

无创产前诊断在胎儿单基因病中的诊断价值初探

郑笑珠 黄慧 韩瑞宁

(中山大学附属第八医院, 广东 深圳 518033)

【摘要】 目的 初步探讨无创产前诊断在胎儿单基因病中的诊断价值。方法 通过基于目标序列捕获技术的高通量测序方法检测 8 例可能孕有单基因病胎儿并决定引产的孕妇外周血进行基因测序, 以引产胎儿绒毛组织基因检测的结果为诊断的金标准。结果 8 例孕妇均行外周血胎儿游离 DNA 高通量基因测序, 结果提示: 病例 1 检测出 COL1A2 基因发生 c.2962G>T 突变, 为胎儿成骨发育不全; 病例 4 和 7 检测到 FGFR3 基因发生 c.742C>T 突变, 为致死性侏儒; 其余病例未检测到明显致病性突变, 引产后发现胎儿存在不同程度的宫内生长受限。与引产绒毛组织基因检测结果比对证实, 符合率 100%。结论 无创产前诊断检测可在产前明确胎儿异常的病因方面发挥作用, 为患者提供准确的遗传咨询及下一次妊娠指导。

【关键词】 单基因病; 无创产前诊断; 高通量测序; 游离胎儿 DNA

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Preliminary study on the diagnostic value of non-invasive prenatal diagnosis in fetal monogenic diseases

Zheng Xiaozhu, Huang Hui, Han Ruining

(The eighth Affiliated Hospital of Sun Yat sen University, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of noninvasive prenatal diagnosis in fetal monogenic diseases.

Methods Through high-throughput sequencing method based on target sequence capture technology, the peripheral blood of 8 pregnant women who may be pregnant with monogenic disease and decide to induce labor were sequenced, and the results of gene detection in the villus tissue of the induced labor fetus were used as the gold standard for diagnosis. **Results** The high-throughput gene sequencing of fetal free DNA from peripheral blood was performed in 8 pregnant women. The results showed that the COL1A2 c.2962 C>T mutation was detected in case 1, which was fetal osteogenesis hypoplasia; FGFR3 c.742C>T mutation was detected in cases 4 and 7, which was fatal dwarf; No obvious pathogenic mutation was detected in other cases, and different degrees of intrauterine growth restriction was found in induced labor. Compared with the results of gene detection in induced villus tissue, the coincidence rate was 100%..

Conclusion noninvasive prenatal diagnosis can clarify the etiology of fetal abnormalities, and provide accurate genetic counseling and next pregnancy guidance for patients.

【Key words】 Monogenic disease; Noninvasive prenatal diagnosis; High throughput sequencing; Free fetal DNA

单基因遗传病(monogenic disease)是由于一对等位基因或者一对同源染色体上的单个基因突变引

起的遗传病,该类型疾病的遗传方式符合孟德尔遗传定律,因此又被称为孟德尔遗传病^[1]。目前已知的人类单基因遗传病超过 7000 种,总体发病率约为 1%。除极少部分单基因遗传病能够通过手术进行

矫正和治疗外,绝大多数为致死、致残、致畸性疾病,缺乏有效治疗手段。单基因遗传病发病率虽低,但单基因遗传病携带率较高,有报道称每16人中就有1个为携带者,因此妊娠期遗传性疾病筛查和产前诊断对于具有高危遗传状态的胎儿具有重要意义,对于确诊的胎儿适时终止妊娠,能够明显降低出生缺陷发生率^[2]。以高通量测序技术为基础的无创性产前检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)已经在产前筛查中得的广泛应用^[3]。而基于目标序列捕获技术的高通量测序已经成为近年来单基因遗传病无创产前诊断研究的热点内容,该技术可针对整个外显子组或感兴趣的目标区域(已被前期研究识别)进行的高通量测序,该技术在降低测序成本的同时也提高了测序的效率^[4]。本次研究即采用基于目标序列捕获技术的高通量测序方法对8例可能孕有单基因病胎儿并决定引产的孕妇的外周血进行检测,并与引产组织基因检测结果进行比较。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2016年8月至2021年6月期间在中山大学附属第八医院产科产检并通过超声检查发现胎儿宫内生长受限或不伴胎儿结构畸形的8例孕妇(1例超声检查提示胎儿长骨短小,其余7例未发现胎儿结构异常)作为研究对象,纳入标准:①所有孕妇均月经周期规律,经NT彩超核实孕周;②知情同意;③单胎、胎位正常。排除标准:合并

妊娠期疾病、贫血、严重过敏者。孕妇年龄22~43岁,平均(29.4±6.2)岁;孕周15~23周;初产妇5例,经产妇3例。本研究通过医院医学伦理委员会审核批准。

1.2 研究方法

1.2.1 无菌条件下采集孕妇外周静脉血10 ml,置于EDTA抗凝管内,使用血浆游离DNA提取试剂盒(磁珠法)提取胎儿游离DNA,构建文库,采用NextSeq CN500基因测序仪及测序试剂盒进行基因测序。若发现基因异常,在遗传咨询和充分告知且经夫妻双方同意后实施引产。

1.2.2 8例孕妇均在我院完成引产,过程顺利,排出的胎儿外观均表现为小样儿;取胎盘绒毛组织约5g,血浆游离DNA提取试剂盒(磁珠法)提取绒毛中游离的DNA,剩余步骤同上。

2 结果

8例孕妇均进行外周血游离DNA高通量基因测序检查和引产物组织高通量测序检查,两种样本检查结果均一致,其中病例1检测出COL1A2基因发生c.2962G>T突变,为胎儿成骨发育不全;病例4和7检测到FGFR3基因发生c.742C>T突变,为致死性侏儒;其余病例未检测到明显致病性突变,引产后发现胎儿均有不同程度的宫内生长受限。具体见表1。

表1 检查结果分析

病例号	无创产前诊断结果	引产物组织高通量测序结果	引产情况
病例1	COL1A2基因发生c.2962G>T突变	COL1A2基因c.2962G>T突变	23周引产,胎儿成骨发育不全,长骨低于标准差10SD
病例2	未检测到明显致病性突变	未检测到明显致病性突变	宫内生长受限,帆状胎盘
病例3	未检测到明显致病性突变	未检测到明显致病性突变	宫内生长受限,帆状胎盘
病例4	FGFR3基因发生c.742C>T突变	FGFR3基因c.742C>T突变	24周引产,致死性侏儒,长骨低于标准差12SD
病例5	未检测到明显致病性突变	未检测到明显致病性突变	宫内生长受限,胎盘老化
病例6	未检测到明显致病性突变	未检测到明显致病性突变	宫内生长受限,胎盘老化
病例7	FGFR3基因发生c.742C>T突变	FGFR3基因c.742C>T突变	25周引产,致死性侏儒,长骨低于标准差12SD
病例8	未检测到明显致病性突变	未检测到明显致病性突变	宫内生长受限

3 讨论

单基因病是较为罕见的一类遗传性疾病,但总体发病率较高,一旦出生此类胎儿将给家庭和社会

带来沉重的负担。通过产前筛查、产前诊断能够及时发现胎儿异常,在明确诊断的前提下终止妊娠能够极大程度避免单基因病患儿娩出。产前诊断按照有无侵入性可分为侵入性检查和非侵入性检查两

种,前者主要包括绒毛膜、羊膜腔刺细胞核型分析,这是目前公认的产前诊断“金标准”,但存在细胞培养操作困难、时间长,核型分析难度大,对5 Mb以下染色体微缺失、微重复、基因位点突变等无法检出等问题^[5]。

已经发现母体外周血中存在胎儿游离DNA,通过对这些游离DNA进行检测和分析能够提供大量的生物信息学数据,为遗传咨询提供依据。通常孕妇在妊娠7周后就能从其外周血中检测到胎儿游离DNA,在前3个月胎儿游离DNA数量按每周21%的速度增加,3~6个月期间其含量变化不明显,分娩后2h内快速消失^[6]。因此在孕早中期可通过胎儿游离DNA检测进行产前筛查和诊断。本研究通过基于目标序列捕获技术的高通量测序方法对8例可能孕有单基因病胎儿的孕妇的外周血进行检测,发现其中3例存在基因异常,病例1检测出COL1A2基因发生c.2962G>T突变,为胎儿成骨发育不全;病例4和7检测到FGFR3基因发生c.742C>T突变,为致死性侏儒;其余病例未检测到明显致病性突变,引产胎儿均存在不同程度的宫内生长受限。经引产组织基因检测结果对比,符合率100%。本次检出的3例基因异常病例均属于胎儿短肢畸形,其致病基因多已明确,其中FGR3基因位点突变可造成致死性侏儒、软骨发育不良^[7-8],COL1A1、COL1A2等已知位点突变可造成成骨发育不全^[9]。本次研究报道的3例基因突变病例均有较多的临床报道,国内乞艳华等^[10]对孕妇外周血进行全外显子高通量测序也发现了1例COL1A2基因发生c.2962G>T突变和3例发生FGFR3基因c.742C>T突变,与引产物组织基因检测相同。

而骨发育不良目前多是在孕中晚期通过超声诊断进行诊断,而国内超声水平参差不齐,加之部分伴有不典型超声特征的病例很难进行明确诊断和分型,这给临床遗传咨询造成了较大困扰,可能导致缺陷儿出生,因此通过高通量测序技术对母体外周血中游离胎儿DNA进行检查和生物信息学分析可有效检出胎儿异常情况,为遗传咨询师和孕妇提供较

为准确的诊断证据,也可指导孕妇及配偶的下一胎妊娠。

参 考 文 献

- [1] 王晓晔,范蒙洁,李锐,等. 133种隐性遗传病相关基因变异在200例中国人群中的分布研究[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(3): 195-201.
- [2] 李焕铮,徐晨阳,毛义建,等. 50个假肥大型肌营养不良家系的基因突变检测及产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(2): 169-174.
- [3] ZHANG R, DING J, GAO P, et al. Generation of Highly Biomimetic Quality Control Materials for Noninvasive Prenatal Testing Based on Enzymatic Digestion of Matched Mother-Child Cell Lines[J]. Clinical Chemistry, 2020, 12(6): 6.
- [4] 冯银,梅世月,刘宁,等. 目标序列捕获高通量测序技术在二例血管性血友病患者VWF基因分析中的应用[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(3): 242-244.
- [5] 胡睿,张竹,王嘉敏,等. 比较基因组杂交微阵列技术在高龄孕妇产前诊断胎儿染色体异常中的应用[J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(1): 117-124.
- [6] WU X, LI Y, XIE X, et al. Clinical Review of Noninvasive Prenatal Testing: Experience from 551 Pregnancies with Noninvasive Prenatal Testing-Positive Results in a Tertiary Referral Center[J]. Journal of Molecular Diagnostics, 2020, 22(12): 1469-1475.
- [7] DEL PICCOLO N, PLACONE J, HRISTOVA K. Effect of thana-tophoric dysplasia type I mutations on FGFR3 dimerization[J]. Biophys J, 2015, 108(2): 272-278.
- [8] TAKESHI K, TOMONORI O, KAORI F, et al. Proposal of patient-specific growth plate cartilage xenograft model for FGFR3 chondrodysplasia[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2018, 26(11): 1551-1561.
- [9] LIDIJA, ZHYTNIK, KATRE, et al. Mutational analysis of COL1A1 and COL1A2 genes among Estonian osteogenesis imperfecta patients[J]. Human Genomics, 2017, 11: 19.
- [10] 乞艳华,麻妙艳,刘娜,等. 超声联合高通量测序在检测胎儿短肢畸形中的研究[J]. 山西医科大学学报, 2018, 49(6): 704-709.

(收稿日期:2022-08-25)

编辑:刘邓浩