DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.016

早孕绒毛取材及快速染色体制备的研究

何祖国 姚 宏 陈军赫 张辨真 李立华

（第三附属医院 妇产科）

提 要 本文报告了160例孕早期经宫颈吸取绒毛直接制备染色体的方法。总绒毛标本采取成功率为84.4%。用一小时培养法后直接低渗法制备，两种方法中期分裂相出现率平均在95%以上。取材时间以孕40～50天最好。两种方法只要绒毛新鲜，秋水仙胺适量均能收到良好效果。直接法需时短，不用培养基，不受pH影响带型清晰、可靠、经济、适用。

用早孕绒毛活检制备染色体作产前诊断是当前国内外医学界所关注的问题。我院自1984年10月到1985年8月对160例早孕经宫颈采取绒毛标本制备染色体的方法进行了研究，并初步应用于临床，现报告于下：

材料和方法

一、材料

160例受术者为孕38～70天的妇女，其中人工流产前受试者155例，产前诊断者5例。用带钢丝蕊可弯曲的直径1.8mm的塑料管经宫颈进入宫腔吸取绒毛组织制备染色体。其中盲目吸取138例，术前经B型超声波胎囊定位后吸取22例。负压在4ml以内，每份组织湿重5～30mg。

二、染色体制备

1．一小时培养法：挑选的绒毛加入盛有2ml的RPMI 1640培养液，加最终浓度为0.04～0.4μg/ml秋水仙胺，培养一小时，加入1%枸橼酸钠2～4ml低渗15～20分钟。用甲醇：冰醋酸(3:1)固定30分钟后，加60%乙酸0.3～0.6ml静置处理3分钟。再加甲醇0.5～1.5ml，剔出大块绒毛枝，离心去上清液，将细胞悬液滴在冰玻片上，轻吹，过火焰，烤干或电吹风吹干，置60℃烤片过夜。

2．直接低渗法：将挑选出的绒毛立即放入盛有1%枸橼酸钠2ml的血培养瓶内，加最终浓度为0.4μg/ml的秋水仙胺。以后过程基本同上。于加入60%乙酸处理前，将绒毛尽量剪碎，乙酸处理后加5～6滴甲醇，将细胞悬液立即滴于冰玻片上，轻吹，过火焰，电热风吹干，置60℃烤箱14小时。常规Giemsa染色或胰酶消化后G显带。

结果与分析

一、各种情况采取绒毛标本的比较

1．盲吸与B超定位后吸取的比较：每例吸1～3次，总成功率为84.4%。结果见表1：

表1 盲吸与B超定位后吸取的比较

组别	例数	成功例数	失败例数	成功率%	P
盲目吸取	138	116	22	84.1	
B超定位吸取	22	19	3	86.4	>0.05
共计	160	135	25	84.4	

2．孕龄：根据停经日期和妇科检查结果算孕龄，见表2。

3．子宫位置：以术前的妇科检查为准。因人工流产对象大部份为第一胎，故多加用宫颈钳。子宫前屈者用手在耻骨联合上方向下向后加压以矫正子宫位置，利于吸取

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表2 孕龄与取材的关系

孕龄	例数	成功例数	失败例数	成功率%	P
<40(38天)	1		1	0	
40～49	74	59	15	79.7	≈0.05
50～59	72	65	7	90.3	
60～70	13	11	2	84.6	>0.05
共计	160	135	25	84.4	

标本，结果见表3：

表3 子宫位置与取材关系

子宫位置	例数	成功例数	失败例数	成功率%	P
前倾前屈	75	60	15	80.0	>0.05
中位	16	15	1	93.0	
后倾后屈	69	60	9	87.0	>0.05
合计	160	135	25	84.4	

在采取标本的实践中，体会到不能矫正的后屈子宫取材最困难，160例中有3例取材均失败。

4. 并发症：160例受术者中，抽出血水（2ml）者2例，明显胎膜穿孔者3例，共5例（3.1%），当时抽出为鲜血者2例（1.3%）；在5例诊断者中，取材后流产者2例。故160例的总并发症为9例(5.6%)，与Simoni等[1][2]及Gustavii[3]等的并发症接近。

二、孕龄与绒毛级别的比较关系

取材成功的135例中，93例绒毛分级[4]的结果见表4：

上表说明孕龄越小盲吸的Ⅰ级绒毛出现率越高。

表4 孕龄与绒毛分级的关系

孕龄（天）	Ⅰ级 例数(%)	Ⅱ级 例数(%)	Ⅲ级 例数(%)	合计 例数(%)	P
40～49	23 (48.9)	13(27.7)	11(23.4)	47(100)	
50～59	11 (25.0)	14(31.8)	19(43.2)	44(100)	<0.05
60～70	0 (0)	0(0)	2(100)	2(100)	
合计	34 (36.6)	27(29.0)	32(34.2)	93(100)	

三、染色体制备方法的比较

在取材成功的135例中有42例用一小时培养法制片，40例有染色体（95.24%）；93例直接低渗法制片，91例有染色体(97.85%)，每份标本常规Giemsa染色或胰酶G显带，随机镜下分析一张片，分别计出分裂相总数，及可分析数。直接低渗法分裂相总数多，可分析染色体质量高，带型清晰，需时短，可不用培养基(图1、2)见表5。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表5 两种制片方法的比较

方法	例数	染色体		分裂相总数			可分析		
		阳性数	阳性率%	共计	均数	全距	共计	均数	全距
一小时培养	42	40	95.2	1137	24.8	1～185	247	6.2	0～51
直接低参	93	91	97.9	2538	27.9	1～132	720	7.9	0～53

表6 绒毛级别与分裂相总数及可分析数的比较

级别	例数	分裂相总数			可分析数		
		共计	均数	全距	共计	均数	全距
Ⅰ	34	1609	47.3	5～132	502	14.8	1～53
Ⅱ	27	516	19.1	1～64	121	4.5	0～23
Ⅲ	32	143	4.5	0～43	97	3.0	0～11

四、绒毛级别与分裂相总数及可分析数的比较 见表6。

五、在随机50例常规染色体分析中，46，xy占26例，46，xx占23例，男女性别比为1.13:1，与孙念怙等[5]（23:20）及杨大森等[6]（1.38:1）相接近。另外发现一例三倍体。

六、在5例产前诊断中，取材后1例近期流产，1例35天流产，绒毛和胎膜坏死退变，未见胎芽，考虑与消毒液带进宫腔有关。3例在继续妊娠中，经B超随访胚胎发育正常。

讨论

一、关于取材方法

本文160例基本上均系盲取，B超胎囊定位后取材，成功率未见明显增加，因为（1）仅系定位而不能在B超直视下吸取，仍属盲取。（2）胚囊太小时定位不够准确。（3）前屈，后屈子宫胚囊着床部位不易达到。提高取材的准确性，一定要用各种不同弯曲度的取材器械，在直视下取材会更好。但在盲吸过程中我们体会到成功的关键是：（1）吸管进入宫腔触及胎囊有一定的囊性感（手感）；（2）吸管稍退出0.2cm；（3）抽吸负压3～4 ml即可；（4）抽后持续停留约20～30秒待负压形成后慢慢取管；（5）取出过程中不得再抽吸。只要部位准确，一般均可取出所需绒毛量。在目前国内医院条件尚差的情况下，盲吸仍属实用。

二、染色体制备方法

孕早期绒毛制备染色体，主要是利用绒毛郎罕氏细胞的自发有丝分裂相，故不管采用何法，绒毛组织要求新鲜，秋水仙胺适量。因蜕膜中未发现有丝分裂相[2][4]，经过一定实践用肉眼即可辨认绒毛。立即短时培养或低渗，掌握秋水仙胺的浓度（我们认为直接低渗法其用量以0.4μg/ml为好），均能收到良好的效果，染色体核型多，两臂不分开，带型清晰。如在用60%的乙酸处理后，加数滴甲醇滴片，所制备的染色体较直，有利于G显带后分析。直接制备法可获与短期培养相同的染色体，且需时短，经济，值得推广。

三、关于取材时间及器械消毒

取材以孕40～50天为最佳，此时Ⅰ级绒毛、染色体核型总数及可分析数明显增多。至于取材器械以耐高温、高压、透明的材料

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为好。如用消毒液浸泡，最好消毒后取出放入60℃烤箱过液，用前用生理盐水反复冲3～5次方可，否则会影响胎儿的安全和染色体的质量。

四、我们初步用于临床诊断，尚缺乏经验，关于采取标本对胎儿的安全性以及异常染色体发生的频率，有待今后积累临床资料以证实。



图1　绒毛染色体

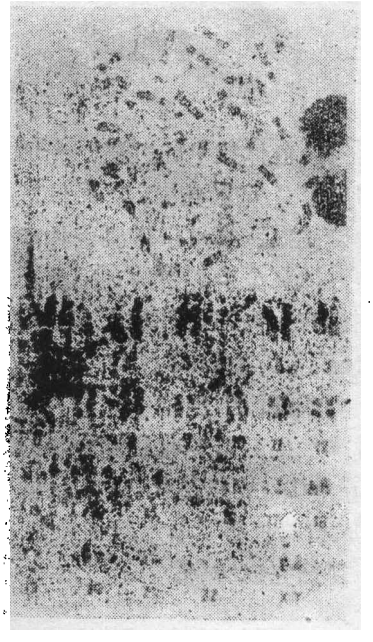


图2　绒毛染色体核型分析

参　考　文　献

1. Simoni G, et al. Efficient Direct chromosome analyses and Enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Human Geneties 1983;63:349
2. Simoni G, et al: Diagnostic application of first trimester trophoblast sampling in 100 pregnancies. Human Geneties 1984; 66:252
3. Gustavii B, et al: First-trimester diagnosis on chorionic villi obtained by direct vision technique. Human Geneties 1984; 65:373
4. 崔梅影等：130例绒毛细胞直接制备染色体。优生快讯　1985年
5. 孙念怙等：用早孕绒毛进行产前诊断的研究。遗传与疾病　1985;2（1）:1～3
6. 杨大森等：孕早期直接制备染色体方法研究。中华妇产科杂志　1985;20:196

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net