

# 低深度全基因组测序在大庆地区产前诊断的应用价值探讨

王淑莉 邵静 宋一丽\* 徐志文 刘明媚 佟香艳

(黑龙江省大庆油田总医院 产前诊断中心,黑龙江 大庆 163001)

**【摘要】 目的** 分析低深度全基因组测序在大庆地区产前诊断的应用价值。**方法** 选择大庆油田总医院于 2021 年 1 月 1 日至 2020 年 12 月 31 日的 200 例行羊膜腔穿刺产前诊断的妊娠孕妇作为本次研究对象,均实施染色体核型分析联合低深度全基因组测序(copy number variation sequencing,CNV-seq)技术诊断,观察其诊断结果。同时对 50 例孕早期流产患者进行流产病因学检测。**结果** 对 200 例妊娠孕妇进行染色体核型分析联合 CNV-seq 技术检测,其中 CNV-seq 相比于核型分析多检出 21 例微缺失微重复综合征胎儿,其中 7 例为明确致病性拷贝数变异(copy number variation,CNV),14 例为致病性未知 CNV。50 例流产物样本中,14 例致病性 CNV。**结论** CNV-seq 能够有效弥补核型分析分辨率低的缺陷,可提高异常染色体检出率,同时可以明确流产的遗传学病因,为再次妊娠提供指导意义,值得大力推广于临床中。

**【关键词】** 低深度全基因组测序; 产前诊断; 应用价值

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

## The value of low depth whole genome sequencing in prenatal diagnosis in Daqing area

Wang Shuli, Shao Jing, Song Yili, Xu Zhiwen, Liu Mingmei, Tong Xiangyan

Prenatal Diagnosis Center, Heilongjiang General Hospital of Daqing Oil Field, Daqing 163001, Heilongjiang, China

Corresponding author: Song Yili, E-mail: 154357146@qq.com

**【Abstract】 Objective** To analyze the value of copy number variation sequencing in prenatal diagnosis in Daqing area. **Methods** 200 pregnant women with amniocentesis prenatal diagnosis were selected from Daqing Oilfield General Hospital from December 1, 2020 to November 30, 2020. Karyotype analysis and copy number variation sequencing (CNV-seq) were performed in all cases. At the same time, 50 cases of early pregnancy miscarriage were examined. **Results** Karyotype analysis and CNV-seq technique were performed on 200 pregnant women. Combined with karyotype analysis and CNV-seq detected 21 fetuses with microdeletion microduplication syndromes, 7 of which had clear pathogenic copy number variation (CNV) and 14 had unknown pathogenicity. Of the 50 abortive samples, 14 had pathogenic CNV. **Conclusions** CNV-seq can make up for the defect of low resolution of karyotype analysis, improve the detection rate of abnormal chromosomes, and clarify the genetic etiology of miscarriage. It is worth to be widely implemented in clinics.

**【Key words】** Copy number variation sequencing; Prenatal diagnosis; Applied value

我国是一个世界人口大国,也是出生缺陷的高

发国家。尤其是随着“二孩政策”的开放后,高龄孕妇在逐渐增多,导致出生缺陷防控压力也在不断增大。大庆市位于黑龙江省西部地区,其中黑龙江省

每年约有出生缺陷患者1万人左右,其出生缺陷人口数量较大。部分出生缺陷可以通过治疗干预缓解或改善疾病的不良后果,但重大的出生缺陷目前缺乏有效的治疗措施,给家庭和社会带来巨大的负担。因此研发出有效的技术进行产前诊断对于降低新生儿出生缺陷率具有重要意义<sup>[1]</sup>。在所有新生儿出生缺陷的疾病中,染色体疾病是其中最为严重的一类<sup>[2]</sup>。在以前的产前诊断中,本院利用染色体核型分析和荧光原位杂交技术对羊水进行分析和检测,但是无法满足当前的工作需求<sup>[3]</sup>。对此,本文主要分析低深度全基因组测序在大庆地区产前诊断的应用价值,现将研究内容报道如下。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 选择大庆油田总医院于2020年1月1日至2020年12月31日的200例行羊膜腔穿刺产前诊断的妊娠孕妇和50例流产物绒毛组织进行检测分析。妊娠孕妇纳入标准:胎儿超声显示结构异常;产前筛查高风险;高龄孕妇(预产期年龄 $\geq 35$ 周岁);孕妇及其配偶任意一方具有染色体疾病的家族史;孕妇具有染色体疾病患儿的生育史;孕妇曾生育过死胎,或具有多次不明原因流产史<sup>[4]</sup>;同意接受随访至产后6个月。排除标准:合并感染性疾病或凝血功能障碍疾病、阴道流血、流液或腹痛、胎盘前置伴出血、羊水过少、孕妇当日体温 $\geq 37.3$ ℃。流产物绒毛组织纳入标准:患者身体健康,单胎,自愿接受流产病因学检测,年龄在20~40岁,孕龄 $< 12$ 周患者。该研究获大庆油田总医院伦理委员会批准,患者均知情同意并签署知情同意书。

**1.2 方法** 为本次研究中的所有孕妇均实施染色体核型分析联合低深度全基因组测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)技术,首先进行样本的采集,羊水取样在超声监测下穿刺入羊膜腔,并利用15ml螺口离心管收集25~35ml,密闭后在4℃下保存,并于48h运输至实验室。流产物取样需取黄豆粒大小(50~100g),线平团队用生理盐水多次冲洗,漂洗至无血液成分,并放入EP管中密封保存<sup>[5]</sup>,于4℃保存及运输,48h以内运至实验室处理。将采集部分标本送检至北京贝瑞和康生物技术有限公司进行联合检测。

**1.2.1 染色体核型分析技术** 取羊水20ml将羊水经37℃培养后收获,经过消化、低渗、固定等步骤制片编号<sup>[6]</sup>,做G显带(320~400条带)进行核型分析,必要时加做C显带、N显带。每例患者每线滴3张玻片,分别计数10个核型,对结构异常核型计数至少30个核型,对数目异常的核型则分析数量加倍。按照《细胞遗传学国际体制ISCN2016标准》进行描述及诊断。所有操作均双线进行。

**1.2.2 CNV-seq 技术染色体拷贝数变异检测(可逆末端终止测序法)**<sup>[7]</sup>,基于自主创新的快速简易建库方法EZ-GALO保证100%建库成功率。测序采用HiSeq2500快速检出结果,不受平台限制。生物信息学分析采用RUPA对比法快速检测。孕妇羊水样本及流产物样本中全部染色体非整倍体以及大于100kb的DNA拷贝数异常情况。

**1.3 观察指标** 观察染色体核型分析联合CNV-seq技术的检测结果(表1)。

表1 染色体核型分析联合CNV-seq技术的检测结果

项目	羊水				合计	流产物阳性率
	高龄孕妇	筛查高风险	产前超声异常	其他高危		
样本量[例(%)]	96(48.0)	65(32.5)	30(15.0)	9(4.5)	200(100.0)	50(100.0)
0.1Mb<PCNV* $< 10$ Mb(例)	12	3	5	1	21	9
非整倍体(例)	5	4	0	0	9	5
阳性样本合计[例(%)]	17(17.7)	7(10.8)	5(16.7)	1(11.1)	30(15.0)	14(28.0)

注:\*致病性CNV片段。

## 2 结果

本次研究中共有250例样本,其中200例羊水

样本,50例流产物样本,对200例羊水样本进行染色体核型分析联合CNV-seq技术检测,50例流产物样本仅行CNV-seq技术检测。30例阳性羊水样

本中9例非整倍体染色体 CNV-seq 和核型分析均发现异常, CNV-seq 相比于核型分析多检出21例微缺失微重复综合征胎儿; 其中7例为明确致病性 CNV; 10例为致病性未知 CNV, 夫妻双方知情同意验证。结果显示母源性4人, 父源性4人, 2人未明确片段来源, 经夫妻双方决定10个胎儿保留, 随访至产后6个月未见明显异常; 2例可能良性胎儿保留, 随访至产后6个月未见明显异常; 1例可疑致病夫妻双方拒绝验证随访至妊娠26周, 超声发现胎儿咽部发育不良经夫妻双方协商终止妊娠。50例流产物样本中, 14例致病性 CNV, 可致胚胎结构畸形, 发育异常以及胚胎停育, 进一步夫妻双方行染色体模型分析及 CNV-seq 检测。既可以明确流产的遗传学病因, 可为再次妊娠提供指导意义。

### 3 讨论

大庆市位于黑龙江西南部, 是黑龙江省的地级市, 随着其人口素质、经济水平的不断提高, 婚前检查、生殖健康检查、产前检查及新生儿疾病筛查等方面的检查率得到了大大提升。但由于大庆市处于东北地区, 大部分人们对于出生缺陷的认知不足及对产前诊断意识的淡薄, 因此为了做好大庆市的先天性出生缺陷的防治工作, 还需要更多的技术支持和深入研究<sup>[8]</sup>。

其中染色体疾病作为新生儿出生缺陷中最为严重的疾病, 仅仅依靠核型分析和荧光原位杂交 (fluorescent in situ hybridization, FISH) 等技术, 无法涉及染色体微小结构变异的遗传病诊断, 导致不能够满足临床需求。CNV-seq 是指应用下一代测序技术对样本 DNA 进行低深度全基因组测序, 并将测序结果与人类参考基因组碱基序列实施对比后, 以此来发现受检样本中存在的基因组拷贝数变异。将 CNV-seq 应用在染色体疾病的产前诊断中, 可以得到较好的诊断效果。第一点是由于 CNV-seq 具有较高的分辨率, 可以检出 100kb 以上的全基因组拷贝数变异。对于产前染色体病的诊断价值大于核型分析; 第二点是由于在已经具备自主开展无创产前检测 (non-invasive prenatal testing, NIPT) 的机构, 测序设备已有, 技术方法成熟; 第三

是其通量高, 成本低, 其中一张芯片最高可检测 80 个样本; 第四是无需进行细胞培养, 具有易操作的优势, 相比于核型分析来说其报告周期较短<sup>[9]</sup>。同时在实施具体的产前诊断中, 还可以将染色体核型分析与 CNV-seq 技术进行联合应用, 这样可有效提高大庆地区的染色体异常患病率以及异常疾病检出率, 并能够帮助患者选择最佳的产前诊断方案, 最终有利于降低大庆地区的新生儿出生缺陷发生率。

综上所述, 低深度全基因组测序在大庆地区产前诊断中具有较高的应用价值, 可有效提高出生缺陷高危人群的异常染色体检出率, 与染色体核型分析联合应用后能够提高其检查效率<sup>[10]</sup>, 最终可以为降低新生儿出生缺陷打下坚实的基础。

### 参考文献

- [1] 中华医学会医学遗传学分会临床遗传学组, 中国医师协会医学遗传医师分会遗传病产前诊断专业委员会, 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4):293-296.
- [2] 刘俊涛. 常见染色体病产前筛查与诊断刘俊涛 2018 观点[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2018:1.
- [3] 白周现, 陈晨, 苏利沙, 等. 低深度全基因组测序拷贝数变异检测技术对缺失型 X 连锁鱼鳞病的检测效力及意义的分析研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(10):736-742.
- [4] 李军, 陈必良, 朱军, 等. 产前诊断技术与胎儿畸形评估[M]. 西安: 世界图书出版西安有限公司, 2018:7.
- [5] 张卉, 祖淑静, 张宁, 单飞, 等. 染色体拷贝数变异测序 (CNV-seq) 对稽留流产绒毛组织的病因学检查分析[J/CD]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2019, 11(6):11-12.
- [6] 陆丽君. 余姚地区 1131 例孕妇羊水细胞染色体核型产前诊断分析[J]. 中国优生与遗传杂志 2015, 23-9.
- [7] 邹玲仟, 张学. 医学遗传学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [8] 宋辉, 时盼来, 肖艳华, 等. 应用低深度全基因组测序技术分析不明原因智力低下/发育迟缓患者基因组拷贝数变异[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(9):953-957.
- [9] 黄莉, 何冰, 王世凯, 等. 基因组测序技术应用于产前诊断胎儿染色体异常的研究[J]. 中国临床新医学, 2016, 9(1):6-10.
- [10] 邹玲仟, 刘俊涛. 孕产前筛查与精准诊断[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2020.

(收稿日期:2022-01-14)

编辑:宋文颖