

# 产前诊断中羊水染色体嵌合体的回顾性分析

禚洁甜 伍启康\*

(广东省佛山市第一人民医院 检验科, 广东 佛山 528000)

**【摘要】 目的** 通过对产前诊断中胎儿羊水细胞染色体嵌合体的结果回顾性分析,为临床羊水细胞嵌合体病例的产前咨询和处理提供一个更好的临床指引。**方法** 收集 2006~2016 年有产前诊断指征病例 3422 例,在本院产前诊断中心行羊水穿刺术,进行胎儿羊水细胞培养及染色体核型分析,核型分析结果为嵌合体的孕妇建议行胎儿脐带血穿刺验证,并对妊娠结局进行随访。**结果** 嵌合体发生率为 0.29%。性染色体异常的嵌合体 8 例(80.0%),数目异常的嵌合体 2 例(20.0%)。同意行胎儿脐带血或胎儿组织验证的有 8 例,验证结果为真性嵌合体 5 例,相符率为 62.5%。**结论** 产前诊断中胎儿羊水细胞染色体嵌合体的病例必须进行胎儿脐带血染色体分析验证,确保结果的准确性。

**【关键词】** 羊水;脐血;假性嵌合体;真性嵌合体;产前诊断

**【中图分类号】** R714.53 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** To retrospective analysis the incidence of amniocyte mosaics in prenatal diagnosis, in order to give some better guidelines of prenatal consultation and management. **Method** From 2006 to 2016 with indications of prenatal diagnosis in 3422 cases in the prenatal diagnosis center in our hospital underwent amniocentesis, analysis of fetal amniotic fluid cell culture and chromosome analysis, mosaics patients suggested fetalcord puncture test chromosome analysis, and follow up the pregnancy outcome of the all cases. **Results** The incidence rate of mosaics is 0.29%. There are 8 cases of sex chromosome abnormality(80%), 2 cases of the numerical of abnormality (20%). There are 8 cases by the help of chromosomal analysis fetal blood or fetal tissue, to identified 5 cases of the true mosaics, the coincidence rate is 62.5%. **Conclusions** Amniocytomosaics cases must for fetal blood chromosome analysis, in order to distinguish the true or pseudo mosaics.

**【Key words】** amniocentesis; umbilical cord blood collection; pseudo mosaics; true mosaics; prenatal diagnosis

羊水中胎儿脱落细胞培养及染色体核型分析检查胎儿染色体,依然是目前最常用的产前诊断方法之一,但检测中出现染色体嵌合体的真实性仍然对临床遗传咨询造成极大的困扰。我们收集、整理了 2006~2016 年共 3422 例胎儿羊水产前诊断病例中嵌合体的结果分析数据,希望能给临床提供更好的指引。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 2006~2016 年有产前诊断指征,在本院产前诊断中心行羊水穿刺术,进行胎儿羊水

细胞培养及染色体核型分析,共 3422 例,年龄 22~49 岁,平均(33.2±2.33)岁,孕周 17~25 周,平均(22±0.78)周。

### 1.2 检测方法

1.2.1 患者在知情同意并签署知情同意书后,在超声引导下,进行羊膜腔穿刺抽取羊水 20ml(最初抽取的 1~2ml 羊水弃去),分别注入 2 支一次性的无菌离心管,1500rpm 离心 8 分钟,弃上清,余下的细胞悬液分别接种于 2 个装有 5ml 的完全培养基的培养瓶中,其中一线为美国生产的 Gibco 完全培养基,另一线为以色列生产的 AMIL2 完全培养基,置于 37 培、5.5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中静置培养 6 天,观察细胞生长情况做出相应的换液、传代、继续培养观察等

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2017.04.006

\* 通讯作者:伍启康, E-mail:1911584239@qq.com

相应处理,当羊水细胞贴壁生长旺盛,倒置显微镜下见多个细胞克隆时,可收获细胞。每例羊水样品从接种、培养、收获、制片(常规G显带,必要时加做C带或N带)均分别由两名技术人员分别单独处理,按照ISCN1995标准,油镜下分析计数30个细胞,分析5个以上核型,发现嵌合体时加大计数和分析100个核型(视可分析的核型数量而定)。

1.2.2 患者在知情同意并签署知情同意书后,在超声引导下,经腹部抽取脐血1~2ml(以血红蛋白电泳方法鉴别是否污染母亲血),注入无菌肝素钠抗凝管,分别接种在2瓶外周血淋巴细胞完全培养液,置于37℃培养68~72小时后收获,制片过程同羊水。

1.3 嵌合体诊断标准 发现2种或2种以上的核型,参照Hsu等<sup>[1,2]</sup>的培养瓶法嵌合现象鉴别方案来进一步分析:在2个或2个以上原位培养物中都至少出现2种或2种以上的异常染色体核型,不同的核型都出现在2个或2个以上的细胞集落,而且

异常核型都是相同的,可以诊断为“真性嵌合体”。

## 2 结果

2.1 羊水细胞染色体核型及脐血或胎儿组织的染色体核型 3422例产前诊断的羊水标本中,共发现嵌合体10例(0.29%),其中,性染色体嵌合体8例(80.0%),数目异常染色体嵌合体2例(20.0%)。同意验证的8例样本中有5例与羊水中核型一致,仍然为嵌合体,其中性染色体嵌合体4例(占80.0%)及数目异常染色体嵌合体1例(20.0%),相符率62.5%。见表1。

2.2 妊娠结局 10例羊水细胞疑似嵌合体的孕妇中,7例同意抽取脐静脉血和1例胎死宫内同意进行胎儿组织培养验证胎儿染色体,2例拒绝验证。验证结果中有5例与羊水中核型一致,选择终止妊娠;验证结果为染色体核型正常的3例选择继续妊娠,出生后随访,未见异常;2例拒绝验证,孕妇失访。

表1 产前诊断中发现的10例疑似嵌合体的核型及妊娠结局

病例	羊水染色体核型	脐血/胎儿组织的染色体核型验证结果	妊娠结局
1	mos45,X[35]/46,X,+mar[37]	mos45,X[41]/46,X,+mar[39]	胎死宫内
2	mos46,XX[48]/47,XX,+mar[12]	mos46,XX[71]/47,XX,+mar[19]	终止妊娠
3	mos45,X[28]/46,X,i(X)(q10)[32]	mos45,X[50]/46,X,i(X)(q10)[50]	终止妊娠
4	mos45,X[48]/46,XX[12]	mos45,X[78]/46,XX[22]	胎儿畸形(先心,颈部水囊瘤),终止妊娠
5	mos45,X[6]/46,XY[54]	mos45,X[5]/46,XY[95]	终止妊娠
6	mos45,X[8]/46,XY[92]	46,XY	分娩正常男婴,随访至今,未见异常
7	mos45,X[6]/46,XX[52]	46,XX	分娩正常女婴,随访至今,未见异常
8	mos46,XY[57]/47,XY,+21[6]	46,XY	分娩正常男婴,随访至今,未见异常
9	mos45,X[5]/46,XY[68]	拒绝验证	失访
10	mos45,X[51]/46,XY[9]	拒绝验证	失访

## 3 讨论

胎儿羊水细胞培养染色体核型分析是目前产前诊断中应用最多、创伤最小、风险较低的一种产前诊断技术,但在实际工作中,常会遇到胎儿染色体核型为嵌合体的情况。本文的资料显示,产前诊断中胎儿羊水细胞培养染色体核型分析时出现的嵌合体的比例为0.29%,与国内外的文献报道相似<sup>[2,3]</sup>。10例嵌合体病例中8例同意行脐血或胎儿组织培养进行验证,其中有5例验证结果与羊水结果一致,相符率62.5%,验证相符的病例中,4例为性染色体嵌合体,1例为数目异常嵌合体,无一例结构异常的嵌合

体发生,这与文献报道出生人群外周血染色体嵌合体的类型及羊水细胞培养出现的嵌合体类型相似<sup>[4,5]</sup>。3例脐带血验证结果为正常染色体核型的病例,出生随访均为外观正常的婴儿,与脐血验证结果相符;病例6脐血验证为正常女性核型的婴儿,在后期多普勒超声下的监测以及出生后的临床表型均正常,考虑到临床上45,X/46,XX嵌合体的女婴没有特殊的临床表型特征,特别是嵌合45,X核型占的比例少,但随着年龄的增长,生长发育期的到来,各种表型特征才会有所表现,所以还不能排除嵌合体的可能,有待长期的跟踪随访来验证羊水、脐血结果的准确性;就羊水细胞中发现有嵌合体,而脐血验

证为正常的染色体核型这种现象,也有学者认为羊水细胞源于胎儿体表、泌尿道、呼吸道、消化道等脱落细胞,属于外胚层、中胚层、内胚层,而脐带血来源于循环系统,属于中胚层,两种不同来源的标本代表的是不同胚层细胞的真实的染色体核型,当遇到羊水细胞培养为嵌合体而脐血验证为正常的染色体核型时也应多普勒超声下密切观察胎儿,并在出生后加强随访<sup>[2,5,6]</sup>。

在羊水产前诊断过程中,经常会出现嵌合体的病例,为了有效鉴别假性嵌合体,我们严格执行双人双线培养的方法,并参照 Hsu 提出的嵌合体诊断标准,有效地鉴别了不少培养过程中产生了畸变并继续生长繁殖成细胞克隆的假性嵌合体,但从验证结果发现高质量的羊水细胞培养及收获制片也是鉴别羊水染色体嵌合体的前提和关键。3 例脐血验证为正常染色体核型的病例在核型分析过程中其中一线有典型的嵌合体出现,嵌合体的数量伴随计数的核型数量增多而随之增多,另一线的核型因分散过度,引起染色体的丢失或散落在其它的核型上,干扰核型的计数分析结果及鉴别真假嵌合体。病例 8 在核型分析过程中,其中一线分析计数 33 个核型有 5 个 47,XY,+21 的核型,而且镜下的核型都非常完整,另外一线计数 30 个核型只有一个疑似 47,XY,+21 的核型,因为核型中的一条 21 号染色体在核型的边上,看似其他核型散落过来,鉴于其中一线嵌合有 21 号染色体三体,谨慎起见,也计数在内,也就是说只在一线的培养物上有典型的嵌合体,它的产生可能是羊水中脱落的胎儿细胞在体外培养过程中产生了畸变并继续生长繁殖成细胞克隆,但它的这种偶发性的培养过程的畸变通常只出现在其中的一线的培养物中,而另一线的培养物不会发生畸变或相同类型的染色体畸变,但因收获制片时核型过度分散导致参照嵌合体诊断标准也难以鉴别这类型的假

性嵌合体。在羊水收获制片过程中,把控低渗时间、固定液的比例和量、混匀的力度、滴片的力度和距离、室内温湿度等几个因素,能减少分裂相的破裂或核型分散过度,使鉴别真假嵌合体更准确简单。

综上所述,结合产前诊断的实际工作,在阅片过程中应用诊断标准鉴别为真性嵌合体的病例必须进行胎儿脐带血染色体分析进行验证,能确保结果准确性;同时为了减少假性嵌合体的出现:①高质量的羊水细胞收获技术是鉴别羊水染色体嵌合体的前提和关键,核型的分散度影响染色体的数目分析,导致鉴别标准也难以鉴别数目异常的嵌合体的真假。②建立双线羊水细胞培养或原位培养,有效地鉴别对羊水细胞培养过程中因个别细胞畸变并继续生长繁殖成细胞克隆而产生的假性嵌合体,避免给孕妇及其家人带来不必要的心理压力及二次的创伤。

#### 参 考 文 献

- [1] 高淑英,司艳梅,薛虹,等. 关于产前诊断绒毛细胞和羊水细胞中嵌合现象[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15:11-52.
- [2] Hsu LY,Perlis TE. United States survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis [J]. Prenat Diagn,1984,4:97-130.
- [3] 陈铁峰,毛倩倩,邹波,等. 1848 例妊娠中期羊水细胞染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2011,19:32-37.
- [4] 谢志威,张晶,李卫凯,等. 江门地区 3782 例遗传咨询者外周血染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2013,7:58-60.
- [5] Hsu LY, Yu MT, Richkind KE, et al. Incidence and significance of chromosome mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis: a collaborative study[J]. Prenat Diagn,1996,16:1-28.
- [6] 张璘,任梅宏,宋桂宁,等. 产前诊断中有关染色体嵌合体的诊断、处理及临床分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2015,10:54-57.

(收稿日期:2017-10-23)

编辑:宋文颖