

# 胎儿游离 DNA 浓度低相关因素分析及其对不良妊娠结局的影响

冯传欣 邹永毅 阳彦 刘艳秋\*

(江西省妇幼保健院医学遗传中心 江西省出生缺陷防控重点实验室,江西 南昌,330006)

**【摘要】** 无创产前筛查(non-invasive prenatal screening, NIPS)通过对母体血浆中胎儿游离 DNA(cell-free fetal DNA, cffDNA)的分析,广泛用于常见胎儿染色体非整倍体的筛查。胎儿游离 DNA 在母体血浆游离 DNA 总量中的比例(即 cffDNA 浓度)会影响 NIPS 的准确性,cffDNA 浓度低( $<4\%$ )可导致 NIPS 检测失败。目前已知多种因素会影响 cffDNA 浓度,但对影响因素还没有广泛的共识。此外,cffDNA 浓度低可能反映早期胎盘异常并与不良妊娠结局相关。因此,分析 cffDNA 浓度低相关因素及其对不良妊娠结局的影响可以为 NIPS 结果的解释和遗传咨询提供指导。

**【关键词】** 无创产前筛查;非整倍体;胎儿游离 DNA;不良妊娠结局;遗传咨询

**【中图分类号】** R715.5 **【文献标识码】** A

母体血浆中胎儿游离 DNA (cell-free fetal DNA, cffDNA)的发现以及高通量测序技术的快速发展,使得胎儿染色体异常的无创检测成为可能<sup>[1]</sup>,这种方法被称为无创产前筛查(non-invasive prenatal screening, NIPS)。目前 NIPS 已经广泛应用于胎儿染色体非整倍体的筛查,对三种常见非整倍体 21 三体(T21)、18 三体(T18)和 13 三体(T13)的检出率分别为 99%、96%和 91%,总体假阳性率小于 1%<sup>[2]</sup>。

cffDNA 主要来源于胎盘成熟和衰老过程中滋养细胞的凋亡或坏死。在孕 5 周时便可在母体血浆中检测到 cffDNA,其含量随着孕周的增加而增加。cffDNA 浓度是指母体血浆中胎儿游离 DNA 占总的游离 DNA 的比例,在孕 10~20 周之间约为 10%~15%<sup>[3, 4]</sup>。cffDNA 浓度低( $<4\%$ )会因为相对高浓度的母体游离 DNA 而影响 NIPS 结果的准确性,导致检测失败。Gil 等<sup>[5]</sup>统计发现由 cffDNA 浓度低导致的 NIPS 检测失败率为 0.1%~6.1%。多种因素会影响 cffDNA 浓度,如胎盘的大小和功能、孕

妇体重和孕周<sup>[6]</sup>。到目前为止已有大量研究对 cffDNA 浓度影响因素进行了分析,但尚未达成广泛的共识。因此,有必要对影响 cffDNA 浓度的相关因素进行分析总结。此外,cffDNA 主要来源于胎盘,cffDNA 浓度低可能反映了较小的胎盘质量以及胎盘功能障碍。有研究发现 cffDNA 浓度异常变化可能预示不良妊娠结局,例如妊娠高血压、子痫前期、胎儿生长受限、早产等<sup>[7, 8]</sup>。探讨 cffDNA 浓度与不良妊娠结局的关系,对妊娠并发症的早期筛查具有潜在意义。本文旨在分析总结 cffDNA 浓度低相关因素及其对不良妊娠结局的影响。

## 1 影响 cffDNA 浓度的因素

NIPS 检测中来自母体的游离 DNA 片段和来自胎儿的游离 DNA 片段无法被真正分离,了解 cffDNA 浓度才能准确判读结果,因此 cffDNA 浓度是分析 NIPS 结果的一个重要参数。cffDNA 浓度存在很大的个体间差异,任何影响游离 DNA 来源的因素都可能影响 cffDNA 浓度。不同的因素对 cffDNA 浓度的影响不一样,例如 cffDNA 浓度随孕周增加而增加,随母亲体重增加而降低<sup>[6]</sup>。目前已知一些母体因素和胎儿胎盘因素会影响 cffDNA 浓度。

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.03.004

基金项目:江西省卫健委普通科技计划(20221156)

\*通信作者:刘艳秋,E-mail:lyq0914@126.com

1.1 母体因素 孕妇体重或体重指数(BMI)是影响 cffDNA 浓度的重要因素。大量研究发现 cffDNA 浓度与孕妇体重或体重指数(BMI)之间呈负相关。Ashoor 等<sup>[9]</sup>发现 cffDNA 浓度的平均值从孕妇体重 60kg 时的 12% 下降到 120kg 时的 6%, 表明 cffDNA 浓度随着孕妇体重的增加而下降。Hou 等<sup>[10]</sup>研究显示与  $<18.5\text{kg}/\text{m}^2$  组(14.54%)相比,  $18.5\sim 24.9\text{kg}/\text{m}^2$  组(13.37%)、 $25\sim 29.9\text{kg}/\text{m}^2$  组(12.20%)、 $30\sim 34.9\text{kg}/\text{m}^2$  组(11.32%)和  $35\sim 39.9\text{kg}/\text{m}^2$  组(11.57%)的 cffDNA 浓度显著降低( $P<0.01$ ), cffDNA 浓度随着孕妇 BMI 的增加而下降, 这与另一项回顾性研究<sup>[11]</sup>结果一致。其原因可能是孕妇体重增大导致血容量增加, 从而稀释了血浆中 cffDNA。此外, 肥胖孕妇的脂肪组织通过脂肪细胞坏死或基底层的血管组织凋亡进行活跃的脂肪重建增加了血浆中母体来源的游离 DNA, 导致 cffDNA 浓度降低<sup>[12]</sup>。鉴于孕妇体重或 BMI 对 cffDNA 浓度的影响, 我国孕妇外周血游离 DNA 产前筛查与诊断技术规范将重度肥胖( $\text{BMI}>40\text{kg}/\text{m}^2$ ) 孕妇列入慎用人群。

孕妇年龄是否影响 cffDNA 浓度目前还存在争议。Hou 等<sup>[10]</sup>通过分析统计不同年龄组孕妇的 cffDNA 的浓度, 发现 cffDNA 浓度随孕妇年龄的增加而降低。Guo<sup>[13]</sup>等也发现 cffDNA 浓度与孕妇年龄之间存在负相关。可能的原因是孕妇随着年龄的增加生理机制也有很大变化, 如体重增加、细胞凋亡增加等, 导致 cffDNA 浓度降低。然而, 也有研究表明 cffDNA 浓度与孕妇年龄之间没有相关性<sup>[14]</sup>。因此, 孕妇年龄对 cffDNA 浓度的影响尚未达成共识, 还需要更多的数据进行进一步的研究。

Grömminger 等<sup>[15]</sup>首先报道了使用低分子肝素(LMWH)与 NIPS 检测失败之间关系, 通过回顾 12 例检测失败孕妇的用药史发现其中 9 例正在接受低分子肝素治疗。Burns 等研究发现<sup>[16]</sup> cffDNA 浓度低导致的 NIPS 检测失败与孕妇使用低分子肝素或依诺肝素有关。肝素可以通过减少细胞角蛋白新表位、核小体 DNA 形成以及 E-钙粘蛋白表达等机制来减少滋养层细胞凋亡并提高滋养层细胞存活<sup>[17, 18]</sup>。因此, 抑制胎盘滋养层细胞凋亡可能是肝

素导致 cffDNA 浓度下降的机制。此外, 其他一些药物的使用也可能影响 cffDNA 浓度。Maggie 等<sup>[19]</sup>发现服用二甲双胍会导致 cffDNA 浓度降低, 服用两种或两种以上药物组的 cffDNA 浓度明显低于未服用任何药物组。Joshua 等<sup>[20]</sup>发现低剂量阿司匹林的使用会增加 NIPS 检测失败率, 但是阿司匹林的影响小于肝素。然而, 一项纳入 9867 例单胎妊娠孕妇的研究<sup>[21]</sup>表明肝素治疗对 NIPS 检测没有影响, 自身免疫性疾病才是检测失败的独立预测因素。Hui<sup>[22]</sup>等报道了一名患有严重自身免疫性血小板减少症及自身免疫性中性粒细胞减少症的孕妇由于 cffDNA 浓度低导致多次 NIPS 检测失败。Chan 等<sup>[23]</sup>对系统性红斑狼疮患者血浆 DNA 生物学特征分析发现了大量的血浆 DNA 异常, 这些异常血浆 DNA 可能会干扰 cffDNA, 从而影响 NIPS 的检出率。此外, 其他的母体疾病, 如严重的  $\beta$ -血红蛋白病, 也会引起 cffDNA 浓度低从而导致检测失败<sup>[24]</sup>。

辅助生殖妊娠也可能影响 cffDNA 浓度。一项包含自然妊娠和体外受精(IVF)妊娠的回顾性研究<sup>[25]</sup>发现 IVF 妊娠 cffDNA 浓度中位数显著低于自然妊娠, 这与 Chen<sup>[26]</sup>等的结果一致。可能原因包括: ①IVF 妊娠过程中的激素治疗或胎盘受损可能影响了 cffDNA 的产生<sup>[25]</sup>; ②IVF 妊娠孕妇炎症和内皮损伤的增加使得母体来源的游离 DNA 增加导致 cffDNA 浓度相对降低<sup>[27]</sup>。然而, 也有研究发现不一致的结果, IVF 妊娠和自然妊娠表现出相似水平的游离 DNA, 两组之间的 cffDNA 浓度没有显著差异<sup>[28, 29]</sup>。辅助生殖妊娠对 cffDNA 浓度的影响仍需进一步分析。

1.2 胎儿胎盘因素 采血时的孕周与 cffDNA 浓度呈正相关。Wang 等<sup>[6]</sup>研究表明 cffDNA 浓度与孕周成正比, cffDNA 浓度从孕 10 周至 21 周总共增加了 1%, 而孕 21 周后每周增加 1%。Kinnings 等<sup>[30]</sup>也发现 cffDNA 浓度在孕 12.5~20 周期间每周增加 0.083%, 而在孕 20 周后每周增加 0.821%, 表明 cffDNA 浓度随孕周增加而增加, 且增加的幅度在不同孕周有所不同。以上研究均表明孕周与 cffDNA 浓度呈强正相关, 可能的原因是随着孕周的增加胎盘体积也逐渐增大, 凋亡的滋养层细胞增

多,因此更多的胎儿游离 DNA 片段释放到孕妇血浆中,导致 cfDNA 浓度增加。

随着促排卵药物以及辅助生殖技术的应用,双胎妊娠比例逐渐增高。研究显示双胎妊娠 NIPS 检测失败率高于单胎妊娠<sup>[31]</sup>。Gil 等<sup>[32]</sup>研究发现双胎妊娠 cfDNA 浓度中位数低于单胎妊娠,可能是导致双胎妊娠孕妇检测失败率更高的原因之一。Hedriana 等<sup>[33]</sup>研究表明双胎妊娠总 cfDNA 浓度比单胎妊娠高 32%,其中双绒毛膜妊娠和单绒毛膜妊娠总 cfDNA 浓度分别比单胎高 35%和 26%,但是双绒毛膜妊娠中每个胎儿的 cfDNA 浓度平均比单胎低 32%。双绒毛膜妊娠每个胎儿释放到母体循环中的 cfDNA 数量不同,其差异可能接近两倍<sup>[34]</sup>。NIPS 在双胎妊娠中筛查时为了避免假阴性结果,会选择双胎中 cfDNA 浓度较低的一个而不是总的 cfDNA 进行非整倍体风险评估<sup>[35]</sup>。因此,双绒毛膜妊娠在 NIPS 检测中更容易检测失败。

研究发现 NIPS 检测失败与细胞遗传学异常风险增加有关<sup>[36]</sup>。Norton 等<sup>[37]</sup>研究发现 NIPS 检测失败(cfDNA 浓度低于 4%)的群体中非整倍体的发生率为 4.7%,相比之下整个队列人群中的非整倍体的发生率仅为 0.4%。不同类型胎儿染色体非整倍体对 cfDNA 浓度的影响不一样。cfDNA 浓度在 18 三体组和 13 三体组中明显低于整倍体组,而在 21 三体组中高于整倍体组<sup>[38]</sup>,这可能是临床上 T21 筛查效果更佳的原因之一。Becking 等<sup>[39]</sup>发现 NIPS 检测中的 cfDNA 浓度低与胎儿 13 三体、18 三体、X 单体和三倍体的风险增加有关。胎盘质量低、胎盘病理性改变等可能解释了这些染色体非整倍体与 cfDNA 浓度低之间的相关性<sup>[40, 41]</sup>。因此,对于因 cfDNA 浓度低导致的检测失败的群体有必要提供遗传咨询并完善产前诊断。

## 2 cfDNA 浓度与不良妊娠结局的关系

cfDNA 主要来源于胎盘,母体循环中 cfDNA 浓度可以反映胎盘的健康和功能。胎盘的一些病理性变化如胎盘炎性因子的释放或胎盘血管异常导致胎盘灌注不足等,可导致妊娠并发症的发生<sup>[42]</sup>。因此,cfDNA 浓度有可能成为预测不良妊娠结局的重要参数。已经有研究表明 cfDNA 浓度异常与不良妊娠结局相关,如妊娠高血压、子痫前期、胎儿生长受限、早产等<sup>[43]</sup>。

研究发现 cfDNA 浓度低与妊娠期高血压和重度子痫前期相关<sup>[7]</sup>。Becking 等<sup>[43]</sup>发现,由于 cfDNA 浓度低而导致 NIPS 检测失败的女性中妊娠期高血压和子痫前期的发生率较普通人群偏高,与之前 Suzumori<sup>[44]</sup>以及 Rolnik 等<sup>[45]</sup>的研究结果一致。妊娠高血压常伴有肥胖或高 BMI,在分析 cfDNA 浓度低与妊娠期高血压的关系时需要考虑 BMI 带来的影响。随后 Deeksha 等<sup>[46]</sup>在排除了孕妇 BMI 影响后,仍发现较低的 cfDNA 浓度和妊娠期高血压之间存在相关性。

胎盘功能障碍是胎儿生长受限的主要原因,推测胎儿生长受限可能受异常 cfDNA 浓度的影响。Clapp<sup>[47]</sup>等研究发现 cfDNA 浓度低与出生体重低于第 10 和第 5 个百分位数有关,表明 cfDNA 浓度低与胎儿生长受限风险增加相关。Yuan 等<sup>[48]</sup>也发现 cfDNA 浓度低(低于第 5 百分位)与低出生体重量婴儿的风险增加有关(<2500g)。然而,也有一些研究显示 cfDNA 浓度与胎儿生长受限之间没有相关性<sup>[8, 46]</sup>。因此还需要更多的研究来确定两者是否存在相关性。

早产是一种具有多种病因和表型特征的综合征。Krishna 等<sup>[8]</sup>研究发现,cfDNA 浓度低的孕妇与 cfDNA 浓度正常的孕妇早产的发生率有显著差异,其中 40.9%的 cfDNA 浓度低的孕妇早产。Yuan 等<sup>[48]</sup>也发现 cfDNA 浓度低(低于第 10 百分位)与早期早产(小于 34 周)风险增高相关。然而这两项研究没有区分自发性早产和具有医学指征(高血压等)的早产。Gerson 等<sup>[7]</sup>在排除了具有医学指征的孕妇后发现 cfDNA 浓度与早产之间没有相关性。此外,目前的研究表明其他一些妊娠并发症,如胎盘早剥<sup>[8]</sup>、胎盘增生和前置胎盘<sup>[44]</sup>、妊娠肝内胆汁淤积<sup>[48]</sup>和妊娠期糖尿病<sup>[49]</sup>等暂未发现与 cfDNA 浓度之间存在相关性。

综上所述,cfDNA 受多种因素的影响,其中孕妇体重和孕周对 cfDNA 浓度的影响基本明确,孕妇体重越大、孕周越小,cfDNA 浓度越低。母体疾病或药物治疗也是影响 cfDNA 浓度的重要因素,采血前避免使用肝素等药物。双胎和辅助生殖妊娠可能会降低 cfDNA 浓度,可以适当推迟采血时间以确保结果的准确性。cfDNA 浓度低导致的检测失败人群中胎儿非整倍体风险更高,所以建议对检测失败的人群提供遗传咨询并完善产前诊断。

cffDNA 水平还与妊娠并发症相关,如妊娠高血压和子痫前期,两者关系的进一步研究将有利于发掘其在预测不良妊娠结局中的价值。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] CHITTY LS, LO YM. Noninvasive Prenatal Screening for Genetic Diseases Using Massively Parallel Sequencing of Maternal Plasma DNA [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(9): a023085.
- [ 2 ] GIL M M, QUEZADA M S, REVELLO R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies; updated meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(3): 249-266.
- [ 3 ] ASHOOR G, SYNGELAKI A, POON L C, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation; relation to maternal and fetal characteristics [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 41(1): 26-32.
- [ 4 ] PALOMAKI G E, KLOZA E M, LAMBERT-MESSERLIAN G M, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study [J]. *Genet Med*, 2011, 13(11): 913-920.
- [ 5 ] GIL M M, ACCURTI V, SANTACRUZ B, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies; updated meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 50(3): 302-314.
- [ 6 ] WANG E, BATEY A, STRUBLE C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma [J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(7): 662-666.
- [ 7 ] GERSON K D, TRUONG S, HAVILAND M J, et al. Low fetal fraction of cell-free DNA predicts placental dysfunction and hypertensive disease in pregnancy [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2019, 16: 148-153.
- [ 8 ] KRISHNA I, BADELL M, LOUCKS T L, et al. Adverse perinatal outcomes are more frequent in pregnancies with a low fetal fraction result on noninvasive prenatal testing [J]. *Prenat Diagn*, 2016, 36(3): 210-215.
- [ 9 ] ASHOOR G, POON L, SYNGELAKI A, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation; effect of maternal and fetal factors [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2012, 31(4): 237-243.
- [10] HOU Y, YANG J, QI Y, et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction; statistical analysis of 13, 661 maternal plasmas for non-invasive prenatal screening [J]. *Hum Genomics*, 2019, 13(1): 62.
- [11] DENG C, LIU J, LIU S, et al. Maternal and fetal factors influencing fetal fraction: A retrospective analysis of 153, 306 pregnant women undergoing noninvasive prenatal screening [J]. *Front Pediatr*, 2023, 11: 1066178.
- [12] HAGHIAC M, VORA N L, BASU S, et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2012, 20(11): 2213-2219.
- [13] GUO F F, YANG J X, HUANG Y L, et al. Association between fetal fraction at the second trimester and subsequent spontaneous preterm birth [J]. *Prenat Diagn*, 2019, 39(13): 1191-1197.
- [14] HESTAND M S, BESSEM M, VAN RIJN P, et al. Fetal fraction evaluation in non-invasive prenatal screening (NIPS) [J]. *Eur J Hum Genet*, 2019, 27(2): 198-202.
- [15] GRÖMMINGER S, ERKAN S, SCH? CK U, et al. The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women [J]. *Prenat Diagn*, 2015, 35(11): 1155-1157.
- [16] BURNS W, KOELPER N, BARBERIO A, et al. The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics, and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction [J]. *Prenat Diagn*, 2017, 37(11): 1125-1129.
- [17] BOSE P, BLACK S, KADYROV M, et al. Heparin and aspirin attenuate placental apoptosis in vitro; implications for early pregnancy failure [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192(1): 23-30.
- [18] TERSIGNI C, MARANA R, SANTAMARiA A, et al. In vitro evidences of heparin's effects on embryo implantation and trophoblast development [J]. *Reprod Sci*, 2012, 19(5): 454-462.
- [19] KUHLMANN-CAPEK M, CHIOSSI G, SINGH P, et al. Effects of medication intake in early pregnancy on the fetal fraction of cell-free DNA testing [J]. *Prenat Diagn*, 2019, 39(5): 361-368.
- [20] NITSCHKE J F, LOVELL D, STEPHENS N, et al. The effects of heparin, aspirin, and maternal clinical factors on the rate of nonreportable cell-free DNA results; a retrospective cohort study [J]. *Am J Obstet Gynecol MFM*, 2023, 5(3): 100846.
- [21] DABI Y, GUTERMAN S, JANI J C, et al. Autoimmune disorders but not heparin are associated with cell-free fetal DNA test failure [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 335.
- [22] HUI L, BETHUNE M, WEEKS A, et al. Repeated failed non-invasive prenatal testing owing to low cell-free fetal DNA fraction and increased variance in a woman with severe autoimmune disease [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 44(2): 242-243.
- [23] CHAN R W, JIANG P, PENG X, et al. Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(49): E5302-E5311.
- [24] PUTRA M, IDLER J, PATEK K, et al. The association of HBB-related significant hemoglobinopathies and low fetal fraction on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy

- [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 34(22): 3657-3661.
- [25] LEE T J, ROLNIK D L, MENEZES M A, et al. Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(4): 572-578.
- [26] CHEN P, QIAO L, ZHANG S, et al. The Effect of Elevated Alanine Transaminase on Non-invasive Prenatal Screening Failures [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 875588.
- [27] LEE M S, CANTONWINE D, LITTLE S E, et al. Angiogenic markers in pregnancies conceived through in vitro fertilization [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 213(2): 212.e1-e8.
- [28] KALLIANIDIS K, DIMITROULIA E, MAVROGIANNI D, et al. Comparison of the Fetal Fraction of Cell-Free DNA in In-Vitro Fertilization (IVF) Versus Natural Conception Evaluation of the Fetal Fraction With IVF Parameters [J]. *Cureus*, 2022, 14(4): e24516.
- [29] LAMBERT-MESSERLIAN G, KLOZA E M, WILLIAMS J, 3RD, et al. Maternal plasma DNA testing for aneuploidy in pregnancies achieved by assisted reproductive technologies [J]. *Genet Med*, 2014, 16(5): 419-422.
- [30] KINNINGS S L, GEIS J A, ALMASRI E, et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing [J]. *Prenat Diagn*, 2015, 35(8): 816-822.
- [31] SARNO L, REVELLO R, HANSON E, et al. Prospective first-trimester screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2016, 47(6): 705-711.
- [32] DEL MAR GIL M, QUEZADA M S, BREGANT B, et al. Cell-free DNA analysis for trisomy risk assessment in first-trimester twin pregnancies [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2014, 35(3): 204-211.
- [33] HEDRIANA H, MARTIN K, SALTZMAN D, et al. Cell-free DNA fetal fraction in twin gestations in single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening [J]. *Prenat Diagn*, 2020, 40(2): 179-184.
- [34] LEUNG T Y, QU J Z, LIAO G J, et al. Noninvasive twin zygosity assessment and aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing [J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(7): 675-681.
- [35] STRUBLE C A, SYNGELAKI A, OLIPHANT A, et al. Fetal fraction estimate in twin pregnancies using directed cell-free DNA analysis [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2014, 35(3): 199-203.
- [36] BELLAI-DUSSAULT K, MENG L, HOWLEY H, et al. Cytogenetic outcomes following a failed cell-free DNA screen; a population-based retrospective cohort study of 35,146 singleton pregnancies [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2023, 229(2): 168.e1-168.e8.
- [37] NORTON M E, JACOBSSON B, SWAMY G K, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(17): 1589-1597.
- [38] SUZUMORI N, EBARA T, YAMADA T, et al. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma is affected by fetal trisomy [J]. *J Hum Genet*, 2016, 61(7): 647-652.
- [39] BECKING E C, SCHUIT E, VAN BAAR DE KNEGT S M E, et al. Association between low fetal fraction in cell-free DNA screening and fetal chromosomal aberrations: A systematic review and meta-analysis [J]. *Prenat Diagn*, 2023, 43(7): 838-853.
- [40] NICOLAIDES K H, SYNGELAKI A, DEL MAR GIL M, et al. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2014, 35(3): 212-217.
- [41] TOUFAILY M H, ROBERTS D J, WESTGATE M N, et al. Triploidy: Variation of Phenotype [J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145(1): 86-95.
- [42] 白小艺, 冯俏丽, 韩振艳, 等. 孕妇外周血中游离胎儿 DNA 浓度与不良妊娠结局的关系 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2020, 41(06): 917-923.
- [43] BECKING E C, WIRJOSOEKARTO S A M, SCHEFFER P G, et al. Low fetal fraction in cell-free DNA testing is associated with adverse pregnancy outcome: Analysis of a subcohort of the TRIDENT-2 study [J]. *Prenat Diagn*, 2021, 41(10): 1296-1304.
- [44] SUZUMORI N, SEKIZAWA A, EBARA T, et al. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2018, 224: 165-169.
- [45] ROLNIK D L, OGORMAN N, FIOLENA M, et al. Maternal plasma cell-free DNA in the prediction of pre-eclampsia [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(1): 106-111.
- [46] MADALA D, MAKTABI M A, SABBAGH R, et al. Lower fetal fraction in clinical cell-free DNA screening results is associated with increased risk of hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Prenat Diagn*, 2022, 42(10): 1253-1261.
- [47] CLAPP M A, BERRY M, SHOOK L L, et al. Low Fetal Fraction and Birth Weight in Women with Negative First-Trimester Cell-Free DNA Screening [J]. *Am J Perinatol*, 2020, 37(1): 86-91.
- [48] YUAN X, ZHOU L, ZHANG B, et al. Association between low fetal fraction of cell free DNA at the early second-trimester and adverse pregnancy outcomes [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2020, 22: 101-108.
- [49] HOPKINS M K, KOELPER N, BENDER W, et al. Association between cell-free DNA fetal fraction and gestational diabetes [J]. *Prenat Diagn*, 2020, 40(6): 724-727.

(收稿日期:2023-08-07)

编辑:刘邓浩