

# 脊髓性肌萎缩症 SMN1 基因携带者筛查技术研究进展

江雨 周裕林\*

(厦门市妇幼保健院中心实验室,福建 厦门 361003)

【中图分类号】 R746.4 【文献标识码】 A

## 1 背景介绍

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是全球最常见的致死性常染色体隐性遗传疾病之一,活婴发生率为1/5000~1/10 000,人群携带率为1/35~1/50<sup>[1]</sup>。

临床上根据 SMA 发病年龄和病程的不同,将患者分为 I 型、II 型、III 型及 IV 型,其中占患者比例约 70% 的 I 型临床表型最为严重,常于 6 个月内起病,多数于 2 岁内夭折<sup>[2]</sup>。1995 年,SMA 相关基因被定位于 5 号染色体长臂 1 区(5q11.2~13.3),并

发现了反向重复的运动神经元生存基因(survival motor neuron, SMN)<sup>[3]</sup>。该基因有 2 个序列高度相似的拷贝:靠近端粒的决定性基因 SMN1 及靠近着丝粒的修饰 SMN2(图 1),两者之间仅存在 5 个碱基的差异,而在编码区内只存在 1 个碱基的差异,即第 7 号外显子上的 840C>T。由于 SMN 所在的染色体区域存在众多重复和假基因簇等易导致结构不稳定的序列,导致 SMN 基因发生缺失或转换的频率较高,相应的表现为人群 SMN 基因拷贝数组组合复杂多变。

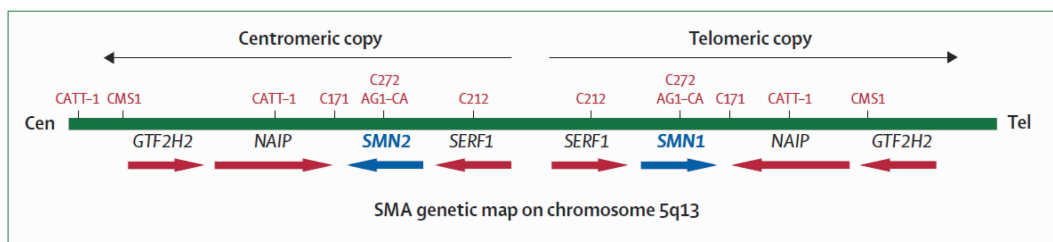


图 1 SMN 基因在染色体 5q13 中的位置图谱

脊髓性肌萎缩症危害严重且无有效治疗方法,尤其是占多数比例的 I 型患儿一旦发病进展迅速、存活期短,生育 SMA 患儿无疑将给患者家庭带来经济 and 精神的沉重负担,因此开展人群携带者筛查,对高危胎儿进行产前诊断是降低该病发生率的唯一途径。2008 年,全美医学遗传学会(American College of Medical Genetics, ACMG)建议不分地域种族,对所有孕龄人群无差别地实施 SMN1 携带者基因筛查,对高风险胎儿实施产前诊断或植入前诊

断,从而减少 SMA 患儿的出生<sup>[4]</sup>。随即在 2009 年,全美妇产科医师协会(American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG)提议各国或地区有必要掌握本地区 SMA 流行病学数据,并在具备结果准确、成本低廉的检测方法前提下将 SMA 携带者检查纳入孕前优生范畴<sup>[5]</sup>。目前已报道的 SMA 携带者检测方法众多,不同方法的检出率、可靠性及经济性等指标也不尽相同,本文就 SMN 基因拷贝数分析中 3 种常见的技术及 2 种新方法作综述如下。

\* 通讯作者:周裕林, E-mail:zhou-yulin@126.com

## 2 SMN1 基因携带者筛查常见技术

据统计约 95% 的 SMA 患者表现为 SMN1 基因第 7 外显子位点纯合缺失<sup>[6]</sup>, 另外 5% 患者为 SMN1 杂合缺失, 即属于含有微小突变的单拷贝 SMN1 基因。因此临床上 SMA 携带者检测的主要目标为 SMN1 基因单拷贝人群的检出。目前文献报道中最常见的 SMN 基因拷贝数分析技术为变性高效液相色谱 (denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC)、多重连接探针扩增 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) 及实时荧光定量 PCR (real-time PCR) 技术。不同技术在 SMN1 基因单拷贝携带者分析中互有优缺 (表 1), 现分述如下。

表 1 DHPLC、MLPA、实时定量 PCR 在 SMN 基因拷贝数变异分析中的比较

方法	DHPLC	MLPA	定量 PCR
操作难易程度	++	+++	+
检测时间	3 小时	24 小时	4 小时
操作时间	1 小时	3 小时	1 小时
结果准确性	++	+++	+++
质量控制	参照样品	参照探针及校正样品	标准曲线及校正样品
优势	检测快速	商品化试剂、标准化操作	闭管操作、步骤最少、成本低、可靠性高
缺点	稳定性欠佳	成本高、耗时、易产生污染	无标准化方法、多平台重复性待验证

DHPLC 是一类在单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 研究中常见的分析技术, 具有成本低、检测快速、通量高的优点。其原理是在部分变性的条件下, 通过杂合与纯合二倍体在柱中保留时间的差异判断是否存在 DNA 突变。在脊髓性肌萎缩症检测中, DHPLC 分型的原理是通过将扩增产物洗脱峰形及峰高 (面积) 比例与参照样本比对, 进而推测样本 SMN 基因的实际拷贝数<sup>[7,8]</sup>。实践应用中, DHPLC 的分辨力常受到实验设计、检测环境等诸多因素的影响, 存在检测可靠性和稳定性欠佳的问题。因而该技术在 SMA 携带者中一般仅用于初级筛查, 诊断结果常需辅以其他方法进行验证。

MLPA 是 2002 年由 Schouten 等<sup>[9]</sup> 开发的一种基因拷贝数分析技术。其基本原理为特异性探针与

靶序列 DNA 进行杂交, 之后通过连接、PCR 扩增, 产物毛细管电泳分离及数据收集、软件计算等分析靶序列拷贝数变异。每个 MLPA 探针包括 2 个寡核苷酸片段, 每个探针都包括一段引物序列和一段特异性序列。在 MLPA 反应中, 2 个寡核苷酸片段都与相邻的靶序列进行杂交, 之后使用连接酶进行连接。此连接反应高度特异, 只有当靶序列与探针特异性序列完全互补时, 连接酶才能将 2 段探针连接成一条完整的核酸单链; 只有当连接反应完成, 才能进行随后的 PCR 扩增并收集到相应探针的扩增信号, 如果检测的靶序列发生点突变或缺失, 那么相应探针的扩增峰便会降低或缺失。因此, 根据扩增峰的改变就可判断靶序列是否存在拷贝数的异常。目前荷兰 MRC-Holland 公司生产的 SMA 检测试剂盒 (SALSA MLPA KIT P021) 是可供临床实施脊髓性肌萎缩症诊断及携带者检测的惟一商品化产品。其包含的探针组合可同时检测 SMN1 及 SMN2 基因的第 7、8 外显子, 针对纯合缺失型患者的检出率可达 100%。在携带者检测中, 由于具有可同步扩增的稳定拷贝数内参基因及校正品质控, 其检测准确性及可靠性较 DHPLC 更佳, 目前 MLPA 已成为 SMA 基因诊断的主流技术<sup>[10-12]</sup>。

近年来, 随着相关仪器设备价格的迅速降低, 实时定量 PCR 几乎已成为所有医疗机构的常规配置。由于具有操作步骤少、成本低、灵敏度高、无需开盖检测等诸多优势, 实时定量 PCR 已成为当前分子诊断领域的重要技术<sup>[13]</sup>。2002 年, Feldkötter M 等<sup>[14]</sup> 率先尝试用定量 PCR 方法分析 SMN 基因拷贝数, 发展至今该平台已衍生出多种 SMA 携带者的检测方法, 具体主要包括以下 3 类 (表 2): ① SYBR Green I 染料法: Feldkötter M 等<sup>[14]</sup> 将一个 SMN1:SMN2=2:0 的参照样本梯度稀释, 模拟不同 SMN1 拷贝数的标准品, 并通过未知样本与标准品荧光 crossing point (Cp) 值的拟合判断样本的实际拷贝数, 报道灵敏度为 96.2%, 特异性为 100%。Soloviov OO 等<sup>[15]</sup> 则通过引入 ALB 内参基因, 并依照相对定量算法  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  (Livak method) 计算样本的 SMN1 基因拷贝数。相较在此之前采用的放射性或银离子标记的 SMN 基因分析方法, 荧光染料实

时定量 PCR 法的应用大幅度地提升了检测的易操作性,为大规模携带者筛查提供了可能。但是由于 SYBR Green I 等荧光染料本身并无序列特异性,无法区分扩增产物与引物二聚体及非特异产物产生的荧光信号差异。此外,目标基因与内参基因的扩增效率差异是否稳定符合  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  相对定量算法的数学基础也有待验证,因而该方法在携带者检测中的可靠性尚值得商榷。②通用引物结合特异性探针方法<sup>[16]</sup>:此类方法采用一对可同时扩增 SMN1 和 SMN2 基因第 7 外显子 C840T 位点的通用引物,并通过针对差异位点设计的特异性 Taqman 探针区分 SMN1 和 SMN2。本课题组通过对采用此类方法的文献内容进行重复,发现探针区分 SMN 基因的特异性存在局限,无 SMN1 拷贝的患者同样会产生一定强度的 SMN1 探针杂交信号,从而干扰了携带者筛查检测中的 SMN1 基因拷贝数分析。③特异性引物结合通用探针方法<sup>[17]</sup>:此法是通过针对 SMN 基因第 7 外显子 C840T 位点设计竞争性引物,分别扩增 SMN1 及 SMN2 基因,再通过两者共用的 Taqman 探针检测荧光信号。相较于探针区分 SMN1 及 SMN2 基因,竞争性引物区分避免了 SMN2 基因的干扰,提高了分析的准确性。此外,由于体系中加入了内参基因、校正品以及外部标准曲线等多层次质控,使得检测的稳定性得以保证。课题组通过此类方法完成了对 56 例确定携带者的检测(数据未发表),检出率达到 96.4%(54/56,2 个携带者为同一染色体上存在 2 个 SMN1 拷贝)。另一方面,我们看到,虽然平台普及程度较高,但相较于 DHPLC 及 MLPA 等使用专用技术平台的 SMN

基因分型方案,实时定量 PCR 由于设备型号规格众多,不同研究采用的具体技术差异往往较大,未形成可供临床指导的标准化实施方案。因此至今未见应用此技术开展大规模人群携带者筛查的报道。

### 3 SMN1 基因携带者筛查新技术

由于现有 SMN1 基因携带者筛查技术在检测成本、稳定性和准确性等存在不同程度的缺陷,因此近年来研究界陆续发展了一些新的技术。这其中高分辨溶解曲线分析(high resolution melting analysis, HRMA)和数字 PCR(Digital-PCR)技术在未来的 SMA 携带者筛查应用中最具潜力。

高分辨溶解曲线分析是一类近年来蓬勃发展的新型定量 PCR 衍生技术,因其在 SNP 研究中具有操作简便、检测快速、成本低廉等诸多优势而倍受关注<sup>[18,19]</sup>。该技术的原理是通过实时监测升温过程中饱和荧光染料与 PCR 扩增产物的结合情况,SNP 位点异源双链由于不完全匹配会在升温过程中率先解开,荧光染料从局部解链的 DNA 分子上释放,从荧光强度与时间曲线上就可以判断是否存在 SNP。而且不同 SNP 位点、杂合子与纯合子等都会影响溶解曲线的峰形,因此 HRMA 能够有效区分不同 SNP 位点与不同基因型。从检测原理来看,由于 SMN1 和 SMN2 第 7 外显子仅存在一个碱基的差异,因此两者不同的拷贝数组合可使产物溶解曲线峰形发生变化,从而可通过 HRMA 实现区分。2009 年,Chen WJ 等<sup>[20]</sup>率先应用 HRMA 结合非标记探针完成了对患者及正常人的区分,但未能实现对正常人 SMN1 基因拷贝数的定量分析。此后, Morikawa S<sup>[21]</sup> 和 Er TK 等<sup>[22]</sup> 分别尝试了 HRMA 方法的可行性,但均未解决 SMN1 单拷贝分型技术。2012 年, Dobrowolski SF 等<sup>[23]</sup> 通过对扩增引物和检测体系的改进,提出 HRMA 技术可对包括患者及个别类型携带者实现区分。从现有的报道来看,HRMA 无需特异性探针及外部标准曲线,降低了检测成本、简化了操作步骤并易实现自动化,在 SMA 大规模人群筛查中具备潜力。但与此同时,由于人群中 SMN 基因拷贝数组合多态性高,已知类型就多达 19 种(表 3)<sup>[23]</sup>,因此 HRMA 对不同

表 2 常见定量 PCR 检测 SMN 基因拷贝数方法比较

方法	SYBR Green I 染料法	通用引物-特异性探针	特异性引物-通用探针
代表性文章	Feldkotter M, 2002	Maranda B, 2012	Gomez-Curet I, 2007
实验设计难度	+	++	++
结果准确性	+	++	+++
质量控制	标准曲线	标准曲线、校正样品	标准曲线、校正样品
优势	成本低、实验设计简单	引物设计简单	可靠性高
缺点	准确性较低	SMN2 基因存在干扰成本相对较高	成本相对较高

SMN 拷贝数比例间细微差异的分辨能力尚需验证。此外,由于 SMN1:SMN2=1(2):0 与 SMN1:SMN2=1(2):1(2)携带者与正常人具有相同比例

的 SMN 拷贝数组合,两者之间的准确区分亦是 HRMA 技术亟待解决的问题。

表 3 人群中 SMN1、SMN2 拷贝数组合类型及 SMN1/SMN2 拷贝数比值

	患者携带者正常人																		
SMN1	0	0	0	1*	1#	1	1	1	2	2*	2#	2	2	3	3	3	4	4	4
SMN2	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	0	1	2
比值	0	0	0	∞	1	0.50	0.33	0.25	∞	2	1	0.67	0.5	∞	3	1.5	∞	4	2

注\*示 SMN1:SMN2=1:0携带者与 SMN1:SMN2=2:0正常人 SMN 拷贝数比值相同;#示 SMN1:SMN2=1:1携带者与 SMN1:SMN2=2:2正常人 SMN 拷贝数比值相同

数字 PCR 最早在上世纪末是由 Vogelstein B 等<sup>[24]</sup>提出来的一种 DNA 绝对定量概念,但直到近两年才有成熟的检测平台面市。其原理是基于单分子 PCR 方法并结合统计学计算方法对 DNA 进行定量:将大量的稀释后的 DNA 溶液分散至微反应器或微滴中,使每个反应器(微滴)的 DNA 模板数少于或者等于 1 个拷贝。这样经过 PCR 循环之后,有 DNA 模板的反应器(微滴)可以检测到荧光信号,没有 DNA 模板的反应器(微滴)则检出不到信号(图 2)。最后根据统计学中的柏松分布原理,推算出原始 DNA 的浓度或是基因拷贝数。从检测原理来看,数字 PCR 技术可准确定量样本基因的拷贝

数,而无需使用相对定量方法中的内参基因、标准品及校准品等复杂质控,在进一步提升检测准确性的同时简化了操作流程。Zhong Q 等<sup>[25]</sup>应用最新的数字平台 PCR 对包括患者、携带者及正常人的 20 例样本进行了准确的 SMN 基因分型,取得了预想中的结果。从近年来层出不穷的报道中可以看到数字 PCR 技术方兴未艾,各类研究及应用必将日趋深入和广泛,但是由于目前相关平台的可靠性仍处验证初期,同时也面临着检测成本较高及通量较低的问题,因此短时间内难以作为 SMA 携带者大规模人群筛查技术投入临床应用。

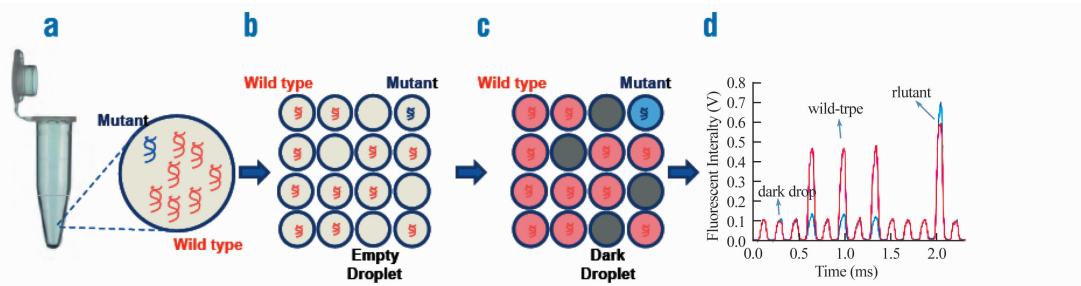


图 2 数字 PCR 技术原理示意图

#### 4 国内外 SMA 基因携带者检测临床应用现状及展望

由于脊髓性肌萎缩症携带者无临床表现,因此基因检测是检出携带人群的惟一可行方案。目前一些发达国家和地区在脊髓性肌萎缩症携带者产前优生检查中已积累了丰富的实践经验,并建立起了从遗传咨询到产前诊断的完整实施方案, SMA 患儿的出生数量呈逐年下降趋势,取得了较好的社会效益<sup>[11,26-28]</sup>。从应用层面上看,由于具有稳定的商品

化解决方案,MLPA 是目前国外携带者检测的主流技术。国内虽然也可见相关研究报道,但长期以来却难以作为常规筛查技术投入应用。分析原因其一可能由于 MLPA 分析所需的毛细管测序仪价格昂贵,配套的进口试剂耗材价格高,导致国内医疗机构该检测平台的普及度不高;其次,MLPA 操作步骤多、检测时间长、对技术人员操作分析能力要求较高,在医疗资源紧缺的国内未受青睐。相对而言,定量 PCR 平台在国内的普及更为广泛,目前大多数二级以上医疗机构检验科或实验室已实现配置。但是

由于型号规格不尽相同,缺乏可供借鉴的标准化实施方案,文献报道的方法往往不容易准确重复,使得目前有能力应用此技术开展临床 SMA 携带率检测的医疗机构数量十分有限。技术实施上的障碍再加上疾病相关的宣传教育滞后,以至于 SMA 遗传优生检查项目在国内长期处于空白状态,进而导致每年有大量的 SMA 患儿出生,给社会及患者家庭造成了沉重的负担。基于国情现状,笔者认为基于定量 PCR 平台的 SMA 携带者检测技术更适合于作为筛查技术在我国普及应用,建立并推广经充分验证的标准化实施方案是开展 SMA 优生筛查的必要前提。

#### 参 考 文 献

- [1] Wilson RB, Ogino S. Carrier frequency of spinal muscular atrophy[J]. *Lancet*,2008,372:1542.
- [2] Munsat TL, Davies KE. International SMA consortium meeting. (26-28 June 1992, Bonn, Germany) [J]. *Neuromuscul Disord*,1992,2:423-428.
- [3] Roy N, McLean MD, Besner-Johnston A, et al. Refined physical map of the spinal muscular atrophy gene (SMA) region at 5q13 based on YAC and cosmid contiguous arrays [J]. *Genomics*,1995,26:451-460.
- [4] Prior TW. Carrier screening for spinal muscular atrophy[J]. *Genet Med*,2008,10:840-842.
- [5] ACOG committee opinion No. 432: spinal muscular atrophy [J]. *Obstet Gynecol*,2009,113:1194-1196.
- [6] Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy[J]. *Lancet*,2008,371:2120-2133.
- [7] 肖雪,蔡兰云,王蕊艳,等. Dhplc 技术在儿童型脊髓性肌萎缩症的基因诊断及携带者基因筛查中的应用[J]. *江西医学院学报*,2009;99-102.
- [8] Chen WJ, Wu ZY, Lin MT, et al. Molecular analysis and prenatal prediction of spinal muscular atrophy in Chinese patients by the combination of restriction fragment length polymorphism analysis, denaturing high-performance liquid chromatography, and linkage analysis [J]. *Arch Neurol*,2007,64:225-231.
- [9] Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification[J]. *Nucleic Acids Res*,2002,30:e57.
- [10] He J, Zhang QJ, Lin QF, et al. Molecular analysis of SMN1, SMN2, NAIP, GTF2H2, and H4F5 genes in 157 Chinese patients with spinal muscular atrophy [J]. *Gene*,2013,518:325-329.
- [11] Su YN, Hung CC, Lin SY, et al. Carrier screening for spinal muscular atrophy (SMA) in 107,611 pregnant women during the period 2005-2009: a prospective population-based cohort study[J]. *PLoS One*,2011,6:e17067.
- [12] Goncalves-Rocha M, Oliveira J, Rodrigues L, et al. New approaches in molecular diagnosis and population carrier screening for spinal muscular atrophy[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*,2011,15:319-326.
- [13] Weaver S, Dube S, Mir A, et al. Taking qPCR to a higher level: Analysis of CNV reveals the power of high throughput qPCR to enhance quantitative resolution[J]. *Methods*,2010,50:271-276.
- [14] Feldkotter M, Schwarzer V, Wirth R, et al. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy[J]. *Am J Hum Genet*,2002,70:358-368.
- [15] OO Soloviov GL, SS Podlesnaya, LA Livshits. Implementation of the quantitative Real-Time PCR for the molecular-genetic diagnostics of spinal muscular atrophy[J]. *Biopolymers and Cell*,2010,26:51-55.
- [16] Maranda B, Fan L, Soucy JF, et al. Spinal muscular atrophy: clinical validation of a single-tube multiplex real time PCR assay for determination of SMN1 and SMN2 copy numbers[J]. *Clin Biochem*,2012,45:88-91.
- [17] Gomez-Curet I, Robinson KG, Funanage VL, et al. Robust quantification of the SMN gene copy number by real-time TaqMan PCR[J]. *Neurogenetics*,2007,8:271-278.
- [18] Li SW, Lin K, Ma P, et al. FADS Gene Polymorphisms Confer the Risk of Coronary Artery Disease in a Chinese Han Population through the Altered Desaturase Activities: Based on High-Resolution Melting Analysis[J]. *PLoS One*,2013,8:e55869.
- [19] Cui G, Zhang L, Xu Y, et al. Development of a high resolution melting method for genotyping of risk HLA-DQA1 and PLA2R1 alleles and ethnic distribution of these risk alleles[J]. *Gene*,2013,514:125-130.
- [20] Chen WJ, Dong WJ, Lin XZ, et al. Rapid diagnosis of spinal muscular atrophy using high-resolution melting analysis[J]. *BMC Med Genet*,2009,10:45.
- [21] Morikawa S, Harahap IS, Kaszynski RH, et al. Diagnosis of spinal muscular atrophy via high-resolution melting analysis

- symmetric polymerase chain reaction without probe: a screening evaluation for SMN1 deletions and intragenic mutations[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2011, 15: 677-684.
- [22] Er TK, Kan TM, Su YF, et al. High-resolution melting (HRM) analysis as a feasible method for detecting spinal muscular atrophy via dried blood spots[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413:1781-1785.
- [23] Dobrowolski SF, Pham HT, Downes FP, et al. Newborn screening for spinal muscular atrophy by calibrated short-amplicon melt profiling[J]. Clin Chem, 2012, 58:1033-1039.
- [24] Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96:9236-9241.
- [25] Zhong Q, Bhattacharya S, Kotsopoulos S, et al. Multiplex digital PCR: breaking the one target per color barrier of quantitative PCR[J]. Lab Chip, 2011, 11:2167-2174.
- [26] Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, et al. Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens[J]. Eur J Hum Genet, 2012, 20:27-32.
- [27] Muralidharan K, Wilson RB, Ogino S, et al. Population carrier screening for spinal muscular atrophy a position statement of the association for molecular pathology[J]. J Mol Diagn, 2011, 13:3-6.
- [28] Sukenik-Halevy R, Pessó R, Garbían N, et al. Large-scale population carrier screening for spinal muscular atrophy in Israel-effect of ethnicity on the false-negative rate[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2010, 14:319-324.

编辑:宋文颖

(收稿日期:2013-04-22)

读者 · 作者 · 编者

## 书 讯



胎儿医学目前还是一个很新的领域,应用临床思维对胎儿现象乃至疾病进行审视和判断正逐渐步入大众生活中,将胎儿视为生命已经越来越多地为社会大众所接受。其中胎儿肺囊腺瘤和隔离肺是胎儿医学内容中一个很小的分支,目前广大医疗界和全社会对此认识并不多,且有很多迷惑和误解,迫切需要了解和提高这方面的认识。

随着胎儿超声检查的普及,越来越多的有关胎儿肺囊腺瘤和隔离肺的问题被提了出来。本书以科普的形式,主要通过问答和介绍典型病例等方式,力图将胎儿肺囊腺瘤和隔离肺深奥的知识以简单的、容易理解的形式展现给大家。本书的主要读者可以是妈妈们,也可以是包括超声科、产前诊断科、产科、新生儿科的外科医务人员。

作为本书的作者,来自广东省妇幼保健院胎儿医学部主任俞钢教授,曾在2012年坚持不懈地在“好大夫在线”个人网站和“宝宝加油”QQ群(147051689)上为全国乃至全球华人的有胎儿肺囊腺瘤和隔离肺疑问的妈妈们回答和解释关于胎儿肺囊腺瘤的相关问题,完成了近300例的诊治和500多例的网上问答,并在2012年完成了70例胎儿肺囊腺瘤手术,并达到100%的治愈效果。

开卷有益,相信这本书的出版,会吸引越来越多的医务人员加入到胎儿肺囊腺瘤和隔离肺的医学领域中来。