

# 胎儿 DNA 浓度影响因素及与不良妊娠结局的相关性

魏行玉 杨芳

(南方医科大学珠江医院 胎儿医学与产前诊断科, 广东 广州 510000)

**【摘要】** 胎儿 DNA 浓度是影响无创产前筛查检测性能的重要参数。由于测序平台不同, 胎儿 DNA 浓度的阈值范围并不统一, 但并不影响其对无创产前筛查的性能评估。胎儿 DNA 低浓度是无创产前筛查检测失败最重要的原因之一, 因此了解胎儿 DNA 浓度的影响因素及其水平异常的临床意义, 可助力临床医生为无创产前筛查检测失败的人群提供更专业的产前咨询与管理建议。本文就胎儿 DNA 浓度影响因素及其与胎盘功能异常相关的不良妊娠结局的相关性研究进展进行综述。

**【关键词】** 胎儿 DNA 浓度; 影响因素; 子痫前期; 妊娠期糖尿病; 早产; 胎儿生长受限

**【中图分类号】** R715.5 **【文献标识码】** A

1997年 Lo 等<sup>[1]</sup>在母体外周血中检测到胎儿游离 DNA (cell free fetal DNA, cfDNA), 为无创产前筛查 (non-invasive prenatal testing, NIPT) 的临床应用提供了理论依据。自 2011 年开始, 基于高通量测序技术的 NIPT 在临床上迅速得到广泛应用, 成为胎儿染色体非整倍体产前筛查的重要手段之一。进行 NIPT 检测时, 约有 1%~3% 的孕妇因各种因素无法获得 NIPT 结果, 导致检测失败。

胎儿 DNA 浓度 (fetal fraction, FF) 是指 cfDNA 占母体血浆 cfDNA 总量的百分比。胎儿 DNA 低浓度 (low fetal fraction, LFF) 是引起 NIPT 检测失败的重要原因之一, 据报道, 45% 的 NIPT 检测失败由 LFF 引起<sup>[2]</sup>。FF 受多种因素影响, 任何影响母体外周血中母体或胎儿来源 cfDNA 浓度的因素都会影响 FF。子痫前期、妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM)、早产及胎儿生长受限 (fetal growth restriction, FGR) 等妊娠相关疾病常伴有胎盘功能异常, 引起胎盘滋养细胞凋亡增加, 影响母体外周血 cfDNA 水平; 同时血管内皮及终末器官损伤可引起母体来源的 cfDNA 增多, 继而影响 FF 水平, 因此 FF 异常可能与这些胎盘功能异常相关的不良妊娠结局存在相关性。现就 FF 影响因素

及其与这些胎盘功能异常相关的不良妊娠结局的相关性研究进展综述如下。

## 1 FF 的影响因素

正常妊娠孕 10~20 周内, FF 平均值在 10%~15% 之间<sup>[3]</sup>。FF 阈值通常为 2%~4%, 若 FF 过低, 可能影响 NIPT 准确性, 导致假阴性发生。FF 存在明显的个体差异, 诸多因素可影响母体来源或胎儿来源的 cfDNA 水平, 从而影响 FF。

1.1 母体因素 孕妇体重或孕妇体质量指数 (body mass index, BMI) 是目前公认的影响 FF 因素。多数研究提示 FF 与孕妇体重或 BMI 呈负相关<sup>[4, 5]</sup>, 随着孕妇体重增加, LFF 发生率也增加; 当孕妇体重达到 100、110 和 140kg 时, FF < 4% 的发生率分别达 7%、11% 和 50%<sup>[6]</sup>。肥胖会影响孕妇体内各种代谢反应, 如母体循环血量增加、间质血管细胞及脂肪组织凋亡或坏死增加等<sup>[5, 7]</sup>, 这些异常可通过稀释 cfDNA 或增加母体来源的 cfDNA 使得 FF 水平降低。孕妇年龄对 FF 的影响目前存在争议。既往有研究提示 FF 与孕妇年龄呈负相关<sup>[4, 5, 8]</sup>; 但在一项纳入 14379 例孕妇的研究中, 并未发现 FF 与孕妇年龄存在相关性 ( $P=0.999$ )<sup>[9]</sup>。种族也可能会影响 FF, 据报道南亚孕妇 FF 普遍低于白种人<sup>[10]</sup>, 因此有研究提出可将其作为预测 FF 的因子之一<sup>[11]</sup>。也有研究提示 FF 与孕妇自身免疫系统疾病如系统性红斑狼疮<sup>[12]</sup>、低分子肝素治

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.04.002

基金项目: 国家重点研发计划 (2022YFC2703304); 广东省自然科学基金 (2021A1515011649, 2022A1515010359)

通信作者: 杨芳, Email: 964175870@qq.com

疗<sup>[3]</sup>、辅助生殖受孕<sup>[13]</sup>等相关,但这些因素目前对FF影响仍有待进一步研究。

1.2 胎儿-胎盘因素 孕周是影响FF一个重要因素。多项研究报道FF与孕周呈正相关<sup>[5, 6, 8, 14-17]</sup>,而Hestand等<sup>[9]</sup>的研究发现孕21周前FF变化与孕周无关。可能是早孕期及中孕期早期FF升高速度较慢,Hou等<sup>[5]</sup>的研究证实在早孕期和中孕期早期FF增加并不明显,他们根据孕周对进行NIPT的孕妇分为五组,分别是13周前、14~18周、19~23周、24~28周及29周后,发现在孕13周前与14~18周FF水平无明显变化,而19~23周比14~18周增加2.97%,24~28周及29周后增加更明显(分别增加23.11%及31.27%)。LFF时胎儿非整倍体发生风险显著高于正常人群,在因LFF所引起的NIPT检测失败人群中,胎儿非整倍体风险为2.7~23.3%<sup>[3]</sup>。不同类型非整倍体对FF的影响不同,相较于正常妊娠,21-三体FF增加,而13-三体、18-三体及X-单体FF降低<sup>[3, 18-20]</sup>。目前多胎妊娠对FF的影响数据有限。一项大型前瞻性多中心研究发现,双卵双胞胎FF的范围波动在3%~36%(中位数为13.7%),单卵双胞胎FF波动范围为4%~29%(中位数为11.6%)<sup>[21]</sup>。另一研究发现,无论是单绒毛膜双胎还是双绒毛膜双胎妊娠胎儿总FF值均高于单胎妊娠,而双绒毛膜双胎妊娠单个胎儿的FF平均值则低于单胎妊娠<sup>[22]</sup>;但也有研究提示,双胎妊娠的FF低于单胎妊娠<sup>[23, 24]</sup>。母体血浆中的cffDNA主要来源于凋亡或坏死的胎盘滋养层细胞<sup>[25]</sup>。胎盘功能障碍或出现胎盘梗死、纤维素沉积、胎盘血管瘤等病理状态时,可引起胎盘绒毛和血管形成异常<sup>[26, 27]</sup>,严重影响母体胎儿血液循环交换,影响FF水平。

## 2 LFF与妊娠相关疾病

妊娠期高血压疾病、GDM、早产和FGR等妊娠相关疾病通常与胎盘功能障碍相关<sup>[28-30]</sup>。胎盘形成过程中出现胎盘细胞组成、调节分子合成及细胞转换发生变化等异常时,这些都有可能直接影响进入母体循环的胎盘滋养层细胞类型和水平,从而影响cffDNA的释放,导致FF变化<sup>[31]</sup>。因此有学者认为,FF可能间接反映早期胎盘功能<sup>[25, 32]</sup>,目前国内多项研究致力于探究FF与妊娠相关疾病的相关性,探讨FF在预测这些胎盘功能异常相关的不良妊娠结局的价值。

2.1 LFF与妊娠期高血压疾病 妊娠期高血压疾

病是妊娠与血压并存的一组疾病,疾病可分为妊娠期高血压、子痫前期和子痫、妊娠合并慢性高血压、慢性高血压伴发子痫前期,是引起孕产妇和胎儿发病与死亡的主要原因之一。妊娠期高血压疾病确切的病理机制尚不明确,目前认为潜在的发病机制包括内皮功能障碍、血管生成失衡、螺旋动脉重塑障碍及滋养细胞侵袭不足<sup>[33]</sup>。多项研究对FF与妊娠期高血压疾病,特别是子痫前期进行相关性分析。研究发现,LFF与妊娠期高血压、子痫前期相关<sup>[2, 11, 32, 34-37]</sup>。FF越低,早发型子痫前期及早产型子痫前期风险越高<sup>[32]</sup>;后续发展为子痫前期的孕妇在11~13周和20~24周时FF较正常孕妇低,且差异有统计学意义<sup>[35]</sup>;Ellis等<sup>[11]</sup>发现,LFF孕妇后期妊娠期高血压、晚发型子痫前期的发生率显著高于正常人群;Yuan等<sup>[34]</sup>的研究提示,LFF孕妇子痫前期风险增加2倍。LFF在早期预测子痫前期有很好的临床应用前景,在子痫前期风险筛查模型中添加LFF这一指标,有望进一步提高子痫前期风险筛查模型的预测性能。

2.2 LFF与GDM GDM是指妊娠期首次诊断或确诊的糖耐量异常,可能引起胎盘绒毛发生广泛血管生成,与胎盘发育受损,绒毛不成熟或分支改变有关<sup>[38, 39]</sup>,因此GDM可能引起胎盘血液循环发生变化,从而使cffDNA释放入母体循环的量以及胎盘滋养层细胞凋亡速度随之改变。Chan等<sup>[2]</sup>和Ellis等<sup>[11]</sup>的研究发现,NIPT检测失败或LFF人群,GDM发生率显著高于正常人群,但他们的结果未对BMI进行调整。Krishna等<sup>[40]</sup>和Yuan等<sup>[34]</sup>均观察到LFF组孕妇GDM发生率显著高于FF正常组孕妇,但调整BMI后,这种差异无统计学意义。LFF与孕妇BMI升高相关,GDM也与孕妇BMI相关,因此进行LFF与GDM相关性分析时,应考虑孕妇BMI的潜在影响。LFF是否与GDM存在相关性,还是这种相关性是由孕妇BMI异常引起,仍需进一步研究确认。

2.3 LFF与早产 早产是指妊娠满28周但不足37周的分娩,是引起围产期新生儿患病和死亡的重要因素,也是引起五岁以下儿童死亡的重要原因。关于FF与早产相关性研究也受到广泛关注,但结果存在争议。Dugoff等<sup>[41]</sup>发现孕14~20周FF $\geq$ 第95百分位数与早产相关;而另外两项研究则发现中孕期FF $\geq$ 第95百分位与早产无显著相关性<sup>[14, 42]</sup>;相反,有研究提示FF $<$ 4%及FF $<$ 第5百分位数与早产风险增加相关<sup>[34, 37, 40, 43]</sup>;但也有研究

并未发现 LFF 与早产存在相关性<sup>[11, 13, 44]</sup>。早产是一种多因素综合征,主要涉及遗传、免疫/炎症、代谢等多种病理机制,胎盘功能障碍可能在早产的发生发展中并不占主要因素,因此早产孕妇 FF 水平的变化仍需进一步分析研究。

2.4 LFF 与 FGR FGR 是指受母体、胎儿、胎盘等病理因素影响,胎儿生长未达到其应有的遗传潜能;在众多致病因素中,胎盘功能障碍是主要的病因之一。目前 FF 与 FGR 相关性研究较少。Rolnik 等<sup>[32]</sup>的大样本研究中发现,FGR 高风险孕妇早孕期 FF 较正常组低,且 FF 越低,37 周前 FGR 发生风险越高。Morano 等<sup>[45]</sup>也证实早发型 FGR 孕妇组中 FF 下降,而在晚发型 FGR 组中 FF 与正常对照组无显著差异。

### 3 总结与展望

FF 是影响 NIPT 检测性能的重要参数,正常范围的 FF 对 NIPT 的灵敏性和特异性至关重要。FF 受多种因素影响,包括母体因素、胎儿-胎盘因素和实验操作因素等。对于 NIPT 检测失败的人群,除考虑非整倍体风险增加以外,还应该考虑孕妇肥胖、年龄、孕周等情况,应选择合适的孕周进行 NIPT 检测。基于现有研究结果,LFF 对预测子痫前期具有广阔的临床应用前景;而现有关于 LFF 与 GDM、早产和 FGR 等不良妊娠结局相关性研究的结果尚存在争议,可以从以下几个方面进行解释:首先,各个研究采用的 NIPT 检测平台不同,FF 计算公式以及 LFF 定义也并不统一;其次,检测时机不同,妊娠期间胎盘也处于动态变化中,因此 FF 可能会随着胎盘病理改变而波动;另外,研究的人群也不统一。因此后续仍需要开展大型前瞻性队列研究阐明 LFF 与胎盘功能异常相关的不良妊娠结局之间的相关性,并评估 LFF 在预测这类不良妊娠结局的价值。

#### 参考文献

- [1] LO Y M, CORBETTA N, CHAMBERLAIN P F, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet (London England)*, 1997, 350(9076): 485-487.
- [2] CHAN N, SMET M E, SANDOW R, et al. Implications of failure to achieve a result from prenatal maternal serum cell-free DNA testing: a historical cohort study [J]. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2018, 125(7): 848-855.
- [3] HUI L, BIANCHI D W. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2020, 40(2): 155-163.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] WANG E, BATEY A, STRUBLE C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2013, 33(7): 662-666.
- [7] DENG C, LIU S. Factors Affecting the Fetal Fraction in Noninvasive Prenatal Screening: A Review [J]. *Front Pediatr*, 2022, 10: 812781.
- [8] QIAO L, YU B, LIANG Y, et al. Sequencing shorter cfDNA fragments improves the fetal DNA fraction in noninvasive prenatal testing [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2019, 221(4): 345.e1-345.e11.
- [9] 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.
- [10] MILTOFT C B, RODE L, BUNDGAARD J R, et al. Cell-Free Fetal DNA in the Early and Late First Trimester [J]. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2020, 47(3): 228-236.
- [11] 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]. *Prenatal Diagnosis*, 2021, 41(10): 1296-1304.
- [12] 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 Neonat*, 2021, 34(22): 3657-3661.
- [13] Luo Y, Xu L, Ma Y, et al. Association between the first and second trimester cell free DNA fetal fraction and spontaneous preterm birth [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2023, 23(7): 635-642.
- [14] 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]. *Prenatal Diagnosis*, 2019, 39(13): 1191-1197.
- [15] CHEN M, JIANG F, GUO Y, et al. Validation of fetal DNA fraction estimation and its application in noninvasive prenatal testing for aneuploidy detection in multiple pregnancies [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2019, 39(13): 1273-1282.
- [16] MOUSAVI S, SHOKRI Z, BASTANI P, et al. Factors affecting low fetal fraction in fetal screening with cell-free DNA in pregnant women: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2022, 22(1): 918.
- [17] FORGACOVA N, GAZDARICA J, BUDIS J, et al. Non-intuitive trends of fetal fraction development related to gestational age and fetal gender, and their practical implications for non-invasive prenatal testing [J]. *Mol Cell Probes*, 2022, 66: 101870.
- [18] WERTASCHNIGG D, LUCOVNIK M, KLIESER E, et al.

- Increased Cell-Free Fetal DNA Fraction in the First Trimester: A Sign of Abnormally Invasive Placenta? [J]. *Ultrasound Med*, 2020, 41(5): 560-561.
- [19] 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]. *Prenatal Diagnosis*, 2023, 43(7): 838-853.
- [20] MCKANNA T, RYAN A, KRINSHPUN S, et al. Fetal fraction-based risk algorithm for non-invasive prenatal testing: screening for trisomies 13 and 18 and triploidy in women with low cell-free fetal DNA [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2019, 53(1): 73-79.
- [21] KHALIL A, ARCHER R, HUTCHINSON V, et al. Non-invasive prenatal screening in twin pregnancies with cell-free DNA using the IONA test: a prospective multicenter study [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2021, 225(1): 79.e1-79.e13.
- [22] 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]. *Prenatal Diagnosis*, 2020, 40(2): 179-184.
- [23] 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.
- [24] 代鹏, 赵干业, 胡爽, 等. 18045 例无创产前筛查游离胎儿 DNA 比例分析 [J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(1): 18-22+8.
- [25] TAGLAUER E S, WILKINS-HAUG L, BIANCHI D W. Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease [J]. *Placenta*, 2014, 35 Suppl(Suppl): S64-S68.
- [26] WILSON S L, ROBINSON W P. Utility of DNA methylation to assess placental health [J]. *Placenta*, 2018, 64 Suppl 1: S23-S28.
- [27] 李太咏, 张樊. 球状胎盘伴梗死 1 例 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2023, 55(04): 758-761.
- [28] GRAUPNER O, ENZENSBERGER C. Prediction of Adverse Pregnancy Outcome Related to Placental Dysfunction Using the sFlt-1/PlGF Ratio: A Narrative Review [J]. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 2021, 81(8): 948-954.
- [29] STEPAN H, GALINDO A, HUND M, et al. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2023, 61(2): 168-180.
- [30] VALERO P, CORNEJO M, FUENTES G, et al. Platelets and endothelial dysfunction in gestational diabetes mellitus [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2023, 237(4): e13940.
- [31] 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)*, 2019, 41(6): 917-923.
- [32] ROLNIK D L, DA SILVA COSTA F, LEE T J, et al. Association between fetal fraction on cell-free DNA testing and first-trimester markers for pre-eclampsia [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2018, 52(6): 722-727.
- [33] DEER E, HERROCK O, CAMPBELL N, et al. The role of immune cells and mediators in preeclampsia [J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2023, 19(4): 257-270.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] SHREE R, KOLAROVA T R, MACKINNON H J, et al. Association of fetal fraction with hypertensive disorders of pregnancy incidence and disease severity [J]. *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*, 2022, 4(5): 100671.
- [37] SCHEFFER P G, WIRJOSOEKARTO S A M, BECKING E C, et al. Association between low fetal fraction in cell-free DNA testing and adverse pregnancy outcome: A systematic review [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2021, 41(10): 1287-1295.
- [38] 刘佳楠, 安庚, 刘彦慧. 通过孕妇外周血游离 DNA 筛查妊娠相关疾病的研究进展 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(10): 1025-1029.
- [39] SABRY M M, MAHMOUD M M, SHOUKRY H S, et al. Interactive effects of apelin, renin-angiotensin system and nitric oxide in treatment of obesity-induced type 2 diabetes mellitus in male albino rats [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2019, 125(3): 244-254.
- [40] 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]. *Prenatal Diagnosis*, 2016, 36(3): 210-215.
- [41] DUGOFF L, BARBERIO A, WHITTAKER P G, et al. Cell-free DNA fetal fraction and preterm birth [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2016, 215(2): 231.e1-231.e7.
- [42] DUVILLIER C, QUIBEL T, FELSENHELD C, et al. [Cell-free DNA fraction: Can it be used to evaluate the risk of obstetrical issues?] [J]. *Gynecol Obstet Fertil Senol*, 2019, 47(11): 790-796.
- [43] YUAN X, HAN X, JIA C, et al. Low Fetal Fraction of Cell Free DNA at Non-Invasive Prenatal Screening Increases the Subsequent Risk of Preterm Birth in Uncomplicated Singleton Pregnancy [J]. *International Journal of Women's Health*, 2022, 14: 889-897.
- [44] 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.
- [45] MORANO D, ROSSI S, LAPUCCI C, et al. Cell-Free DNA (cfDNA) Fetal Fraction in Early- and Late-Onset Fetal Growth Restriction [J]. *Mol Diagn Ther*, 2018, 22(5): 613-619.

(收稿日期:2023-08-09)

编辑:刘邓浩