

〔文章编号〕 1007-0893(2020)23-0014-02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.23.006

高通量测序联合染色体核型分析在 NT 增厚胎儿中的应用价值

朱晓丹 李超 欧妙玲 张玲华 黄湘

(佛山市妇幼保健院产前诊断中心, 广东 佛山 528000)

〔摘要〕 **目的:** 探讨颈项部透明层厚度 (NT) 增厚胎儿行高通量测序技术和染色体核型分析产前诊断的价值。 **方法:** 将 2017 年 1 月至 2019 年 12 月因胎儿 NT ≥ 2.5 mm 在佛山市妇幼保健院产前诊断中心行产前诊断的孕妇作为研究对象。共收集羊水、绒毛 457 份。胎儿样本同时进行高通量测序及染色体核型分析, 比较两者的结果。 **结果:** 457 份样本核型分析异常核型检出率 14.2% (65 例), 染色体拷贝数检测检出率 22.1% (101 例)。65 例染色体核型异常中, 除 1 例平衡易位和 2 例倒位外, 高通量测序均检测出片段异常。此外, 21 例 < 6 mm 拷贝数变异 (CNVs) 类型明确致病、可能致病或致病性未知的染色体微缺失微重复, 核型分析未发现异常。 **结论:** 高通量测序在 NT 异常增厚胎儿产前诊断中具有良好的临床应用价值。高通量测序无需培养, 不仅能发现非整倍体, 还能检出染色体核型分析无法检测的微缺失/微重复。但无法检出平衡易位及倒位。染色体核型分析同时进行高通量测序, 有利于提高 NT 增厚胎儿产前诊断阳性检出率。

〔关键词〕 产前诊断; 颈项部透明层厚度; 高通量测序; 染色体核型分析

〔中图分类号〕 R 714.5 〔文献标识码〕 A

通过对产前超声筛查阳性孕妇进行产前诊断, 能有效降低出生缺陷率。颈项部透明层厚度 (nuchal translucency thickness, NT) 厚度与胎儿染色体异常以及不良妊娠之间存在一定的关系^[1]。本研究旨在探讨高通量测序在 NT 增厚胎儿产前诊断中的临床应用价值, 详情如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

对 2017 年 1 月至 2019 年 12 月于本中心 11⁺⁴ ~ 25⁺⁵ 周 NT 增厚胎儿的孕妇抽取绒毛或羊水, 样本同时进行高通量检测和染色体核型分析。抽取绒毛 21 例, 羊水 436 例, 共 457 例。孕妇年龄 18 ~ 44 岁, 平均 (30.0 \pm 1.5) 岁。按英国胎儿医学基金会制定的标准切面测量, NT 厚度 ≥ 2.5 mm 作为本研究判断 NT 增厚的标准^[2]。

1.2 方法

根据孕妇孕周不同, 选择抽取不同样本。孕周介于 11 ~ 14⁺⁶ 周的孕妇抽取绒毛 1 g, 其中 0.6 g 用于染色体核型分析, 另外 0.4 g 用于高通量测序及荧光定量聚合酶链反应 (quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR)。绒毛絮状、粗壮。孕周大于 16 周的孕妇抽取羊水 30 mL, 其中 20 mL 用于染色体核型分析, 另外 10 mL 用于高通量

测序。羊水淡黄色、清亮、无固体物。标本排除母源性污染。

1.3 观察指标

染色体核型分析结果按照《人类细胞分子遗传学的国际命名系统 (ISCN 2016)》标准命名。高通量测序的检测报告结果分为致病、可能致病、致病性未知 (variants of unknown significance, VONS)、可能良性、良性 5 种情况^[3]。

2 结果

2.1 染色体核型分析结果

457 份样本的核型分析结果中, 异常核型有 65 例。异常核型检出率 14.2%。其中, 数目异常 55 例, 结构异常 10 例。染色体正常多态性不纳入统计。

2.2 染色体拷贝数变异检测结果

457 份样本应用高通量测序技术进行染色体拷贝数检测, 拷贝数变异有 101 例, 共 107 段, 检出率 22.1%。

2.3 染色体核型分析与高通量测序技术检出率比较

65 例染色体核型异常中, 除 1 例平衡易位和 2 例倒位外, 高通量测序均检测出片段异常。此外, 21 例 < 6 mm 拷贝数变异 (copy number variations, CNVs) 类型明确致病、可能致病或致病性未知的染色体微缺失微重复, 核型分析未发现异常, 详情见表 1。

〔收稿日期〕 2020-09-06

〔基金项目〕 佛山市卫生和计生局医学科研项目资助课题 (20180133)

〔作者简介〕 朱晓丹, 女, 主管技师, 主要研究方向是产前诊断细胞遗传学。

表 1 21 例 < 6 mm 具临床意义 CNVs 结果信息一览表

编号	染色体核型分析结果	< 6 mm CNVs 结果	CNVs 片段大小	CNVs 临床意义
1	46,XY,t(2;10)(p13;q24)pat	dup(22)(q11.21)	2.5 Mb	22q11 重复综合征
2	46,XY	dup(22)(q11.21)	2.8 Mb	22q11 重复综合征
3	46,XX	dup(22)(q11.21q11.23)	5.5 Mb	22q11 重复综合征
4	46,XY	dup(2)(p24.3p24.2)	3.0 Mb	MYCN 基因
5	46,XX	dup(14)(q23.1q23.2)	2.1 Mb	包含 TRMT5 基因的全部
6	46,XY	dup(14)(q24.2q24.3)	2.9 Mb	NEK9 基因
7	46,XY	del(16)(p12.2)	0.5 Mb	神经发育易感性位点
8	46,XY	dup(16)(p13.11)	1.3 Mb	复发性微缺失综合征
9	46,XX	dup(17)(p12)	1.5 Mb	PMP22 基因
10	46,XX,del(10)(q26)	del(X)(p22.31)del(10)	1.6 Mb	STS 基因
11	46,XX	dup(X)(q28)	0.2 Mb	RAB39B 基因
12	46,XX	dup(2)(q14.1)	0.2 Mb	可能致病
13	46,XY	del(12)(q24.32)	1.8 Mb	可能致病
14	46,XY	del(15)(q11.2)	0.3 Mb	可能致病
15	46,XX	del(15)(q11.2)	0.4 Mb	可能致病
16	46,XX	dup(17)(p13.3)	0.6 Mb	可能致病
17	46,XY	dup(17)(p13.3)	0.6 Mb	可能致病
18	46,XY	dup(2)(p22.3)	1.4 Mb	VONS
19	46,XX	dup(6)(q15q16.1)	2.8 Mb	VONS
20	47,XY,+21	dup(2)(p12)	1.4 Mb	VONS
21	47,XX,+18	del(2)(q13)	1.7 Mb	VONS

注：VONS 一致致病性未知；CNVs 一拷贝数变异

3 讨论

一直以来，染色体核型分析技术被看作产前诊断确诊染色体畸变的“金标准”，被广泛运用于临床一线。但其培养周期长，影响因素多，无法检出 < 5 Mb 的片段缺失 / 重复^[4]。高通量测序技术具备成为一线产前诊断技术的条件。高通量测序技术和染色体核型分析均检出异常共有 62 例，包括 55 例染色体数目异常和 7 例结构异常导致的大片段缺失 / 重复。两者阳性结果高度吻合。此外，高通量测序多检出 11 例明确致病、6 例可能致病、4 例致病性未知、21 例良性 / 可能良性的染色体 < 6 mm 微缺失微重复。但需要注意，高通量测序技术未检出异常由 1 例平衡易位和 2 例倒位。鉴于技术原理，高通量测序无法区分标准型与易位型 21 三体综合征。两种方法结合使用，有助于获得更全面的遗传信息，有利于临床进行遗传咨询。

高通量技术不经过培养，没有染色体培养中因优势生长造成比例改变的问题。1 病例，高通量检测出 12 号染色体 p13.33 ~ p11.1 处存在 4 个拷贝数。经染色体核型分析诊断为 47,XX,+i(12)(p10)，PKS 综合征。PKS 综合征是一种散发，罕见的染色体疾病，具有复杂临床表型及特殊的遗传学特点^[5]。它首先被 Pallister 和 Teschler-Killian 等所描述，故

全称 Pallister-Killian 综合征。需要注意的是，这种异常的染色体有丝分裂过程不稳定，在培养时容易丢失。脐血和外周血染色体培养不容易看到。高通量测序能很好规避培养而导致的实验误差。2020 年，本中心对 1 例因“多发畸形”引产胎的脐血进行检测。高通量测序测出 12 号染色体 p13.33 ~ p11.1 处重复，片段长 34 Mb。脐血染色体核型分析常规计数 20 个未见异常，加大计数至 100 个仅发现 4 个异常核型。此类标本，可使用 FISH 技术对未培养标本的进行特殊点位检测，解释两种方法结果不一致的原因，进一步验证了高通量测序结果。

需注意的是，部分高通量测序阳性结果病例存在临床表型多样且存在外显不全情况^[6]。高通量测序检出 3 例涉及区域 22q11.2 重复的病例，临床上可以表现为 DiGeorge 综合征。该综合征存在外显不全的情况，患者表型从正常或几乎正常到严重，变化较大。最常见的临床症状有：智力障碍（97%）、精神运动发育迟滞（67%）、生长受限（63%）、肌张力低下（43%），说话鼻音重等。另外，22q11.2 重复综合征患者都表现出不同程度的 DGS/VCFS 表型颚咽发育不全、腭裂、先天性心脏病、耳聋、肾生殖系统畸形、胸腺缺如、无脾、认知障碍等，但也有其特定的表型，包括上位眉毛，眼睑下斜或伴下垂，轻度的小颌、缩颌，脸部细长等。

综上所述，高通量技术越来越多被临床熟知并使用。在传统染色体核型分析基础上，增加高通量测序，有利于临床对 NT 增厚胎儿获取更多遗传信息。本研究发现，当 NT 增厚且核型分析未见异常，应注意排除存在微缺失微重复的可能性。高通量测序能避免因培养而导致的染色体核型比例改变。对综合征存在外显不全情况的病例避免对高通量检测结果过度解读。应结合父母高通量测序检测结果，并对胎儿进行 B 超动态观察，以获得更优的临床决策。

〔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)》问答 (J). 中国实用乡村医生杂志, 2012, 19(20): 3-5.
- (2) 乐杰. 妇产科学 (M). 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 205.
- (3) 卢天兰, 伍智镠, 阮燕燕, 等. 孤独症谱系障碍核心家系染色体核型分析研究 (J). 中国神经精神疾病杂志, 2016, 42(3): 150-155.
- (4) 中华医学会医学遗传学分会临床遗传学组, 中国医师协会医学遗传医师分会遗传病产前诊断专业委员会, 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识 (J). 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4): 293-296.
- (5) 肖瑾, 刘姣, 王敏, 等. 八例 22q11.2 区微重复胎儿产前诊断和妊娠结局分析 (J). 浙江大学学报, 2019, 48(4): 429-433.
- (6) 吴晓云, 田杰, ARCHER N.22q11.2 微缺失综合征 7 例相关临床表型及病因分析 (J). 中国实用儿科杂志, 2009, 24(5): 366-368.