

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.17.021

孕早期稽留流产绒毛细胞遗传学分析

孙诗雨^{1,2}, 陈小丽¹, 王晓娅¹, 刘彩玉¹, 蓝信强¹

1. 青岛大学附属威海市立第二医院/山东省威海市妇幼保健院医学遗传科, 山东威海 264200;

2. 广东省东莞市宜安科技股份有限公司, 广东东莞 523662

摘 要:目的 探讨绒毛细胞染色体核型对孕早期稽留流产的作用。方法 选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月于该院行清宫术和绒毛染色体检查的 166 例孕早期稽留流产孕妇为研究对象, 采用培养法制备绒毛细胞染色体标本并进行染色体核型分析, 分析孕早期稽留流产孕妇的年龄、胎儿性别、孕产史与染色体核型异常的关系。**结果** 166 例孕妇的稽留流产绒毛标本中, 培养成功 159 例, 其中绒毛染色体核型正常 54 例, 核型异常 105 例, 染色体数目异常 98 例, 染色体结构异常 7 例。核型异常主要有 16-三体 18 例、22-三体 12 例和三倍体 16 例。染色体核型异常主要集中在 35~39 岁的孕妇中。**结论** 孕早期稽留流产绒毛染色体核型异常较为常见, 且主要为染色体数目异常, 且染色体畸变与孕妇年龄有关。通过对绒毛染色体核型分析可为孕妇的再次妊娠提供诊疗依据。

关键词:稽留流产; 绒毛; 染色体异常; 核型; 年龄

中图分类号:R715.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)17-2385-04

Cytogenetic analysis of villus in missed abortion in first trimester

SUN Shiyu^{1,2}, CHEN Xiaoli¹, WANG Xiaoya¹, LIU Caiyu¹, LAN Xinqiang¹

1. Department of Medical Genetics, Weihai Second Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University/

Weihai Maternal and Child Health Hospital, Weihai, Shandong 264200, China; 2. Dongguan Yi'an

Technology Co., Ltd., Dongguan, Guangdong 523662, China

Abstract:**Objective** To investigate the effect of villous cell karyotype on missed abortion in the first trimester. **Methods** From January 2020 to June 2021, 166 pregnant women who underwent uterine evacuation and villous chromosome examination for missed abortion in the first trimester of the hospital were selected as the research objects. Chromosome specimens of villus were prepared by culture method and karyotype analysis was carried out. The relationship between age, fetal gender, maternal history and abnormal karyotype of pregnant women with missed abortion in the first trimester was analyzed. **Results** Among 166 pregnant women's villus specimens from missed abortion, 159 were successfully cultured, including 54 cases with normal karyotype, 105 cases with karyotype abnormal, 98 cases with abnormal chromosome number and 7 cases with abnormal chromosome structure. The karyotype abnormal mainly included 18 cases of trisomy 16, 12 cases of trisomy 22 and 16 cases of triploidy. Chromosomal karyotype abnormal were mainly concentrated in pregnant women aged 35 to 39 years. **Conclusion** Chromosomal karyotype abnormalities in villus are common in early missed abortions, and are mainly abnormal in the number of chromosomes. Chromosomal aberrations are related to maternal age. The analysis of the villus karyotype can provide the basis for diagnosis and treatment of pregnant women's re-pregnancy.

Key words: missed abortion; villus; chromosomal abnormalities; karyotype; age

孕早期流产是妇产科常见的一种疾病, 也是女性在孕早期容易出现的并发症之一。孕早期流产包括了自然流产和稽留流产两大类, 其中稽留流产是指胚胎已死亡但滞留在宫腔内未及时排出的一种流产疾病, 也是孕早期流产中一种较特殊的流产类型^[1]。医学研究表明, 造成孕早期流产的原因包括遗传因素, 细菌和病毒引起的宫内感染, 内分泌异常, 免疫因素等^[2]。其中遗传因素被认为是最常见的诱发孕妇孕早

期流产的因素, 其致病机制主要包括染色体数目异常和染色体结构异常^[3-4]。因此, 本研究拟对本院孕早期稽留流产绒毛染色体检测结果作回顾性分析, 为临床上研究遗传因素对孕早期稽留流产的影响提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 6 月于本院行清宫术和绒毛染色体检查的 166 例孕早期稽留流产孕妇为研究对象, 年龄 22~47 岁, 平均年龄

31.09 岁;B 超提示孕妇胚胎停止发育。本研究经本院医学伦理委员会批准,孕妇均已知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本和绒毛培养 采用 B 超定位经宫颈绒毛吸取法获得其绒毛标本,将生理盐水中的绒毛组织去除血凝块和其他非绒毛组织,采用灭菌的眼科剪将绒毛剪碎,加入 0.25% 的胰酶消化。加入 1 mL 培养基终止消化,以 1 500 r/min 离心 10 min,去除上清液。加入培养基混匀后置于 37 ℃,含 5% CO₂ 的培养箱中培养。

1.2.2 绒毛细胞培养和染色体制备 细胞培养 5~7 d 后,于倒置显微镜下观察细胞状态并进行换液。待细胞生长状态适中时加入秋水仙素,阻断细胞周期于中期,继续培养 4 h 后收集细胞,并制备染色体玻片。利用 G 显带法对玻片进行显带,使用 Leica 染色体分析系统拍照保存。计数至少 20 个分裂象,分析 5 个细胞核型。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件对数据进行处理和分析。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 绒毛细胞培养结果 在 166 例孕妇的流产绒毛中,细胞培养成功 159 例,占总例数的 95.78%。细胞培养失败 7 例,其中 5 例细胞培养存在污染,2 例细胞无法培养贴壁。

2.2 绒毛染色体核型分析结果 在 159 例成功进行绒毛染色体核型分析的孕妇中,核型正常有 54 例,核型异常有 105 例,其中包括染色体数目异常 98 例,占异常核型的 93.33%。染色体数目异常中,单体 45,X 核型异常有 6 例、三体核型异常有 63 例。三体核型异常中 16-三体有 18 例、22-三体有 12 例、7-三体有 6 例、15-三体有 5 例、21-三体有 4 例、2-三体有 3 例;复合三体有 3 例,包括 48,XX,+5,+9、48,XX,+7,+8、48,XY,+20,+21;三倍体有 16 例,其中 69,XXX 有 4 例、69,XXY 有 8 例、69,XYY 有 1 例、70,XXXY 有 1 例、70,XXY,+21 有 1 例、71,XXXX,-11 有 1 例;四倍体有 5 例,其中 92,XXXX 有 3 例、92,XXYY 有 1 例、90,XXYY,-13,-13 有 1 例;嵌合体有 3 例,分别是 45,X/46,XX、46,XX/46,XY 和 47,XX,+16/94,XXXX,+16,+16。此外,染色体结构异常有 7 例。见表 1。

2.3 绒毛染色体异常核型与孕妇年龄的关系 结果发现 30~34 岁的孕妇异常核型占比为 71.11%;35~39 岁的孕妇异常核型占比为 70.94%;40~47 岁的孕妇异常核型占比为 63.64%;22~24 岁的孕妇异常核型占比最低,为 50.00%。30~47 岁的孕妇异常核型占比为 70.11%,与正常核型占比比较(29.89%),差异有统计学意义($P<0.05$);22~29 岁的孕妇异常核

型占比为 61.11%,与正常核型占比比较(38.89%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.4 绒毛染色体核型与流产胚胎性别的关系 159 例成功进行绒毛染色体核型分析的孕妇中,男胎 75 例,其中异常核型胚胎 52 例,异常核型占比为 69.33%;女胎 84 例,其中异常核型胚胎 53 例,异常核型占比为 63.10%。见表 3。

表 1 绒毛染色体核型分析结果

异常核型类型	<i>n</i>	占比(%)
45,X	6	5.71
45,XX(XY),-21	1	0.95
46,X,+22	1	0.95
45,X/46,XX	1	0.95
46,XX/46,XY	1	0.95
47,XX(XY),+2	3	2.86
47,XX(XY),+3	2	1.90
47,XX(XY),+4	2	1.90
47,XX(XY),+6	2	1.90
47,XX(XY),+7	6	5.71
47,XX(XY),+8	2	1.90
47,XX(XY),+9	2	1.90
47,XX(XY),+10	2	1.90
47,XX(XY),+12	1	0.95
47,XX(XY),+14	1	0.95
47,XX(XY),+15	5	4.76
47,XX(XY),+16	18	17.14
47,XX(XY),+17	1	0.95
47,XX(XY),+21	4	3.81
47,XX(XY),+22	12	11.43
48,XX,+5,+9	1	0.95
48,XX,+7,+8	1	0.95
48,XY,+20,+21	1	0.95
69,XXX/XXY/XYY	13	12.38
70,XXXY	1	0.95
70,XXY,+21	1	0.95
71,XXXX,-11	1	0.95
90,XXYY,-13,-13	1	0.95
92,XXXX(XXYY)	4	3.81
47,XX,+16/94,XXXX,+16,+16	1	0.95
46,XX,inv(9)(p12q13)	1	0.95
46,XX,? der(2)	1	0.95
46,XX,? der(8)	1	0.95
46,XX,? der(15)	1	0.95
46,XX,der(8)(p11.2)	1	0.95
46,XX,der(14;18)t(q32.1;q12.2)	1	0.95
46,XY,der(18)t(18;18)(p11.2;p11.2)/46,XY,del(18)(p11.2)	1	0.95

2.5 不同孕产史孕妇绒毛染色体状况 159 例成功进行绒毛染色体核型分析的孕妇中,生育过健康孩子的孕妇 24 例,其中绒毛染色体异常核型 10 例,绒毛染色体正常核型 14 例;未生育过健康孩子的孕妇 135 例,其中绒毛染色体异常核型 95 例,绒毛染色体正常核型 40 例。见表 4。

表 2 绒毛染色体核型与孕妇年龄的关系					
孕妇年龄 (岁)	<i>n</i>	正常核型 (<i>n</i>)	正常核型占比 (%)	异常核型 (<i>n</i>)	异常核型占比 (%)
22~24	8	4	50.00	4	50.00
25~29	64	24	37.50	40	62.50
30~34	45	13	28.89	32	71.11
35~39	31	9	29.03	22	70.97
40~47	11	4	36.36	7	63.64

表 3 绒毛染色体核型与流产胚胎性别的关系					
项目	<i>n</i>	正常核型 (<i>n</i>)	正常核型占比 (%)	异常核型 (<i>n</i>)	异常核型占比 (%)
男胎	75	23	30.67	52	69.33
女胎	84	31	36.90	53	63.10

表 4 不同孕产史孕妇绒毛染色体状况					
项目	<i>n</i>	异常核型 (<i>n</i>)	正常核型 (<i>n</i>)	异常核型占比 (%)	
生育过健康孩子	24	10	14	41.67	
未生育过健康孩子	135	95	40	70.37	

3 讨 论

研究表明女性在妊娠期间发生流产的概率约为 15%,流产不仅会给孕妇带来身体损伤,还会给孕妇及其家属造成精神上的伤害^[5]。在所有导致孕妇出现稽留流产的原因中,胚胎染色体异常是最主要的原因^[5-6]。因此,对胚胎染色体异常情况进行分析和研究,对帮助有流产史的育龄期女性成功妊娠具有重要意义。本研究对 166 例稽留流产孕妇采用 B 超定位经宫颈绒毛吸取法获得其绒毛标本,进行流产绒毛染色体检查,采用绒毛细胞培养法进行绒毛染色体培养和制备,其中培养成功 159 例,培养成功率为 95.78%。

本研究培养成功的 159 例绒毛细胞标本中,染色体异常占 66.04%,其中染色体数目异常占异常核型的 93.33%。本研究表明染色体数目异常是导致孕早期稽留流产的主要原因。然而,染色体数目异常形成的主要原因是由于配子形成时或受精卵卵裂时出现染色体不分离,从而导致染色体的单体、三体、复合三体、三倍体及四倍体的产生^[7-11]。关于非整倍体异常的产生机制,主要是由染色体的减数分裂时期,染色

体不分离或染色体缺失导致^[12]。本研究发现 16-三体、69,XXX/XXY/XYY、22-三体、7-三体、45,X、15-三体、21-三体占主要异常核型,其中 16-三体和 22-三体是孕早期稽留流产常见的三体核型。已有研究报道,16-三体是稽留流产绒毛细胞中常见的染色体核型^[13],然而关于 16 号染色体高度致死的原因是否与其着丝粒的位置相关需要进一步研究证实^[14]。对于多倍体染色体核型形成的原因,主要是由于双雌受精和双雄受精^[15]。然而,绒毛分析结果为多倍体核型的胎儿父母,进行外周血染色体检查结果大多正常^[15]。

本研究发现不同年龄段孕妇绒毛染色体结果存在明显差异。30~47 岁的孕妇,其绒毛染色体核型异常的发生率明显高于 22~29 岁的孕妇。其中 30~34 岁的孕妇异常核型占比为 71.11%,35~39 岁的孕妇异常核型占比为 70.97%,40~47 岁的孕妇异常核型占比为 63.64%,然而,22~24 岁的孕妇异常核型占比仅为 50.00%。同时,30~47 岁的孕妇异常核型占比(70.11%)与正常核型占比(29.89%)比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果说明胚胎染色体异常的占比随着女性年龄增长而逐渐增加。这是因为随着女性生育年龄的逐渐增长,生殖系统会逐渐老化,卵巢周围的微环境改变,以及卵母细胞凋亡速度增加,导致卵细胞发生异常,从而导致形成非整倍体的卵细胞概率增加^[16-18]。因此,建议高龄孕妇进行羊水细胞产前诊断检测,对降低新生儿的出生缺陷比例具有重要的意义。

关于孕妇稽留流产的研究,除了与绒毛细胞染色体异常和孕妇年龄有关外,是否与胎儿性别存在关系需要进行深入探讨。本研究发现,159 例成功进行绒毛染色体核型分析的孕妇中,女胎 84 例,占稽留流产胎儿的 52.83%,其中女胎正常核型占比为 36.90%,高于男胎正常核型的占比(30.67%)。然而在异常核型中,男胎占比为 69.33%,较高于女胎的 63.10%。此外,绒毛细胞三倍体核型的研究发现,69,XXY 是三倍体的主要核型。因此,关于胎儿性别与稽留流产的倾向性,以及与绒毛细胞核型的相关性尚无明确结论,还需要长期的研究证实^[9,19]。

本研究中,按照孕妇孕产史,将孕妇分成生育过健康孩子的孕妇和未生育过健康孩子的孕妇,结果发现已生育过健康孩子的孕妇,其绒毛染色体正常核型占比为 58.33%。然而,未生育过健康孩子的孕妇(包括有复发性流产、死胎及怀畸形胎儿等异常孕产史),绒毛染色体异常核型占比为 70.37%。该结果进一步表明,对于多年未避孕或有不良孕产史等原因而未生育过健康孩子的部分孕妇,其流产原因可能与胎儿染色体核型异常相关。

综上所述,绒毛染色体核型异常是导致孕早期稽留流产的主要原因,且染色体异常核型主要为染色体数目异常,其中常染色体三体核型最为常见。此外,

染色体畸变与孕妇年龄等有关,因此,高龄孕妇孕期行羊水穿刺产前诊断检查尤为重要^[20]。通过对孕早期稽留流产绒毛染色体的核型进行分析,可为孕妇再次妊娠,以及为育龄期女性的优生优育提供重要的理论依据。

参考文献

[1] 陈小丽,蓝信强. 532 例稽留流产绒毛的细胞遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2020,37(11):80-82.

[2] 王婕,王福玲. 不同年龄组孕妇稽留流产绒毛染色体分析[J]. 现代妇产科进展,2019,28(12):931-932.

[3] FU M, MU S, WEN C, et al. Whole-exome sequencing analysis of products of conception identifies novel mutations associated with missed abortion[J]. Mol Med Rep, 2018,18(2):2027-2032.

[4] 张玉萍,杨欣艳,孙盛梅,等. 佳木斯三江地区孕早期胚胎停育 196 例染色体核型分析[J]. 黑龙江医药科学,2015,38(4):123-125.

[5] 张建林,张俊荣,杨益梅,等. 226 例早期自然流产绒毛组织的细胞遗传学分析[J]. 中国妇幼保健,2018,33(17):3958-3960.

[6] 秦娟,梁灼健,廖秋燕,等. 228 例流产绒毛组织细胞染色体核型分析[J]. 当代医学,2020,26(1):60-62.

[7] KIM J W, LEE W S, YOON T K, et al. Chromosomal abnormalities in spontaneous abortion after assisted reproductive treatment[J]. BMC Med Genet, 2010,11(1):153-162.

[8] 任小胖,薛会灵,刘梅云,等. 118 例胚胎停育患者绒毛染色体结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(11):48-49.

[9] 蔡美英,李英,吴小青,等. 福州地区 630 例自然流产绒毛细胞培养及核型分析[J]. 中国妇幼保健,2016,31(2):323-324.

[10] NORTON M E, BRAR H, WEISS J, et al. Non-invasive chromosomal evaluation (nice) study: results of a multi-

center prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18[J]. Am J Obstet Gynecol, 2012, 207(2):137e1-e8.

[11] WANG Y, CHENG Q, MENG L, et al. Clinical application of SNP array analysis in first-trimester pregnancy loss: a prospective study[J]. Clin Genet, 2017, 91(6):849-858.

[12] 薛燕,刘莹,慕庆玲,等. 早期胚胎停育与绒毛染色体异常的相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(11):33-35.

[13] YUSUF R Z, NAEEM R. Cytogenetic abnormalities in products of conception: a relationship revisited[J]. Am J Reprod Immunol, 2004, 52(1):88-96.

[14] 雷彩霞,张月萍,伍俊萍,等. 1 437 例早孕期自然流产胚胎核型分析[J]. 生殖与避孕,2014,34(4):328-332.

[15] 徐雪琴,李焕铮,林小玲,等. 温州地区 110 例早孕胚胎停育绒毛染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2012,20(12):54-55.

[16] 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.

[17] WOODS L, PEREZGARCIA V, KIECKBUSCH J, et al. Decidualisation and placentation defects are a major cause of age-related reproductive decline[J]. Nat Commun, 2017,8(1):352.

[18] LAN W, HU D, LI Z, et al. Bilateral uterine artery chemoembolization combined with dilation and curettage for treatment of cesarean scar pregnancy: a method for preserving the uterus[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2013, 39(6):1153-1158.

[19] 王珺,陈书强,高玲霞. 1 317 例早期流产患者绒毛染色体检测结果分析[J]. 生殖医学杂志,2019,28(1):7-11.

[20] 鞠彩宁,蓝信强. 威海地区 4 512 例羊水细胞染色体核型分析[J]. 医学检验与临床,2020,31(4):65-67.

(收稿日期:2021-11-25 修回日期:2022-05-08)

(上接第 2384 页)

参考文献

[1] 张鹏飞. 雷替曲噻腹腔灌注化疗治疗胃肠癌晚期顽固性腹水的临床观察[J]. 中国冶金工业医学杂志,2020,37(1):76.

[2] 曹善成,张金玲,崔莹,等. 胃肠癌恶性腹腔积液行闭合式腹腔热灌注联合卡培他滨和奥沙利铂化疗的疗效观察[J]. 中国肿瘤临床与康复,2019,26(1):34-37.

[3] 冯高飞,陈若,易舒婧,等. 升清降浊汤联合重组人血管内皮抑制素腹腔灌注治疗恶性腹腔积液的效果[J]. 广东医学,2019,40(3):419-422.

[4] 王娴,熊盾,何兴瑞. 重组人血管内皮抑制素联合顺铂治疗晚期胃癌合并恶性腹腔积液的疗效及安全性分析[J]. 临床和实验医学杂志,2018,17(6):605-607.

[5] 潘宏铭,耿宝琴. 肿瘤化疗的毒副反应和防治[M]. 上海:

上海科学技术出版社,2001.

[6] 曲波,秦晓凤. 重组人血管内皮抑素联合卡培他滨及奥沙利铂化疗治疗胃肠癌合并恶性腹腔积液的疗效[J]. 中国肿瘤临床与康复,2018,25(4):443-445.

[7] 秦叔逵,孙国平,白玉贤,等. 腔内应用重组人血管内皮抑制素和/或顺铂治疗恶性胸腔积液的前瞻性,随机对照,全国多中心Ⅲ期临床研究[J]. 临床肿瘤学杂志,2017,22(3):193-202.

[8] 阎雷. 顺铂腹腔灌注联合黄芪多糖治疗胃癌合并恶性腹腔积液的临床疗效[J]. 实用心脑血管病杂志,2018,26(1):242-244.

[9] 李超,王建国,彭冰,等. 重组人血管内皮抑制素注射液联合洛铂对恶性胸腔积液患者生活质量及免疫功能的影响[J]. 现代生物医学进展,2018,18(13):2535-2539.

(收稿日期:2021-12-20 修回日期:2022-06-08)