

妊娠早期产前诊断的研究 ——在含 FdU 培养基中生长的绒毛细胞

李立容 匡冰¹⁾ 周宪庭

(中国科学院遗传研究所)

脆性 X 综合征 (简称 FraX) 的患者,有中
度至重度智力低下^[1], 其发病率仅次于先天愚
型, 是一种严重危害健康的疾病^[3]。脆性 X 染
色体的表达与细胞培养时叶酸和胸苷的缺乏有
关。细胞生长于含有 FdU 的培养基中, 胸苷
合成酶受抑制, 导致脆性 X 染色体的表现。为
了进行妊娠早期脆性 X 综合征的产前诊断, 我
们对含 FdU 培养基中生长的绒毛细胞进行了
研究, 现报道如下。

材料和 方法

用悬液法培养, 并参考改进 Simon^[4]、Ed-
mund^[2] 等人的方法, 其步骤如下。

(一) 取样 取妊娠 6—9 周人工流产孕
妇的绒毛²⁾, 用无菌生理盐水洗两遍, 放入有
McCoy's 5A 培养基瓶中, 培养基中加 2% 双抗。
然后在双筒解剖镜下挑选少量绒毛, 仔细除去
蜕膜碎片和血块。用含 2% 双抗的 D-Hank 溶
液, 洗 2—3 次并剪碎。加 2 毫升 0.2% 胰酶
(GIBCO), 吸至 50 毫升三角瓶中, 37℃ 水浴
保温, 不断轻轻摇动。剪碎的绒毛在胰酶作用
下先粘成团, 后呈粘稠状, 最后松散开, 溶液变
混浊。处理约 15 分钟。立即吸至装有 2 毫升小
牛血清的离心管中, 终止胰酶的作用。离心 8 分
钟 (1,000 转/分), 弃去上清液, 接种在培养瓶
中, 加培养基 3 毫升。培养基为 McCoy's 5A
66%, 小牛血清 30%, 双抗 1%, 谷氨酰胺
1%, 丙酮酸钠 1%, NEAA 1% (由丙氨酸、天
冬酰胺、谷氨酸、天冬氨酸、脯氨酸、丝氨酸、色
氨酸组成)。McCoy's 5A 中加 Hepes (20mM),

调 pH 至 6.9。

(二) 培养和 FdU 处理 接种的培养
物置 37℃ 温箱中培养, 经 24—36 小时细胞和
小组织块贴壁生长, 至第 4—5 天换液, 以后每
3 天换一次, 待细胞分裂旺盛时加 FdU, 最终
浓度为 0.4 μ M/ml, 一般在第 3 次换液的同时
加 FdU, 24 小时后制片。以不加 FdU 的处
理做对照。

结果和 讨论

(一) 绒毛细胞培养 先后用 100 多例
绒毛摸索了培养和制片技术。结果表明, 悬液
法用胰酶把绒毛消化成小组织块、细胞团以及
单细胞, 贴壁后生长的细胞不仅多而且整齐, 能
收集到较多的分裂相, 且核型完整, 染色体形态
好, 有利于显带和分析。在 18 个绒毛样本培养
中发现 4 个男性核型, 14 个女性核型, 还观察
到男性载片中有不少女性核型出现, 可见存在
母体细胞的污染。采用悬液培养原位制片时应
注意严格挑选绒毛, 缩短培养时间, 克服母体细
胞污染。

(二) 在含或不含 FdU 培养基中绒毛细
胞染色体畸变的比较 18 个绒毛样本在含
FdU (0.4 μ M/ml) 培养基培养的结果见表 1,

*Li Lirong et al.: Study of Prenatal Diagnosis on
First Trimester of Pregnancy: Chromosome Investi-
gation of the Chorionic Villi Cell Grown in the
Medium Containing FdU*

1) 江西省中医学院。

2) 北京市海淀区医院妇产科提供绒毛, 特此致谢。

本文于 1985 年 4 月 26 日收到。

表1 加 FdU 与对照绒毛细胞染色体畸变的比较

编号	妊娠期(周)	培养时间(天)	性别	加 FdU 0.4 μ M/ml			对 照		
				分裂相数(个)	畸变数(个)	畸变率(%)	分裂相数(个)	畸变数(个)	畸变率(%)
1	6	15	♀	83	3	4			
2	8	22	♀	17	1	6			
3	7	22	♀	63	9	14			
4	7	20	♂	50	3	6			
5	8	15	♀	91	3	3			
6	8	16	♀	70	6	9			
7	9	14	♀	25	2	8			
8	9	11	♀	100	4	4	51	0	0
9	7	13	♀	35	5	14	30	2	7
10	7	13	♀	58	12	21	70	1	1
11	7	13	♀	21	5	24	20	0	0
12	8	12	♂	100	30 ¹⁾	30	100	8	8
13	8	12	♂	100	6	6	100	3	3
14	7	12	♀	100	5	5	100	7	7
15	7	12	♀	100	12	12	100	9	9
16	7	16	♀	22	2	9	38	0	0
17	8	14	♀	41	7	17	28	2	7
18	8	14	♂	100	11	11	100	16 ²⁾	16
\bar{x}				65.33	7	11.28	67	4.36	5.27
S. D.				± 32.37	± 6.67	± 7.57	± 34.13	± 5.08	± 5.02

$t = 2.2384, P < 0.05$

1) 其中一个细胞有 21 个畸变; 2) 其中一个细胞有 9 个畸变。

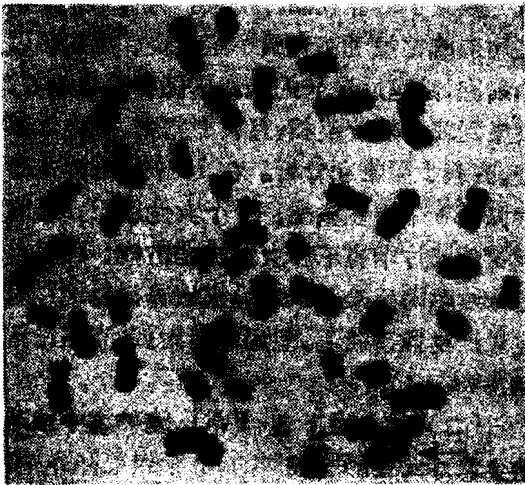


图1 加 FdU 培养时染色体的四射体(箭头所示)

以 11 个绒毛样本做对照。含 FdU 培养基培养的绒毛细胞染色体畸变率比对照明显增加。畸变类型主要为染色单体裂隙、单体断裂、也有染

色体断裂、碎片和四射体(见图 1), 说明 FdU 起了诱导作用。Edmund 等人^[2]曾用含 FdU 培养基培养羊水细胞进行 FraX 胎儿产前诊断, 因此用含 FdU 培养基培养有脆性 X 综合征家属史妇女的妊娠早期绒毛细胞, 也将可能作出 FraX 胎儿的产前诊断。

综上所述, 本实验初步为脆性 X 的孕早期产前诊断摸索了培养和制片的方法, 这有助于妊娠早期检出 FraX 阳性病例。

参 考 文 献

- [1] 许碧珍等: 1984. 中华医学杂志, 64(2): 84—86.
- [2] Edmund, C. J. et al.: 1984. *Am. J. of Medical Genetics*, 17: 215—239.
- [3] Froster-Iskenius U. et al.: 1983. *Hum. Genet.*, 63: 153.
- [4] Simoni, G. et al.: 1983. *ibid.*, 63: 349—357.