

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.21.005

## 无创产前检测高风险胎儿的染色体核型及 CMA 结果分析\*

吴海燕, 黄柳萍, 罗小芳, 何锦卿, 赵卓妹

广东医科大学顺德妇女儿童医院产前诊断中心, 广东佛山 528300

**摘要:**目的 探讨无创产前检测(NIPT)技术在产前筛查中的应用价值。方法 对 189 例 NIPT 高风险的孕妇在知情同意原则下行介入性手术,采集羊水或脐血标本进行染色体核型分析,对 9 例 NIPT 提示染色体结构异常者同时行染色体微阵列分析(CMA)。**结果** 189 例 NIPT 高风险孕妇中,21-三体综合征高风险 63 例,18-三体综合征高风险 25 例,13-三体综合征高风险 18 例,提示性染色体异常 62 例,其他染色体数目异常 14 例,结构异常 9 例。其中 1 例既提示 9 号染色体数目增加也提示 X 染色体数目偏多,1 例既提示 18-三体综合征高风险也提示 18 号染色体存在 4.5 Mb 重复。通过胎儿染色体核型分析和 CMA 检测,结果发现 21-三体综合征高风险、18-三体综合征高风险、13-三体综合征高风险、性染色体数目异常、其他染色体数目异常及结构异常的阳性预测值分别为 87.30%、84.00%、61.11%、59.68%、7.14%、44.44%。**结论** NIPT 具有较高的灵敏度和特异度,但仍存在一定的假阳性和假阴性,对 NIPT 提示高风险的孕妇仍需进一步行有创的产前诊断来进行验证。

**关键词:**无创产前检测; 染色体核型分析; 染色体微阵列分析; 阳性预测值**中图分类号:**R715.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)21-3090-04**Analysis of chromosomal karyotype and CMA results by non-invasive prenatal testing in fetus with high risks\***

WU Haiyan, HUANG Liuping, LUO Xiaofang, HE Jinqing, ZHAO Zhuoshu  
Prenatal Diagnosis Center, Shunde Women's and Children's Hospital of Guangdong  
Medical University, Foshan, Guangdong 528300, China

**Abstract: Objective** To explore the application value of non-invasive prenatal test (NIPT) technique in prenatal screening. **Methods** A total of 189 pregnant women with NIPT high risk conducted the interventional operation under the principle of informed consent. Amniotic fluid or cord blood samples were collected for conducting the chromosome karyotype analysis. The chromosome microarray analysis (CMA) was performed in 9 pregnant women with abnormal chromosome structure indicated by NIPT. **Results** Among 189 pregnant women with NIPT high risk, there were trisomy 21 in 63 cases, trisomy 18 in 25 cases, trisomy 13 high risk in 18 cases, prompted sexual chromosome abnormalities in 62 cases and other chromosome number abnormalities in 14 cases; the structural abnormalities were in 9 cases. Among them, 1 case indicated both the increase of chromosome 9 and the excessive number of X chromosome, and the other one indicated both the high risk of trisomy 18 and the 4.5 Mb duplication of chromosome 18. The positive predictive values of 21, 18, 13, sex chromosome, other chromosome number abnormalities and structural abnormalities were 87.30%, 84.00%, 61.11%, 59.68%, 7.14% and 44.44% respectively. **Conclusion** NIPT has high sensitivity and specificity, but a certain false positive and false negative exist. It is necessary to make further invasive prenatal diagnosis to verify for pregnant women with NIPT high risk.

**Key words:** non-invasive prenatal test; chromosome karyotype analysis; chromosome microarray analysis; positive predictive value

染色体的非整倍体异常是导致出生缺陷最常见的原因之一,主要包括 21-三体、18-三体、13-三体等。

大多数的染色体异常常伴有智力低下、精神运动发育迟缓、畸形等表现,目前尚无有效的治疗方法,只能通

\* 基金项目:广东省佛山市卫生和计划生育局医学科研课题(20180325)。

作者简介:吴海燕,主管检验师,主要从事产前诊断细胞遗传工作。

过产前筛查和产前诊断预防染色体异常儿的出生。

1997 年,香港中文大学卢煜明教授发现孕妇外周血血浆中存在胎儿游离的 DNA,可以用作无创性产前诊断的理想检测物<sup>[1]</sup>。无创产前检测(NIPT)技术即是运用高通量测序技术对母体外周血浆中的游离 DNA 片段进行测序,并将测序结果进行生物信息学分析,从中获得胎儿的遗传信息,进而对 21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征、性染色体异常进行筛查,也可用于提示其他染色体的数目或结构异常。本研究通过利用染色体核型分析技术和染色体微阵列分析(CMA)对 NIPT 高风险结果进行验证,旨在探讨 NIPT 在产前筛查中的应用价值,并为遗传咨询提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 1 月至 2018 年 9 月因 NIPT 高风险来本院就诊并进行介入性检测的孕妇 189 例,其中 2 例为双胎妊娠,孕妇年龄 20~45 岁,孕周 15~35 周。

### 1.2 方法

**1.2.1 染色体制备** 所有孕妇签署知情同意书后在 B 超引导下经腹进行穿刺抽取羊水或脐血。羊水抽取 20~30 mL,1 300 r/min 离心 10 min,去上清液留沉淀 1~2 mL,分别加入 5 mL CHANG 和 BI 培养基,5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱静止培养 7 d 后观察换液,培养 9~10 d 后常规收获细胞、制片、G 显带。脐带血抽取 1~2 mL,常规接种培养 3 d 后收获、制片、显带。每份标本至少计数 30 个分裂象,分析 5 个核型。

**1.2.2 CMA** 基因组 DNA 的提取采用 QIA-GEN 公司生产的 Qiamp DNA Blood Mini Kit 进行,检测采用 Affymetrix 公司 Cytoscan 750K 芯片对全基因组已知基因区域的拷贝数变异进行分析,严格按照试剂操作说明书进行试验,检测结果使用 ChAS 软件进行分析。

## 2 结果

**2.1 NIPT 检测结果** NIPT 高风险孕妇共 189 例,其中提示 21-三体综合征高风险最多,为 63 例,构成为 33.33%(63/189);其次,提示性染色体异常 62 例,构成为 32.80%(62/189);提示 18-三体综合征高风险、13-三体综合征高风险、其他常染色体数目异常和染色体结构异常分别为 25、18、14、9 例,构成比分别为 13.23%(25/189)、9.52%(18/189)、7.41%(14/189)、4.76%(9/189)。其中 1 例既提示 9 号染色体数目增加也提示 X 染色体数目偏多,1 例既提示 18-三体综合征高风险也提示 18 号染色体存在 4.5 Mb 重复。

**2.2 NIPT 结果与染色体核型分析结果对比** 将

NIPT 结果与染色体核型分析结果进行对比,189 例 NIPT 提示高风险者染色体核型分析检出异常 129 例,检出率为 68.25%。其中提示 21-三体综合征的阳性预测值最高,为 87.30%,其他染色体数目异常的阳性预测值最低,为 7.14%,具体结果见表 1。2 例双胎妊娠中 1 例提示 21-三体综合征高风险,结果双胎之一为 21-三体综合征,另一胎核型正常;另外 1 例提示性染色体异常,结果双胎之一为 47,XXY,另一胎核型正常。NIPT 提示的高风险情况与染色体核型分析结果除假阳性外基本一致,但 3 例存在不一致情况。见表 2。

表 1 NIPT 高风险胎儿染色体核型异常情况统计

| NIPT 高风险情况  | 孕妇例数 | 染色体核型异常例数 | 阳性预测值 (%) |
|-------------|------|-----------|-----------|
| 21-三体综合征高风险 | 63   | 55        | 87.30     |
| 18-三体综合征高风险 | 25   | 21        | 84.00     |
| 13-三体综合征高风险 | 18   | 11        | 61.11     |
| 性染色体数目异常    | 62   | 37        | 59.68     |
| 其他染色体数目异常   | 14   | 1         | 7.14      |
| 结构异常        | 9    | 4         | 44.44     |

表 2 NIPT 与核型分析不一致情况

| NIPT 提示风险情况 | 羊水核型结果                  |
|-------------|-------------------------|
| 胎儿性染色体异常    | 47,XN,+21[51]/46,XX[49] |
| 18-三体综合征高风险 | 47,XN,+21               |
| X 染色体数目增加   | 47,XN,+21               |

**2.3 NIPT 提示其他染色体数目异常的染色体核型分析** NIPT 提示其他染色体数目异常者共 14 例,其中提示 9 号染色体增加最多,为 3 例,8 号、16 号增加各 2 例,3 号、4 号、7 号、11 号、20 号增加各 1 例,5 号、20 号数目减少各 1 例。染色体核型结果只证实其中 1 例 9 号染色体数目增加,且为嵌合体。另 1 例提示 9 号染色体数目增加,核型分析计数 100 个分裂象均未发现 9 号染色体数目增加,CMA 结果提示 9 号染色体拷贝数未见异常,但分型结果存在异常,结合 NIPT 结果提示 9 号三体,其原因猜测可能是由于嵌合型 9 号三体发生自救,从而导致嵌合型单亲二倍体。

**2.4 NIPT 提示结构异常的染色体和 CMA 结果分析** NIPT 提示 9 例存在结构异常,经染色体核型和 CMA 联合检测检出 4 例异常,5 例为假阳性。其中 2 例三者结果一致;1 例 NIPT 与 CMA 结果一致,但核型检测只检测到 1 号染色体缺失未能检测到 10 号染色体重复;另 1 例 NIPT 提示 11 号染色体部分重复,核型结果为 47,XN,+mar,CMA 除检测到 11 号染

染色体重复之外还检测到 22 号染色体部分重复。见表 3。

表 3 NIPT 提示结构异常的核型和 CMA 结果比较

| NIPT 结果   | 核型结果                     | CMA   | 结局  |
|---|--------------------------|---|-----|
| 18 号染色体存在 16 Mb 左右缺失  | 46,XN,del(18)(q21.3)     | 18q21.33q23(59,796,564-76,083,117)×1 缺失 16.3 Mb   | 引产  |
| 1 号染色体存在 18.94 Mb 缺失  | 46,XN,del(1)(p22.3p31.2) | 1p31.2p22.3(68,503,708-87,921,234)×1 缺失 19.4 Mb   | 引产  |
| del(20)(q11.21q13.2):20 号染色体存在 21.78 Mb 缺失  | 46,XN                    | 未检测出异常  | 剖宫产 |
| del(1)(p36.12p36.33) dup(10)(p13p15.3):1 号染色体存在 20.56 Mb 缺失,10 号染色体存在 15.49 Mb 重复 | 46,XN,del(1)(p36.3)      | 1p36.33p36.13(849,466-17,612,267)×1,10p15.3p13(100047-14400380)×3,1 号染色体缺失 16.8 Mb,10 号染色体重复 14.3 Mb        | 引产  |
| 18-三体综合征高风险,18 号染色体存在 4.5 Mb 重复   | 46,XN                    | 未检测出异常  | 剖宫产 |
| 8 号染色体存在 41.06 Mb 左右重复  | 46,XN                    | 未检测出异常  | 失访  |
| dup(11q23.3-q25.17.57 Mb):11 号染色体存在 17.57 Mb 重复                                   | 47,XN,+mar               | 11q23.3q25(116,683,754-134,437,416)×3,22q11.1q11.21(16,888,899-20,312,661)×3,11 号重复 18.3Mb,22 号染色体重复 3.4 Mb | 引产  |
| dup(13q14.3-q21.2,8.47Mb):13 号染色体存在 8.47 Mb 重复                                    | 46,XN                    | 未检测出异常  | 顺产  |
| 14 号染色体存在 5.2 Mb 左右缺失   | 46,XN                    | 未检测出异常  | 顺产  |

### 3 讨 论

NIPT 作为一种近似于诊断的筛查现已广泛应用于临床,它具有较高的灵敏度和特异度,但也存在一定的假阳性和假阴性。既往的研究报道结果差异较大,但基本上 21-三体综合征的阳性预测值最高,达到 84.21%~97.60%,性染色体的阳性预测值为 35.29%~71.40%,由于 18-三体综合征、13-三体综合征的研究例数较少,差异更为明显。在本研究中 21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征及性染色体异常的阳性预测值与既往文献报道基本一致<sup>[2-3]</sup>。

NIPT 存在一定的假阳性、假阴性,原因众多。由于 NIPT 检测的游离 DNA 包括母体游离 DNA 和胎儿游离 DNA,所以母体游离 DNA 异常而胎儿游离 DNA 正常会导致假阳性,如果孕妇本身有体细胞嵌合<sup>[4]</sup>、存在拷贝数变异<sup>[5]</sup>,以及接受过输血、移植、细胞治疗或孕妇本身患肿瘤<sup>[6]</sup>均有可能导致假阳性。胎儿游离 DNA 主要来源于胎盘滋养层细胞,然而在 1%病例中,这层细胞的染色体与胎儿染色体并不一致,在胎儿染色体正常时细胞滋养层可以是异常的。这种胎儿与胎盘之间的差异也可引起 NIPT 结果的假阳性。这种不一致原因可能是限制性胎盘嵌合<sup>[7]</sup>和双胎之一消失<sup>[8]</sup>。母体血循环中的游离 DNA 约 10%~15%源自胎儿<sup>[9]</sup>,其水平随妊娠周数的增大而

增多,在分娩后 2 h 即完全降解,如果 NIPT 检测时孕周过小,胎儿游离 DNA 水平过低,母体的游离 DNA 掩盖了胎儿 DNA 会导致假阴性结果,限制性胎盘嵌合也有可能引起假阴性结果。此外结果的判读也是通过设定阈值而区分阴性和阳性,因此难免会产生错误的结果。在本研究中 3 例 NIPT 提示高风险情况与核型异常结果不一致可能与胎盘嵌合及不同胚层的染色体嵌合有关,需要进一步分析。

在 NIPT 检测中双胎妊娠属于慎用人群,但越来越多的人由于惧怕有创的流产风险更愿意选择无创的 NIPT。目前的一些研究发现 NIPT 对于双胎妊娠仍有较好的检出率<sup>[10]</sup>。在本研究中有 2 例双胎 NIPT 均提示异常,结果经染色体核型分析证实双胎之一异常,这说明 NIPT 检测双胎妊娠是产前筛查的一种新选择,将其投入临床应用具有一定可行性,这与王佳燕等<sup>[11]</sup>研究结果相一致。

NIPT 还可以检测除 21、18、13、X、Y 染色体之外的其他染色体数目异常。最近有文献报道 1 例病例 NIPT 检测到嵌合型 9 号三体,而脐血染色体核型未检出异常,但胎儿出生后患儿颊黏膜细胞、外周血淋巴细胞培养前血液标本荧光原位杂交技术(FISH)检测证实为嵌合型 9 号染色体三体<sup>[12]</sup>。在本研究中也检出 1 例嵌合型 9 号染色体三体。另外 1 例 NIPT 提示 9 号三体,核型正常,但 9 号染色体 CMA 分型异

常。这反映出 NIPT 对检测胎儿常见非整倍体以外的染色体异常也有广阔的应用前景。但 NIPT 提示三体高风险而核型分析正常时要警惕染色体发生三体自救丢失一条染色体而出现单亲二倍体的可能。

此外,NIPT 在提示染色体结构异常中也发挥重要作用。研究表明微缺失、微重复在母体染色体正常的胎儿中发生率可达 1%~1.7%<sup>[13]</sup>,而且它的发生率与孕妇年龄无关,即使在年轻孕妇中子代发生微缺失、微重复的风险也很可能高于发生唐氏综合征的风险<sup>[14]</sup>。传统的染色体核型分析仅能检测到大于 5~10 Mb 的缺失和重复,因此 NIPT 对染色体结构异常的提示变得异常重要。然而 NIPT 对结构异常的检测存在一定的假阳性率,结果需要进行验证。国际产前诊断学会也针对 NIPT 检测在 2015 年更新了指南,表示 NIPT 扩展检测应当限定在研究清楚的微缺失微重复综合征范围内,并需要结合临床<sup>[15]</sup>。如果 NIPT 提示缺失、重复这样的结构异常,可以选择染色体核型分析和 CMA 联合检测模式,以防对那些微小的缺失、重复造成漏诊。此外,NIPT 和 CMA 的检测还可以提示标记染色体的来源。

NIPT 出现假阳性可以通过进一步的染色体核型分析及 CMA 进行检出,然而出现假阴性常常是 B 超发现异常或胎儿出生后才发现的,因此要重视假阴性的发生。本实验室有 1 例高龄孕妇,经 NIPT 检测提示低风险,然后 NT 检查提示增厚,进一步核型检测,结果为 45,X。发生假阴性的原因一方面可能是胎儿 DNA 水平较低或限制性胎盘,另一方面考虑母体有 47,XXX 的可能,但母亲并未进行染色体核型检查。

综上所述,NIPT 具有较高的灵敏度和特异度,在产前筛查中具有很大的应用价值,但是仍存在一定的假阳性、假阴性,因此 NIPT 提示高风险的孕妇不能根据 NIPT 的结果决定胎儿的去留,仍需要进行有创的细胞遗传和分子遗传来确诊。

### 参考文献

[1] LO Y M, CORBETTA N, CHAMBERLAIN P F, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. *Lancet*, 1997, 350(9076): 485-487.

[2] 陈小露, 葛运生, 郭奇伟, 等. 202 例 NIPT 高风险孕妇羊水细胞染色体核型分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26(8): 34-36.

[3] 卢建, 侯亚萍, 黄伟伟, 等. 471 例 NIPT 阳性孕妇产前诊断结果分析[J/CD]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2017, 9(4): 14-17.

[4] BIANCHI D W, PARSA S, BHATT S, et al. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing

clinical laboratory experience and biology[J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 125(2): 375-382.

[5] SNYDER M W, SIMMONS L E, KITZMAN J O, et al. Copy-Number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(17): 1639-1645.

[6] BIANCHI D W, CHUDOVA D, SEHNERT A J, et al. Noninvasive prenatal esting and incidental detection of occult maternal malignancies[J]. *JAMA*, 2015, 314(2): 162-169.

[7] LAU T K, JIANG F M, STEVENSON R J, et al. Secondary findings from non-invasive prenatal testing for common fetal aneuploidies by whole genome sequencing as a clinical service[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(6, SI): 602-608.

[8] CURNOW K J, WILKINS-HAUG L, RYAN A A, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 212(1): 79. e1-79. e9.

[9] ASHOOR G, SYNGELAKI A, WAGNER M, et al. Chromosome-selective-sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 206(4): 322. e1-322. e5.

[10] HUANG X, ZHENG J, CHEN M, et al. Noninvasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2014, 34(4): 335-340.

[11] 王佳燕, 陈敏, 吴莉, 等. 无创产前基因检测双胎 21、18 和 13-三体综合征的应用研究[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(5): 497-501.

[12] MA J, CRAM D S, ZHANG J, et al. Birth of a child with trisomy 9 mosaicism syndrome associated with paternal isodisomy 9: case of a positive noninvasive prenatal test result unconfirmed by invasive prenatal diagnosis[J]. *Mol Cytogenet*, 2015, 8: 44-51.

[13] WAPNER R J, MARTIN C I, LEVY B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(23): 2175-2184.

[14] WAPNER R J, BABIARZ J E, LEVY B, et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 212(3): 332. e1-332. e9.

[15] GUEX N, ISELI C, SYNGELAKI A, et al. A robust second generation genome-wide test for fetal aneuploidy based on shotgun sequencing cell-free DNA in maternal blood[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(7): 707-710.