

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.10.007
文章编号: 1005-8982(2020)10-0033-05

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*

周月云¹, 张庆娥¹, 董晶晶¹, 李敏¹, 曹森杨²

(1. 盐城市妇幼保健院 产前诊断中心, 江苏 盐城 224007; 2. 淮安市妇幼保健院
不孕不育科, 江苏 淮安 223002)

摘要: 目的 探讨产前不同诊断指征与孕妇羊水穿刺胎儿核型的关系, 为产前诊断提供较为准确的遗传咨询。**方法** 选取2017年7月—2019年7月在盐城市妇幼保健院就诊的有产前诊断指征的孕妇880例作为研究对象。其中, 存在不良妊娠史93例、夫/妻染色体异常9例、超声异常129例、高龄孕妇226例及血清筛查高风险423例。所有孕妇进行羊水腹腔穿刺, 获取羊水细胞, 染色体核型分析采用染色体微阵列分析(CMA)。比较不同产前诊断指征下, 胎儿染色体核型异常情况。**结果** 存在不良妊娠史、夫/妻染色体异常、超声异常、高龄孕妇及血清筛查高风险等各指征胎儿染色体核型异常例数分别为4、9、8、10及25例, 发生率分别为4.30%、100%、6.20%、4.42%及5.91%, 总检出率为6.36%。染色体核型异常构成包含染色体数目异常25例及多态性变异31例, 染色体数目异常检出率为44.64%(25/56)低于多态性变异检出率55.36%(31/56)($P < 0.05$)。其中, 染色体数目异常包含21-3体9例、18-3体6例、13-3体5例、性染色体3例及常染色体2例, 分别占总异常例数的16.07%、10.71%、8.93%、5.36%及3.57%。多态性变异包含染色体微缺失12例、微重复19例, 分别占总异常例数的21.43%和33.93%。不同产前指征下, 胎儿染色体数目异常共25例, 均接受意见引产。染色体微缺失/微重复各检出致病性病例2例, 共4例。引产1例, 正常妊娠3例, 胎儿均出现异常。其余案例均意义不明, 正常妊娠后胎儿未发现异常。染色体数目缺失均为数据库有关病例。**结论** 对具有产前诊断指征的孕妇采用CMA检测胎儿染色体, 能够更准确地检出多态性变异, 并发现致病性变异, 将其记录入数据库, 可以提供更为准确的遗传咨询。

关键词: 胎儿疾病; 遗传变异; 产前诊断; 穿刺抽液术

中图分类号: R729

文献标识码: A

Comparative analysis of fetal chromosome karyotypes with amniotic fluid puncture in 880 pregnant women with different prenatal diagnosis indications*

Yue-yun Zhou¹, Qing-e Zhang¹, Jing-jing Dong¹, Min Li¹, Sen-yang Cao²

(1. Prenatal Diagnosis Center, Yancheng Maternal and Child Health Hospital, Yancheng, Jiangsu 224007, China; 2. Department of Infertility, Huai'an Maternal and Child Health Hospital, Huai'an, Jiangsu 223002, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between different prenatal diagnosis indications and fetal

收稿日期: 2019-12-16

* 基金项目: 盐城市医学科技发展计划项目 (No: YK2016040)

[通信作者] 曹森杨, E-mail: Yxys898010@126.com; Tel: 13605237492

karyotypes of amniocentesis in pregnant women, and to provide more accurate genetic counseling for prenatal diagnosis. **Methods** Total of 880 pregnant women with prenatal diagnosis indications who were treated in our hospital from July 2017 to July 2019 were selected. Among them, there were 93 cases of abnormal pregnancy history, 9 cases of chromosomal abnormality of husband/wife, 129 cases of ultrasound abnormality, 226 cases of elderly pregnant women and 423 cases of high risk of serum screening. All pregnant women underwent abdominal amniocentesis to obtain amniotic fluid cells. Karyotype analysis was performed using chromosome microarray analysis (CMA). The fetal chromosome karyotype was compared under different prenatal diagnostic indications. **Results** The number of abnormal fetal chromosome karyotypes for each indication was 4, 9, 8, 10, and 25, with incidence rates of 4.30%, 100%, 6.20%, 4.42%, and 5.91% respectively, and the total detection rate was 6.36%. The chromosome karyotypes abnormalities included 25 of abnormal chromosome number and 31 of polymorphic variation. The detection rate of abnormal chromosome number was 44.64% (25/56), which was lower than that of polymorphism variation 55.36% (31/56) ($P < 0.05$). Among them, chromosome number abnormality included 9 cases of 21 trisomy chromosomes, 6 cases of 18 trisomy chromosomes, 5 cases of 13 trisomy chromosomes, 3 cases of sex chromosomes and 2 cases of autosomes, accounting for 16.07%, 10.71%, 8.93%, 5.36% and 3.57% of the total abnormal cases respectively. There were 12 cases of chromosome microdeletion and 19 cases of microduplication in polymorphic variation, 21.43% and 33.93% of total abnormal cases, respectively. There were 25 abnormal fetal chromosome numbers under different prenatal indications, and all patients accepted opinions to induce labor. There were both 2 pathogenicity of chromosomal microdeletion/microduplication, 4 in total. The fetus were abnormal in 3 normal pregnancy and 1 induced labor. The other cases were of unknown significance. No abnormality was found after normal pregnancy. Chromosome number deletion was found in the database. **Conclusion** Using CMA to detect fetal chromosomes, polymorphic variation can be detected more accurately to detect pathogenic variation, and recorded in the database, which can provide more accurate genetic counseling.

Keyword: fetal diseases; genetic variation; prenatal diagnosis; biopsy, needle

胎儿出生缺陷多与胎儿染色体异常有关, 是严重的遗传疾病, 对患儿及其家庭造成严重负担, 且目前尚无良好的治疗办法^[1-2]。因此, 对可能出现胎儿染色体异常的高危孕妇进行产前诊断, 防止缺陷胎儿出生, 以达到优生优育的目的显得尤为重要^[3]。目前临床常通过羊水穿刺或绒毛穿刺获取相应标本, 然后进行 G 显带核型分析、荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 或染色体微阵列分析 (chromosomal microarray analysis, CMA) 等检测胎儿染色体异常情况。但羊水穿刺等获取标本的方式有创, 可能带来胎儿畸形或流产等风险^[4]。因此高龄孕妇、存在不良妊娠史的孕妇等先进行超声检查、血清筛查等无创方式筛选出有产前诊断指征的孕妇, 然后再进行胎儿染色体异常情况检查^[5]。CMA 有 Agilent aCGH 芯片、单核苷酸多态性阵列 (single nucleotide polymorphism, SNP arrays) 及联合寡核苷酸单核苷酸微阵列 (combined oligo-SNP arrays) 等多种芯片可选, 且对染色体多态性异常诊断特异性高, 已在产前诊断中广泛应用^[6]。

本研究对羊水穿刺标本采用 SNP arrays 检测观察不同产前诊断指征下胎儿染色体核型, 并进行对比分析, 为临床合理实施有创性诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 7 月—2019 年 7 月在盐城市妇幼保健院就诊的有产前诊断指征的孕妇 880 例作为研究对象。其中, 存在不良妊娠史 93 例, 夫/妻染色体异常 9 例, 超声异常 129 例, 高龄孕妇 226 例及血清筛查高风险 423 例。孕妇平均年龄 (28.62 ± 3.58) 岁; 平均怀孕时长 (18.11 ± 2.73) 周。纳入标准: ①知情同意; ②孕周 >12 周。排除标准: ①孕周 <12 周; ②1 年内接受过异体输血、异体细胞等; ③孕期合并恶性肿瘤。本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有产前诊断指征的孕妇采用羊水穿刺的方式获取羊水细胞。操作流程: 超声确定胎

盘位置 / 胎儿情况, 选取进针点, 孕妇取仰卧位, 消毒皮肤, 铺消毒巾。局部麻醉后用带针芯的腰穿针在进针点垂直扎入, 在分别穿过腹壁和子宫壁的 2 次落空感后, 取出针芯, 用 2 ml 注射器抽吸 2 ml 羊水, 弃去, 再用 20 ml 空针吸取 20 ml 羊水, 分别装于 2 支各 10 ml 消毒试管内。取出针头, 盖消毒纱布, 压迫 2 ~ 3 min, 孕妇卧床休息 2 h。

1.2.2 CMA 分析 取 1 根装有羊水的试管, 经扩增、酶切及解链等过程制备样本。采用 SNP arrays 分析 (芯片采用美国 Affymetrix 公司的 CytoScan HD 芯片, 含有 270 万个探针, 基因间探针间距平均为 1 kb), 样本置于杂交仪中与芯片进行单杂交。洗片后, 应用 Iscan 扫描系统采集数据。异常核型有数目异常、嵌合体及染色体微缺失 / 微重复。并与数据库对比, 对意义不明案例, 建议夫妻进行基因拷贝数变异检测 (CNV)^[7]。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计数资料以构成比或率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同产前诊断指征染色体核型异常检出率

存在不良妊娠史、夫 / 妻染色体异常、超声异常、高龄孕妇及血清筛查高风险等各指征占总例数比例分别为 10.57%、1.02%、14.66%、25.68% 及 48.07%。不同产前指征染色体异常检出情况见表 1。

2.2 CMA 染色体芯片核型异常构成情况

染色体数目异常和多态性变异总检出率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=3.891, P=0.043$)。见表 2。

表 1 不同产前诊断指征染色体异常检出情况 [n=880, 例 (%)]

产前诊断指征	n	核型异常类型	检出异常	合计
存在不良妊娠史	93	染色体数目异常	1 (1.08)	4 (4.30)
		多态性变异	3 (3.23)	
夫 / 妻染色体异常	9	染色体数目异常	4 (44.44)	9 (100.00)
		多态性变异	5 (55.56)	
超声异常	129	染色体数目异常	3 (2.32)	8 (6.20)
		多态性变异	5 (3.88)	
高龄孕妇	226	染色体数目异常	4 (1.77)	10 (4.42)
		多态性变异	6 (2.65)	
血清筛查高风险	423	染色体数目异常	13 (3.07)	25 (5.91)
		多态性变异	12 (2.84)	
合计	880	染色体数目异常	25 (2.84)	56 (6.36)
		多态性变异	31 (3.52)	

表 2 CMA 染色体芯片核型异常构成情况 [n=56, 例 (%)]

属性	类型	检出异常	合计
染色体数目异常	21-3 体	9 (16.07)	25 (44.64)
	18-3 体	6 (10.71)	
	13-3 体	5 (8.93)	
	性染色体	3 (5.36)	
多态性变异	常染色体	2 (3.57)	31 (55.36)
	微缺失	12 (21.43)	
	微重复	19 (33.93)	

2.3 不同产前指征下染色体核型异常胎儿妊娠结局

存在不良妊娠史、夫 / 妻染色体异常、超声异

常、高龄孕妇及血清筛查高风险等指征胎儿染色体数目异常分别为 1、4、3、4 及 13 例, 均接受意见引产; 多态性变异分别为 3、5、5、6 及 12 例。检出 4 例致病性变异, 分别为: ①存在不良妊娠史 1 例, 正常妊娠; ②夫 / 妻染色体异常 1 例, 正常妊娠; ③超声异常 1 例, 接受意见引产; ④血清筛查高风险 1 例, 正常妊娠。正常妊娠后, 3 例胎儿均出现异常。

2.4 CMA 染色体芯片致病性和部分非致病性染色体微缺失 / 微重复结果及妊娠结果

CMA 染色体芯片致病性和部分非致病性染色体微缺失 / 微重复结果及妊娠结果见表 3。

表 3 CMA 染色体芯片致病性和部分非致病性染色体微缺失 / 微重复结果及妊娠结果

异常类型	n	CMA 芯片分析结果	建议	妊娠结果
重复	1	46 XN arr14q32.33 (106207204-106943509) × 3, 736.0 kb	良性, 正常妊娠	未见异常
重复	1	46 XN arr16p13.11 (1505174-15312409) × 4, 344.0 kb	良性, 正常妊娠	未见异常
重复	1	46 XN arr11q1.12q.223 (2650424-23648428) × 2, 20 998.0 kb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	未见异常
重复	1	46 XN arr1p36.13p31.11 (20056631-82148070) × 2, 59.2 Mb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	未见异常
重复	1	46 XN arr10p15.3 (100047-496818) × 0, 397.0 kb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	未见异常
重复	1	46 XN arr13q33.3.q34 (113246208-118489088) × 2, 6.0 Mb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	未见异常
重复	1	46 XN arr2q22.1q31.1 (138011808-177110928) × 2, 39.0 Mb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	听力障碍
重复	1	46 XN arr2p24.3 (13529731-14344227) × 3, 814.0 kb	数据库有此病例, 建议引产	体格发育异常
缺失	1	46 XN amp11.32.p11.23 (1048576-9437184) × 0, 8.0 Mb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	未见异常
缺失	1	46 XY arrYq11.223q11.23 (24070171-28799654) × 1, 4.6 Mb	意义不明, 建议父亲进行 CNV 检测	未见异常
缺失	1	46 XX Xp22.33 (168551-862460) × 1, 693.9 kb	数据库有此病例, 建议引产	引产
缺失	1	LOH (7) (p24.3p19) (187632-18668608), 176.3 Mb	意义不明, 建议夫妻进行 CNV 检测	智力迟钝
21-3 体	9	-	数据库有此病例, 建议引产	引产
18-3 体	6	-	数据库有此病例, 建议引产	引产
13-3 体	5	-	数据库有此病例, 建议引产	引产
性染色体数目异常	3	-	数据库有此类病例, 建议引产	引产
常染色体数目异常	2	-	数据库有此类病例, 建议引产	引产

3 讨论

产前诊断可以诊断 / 预测胎儿是否具有遗传缺陷, 是围产医学的重要组成部分^[8-9]。目前, 产前诊断通常分为形态学水平 (如超声)、间接诊断性 (如无创 DNA 检查) 及介入性诊断 (如羊水 / 绒毛穿刺等)^[10]。其中以介入性诊断准确率最高, 可以直接检测胎儿染色体核型, 占产前诊断的 25% ~ 50%, 但介入性产前诊断属于有创检测, 故通常应用于有不良妊娠史、高龄孕妇及夫妻有染色体异常等具有产前诊断指征的孕妇, 并给予科学的遗传咨询^[11]。

目前, 介入性产前诊断样本检测方式一般包括 G 显带、FISH 及 CMA 等 3 种^[12]。理论上 FISH 可以检测全染色体的嵌合体、数目异常及结构异常等所有异常, 但由于探针不完善, 故假阴性案例出现较多^[13]。CMA 可以观察 DNA 亚微观拷贝数变化, 有多种芯片可供临床选择。临床较为常用的芯片有 Agilent aCGH、SNP arrays 及 Combined oligo-SNP arrays 等, 且研究指出 SNP arrays 诊断染色体多态性变异的准确率比 FISH 高出约 20%^[6, 14-15]。

本研究结果显示, 880 例具有产前诊断指征的孕

妇染色体异常总检出率为 6.36%, 与侯红英等^[16]的研究基本相符。且发现夫妻任意一方出现染色体异常, 胎儿核型必定出现异常。本研究发现的胎儿染色体异常分为数目异常及多态性变异, 其中多态性变异占比更高, 且差异明显, 是胎儿染色体异常的主要原因。这是因为染色体数目异常通常会导致流产, 所以具备产前诊断指征的未流产胎儿以多态性变异为主, 这与邹朋书^[8]等的研究结果一致。本次研究共检出微缺失 12 例, 微重复 19 例, 但致病性微缺失 / 微重复均各只检出 2 例, 提示多态性变异致病率不高。但需要注意的是任意染色体片段缺失 / 重复均会导致多态性变异, 且数据库不完善, 部分多态性变异意义不明, 不能确保胎儿不会出现出生后异常。本研究结果显示, 2 例意义不明的多态性变异胎儿出生后, 分别出现听力障碍及智力迟钝。应将此案例与其他学者研究结果对比, 并录入数据库。本研究检出的染色体数目异常病例均在数据库中存在致病记录, 所以均建议引产。本研究采用的 SNP arrays 检测不能检测胎儿染色体结构异常, 可能未全部检出所有胎儿染色体异常情况, 导致染色体异常检出率偏低。

综上所述,对具有产前诊断指征的孕妇采用 CMA 检测胎儿染色体,能够更准确地检出多态性变异,并发现致病性变异,将其记录入数据库,可以提供更为准确的遗传咨询。

参 考 文 献:

- [1] 刘秀静,应晓媚,楼文文. 女性不良妊娠与染色体异常关系探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(6): 59-60.
- [2] ZHANG R, CHEN X, WANG D, et al. Prevalence of chromosomal abnormalities identified by copy number variation sequencing in high-risk pregnancies, spontaneous abortions, and suspected genetic disorders[J]. J Int Med Res, 2019, 47(3): 1169-1178.
- [3] 郝秀兰,李小毛. 产前诊断的重要意义[J]. 新医学, 2009, 40(1): 8-9.
- [4] 夏燕,叶尔登切切克,加米拉·热扎克,等. 羊水穿刺产前诊断指征与羊水胎儿染色体核型关系研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(3): 292-293.
- [5] 徐盈,郭芬芬,黎昱,等. 单一产前诊断指征与胎儿染色体核型异常的关系分析[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(2): 163-166.
- [6] 吴莉,邓璐莎,朱晓丹,等. 染色体微阵列芯片分析技术在产前诊断中的应用[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(1): 139-141.
- [7] 曾书红,江霁颖,王元白,等. SNP array 技术与染色体核型分析在高危孕妇产前诊断的应用[J]. 国际生殖健康 / 计划生育杂志, 2019, 38(6): 445-449.
- [8] 邹朋书,陈莉莎,陈霞慧,等. 产前诊断指征和胎儿染色体异常诊断结果的相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(7): 52-54.
- [9] BEAUDET A L. Using fetal cells for prenatal diagnosis: History and recent progress[J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2016, 172(2): 123-127.
- [10] 张丽萍,夏革清,吴超英. 染色体病产前诊断方法的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(10): 10-12.
- [11] 吴晓霞,袁晖,罗彩群,等. 7380 例介入性产前诊断临床分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(7): 47-48.
- [12] 王皖骏,朱湘玉,朱瑞芳,等. 早孕期自然流产绒毛组织的遗传学检测方法比较[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(12): 19-21.
- [13] 崔洪艳,陈叙,岳天孚. FISH 技术检测自然流产或死胎死产组织中染色体异常的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(33): 5220-5221.
- [14] 王富刚,陈先农. 基因芯片数据的聚类分析[J]. 国外医学(生物医学工程分册), 2004, 27(2): 98-101.
- [15] CARTER M D, DURHAM A B, MIEDEMA J R, et al. Molecular testing of borderline cutaneous melanocytic lesions: SNP array is more sensitive and specific than FISH[J]. Hum Pathol, 2019, 86: 115-123.
- [16] 侯红英,李小毛,腾奔骑,等. 妊娠中晚期羊水细胞核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(8): 42-44.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 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.