

论著·临床研究

# 不孕不育或不良妊娠结局患者的 9 号染色体异态性类型<sup>▲</sup>

陈美佳 吕福通 黄 霏 赵 绮

(广西壮族自治区生殖医院检验科优生遗传实验室,南宁市 530021,电子邮箱:48174994@qq.com)

**【摘要】 目的** 分析不孕不育或不良妊娠结局患者的 9 号染色体异态性类型。**方法** 对 8 030 例不孕不育或有不良妊娠结局的患者行外周血染色体核型分析,分析患者 9 号染色体异态性的类型。**结果** 8 030 例不孕不育或不良妊娠结局的患者中共检查出 9 号染色体异态性携带者 118 例,检出率为 1.47%。118 例 9 号染色体异态性携带者中,9 号染色体臂间倒位 97 例(占 82.20%),核型均为  $inv(9)(p12;q13)$ ;9 号染色体次缢痕增加 20 例(占 16.95%);9 号染色体次缢痕减少 1 例(占 0.85%)。**结论** 不孕不育或不良妊娠结局患者中 9 号染色体异态性中臂间倒位的发生率较高,其对生育的影响取决于发生倒位的区带,结合基因测序等分子检测技术能更好地进行生育指导和遗传咨询。

**【关键词】** 染色体异态性;染色体倒位;不孕不育;不良妊娠结局

**【中图分类号】** R 711.6;R 698.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2022)10-1095-04

**DOI:**10.11675/j.issn.0253-4304.2022.10.08

## Types of chromosome 9 heteromorphism in patients with infertility or adverse pregnancy outcome

CHEN Mei-jia, LYU Fu-tong, HUANG Pei, ZHAO Qi

(Eugenics Genetics Laboratory, Department of Clinical Laboratory, the Reproductive Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China)

**【Abstract】 Objective** To analyze the types of chromosome 9 heteromorphism in patients with infertility or adverse pregnancy outcome. **Methods** Peripheral blood chromosome karyotype analysis was conducted on 8 030 patients with infertility or adverse pregnancy outcome to analyze the types of chromosome 9 heteromorphism in the patients. **Results** A total of 118 of 8 030 patients with infertility or adverse pregnancy outcome were identified as carriers of chromosome 9 heteromorphism, with a detection rate of 1.47%. Ninety-seven of 118 carriers of chromosome 9 heteromorphism interpreted as pericentric inversion of chromosome 9, accounting for 82.20%, and all of their karyotypes were  $inv(9)(p12;q13)$ , among which there were 20 of secondary constriction increase of chromosome 9, accounting for 16.95%; and one of secondary constriction decrease of chromosome 9, accounting for 0.85%. **Conclusion** The incidence rate of pericentric inversion of chromosome 9 heteromorphism is relatively high in patients with infertility or adverse pregnancy outcome, and its effect on fertility depends on the region of inversion occurrence. Reproductive guidance and genetic counselling could be preferably conducted in combination with molecular detection techniques such as gene sequencing.

**【Key words】** Chromosome heteromorphism, Chromosome inversion, Infertility, Adverse pregnancy outcome

人类染色体检测中,经常可见到个别染色体上的微小变异,表现为同源染色体大小、形态或着色等方面的变异,这些变异区域一般位于遗传上不活跃的含高度重复 DNA 序列的异染色质区。9 号染色体异染色质区的改变包括 9 号染色体臂间倒位和次缢痕的增加或减少,其中 9 号染色体臂间倒位的发生率约为 1%<sup>[1]</sup>。9 号染色体异态性携带者的外貌、智力与生

长发育基本正常,但目前 9 号染色体异态性与生育结局的相关性争议较多。有学者认为 9 号染色体异态性属于正常变异,不会影响生育<sup>[1-2]</sup>;也有研究表明 9 号染色体异态性会产生不良的遗传效应<sup>[3-4]</sup>。本文探讨不孕不育或不良妊娠结局患者的 9 号染色体异态性类型及其与生育结局的关系,旨在为生育指导和遗传咨询、改善生育结局提供参考。

▲基金项目:广西自然科学基金(2014GXNSFBA118199)

作者简介:陈美佳(1982~),女,硕士,副主任技师,研究方向:优生遗传。

通信作者:吕福通(1975~),男,本科,副主任医师,研究方向:妇产科优生遗传,电子邮箱:1287002554@qq.com。



## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 1 月至 2020 年 12 月在我院进行遗传咨询并行外周血染色体检测的 8 030 例不孕不育或不良妊娠结局的患者作为研究对象。其中男性 6 860 例,平均年龄 36.5 岁,女性 1 170 例,平均年龄 31.0 岁。不孕不育的诊断标准:已婚夫妇未采用避孕措施达 1 年以上仍未生育者。不良妊娠结局的定义:不明原因的自然流产、胚胎停止发育、死胎、死产、难产、胎儿畸形或胎儿发育不良等非正常妊娠结局。均由专科医生排除男女双方存在生殖器官的器质性病变,以及内分泌疾病、免疫和感染等因素。本研究经广西壮族自治区生殖医院医学伦理委员会批准(KY-LW-2020-1 号)。向研究对象详细介绍本研究的具体内容、可能的受益和风险后,研究对象均签署知情同意书。

1.2 试剂与仪器 外周血淋巴细胞培养基、秋水仙素(广东达辉生物技术有限公司)、胰蛋白酶(Gibco 公司)、Olympus CX21 型显微镜(日本 Olympus 公司)、上海北昂医疗技术有限公司的医学图像分析识别系统(版本号:BEION V 4.20)。

1.3 研究方法 (1)采血与接种:常规消毒研究对象肘部的皮肤,抽取 2 mL 肘静脉血至肝素钠抗凝管中,将 0.5 mL 抗凝血接种至外周血淋巴细胞培养瓶进行培养。(2)外周血淋巴细胞培养:将培养瓶放置在 37 °C 恒温培养箱中培养 69 ~ 72 h。(3)细胞收集:培养完成前 30 min 加入 2 滴 100 μg/mL 的秋水仙素进行阻断分裂以收集中期细胞。将培养液放入离心管内,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液;加入 5 mL 0.075 mol/L 的氯化钾固定液,在 37 °C 水浴中低渗 30 min;使用 2 mL 甲醇:冰醋酸(3:1)配置的固定液预固定 5 min;1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 8 mL 固定液后 1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,再重复上述固定操作 2 次。(4)滴片:1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,加 1 ~ 2 mL 固定液,混匀制成细胞悬液,将 2 ~ 3 滴细胞悬液分散滴在洗净的冰冻玻片上,自然晾干。(5)烤片:将玻片置于 70 °C ~ 80 °C 烤箱内烤片 2.5 h。(6)G 显带消化与染色:烤片后第 2 天,在 37 °C 水浴箱中用 0.5% 的胰蛋白酶消化,放入吉姆萨染液内染色,染色完成后取出玻片,自然晾干后即可镜检。(7)染色体核型分析:用染色体分析软件(上海北昂公司,版本:V4.20)进行染色体核型分析。每份标本在油镜下计数 30 个分裂相,分析 10 个染色体核型,对异常者加倍计数和核型分析,并按照《人类细胞基因组学国际命名体系》(ISCN2016)<sup>[5]</sup>的规定对结果进行描述,有高度重复 DNA 序列的区域为异染色质区,染色体异常检测结果均由 2 名遗传学专家进行分析与复核。

## 2 结果

8 030 例不孕不育或不良妊娠结局患者中,共检出 9 号染色体异态性携带者 118 例,占 1.47%。其中 9 号染色体臂间倒位共 97 例,占全部患者的 1.21%,占 9 号染色体异态性携带者的 82.20%,核型均为 inv(9)(p12;q13);9 号染色体次缢痕增加(核型为 9qh +)20 例,占 9 号染色体异态性携带者的 16.95%;9 号染色体次缢痕减少(核型为 9qh -)1 例,占 9 号染色体异态性携带者的 0.85%。见表 1。

表 1 不同生育结局患者的 9 号染色体异态性类型

生育结局	臂间倒位	次缢痕增加	次缢痕减少
不孕不育	41	3	0
不良妊娠结局	56	17	1

## 3 讨论

染色体倒位是指一条染色体内同时发生两处断裂而形成的 3 个片段,翻转 180°后重新连接形成一条重排染色体,倒位发生在长臂和短臂之间称为臂间倒位。臂间倒位以 9 号染色体最为常见<sup>[6]</sup>,9 号染色体臂间倒位在国外人群中的发生率为 0.95% ~ 1.02%,在国内人群中的发生率约为 1%<sup>[7-8]</sup>。本研究在 8 030 例不孕不育或不良妊娠结局的受检者中,检出 9 号染色体异态性携带者共 118 例,检出率为 1.47%,其中 9 号染色体臂间倒位的检出率最高,为 1.21%,较一般人群<sup>[7-8]</sup>略高。目前有关 9 号染色体臂间倒位区带的研究较多,Starke 等<sup>[9]</sup>报告 9 号染色体臂间倒位断裂热点区域位于 9p12 或 9q13-21.1,本研究检出的 9 号染色体臂间倒位断裂位点均发生在 9p12 与 9q13 之间,说明 9 号染色体的这段区域易发生断裂。有文献报告 9 号染色体 pter 到 q12 片段上存在松弛素基因,而松弛素可影响女性卵泡的成熟过程,也影响男性的精子运动和穿卵能力;9 号染色体臂间倒位产生的位置效应可能会影响松弛素基因的表达,从而导致生殖障碍<sup>[7]</sup>,当臂间倒位发生在 9q12 远端时对生育的影响尤其明显<sup>[10]</sup>。本研究中有 41 例不孕不育患者、56 例不良妊娠结局患者检出 9 号染色体臂间倒位,倒位均发生在 9q12 的远端区域,但未检测 9 号染色体臂间倒位携带者是否有松弛素基因表达异常,今后仍需进一步研究。

9 号染色体臂间倒位与不孕不育、不良妊娠结局的关系一直有争议。有文献显示,9 号染色体臂间倒位与生育结局异常没有直接关系,属于遗传学多态性<sup>[1-2]</sup>。但也有学者报告,9 号染色体臂间倒位在不孕不育或不良妊娠结局人群中的检出率较高<sup>[3-4]</sup>,9 号染色体臂间倒位可干扰减数分裂时同源染色体

的配对或造成其他染色体的配对异常,从而引起临床效应<sup>[11]</sup>。9号染色体的倒位重排还可能引起部分基因的顺序发生改变,影响基因的正常表达,表现为胚胎发育异常或不孕不育<sup>[7]</sup>。然而,9号染色体的臂间倒位是否对生育结局有影响,笔者认为应该从发生臂间倒位的区带判断:若9号染色体臂间倒位发生在异染色质区内,如9q12的次缢痕区,由于该区域为高度重复的DNA序列,不编码主要遗传信息,因此该区域发生的臂间倒位不属于结构异常,理论上对患者的表型、智力、生长发育不会造成严重的影响。但如果9号染色体臂间倒位发生在异染色质区外,由于这种异常属于染色体的结构异常,这类倒位染色体在减数分裂时形成倒位环,正常的染色体和倒位的染色体之间发生交叉互换,导致配子染色体上某一片段缺失或重复,此时其遗传效应主要取决于重复或缺失片段的长短及其所含基因的致死效应,倒位片段越短,则重复或缺失片段就越长,其配子和合子正常发育的可能越小,临床表现为不孕不育、流产、死胎等症状<sup>[12]</sup>。

目前,在传统的细胞遗传学层面上,一般采用G显带技术结合C显带技术对9号染色体异态性进行分析,但该方法受细胞遗传水平的核型分辨率及操作者人为主观因素的影响,定位并不完全准确,难以明确区分9号染色体臂间倒位是否涉及异染色质区外。Starke等<sup>[9]</sup>发现9号染色体臂间倒位主要发生在9q13-21.1,国内也有学者报告9号染色体臂间倒位片段多定位于p11及q12远端<sup>[10]</sup>,这都表明了9号染色体臂间倒位发生在异染色质区外的情况不容忽视。采用G显带技术进行分析时,对于5M以下的变异难以用肉眼判别,因此也不能完全排除9号染色体发生臂间倒位的同时断裂位点周围是否存在基因突变或微小缺失和重复等情况,需要通过基因测序等分子检测技术进一步鉴定,以明确9号染色体不同位点的断裂及其与临床表现的相关性,从而更好地进行生育指导和遗传咨询。由此推断,目前众多文献报告的9号染色体臂间倒位所涉及的断裂点可能在异染色质区外,应考虑为结构异常或基因变异,这或可为9号染色体臂间倒位携带者表现出不同临床症状的结论提供合理的解释。

9号染色体次缢痕区为染色体长臂上凹陷缩窄的异染色质区,该区域为高度重复的非编码DNA序列,次缢痕部位的DNA松散,容易自发和诱发断裂,其增加或减少可导致次缢痕的增加或减少,从而干扰染色体的运动和分离,造成减数分裂过程中同源染色体配对困难或分离异常,进而影响配子的形成,导致不孕不育或自然流产等不良生育结局<sup>[12]</sup>。此外,有研究报告次缢痕区大量重复的DNA可能会导致在胚

胎早期调控细胞分化的基因发生异常或剂量效应,从而造成有丝分裂错误,最终导致不孕不育、胚胎停育或自然流产等临床结局<sup>[13]</sup>。Minocherhomji等<sup>[14]</sup>研究发现,原发性不孕不育患者的9号染色体次缢痕增加检出率升高,提示9号染色体次缢痕增加与不孕不育有关;王桂玲等<sup>[15]</sup>报告复发性流产者9号染色体次缢痕增加的检出率明显升高,提示9号染色体异态性与复发性流产可能存在相关性。但也有学者认为9号染色体次缢痕的增加或减少属于正常的染色体变异,不会导致不孕不育或不良妊娠结局<sup>[16]</sup>。可见,对于9号染色体次缢痕增加或减少与生育结局的相关性,目前尚无统一论,本研究中共检出9号染色体次缢痕增加20例,其中17例出现不良妊娠结局,3例临床表现为不孕不育;检出9号染色体次缢痕减少1例,为有不良妊娠结局的患者。但由于本研究缺乏对正常生育人群9号染色体次缢痕增加或减少发生率的研究,加之9号染色体次缢痕减少的患者样本量少,因此仅能得出次缢痕变化可能存在潜在临床效应的结论,今后仍需扩大样本进一步研究。

综上所述,不孕不育、不良妊娠结局患者中9号染色体异态性中臂间倒位的发生率较高,其对生育结局的影响取决于发生倒位的区带,不能一概而论归为正常的多态性变异。由于染色体核型分析技术的局限性,以及各实验室人员对断裂位点的判断不统一,9号染色体臂间倒位是否会引起不良的遗传效应,如造成不孕不育、自然流产、胚胎停育等,仍需要更多的实验数据验证,并结合细胞与分子技术手段进一步研究。9号染色体次缢痕增加或减少可能存在潜在的临床效应,也需进一步研究证实。若能进一步研究正常生育人群与9号染色体异态性携带者生殖细胞减数分裂和胚胎形成过程中染色体的变化情况,可为探讨9号染色体异态性对生育结局的影响提供更多的参考。

## 参 考 文 献

- [1] 肖晓素,刘晓翌,王勇强,等.9号染色体臂间倒位的遗传效应研究[J].国际遗传学杂志,2006,29(2):89-90.
- [2] 陈雪娇,戴美珍,刘佳媚,等.羊水中9号染色体臂间倒位的临床效应分析[J].中华医学遗传学杂志,2013,30(2):242-243.
- [3] 汪小波,陈向锋,平萍,等.染色体多态性对男性生精能力及生育结局的研究[J].中华生殖与避孕杂志,2018,38(5):380-385.
- [4] 陈欢,沈鉴东,谢佳孜,等.9号染色体倒位携带对于胚胎染色体及妊娠结局的影响[J].生殖医学杂志,2019,28(5):509-514.

(下转第1107页)

## 参 考 文 献

- [1] 吴海标,潘小霞,韦立富. 朱璉针灸手法图解[M]. 南宁: 广西科学技术出版社,2020:12.
- [2] 赵利华,庞勇,黄瑜,等. 朱璉针法在广西的传承和应用拾零[J]. 上海针灸杂志,2010,29(6):411-413.
- [3] 霍蕊莉,朱玲,杨峰. 巴甫洛夫学说与中华人民共和国建国初期针灸科学化:以马继兴为例[J]. 针刺研究,2015,40(4):337-344.
- [4] Liu S, Wang Z, Su Y, et al. A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis[J]. Nature, 2021,598(7882):641-645.
- [5] 朱兵. 系统针灸学——复兴“体表医学”[M]. 北京: 人民卫生出版社,2015:6.
- [6] 朱璉. 新针灸学[M]. 北京:人民出版社,1951:225-333.
- [7] 黄龙祥. 国家标准腧穴名称与定位挂图[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:1-22.
- [8] 魏稼,高希言. 针灸流派概论[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:256.
- [9] 郑嘉太,陈波,郭永明,等. 影响腧穴配伍效应差异的因素分析[J]. 中国针灸,2015,35(7):719-722.
- [10] 朱兵. 经脉循行与身体分节的对应[J]. 针刺研究,2021,46(10):815-820.
- [11] 吴强,章薇,施静,等. 妇科相关疾病牵涉痛与穴位敏化的关系[J]. 中医杂志,2019,60(23):2001-2005,后插3-后插4.
- [12] 韦立富,潘小霞,刘兵,等. 朱璉针灸临床特色与经验[J]. 中国针灸,2015,35(1):94-97.
- [13] 陈少宗,朱兵. 腧穴作用规律与针刺调节规律研究的临床意义——兼论制定针灸治疗方案的理论依据[J]. 山东中医杂志,2018,37(10):791-794,810.
- [14] 高珊,李瑞,田环环. 肾俞穴的研究进展[J]. 中国针灸,2017,37(8):845-850.
- [15] 万明珠,于嵩,陈亚丽,等. “脑肾相济”针刺疗法治疗帕金森病理论探讨[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(2):150-152.
- [16] 陈斌,白羽,陈芮,等. 艾灸对诱导性大鼠关节炎及肠道菌群的影响[J]. 中国微生态学杂志,2019,31(6):632-637.
- [17] 周逸平,周美启,汪克明,等. 经脉脏腑与脑相关研究是中西医结合的突破口[J]. 安徽中医学院学报,2008,27(1):1-7.
- [18] 蒋梅霞,赵耀东,赵婷婷,等. 基于《灵枢》脏腑精气理论探讨针灸从颈论治干眼症[J]. 实用中医内科杂志,2021,35(8):1-3.
- [19] 袁庆东,梁承,赵建国. 针刺结合走罐治疗颈胃综合征53例[J]. 中国临床康复,2006,10(15):29-31.
- (收稿日期:2022-01-04 修回日期:2022-03-10)
- (上接第1097页)
- [5] Jordan JM, Simons A, Schmid M. An international system for human cytogenomic nomenclature (2016) [M]. Basel: Karger,2016:16-29.
- [6] Štápek A Jr, Panczak A, Mihalová R, et al. Pericentric inversion of human chromosome 9 epidemiology study in Czech males and females[J]. Folia Biol(Praha), 2015,61(4):140-146.
- [7] 林慧,段金良. 9号染色体臂间倒位的研究概述[J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24(3):127-129.
- [8] Dana M, Stoian V. Association of pericentric inversion of chromosome 9 and infertility in Romanian population[J]. Maedica(Bucur), 2012,7(1):25-29.
- [9] Starke H, Seidel J, Henn W, et al. Homologous sequences at human chromosome 9 bands p12 and q13-21.1 are involved in different patterns of pericentric rearrangements[J]. Eur J Hum Genet,2002,10(12):790-800.
- [10] 朱佳鹏,何慧燕,梁灼健,等. 染色体多态性与生殖异常的相关性分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2018,35(6):921-922.
- [11] Madon PF, Athalye AS, Parikh FR. Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility[J]. Reprod Biomed Online,2005,11(6):726-732.
- [12] 刘芳,于辛酉,包俊华,等. 常见染色体多态性与生殖异常关系研究[J]. 宁夏医科大学学报,2020,42(8):859-863.
- [13] 李蓉,翁炳焕,董旻岳. 常见染色体多态性及其临床意义的探讨[J]. 中国产前诊断杂志(电子版),2016,8(1):42-47.
- [14] Minocherhomji S, Athalye AS, Madon PF, et al. A case-control study identifying chromosomal polymorphic variations as forms of epigenetic alterations associated with the infertility phenotype[J]. Fertil Steril,2009,92(1):88-95.
- [15] 王桂玲,任春娥,姜爱芳. 染色体多态性qh+与复发性流产关系的探讨[J]. 中华医学遗传学杂志,2015,32(4):591-592.
- [16] Dong Y, Jiang YT, Du RC, et al. Impact of chromosomal heteromorphisms on reproductive failure and analysis of 38 heteromorphic pedigrees in Northeast China[J]. J Assist Reprod Genet,2013,30(2):275-281.
- (收稿日期:2022-02-13 修回日期:2022-04-15)