

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.10.005

❖ 临床研究 ❖

传统染色体核型分析及 CMA 在产前诊断中的应用价值比较

张金花, 余珍, 王丽霞, 李好

(乌鲁木齐市妇幼保健院产前诊断中心, 新疆 乌鲁木齐 833000)

【摘要】目的: 比较传统染色体核型分析和染色体微阵列分析(CMA)在产前诊断中的应用价值。**方法:** 选取因高龄、超声检查异常、不良孕产史、遗传病家族史、唐筛高风险及无创筛查结果异常接受产前诊断的453例孕妇为研究对象,所有孕妇均接受传统染色体核型分析和CMA,对两种检测方法的结果进行对比分析。**结果:** 染色体核型分析检出染色体变异43例(9.49%),CMA检出染色体变异51例(11.26%),两种检测方法的检查结果符合率为82.86%,染色体变异检出率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。CMA可更好地检出染色体微重复和微缺失,染色体核型分析则可更好地检出染色体平衡易位和嵌合体。单项诊断指征异常孕妇与两项及以上诊断指征异常孕妇的染色体核型分析或CMA的染色体变异检出率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);CMA在两项及以上诊断指征异常孕妇中染色体变异检出率高于染色体核型分析($P < 0.05$),两种检查方法对单项诊断指征异常孕妇的染色体变异检出率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:** 传统染色体核型分析及CMA在孕妇染色体变异的检出方面效果相当,具有一定互补性,临床可将两种检查方法联合应用在产前诊断中,以提高染色体变异检出率。

【关键词】 产前诊断;染色体核型分析;染色体微阵列分析

【中图分类号】 R714.5 **【文献标志码】** A

Comparison on the application value of traditional karyotype analysis and CMA in prenatal diagnosis

ZHANG Jin-hua, YU Zhen, WANG Li-xia, LI Yu

(Prenatal Diagnosis Center, Urumqi Maternal and Child Health Hospital, Urumqi 833000, Xinjiang, China)

【Abstract】 Objective: To explore the application value of traditional karyotype analysis and chromosome microarray analysis (CMA) in prenatal diagnosis. **Methods:** A total of 453 pregnant women undergoing prenatal diagnosis in prenatal diagnosis center of the hospital due to abnormal results (advanced age, abnormal ultrasound, history of adverse pregnancy, family history of genetic diseases, high risk of Tang screening, non-invasive screening) were enrolled. All were tested for traditional karyotype analysis and CMA. The results of the two methods were compared and analyzed. **Results:** There were 43 cases (9.49%) and 51 cases (11.26%) with chromosome variation detected by karyotype analysis and CMA, respectively. The coincidence rate of the two methods was 82.86%. The difference in detection rate of chromosome variation between the two was not statistically significant ($P > 0.05$). CMA could better detect chromosomal micro-duplication and micro-deletions, while karyotype analysis could better detect chromosomal balanced translocation and mosaicism. For pregnant women with abnormal single diagnostic indication and those with abnormal two or more diagnostic indications, differences in detection rate of chromosome variation between karyotype analysis or CMA were statistically significant ($P < 0.05$). For pregnant women with abnormal two or more diagnostic indications, detection rate of chromosome variation by CMA was significantly higher than that by karyotype analysis ($P < 0.05$). For pregnant women with abnormal single diagnostic indication, there was no significant difference in detection rate of chromosome variation between the two methods ($P > 0.05$). **Conclusion:** The detection effect of traditional karyotype analysis and CMA is comparable for chromosome variation in pregnant women, and the two methods are complementary. Clinically, they can be combined in prenatal diagnosis to increase detection rate of chromosome variation.

【Key words】 Prenatal diagnosis; Karyotype analysis; Chromosome microarray analysis

染色体异常是导致胎儿流产、新生儿先天性畸形的常见因素之一,在孕期对孕妇行染色体检查可

基金项目: 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市卫生健康委员会基金(201925)

作者简介: 张金花(1981-),女,硕士,主管检验师。E-mail: zjh20210502@126.com

通讯作者: 李好。E-mail: 935453579@qq.com

有效筛查染色体异常疾病,降低先天性畸形患儿的出生率^[1]。染色体核型分析是临床遗传学病因诊断的“金标准”,在染色体畸变诊断方面具有重要的意义^[2]。但部分研究^[3]发现,染色体核型分析在识别微小缺失或重复、不平衡易位方面准确率较低。染色体微阵列分析(chromo-some microarray analysis, CMA)是一种新型的分子核型分析技术,可在全基因组范围内识别微缺失和微重复,对染色体拷贝数变异(copy number variations, CNVs)具有较高的诊断准确率,可为临床遗传学病因诊断提供更高的染色体变异信息。但也有学者^[4]认为,CMA 结果分析复杂,对平衡易位、<30%嵌合体等染色体异常检出率较低,临床无法完全替代染色体核型分析。本研究拟评估传统染色体核型分析和 CMA 在产前诊断中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2020 年 12 月于乌鲁木齐市妇幼保健院产前诊断中心 453 例接受传统染色体核型分析和 CMA 的孕妇为研究对象。纳入标准:(1)满足以下任意一项诊断指征^[5]:①年龄 ≥ 35 岁;②产前超声检查提示超声异常,包括胎儿发育异常、可疑畸形、羊水过多或过少等;③存在不良孕产史;④夫妻一方存在遗传病家族史;⑤产前血清学筛查高风险,包括唐筛高风险、无创筛查结果异常等;(2)孕妇均为单胎妊娠;(3)所有孕妇均知情同意,并签署知情同意书。排除标准:(1)产前检查存在致死性超声结构异常;(2)存在羊膜腔穿刺禁忌症。其中,孕妇年龄为 22~42 岁;孕周为 15~34 周;产前检查具有单项诊断指征异常 325 例,两项及以上诊断指征异常 128 例。研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 染色体核型分析 (1)羊水细胞培养:B超探头引导下,经腹行羊膜腔穿刺术,常规抽取羊水 30 mL;1 500 rpm 离心 10 min,20 mL 离心弃上清后置于不同羊水培养基中,于不同二氧化碳细胞培养箱中培养 5~7 d,培养温度为 37℃,二氧化碳浓度为 5%;收获前加入 10 μ L 秋水仙碱,固定、制片后行常规 G 显带染色体核型分析。(2)染色体核型分析:参考 2016 年人类细胞遗传学国际命名体系 (ISCN2016)进行核型分析^[6],使用全自动核型扫描仪(Leica SL120 型,德国徕卡微系统有限公司)扫描 100 个分裂相,计数 20 个核型,分析 5 个,异常核型及嵌合体加倍计数至 50 个。

1.2.2 CMA (1)全基因组 DNA 提取:取孕妇羊水 10 mL,使用 DNA 提取试剂盒(QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit)提取基因组 DNA, -20℃下保藏待测。(2)CMA:取 5 μ L 全基因组 DNA, Nsp I 酶消化,消化后补齐产物末端,连接共同引物;扩增样本 DNA 至 150~2000 bp,磁珠法进行纯化;纯化后的产物经片段化酶片段化并标记;采用全基因组 Affymetrix Cytoscan 750K Array 芯片(美国 Affymetrix 公司)用于检测全基因组中有临床意义的染色体微缺失/微重复、染色体亚端粒缺失综合征等异常的 CNVs 和杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH);实验流程按照 Affymetrix 公司提供的实验操作流程进行,数据经 ChAS 软件(美国 Thermo 公司)进行处理,检测结果与 DECIPHER 数据库、DGV 数据库、Genes-NCBI 数据库和 OMIM 数据库进行对比,根据美国医学遗传学会对基因芯片拷贝数变异结果解读指南^[7]进行分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS20.0 软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用 *t* 检验;计数资料以[n(%)]表示,组间比较行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕妇染色体核型分析结果

453 例孕妇羊水细胞培养及染色体核型分析均成功(100.00%),共检出染色体变异 43 例(9.49%),其中染色体数目异常 29 例(6.40%)、染色体结构异常 8 例(1.77%)、染色体多态变异 6 例(1.32%)。染色体数目异常包括非整倍体 26 例(5.74%),嵌合体 3 例(0.66%);染色体结构异常包括平衡重组 2 例(0.44%),非平衡重组 5 例(1.10%),标记染色体 1 例(0.22%)。

2.2 孕妇 CMA 结果

453 例孕妇 CMA 均成功(100.00%),共检出染色体变异 51 例(11.26%),其中临床致病性 CNVs 28 例(6.18%),临床意义不明 CNVs 12 例(2.65%),可能临床致病性 CNVs 5 例(1.10%),良性 CNVs 4 例(0.88%),LOH 2 例(0.44%)。

2.3 染色体核型分析与 CMA 结果比较

染色体核型分析与 CMA 的染色体变异检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.760, P = 0.383$)。染色体核型分析与 CMA 结果均异常的 35 例,检查结果相符合 29 例(82.86%),不符合 6 例(17.14%)。染色体核型分析与 CMA 均可检出染色体数目异常、染色体大片段重复和缺失;染色体核

型分析可检出染色体倒位和嵌合,但对 CNVs 检查敏感度较低;CMA 可检出 CNVs、LOH,但对染色体倒位和嵌合的检出位点与染色体核型分析不同。见表 1。

2.4 染色体核型分析正常但 CMA 异常病例分析
CMA 检出的 51 例染色体变异孕妇中,10 例染色体核型分析正常。见表 2。

表 1 染色体核型分析与 CMA 染色体变异中检测结果不符合病例分析

序号	染色体核型	CMA
1	46,XX,t(11;22)(q25;q13.1)	arr[hg19]8q11.21q11.23(50,080,144-53,294,735)×3
2	46,XX,9cenh+	arr(1-22)×2,(XN)×1
3	46,XY,inv(9)(p11q12),6ph+	arr[hg19]Xp22.31(6,445,152-8,135,568)×0
4	45,X,inv(9)(p11q3)	arr[hg19]12q23.3q24.31(104,775,109-124,110,122)×2
5	45,X[74]/47,XXY[2]/46,XY≤21[24]	arr[hg19]Yq11.221q11.23(19,567,327-28,799,654)×0
6	45,X[19]/46,XY[81]	arr[hg19]Xp22.33(542,708-1,194,992)×3

表 2 染色体核型分析正常但 CMA 异常病例分析

序号	CMA	CNVs	结果判读
1	arr[hg19]16p11.2(29,351,826-30,190,029)×1	838 Kb	16p11.2 微缺失综合征
2	arr[hg19]17p12 q12(15,688,146-32,181,018)×2 hmz	16.5 Mb	隐性遗传病患病风险增加
3	arr[hg19]16q23.1(77,096,284-78,609,592)×3	1.53 Mb	临床意义不明
4	arr[hg19]22q11.21(18,631,364-21,800,471)×1	3.17 Mb	22q11 缺失综合征
5	arr[hg19]4p16.3p16.1(68,345-9,523,073)×1	9.45 Mb	Wolf-Hirschhorn 综合征
6	arr[hg19]22q11.2(18,877,787-21,462,353)×1	2.63 Mb	22q11 微缺失综合征
7	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×1	3.15 Mb	DiGeorge 综合征
8	arr[hg19]22q11.2(18,892,575-21,480,200)×1	2.62 Mb	22q11 微缺失综合征
9	arr[hg19]Xp22.33(168,551-920,124)×1	753 Kb	软骨生成障碍
10	arr[hg19]16q23.1(77,096,284-78,609,592)×3	1.51 Mb	临床意义不明

2.5 染色体核型分析结果异常但 CMA 正常病例分析

染色体核型分析检出的 43 例染色体变异孕妇中,7 例 CMA 结果正常。见表 3。

表 3 染色体核型分析结果异常但 CMA 正常病例分析

序号	染色体核型
1	46,Xn,t(4;11)(p16.1;q13.1)
2	45,Xn,der(13;14)(q10;q10)
3	47,Xn,+mar[25]/46,XX[75]
4	46,Xn,t(18;20)(p11.2;p13)
5	46,Xn,t(1;21)(q32;q22)
6	46,Xn,ins(11;6)(q23.1;q15q12)
7	47,Xn,+9[5]/46,Xn[98]

2.6 染色体核型和 CMA 对不同产前检查结果孕妇的染色体变异检出率比较

453 例孕妇中,产前检查具有单项诊断指征异常 325 例,两项及以上诊断指征异常 128 例,染色体核型分析和 CMA 的染色体变异检出率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);CMA 在两项及以上诊断

指征异常孕妇中染色体变异检出率高于染色体核型分析($P < 0.05$),两种检查方法对单项诊断指征异常孕妇的染色体变异检出率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 染色体核型和 CMA 对不同产前检查结果孕妇的染色体变异检出率比较[n(%)]

组别	染色体核型分析	CMA	χ^2 值	P 值
单项诊断指征异常(n=325)	24(7.38)	24(7.38)	0.390	0.532
两项及以上诊断指征异常(n=128)	19(14.84)	27(21.09)	4.590	0.032
χ^2 值	5.947	17.275		
P 值	0.015	<0.001		

3 讨论

CNVs 广泛存在于人类基因组中 1 Kb ~ 3 Mb 的染色体变异,其中包括传统染色体核型分析无法检测的微缺失及微重复,与新生儿出生缺陷密切相关^[8]。染色体核型分析作为产前诊断的主要方法,对染色体易位、倒位、三倍体和嵌合体等多种染色体异常诊断准确度较高,但该技术耗时较长、分辨率较

低,对于 ≤ 5 Mb 的染色体变异无法做出正确判断^[9]。CMA 分辨率高,且无需进行细胞培养,可检出 50~100 Kb 染色体变异。胡婷等^[10]发现与传统染色体核型分析结果相比,CMA 可明显提高超声异常胎儿染色体异常的检出率。

本研究显示,453 例孕妇染色体核型分析及 CMA 均成功检测,两种检测方法的染色体变异检出率比较,无明显差异,与李闪闪等^[11]研究基本一致。针对产前检查存在诊断指征异常的孕妇行 CMA 和染色体核型分析有助于临床胎儿染色体异常的诊断及评估。本研究进一步比较两种检测方法的结果可知,染色体核型分析与 CMA 结果均异常的 35 例,检查结果相符合 29 例(82.86%),不符合 6 例(17.14%)。其中,染色体核型分析与 CMA 均可检出染色体数目异常、染色体大片重复和缺失;染色体核型分析可检出染色体倒位和嵌合,但对 CNVs 检查敏感度较低;CMA 可检出 CNVs、LOH,但对染色体倒位和嵌合的检出位点与染色体核型分析不同。染色体微缺失/微重复改变了正常基因组部分片段的拷贝数,CMA 技术可一次性分析大量基因组序列,实现了对全基因组的均匀覆盖,可对全基因组内的微缺失/微重复区域同时进行检测,对于 CNVs 的诊断存在明显优势^[12]。本研究中,10 例染色体核型分析正常孕妇,经 CMA 诊断为染色体变异。除 2 例临床意义不明外,均具有明确的致病性。CMA 可检出约 3.17 Mb、753 Kb 的 22 q11.21 缺失和 Xp 22.33 缺失,染色体核型分析无法检出,表明 CMA 在检测 CNVs 方面具有较高的分辨率和敏感度。史杨等^[13]也发现 CMA 较传统的染色体核型分析能额外检出 CNVs,从而提高染色体结构异常的检出率。本研究表明,7 例染色体核型分析结果显示为染色体变异的孕妇,经 CMA 结果正常。染色体异常包括易位、倒位、嵌合等,提示与 CMA 相比,染色体核型分析可更好地检出染色体平衡易位和嵌合体。这可能与染色体嵌合比例较低,CMA 无法检出有关^[14]。本研究还发现,单项诊断指征异常孕妇与两项及以上诊断指征异常孕妇的染色体核型分析、CMA 的染色体变异检出率比较,差异均有统计学意义;CMA 在两项及以上诊断指征异常孕妇中染色体变异检出率明显高于染色体核型分析。这可能与产前筛查对于目标染色体异常的检出率较高有关^[15]。因此,临床针对存在诊断指征异常的孕妇,应考虑及时行染色体核型分析、CMA 产前诊断。

综上所述,传统染色体核型分析及 CMA 在孕妇

染色体变异的检出方面效果相当,具有一定互补性,临床可将两种检查方法联合应用在产前诊断中,以提高染色体变异检出率,从而降低新生儿出生缺陷。

参考文献

- [1] He M, Zhang Z, Hu T, *et al.* Chromosomal microarray analysis for the detection of chromosome abnormalities in fetuses with echogenic intracardiac focus in women without high-risk factors[J]. *Medicine*, 2020, 99(5): e19014.
- [2] Zheng Y, Wan S, Dang Y, *et al.* Clinical experience regarding the accuracy of NIPT in the detection of sex chromosome abnormality [J]. *Journal of Gene Medicine*, 2020, 22(8): e3199.
- [3] Hao M, Li L, Zhang H, *et al.* The difference between karyotype analysis and chromosome microarray for mosaicism of aneuploid chromosomes in prenatal diagnosis[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2020, 34(12): e23514.
- [4] Sinkey RG, Odibo AO. Cost-effectiveness of old and new technologies for aneuploidy screening[J]. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2016, 36(2): 237-248.
- [5] 黄如纯,皮回春,高玉山,等. 染色体核型分析与单核苷酸多态性微阵列检测在高危孕妇产前诊断的应用[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(4): 397-400.
- [6] McGowan Jordan J. ISCN 2016: An international system for human cytogenomic nomenclature[J]. *Blood*, 2016, 108(12): 3952-3957.
- [7] 吴畏,刘嘉茵. 美国医学遗传学会对基因芯片拷贝数变异结果解读指南[J]. *国际生殖健康计划生育杂志*, 2014, 16(3): 217-222.
- [8] Murakami F, Tsuboi Y, Takahashi Y, *et al.* Short somatic alterations at the site of copy number variation in breast cancer[J]. *Cancer Science*, 2021, 112(1): 444-453.
- [9] Heft IE, Mostovoy Y, Levy-Sakin M, *et al.* The driver of extreme human-specific olouvai repeat expansion remains highly active in the human genome[J]. *Genetics*, 2020, 214(1): 179-191.
- [10] 胡婷,王嘉敏,张竹,等. 染色体微阵列分析技术在超声异常胎儿产前诊断中的应用[J]. *中华遗传学杂志*, 2017, 34(3): 317-320.
- [11] 李闪闪,张艳芳,谢丰华,等. CMA 和核型分析在胎儿染色体异常诊断中的临床价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(3): 126-129.
- [12] Pei J, Flieder DB, Talarchek JN, *et al.* Clinical application of chromosome microarray analysis in the diagnosis of lipomatous tumors [J]. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2021, 17(6): 1251-1254.
- [13] 史杨,时盼来,白周现,等. 染色体微阵列分析在无创产前筛查非整倍体高风险中的应用价值[J]. *实用妇产科杂志*, 2020, 36(3): 227-230.
- [14] 张文玲,刘晓婷,张立文,等. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用综述[J]. *解放军医学院学报*, 2018, 39(12): 90-93.
- [15] Halliday JL, Muller C, Charles T, *et al.* Offering pregnant women different levels of genetic information from prenatal chromosome microarray: A prospective study[J]. *European Journal of Human Genetics*, 2018, 26(4): 485-494.

(收稿日期:2021-04-16

修回日期:2021-06-20)