

超声异常胎儿的染色体微阵列分析

赵馨 王逾男 卢建 郭莉 黄伟伟 陈汉彪 何天文 尹爱华*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

【摘要】 目的 探讨不同超声异常种类与胎儿染色体重复/缺失的关系。**方法** 回顾性分析 2012 年 1 月 1 日至 2014 年 12 月 31 日, 在本院产前诊断中心就诊的 1274 例产前超声异常胎儿的 aCGH 检测结果及核型分析结果, 分层统计不同系统超声异常种类检出染色体异常的阳性率。**结果** 常规染色体核型分析检出 9.2% 胎儿染色体异常, 而 aCGH 检测检出 13.8% 染色体异常。多系统结构畸形与多发非结构异常胎儿组检出染色体异常 >20%, 检出致病性染色体重复/缺失 10.3%~18.7%; 单系统结构畸形与单发非结构指标异常胎儿组检出染色体异常 9.3%~11.3%, 检出致病性染色体重复/缺失 3.6%。**结论** 超声异常胎儿可检出 9.3%~18.7% 致病性染色体重复/缺失, 临床咨询中, 应根据畸形情况合理推荐 CMA 检测, 避免漏诊或过度检查。

【关键词】 染色体微阵列分析技术; 染色体核型分析; 超声异常; 产前诊断

【中图分类号】 R445.1 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the abnormal ultrasonic images and detection rates by CMA, which could provide evidence for clinical application of CMA in prenatal diagnosis. **Method** Retrospective analysis on results of CMA and conventional karyotyping performed on 1274 fetuses with abnormal ultrasonic imagings from 2012 to 2014. Collecting detection rates by CMA in different sonographic abnormalities groups. **Results** 1063 cases with abnormal ultrasonic images were performed conventional karyotyping, 9.2% of which presented chromosomal abnormalities. And 13.8% of 1274 cases presented chromosomal abnormalities by CMA test. The detection rate in multi-structural anomalies group and multi-nonstructural anomalies group were both larger than 20%, and 10.3%~18.7% of them identified pathogenetic chromosomal anomalies. Otherwise, the detection rate in single systematic structural anomaly group and single nonstructural anomaly group were 9.33%~11.3%, and 3.6% of them identified pathogenetic chromosomal anomalies. **Conclusions** Among cases with ultrasound structural anomalies, 9.3%~18.7% of them presented chromosomal abnormalities by CMA test. In clinical prenatal genetic counseling, CMA should be reasonably recommended to parents to avoiding missed or over-diagnosis.

【Key words】 chromosomal microarray analysis; karyotype analysis; ultrasound anomalies; prenatal diagnosis

胎儿 G 显带核型分析是诊断胎儿染色体异常的金标准, 但它无法检测出 <10Mb 的染色体重复和缺失^[1]。而染色体微阵列分析技术(chromosomal microarray analysis, CMA)可用于检测这类染色

体微重复或缺失引起的各种微缺失和微重复综合征^[2]。近年来, 欧美及我国先后发表声明, 推荐染色体微阵列分析技术为产前超声异常胎儿遗传学检测的首选诊断方法^[3-6]。本研究旨在回顾性分析 1274 例产前超声异常胎儿的染色体 CMA 检测结果, 分层统计不同系统超声异常种类胎儿染色体异常检出

阳性率,探讨不同超声异常种类与胎儿染色体重复/缺失的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2012 年 1 月至 2014 年 12 月因产前超声异常,在本院行胎儿 CMA 检测及染色体核型检测的 1274 例孕妇。孕妇年龄 15~45 岁,孕周 11~39 周。其中 1063 位孕妇同时接受产前 CMA 检测与核型分析,221 位孕妇仅接受产前 CMA 检测。

产前超声异常包括超声结构畸形及非结构异常,诊断标准参照李胜利《胎儿畸形产前超声诊断学》^[7]及相关文献指南^[8, 9],涉及畸形种类见表 1、2,并根据超声结构畸形涉及系统数目及是否合并非结

构异常分为:①单系统结构畸形:441 例,仅含有孤立性单个结构畸形及单系统内多发畸形,不包含非结构异常;②单系统结构畸形合并非结构异常:140 例,包含孤立性单个结构畸形及单系统内多发畸形同时合并非结构异常;③多系统结构畸形:48 例;④多系统结构畸形合并非结构异常组:38 例。也根据超声结构畸形发生解剖系统不同分为:①神经系统畸形;②头面部畸形;③呼吸系统畸形;④心血管系统畸形;⑤腹壁畸形;⑥消化系统畸形;⑦泌尿系统畸形;⑧骨骼系统畸形;⑨其他畸形(胎儿水肿及肿瘤)。非结构异常分为:①软指标阳性;②胎儿生长发育受限;③羊水量异常。

表 1 超声结构畸形分类	
解剖系统	畸形种类
神经系统	无脑儿、脊柱裂、脑积水、胼胝体发育不良、Dandy-Walker 综合征、全前脑、小头畸形、蛛网膜下腔囊肿、室管膜下囊肿、后颅窝增宽、小脑发育不良
颜面颈部	小下颌、眼发育异常、唇腭裂、淋巴水囊瘤
呼吸系统	肺发育不良、隔离肺、肺囊肿瘤、支气管囊肿、支气管闭锁、气道闭锁、胸腔积液、膈疝
心血管系统	单心腔、房室间隔缺损、房/室间隔缺损,房室共道畸形、单心室、单心房、大动脉转位肺动脉、主动脉发育异常、主动脉弓离断、肺动脉发育异常、左心室发育不良、法洛四联症、右室双出口、永存动脉干、心脏外翻、心包积液、永存左上腔静脉、二尖瓣发育异常、三尖瓣发育异常
前腹壁	脐膨出、腹裂、肢体-体蒂综合征、泄殖腔外翻、羊膜带综合征
消化系统	食管闭锁、十二指肠闭锁、空回肠闭锁、结肠闭锁、胎粪性腹膜炎、胎粪性肠梗阻、先天性巨结肠、永久性右脐静脉、胎儿胃异常、脐静脉曲张、肝内钙化灶、肝胆管闭锁、无脾畸形、脾囊肿、脾脏肿大、腹腔肿瘤、腹腔积液
泌尿系统	肾不发育、异位肾、多囊肾、肾缺如、融合肾、梗阻性尿路疾病、膀胱外翻
肌肉骨骼	骨骼发育不良、手足畸形、内翻足、先天性肢体缺陷
其他	胎儿水肿、肢体、皮肤、骶尾部肿瘤

表 2 超声非结构异常种类及超声诊断标准	
指标	超声声像诊断
超声软指标	NT 增厚 孕 10~13 ⁺ ₆ 周,胎儿颈后透明层厚度≥2.5mm
	NF 增厚 孕 15 周后胎儿颈后的皮肤及软组织厚度≥5mm
	侧脑室增宽 侧脑室宽度为 10~15mm
	轻度肾盂分离 孕 20 周以内>4mm,20~30 周>5mm,30 周以上>7mm,而<10mm
	心室强光斑 心室内出现强回声光点,回声强度大于周围的骨组织回声强度
	肠道回声增强 强回声肠管其回声强度大于周围的骨组织回声强度
	长骨短 股骨/肱骨小于同孕周胎儿 10 的百分位数
	鼻骨发育不良 标准平面未见鼻骨声像或鼻骨长度<2.5mm
	脉络丛囊肿 位于侧脑室内强回声脉络丛内的无回声囊性结构
胎儿生长发育受限	颈部水囊瘤 胎儿颈后部多房囊性结构
	胎儿腹围小于同孕周胎儿 10 的百分位数
羊水量异常	羊水过多 羊水后径(amniotic fluid volume, AFV)≥7mm,羊水指数(amniotic fluid index, AFI)≥250mm
	羊水过少 AFV≤2mm, AFI≤50mm

1.2 研究方法

1.2.1 胎儿微阵列比较基因组杂交技术 本实验室使用比较基因组杂交的微阵列(array-based com-

parative genomic hybridization, aCGH)平台,agilent 公司生产的 8×60k 的芯片进行全基因组扫描检测,数据分析参照 DECIPHER、ISCA、OMIM、

DGV、UCSC 数据库资料。

1.2.2 胎儿染色体核型分析技术 按照操作常规进行培养、收获、制片和 G 显带,全自动扫描仪扫描、拍照。依据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。

1.2.3 统计学方法 回顾性分析 1274 例因产前超声异常胎儿的 aCGH 检测结果及染色体核型分析结果,分析各系统超声异常与染色体微阵列结果的关系,计算各层检出阳性率。

2 结果

2.1 超声异常胎儿的染色体核型分析及 aCGH 检测结果 1274 例超声异常胎儿的 aCGH 检测检出 176 例染色体异常,阳性率 13.8%,其中致病性染色体异常 156 例,阳性率 12.24%(图 1)。

同时接受胎儿染色体核型分析 1063 例,染色体核型分析检出 98 例异常核型,阳性率约 9.2%。其中染色体数目异常 64 例,阳性率 6.02%。包括 38 例 21-三体,阳性率 3.57%;13 例 18-三体,阳性率

1.22%;7 例 13-三体,阳性率 0.66%;6 例性染色体数目异常,阳性率 0.56%。合计 34 例染色体结构异常,阳性率 3.20%。而 aCGH 检测检出 115 例染色体异常,阳性率 10.8%,其中染色体数目异常 64 例,数目异常种类及相应检出例数同染色体核型分析。检出 51 例染色体重复或缺失,阳性率 4.80%。

aCGH 检出而核型分析漏检 22 例,染色体重复或缺失片段均 $<5\text{Mb}$,其中包括 13 例致病性的染色体微重复微缺失,以及 9 例不明确致病的染色体微重复微缺失。染色体核型分析检出而 aCGH 漏检 5 例,其中 4 例嵌合体,异常染色体嵌合比例分别为 10%、8%、10.4%、8%;1 例可疑不平衡易位,经 aCGH 检测未发现染色体重复和缺失,判断结果为非致病性。

在仅接受 aCGH 检测的超声异常胎儿 211 例中,检出 61 例染色体异常,阳性率为 28.9%,明显高于同时接受两种检查的胎儿组。因这部分病例来自于本院 aCGH 检测开展初期,故当时计划终止妊娠严重的超声异常胎儿。

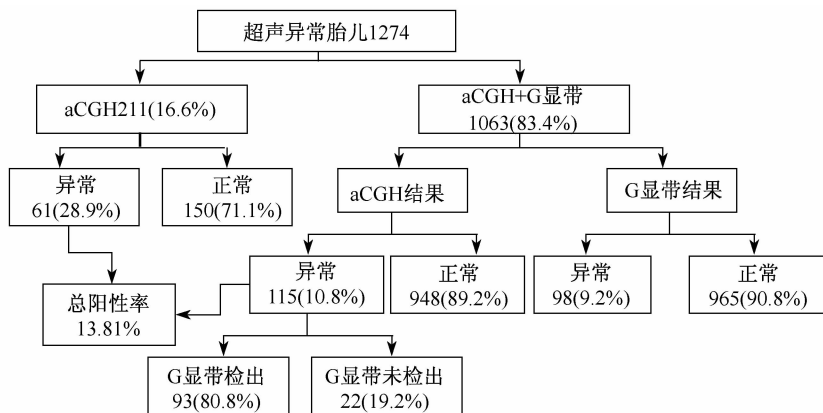


图 1 超声异常胎儿染色体核型分析及染色体微阵列分析检测结果

2.2 超声结构异常与非结构异常胎儿的 aCGH 检测结果 1274 例超声异常胎儿,超声结构畸形胎儿 667 例,非结构异常胎儿 607 例。按照超声异常种类分为 6 组(表 3)。其中单发非结构异常发病率最高,549 例,占全部例数 43.1%;其次为单系统结构畸形 441 例,占 34.6%;单系统结构畸形合并非结构异常 140 例,占 11%。此后依次为单发非结构异

常 58 例,多系统结果畸形 48 例,多系统结构畸形合并非结构异常 38 例。

aCGH 检出结果提示多系统结构畸形合并非结构异常胎儿组及多系统结构畸形胎儿组阳性率最高,分别为 36.84%和 35.42%;单系统结构畸形胎儿组及单发非结构异常胎儿组检出阳性率最低,分别为 8.3%和 11.3%。在 $<10\text{Mb}$ 的染色体微重复

微缺失中,多系统结构畸形胎儿组阳性率最高,致病性微重复微缺失达 8.33%,其次为多发非结构异常胎儿组,致病性微重复微缺失检测阳性率 5.17%;

单系统结构畸形与单发非结构异常胎儿组的阳性率仅为 0.91% 及 1.46%。而<10Mb 的染色体微重复微缺失常被染色体核型分析漏诊。

表 3 超声异常胎儿的 aCGH 检测结果

超声异常种类	正常例数[例(%)]	非整倍体(例)	≥10Mb 染色体重复/ 缺失[例(%)]	<10Mb 染色体微重复/缺失		总计(例)
				VOUS[例(%)]	pCNVs[例(%)]	
多系统结构畸形+非结构畸形异常	24(63.16)	7	4(10.53)	2(5.26)	1(2.63)	38
多系统结构畸形	31(64.58)	8	5(10.42)	0(0.00)	4(8.33)	48
单系统结构畸形+非结构畸形异常	114(81.43)	14	5(3.57)	3(2.14)	4(2.86)	140
单系统结构畸形	400(90.70)	19	12(2.72)	6(1.36)	4(0.91)	441
单发非结构异常	487(88.71)	36	12(2.19)	6(1.09)	8(1.46)	549
多发非结构异常	45(77.59)	4	3(5.17)	3(5.17)	3(5.17)	58
总计	1101(86.42)	88	41(3.22)	20(1.57)	24(1.88)	1274

注:pCNVs 指致病性染色体重复/缺失,VOUS 指不明确致病的染色体微重复/缺失

2.3 单发超声异常胎儿的 aCGH 检测结果 单发超声异常胎儿可检出 11%染色体异常,包括 6.3%非整倍体,3.8%致病性染色体重复/缺失,1.35%不明确致病的染色体微重复微缺失。

单系统结构畸形胎儿 425 例,非结构异常胎儿 609 例。结构畸形胎儿中神经系统畸形、心血管系统畸形及腹腔畸形发病率最高,分别为 105 例,77 例和 64 例。腹腔畸形、心血管畸形、神经系统畸形检出阳性率最高,分别为 15%、11.7%、6.7%,其次头面部畸形阳性率 9.1%,泌尿系统畸形阳性率 5.3%,其他类畸形阳性率 10.6%。而呼吸系统畸

形、骨骼系统畸形与腹壁畸形胎儿未能发现阳性病例。检出<10Mb 的致病性染色体微重复微缺失中,神经系统畸形、心血管系统畸形、腹腔畸形与泌尿系统畸形组均可检出阳性病例。

非结构异常胎儿中,颈部水囊瘤胎儿阳性率最高,为 42%,软指标异常检出 12.5%染色体异常,IUGR 阳性率 12%,羊水量异常 7%。<10Mb 的致病性染色体微重复微缺失中,颈部水囊瘤胎儿检出 5.26%、IUGR 检出 4%、羊水量异常检出 3.45%、软指标异常检出 1.21%,见表 4。

表 4 单发超声异常胎儿的 aCGH 检测结果

超声异常分类	正常例数[例(%)]	非整倍体(例)	≥10Mb 染色体重复/ 缺失[例(%)]	<10Mb 染色体微重复/缺失		总计(例)
				VOUS[例(%)]	PCNVs[例(%)]	
神经系统畸形	98(93.33)	0	4(3.81)	2(1.90)	1(0.95)	105
头面部畸形	40(90.91)	2	2(4.55)	0(0.00)	0(0.00)	44
心血管系统畸形	68(88.31)	4	3(3.90)	1(1.30)	1(1.30)	77
呼吸系统畸形	21(100.00)	0	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	21
腹壁畸形	15(100.00)	0	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	15
腹腔畸形	55(85.94)	6	1(1.56)	1(1.56)	1(1.56)	64
泌尿系统畸形	54(94.74)	1	0(0.00)	2(3.51)	2(3.51)	57
骨骼系统畸形	23(100.00)	0	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	23
其他类畸形	17(89.47)	2	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	19
羊水量异常	27(93.10)	1	0(0.00)	0(0.00)	1(3.45)	29
IUGR	22(88.00)	2	0(0.00)	0(0.00)	1(4.00)	25
软指标阳性	433(87.47)	33	12(2.42)	6(1.21)	6(1.21)	495
颈部水囊瘤	11(57.89)	5	2(10.53)	0(0.00)	1(5.26)	19
总计	884(89.02)	56	24(2.42)	12(1.21)	14(1.41)	993

注:pCNVs 指致病性染色体重复/缺失,VOUS 指不明确致病的染色体微重复/缺失

3 讨论

3.1 超声异常胎儿的染色体核型分析与微阵列分析结果 多个中心发表的研究数据表明,在超声异常胎儿中,微阵列分析可检出6%~17%的染色体异常,超声异常且常规染色体核型分析正常的胎儿中,可发现1.5%~9.5%致病性染色体重复/缺失,30%检出染色体重复/缺失的致病片段<10Mb^[10-12]。本中心从2012年开始产前CMA检测,至今完成1274例aCGH检测,常规染色体核型分析检出9.2%胎儿染色体异常,而aCGH检测检出13.8%染色体异常,包括12.2%致病性染色体异常,1.8%不明确致病的染色体重复/缺失,较常规染色体核型分析增加4.6%染色体异常检出率。与文献报道基本一致。

3.2 超声结构畸形胎儿的染色体微阵列分析 2009年开始,美国妇产科协会、加拿大妇产科协会、欧洲细胞遗传协会等及我国先后发表了指南或共识,推荐CMA技术作为产前胎儿超声结构畸形的一线产前诊断检测方法。有报道指出胎儿结构畸形与染色体微重复/缺失的关系^[13],染色体异常在孤立性结构畸形胎儿中可检出5.6%致病性染色体微重复微缺失,合并多种结构畸形胎儿中可检出9.1%致病性染色体微重复微缺失。孤立的心血管畸形胎儿可检出4.6%致病性染色体微重复微缺失、呼吸系统6.2%、神经系统6.2%、面部5.3%、肌肉骨骼7.9%、消化系统6.7%、泌尿生殖系统7.9%、淋巴水囊瘤4.6%。另一份2858例超声异常胎儿的染色体微阵列分析结果发现多发系统畸形CMA检测阳性率15%,单系统结构畸形CMA检测阳性率9.8%。结构系统畸形胎儿中,面部畸形阳性率最高,大约9.4%,神经系统畸形3.9%,心血管系统畸形7.9%,呼吸系统畸形8.8%,腹壁畸形阳性率最低,大约4.8%^[12]。

本研究入组667例结构畸形胎儿,分别讨论了单发/多发结构畸形与是否同时合并非结构指标异常时的染色体异常检出率,单系统结构畸形可检出9.3%染色体异常,其中3.6%致病性染色体重复/缺失,而多系统结构畸形可检出35.42%染色体异

常,其中18.8%致病性染色体重复/缺失,当系统畸形合并非结构指标异常时的染色体异常检出率相应增加。各系统单发结构畸形时,除外非整倍体,心血管系统畸形检出5.2%,神经系统畸形4.8%、头面部畸形4.55%,泌尿系统畸形3.55%、腹腔畸形3.12%,呼吸系统畸形、腹壁畸形及骨骼畸形未发现致病性染色体重复/缺失,检出致病性染色体重复/缺失中,23.81%染色体片段改变<10Mb。与报道数据存在部分差异,可能与病例分组方法及部分系统畸形病例数较少原因有关。

3.3 超声非结构异常胎儿的染色体微阵列分析 目前CMA在产前诊断中的应用共识未提及非结构异常胎儿中的应用,研究超声非结构异常与染色体重复/缺失的文献较少。2002年一位学者研究发现,超声非结构异常胎儿检测染色体重复/缺失的检出率为2%~6.8%,其中孤立性软指标异常阳性率6.8%、多发软指标异常阳性率5.6%、FGR阳性率2.6%^[12]。另一篇文章研究132例NT增厚病例^[14],发现检出3.2%病例检出染色体重复/缺失。本研究选择607例非结构异常胎儿,分别讨论了不同种类非结构异常胎儿的染色体异常检出率,单发非结构异常可检出11.3%染色体异常,其中3.6%致病性染色体重复/缺失,而多发非结构异常可检出22.4%染色体异常,其中10.3%致病性染色体重复/缺失。单发非结构异常时,除外非整倍体,颈部水囊瘤胎儿检出15.8%致病性染色体重复/缺失,软指标异常检出12.5%染色体异常,IUGR检出4%致病性染色体重复/缺失,羊水量异常3.45%。<10Mb的致病性染色体微重复微缺失中,颈部水囊瘤胎儿检出5.26%、IUGR检出4%、羊水量异常检出3.45%、软指标异常检出1.21%。检出致病性染色体重复/缺失中,31.03%染色体片段改变<10Mb。

4 结论与展望

本研究统计了667例超声结构畸形胎儿与607例非结构指标异常胎儿的染色体微阵列检测结果,其中1063例胎儿同时接受染色体核型分析检测。结果表明,染色体微阵列检测可提高4.6%胎儿染

染色体异常检出率,有助于减低出生缺陷。多系统结构畸形与多发非结构指标异常胎儿组检出染色体异常 $>20\%$,检出致病性染色体重复/缺失 $10.3\%\sim 18.7\%$;单系统结构畸形与单发非结构指标异常胎儿组检出染色体异常 $9.3\%\sim 11.3\%$ 。通过分析各系统结构畸形与非结构异常胎儿检出染色体异常阳性率,心血管畸形、神经系统畸形、头面部畸形最易合并致病性染色体重复/缺失;非结构异常中,颈部水囊瘤最易合并致病性染色体重复/缺失,其余组检出阳性率相当。因此,超声结构畸形与非结构异常指标在筛查胎儿染色体异常,尤其致病性染色体重复/缺失中有重要作用,临床咨询中,应根据不同超声异常类型的染色体异常检出情况,合理开展染色体微阵列分析。

本研究中部分系统病例数不足,无法进行更深层次的分组,部分结果与现有报道存在一定差异,未来需收集更多病例或与多中心合作,进一步统计分析总结经验。

参 考 文 献

- [1] Sahoo T, Cheung SW, Ward P, et al. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using array-based comparative genomic hybridization[J]. *Genet Med*, 2006, 8(11): 719-727.
- [2] Vissers LE, Veltman JA, van Kessel AG, et al. Identification of disease genes by whole genome CGH arrays[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14 Spec No. 2: R215-R223.
- [3] Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. *Obstet Gynecol*, 2013, 122(6): 1374-1377.
- [4] ACOG Committee Opinion No. 446: array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis[J]. *Obstet Gynecol*, 2009, 114(5): 1161-1163.
- [5] Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnos-

tic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies[J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(5): 749-764.

- [6] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(8): 570-572.
- [7] 李胜利, 朱军. 胎儿畸形产前超声诊断学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2015.
- [8] Pathak S, Lees C. Ultrasound structural fetal anomaly screening: an update[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2009, 94(5): F384-F390.
- [9] Breathnach FM, Fleming A, Malone FD. The second trimester genetic sonogram[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2007, 145C(1): 62-72.
- [10] Lee CN, Lin SY, Lin CH, et al. Clinical utility of array comparative genomic hybridisation for prenatal diagnosis: a cohort study of 3171 pregnancies[J]. *BJOG*, 2012, 119(5): 614-625.
- [11] Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(23): 2175-2184.
- [12] Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, et al. Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(10): 976-985.
- [13] de Wit MC, Srebniak MI, Govaerts LCP, et al. Additional value of prenatal genomic array testing in fetuses with isolated structural ultrasound abnormalities and a normal karyotype: a systematic review of the literature[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 43(2): 139-146.
- [14] Schou KV, Kirchhoff M, Nygaard U, et al. Increased nuchal translucency with normal karyotype: a follow-up study of 100 cases supplemented with CGH and MLPA analyses[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2009, 34(6): 618-622.

(收稿日期: 2016-11-10)

编辑: 宋文颖