

[出生缺陷预防]

无创产前检测在筛查胎儿染色体拷贝数变异中的应用价值分析

彭 圆, 黄晓莉

(淮安市妇幼保健院医学遗传与产前筛查科, 江苏 淮安 223002)

[摘要]目的 探讨无创产前检测(NIPT)技术在产前筛查胎儿染色体拷贝数变异(CNVs)中的临床意义及应用价值。方法 选择2018年1月至2021年7月在淮安市妇幼保健院进行NIPT检测,结果提示可能为胎儿CNVs的224例孕妇为研究对象;对其中171例孕妇进行了羊水穿刺及进一步的产前诊断[羊水染色体核型分析及染色体微阵列分析(CMA)],获得胎儿羊水样本171例。对比分析羊水染色体核型及CMA结果与NIPT结果,并进行随访。结果 根据CNVs不同类型分组,微缺失组占所有CNVs的54.02%(121/224),微重复组占所有CNVs的39.73%(89/224),微缺失合并微重复组占所有CNVs的6.25%(14/224);微缺失组、微重复组、微缺失合并微重复组羊水穿刺阳性预测值分别为56.67%、50.70%、80.00%,三组间阳性预测值比较差异无统计学意义($\chi^2=3.412, P>0.05$)。根据CNVs不同片段分组, $>10\text{Mb}$ 组占所有CNVs的18.75%(42/224), $5\sim10\text{Mb}$ 组占所有CNVs的20.54%(46/224), $<5\text{Mb}$ 组占所有CNVs的60.71%(136/224); $>10\text{Mb}$ 组、 $5\sim10\text{Mb}$ 组、 $<5\text{Mb}$ 组羊水穿刺阳性预测值分别为56.76%、60.00%、53.54%,三组间阳性预测值比较差异无统计学意义($\chi^2=0.465, P>0.05$)。在经过羊水穿刺进行染色体核型分析和CMA确诊的95例胎儿CNVs中,致病性CNVs占33.68%(32/95),可能致病性CNVs占21.05%(20/95),意义不明确CNVs占41.05%(39/95),可能良性CNVs占4.21%(4/95),无良性CNVs病例。对NIPT提示可能为胎儿CNVs的224例孕妇进行电话或者门诊随访,随访率为86.16%(193/224);但接受羊水穿刺的孕妇随访率为100.00%。在致病性CNVs中选择继续妊娠的孕妇共5例,有3例经对父母进行CMA验证发现CNVs来自母源,有2例拒绝验证,5例新生儿中均未见明显异常表型。在可能致病性CNVs中选择继续妊娠的孕妇共10例,有3例经对父母进行CMA验证发现CNVs分别来自父源、母源、新发突变,有7例拒绝验证。结论 应用NIPT对胎儿CNVs进行初步筛查有效且可行,对于NIPT提示可能为胎儿CNVs的孕妇,必须建议其进行规范的超声筛查及侵入性产前诊断。

[关键词]无创产前检测;染色体拷贝数变异;染色体微阵列分析;阳性预测值;产前诊断

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.02.013

[中图分类号]R17**[文献标识码]**A**[文章编号]**1673-5293(2024)02-0086-08

The application value analysis of non-invasive prenatal testing in fetal chromosomal copy number variation

PENG Yuan, HUANG Xiaoli

(Department of Medical Genetics and Prenatal Screening, Huai'an Maternal and Child Health Care Hospital, Jiangsu Huai'an 223002, China)

[Abstract] **Objective** To explore the clinical significance and application value of non-invasive prenatal testing (NIPT) technology in prenatal screening for fetal chromosomal copy number variations (CNVs). **Methods** 224 pregnant women who underwent NIPT testing at Huai'an Maternal and Child Health Hospital from January 2018 to July 2021, with results suggesting possible fetal CNVs, were selected as the study subjects. Amniocentesis and further prenatal diagnosis [amniotic fluid karyotyping and chromosome microarray analysis (CMA)] were performed in 171 of these pregnancies, and 171 fetal amniotic fluid samples were obtained. The results of amniotic fluid karyotyping and CMA were compared and analyzed with the results of NIPT and followed up. **Results** According to the grouping of different types of CNVs, the microdeletion group accounted for 54.02% (121/224) of all CNVs, the microduplication group accounted for 39.73% (89/224) of all CNVs, and the microdeletion-combined-microduplication group accounted for 6.25% (14/224) of all CNVs, the positive predictive values of amniocentesis in the microdeletion group, the microduplication group, and the microdeletion-combined-microduplication group were 56.67%, 50.70% and 80.00%, respectively, and the difference in positive predictive value among the three groups was not statistically significant ($\chi^2=3.412, P>0.05$).

[收稿日期]2022-03-17**[作者简介]**彭 圆(1981—),女,主治医师,主要从事产前诊断相关工作。**[通讯作者]**黄晓莉,主任医师。

According to the grouping of different segments of CNVs, >10Mb group accounted for 18.75% (42/224) of all CNVs, 5-10Mb group accounted for 20.54% (46/224) of all CNVs, <5Mb group accounted for 60.71% (136/224) of all CNVs, the positive predictive value of amniocentesis in >10Mb group, 5-10Mb group, <5Mb group were 56.76%, 60.00% and 53.54%, respectively, and the difference in positive predictive value among the three groups was not statistically significant ($\chi^2=0.465, P>0.05$). Among the 95 fetal CNVs diagnosed after amniocentesis for chromosomal karyotyping and CMA, pathogenic CNVs accounted for 33.68% (32/95), probable pathogenic CNVs accounted for 21.05% (20/95), CNVs of uncertain significance accounted for 41.05% (39/95), probable benign CNVs accounted for 4.21% (4/95), and there were no benign CNVs cases. 224 pregnant women whose NIPT suggested fetal CNVs were followed up by telephone or outpatient, the follow-up rate was 86.16% (193/224). However, the follow-up rate of pregnant women who underwent amniocentesis was 100.00%. A total of 5 pregnant women who chose to continue their pregnancy among pathogenic CNVs were found to have CNVs of maternal origin in 3 cases verified by CMA of the parents, 2 cases refused to be verified, and none of the 5 neonates showed any obvious abnormal phenotype. There were 10 cases of pregnant women who chose to continue pregnancy among the potentially pathogenic CNVs, 3 cases were found to have CNVs of paternal origin, maternal origin, and new mutations, respectively, by CMA of the parents, and 7 cases refused to be verified. **Conclusion** The application of NIPT for the preliminary screening of fetal CNVs is effective and feasible, and standardized ultrasound screening and invasive prenatal diagnosis must be recommended for pregnant women with possible CNVs indicated by NIPT.

[Key words] non-invasive prenatal testing; chromosomal copy number variations; chromosomal microarray analysis; positive predictive value; prenatal diagnosis

染色体拷贝数变异(chromosome copy number variations, CNVs)一般是指整倍体、非整倍体等染色体数目异常以外,由染色体结构片段变异引起的遗传性疾病,通常又称为染色体微缺失微重复。由于CNVs可以影响受精卵形成过程中遗传物质信息错误传递,也是导致不孕不育、受孕后自然流产及出生缺陷等不良事件的原因之一。已有报道的致病性CNVs近300种,合并发病率近0.17%(1/600)^[1]。无创产前检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)技术是从孕妇外周血中提取胎儿游离DNA(cell-free fetal DNA, cffDNA),通过新一代高通量测序技术,再结合生物信息分析,得出cffDNA相对量,计算出胎儿染色体异常的风险率。在本研究前期进行的NIPT中发现,除常规的21三体、18三体、13三体等染色体数目异常及性染色体疾病具有较高的阳性预测值外^[2],染色体拷贝数的缺失或重复也具有较高的阳性预测值。因此,本研究选择在淮安市妇幼保健院行NIPT且结果提示可能为胎儿CNVs的孕妇为研究对象,对其产前诊断结果及妊娠结局进行回顾性分析,探讨NIPT技术在筛查胎儿CNVs中的应用价值。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

2018年1月至2021年7月在淮安市妇幼保健

院进行NIPT的孕妇有21389例,选择NIPT结果提示可能为胎儿CNVs的224例孕妇为研究对象;对其中171例孕妇进行了羊水穿刺及进一步的产前诊断[羊水染色体核型分析及染色体微阵列分析(chromosome microarray analysis, CMA)],所有171例接受产前诊断的孕妇均签署羊水穿刺知情同意书,告知羊水染色体核型分析及CMA的价值及局限性,获得胎儿羊水样本171例。孕妇的年龄为21~46岁,平均为(25.2±3.2)岁;孕周为19~31周,平均为(23.1±2.1)周。通过门诊和电话随访等方式对所有研究对象进行妊娠结局和新生儿情况的随访。

纳入标准:单胎,自然妊娠的孕妇在1年内未接受过输血、移植手术或细胞治疗。排除标准:孕妇血清TORCH检测结果阳性,夫妻双方已知存在染色体数目或结构异常。

本研究已通过淮安市妇幼保健院医学伦理委员会批准(编号:2019036)。

1.2 方法

1.2.1 NIPT方法

在无菌条件下,随机抽取孕妇外周血10mL,送遗传实验室进行测序,测序设备为北京博奥生物集团有限公司的高通量测序仪(BioelectronSeq 4000),DNA提取试剂盒(磁珠法)为广东博奥木华基因科技有限公司生产。使用生物信息软件对测序结果进

行分析,获取样品染色体所占比例的 Z 值信息,以 $|Z|=3$ 为风险截断值, $|Z|<3$ 时判定为染色体非整倍体低风险, $|Z|\geq 3$ 时判定为染色体非整倍体高风险。对于 21 三体、18 三体、13 三体出具正式报告,其他染色体数目或结构异常出具辅助报告。对于所有 NIPT 提示 21 三体、18 三体、13 三体高风险或者其他染色体可能存在异常的孕妇,建议进一步进行遗传咨询、产前诊断和超声系统筛查。

1.2.2 羊水穿刺术及染色体核型分析和 CMA

在行羊水穿刺术前,应用彩色多普勒超声探查确定穿刺点,避开胎盘、胎儿,消毒、铺巾、进针,抽得 2 份 20mL 羊水样本,其中 1 份按照规范进行羊水细胞培养、中期染色体核型制备及核型分析,另 1 份按照试剂盒的操作说明进行规范的基因组 DNA 提取,通过质检后,用单核苷酸微阵列技术(Affymetrix CytoScan 750K)进行胎儿羊水 CMA。

根据羊水穿刺结果从胎儿 CNVs 的不同类型和 CNVs 的不同片段两方面进行分析。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 24.0 统计学软件对所有数据进行分

析,计数资料以例数(n)和百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NIPT 结果及产前诊断结果的比较

在 21 389 例孕妇中,经 NIPT 提示可能为胎儿 CNVs 的孕妇共有 224 例,其检出率为 1.05%(224/21 389),对 171 例孕妇进行了羊水穿刺及进一步的产前诊断,穿刺率为 76.34%(171/224),其中 95 例确诊为胎儿 CNVs,总阳性预测值为 55.56%(95/171)。

根据 CNVs 不同类型分组,NIPT 检出情况显示,微缺失组占有 CNVs 的 54.02%(121/224),微重复组占有 CNVs 的 39.73%(89/224),微缺失合并微重复组占有 CNVs 的 6.25%(14/224),见表 1。

根据 CNVs 不同片段分组,NIPT 检出情况显示, $>10\text{Mb}$ 组占有 CNVs 的 18.75%(42/224), $5\sim 10\text{Mb}$ 组占有 CNVs 的 20.54%(46/224), $<5\text{Mb}$ 组占有 CNVs 的 60.71%(136/224),见表 2。

表 1 不同类型 CNVs 的检出及诊断情况

Table 1 Detection and diagnosis of different types of CNVs

CNVs 类型	NIPT 检出情况		羊水穿刺情况		羊水穿刺结果			
	检出例数 (n)	构成比 (%)	羊水穿刺 例数(n)	穿刺率 (%)	染色体核型符合 例数(n)	CMA 符合 例数(n)	确诊合计 (n)	阳性预测值 (%)
微缺失组	121	54.02	90	74.38	7	51	51	56.67
微重复组	89	39.73	71	79.78	8	36	36	50.70
微缺失合并微重复组	14	6.25	10	71.43	5	8	8	80.00
合计	224	100.00	171	76.34	20	95	95	55.56

表 2 不同片段 CNVs 的检出及诊断情况

Table 2 Detection and diagnosis of different segments of CNVs

CNVs 片段	NIPT 检出情况		羊水穿刺情况		羊水穿刺结果			
	检出例数 (n)	构成比 (%)	羊水穿刺 例数(n)	穿刺率 (%)	染色体核型符合 例数(n)	CMA 符合 例数(n)	确诊合计 (n)	阳性预测值 (%)
$>10\text{Mb}$ 组	42	18.75	37	88.10	16	21	21	56.76
$5\sim 10\text{Mb}$ 组	46	20.54	35	76.09	2	21	21	60.00
$<5\text{Mb}$ 组	136	60.71	99	72.79	2	53	53	53.54
合计	224	100.00	171	76.34	20	95	95	55.56

2.2 胎儿 CNVs 的阳性预测情况

在 CNVs 不同类型组中,微缺失组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 51 例,阳性预测值为 56.67%;微重复组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 36 例,阳性预测值为 50.70%;微缺失合并微重复组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 8 例,阳性预测值 80.00%,三组间阳性预测值比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

在 CNVs 不同片段组中,>10Mb 组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 21 例,阳性预测值为 56.76%;5~10Mb 组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 21 例,阳性预测值为 60.00%;<5Mb 组 NIPT 与羊水穿刺诊断结果符合 53 例,阳性预测值为 53.54%,三组间阳性预测值比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

在 CNVs 片段<5Mb 组中,检测出 2 例 CMA 结果未见异常,但羊水染色体核型分析结果提示异常,1 例为 9 号染色体臂间倒位,核型结果为 46,XN,inv(9)(p11q13);另 1 例为 2 号与 3 号染色体间的平衡异位,核型结果为 46,XN,t(2;3)(q37;p11)。

2.3 产前诊断结果有关的妊娠结局情况

根据羊水穿刺结果显示,确诊胎儿 CNVs 共 95 例,经过与细胞基因组阵列的国际标准(international standards for cytogenomic arrays,ISCA)等数据库比对分析,将所检出 CNVs 的性质分为 5 类:致病性、可能致病性、意义不明确、可能良性、良性^[3-4]。

在经过羊水穿刺进行染色体核型分析和 CMA 确诊的 95 例胎儿 CNVs 中,致病性 CNVs 占 33.68%(32/95),可能致病性 CNVs 占 21.05%(20/95),意义不明确 CNVs 占 41.05%(39/95),可能良性 CNVs 占 4.21%(4/95),无良性 CNVs 病例。

根据产前诊断结果,结合后续的超声筛查,有 38 例孕妇选择了优生引产,其中致病性 CNVs 引产 27 例,可能致病性 CNVs 引产 10 例,意义不明确 CNVs 引产 1 例,无可能良性 CNVs 和良性 CNVs 引产病例,见表 4。

表 3 CNVs 不同类型和片段阳性预测值的比较

Table 3 Comparison of positive predictive value for different types and segments of CNVs

CNVs 类型和片段	羊水穿刺 例数(n)	真阳性 例数(n)	假阳性 例数(n)	阳性预测 值(%)
类型				
微缺失组	90	51	39	56.67
微重复组	71	36	35	50.70
微缺失合并微重复组	10	8	2	80.00
χ^2				3.412
P				0.208
片段				
>10Mb 组	37	21	16	56.76
5~10Mb 组	35	21	14	60.00
<5Mb 组	99	53	46	53.54
χ^2				0.465
P				0.792

表 4 CNVs 的产前诊断结果及妊娠结局(n)

Table 4 Prenatal diagnostic results of CNVs and pregnancy outcomes (n)

CNVs 性质	类型				片段				引产	继续妊娠
	微缺失	微重复	微缺失合并微重复	合计	>10Mb	5~10Mb	<5Mb	合计		
致病性	17	9	6	32	10	6	16	32	27	5
可能致病性	13	7	0	20	6	7	7	20	10	10
意义不明确	21	17	1	39	5	7	27	39	1	38
可能良性	0	3	1	4	0	1	3	4	0	4
良性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合计	51	36	8	95	21	21	53	95	38	57

2.4 对 NIPT 提示为胎儿 CNVs 孕妇的随访情况

对 NIPT 提示为胎儿 CNVs 的 224 例孕妇进行

电话或者门诊随访,其中有 31 例因拒绝门诊就诊或就诊后电话随访不配合导致失访,随访率为 86.16%(193/224);但接受羊水穿刺的孕妇随访率为

100.00%。对于产前诊断结果 CNVs 虽然为致病性和可能致病性,但选择继续妊娠的 15 例孕妇进行了随访和详细记录,见表 5。

在致病性 CNVs 中选择继续妊娠的孕妇共 5 例,有 3 例经对父母进行 CMA 验证发现 CNVs 来自母源,有 2 例拒绝验证,5 例新生儿中均未见明显异常表型。

在可能致病性 CNVs 中选择继续妊娠的孕妇共 10 例,有 3 例经对父母进行 CMA 验证发现 CNVs 分别来自父源、母源、新发突变;验证为新发突变的 10 号病例,新生儿出生后表现为智力低下合并肌张力低,另外 2 例新生儿中均未见明显异常表型。10 号病例的染色体核型分析及 CMA 结果显示,胎儿在 2 号染色体 2q12.1q14.3 区段存在 21.9Mb 片段的重复(见图 1),内含 BCL2L11(603827)、PAX8

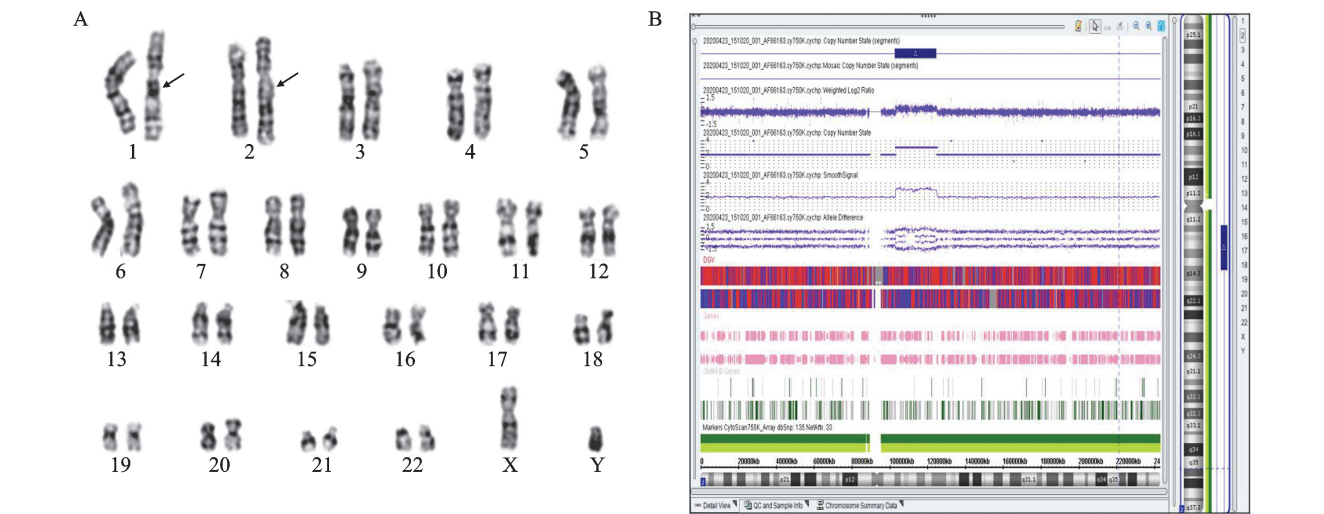
(167415)、GLI2(165230)等 74 个孟德尔(OMIM)基因;该片段内包含了累及 BCL2L11 基因的 2q13 复发区域[2q13 recurrent region(includes BCL2L11)]。

在可能致病性 CNVs 中选择继续妊娠的 10 例孕妇中,有 7 例拒绝验证,1 例为孕晚期死胎,1 例新生儿出生后表现为智力低下(1 号病例),另外 5 例新生儿中均未见明显异常表型。1 号病例的染色体核型分析及 CMA 结果为 5 号染色体 5p15.33p14.2 区带缺失 1 个拷贝,长约 23Mb(见图 2),该缺失在 Decipher 数据库中记录与行为异常、全面发育迟缓、新生儿张力减退、面容异常、心脏形态异常、不对称性身材矮小、认知障碍、多发畸形等有关。5p 部分单体综合征又称猫叫综合征,是最典型的染色体缺失综合征,是由染色体 5p 部分或完全缺失引起的。

表 5 产前诊断结果为致病性和可能致病性 CNVs 未引产孕妇的妊娠结局

Table 5 Pregnancy outcomes in pregnant women with prenatal diagnosis of pathogenic and possibly pathogenic CNVs who did not induce labor

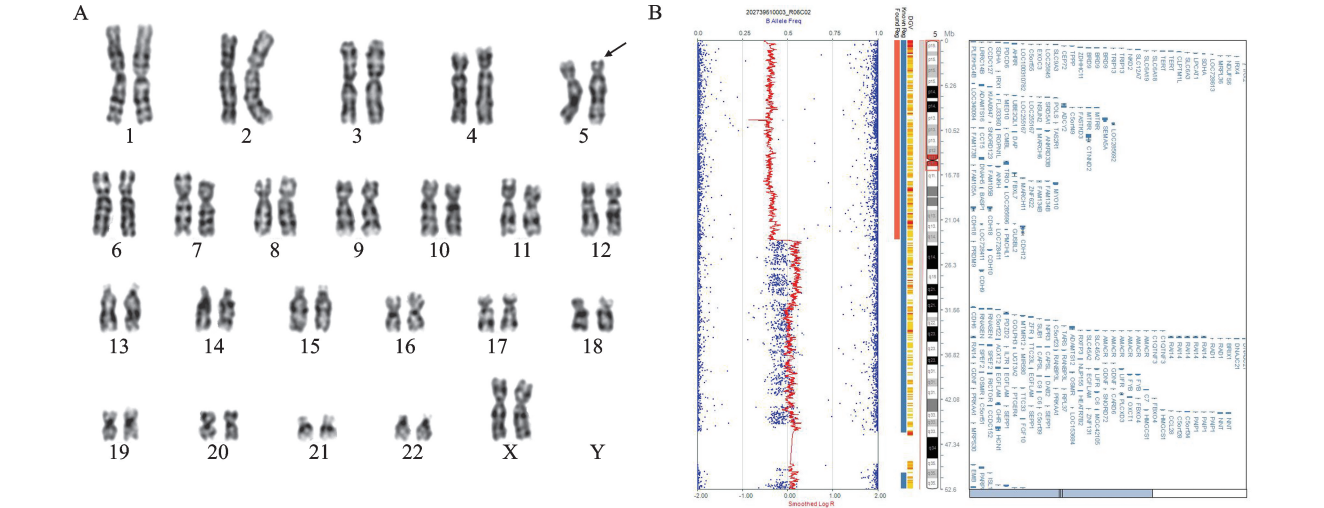
序号	NIPT 结果	致病性和可能致病性 CNVs 羊水结果		片段大小	性质	父母的验证结果	新生儿情况
		染色体核型分析	CMA				
1	5 号缺失	46,XN,del(5)(p14.2p15.3)	arr[hg19]5p15.33p14.2(38,139-23,389,253)×1	23Mb	可能致病性	拒绝验证	智力低下
2	X 长臂缺失	46,X,del(X)(q23)	arr[hg19]Xp22.31(6,386,248-8,141,017)×3; Xq23q28(110,798,069-152,651,757)×1	1.75Mb 重复, 41.9Mb 缺失	可能致病性	拒绝验证	孕晚期死胎
3	15 号缺失	46,XN	arr[hg19]15q13.2q13.3(30,955,149-32,513,176)×1	1.56Mb	可能致病性	拒绝验证	未见异常
4	22 号重复	46,XN	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×3	3.1Mb	可能致病性	拒绝验证	未见异常
5	17 号缺失	46,XN	arr[hg19]17q12(34,822,465-36,410,720)×1	1.5Mb	致病性	拒绝验证	未见异常
6	17 号重复	46,XN	arr[hg19]17p12(14,099,504-15,424,086)×3	1.3Mb	可能致病性	拒绝验证	未见异常
7	22 号重复	46,XN	arr[hg19]22q11.21(18,970,561-21,800,471)×3	2.8Mb	可能致病性	拒绝验证	未见异常
8	X 长臂缺失	46,XN	arr[hg19]Xq27.3q28(14,295,184-147,171,818)×0	4.2Mb	可能致病性	拒绝验证	未见异常
9	10 号缺失	46,XN	arr[hg19]10q11.22q21.1(46,14,3401-55,616,605)×1	9.4Mb	可能致病性	母源	未见异常
10	2 号重复	46,XY,1qh+,dup(2)(q12q14)	arr[hg19]2q12.1q14.3(10,2974,221-124,876,241)×3	21.9Mb	可能致病性	新发突变	智力低下,肌张力低
11	17 号缺失	46,XN	arr[hg19]17q12(14,060,292-15,513,053)×1	1.4Mb	可能致病性	父源	未见异常
12	22 号重复	46,XN	arr[hg19]22q11.21(18,919,477-21,800,417)×3	3.1Mb	致病性	母源	未见异常
13	22 号重复	46,XN	arr[hg19]22q11.21(18,649,190-21,915,207)×3	3.2Mb	致病性	母源	未见异常
14	15 号缺失	46,XN	arr[hg19]15q26.1(91,268,054-93,713,666)×1	2.4Mb	致病性	拒绝验证	未见异常
15	22 号重复	46,XN	arr[hg19]22q11.21(18,974,543-2,180,047)×3	2.8Mb	致病性	母源	未见异常



注:A为10号病例的染色体核型分析结果:46,XY,1qh+,dup(2)(q12q14),箭头表示异常染色体核型位置;B为10号病例的CMA结果:arr[hg19]2q12.1q14.3(10,2974,221-124,876,241)×3。

图 1 10 号病例的染色体核型分析及 CMA 结果

Fig.1 Chromosome karyotype and CMA results in case 10



注:A为1号病例的染色体核型分析结果:46,XN,del(5)(p14.2p15.3),箭头表示异常染色体核型位置;B为1号病例的CMA结果:arr[hg19]5p15.33p14.2(38,139-23,389,253)×1。

图 2 1 号病例的染色体核型分析及 CMA 结果

Fig.2 Chromosome karyotype and CMA results in case 1

3 讨论

3.1 NIPT 相对于传统筛查的优点

相较于传统的血清学筛查,NIPT 对于胎儿染色体疾病筛查方面检测准确度更高,检测范围更全面,同时因其具有无创、方便、快捷的优点,已经广泛应用于临床。随着新一代高通量测序技术的发展,除了胎儿染色体非整倍体等数目异常外,NIPT 还能检测出胎儿 CNVs。目前,对于 NIPT 胎儿染色体数目异常方面的研究很多,但关于 NIPT 应用于胎儿 CNVs 检测的报道相对较少^[5]。本研究经

NIPT 提示可能为胎儿 CNVs 的孕妇检出率为 1.05%(224/21 389),与文献报道^[6-10]的 NIPT 对胎儿 CNVs 的检出率为 0.175%~1.600%相符。本研究经羊水穿刺产前诊断后得到的阳性预测值为 55.56%(95/171),与丁昭宁等^[11]报道的 60.0%基本一致。充分肯定了 NIPT 在胎儿 CNVs 筛查方面的应用价值。

3.2 NIPT 检测结果的病例分析

随着 NIPT 的广泛应用,其检测范围从常见的 21 三体、18 三体和 13 三体等染色体疾病,逐渐扩展

到了 CNVs 的检测,从而进一步减少了染色体疾病胎儿的出生。本研究中的 10 号病例,羊水穿刺染色体核型分析及 CMA 结果显示,胎儿在 2 号染色体 2q12.1q14.3 区段存在 21.9Mb 片段的重复,其内包含了 BCL2L11 (603827)、PAX8 (167415)、GLI2 (165230)等 74 个孟德尔(OMIM)基因。有研究显示,在发育迟缓、畸形等临床表型患者中检测到累及 BCL2L11 基因的 2q13 区段的重复,部分患者为遗传自表型正常或者轻微异常的父母(PMID: 21255006,26227573);其中 PAX8 基因杂合突变与常染色体显性遗传的先天性非甲状腺肿的甲状腺功能减退 2 型疾病有关,临床表型包括不能生长发育、智力障碍、甲状腺功能减退等;GLI2 基因杂合突变与常染色体显性遗传的前脑无裂畸形 9 型疾病有关,临床表型包括前脑无裂畸形、垂体发育不全伴全垂体功能减退、轴后多指畸形等^[4]。也有研究显示,在身材矮小、小头畸形、短头畸形、先天性青光眼、智力障碍等临床表型的患者中检测到 2q11.2q14.2 区段的重复;该病例经父母 CMA 验证后确定为新发突变及可能致病性 CNVs,随访胎儿出生后的临床表型,与羊水穿刺分析结果相符^[12]。

3.3 NIPT 对于 CNVs 的验证价值分析

有研究显示,NIPT 对于胎儿 CNVs 检出率与母体血浆中 cfDNA 含量及 CNVs 片段不同大小密切相关^[13]。本研究中根据 CNVs 不同类型分组,NIPT 对于微缺失、微重复、微缺失合并微重复三组间阳性预测值分别为 56.67%、50.70%、80.00%,其中微重复组的阳性预测值最低、微缺失合并微重复组的阳性预测值最高,但三组间阳性预测值比较差异无统计学意义,可以认为 NIPT 对于微缺失、微重复、微缺失合并微重复三组间的检测价值方面无区别,国内外文献中从该角度报道的可查询文献较少。本研究中根据 CNVs 不同片段分组,NIPT 对于 >10Mb、5~10Mb、<5Mb 三组间阳性预测值分别为 56.76%、60.00%、53.54%,其中 <5Mb 组的阳性预测值最低、5~10Mb 组的阳性预测值最高,但三组间阳性预测值比较差异无统计学意义。这与张颖等^[14]的研究结果一致。

3.4 NIPT 假阴性与假阳性的分析

本研究中进行羊水穿刺的 171 例孕妇,羊水染

色体核型分析及 CMA 确诊 CNVs 共 95 例,结果阴性 76 例。分析 NIPT 在检测染色体片段发生假阳性与假阴性的原因,可能是由于 cfDNA 浓度过低、限制性胎盘嵌合(1%~2%概率)、母体染色体异常、NIPT 测序深度不够、测序数据量不足等因素导致^[15-17]。2015 年,国际产前诊断学会(International Society for Prenatal Diagnosis,ISPD)更新了 NIPT 的检测指南,提出对于 NIPT 范围的扩大应当限制在研究相对明确的且有异常临床表型微缺失或者微重复综合征,对于 NIPT 提示可能为 CNVs 异常的孕妇,必须建议其进行规范的超声筛查及侵入性产前诊断,以获取胎儿样本进行确诊,对于部分产前诊断结果还要进行父母 CMA 的验证。

综上所述,利用 NIPT 对于胎儿 CNVs 进行初步筛查是有效且可行的^[18-19],特别是对致病风险 $\geq 5\text{Mb}$ 的 CNVs^[20]。对于有 CNVs 异常风险的胎儿,在经产前诊断后应及时给予干预,建议终止妊娠。NIPT 筛查可以有效地减少侵入性产前诊断的人数,也降低了有创性产前诊断可能导致的不必要的胎儿丢失风险。但要明确的是,NIPT 技术仍然是一项筛查检测,还需要对其检测的精准性进行大样本的临床验证,目前还不能完全取代胎儿样本 CMA 结果,不能作为终止妊娠的金标准^[21]。本研究中未能对羊水穿刺结果确诊为致病性和可能致病性 CNVs 的所有胎儿进行父母 CMA 的验证,且对于新生儿结局的随访结果主要是电话沟通获得信息,缺少专业新生儿科医师的规范诊断,在后续的研究中需要注意改进。

[参考文献]

- [1]刘学军,刘慈,马良,等.无创产前筛查检测胎儿染色体缺失或重复的应用价值分析[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(7):811-813,860.
- [2]黄晓莉,孙丽洲.无创产前检测在胎儿性染色体疾病筛查中应用的临床研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2022,42(7):1018-1024,1035.
- [3]Manning M,Hudgins L.Addendum:array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice fordetection of chromosomal abnormalities[J].Genet Med,2020,22(12):2126.

[4] Yu H E, Hawash K, Picker J, et al. A recurrent 1.71Mb genomic imbalance at 2q13 increases the risk of developmental delay and dysmorphism[J]. Clin Genet, 2012, 81(3):257-264.

[5] 黎冬梅, 张红云, 唐新华, 等. 无创产前检测胎儿染色体拷贝数变异的临床价值初探[J]. 中国实用妇科和产科杂志, 2019, 35(5):554-559.

[6] Yang J, Wu J, Peng H, et al. Performances of NIPT for copy number variations at different sequencing depths using the semiconductor sequencing platform[J]. Hum Genomics, 2021, 15(1):41.

[7] Chen Y, Lu L, Zhang Y, et al. Clinical application of expanded noninvasive prenatal testing for fetal chromosome abnormalities in a cohort of 39 580 pregnancies[J]. Am J Med Genet A, 2022, 188(5):1426-1434.

[8] Chen Y, Yu Q, Mao X, et al. Noninvasive prenatal testing for chromosome aneuploidies and subchromosomal microdeletions/ microduplications in a cohort of 42 910 single pregnancies with different clinical features[J]. Hum Genomics, 2019, 13(1):60.

[9] Hu H, Wang L, Wu J, et al. Noninvasive prenatal testing for chromosome aneuploidies and subchromosomal microdeletions/ microduplications in a cohort of 8 141 single pregnancies[J]. Hum Genomics, 2019, 13(1):14.

[10] Wang C, Tang J, Tong K, et al. Expanding the application of non-invasive prenatal testing in the detection of foetal chromosomal copy number variations[J]. BMC Med Genomics, 2021, 14(1):292.

[11] 丁昭宁, 白文学, 刘文兰, 等. NIPT-plus 在无创产前检测 CNV 中的临床价值分析[J]. 江西医药, 2020, 55(10):1359-1362.

[12] Riley K N, Catalano L M, Bernat J A, et al. Recurrent deletions and duplications of chromosome 2q11.2 and 2q13 are associated with variable outcomes[J]. Am J Med Genet A, 2015, 167A(11):2664-2673.

[13] 文思敏, 隗伏冰, 何怡, 等. 基于大规模平行测序的无创检测技术在胎儿染色体缺失或重复检测中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(5):557-560.

[14] 张颖, 温艳, 温树国, 等. NIPT 对不同孕妇群体的染色体疾病及 CNVs 的诊断价值的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28(6):691-694.

[15] 黄晓莉, 孙丽洲. 218 例侧脑室增宽胎儿的染色体检测结果和妊娠结局分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2021, 41(4):593-599, 633.

[16] Yu D, Zhang K, Han M, et al. Noninvasive prenatal testing for fetal subchromosomal copy number variations and chromosomal aneuploidy by low-pass whole-genome sequencin[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(6):e674.

[17] Suzumori N, Sekizawa A, Takeda E, et al. Retrospective details of false-positive and false- negative results in non-invasive prenatal testing for fetal trisomies 21, 18 and 13[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2021, 256:75-81.

[18] Fleddermann L, Hashmi S S, Stevens B, et al. Current genetic counseling practice in the United States following positive non-invasive prenatal testing for sex chromosome abnormalities[J]. J Genet Couns, 2019, 28(4):802-811.

[19] Feng W, Liu G, Qin J. Ginkgo biloba Damo injection combined with troxerutin regulates the TLR4/NF-κB pathway and promotes the recovery of patients with acute cerebral infarction[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(4):3344-3350.

[20] 邹卉, 李育霖, 田丽萍. 中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症诊治进展[J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(1):22-25.

[21] 叶小青. 无创产前检测技术对胎儿染色体拷贝数变异的研究[D]. 广州: 广州医科大学, 2020.

[专业责任编辑: 陈 倩]

[中文编辑: 王 懿; 英文编辑: 张博星]