

高龄孕妇人群羊水标本 CNV 发生率及类型分析

吴晓霞 刘洋 谢建生

(深圳市妇幼保健院 产前诊断中心, 广东 深圳 518000)

【摘要】目的 探讨染色体拷贝数变异(copy number variants, CNV)在高龄孕妇羊水标本中的发生率以及其类型分布。**方法** 收集单纯因高龄因素行羊膜腔穿刺术进行产前诊断的孕妇羊水标本 213 例。同时进行羊水染色体核型分析和染色体微阵列分析,统计在羊水染色体核型分析正常的高龄孕妇中 CNV 的发生率和类型。**结果** 213 例羊水标本中,染色体核型分析和染色体微阵列分析同时发现异常的有 5 例。在 208 例染色体核型分析结果正常的羊水标本中,染色体微阵列分析技术共检出 8 例异常,其中 4 例为具有临床意义的 CNV,占比约 1.9%,高于小于 35 岁孕妇人群中唐氏综合征的发病率;另外 4 例为临床意义未明 CNV,占比约 1.9%。**结论** 由于 CNV 的发生率与孕妇年龄无相关性,因此高龄孕妇中 CNV 的发生率和类型可以反映出普通低危妊娠人群 CNV 的发生率和类型。对超声结构正常而行有创产前诊断的孕妇人群中,在排除了常见的非整倍体异常后也应建议进一步进行 CMA 分析排除致病性 CNV。

【关键词】 高龄; 拷贝数变异; 染色体微阵列分析; 产前诊断

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To investigate the frequency and classification of copy number variants in pregnancies with advanced maternal age. **Method** A total of 213 prenatal amniotic fluid samples from pregnancies with advanced maternal age were processed in parallel using both whole-genome CMA and conventional karyotyping. The frequency and classification of copy number variants were calculated in the samples with normal karyotype. **Results** Of the 213 samples, 5 abnormalities were found simultaneously by CMA and conventional karyotyping. Of the 208 samples with normal karyotype, 8 abnormalities were detected by CMA including 4 abnormalities with clinically significant and 4 variants of uncertain significance. The incidence of clinically significant variants and uncertain significance variants were 1.9%. The incidence was higher than that of Down syndrome in pregnant women younger than 35 years old. **Conclusions** Copy number variants of well-defined clinical significance are not associated with maternal age. So, the incidence of clinically significant variants in pregnancies with advanced maternal age can represent the background risk for clinically significant CNVs in uneventful pregnancies. All women having invasive testing without fetal ultrasound abnormality can be offered microarray as an option after exclusion of aneuploidy abnormality.

【Key words】 advanced maternal age; copy number variants; chromosome microarray analysis; prenatal diagnosis

近几年来染色体微阵列技术(chromosome mi-

croarray analysis, CMA)已广泛应用于存在超声结构异常的孕妇的产前遗传学诊断中,与传统染色体核型相比, CMA 技术可提高约 6% 的异常检出

率^[1]。目前,CMA 技术已是一种广泛应用于临床的用于检测染色体拷贝数变异(copy number variants,CNV)的工具。对于需要进行有创产前诊断但不存在超声结构异常的孕妇,CMA 技术是否可以作为一种常规检测技术目前尚无统一意见^[2]。2016 年美国妇产科学会和胎儿医学会发表指南认为对于选择进行侵入性产前诊断且不存在超声结构异常的孕妇,染色体核型分析或 CMA 技术可二选其一^[3]。目前大样本研究发现,在因高龄、血清学筛查异常或焦虑而选择有创产前诊断的孕妇中,当染色体核型分析无异常发现时,通过 CMA 技术可额外检出 1%~1.7% 的有临床意义的 CNV^[4,5]。目前国内尚缺乏关于在超声结构正常的胎儿中具有临床意义的 CNV 的检出率的相关数据发表。

本次研究将单纯因高龄因素选择有创产前诊断的孕妇作为研究对象,在排除了常见染色体非整倍体异常后使用 CMA 技术对孕妇羊水标本进行分析,统计 CNV 的检出率并分析主要异常类型,为产前遗传咨询提供客观数据做参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2017 年 1 月至 2018 年 6 月于深圳市妇幼保健院产前诊断中心就诊的因高龄因素而选择有创产前诊断的孕妇 213 例作为研究对象。

1.2 研究方法 在签署知情同意后,对 213 例孕妇进行羊膜腔穿刺术收集羊水标本 30ml。对羊水标本同时进行染色体核型分析和染色体微阵列分析。

1.2.1 染色体核型分析 使用每例孕妇的 20ml 羊水标本进行羊水细胞培养、中期染色体核型制备及 G 显带染色体核型分析。

1.2.2 染色体微阵列分析 使用 10ml 未经培养的羊水标本进行 DNA 提取。全基因组 DNA 提取采用 QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit(Qiagen Valencia, CA)。提取的 DNA 通过质检后,使用 AffymetrixCytoScan 750K 芯片平台对 213 例羊水 DNA

进行全基因组拷贝数变异分析。

2 结果

2.1 染色体核型分析 213 例羊水标本中经染色体核型分析共发现 5 例异常,见表 1。

表 1 5 例染色体核型异常结果

病例	染色体核型结果	超声结果	妊娠结局
1	47,XN,+mar[61]/46,XN[39]	未做	终止妊娠
2	47,XN,+21	未做	终止妊娠
3	47,XXY	未见异常	终止妊娠
4	47,XXY	未做	终止妊娠
5	47,XN,+21	未做	终止妊娠

2.2 染色体微阵列分析 染色体核型分析发现的 5 例异常经 CMA 分析同样均发现异常。在 208 例染色体核型分析结果正常的羊水标本中经 CMA 检测发现 4 例有临床意义的 CNV,包括致病性 CNV 和可能致病性 CNV,占比约 1.9%;发现 4 例临床意义未明 CNV(variants of uncertain significance,VUS),占比约 1.9%。本实验室 CMA 数据分析主要参考数据库为:Decipher、DGV、ClinVar 和 clin-gen。

共发现 4 例致病或可能致病性 CNV。分别为 1 例 Xp22.31 缺失 1.492Mb,1 例 16p11.2 重复 599kb,2 例 1q21.1 重复(379kb、371kb)(表 2)。Xp22.31 缺失区域包含 STS 基因,该区域缺失可导致 X 连锁鱼鳞病(OMIM: # 308100),呈 X 连锁隐性遗传。主要表现为四肢、面、颈、躯干、臀部大面积鳞屑,部分患者并发角膜混浊、性器官发育异常^[6]。16p11.2 区域微重复可导致 16p11.2 重复综合征(OMIM: # 614671),该综合征常见临床表现有特殊面容、智力障碍、语音发育落后、认知功能障碍、孤独症谱系障碍等^[7]。1q21.1 区域重复常见的临床表现有发育迟缓、智力障碍、特殊面容、脑部异常等^[8]。上述 16p11.2 及 1q21.1 区域重复导致的疾病均存在外显不全现象及表现度差异,因此在产前阶段无法预测胎儿出生后是否会出现相关临床表现。

4 例 VUS 在本院数据库和在线数据库中均无明确致病定义(表 3)。

表2 4例致病性CNV结果

病例	CMA结果	超声表现	妊娠结局
1	arr[GRCh37]Xp22.31(6,538,033-8,030,262)x0 P	未见异常	35 ⁺ 4周剖宫产,2280克
2	arr[GRCh37]16p11.2(29591326_30190029)x3 P	未见异常	38 ⁺ 1周剖宫产,3150克
3	arr[GRCh37]1q21.1(145,382,123-145,760,793)x3 P	未见异常	39 ⁺ 2周剖宫产,3300克
4	arr[GRCh37]1q21.1(145390101_145760793)x3 P	未见异常	失访

表3 4例VUS结果

病例	CMA结果	超声表现	妊娠结局
1	arr[GRCh37]1q43(237312278_239781441)x3 VUS	未见异常	39 ⁺ 3周剖宫产,3420克
2	arr[GRCh37]22q11.21(20978718_21459713)x3 VUS	未见异常	38 ⁺ 6周剖宫产,3420克
3	arr[GRCh37]Xp21.2(30,885,738-31,212,999)x3,包含DMD基因部分序列 VUS	未见异常	40周顺产,3020克
4	arr[GRCh37]3p14.1p13(67,638,731-70,065,521)x3 VUS	未见异常	37 ⁺ 3周顺产,2750克

3 讨论

基因组拷贝数变异(CNV)是指基因组DNA中1kb以上的结构变异,包括缺失、重复等,而通过常规的染色体核型分析技术无法分辨的亚显微结构的改变^[9]。目前已知在产前存在超声结构异常的胎儿中,CNV的发生率约为6%,因此超声结构异常已成为致病性CNV的一项高危因素^[1]。由于胎儿CNV的发生与孕妇年龄无相关性,因此评估高龄孕妇人群中CNV的发生率及类型也可用来反映普通低危孕妇人群中胎儿CNV的发生率及类型^[10-12]。本次研究共收集了213例高龄孕妇羊水标本,经羊水染色体核型分析共发现5例异常,上述5例异常均被CMA检出。在余下208例染色体核型分析正常的羊水标本中,经CMA检测共发现8例异常,其中4例为具有临床意义的CNV,包括2例致病性CNV,2例可能致病性CNV,占比约1.9%;4例为临床意义未明结果,占比约1.9%。Wapner RJ等人^[1]研究发现,在因高龄、焦虑、血清学筛查异常而进行有创产前诊断的孕妇中,与传统染色体核型分析相比CMA技术可提高1.7%的阳性检出率。2017年Srebniak MI等人^[10]收集了10项大样本研究共10614例胎儿样本进行meta分析,结果提示在高龄和焦虑孕妇中,CMA可检出约0.84%的具有临床意义的CNV。在本次研究中,CMA技术在染

色体核型分析正常标本中共检出1.9%的具有临床意义的CNV。异常检出率与Wapner RJ等人的研究结果相近。

本次研究提示在国内高龄孕妇人群中,有临床意义的CNV的发生率约为1.9%,发生率要高于非高龄孕妇人群中21-三体综合征的发生率。由于CNV发生于孕妇年龄无相关性,因此本次研究的数据也可用以反映普通低危孕妇人群中CNV的发生率。对于21-三体目前已经有行之有效的筛查方法,而对于致病性CNV虽然在普通低危孕妇人群中发生率要高于唐氏综合征,但目前除了NIPT之外尚没有有效的筛查方法,且尚没有任何机构推荐将NIPT作为常规的筛查染色体微缺失微重复的方法^[13-16]。由于有临床意义的CNV的发生率并不低且没有有效的筛查方法,因此我们认为临床医师应告知孕妇致病性CNV的群体发病率,并告知孕妇CMA技术可有效检出上述异常,但会附带检出一定比例临床意义未明CNV。对于临床意义未明CNV,目前仍然给临床医师和孕妇带来了极大的困扰,因此在产前诊断过程中我们希望尽量减少该类结果的报告^[17-18]。为了达到这一目的,需要大量临床数据的积累过程。2012年,Wapner RJ等人报道临床意义未明CNV的发生率约为2.5%,而2015年,同样是Wapner RJ团队发表文章表示,他们已将产前临床意义未明CNV的报告率降至

0.9%^[1,4]。本次研究中,临床意义未明 CNV 的报告率为 1.9%,高于 0.9%,提示我们还需更多临床数据的积累和对 CNV 结果解读的经验积累。

通过本次研究发现,在高龄孕妇人群中,具有临床意义的 CNV 发生率为 1.9%,比例高于普通人群中 21-三体的发生率。由于 CNV 的发生率与孕妇年龄无相关性,因此高龄孕妇中 CNV 的发生率和类型可以反映出普通低危妊娠人群 CNV 的发生率和类型。基于以上研究结果我们认为,在对所有选择有创产前诊断的孕妇中,即使胎儿不存在超声结构畸形,临床医师也应告知孕妇低危人群中有临床意义 CNV 的发生率,并提供 CMA 技术供孕妇选择。

参 考 文 献

[1] 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.

[2] Hay SB, Sahoo T, Travis MK, et al. ACOG and SMFM guidelines for prenatal diagnosis: Is karyotyping really sufficient? [J]. *Prenat Diagn*,2018,38(3):184-189.

[3] Dugoff L, Norton ME, Kuller JA. The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016,215(4):B2-B9.

[4] Stosic M, Levy B, Wapner R. The Use of Chromosomal Microarray Analysis in Prenatal Diagnosis[J]. *ObstetGynecolClin North Am*,2018,45(1):55-68.

[5] Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis[J]. *Fertil Steril*,2018,109(2):201-212.

[6] Wang N, An K, Liu H, et al. Detection of the STS gene in a family with X-linked recessive ichthyosis[J]. *Indian J DermatolVenereol Leprol*,2013,79(2):268.

[7] Rosenfeld JA, Coppinger J, Bejjani BA, et al. Speech delays and behavioral problems are the predominant features in individuals with developmental delays and 16p11.2 microdeletions and microduplications[J]. *J Neurodev Disord*,2010,2(1):26-38.

[8] Rosenfeld JA, Traylor RN, Schaefer GB, et al. Proximal microdeletions and microduplications of 1q21.1 contribute to variable abnormal phenotypes[J]. *Eur J Hum Genet*,2012,

20(7):754-761.

- [9] Fiorentino F, Napoletano S, Caiazzo F, et al. Chromosomal microarray analysis as a first-line test in pregnancies with a priori low risk for the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities[J]. *Eur J Hum Genet*,2013,21(7):725-730.
- [10] Srebniak MI, Joosten M, Knapen M, et al. Frequency of submicroscopic chromosomal aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosomal aberrations: systematic review and meta-analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*,2018,51(4):445-452.
- [11] Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. *Obstet Gynecol*, 2013,122(6):1374-1377.
- [12] Buizer-Voskamp JE, Blauw HM, Boks MP, et al. Increased paternal age and the influence on burden of genomic copy number variation in the general population[J]. *Hum Genet*, 2013,132(4):443-450.
- [13] Petersen AK, Cheung SW, Smith JL, et al. Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory [J]. *Am J Obstet Gynecol*,2017,217(6):691.
- [14] Committee Opinion Summary No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy[J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(3):691-692.
- [15] Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening[J]. *Eur J Hum Genet*,2015,23(11):1592.
- [16] Li R, Wan J, Zhang Y, et al. Detection of fetal copy number variants by non-invasive prenatal testing for common aneuploidies[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*,2016,47(1):53-57.
- [17] Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis[J]. *Ultrasound ObstetGynecol*,2013,41(6):610-620.
- [18] Bernhardt BA, Soucier D, Hanson K, et al. Women's experiences receiving abnormal prenatal chromosomal microarray testing results[J]. *Genet Med*,2013,15(2):139-145.

(收稿日期:2019-03-01)

编辑:宋文颖