Modern Practical Medicine, February 2024, Vol. 36, No. 2

·临床研究·

高龄与血清学筛查高风险孕妇产前胎儿染色体异常及亚显微不平衡状态的比较分析

周颖，徐玲玲，张莉超，施丹华，李海波

【摘要】**目的**　比较分析高龄与血清学筛查高风险孕妇产前胎儿染色体异常及亚显微不平衡状态。**方法**　收集2020年1月至2022年12月在宁波市妇女儿童医院接受羊水穿刺，并同时进行羊水染色体核型分析和染色体微阵列分析（CMA）的孕妇，其中2 497例高龄孕妇和1 891例血清学筛查高风险孕妇，比较分析两者产前胎儿的染色体异常及亚显微不平衡状态。**结果**　2 497例高龄孕妇羊水染色体核型分析和CMA共检测出各种异常211例（8.45%），其中数目异常32例（1.28%），结构异常12例（0.48%），嵌合体7例（0.28%）。10例平衡易位和5例嵌合体CMA均未见异常。CMA提示染色体拷贝数异常（CNV）160例，36例胎儿携带致病性（P）变异或可能致病性（LP）变异（1.44%），124例胎儿携带临床意义不明性（VUS）变异（4.97%）。1 891例血清学筛查高风险孕妇羊水染色体核型分析及CMA检测共检出各种异常178例（9.41%）。其中数目异常50例（2.64%），结构异常6例（0.32%），嵌合体5例（0.26%）。3例平衡易位CMA均未见异常。CMA提示CNV 117例，36例胎儿携带P CNV或LP CNV（1.90%），81例胎儿评估为VUS变异（4.23%）。核型检出的多态性变异为正常变异，两组均未计入异常。两组数目异常、P或LP差异均有统计学意义（均$P < 0.05$）。**结论**　推荐血清学筛查高风险孕妇行羊水穿刺做染色体核型分析及CMA检测，提高胎儿染色体异常的诊断率，为临床遗传咨询提供更多、更重要的信息。

【关键词】染色体微阵列分析；核型分析；产前诊断；微缺失/微重复
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.02.008
【中图分类号】R714.55　【文献标志码】A　【文章编号】1671-0800(2024)02-0174-04

妊娠中期羊水细胞染色体核型分析是产前诊断和及时终止异常妊娠的重要预防手段，是产前诊断染色体数目和结构异常的常用技术之一，并被认为是细胞学诊断的“金标准”[1]。然而，常规的染色体核型分析报告周期长，羊水细胞需要培养1周甚至更长时间；而且，DNA基因组中5 Mb以下的染色体拷贝数异常（copy number variant，CNV），即亚显微不平衡状态，无法通过该技术进行分辨[2]。但是，CNV同样可以导致发育迟缓、智力障碍、精神行为异常等严重出生缺陷。染色体微阵列分析（chromosome microarray analysis，CMA）对于染色体亚显微不平衡状态的诊断具有明显优势，可显著提高微缺失、微重复的诊断率[3]，作为新的分子遗传学产前诊断技术，是传统核型分析很好的补充。本研究通过对2 497例高龄孕妇和1 891例血清学筛查高风险孕妇行羊水细胞染色体核型分析及CMA检测，比较分析两组染色体数目异常、结构异常、嵌合体情况及亚显微不平衡状态，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　回顾性收集2020年1月至2022年12月在宁波市妇女儿童医院就诊的各种高危孕妇，并同时进行产前胎儿染色体核型分析和CMA检测的孕妇。纳入标准：（1）高龄孕妇，包括仅高龄和高龄合并不良生育史孕妇；（2）血清学筛查高风险孕妇包括21三体高风险、18三体高风险和开放性神经管畸形（NTD）高风险的孕妇，其中21三体高风险包括仅21三体高风险、21三体高风险合并超声异常及21三体高风险合并不良孕产史；（3）NTD高风险包括仅NTD高风险和NTD高风险合并DS高风险；（4）超声软指标异常包括NT增厚（≥3.0 mm），心室强光点，侧脑室增宽及高龄合并超声软指标异常；（5）无创异常包括无创异常合并21三体高风险及无创异常合并高龄；（6）超声异常包括超声异常合并不良孕产史及超声异常合并高龄；（7）夫妇染色体异常包括高龄合并夫妇染色体异常；（8）其他指夫妇一方确诊地中海贫血，孕妇孕期高热、用药及智力低下等。其中孕

基金项目：宁波市科技计划项目（202002N3150、2022S035）
作者单位：315010 宁波，宁波市妇女儿童医院
通信作者：李海波，Email：lihaibo-775@163.com

周 19 ～ 23 周、高龄（年龄≥35 岁）孕妇 2 497 例，血清学筛查高风险孕妇 1 891 例纳入本研究。本研究获得宁波市妇女儿童医院医学伦理委员会批准，所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2　方法

1.2.1　羊水采集　孕妇排空膀胱取仰卧位，常规消毒、超声监视下经腹壁行羊膜腔穿刺术，抽取 35 ml 羊水，分装 4 管（FALCON 无菌离心管），两管进行染色体核型分析，一管进行 CMA 检测，剩余一管 5 ml 保存备用。

1.2.2　染色体核型分析　按照本院出生缺陷防治实验室建立的常规细胞培养法培养、收获、制片和 G 显带分析核型，必要时进行 C 显带和 N 显带分析。核型描述依据人类细胞基因组学国际命名体系（ISCN2016）。

1.2.3　CMA 检测及结果解释　采用 Affymetrix Cytoscan 750K Array 芯片（美国 Affymetrix 公司产品）检测，参照在线公共数据库（DGV 数据库、DECIPHER 数据库、OMIM 数据库、UCSC 数据库等）对 CNV 的数据进行分析。参照美国医学遗传学和基因组学学会（ACMG）的标准，将 CMA 检测结果分为致病性（P）、可能致病性（LP）、临床意义不明性（VUS）、可能良性（LB）和良性（B）5 个级别[4]，并结合上述数据库、相关文献和超声检查结果，系统评价 CNV 的临床意义。

1.3　统计方法　采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析，计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　2 497 例高龄组染色体核型及 CMA 检测结果　2 497 例高龄孕妇共检出各种异常 211 例，总体异常检出率为 8.45%。其中数目异常 32 例（1.28%），包括 21 三体 20 例、18 三体 3 例、47，XXX 2 例、47，XXY 4 例、47，XYY 2 例、47，XN，+mar 1 例；结构异常 12 例（0.48%），其中平衡易位 10 例，见表 1；大片段缺失重复 2 例；嵌合体 7 例（0.28%），见表 2。10 例平衡易位和 5 例嵌合体（包括嵌合比例＜ 10%和平衡易位嵌合）CMA 均未见异常。CMA 提示 CNV 160 例，其中 27 例评估为致病性 CNV，9 例评估为可能致病性 CNV，P 或 LP CNV 的检出率为 1.44%，见封三彩图 1，124 例评估为 VUS，核型分析均未见明显异常。

2.2　1 891 例血清学筛查高风险组核型及 CMA 检测结果　1 891 例血清学筛查高风险孕妇共检出各种异常 178 例（9.41%）。其中数目异常 50 例（2.64%），包括 21 三体 30 例、18 三体 14 例、13 三体 1 例、47，XXX 1 例、47，XXY 1 例、47，XYY 1 例、45，X 1 例、69，XXX 1 例；结构异常 6 例（0.32%），包括平衡易位 3 例，见表 1；大片段缺失重复 3 例；嵌合体 5 例（0.26%），见表 2。同样，3 例平衡易位 CMA 均未见异常。CMA 提示 CNV117 例，其中致病性变异 31 例，P 或 LP CNV 检出率为 1.90%，见封三彩图 2，81 例评估为 VUS，核型分析均未见明显异常。高龄组与血清学筛查高风险组数目异常、P 或 LP 差异均有统计学意义（均 $P < 0.05$），见表 3。

2.3　高龄组妊娠结局　32 例非整倍体胎儿，其中 20 例 21 三体，3 例 18 三体，1 例标记染色体胎儿均终止妊娠，8 例性染色体非整倍体胎儿均足月活产娩出，出生后 42 d 随访未见明显异常。

36 例携带 P 或 LP CNV 胎儿经产前遗传咨询，有 33 例选择终止妊娠，另外 3 例均足月活产娩出，未见明显异常。携带 VUS CNV 的胎儿 124 例，有 2 例选择终止妊娠，经父母双方外周血验证，证实变异遗传自母亲。继续妊娠的孕妇，有 3 例进行父母双方外周血验证，证实 2 例遗传自父亲，1 例为新发。7 例嵌合体中有 2 例选择终止妊娠，见表 2。

2.4　血清学筛查高风险组妊娠结局　50 例非整倍体胎儿，其中 30 例 21 三体，14 例 18 三体，1 例 13 三体，1 例 69，XXX 胎儿均终止妊娠，4 例性染色体非整倍体胎儿均足月活产娩出，出生后 42 d 随访未见明显异常。

36 例携带 P 或 LP CNV 胎儿经产前遗传咨询，有 29 例选择终止妊娠，另外 7 例均足月活产娩出，

表 1　羊水细胞染色体核型分析检出的平衡易位

序号	高龄	血清学筛查高风险
1	46，XN，t（7；21）（q22；q23.3）	45，XN，der（13；15）（q10；q10）
2	45，XN，der（14；15）（q10；q10）	45，XN，der（13；14）（q10；q10）
3	46，XN，t（1；10）（p34.1；q24）	46，XN，t（1；10）（p10；q10）
4	46，XN，t（2；12）（q31；q22）	
5	46，XN，t（1；3）（p10；p10）	
6	46，XN，t（11；15）（p13；q24）	
7	46，XN，t（5；7）（p15.1；q36）	
8	46，XN，t（16；19）（p12；q13.3）	
9	46，XN，t（13；14）（q34；q32）	
10	46，XN，t（4；7）（q25；p13）	

表 2　两组嵌合体具体类型及妊娠结局

组别	核型	CMA	变异类型	妊娠结局
高龄组	47，XN，+5[3]/46，XN[80]	正常	核型异常	继续妊娠
	46，XN，t(6；10)(q27q22)[7]/46，XN[83]	正常	核型异常	终止妊娠(孕妇 *DMD* 携带者)
	47，XYY[4]/46，XY[56]	arr[hg19] Yp11.31q11.23(2，650，424-28，799，654) x1-2	染色体异常	继续妊娠
	46，XN，t(1；8)(p10；q10)[9]/46，XY[36]	正常	核型异常	继续妊娠
	46，XN，del(11)(q23.3)[8]/46，XN，der(11)dup(11q)inv(11)(q11q23)del(11)(q23)[5]/46，XN[93]	正常	核型异常	继续妊娠
	45，X[3]/46，XN[50]	正常	核型异常	继续妊娠
	47，XN，+mar[15]/46，XN[57]	arr[hg19] 18p11.32p11.21(136，228-15，181，208) x 2-3	致病性变异	终止妊娠
血清学筛查高风险组	45，X[17]/46，X，del(Y)(q11)[2]/46，X，idic(Y)(q11)[7]/46，XY[1]	arr[hg19] Yq11.222q11.23(20，618，887-28，799，654)x 0	致病性变异	继续妊娠
	45，X[20]/46，X，i(X)(q10)[10]	arr[hg19] Xp22.33p11.22(168，551-58，527，155) x1；arr[hg19] Xq12q28(64，621，680-155，233，846) x1-2	致病性变异	终止妊娠
	45，X[23]/46，X，i(X)(q10)[57]	arr[hg19] Xp22.33p11.21(168，551-54，935，024)x1；arr[hg19] Xp11.21q28，(54942，719-155，233，098) x 2-3	致病性变异	终止妊娠
	46，X，psu idic(X)(p21)[65]/45，X[11]	arr[hg19] Xp22.33p21.1(168，551-32，036，509) x 1	致病性变异	终止妊娠
	47，XYY[103]/45，X[7]/46，XY[3]	arr[hg19] Yp11.31q11.23(2，650，424-28，799，654) x 2-3	染色体异常	终止妊娠

未见明显异常。携带 VUS CNV 的胎儿 81 例，均选择继续妊娠，其中有 3 例进行父母验证，证实 2 例变异来自母亲，1 例来自父亲。5 例嵌合体中只有 1 例 Y 染色体缺失嵌合者选择继续妊娠，其余均终止妊娠，见表 2。

3　讨论

高龄孕妇中胎儿发生染色体异常的可能性增加[5]，因为女性自 35 岁起卵巢功能逐渐退化，卵子逐渐老化，生殖细胞在减数分裂或受精卵在有丝分裂时较容易发生染色体不分离或其他畸变。所以我国《母婴保健法实施办法》明确指出，孕妇预产期年龄超过 35 周岁（高龄孕妇）是产前诊断的适应证。本研究结果显示高龄组核型检出异常以非整倍体为主，检出各种非整倍体 32 例，占核型分析总异常的 62.74%(32/51)；血清学筛查高风险组检出非整倍体 50 例，占核型异常的 81.97%（50/61）。这说明血清学筛查对染色体非整倍体异常有较高的提示作用，通过血清学筛查可提高胎儿染色体非整倍体的检出率。血清学筛查高风险组检出数目异常和结构异常

表 3　两组各种异常检出率比较

组别	高龄组(%)	血清学筛查高风险组(%)	χ^2 值	*P* 值
数目异常	1.28	2.64	10.894	＜0.05
结构异常	0.48	0.32	0.702	＞0.05
嵌合体	0.28	0.26	0.010	＞0.05
P 或 LP	1.44	1.90	8.096	＜0.05

注：P 为致癌性，LP 为可能致癌性

共 61 例，检出率为 3.23%(61/1 891)，与文献[6-7]报道相符，这说明血清学筛查是确定胎儿染色体疾病风险较好的方法，但其受孕龄、孕妇体质量、血清中 AFP 及 HCG 等多种因素的影响，存在较高的假阳性率及假阴性率[8]，需进一步进行羊水穿刺来确诊筛查结果，临床医生需结合血清学筛查高风险孕妇自身情况，给予合适的产前诊断方案。

本研究针对高龄和血清学筛查高风险孕妇采用产前胎儿羊水的核型分析联合 CMA 检测，以标准核型分析分辨率＞ 10 Mb 设定检测，对两者在染色体异常及亚显微不平衡状态进行比较分析。高龄组检出非整倍体胎儿 32 例(1.28%)，CMA 额外检出携带 P 或 LP CNV 胎儿 36 例，检出率提高 1.44%。血清学筛查高风险组检出非整倍体胎儿 50 例(2.64%)，CMA 额外检出携带 P 或 LP CNV 胎儿 36 例，检出

率提高 1.90%，这说明核型分析联合 CMA 检测可以提高异常的检出率，符合前期的研究报道[3]。有研究报道，P 或 LP CNV 在有超声结构异常的胎儿中检出率可达 6%～ 7%[9]，在无超声结构异常且核型正常的胎儿中检出率为 1%～ 1.7%[10]。本研究检出 P 或 LP CNV 高龄组与以往研究一致，血清学筛查高风险组略有升高，分析可能与检测人群的数量及遗传背景差异和检测平台的不同有关。对于评价为 VUS CNV 的检出情况，两组均明显高于胡睿等[11]研究报道的 1.03% 和 Wang 等[12]研究报道的 1.74%，分析也可能与检测平台差异有关。产前 VUS CNV 报告不仅会增加临床医生遗传咨询工作的难度，同时，还会给胎儿父母带来很大的心理负担。本研究两组孕妇经随访发现，有 2 例发生非医学需要的终止妊娠。对携带 VUS CNV 群体的随访观察，进行系统的表型与基因型关系研究，可以为产前诊断 VUS CNV 报告提供更多的参考信息。

CMA 检测技术与传统的染色体核型分析相比具有显著优势，如无需培养，报告周期短，分辨率高，可识别基因组亚显微结构异常，但其在识别嵌合体和染色体平衡性结构异常方面存在一定局限性。在嵌合体检出方面，CMA 对于低于 30% 的嵌合体识别较差[13]。本研究两组羊水细胞染色体核型分析额外检出 3 例数目异常的低比例嵌合体，嵌合比例低于 10%。平衡性结构异常方面，本研究染色体核型分析在两组中共检出 15 例平衡异位携带者（包括 2 例嵌合体）。因此，针对嵌合型非整倍体和平衡易位的遗传咨询，需结合 CMA 和染色体核型分析进行综合评估。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　周颖：实验设计、采集数据、数据分析、论文撰写；徐玲玲：实验设计、采集数据；张莉超：实施研究、采集数据；施丹华：实验设计、论文修改；李海波：经费支持、研究指导

参 考 文 献

[1] VAKNIN Z, REISH O, BEN-AMI I, et al. Prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities: the 8-year experience of a single medical center[J]. Fetal Diagn Ther, 2008, 23(1): 76-81.

[2] FIORENTINO F, NAPOLETANO S, CAIAZZO F, et al. Chromosomal microarray analysis as a first-line test in pregnancies with a priori low risk for the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities[J]. Eur J Hum Genet, 2013, 21(7):725-730.

[3] American College of Obstericians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No.581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. Obstet Gynecol, 2013, 122(6):1374-1377.

[4] RIGGS E R, ANDERSEN E F, CHERRY A M, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)[J]. Genet Med, 2020, 22(2): 245-257.

[5] 中国预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会产前筛查和诊断学组, 中华医学会医学遗传学分会产前诊断学组.染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用指南[J].中华医学遗传学杂志, 2023,40(9): 1051-1061.

[6] 潘敏,李东至,易翠兴,等.5263 例血清学唐氏综合征筛查高风险病例产前诊断核型结果分析[J].中华围产医学杂志,2016,19(7): 540-542.

[7] STOYANOVA V, IVANOV H, LINEV A, et al. Frequencies of fetal chromosomal aberrations detected by amniocentesis; our 15-years experience[J]. Akush Ginekol(Sofiia), 2015, 54(5): 13-18.

[8] 白秀伟, 闪全忠. 11291 例中孕期母血清学产前筛查随访情况分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(22): 3186-3317.

[9] CALLAWAY J L, SHAFFER L G, CHITTY L S, et al. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature[J]. Prenat Diagn, 2013, 33(12): 1119-1123.

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

[11] 胡睿,胡婷,张竹,等.比较基因组杂交微阵列技术在唐氏综合征血清学筛查结果异常孕妇产前诊断中的应用[J].四川大学学报(医学版),2021,52(2):319-325.

[12] WANG J, CHEN L, ZHOU C, et al. Prospective chromosome analysis of 3 429 amniocentesis samples in China using copy number variation sequencing [J]. Am J Obstet Gynecol, 2018, 219(3): 287.e1-287.e18.

[13] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志,2014,49(8):570-572.

收稿日期：2023-09-17

（本文编辑：陈志翔）