

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.022

染色体核型分析联合染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用价值

谭满胜¹, 李祝坤¹, 唐玉芬¹, 黎洛冰², 聂俊玮¹, 谢清丰¹

广东省茂名市妇幼保健院:1. 遗传优生优育科;2. 产前诊断中心, 广东茂名 525000

摘要:目的 评估染色体核型分析联合染色体微阵列分析(CMA)技术应用于产前诊断的临床价值。方法 回顾性分析 2019 年 1 月至 2021 年 6 月在该院接受羊水染色体核型分析及 CMA 技术检测的 224 例孕妇资料,对两种方法获得的检测结果进行比较和分析。结果 染色体核型分析检测成功 223 例,成功率为 99.55%,CMA 技术检测全部成功,成功率为 100.00%。两种检测方法共检出染色体异常 31 例,其中 18 例两种检测方法检测结果一致,包括 21-三体综合征 7 例,18-三体综合征 3 例,性染色体数目异常 5 例,染色体缺失 2 例,染色体重复 1 例;有 4 例两种检测方法检测结果不一致;此外,染色体核型分析漏检 6 例,分别为染色体微缺失 4 例及染色体微重复 2 例,CMA 技术检测漏检 3 例,分别为染色体易位 2 例及性染色体嵌合 1 例。结论 用染色体核型分析联合 CMA 技术进行产前诊断,可提高染色体异常检出率,有助于在产前遗传咨询中对胎儿是否健康作出较为准确的诊断,为孕妇是否继续妊娠提供更加客观的依据。

关键词:染色体核型分析; 染色体微阵列分析技术; 产前诊断; 联合检测; 应用价值

中图分类号:R715.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)15-2108-04

Application value of chromosome karyotyping combined with chromosome microarray analysis technology in prenatal diagnosis

TAN Mansheng¹, LI Zhukun¹, TANG Yufen¹, LI Luobing², NIE Junwei¹, XIE Qingfeng¹

1. Department of Genetics and Eugenics; 2. Department of Prenatal Diagnosis, Maoming Maternal and Child Health Hospital, Maoming, Guangdong 525000, China

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of chromosome karyotyping combined with chromosome microarray analysis (CMA) technology in prenatal diagnosis. **Methods** The data of totally 224 pregnant women who received chromosome karyotyping analysis of amniotic fluid and CMA technology from January 2019 to June 2021 in the hospital were retrospectively analyzed. The test results obtained by the two methods were compared and analyzed. **Results** Totally 223 cases were successfully detected by chromosome karyotyping analysis, and the success rate was 99.55%. All cases were successfully detected by CMA technique, and the success rate was 100.00%. A total of 31 cases of chromosome abnormalities were detected, the results of the two methods were consistent in 18 cases, including 7 cases of trisomy 21, 3 cases of trisomy 18, 5 cases of sex chromosome aneuploidies, 2 cases of chromosome deletions, and 1 case of chromosome duplication. The results of the two methods were inconsistent in 4 cases. In addition, 6 fetuses with chromosomal abnormalities detected by CMA were missing by karyotyping analysis including 4 cases of chromosome microdeletions and 2 cases of chromosome microduplications, 3 fetuses with chromosomal abnormalities detected by karyotyping analysis were missing by CMA, including 2 cases of chromosome translocations and 1 case of sex chromosome mosaicism. **Conclusion** Chromosome karyotyping analysis combined with CMA technology for prenatal diagnosis could improve the detection rate of chromosome abnormalities, help to make a more accurate diagnosis of fetal health in prenatal genetic counseling, and provide a more objective basis for pregnant women to continue pregnancy.

Key words: chromosome karyotyping analysis; chromosome microarray analysis technology; prenatal diagnosis; combined detection; application value

目前,随着社会的进步和大众生活水平的提高,人们自身的健康意识在不断加强,保障下一代健康也被越来越多的人所关注^[1-2]。染色体疾病如 21-三体综合征、性染色体非整倍体等可导致先天性畸形胎儿

的出现,使得部分高危妊娠孕妇想生育一个健康的宝宝成为亟待解决的难题^[3-4]。传统的染色体核型分析能够检出染色体数目及结构性异常,已被广泛应用于产前诊断,但这种检测方法存在一定的局限性,即对

<10 Mb 的异常染色体片段无法进行识别^[5-6]。染色体微阵列分析(CMA)技术是一种近年来出现的能够扫描整个基因组的新型遗传学检测技术,其在产前检测中较染色体核型分析能够更精准地发现染色体区域的拷贝变异,尤其是微小缺失和重复^[7-8]。目前对两种检测方法联合用于产前检测的临床研究还较少,难以形成有效的循证医学依据。因此,笔者对本院 224 例同时接受染色体核型分析及 CMA 技术检测的孕妇临床资料进行回顾性分析,旨在探讨这两种检测方法联合应用对产前诊断的价值,以期为其在临床的广泛应用提供一定的参考及支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 1 月至 2021 年 6 月于本院接受孕中期侵入性产前诊断的 224 例孕妇,年龄 26~42 岁,平均(34.27±2.56)岁;孕周 18~24 周,平均(22.04±1.82)周。孕妇接受侵入性产前诊断的指征如下:(1)高龄(年龄≥35 周岁);(2)超声检查提示胎儿影像结构存在异常;(3)血清学筛查结果为高风险;(4)无创产前检测结果提示异常;(5)夫妻至少有一方存在染色体异常或不良孕产史;(6)孕期不良接触史。接受侵入性产前诊断的孕妇至少满足以上一项指征。本研究所有纳入对象知情同意,且本研究通过了本院医学伦理委员会的审查。

1.2 方法

1.2.1 羊水标本的获取 在超声探头的引导下对每例孕妇行羊膜腔穿刺,抽取羊水约 30 mL,分取约 20 mL 供染色体核型分析使用,剩余 10 mL 供 CMA 技术检测使用。

1.2.2 染色体核型分析 分取的羊水在无菌条件下进行常规培养、收获、制片、G 显带等操作,染色体核型分析参照人类细胞遗传学国际命名体系(ISCN2016)进行判读。

1.2.3 CMA 技术检测 按照相关试剂盒说明书操作进行,依次为 DNA 的提取、酶切消化、连接、PCR 扩增、纯化、片段化处理、标记、芯片杂交、洗涤、染色及扫描。所采用微阵列芯片为 Affymetrix 公司的

Cytoscan750K Array,通过实验室内数据库及在线公共数据库进行查询,根据芯片扫描结果对染色体拷贝数变异的致病性进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件进行数据处理及统计分析。计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种检测方法的染色体异常检出情况 结果显示,染色体核型分析检测成功 223 例,成功率为 99.55%,因羊水培养失败 1 例,共检出染色体异常 25 例,其中染色体数目异常 13 例,染色体拷贝数变异 3 例,染色体易位 6 例,嵌合体 3 例,染色体异常检出率为 11.21%(25/223);CMA 技术检测全部成功,成功率为 100.00%,共检出染色体异常 28 例,其中染色体数目异常 14 例,染色体拷贝数变异 10 例,嵌合体 4 例,染色体异常检出率为 12.50%(28/224);染色体核型分析联合 CMA 技术检测共检出染色体异常 31 例,染色体异常检出率为 13.84%(31/224),其中 18 例两种检测方法检测结果一致,包括 21-三体综合征 7 例,18-三体综合征 3 例,性染色体数目异常 5 例,染色体缺失 2 例,染色体重复 1 例;两种检测方法染色体异常检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 不同产前诊断指征孕妇的染色体异常检出情况 不同产前诊断指征孕妇的染色体异常检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中夫妻一方染色体异常的孕妇、无创产前检测结果异常及超声异常的孕妇染色体异常检出率最高,分别为 35.71%(5/14)、21.88%(14/64)和 12.90%(12/93)。

2.3 两种检测方法漏检及检测结果不一致的情况 有 6 例染色体核型分析漏检,其结果显示正常,而 CMA 技术检测结果提示存在染色体拷贝数变异,分别为染色体微缺失 4 例及染色体微重复 2 例,见表 1;有 3 例 CMA 技术检测漏检,其结果显示正常,而染色体核型分析结果显示异常,分别为染色体平衡易位 2 例及性染色体嵌合 1 例,见表 2;有 4 例两种检测方法检测结果不一致,均为染色体嵌合体,见表 3。

表 1 6 例染色体核型分析漏检结果

产前诊断指征	CMA 技术检测结果	片段长度	变异类型	所涉及基因及相关综合征	妊娠结局
超声异常	arr22q11.21(18 908 378-21 471 264)×1	2.56 Mb	已知致病	22q11.2 缺失综合征	终止妊娠
无创产前检测结果异常	arr16q12.2(22 723 569-21 461 354)×1	680.46 kb	已知致病	16q12.1 缺失综合征	终止妊娠
超声及无创产前结果异常	arr1p36.25p36.34(826 221-8 606 402)×1	7.62 Mb	已知致病	1p36 缺失综合征	终止妊娠
超声异常	arrXp22.3(11 806 972-12 455 438)×2	650.38 kb	已知致病	HCCS,AMELX	终止妊娠
无创产前检测结果异常	arr10q22.6q22.4(90 637 886-66 791 766)×3	7.54 Mb	疑似致病	APTEN,BMPRI	终止妊娠
不良孕产史及超声异常	arr17p12(16 074 851-14 765 582)×1	1.46 Mb	疑似致病	遗传性压力易感性周围神经病	终止妊娠

表 2 3 例 CMA 技术检测漏检结果

产前诊断指征	染色体核型分析结果	变异类型	妊娠结局
夫妻一方染色体异常	45,XN,rob(13;14)(q10;q10)	遗传	继续妊娠
夫妻一方染色体异常	45,XN,t(4;5)(q25;q33)	遗传	继续妊娠
无创产前检测结果异常	45,X[13]/46,XX[37]	突变	终止妊娠

表 3 4 例嵌合体染色体核型及 CMA 技术检测结果

产前诊断指征	染色体核型分析结果	CMA 技术检测结果	妊娠结局
无创产前检测结果异常	46,XN	15 号染色体存在异常,嵌合比例 30%	继续妊娠
无创产前检测结果异常	47,XN,mar[31]/46,XN[24]	9p13.1p 21.1 重复 10.55 Mb	终止妊娠
无创产前检测结果异常	46,XN	22 号染色体存在异常,嵌合比例 25%	继续妊娠
孕期不良接触史	46,XN	18 号染色体存在异常,嵌合比例 53%	终止妊娠

3 讨 论

染色体核型分析可作为高危孕妇产前诊断的一项“金标准”,其不仅可以检测染色体数目异常,也可以检测染色体重组、缺失等结构变异,但该检测方法却存在一定局限性,如待检标本需要进行细胞培养,检测过程操作程序较为复杂,对操作人员技术要求较高等,因此常有检测不成功的病例出现^[9-10]。此外,有报道表明,染色体核型分析无法有效识别染色体微缺失及微重复等微小变异^[11-12]。CMA 技术是一项能够对全基因组进行扫描、检测的新型遗传信息筛查技术,其较染色体核型分析具有更高的灵敏度和分辨率,目前已被广泛应用于高危孕妇的产前诊断,但有报道称,CMA 技术无法有效检出染色体易位、倒位等异常^[13-14]。因此,从理论上讲,染色体核型分析联合 CMA 技术检测可能会有效提升染色体异常的检出率,但目前鲜见相关的临床研究,因此,笔者回顾性地分析了本院同时接受染色体核型分析及 CMA 技术检测的 224 例高危孕妇的临床资料,以探究这两种检测方法联合应用于产前诊断的临床价值。

本研究结果显示,染色体核型分析共检出染色体异常 25 例,因羊水培养失败 1 例,故染色体异常检出率为 11.21%(25/223);CMA 技术共检出染色体异常 28 例,染色体异常检出率为 12.50%(28/224),两种检测方法染色体异常检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$),这与杜柳等^[15]的研究结果基本一致。染色体核型分析联合 CMA 技术检测共检出染色体异常 31 例,染色体异常检出率为 13.84%(31/224),与两种检测方法单独应用时的异常检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。这可能与本研究样本量较小有关,但值得注意的是,即使是异常检出率的微小提升,对个体的优生优育也具有十分重要的意义。

本研究中有 6 例染色体核型分析结果显示正常

而 CMA 技术检测结果提示存在异常,其中有 2 例为疑似致病变异,1 例无创产前检测结果异常的孕妇经 CMA 技术检测提示存在染色体片段微重复,目前已有病例报道小儿语言、运动、发育迟缓,以及颜面畸形等与该片段重复相关^[16-17],经遗传咨询后,孕妇本人选择终止妊娠;另 1 例存在不良孕产史及超声显示异常的孕妇经 CMA 技术检测提示存在染色体片段微缺失,有报道称该片段区域所涉及基因与遗传性压力易感性周围神经病相关^[18],经遗传咨询后,孕妇本人同样选择终止妊娠。此外,有 3 例 CMA 技术检测结果为正常,而染色体核型分析结果显示染色体平衡易位(2 例)及性染色体嵌合(1 例)。有报道表明,部分染色体平衡易位经 CMA 技术复测发现为非平衡^[19-20]。因而对于染色体核型分析结果显示平衡易位的标本,建议用 CMA 技术进一步检测,以排除染色体核型分析难以发现的微重复或缺失。上述 2 例平衡易位均源自亲代遗传,经 CMA 技术复检确认无异常后,2 例孕妇选择继续妊娠。本研究存在 4 例两种检测方法结果不一致的情况,且均为染色体嵌合体。有研究结果表明,CMA 技术难以确保将≤30%的染色体嵌合体完全检出,即使能够检出,检测结果也有待商榷^[21-22]。本研究中有 2 例孕妇无创产前检测结果异常,经 CMA 技术检测到分别存在 30%及 25%的染色体嵌合体,随后行 FISH 检测及脐带血染色体核型分析,结果均提示正常,因此这 2 例孕妇选择了继续妊娠。行染色体核型分析的标本需要进行羊水细胞培养,一方面在培养的过程中正常羊水细胞生长速率明显优于异常细胞,另一方面可能由于操作分析人员计数的误差,导致部分嵌合体不易被检出,而无需进行细胞培养的 CMA 技术检测结果可能更加真实。本研究中,1 例孕妇染色体核型结果显示正常,而 CMA 技术检测结果提示 18 号染色体存在 53%的染色体嵌合

体,结合胎儿超声影像的异常表现,该例孕妇经遗传咨询后选择终止妊娠。

综上所述,染色体核型分析与 CMA 技术检测均能够有效检测出明显的胎儿染色体异常,如非整倍体及片段较大的不平衡重排。采用 CMA 技术检测无需进行羊水细胞培养,操作较为省时、便捷,出具报告周期短,且在检测染色体微缺失和微重复方面具有更高的灵敏度和准确性,但其仍存在无法检出染色体平衡易位、倒位及低比例的嵌合体等局限性,因此,染色体核型分析与 CMA 技术联合应用于高危孕妇的产前诊断具有良好的互补性,能够提高胎儿染色体异常检出率,可为孕妇及其家人提供有价值的产前遗传咨询信息。

参考文献

[1] 徐翠香,靳占奎,张丽洁,等. 优生优育检查中 TORCH 抗体检测的临床意义[J]. 检验医学与临床,2019,16(12):1650-1652.

[2] 王茜,吴敏,李秀伶,等. 抗苗勒管激素在优生优育检测应用中的临床研究[J]. 河北医药,2019,41(3):435-438.

[3] 姚润斯,马容,揭深秋,等. 无创产前基因检测在胎儿性染色体疾病筛查中的应用[J]. 中国产前诊断杂志,2020,12(1):19-24.

[4] ELLIOTT D J, DALGLIESH C, HYSENAJ G, et al. RB-MX family proteins connect the fields of nuclear RNA processing, disease and sex chromosome biology[J]. Intern J Biochem Cell Biol, 2019, 108: 1-6.

[5] 周月云,张庆娥,董晶晶,等. 880 例不同产前诊断指征孕妇羊水穿刺胎儿染色体核型的对比分析[J]. 中国现代医学杂志,2020,30(10):33-37.

[6] SHAH M S, CINLIOGLU C, MAISENBACHER M, et al. Comparison of cytogenetics and molecular karyotyping for chromosome testing of miscarriage specimens[J]. Fertil Steril, 2017, 107(4):1028.

[7] 朱湘玉,刘威,顾雷雷,等. 染色体微阵列分析在单纯不良孕产史孕妇产前诊断中的应用[J]. 中华围产医学杂志,2021,24(6):423-426.

[8] HE M, ZHANG Z, HU T, et al. Chromosomal microarray analysis for the detection of chromosome abnormalities in fetuses with echogenic intracardiac focus in women without high-risk factors[J]. Medicine, 2020, 99(5):e19014.

[9] 温树国,张颖,温艳. 细菌人工染色体微珠联合染色体核

型分析在产前诊断中的价值研究[J]. 标记免疫分析与临床,2020,27(3):462-465.

[10] 王念,林立,周燕虹,等. 中国西南地区 6 907 例外周血染色体核型分析[J]. 现代医学,2020,48(9):91-96.

[11] 邱惠国,潘华,张栋栋,等. 厦门地区 2 947 例遗传咨询者的染色体核型分析[J]. 检验医学与临床,2019,16(4):15-17.

[12] 玛依拉·阿不都热依木,米热古丽·买买提. 儿童染色体异常核型分析进展[J]. 中国优生与遗传杂志,2020,28(7):6-8.

[13] 易凤梅,冯宗辉,黄乙亿,等. 染色体微阵列分析技术(CMA)在产前诊断中的应用研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2020,28(1):29-32.

[14] 姜楠,张印帅,俞冬熠. 染色体微阵列分析技术在核型正常的颈部透明层增厚胎儿产前诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志,2019,54(10):687-691.

[15] 杜柳,何苗,王晔,等. 染色体微阵列分析在持续性左上腔静脉胎儿中的临床应用[J]. 中山大学学报(医学版),2019,40(3):459-466.

[16] BON B, BALCIUNIENE J, FRUHMANN G, et al. The phenotype of recurrent 10q22q23 deletions and duplications[J]. Eur J Human Gen, 2011, 19: 400-408.

[17] 吴淑花,姚吉龙,刘洋,等. 染色体微阵列分析技术在早期自然流产胚胎遗传学检测中的价值[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(7):17-18.

[18] 张怡琳,范成河,赵莘瑜,等. 遗传性压力易感性周围神经病三例报道并文献复习[J]. 实用心脑血管病杂志,2021,29(12):116-120.

[19] 邢娅,熊诗诣,袁美贞,等. 一个家族性隐匿平衡易位导致的 Wolf-Hirschhorn 综合征家系的产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志,2019,36(7):682-685.

[20] 傅文婷,赵文忠,江惠华,等. 11 例 t(11;22)(q23;q11)染色体平衡易位患者的临床与遗传学分析[J]. 重庆医学,2018,47(20):2700-2702.

[21] 胡建成,席惠,马娜,等. 单绒毛膜双羊膜囊双胞胎之一为 45,X/46,XX 嵌合体的产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志,2019,36(3):260-262.

[22] 吴坚柱,谢英俊,陈宝江. 单核苷酸多态微阵列芯片误诊 9p 四体嵌合体胎儿一例[J]. 中华医学遗传学杂志,2015,32(6):830-833.

(收稿日期:2021-11-23 修回日期:2022-03-28)