

无创产前基因检测联合产前超声在孕中期提示胎儿染色体异常高风险中的作用

郭苑莉¹ 罗丹丹² 陶莹^{1*}

(1 广东药科大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510080; 2 梅州市人民医院产科, 广东 梅州 514031)

【摘要】目的 探讨无创产前基因检测联合产前超声在孕中期提示胎儿染色体异常高风险中的作用。**方法** 随机纳入2020年1月至2021年1月来广东药科大学附属第一医院和梅州市人民医院进行产前筛查的高危孕中期孕妇234例,对所有孕妇进行羊水细胞染色体核型分析、无创产前基因检测、产前超声。以羊水细胞染色体核型分析结果为金标准分别将无创基因检测、产前超声、无创基因检测联合产前超声检测的结果进行对比分析,并使用受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)对这3种检查对胎儿染色体异常的筛查价值进行分析。**结果** 从检查的灵敏度、特异度、准确率看,两种检查联合明显高于产前超声,明显高于无创产前基因检测,ROC曲线分析结果也显示两种检查联合使用来筛查胎儿染色体异常的AUC、敏感度、特异度都高于产前超声,并高于无创产前基因检测,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 孕妇孕中期进行无创产前基因检测联合产前超声检查对筛查胎儿染色体异常具有较好的应用价值,临床值得推广使用。

【关键词】 染色体异常; 产前超声; 无创产前基因检测; 孕中期

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** A

The role of noninvasive prenatal genetic testing combined with prenatal ultrasound in indicating a high risk of fetal chromosomal abnormalities during the second trimester

Guo Yuanli¹, Luo Dandan², Tao Yin^{1*}

(1 The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China; 2 The People's Hospital of Meizhou, Meizhou 514031, Guangdong, China)

【Abstract】 Objective To investigate the role of noninvasive prenatal genetic testing combined with prenatal ultrasound in indicating high risk of fetal chromosome abnormalities in the second trimester. **Methods** A total of 234 high-risk pregnant women in the second trimester who underwent prenatal screening in our hospital from January 2020 to January 2021 were randomly included. Amniotic fluid cell chromosome karyotype analysis, noninvasive prenatal genetic testing and prenatal ultrasound were performed on all pregnant women. The results of noninvasive genetic testing combined with prenatal ultrasound were compared and analyzed, and thereceiver operator characteristic curve (ROC) was used to analyze the screening value of these three kinds of tests for fetal chromosome abnormalities. **Results** The sensitivity, specificity and accuracy of the two tests were significantly higher than those of prenatal ultrasound and noninvasive prenatal genetic testing. ROC analysis results also showed that the AUC, sensitivity and specificity of the combined use of the two tests in the screening of fetal chromosome abnormalities were higher than those of prenatal ultrasound and noninvasive prenatal genetic testing, and

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.04.007

* 通信作者:陶莹,Email: 3026134745@qq.com

the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Noninvasive prenatal testing combined with prenatal ultrasound in the second trimester of pregnancy has a good application value for screening fetal chromosome abnormalities and is worth promoting in clinical practice.

【Key words】 Chromosome abnormality; Prenatal ultrasound; Noninvasive prenatal testing; Second trimester

我国胎儿出生缺陷发生率约为5.6%，每年约新增90万例左右的出生缺陷胎儿^[1]。随着国民生活习惯改变，晚婚晚育政策的推行以及高龄产妇的增加我国出生缺陷的发生率呈现上升趋势^[2]，出生缺陷不仅会影响婴幼儿一生的生活及生存质量，同时出生缺陷患儿也会给社会和家庭带来长达几十年经济和精神负担，已经逐渐成为全球性的社会问题^[3]。作为出生缺陷的一种染色体异常包括染色体数目异常以及染色体结构异常，染色体异常会导致生长发育迟缓、结构畸形、智力低下，会造成严重的出生缺陷^[4-6]。大部分出生缺陷、染色体异常目前没有良好的治疗方法，预防染色体异常的发生尤为重要，产前筛查是目前国内较为重视的预防胎儿染色体异常及出生缺陷的手段之一^[7]。羊水细胞染色体核型分析虽然具有较高的灵敏度以及特异性，目前被视为产前诊断的金标准，但是该检查为有创检查，会增加羊水污染、流产、早产等的风险^[8,9]。产前超声为无创且无辐射、安全性较高且操作较为简便的检查，但是产前超声受超声医师的技术水平影响较大，同时也会受到孕妇肥胖、胎儿体位、多胎妊娠等因素的影响而造成漏诊的发生^[10,11]。无创产前基因检测(noninvasive prenatal testing, NIPT)为无创的胎儿染色体检测技术，但是价格昂贵并且其结果尚不能用于诊断只能用于筛查，需要确诊仍需羊水细胞核型分析^[12,13]。各种产前染色体异常检查技术均有其优点同时也有不足之处，为了获得较好的检测效果多种检查技术联合使用是有必要的。本研究探讨无创产前基因检测联合产前超声在孕中期提示胎儿染色体异常高风险中的作用，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 随机纳入2020年1月至2021年1月来广东药科大学附属第一医院和梅州市人民医院进行产前筛查的高危孕中期孕妇234例，孕妇产

龄21~38岁，平均年龄(26.54±5.68)岁，初产妇132例，经产妇102例，孕周13~27周，平均孕周(20.31±3.22)周，对所有孕妇进行羊水细胞染色体核型分析、无创产前基因检测、产前超声等产前检查。纳入标准：①自然受孕，单胎妊娠。②经过产前超声以及无创产前基因检测提示高风险，医生综合评估后认为需要进行羊水细胞染色体核型分析检查的孕妇。③能够主动配合检查，并且临床资料完整的孕妇。排除标准：①有流产史，死胎妊娠史者。②拒绝进行羊水细胞染色体核型分析检查者。③存在羊水细胞染色体核型分析禁忌症如凝血功能障碍等的孕妇。④有染色体异常疾病家族史的孕妇。⑤有精神疾病无法配合检查的孕妇。研究者已经对孕妇详细说明本研究所采取的检查的利弊以及所面临的风险，孕妇及家属对本研究内容有详细的了解并签署知情同意书，本研究已经获得所在医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 产前超声检查 孕周18周时使用Mindary迈瑞DC-N3S彩色多普勒超声仪进行产前超声检查，使用二维凸阵探头，探头频率为3~5MHz。进行超声检查前嘱咐孕妇排空膀胱平卧于检查床上，充分暴露腹部进行检查，进行矢状切面、颅脑横切面、胸部横切面以及腹部横切面的检查，若腹部超声观察结果不佳可以进行经阴道超声进一步检查。检查时观察以下指标：①鼻骨：是否存在鼻骨短小或缺失。②颈背部皮肤皱褶厚度：若颈背部皮肤增厚>5mm视为颈背部皮肤增厚。③侧脑室直径：10mm≤侧脑室直径≤15mm为侧脑室增宽。④下腹部肠管回声：胎儿下腹部局部或多区域是否存在肠管回声与骨骼相似或高于骨骼回声的肠管强回声。⑤心室：是否在心室内发现与骨骼回声类似的强光点或光斑。⑥脉络丛：脉络丛中是否存在圆形或椭圆形无回声区为脉络丛囊肿。⑦小指中节指骨是否骨化完全。⑧肾盂前后径：是否存在肾盂增宽，肾盂前后径是否≥4mm等。本研究由2位年资超过10年的

资深超声科医生对超声质量进行把控。

1.2.2 NIPT 孕18周时采外周静脉血10ml进行无创产前基因检测。10ml外周静脉血于4℃分离血浆,提取血浆中的DNA并使用PCR法扩增DNA,使用Illumina高通量测序仪(Illumina-Miseq)对所获得的DNA进行测序配合生物信息学分析对胎儿染色体异常的风险进行评估,当不同染色体非整体倍性的显著性(Z 值) >3.0 或 <-3.0 为高风险。

1.2.3 羊水细胞染色体核型分析 在孕20周时进行超声引导下羊膜囊穿刺术抽取20ml羊水进行染色体G显带核型分析,羊水离心取细胞沉淀置于羊水培养瓶,在37℃、5% CO₂培养箱中培养10d,收集培养好的细胞加入秋水仙素制片,Giemsa染色G显带使用全自动染色体图像分析仪显微照相进行计数和染色体G显带核型分析。

1.3 观察指标 ①羊水细胞核型分析、无创产前基因检测、产前超声结果:统计分析3种检查的结果,以羊水细胞核型分析检查的结果为金标准将NIPT、产前超声、NIPT联合产前超声的结果与羊水细胞核型分析的结果进行比对分析;②检查的诊断效能:计算NIPT、产前超声、产前超声联合NIPT的灵敏度、特异度、准确率;③绘制受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)来分析NIPT、产前超声、NIPT联合产前超声对染色体异常的筛查价值。

1.4 统计学分析 通过SPSS 25.0进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验。通过卡方检验、方差分析、线性回归等进行分析,采用ROC分析产前超声,NIPT检测和产前超声联合NIPT检测对胎儿染色体异常的筛查价值,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2. 结果

2.1 羊水细胞核型分析检查结果 234例高危的孕妇进行羊水细胞核型分析检查结果显示共有49例染色体异常,其中有28例为21三体综合征、2例13三体综合征、4例Tuener综合征、15例18三体综合征。

2.2 产前超声检查结果 234例高危的孕妇进行产前超声检查结果显示有70例患者为阳性,这70

例患者中仅有39例患者经过羊水细胞核型分析检查结果为阳性,检出率为79.59%(39/49),表1。

表1 产前超声检查结果(例)

检查项目	检查结果	羊水穿刺确诊		合计
		阳性	阴性	
超声检查	阳性	39	31	70
	阴性	10	154	164
合计		49	185	234

2.3 无创基因检测结果 234例高危的孕妇进行无创基因检测结果显示有74例患者为阳性,这74例患者中仅有35例患者经过羊水细胞核型分析检查结果为阳性,检出率为71.43%(35/49),表2。

表2 无创产前基因检测结果(例)

检查项目	检查结果	羊水穿刺确诊		合计
		阳性	阴性	
NIPT	阳性	35	39	74
	阴性	14	146	160
合计		49	185	234

2.4 产前超声联合NIPT检测结果 234例高危的孕妇进行产前超声联合NIPT结果显示有68例患者为阳性,这68例患者中仅有42例患者经过羊水细胞核型分析检查结果为阳性,检出率为85.71%(42/49),表3。

表3 产前超声联合NIPT检测结果(例)

检查项目	检查结果	羊水穿刺确诊		合计
		阳性	阴性	
产前超声联合NIPT	阳性	42	26	68
	阴性	7	159	166
合计		49	185	234

2.5 各种检查方案的诊断效能 结果显示产前超声联合NIPT的灵敏度、特异度、准确率明显高于产前超声高于NIPT,差异具有统计学意义($P < 0.05$),表4。

表4 各种检查方案的诊断效能(%)

检查方法	灵敏度	特异度	准确率
产前超声	55.71	83.24	82.48
NIPT	47.30	78.92	77.35
产前超声+NIPT	61.76	85.95	85.90

2.6 ROC曲线分析各种检查方案的价值结果 绘制ROC曲线结果显示:产前超声联合NIPT检查的AUC(area under curve,曲线下面积)、敏感度、特异度均高于产前超声,亦高于NIPT($P < 0.05$),表5、图1。

表 5 不同检查方案对胎儿染色体异常的筛查价值

检查方法	AUC	标准误差	P	95%CI		敏感度 (%)	特异度 (%)
				下限	上限		
NIPT	0.825	0.024	0.032	0.803	0.835	47.30	78.92
产前超声	0.773	0.041	0.024	0.823	0.865	55.71	83.24
产前超声+NIPT	0.859	0.027	0.015	0.853	0.916	61.76	85.95

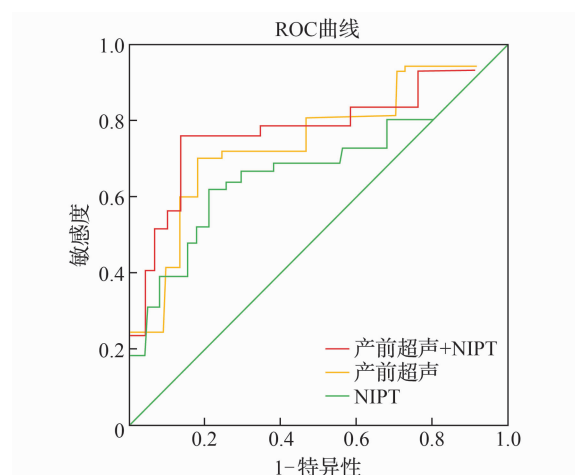


图 1 各种检查方案的 ROC 曲线

3 讨论

作为围产期胎儿死亡以及胎儿出生缺陷的重要原因以及严重的先天性疾病,染色体异常发生的与自身遗传、环境因素、母体因素等有关^[14],但是染色体异常的发生随机性较高,即使能够做好母体因素、环境因素与遗传的一级预防,染色体异常仍然有较高的发生几率^[15],并且多种染色体异常疾病目前尚无有效的治疗,三级预防难以开展,因此对染色体异常的二级预防及早期发现、早期诊断在染色体异常的预防中发挥着重要作用^[16]。目前被视为金标准的多种产前诊断方式如绒毛穿刺、羊水穿刺、脐血穿刺等为有创检查,流产、羊水栓塞、出血、感染等并发症不可避免^[17],这也限制了这些检查的使用,也造成了孕妇对进行此类检查的接受度不高^[18]。目前也出现了多种无创的产前筛查方式,如母体血清学二联、三联、四联筛查,虽然无创且操作简便、经济实惠,但是血清学筛查的灵敏度以及特异度并不能满足需求,漏诊概率仍然较高^[19];产前超声检查能够较为清晰地显示胎儿的结构异常,于孕中期进行产前超声对胎儿的结构异常显示的灵敏度和特异度都较高,并且也较为经济实惠,但是产前超声受操作者技术限制较高,如果操作者经验不足,漏诊率依然较高^[20];无创产前基因检测为无创检查并且可以实现基因水平的检测,同时假阳性率较高,但是价格高

昂,技术要求较高,并且灵敏度特异度仍然达不到产前诊断的水平^[21]。各种无创产前筛查各有利弊,但是单独的检查仍然不能满足目前对染色体异常检查的需求,因此目前仍然需要不断研究新的无创产前检查方式,同时也需要尝试不同产前筛查方式的联用方案。

本研究探讨无创产前基因检测联合产前超声在孕中期提示胎儿染色体异常高风险中的作用。本研究对 234 例患者进行羊水细胞核型分析、NIPT、产前超声检查。以羊水细胞核型分析结果为金标准,分别分析产前超声、NIPT、NIPT 联合产前超声检查的筛查价值。研究结果显示:NIPT 联合产前超声检查的诊断效能包括灵敏度、特异度、准确率都明显优于产前超声检查,优于 NIPT 检查,ROC 曲线结果也显示 NIPT 联合产前超声具有更高的 AUC、灵敏度、特异度。本研究样本量较小,并且仅以羊水细胞核型分析作为金标准,而未对孕妇进行随访确定实际情况,因此对产前超声检查、产前超声联合 NIPT、NIPT 检查的具体灵敏度、特异度、准确率的确切数值仍需进一步扩大样本量进行研究。

综上所述,无创产前基因检测联合产前超声检查对孕中期高风险孕妇的染色体异常具有更好的筛查灵敏度、特异度、准确率,具备更好的筛查价值,值得临床推广使用。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部,中国出生缺陷防治报告(2012)[R] 北京:中华人民共和国卫生部,2012:2-5.
- [2] VANSTONE M, CERNAT A, NISKER J, et al. Women's perspectives on the ethical implications of non-invasive prenatal testing: a qualitative analysis to inform health policy decisions [J]. BMC Medical Ethics, 2018, 19(1): 27.
- [3] 简笑萍,丁丁. 超声检查联合无创产前基因检测在孕 11~13+6 周胎儿染色体异常筛查中应用价值分析[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(8): 928-929.
- [4] 林琪, 林琳华, 郭辉, 等. 产前超声及无创基因筛查诊断胎儿性染色体异常[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(10): 1536-1540.

(下转 51 页)

quantitative study of fetal posterior fossa during the first trimester in a Chinese population[J]. BMC Pregnancy and Childbirth, 2022, 22(1): 1-9.

[38] ZHU X, ZHAO S, YANG X, et al. First-Trimester Cranial Ultrasound Markers of Open Spina Bifida[J]. Journal of Ultrasound in Medicine, 2021, 40(6): 1155-1162.

[39] MANGIONE R, DHOMBRES F, LELONG N, et al. Screening for fetal spina bifida at the 11~13-week scan using three anatomical features of the posterior brain [J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, 2013, 42(4): 416-420.

[40] ERIC OZDEMIR M, DEMIRCI O, AYWACI TASAN H, et al. The importance of first trimester screening of cranial posterior fossa in predicting posterior fossa malformations which may be identified in the following weeks of gestation

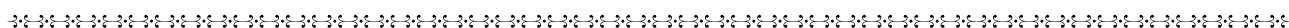
[J]. Journal of Clinical Ultrasound, 2021, 49(9): 958-962.

[41] ENGELS A C, JOYEUX L, BRANTNER C, et al. Sonographic detection of central nervous system defects in the first trimester of pregnancy[J]. Prenatal diagnosis, 2016, 36(3): 266-273.

[42] SCHEIER M, LACHMANN R, PÉTROŚ M, et al. Three-dimensional sonography of the posterior fossa in fetuses with open spina bifida at 11~13 weeks' gestation[J]. Ultrasound in obstetrics & gynecology, 2011, 38(6): 625-629.

(收稿日期:2022-09-12)

编辑:刘邓浩



(上接第 35 页)

[5] ZHU Y, LU S, BIAN X, et al. A multicenter study of fetal chromosomal abnormalities in Chinese women of advanced maternal age[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2016, 55(3): 379-384.

[6] SALDARRIAGA W, GARCIA-PERDOMO HA, ARANGOPINED A J, et al. Karyotype versus genomic hybridization for the prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities; a metaanalysis[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 212(3): 330 e1-10.

[7] 代鹏, 赵干业, 时盼来, 等. 超声诊断联合扩展性无创产前检测在孕期胎儿染色体疾病筛查中的应用 [J]. 实用医学杂志, 2020, 36(14): 1983-1987.

[8] WILSON RD. Committee Opinion Summary No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy [J]. Obstet. Gynecol, 2015, 126(3): 691-692.

[9] WILLIAMS J, RAD S, BEAUCHAMP S, et al. Utilization of noninvasive prenatal testing: impact on referrals for diagnostic testing[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 213(1): 102. e1-e6.

[10] CHETTY S, GARABEDIAN MJ, NORTON ME. Uptake of noninvasive prenatal testing (NIPT) in women following positive aneuploidy screening[J]. Prenatal Diagn, 2013, 33(6): 542-546.

[11] CHENG Y, LEUNG WC, LEUNG TY, et al. Women's preference for non-invasive prenatal DNA testing versus chromosomal microarray after screening for Down syndrome: a prospective study[J]. BJOG, 2018, 125(4): 451-459.

[12] AKOLEKAR R, BETA J, PICCIARELLI G, et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015, 45(1): 16-26.

[13] WULFF CB, GERDS TA, RODE L, et al. Danish Fetal Medicine Study, G. , Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147,987 singleton pregnancies [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2016, 47(1): 38-44.

[14] MA ML, ZHANG H, JIANG P, et al. Topologic Analysis of Plasma Mitochondrial DNA Reveals the Coexistence of Both Linear and Circular Molecules [J]. Clin Chem. 2019, 65(9): 1161-1170.

[15] SIN STK, JIANG P, DENG J, et al. Identification and characterization of extrachromosomal circular DNA in maternal plasma [J]. Proc Natl Acad Sci USA. 2020, 117(3): 1658-1665.

[16] 周颖, 王振宇, 毛倩倩, 等. 无创产前检测技术在胎儿染色体非整倍体筛查中的应用价值 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2019(11): 1094-1096.

[17] PREFUMO F, PAOLINI D, SPERANZA G, et al. The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis [J]. PLoS ONE. 2019, 14(6): e0218166.

[18] 刘慧, 方慧琴, 陈薇, 等. 羊水穿刺在产前筛查无创高风险病例中染色体异常的产前诊断价值 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10): 1311-1314.

[19] LIANG D, CRAM DS, TAN H, et al. Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes [J]. Genet Med, 2019, 21(9): 1998-2006.

[20] NEOFYTOU M. Predicting fetoplacental mosaicism during cf DNA-based NIPT [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2020, 32(2): 152-158.

[21] HU P, LIANG D, CHEN Y, et al. An enrichment method to increase cell-free fetal DNA fraction and significantly reduce false negatives and test failures for non-invasive prenatal screening: a feasibility study [J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 124.

(收稿日期:2022-02-23)

编辑:宋文颖