

CMA 技术在胎儿超声心血管异常及 DiGeorge 综合症的产前诊断应用

谢玉欢 张慧敏 李浩贤 刘维强 孙筱放

(广东省产科重大疾病重点实验室、广东省教育厅生殖与遗传重点实验室、广州医科大学附属第三医院 妇产科研究所实验部, 广东 广州 510150)

【摘要】 目的 染色体微阵列分析技术能在全基因组水平进行遗传分析, 尤其对检测染色体组微小缺失、重复等具有突出优势。本研究旨在探讨 CMA 在胎儿超声心血管异常及 DiGeorge 综合征诊断中的临床应用。**方法** 采用 SNP 全基因组染色体微阵列分析技术(Affymetrix Cytoscan750K 芯片)对本院 2014 年至今的 204 例超声筛查出现心血管异常的胎儿进行检测。并筛出 DiGeorge 病例以及未有心血管异常的 DiGeorge 病例进行分析。样本包括产前的羊水、脐血、绒毛、引产组织, 并对样本超声心血管异常进行单一心脏异常、多发心脏异常、心脏异常合并心外畸形进行分类。并用 chas v3.1 软件对结果进行分析。**结果** 204 例心血管异常的样本中, 产前诊断样本 199 例(97.55%), 产后样本 5 例(2.45%)。产前产后 DiGeorge 异常诊断率分别为 2.94%(6/204)和 20%(1/5)。单一心脏结构异常 71 例(34.80%), 多发心血管异常 75 例(36.76%), 心血管异常合并心外异常 58 例(28.43%); 3 组染色体微阵列分析技术结果显示 DiGeorge 异常率分别为 0%(0/71)、4%(3/75)和 6.89%(4/58)。CMA 检测出染色体异常的胎儿有 37 例, 异常检出率为 18.14%, 具有临床意义拷贝变异数变异 30 例(14.71%), 其中非整倍体 12 例(4 例 21-三体综合征、3 例 18-三体综合征、1 例 13-三体综合征、1 例 8-三体综合征、2 例 69, XXX、1 例 T21 MOS、1 例 T8 MOS), 占总例数的 5.88%。7 例临床意义未明病例。总的 DiGeorge 病例有 14 例, 其中 204 例心血管异常的胎儿标本中, CMA 检测出 DiGeorge 胎儿 7 例, DiGeorge 异常检出率为 3.43%, 7 例均为微缺失。同时有 7 例不伴有心血管异常的 DiGeorge 病例, 5 例为微缺失, 2 例缺失与重复同时存在, 所有检出 CNVS 均小于 5Mb。**结论** 先天性心脏病(CHD)与 DiGeorge 综合征密切相关。与常染色体核型分析技术相比, 染色体微阵列分析技术提高了先天性心脏病胎儿微小缺失、重复的检出率, 有助于临床风险评估及遗传咨询。因此, 对于产前超声提示心血管异常的胎儿, 即使染色体核型正常, CMA 也可能检出异常, 对于产前超声提示心血管系统结构异常的胎儿建议行 CMA 检查。

【关键词】 染色体微阵列分析技术; DiGeorge 综合征; 先天性心脏病; 产前诊断; 染色体拷贝变异数

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective Chromosomal microarray analysis can scan at the whole genome level, and detect the number of chromosomes in the copy, especially for the detection of chromosome group of small deletions, repeat and so has a prominent advantage. This study was designed to investigate the clinical application DiGeorge screening CMA diagnosis and analysis of DiGeorge in cardiovascular ultrasound abnormalities. **Method** Using SNP whole genome chromosome microarray analysis (Cytoscan750K chip) in our hospital from 2014-2017 to date 204 cases of ultrasound screening abnormalities of the fetus were detected and screened DiGeorge cases, as well as no cardiovascular abnormalities DiGeorge cases were analyzed. Samples include prenatal amniotic fluid, umbilical cord blood, villi, postpartum, including peripheral

blood, fetal heart blood, stillbirth tissue. And the samples were subjected to single cardiac abnormalities, multiple cardiac abnormalities, abnormal cardiac abnormalities and extracardiac malformations. And chas v3.1 software to analyze the results. **Results** Among the 204 cases of cardiovascular abnormalities, 199 cases (97.55%) were prenatal diagnosis samples and 5 cases (2.45%) were postpartum samples. The diagnostic rates of DiGeorge were 2.94% (6/204) and 20% (1/5) respectively. There were 71 cases (34.80%) of single cardiac abnormalities, 75 cases (36.76%) with multiple cardiovascular abnormalities, 58 cases (28.43%) with abnormal cardiovascular abnormality, and three groups of chromosome microarray analysis showed that DiGeorge abnormal rate was 0% (0/71), 4% (3/75), 6.89% (4/58). There was significant difference between the three groups. There were 37 cases of fetal abnormalities detected by CMA, and the abnormal detection rate was 18.14%. There were 30 cases (14.71%) of mutations in clinical significance, 12 cases of aneuploidy (4 cases of 21-trisomy syndrome, 3 cases of 18-trisomy syndrome, 1 case of 13-trisomy syndrome, 1 case of 8-trisomy syndrome, 2 cases of 69XXX, 1 case of T21 MOS, 1 case of T8 MOS), accounting for 5.88% of the total number of cases. 7 cases of clinical significance of unknown cases. There were 14 cases of total DiGeorge cases, of which 204 cases of cardiovascular abnormal fetal specimens, CMA detected DiGeorge fetus in 7 cases, DiGeorge abnormal detection rate of 3.43%, 7 cases were microdeletions. At the same time, there were 7 cases of DiGeorge with no cardiovascular abnormality, 5 cases were microdeletion, 2 cases were absent and repeated, and all detected CNVs were less than 5Mb. **Conclusions** Congenital heart disease is closely related to DiGeorge syndrome. Compared with the autosomal karyotype analysis technique, chromosome microarray analysis improves the detection rate of fetal minorities and repeated detection rate, which is helpful for clinical risk assessment and genetic counseling. Therefore, for ultrasound found that fetal cardiovascular abnormalities of pregnant women, in full informed of the circumstances, can choose CMA prenatal diagnosis.

【Key words】 chromosome microarray analysis; DiGeorge syndrome; congenital heart disease; prenatal diagnosis

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是最常见的出生缺陷之一,包括法洛四联症(TOF)、心室间隔缺损(VSD)、中断主动脉弓(IAA) B型和持续性动脉闭塞动脉闭塞(PTA)等^[1-5],约20%~30%的CHD患儿同时合并其他系统畸形^[6],CHD是导致婴儿发病和死亡的首要病因^[7,8],机制复杂。从遗传因素分析,染色体非整倍体、染色体重排、基因突变、染色体微重复/微缺失等均可与先天性心脏病相关^[9,10]。

研究发现,22号染色体22q11.2区域的微缺失也可导致先天性心脏病,大约75%~80%的22q11.2微缺失患者表现出冠状动脉缺损^[2]。22q11.2微缺失也称为DiGeorge综合征,发病率为1/4000^[6,11],主要发病机制是在减数分裂期间,22q11.21-22q11.23区域发生同源染色体的不平衡重组,进而导致1条22号染色体长臂的微缺失,使

得该区域等位基因的单倍剂量不足所致,引发心脏发育缺陷,异常面部形态、胸腺发育不全、腭裂和低钙血症等^[12]。目前临床医生发现产前超声心脏缺陷时建议常规用FISH进行22q11.2微缺失筛查^[13,14]。然而FISH其成本较高,探针的局限性且CHD成因复杂,仍有很大一部分心脏缺陷病因不能找出。染色体微阵列分析技术(chromosome microarray analysis technique, CMA)作为一种高分辨分子遗传学技术^[15],能对全基因组亚显微水平的染色体畸变进行检测。2013年ACOG和SMFM(The American College of Obstetricians and Gynecologists and the Society for Maternal-Fetal Medicine)指南提出,对超声提示胎儿结构异常,推荐CMA技术替代染色体核型分析作为一线检测方法^[16]。本研究基于本实验室的CMA技术平台,对204例产前超声提示为CHD胎儿病例以及超声未

发现心脏结构异常的7例DiGeorge病例回顾性分析,探讨CMA技术在先天性心脏异常及DiGeorge胎儿中的遗传学诊断价值。

1 资料和方法

1.1 临床资料 2014年5月至2017年5月在广州医科大学附属第三医院产前诊断中心就诊,因产前超声提示胎儿存在心血管异常的病例共204例,其中199例行介入性手术取其羊水、脐血或者绒毛、5例取引产后死胎心脏血或引产后胎儿组织行CMA分析。同时对行CMA检测的2745份超声提示非心血管异常的产前标本分析是否存在22q11.2区域的微缺失。孕妇孕周在12~32周之间,同时收集所有胎儿父母双方的外周血,以排除母体细胞污染以及在必要时协助解释检测结果。所有胎儿的父母均进行产前遗传咨询并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 常规染色体核型分析 按照G显带核型分析技术的标准操作步骤对204例胎儿的样本进行培养、收获、染色、滴片以及核型分析。

1.2.2 CMA检测染色体核型分析结果 正常的胎儿的标本进一步行CMA检测。实验操作严格按照美国Affymetrix公司提供的标准流程进行样本基因组DNA的消化、扩增、纯化、片段化、标记、与芯片杂交、洗涤、扫描以及数据分析,所用的芯片为全基因组CytoScan 750K或CytoScan HD芯片(均为美国Affymetrix公司产品)。上述两类芯片同时具备单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)探针和寡核苷酸探针。应用配套的CHAS软件及相关的生物信息学方法分析CMA检测结果,根据DNA片段拷贝数的散点图分布判断拷贝数变异(CNV)情况。

1.2.3 CNV的判断及评价 选取100kb、50个探针作为阈值进行CNV分析。CNV对比分析过程中所参考的数据库包括内部数据库及在线公共数据库如DGV数据库(<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)、DECIPHER数据库(<http://www.sanger.ac.uk/science>)、OMIM数据库([\[omim.org\]\(http://www.omim.org\)\)和UCSC数据库\(<http://www.genome.ucsc.edu/>\)等。根据CNV的性质不同分为5组,分别为良性CNV、致病性CNV、临床意义不明确的CNV\(variants of uncertain significance, VOUS\)、可能良性CNV和可能致病性CNV。](http://www.</p>
</div>
<div data-bbox=)

1.3 统计学分析 应用SPSS 13.0软件进行数据的统计学分析,计数资料采用频数及百分率表示,采用 t 检验或Fisher确切概率检验对组间致病性CNV的检出率进行统计学分析,定义 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

1.4 CMA检测结果的临床咨询 由于许多检出的遗传性疾病外显率和表现度的差异,在不同患者之间的临床表现可能存在较大的变异^[17],因此当CMA检测提示为致病性CNV时,需提供专业的遗传咨询,如果该致病性CNV为明确的染色体微缺失或微重复综合征,若父母有再次妊娠的计划,应建议父母行CMA检测以明确该CNV是否为新发,并对再次生育进行风险评估。

1.5 随访 对所有病例进行电话随访,了解妊娠结局及产后诊治情况。

2 结果

2.1 204份超声提示胎儿存在心血管异常标本CMA分析结果 204份标本中,199例为产前胎儿标本,5份为超声发现异常后引产组织标本。在199份产前胎儿标本中共检测出37例(18.59%)异常,其中7例(3.51%)为不明确致病性拷贝变异数,30例(15.07%)为致病性变异。在5份引产标本中未检测到异常。见表1。

表1 标本来源及其正常异常例数

标本类型	检测数量(例)	异常(例)	不确定(例)	正常(例)
羊水	185	26	6	153
绒毛	3	1	1	1
脐血	11	3	0	8
引产组织	5	0	0	5

2.2 37例异常结果分析 37例异常分布见表2。除外12份非整倍体或三倍体,本研究在超声提示心脏异常产前标本中25例CNV异常,占异常总数的67.57%。

表2 异常结果分析

异常类型	羊水(例)	绒毛(例)	脐血(例)	小计(例)
21-三体	4	1*	0	5
18-三体	2	0	1	3
13-三体	0	0	1	1
8-三体	0	0	1*	1
三倍体	2	0	0	2
CNV	24	1	0	25
合计	32	2	3	37

注: * 嵌合

2.3 异常 CNV 结果分析 对 25 例异常 CNV 分析发现, CNV 片段大小介于 0.4~48Mb, 绝大部分 CNV 片段小于 5Mb, 即这部分 CNV 如果通过核型检测可能会漏检。其中, 22q11.2 区域的微缺失共检出 7 例, 占有异常 CNV 比例 28%(7/25)。非平衡易位(结构异常)CNV 检出 2 例, 多 CNV 异常 1 例。异常 CNV 检出情况见表 3。

表3 异常 CNV 胎儿的染色体微阵列检测结果

序号	芯片结果	超声结果	CNV 片段大小(Mb)	染色体异常类型
1	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×1	羊水过少, 胎儿双侧多囊性发育不良肾, 双侧肺发育不良, 室间隔缺损, 心包积液, 颈后皮肤增厚	3.2	缺失
2	arr[hg19]22q11.21(18,916,842-21,800,797)×1	永存动脉干(II型), 室间隔缺损, 右位主动脉弓	2.9	缺失
3	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×1	胎儿心脏畸形, 巨大室缺, 主动脉骑跨, 房缺	3.2	缺失
4	arr[hg19]22q11.21(19,024,793-21,800,471)×1	NT 增厚(CRL47mm, NT5.1mm)心包积液, 右位主动脉弓	2.8	缺失
5	arr[hg19]22q11.21(18,631,364-21,800,471)×1	胎儿永存动脉干, 室间隔缺损, 永存左上腔, 可疑尿道下裂	3.2	缺失
6	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×1	胎儿可疑法洛四联症	3.2	缺失
7	arr[hg19]22q11.21(18,631,364-21,800,471)×1	胎儿心脏结构异常, 室缺, 后颅增宽	3.2	缺失
8	arr[hg19]7q11.23(72,669,480-74,146,927)×1	胎儿右心增大, 永存左上腔静脉, 左位主动脉弓伴右锁骨下动脉迷走、主动脉峡部偏细	1.5	缺失
9	arr[hg19]16p13.3p12.1(85,880-27,309,438)×3	胎儿主动脉瓣闭锁, 室间隔缺损, 二、三尖瓣反流, 腹水, 左侧单脐动脉, 不良生育史(脑积水引产史)	27.2	重复
10	arr[hg19]7p14.1(40,748,621-42,108,287)×1	胎儿永存左上腔静脉, 疑胎儿左足多趾	1.4	缺失
11	arr[hg19]6q24.2q25.1(144,902,123-150,394,779)×1	室间隔缺损, 心胸比增大, 心包积液	5.5	缺失
12	arr[hg19]7q11.22(70,236,723-70,705,107)×3	胎儿室间隔膜部缺损	0.5	重复
13	arr[hg19]Xq25(121,404,773-122,522,474)×2	本院超声提示胎儿室间隔缺损, 可疑大动脉转位, 脐膨出	1.1	重复
14	arr[hg19]2p21(45,253,239-46,322,782)×3	心脏室缺, 房缺	1.1	重复
15	arr[hg19]16p11.2(29,591,326-30,178,406)×3	动脉导管狭窄	0.6	重复
16	Xp22.33 or Yp11.32(482,581-1,700,121 or 432,581-1,650,121)×3	右位主动脉弓, 左锁骨下动脉迷走	1.2	重复
17	arr[hg19]17p13.3(169,218-575,504)×3	室间隔膜部缺损, 永存动脉干	0.4	重复
18	16p13.11(14,892,975-16,527,659)×1	MCDA 双胎之复杂先天性心脏病, 永存动脉干(I型), 单脐动脉	1.6	缺失
19	arr[hg19]2q33.1q37.3(201,375,732-242,782,258)×3	胎儿三尖瓣反流, 肺动脉瓣关闭不全	41.4	重复

续表 3

序号	芯片结果	检测结果	CNV 片段大小(Mb)	染色体异常类型
20	arr[hg19]11q23.3q25(119,976,308-134,937,416) ×1	室间隔缺损,右肾盂扩张,局部肠管回声增强	15.0	缺失
21	4q32.3q35.2(169,149,847-190,957,460) ×1	室间隔缺损	21.8	缺失
22	arr[hg19]6q16.1q22.33(98,351,396-127,801,511) ×1	胎儿心脏复杂畸形:永存动脉干、室间隔缺损	29.5	缺失
23	arr[hg19]1q42.3q44(236,509,301-249,224,684) ×1 arr[hg19]13q31.3q34(93,051,804-115,107,733) ×3 arr[hg19]12p13.33p12.3(173,786-19,752,605) ×3 arr[hg19]18q12.1q23(29,208,109-78,013,728) ×3 arr[hg19]Xq21.31q21.32(91,634,275-92,593,665) ×3	胎儿心胸比增大,可疑室间隔缺损,左侧侧脑室轻度增宽	12.7、22.1、19.6、48.8、1.0	缺失、重复、重复、重复、重复
24	arr[hg19]4q34.1q35.2(174,919,364-190,957,460) ×1 arr[hg19]20p13p12.3(61,661-8,444,005) ×3 arr[hg19]10p15.3p15.1(100,047-4,548,375) ×1	胎儿心脏异常回声,考虑为永存动脉干(I型)	16.0、8.4	缺失;重复
25	arr[hg19]20q13.2q13.33(52,466,963-62,913,645) ×3	曾生育智力低下胎儿	4.4、10.4	缺失、重复

2.4 22q11.2 区域的微缺失检测情况 在超声提示心脏异常 CNV 中,22q11.2 区域的微缺失所占比例最高。因此本研究对 22q11.2 区域的微缺失进行了重点分析。204 例心血管异常的样本中发现 7 例 DiGeorge, 超声均提示室间隔缺损, 检出率为 3.4% (7/204)。同时对本实验室 2745 例非心脏超声异常行 CMA 病例中共检出 7 例 DiGeorge, 检出率为 0.26% (7/2745)。7 例非心血管异常胎儿中, 1 例提示肾脏异常, 胎儿左肾重复肾并上极肾积水, 左侧重复输尿管; 2 例为胎儿颈项透明层(nuchal translucency, NT) 增厚; 1 例超声提示羊水过多, 胎儿腹腔、右侧胸腔大量积液, 胎儿皮下组织水肿; 1 例为多发畸形, 羊水过少, 胎儿双侧多囊性发育不良肾, 双侧肺发育不良, 室间隔缺损, 心包积液, 颈后皮肤增厚; 1 例为双侧侧脑室增宽: 左侧侧脑室 10.0mm, 右侧侧脑室 13.3mm; 还有 1 例为羊水过多, 透明隔腔增宽。

2.5 不同 CHD 表型胎儿致病性 CNV 检出率 单一心脏结构异常 71 例(34.80%), 多发心血管异常 75

例(36.76%), 心血管异常合并心外异常 58 例(28.43%)。单一心脏结构异常组、多发心血管异常组、心内合并心外异常组的结果异常率分别为 9.86% (7/71)、17.33% (13/75)、32.76% (19/58), DiGeorge 检出率分别为 0 (0/71), 4% (3/75), 6.90% (4/58), 3 组异常检出率有统计学意义, 其中多发心血管异常检出率明显高于单一心脏结构异常, 多发心血管异常组与心血管合并心外异常组检出率有统计学意义。

3 讨论

3.1 致病性 CNV 的总体检出率及其临床意义 本研究中, 产前超声检查提示心血管异常的 204 例胎儿中, 进行全基因组 CMA 检测, 结果提示 37 例胎儿异常, 除外 12 例非整倍体或者三倍体, 在超声提示心血管异常产前样本中 25 例 CNV 异常且 CNV 片段大小在 0.5~129Mb 不等, 占异常总数的 67.57%。CNV 导致的基因组失衡, 包括数百种基因微缺失或微重复综合征, 是先天性畸形和神经发

育障碍的主要遗传病因^[18]。这种 CNV 可以通过 CMA 检测。CMA 是一种高分辨率全基因组筛选技术,其分辨率取决于芯片上探针之间的距离,在与疾病高度相关的局部区域使用高密度探针,可以检测到 5~20kb 基因组片段的缺失与扩增,该技术不仅可以快速有效地检测常规核型分析能检测到的染色体变异,而且可以检测到大量常规方法不能检测到的微小变异/基因组失衡。有报道发现染色体核型正常的患者中 CMA 可检出 15% 为异常^[19]。因此,CMA 技术可以弥补传统染色体核型分析技术的不足,可以发现常规核型测试被遗漏的异常,能够提高心血管异常胎儿的染色体异常(包括致病性 CNV)的检出率,降低临床上的漏诊。

胎儿染色体非整倍体疾病包括 21-三体综合征、18-三体综合征和 13-三体综合征。Hartman 等^[20]在 4430 个 CHD 胎儿中研究中发现非整倍体的检出率为 12.3%(547/4430),最常见的染色体异常分别是 21-三体综合征(52.80%)、18-三体综合征(12.80%)、13-三体综合征(5.70%)、22q11.2 微缺失综合征(12.20%)。Bao 等^[21]回顾性分析了 537 例产前心脏超声异常胎儿,非整倍体的检出率为 16.80%。在本研究中检测出 12 例非整倍体,其中 5 例 21-三体综合征,3 例 18-三体综合征,1 例 13-三体综合征,1 例 8-三体综合征,2 例 69,XXX,检出比率为 5.88%(12/204),明显低于其他学者研究。由于本实验列入的是 B 超提示有心血管异常的胎儿做 CMA 检测,部分有心血管异常的胎儿行了染色体核型分析后未进行 CMA 检测等因素,导致非整倍体检出率相比文献低。

3.2 本研究中有致病性 CNV 的心血管异常的胎儿分析 瑞安^[22]在了一项多中心研究中报道了样本量最大的 22q11.2 DS 研究,包括 545 例患者来自于 23 个欧洲中心。其他报道包括 Park 等^[23]韩国多中心研究报道的,各种团体的机构研究包括松冈^[24]、McDonald-McGinn 等^[25]、Marino 等人^[26]和 Oskarsdottir 等人^[27]。在每项研究中,法洛四联症(TF)是最普遍的心脏病,其次是 TF 肺闭锁(PA)、VSD、主动脉弓中断(B型)、以及动脉断层。本实验 204 例胎儿中法洛四联症 TF、室间隔缺损 VSD、永

存动脉干 PTA、主动脉缩窄、肺动脉瓣狭窄、房间隔缺损、房室间隔缺损、右心室双出口、大动脉转位常见。而 7 例 DiGeorge 心血管异常的胎儿中心血管异常类型所占如表 3,心血管类型均有报道^[14]。

在 7 例单一心脏结果异常中,1 例为临床意义不明确的病例室间隔缺损合并 CNVs 异常,SNP 结果为 arr[hg19]7q11.22(70,236,723-70,705,107)×3,即在 7 号染色体长臂 7q11.22 位置发生 0.5Mb 的片段重复;1 例为动脉导管狭窄合并 CNVs 异常,SNP 结果为 arr[hg19]16p11.2(29,591,326-30,178,406)×3,即在 16 号染色体长臂 16p11.2 发生的 0.6Mb 的片段的重复;1 例为室间隔缺损合并拷贝变异数(copy number variations, CNVs)异常在 4 号染色体长臂片段发生 21.8Mb 的缺失;1 例为 DiGeorge 综合征,在 22q11.21 区发生 3.15Mb 重复;1 例为 18-三体综合征;1 例 21-三体综合征;还有 1 例为永存动脉干合并 cnvs 异常,SNP 结果为 arr[hg19]4q34.1q35.2(174,919,364-190,957,460)×1, arr[hg19]20p13p12.3(61,661-8,444,005)×3,即在 4 号染色体 4q34.1q35.2 区发生 16Mb 缺失和在 20 号染色体 20p13p12.3 发生 8.4Mb 重复;其中 6 例为重复片段,1 例为缺失片段。

多发心血管异常中,异常检出率为 17.33%(13/75),其中室间隔缺损、法洛四联症、心包积液、大动脉转位、右心室双出口、右位主动脉弓、永存动脉干、持续左上腔静脉的异常检出率分别为 24.24%、11.11%、25%、12.50%、11.11%、25%、33.33%、25%。其中 DiGeorge 的检出率分别为 6.06%、11.11%、0、0、0、25%、11.11%、0。

心血管异常合并心外异常的检出率最高,为 32.76%(19/58),包括 6 例骨骼系统异常、8 例复杂畸形、2 例神经系统异常和 3 例泌尿系统异常。

3.3 本研究中有致病性 CNV 的 DiGeorge 胎儿分析 2012 年和 2015 年发表的两项多中心产前研究报告指出,使用侵入性产前检测 22q11.2 缺失的比例是 1:347 和 1:992^[21, 28],两项研究都包括有或没有异常超声检查结果的胎儿分析。对于具有主要结构异常(如 CHD)的胎儿,22q11.2 缺失的患病率约为 1:100,而在看似解剖正常的胎儿(在两项研究

中)为1:1000^[21,28]。本研究中204例心血管异常的样本中发现7例DiGeorge,检出率为(7/204)3.43%。远远高于文献所报告的比例。一项完全性DiGeorge综合征大样本研究显示,近一半的患者无心脏缺陷^[29]。本研究中2014~2017年实验室检出的14例DiGeorge中,7例有心血管异常,7例无心血管异常;心血管异常的DiGeorge所占的比例为50%,与上述文献报道的相似。DiGeorge综合征最初临床诊断标准过于严格,因为随着分子机制的发现,越来越多非典型病例被报道。一项完全性DiGeorge综合征大样本研究显示,近一半的患者无心脏缺陷,又由于该病的高发生率,提示只要有所怀疑就应详细检查。

尽管22q11.2DS有各种各样的临床表型,但大多是22号染色体长臂近着丝粒端微片段22q11.21-q11.23缺失所致,典型缺失区域(typical deletion region,TDR)约1.5~3.0Mb。一般认为可分为3种类型,其中大约90%的患者有3Mb大小的典型缺失区域,这段区域内包含有30多个基因。8%的患者有1.5Mb的小缺失,这段区域内含有24个基因,另外还有极少数患者有易位或一些小片段缺失和远端缺失^[30]。本研究14例DiGeorge中,12例患者有3Mb大小的典型缺失区域,1例患者有1.5mb左右的小缺失,1例伴有1.7mb的缺失和1.8mb的重复。比例分别为86%、7%、7%,检出率与文献报道的差不多。

染色体22q11.2删除是与DiGeorge综合征相关的最常见的染色体改变,在出生婴儿中的发病率接近1:4000^[31,32]。然而,少数患有其他遗传综合征的患者与22q11共同具有一些临床特征,包括Opitz G/BB^[33]和CHARGE^[34]综合征和其他的染色体删除,比如16p11.2、10p13、17p13、4q34.1q35.2^[35-38]。本研究中1例是同时伴有22q11.21缺失与16p11.2重复,缺失片段为22号染色体的22q11.21片段上的(18,631,364-20,312,661)区域,缺失大小为1.7Mb,重复片段为16号染色体16p11.2片段的(29,591,326-30,176,508)区域,重复大小为1.8Mb。22q11.21大片段的缺失和16p11.2的微小缺失提示可能与精神分裂症有关。

先天性心脏缺陷(CHD)是最常见的出生缺陷形式。NT与CHD的胎儿有高相关性,产前期CHD在22q11.2缺失综合征(22q11.2DS)的发生率很高^[39]。本研究14例DiGeorge病例中,有两例NT增厚,由于具有22q11缺失综合征的胎儿的75%具有主要的心脏缺陷,并且由于心脏缺陷与NT增加密切相关,所以22q11缺失综合征的胎儿很可能具有增厚的NT。2例病例报告描述了新生儿NT增加检测到22q11微缺失胎儿^[40,41]。

90%患者有22q11.2区域经典的3Mb的微缺失,累及30~50个基因,另外8%为1.5Mb的缺失^[42]。不典型缺失病例亦散见报道^[43]。DiGeorge综合征发病率为1/4000,是最常见的染色体缺失综合征。其最初的三联征包括先天性无胸腺、甲状旁腺缺如及心脏异常。一项完全性DiGeorge综合征大样本研究显示近一半的患者无心脏缺陷。又由于该病的高发生率,提示只要有所怀疑就应详细检查。由于是3Mb的染色体微缺失,用常规染色体核型分析方法无法分辨,即便是高分辨率的G显带也无法诊断,FISH方法是诊断的金标准。由于探针设计大小为100kb,与靶基因特异结合,敏感性和特异性均极高。近些年,CMA方法逐渐在国内应用于临床,该方法可同时筛查全基因组热点缺失或重复序列,能够在全基因组水平进行扫描,可检测染色体不平衡的拷贝数变异,尤其是对于检测染色体组微小缺失、重复等不平衡性重排具有突出优点。本报告进一步说明了确定的微小重复和缺失通过使用染色体微阵列分析方法可以达到更灵敏更快速,无需多次FISH实验。微阵列的应用能识别远端删除,也有助于22q11位点删除和缺失中的断点识别。

4 结论

4.1 在染色体结构异常中,22q11.2微缺失综合征是最常见的导致胎儿心脏畸形的遗传学变异之一。22q11DS是与先天性心脏病相关的最常见的染色体疾病之一。

4.2 基因组拷贝数变异(CNV)是导致先天性心脏畸形的一类常见原因,其中临床意义未明在先天性心脏畸形胎儿中的发生率约为3.40%,提示临床意

义未明的 CNV 可能在先天性心脏畸形中发挥着一定作用。

4.3 相比常规的染色体核型分析,CMA 对于产前超声提示胎儿的拷贝变异数检出率增加,进一步说明 CHD 与微缺失/微重复相关。随着导致 CHD 的遗传因素越来越多,遗传基因检测、遗传风险评估和产前遗传咨询将在 CHD 患儿的管理中日益重要。CMA 技术大大提高了 CHD 胎儿亚显微水平染色体畸变的检出率,并能提供更多的基因信息。因此可作为产前诊断的工具,为 DiGeorge 胎儿诊治及孕期管理提供客观科学的依据。

参 考 文 献

- [1] MommaK. Cardiovascular anomalies associated with chromosome 22q11.2 deletion[J]. *Int J Cardiol*, 2007,114(2): 147-149.
- [2] Khositseth A, Tocharoentanaphol C, Khowsathit P, et al. Chromosome 22q11 deletions in patients with conotruncal heart defects[J]. *Pediatr Cardiol*, 2005, 26(5): 570-573.
- [3] Matsuoka R, Kimura M, Scambler PJ, et al. Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome[J]. *Hum Genet*, 1998, 103(1): 70-80.
- [4] Marino B, Digilio MC, Toscano A, et al. Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11 [J]. *Genet Med*, 2001, 3(1): 45-48.
- [5] McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH. 22q11.2 deletion syndrome [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15071.
- [6] Ferencz C, Boughman JA, Neill CA, et al. Congenital cardiovascular malformations: questions on inheritance. Baltimore-Washington Infant Study Group[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1989, 14(3): 756-763.
- [7] Bao B, Wang Y, Hu H, et al. Karyotypic and molecular genetic changes associated with fetal cardiovascular abnormalities: results of a retrospective 4-year ultrasonic diagnosis study[J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9(5): 463-471.
- [8] Tennstedt C1, Chaoui R, Körner H, et al. Spectrum of congenital heart defects and extracardiac malformations associated with chromosomal abnormalities: results of a seven year necropsy study[J]. *Heart*, 1999, 82(1): 34-39.
- [9] Seagraves NJ, McBride KL. Cardiac teratogenicity in mouse maternal phenylketonuria: defining phenotype parameters and genetic background influences[J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 107(4): 650-658.
- [10] Corrigan N, Brazil DP, McAuliffe F. Fetal cardiac effects of maternal hyperglycemia during pregnancy[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(6): 523-530.
- [11] Hyett JA, Perdu M, Sharland GK, et al. Increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 1997, 10(4): 242-246.
- [12] Kobrynski LJ, Sullivan KE. Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2 deletion syndromes[J]. *Lancet*, 2007. 370(9596): 1443-1452.
- [13] Driscoll DA, Spinner NB, Budarf ML, et al. Deletions and microdeletions of 22q11.2 in velo-cardio-facial syndrome[J]. *Am J Med Genet*, 1992, 44(2): 261-268.
- [14] MommaK. Cardiovascular anomalies associated with chromosome 22q11.2 deletion syndrome[J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(11): 617-624.
- [15] Helm BM, Freeze SL. Freeze, genetic evaluation and use of chromosome microarray in patients with isolated heart defects: benefits and challenges of a new model in cardiovascular care[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2016, 3: 19.
- [16] American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. *Obstet Gynecol*, 2013, 122(6): 1374-1377.
- [17] Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE, et al. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations[J]. *Genet Med*, 2013, 15(6): 478-481.
- [18] Wu XL, Li R, Fu F, et al. Chromosome microarray analysis in the investigation of children with congenital heart disease [J]. *BMC Pediatr*, 2017, 17(1): 117.
- [19] American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy[J]. *Obstet Gynecol*, 2007, 110(6): 1459-1467.
- [20] Hartman RJ, Rasmussen SA, Botto LD, et al. The contribution of chromosomal abnormalities to congenital heart defects: a population-based study[J]. *Pediatr Cardiol*, 2011, 32(8): 1147-1157.
- [21] Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(23): 2175-2184.
- [22] Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, et al. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study[J]. *J Med Genet*,

- 1997, 34(10): 798-804.
- [23] Park IS, Ko JK, Kim YH, et al. Cardiovascular anomalies in patients with chromosome 22q11.2 deletion: a Korean multi-center study[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 114(2): 230-235.
- [24] Matsuoka R, Kimura M, Scambler PJ, et al. Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome[J]. *Hum Genet*, 1998, 103(1): 70-80.
- [25] McDonald-McGinn DM, Kirschner R, Goldmuntz E, et al. The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients[J]. *Genet Couns*, 1999, 10(1): 11-24.
- [26] Marino B, Digilio MC, Toscano A, et al. Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11 [J]. *Genet Med*, 2001, 3(1): 45-48.
- [27] Oskarsdóttir S, Persson C, Eriksson BO, et al. Presenting phenotype in 100 children with the 22q11 deletion syndrome [J]. *Eur J Pediatr*, 2005, 164(3): 146-153.
- [28] Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2015, 35(8): 801-809.
- [29] Markert ML, Devlin BH, Alexieff MJ, et al. Review of 54 patients with complete DiGeorge anomaly enrolled in protocols for thymus transplantation: outcome of 44 consecutive transplants[J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4539-4547.
- [30] Lajiness-O'Neill RR, Beaulieu I, Titus JB, et al. Memory and learning in children with 22q11.2 deletion syndrome: evidence for ventral and dorsal stream disruption? [J]. *Child Neuropsychol*, 2005, 11(1): 55-71.
- [31] McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH. 22q11.2 deletion syndrome [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15071.
- [32] Cirillo E, Giardino G, Gallo V, et al. Intergenerational and intrafamilial phenotypic variability in 22q11.2 deletion syndrome subjects[J]. *BMC Med Genet*, 2014, 15: 1.
- [33] McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH. Autosomal dominant "Opitz" GBBB syndrome due to a 22q11.2 deletion[J]. *Am J Med Genet*, 1996, 64(3): 525-526.
- [34] Devriendt K, Fryns JP, Mortier G, et al. The annual incidence of DiGeorge/velocardiofacial syndrome[J]. *J Med Genet*, 1998, 35(9): 789-790.
- [35] Ballif BC, Hornor SA, Jenkins E, et al. Discovery of a previously unrecognized microdeletion syndrome of 16p11.2-p12.2 [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(9): 1071-1073.
- [36] Cuturilo G, Menten B, Krstic A, et al. 4q34.1-q35.2 deletion in a boy with phenotype resembling 22q11.2 deletion syndrome[J]. *Eur J Pediatr*, 2011, 170(11): 1465-1470.
- [37] Greenberg F, Elder FF, Haffner P, et al. Cytogenetic findings in a prospective series of patients with DiGeorge anomaly [J]. *Am J Hum Genet*, 1988, 43(5): 605-611.
- [38] Pignata C, D'Agostino A, Finelli P, et al. Progressive deficiencies in blood T cells associated with a 10p12-13 interstitial deletion[J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1996, 80(1): 9-15.
- [39] Shetty M, Srikanth A, Kadandale J, et al. Pre- and postnatal diagnosis of 10p14 deletion and 22q11.2 deletion syndrome and significance of non-cardiac markers[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2016, 148(4): 249-255.
- [40] Lazanakis MS, Rodgers K, Economides DL. Economides, Increased nuchal translucency and CATCH 22[J]. *Prenat Diagn*, 1998, 18(5): 507-510.
- [41] Machlitt A, Tennstedt C, Körner H, et al. Prenatal diagnosis of 22q11 microdeletion in an early second-trimester fetus with conotruncal anomaly presenting with increased nuchal translucency and bilateral intracardiac echogenic foci[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2002, 19(5): 510-513.
- [42] Emanuel BS. Molecular mechanisms and diagnosis of chromosome 22q11.2 rearrangements [J]. *Dev Disabil Res Rev*, 2008, 14(1): 11-18.
- [43] Amati F, Conti E, Novelli A, et al. Atypical deletions suggest five 22q11.2 critical regions related to the DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome [J]. *Eur J Hum Genet*, 1999, 7(8): 903-909.

(收稿日期:2017-06-18)

编辑:宋文颖