

# 染色体微阵列技术在产前诊断中的应用

卢建 黄伟伟 李怡 周伟宁 尹爱华

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

**【摘要】** 染色体微阵列技术是一种高分辨率、全基因组范围的检测技术,不仅可以检测传统染色体分析技术可以检测的绝大多数染色体不平衡,而且能检出亚显微水平的拷贝数变异。本文针对该技术的平台分类、产前诊断应用中的优势和不足、结果分类与解读,面临的挑战、临床适应证、伦理及遗传咨询方面做一概述。

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

染色体微阵列技术(chromosomal microarray analysis, CMA)是一种高分辨率、全基因组范围的检测技术,不仅可以检测传统染色体分析技术可以检测的绝大多数染色体不平衡,而且能检出亚显微水平的拷贝数变异(copy number variants, CNV),即通常所说的染色体微小片段缺失或重复等。近来研究表明 CNV 普遍存在于我们的基因组中,且在人类遗传性疾病中发挥重要的作用<sup>[1]</sup>。因此 CMA 已被推荐作为一线技术应用于神经发育性疾病和先天发育异常等人类遗传性疾病的检测。随着在儿童遗传性疾病检测的经验积累, CMA 技术逐渐被应用到产前诊断中,为产前诊断提供了新的途径,其在对染色体的数目异常、片段缺失和重复的检测方面比传统的染色体核型分析具有明显的优越性。

## 1 CMA 技术平台分类

根据设计原理的不同,目前主要有 2 种技术平台应用于产前诊断。一种是比较基因组杂交微阵列芯片(comparative genomic hybridization array, CGH array),其原理是将待测样本 DNA 与正常对照样本 DNA 分别标记、与芯片探针进行竞争性杂交后获得定量的拷贝数检测结果;另一种是单核苷酸多态性微阵列芯片(single nucleotide polymorphism array, SNP array),其原理则只需将待测样本 DNA 与芯片探针进行杂交,然后和内部参照数据进

行比较获得定量的拷贝数检测结果及 SNP 型结果。CGH array 能够很好地检出 CNV,而 SNP array 除了能够检出 CNV 外,还能够检测出大多数的单亲二倍体(uniparental disomy, UPD)、三倍体及一定比例的嵌合体<sup>[2]</sup>。近年来,为了提高检测的敏感性、特异性,2 种平台相互借鉴对方优点,因此设计的芯片多同时含有 CNV 和 SNP 探针。

## 2 CMA 在产前诊断中的应用优势

传统的染色体分析技术主要用于检测染色体非整倍体、大片段缺失或重复、平衡或非平衡性易位和倒位等,但受显带分辨率的限制,产前染色体核型分析可发现的结构异常长度通常都在 10Mb 以上,并且在进行染色体核型分析前一般需要进行细胞培养,检测结果一般在取样 2~3 周后才能得到。

相较传统的染色体分析技术, CMA 具有更高的分辨率,可以发现低至 50~100kb 的片段缺失或重复<sup>[3]</sup>。对一些核型分析诊断为原发性平衡易位携带者, CMA 也可以帮助检测易位断裂点是否存在微小缺失或重复。另外 CMA 可用于非培养产前样本的检测,从而降低检测周期。特别是一些稽留流产或胚胎停育组织,细胞培养非常困难,核型分析往往无法获得结果而 CMA 则可获得较好结果。

一些大样本量研究比较了 CMA 和传统核型分析在产前诊断中的应用,发现 CMA 对分析产前超声发现胎儿结构畸形但染色体核型正常的病例发挥

了突出作用。在一些多中心研究中<sup>[4]</sup>,对于核型结果正常样本中,如果产前超声提示异常,CMA结果提示6.5%(201/3090)的阳性率;对于高龄孕妇,其CMA阳性率是1.0%(50/5108);其他因素如血清学筛查阳性、焦虑、染色体异常生育史等,其阳性率是1.1%(44/4164)。

### 3 CMA存在的不足

CMA通常用于检测非平衡染色体异常,但无法检测平衡性染色体重排,如易位或倒位。CMA也无法提供产生染色体不平衡的遗传机制的信息,例如CMA发现21-三体,我们无法区分是单纯性还是罗伯逊易位型21-三体,这些信息对再发风险评估非常重要。对于低比例嵌合体和多倍体情况,CMA也存在漏检可能,特别是CGHarray漏诊可能性较高,而SNP array对于低比例嵌合体和三倍体的检测则明显好于CGHarray。同时,我们应了解CMA并不能检出所有的CNV,例如1、9、16及Y染色体次缢痕区域和D组、E组染色体短臂等区域,这些区域并未设置检测探针;对于低于检测分辨率的CNV也无法检出。另外CMA也无法检测单基因遗传病的点突变异常、基因表达异常和甲基化异常。

### 4 CMA的结果分类与解读

按照美国遗传协会推荐的分类标准<sup>[5]</sup>,CNV结果可分为良性CNV、致病性CNV、临床意义不明CNV三大类。其基本原则如下:①良性CNV:涉及的CNV在DGV数据库或内部数据库中的发生率>1%;或该CNV已在多个同行审议的出版物或经审校的数据库中报告为良性;或CNV不包含任何基因或重要的基因组成部分。②致病性CNV:该CNV已在多个同行审议的出版物或经审校的数据库中报告为致病性,或缺失中包含因单倍剂量不足(haploinsufficiency)而致病的基因或基因的一部分,或重复中包含三倍剂量敏感基因的全部。③临床意义不明性CNV:此类变异不符合致病条件也不符合良性条件,文献报道中的结论尚未一致,暂没有足够的证据做肯定的分类。

具体区分可以参考一些病例报道、病例分析等资料,以及一些公共数据库,如国际公共病理性CNV数据库(Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources, DECIPHER)、国际公共良性CNV数据库(database of genomic variants, DGVs)、人类遗传学细胞遗传学微阵列委员会在线数据库(international-standard cytogenomic array consortium, ISCA)、人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)等,这些不断完善的数据库对规范和明确CMA结果的解释及遗传咨询起着重要作用。

SNP array可以发现杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH), LOH产生原因主要有3种<sup>[6]</sup>:①血缘同一(identity by descent, IBD):这是由于父母是远亲关系。表现为小的LOH分散在少数几条染色体上面。②近亲关系(consanguinity):这是由于父母亲缘关系较近。在基因组中表现为许多染色体上有较大的LOH片段。虽然这些LOH本身不致病,但会增加隐性遗传病的发生风险<sup>[7]</sup>。③单亲二倍体(uniparental disomy, UPD):是指某一染色体的两个拷贝均来源于父亲或母亲。包含异源单亲二倍体(heterodisomy)和同源单亲二倍体(isodisomy)两种情况。CMA只能检测出同源单亲二倍体。目前已知第6、7、11、14、15及20号染色体含有印迹致病基因<sup>[8]</sup>,当发生UPD时认为是致病性的,其余染色体的UPD临床意义均不明确。

### 5 CMA在产前诊断中面临的挑战

CMA用于产前领域的目的不同于用于产后,产后检测主要是用来解释患者的临床症状,帮助找到病因;而用于产前领域则是为了预测胎儿结局或是排除胎儿存在一些明确的染色体异常。因此用于产前时,有限的影像学资料和临床信息导致很难解释CNV的临床相关性及预测胎儿出生后的临床表型,这也就导致一些临床意义不明的CNV常给家庭带来巨大的压力和焦虑,有些甚至在超声无明显异常的情况下考虑选择终止妊娠。

CMA检测结果中临床意义不明CNV检出率

约为1%~2%<sup>[9,10]</sup>。在产前诊断中,评估胎儿临床意义不明 CNV 对胎儿的影响首先需要确定是否新发突变,因此需对胎儿父母进行进一步检测,这势必增加家庭经济负担及不必要的担忧。同时我们应了解,家系调查并不总能提供足够的信息,因为在父母双方及兄弟姐妹间特定的遗传学改变可能对表型有不同影响;另外,在个体基因组中其他区域的畸变的联合效应也会对结果的解释造成困扰。因此,CMA 结果的判断和解释在产前诊断中面临着严峻的挑战,对于临床意义不明的 CNV 我们无法给出准确的解释;即便一些 CNV 明确致病,但由于其临床表现多样性,导致我们很难准确预测胎儿出生后可能出现的表型。这些都给临床实际工作中带来挑战。但幸运的是随着 CMA 应用的增多,临床意义不明 CNV 检出率呈明显下降趋势<sup>[11]</sup>。随着对 CNV 数据的积累必将进一步减少临床意义不明 CNV 的报告比例。

## 6 CMA 技术的临床适应证

目前,各国相关行业协会给出的临床适用指征并不完全一致,我国产前诊断协作组给出的临床适应证包括<sup>[12]</sup>:①产前超声检查发现胎儿结构异常,建议在胎儿染色体核型分析的基础上进行,如核型分析正常,则建议进一步行 CMA 检查;②对于胎死宫内或死产、需行遗传学分析者,建议对胎儿组织行 CMA 检测;③对于胎儿核型分析结果不能确定情况下,建议采用 CMA 技术进行进一步分析以明确诊断。从中我们可以看出,CMA 在我国还只是染色体核型分析的辅助检测手段,并未像西方发达国家推荐作为超声异常胎儿的一线检查手段,考虑可能还是由于目前 CMA 技术在我国普及度低有关,另一方面就是检测费用远高于核型分析,限制了其广泛应用。

## 7 CMA 检测伦理问题和遗传咨询

在产前诊断领域,CMA 的应用常常要面对一些伦理问题,如当检测到临床意义不明 CNV 时,是否会对孕妇和胎儿造成超出接受程度之外的伤害风险?是否需要隐瞒一些检测结果信息等,这些问题还需要进一步讨论。例如 CMA 检测到临床意义不

明 CNV,目前还无法评估对胎儿带来的可能风险。若告知孕妇我们对该片段缺失是否正常或者致病一无所知,将会增加孕妇的精神压力,同时也会影响到她对妊娠的决定。在这种情况下,怎样去把握报告尺度问题,急需要我们去思考。目前在没有一个统一的报告标准前,检测前的遗传咨询必不可少,告知 CMA 的优势与不足,可能存在的问题(如,可能检出临床意义不明的 CNV、成年发病的 CNV、胎儿为某些疾病的携带者等情况),报告标准(推荐产前领域下尽量减少临床意义不明 CNV 的报告,以免造成胎儿父母的不必要的恐慌)等;检测后我们应通过遗传咨询、感情支持、事件展望等帮助孕妇,而不应该家长式直接指导孕妇采取何种行动<sup>[13]</sup>。

## 8 结论

总而言之,CMA 技术可以对产前样本进行全基因高分辨率的扫描,相对于传统核型分析大大提高了检出率。且该技术对标本要求不高,可对死胎组织进行分析;无需培养则避免了培养过程造成的异常,同时也缩短了检测时间。尽管很多人担心 CMA 芯片检测出来的临床意义不明的 CNV 片段对孕妇会造成多方面的压力,但因其具有其他技术不可比拟的优势,且随着遗传咨询能力的提高,CMA 技术必定会被广泛应用于产前诊断。

## 参 考 文 献

- [1] Martin CL, Kirkpatrick BE, Ledbetter DH. CNVs, aneuploidies and human disease[J]. Clin Perinatol, 2015, 42(2): 227-242.
- [2] Manning M, Hudgins L. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities[J]. Genet Med, 2010, 12(11): 742-745.
- [3] Fruhman G, Van den Veyver IB. Applications of array comparative genomic hybridization in obstetrics[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2010, 37: 71-85.
- [4] Callaway JL, Shaffer LG, Chitty LS, et al. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature[J]. Prenat Diagn, 2013, 33: 1119-1123.

随着分子生物学技术的发展,染色体微阵列分析技术对于传统细胞遗传学方法来说,是一个很好的完善和补充,尤其是携带染色体微缺失或微重复的产前诊断病例,使得染色体微阵列分析技术的优越性得到体现。

参 考 文 献

[ 1 ] Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE, et al. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations[J]. *Genet Med*, 2013, 15(6):478-481.

[ 2 ] Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Chauveau D, et al. Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5[J]. *Diabetes*, 2005, 54(11):3126-3132.

[ 3 ] Mefford HC, Clauin S, Sharp AJ, et al. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy[J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(5):1057-1069.

[ 4 ] Bellanné-Chantelot C, Chauveau D, Gautier JF, et al. Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations[J]. *Ann Intern Med*, 2004, 140(7):510-517.

[ 5 ] Dotto RP, Giuffrida FM, Franco L, et al. Unexpected finding of a whole HNF1B gene deletion during the screening of rare MODY types in a series of Brazilian patients negative for GCK and

HNF1A mutations[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2016, 116:100-104.

[ 6 ] Edghill EL, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet*, 2006, 43(1):84-90

[ 7 ] Ulinski T, Lescure S, Beaufils S, et al. Renal phenotypes related to hepatocyte nuclear factor-1b(TCF2) mutations in a pediatric cohort[J]. *J Am SocNephrol*, 2006, 17:497 - 503.

[ 8 ] Decramer S, Parant O, Beaufils S, et al. Anomalies of the TCF2 gene are the main cause of fetal bilateral hyperechogenickidneys [J]. *J Am SocNephrol*, 2007, 18:923 - 933.

[ 9 ] 王从容, 项坤三. 肝细胞核因子-1β 基因与 MODY5[J]. *中国糖尿病杂志*, 2002, 10(3): 171-174.

[10] Lazzaro D, De Simone V, De Magistris L, et al. LFB1 and LFB3 homeoproteins are sequentially expressed during kidney development[J]. *Development*, 1992, 114(2):469-479.

[11] Barbacci E, Reber M, Ott MO, et al. Variant hepatocyte nuclear factor 1 is required for visceral endoderm specification[J]. *Development*, 1999, 126(21):4795-4805.

[12] Hiesberger T, Bai Y, Shao X, et al. Mutation of hepatocyte nuclear factor-1beta inhibits Pkhd1 gene expression and produces renal cysts in mice[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(6):814-825.

(收稿日期:2016-11-01)

编辑:宋文颖

(上接第 10 页)

[ 5 ] Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants[J]. *Genet Med*, 2011,13:680-685.

[ 6 ] 中国医师协会医学遗传学分会, 中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组, 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 染色体基因组芯片在儿科遗传病的临床应用专家共识[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(6):410-413.

[ 7 ] Wang JC, Ross L, Mahon LW, et al. Regions of homozygosity identified by oligonucleotide SNP arrays: evaluating the incidence and clinical utility[J]. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23(5):663-671.

[ 8 ] Yamazawa K, Ogata T, Ferguson-Smith AC. Uniparental disomy and human disease: an overview[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2010, 154c(3):329-334.

[ 9 ] Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and metaanalysis[J]. *Ultrasound Obstet Gy-*

*necol*, 2013, 41:610-620.

[10] Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, et al. Experience with microarraybased comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies [J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32:976-985.

[11] Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367: 2175-2184.

[12] 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.

[13] McGillivray G, Rosenfeld JA, McKinlay Gardner RJ, et al. Genetic counselling and ethical issues with chromosome microarray analysis in prenatal testing[J]. *Prenat Diagn*. 2012, 32(4):389-395.

(收稿日期:2016-10-16)

编辑:宋文颖