

# CMA 和核型分析在胎儿染色体异常诊断中的临床价值\*

李闪闪<sup>1</sup>, 张艳芳<sup>2</sup>, 谢丰华<sup>2</sup>, 李冬秀<sup>2</sup>, 黄 湘<sup>2</sup> (1. 南方医科大学第二临床医学院, 广州 510000; 2. 南方医科大学附属中山博爱医院产前诊断中心, 广东中山 528400)

**摘要:**目的 回顾性分析胎儿染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)和核型分析的检测结果, 评价两者诊断胎儿染色体异常的临床价值。**方法** 选取 347 例因超声异常、高龄、唐筛高风险及无创结果异常等选择有创 CMA 和核型分析的胎儿作为研究对象, 对两者染色体结果进行分析以明确其临床价值。**结果** CMA, 核型分析的染色体异常检出率分别为 10.95% 和 9.22%, 相符率 89.63%, 两者染色体异常检出率差异无统计学意义( $P=0.362$ ); CMA 能敏感地检出染色体微重复和微缺失, 核型分析能更好地检出染色体平衡易位。**结论** 核型分析和 CMA 在染色体异常的检出中具有互补性, 临床医生应合理地将 CMA 结合核型分析应用于有创产前诊断, 以提高染色体异常检出率, 减少新生儿出生缺陷。

**关键词:**核型分析; 染色体微阵列分析; 染色体病; 产前诊断

中图分类号: R394-33 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)03-126-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.032

## Clinical Value of CMA and Karyotype Analysis in Diagnosis of Fetal Chromosomal Abnormalities

LI Shan-shan<sup>1</sup>, ZHANG Yan-fang<sup>2</sup>, XIE Feng-hua<sup>2</sup>, LI Dong-xiu<sup>2</sup>, HUANG Xiang<sup>2</sup>

(1. the Second School of Clinical Medicine, Southern Medical University,

Guangzhou 510000, China; 2. Prenatal Diagnosis Center, Boai Hospital

Affiliated to Southern Medical University, Guangdong Zhongshan 528400, China)

**Abstract:** **Objective** To retrospective analyze the results of chromosome microarray(CMA) and karyotype in fetus, and evaluate their clinical value in diagnosing fetal chromosomal abnormalities. **Methods** CMA and karyotype analysis were performed in 347 invasive fetus samples due to abnormal ultrasound, elderly pregnancy, high risk of Down's screening and abnormal non-invasive results. CMA and karyotype results were further studied to clarify their diagnostic value. **Results** The chromosomal abnormality rates detected by CMA and karyotype analysis were 10.95% and 9.22%, respectively, the coincidence rate was 89.63%, and there was no statistical difference ( $P=0.362$ ). CMA could detect microduplication and microdeletion of chromosomes sensitively, and karyotype analysis could better detect chromosome balance translocation. **Conclusion** Karyotype analysis and CMA complementarity in the detection of chromosomal abnormalities, clinicians should reasonably use CMA and karyotype analysis for invasive prenatal diagnosis to increase the detection rate of chromosomal abnormalities and reduce neonatal birth defects effectively.

**Keywords:** karyotype analysis; chromosome microarray(CMA); chromosome disease; prenatal diagnosis

染色体病是染色体异常引起的遗传性疾病, 可致先天性多发畸形, 智力及身体发育障碍等严重临床症状, 我国每年约有 3.6 万新生儿染色体异常<sup>[1,2]</sup>。故核型分析、染色体微阵列分析(chromosome microarray, CMA)、细菌人工染色体标记-磁珠鉴别/分离技术(BAC-on-Beads, BOBS)、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、多重连接介导的探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)、全基因组测序和无创产前基因检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)等染色体检测技术飞速发展并应用于临床, 但 BOBS, FISH, MLPA, NIPT 和全基因

组测序因为方法学和费用的限制而应用受限, 作为染色体异常检测金标准的核型分析和近年新兴的高通量检测策略 CMA, 成为广泛使用的产前诊断项目<sup>[3]</sup>。现为明确 CMA 和核型分析诊断染色体异常的临床价值, 基于前人研究结果, 本研究拟对两者检出的胎儿染色体情况进行系统分析, 望能指导临床医生合理使用产前诊断项目。

### 1. 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2017 年 5~11 月共 347 例在中山市博爱医院进行产前咨询并进行 CMA 和核型分析的孕妇为研究对象。研究对象应至少满足以下任意一个产前诊断指征: ①超声异常: 包括

\* 基金项目: 中山市科技计划重大项目(2016B1009)。

作者简介: 李闪闪(1992-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 临床检验诊断学、产前诊断, E-mail: bbmclss@163.com。

通讯作者: 黄 湘(1971-), 女, 医学博士, 硕士生导师, 主任技师, 研究方向: 免疫学、产前诊断, E-mail: 340382761@qq.com。

羊水过多或过少,胎儿发育异常或可疑畸形等;②高龄( $\geq 35$ 岁);③不良妊娠史或夫妻任一方有遗传病家族史;④孕早期有不良接触史;⑤产前母血清筛查高风险或无创性产前检测(NIPT)高或临界风险。其中,孕妇年龄17~46岁,平均年龄32.29 $\pm$ 6.089岁;孕周12~35周,平均孕周21.74 $\pm$ 5.188周;胎儿性别:男:52.45%(182/347),女:47.55%(165/347)。本研究获伦理委员会批准并签署患者知情同意书。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 核型分析:培养基、秋水仙素、植物血细胞凝集素、KCl溶液、胰蛋白酶液、冰乙酸和甲醇、Giemsa染色液、NaOH溶液、生理盐水、细胞培养箱,GenetixGSL-120全自动染色体分析仪。

1.2.2 CMA:微阵列芯片(Affymetrix, CytoScan 750K), DNA提取试剂盒(QIAGEN, QIAamp DNA Blood Mini Kit), Agilent Genomic Workbench Lite Edition 7.0.4.0软件分析结果,在OMIM, UCSC, DECIPHER, ISCA, DGV数据库中查询数据。

1.3 方法

1.3.1 有创操作获取胎儿样本:分别于孕8~11周,孕16~22周,孕18~24周时采集绒毛、羊水、脐静脉血。对获取的胎儿细胞进行CMA和培养后染色体核型分析。

1.3.2 核型分析:胎儿样本在体外适宜条件下培

养,经细胞收获,制片,消化,G显带染色,扫描后进行分析并报告<sup>[4]</sup>。

1.3.3 CMA检测:本团队进行有创操作获取胎儿样本,CMA检测及报告由合作单位广东省妇幼保健院进行<sup>[5]</sup>。

1.4 统计学分析 使用SPSS 20.0软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间差异性比较采用配对资料的卡方检验,检验水准取 $P=0.05$ 。

2 结果

2.1 整体资料 本研究参与者349例,染色体检测成功率:CMA:100%(349/349),核型分析:99.43%(347/349),2例CMA检测结果正常但核型培养失败,故后续分析中未纳入统计。孕妇高龄( $\geq 35$ 岁):37.20%(129/347);标本类型:羊水、脐血、绒毛分别为64.80%,34.30%,0.90%;CMA和核型分析结果相符率89.63%(311/347),两者之一或均异常14.41%(50/347),CMA和核型分析的染色体异常检出率分别为10.95%(38/347)和9.22%(32/347);对CMA和核型分析检出染色体异常进行配对四格表资料的差异性比较显示 $P=0.362$ ,两者的染色体异常检出率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

2.2 CMA和核型分析检出染色体异常情况

2.2.1 CMA及核型分析结果:见表1。均异常20例,其中,相符14例,不符6例。分析CMA和核

表1 核型和CMA检测结果均异常结果( $n=20$ )

案例	核型分析	CMA结果	例数
相符	1 T21	一致	8
	2 T18	一致	2
	3 45,X	一致	1
	5 46,XY,del(8)(p23.3p23.1),dup(8)(p23.1p11.21)	arr[hg19]8p23.3p23.1(158,048-7,044,046) $\times$ 1 8p23.1p11.21(12,532,773-42,869,979) $\times$ 3	1
	6 46,XY,dup(11)(q23 q25)	arr[hg19]11q23.1q25(110,723,778-134,557,038) $\times$ 3	1
	7 mos47,XX,+8(9)/46,XX(91)	arr(8) $\times$ 2-3	1
不符	8 46,XX,del(7)(p12q14),del(8q1)	arr[hg19]7p14.3p12.3(31,043,817-45,741,763) $\times$ 1	1
	9 47,X,inv(Y)(p11q11),+18	arr(18) $\times$ 3	1
	10 46,X,inv(Y)(p11.2,q11.2)	arr[hg19]8q21.2q21.3(86,010,742-87,536,970) $\times$ 1	1
	11 45,X,inv(9)(p11q13)	arr(1-22) $\times$ 2,(X) $\times$ 1	1
	12 46,XX,19h+	arr[hg19]12q23.3q24.31(104,775,109-124,110,122) $\times$ 2hzm	1
	13 mos46,XY,inv(9)(p11q13)[115]/47,XXY,inv(9)(p11q13)[9]	arr[hg19]10q23.33q26.3(95,846,337-135,426,386) $\times$ 2-3	1

型分析的染色体均异常结果相符14例表明,CMA和核型分析均能检出染色体数目异常及大片段的重叠和缺失,如案例5中 $\geq 6.9$ Mb的缺失;6例两者结果不符表明,CMA检出染色体拷贝数变异(copy number variations,CNVs)的敏感度更高,核型分析能更敏感地检出染色体倒位和嵌合,如案

例9~11,CMA检出染色体非整倍体异常和核型未检出的8q21.2q21.3约1.5Mb的缺失,但未检出核型分析检出的染色体倒位;案例12,CMA检出约19.3Mb的12q23.3q24.31的杂合性丢失,核型分析检出19h+;案例13,CMA检出10q23.33q26.3约30.6Mb的嵌合重复,核型分析

检出9号染色体倒位和性染色体嵌合,两者检出的嵌合染色体和位点不同。

2.2.2 CMA异常但核型分析正常:见表2。分析18例CMA异常但核型分析正常表明CMA能敏感地检出CNVs,且部分微小CNVs具有明确的致病性。如表2中,案例3的244Kb重复经查询数据库可知会导致Xq28微重复综合征;对染色体杂

表2

CMA异常而核型分析正常结果( $n=18$ )

案例	CMA	CNVs	致病
1	arr[hg19]22q11.21(18,970,561-21,800,471)×3	2.83 Mb	22q11.2重复综合征
2	arr[hg19]22q11.21(18,919,477-21,450,060)×3	2.57 Mb	22q11.2重复综合征
3	arr[hg19]Xq28(153,624,876-153,868,487)×3	244 Kb	Xq28微重复综合征
4	arr[hg19]Xp11.22(49,813,552-50,468,984)×2	655 Kb	Xp11.22-Xp11.23微重复综合征、假肥大性肌营养不良
	Xp21.1(32,912,640-33,471,674)×2	599 Kb	
	Xq23(111,615,569-112,575,694)×2	960 Kb	
5	arr[hg19]1q21.1q21.2(146,523,896-147,844,778)×3	1.3 Mb	神经发育症状
6	arr[hg19]16p11.2(29,351,826-30,190,029)×1	838 Kb	16p11.2微缺失综合征
7	arr[hg19]16p11.2(29,428,531-30,190,029)×1	761 Kb	16p11.2微缺失综合征
8	arr[hg19]Xp22.33(168,551-920,124)×1	752 Kb	身材矮小伴软骨生成障碍
9	arr[hg19]22q11.21(18,648,855-21,800,471)×1	3.15 Mb	DiGeorge综合征
10	arr[hg19]13q21.2q21.33(62,211,018-69,159,847)×1	6.95 Mb	临床效应可较轻
11	arr[hg19]7p12.3q11.22(48,040,056-68,737,556)×2hmz	20.7 Mb	Russell-Silver综合征
12	arr[hg19]2q14.3q22.3(127,578,554-145,822,380)×2hmz	18 Mb	隐性遗传病患风险增加
	22q12.3q13.33(33,539,493-49,524,428)×2hmz	16 Mb	
13	arr[hg19]17p12q12(15,688,146-32,181,018)×2hmz	16.5 Mb	隐性遗传病患风险增加
14	arr[hg19]11q24.2q25(124,708,697-134,930,689)×2hmz	10.2 Mb	隐性遗传病患风险增加
15	arr[hg19]7q36.1q36.2(152,228,536-153,377,822)×3hmz	1.15 Mb	现有数据不明确是否致病
16	arr[hg19]9p21.2p21.1(26,308,706-28,347,270)×3	2.04 Mb	现有数据不明确是否致病
17	arr[hg19]13q12.13q12.2(27,088,964-28,845,414)×3	1.76 Mb	现有数据不明确是否致病
18	arr[hg19]16q23.1(77,096,284-78,609,592)×3	1.51 Mb	现有数据不明确是否致病

2.2.3 核型分析异常但CMA结果正常:见表3。

表3 核型分析异常而CMA正常( $n=12$ )

案例	核型	例数
1	46,XX,inv(9)(p11q13)	1
	46,XY,inv(9)(p11q13)	1
2	46,XX,inv(9)(p11q13)	1
3	46,XY,inv(Y)(p11.2q11.2)	1
4	46,XX,t(11;16)(p15p13)	1
5	46,XX,t(11;12)(q24;q21)	1
6	46,XX,t(1,14)(q23,q22)	1
7	46,XX,t(9;18)(p24;q21)	1
8	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	1
9	46,XY,15pstk+	1
10	46,XX,9qh+,inv(12)(p13q24)	1
11	mos46,XX,inv(9)(p11q13)/45,Xinv(9)(p11q13)(4); 46,XX,inv(9)(p11q13)(38)/45,Xinv(9)(p11q13)(4)	1

本研究中共12例核型分析异常而CMA检测结果均正常,包括染色体易位、倒位、嵌合、多态、衍生染色体、异染色质,表明核型分析在检出这些染

色体异常方面较CMA更具优越性。如案例11~15,其中案例11的7p12.3q11.22杂合性丢失明确可致Russell-Silver综合征;另外,7例CMA结果异常可致患隐性遗传病风险增加或致病性尚不明确,如案例12和15中高至18Mb的2q14.3q22.3杂合性丢失和低至1.15Mb的7q36.1q36.2重复。

色体异常方面较CMA更具优越性。

3 讨论 为明确CMA和核型分析对诊断染色体异常的临床价值,本研究系统分析了中山市同时进行核型分析和CMA产前诊断的347例胎儿检测结果,结果显示,CMA和核型分析对可致病染色体异常的检出率分别为10.95%,9.22%,表明有产前诊断指征的孕妇进行有创CMA和核型分析,能帮助临床医生及时发现胎儿染色体异常并采取针对性措施,减少新生儿出生缺陷。

分析表明,CMA和核型分析均能检出染色体数目异常及大片段的不平衡重排,两者对染色体异常的检出具有互补性,CMA能检出核型分析未检出的微小CNVs,核型分析能检出CMA未检出的染色体平衡易位。两者均检出的染色体异常情况,见表1,均提示CMA和核型分析在检出染色体非整倍体和大片段CNVs上具有同等效力。核型分析能更敏感地检出如表3中的染色体易位、倒位等,但不能检出小于5~10Mb的染色体异常,检测

敏感度低,如表2中案例10,CMA检出约6.95Mb的13q21.2q21.33缺失,可能导致较轻的临床效应,但核型未检出此异常;CMA的分辨率和敏感度高,表2中案例3,CMA可检出低至244Kb的微重复,会导致Xq28微重复综合征(DECIPHER),引起男性患者X连锁智力低下(PMID:20004760);其次,CMA能区别染色体异常是否具有临床意义,如表1案例8中,核型分析检出7p12q14和8q1的缺失,CMA认为8q1的缺失为无义缺失,故仅报告7p14.3p12.3的缺失,表明CMA具有鉴别核型分析检出的染色体无义突变的能力,能减少因检出无义突变对临床和准父母造成的困扰和压力;在分析表3中核型异常但CMA结果正常案例时发现,CMA不能检出染色体易位、倒位、多态、衍生染色体、异染色质,检出染色体嵌合的能力低于核型分析,表1中案例13两者检出染色体的不同异常也验证了这一点,核型分析检出9号染色体倒位和性染色体嵌合,而CMA检出10q23.33-qter约39.6Mb的嵌合重复,可能是嵌合比例低导致CMA未检出核型分析检出的嵌合,染色体倒位和10q23.33q26.3的嵌合因CMA和核型分析方法学限制而未检出;表3中案例1,孕妇双胎妊娠,有不良妊娠史,核型分析显示两胎儿均为inv(9)(p11q13),家系研究表明该遗传来自父亲,而CMA未检出此染色体倒位。这与以往关于两者的研究相符<sup>[6~8]</sup>。

产前诊断技术存在自身的缺陷。核型分析依赖于工作人员的经验,且存在细胞培养失败,培养时间和检测周期长等缺点,即使检出染色体异常,也会使部分胎儿错过最佳处理时间,导致患者失去选择妊娠的权利,延迟继续妊娠的染色体异常胎儿的孕期监护和出生后处理等;CMA也存在一些缺陷,如CMA检测敏感度的提高会增加临床意义不明的CNVs的检出率,这些CNVs对胎儿的影响尚不确定,学界对CNVs的认知存在局限性等,增加准父母的焦虑,甚至造成健康胎儿妊娠的终止。因此诊断实验室应严格遵循CMA报告原则发放报告,临床医生应明确CMA和核型分析的优缺点,综合分析染色体异常的各种影响因素,将CMA和核型分析有机结合应用于产前诊断,并做好产前咨询工作,尽量使高危孕妇接受有创产前诊断,提高胎儿染色体异常检出率,避免染色体异常漏诊和诊断延迟造成的新生儿缺陷,减缓准父母的心理压力<sup>[9]</sup>;另外,科研工作者应加强对染色体异常机制,临床致病性及治疗的研究,完善相关遗传数据库,使科研成果更好的转化应用于临床。

综上所述,CMA和核型分析在检出染色体异

常中各有优势,CMA能更敏感地检出染色体微重复和微缺失,核型分析对检出易位、倒位等更具优越性。这要求产前诊断医生明确掌握CMA和核型分析对染色体异常的检出和适用情况,合理地为准孕妇开展相应的产前检测项目并根据检测结果采取相应的针对性措施,从而提高胎儿染色体病检出率,减少新生儿出生缺陷,提高新生儿愈后和生存质量,减轻患儿本人、家庭和社会的负担。

#### 参考文献:

- [1] 梁玥宏,任晨春,王文靖,等.1544例妊娠中期孕妇羊水细胞染色体核型分析[J].中国妇幼保健,2015,30(8):1208-1210.  
Liang YH, Ren CC, Wang WJ, et al. Analysis of fetal chromosomal karyotypes in 1544 pregnant women during the second trimester of gestation[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2015, 30(8): 1208-1210.
- [2] 王芳芳,王超,刘羽,等.225例产前诊断指征及胎儿异常染色体核型分析[J].中国优生与遗传杂志,2018,26(2):38-40.  
Wang FF, Wang C, Liu Y, et al. Analysis of 225 cases of prenatal diagnosis and abnormal chromosome karyotype analysis[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2018, 26(2): 38-40.
- [3] Kong GWS, Ma Y, Ou J, et al. Validation of a high-throughput and robust technique: BACs-on-beads assay (KaryoLite BoBs) for pre-implantation aneuploidy screening[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2017, 56(4): 514-520.
- [4] 赵婧,黄湘,李红艳,等.荧光原位杂交技术在先天性心脏病产前诊断中的应用[J].检验医学与临床,2015,12(23):3512-3514.  
Zhao J, Huang X, Li HY, et al. Application of FISH in the prenatal diagnosis of congenital heart disease [J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2015, 12(23): 3512-3514.
- [5] 卢建,黄伟伟,王继成,等.染色体微阵列技术在自然流产胚胎组织染色体检测中的应用[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(7):38-40.  
Lu J, Huang WW, Wang JC, et al. Application of CMA technique in chromosome detection for spontaneous abortions[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2017, 25(7): 38-40.
- [6] Shaffer LG, Bejjani BA. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays[J]. Hum Reprod Update, 2004, 10(3): 221-226.
- [7] Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis [J]. Fertility and Sterility, 2018, 109(2): 201-212.
- [8] 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.
- [9] Lovrecic L, Remec ZI, Volk M, et al. Clinical utility of array comparative genomic hybridisation in prenatal setting[J]. BMC Med Genet, 2016, 17(1): 81.

收稿日期:2018-03-27

修回日期:2018-05-23