

• 短篇论著 •

2 573 例孕妇妊娠中期羊水染色体核型分析*

蓝慧娟^{1,2}, 邵聪文^{1,2}, 熊礼宽^{1,2△}

(1. 深圳市宝安区妇幼保健院中心实验室, 广州深圳 518102; 2. 深圳市出生缺陷

医学研究重点实验室, 广州深圳 518102)

摘要:目的 探讨 2 573 例妊娠中期孕妇羊水染色体核型类型及分布情况。方法 通过无菌羊膜腔穿刺术获取羊水细胞培养后进行染色体核型分析。结果 2 573 例孕妇羊水检出异常核型 140 例, 异常检出率为 5.44%, 其中数目异常 109 例(包括嵌合体), 检出率为 4.24%, 数目异常中 21 三体综合征 50 例, 18 三体综合征 21 例; 结构异常核型 31 例, 多态核型 109 例。结论 妊娠中期羊水染色体异常核型以数目异常核型为主, 其中 21 三体综合征是发生率最高的异常核型。羊水染色体核型分析是产前诊断较好的染色体异常诊断方法, 对产前诊断具有重要意义。

关键词: 产前诊断; 染色体核型; 羊水穿刺术; 无创产前筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.05.026

中图法分类号: R715.5

文章编号: 1673-4130(2019)05-0608-04

文献标识码: B

染色体疾病是导致新生儿出生缺陷的主要病因之一。常见染色体病有 21 三体综合征、18 三体综合征、13 三体综合征等, 一般临床表现为生长和智力发育迟缓, 并伴有先天多发畸形。染色体病目前尚无良好的治疗方法, 只能通过行产前诊断确诊后终止妊娠。产前诊断筛查高风险孕妇通过产前遗传咨询后进行羊水染色体核型分析, 以确诊胎儿是否患有染色体遗传疾病。本文就 2 573 例来深圳市宝安区妇幼保健院产前诊断中心进行产前遗传咨询的孕妇进行羊水染色体检测, 并对其检测结果进行分析, 以期获得异常核型类型及其检出率情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 3 月至 2016 年 8 月在深圳市宝安区妇幼保健院产前诊断中心咨询门诊就诊, 经产前常规检查、遗传咨询符合产前诊断指征并签署知情同意书的 2 573 例孕妇为研究对象。产前诊断指征包括高龄(生产年龄 ≥ 35 岁)、无创产前筛查高风险、唐氏筛查高风险(血清学方法)、B 超异常, 如胎儿颈部透明带(NT)增厚, 鼻骨发育不良, 胎儿多发畸形等。孕妇年龄 16~45 岁, 平均年龄 29 岁, 孕周 17~24 周, 平均孕周 19 周。

1.2 方法 B 超监护下经母腹羊膜腔穿刺, 无菌抽取羊水 20 mL。采用双人双线法接种收获羊水细胞, 具体步骤为羊水 1 500 r/min 离心 10 min, 无菌操作弃上清液, 余 0.5~1.0 mL 制成细胞悬液, 分别接种于两种不同羊水培养基, 5% CO₂, 37 °C CO₂ 培养箱静置培养 7 d, 倒置显微镜下观察羊水细胞生长情况,

当羊水细胞生长旺盛可收获时换液, 次日进行常规染色体收获, 制片, G 显带。按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2013)标准进行核型分析, 选择良好中期分裂相计数 20 以上, 分析 5 个核型, 染色体核型嵌合加大计数至 100。对出现染色体多态核型进行 C 显带, 染色体嵌合体孕妇建议进一步抽取孕妇脐血染色体检测, 染色体结构异常孕妇建议进行染色体微阵列分析技术检测, 按 Agilent 微阵列比较基因组杂交(aCGH)芯片平台要求进行试验操作, 或者其他方法检测胎儿是否存在微缺失和微重复, 并抽取胎儿父母外周血进行核型分析以确定异常结构染色体来源。对所有行羊水染色体核型检测的孕妇进行妊娠追踪随访。

2 结果

2.1 数目异常染色体核型分析结果 2 573 例妊娠中期孕妇羊水染色体核型分析结果检出异常染色体 140 例, 异常核型检出率为 5.44%(140/2 573); 其中染色体数目异常 109 例(包括嵌合体), 检出率为 4.24%(109/2 573)。109 例染色体数目异常中 21 三体综合征 50 例, 检出率为 1.94%(50/2 573), 其中标准型(47,XN,+21)45 例, 嵌合体 5 例; 18 三体综合征 21 例, 检出率为 0.82%(21/2 573); 13 三体综合征 5 例, 检出率为 0.19%(5/2 573); 其他染色体数目异常 2 例; 性染色体数目异常 31 例(包括嵌合体), 检出率为 1.20%(31/2 573)。见表 1。

2.2 结构异常染色体核型分析结果 2 573 例妊娠中期孕妇羊水染色体核型分析结果检出结构异常染

* 基金项目: 广东省科技计划资助项目(2013B022000010); 深圳市宝安区科技计划项目(2013064)。

△ 通信作者, E-mail: xionglk@sina.cn。

本文引用格式: 蓝慧娟, 邵聪文, 熊礼宽. 2 573 例孕妇妊娠中期羊水染色体核型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5): 608-611.

色体 31 例,检出率为 1.20%(31/2 573),其中易位型核型 15 例,检出率为 0.58%(15/2 573);倒位 9 例,检出率为 0.35%(9/2 573);衍生 5 例,检出率为 0.19%(5/2 573);缺失 2 例,检出率为 0.08%(2/2 573),其中 5 例衍生结构异常中 46,XN,der(14;21)(q10;q10),+21(2 例)和 46,XN,+21,der(21;21)(q10;q10)(1 例)为易位型 21 三体综合征。见表 2。31 例结构异常核型父母外周血核型分析结果显示,5 例衍生核型和 2 例缺失染色体核型中均有 1 例为新发突变,其他结构异常均遗传自父母。芯片检测结果显示,5 例衍生核型和 2 例缺失染色体核型出现大片段的基因缺失或重复,15 例易位和 9 例倒位核型芯片结果正常。随访 15 例易位和 9 例倒位核型共有 3 例失联,其他继续妊娠,均足月产,出生后随访无异

常情况。5 例衍生核型和 2 例缺失染色体核型综合 B 超等其他检测结果选择终止妊娠。

表 1 109 例产前诊断羊水染色体数目异常核型			
核型	n	核型	n
47,XN,+21	45	45,X/47,XXX	1
47,XN,+18	20	45,X/46,XX(XY)	5
47,XN,+13	4	45,X/46,X,i(X)(q10)	1
47,XN,+16	1	45,X/47,XXX/46,XX	1
45,X	9	47,XN,+21/46,XN	4
47,XXY	9	45,X/47,XX,+21	1
47,XXY/46,XY	2	47,XN,+13/46,XN	1
47,XXX/46,XX	2	47,XN,+18/48,XN,+2,+18	1
47,XX,i(X)(q10)/46,XX	1	47,XN,+3/46,XN	1

注:表格中的 N 代表 X 或 Y

表 2 31 例产前诊断羊水染色体结构异常核型

类型	核型	n	aCGH 结果 (拷贝数)	类型	核型	n	aCGH 结果 (拷贝数)
易位	46,XN,t(3;9)(q21;p13)	1	正常	倒位	46,XN,inv(4)(p15.2q12)	1	正常
	46,XN,t(6;10)(p25;q21)	1	正常		46,XN,inv(4)(p15.2p16)	1	正常
	46,XN,t(4;15)(q25;q15)	1	正常		46,XN,inv(13)(q12q32)	1	正常
	46,XN,t(4;14)(q11;p11)	1	正常		46,X,inv(Y)	6	正常
	46,XN,t(3;14)(p13;q11.2)	1	正常	衍生	46,XN,der(6)t(6;10)(p25;q21)	1	arr(10q21)x3
	46,XN,t(3;10)(p11;p13)	1	正常		46,XN,der(4)t(3;4)(q26.2q34)	1	arr(3q26.2)x3
	46,XN,t(13;18)(q34;q21)	1	正常		46,XN,der(14;21)(q10;q10),+21	2	arr(21)x3
	46,XN,t(12;20)(q22;p11)	1	正常		46,XN,+21,der(21;21)(q10;q10)	1	arr(21)x3
	46,XN,t(11;22)(q25;q13)	1	正常	缺失	46,XN,del(4)(q26q27)	1	arr(4q26q27)x1
	46,XN,t(1;16)(q44;q12)	1	正常		46,XN,del(13)(q13q14)	1	arr(13q13q14)x1
	46,XN,t(1;12)(p34.3;q13.1)	1	正常				
	45,XN,der(14;22)(q10;q10)	3	正常				
	45,XN,der(13;14)(q10;q10)	1	正常				

注:表格中的 N 代表 X 或 Y

表 3 109 例产前诊断羊水染色体多态核型		
类型	核型	n
倒位	46,XN,inv(9)	21
	46,XN,1qh+	57
次缢痕增长	46,XN,16qh+	12
	46,XN,9qh+	9
	46,XN,15ps+	5
	46,XN,14Ps+	2
随体增加	46,XN,13ps+	1
	46,XN,22pstk+	1
随体柄增长	46,XN,22pss	1

注:表格中的 N 代表 X 或 Y

2.3 多态染色体核型分析结果 2 573 例妊娠中期孕妇羊水染色体核型分析结果检出 109 例,检出率为 4.24%(31/2 573)。主要核型类型为 46,XN,1qh+ 57 例,检出率为 2.22%(57/2 573);46,XN,inv(9)21 例,检出率为 0.82%(21/2 573);46,XN,16qh+ 12 例,检出率为 0.47%(12/2 573);46,XN,9qh+ 9 例,检出率为 0.35%(9/2 573)。见表 3。109 例多态核型中 95 例进行父母外周血核型分析,分析结果显示

90 例来源亲代遗传,5 例为新发多态核型,综合其他产前诊断结果建议孕妇继续妊娠随访无异常;5 例拒绝行外周血染色体检测继续妊娠分娩随访无异常;9 例继续妊娠后失联。

3 讨 论

中国是出生缺陷高发国家,出生缺陷对患儿家庭及社会都造成了极大的精神压力和经济压力。染色体异常可造成胎儿多种先天性发育畸形或胚胎停育,出生的染色体异常患儿存在明显的智力低下、生长发育迟缓、畸形等异常表现,目前尚无有效治疗方法。对孕妇进行产前诊断可降低出生缺陷发生率,预防染色体异常胎儿出生。

本文通过羊膜腔穿刺术抽取符合产前诊断指针,且孕周 17~24 周的 2 573 例孕妇羊水 20 mL,进行羊水细胞培养和 G 显带核型分析,检出 140 例异常羊水染色体核型,检出率为 5.44%;其中染色体数目异常 109 例(包括嵌合体),检出率为 4.24%。数目异常中 21 三体综合征 50 例(包括嵌合体),检出率为 1.94%(50/2 573);18 三体综合征 21 例(包括嵌合体),检出

率为 0.82%(21/2 573);13 三体综合征 5 例(包括嵌合体),检出率为 0.19%(5/2 573);其他染色体数目异常 2 例;性染色体数目异常 31 例(包括嵌合体),检出率为 1.20%(31/2 573)。在染色体数目异常中 21 三体综合征的检出率最高,21 三体综合征即唐氏综合征(Down's syndrome)是最常见的染色体异常疾病,主要表现为先天性智力低下,特殊面容,生长发育障碍,部分伴有其他严重多发畸形,21 三体综合征在不同国家不同患者之间存在不同的临床表型^[1]。其发病主要机制是由于生殖细胞在减数分裂时不分离所致,孕妇年龄越大,发生率越高。随着社会飞速发展,人们的生活环境也发生了很大变化,郝小燕^[2]在分析沧州地区 100 例 21 三体综合征的病因时,认为母亲生育年龄不是 21 三体综合征患儿出生的主要因素,环境因素与 21 三体综合征的发生有密切关系。目前,无创产前检测作为一种安全、快速的产前筛查手段已经广泛应用于临床,罗丽双等^[3]分析 5 756 例孕妇外周血胎儿游离 DNA 无创产前筛查结果发现,21 三体综合征阳性预测值为 86.00%。本文检出 50 例数目异常 21 三体综合征和 3 例结构异常的易位型 21 三体综合征,其中标准型(47,XN,+21)45 例,占总 21 三体综合征的 84.91%(45/53);嵌合体 5 例占总 21 三体综合征的 9.43%(5/53);易位型 3 例,占总 21 三体综合征的 5.66%(3/53),其核型分布频率与张闻等^[4]报道的一致。性染色体数目异常包括嵌合体一共检出 31 例,其中 9 例 Turner 综合征,9 例克氏综合征,45,X/46,XX(XY)5 例,47,XXY/46,XY 2 例,47,XXX/46,XX 2 例,其他类型嵌合体 4 例。

羊水染色体检测主要采用 G 显带核型分析法,无法排除染色体微小结构异常,aCGH 技术可检测染色体微小缺失^[5-6],如 Pallister-Killian 综合征^[7-8]、Di-George 综合征^[9]等,弥补染色体核型分析的不足。31 例结构异常核型检出易位核型 15 例,检出率为 0.58%(15/2 573);倒位核型 9 例,检出率为 0.35%(9/2 573);衍生染色体核型 5 例,检出率为 0.19%(5/2 573);缺失核型 2 例,检出率为 0.08%(2/2 573)。31 例结构异常核型进行父母外周血核型分析及 aCGH 检测。结果显示,羊水中 15 例易位核型和倒位核型均来自胎儿父母,无微缺失和微重复,且父母表型正常但有不同程度的反复流产或不良孕产史,孕妇选择继续妊娠,随访中 1 例羊水易位核型和 2 例 Y 倒位核型孕妇失联,其他均足月产,随访无其他异常情况。根据父母外周血染色体核型检测结果及 aCGH 检测结果表明,5 例衍生染色体核型和 2 例缺失染色体核型中有 5 例异常染色体来源父母,2 例异常染色体核型为新发突变,均存在大片段的染色体缺失或重复。在非平衡染色体结构异常核型病例孕妇中常存在超声异常^[10],本研究中 7 例非平衡染色体结构异常孕妇 5 例超声存在异常,如 46,XN,der(6)t(6;10)(p25;q21)核型孕

妇超声显示胎儿存在多发畸形。46,XN,der(4)t(3;4)(q26.2;q34)核型孕妇超声显示,胎儿Ⅲ度唇腭裂。aCGH 结果显示,在 3q26.2;q29 处存在拷贝数重复,大小为 31.0 Mb,在 4q34.2;q35.2 处存在拷贝数缺失,大小为 14.3 Mb,该区域包含多个 OMIM 疾病致病基因,4q 缺失综合征的缺失片段 4q35.1;q35.2 在此区域,4q 缺失综合征的发生率为 1/100 000~1/50 000,临床表型有唇腭裂、先天性心脏病、智力障碍、孤独症谱系和发育迟缓等^[11-12]与本例胎儿超声显示Ⅲ度唇腭裂的临床表型相符。结合超声等其他产前检查结果,7 例非平衡染色体结构异常孕妇选择终止妊娠。孟卓等^[13]研究发现,使用 aCGH 技术进行分析比传统染色体核型技术能提高胎儿唇腭裂异常检出率。除 aCGH 检测技术外,目前应用于产前诊断的还有单核苷酸多态性微阵列(SNP-array)技术^[14]、细菌人工染色体微珠(BoBs)技术^[15]等可检测染色体非平衡结构异常,弥补了染色体核型技术在非平衡结构异常检测中的不足,为临床提供更精准的遗传咨询信息。

109 例染色体多态核型,检出率为 4.24%,以 1qh+多态核型最多,其次为 inv(9)。109 例多态核型中 95 例进行了父母外周血核型分析,分析结果显示,90 例多态均来源于亲代遗传,5 例为新发多态核型,综合其他产前诊断结果建议孕妇继续妊娠随访无异常,5 例拒绝行外周血染色体检测继续妊娠分娩随访无异常,9 例继续妊娠后失联。龙洋等^[16]分析羊水多态核型的构成比及妊娠结局,认为来自父母遗传性的染色体多态性变异可参照其父辈的身体智力发育情况予以判断其妊娠结局,而新发生的胎儿多态性变异其影响的具体机制及对应妊娠结局还有待进一步研究。因此,在对多态核型进行遗传咨询时应检查多态核型来源,结合超声等其他检查结果必要时进行染色体微阵列分析等检测,综合分析后对孕妇进行遗传咨询。

综上所述,羊水染色体异常核型数目异常发生率最高,其中 21 三体综合征的发生率最高,以标准型 21 三体综合征为主。对于染色体结构异常孕妇,建议首先明确异常染色体来源再进一步行分子遗传检测,综合所有检测结果对孕妇进行全面遗传咨询。羊水染色体核型分析是孕中、晚期产前诊断常用方法。随着细胞遗传和分子遗传技术水平的不断进步,aCGH 技术在产前诊断中特别是非平衡结构异常的产前诊断中发挥重要作用。根据羊水染色体核型结果结合 aCGH 检测结果能更好地发现染色体异常胎儿,及时终止妊娠,有效避免染色体异常患儿的出生,提高我国人口素质。

参考文献

[1] KRUSZKA P, PORRAS A R, SOBERING A K, et al.

- Down syndrome in diverse populations[J]. Am J Med Genet A, 2017, 173(1): 43-53.
- [2] 郝小燕. 沧州地区 100 例唐氏综合征的病因分析[J]. 热带医学杂志, 2015, 15(2): 254-256.
- [3] 罗丽双, 孟繁杰, 张宁, 等. 5 756 例孕妇外周血胎儿游离 DNA 无创产前筛查结果分析[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 53(2): 111-114.
- [4] 张闻, 钱霞, 梅瑾, 等. 95 例 21-三体综合征产前诊断结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(10): 65-66.
- [5] GUANCIALI-FRANCHI P, CELENTANO C, ALFONSI M, et al. An 11. 4-Mb interstitial deletion in a fetus with no apparent phenotypic alterations [J]. Mol Syndromol, 2017, 8(1): 42-44.
- [6] 吴东, 李涛, 侯巧芳, 等. 1 例 1p36 微缺失综合征的产前诊断及遗传学分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(1): 74-78.
- [7] LEE M N, LEE J, YU H J, et al. Using array-based comparative genomic hybridization to diagnose pallister-killian syndrome[J]. Ann Lab Med, 2017, 37(1): 66-70.
- [8] 张文玲, 郭志超, 汪伟伟, 等. 单核苷酸多态性微阵列和荧光原位杂交技术在 Pallister-Killian 综合征的产前诊断中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(2): 232-235.
- [9] BAHAMAT A A, ASSIDIA M, LARY S A, et al. Use of array comparative genomic hybridization for the diagnosis of digeorge syndrome in saudi arabian population[J]. Cytogenet Genome Res, 2018, 2(1): 1-10.
- [10] 徐玲玲, 毛倩倩, 施丹华, 等. 101 例胎儿染色体结构异常的核型和临床指征分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(3): 459-462.
- [11] VONA B, NANDA I, NEUNER C, et al. Terminal chromosome 4q deletion syndrome in an infant with hearing impairment and moderate syndromic features: review of literature[J]. BMC Medical Genetics, 2014, 15: 72.
- [12] MANOLAKOS E, KEFALAS K, VETRO A, et al. Prenatal diagnosis of two de novo 4q35-qter deletions characterized by array-CGH[J]. Mol Cytogenet, 2013, 6(1): 6-47.
- [13] 孟卓, 熊礼宽, 林小影, 等. 染色体微阵列分析在胎儿唇腭裂畸形中的临床应用[J]. 海南医学, 2018, 29(3): 336-338.
- [14] 余宏盛, 郭红, 沈双双, 等. 染色体核型分析联合 SNP-array 技术在不良妊娠史孕妇产前诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(3): 155-159.
- [15] 余宏盛, 郭红, 沈双双, 等. 1 980 例高龄孕妇产前行 BoBs 技术检测的临床分析[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(2): 111-114.
- [16] 龙洋, 徐聚春, 胡斌, 等. 羊水染色体多态性与妊娠结局的关系分析[J]. 实用妇产科杂志, 2016, 32(8): 615-617.
- (收稿日期: 2018-09-26 修回日期: 2018-12-10)
- 短篇论著 •

乙型肝炎病毒逆转录酶区多位点预存耐药变异研究*

余 兰, 黄丽雯, 龚 亮, 杨 菁, 彭云娟[△]

(福建医科大学附属宁德市医院检验科, 福建宁德 352100)

摘要:目的 研究宁德地区乙型肝炎病毒(HBV)预存耐药变异情况及相关影响因素, 为临床制订个体化抗病毒治疗方案提供理论依据。方法 采用基因芯片法, 对未经核苷(酸)类似物治疗的慢性乙型肝炎患者及慢性 HBV 携带者进行多位点耐药突变检测, 分析预存耐药变异与年龄、性别、谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、HBV-DNA 载量之间的关系。结果 401 例患者共检出预存耐药变异 79 例, 检出率为 19. 70%。突变位点主要集中在 rtN236T、rtM204I、rtL180M。突变模式以 rtN236T、rtN236T+rtM204I+rtM204V、rtN236T+rtM204 为主。相关药物前 3 位为阿德福韦(15. 96%)、拉米夫定(7. 48%)、恩曲他滨(7. 48%)。年龄<20 岁及>60 岁, 肝酶>10 ULN, 病毒载量>10⁷ IU/mL, HBeAg 阳性的患者, 其预存耐药变异检出率较高。结论 宁德地区慢性乙型肝炎患者及慢性 HBV 携带者的预存耐药变异率较高, 以 rtN236T 突变最为常见, 相关药物阿德福韦应慎用。替诺福韦、恩替卡韦的预存耐药变异检出率低, 抗病毒治疗时可首选。抗病毒治疗前进行多位点耐药突变检测, 对指导个体化用药具有重要的临床意义。

关键词:乙型肝炎病毒; 核苷(酸)类似物; 逆转录酶区; 预存耐药变异

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 05. 027

中图法分类号:R446

文章编号:1673-4130(2019)05-0611-05

文献标识码:B

核苷(酸)类似物(NAs)是临床最常用的抗乙型肝炎病毒(HBV)药物, 通过靶向抑制 HBV 逆转录酶

* 基金项目:福建省卫生厅青年科研课题(2012-2-129)。

[△] 通信作者, E-mail: baoshanjiankang@163. com。

本文引用格式:余兰, 黄丽雯, 龚亮, 等. 乙型肝炎病毒逆转录酶区多位点预存耐药变异研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5): 611-615.