

925例高龄孕妇介入性产前诊断结果分析

李淑霞 库尔兰·巴合提别克 苏比努尔·买买提*

(乌鲁木齐市妇幼保健院 产前诊断中心,新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的 探讨不同产前诊断指征、不同年龄阶段的高龄孕妇胎儿染色体异常的发生情况,并对临床意义不明确(variant of uncertain significance, VUS)的拷贝数变异病例进行家系验证、随访妊娠结局,为高龄孕妇的临床遗传咨询提供参考依据。**方法** 选取2019年至2021年在乌鲁木齐市妇幼保健院行胎儿染色体核型分析和CMA检测的高龄孕妇共925例,按不同的产前诊断指征及年龄段进行分组比较,分析每组胎儿染色体异常的发生情况,并对VUS病例进行家系验证及随访。**结果** 925例孕妇中共检出胎儿染色体核型异常者124例(13.41%),包括染色体非整倍体异常80例(8.65%),其中单纯高龄组4例,高龄合并超声异常组27例,高龄合并无创DNA高风险组46例,高龄合并不良孕产史组2例,高龄合并夫妇一方染色体易位携带者1例,检出胎儿染色体结构异常44例。孕妇年龄介于35~40岁之间胎儿染色体非整倍体异常的发生率为7.25%, ≥ 40 岁时胎儿染色体非整倍体发生率为11.14%, $P < 0.05$ 。共报告63例VUS,30例进行家系验证其中16例来源于父母,2例新发突变病例引产,其余随访时未发现明显异常。**结论** 单纯高龄的孕妇胎儿染色体非整倍体异常的发生率不到1%,当合并胎儿超声异常时风险显著升高,高龄伴无创DNA异常的胎儿非整倍体检出率最高。胎儿染色体非整倍体异常的风险随孕妇年龄的增加而升高。对于CMA检测中出现的VUS,在遗传咨询中建议夫妻双方进行家系验证为临床遗传咨询提供参考依据。

【关键词】 高龄孕妇;产前诊断;染色体核型异常;拷贝数变异

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Analysis of interventional prenatal diagnosis of 925 elderly pregnant women

Li Shuxia, Uerlan · Bahetibieke, Subinuer · Maimaiti

(Urumqi Maternal and Child Health Hospital, Prenatal Diagnosis Center, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the incidence of fetal chromosomal abnormalities in advanced maternal age women with different prenatal diagnostic indications and different ages, and to verify the pedigree of cases of variant of unclear clinical significance (VUS) and follow up the pregnancy outcome, which provided a reference for clinical prenatal diagnosis and genetic counseling. **Methods** To collect 925 advanced maternal age women who underwent fetal karyotype analysis and CMA detection in our hospital from 2019 to 2021. According to different prenatal diagnostic indications and age groups, the incidence of fetal chromosomal abnormalities in each group was analyzed, and Family verification and follow-up were performed for VUS cases. **Results** Among 925 pregnant women, 124 (13.41%) were found to have abnormal fetal karyotype, including 80 (8.65%) with chromosomal aneuploidy. Among them, there were 4 cases in the simple old age group, 27 cases in the old age combined with abnormal ultrasound, 46 cases in the old age combined with high risk of noninvasive DNA, 2 cases in the old age combined with history of adverse pregnancy and childbirth, 1 case in the old age combined with one chromosome translocation

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.04.008

*通信作者:苏比努尔·买买提, Email:468019168@qq.com

carrier of the couple, and 44 cases of abnormal fetal chromosome structure were detected. The incidence of fetal chromosomal aneuploidy was 7.25% in pregnant women aged 35-39 years, and 11.14% in those aged ≥ 40 years ($P < 0.05$). A total of 63 cases of VUS were reported. Family verification was carried out in 30 cases, of which 16 cases came from their parents, 2 cases of new mutation induced labor, and no obvious abnormality was found in the rest of the follow-up. **Conclusion** The incidence of fetal chromosomal aneuploidy in simple elderly pregnant women is less than 1%, and the risk is significantly increased when combined with fetal ultrasound abnormalities. The highest detection rate of fetal aneuploidy is in the elderly with noninvasive DNA abnormalities. The risk of fetal aneuploidy increases with the age of pregnant women. For VUS in CMA test, it is suggested that both husband and wife should carry out family verification in genetic counseling to provide reference for clinical genetic counseling.

【Key words】 Advanced maternal age; Prenatal diagnosis; Chromosomal karyotype abnormality; Copy number variation

胎儿染色体非整倍体异常的重要原因之一是高龄。介入性产前诊断是目前诊断胎儿染色体异常的法定方法,《中华人民共和国母婴保健法实施办法》^[1]规定,35岁及以上的高龄孕妇建议行介入性产前诊断。传统的介入性产前诊断的方法主要是染色体核型分析,但是核型分析的分辨率是5~10MB,无法检出小的染色体拷贝数变异(copy number variation, CNV),目前临床广泛应用的染色体微阵列分析(CMA)技术可以提高胎儿染色体异常的检出率。本文对925例高龄孕妇进行介入性产前诊断同时进行染色体核型分析和SNP-array芯片检测,探讨不同的产前诊断指征和不同年龄段的高龄孕妇胎儿染色体异常的发生情况,并对进行SNP-Array检测结果为临床意义不明确(variant of uncertain significance, VUS)的拷贝数变异进行家系验证和分析,为临床遗传咨询提供理论依据。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象 收集2019至2021年期间在乌鲁木齐市妇幼保健院产前诊断中心进行介入性产前诊断的高龄孕妇共925例。年龄介于35~47岁,孕周为18~26周,所有孕妇均被告知相关风险,同时签署知情同意书。

1.2 研究方法 在严格消毒、超声定位下进行羊膜腔穿刺术,抽取羊水30ml,其中20ml送细胞培养室,采用两人双盲双线进行细胞培养,G显带后按照行业标准进行核型分析。

另外10ml羊水按试剂盒说明书提取基因组DNA,然后按照750K Array微阵列芯片(美国Affymetrix公司)操作流程进行杂交。使用Chas软件读取数据,与本地实验室及公共数据库进行对比,对染色体拷贝数变异进行分类评估。

1.3 统计学处理 数据用实际数据或百分数表示,采用SPSS27.0软件用 χ^2 检验进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 925例高龄孕妇行羊水穿刺染色体检查,共检出染色体核型异常者124例,检出率13.41%。其中染色体非整倍体异常者80例,检出率8.65%(80/925),其中21三体综合征52例,18三体综合征7例,性染色体非整倍体共21例,检出染色体核型结构异常者44例,检出率4.76%(44/925)。详见表1。

表1 925例高龄孕妇染色体核型异常情况

| T-21 | T-18 | 染色体非整倍体异常(例) | | | | 染色体结构异常(例) | 合计(例) | 检出率(%) |
|------|------|--------------|--------|--------|--------|------------|-------|--------|
| | | 45,X0 | 47,XXX | 47,XXY | 47,XYY | | | |
| 52 | 7 | 6 | 6 | 7 | 2 | 44 | 124 | 13.41 |

2.2 不同产前诊断指征的高龄孕妇胎儿染色体异常的发生情况 将925例进行介入性产前诊断的高龄孕妇按产前诊断指征分为:高龄组、高龄合并超声异常组、高龄合并无创DNA高风险组、高龄合并不良孕产史组、高龄合并夫妇一方染色体异常,其中超声异常包括胎儿NT增厚、鼻骨缺失或发育不良、神

经系统异常、泌尿系统异常、心脏结构发育异常、单脐动脉等。当高龄同时合并2项以上的异常时,按无创DNA高风险、超声异常、夫妇一方染色体异常、不良孕产史的优先顺序进行入组。共检出胎儿

染色体异常核型124例(13.41%),染色体核型正常而染色体拷贝数异常(CNV)者72例,包括9例明确致病性的CNV和63例临床意义不明确的拷贝数变异(表2)。

表2 不同产前诊断指征的高龄孕妇胎儿染色体异常的情况[例(%)]

| 产前诊断指征 | 例数 | 核型 | | | SNP-Array(CNV) | | |
|---------------|-----|-----------|----------|------------|----------------|----------|----------|
| | | 非整倍体异常 | 结构异常 | 总数 | 致病性 | 意义不明 | 总数 |
| 高龄 | 460 | 4(0.87) | 14(3.04) | 18(3.91) | 3(0.65) | 38(8.26) | 41(8.91) |
| 高龄合并超声异常 | 179 | 27(15.08) | 7(3.91) | 34(18.99) | 1(0.56) | 10(5.59) | 11(6.15) |
| 高龄合并不良孕产史 | 152 | 2(1.32) | 9(5.92) | 11(7.23) | 2(1.32) | 9(5.92) | 11(7.23) |
| 高龄合并无创DNA高风险 | 121 | 46(38.02) | 12(9.92) | 58(47.93) | 3(2.48) | 6(4.96) | 9(7.44) |
| 高龄合并夫妇一方染色体异常 | 13 | 1(7.69) | 2(15.38) | 3(23.08) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 合计 | 925 | 80(8.65) | 44(4.76) | 124(13.41) | 9(0.97) | 63(6.81) | 72(7.78) |

2.3 不同年龄段与胎儿染色体核型异常的发生情况 探讨单纯高龄对胎儿染色体核型异常的影响,消除超声异常、不良孕产史、夫妇双方染色体异常等因素的影响,选取单纯因高龄妊娠、高龄合并单纯无创DNA高风险的570例孕妇分为A、B组,A组为年龄介于35~40岁之间,共361例,胎儿染色体核型异常的发生率为11.08%(40/361),其中染色体

非整倍体异常的发生率为7.20%(26/361),胎儿染色体核型结构异常的发生率为3.88%(14/361),B组为年龄B组为年龄≥40岁,共209例,胎儿染色体核型异常的发生率是16.27%(34/209),其中染色体非整倍体发生率为12.70%(24/209),染色体结构异常的发生率为4.78%(10/209),详见表3。

表3 A、B两组孕妇胎儿染色体核型异常的发生情况[例(%)]

| 组别 | 人数 | 染色体非整倍体异常 | | | | 染色体结构异常 [例(%)] | 合计 [例(%)] |
|----------|-----|-----------|---------|-----------|-----------|-------------------|--------------|
| | | 21三体[例] | 18三体[例] | 性染色体异常[例] | 总数[例(%)] | | |
| A组 | 361 | 19 | 1 | 6 | 26(7.20) | 14(3.88) | 40(11.08) |
| B组 | 209 | 13 | 3 | 8 | 24(12.70) | 10(4.78) | 34(16.27) |
| 合计 | 570 | 32 | 4 | 14 | 50(8.77) | 24(4.21) | 74(12.98) |
| χ^2 | | | | | 4.564 | 0.808 | |
| P | | | | | 0.033 | 0.777 | |

注:A、B两组胎儿染色体非整倍体异常的发生率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$,差异有统计学意义,年龄≥40岁的孕妇生育染色体非整倍体异常胎儿的风险高于年龄小于40岁的孕妇。A、B两组胎儿染色体核型结构异常的发生率进行 χ^2 检验, $P>0.05$,差异无统计学意义。

2.4 临床意义不明确的染色体拷贝数变异(VUS) 家系验证结果分析 染色体核型分析结果正常而拷贝数变异的发生率为8.99%(72/801),其中致病性的CNV发生率为1.00%(8/801),而VUS的报告率为7.87%(63/801)。对于VUS的孕妇遗传咨询时均建议夫妻双方行SNP-Array检测,接受家系验证的家庭有30例,其中16例结果显示CNV来源于父母,14例属于新发突变。对63例VUS携带者孕妇的妊娠结局均进行随访,失访5例,共随访到58例。行家系验证的30例孕妇中,2例新发生突变的孕妇选择终止妊娠,1例新发生突变的孕妇分娩后胎儿夭折,具体原因不明确。其余出生后的胎儿在随访时均未见明显异常(表4)。

表4 临床意义不明的拷贝数变异(VUS)结果分析(例)

| 组别 | 例数 | 妊娠结局 | | |
|--------|----|------|----|----|
| | | 终止妊娠 | 分娩 | 失访 |
| 父亲来源 | 9 | 0 | 8 | 1 |
| 母亲来源 | 7 | 0 | 7 | 0 |
| 新发生突变 | 14 | 2 | 12 | 0 |
| 未做家系验证 | 33 | 0 | 29 | 4 |
| 合计 | 63 | 2 | 56 | 5 |

3 讨论

我国新生儿的出生缺陷发生率约5.6%,染色体异常是出生缺陷的主要原因之一^[2]。对产前具有胎儿染色体高危因素的孕妇进行介入性产前诊断是检测胎儿染色体异常最直接有效且不可替代的方

法。近年来,高龄孕妇的比例明显升高,成为了临床遗传咨询常见的高危人群。

本研究925例高龄孕妇进行介入性产前诊断,共检出染色体核型异常124例,检出率13.41%。这与张娜^[3]报道的11.91%接近。其中21三体综合征52例,检出率5.6%,占染色体核型异常的41.94%,接近一半的比例。说明高龄孕妇中胎儿染色体异常的主要类型是21三体综合征。

本研究将进行介入性产前诊断的925例高龄孕妇按不同指征进行分组,单纯高龄的孕妇胎儿染色体非整倍体异常的发生率为0.87%,与陈慧等^[4]报道的0.90%以及王宏等^[5]报道的0.76%接近,即单纯高龄的孕妇生育染色体非整倍体异常胎儿的风险不足1%。179例高龄孕妇同时合并超声异常,包括胎儿NT或NF增厚、脉络丛囊肿、胎儿鼻骨缺失、侧脑室增宽、心脏大血管异常、心脏结构异常、肾盂分离、单脐动脉等。本组胎儿染色体非整倍体异常的发生率为15.08%,是单纯高龄的孕妇生育染色体非整倍体异常胎儿风险的17倍,因此当高龄合并胎儿超声异常的时候胎儿染色体异常的风险将显著增加。Cuckle等^[6]的研究显示64%的21三体综合征和几乎所有的18、13三体综合征妊娠均合并有超声异常,虽然超声表现不具有一定的特异性,但作为产前诊断的指征能有效地提高染色体异常的检出率,且具有无创、安全、可重复操作等优势。

目前出生缺陷二级预防的措施主要有产前筛查和产前诊断,《中华人民共和国母婴保健法实施办法》规定高龄(≥ 35 岁)孕妇需要进行产前诊断。但介入性产前诊断羊膜腔穿刺术存在0.1%~0.3%的胎儿丢失率,近年来无创DNA产前检测技术被普遍应用于临床,减少了一部分不必要的介入性操作。因此一部分高龄孕妇和家属拒绝接受产前诊断而先行无创DNA产前检测。本研究结果显示,高龄伴无创DNA异常的胎儿非整倍体异常的检出率高达38.02%。有研究结果显示^[7]无创产前DNA筛查21三体综合征、18三体综合征和13三体综合征的灵敏度和特异性均高于90%,其中对于21三体综合征的检出率最高,达99%以上,但对于性染色体及其他染色体异常的检测准确率还需要进一步

提高。因指南中高龄孕妇属于无创DNA的慎用人群^[8],所以无创DNA在高龄孕妇中的应用及相关研究相对较少,仍需大量的临床数据来验证其在临床应用中的价值。本研究中高龄合并有不良孕产史和高龄合并夫妇一方染色体异常组分别检出2例和1例染色体非整倍体异常者,因此在临床工作中产科医师应详细询问生育史,了解是否有不良孕产史情况,对于夫妇双方之一有染色体异常者,应告知妊娠相关风险,必要时进行植入前遗传学诊断。

Zhu等^[9]通过对高龄孕妇的多中心研究提示胎儿染色体非整倍体异常的发生风险与孕妇的年龄有关,本研究中年龄35~40岁、年龄 ≥ 40 岁的孕妇,胎儿染色体非整倍体异常的发生率分别为7.20%、12.70%,与靳秋杰等报道^[10]的7.5%、10.8%相近,两组之间差异有统计学意义,即随着孕妇年龄的增加,生育染色体非整倍体异常胎儿的风险随之升高,其原因是由于高龄女性长期受环境因素的影响,使卵巢功能下降,卵子细胞逐渐老化,增加了生殖细胞或受精卵在减数分裂时期发生染色体不分离的风险,因此生育染色体异常胎儿的风险显著增加^[11]。年龄35~40岁、年龄 ≥ 40 岁的两组孕妇胎儿染色体结构异常(包括染色体易位、倒位、嵌合、多态等)的发生率分别为3.83%、4.78%,两组之间统计学分析无明显差别,表明在高龄孕妇人群中胎儿染色体结构异常的分布与孕妇年龄无明确的相关性。

染色体拷贝数变异(copy number variation, CNV)是指DNA基因组中1 kb以上的染色体微小结构变异,包括微缺失/微重复等,这种结构的变异无法通过常规的染色体核型分析技术进行分辨^[12]。CMA作为新的检测技术手段,在产前诊断中,尤其是在超声异常的情况下被广泛的应用^[13,14],在一定程度上弥补了G显带核型分析的不足。但CMA技术也存在不能检测出染色体平衡易位、低比例嵌合等的缺点,而且结果中存在较多的临床意义不明确(variants of uncertain significance, VUS)的拷贝数变异的报告,给临床遗传咨询带来了极大挑战。针对结果中出现的VUS报告,临床咨询中建议胎儿父母同时进行CMA检测做家系验证对比,但也仍然无法对所有的VUS进行准确的判断,以致于给

孕妇带来一些困扰和不必要的终止妊娠。本研究中63例VUS病例中仅30例进行了家系验证,14例新发突变,其中2例选择终止妊娠。其余均选择继续妊娠,在随访时未见明显异常,但也不排除随访时相关临床症状未表现。因此对于VUS的结果解释需要累计更多的临床数据,以扩大数据库,降低此类临床意义不明确的报告率,为临床遗传咨询提供更详尽的依据^[15]。

本研究因收集的数据是2019年至2021年行介入性产前诊断的病例,随访周期短,只是以“是否分娩”做为妊娠结局,随访内容单一,此为本研究的不足之处。在后期将对出生的这部分胎儿继续进行长期的跟踪随访。

综上,针对不同产前诊断指征的高龄孕妇分别评估其胎儿染色体异常的发生风险,有助于临床医生为高龄孕妇提供更准确、更具有针对性的遗传风险评估。胎儿染色体非整倍体的发生风险随孕妇年龄的增加随之升高,因此加强宣教,使高龄孕妇积极配合产前诊断,以降低出生缺陷,贯彻落实优生优育的政策。对于VUS,在遗传咨询中建议夫妻双方进行家系验证,为临床遗传咨询提供更多的依据。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国母婴保健法实施办法[J]. 中国卫生质量管理, 2002(5):5-8.
- [2] 张娜, 颜梅珍, 王元白, 等. 高龄孕妇羊水染色体核型分析及拷贝数变异分析[J]. 西南医科大学学报, 2021, 44(2):144-149.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 中国出生缺陷防治报告(2012)[R]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [4] 陈慧, 冯谦谨, 苏年华, 等. 不同产前诊断指征对高龄孕妇的临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(5):83-84.
- [5] 王宏, 罗福薇, 谢建生, 等. 不同指征对高龄孕妇产前诊断胎儿

染色体非整倍体的预测价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(9):37-39.

- [6] CUCKLE H, MAYMON R. Role of second-trimester ultrasound in screening for Down syndrome[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2013, 41(3):241-244.
- [7] 霍晓溪, 尚丽新. 产前筛查及诊断相关问题研究(3)无创产前DNA检测在产前筛查及诊断中的应用进展[J]. 人民军医, 2021, 64(9):919-922.
- [8] 戚庆炜. 无创产前检测临床应用相关指南解读[J]. 发育医学电子杂志, 2019, 7(3):161-167.
- [9] ZHU YN, LU SM, BIAN XM, et al. A multicenter study of fetal chromosomal abnormalities in Chinese women of advanced maternal age[J]. Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology, 2016, 55(3):379-384.
- [10] 靳秋杰, 翟文, 蔡博, 等. 728例高龄孕妇产前诊断结果分析[J]. 国际遗传学杂志, 2021, 44(5):314-320.
- [11] 庄建龙, 曾书红, 江裔颖, 等. 273例曾生育非整倍体患儿父母染色体核型分析[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(4):297-299.
- [12] 韩娟, 牛翠茹, 孙庆梅, 等. 高龄孕妇羊水在CMA技术检测染色体组拷贝数异常的分析[J]. 西南国防医药, 2020, 30(6):538-540.
- [13] 宋伟, 刘晓巍, 山丹, 等. 6047例高龄孕妇胎儿染色体核型结果分析[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(3):190-193.
- [14] SONG TING-TING, WAN SHAN-NING, LI YU, et al. Detection of copy number variants using chromosomal microarray analysis for the prenatal diagnosis of congenital heart defects with normal karyotype[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2018: e22630.
- [15] 黎昱, 宋婷婷, 徐盈, 等. 染色体微阵列技术在高龄孕妇产前诊断中的价值[J]. 兰州大学学报(医学版), 2021, 47(3):80-83+90.

(收稿日期:2022-06-25)

编辑:葛玉纯