

223例颈项透明层增厚胎儿的染色体核型及 aCGH 结果分析

麦明琴* 熊盈 魏然 赵馨 何薇 卢建 郭莉 潘小英

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

【摘要】 目的 评估胎儿 NT 增厚的染色体异常风险,为临床咨询提供参考依据。**方法** 回顾性分析 223 例于广东省妇幼保健院诊断 NT 增厚或临界增厚胎儿的染色体核型分析及 aCGH 结果。**结果** 1 例绒毛染色体细胞培养失败。G 显带结果发现染色体异常胎儿 47 例(21.2%),其中致病性异常 35 例(15.8%);aCGH 检出 37 例(16.6%)异常,其中致病性异常 35 例(15.7%)。按照 NT 值分组,2.5mm≤NT<3.0mm 者共 67 例,G 显带分析及 aCGH 共检出致病染色体异常 5 例(7.5%);3.0mm≤NT<3.5mm 者共 62 例,共检出致病染色体异常 6 例(9.7%);3.5mm≤NT<4.0mm 者共 36 例,共检出致病染色体异常 6 例(16.7%);4.0mm≤NT<5.0mm 者共 29 例,共检出致病染色体异常 9 例(31.0%);NT ≥5mm 者共 29 例,共检出致病染色体异常 11 例(37.9%)。NT 增厚合并其他超声异常者共 29 例,G 显带核型及 aCGH 分析发现有 8 例(27.6%)存在致病性染色体异常。**结论** 胎儿 NT 增厚与染色体异常关系密切,且染色体异常风险随 NT 值增高而增高,aCGH 技术能提高致病性 CNVs 的检出率,建议 NT 增厚胎儿应同时行传统染色体核型和 aCGH 分析。

【关键词】 NT 增厚;产前诊断;染色体核型分析;aCGH

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To assess the risk of chromosome abnormality in fetuses with increased nuchal translucency. **Method** We retrospectively analysed the outcomes of chromosome karyotype and aCGH in 223 fetues with increased nuchal translucency by invasive prenatal diagnosis. **Results** One case with chorionic villus cultured failure. Among the 222 fetal karyotypes results, the proportion of pathogenic chromosome abnormality was 15.8%. There 67 fetuses with 2.5mm≤NT<3.0mm and the proportion of pathogenic chromosome abnormality was 7.5%. For the fetuses with 3.0mm≤NT<3.5mm, 3.5mm≤NT<4.0mm, 4.0mm≤NT<5.0mm, NT≥5mm, the pathogenic chromosome abnormality respectively were 9.7%, 16.7%, 31.0%, 37.9%. **Conclusions** Increased nuchal translucency is significantly correlated with chromosome abnormality and aCGH has many remarkable advantages in detecting pathogenic CNVs. Traditional chromosome karyotype analysis and aCGH should be together applied to fetuses with increased nuchal translucency.

【Key words】 increased nuchal translucency; prenatal diagnosis; chromosomal karyotype; aCGH

颈项透明层(nuchal translucency, NT)是指超声图像上胎儿颈后皮下液体积聚形成颈后无回声

区。以往研究表明,NT 增厚与胎儿染色体异常、胎儿结构异常及胎儿遗传基因综合征等有关。自 1992 年起有学者^[1]提出将 NT 值作为胎儿早孕期染色体筛查的超声指标,目前胎儿 NT 检查已被广泛应用于孕 11~13⁺6 周的超声筛查。除传统的染

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2016.04.005

基金项目:广东省医学科研基金项目(WSTJJ2012101844-0105197311060029)

* 通讯作者:麦明琴, E-mail: maimingqin@126.com

染色体核型分析外,基于微阵列芯片的比较基因组杂交(array-based comparative genomic hybridization, aCGH)也被越来越多的应用于产前诊断中。aCGH能够在全基因组水平进行扫描,检出100kb以下的基因拷贝数变异(copy number variation, CNV),对染色体微重复、微缺失等异常优于传统的G显带检测方法。本文回顾性总结了223例NT增厚胎儿的染色体核型及aCGH结果,探讨染色体检查在NT增厚胎儿产前诊断中的意义,希望为临床决策提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

回顾性分析了2013年1月至2014年12月于广东省妇幼保健院行孕11~13⁺6周的超声筛查诊断为NT增厚或临界增厚,伴或不伴其余超声结构异常,并行介入性产前诊断查胎儿染色体核型分析及aCGH检测的病例223例。

1.2 研究方法

1.2.1 超声检查

由经过专业培训的医生进行超声检查。NT的测量方法采用英国胎儿医学基金会规定的测量方法:①应于妊娠11~13⁺6周,胎儿头臀径为45~84mm时进行;②应取得胎儿正中矢状切面图,并在胎儿自然姿势时测量;③图像放至最大,只显示胎儿头部及上胸部,光标轻微移动只会改变测量结果0.1mm;④测量皮肤内缘至脊柱外软组织外缘间的最宽距离,游标尺应放在定义NT厚度的两条强回声线之间;⑤上述方法,NT测量3次,取其最大值。NT值 ≥ 3 mm诊断为NT增厚,2.5mm \leq NT < 3.0 mm诊断为临界增厚。

1.2.2 介入性产前诊断

89例孕妇于孕11~13周经腹行胎儿绒毛活检术,抽取绒毛组织10mg;124例孕妇于孕18~24周行羊膜腔穿刺术抽取羊水20~30ml;10例患者于孕24周行脐静脉穿刺术抽取脐血1.5~1.7ml。所有穿刺均在超声引导下由具有产前诊断资质经验丰富的医生进行操作。

1.2.3 实验室检查

①染色体核型分析:采用原位细胞培养法,常规进行细胞培养、收获、制片和G显带、全自动扫描仪扫描、拍照,按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)标准进行G显带染色体

核型分析诊断,必要时加做C显带、N显带;②染色体微阵列芯片比较基因组杂交:使用agilent公司生产的8 \times 60k的芯片进行全基因组扫描检测,结果参照DECIPHER、ISCA、OMIM、DGV、UCSC等数据库进行分析。

1.2.4 统计学方法

应用SPSS13.0统计软件,采用Kruskal-Wallis H检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本信息

共收集223例产前超声提示胎儿NT增厚或临界增厚的资料。223例孕妇的年龄范围为19~46岁,平均年龄为(28.89 \pm 4.99)岁,其中预产期年龄 ≥ 35 岁的高龄孕妇25例(11.21%)。NT值的范围为2.5~13.8mm,平均厚度(3.81 \pm 1.57)mm。194例为单纯NT异常;12例为NT增厚合并胎儿淋巴水囊瘤,其中2例合并水肿;3例胎儿NT增厚合并全身皮肤水肿;5例合并其余单纯超声软指标异常,其中3例为鼻骨显示不清或发育不良,1例为单脐动脉,1例为脉络丛囊肿;1例合并胎儿右位心及膈肌发育不良,1例合并胎儿马蹄肾、双侧脉络丛囊肿及单脐动脉;2例合并胎儿复杂心脏畸形:房室间隔缺损、右室发育不良、三尖瓣闭锁、肺动脉狭窄、大动脉转位等;1例合并胎儿心律失常;1例合并胎儿腹腔内囊性包块、羊水过多;1例合并胎儿室管膜下囊肿;1例合并单纯羊水过多;还有1例为双绒毛膜双羊膜囊双胞胎之一胚胎停育后的存活胎。

2.2 结果分析

2.2.1

223例中除1例因绒毛染色体培养失败未获得染色体G显带结果外,其余均获得胎儿染色体核型及aCGH结果。47例(21.2%)胎儿染色体G显带结果异常,致病性异常35例(15.8%)。其中21-三体19例(8.6%),18-三体5例(2.3%),13-三体2例(0.9%),X单体2例(0.9%),胎儿染色体不平衡易位3例(1.4%),染色体平衡易位3例(1.4%),染色体倒位5例(2.3%),染色体缺失2例(0.9%),非倒位型多态性改变4例(1.8%),2例(0.9%)为嵌合型异常。

2.2.2 223 例 aCGH 结果中,共 37 例(16.6%)出现 aCGH 结果异常,致病性异常 35 例(15.7%)。25 例胎儿染色体三体及 2 例 X 单体异常结果与 G 显带核型结果一致,另 1 例除检出 21-三体外,还发现存在 Xq22.31 上 1.5Mb 纯合缺失,为性染色体连锁鱼鳞病致病位点。2 例胎儿染色体 22q11.21 区域出现缺失,临床上可能表现为 DiGeorge 综合征。G 显带核型提示为不平衡易位及染色体缺失胎儿的 aCGH 均检测出相对应的异常。G 显带结果

为平衡易位、倒位及其余多态性改变胎儿的 aCGH 结果均未见明显异常。1 例 aCGH 检出 Xq22.31 上 1.5Mb 重复,查询数据库考虑为良性变异。还有 1 例 4 号染色体出现微重复,临床意义暂不明确。因篇幅有限,表 1 列举了除 21-三体、18-三体及 45,X 单体外的染色体异常。

2.2.3 按照 NT 值分组对染色体结果进行分析(表 2)。

表 1 G 显带及 aCGH 部分阳性结果

年龄(岁)NT(mm)			G 显带	aCGH
1	33	5.4	47,xy,+21	21 三体,Xq22.31 1.5Mb 缺失
2	26	3.2	47,xy,+der(14)t(12;14)(p13.2;q23.2)	arr12p13.33p13.2(100682-11430946)×3;arr14q11.2q23.2(19542388-63948972)×3
3	25	3.8	46,xx,del(13)(q13q21.3)	arr13q13.3q21.32(38049107-65968786)×1
4	24	4.6	46,xy	arr22q11.21(17299942-19770514)×1
5	29	3.0	46,xy,der(4)t(3;4)(p24;q34)pat,t(8;22)(q22;q12)mat	arr3p26.3p24.3(68949-19531866)×3;arr4q34.3q35.2(178530023-191133668)×1
6	25	2.6	46,xx	arr4q12q13.1(58024081-62445259)×3 VOUS
7	34	5.6	46,xy,del(18)(p11.2)	arr18p11.32p11.21(4316-11497099)×1;
8	26	2.7	46,xy	arr22q11.21(17299942-19770514)×1
9	31	6.2	46,xy,der(13)t(10;13)(q23;q34)	dup(10)(q23.33q26.3);del(13)(q34)
10	27	2.9	46,xy	Xp22.31 1.5Mb 重复;良性
11	26	3.0	45,xy,der(14;15)(q10;q10)	未见异常
12	21	2.5	46,x,inv(y)	未见异常
13	27	3.2	46,XN,t(12;14)(p13;q23)mat	未见异常
14	39	2.8	46,xx,inv(3)(p11q21)	未见异常
15	33	6.3	46,xx,inv(7)(p13q31.2)	未见异常
16	26	2.6	46,XX,inv(9)(p11q13)	未见异常
17	29	3.8	46,xx,t(1;4)(q23;q23)mat	未见异常
18	26	2.9	46,xy,inv(9)(p11q13)	未见异常
19	22	2.9	mos 46,xy[27]/46,xx[3]	未见异常
20	29	2.6	mos 47,xx,+3[2]/46,xx[23]	未见异常

表 2 NT 分组与染色体结果关系

NT 值(mm)	例数(例)	G 显带异常		H	P	aCGH 异常		H	P
		致病[例(%)]	总例[例(%)]			致病[例(%)]	总例[例(%)]		
2.5≤NT<3.0	67	4(6.0)	8(11.9)			3(4.5)	5(7.5)		
3.0≤NT<3.5	62	6(9.7)	10(16.1)			6(9.7)	6(9.7)		
3.5≤NT<4.0	36	6(16.7)	7(19.4)	20.36	0.000	6(16.7)	6(16.7)	23.98	0.000
4.0≤NT<5.0	29	8(27.6)	9(31.0)			9(31.0)	9(31.0)		
NT≥5	29	11(37.9)	12(41.4)			11(37.9)	11(37.9)		

2.5mm≤NT<3.0mm 者共 67 例,共检出致病染色体异常 5 例(7.5%)。G 显带核型及 aCGH 分析发现 18-三体和 21-三体各 1 例(1.5%);G 显带核型分析发现嵌合体 2 例(3.0%),其中 1 例 NT2.6mm,核型为 mos47,XX,+3[2]/46,XX[23],另 1

例 NT2.9mm,核型为 mos46,XY[27]/46,XX[3],2 例 aCGH 检测均未见明显异常,因 2 例均为绒毛活检结果,充分遗传咨询,建议行羊膜腔穿刺术进一步确诊,两例孕妇均未复诊。此外,G 显带核型分析还发现 4 例良性变异 46,X,inv(y),46,XX,inv(9)

(p11q13), 46,XX,inv(3)(p11q21), 46,XY,16qh+,均无 aCGH 异常,已建议父母双方行染色体检查。而 aCGH 发现 1 例 NT 值为 2.7mm 的胎儿 22q11.21 出现 2.5Mb 缺失,与 DiGeorge 综合征相关;1 例 aCGH 检出 Xq22.31 上出现可疑良性变异的微重复,另 1 例发现 4q12 上出现临床意义暂不明确的微重复,此 3 例 G 显带均未发现异常。

3.0mm≤NT<3.5mm 者共 62 例,共检出致病染色体异常 6 例(9.7%)。G 显带核型及 aCGH 分析发现 21-三体 4 例(6.5%),不平衡易位 2 例(NT 值分别为 3.2mm 和 3.0mm),经父母染色体验证,这 2 例胎儿父亲均为平衡易位携带者。G 显带分析发现 2 例 NT 分别为 3.0mm 和 3.2mm 胎儿为平衡易位携带者,无 aCGH 结果异常,来源于母亲。

3.5mm≤NT<4.0mm 者共 36 例,共检出致病染色体异常 6 例(16.7%)。G 显带核型及 aCGH 分析发现 21-三体 4 例(11.1%),13 号染色体缺失 1 例(NT 值 3.8mm),X 单体 1 例(NT3.6mm)。G 显带发现平衡易位 1 例(NT3.8mm),无 aCGH 结果异常,来源于母亲。

4.0mm≤NT<5.0mm 者共 29 例,共检出致病染色体异常 9 例(31.0%)。G 显带核型及 aCGH 分析发现 21-三体 4 例(13.8%),13-三体和 18-三体各 2 例(6.9%)。aCGH 发现 1 例与 DiGeorge 综合征相关的 22q11.2 2.5Mb 缺失(NT4.6mm),G 显带未见异常。

NT≥5mm 者共 29 例,共检出致病染色体异常 11 例(37.9%)。G 显带核型及 aCGH 分析发现 21-三体 6 例(20.7%),18-三体 2 例(6.9%),X 单体 1 例(NT13.8mm),染色体缺失和不平衡易位各 1 例(NT 分别为 5.6mm 和 6.2mm)。

根据统计学分析,不同的 NT 值组间染色体异常的发生率有显著差异,且染色体异常风险随 NT 值增高而增高, $P<0.05$ 。

2.2.4 NT 增厚合并其他超声异常者共 29 例,G 显带核型及 aCGH 分析发现有 8 例(27.6%)存在致病性染色体异常。NT 增厚合并淋巴水囊瘤者共 12 例,胎儿染色体异常比例高达 50%,其中 18-三体 2 例,21-三体 2 例,X 单体 1 例,不平衡易位 1 例。

NT 合并超声软指标异常 5 例,其中 NT 值 5.6mm 合并单脐动脉者存在 18p11.2 上 26.8Mb 致病缺失。其余超声合并严重结构畸形者未见明显染色体异常。

3 讨论

妊娠 14 周前颈部淋巴囊与颈静脉窦未完全相通,少量淋巴液集聚颈部出现短暂回流障碍,形成暂时性 NT,妊娠 14 周应消退^[2]。NT 增厚的病理生理机制目前仍然不明确,可能的原因有先天性心脏缺陷、淋巴系统发育迟缓、细胞外间质成分改变、先天性感染、其他结构畸形等^[3]。对于 NT 截断值的判定仍有争议,目前国际上多用 NT 厚度超过第 95 百分位数为 NT 增厚,在我国 NT 增厚截断值缺乏统一数值标准,我们中心以 NT 在 2.5~3.0mm 间为临界增厚,NT≥3.0mm 为增厚。

NT 增厚与染色体异常关系密切,且风险随 NT 值的增加而增加。有文献报道,在 NT 增厚胎儿中 14.2%~23% 合并染色体异常^[4-6]。1 项 96 127 例单胎妊娠研究表明,NT 在 ≤3.4mm、3.5~4.4mm、4.5~5.4mm、5.5~6.4mm 和 ≥6.5mm 时染色体异常的发生率分别为 0.33%、21.12%、33.33%、50.51% 和 64.45%^[7]。在我们的研究中,NT 增厚胎儿致病性染色体异常的发生率为 16.6%,其中以 21-三体、18-三体、13-三体及 X 单体等数目异常为主,与以往文献相符。通过染色体 G 显带核型分析及 aCGH 检测,NT 在 2.5~2.9mm、3.0~3.4mm、3.5~4.0mm、4.0~5.0mm、≥5.0mm 时胎儿致病性染色体异常的发生率分别为 7.5%、9.7%、16.7%、31%、37.9%。有文献建议,NT≥3.0mm 者直接行产前诊断,NT 临界增厚(2.5~3.5mm)者先行非整倍体筛查后根据风险值再决定是否要行介入性产前诊断^[8]。在我们的研究中,2.5mm≤NT<3.0mm 者胎儿致病性染色体异常的发生率为 7.5%。为防漏诊,对于 NT 临界增厚的胎儿,建议遗传咨询后由患者知情决定是否进一步产前诊断。

除染色体异常外,NT 增厚与胎儿结构异常有关系。在我们研究中,NT 增厚合并淋巴水囊瘤、水肿、先天性心脏畸形、室管膜下囊肿、腹腔囊性包块、

羊水过多等异常,也合并有单脐动脉、鼻骨发育不良、脉络丛囊肿等超声软指标改变,与以往文献相符。特别值得注意的是,NT增厚合并淋巴水囊瘤胎儿染色体异常的风险高达50%。

染色体异常包括数目异常和结构异常,后者又包括染色体片段的缺失、重复和易位。染色体的微缺失、微重复异常与智力低下、生长发育迟缓、先天性结构畸形等异常密切相关。传统的核型分析可能会漏诊一些细微的染色体异常,而aCGH对CNVs的改变敏感,可以对这些微小异常进行补充检测。有文献报道,在QF-PCR检测结果为阴性的NT增厚胎儿中,aCGH额外检出了约12.8%的致病性CNVs^[9]。在我们的研究中,aCGH检测出2例22q11.21区域缺失2.5Mb胎儿,查询数据库,该位点异常与DiGeorge综合征相关。DiGeorge综合征是一组以特征性面容、胸腺和甲状旁腺发育不良或发育不全,先天性心脏异常为主要表现的遗传综合征,必要的三联征为低钙血症、免疫缺陷和先天性心脏病^[10],出生后预后较差,产前诊断意义重大。另aCGH检测出1例胎儿Xq22.31上出现1.5Mb纯合缺失,该位点为性染色体连锁鱼鳞病致病位点。这3例异常均被传统核型分析漏诊。

由于aCGH对CNVs改变的高敏性,该技术能够检出大量良性和临床意义不明的CNVs。在我们的研究中,我们发现了1例Xq22.31上可疑良性变异的微重复和1例4q12上临床意义不明确的微重复。虽然公共数据库的不断完善大大加深了人们对这些CNVs的认识,但也在一定程度上增加了临床咨询的复杂性。此外,aCGH也不能检出平衡性的重排,本研究中染色核型分析发现的倒位和平衡易位均未在aCGH结果中体现。因此aCGH技术与传统的染色体核型分析各有利弊,应同时用于NT增厚胎儿产前诊断。

综上所述,胎儿NT增厚与染色体异常关系密切,且染色体异常风险随NT值增高而增高,因此NT增厚是产前诊断的独立指征。虽然仍存在不足,aCGH技术对致病性CNVs检出有明显优势,在

产前诊断中意义重大。NT增厚胎儿应同时行传统染色体核型分析和aCGH分析,以获得更多遗传信息及更优的临床决策。

参 考 文 献

- [1] Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, et al. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy[J]. BMJ,1992,304(6831):867-869.
- [2] 严英榴,杨秀雄,沈理. 产前超声诊断学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2012.
- [3] 殷林亮,邓学东,杨忠. 孕11-13⁺6周胎儿颈项透明层增厚的临床意义[J/CD]. 中华医学超声杂志(电子版),2014,11(4):295-300.
- [4] Saldanha FA, Brizot Mde L, Moraes EA, et al. Increased fetal nuchal translucency thickness and normal karyotype: prenatal and postnatal follow-up[J]. Rev Assoc Med Bras, 2009, 55(5): 575-580.
- [5] 欧阳鲁平,费冬梅,黄红倩. 138例超声软指标NT与NF在检测胎儿染色体异常的意义[J]. 中国优生与遗传杂志,2015,23(7):41-42.
- [6] Maymon R, Zimerman A L, Weinraub Z, et al. Correlation between nuchal translucency and nuchal skin-fold measurements in Down syndrome and unaffected fetuses[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2008,32:501-505.
- [7] Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre Project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester screening Group[J]. Lancet,1998,352(9125): 343-346.
- [8] 周祎,鲁云涯,陈涌珍. 颈项透明层增厚胎儿的产前诊断及预后分析[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,34(6):420-422.
- [9] Lund IC, Christensen R, Petersen OB, et al. Chromosomal microarray in fetuses with increased nuchal translucency[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2015,45:95-100.
- [10] Parissis D, Milonas I. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome: an underestimated cause of neuropsychiatric impairment in adolescence[J]. J Neurol,2005,252(8): 989-990.

(收稿日期:2016-11-01)

编辑:李琳