

核型异常产前诊断中 CMA 与核型检测的应用分析

曾丹 范舒舒* 徐静 苗淑红 江玫玫

(汕头大学医学院附属粤北人民医院, 广东 韶关 512026)

【摘要】 目的 探讨核型异常产前诊断中 CMA 分析的临床意义。方法 收集本中心 2017 年 1 月至 2021 年 6 月羊膜腔穿刺产前诊断中行核型及染色体微阵列(CMA)联合分析 890 例羊水标本, 对其中染色体核型异常的 83 例样本进行分析。结果 890 例染色体核型和 CMA 检测均成功, 检出异常核型 83 例, 检出率为 9.3%(83/890), 染色体数目异常 52 例; 结构异常 20 例, 包括平衡结构异常 13 例, 非平衡结构异常 7 例; 嵌合 11 例。结论 染色体核型分析对染色体平衡性结构异常、倒位、嵌合及复杂核型检测更有优势, 而 CMA 技术则对非平衡性结构异常, 定位染色体来源、区带、片段大小, 变异类型等检测更有优势。在经济条件允许的情况下, 产前诊断标本建议行 CMA 和染色体联合检测, 给临床医师遗传咨询提供更多信息指引。

【关键词】 核型异常; CMA; 产前诊断

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Application analysis of CMA and karyotype testing in prenatal diagnosis of karyotype abnormalities

Zeng Dan, Fan Shushu, Xu Jing, Miao Shuhong, Jiang Meimei

Yue Bei People's Hospital Affiliated to Shantou University Medicine College, Shaoguan 512026, Guangdong Province, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinical significance of CMA analysis in the prenatal diagnosis of karyotype abnormalities. **Methods** Collect 890 amniotic fluid samples from January 2017 to June 2021 in the prenatal diagnosis of amniocentesis conducted by our center for joint analysis of karyotype and chromosome microarray (CMA), and select 83 samples with abnormal karyotype. **Results** 890 cases of chromosome karyotype and CMA detection were successful, 83 cases of abnormal karyotype were detected, the detection rate was 9.3% (83/890), 52 cases of abnormal chromosome number 20 cases of structural abnormalities, including 13 cases of balanced structural abnormalities and 7 cases of unbalanced structural abnormalities; 11 cases of chimerism. **Conclusion** Karyotype analysis has more advantages for detection of chromosome balanced structural abnormalities, inversion, chimerism and complex karyotypes, while CMA technology has more advantages for detection of unbalanced structural abnormalities, location of chromosome origin, banding, segment size, variation type, etc. If economic conditions permit, it is recommended that prenatal diagnostic samples should be jointly tested with CMA and chromosomes to provide more information and guidance for genetic counseling of clinicians.

【Key words】 Karyotype abnormalities; CMA; Prenatal diagnosis

产前诊断是预防胎儿出生缺陷的一道重要防

线, 侵入性产前诊断羊膜腔穿刺行染色体核型分析是目前诊断染色体异常的“金标准”, 对大于 5Mb 片段以上的染色体缺失或重复、胎儿染色体数目异常

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.01.007

* 通信作者: 范舒舒, Email: shaoguanfss@yahoo.com

及结构异常均可做出全面的分析^[1],但其培养时间长可能对染色体核型结果造成影响,而CMA称为“分子核型”,可检出染色体大于1Kb的拷贝数变异(CNVs)的微缺失/微重复,目前已成为产前诊断一线检测手段^[1-2],本研究从890例羊膜腔产前诊断中选取染色体核型异常的83例,探讨核型异常产前诊断中CMA分析的临床意义。

1 对象与方法

1.1 对象 收集2017年1月至2021年6月890例具产前诊断指征行羊膜腔穿刺做染色体核型及染色体微阵列(CMA)分析的孕妇资料,产前诊断指征包括:①血清学筛查高风险;②高龄(≥ 35 岁);③胎儿超声异常;④无创产前检测(NIPT)提示异常;⑤不良孕产史;⑥夫妻染色体异常;⑦其他原因。从890例标本中选取核型异常的83例标本,均为单胎,其中孕妇年龄16~45岁,孕周17~25⁺周,告知孕妇及其家属羊膜腔穿刺的风险,染色体核型分析及CMA的相关临床意义和注意事项,穿刺后抽取羊水分别行CMA和核型分析。本研究经过粤北人民医院伦理委员会批准,所有选取对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 消毒辅巾在超声引导定位下行羊水穿刺,抽取羊水32ml,最先抽取的2ml羊水丢弃以防母体组织污染,其中10ml羊水行CMA检测,另20ml羊水离心后取悬液分2瓶进行双线培养操作行染色体核型分析。

1.2.2 染色体核型分析 本科室在超声引导下羊膜腔穿刺采样,羊水标本分2瓶放入型号为3111的Thermo二氧化碳水套式培养箱(Thermo公司)中培养,经过7~8天培养后换液搔刮羊水细胞混匀,继续培养2~4天观察羊水细胞,当羊水细胞处于分裂中期较多时细胞收获,制片,消化,G显带后用卡尔蔡司公司Axio Imager Z2正置显微镜进行扫描,每份标本至少分析5个核型,20个分裂相,发现嵌合时,增加到100分裂相。按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2016)标准对相关染色体进行命名。

1.2.3 CMA检测 本科室在超声引导下羊膜腔

穿刺采样,采用Affymatrix公司的CytoScan 750k芯片对全基因组进行检测分析,约包含200 000个单核苷酸多态性标记探针和550 000个CNVs标记探针,检测过程中对DNA进行提取、酶切、连接、PCR、产物纯化、片段化、标记、杂交洗涤、扫描和分析等步骤,均按照操作标准流程进行,检测结果利用ChAS3.1.0.15软件(美国Affymatrix公司),查询DECIPHER、ClinGen、ClinVar、GeneReviews等数据库及PubMed已发表文献等进行结果分析。参照相关文献^[3]将CMA结果分为5类,致病性、可能致病、临床意义不明、可能良性、良性。产前诊断CMA结果一般报:致病性、可能致病、临床意义不明。

2 结果

2.1 总体情况 本研究选取的890例羊膜腔穿刺行产前诊断,羊水培养均成功,成功率100%,染色体核型和CMA检测均成功。检出异常核型83例,检出率为9.3%(83/890),异常核型产前诊断指征中血清学筛查高风险16例;高龄(≥ 35 岁)4例;胎儿超声异常14例;NIPT提示异常34例;不良孕产史6例;夫妻染色体异常8例,其他原因1例,其中NIPT提示异常的产前诊断指征例数最多,占40.9%(34/83)。异常核型结果中染色体数目异常52例;嵌合11例;结构异常20例,包括平衡结构异常13例,非平衡结构异常7例。

2.2 染色体核型与CMA结果检测均异常情况分析 染色体核型与CMA结果检测均异常的有70例,其中两者结果相符的有62例,包括染色体非整倍体52例(24例21三体,12例18三体,5例13三体,11例性染色体数目异常),嵌合异常5例,结构异常5例(见表1);不相符的有8例(见表2),包括嵌合3例,结构异常5例。

2.3 核型结果异常而CMA检测正常情况分析 核型结果异常CMA检测正常13例(除外多态13例及9号倒位12例),其中有嵌合3例,结构异常10例。其中结构异常中有Y倒位1例,复杂性结构重排1例,平衡易位8例(含有2例罗伯逊易位)。平衡易位中有7例进行双亲染色体核型验证,5例来源于母亲,2例来源于父亲(见表3)。

2.4 妊娠结局 两者结果均异常且相符的 62 例中:1 例性染色体数目异常两者检测结果为 47,XXX,选择继续妊娠,新生儿无异常(表 1 中未列出),2 例性染色体数目异常嵌合选择继续妊娠,新生儿无异常(见病例号 3,5),余均选择引产。两者结果均异常且不相符的 8 例中:病例号 11-17 均显示致病,均

选择引产,病例号 18 核型结果为多态,CMA 结果多条染色体多区域为纯合状态,有隐性遗传病可能,选择继续妊娠,新生儿无异常。核型结果异常而 CMA 正常:病例号 27 因“胎儿复杂性,心脏病”引产;病例号 30,后期因超声示“胎儿唇腭裂”引产,余均选择继续妊娠,新生儿无异常。

表 1 核型与 CMA 结果均异常且相符对比(除外染色体数目异常 52 例)

病例编号	产前诊断指征	核型(10 例)	CMA						
			片段或结果	大小	类型	分类	基因	综合征	妊娠结局
1	NIPT 提示异常	47, XN, + 21 [98]/46, XN[10]	arr(21)×3	-	重复	致病	-	21-三体综合征	引产
2	NIPT 提示异常	47, XN, + 21 [11]/46, XN, [79]	arr(21)×2-3(约 49%)	-	重复	致病	-	21-三体综合征	引产
3	NIPT 提示异常	45, X[16]/46, XX[84]	arr(1-22)×2, (X)×1-2(约 10%)	-	缺失	意义不明	-	Tuner 综合征	新生儿正常
4	NIPT 提示异常	45, X[61]/46, XX[39]	arr(1-22)×2, (X)×1-2(约 65%)	-	缺失	致病	-	Tuner 综合征	引产
5	NIPT 提示异常	47, XXY[20]/46, XY[45]	arr(X)×1-2(约 24%), (Y)×1	-	重复	意义不明	-	克氏综合征	新生儿正常
6	NIPT 提示异常	46, XN, del(18)(q23)	18q22. 3q23	6. 5Mb	缺失	致病	26	18q 缺失综合征	引产
7	NIPT 提示异常	46, XN, del(5)(p14p15)	5p15. 2p13. 3	17. 4Mb	缺失	意义不明	26	-	引产
8	NIPT 提示异常	46, XN, der(5)t(5;13)(p14;q21)	5p15. 33p14. 1, 13q21. 1q34	26. 1Mb, 58. 6Mb	缺失, 重复	致病	94, 196	猫叫综合征, 13 号染色体部分三体	引产
9	不良孕产史	46, XN, der(6)t(2;6)(p24;q25)	6q25. 3q27, 2p25. 3p24. 3	12. 4Mb, 14. 8Mb	缺失, 重复	致病	85, 70	发育迟缓、智力低下、特殊面容	引产
10	NIPT 提示异常	46, XN, der(4)del(4)(p15. 3)dup(4)(p14p15. 3)	4p16. 3p15. 32, 4p15. 32p14	16. 3Mb, 23Mb	缺失, 重复	致病	184, 78	Wolf-Hirschhorn, 部分 4p 三体综合征	引产

注:染色体数目异常有 24 例 21 三体, 12 例 18 三体, 5 例 13 三体, 11 例性染色体数目异常(4 例 47, XXX, 3 例 45, X, 2 例 47, XXY, 1 例 47, XYY, 1 例 48, XXXY)共 52 例

表 2 核型与 CMA 结果均异常不相符对比(8 例)

病例编号	产前诊断指征	核型	CMA						
			片段或结果	大小	类型	分类	基因	综合征	妊娠结局
11	高龄	47, XN, inv(9)(p11q13), +21	arr(21)×3	-	重复	致病	-	21 三体综合征	引产
12	血清学筛查高风险	47, XN, inv(9)(p11q13), +21	arr(21)×3	-	重复	致病	-	21 三体综合征	引产
13	B 超异常	47, XN, +18[94]/47, XN, ins(5;13)(q15;q12q34), +18[6]	arr(18)×3	-	重复	致病	-	18 三体综合征	引产
14	NIPT 提示异常	46, X, del(X)(p22. 2)[58]/45, X[32]	Xp22. 33p22. 2(约 40%)	16. 2Mb	缺失	致病	-	Tuner 综合征	引产
15	NIPT 提示异常	46, XN, t(1;6)(q44;q23), del(5)(q15q23. 1)	5q15q23. 1	25. 7Mb	缺失	致病	117	家庭性腺瘤性息肉病, 特殊面容, 智力低下	引产
16	不良孕产史	46, X, del(X)(p22. 31)[93]/46, del(X)(p22. 31), del(X) inv ins(X; 14)(q22;q24)[7]	Xp22. 33p22. 31	8Mb	缺失	致病	50	SHOX, ARSE, STS 3 个半剂量不足基因	引产
17	B 超异常	47, XN, +mar	22q11. 1q11. 21	1. 8Mb	重复	致病	29	猫眼综合征	引产
18	不良孕产史	46, XN, 16qh+	多条染色体多区域为纯和状态(AOH)	-	-	-	-	隐性遗传病	新生儿无异常

表3 核型结果异常 CMA 检测正常对比(除外多态 13 例,9 号倒位 12 例)

病例编号	产前诊断指征	核型(13 例)	CMA	妊娠结局
19	夫妻染色体异常	46, XN, t(7;20)(p13;p13)mat	未见异常	新生儿无异常
20	不良孕产史	46, XN, t(1;22)(q25;q13)	未见异常	新生儿无异常
21	夫妻染色体异常	46, XN, t(6;16)(q13;q12)mat	未见异常	新生儿无异常
22	夫妻染色体异常	46, XN, t(7;20)(p13;p12)mat	未见异常	新生儿无异常
23	夫妻染色体异常	46, XN, t(3;11)(p21.3;q13.3)mat	未见异常	新生儿无异常
24	夫妻染色体异常	46, XN, t(13;19)(q34;p13.1)mat	未见异常	新生儿无异常
25	夫妻染色体异常	45, XN, rob(13;14)(q10;q10)pat	未见异常	新生儿无异常
26	夫妻染色体异常	45, XN, rob(13;14)(q10;q10)pat	未见异常	新生儿无异常
27	胎儿超声异常	46, XN, t(4,19)(q23q13.3)[7]/46, XN[75]	未见异常	因超声示“胎儿复杂性心脏病”引产
28	血清学筛查高风险	46, XN, inv(6)(p21.3q25.3), ins(9;11)(p24;q25q23.3)	未见异常	新生儿无异常
29	血清学筛查高风险	47, XN, +12[10]/46, XN[90]	未见异常	新生儿无异常
30	血清学筛查高风险	47, XN, +22[8]/46, XN[28]	未见异常	后期超声示“胎儿唇腭裂”引产
31	血清学筛查高风险	46, X, inv(Y)(p11.1q11.22)	未见异常	新生儿无异常

3 讨论

染色体异常是导致出生缺陷的主要因素之一。目前尚无有效的治疗方法,一旦患儿出生将给家庭和社会带来沉重的精神和经济负担,因而通过介入性产前诊断避免此类患儿出生是优生优育的重要手段^[4]。染色体核型作为诊断染色体异常的“金标准”,CMA 技术为近年发展的新技术,应用越加广泛,两者均是目前临床上检测染色体异常的重要手段^[5]。染色体异常即染色体数目和结构异常,本研究中 CMA 在核型异常羊水标本中的染色体异常情况如下:

3.1 产前诊断指征分析 83 例异常核型的产前诊断指征中,因无创 NIPT 提示高风险及血清学筛查高风险而进行产前诊断的例数为 50 例,占比最大,为 60.2%,其次是胎儿超声异常。在异常核型中,21、13、18 三体、性染色体数目异常共 52 例,占比 62.6%(52/83)。据相关文献报导 NIPT 对 21、13、18 三体、性染色体的灵敏度达 100%,特异度达 99.7%^[6],21、18、13 三体筛查的阳性预测值可达 95%,性染色体阳性预测值可达 56.67%^[7]。在表 3 中,核型检测结果异常,但 CMA 检测正常的 13 例病例中,有 7 例产前诊断指征是夫妻染色体异常,占 53.8%(7/13),且染色体结果均为平衡易位。

3.2 染色体数目异常情况 正常人的体细胞具有 46 条染色体,染色体偏离正常数目即染色体数目异常^[8]。本研究 83 例染色体核型异常标本中,染色体非整倍体异常共 52 例,占比 62.6%(52/83),与温丹霞^[9]等报导数据基本相符。其中 24 例 21 三体,

12 例 18 三体,5 例 13 三体,11 例性染色体数目异常。核型与 CMA 检测均可检出染色体非整倍体异常,两者检测技术无明显优劣势^[10-11]。

3.3 染色体结构异常 染色体结构异常分为两类,一种是平衡结构异常,即除结构发生改变外,遗传物质未发生改变,另一种是非平衡结构异常改变,即除结构发生改变外,遗传物质也发生改变,染色体结构异常主要有倒位、易位、插入、缺失、重复等^[8]。本研究中显示核型分析能更敏感地检出平衡结构异常,如染色体倒位、平衡易位等,病例号 31 Y 倒位,病例号 19-26 平衡易位、病例号 28 复杂性结构异常均可检出,CMA 技术则无法检测^[12]。染色体非平衡易位,如病例号 8-9,核型与 CMA 技术均可检测且结果相符,但病例号 8 CMA 结果可显示缺失区域涉及猫眼综合征关键区域及 13 号染色体部分三体,病例号 9 CMA 则显示可致发育迟缓、智力低下、特殊面容等,从病例号 8-9 中可见 CMA 能更精准的作出异常定位,准确地反映定位区带、片段大小,变异类型、基因数目,及临床信息等,信息更加全面^[13],对于临床医生遗传咨询具有指导意义。

3.4 染色体缺失、重复及染色体纯合状态(ROH)

染色体缺失、重复均属于非平衡结构异常改变。本研究中核型与 CMA 检测均可检出大片段的缺失及重复,如病例号 6-10,14-16 中染色体缺失,片段最小的为 6.5Mb,病例号 8-9 中染色体重复,片段最小的为 14.8Mb,可见片段均大于 5Mb。但 CMA 对染色体拷贝数变异(copy number variations, CNVs)及纯合区域检测的敏感度更高,可检测标记染色体的来源,如病例号 17,核型结果为标记染色

体,而 CMA 可检测出标记染色体来源于 22q11.1-q11.21^[14]。ROH 本身不致病,但需排除单亲二倍体,且会增加隐性遗传病的发生风险,病例号 18 检测出 ROH,孕妇选择继续妊娠,新生儿无异常。

3.5 染色体嵌合异常 两个或两个以上的不同核型分别来自两个或两个以上的培养瓶,且每个培养瓶的异常细胞都相同,则诊断为嵌合体核型,真假嵌合诊断标准参照《胎儿染色体核型分析的判读指南》^[15]。本研究中发现 11 例嵌合,其中 4 例常染色体嵌合(病例号:1、2、29、30),4 例性染色体嵌合(病例号:3-5、14),3 例结构异常染色体嵌合(病例号:13、16、27),符合李南等报道的胎儿染色体核型 23 对染色体中以 X 性染色体嵌合最为常见,常染色体嵌合以 21 号染色体为常见^[16]。8 例真性嵌合染色体中 2 瓶羊水培养瓶中均有异常染色体分布,其中 6 例核型与 CMA 均显示染色体嵌合比例基本一致。3 例假性嵌合(病例号:13、16、27),单瓶生长,嵌合比例小于 10%,且均为染色体结构异常嵌合,由此可见假性嵌合更易出现在结构异常低比例嵌合中。CMA 检测对低于 20%的染色体嵌合难以确定,如病例号 29,核型 47,XN,+12[10]/46,XN[90],嵌合比例 10%。核型和 CMA 检测结果嵌合的比例可能相差比较大,如病例号 2 中核型嵌合比例 11%,而 CMA 检测嵌合比例约 49%,可能受羊水细胞培养时间长,培养过程中染色体选择性偏移生长的影响^[17-18]。

综上所述,染色体核型分析对染色体平衡性结构异常、倒位、嵌合及复杂核型检测更有优势,而 CMA 技术则对非平衡性结构异常,定位染色体来源、区带、片段大小,变异类型、基因数目等检测更有优势,对有产前诊断指征者,在经济条件允许的情况下,应建议行 CMA 和染色体联合检测,给临床医师遗传咨询提供更多信息指引。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] 国家卫生健康委员会临床检验中心产前筛查与诊断室间质量评价专家委员会. 染色体微阵列分析实验室技术要求专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(9): 745-751.
- [3] 刘维强, 卢建, 章钧, 等. 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域的数据分析解读及报告规范化共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(7): 701-708.
- [4] NISLI K, ONER N, CANDAN S, et al. Congenital heart disease in children with Down's syndrome: Turkish experience of 13 years[J]. Acta Cardiol, 2008, 63(5): 585-589.
- [5] 张立文. 产前实验室检测技术现状与展望[J]. 解放军医学院学报, 2019, 40(9): 805-809, 820.
- [6] 曾丹, 徐静, 江玫玫. 无创产前胎儿游离 DNA 检测的临床应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(9): 55-57.
- [7] 郑芸芸, 万陕宁, 宋婷婷, 等. 8594 例孕妇无创 DNA 产前检测在胎儿染色体非整倍体疾病筛查中的临床应用[J]. 实用妇产科杂志, 2019, 35(1): 68-71.
- [8] 张丽华. 医学遗传学基础[M]. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社有限公司, 2008.
- [9] 温丹霞, 曾南阳, 洪钦明, 等. 孕中期羊水细胞培养及染色体核型分析的应用研究[J]. 实用医技杂志, 2021, 28(2): 144-146.
- [10] 曾研章. 羊水细胞染色体核型分析结合 CMA 在孕妇产前诊断中的应用分析[J]. 中国医药科学, 2019, 9(24): 96-99.
- [11] 贾婵维, 兰永连, 司艳梅, 等. 胎儿染色体异常相关因素分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(5): 635-637.
- [12] CAIN CC, SAUL DO, OEHLER E, et al. Prenatal detection of a subtle unbalanced chromosome rearrangement by karyotyping, FISH and array comparative genomic hybridization[J]. Fetal Diagn Ther, 2008, 24(3): 286-290.
- [13] 李闪闪, 张艳芳, 谢丰华, 等. CMA 和核型分析在胎儿染色体异常诊断中的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(3): 126-129.
- [14] CHEN CP, LIN CJ, CHEN SW, et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of mosaicism for a small supernumerary marker chromosome derived from 2q11.1-q12.1 associated with fetal bilateral radial dysplasia[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2020, 59(6): 941-944.
- [15] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会, 张雪梅, 戚庆炜, 等. 胎儿染色体核型分析判读指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(5): 409-413.
- [16] 李南, 王立芝. 141 例羊水胎儿细胞嵌合体核型分析及其风险指征探索[J]. 中国计划生育和妇产科, 2021, 13(10): 90-92+96.
- [17] 高淑英, 司艳梅, 薛虹, 等. 关于产前诊断绒毛细胞和羊水细胞中嵌合现象[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007(11): 11+52.
- [18] 王勇强, 肖晓素, 邓玉奎. 不同羊水培养收获法对假性嵌合体形成的影响[J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(6): 750-752.

(收稿日期: 2022-09-17)

编辑: 杨颖俊