

· 论著 ·

338例NIPT阳性病例产前诊断结果分析

张艳萍 钟世林 薛利萍 邓玉清*

广东省深圳市北京大学深圳医院妇产科产前诊断中心 (广东 深圳 518036)

【摘要】目的 探讨妊娠期间NIPT阳性结果对临床咨询的价值。方法 回顾性分析在我院产科行NIPT，结果异常进一步行介入性产前诊断的338例孕妇，研究NIPT结果与染色体核型和CMA的符合情况，通过分析比较了解NIPT对临床咨询工作的应用价值。结果 338例病例共检出胎儿染色体核型异常177例，占52.37%，CMA异常202例，占59.76%，其中致病性异常166例，意义不明确36例。胎儿染色体核型结果，T21高风险的阳性率87.18%，T18高风险的阳性率65.22%，T13高风险的阳性率30%，性染色体数目增多的阳性率69.05%，性染色体数目减少的阳性率28.21%，其他染色体异常的阳性率14.55%，NIPT对T21-三体的检出率最高，CMA额外检出2例致病性异常。结论 NIPT准确率高，假阳性率低，可筛查胎儿性染色体异常，对胎儿染色体非整倍体异常及性染色体异常具有较好的临床价值。建议NIPT结果异常孕妇行介入性产前诊断，可同时选择染色体核型分析及CMA检查，提高异常检出率。

【关键词】NIPT；染色体；微阵列；限制性胎盘嵌合体

【中图分类号】R596.1

【文献标志码】A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2022.11.021

Analysis of Prenatal Diagnosis Results of 338 Cases with Positive Non-Invasive DNA Test

ZHANG Yan-ping, ZHONG Shi-lin, XUE Li-ping, DENG Yu-qing*

Prenatal Diagnosis Center of Obstetrics and Gynecology, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen 518036, Guangdong Province, China

Abstract: *Objective* To investigate the value of positive results of non-invasive DNA detection during pregnancy for clinical consultation. *Methods* 338 pregnant women with abnormal results of non-invasive DNA test in our prenatal diagnosis center were retrospectively analyzed. The coincidence of non-invasive DNA test results with chromosome karyotype and CMA was studied. The application value of non-invasive DNA test in clinical consultation was analyzed and compared. *Results* 177 cases (52.37%) in 338 were abnormal in fetal chromosome karyotype, 202 cases (59.76%) were abnormal in CMA, in which 166 cases were pathogenic and 36 cases were unclear. The results of fetal chromosome karyotype showed that the positive rate of T21 was 87.18%, T18 was 65.22%, T13 was 30%, increased sex chromosome number was 69.05%, decreased sex chromosome number was 28.21%, other chromosomal abnormalities was 14.55%. The detection rate of T21 trisomy was the highest, and CMA detected two additional cases of pathogenic abnormalities. *Conclusion* Non-invasive DNA detection has high accuracy and low false positive rate, and can screen fetal sex chromosome abnormalities, has good clinical value for fetal chromosome aneuploidy and sex chromosome abnormalities. Interventional prenatal diagnosis is recommended for pregnant women with abnormal results of non-invasive DNA testing. Chromosome karyotype analysis and CMA examination can be selected at the same time to improve the detection rate of abnormalities.

Keywords: Non-Invasive DNA Detection; Chromosome; Microarray; Confined Placental Mosaicism

出生缺陷是出生前发生的先天发育异常，是导致流产、死胎、婴幼儿死亡及多种先天性疾病的主要原因，据统计，中国每年出生的出生缺陷数量占新生出生新生儿的4%-6%，因染色体异常导致的出生缺陷占0.6%^[1]。Lo^[2]等1997年首次从孕育男胎的孕妇血清和血浆中提取并检测到了男性胎儿DNA，开创了NIPT产前检测技术的新模式，检测范围也从最初的T13、T18、T21三种最常见的染色体疾病的检测延伸至染色体微缺失微重复综合征的检测。本研究回顾性分析338例在北京大学深圳医院NIPT结果异常进一步行介入性产前诊断的孕妇，对NIPT阳性结果与胎儿染色体核型和CMA检测结果进行比较分析，了解NIPT在临床咨询中对染色体异常的指导作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2018年3月至2019年12月期间在我院或外院检查NIPT结果异常，经产前诊断医生遗传咨询后，进一步行介入性产前诊断的338例孕妇，回顾性分析相关资料，孕妇年龄19~47岁，平均年龄30.45±4.85岁，孕周17周~25+6周，平均孕周19.89±2.42周，均为单胎妊娠。

1.2 方法

1.2.1 NIPT NIPT的条件为：孕周为12-22+6周，近期末接受过细胞治疗、免疫治疗、异体输血、移植手术，体重<100Kg，孕妇无染色体异常等。检测机构为深圳华大基因医学检验室，通过

各个染色体Z值检测胎儿染色体非整倍体异常情况，正常参考值为-3.0~3.0，检测结果在正常参考范围内结果为低风险，Z>3.0，提示三体高风险，Z<-3，为单体高风险。

1.2.2 介入性产前诊断 签署手术知情同意书，术前一周无发热、腹痛、阴道流血、感染等情况，完善血常规、感染指标、凝血功能、胎儿超声等，在我院产前诊断中心行超声引导下羊水穿刺术或脐带穿刺术。

1.2.3 染色体核型检测方法 羊水细胞或脐血细胞在我院检测，进行培养及胎儿染色体G显带核型分析，染色体核型命名根据《人类遗传学国际命名体制ISCN(2016)》。

1.2.4 CMA检测机构 为广州市妇女儿童医疗中心检测，采用Affymetrix CytoScan芯片检测，临床意义分为多态、致病性、不明确、可能致病、可能良性5种。

1.3 随访 产前诊断中心有专职人员负责电话询问术后、引产后及分娩后新生儿情况。

1.4 统计学处理 应用SPSS 22.0 统计软件录入数据，计数资料采用频数及率表示。

2 结果

2.1 338例孕妇NIPT结果异常的孕妇，均行羊水穿刺，有1例孕妇因羊水结果异常，染色体核型结果45,X[9]/46,XY[91]，CMA提示7q21.11缺失357kb(可能良性)，于孕24周行脐带穿刺，脐血染色

【第一作者】张艳萍，女，副主任医师，主要研究方向：遗传咨询、产前诊断介入手术、胎儿宫内治疗等。E-mail: 13632665426@139.com

【通讯作者】邓玉清，女，主任医师，主要研究方向：产科危重症救治、产前诊断。E-mail: 13510331852@163.com

体核型46, XN。338例孕妇有1例穿刺术后第2天流产, 胎儿染色体核型47, XN,+21, CMA 提示染色体21q11.2~q22.3致病性重复33.08Mb; 1例孕妇穿刺术后第4天胎膜破裂, 住院引产, 胎儿染色体核型45, X[73]/47, XXX[27], CMA提示Xp22.33-q28嵌合缺失155.06Mb致病性。其余336例孕妇均未出现术后流产、宫内感染、胎膜破裂等并发症, 穿刺流产率0.59%。

2.2 共检出胎儿染色体核型异常177例, 占52.37%, CMA异常202例, 占59.76%, 其中致病性异常166例, 占49.11%, 意义不明确36例, 占10.65%, 根据NIPT结果将其分为6种情况。

2.2.1 T21高风险病例 338例NIPT结果异常病例中, T21高风险78例, 经羊水穿刺确诊染色体核型异常68例, 占87.18%, 10例正常, 其中标准型21三体综合征63例(47, XN,+21), 易位型2例[46,XN,der(14;21)(q10;q10)+21], 嵌合型2例(47,XN,+21[54]/46.XN[46]; 47.XN.+21[29]/46.XN[71]), 13三体综合征1例(47,XN,+13)。CMA检测结果异常70例, 其中68例与染色体核型诊断相符, 1例提示17p12致病性缺失1.40Mb, 1例意义不明确, 该例17p12致病性缺失孕妇选择继续妊娠, 随访期间孕晚期出现胎儿宫内生长受限, 孕37周因“胎儿窘迫”行剖宫产术, 新生儿体重2.0kg, 随访到目前该例宝宝除生长发育迟缓外, 未发生其他异常。

2.2.2 T18高风险病例 338例NIPT结果异常病例中, T18高风险23例, 经羊水穿刺确诊染色体核型异常15例, 占65.22%, 8例正常, 均为18三体综合征(47,XN,+18), CMA异常16例, 15例与染色体核型诊断相符, 1例意义不明确。

2.2.3 T13高风险病例 338例NIPT结果异常病例中, T13高风险20例, 经羊水穿刺确诊染色体核型异常6例, 占30%, 14例正常, 3例为13三体综合征(47,XN,+13), 1例为嵌合体(47.XN.+13[2]/46.XN[98]), 1例45,XN,der(13;15)(q10;q10)pat, 1例45,XN,der(13;13)(q10;q10); CMA异常6例, 3例为致病性缺失, 与染色体核型诊断相符, 3例为意义不明确。

2.2.4 性染色体数目增多病例 338例NIPT结果异常病例中, 性染色体数目增多84例, 经羊水穿刺确诊染色体核型异常58例, 占69.05%, 26例正常, 其中35例为47,XXY, 1例47,XXY[16]/46,XY[84], 5例47,XXX, 1例45.X[73]/47.XXX[27], 15例47,XXY, 1例46.X.Yqh+, CMA异常63例, 其中58例与染色体核型诊断相符, 另有1例提示16p13.3-q24.3致病性嵌合重复90.07Mb, 孕妇选择引产, 4例意义不明确。

2.2.5 性染色体数目减少病例 338例NIPT结果异常病例中, 性染色体数目减少78例, 经羊水穿刺确诊染色体核型异常22例, 性染色体核型异常情况较多, 核型结果有45,X、46,X.i(X)(q10)、47,XXY、45,X与46,XX的嵌合体、45,X与47,XXX的嵌合体、46,XX与47,XXX的嵌合体等, 占28.21%, 56例正常, CMA结果异常31例, 其中致病性异常16例, 意义不明确15例。

2.2.6 其他染色体异常55例 经羊水穿刺确诊染色体核型异常8例, 占14.55%, 47例正常, 分别为46.XN.del(3)(p12.1,p12.3)、46.XN.der(5)t(3;5)(p24;p13)mat、47,XXY、47.XN.+2[3]/46.XN[97]、46.XN.t(1;13)(q44;q14)[5]/46.XN[95]、47,XN,+20[15]/46,XN[85]、47.XN,+9[55]/46.XN[45]、47.XN.+9[10]/46.XN[90]; CMA结果异常16例, 其中致病性异常4例, 意义不明确12例。其中一例NIPT结果提示15号染色体数目偏多, 超声提示NT增厚3.6mm, 羊水染色体核型为47, XXY, 孕妇选择引产。

2.3 NIPT结果异常与染色体核型结果符合情况 见表1。

3 讨论

1997年Lo^[2]等首次在孕妇外周血提取并检测到来自胎儿并携带了胎儿遗传信息的cffDNA, 可以用来检测胎儿的遗传性疾病。其后, 随着高通量测序技术的发展, 可一次对几十万到几百万条DNA分子进行测序, 并重新拼接、组装, 以其高通量、自动化分析的技术优势, 促进了染色体疾病、遗传性疾病等的研究^[3], 解决了传统的血清学筛查准确率及敏感度不够, 假阳性率较高等缺

表1 NIPT结果异常与染色体核型结果符合情况

无创异常结果	例数	染色体核型异常	阳性率	假阳性率
T21高风险	78	68	87.18%	12.82%
T18 高风险	23	15	65.22%	34.78%
T13高风险	20	6	30%	70%
性染色体数目增多	84	58	69.05%	30.95%
性染色体数目减少	78	22	28.21%	71.19%
其他染色体异常	55	8	14.55%	85.45%

点, 使NIPT产前检测技术逐渐成为新的产前筛查模式。

在本研究中, 我们对338例NIPT结果异常其后选择介入性产前诊断的病例, 结合胎儿染色体核型结果及CMA结果进行分析, 从数据中可以看出, 338例病例中共检出胎儿染色体核型异常177例, 占52.37%, CMA异常202例, 占59.76%, 其中致病性异常166例, 占49.11%, 其中T21高风险检出异常68例, 占染色体核型异常的38.42%, T18高风险检出异常15例, 占8.47%, T13高风险检出异常6例, 占3.39%, 性染色体数目增多检出异常58例, 占32.77%, 性染色体数目减少检出异常22例, 占12.43%, 其他染色体异常8例, 占4.52%。在NIPT异常结果与胎儿染色体核型结果及CMA结果的分析中, 发现T21高风险的阳性率87.18%, 假阳性率12.82%; T18高风险的阳性率65.22%, 假阳性率34.78%; T13高风险的阳性率30%, 假阳性率70%; 性染色体数目增多的阳性率69.05%, 假阳性率30.95%; 性染色体数目减少的阳性率28.21%, 假阳性率71.79%; 其他染色体异常的阳性率14.55%, 假阳性率85.45%; 由数据中可以看出, NIPT对T21-三体的检出率最高, 其次是提示性染色体数目增多的病例, 卢建^[4]等在对471例NIPT阳性孕妇产前诊断结果的分析中, 得出其研究中NIPT与介入性产前诊断符合率分别为21-三体(92.7%), 18-三体74.7%, 13-三体48.9%, 性染色体异常48.1%, 其他染色体异常8.8%, 燕凤^[5]等在对84例NIPT阳性行羊水穿刺验证后的结果中发现, NIPT对21-三体的准确率达95.8%, 18-三体准确率73%, 13-三体准确率50%, 性染色体准确率71%, 本研究与上述研究均提示NIPTT21高风险胎儿染色体异常检出率最高。文献提示, 妊娠期间异常细胞可能会局限于胎盘, 出现限制性胎盘嵌合体(CPM)^[6], 是引起NIPT结果与胎儿染色体核型不一致的常见原因, 如果异常细胞存在于胎盘, 正常细胞存在于胎儿组织, 可造成NIPT假阳性, 如果正常细胞存在于胎盘, 胎儿存在染色体异常, 可能出现NIPT假阴性, 因为胎儿游离DNA主要是来源于胎盘细胞, 胎盘嵌合体的存在就有可能导致假阳性情况^[7]。宋春林^[8]在其研究中发现1例羊水检测10%的21三体, 分娩后检测发现胎盘母体面为21-三体, 胎盘胎儿面为46, XN, 李发涛^[9]等在其研究中也提示了限制性胎盘嵌合可能导致以胎盘绒毛或胎盘来源物为检测靶标的核型检测结果与胎儿实际核型结果不一致的可能。在后期临床工作中, 如再遇到T21假阳性病例, 应及时与检测机构沟通, 必要时再次检验, 分析前次检验出现假阳性的可能, 如有条件在产后可对胎盘染色体核型进一步检测, 了解是否存在CPM等可能。本研究中T13高风险出现假阳性率较高, 达70%, Chen等的研究^[10]发现, NIPT对18-三体、13-三体检测稳定性较差, 假阳性率较高, 可能为受GC干扰所导致, 他们采用了非重复掩盖的人基因组参考序列提高测序短序列的比对匹配数量, 并校正了GC含量的偏倚, 使18三体的检出率从73%提高到91.9%, 13-三体的检出率从36%提高到100%, 后续临床工作中我们也要不断从假阳性的病例中不断改善检测方法, 提高T18和T13的真阳性检出情况。本研究中对NIPT提示性染色体数目异常的阳性检出率与文献^[4]报道大致相符, 但从数据中可以看出NIPT结果提示性染色体数目增多时其阳性检出率(69.05%)高于性染色体数目减少病例

(28.21%)。NIPT提示性染色体数目异常孕妇,其染色体核型结果出现较多嵌合体情况,有些嵌合比例较低病例选择继续妊娠,随访追踪孩子情况目前良好。妊娠期间异常细胞可能会局限于胎盘出现的局限性胎盘嵌合也可能是NIPT检测性染色体出现假阳性较高的原因。羊水细胞培养染色体核型提示性染色体数目异常时,有一部分为胎盘嵌合体,胎儿出生后检测染色体核型正常^[11],所以,对于羊水结果提示染色体核型异常的病例,必要时需检查孕妇及丈夫外周血染色体情况,新生儿出生后必要时进行外周血染色体检查复核。

本研究中,338例羊水穿刺病例出现2例流产,穿刺流产率0.59%,与文献^[12]报道大致相符。有些孕妇因担心羊水穿刺可能出现的流产、感染、胎膜破裂等风险,坚决拒绝行介入性产前诊断,根据本研究的结果提示,因NIPT提示T18、T13高风险病例,其假阳性率较高,且18-三体综合征和13-三体综合征多合并胎儿超声检查异常,对于坚决拒绝羊水穿刺的孕妇,可充分向其交代胎儿染色体异常相关风险,孕期严密超声监测胎儿结构发育。对于NIPT提示性染色体数目异常病例,其假阳性率也达50.62%(82/162),性染色体数目异常可能导致第二性征及性器官发育异常、两性畸形、闭经、不孕不育等^[13],多数存活至出生的病例无致死性畸形,从本研究数据中可以看出NIPT结果提示性染色体数目增多时其阳性检出率(69.05%)高于性染色体数目减少病例(28.21%),提示我们在临床咨询过程中向孕妇的解释可有所轻重指引,减少孕妇的焦虑心情。如孕妇拒绝行介入性产前诊断,可充分告知可能出现的染色体异常结果及其风险,如孕妇接受异常并要求继续妊娠,应在孕期严密监测,出生后及时随访新生儿情况。上述建议的可行尚需在后续研究中进一步证实。

在本研究中,CMA异常202例,其中致病性异常166例,意义不明确36例,CMA检测额外检出2例致病性异常,1例T21高风险染色体核型46,XN,CMA提示17p12致病性缺失1.40Mb,1例提示性染色体数目增多染色体核型46,,XN,CMA提示16p13.3-q24.3致病性嵌合重复90.07Mb。染色体微缺失微重复综合征是染色体微小片段缺失或重复,使正常基因发生改变而导致的染色体病,会导致先天性畸形、器官功能障碍、生长发育迟缓、智力障碍等^[14],染色体微阵列分析技术除了能够检出非整倍体异常,还能检测低水平CNVs,染色体杂合性缺失等染色体异常,较染色体核型分析具有更高的分辨率和敏感度^[15],本研究中的孕妇羊水穿刺时均同时选择染色体核型分析和CMA检测两项检查以提高异常情况检出率,但卢建^[4]等在其研究中仅对NIPT检查阳性病例中的染色体核型分析结果正常的81例孕妇进行了CMA检测,并额外检出4例异常。这种检查方法在一定程度上节约了实验室检测成本,减轻了孕妇负担,但是对于染色体核型分析正常的孕妇需额外再等待CMA的检测时间,如最后因胎儿CMA致病性异常需行引产术,增加了对孕妇心理及身体的创伤。这也提醒我们在临床工作中可将两种检查方式向孕妇交代,由其选择,也可

适当降低检查成本。

综上所述,NIPT较传统的血清学筛查有较高准确率及敏感度,假阳性率低,且血清学筛查无法筛查胎儿性染色体异常,通过NIPT筛查胎儿染色体非整倍体异常及性染色体异常具有较好的临床价值。NIPT结果异常孕妇需进一步行介入性产前诊断排除胎儿染色体异常,如经济允许可同时选择染色体核型分析及CMA检查,提高异常检出率。针对无创假阳性病例,应做好后续相关检查及研究,进一步寻求解决办法提高NIPT的准确率和降低假阳性率。

参考文献

- [1]边旭明.胎儿染色体非整倍体的NIPT产前检测[J].实用妇产科杂志,2013,29(5):330-333.
- [2]Lo Y M,Corbetta N,Chamberlain P E,et al.Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J].Lancet,1997,350(9076):485-487.
- [3]Sehnert A J,Rhees B,Comstock D,et al.Optimal detection of fetal chromosomal abnormalities by massively parallel DNA sequencing of cell-free fetal DNA from maternal blood[J].Clinical Chemistry,2011.
- [4]卢建,侯亚萍,黄伟伟,等.471例NIPT阳性孕妇产前诊断结果分析[J].中国产前诊断杂志(电子版),2017,9(4):14-17.
- [5]燕凤,陈必良,徐慧,等.NIPT阳性结果的验证和分析[J].中国产前诊断杂志(电子版),2016,8(2):19-22.
- [6]Neofytou M.Predicting fetoplacental mosaicism during cfDNA-based NIPT[J].Curr Opin Obstet Gynecol,2020,32(2):152-158.
- [7]Kalousek D K,Vekemans M.Confined placental mosaicism[J].J Med Genet,1996,33(7):529-533.
- [8]宋春林,陈淑芬,周成,等.无创产前筛查阳性病例回顾性研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(7):810-813.
- [9]李发涛,李焱,韩瑾,等.产前诊断中限制性胎盘嵌合体病例的发现及检测[J].中国妇幼健康研究,2021,32(1):125-130.
- [10]Chen E Z,Chiu R W,Sun H,et al.Noninvasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 18 and trisomy 13 by maternal plasma DNA sequencing[J].Plos One,2011,6(7):21791.
- [11]Hook E B,Warburton D.Turner syndrome revisited:review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line,implying an origin by mitotic loss[J].Human Genetics,2014,133(4):417-424.
- [12]Bernert J,Bartels I,Gatz G,et al.Prenatal diagnosis of the Pallister-Killian mosaic aneuploidy syndrome by CVS[J].Am J Med Genet,2010,42(5):747-750.
- [13]刘引霞,邹莎.不孕不育患者性染色体异常发生频率及生殖遗传效应[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(8):56-58.
- [14]Weise A,Mrasek K,Klein E,et al.Microdeletion and microduplication syndromes[J].J Histochem Cytochem,2012(60):346-358.
- [15]Shaffer L G,Dabell M P,Fisher A J,et al.Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies[J].Prenat Diagn,2012,32(10):976-985.

(收稿日期:2022-04-11)

(校对编辑:何镇喜)