

## · 论 著 ·

95 例 NIPT 高风险者羊水染色体检测结果分析<sup>\*</sup>蓝慧娟<sup>1,2</sup>,邵聪文<sup>1,2</sup>,王辉林<sup>1,2</sup>,严泽浩<sup>1,2</sup>,谢淑萍<sup>1,2</sup>,熊礼宽<sup>1,2△</sup>

(1. 广东省深圳市宝安区妇幼保健院中心实验室,广东深圳 518102;2. 深圳市出生缺陷医学研究重点实验室,广东深圳 518102)

**摘要:**目的 分析无创产前检测(NIPT)高风险者的羊水染色体检测结果。方法 通过羊膜腔穿刺术获取羊水细胞培养后进行染色体核型分析。结果 95 例 NIPT 高风险对 21 三体的阳性预测值最高(85.00%),然后依次为 18 三体(75.00%),X 数目异常(68.00%),其他染色体异常(41.67%),13 三体(25.00%)。结论 NIPT 对 21 三体的阳性预测值最高,是一种有效的且无创的产前筛查手段,目前羊水染色体检测仍然是诊断胎儿染色体疾病的金标准。

**关键词:**产前诊断; 羊水穿刺术; 无创产前检测**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.008**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2017)13-1749-03**Amniotic fluid chromosome detection for 95 NIPT high-risk pregnant women<sup>\*</sup>**LAN Huijuan<sup>1,2</sup>, SHAO Congwen<sup>1,2</sup>, WANG Huilin<sup>1,2</sup>, YAN Zehao<sup>1,2</sup>, XIE Shuping<sup>1,2</sup>, XIONG Likuan<sup>1,2△</sup>

(1. Central Laboratory, Bao'an Maternal and Child Health Hospital, Shenzhen, Guangdong 518102, China;

2. Shenzhen Key Laboratory of Birth Defects, Shenzhen, Guangdong 518102, China)

**Abstract: Objective** To analysis of the detection result of amniotic fluid chromosome which in NIPT high-risk pregnant women. **Methods** Amniotic fluid cells via amniotic cavity puncture were cultured and analyzed, the chromosome karyotypes were observed. **Results** The highest positive predictive value of NIPT was for trisomy 21(85.00%), then trisomy 18(75.00%), sex chromosome abnormalities(68.00%), other chromosome abnormalities(41.67%), trisomy 13 (25.00%). **Conclusion** The highest accuracy of NIPT was shown in detection of Down's syndrome by NIPT. NIPT was screening test which is effective and noninvasive in prenatal diagnosis. Amniotic fluid Chromosomal karyotype analysis was the gold standard in the diagnosis of fetal chromosomal disease.

**Key words:**prenatal diagnosis; amniotic cavity puncture; noninvasive prenatal testing

1997 年卢煜明等<sup>[1]</sup>首次从孕妇外周血中扩增到 Y 染色体特异性 DNA 序列,从而揭示母体血浆中存在胎儿游离 DNA (cffDNA),使得非创伤性产前诊断成为可能。随着高通量测序技术的飞速发展,提取孕妇外周血游离 DNA 进行胎儿非整倍体检测的无创产前检测(NIPT)已在国内外广泛应用于临床<sup>[2-4]</sup>。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 自 2013 年 6 月至 2017 年 1 在本院产前诊断中心咨询门诊就诊,经产前常规检查、遗传咨询符合产前诊断指征并签署知情同意书行无创基因检测高风险孕妇 95 例,羊膜腔穿刺获取其羊水进行培养和染色体分析。孕妇年龄 19~45 岁,孕周 18~22 周。

**1.2 方法** B 超监护下经母腹羊膜腔穿刺,无菌抽取羊水 20 mL。1 500 r/min 离心 10 min,无菌操作弃上清液,余 0.5~

1.0 mL 制成细胞悬液,分别接种于两种不同羊水培养基,5% CO<sub>2</sub>,37 °C CO<sub>2</sub> 培养箱静止培养 7 d,倒置显微镜下观察羊水细胞生长情况,当羊水细胞生长旺盛可收获时换液,次日进行常规染色体收获、制片,G 显带。选择良好中期分裂象计数 20 以上,分析 5 个核型,染色体核型嵌合加大计数至 100。

**2 结 果**

**2.1 NIPT 高风险患者羊水检测结果进行分析** 对 95 例 NIPT 高风险患者羊水检测结果进行分析,21 三体高风险 40 例其中 34 例为 21 三体,其阳性预测值为 85.00%;18 三体高风险 8 例 6 例结果为 18 三体,其阳性预测值为 75.00%;13 三体高风险 8 例 2 例 13 三体,其阳性预测值为 25.00%;X 数目异常 25 例 17 例结果异常,其阳性预测值为 68.00%。其他染色体异常 12 例 5 例结果异常,其阳性预测值为 41.67%,见表 1。

表 1 95 例 NIPT 高风险患者羊水检测结果分析

项目	21 三体(n=40)		18 三体(n=8)		13 三体(n=7)		X 数目异常(n=25)		其他异常(n=12)	
	46,XN	21 三体	46,XN	18 三体	46,XN	13 三体	46,XN	异常	46,XN	异常
n	6	34	2	6	6	2	8	17	7	5
百分比(%)	15.00	85.00	25.00	75.00	75.00	25.00	32.00	68.00	58.33	41.67

注:表格中的 N 代表 X 或 Y。

<sup>\*</sup> 基金项目:广东省科技计划项目(2013B022000010);深圳市宝安区科技计划项目(2013064)。

作者简介:蓝慧娟,女,主管技师,主要从事分子细胞遗传学方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:xionglk@sina.cn。

**2.2 95 例 NIPT 高风险患者羊水染色体检测核型结果** 40 例 NIPT 21 三体高风险核型结果显示, 标准型 21 三体占多数; X 数目异常的结果显示, 45,X 嵌合占多数, 13、18 三体检出阳性均为标准型, 见表 2。

表 2 95 例 NIPT 高风险患者羊水染色体检测核型结果

类型	n	核型分析结果	例数
21 三体	40	46,XN	6
		46,XN,+21	31
		46,XN,+21,der(21;21)(q10;q10)	1
		46,XN,der(14;21)(q10;q10),+21	1
		45,X[79/47],XX,+21[21]	1
X 数目异常	25	46,XN	8
		47,XXY	5
		47,XXX	3
		47,XYY	1
		45,X[23]/46,XX[77]	1
		45,X[24]/46,XX[77]	1
		45,X[76]/46,XY[24]	1
		45,X[83]/47,XXX[17]	1
		45,X[54]/46,X,i(X)(q10)[46]	1
		45,X,[9]/47,XXX[4]/46,XX[87]	1
		45,X[81]/46,X,+mar[19]	1
		45,X[6]/46,XY[94]	1
18 三体	8	46,XN	2
		47,XN,+18	5
		47,XN,inv(9)(p11q13),+18[56]/48,XN,+2,inv(9)(p11q13),+18[25]	1
13 三体	8	46,XN	6
		47,XN,+13	2
其他异常	12		
		46,XN 6 号数目异常	1
		46,XN 7 号重复	1
		46,XN 14 号部分重复	2
		46,XN 15 号数目异常	1
		46,XN 16 号数目偏多	1
		46,XN 18 号重复	1
		46,XN,? del(1)(p36.3) 1 号缺失	1
		46,der(15)add(15)(q26) 15 号异常	1
		47,XN,+9[7]/46,XN[93] 9 号数目异常	1
		47,XN,+15[9]/46,XN[91] 15 号数目异常	1
		47,XN,+20[14]/46,XN[86] 20 号数目异常	1

注: 表格中的 N 代表 X 或 Y。

### 3 讨 论

NIPT 目前主要检测胎儿非整倍体例如 21 三体、18 三体和 13 三体, 相对于传统的血清学筛查准确性更高和假阳性率更低<sup>[5]</sup>。NIPT 是通过采集孕妇外周血中胎儿游离 DNA, 使用生物信息学方法分析, 最终得出胎儿非整倍体风险。NIPT

是一种新兴的无创产前筛查方法, 因其取样方便, 无创伤特点而易于被广大孕妇接受。

本研究对 95 例 NIPT 高风险患者羊水检测结果进行分析发现 21 三体高风险 40 例其中 34 例为 21 三体(85.00%), 阳性预测值最高, 其次为 18 三体(75.00%); X 数目异常(68.00%), 其他染色体异常(41.67%), 13 三体高风险(25.00%)。由此可见, NIPT 对唐氏综合征患者检测准确性最高, 但总体比 Benachi 等<sup>[6]</sup>报道的检出率偏低, 原因为本研究中样本数偏少, 可能存在统计学上偏差。

40 例 NIPT 21 三体高风险核型结果 31 例标准型 21 三体占多数; X 性染色体数目异常核型检测结果 8 例均为 45,X 嵌合占 NIPT 性染色体高风险大多数, 13,18 三体高风险阳性均为标准型。

6 例 NIPT 其他染色体数目异常异常中检出 3 例为阳性, 均为嵌合型。6 例 NIPT 其他染色体结构异常检出 2 例。由于羊水染色体检测无法排除微小结构异常, 当 NIPT 提示染色体具有微小结构异常时, 应进一步选择分子水平方法进行检测。例如微阵列比较基因杂交技术(aCGH)<sup>[7-8]</sup> 和单核苷酸多态微阵列芯片(SNP-array)技术<sup>[9]</sup> 均可检测染色体微小结构异常, 弥补染色体检测的不足。2015 年国际产前诊断学会(ISPD) ISPD 指出 NIPT 对微缺失和微重复的检测应当限定在研究清楚综合征范围内, 并需要结合临床对孕妇进行综合诊断<sup>[10]</sup>。

虽然 NIPT 具有较高的敏感度和特异性, 但依然存在一定的误诊率和漏诊率, 与传统细胞遗传学检测结果之间仍然存在着不一致的情况。目前, 产前检测仍然以细胞遗传学染色体检测结果作为金标准, NIPT 仍不能替代有创性的产前诊断技术。NIPT 高风险须经有创产前诊断的细胞遗传或分子遗传方法证实。

### 参考文献

- [1] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. Lancet, 1997, 350(976):485-487.
- [2] Taneja PA, Prosen TL, De Feo E, et al. Fetal aneuploidy screening with cell-free DNA in late gestation[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2017, 30(3):338-342.
- [3] Zhu L, Cheng J, Zhou B, et al. Diagnosis for choroideremia in a large Chinese pedigree by next Generation sequencing (NGS) and noninvasive prenatal testing (NIPT)[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(3):1157-1164.
- [4] Hudecova I, Chiu RW. Non-invasive prenatal diagnosis of thalassemias using maternal plasma cell free DNA[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 39(2):63-73.
- [5] Liao C, Yin AH, Peng CF, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of common aneuploidies by semiconductor sequencing[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(20):7415-7420.
- [6] Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P, et al. Performance and indications of noninvasive prenatal testing using cell free circulating fetal DNA (cffDNA) for the detection of fetal trisomy 21,18 and 13 in France[J]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2016, 45(6):633-640.
- [7] Lee MN, Lee J, Yu HJ, et al. Using Array-Based comparative genomic hybridization to diagnose(下转第 1753 页)

化为能量供人体所需。但实际上，在具有高度抗原性的胃肠道黏膜系统中，由多种免疫细胞和免疫细胞因子共同构建的复合体与肠神经系统(ENS)相互作用，并发挥其免疫防御功能<sup>[7]</sup>。当某食品进入胃肠道后，胃肠道黏膜免疫系统就会不断地与食品抗原、正常宿主菌群以及致病性微生物相互作用，其中任何一个关键步骤出现问题，都有可能引起免疫功能的失衡。摄入的食物以多肽或其他分子的形式存在于人体内，如果被免疫系统识别为外来的异物，就会发生不相容性免疫反应，产生食品特异性 IgG 抗体，形成免疫复合物，从而引起胃肠道甚至全身的炎症反应<sup>[1,8]</sup>。由于婴幼儿的免疫系统还没有完全发育成熟，发生食物不耐受的比率就会更高。

由于婴儿在母亲的子宫内是处于一种相对无菌的状态，所以婴幼儿的免疫系统在未出生之前是没有发育完善的，以初始免疫细胞为主。随着婴幼儿的成长，其免疫系统渐渐在与外界细菌的相互作用中通过产生抗体及形成免疫记忆细胞建立成熟起来，因此慢性迁延性腹泻最常见于婴幼儿<sup>[9]</sup>。1岁以内为高发年龄段，这与研究者收集到的病例情况亦是相符的，诊断为慢性迁延性腹泻的患儿多为0~1岁的婴儿，其病因复杂，主要与食物过敏、感染、乳糖不耐受、以及不合理使用抗菌药物后的肠道菌群失调相关。在此之前，临床医生大多数更关注造成腹泻的感染性因素，对其他引起腹泻的病因认识不足，因此造成抗菌药物的滥用，从而加重患儿肠道菌群失调，进一步导致腹泻迁延，使腹泻病治愈越来越困难<sup>[10]</sup>。最近越来越多的研究表明，肠道菌群对人体健康有着非常重要的影响力。研究证明，如果婴幼儿生长在一个过于干净的环境中，免疫细胞反而不能够识别需要攻击的对象是真正的病原体还是自身组织，反而会导致对自身组织的免疫攻击，这样的婴幼儿成长过程中更容易发生食物不耐受或者其他自身免疫性疾病，如风湿、红斑狼疮、类风湿关节炎等等<sup>[11]</sup>。因此，让婴幼儿在成长的过程中适当地接触病原体，亦是帮助婴幼儿建立平衡的免疫系统的路径之一。

从研究结果可以看出，慢性迁延性腹泻患儿的牛奶不耐受发生率颇高，这与之前他人的研究结果一致<sup>[3,12]</sup>，这也进一步提示母乳喂养是更安全更健康的喂养方式，母乳中不仅含有婴幼儿发育所需的营养成分，而且富含葡萄球菌、链球菌、乳酸菌和双歧杆菌等有益的菌群，亦可以帮助婴儿更快的建立合理的肠道菌群，从而有效地降低食物不耐受的发生率<sup>[13]</sup>。

综上所述，食物不耐受可能是小儿发生慢性迁延性腹泻的重要病因之一。因此，通过特异性 IgG 抗体的检测，查找疾病缘由，判断是否因食物不耐受所致，给予患儿科学的饮食指引，采用轮替、间隔、少食或忌食等方法，并倡导母乳喂养，可以降

低不耐受食物继续在体内形成新的免疫复合物的概率，减少小儿发生食物不耐受的机率，提高小儿慢性迁延性腹泻的治愈率，改善预后，从而提高慢性迁延性腹泻患儿的生活质量。

## 参考文献

- [1] 鄂建飞, 刘利洪, 孙家祥, 等. 食物不耐受检测在婴儿慢性消化系统疾病中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(24): 3309-3310.
- [2] 杨军红, 田曦, 陈颖新, 等. 慢性迁延性腹泻病儿的营养状况及影响因素分析[J]. 肠外与肠内营养, 2012, 19(6): 363-366.
- [3] 胡艳. 食物不耐受与婴儿慢性腹泻的相关性分析[J]. 医药前沿, 2015, 5(11): 84-85.
- [4] 孙梅. 小儿过敏性慢性腹泻[J]. 中国实用儿科杂志, 2006, 21(1): 8-10.
- [5] 万盛华, 黄敏, 罗丽娟, 等. 食物特异性 IgG 抗体在婴儿迁延性、慢性腹泻中的检测及意义[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2012, 52(5): 70-72.
- [6] Pietschmann N. Food intolerance; immune activation through diet-associated stimuli in chronic disease [J]. Altern Ther Health Med, 2015, 21(4): 42-52.
- [7] Szilagyi A. Adaptation to lactose in lactase Non persistent People: effects on intolerance and the relationship between dairy food consumption and evalution of diseases[J]. Nutrients, 2015, 7(8): 6751-6779.
- [8] 吕志玲, 黎海芪. 食物抗原早期暴露与儿童食物过敏[J]. 中华儿科杂志, 2010, 48(8): 588-591.
- [9] 刘芳丽, 宁一冰, 马德福, 等. 中国八城市 0~36 月龄婴幼儿自报过敏、食物过敏与不耐受状况调查与影响因素分析[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(11): 801-806.
- [10] 程译文, 凌宗欣. 肠道菌群与婴幼儿过敏性疾病[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3): 352-355.
- [11] 周琼, 施焕中. 卫生假说的证据与困惑[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(7): 483-484.
- [12] 张雪, 潘家华, 周浩泉, 等. 331 例儿童食物不耐受检测结果分析[J]. 安徽医学, 2014, 35(6): 745-748.
- [13] 王沁芳, 赵青. 牛奶蛋白过敏所致婴儿腹泻临床分析 20 例[J]. 中国现代医生, 2012, 50(31): 131-132.

(收稿日期: 2017-02-08 修回日期: 2017-04-08)

(上接第 1750 页)

- Pallister-Killian syndrome[J]. Ann Lab Med, 2017, 37(1): 66-70.
- [8] Guanciale-Franchi P, Celentano C, Alfonsi M, et al. An 11.4-Mb interstitial deletion in a fetus with no apparent phenotypic alterations[J]. Mol Syndromol, 2017, 8(1): 42-44.
- [9] Srebnik MI, Diderich KE, Joosten M, et al. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs[J]. Eur J

Hum Genet, 2016, 24(5): 645-651.

- [10] Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis[J]. Prenat Diagn, 2015, 35(8): 725-734.

(收稿日期: 2017-02-26 修回日期: 2017-04-26)