

无创产前基因检测阳性病例分析

王侠 翟敬芳* 沙静 徐早春

(东南大学附属徐州医院、徐州市中心医院 产前诊断中心,江苏 徐州 221009)

【摘要】 目的 探讨无创产前基因检测阳性病例的临床规范化处理。**方法** 收集2016年1月至2017年8月在徐州市中心医院进行无创产前诊断的24例阳性病例孕妇为研究对象,进一步行羊水或脐血穿刺以确诊,所有病例均进行电话随访。**结果** 无创DNA产前检测异常者24例:9例提示胎儿21-三体高风险,4例提示18-三体高风险,1例提示7号染色体三体可能,1例7号染色体重复51Mb,1例提示15-三体高风险,1例提示16号染色体异常?,6例性染色体异常(2例提示45,XO,2例提示47,XYY,1例提示47,XXX,1例胎儿性别待查),1例18染色单体或部分缺失,同时怀疑性染色体及多条染色体异常。24例中1例放弃产前诊断直接引产,18例行羊水穿刺,5例行脐静脉穿刺。确诊胎儿染色体异常疾病者12例,其中8例21-三体,2例18-三体,2例47,XYY,余11例无创DNA异常孕妇羊水/脐血穿刺结果正常,10例引产,13例(包括2例47,XYY)继续妊娠,跟踪随访13例新生儿结局良好。无创产前检测对21和18-三体的符合率达88.89%和50%。对于性染色体异常的筛查,47,XYY的符合率为100%,但对45,X和47,XXX的符合率为0。**结论** 无创产前基因测序技术对染色体的非整倍体检测有较高的敏感性和特异性,对21-三体和18-三体检出率较高,但仍存在一定的假阳性,无创DNA测序发现异常的孕妇,仍需进行介入性产前诊断确诊,避免无辜胎儿受到伤害。

【关键词】 无创产前基因检测; 胎儿游离DNA; 产前诊断; 妊娠结局

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To explore the clinical standard management of positive cases tested by noninvasive prenatal gene detection. **Method** 24 pregnant women with noninvasive prenatal diagnosis in Xuzhou Central Hospital from January 2016 to August 2017 were collected as research objects, and then amniotic fluid or umbilical cord blood puncture was further performed to confirm the previous diagnosis. Pregnancy outcomes of all cases were followed up by telephone. **Results** 24 cases of noninvasive DNA were abnormal: 9 cases suggesting the high risk of trisomy 21, 4 cases presenting the high risk of trisomy 18, 1 case suggesting the possibility of trisomy 7, 1 case with a repetition of 51Mb of chromosome 7, 1 case showing the high risk of trisomy 15, and 1 case indicating a possible abnormality of chromosome 16, 6 cases of sex chromosome abnormality (the karyotypes were 45,XO of 2 cases, 47,XYY of 2 cases, 47,XXX of 1 case, and fetal sex to be checked of 1 case), 1 case referring to 18 chromatid or partial deletion, and simultaneously suspecting sex chromosome abnormality and multiple chromosome abnormality. Among the 24 pregnant women, 1 case gave up the interventional prenatal diagnosis and took the induction of labour directly, 18 patients accepted amniotic fluid puncture while 5 underwent accepted umbilical vein puncture. 12 cases of fetal chromosomal abnormalities were definitely diagnosed, including 8 cases of 21-trisomy, 2 cases of 18-trisomy, 2 cases of 47 XYY, and the remaining 11 cases of non-invasive DNA abnormalities showed normal results of amniotic fluid/umbilical cord blood puncture. 10 cases took the induction of labour, 13

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2019.02.012

基金项目:江苏省医学重点人才基金项目(RC2011047);徐州市科技局重点研发计划(社会发展)课题(KC18182)

* 通讯作者:翟敬芳,E-mail:zjf730801@126.com

cases (including 2 cases of 47 XYY) continued pregnancy, and 13 cases of neonatal follow-up showed good results. Noninvasive prenatal testing for 21 and 18- trisomy had a coincidence rate of 88.89% and 50%. For the screening of sex chromosome abnormality, the coincidence rate of 47, XYY is 100%, however, the coincidence rate of 45,X and 47 and XXX is 0. **Conclusions** Noninvasive prenatal gene detection has a high sensitivity and specificity for chromosome aneuploidy detection, and the detection rate of 21-trisomy and 18-trisomy is high, while there is still some false positive, when noninvasive DNA sequencing found abnormal pregnant women, we still need to carry out interventional prenatal diagnosis to avoid innocent fetal injury.

【Key words】 noninvasive prenatal gene detection; fetal free DNA; prenatal diagnosis; pregnancy outcomes

无创产前基因检测(noninvasive prenatal testing, NIPT)是指利用母体血中胎儿游离 DNA,采用新一代高通量测序技术,结合生物学信息分析,得出胎儿染色体非整倍体的风险率,因具有无创、快速、相对高准确性的优点,倍受高危孕妇及临床医师的青睐,但它同时又存在一定的假阳性和假阴性率,需要进一步的检查,如羊水或脐静脉穿刺及系统彩超等确诊。本文就徐州市中心医院 2016 年 1 月至 2017 年 8 月在本院进行无创产前诊断的 24 例阳性病例孕妇为研究对象,进行产前诊断及跟踪其妊娠结局,以探讨无创产前基因检测阳性病例的临床规范化处理。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集 2016 年 1 月至 2017 年 8 月本院 NIPT 的单胎孕妇 2638 例,对 24 例阳性病例孕妇进行产前诊断及并对妊娠结局进行统计分析。所有的孕妇在做任何检查前均充分知情告知并签署知情同意书。本研究已经过医院医学伦理委员会批准。

1.2 无创产前基因检测 对自愿行 NIPT 检查的孕妇,在孕 13~25 周内抽取 10ml 外周血 EDTA 抗凝,进行分离血浆、抽提 DNA、制备测序文库,采用 Proton 进行测序,将每个样本测序的序列与人类参考基因组进行比对,得出每个样本的 Z-score 值(Z-score 值的正常参考值为-3.0~3.0),最终得出胎儿患染色体非整倍性疾病风险。

1.3 介入性产前诊断 对检测高风险的孕妇,第一时间通知孕妇本人来产前诊断门诊进行充分告知及

遗传咨询,知情同意后进行羊水穿刺或脐血穿刺,经细胞培养后行 G 显带染色体核型分析。2 周左右告知其核型结果及进一步处理方案。

1.4 统计学分析 所有数据均使用 Epidata 3.0 录入,采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,计数资料用数值(率)表示。

2 结果

2.1 2638 例无创 DNA 产前检测结果 2638 例行无创 DNA 的孕妇共检测出 24 例异常者:9 例提示胎儿 21-三体高风险,4 例提示 18-三体高风险,1 例提示 7 号染色体三体可能,1 例 7 号染色体重复 51Mb,1 例提示 15-三体高风险,1 例提示 16 号染色体异常,6 例性染色体异常(2 例提示 45,XO,2 例提示 47,XXY,1 例提示 47,XXX,1 例胎儿性别待查),1 例 18 染色单体或部分缺失,同时怀疑性染色体及多条染色体异常。

2.2 后期诊断随访 2638 例孕妇共检测出 17 例异常者,9 例提示胎儿 21-三体高风险有 8 例经羊水/脐血穿刺确诊为 47,XN,+21。4 例提示胎儿 18-三体高风险有 2 例经羊水/脐血穿刺确诊为 47,XN,+18。1 例提示 7 号染色体三体可能,1 例 7 号染色体重复 51Mb,1 例提示 15-三体高风险,1 例提示 16 号染色体异常者经羊水/脐血穿刺确诊为 46,XN。6 例性染色体异常,其中 2 例 47XYY 经羊水/脐血穿刺染色体核型分析均为 47,XYY。其余 4 例性染色体异常(2 例提示 45,XO;1 例提示 47XXX,1 例胎儿性别待查)经羊水/脐血穿刺染色体核型分析为 46,XN。

表1 2638例无创DNA产前检测结果与产前诊断结果比较

无创提示异常	例数 (例)	羊水/脐血 染色体核型	确诊例数 (例)	符合率 (%)
21-三体综合征	9	47,XN,+21	8	88.89
18-三体综合征	4	46,XN,+18	2	50.00
7号-三体	1	46,XN	0	0
7号染色体重复 51Mb	1	46,XN	0	0
15-三体	1	46,XN	0	0
16号染色体异常	1	46,XN	0	0
多条染色体异常	1	/	/	/
47,XYY	2	47,XYY	2	100
45,X	2	46,XN	0	0
性别待查	1	46,XN	0	0
47,XXX	1	46,XN	0	0

3 讨论

21-三体、18-三体是临床最常见的胎儿染色体疾病,其发生率占所有足月妊娠的0.2%~0.3%,也是当前我国预防和控制出生缺陷儿的主要目标。临床尚无染色体相关先天畸形根治方案,唯一的有效干预措施就是产前筛查及诊断。传统的产前筛查是通过产前血清学筛查和超声筛查来完成,其准确率约为70%~80%^[1],但假阳性率偏高,约为7.5%,高龄产妇的假阳性率高达20%^[2,3]。偏高的假阳性率带来了不必要的侵入性的产前诊断,使得孕妇流产率及宫内感染等并发症的风险大大增加,并且给孕妇家庭的经济和心理也带来巨大的负担。自20世纪末,在孕妇外周血中发现了胎儿游离DNA片段,这就为无创产前检测对胎儿先天畸形的筛查提供了大大的可能^[4,5]。有研究证实,孕妇自怀孕开始,外周血中就存在大量的胎儿游离DNA片段,并以75~205bp的小片段形式长期稳定存在,占孕妇外周血浆中所有DNA片段的5%~30%,且比例随孕周增加而逐渐升高^[6]。胎儿无创DNA检测是一种筛查准确性更高、方法更简单、风险更小的产前筛查和产前诊断技术。

传统侵入性产前诊断手段较为准确,包括羊水穿刺、脐带血穿刺、绒毛膜穿刺技术,即抽取高危孕妇的羊水、脐带血、绒毛膜,提取胎儿细胞,进行培

养、收获、提取核型及分析等,从而获取胎儿染色体核型结果。因其对孕妇有创伤,会有一定的流产率,因此也称有创性产前诊断技术。并且从早期发现高危因素至穿刺、核型结果出来等待时间长,会给孕妇及家庭带来巨大的精神负担。经济费用高、羊水中胎儿细胞少、羊水培养及收获受环境温度气候等条件的影响、穿刺无菌环境、实验员操作手法的主观性、羊水及脐血穿刺手术的各种风险如出血感染流产等都是侵入性产前诊断的缺点。而无创DNA作为新兴的一种胎儿非整倍体筛查方法,是高通量测序在临床应用最成熟的技术。具有无创、快捷、经济等优点,并且孕妇外周血中大量的胎儿游离DNA也保证了无创DNA的检测的精准度^[4]。在前期大量的临床实验的基础上,无创DNA产前诊断技术成为产前筛查和产前诊断的新模式,克服了传统产前诊断技术在取材及检测时间等方面的缺陷和限制,慢慢被大量临床接受,并取得较佳的效果^[7-9]。

在本研究的2638例样本中,结果异常者24例,占0.91%,后经羊水穿刺或脐血穿刺后确诊12例,异常染色体检出率为0.45%,低于报道染色体异常检出率2.14%^[10]。无创DNA提示21-三体综合征阳性9例,经本院羊水或脐血穿刺染色体核型分析,8例为47,XN,+21;1例为46,XN,符合率为88.89%。无创DNA提示18-三体综合征阳性4例,经本院羊水或脐血穿刺染色体核型分析2例均为47,XN,+18,符合率为100%。无创提示1例7号三体,1例7号染色体重复51Mb,1例15-三体,1例16号染色体异常,经羊水或脐血穿刺染色体核型分析均为46,XN,符合率为0。无创提示6例性染色体异常,其中2例提示47,XYY者经羊水或脐血穿刺染色体核型分析均为47,XYY,符合率为100%。2例提示45,XO,1例提示47,XXY,1例提示47,XXX者经羊水或脐血穿刺染色体核型分析均为46,XN,符合率为0。1例提示18染色单体或部分缺失,同时怀疑性染色体及多条染色体异常,拒绝产前诊断,直接引产。根据本临床数据,可以得知无创DNA检测技术对于21-三体、18-三体、部分性染色体异常检出率较高,可作为传统产前诊断的一种辅助手段^[8]。但其对其他染色体的异常检出的准确度

并不高。并且无创 DNA 检测仅针对 21-、18-、13-三体综合征及性染色体数目异常进行筛查,无法准确检测缺失、易位、倒位等染色体结构异常疾病,且对于三体疾病中存在的部分嵌合体,深度测序仍存在难度^[11]。本研究中,无创 DNA 对性染色体异常 45,XO、47,XXY、45,XXX 检出率为 0,而对 47,XYY 检出率为 100%,目前未见到国内外有关无创对 47XYY 检出率均为 100%的相关报道,其具体机制还待考究,不排除样本量少原因。

综上,无创 DNA 产前检测技术在胎儿 21、18 染色体非整倍体检测中与胎儿染色体核型分析有较高的符合率,且与传统的染色体核型比较具有快速、无创、低风险等优点,但在检测其他胎儿非整倍体染色体异常方面还需进步积累相关数据以提高其符合率。目前可定位于一近似于诊断的产前筛查,不能替代传统的染色体核型分析。

参 考 文 献

[1] 严晓玲,段涛,王天飞. 孕中期唐氏综合征血清学筛查的经济效益评价[J]. 上海医学, 2010, 33(3):254-256.

[2] 罗颖,鲁婷,陶靖,等. 母血游离胎儿 DNA 检测在染色体非整倍体无创产前诊断的应用[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(7):1481-1483.

[3] 郑琳,吴忠琴. 无创 DNA 检测在产前诊断胎儿染色体非整倍体疾病中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016(4):42-

43.

[4] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. [J]. Lancet, 1997, 350(9076):485.

[5] 汤冬玲,周新,李霞,等. 母体血循环中胎儿游离 DNA 的检测[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12):1120-1122.

[6] 蒋宇林,朱宇宁,吕时铭,等. 2012 年产前分子诊断新技术专家座谈会纪要[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(11):804-807.

[7] Wright D, Bradbury I, Malone F, et al. Cross-trimester repeated measures testing for Down's syndrome screening: an assessment[J]. Health Technol Assess, 2010, 14(33):1-80.

[8] 侯巧芳,吴东,楚艳,等. 孕妇外周血中游离胎儿 DNA 检测在无创产前诊断中的临床应用[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(11):813-817.

[9] Chiu RW, Lo YM. Noninvasive prenatal diagnosis empowered by high-throughput sequencing. [J]. Prenat Diagn, 2012, 32(4):401.

[10] 柳爱华,宋奉侠,郝明革,等. 母血清筛查 21-三体、18-三体高风险病例的产前诊断[J/CD]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2012, 4(2):8-10.

[11] 王兰玲,陶华娟,王执勇,等. 346 例孕妇无创 DNA 产前检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014(6):62-63.

(收稿日期:2019-02-14)

编辑:宋文颖