

染色体微阵列技术在 85 例自然流产胚胎组织 染色体检测中的应用及致病基因分析*

陈雨露, 白云, 高玉青

(周口市中心医院 生殖医学中心, 河南 周口 466000)

摘要: **目的** 探讨染色体微阵列技术在 85 例自然流产胚胎组织染色体检测中的应用及致病基因。**方法** 选择 2021 年 10 月至 2023 年 1 月于周口市中心医院生殖医学中心收治的自然流产并行清宫术的流产样本 85 例, 对流产的绒毛或胎儿组织予以采集, 并采用染色体微阵列分析技术检测。分析 40 例染色体数目异常的染色体微阵列检测结果, 早期流产组和晚期流产组流产组织的染色体异常率, 流产史组和无流产史组流产组织的染色体异常率, 辅助组和未辅助组流产组织的染色体异常率, 7 例染色体结构异常的染色体微阵列检测结果。**结果** 85 例研究对象均检测成功, 染色体异常占比 55.29% (47/85), 染色体数目异常占比 47.06% (40/85), 染色体结构异常 8.24% (7/85); 其中染色体数目异常中三倍体例数为 28 例, 占比 70.00% (28/40) 最高, 染色单体为 5 例, 占比 12.50% (5/40), 多倍体 3 例, 占比 7.50% (3/40), 嵌合体 2 例, 占比 5.00% (2/40), 常染色体缺失 2 例, 占比 5.00% (2/40); 早起流产组流产组织的染色体异常率比晚期流产组高 ($\chi^2=7.720$, $P=0.005$); 流产史组流产组织的染色体异常率比无流产史组高 ($\chi^2=4.942$, $P=0.026$); 辅助组与未辅助组流产组织染色体异常率比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.223$, $P=0.636$); 7 例染色体结构异常中, 拷贝数变异的样本有 4 例, 杂合性缺失的样本有 1 例, 同时存在上述情况的样本有 2 例; 共发现流产相关基因 6 个, 分别为 *NFATC1*、*ERCC6L*、*RPS4X*、*KANK1*、*SMARCA2*、*PMP22*。**结论** 自然流产的主要原因在于染色体异常, 染色体异常主要与孕周、既往是否存在流产史相关, 而与是否采用辅助生殖技术无关, 采用染色体微阵列技术检测可明确自然流产的原因, 其中 *NFATC1*、*ERCC6L*、*RPS4X*、*KANK1*、*SMARCA2*、*PMP22* 等的基因变异可能是自然流产的致病基因。

关键词: 染色体微阵列技术; 自然流产; 胚胎组织; 染色体检测; 致病基因

中图分类号: R714.21

在自然状态下即非人为目的而造成的流产即被称之为自然流产。据相关调查显示, 自然流产的发生率大约在 10% 以上^[1]。目前临床上将孕周为 12 周以内的流产称之为早期流产, 而将 12 周以后至 28 周以内则被称之为晚期流产, 而连续流产两次以上就被称为复发性流产^[2]。自然发生的原因主要有染色体异常、母体内分泌失常、生殖道感染等, 其中胚胎染色体数目异常是引发胚胎流产的主要原因, 在所有导致自然流产的因素中约占 50% 以上^[3]。因此, 对流产组织的核型分析检测来明确流产发生的原因在临床上具有重要的意义。传统的核型分析成功率较低, 且报告周期时间较长^[4]。荧光原位杂交技术法相较于传统的核型分析法的优点在于分辨率较高, 但不能对全基因组进行覆盖^[5]。染色体微阵列技术则有着报告周期较短、可对全基因组予以覆盖等优点, 已

经被推荐应用于儿科遗传病的检查, 并可用于产前相关疾病的诊断^[6]。鉴于此, 本研究重点探讨了染色体微阵列技术在 85 例自然流产胚胎组织染色体检测中的应用及致病基因, 现将研究结果作如下报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2021 年 10 月至 2023 年 1 月于周口市中心医院生殖医学中心收治的自然流产并行清宫术的流产样本 85 例, 年龄 21~44 岁, 平均 (30.85 ± 5.02) 岁。留取标本时, 需采集所有孕妇的外周血, 采集时应注意采用短串联重复序列连锁分析技术以排除母体的细胞污染^[7]。按照研究对象的流产时的孕龄, 将其分为早期流产组 (孕周 < 12 周) 58 例、晚期流产组 (孕周为 12~28 周) 27 例; 同时

收稿日期: 2023-06-05

* 基金项目: 周口市 2022 科技发展计划普通科技攻关项目 (2022GG02425)

[通信作者] 高玉青, E-mail: 1597676801@qq.com

根据研究对象孕前是否有流产史将其分为流产史组（59 例）、无流产史组（26 例）；按照其是否属于辅助生殖技术受孕分为辅助组（16 例）、未辅助组（69 例）。纳入标准：孕期无感染者；无有毒、有害物质接触史者；无外伤史者等。

1.2 研究方法

流产组织与外周血均采用 QIA-GEN 试剂盒对 DNA 进行提取，染色体微阵列分析技术检测应用全基因组芯片，对其进行染色体不平衡的拷贝数变异检测，实验过程严格按照 Affymetrix 公司的说明书进行操作，包括质控、酶切、纯化、标记等，采用 ChAS 软件针对芯片扫描结果。芯片的读取按照美国医学遗传学与基因组学学会^[8]联合加拿大妇产科医生协会指南^[9]以及儿科共识，分析异常拷贝数的致病基因。

1.3 基因拷贝数变异分类

按照美国医学遗传学与基因组学学会中的相关标准^[8]，将检测到的非多态性基因拷贝数变异分为 5 种，包括致病性、可能致病性、致病性不确定性、可能为良性以及良性。

1.4 观察指标

①分析 40 例染色体数目异常的染色体微阵列检测结果。②分析早期流产组和晚期流产组流产组织的染色体异常率。③分析流产史组和无流产史组流产组织的染色体异常率。④分析辅助组和未辅助组流产组织的染色体异常率。⑤分析 7 例染色体结构异常的染色体微阵列检测结果。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计软件处理数据，计数资料以百分率（%）表示，采用 χ^2 检验；计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 40 例染色体数目异常的染色体微阵列分析检测结果

85 例研究对象均检测成功，染色体异常占比 55.29%（47/85），染色体数目异常占比 47.06%（40/85），染色体结构异常 8.24%（7/85）；其中染色体数目异常中三倍体例数为 28 例，占比 70.00%（28/40）最高，染色单体为 5 例，占比 12.50%（5/40），多倍体 3 例，占比 7.50%（3/40），嵌合体 2 例，占比 5.00%（2/40），常染色体缺失 2 例，占比 5.00%（2/40）。见表 1。

表 1 40 例染色体数目异常的染色体微阵列分析检测结果

核型	<i>n</i>	异常率/%
三体型		
47,XN+13	8	20.00
47,XN+16	10	25.00
47,XN+18	4	10.00
47,XN+21	3	7.50
47,XN+22	3	7.50
染色单体		
45,X0	5	12.50
多倍体	3	7.50
嵌合体	2	5.00
常染色体缺失	2	5.00
合计	40	100.00

2.2 早期流产组和晚期流产组流产组织的染色体异常率

早期流产组 58 例中，染色体微阵列技术结果显示正常的 20 例，结果异常的 38 例，其中异常率为 65.52%；晚期流产组 27 例检测结果显示正常的 18 例，异常的 9 例，异常率为 33.33%；经对比，早期流产组流产组织的染色体异常率比晚期流产组高，差异有统计学意义（ $\chi^2=7.720$ ， $P=0.005$ ）。

2.3 流产史组和无流产史组流产组织的染色体异常率

流产史组 59 例中，染色体微阵列技术结果显示正常的 21 例，结果异常的 38 例，异常率为 64.41%；无流产史组 26 例检测结果显示正常的 16 例，异常的 10 例，异常率为 38.46%。流产史组流产组织的染色体异常率比无流产史组高，差异有统计学意义（ $\chi^2=4.942$ ， $P=0.026$ ）。

2.4 辅助组和未辅助组流产组织的染色体异常率

辅助组 16 例中，染色体微阵列技术结果显示正常的 8 例，结果异常的 8 例，异常率为 50.00%；未辅助组 69 例检测结果显示正常的 30 例，异常的 39 例，异常率为 56.52%，两组流产组织的染色体异常率比较，差异无统计学意义（ $\chi^2=0.223$ ， $P=0.636$ ）。

2.5 7 例染色体结构异常的染色体微阵列分析检测结果

7 例染色体结构异常中，拷贝数变异的样本有 4 例，杂合性缺失的样本有 1 例，同时存在上述情况的样本有 2 例；共发现流产相关基因 6 个，分别为 *NFATC1*、*ERCC6L*、*RPS4X*、*KANK1*、*SMARCA2*、*PMP22*。见表 2。

表 2 7 例染色体结构异常的染色体微阵列分析检测结果

核型	检测结果	重复基因数量	缺失基因数量	杂合缺失基因数量	流产相关基因
46XY	Arr[hg19]12q13.12(50,927,329–51,155,065)x1	–	1	–	–
	arr[hg19]18q23(76,868,743–77,497,455)x3	3	–	–	<i>NFATC1</i>
	arr[hg19]Yq11.223q11.23(25,835,893–28,137,498) x2	7	–	–	–
46XX	arr[hg19]Xq13.1q21.1(70,543,354–81,845,065)hmz	–	–	42	<i>ERCC6L</i> 、 <i>RPS4X</i>
46XX	arr[hg19]Xp11.23p11.1(47,099,663–58,227,320)hmz	–	–	126	–
46XY	arr[hg19]9p24.3p22.2(208,454–16,654,154)x1	–	42	–	<i>KANK1</i> 、 <i>SMARCA2</i>
	arr[hg19]9p22.2p21.1(17,116,148–30,995,025)x3	41	–	–	–
46XX	Arr[hg19]12q13.12(50,691,473–51,189,698)x1	–	2	–	–
	arr[hg19]Xq13.1q21.1(71,163,821–81,752,668)hmz	–	–	36	<i>ERCC6L</i> 、 <i>RPS4X</i>
46XY	arr[hg19]8p12p11.23(36,072,835–36,685,430)x3	1	–	–	–
46XY	arr[hg19]17p12(14,087,918–15,479,940)x1	–	4	–	<i>PMP 22</i>

3 讨论

自然流产指的是胚胎的重量在 1 kg 以下，孕周在 28 周以内，由于非人为目的而造成的胚胎及其附属物与母体分离，其属于妊娠早期的一种常见并发症。自然流产发生的机制较为复杂，有报道显示，约有 50% 以上的自然流产发生的原因在于染色体异常，而染色体异常又包括染色体数目异常、结构异常、嵌合体异常等^[10]。自然流产的发生会给孕妇的身体和精神带来双重伤害，尤其对于复发性流产的孕妇，对流产的原因进行诊断有着迫切的需求。

传统的 G 显带染色体核型分析属于复发性流产遗传学检查的金标准，但对于 10 Mb 以下的染色体拷贝数异常无法检出，且检测报告周期时间较长，且失败率较高。随着医学技术的不断进步，对绒毛组织染色体的检测方法也由传统的核型分型转变为荧光原位杂交技术、染色体微阵列技术等。荧光原位杂交技术的特点在于既可以对中期染色体予以检测，还可以对间期染色体进行检测，从而使可计数的细胞数量明显增多；同时该方法还可以用于污染标本的检测。但该检测方法不能对全基因组进行检测^[11]。染色体微阵列技术则可在全基因组水平对染色体数目异常、大片段结构异常予以检测，具有分辨率高、检测报告周期较短等优势^[12]。

本研究中 85 例研究对象均检测成功，染色体异常占比 55.29%（47/85），提示染色体出现异常是自然流产发生的主要原因。之后对 40 例染色体数目异常的染色体微阵列检测结果进行分析发现，染色体数目异常中三倍体例数为 28 例，占比 70.00%（28/40）最高，染色单体为 5 例，占比

12.50%（5/40），三倍体中以 13、16、22 号染色体最多，这是由于 18、21 号染色体在产前筛查出阳性以后，进行核型分析确诊后直接进行了引产，并未对流产组织进行检查。由以上数据可以得出，自然流产中的染色体异常，多包括某一条染色体的三倍体或单倍体。本研究中，早起流产组的异常率比晚期流产组高，其原因主要在于大部分的流产发生在妊娠早期，随着妊娠时间的延长，流产率则呈下降趋势。相关研究显示，既往存在流产史的孕妇其染色体异常的概率比正常人要高出几倍^[13]。本研究中，流产史组的异常率比无流产史组高，因此，对于有流产史的孕妇，应警惕染色体是否出现核型异常。同时，本研究结果还显示，辅助组和未辅助组异常率经比较差异无统计学意义，表明辅助生殖技术不会对胚胎染色体异常的发生产生影响。

本研究中，拷贝数变异的样本有 4 例，杂合性缺失的样本有 1 例，同时存在上述情况的样本有 1 例；共发现流产相关基因 6 个，分别为 *NFATC1*、*ERCC6L*、*RPS4X*、*KANK1*、*SMARCA2*、*PMP22*。据相关报道显示，*KANK1* 拷贝数变异可与先天性脑瘫的发生之间有一定的关系；*SMARCA2* 则可使智力障碍综合征的发生风险增加；*PMP 22* 基因的缺失则可能会导致腓骨肌萎缩症和遗传学压力敏感性神经病^[14-15]。上述拷贝数的变异均可能是导致自然流产的主要致病因素。有学者的报道指出，*NFATC1* 的多态性与儿童先天性心脏病之间存在着相关性^[16]。由此可以推测出，该基因可能通过使原始胎心发育不良从而影响了胚胎的正常发育，最终导致流产。有报道指出，*ERCC6* 基因突变与智力障碍综合征之间有着密切的关系；*RPS4X* 基因则参与了对胚泡着床的调控，

从而对胚胎的着床产生影响^[17]。

综上所述,自然流产的主要原因在于染色体异常,染色体异常主要与孕周、既往是否存在流产史相关,而与是否采用辅助生殖技术无关,采用染色体微阵列技术检测可明确自然流产的原因,其中 *NFATC1*、*ERCC6L*、*RPS4X*、*KANK1*、*SMARCA2*、*PMP22* 等的基因变异可能是自然流产的致病基因。但本研究尚存在一定的不足之处,临床可扩大样本量进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 陈水莲,梁志江,黄冠豪,等.广东省育龄妇女自然流产发生情况及其影响因素分析[J].中国生育健康杂志,2020,31(2):119-122,126.
- [2] 武艾宁,赵晓曦,于荣鑫.复发性自然流产夫妇中女性染色体变异的分布情况研究[J].内蒙古医科大学学报,2019,41(2):113-117.
- [3] 黄小慧,周知,马宁.辅助生殖技术妊娠早期流产与胚胎染色体异常相关性及其影响因素分析[J].中国优生与遗传杂志,2020,28(11):1414-1416,1420.
- [4] 谢良玉,刘之英,秦利,等.681例21-三体胎儿羊水染色体核型类型的结果分析及临床意义[J].中国优生与遗传杂志,2018,26(2):36-37.
- [5] 阳彦,刘艳秋,杨必成,等.基因拷贝数变异测序技术和荧光原位杂交技术在检测自然流产胚胎染色体畸变中的技术特点分析[J].中国妇幼保健,2022,37(8):1500-1503.
- [6] 马威,魏波,张慧萍.染色体微阵列分析技术在先天性心脏病胎儿产前遗传学诊断中的应用价值[J].陕西医学杂志,2020,49(11):1436-1439.
- [7] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组.染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J].中华妇产科杂志,2014,49(8):570-572.
- [8] DAWSON AJ, CHERNOS J, MCGOWAN-JORDAN J, et al. CCMG guidelines: prenatal and postnatal diagnostic testing for uniparental disomy[J]. Clin Genet, 2011, 79(2): 118-124.
- [9] AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS COMMITTEE ON GENETICS. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. Obstet Gynecol, 2013, 122(6): 1374-1377.
- [10] 辛淑文,杨少哲,胥博,等.高通量测序技术检测孕早期自然流产绒毛样本染色体异常发生的Meta分析[J].现代检验医学杂志,2021,36(1):38-43.
- [11] 侯东霞,侯丽青,董弘,等.联合应用染色体核型分析、微阵列分析和荧光原位杂交技术诊断Pallister-Killian综合征胎儿一例[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(11):1276-1279.
- [12] 张文玲,王晓菲,付玉荣,等.荧光原位杂交与染色体微阵列分析技术在胎儿标记染色体产前诊断中的应用[J].解放军医学院学报,2019,40(9):815-820.
- [13] 宋杰,郑林媚,王玲,等.61例孕早期稽留流产绒毛应用高通量测序技术染色体检测结果分析[J].现代妇产科进展,2019,28(11):846-848.
- [14] 章勤,陈碧霞,张玉银,等.127例自然流产绒毛染色体微阵列检测及相关致病基因分析[J].中国计划生育和妇产科,2020,12(1):38-41.
- [15] 王沁,龚黎明,郑惠.女性自然流产的外周血染色体异常及胚胎流产物的染色体微阵列分析[J].中国优生与遗传杂志,2020,28(5):573-574,594.
- [16] 段素霞,李贵霞,邱方洲,等.叶酸代谢过程相关的四个单核苷酸多态性位点与先天性心脏病发病风险的病例-对照研究[J].卫生研究,2018,47(4):536-542.
- [17] 贾倩芳,周福军,崔清洋.1例综合征型X连锁智力障碍33型患儿TAF1基因检测分析[J].山东医药,2022,62(14):83-85.

(龚仪 编辑)