

75 例骨骼发育异常胎儿与遗传因素的相关性分析

黄如纯¹ 柯华玲² 皮回春^{1*} 刘维强³ 吴丽萍¹ 吴思琪¹ 刘金星³

(1. 深圳市龙岗区妇幼保健院/汕头大学医学院龙岗妇幼临床学院 医学遗传与产前诊断科;
2. 深圳市龙岗区妇幼保健院/汕头大学医学院龙岗妇幼临床学院 超声影像科;3. 深圳市龙岗区妇幼保健院/汕头大学医学院龙岗妇幼临床学院 中心实验室,广东 深圳 518172)

【摘要】 目的 探讨遗传因素在骨骼发育异常(skeletal dysplasia, SD)胎儿中的作用,为临床遗传咨询提供参考。**方法** 2018 年 1 月至 2022 年 12 月因骨骼发育异常伴或不伴有其他超声异常至深圳市龙岗区妇幼保健院医学遗传与产前诊断科行遗传学检测的 75 例胎儿,47 例胎儿进行介入性产前诊断行染色体核型、染色体微阵列分析,部分阴性病例进一步行全外显子测序;28 例超声诊断后孕妇要求引产,取引产胎儿组织行染色体微阵列分析,部分阴性病例行全外显子测序。**结果** 75 例骨骼发育异常胎儿中,检出染色体非整倍体 12 例,包括 10 例 18 三体、1 例 13 三体、1 例 X 单体嵌合体,检出率为 16%(12/75),染色体微阵列分析额外检出 6 例致病性变异(8%,6/75),染色体异常总体阳性检出率为 24%(18/75);9 例染色体检测阴性胎儿进一步行全外显子测序,3 例致病性突变,2 例可疑致病性突变,2 例临床意义不明突变,阳性检出率为 77.8%(7/9)。其中,单纯 SD 组及 SD 合并其他系统异常阳性检出率分别为 21.3%(10/47)、53.6%(15/28),两组阳性检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 6.846, P = 0.009 < 0.01$)。**结论** 骨骼发育异常胎儿染色体异常风险增加,建议行介入性产前诊断,在染色体核型及微阵列分析的基础上,可提供全外显子测序提高阳性检出率。

【关键词】 骨骼发育异常; 产前诊断; 染色体核型分析; 染色体微阵列分析; 全外显子测序

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Genetic factors analysis of 75 fetuses with skeletal dysplasia

Huang Ruchun¹, Ke Hualing², Pi Huichun^{1*}, Liu Weiqiang³, Wu Liping¹, Wu Siqi¹, Liu Jinxing³

(1. Department of Medical genetics and prenatal diagnosis, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City (Longgang Maternity and Child Institute of Shantou University Medical College; 2. Department of Ultrasonography, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City (Longgang Maternity and Child Institute of Shantou University Medical College; 3. Department of Genetic Laboratory, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City (Longgang Maternity and Child Institute of Shantou University Medical College, 518172 Shenzhen, Guangdong, China)

【Abstract】 Objective To explore the influence of genetic factors on fetal skeletal dysplasia (SD) and provide reference for clinical genetic counseling. **Methods** From January 2018 to December 2022, 75 fetals found to have skeletal dysplasia with or without other abnormalities were subjected to genetic tests. Among them, 47 cases underwent prenatal chromosome karyotype and chromosome microarray, some

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.03.008

基金项目:深圳市龙岗区经济与科技发展专项资金医疗卫生科技计划项目(LGWJ2021-65)

* 通信作者:皮回春,Email:2414539513@qq.com

cases underwent whole exon sequencing (WES). 28 pregnant women chose to induce labor directly, and the fetal tissue was sequenced. The above detection results were retrospectively analyzed. **Results** Among 75 cases, 12 cases of chromosome aneuploidy and 6 cases of pathogenic copy number variation were detected. The overall detection rate was 24% (18/75). 9 cases underwent whole exon sequencing (WES). 5 cases of pathogenic or likely pathogenic gene mutation and 2 cases of gene mutation with unknown clinical significance were detected. There were statistically significant differences in the positive detection rates between groups skeletal dysplasia without other abnormalities and skeletal dysplasia with other abnormalities ($\chi^2=6.846, P=0.009<0.01$). **Conclusion** The risk of chromosomal abnormalities in fetal with SD increases, so invasive prenatal diagnosis is recommended. In addition to chromosomal Karyotype analysis and microarray analysis, WES can improve the diagnostic rate.

【Key words】 skeletal dysplasia; prenatal diagnosis; chromosomal karyotype analysis; chromosome microarray analysis; whole exome sequencing

胎儿骨骼发育异常(skeletal dysplasia, SD)是一组影响骨和软骨生长发育的疾病,包括骨形状、大小、密度的异常^[1],是较为常见的出生缺陷,在胎儿结构畸形中占10%,其在活产儿中的发病率约为0.36/10000~3.2/10000^[2-4]。过去人们认为,骨骼发育异常仅仅与环境致畸因素暴露、药物、母体自身免疫性疾病等^[1]有关,近年来,随着细胞和分子遗传技术的发展,人们逐渐认识到遗传因素在骨骼发育异常胎儿中起着重要的作用,遗传学诊断也成为胎儿产前诊断的主要手段^[5]。遗传因素主要包括染色体非整倍体、染色体微缺失/微重复和基因突变等。本研究系统回顾了75例产前超声诊断的骨骼发育异常胎儿的遗传学检测结果,探讨遗传因素在骨骼发育异常胎儿中的作用,为临床遗传咨询提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2018年1月1日至2022年12月30日在深圳市龙岗区妇幼保健院产前超声发现骨骼发育异常至医学遗传与产前诊断科行遗传学检测的75例胎儿为研究对象,62例局部畸形(包括马蹄内翻足、并指/趾、叠指、上/下肢体骨部分缺如、钩状手等),9例短肢畸形(股骨、肱骨小于2个标准差),4例骨形态学异常(长骨弯曲、胸廓发育不良、骨密度改变等),其中47例行介入性产前诊断进行染色体核型分析、染色体微阵列分析(chromosome microarray analysis, CMA),部分羊水核型分析及

CMA检测阴性者进一步行全外显子测序(whole exome sequencing, WES),28例超声诊断骨骼发育异常后孕妇要求直接终止妊娠,经同意后取引产胎儿组织进行CMA检测,部分结果阴性者与其签订《科研检测知情同意书》后,进一步行WES,回顾性分析以上病例的遗传学检测结果。本研究已通过医院伦理委员会的批准(审批号:LGFYYXLLL-2020-002),所有孕妇均接受检测前咨询并签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 超声检查 使用Voluson E8彩色多普勒超声诊断仪,探头频率4.0~5.0MHz。检查医生均经过系统培训,按照统一标准进行早孕期NT、中孕期II级及III级超声检查,全面观察胎儿各系统结构发育情况,参照李胜利等^[6]《胎儿畸形产前超声诊断学》诊断胎儿常见的骨骼发育异常。

1.2.2 分组 根据骨骼发育异常的复杂程度及是否合并其他系统异常进行分组,A组为单纯性骨骼发育异常,即胎儿只存在与骨骼发育相关的超声异常;B组为骨骼发育异常合并其他系统超声异常。

1.2.3 羊水细胞培养和染色体核型分析 按照G显带染色体核型分析技术的标准操作对48例胎儿羊水进行细胞培养、收获、制片及G显带染色体核型分析,每例标本使用Leica SL120全自动核型扫描仪扫描100个分裂相。核型诊断标准依据2016年人类细胞遗传学国际命名体系(ISCN2016)。

1.2.4 DNA提取和染色体微阵列检测(CMA)

染色体核型结果正常的羊水标本及27例引产胎儿组织,提取DNA后,采用Agilent公司生产的8×60k芯片或美国Affymetrix公司CytoScan™ HD芯片进行全基因组扫描,数据分析参照OMIM、UCSC、ISCA、DGV、DECIPHER等数据库。

1.2.5 DNA提取及全外显子测序(WES) 染色体微阵列分析阴性的4例羊水标本和5例引产胎儿组织提取基因组DNA,进行文库构建,按流程获得最终的测序文库。文库QC检测合格后即上机测序(Illumina NovaSeq 6000 测序系统),测得的数据使用配套的科诺安数据分析软件(杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司)进行分析。对发现的变异采用Sanger测序进行位点验证及家系验证。

1.3 统计学方法 采用SPSS 27.0 软件进行统计

分析,定性资料用率(%)表示,组间比较采用卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 染色体核型分析及微阵列分析结果 47例进行了羊膜腔穿刺术的SD胎儿,染色体核型分析检出4例非整倍体:包括3例18三体、1例45,X/del(X)嵌合。发现1例染色体多态,未列入阳性病例统计。CMA额外检出6例致病性拷贝数变异(copy number variations,CNVs)。28例AD胎儿引产后行CMA检测,检出8例非整倍体:包括8例18三体、1例13三体。非整倍体总检出率为:16%(12/75);CMA额外检出6例致病性CNVs(8%,6/75),综上总检出率为24%(18/75)(图1)。

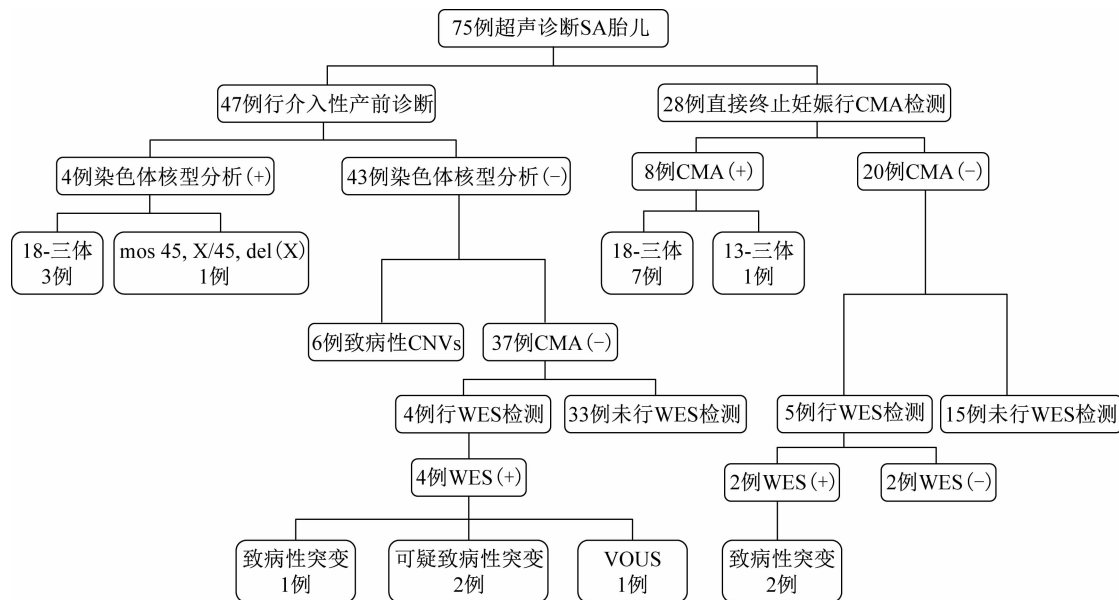


图1 75例骨骼发育异常胎儿遗传学检测结果

注:CMA:染色体微阵列分析;WES:全外显子测序;VOUS:临床意义不明的变异。

2.2 全外显子测序(WES) 9例染色体正常胎儿进行了WES检测,3例检出致病突变,2例检出疑似致病突变,2例为临床意义不明的突变(VOUS),2例阴性结果;将检出的VOUS也纳入阳性病例统计,检出率77.8%(7/9)(图2)。

2.3 统计学分析 75例AD胎儿中A组47例(62.7%,47/75),B组28例(37.3%,28/75),遗传学检测阳性病例共25例(表1),阳性检出率为32.9%(25/75),其中A组、B组阳性检出率分别为

21.3%(10/47)、53.6%(15/28),2组间检出率比较差异有统计学意义($\chi^2=6.846$, $P=0.009<0.01$)(表2)。

3 讨论

骨骼发育异常与染色体病相关,从以往研究结果显示,产前超声筛查骨骼畸形的染色体核型检出率为4.65%~6%^[7-8],而染色体微阵列技术将SD胎儿基因组致病性CNVs的检出率比传统染色体

表 1 不同骨骼发育异常胎儿与染色体、基因异常的关系

编号	骨骼发育异常	其他超声异常	检测标本	染色体核型	微缺失/微重复及意义	致病基因及变异类型
1	钩状手	NT 增厚,淋巴管囊肿,脐膨出,单脐动脉	胎儿组织	—	未见异常	—
2	钩状手、摇椅足	胎儿水肿	胎儿组织	—	未见异常	—
3	钩状手,双侧桡骨缺如或发育不全,下颌骨显示不清	全前脑	胎儿组织	—	未见异常	—
4	钩状手、小下颌	室间隔缺损(膜周部),右锁骨下动脉迷走,双侧脉络丛囊肿	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
5	钩状手、草莓头	左心发育不良、室间隔缺损、肺动脉异位起源可能,胃泡显示不清,膈疝,胆囊增大,单脐动脉	羊水	47,XN,+18	—	—
6	钩状手,双侧桡骨缺如		羊水	47,XN,+18	—	—
7	钩状手,双侧桡骨缺如或发育不全	胎儿水肿	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
8	钩状手,双侧尺骨缺如;一足并趾且缺一脚趾,草莓头	全前脑? 胼胝体显示不清,双侧脉络丛囊肿,室间隔缺损,胃泡未显示	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
9	钩状手,双上肢前臂桡骨显示不清	胎儿水肿,心脏畸形待排,鼻骨显示不清	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
10	双上肢桡骨缺如,小下颌畸形	双侧脉络丛囊肿,室间隔缺损,单一动脉干,胃泡显示不清	羊水	47,XN,+18	—	—
11	左手多根指骨缺如		羊水	46,XN	未见异常	—
12	双侧掌骨可见,部分手指显示不清	NT 增厚,脑积水	胎儿组织	—	未见异常	—
13	左侧上肢尺骨缺如,下肢缺如	心内膜垫缺损,单脐动脉	胎儿组织	—	未见异常	—
14	双手小指、中节指骨显示不清,右足草鞋足姿势,脊柱侧凸畸形、半椎体		胎儿组织	—	未见异常	—
15	左足第 4/5 脚趾见两节趾骨;右足第 3/4/5 脚趾见一节趾骨	左侧肾囊肿,左心室强光点	胎儿组织	—	未见异常	—
16	左上肢缺如,右侧尺骨桡骨缺如		胎儿组织	—	未见异常	—
17	一侧下肢缺如	腹裂畸形,单脐动脉	胎儿组织	—	未见异常	—
18	左手在腕骨远端缺如、手指缺如		胎儿组织	—	未见异常	—
19	右侧手指重叠指;T11、L1 椎体形态异常	室间隔缺损,融合肾,脊髓圆锥终丝囊肿	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
20	左手六指畸形		羊水	46,XN	未见异常	—
21	双手六指畸形,双足六趾畸形		羊水	46,XN	未见异常	—
22	右手六指畸形		羊水	46,XN	未见异常	—
23	左手六指畸形		羊水	46,XN	未见异常	—
24	双手六指畸形	左心室强光点	羊水	46,XN	arr[hg19]16p13.11 (14900043_16458424) ×1,致病性 CNV (拒绝检测变异来源)	—
25	右足内翻,脊柱骨化不全	水肿胎,颈部水囊瘤,脐膨出,膀胱未显示,单脐动脉,静脉导管未显示	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
26	双足内翻	唇腭裂,室间隔缺损,胆囊显示不清	胎儿组织	—	arr(18)×3	—
27	右足内翻	全前脑,喙鼻,大动脉发育异常合并瓣膜缺失可能,单一脐动脉	胎儿组织	—	arr(13)×3	—
28	双足内翻	脑积水;骶尾部脊柱开放性脊柱裂	胎儿组织	—	未见异常	—
29	双足内翻	脊髓圆锥位置低,未排除脊柱隐性裂	羊水	46,XN	未见异常	—
30	右足内翻	脑积水;腰骶部脊柱开放性脊柱裂	胎儿组织	—	未见异常	—
31	双足内翻,摇椅足		羊水	46,XN,9qh+	未见异常	—
32	左足内翻		羊水	46,XN,1qh+	未见异常	—
33-34	左足内翻		羊水	46,XN	未见异常	—
35-43	右足内翻		羊水	46,XN	未见异常	—
44-57	双足内翻		羊水	46,XN	未见异常	—
58	右足内翻		羊水	46,XN	arr[hg19]16p13.11-p12.3(15324776_18172468) ×1,致病性 CNV (拒绝检测变异来源)	—

续表

编号	骨骼发育异常	其他超声异常	检测标本	染色体核型	微缺失/微重复及意义	致病基因及变异类型
59	双足内翻		羊水	46,XN	arr[hg19]16p11.2 (28371467 _ 29428532)×1,致病性 CNV;(拒绝检测变异来源)	—
60	双足内翻		羊水	46,XN	arr[hg19]7q11.23 (72589455 _ 74268509)×3,致病性 CNV;(新发)	—
61	一侧足外翻姿势,脊柱排列不齐	脑积水,胸腹腔结构显示不清,下腹部囊性包块	胎儿组织	—	未见异常	—
62	股骨-2.7SD		羊水	46,XN	未见异常	—
63	股骨-2.4SD,肱骨-2.3SD,右足第四、五趾趾短	双侧侧脑室轻度扩张	羊水	46,XN	未见异常	—
64	股骨-2.9SD,肱骨-3SD		羊水	45,X[21]/46,X,del(X)(p22.2)[62]	—	—
65	股骨-2.49SD,肱骨-2.225SD		羊水	46,XN	arr[hg19]Xp22.33 (532467 _ 1216144)×1,致病性 CNV;(新发)	—
66	股骨-3.8SD,肱骨-3.4SD		羊水	46,XN	arr[hg19]Xp22.33 (535220 _ 700383)×1,致病性 CNV;(新发)	—
67	股骨-2.8SD		羊水	46,XN	未见异常	FGFR3 基因 c.1138G > A (p. Gly380Arg) 杂合突变(新发)(致病性)
68	股骨-4SD,肱骨-3SD,股骨长/足长=0.75		羊水	46,XN	未见异常	FGFR3 基因 c.2005C > G (p. Arg669Gly) 杂合突变(新发)(VOUS)
69	股骨-4.3SD,肱骨-4.7SD	脊髓圆锥低,左侧双肾盂	羊水	46,XN	未见异常	COL2A1 基因 c.3472G > A (p. Gly1158Ser) 杂合突变(新发)(疑似致病)
70	股骨-6.58SD,四肢呈姿势固定	全身皮肤水肿	羊水	46,XN	未见异常	TRIP11 基因 c.2632C>T (p.R878*) 纯合突变(父母携带)(疑似致病)
71	三叶草型头颅,双手拇指粗大,第2345指呈“手套征”,双足拇指粗大,双足第2345趾呈“手套征”,提示并指/趾畸形		胎儿组织	—	未见异常	FGFR2 基因 c.755C > G (p. Ser252Trp) 杂合突变(新发)(致病性)
72	双侧股骨弯曲、双足拇趾偏向内侧,可疑小下颌,颈6椎体显示不清,骶尾部两侧椎弓板距离大	脊髓圆锥位置低,脊髓圆锥下方囊肿,胃泡小,双肾盂轻度分离	胎儿组织	—	未见异常	SOX9 基因 c.1452 _ 1453delTG (p. Val486Profs*) 杂合突变(新发)(致病性)
73	肋骨缩短,胸腔明显狭窄,胸围缩小,四肢长骨明显短小弯曲,尤以股骨明显,足内翻,小下颌	NF增厚,右肾盂轻度分离	胎儿组织	—	未见异常	SOX9 基因 c.344G > C (p. Trp115Ser) 杂合突变(新发)(VOUS)
74	双下肢姿势异常,脊柱侧凸	腹裂,脐带短	胎儿组织	—	未见异常	未见异常
75	窄胸,脊柱侧弯,胸椎椎体广泛发育不良,半椎体	右室双出口,肺动脉闭锁,室间隔缺损,右位主动脉弓,右位导管,单脐动脉	胎儿组织	—	未见异常	未见异常

注:—表示未知。

表2 A组、B组骨骼发育异常胎儿遗传学阳性检出情况(例)

组别	阳性	阴性	小计
A组:单纯骨骼发育异常	10	37	47
B组:骨骼发育异常合并其他超声异常	15	13	28
合计	25	50	75

注:A、B组间差异有统计学意义($\chi^2=6.846, P=0.009<0.01$)。

核型分析提高了9%~21.95%,并识别和鉴定了一些可能导致胎儿骨骼发育异常表型的候选基因^[8-10]。本研究中共检测出12例非整倍体,10例18三体,1例13三体,1例mos 45,X/del(X),染色体非整倍体检出率16%(12/75),比既往报道检出率高,可能与18三体及13三体除骨骼发育异常外往往合并其他结构畸形,在早孕期11~13⁺6周NT超声检查及孕中期16~18周II级产前超声筛查可以发现与之相关的表型有关。CMA额外检出8%(6/75)致病性CNV,略低于既往报道,可能与产前胎儿行CMA分析检测的表型谱相对比较狭窄和局限,超声对某些骨骼异常的诊断存在偏差,且本研究样本量较小等因素有关。

不同骨骼发育异常与不同染色体病相关,18三体胎儿会出现拇指短小、并指(趾)、马蹄内翻足、摇椅足、桡骨缺如;13三体胎儿会出现轴后性多指(趾)、手指弯曲伴叠压、马蹄内翻足、小骨盆;Turner综合征产前超声也会有股骨短等表现。本研究中,9例(编号1-9)超声提示钩状手胎儿中有6例18三体,其中4例(编号6-9)合并桡/尺骨缺如;9例(编号10-18)部分骨缺如的胎儿中,仅编号10超声发现桡骨缺如合并小下颌提示18三体;1例重叠指(编号19)合并脊柱发育异常提示18三体;5例(编号20-24)多指/趾畸形,4例单纯多指/趾畸形未发现染色体异常,仅有1例(编号24)合并左心室强光点发现16p13.11微缺失,为致病性CNV;36例(编号25-60)马蹄内翻足病例中,6例合并其他系统异常,检出2例18三体,1例13三体,剩余30例单纯马蹄内翻足,检出3例(编号58-60)致病性CNVs,分别为16p13.11微缺失、16p11.2微缺失、7q11.23微重复。16p13.11微缺失可表现为智力障碍、先天性多发畸形、癫痫等,该缺失区域包含NDE1、MYH11、PDXDC1、ABCC6等13个蛋白编码基因,其中ABCC6是一种ATP依赖性跨膜转运

蛋白,主要在肝和肾中表达,其通过调节具有抗矿化活性的基因,调节骨骼系统的钙化过程,参与骨骼发育的发展过程^[11],但目前没有明确的证据证明与马蹄内翻足、多指/趾畸形相关;16p11.2微缺失可导致“16p11.2微缺失综合征”,该区域包含CLN3、TUFM、ATP2A1、CD19等17个蛋白编码基因,症状主要表现为肥胖、轻度发育迟缓和行为问题等;7q11.23微重复可导致“7q11.23重复综合征”,该区域包含ELN、NCF1等27个蛋白编码基因,主要表现为语言延迟、轻微的颅面畸形、认知障碍、先天性心脏病等先天发育异常,但马蹄内翻足在上述综合征中均未见报道,是否与之有关仍待进一步研究。

骨骼发育异常调控基因众多,在2019年修订的遗传性骨骼疾病的病理学及分类中^[12]提到遗传性骨病有461种,涉及437个基因。由于SD的遗传异质性,临床表型可从相对轻微到致命性,对于临床表现无特异性的病例,胎儿结构异常的表型可能仅是某些遗传性疾病的一组症状之一,因此通过产前超声明确诊断具有一定的挑战性。近年来,越来越多的研究者报道目标区域外显子捕获检测或全外显子测序,可以提高SD患儿的致病基因检出率^[2,13]。本研究中9例(编号62-70)四肢骨短的胎儿,发现3例染色体异常,4例基因突变,阳性检出率为77.8%(7/9),其中1例mos 45,X/del(X),2例Xp22.33微缺失,该区域涉及基因SHOX(图2),该基因的表达仅限于胎儿肾脏、骨骼肌和骨髓成纤维细胞,在骨髓成纤维细胞中的表达最高,为单倍剂量敏感基因,单倍剂量不足可导致身材矮小、手脚短、脊柱侧弯、Leri-Weill软骨发育不良等^[14],相关文献报道^[15-16]SHOX基因单倍剂量不足时,胎儿可在孕中、晚期表现出长骨短,与本研究受检胎儿表型相符。另外4例四肢骨短胎儿行WES检测均发现异常,涉及基因有FGFR3、COL2A1、TRIP11,FGFR3基因变异与软骨发育不全有关,其中第8号外显子的c.1138G

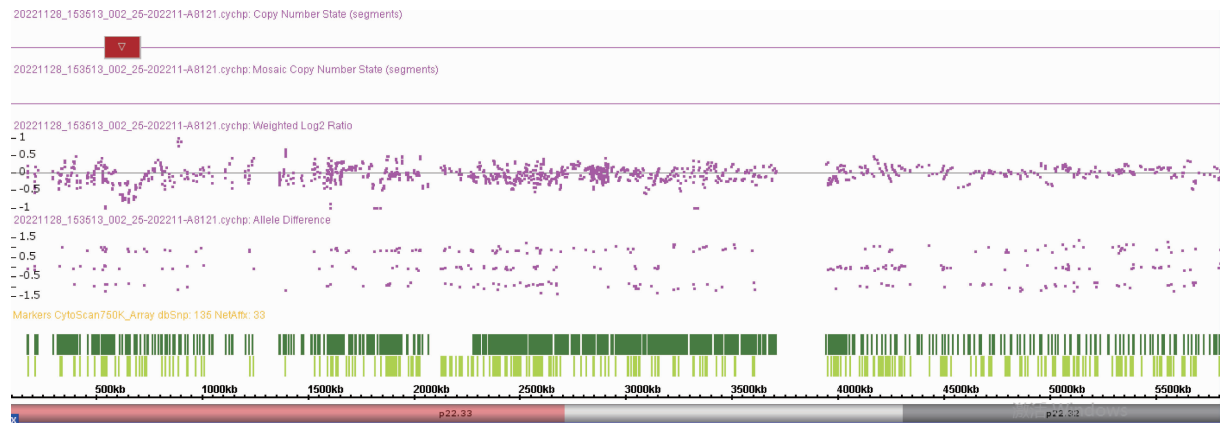


图 2 SD 致病性 CNVs Xp22.33 微缺失的染色体微阵列分析结果



图 3 1 例 SD 胎儿的 WES 检测结果(*TRIP11* 基因 c.2632C>T(p. R878*) 纯合突变, 分别遗传自双亲)
注: 该胎儿超声提示胎儿水肿, 股骨短(−6.58SD), 四肢姿势固定。

>A (Gly380Arg)(编号 67)为是 *FGFR3* 基因中已知的热点突变,是软骨发育不全患者中最常见的变异位点^[17],编号 68 胎儿提示 *FGFR3* 基因 c. 2005C>G(p. Arg669Gly)新发突变,经检索均为目前尚未报道过的致病位点,虽评定为临床意义不明,但该例胎儿超声提示股骨-4SD、肱骨-3SD,股骨长/足长=0.75(<0.8),符合软骨发育不全临床表型;编号 69 提示 *COL2A1* 基因 c. 3472G>A(p. Gly1158Ser)新发突变,评为疑似致病突变,与软骨生成不全 2 型有关;编号 70 提示 *TRIP11* 基因 c. 2632C>T(p. R878*)纯合突变,与软骨发育不全 IA 型相关。1 例(编号 71)超声表现为三叶草型头颅、并指/趾畸形胎儿,发现 *FGFR2* 基因 c. 755C>G(p. Ser252Trp)新发突变,与 Pfeiffer 综合征疾病相关;编号 72-72 均为骨形态学异常胎儿,2 例发现 *SOX9* 基因,主要与弯肢发育异常相关,其中编号 37 超声发现胎儿肋骨缩短、胸腔明显狭窄、胸围缩小、四肢长骨明显短小弯曲、马蹄内翻足、小下颌,发现 *SOX9* 基因 c. 1452_1453delTG(p. Val486Profs*91)经检索为目前尚未报道过的致病位点,丰富了胎儿骨骼异常的基因型与表型的关系。上述 WES 检测发现基因突变均进行一代验证,除了 *TRIP11* 基因为纯合突变外,其余突变均为新发突变,呈常染色体显性遗传,夫妇双方均不携带致病基因,再发的概率较低,但是不能完全排除双亲生殖细胞的嵌合造成再发的可能性。编号 70 胎儿 *TRIP11* 基因突变分别遗传自双亲(图 3),呈常染色体隐性遗传,再生育时有 25% 的概率再发,再次妊娠时可在妊娠早期行绒毛膜穿刺术进行产前诊断,或选择胚胎植入前遗传学诊断避免反复生育畸形胎儿。

本研究发现,单纯 SD 和 SD 合并其他超声异常的胎儿比单纯性 SD 的胎儿有更高的遗传学阳性检出率。2 例 SD 合并其他超声异常胎儿,在染色体核型、CMA 结果未见异常后加做 WES 的结果仍为阴性,致畸原因不明。可能的原因包括:① WES 检测技术无法做到 100% 覆盖,有可能遗漏致病基因突变^[18];② 不排除基因外显子区域以外的 DNA 序列异常,如非编码区和内含子突变,从而影响了蛋白质的表达,导致疾病发生;③ 其他因素:环境、药物因素

等。对病因未明的骨骼发育异常胎儿我们可进一步增加测序深度或应用全基因组测序进行重测序寻找致病原因。

综上所述,胎儿 SD 与染色体非整倍体、染色体微缺失微重复综合征及基因突变关系密切,应建议介入性产前诊断,并进行详细的超声检查。本研究为回顾性分析,具有一定的局限性,一是样本量较小,结果可能存在偏倚;二是对胎儿研究不够深入,大部分 SD 胎儿尤其是 SD 合并其他超声异常胎儿未进一步行 WES 检测。进一步的研究应该继续收集更多病例,对染色体阴性结果胎儿进行 WES 检测,分析其相关性及其可行性,从而提供更加精准的产前诊断,为产前遗传咨询、预后判断及再发风险评估提供依据。

参考文献

- [1] NOEL AE, BROWN RN. Advances in evaluating the fetal skeleton [J]. Int J Womens Health, 2014, 6: 489-500.
- [2] ZHOU X, CHANDLER N, DENG L, et al. Prenatal diagnosis of skeletal dysplasias using a targeted skeletal gene panel [J]. Prenat. Diagn, 2018, 38(9): 692-699.
- [3] BONAFE L, CORMIER-DAIRE V, HALL C, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision [J]. Am J Med Genet A, 2015, 167A(12): 2869-2892.
- [4] BARBOSA-BUCK CO, ORIOLI IM, DA GRAA DUTRA M, et al. Clinical epidemiology of skeletal dysplasias in South America [J]. Am J Med Genet A, 2012, 158A(5): 1038-1045.
- [5] TORU HS, NUR BG, SANHAL CY, et al. Perinatal diagnostic approach to fetal skeletal dysplasias: six years experience of a tertiary center [J]. Fetal and Pediatric Pathology, 2015, 34(5): 287-306.
- [6] 李胜利. 胎儿畸形产前超声诊断学 [M]. 北京: 人民军医出版社. 2004: 327-352.
- [7] KALTER H, WARKANY J. Medical progress. Congenital malformations: etiologic factors and their role in prevention (first of two parts) [J]. N Engl J Med, 1983, 308(8): 424-431.
- [8] 郭乔丽, 符芳, 李茹, 等. 染色体微阵列分析技术在核型正常的骨骼发育异常患儿中的应用研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2016, 33(3): 306-311.
- [9] CHARAN P, WOODROW N, WALKERS P, et al. High-resolution microarray in the assessment of fetal anomalies

- detected by ultrasound[J]. Aust N Z J Obstet Gynaeco, 2014, 54(1):46-52.
- [10] 周正,吴洁丽,陈文殊,等. 产前超声筛查胎儿骨骼畸形与染色体微阵列分析特征的相关性分析[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(5): 593-597.
- [11] MIGLIONICO R, ARMENTANO MF, CARMOSINO M, et al. Dysregulation of gene expression in ABCC6 knockdown HepG2 cells[J]. Cell Mol Biol Lett, 2014, 19(4):517-526.
- [12] NAGAMANI SC, EREZ A, BADER P, et al. Phenotypic manifestations of copy number variation in chromosome 16p13. 11[J]. Eur J Hum Genet, 2011, 19(3):280-286.
- [13] YANG K, SHEN M, YAN Y, et al. Genetic analysis in fetal skeletal dysplasias by whole-exome sequencing [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019:2492590.
- [14] DEPEYRE A, SCHLUNDM. NICOTR, et al. Dental and Maxillofacial Signs in Leri-Weill Dyschondrosteosis[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2019, 77(4):762-768.
- [15] SHWETHA R, ABHIJIT K, HINA G, et al. SHOX haploinsufficiency presenting with isolated short long bones in the second and third trimester [J]. European Journal of Human Genetics, 2018, 26(3):350-358.
- [16] 张梦汀, 吴东, 郭梁洁, 等. 3 例 SHOX 基因杂合性缺失致 Leri-Weill 软骨生成障碍胎儿的遗传学分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2023, 37(1):70-73.
- [17] 黄演林, 石晓梅, 汪安石, 等. 基于 NGS 技术的 FGFR3 基因突变胎儿产前临床表型与基因型分析[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2022, 14(2):30-35.
- [18] LADUCA H, FARWELL KD, VUONG H, et al. Exome sequencing covers >98% of mutations identified on targeted next generation sequencing panels[J]. PLoS One, 2017, 12(2):e0170843.

(收稿日期:2023-05-24)

编辑:刘邓浩

· 视频导读 ·

减少无创筛查假阴性及检测失败率——胎儿游离 DNA 富集技术

许争峰

(南京医科大学附属妇产医院 南京市妇幼保健院, 江苏 南京 210004)

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.03.013



来自南京医科大学附属妇产医院许争峰教授从技术角度出发, 给我们带来了“减少无创筛查假阴性及检测失败率——胎儿游离 DNA 富集技术”。许教授从 NIPS 中存在的问题——假阴性, 检测失败出发, 分析了假阴性和检测失败的原因, 提出了“胎儿游离 DNA 富集技术”。之后详细介绍了富集方法, 通过建立不同片段大小区间, 回顾性分析 10,000 例男性胎儿 NIPS 测序数据, 建立了提高胎儿浓度的富集方法。最后通过 1404 例临床样本平行验证结果, 认为与传统方法相比, 富集方法可将胎儿浓度提高 2 倍左右, 敏感性不变, 特异性略微降低, 但是富集方法的检测失败率显著降低(0.71%与 0.07%), 也可以显著减少假阴性的发生(5/11, 45%的假阴性可以被富集方法检出)。