

· 临床研究 ·

## 自然流产绒毛染色体畸变率与复发性流产次数的关系探讨

杨 岚<sup>1</sup>, 钱芳波<sup>2</sup>, 陆牡丹<sup>1</sup>, 石锦平<sup>1</sup>, 施 楠<sup>1</sup>, 吴 晓<sup>1</sup>, 唐 叶<sup>1\*</sup><sup>1</sup>南京医科大学附属无锡妇幼保健院医学遗传与产前诊断科,<sup>2</sup>计划生育中心, 江苏 无锡 214002

**[摘要]** 目的:分析自然流产患者流产组织染色体数目和拷贝数异常的发生率与流产次数之间的关系,为临床医师提供咨询指导意见。方法:选择2014年7月—2016年12月本院就诊的孕14周内自然流产患者共173例,根据流产次数分4组:A组(偶发流产组,仅发生1次自然流产者)45例,B组(自然流产2次)86例,C组(自然流产3次)32例,D组(自然流产≥4次)10例,对绒毛组织采用细胞培养G显带分析技术、多重拷贝数变异检测技术、高通量基因测序技术等3种方法进行染色体检查。结果:173例自然流产患者绒毛染色体培养成功137例(79.2%),结合3种技术的检查结果,偶发流产组染色体数目异常率55.56%(25/45),复发性流产组(连续发生2次或2次以上的自然流产)染色体数目异常率39.06%(50/128),两者比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。随着自然流产次数增加,胚胎染色体数目异常率呈下降趋势,但各组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。在82例行NGS检测的病例中,染色体拷贝数变异(CNV)率在自然流产1、2、3、4次及4次以上组中分别为38.09%(8/21)、36.67%(11/30)、31.82%(7/22)、11.1%(1/9),各组变异率均无统计学差异( $P > 0.05$ )。复发性流产组的致病性CNV率高于偶发流产组( $P > 0.05$ )。结论:染色体数目异常和拷贝数变异在自然流产患者中的发生率均高于正常人群,但与自然流产次数无关。

**[关键词]** 自然流产;染色体畸变;拷贝数变异;高通量测序;偶发性;复发性

**[中图分类号]** R714.21

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2019)08-1220-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20190825

自然流产是育龄妇女最常见的妊娠并发症,指孕20周前发生的胚胎自然丢失,约占临床妊娠的10%~15%。自然流产分两类:偶发性流产(仅1次自然流产史,sporadic miscarriage,SM);复发性流产(recurrent spontaneous abortion,RSA),指连续发生2次或2次以上的自然流产,其发生率约5%,近年来呈上升趋势<sup>[1]</sup>。RSA发生机制非常复杂,评估自然流产的病因和发病风险有助于临床医师向患者提供遗传咨询。已知胚胎染色体异常是自然流产的主要遗传因素(占50%~60%)<sup>[2]</sup>。胚胎染色体异常的发生原因尚不明确,染色体正常夫妇发生SM与RSA的胚胎染色体异常率是否存在差异已引起业内关注,目前关于流产胚胎染色体拷贝数变异率与不同自然流产次数间的关系鲜有报道,本研究联合G显带、多重拷贝数变异(CNVplex)和高通量基因测序技术对流产组织进行染色体分析,以探讨流

产组织染色体畸变的发生与RSA产次数的关系,从而为临床医师对RSA患者提供有效的遗传学检测指导。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

选择2014年7月—2016年12月经超声诊断胚胎停止发育在本院行清宫手术的自然妊娠孕妇173例。按不同流产次数分两组:偶发流产组(A组)45例;RSA组共128例;其中B组(RSA 2次)86例,C组(RSA 3次)32例,D组(RSA ≥4次)10例。排除全身性感染、外力、负重等因素。孕龄为50~94 d。清宫术时无菌采集绒毛组织10 g,显微镜下挑选绒毛50 mg左右,经处理按CNVplex技术检测,同时进行绒毛细胞核型分析;对绒毛性状差、组织量少的样本直接进行NGS检测,以确保检测成功率达100%。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 绒毛细胞培养法

无菌采取清宫术标本,无菌生理盐水洗涤后于显微镜下挑取优质绒毛组织,切成碎片接种于羊水

**[基金项目]** 无锡市科技发展基金[CSE31N1511];无锡市卫计委面上项目[MS201520];江苏省妇幼保健重点人才项目[FRC201745]

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:eserine@163.com

培养基的培养瓶中,置37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养。静置6~7 d后,倒置显微镜下观察,见到梭形细胞克隆后给予换液;继续培养2~3 d,当出现较多圆形细胞时给予收获。

1.2.2 染色体制备与核型分析

将秋水仙素(10 g/mL)加入培养瓶中继续培养4 h后弃培养液,加入低渗液进行低渗处理20 min,再进行预固定、固定、制片,80℃老化2 h。常规G显带、姬姆萨染色。镜下计数20个核型。分析5个显带良好分裂相,嵌合体则增加中期相计数。

1.2.3 基因组DNA提取

取冷冻过的流产组织10 mg,用QIAamp DNA Mini Kit(Qiagen公司,美国)提取基因组DNA,用分光光度计(Nanodrop-1000)检测DNA浓度及纯度,1%琼脂糖电泳检测DNA完整性。

1.2.4 CNVplex检测

①样本DNA提取:同上;②连接反应:按说明书(天昊生物技术公司生产)配制预混合液体系(每管分装12 μL),置PCR仪上(ABI 2720 PCR仪)反应:98℃2 min;95℃30 s,60℃3 h 5个循环;60℃保存;③连接产物多重荧光PCR扩增:按说明书配制预混合液体系,加1 μL连接产物,PCR仪扩增:95℃5 min;5×(94℃20 s,62℃~1℃/cycle 40 s,72℃1.5 min);94℃20 s,57℃30 s,72℃1.5 min,27个循环;68℃1 h;保存于4℃;④扩增产物荧光毛细管电泳分离;⑤拷贝数计算;⑥结果判断:如果连续5个以上目标区的拷贝数值为0.8~1.2,代表1个拷贝数变异(CNV)拷贝;1.75~2.25代表2个CNV拷贝;2.7~3.3代表3个CNV拷贝;3.6~4.4代表4个CNV拷贝;⑦STR检测:选取染色体2、4、5、7、8、10、11、12、13、15、16、18、X、Y上高杂合度的17个位点设计引物,对母血及绒毛组织样本分别进行17个STR位点的检测,

同时对17个多重荧光PCR产物进行毛细管电泳分析,通过比较检测到的两者位点来源判断绒毛组织有无母血污染。

1.2.5 高通量基因组测序

基因组DNA小片段文库构建:①基因组DNA片段化:将提取的基因组DNA用消化酶打断成150~200 bp的核酸片段;②DNA小片段文库构建:采用打断后的基因组DNA为起始模板,构建文库;③将通过质控的DNA文库按照染色体异常分析所需的数据量在测序仪上(BGISEQ-500)测序;④信息分析:将高通量测序结果进行信息分析,每个测序读长匹配到其所在的染色体上。随后做相应标准化Z值分析,通过Z值进行染色体异常判定;⑤母血污染检测:同上。流产组织及遗传来源CNV检测均采用该方法。

1.3 统计学方法

采用SPSS13.0软件进行统计处理,采用χ<sup>2</sup>检验比较各组检测结果的阳性率,对年龄均数采用T检验,P≤0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组染色体分析结果

综合绒毛细胞染色体培养、CNVplex分析结果(图1)、高通量测序技术3种方法检测的两组流产组织染色体结果(表1)。在流产次数分别为1、2、3、4次及以上病例中胚胎染色体数目异常率分别为55.6%(25/45)、41.86%(36/86)、37.5%(12/32)、20%(2/10),各组间两两比较均无统计学差异(P>0.05)。

2.2 自然流产不同组别间的年龄比较

SM与RSA组总的平均年龄分别为(29.67±5.16)岁和(29.85±4.62)岁,两组间差异无统计学意义(P>0.05)。自然流产患者中,SM组与RSA的B、

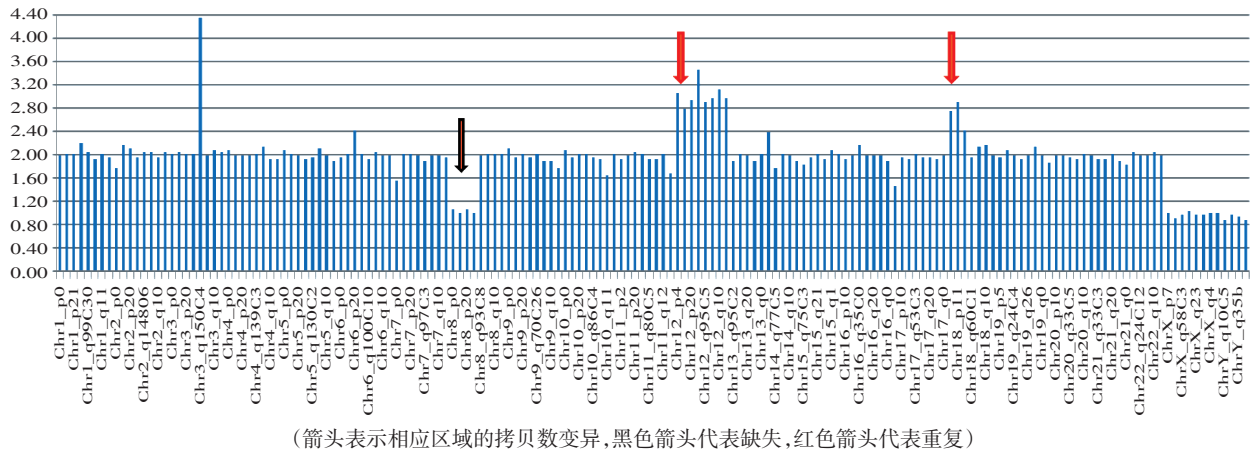


图1 病例47,XY,+12;(8p23.3:del;18p11.21:dup)的CNVplex拷贝数检测结果示意图

表 1 偶发和复发性自然流产组绒毛染色体分析 [n(%)]		
染色体结果	偶发流产组(n=45)	复发流产组(n=128)
数目正常核型	20(44.44)	78(60.94)
数目异常核型	25(55.56)	5(39.06)
单体(45,X)	8(32.0)	5(10.0 <sup>*</sup> )
常染色体三体	14(56.0)	40(80.0 <sup>*</sup> )
染色体四体	1(4.0)	0(0)
(48,XXY,+13)		
三倍体	2(8.0)	4(8.0)
四倍体	0(0)	1(2.0)

与偶发流产组比较,<sup>\*</sup>P<0.05。

C、D 各组的平均年龄分别为(29.67±5.16)、(29.39±4.59)、(29.56±4.27)、(34.7±3.33)岁。流产 1~3 次组年龄差异无统计学意义(P>0.05),流产 4 次及以上者的年龄最高(P<0.05)。

2.3 高通量测序检测的染色体分析结果

在 82 例行高通量测序的病例中,CNV 率在 SM、RSA 的 B、C、D 组的比例分别为 38.09%(8/21)、36.67%(11/30)、31.82%(7/22)、11.11%(1/9),各组间 CNV 率比较均无统计学差异(P>0.05)。82 例自然流产组织共检测到 27 例 CNV(表 2、3、图 2)。

SM 组拷贝数变异率与 RSA 组相比差异无统计

学意义;RSA 组检出的致病性 CNV 率(13.1%,8/61)高于偶发流产组(4.76%,1/21),但差异无统计学意义( $\chi^2=0.424,P=0.515$ )。

3 讨 论

3.1 染色体数目异常在偶发与复发性流产患者中的比较

前期研究已证实,自然流产胚胎染色体数目异常是主要的遗传学原因<sup>[3]</sup>。因染色体检查培养细胞获取核型结果费时失败率高,且无法排除母血污染。因此对流产组织进行细胞培养同时采用可分析所有染色体数目及拷贝数变异的检测技术(CNV-plex),同步做母血污染检测,以保证核型分析结果的全面可靠。本研究显示 SM 组染色体数目异常率高于 RSA 组,但差异无统计学意义,与 Jia 等<sup>[4]</sup>报道的相符。随着自然流产次数的增加,染色体数目异常率逐渐下降,但不同流产次数间无统计学差异,与 Goldstein 等<sup>[5]</sup>报道 RSA、SM 患者的染色体异常情况相仿,提示胚胎染色体异常与不同流产次数无明显相关性。再比较本研究中两组染色体异常类型:异常类型占比相近,由高到低依次为常染色体三体、X 单体、三倍体、四倍体等,其中 X 单体发生率 SM 组明显高于 RSA 组(P<0.05),而常染色体三体

表 2 高通量基因测序检测偶发流产组的胚胎染色体拷贝数变异

样本号	CNV(染色体:定位:片段大小)(遗传来源)	区域内涉及基因	临床意义
V130 <sup>*</sup>	9p24.3:10,001-344,129(334 kb dup)(M)	CBWD1; WASH1; FOXD4; DOCK8; FAM138C; C9orf66; DDX11L5;	VOUS
V133 <sup>*</sup>	15q11.2:24,359,700-24,489,989;(130 kb del)(M); Xq27.3:143,134,531-143,337,405(202 Kb del)(D)	PWRN2; —	VOUS; 疑似良性 CNV
V134 <sup>*</sup>	3q13.13:110,249,785-110,753,998(504 kb dup)(D) 11q13.2:67,496,896-67,739,830(242 kb del)(M); 15q11.2:24,583,642-24,786,960(203 kb del)(M)	— FAM86C2P; —	疑似良性 CNV VOUS; 疑似良性 CNV
V158 <sup>*</sup>	7q36.1:149,556,685-149,864,823(308 kb dup)(D);  7q36.2:153,476,694-153,660,423(183 kb dup)(M) 22q11.23q12.1:25,661,151-25,924,924(263 kb dup)(M)	ATP6V0E2-AS1; ZNF862; ATP6V0E2; DPP6; LRP5L, CRYBB2P1, IGLL3P	VOUS;  VOUS; VOUS
V128	5q23.1:120,345,246-120,864,255(519 kb dup)(M) 22q11.21:18,644,144-18,914,454(270 kb dup)(D); Xp11.23:47,900,955-48,008,640(107 kb del)(M)	— PRODH, DGCR6, USP18, GGT3P; ZNF630, SPACA5B, SPACA5, SSX6	疑似良性 CNV VOUS; VOUS
V138	2p24.3:3,543,327-14,354,620(811 kb dup)(D)	—	疑似良性 CNV
V150	4q13.2:70,138,883-70,244,272(105 kb del)(M); 4q31.21:144,929,449-145,037,725(108 kb dup)(D)	UGT2B28; GYPB, GYP A	VOUS; VOUS
V159	2q31.2-q35:178000001-219000000 (39 Mb dup)(mos:20%)	SATB2, IDH1, CPS1, ERBB4	致病性 CNV
总(%)	8(38.09%)		

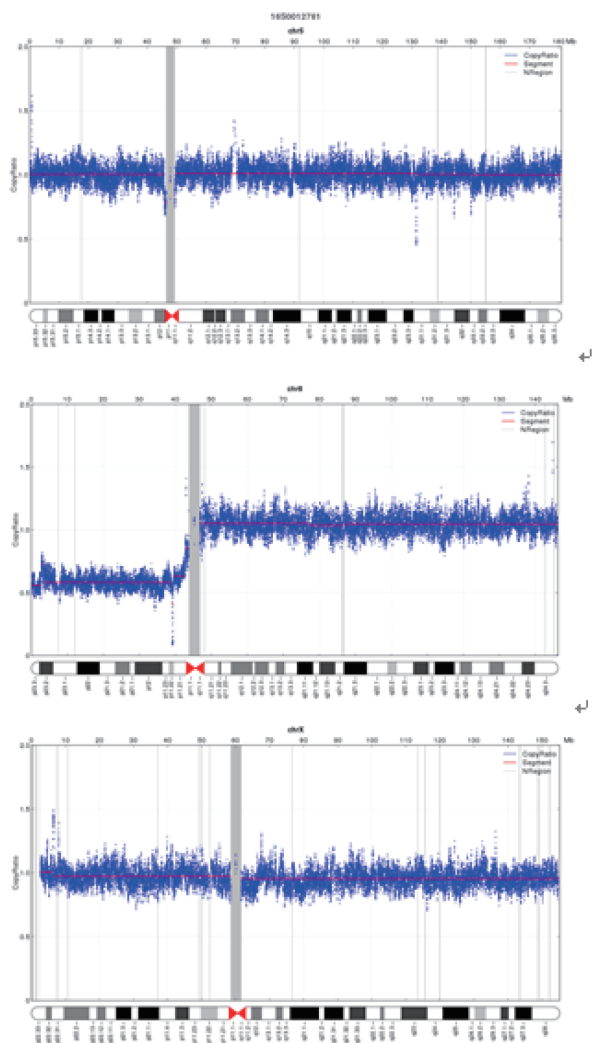
\*:同时伴有染色体数目异常;M:maternal(母方);P:paternal(父方);D:De novo(新发突变)。

表3  复发性流产组高通量测序检测的胚胎染色体拷贝数变异

样本号	CNV(染色体:定位:片段大小)(遗传来源)	区域内涉及基因	临床意义
V54*	11p11.12: 48,850,055-48,954,577(104 kb dup);	—	疑似良性CNV;
(RSA)	16p11.2: 33,946,471-34,183,059(236 kb dup);	LINC00273;	VOUS;
	17p13.3: 2,835,556-3,197,183(361 kb dup)	RAP1GAP2,OR3A1,OR1D2,OR1D5, OR1A1,OR1A2,OR1G1,OR1D4,OR3A2	VOUS
V45	4q32-34: 154,604,133-182300120(27 Mb del)	RP29,GUCY1A3,AGA	致病性CNV
V46	4p15.33p16.3: 70,485-14,520,736(14 Mb del);	GAK,DGKQ,FGFRL1,RNF212	致病性CNV;
	4q34.3q35.2: 179,875,258-190,441,881(10 Mb del)	TENM3	致病性CNV;
V68	22q11.22: 22,305,376-22,578,063(272 kb dup)	TOP3B,PPM1F	VOUS
V1001	11p15.1: 17,760,874-18,081,810(320 kb dup)(M);	TPH1,KCNC1,SERGEF;	VOUS
	11q13.2: 67,496,896-67,739,830(242 kb del)(D);	FAM86C2P;	VOUS
	12p13.33: 1,937,118-2,313,987(376 kb dup)(M);	CACNA1C,LRTM2,CACNA2D4, LOC100271702,DCP1B;	VOUS
	17q12: 36,246,375-36,431,366(185 kb dup)(P);	TBC1D3,LOC440434,TBC1D3F;	VOUS
	22q11.23q12.1:25,661,151-25,911,243(250 kb del)(M)	LRP5L,CRYBB2P1,IGLL3P	VOUS
V71	10q23.2: 88,966,588-89,130,520(163 kb del)	LOC439994,LOC728190,FAM22 A,FAM22D	VOUS
V86	8p11.21p23.3: 10,132-42,835,670(42.8 Mb del);	TNKS,SGCZ,GATA4,RP1L1	致病性CNV
	5q31.1:131,545,970-131,648,032(102 kb del);	P4HA2,SLC22A4,PDLIM4,LOC553103;	VOUS
	Xp22.31: 6,452,000-6,654,576(202 kb dup)	VCX3A	VOUS
V87	17q21.32: 46,609,588-46,720,700(111 kb dup)	HOXB-AS3,MIR196A1,MIR10A, HOXB2-9	VOUS
V105	16q24.3 (89820001-89930000)(110 kb del)	FANCA	致病性CNV;
V113	5p14.3: 19,083,617-19,454,608(370 kb del);	—	疑似良性CNV;
	7q11.21: 64,581,057-65,123,100(542 kb del)	INTS4L2,LOC441242,ZNF92	VOUS
V122	4p16.3: 68,345-3,916,139(3.8 Mb del);	FGFR3,LETM1,WHSC1;	致病性CNV;
	7p22.3p22.1: 43,376-6,932,776(6.8 Mb del)	FAM20C,BRAT1	致病性CNV
V77*	22q11.23q12.1: 25,661,151-25,924,924(263 kb del)	LRP5L,CRYBB2P1,IGLL3P	VOUS
V62	10q26.3: 135,247,534-135,376,327(128 kb del)(M);	LOC619207,CYP2E1,SYCE1;	VOUS;
	13q22.2: 75,964,191-76,285,851(321 kb del)(P)	TBC1D4,COMMD6,UCHL3,LMO7	VOUS
V79	1q31.1: 189,329,675-189,542,906(213 kb del);	—	疑似良性CNV;
	11q21q22.1:95,882,557-98,752,576(2.87 Mb del);	JRKL,MAML2,MIR1260B,CCDC82, JRKL-AS1;	VOUS;
	14q23.2: 64,177,898-64,299,096(121 kb del);	SGPP1;	VOUS;
	15q13.3 :31,994,610-32,514,175(519 kb dup)	CHRNA7	VOUS
V110	Yp11.32-Yp11.2:1-7,910,000(7.91 Mb del)	SHOX,PPP2R3B	致病性CNV
V112	1q23.1→qter: 159000001-249250621 (90 Mb dup);	EPRS,MAPK1,BPNT1	不平衡片段;
	18q21.2→qter: 49000001-78077248 (29 M del)	TMX3,RTTN,CBLN2	致病性CNV
V119	4q(q27→qter: 123000001-191000000 (68 Mb dup) (mos*,~40%);	TLL1,NEK1,HPGD;	不平衡片段;
	9p(pter→p12.3): 1-40000000 (40 Mb dup)(mos*,~70%)	AK3;MPDZ	致病性CNV
V114	4p15.2: 25,875,906-26,067,557 (191 kb dup)(M)	C4orf52	VOUS
V134	15q25.3: 86,937,426-88,285,413(1.3 Mb dup)	AGBL1	VOUS
总(%)	19(31.15%) <sup>a</sup>		

\*:同时伴有染色体数目异常;a:与偶发流产组比较:χ<sup>2</sup>=0.341,P=0.559;VOUS:临床意义不明拷贝数变异;M:maternal(母方);P:paternal(父方);D:De novo(新发突变)。





(V86: 8p11.21p23.3-42.8 Mb del; 5q31.1 (102 kb del); Xp22.31: (202 kb dup))。

图2 高通量测序检测的CNVs病例

发生率在RSA组中较高( $P < 0.05$ )。此外,SM组中16,22,18三体等多见;RSA中的异常类型除上述三种外,X单体,三倍体,其它染色体三体发生率高于SM组,与吴菁等<sup>[6]</sup>研究结果不完全相符,提示除X单体,16,22三体等常见染色体异常外<sup>[5,7]</sup>,其他染色体三体的发生率并不固定。

本研究中,除自然流产4次及以上者的年龄( $34.6 \pm 3.31$ )明显高于其他流产组外,其余不同流产次数组间年龄差异均无统计学意义。随着年龄增加,其流产次数增至4次及以上的风险亦升高,这可能与高龄者孕21三体、18三体的概率升高有关<sup>[8]</sup>。可见非高龄孕妇胚胎早期发生错误概率亦较高,但导致多次分裂错误的原因,不仅与母亲年龄有关,也可能与感染、免疫、血栓性疾病等有关<sup>[9]</sup>,临床咨询时应引起重视。

### 3.2 染色体拷贝数异常在偶发与复发性流产患者中的比较

随着分子生物学技术的发展,染色体微阵列芯片分析技术(chromosomal microarray analysis, CMA)能发现更多的染色体微重复或微缺失异常<sup>[10]</sup>;而高通量测序目前较多应用在产前遗传病的诊断方面<sup>[11]</sup>,与CMA相比其通量较高,拥有更高的准确度和较低的成本<sup>[12]</sup>,在自然流产遗传学检测方面,较多应用于染色体非整倍体检测<sup>[13]</sup>,针对全基因组范围的遗传检测报道甚少。本研究采用高通量测序联合排除母血污染检测技术对82例自然流产者的胚胎组织进行了100 kb以上的CNV检测。结果显示,所有自然流产患者的CNV变异率为32.93%(27/82),其中染色体数目异常合并CNV变异占9.5%(8/82);单纯100 kb以上的CNV变异率(23.3%)明显高于正常人群<sup>[14]</sup>,略低于周丽颖等<sup>[15]</sup>报道的自然流产胚胎CNV率。再比较不同组别CNV变异率,SM组CNV率略高于RSA组;随着流产次数增多,CNV变异率虽有下降趋势,但各组间差异亦无统计学意义。通过检索decipher数据库(<https://decipher.sanger.ac.uk/syndromes>)和 DGV 数据库(<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>),UCSC 数据库(<http://www.genome.ucsc.edu>)和 OMIM 网站(<http://www.omim.org>)等比对分析CNV, RSA组致病性CNV率(13.1%)高于SM组(4.76%)。82例自然流产者的小片段检出率(23.17%, 19/82)与Liu等<sup>[16]</sup>报道的相符。在行遗传来源检测的样本中,CNV新发突变占10%,父方或母方遗传占30%,亲代遗传同时伴新发突变占60%。可见NGS除外单亲二倍体,可检出更多的新发CNV。本研究还发现了2例不平衡易位结构异常的病例,通过后续双亲的核型分析证实1例为父母一方平衡易位患者,另1例为新发突变。研究中发现的VOUS或新发突变的CNVs,有待于病例数的进一步积累并结合双亲遗传来源分析来为各种CNV提供更为明确的临床意义。

### 3.3 染色体畸变在自然流产患者中的临床咨询

综上,染色体数目异常和拷贝数变异等染色体畸变是自然流产的主要遗传原因,染色体畸变率虽在偶发流产患者中较高,但与自然流产次数无关。临床咨询时,不论流产次数多寡,可先建议行胚胎染色体检查:①对胚胎染色体数目异常者,多为受精卵配子形成过程中染色体不分离所致,多散发,如双亲染色体正常,在排除内分泌、免疫、感染、解剖因素后,复发风险低,对个体影响小,可在优生指

导下自然受孕;②对胚胎染色体数目正常但为不平衡结构异常者,可进一步检测双亲有无该结构异常,以明确染色体异常的遗传来源,再结合双亲染色体结果指导下次受孕,如为遗传性结构异常,复发风险高,可采取胚胎植入前诊断来筛选正常胚胎;③对染色体数目正常而CNV异常的胚胎,则应结合遗传数据库对CNV性质进行分类,建议双亲行相应检查明确CNV遗传来源,再根据CNV不同类别进行遗传咨询,不可千篇一律;④对于胚胎染色体、夫妇外周血核型结果均正常的RSA患者,虽无染色体数目或结构异常,还需排除有无免疫、内分泌、感染等因素,或有无基因表达、脆性X综合征等异常<sup>[17]</sup>,后者有待于进一步研究探讨。

#### 【参考文献】

- [1] Rasmark Roepke E, Matthiesen L, Rylance R, et al. Is the incidence of recurrent pregnancy loss increasing? A retrospective register-based study in Sweden[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2017, 96(11): 1365-1372
- [2] Wang BT, Chong TP, Boyar FZ, et al. Abnormalities in spontaneous abortions detected by G-banding and chromosomal microarray analysis (CMA) at a National reference laboratory[J]. *Mol Cytogenet*, 2014, 7(7): 33-38
- [3] Lan Yang, Ye Tang, Mudan Lu, et al. Novel rapid molecular diagnosis of fetal chromosomal abnormalities associated with recurrent pregnancy loss[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2016, 95(12): 1433-1440
- [4] Jia CW, Wang L, Lan YL, et al. Aneuploidy in early miscarriage and its related factors[J]. *Chin Med J*, 2015, 128(20): 2772-2776
- [5] Goldstein M, Svirsky R, Reches A, et al. Does the number of previous miscarriages influence the incidence of chromosomal aberrations in spontaneous pregnancy loss? [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2017, 30(24): 2956-2960
- [6] 吴 菁,郭 丽,尹爱华,等.偶发与复发自然流产胚胎细胞遗传学异常的关系[J]. *南昌大学学报*, 2016, 56(2): 39-41, 48
- [7] 熊 丽,刘 洁,邓 康,等.早期自然流产绒毛细胞培养及染色体核型分析110例[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(1): 64-67
- [8] An N, Li LL, Wang RX, et al. Clinical and cytogenetic results of a series of amniocentesis cases from Northeast China: a report of 2500 cases[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 15660-15667
- [9] Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Recurrent miscarriage: causes, evaluation and management[J]. *Postgrad Med J*, 2015, 91(1073): 151-162
- [10] Wang BT, Chong TP, Boyar FZ, et al. Abnormalities in spontaneous abortions detected by G-banding and chromosomal microarray analysis (CMA) at a National reference laboratory[J]. *Mol Cytogenet*, 2014, 7(7): 33-38
- [11] Ge H, Huang X, Li X, et al. Noninvasive prenatal detection for pathogenic CNVs: the application in  $\alpha$ -thalassemia[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e67464
- [12] Tan Y, Yin X, Zhang S, et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening using next generation sequencing[J]. *Gigascience*, 2014, 3(1): 1-9
- [13] Xie W, Tan Y, Li X, et al. Rapid detection of aneuploidies on a benchtop sequencing platform[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33: 232-237
- [14] Kanduri C, Ukkola-Vuoti L, Oikonen J, et al. The genome-wide landscape of copy number variations in the MUSGEN study provides evidence for a founder effect in the isolated Finnish population[J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21(12): 1411-1416
- [15] 周丽颖,余 兰,梁 毓,等.自然流产遗传病因的高通量测序检测[J]. *中国优生与遗传*, 2016, 24(8): 34-36
- [16] Liu S, Song L, Cram DS, et al. Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 46(4): 472-477
- [17] Amirchaghmaghi E, Rezaei A, Moini A. Gene expression analysis of VEGF and its receptors and assessment of its serum level in unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. *Cell J*, 2015, 16(4): 538-545

【收稿日期】 2018-03-27