平衡,导致病情反复迁延。另外,患者和对照 CD4⁺ 细胞未显示出有差异,与 IL-35 的抑制功能似乎相矛盾,还需进一步研究。

ASST 阳性组说明患者体内有自身抗体存在,但检测结果显示与 ASST 阴性组均无差别,是否样本量较小的缘故,还需继续观察。

参考文献

[1] 马一平,姚煦. 慢性荨麻疹自身免疫发病机制研究进展[J]. 中国麻风皮肤疾病杂志,2010,26(9):643-645.
[2] Sabroe RA,Grattan CE,Francis DM,et al. The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria[J]. Br J Dermatol,1999,140(3):446-452.
[3] Kaplan AP,Greaves M. Pathogenesis of chronic urticaria[J]. Clin Exp Allergy,2009.39(6):777-787.
[4] Collison LW,Workman CJ,Kuo TT,et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function[J]. Nature,2007,450(7169):566-569.
[5] 王羽伦,王春霞,刘占国,等. 17 型辅助 T 细胞的生物学特性及免疫学效应研究进展[J]. 中国药房,2011,22(9):850-853.

(收稿日期:2012-11-07)