

# 产前筛查与产前诊断检测技术研究进展

柯柳华 张红雨 付莹莹 梁卡

(柳州市中医医院 检验科, 广西 柳州 545001)

**【摘要】** 出生缺陷在我国已逐渐成为婴儿死亡和儿童致残的主要原因,在产检中大规模地进行产前筛查,对高危孕妇进行产前诊断,早发现和及时终止妊娠是有效防范缺陷儿出生的主要方法。近年来,各项产前检测技术发展迅速,尤其分子生物学检测技术风起云涌,如何在众多的产前检测技术中寻找安全有效的防范措施显得尤为重要。该研究就超声检查技术、血清学筛查技术、染色体核型分析技术、分子遗传学技术在产前筛查和产前诊断中的进展做一综述。

**【关键词】** 产前筛查;产前诊断;检测技术

**【中图分类号】** R715.5 **【文献标识码】** A

我国是出生缺陷高发国家,尤其是二孩政策颁布与实施后,高龄孕、产妇比例明显增高,缺陷儿出生发生率也明显增高。由于对优生优育观念的重视,进行产前诊断的孕妇有逐年上升趋势,寻找快速、准确、有效的检测技术显得尤为重要。目前,对胎儿筛查的方式有影像学检查、血清标记物检测、无创基因检测,此类方法检测率低,假阳性率高;产前诊断主要依靠侵入性检查,对胎儿染色体进行核型分析,此类方法检测率高,是产前检测的“金标准”,但因是介入性的取材手术,伴有胎儿流产率、宫内感染、胎儿损伤等风险,给孕妇及家属带来极大的心理负担,且不能诊断胎儿染色体微小结构的改变。因此,在产检中,如何很好地运用各项检测技术,提高患儿检出率,切实降低缺陷儿出生,该研究就产前筛查与产前诊断的各项检测技术的优劣及局限性分别做一探讨,以针对孕期胎儿不同情况选择合适有效的检测方法。

## 1 产前超声结构筛查技术

产前超声结构筛查技术是应用超声的物理特性,对孕妇和胎儿进行影像学检查,其主要包括 B 超检查、胎儿磁共振检查等。

### 1.1 B 超检查 B 超检查是产科中应用最广泛的

检查手段,它主要应用于:①可以直观监测胎儿生长发育情况及观察胎儿有无形态的异常,如胎儿神经管发育缺陷、头颅异常、内脏畸形等;②确认孕周,结合血清学筛查标志物,通过风险计算软件计算胎儿罹患唐氏综合征(DS)的风险;③用于介导绒毛膜取样、羊膜腔穿刺术、脐带穿刺术;④检测胎儿的颈项透明层(NT)和颈部皱褶(NF),NT 和 NF 是目前超声筛查唐氏综合征最常用也是最有效的指标<sup>[1]</sup>。NT 的检测多在孕早期(孕 10~14 周),当胎儿颈部透明层厚度大于 3mm 时,就考虑 DS 高危妊娠。此法在孕早期对于 DS 的检出率约为 84%。而 NF 主要用于孕中期(孕 16~24 周)的筛查,当孕 16~18 周,胎儿 NF 厚度大于或等于 5mm,孕 19~24 周,胎儿 NF 厚度大于或等于 6mm 时,考虑为 DS 高危妊娠。因此,超声作为一种无创检查方式,在产前筛查中一直扮演重要的角色<sup>[2]</sup>。但单以影像学作为诊断依据具有明显局限性<sup>[3]</sup>,如在孕晚期难以穿越胎儿颅骨,肥胖、子宫肌瘤、羊水过少、多胎等情况对胎儿显示效果下降等。

1.2 胎儿磁共振检查 磁共振检查具有无电离辐射、分辨率高、不受胎儿骨骼及羊水量影响的特点,对孕晚期胎头入盆、羊水过少、双胎、过于肥胖孕妇显示效果不受影响,且视野大,可显示胎儿全貌,在胎儿疾病诊断中可用于中枢神经系统、颈胸部、腹部及盆腔等多种病变部位的诊断,尤其在中枢神经系

统疾病诊断方面有很高的准确性,在其他部位图像有良好的直观性和分辨率,已成为胎儿超声的补充手段,其不足之处是检查时间较长、费用较贵,对胎儿心脏和四肢的诊断效果目前略差。

## 2 血清学筛查

血清学筛查是指通过检测孕妇血中的相关蛋白和激素水平,结合孕妇年龄、体重、孕周、病史等,通过软件技术,从中发现某些怀疑有先天畸形和遗传性疾病胎儿的高风险孕妇,进一步明确诊断,防止畸形胎儿的出生。筛查的项目主要有妊娠相关蛋白 A (PAPP-A)、绒毛膜促性腺激素( $\beta$ -HCG)、甲胎蛋白(AFP)、游离雌三醇(uE3)和抑制素 A(Inh-A)等。

2.1 血清学筛查按照检测的时间分为孕早期筛查、孕中期和序贯筛查,由于采用单个的血清标志物用于筛查,检出率不理想,因此在筛查中应用较多的是多指标的联合筛查方案。我国筛查方案主要有孕早期、孕中期的二联或三联血清学检测<sup>[4]</sup>。早期筛查的方法是 PAPP-A、 $\beta$ -HCG 和 NT 值三联筛查。中期筛查方案有二联法: $\beta$ -HCG 和 AFP;三联法: $\beta$ -HCG、AFP 和 uE3。何小红等<sup>[5]</sup>使用三联血清生化指标联合胎儿超声对 2010 例孕妇进行产前筛查,结果表明该类方法操作方便快捷,可以降低误诊率和漏诊率,同时提高胎儿非整倍染色体异常检出率和新生儿的出生质量,吴清明等<sup>[6]</sup>亦证实联合筛查相对简单、无创、有效,是一种值得临床推广的产前筛查模式。另外,超声结构与血清生化指标联合进行筛查,是产前筛查的发展趋势<sup>[7]</sup>,可提高染色体异常患儿的检出率,有研究<sup>[8-10]</sup>指出,如果仅用 B 超进行筛查,21-三体综合征的检出率为 60%~79%,但是如果 B 超联合生化指标,其检出率可达 90%,因而血清学检查联合使用 B 超检测,可以提高染色体异常患儿的检出率,减少不必要的穿刺手术。

2.2 血清学筛查标志物的检测方法有时间分辨、化学发光、酶免疫法和放射免疫法等酶免疫法用呈色的深浅来反映浓度的变化,其检测范围比较窄,结果不稳定,尤其对于高浓度的标本,因超出线性,容易报告错误的阴性结果,导致对患者病情的延误。放射免疫法也因结果变异较大,现大多采用时间分辨

荧光免疫法和化学发光法。时间分辨荧光法为国际上最为认可的检测方法,其采用稀土离子来标记抗原或抗体,具有灵敏度高、制备标志物简便、有效期长、无放射性污染等优点。化学发光微粒子免疫分析法是以吖啶酯作为标记发光剂,特异性强、灵敏度高、重复性好、无放射性危害等特点。徐清芳等<sup>[11]</sup>用 PerkinElmer 公司时间分辨免疫荧光测定系统及安图生物化学发光测定系统对 643 例孕中期孕妇血清中的 AFP 与 Free $\beta$ -HCG 进行二联筛查,结果显示两检测系统在 AFP 与 Free $\beta$ -HCG 测定结果上相关系数 R 分别达到 0.9797、0.989,在神经管缺陷的判断方面符合率为 99.8%,证实时间分辨荧光免疫法与化学发光法在二联筛查检测上有良好的相关性。唐坤强<sup>[12]</sup>在中孕期非整倍体染色体异常血清学筛查不同方案比较中分别采用化学发光法和时间分辨荧光免疫法对 513 例孕妇血清进行二联、三联筛查,结果显示二联筛查中两检测方法差异无统计学意义( $P>0.05$ ),三联筛查中两检测方法差异有统计学意义( $P<0.05$ ),证实三联筛查方案高于二联,时间荧光分辨法三联筛查优于化学发光法。

## 3 染色体核型分析技术

染色体核型分析技术始于 20 世纪 60 年代末,Caspersson 等发现植物染色体用荧光染料氮芥噻吡因染色时,染色体的不同区域显示强弱不等荧光,随后此技术应用于人类染色体,揭示了人类各条染色体独特的荧光带型。该技术是通过超声引导对孕期妇女进行绒毛膜(孕 10~14 周)、羊膜腔(孕 16~23 周)和脐静脉(孕 23 周至分娩)进行穿刺取样,通过细胞培养、制片和显带技术,观察体细胞有丝分裂中期染色体数目和结构的异常,能很好地检测出整组染色体异常或大范围的染色体变异<sup>[13]</sup>。染色体核型分析技术虽然是诊断染色体病的金标准,但也存在以下缺陷:①检测周期长,羊水及绒毛细胞培养存在细胞量少,分裂相少、易污染等问题;②对核型分析人员要求高,需要一定的技术和经验累积;③对于 5MB 以下染色体结构异常的改变难以辨认;④在穿刺过程中易导致胎儿流产和宫内感染(穿刺过程中可能把细菌带入羊膜囊)。李玉<sup>[14]</sup>对 3277 例

行羊水染色体产前诊断的孕中期孕妇进行追踪,发现穿刺术后1个月内流产的有9例,流产率0.27%,证实有创穿刺有风险性。

## 4 分子遗传学

4.1 定量荧光聚合酶链式反应(QF-PCR) QF-PCR是将PCR应用在荧光能量的传递技术中,定量检测模板,检测反应管中多于50个基因的RNA和DNA序列的拷贝数,该技术只需采集0.5~3ml羊水即可进行产前诊断,能区分出双卵与单卵双胞胎,在诊断染色体非整倍体时很少出现假阴性和假阳性结果。陈雁等<sup>[15]</sup>用染色体核型分析及QF-PCR法两种检测技术对731例孕妇羊水进行分析,结果表明两者检测方法阳性一致率达93.75%,阴性一致率达100%,非嵌合体染色体数目异常检出率达100%,可作为染色体核型分析的补充,优化诊断体系,但对于嵌合体尤其是比例低于30%嵌合体不适用,且不能对全基因组进行诊断。

4.2 荧光原位杂交(FISH)技术 荧光原位杂交(FISH)技术是在20世纪80年代末发展起来的一种非放射性分子细胞遗传技术,以其快速、准确、灵敏度高、特异性强的特点,实现了快速诊断染色体异常的可能,24小时内即可得出诊断结果,并在一定程度上避免染色体培养失败的缺陷,该检测方法是综合了细胞遗传学、分子生物学和免疫学技术的一项新技术,主要是应用荧光染料标记探针DNA,变性成单链后与变性后的染色体或细胞核靶DNA杂交,形成可检测的杂交双链核酸,无需细胞培养,在细胞间期和中期均可检测。但该检测技术只能对21-三体、18-三体、13-三体非整倍体疾病及X染色体、Y染色体检测,不能发现染色体倒位复制等情况,不能准确判断染色体嵌合体,无法替代染色体核型分析技术<sup>[16]</sup>。

4.3 无创产前DNA检测技术(NIPT) 1997年,卢煜明等<sup>[17]</sup>发现孕妇血浆中有胎儿释放的DNA,其含量占母亲血浆DNA的10%~15%之高,这项检测技术开启了产前检测新思路的技术。在国内进行的临床一期、二期NIPT试验显示,对于21-三体、18-三体、13-三体三大染色体非整倍体疾病的检测

准确率达99%以上,远高于血清学筛查,且假阳性率、假阴性率均更低。NIPT在检测非整倍体方面具有较高的准确性,但仍只是一项高精度的筛查试验,具有一定的漏诊率与误诊率,母亲体重、孕周、多胎、嵌合体均可影响NIPT的准确性。在微缺失/微重复应用NIPT检测的可行性方面,郭可欣等<sup>[18]</sup>证实需较高的胎儿DNA浓度和更高的测序深度,当胎儿游离DNA浓度<5%时<sup>[19]</sup>,提高测序深度也无法提高检测敏感性,但提高测序深度会提高成本及加大假阳性率,从经济学角度考虑不适宜大范围的临床推广。

4.4 基因芯片技术 基因芯片技术根据探针设计原理的不同分为微阵列比较基因组杂交技术(array-CGH)和多态性基因芯片技术(SNP-array),具有分辨率高的特点,但基因芯片制作难度大、成本高,且只能检测出已知的异常。

### 4.4.1 微阵列比较基因组杂交技术(array-CGH)

Array-CGH作为新兴的分子技术,具有精准、快速的优点,该技术是通过在一微小的基片表面固定大量的基因探针,待检测样品标记后与已固定的核苷酸序列进行杂交,根据检测信号的有无和强弱,确定样品中该基因或核苷酸序列的含量。它可检测到染色体的微重复和微缺失,还能提供人类全基因组亚显微水平的信息(拷贝数变异),是诊断胎儿染色体微缺失/微重复综合征的有效方法,因此又称为“分子核型分析”,与传统的染色体核型分析相比,其显著的优点是无需培养、所需样本量少、分辨率高、报告周期短等,不足之处是不能检出平衡倒位、平衡易位或低比例嵌合的病例。

### 4.4.2 多态性基因芯片技术(SNP-array)

SNP-array主要用于基因分型及全基因组的关联分型,其采用DNA线性扩增法将微量基因组DNA扩增,再将DNA单链与探针条件性互补杂交,并采用单碱基延伸、荧光抗体与标记的掺入碱基特异性识别结合,检测全基因组范围内约30万个SNP位点的基因型和基因剂量,由此判断可能存在的染色体剂量变化。其优点是可以对全基因组进行高分辨率扫描,最高检测分辨率可达到10K,远高于临床现用的G显带法(>5Mb),可以实现染色体微缺失/微重复

的检测,并可以对标记染色体、衍生染色体等存在未明染色体片段的遗传物质进行精确的定位和定量,有助于临床诊断,是一种功能强大的遗传学检测技术。

## 5 结语

细胞遗传学技术能诊断细胞整组染色体的数目异常和染色体结构改变,为核型分析的金标准,受显带分辨率的限制,只能观察到长度 $>10\text{Mb}$ 的结构变异。FISH技术只能定向对21、18、13号常染色体和X、Y性染色体异常进行检测。NIPT目前亦是对21、18、13号染色体的检测,有较最高的检出率和最低的假阳性率,从孕10周即可进行检测,直至孕22周,而其他筛查检测只能在怀孕期间特定一小段窗口期内进行,另外,NIPT不能筛查开放性神经管缺陷等胎儿发育异常,需辅助B超检查。基因芯片技术相对于其他检测技术则显示了较大的优势,不仅可以对全基因组进行高分辨率的扫描,还可以检测到微缺失、微重复。综上所述,产前筛查和产前诊断各项检测技术各有优劣,血清学产前筛查高危孕妇需在遗传学咨询医生的指导下,根据自身情况进行进一步的产前诊断检查,切实降低缺陷儿的出生,提高我国人口质量。

## 参 考 文 献

- [1] Wald NJ, Bestwick JP, Huttly WJ. Effect of interrupting prenatal Down syndrome screening due to a large nuchal translucency[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(7): 655-661.
- [2] 石晓梅, 方群, 陈宝江, 等. 超声软指标在筛查胎儿21三体综合征中的应用[J]. *中华妇产科杂志*, 2013, 48(2): 81-85.
- [3] 邱艳杰, 张辉. 超声联合血清学检测在孕早中期序贯筛查21三体综合征的意义[J]. *中国继续医学教育*, 2017, 02: 92-94.
- [4] 尹向东, 陈新黔, 廖琳, 等. 21三体综合征产前筛查新进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2003, 24(6): 349-350.
- [5] 何小红, 侯桂玉. 血清学结合超声检查在非整倍体产前筛查中的应用与护理[J]. *护理实践与研究*, 2016, 13(9): 55-56.

- [6] 吴清明, 周瑾, 刘伟, 等. 血清学结合超声检查在非整倍体产前筛查中的应用[J]. *中国妇幼保健*, 2011, 26(13): 2038-2040.
- [7] 田彦捷, 钱嘉林, 李宝明. 妊娠期唐氏综合征的产前筛查及诊断方法的研究[J]. *医学综述*, 2016, 22(1): 125-129.
- [8] Bromley B, Shipp T, Benacerraf BR. Genetic sonogram scoring index: accuracy and clinical utility[J]. *J Ultrasound Med*, 1999, 18(8): 523-528.
- [9] Chaoui R. Prenatal ultrasound diagnosis of Down syndrome. After major malformations, soft markers, nuchal translucency and skeletal signs, a new vascular sign[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 26(3): 214-217.
- [10] 马涛, 杨晓, 苏丹, 等. 97例胎儿染色体非整倍体异常临床分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2016, 12(4): 59-60.
- [11] 徐清芳, 张美华, 韩晨鹏. 孕中期产前筛查两种检测系统的可比性研究[J]. *中国实用医药*, 2013, 8(22): 32-33.
- [12] 唐坤强. 中孕期非整倍体染色体异常血清学筛查不同方案比较[J]. *中国医药导报*, 2015, 12(3): 134-137.
- [13] 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.
- [14] 李玉. 孕中期孕妇B超引导下羊水细胞染色体产前诊断安全性探讨[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2014, 11: 73-74.
- [15] 陈雁, 朱宇宁, 吕时铭. QF-PCR技术在优化完善产前诊断体系中的应用与价值[C]. 湖州: 浙江省检验医学学术年会, 2016.
- [16] 戴红彦. 遗传病的产前筛查和诊断技术[J]. *信息记录材料*, 2017, 18(1): 122-123.
- [17] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. *Lancet*, 1997, 350(9076): 485-487.
- [18] 郭可欣, 杨丽, 邓涛, 等. NIPT用于胎儿染色体微缺失/微重复检测的进展[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2016, 24(10): 10-12.
- [19] Lo KK, Karampetsou E, Boustred C, et al. Limited Clinical Utility of Non-invasive Prenatal Testing for Subchromosomal Abnormalities[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(1): 34-44.

(收稿日期: 2018-02-04)

编辑: 宋文颖