

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.01.024

◆ 论著 ◆

南充地区 1 988 例外周血染色体核型统计和异常核型临床表型分析

宋琪玲^{1,2,3,4}, 田静², 何城^{1,3}, 张婷^{1,3}, 蔡燕^{1,2,3,4}, 王东生^{1,2,3,4}, 青鑫^{1,3}, 刘青松^{1,2,3,4}

(1. 川北医学院附属医院产前诊断中心; 2. 川北医学院医学检验系; 3. 川北医学院附属医院检验科; 4. 川北医学院转化研究中心, 四川南充 637000)

【摘要】目的: 本文旨在通过分析南充地区外周血染色体检测结果, 结合随访异常核型患者临床表型, 进一步指导临床对染色体病的认识, 推广外周血染色体检测的临床应用, 并提示染色体病需要结合临床表型加以分析。**方法:** 收集近年在川北医学院附属医院进行外周血染色体核型分析的 1 988 例患者作为研究对象, 统计外周血染色体核型分析结果, 回访核型异常受检者临床症状。**结果:** 异常核型检出率为 8.25% (164/1 988, 染色体多态性不在此范围), 高于染色体病在一般人群中的发病率 (0.5%)。在 164 例异常核型中, 包括 109 例染色体数目异常 (58 例 21-三体占 35.37%, 49 例性染色体数目异常占 29.90%, 2 例标记染色体占 1.22%), 55 例染色体结构异常 (32 例平衡易位占 19.51%, 9 例性反转占 5.49%, 5 例罗伯逊易位占 3.05%, 4 例倒位占 2.44%, 3 例重复占 1.83%, 1 例缺失占 0.60%, 1 例不平衡易位 0.60%)。回访 70 例异常核型受检者, 相同疾病患者临床表现不一, 并可表现出多种临床症状。**结论:** 不孕不育, 不良孕产史, 儿童智力低下, 生长发育异常, 性发育异常等症的染色体异常率高, 进行外周血染色体核型检查对优生优育具有重要的意义。外周血染色体是临床诊断染色体病的重要依据, 应用价值高。

【关键词】 外周血; 核型分析; 异常核型; 临床表型**【中图分类号】** R714.5 **【文献标志码】** A

Karyotype analysis of peripheral blood of 1988 cases and Genotype phenotype correlation analysis of chromosomal abnormalities

SONG Qi-ling^{1,2,3,4}, TIAN Jing², HE Cheng^{1,3}, ZHANG Ting^{1,3}, CAI Yan^{1,2,3,4}, WANG Dong-sheng^{1,2,3,4}, QING Xin^{1,3}, LIU Qing-song^{1,2,3,4}

(1. Department of Prenatal Diagnosis, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; 2. Department of Medical Laboratory, North Sichuan Medical College; 3. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; 4. Department of Transformation Research Center, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: The purpose of this paper is to further guide the clinical understanding of chromosomal diseases, promote the clinical application of chromosomal detection in peripheral blood, and suggest that chromosomal diseases need to be analyzed in combination with clinical phenotypes. **Methods:** A total of 1988 cases of peripheral blood karyotype analysis were collected as study subjects from the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, the results of karyotype analysis of peripheral blood were analyzed, and the clinical symptoms of patients with abnormal karyotype were followed up. **Results:** The detection rate of abnormal karyotype was 8.25% (164 / 1988, excluding chromosome polymorphism), which was higher than that of chromosomal disease in general population (0.5%). Among them, 109 case were numerical abnormalities of chromosomes (58 cases were 21-trisomy syndrome, 49 cases were sex chromosome numerical abnormalities, 2 cases were marker chromosome). And 55 case were chromosomal structural abnormality (32 case was balanced translocation, 9 case was sex reversal syndrome, 5 case was robertsonian translocation, 4 cases of inversion, and 3 cases of duplication, 1 cases of deletion, 1 case was unbalanced translocation). In 70 cases of abnormal karyotype patients, the clinical manifestations of patients with the same disease were different and could show a variety of clinical symptoms. **Conclusion:** The chromosomal abnormality rate of infertility, history of poor pregnancy and childbirth, children's mental retardation, growth and development abnormality, sexual development abnormality and other symptoms is high. It is of great significance to carry out the karyotype examination of peripheral blood for eugenics and eugenics. Peripheral blood chromosome is an important basis for clinical diagnosis of chromosomal diseases, with high application value.

【Key words】 Peripheral blood; Karyotyping; Chromosomal abnormalities; Phenotype

基金项目: 川北医学院科研发展计划项目 (CBY17-A-YB28)

作者简介: 宋琪玲 (1989 -), 女, 硕士, 检验技师。E-mail: qiling2017@126.com

通讯作者: 刘青松, 博士。E-mail: 35590551@qq.com

染色体病是染色体数目和结构异常所引起的疾病,是导致出生缺陷的重要原因之一,目前医学对该类疾病尚无根治办法^[1]。染色体病患者多表现为生长发育迟缓、智力低下、多发畸形、免疫力低下等,给社会和家庭带来沉重负担。因此,对染色体病的早诊断、早预防尤为重要。同一类型的染色体病的临床表型千差万别,且与染色体核型存在内在联系。如嵌合体情况下,异常核型所占比例越高,临床表型越严重^[2]。

外周血染色体核型分析是临床诊断染色体病的重要手段。结合临床表型,推广外周血染色体检查,更有利于染色体病的早发现,避免过度医疗,同时有利于产前诊断和生殖医学工作的开展。

1 资料与方法

1.1 一般资料

以 2016 年 1 月至 2019 年 5 月笔者所在医院进行遗传咨询并且接受外周血核型分析的患者 1 988 例为研究对象,其中男性 850 名,女性 1 138 名。就诊原因包括:身材矮小、智力低下、不孕、不育、不良孕产史等。

1.2 方法

1.2.1 外周血标本淋巴细胞培养 严格按无菌操作流程抽取静脉血 3 mL,注入 5 mL 无菌肝素抗凝管内,轻轻颠倒混匀,在超净工作台环境下将大约 1 mL 的全血标本融入到含有外周血核型分析培养基的培养瓶内(培养基由广州白云山科技发展有限公司提供),培养瓶接种之后放于 37 °C,持续培养 72 h。

1.2.2 染色体 G 显带 培养终止前 3 h 在培养瓶中加入浓度为 20 μg/mL 的秋水仙素溶液 50 μL,细胞悬液接着被移到 15 mL 容量离心管中,1 800 rpm 离心 10 min 后去除上清液再加入 8 mL 浓度为 0.075 mol/L 的 KCl 低渗液,充分均匀,之后再放在温度为 37 °C 的水浴箱中,时间 30 min,离心管取出即刻加入新鲜配制的固定液进行预固定处理,固定液按冰醋酸和甲醇以 1:3 的比例配成,预固定剂量为 2.0 mL,轻轻吹打混匀,1 800 rpm 离心 10 min,去除上清液后加入新鲜配制的固定液,同上,剂量为 8 mL,轻柔充分吹打混匀之后,1 800 rpm 离心 10 min,弃去上清液,再重复固定 1 次,最后步骤以少量固定液对细胞进行重悬。滴管吸取少许细胞悬液,将其均匀地滴在清洁消毒后的湿润冰载玻片上,同样操作制片 2~3 张,编号后均放于鼓风干燥箱以内,持续 60 °C 干燥过夜处理,取出载玻片自然冷却至室温,接着将其放入 0.05% 浓度剂量约 50 mL 的

胰蛋白酶溶液中,消化留置约 40 s,立即在生理盐水中漂洗两次,再经吉姆萨染液处理,时间控制在 5~8 min,随后在室温环境下放置干片之后进行分析。

1.2.3 外周血染色体核型分析 在油镜下常规进行外周血染色体核型分析,每位患者计数 30 个中期分裂相核型,至少分析 5 个核型;若为高疑嵌合体病例,计数分析中期分裂象扩大到 100 个,以确定结果比例。按《国际人类染色体命名体制(ISCN,2016)》进行核型描述及诊断。

2 结果

2.1 染色体异常类型发生情况

在 164 例异常核型中,数目异常总共 109 例,性反转 9 例,结构异常 46 例,如表 1 所示。21-三体占异常比例最高,达 35.37%,其次是克氏综合征占异常核型比例 17.07%。典型染色体数目和结构异常核型见图 1 和图 2。

表 1 164 例外周血染色体异常核型

异常核型分类	主要核型	例数	占异常核型比例(%)
数目异常			
21-三体	47,XY,+21	58	35.37
Turner 综合征	46,X,i(X)(q10)	16	9.76
XXX 综合征	47,XXX;mos 46,XX[m]/47,XXX[n]	5	3.05
Klinefelter 征	47,XXY	28	17.07
标记染色体	mos 45,X[m]/47,XX,+mar[n]	2	1.22
性反转	46,XY(女);46,XX(男)	9	5.49
结构异常			
罗伯逊易位	45,XN,der(13;14)(q10;q10)	5	3.05
倒位	46,X,inv(Y)	4	2.44
平衡易位	46,XN,t(9;22)(p13;p11)	32	19.51
不平衡易位	46,XN,der(9)t(9;22)(q13;q11),-22	1	0.61
重复	46,XN,add(15)(p12)	3	1.83
缺失	mos46,XN,del(2)(q33)[m]/46,XN[n]	1	0.61

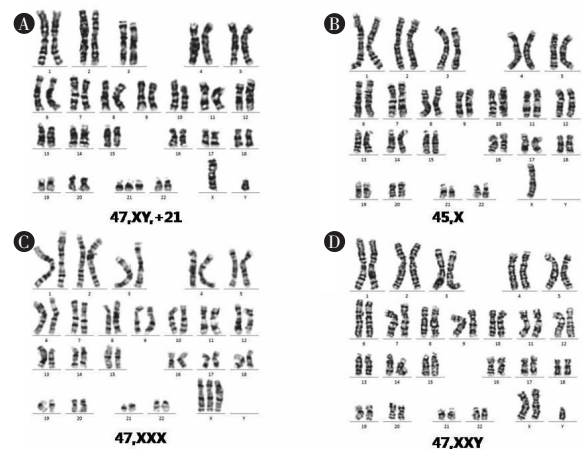


图 1 四种染色体数目异常核型图

展示了具有代表性的四种常见染色体数目异常,A-D 依次是 21-三体标准型核型(47,XY,+21)、Turner 综合征(45,X)和 XXX 综合征(47,XXX)以及 Klinefelter 征(47,XXY)最常见核型。

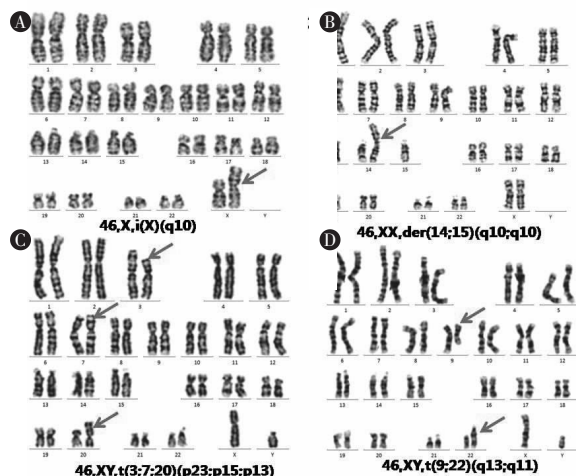


图 2 四种染色体结构异常核型

展示了具有代表性的四种常见染色体结构异常,A-D 依次是 X 长臂等臂染色体 46,X,i(X)(q10)、14 和 15 号染色体罗伯逊易位 46,XX,der(14;15)(q10;q10)、复杂易位 46,XY,t(3;7;20)(p23;p15;p13)及相互易位 46,XY,t(9;22)(q13;q11)。

2.2 不同染色体异常核型的临床表型分析

接受回访的核型异常患者总计 70 例,分析了他们的临床表型。见表 2。在回访到的 16 例 21-三体均表现有特殊面容,其余症状包括智力低下、身材矮小、免疫力低下、嗜睡、喂养困难只有部分患者表现。因此当临床上遇到有特殊面容的患者,应高度怀疑本病,结合外周血染色体核型分析加以确诊。7 例 Turner 综合征患者也分别表现为无月经、身材矮小、子宫发育不良或无子宫,应注意与其他疾病相鉴别。13 例 Klinefelter 综合征患者中有 9 例表现为无精症,其余症状包括睾丸小、阴茎小、睾酮低只有部分患者有所表现。因此当精液常规检测发现患者为无精症时,要考虑可能为克氏综合征,需要结合外周血染色体核型分析加以确诊。回访到 3 例女性性反转,都表现出了无月经、子宫发育不良或无子宫、第二性征不明显、促性激素,游离睾酮高。在本次研究的其他异常核型中,包括了平衡易位、标记染色体、不平衡易位、倒位,临床表现多样,排在前三位的依次为无症状、流产、子女核型异常。因此也需要对此类染色体患者加以诊断,必要时进行产前诊断避免染色体缺陷患儿的出生。

表 2 回访 75 例外周血染色体异常核型临床表现分析

异常核型分类	例数	百分比(%)
21-三体 (n=16)		
特殊面容	16	100
身材矮小	9	56
智力低下	7	44
免疫力低下	6	38
嗜睡	5	31
喂养困难	4	25
先天性心脏病	3	19
Turner 综合征 (n=7)		
无月经	4	57

续表 2

子宫发育不良或无子宫	4	57
身材矮小	2	29
克氏综合征 (n=13)		
无精症	9	69
游离睾酮低	6	46
身高 ≥ 180 cm	4	31
睾丸小, 阴茎小	2	15
性反转 (女) (n=3)		
无月经	3	100
子宫发育不良或无子宫	3	100
第二性征不明显	3	100
促性激素, 游离睾酮高	3	100
隐睾	1	33
其他 (n=31)		
无	9	29
本人或配偶流产	8	26
子女异常	8	26
智力低下	3	10
无生育能力	2	6
无精症	1	3

3 讨论

细胞染色体核型分析是目前学术界公认的诊断染色体疾病“金标准”。外周血染色体核型分析是常用的染色体分析技术,具有简便、实用的特点。尤其在染色体数目异常和明显结构异常上具有明确的诊断价值。

在本次研究中,21-三体核型占异常核型比例最高,达 35.37%,在 1 988 例外周血核型分析患者中占 2.92%,远高于群体发病率 1.23%^[3]。一方面,可能是由于目前遗传学检测技术没有在各地区基层医院普及以及临床医生和检验人员缺乏扎实的遗传学知识,因此导致了一定的漏诊率。另一方面,随着二孩政策的开放,高龄产妇的增加,而高龄导致卵巢功能下降,并且受经济文化水平的影响,部分高龄产妇没有接受产前诊断,而导致了 21-三体患儿的漏诊。因此,在人群中宣传出生缺陷卫生保健知识、培养遗传学医师、以及在基层医院开展遗传学检测项目能有效降低 21-三体患儿的出生。在本次回访中的 16 例 21-三体综合征患者均表现为特殊面容,当医生遇到此类病人应该往染色体病方向考虑,常规进行外周血染色体核型分析,尽早得到正确的诊断。

Klinefelter 综合征 (Klinefelter syndrome, KFS), 占异常比例为 17.07%,在受检男性患者中占 3.39%,高于在男性新生儿中的发病率 1/1 000。外周血核型分析是确诊的首选手段。结合患者身材高大、性发育不良、不孕和男性乳房发育的临床表现,重点关注性发育相关体征,如无精症以及身高,对疑诊患者进行性激素水平、生长激素和甲状腺激素水平等检测,排除其他内分泌疾病。另可结合 B 超等影像学检查了解患者性腺发育情况。对患者解释检测结果,并做好遗传咨询,早期接受治疗和心理疏导^[4]。

本次研究中,Turner 综合征,占异常比例为 9.75%,在受检女性中占 1.41%,高于女性新生儿发病率 1/5 000。大部分患者月经异常,主要为原发闭经,研究回访与此一致^[5]。回访中 57% 患者卵巢、子宫发育不良或没有子宫,因此大部分患者没有生育能力。由于 Turner 综合征患者缺少一条 X 染色体,导致女性性腺不能正常发育。但是 Turner 综合征患者缺失一条 X 染色体与正常女性 X 染色体存在失活是不一样的,因为在正常女性中约 15% X 连锁基因会逃离失活^[6]。在本研究的统计数据中,Turner 综合征核型多样,以 45,X 和以 45,X 为主的嵌合体,共有 9 种,大都是新发,目前仅能对症治疗,因此生育过 Turner 综合征患者的双亲再次生育时,需给予产前检查并进行产前诊断。

性反转综合征是一类性别发育异常的遗传性疾病,其主要特征表现为性腺、性别与染色体性别不相符合^[7]。本文共检出 9 例性反转,占异常核型 0.54%,占所有受检者 0.045%。本文回访 3 例 46,XY 的患者均为女性体态,乳房发育良好,身材较高,原发闭经来就诊。

标记染色体是指不能被常规染色体显带方法辨认或明确识别的、发生结构畸变的染色体,产前诊断的检出率约为 0.077%,在新生儿的检出率约为 0.043%。此类染色体异常临床表型效应变异较大,可无任何临床症状,也可表现为严重智力低下、多发畸形和生长受限等,临床表现主要取决于其来源和染色体成分^[8]。传统细胞遗传学方法由于技术本身的局限性,无法辨别某些标记染色体和衍生染色体的来源和成分,通过采用分子细胞遗传学技术(如 FISH 和 SKY),利用荧光标记的探针进行分子杂交或基因芯片,可以高特异性、高敏感性地检测标记染色体的片段来源和成分,从而提供更精确的染色体畸变信息^[9-10]。

由于平衡易位携带者,临床无表型。直到有不良孕产史接受遗传学检查时才发现。据统计约 10% 的已婚夫妇患有不育症,染色体数目或结构异常是导致男性或女性原发不孕的主要原因。不同类型的染色体易位,妊娠结局不同。不同染色体易位各种配子形成的概率不同^[11]。

本文重点讨论了常见的染色体数目异常包括 21-三体综合征、Turner 综合征、Klinefelter 综合征、性反转综合征和两种染色体结构异常,包括平衡易位和标记染色体。本次统计结果发现我院染色体异常检出率远高于群体发生率,说明应重视外周血染色体核型分析,提高染色体病的检出率;某些染色体核型异常受检者临床表现不典型,出具报告时应结合患者其他信息,并与受检者做好交流沟通;受检者通过外周血染色体核型分析可检出染色体数目异常

和大片段结构异常,对于微小的染色体结构异常可以结合其他相关检查确诊;未对核型正常的检测者进行回访是本次调查的不足,仅仅依赖染色体检查不足以解决临床与遗传相关问题,还需结合影像学、分子遗传学等诊断技术加以诊断^[12-13]。本次回访病人所获得的临床表型均为病人口述,客观性较欠缺,在后续的研究中,将重点关注患者临床表型客观数据,包括影像学检查,体格检查,激素检测等。同时也将做好正常表型的受检者的回访工作,使研究更具科学性和说服力。

综上所述,不孕不育,不良孕产史,儿童智力低下,生长发育异常,性发育异常等症状的染色体异常率较高,进行外周血染色体核型检查对优生优育具有重要的意义。外周血染色体核型分析检查可以发现患者核型异常,而且可细化到数目异常或结构异常分型,并且平衡易位患者目前用分子检测技术难以检出,因此外周血染色体是临床诊断染色体病的重要依据,应用价值高^[14]。

参考文献

- [1] 郭玲迁,张学. 医学遗传学[M]. 北京:人民卫生出版社,2016.
- [2] Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, *et al.* The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans[J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(4): 571-581.
- [3] Penrose LS. The relative effects of paternal and maternal age in mongolism[J]. *J Genet* 1933, 2009, 88(1): 9-14.
- [4] Groth KA, Skakkebaek A, Gravholt CH, *et al.* Clinical review: Klinefelter syndrome—a clinical update[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(1): 20-30.
- [5] 罗小金,胡亮,李高驰,等. 不良孕产史夫妇异常及染色体多态性核型的临床表现和细胞遗传学分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2015, 23(6): 42-44.
- [6] Bijlsma EK, Collins A, Papa FT, *et al.* Xq28 duplications including MECP2 in five females; Expanding the phenotype to severe mental retardation[J]. *Eur J Med Genet*, 2012, 55(6-7): 404-413.
- [7] 叶圣龙,张爱青,魏瑗,等. 1 例 46,XX,男性性反转综合征新生儿病例报告及文献回顾[J]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2018, 10(2): 36-39.
- [8] Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. International system for human cytogenetic nomenclature [M]. Basel: S Karger AG Inc, 2009.
- [9] 宋花蕾,陈宝江,方群,等. 七例产前诊断的标记染色体及复杂染色体畸变的光谱核型分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2012, 29(4): 393-397.
- [10] 曾艳,范佳鸣,许平. 两例微小额外标记染色体的产前诊断[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2016, 33(4): 498-500.
- [11] 张磷,任梅宏,张晓红. 染色体易位携带者核型分析与妊娠结局的关系[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(27): 2159-2161.
- [12] 杜涛,陈巧灵,吕杰忠,等. 1638 份外周血染色体核型分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(5): 739-740.
- [13] 尹志军,郑文婷,黄雪珍. 872 对不良孕产史夫妇的外周血染色体核型分析[J]. *国际遗传学杂志*, 2018, 41(3): 174-177.
- [14] 万涛. 外周血染色体核型分析在染色体病诊断中的价值研究[J]. *中外医学研究*, 2018, 16(19): 56-57.

(收稿日期:2019-10-20

学术编辑:母波)