

· 技术与方法 ·

## 染色体微阵列分析技术在NT异常胎儿中的应用价值分析

何淑凤,赵 丽\*,肖建平,张剑萍,苏靖娜

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,江苏 无锡 214000

**[摘要]** 目的:探讨胎儿染色体核型及染色体微阵列分析(chromosome microarray analysis, CMA)在颈部透明层(nuchal translucency, NT)异常胎儿中的应用价值。方法:按NT异常是否合并其他指标异常,分为单纯NT异常、NT异常合并超声异常、NT异常合并高龄、NT异常合并不良孕产史、NT异常合并唐氏综合征产前筛查指标异常、胎儿颈部水囊瘤及孕14周后胎儿颈部皮肤厚度异常,回顾性分析其介入性产前诊断结果。结果:单纯NT异常组中,胎儿非整倍体及CMA检出率分别为1.887%、13.208%。胎儿颈部水囊瘤组胎儿非整倍体及CMA检出占比最高,分别为42.857%、28.570%。胎儿非整倍体中21三体及45,X检出占比最高,分别为5.279%、1.173%;共检出48例胎儿染色体微缺失/微重复,其中致病性及可能致病性染色体拷贝数变异占25.000%,22q11.21片段重复综合征最常见。311例正常核型中,CMA能多检出15.434%拷贝数异常。结论:面临同样的取样风险时,应告知孕妇CMA产前检测技术手段优势,并建议NT异常胎儿行染色体微阵列分析。

**[关键词]** 胎儿颈部透明层厚度;胎儿染色体核型;染色体微阵列分析

**[中图分类号]** R715

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2022)01-121-04

doi:10.7655/NYDXBNS20220123

随着技术的进步,染色体微阵列分析(chromosome microarray analysis, CMA)技术由外周血逐步应用于产前检测,特别是孕期超声异常的胎儿病因学分析。孕早期筛查B超对异常结果的提示将有助于实施介入性产前诊断。胎儿颈部透明层(nuchal translucency, NT)的测量作为孕早期筛查B超检测指标之一,已广泛应用于有筛查资质的产筛及产前诊断机构。依据Wright等<sup>[1]</sup>判断标准,根据胎儿医学基金会发布的NT百分位曲线,在相应头臀长下,NT值超过第95百分位则认为NT异常。本研究回顾性分析无锡市妇幼保健院因NT $\geq 2.5$  mm或相应头臀长下,NT值超过第95百分位且接受介入性产前诊断的孕妇资料,分析本地区NT异常胎儿染色体核型及CMA结果,为该地区临床咨询提供数据支持。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

收集无锡市妇幼保健院2018年1月1日—2019年12月31日单胎妊娠、NT异常并接受介入性产前

诊断孕妇资料共341例,孕妇年龄分布在18~43岁,平均年龄 $(28.80 \pm 4.40)$ 岁,取样孕周为19~24<sup>+</sup>6周。NT 2.2~9.0 mm,平均 $(3.31 \pm 0.97)$  mm。按NT异常是否合并其他异常指标进行分组:单纯NT异常212例、NT异常合并高龄36例、NT异常合并不良孕产史8例、NT异常合并超声异常62例、NT异常合并唐氏综合征产前筛查指标异常11例、胎儿颈部水囊瘤7例及孕14周后胎儿颈部皮肤厚度(nuchal fold, NF)异常12例。分别对不同组胎儿染色体核型及CMA结果进行分析,通过围产档案调阅、病例查询及电话随访等对所有病例进行妊娠结局随访,并随访新生儿情况。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 超声

采用英国胎儿医学基金会规定的测量方式,取胎儿矢状面,将图像放大到胎儿至少占据画面的3/4,测量标尺精确到0.1 mm,多次测量取最大值。孕周限定11~13<sup>+</sup>6周,头臀长为45~84 mm。NT测量数值超过2.5 mm或超该孕周第95百分位则定义为NT异常。NF $\geq 6$  mm视为异常。

##### 1.2.2 羊水染色体核型分析及CMA检测

B超引导下羊膜腔穿刺取羊水30 mL。其中20 mL羊水标本按照本实验室标准操作流程进行G

**[基金项目]** 无锡市科技发展资金(WX18HAN028)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: 435589538@qq.com

显带染色体核型分析。另 10 mL 羊水标本按照试剂盒操作说明进行基因组 DNA 提取,应用美国 Afymetrix 公司的 Cytoscan 750k 芯片对全基因组已知的拷贝数变异进行分析,对检测结果进行公共数据库查询,包括 OMIM 基因数据库 (<https://www.omim.org>)、DECIPHER 数据库 (<https://www.deciphergenomics.org/browser>)、ClinGen 数据库 (<https://dosage.clinicalgenome.org>)、DGV 数据库 (<https://dosage.clinicalgenome.org>)、CNV Pathogenicity Calculator (<http://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc>) 等。结合病例的临床表型及美国医学遗传学与基因组学学会 (ACMG) 指南,对检出的拷贝数变异 (copy number variation, CNV) 评分定性。

### 1.3 统计学方法

数据处理采用 SPSS 23.0 统计软件。符合正态分布的计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。计数资料以例数 (百分率) 表述,组间比较采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 确切概率法检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 不同分组胎儿染色体核型及 CMA 检出关系

341 例羊水标本,1 例核型培养失败;NT 异常合并超声异常 62 例,CMA 异常占 48.387% (30/62),而 NT 异常不合并超声异常 267 例,CMA 异常占 16.854% (45/267),两组微缺失/微重复比较差异无统计学意义 ( $\chi^2=2.148, P > 0.05$ ),两组非整倍体比较差异有统计学意义 ( $\chi^2=4.213, P < 0.05$ )。NT 异常合并超声异常胎儿非整倍体及染色体微缺失/微重复检出率明显高于 NT 异常不合并胎儿超声异常组 (非整倍体: 27.42% vs. 3.75%; 染色体微缺失/微重复: 20.97% vs. 13.11%)。胎儿非整倍体在胎儿颈部水囊瘤组检出最高,其次为胎儿 NT 异常同时合并超声异常组。NT 异常同时伴有超声异常表现时,胎儿染色体结构异常检出亦较 NT 合并高龄孕妇增加,胎儿染色体微缺失/微重复在各组检出中相对均衡 (表 1)。

表 1 不同分组胎儿染色体核型及 CMA 结果

[n(%)]

组 别	合计	胎儿非整倍体	胎儿染色体结构异常	胎儿染色体微缺失/微重复
单纯 NT 异常	212(62.17)	4(1.89)	0(0)	28(13.21)
NT 异常合并高龄	36(10.56)	4(11.11)	2(5.56)	6(16.67)
NT 异常合并不良孕产史	8(2.35)	1(12.50)	0(0)	0(0)
NT 异常合并超声异常	62(18.18)	17(27.42)	4(6.45)	13(20.97)
NT 异常+筛查指标异常	11(3.23)	1(9.09)	0(0)	1(9.09)
胎儿颈部水囊瘤	7(2.05)	3(42.86)	0(0)	2(28.57)
NF 异常	12(3.52)	1(8.33)	0(0)	2(16.67)

### 2.2 NT 异常病例致病性 CNV 情况及宫内超声表现

311 例正常核型中,CMA 能多检出 15.434% 拷贝数异常 (48/311),其中致病性及可能致病性 CNV 12 例,占 25% (12/48) (表 2)。

### 2.3 NT 异常病例致病性 CNV 继续妊娠随访

3 例 22q11.21 微重复病例中仅 1 例咨询后要求继续妊娠,孕期超声未见明显异常,验证片段来源于父亲,现已分娩,新生儿随访 5 个月,暂未见明显异常。2 例 16p11.2 片段缺失病例中,有 1 例孕期胎儿系统筛查及四级超声未见明显异常,验证该缺失片段来源胎儿父亲后继续妊娠,现已分娩,目前 10 个月,身高 72 cm,体重 10.5 kg,稍胖,大运动稍迟,短时间坐立会前倾或者后仰,会翻身、不会往前爬,未行胸部 X 线及 CT 进一步检测。1 例 17p12 片段重复,该微重复 CNV 外显率接近 100%,但是发病年

龄和严重程度可变,67%~80% 是源于遗传,咨询后孕妇拒绝验证,要求继续妊娠,于 2019 年 4 月 24 日分娩,男婴,出生体重 3.7 kg,出生后 1 个月余电话随访无明显异常,1 岁零 8 个月电话随访,无明显肌肉萎缩、肌张力及听力等异常。1 例 Xp21.1 片段缺失,此区段包含 DMD 基因,性别鉴定后要求继续妊娠,已分娩,女婴,现 1 岁半,发音不清楚,不愿说话,10 个月前偶有腿不自主抖动情况,其余未见明显异常。

## 3 讨 论

NT 异常与多种胎儿异常有关,如胎儿染色体及基因异常、超声结构异常等。NT 筛查作为孕早期胎儿筛查 B 超已广泛应用于临床,Minnella 等<sup>[2]</sup>指出,在妊娠 11~13 周时,测量胎儿 NT 并评估三尖瓣和静

表2 NT异常病例致病性CNV情况及宫内超声表现

样本号	样本类型	染色体	位点	片段大小	拷贝数	羊水核型	验证结果	胎儿宫内B超	妊娠结局
1	羊水	16p11.2	29,580,020~30,190,029	610.0 kb	1	46, XN	父亲	胎儿偏小1周	分娩
2	羊水	11p14.3p12	23,120,310~38,192,605	15.0 Mb	1	46, XN, del(11)(p12p14)	-	单脐动脉	引产
3	羊水	22q11.21	18,648,855~21,800,471	3.1 Mb	3	46, XN	父亲	未见明显结构异常	分娩
4	羊水	2p16.3、10q21.3	51,120,467~51,522,068; 68,157,444~68,518,256	401.6 kb; 360.8 kb	1;1	46, XN	-	未见明显结构异常	引产
5	羊水	4p16.3p15.32、13q21.134	68,345~15,850,685; 59,467,997~115,107,733	15.7 Mb; 55.6 Mb	1;3	46, XN	-	未见明显结构异常	胎停
6	羊水	21三体、22q11.21	21,059,669~21,800,471; (21)×3	740.8 kb; 21三体	3;3	46, XN+21	母亲	股骨长偏短, 肝内钙化灶	引产
7	羊水	9p23p22.2	9,647,006~17,471,512	7.8 Mb	1	46, XN	新发	胎儿颅缝早闭可能	引产
8	羊水	22q11.1q11.21	16,888,899~21,464,764	4.5 Mb	4	47, XN+mar [30]/46, XN[3]	新发	胎儿唇裂伴牙槽突裂 (硬腭裂不能排除), 胃泡未探及, 单脐动脉	引产
9	羊水	Xp22.1	31,620,870~31,993,623	372.7 kb	1	46, XN	-	未见明显结构异常, 胎儿偏小1周	分娩
10	羊水	18p11.3211.21	136,227~15,170,636	15.0 Mb	1	46, XN, 18p-	-	全前脑综合征	引产
11	羊水	16p11.2	29,428,531~30,190,029	761.4 kb	1	46, XN	新发	未见明显结构异常, 胎儿偏小1周	引产
12	羊水	17p12	14,098,951~15,428,902	1.3 Mb	3	46, XN	-	未见明显结构异常	分娩

脉导管血流情况,可早期诊断胎儿主要的心脏缺陷,再通过孕中期胎儿系统筛查及四级超声检查进一步排查胎儿心脏结构及其他系统畸形。Souka等<sup>[3]</sup>报道,当NT≥3.5 mm或NT值超过第99百分位时,遗传疾病患病率在0.5%~6.6%。Grande等<sup>[4]</sup>报道,CMA作为NT异常胎儿首选遗传学检测技术。NT异常同时伴有染色体异常或致病性CNV新生儿往往结局不良,因此,对NT异常胎儿进行染色体检查及CMA检测,可有效避免此类患儿出生,同时也是对孕期超声检查分子检测水平证据的补充。

3.1 不同分组胎儿染色体核型及CMA检出关系

本研究异常染色体核型占8.53%(29/340),胎儿非整倍体占7.35%(25/340),其中胎儿非整倍体占异常核型的86.21%(25/29),胎儿染色体非整倍体中21三体、45,X、47,XXY检出率位于前三,占比分别为5.279%、1.173%、0.587%。因此胎儿染色体非整倍体仍然是NT异常的主要原因之一。而染色体非整倍体胎儿宫内超声不统一,有时仅表现为超声软指标异常,而不是明显的结构异常,因此不能仅依赖于超声筛查。对NT异常就诊咨询孕妇应告知除常染色体以外性染色体异常的发生率及孕

期筛查手段局限性,建议介入性产前诊断,尽可能避免缺陷儿出生。杜柳等<sup>[5]</sup>指出,对于高龄妊娠,将NT≥2.5 mm设为截断值时,有助于提高妊娠早期胎儿染色体异常的检出率。本文高龄在NT异常病例中占10.557%(36/341),其在胎儿非整倍体及染色体微缺失/微重复检出率均高于单纯NT异常组。两组非整倍体检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=5.693, P<0.05$ ),但两组染色体微缺失/微重复检出率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.088, P>0.05$ )。考虑高龄是胎儿非整倍体发生的独立危险因素,同时合并NT异常,更容易导致胎儿染色体数目异常。但染色体微缺失/微重复不会因为高龄而导致其发生率升高,Rose等<sup>[6]</sup>研究也提示染色体微缺失/微重复与年龄相关性不明显。本研究数据显示,胎儿非整倍体(占42.857%)及染色体微缺失/微重复(占28.571%)在胎儿颈部水囊瘤组检出最高,其次为NT异常合并除此之外的孕期超声异常。NT合并超声异常胎儿染色体异常风险明显增加,与薛淑雅、Tang等<sup>[7-8]</sup>结论相符。Oneda等<sup>[9]</sup>建议,对产前实施CMA可以提高诊断率,特别是产前超声异常的胎儿。孟雁欣等<sup>[10]</sup>指出胎儿染色体核型及CMA技术在超声结构异常胎儿中的应用显著提高了致病原因的检



出率。因此对NT异常就诊咨询的孕妇,应告知介入性产前诊断及分辨率更高分子检测手段的优势,加强孕期超声评估,做好检测前及检测后咨询,为我国降低出生缺陷作出贡献。

### 3.2 CMA检测技术在NT异常胎儿中的应用

染色体核型分析技术在产前细胞遗传学检查中固然重要,但不能评估染色体亚显微结构的异常。本研究12例致病性CNV中,有8例胎儿染色体核型正常,因此CMA检测技术的产生可有效弥补染色体核型分析技术的不足。黄晓莉等<sup>[11]</sup>指出CMA作为新型遗传学检测技术,在产前诊断中,尤其是超声检查异常胎儿中已经得到了广泛的应用。NT异常除与胎儿染色体非整倍体相关外,与其他染色体微缺失/微重复也密切相关。本研究将NT $\geq 2.5$  mm作为NT异常截断值,对单纯NT异常的胎儿染色体非整倍体的检出率在1.887%,而CMA检出率高达13.208%,同时311例正常核型中,CMA能多检出15.434%拷贝数异常。在产前咨询时,应对咨询者告知这种检测手段,在面临同样的取样风险后,孕妇决定检测方法。Grande等<sup>[4]</sup>报道对于NT异常最常见的致病性CNV是22q11.2重复、10q26.12q26.3缺失及12q21q22缺失。本研究NT异常染色体微缺失/微重复48例,其中可能致病及致病性拷贝数变异12例,占25.0%(12/48),3例22q11.21片段重复综合征最常见,占25.0%。单纯NT异常孕妇中,致病性拷贝数变异6例,占2.8%(6/212),略低于Grande等<sup>[4]</sup>报道孤立性NT异常致病性变异检出率3.1%~4.0%。CMA检测技术可有效提高染色体微小水平异常检出率,但不能完全取代染色体核型分析,因此临床工作中,特别是涉及胎儿去留时,应采取至少两种以上的遗传学检测技术证实,以及尽可能的影像学证据支持。本文对染色体微缺失/微重复溯源采用相同的检测方法,这在一定程度上降低了家属对溯源检测的接受度,因此,实验室采用价格相对低廉的遗传学检测技术对微缺失/微重复进行溯源,既能降低成本,扩增本地验证数据库,同时对咨询也提供了帮助,有助于孕妇及其家庭对胎儿去留做出基于家庭认知的判断。这对以后的随访工作也极其重要。

### [参考文献]

- [1] WRIGHT D, KAGAN K O, MOLINA F S, et al. A mixture model of nuchal translucency thickness in screening for chromosomal defects [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2008, 31(4): 376–383
- [2] MINNELLA G P, CRUPANO F M, SYNGELAKI A, et al. Diagnosis of major heart defects by routine first-trimester ultrasound examination: association with increased nuchal translucency, tricuspid regurgitation and abnormal flow in ductus venosus [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2020, 55(5): 637–644
- [3] SOUKA A P, VON KAISENBERG C S, HYETT J A, et al. Increased nuchal translucency with normal karyotype [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192(4): 1005–1021
- [4] GRANDE M, JANSEN F A, BLUMENFELD Y J, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 46(6): 650–658
- [5] 杜柳, 谢红宁, 郑菊, 等. 颈部透明层增厚胎儿中CMA技术检测拷贝数变异的分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(10): 671–676
- [6] ROSE N C, KAIMAL A J, DUGOFF L, et al. Screening for fetal chromosomal abnormalities: ACOG practice bulletin, number 226 [J]. *Obstet Gynecol*, 2020, 136(4): e48–e69
- [7] 薛淑雅, 陈兢思, 张慧敏, 等. 颈部透明层增厚与染色体异常的相关分析[J]. *实用妇产科杂志*, 2019, 35(5): 382–385
- [8] 唐慧荣, 张燕, 茹彤, 等. 妊娠早期胎儿颈部透明层厚度与胎儿预后的前瞻性队列研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(2): 94–99
- [9] ONEDA B, RAUCH A. Microarrays in prenatal diagnosis [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 42: 53–63
- [10] 孟雁欣, 于湄, 张静, 等. 染色体核型联合微阵列分析应用于胎儿超声异常[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(5): 667–671
- [11] 黄晓莉, 孙丽洲. 218例侧脑室增宽胎儿的染色体检测结果和妊娠结局分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(4): 593–599, 633

[收稿日期] 2020-10-24

(本文编辑: 蒋莉)