

• 论 著 •

微阵列基因芯片检测自然流产组织结果分析^{*}

梁少霞, 张燕霞, 赵婧, 杨海鑫, 谢丰华

中山市博爱医院产前诊断中心, 广东中山 528400

摘要: 目的 应用染色体微阵列分析(CMA)技术检测分析自然流产组织, 探讨自然流产发生的遗传学因素。**方法** 收集 2019 年 1 月 1 日至 2021 年 12 月 31 日于该院就诊的 1 038 例自然流产患者的流产组织, 采用 CMA 技术对组织进行检测, 并对结果进行遗传学病因分析。**结果** 在 1 038 例自然流产患者流产组织中, 901 例取材合格, 实际检测 901 例。CMA 检测出染色体异常和(或)存在意义未明拷贝数变异(CNV)的有 443 例, 异常率达 49.17%; 致病性 CNV 共 41 例, 占总异常的 9.26%; 孕妇不同年龄组间流产胎儿染色体总异常率($\chi^2=17.37$)及染色体数目异常发生率($\chi^2=26.43$)比较, 差异有统计学意义(均 $P<0.001$)。不同孕期间流产组织的染色体总异常率($\chi^2=19.63$)和染色体数目异常发生率($\chi^2=22.66$)比较, 差异具有统计学意义(均 $P<0.001$)。**结论** 应用 CMA 技术对自然流产患者的流产组织进行检测, 能提高流产胚胎的染色体异常的检出率, 发现潜在的遗传因素, 为患者下次妊娠提供遗传学指导。

关键词: 自然流产; 染色体微阵列分析; 染色体拷贝数变异; 染色体微缺失/微重复变异

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.19.010

中图法分类号: R715.5

文章编号: 1673-4130(2025)19-2364-08

文献标志码: A

Microarray gene chip detection results in spontaneous abortion tissues^{*}

LIANG Shaoxia, ZHANG Yanxia, ZHAO Jing, YANG Haixin, XIE Fenghua

Prenatal Diagnosis Center, Zhongshan Boai Hospital, Zhongshan, Guangdong 528400, China

Abstract: Objective To use chromosome microarray analysis (CMA) technology to detect and analyze spontaneous abortion tissues, and explore the genetic factors that contribute to the occurrence of spontaneous abortion. **Methods** The abortion tissues of totally 1 038 patients with spontaneous abortion who came to the hospital for treatment from January 1, 2019 to December 31, 2021 were collected. CMA technology was used to detect the tissues, and the results were analyzed for genetic etiology. **Results** Among 1 038 cases of spontaneous abortion patients, 901 cases were qualified for sampling and 901 cases were actually tested. There were 443 cases of chromosomal abnormalities and (or) copy number variations (CNV) with unknown significance detected by CMA, with an abnormality rate of 49.17%. There were 41 cases of pathogenic CNV, accounting for 9.26% of the total abnormalities. There were statistically significant differences in the total chromosome abnormality rate ($\chi^2=17.37$) and chromosome number abnormality rate ($\chi^2=26.43$) of aborted fetuses among different age groups of pregnant women ($P<0.001$). There were statistically significant differences in the total chromosome abnormality rate ($\chi^2=19.63$) and chromosome number abnormality rate ($\chi^2=22.66$) of different miscarriage tissues during pregnancy ($P<0.001$). **Conclusion** The application of CMA technology to detect the miscarriage tissue of patients with spontaneous abortion can improve the detection rate of chromosomal abnormalities in miscarriage embryos, discover potential genetic factors, and provide genetic guidance for patients' next pregnancy.

Key words: spontaneous abortion; chromosomal microarray analysis; copy number variations; chromosomal microdeletions/microduplications

自然流产是临幊上常见的异常妊娠结局, 指在 20 周之前失去妊娠、胎儿体重小于 1 000 g, 妊娠自行终

止, 发生率在 15.00%~20.00%^[1]。流产的风险因素包括父母年龄较大、有过流产史、饮酒、糖尿病、烟草

* 基金项目: 中山市卫生健康局医学科研项目(2021J225)。

作者简介: 梁少霞, 女, 副主任技师, 主要从事细胞遗传和分子遗传研究方面的研究。

烟雾接触史和肥胖等,但在众多因素中,最重要的因素是胚胎染色体异常(约 75.00%)^[2]。胚胎染色体异常包括染色体数目异常和片段重复或缺失;染色体数目异常包括非整倍体、多倍体、部分单体和部分三体等^[3],同时胚胎染色体微重复和微缺失也是自然流产中不可忽视的因素^[4]。染色体微阵列分析(CMA)可以在全基因组范围内同时检测染色体数目异常和结构异常(微缺失和微重复),并能较准确地测定其大小,是一种在全基因组的基础上来检测单个阵列上的拷贝数变异(CNV)、杂合缺失(LOH)、同源区域和单亲二体(UPD)的方法。有研究证明,CMA 是检测流产组织中染色体异常最有效、最快速的方法,尤其对于夫妻一方因为染色体微小片段平衡易位导致的反复流产,CMA 检测流产物是最快速有效的方法,可帮助临床诊断、遗传咨询和生育指导^[5]。本研究采用 CMA 技术对自然流产患者的流产组织进行检测,分析自然流产与孕妇年龄及孕期的联系,讨论 CMA 技术在检测胚胎染色体亚显微结构异常的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月 1 日至 2021 年 12 月 31 日在本院就诊的明确诊断为自然流产的 901 例孕妇。年龄 17~54 岁,中位年龄 31 岁;孕周为 6~33⁺周;既往无或曾发生≥1 次无明显诱因自然流产(存在不良孕产史)。所有患者均了解本研究的内容并均签署知情同意书。

1.2 研究方法 对研究对象行清宫术,挑取的流产组织 5~15 mg,收集标本的同时,收集所有患者的外周血用于排除母体细胞污染,在必要时协助解析检测结果,样品提取人类全基因组 DNA(gDNA);使用 Affymetrix Cytoscan HD 试剂盒对样品进行处理,使用 Affymetrix GeneChip[®] System 3000Dx v. 2 芯片系统对芯片进行扫描并对产生的数据进行数据分析。把分析出的 CNV 与 DGV(含健康者的 CNV)、DECIPHER(含患者的表型及致病性片段)、OMIM(含已知的致病基因)、CAGdb、ISCA(含良性与致病性的 CNV)、UCSC Genome Browser(显示片段中基因的内容及功能)及 PubMed 等数据库及本实验室的内部数据库进行比对,判断检测出的 CNV 的性质。根据 CMA 结果将流产患者分为未见异常组、染色体异常组、致病性微缺失/微重复组(致病性 CNV)、不明确微缺失/微重复(VOUS)组。分别比较各组间患者的年龄差异,并统计分析异常核型的种类及检出率。

1.3 统计学处理 采用 SPSS27.0 统计软件进行数据分析。计数资料采用例数或百分率表示,不同年龄组或不同孕期孕妇流产绒毛或流产组织染色体异常发生率的比较采用 χ^2 检验。采用双因素非条件 Logistic 回归分析导致流产绒毛或流产组织染色体异常

的影响因素。所有统计学检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 流产组织 CMA 检测结果 901 例样本中全部检测成功,检测成功率 100.00%,CMA 检测出染色体异常和(或)存在意义未明 CNV 的有 443 例,异常率达 49.17%(443/901)。2019、2020、2021 年检测例数分别为 258、299、344 例。见表 1。

表 1 2019~2021 年 CMA 检测结果[n(%)]

年份(年)	阳性	阴性	无关联或意义未明 CNV		总计
			未明 CNV		
2019	135(50.8)	126(48.8)	1(0.4)	258(100.0)	
2020	129(43.2)	160(53.5)	10(3.3)	299(99.9)	
2021	168(48.8)	172(50.0)	4(1.2)	344(100.0)	

注:阳性表示染色体结果为数目异常或明确致病 CNV,阴性表示染色体结果为未发现染色体数目及结构异常。

2.2 染色体异常类型 在 CMA 检测出的异常染色体结果中,染色体数目异常有 390 例,占 43.29%(390/901),占总异常率的 88.04%(390/443),以非整倍体异常为主,尤其是以 16-三体,22-三体,性染色体单体及 21-三体多见;除此之外,在染色体数目异常核型类型中以三倍体形式也常见。见表 2。

表 2 CMA 检测染色体数目异常核型类型及例数

类型	核型	n
三倍体	69,XNN	37
三体	47,XN,+2	4
	47,XN,+3	7
	47,XN,+4	7
	47,XN,+5	3
	47,XN,+6	5
	47,XN,+7	7
	47,XN,+8	4
	47,XN,+9	8
	47,XN,+10	5
	47,XN,+11	2
	47,XN,+13	19
	47,XN,+14	9
	47,XN,+15	21
	47,XN,+16	66
	47,XN,+17	1
	47,XN,+18	18
	47,XN,+20	5
	47,XN,+21	35
	47,XN,+22	42

续表 2 CMA 检测染色体数目异常核型类型及例数

类型	核型	n
常染色体嵌合体	47,XN,+4/46,XN	1
	47,XN,+10/48,XN,+10,+13	1
	47,XN,+13/48,XN,+10,+13	1
	47,XN,+14/46,XN	2
	47,XN,+16/46,XN	1
	47,XN,+16/48,XN,+7,+16	2
	47,XN,+21/46,XN	2
	45,XN,-21/46,XN	1
	47,XN,+22/46,XN	2
	46,X,+22/45,X	1
性染色体单体	45,X	57
性染色体重复	47,XXX	1
	47,XXY	1
性染色体嵌合重复	47,XXX/46,XX	2
复合三体	48,XN,+4,+8	1
	48,XN,+9,+13	2
	48,XN,+10,+15	1
	48,XN,+13,+20	1
	48,XN,+13,+22	1
	48,XN,+14,+21	3
	48,XN,+15,+21	3
	48,XN,+16,+22	1
	48,XN,+21,+22	1
	48,XXX,+21	1
	48,XXY,+21	1
	49,XN,+15,+16,+21	1
四体	48,XN,+8,+8	1
单亲二倍体	46,XN,UPD(14)	1
	46,XN,UPD(15)	1

除了单纯的染色体数目异常外,本研究检测出致病性 CNV 共 41 例,占 5.88% (53/901),占总异常率

的 9.26% (41/443),意义未明或不确定 CNV 有 11 例,良性 CNV 有 1 例。CNV 类型见表 3、4。在检出的临床致病性 CNV 中均能在 OMIM, AutoCNV, DECIPHER, Pubmed 数据上查到与该 CNV 相似区域 CNV 的病例报道,临床致病性 CNV 在儿童或成人中导致的临床表型主要表现为智力障碍,发育迟缓,身材矮小,以及一些神经系统发育异常(如共济失调、癫痫发作、孤独症),骨骼系统发育异常(如小头畸形)等,这些致病性 CNV 在胚胎时期发育过程中可表现为宫内发育迟缓,胎儿生长受限,胎儿积水等,考虑这些区域涉及的致病性 CNV 可能与自然流产和胚胎停育有临床关联性。其中表 3 的 22、23 号样本的 CMA 检测结果提示同时存在染色体末端的微缺失及微重复,提示夫妇中的一方携带涉及微小片段的平衡易位。

2.3 孕妇年龄与 CMA 结果的关系 本研究中根据 CMA 结果将自然流产孕妇分为未见异常组(458 例)、染色体数目异常组(390 例)、致病性 CNV 组(41 例)、VOUS 组(11 例)及良性 CNV 组(1 例),见表 5。染色体数目异常组与致病性 CNV 组的总称为阳性组。自然流产孕妇的中位年龄为 31 岁(17~54 岁),根据孕妇的年龄分成 4 组:适龄组(<30 岁)、中间组(30~35 岁)、高龄组(>35~40 岁)及超高龄组(>40 岁)。适龄组(<30 岁)、中间组(30~35 岁)、高龄组(>35~40 岁)、超高龄组(>40 岁)孕妇流产组织染色体数目异常的发生率分别是 37.75%、39.76%、54.97%、67.39%,随着流产孕妇年龄的增长,流产孕妇的流产组织染色体数目异常的发生率显著上升,高龄组(>35~40 岁)及超高龄组(>40 岁)流产组织染色体数目异常发生率俨然超过 50.00%。染色体数目异常组与未见异常组孕妇年龄比较,差异具有统计学意义($\chi^2=26.43, P<0.001$)。流产组织染色体总异常与孕妇年龄比较,差异具有统计学意义($\chi^2=17.37, P=0.0006$)。各孕妇年龄组致病性 CNV 率比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.288, P=0.232$),见表 6。

表 3 CMA 检测致病性 CNV 类型及其关联的临床表型

病例	异常片段	片段大小 (Mb)	临床表型
1	arr18q21.2q23×1	25.3	孤独症、智力障碍、全面发育迟缓、身材矮小
2	arr5p15.33p14.3×1	19.0	猫叫综合征、智力障碍、小头畸形
	arr5p14.3p13.3×(1~2)	10.5	智力障碍、小头畸形
3	arr9p24.3q33.2×3	120.8	智力障碍、身材矮小、骨骼系统异常、癫痫发作
	arr22q11.1q11.21×1	3.5	智力障碍、听力障碍、肌张力减退、耳朵畸形、肌肉骨骼系统异常
4	arr21q22.3×1	2.2	智力障碍、语言发育迟缓、共济失调、身材矮小、小头畸形

续表 3 CMA 检测致病性 CNV 类型及其关联的临床表型

病例	异常片段	片段大小 (Mb)	临床表型
5	arr12q24.31q24.33×3	11.5	胎儿腹水、脑积水、胎动减弱、羊水过多
	arr17p13.3p11.2×3	18.2	智力障碍、小头畸形、共济失调、全身发育迟缓、癫痫发作、面部畸形、身材矮小
6	arr18q11.1q22.1×(2~3)	46.2	耳朵畸形、心血管系统异常、宫内发育迟缓、头颈异常、肌张力减低
	arr18q22.1q23×1	13.0	孤独症、智力障碍、全面发育迟缓、身材矮小
7	arr15q11.2q13.1×1	4.9	脑电图异常、智能障碍、小头畸形、癫痫、躯干性共济失调、天使症候群
8	arr4p16.3p15.31×1	20.5	智能障碍、小头畸形、肌张力减退、癫痫、小于胎龄儿、Wolf-Hirschhorn 综合征
	arr12p13.33p12.3×1	19.3	智力障碍、癫痫、生长发育迟缓、小头畸形
9	arrXq22.3q28×1	50.5	智力障碍、四肢畸形、小头畸形、斜视、肌张力减退
10	arr3q29×1	1.7	智力障碍、语言发育迟缓、小头畸形、斜视、喂养困难
11	arr3p14.3p14.1×1	8.5	智力障碍、癫痫发作、外耳畸形、斜视、共计失调、屈曲痉挛
12	arr1p36.33p36.22×1	10.1	身材矮小、肌张力减退、胼胝体发育不良、智力障碍、脑白质营养不良、多灶性癫痫样放电、癫痫发作
	arr1p36.22p36.13×(2~3)	5.0	智力障碍、小头畸形、斜视、视盘缺损、尿道下裂
13	arr4p16.3p15.1×(1~2)	35.0	智能障碍、小头畸形、肌张力减退、癫痫、小于胎龄儿、Wolf-Hirschhorn 综合征
14	arr3p26.3p21.2×3	51.1	智力障碍、手指并指、腭裂、原发性小头畸形、前脑畸形、脑积水、胼胝体发育不良、早产、正中唇裂、前颌骨发育不全
	arrXp22.33p11.23×1	48.6	身材矮小、孤独症、隐睾症、语言发育迟缓、智力障碍、斜视、外耳畸形
15	arr5p13.2×3	0.6	中等智力障碍
16	arrXp22.33p11.21×(2~3)	57.0	全面发育迟缓、智力障碍、非中线唇裂、身材矮小、头颈面部畸形
	arrXq21.31q28×(1~2)	69.0	产前发育异常或出生异常、全面发育迟缓、智力障碍、语言发育迟缓、子宫发育不良
17	arr10q22.3q23.2×1	7.5	孤独症、语言发育迟缓、多动症、智力障碍、斜视、双侧强直-阵挛性发作、肥胖、性发育不良、桶状胸、马蹄内翻足、失用症
18	arr4p12q13.1×3	13.9	孤独症、语言发育迟缓、癫痫、肾发育不良
19	arr14q21.2q31.3×3	39.0	孤独症、智力障碍、肌张力低下、语言发育迟缓、宫内发育迟缓
20	arr2q22.2q37.3×3	99.5	身材矮小、攻击性行为、小头畸形、智力障碍、漏斗胸、小耳畸形、癫痫发作、全身性肌张力减退、全面发育迟缓、心室中隔缺损
	arr8q24.21q24.3×1	17.2	智力障碍、癫痫发作、下颌前突、语言发育迟缓、轻度发育迟缓
21	arr17p13.3×1	1.8	智力障碍、双侧强直-阵挛性发作、小头畸形、视力障碍、身材矮小、腭裂
22	arr12p13.33×1	1.9	意义未明
	arr15q25.3×3	15.8	智力发育迟缓、颜面畸形、手脚畸形、心脏缺陷
23	arr7q11.23×1	1.3	智力障碍、语言发育迟缓、孤独症
	arr13q33.2×3	8.5	智力发育迟缓、颜面畸形、手脚畸形、心脏缺陷
24	arr10q11.22q22.2×1	27.8	智力障碍、语言发育迟缓、隐睾、心室中隔缺损、小头畸形、孤独症
25	arr22q11.21×1	3.0	智力障碍、肌张力减退、孤独症、小头畸形
26	arr13q31.1q34×1	33.6	生长迟缓、全面发育迟缓、小头畸形、隐睾症、低位耳、前脑畸形

2.4 孕妇不同孕期与 CMA 结果的关系 本研究进一步探讨不同孕期与 CMA 结果的关系, 根据孕妇的孕周分成 3 组: 孕早期组(孕 6~<13 周)、孕中期组(孕 13~27 周)、孕晚期组(孕>27 周), 其中孕早期染色体异常病例共 388 例, 致病性 CNV 共 39 例; 孕中期染色体异常病例共 2 例, 致病性 CNV 共 2 例; 孕晚

期 VOUS 共 1 例, 见表 7。不同孕期孕妇流产组织染色体数目异常的发生率分别是 44.91%、6.67%、0.00%; 致病性 CNV 的发生率分别是 4.514%、6.67%、0.00%。从结果可见, 随着孕周的增加, 孕中期及孕晚期孕妇的流产组织染色体数目异常的发生率显著降低, 染色体总异常率($\chi^2 = 19.63$)及染色体

数目异常与孕妇孕周比较,差异具有统计学差异($\chi^2=22.66$,均 $P<0.001$),各孕妇年龄组致病性CNV率比较,差异有统计学意义($\chi^2=0.6457$, $P=0.724$),见表8。

表4 CMA检测意义不明确CNV类型

病例	异常片段	片段大小(Mb)
1	arr1q21.1q24.2×1	25.1
2	arr2p15p14×3	1.9
3	arr20q13.2q13.31×3	1.9
4	arr22q13.2q13.31×3	1.9
5	arr11q25×3	1.8
6	arr1q44×3	1.8

2.5 双因素非条件 Logistic 回归分析流产组织染色体异常因素 在本研究中,以患者流产绒毛或胚胎组

织染色体是否异常为因变量($y=0$ 表示阴性,未见异常; $y=1$ 表示阳性,存在染色体异常),患者的年龄、孕周阶段(孕早期、孕中晚期)为自变量进行双因素非条件 Logistic 回归分析。分析结果显示孕妇的年龄是流产绒毛或胚胎组织染色体异常的风险因素($OR=1.042$,95%CI:1.012~1.072, $P=0.005$),孕周阶段是流产绒毛或胚胎组织染色体异常的保护因素($OR=0.130$,95%CI:0.045~0.371, $P<0.001$),见表9。从结果分析可见,在孕周阶段不变的前提下,孕妇年龄每增加1岁,胎儿组织发生染色体异常的风险上升约4.20%。另一方面,这结果提示孕中晚期胎儿组织发生染色体异常的风险较孕早期低,也符合客观上如发现胎儿发生染色体异常情况,患者大多于孕早期流产或选择终止妊娠,进入孕中晚期后才发现染色体异常比率自然更低。

表5 不同年龄组孕妇流产组织CMA结果(n)

组别	未见异常	染色体数目异常	致病性CNV	VOUS	良性CNV	总数
适龄组	189	131	20	7	0	347
中间组	183	134	16	3	1	337
高龄组	73	94	3	1	0	171
超高龄组	13	31	2	0	0	46
总计	458	390	41	11	1	901

表6 不同年龄组孕妇流产组织CMA统计学结果[n(%)]

项目	适龄组(n=347)	中间组(n=337)	高龄组(n=171)	超高龄组(n=46)	χ^2	P
染色体总异常	158(45.53)	154(45.70)	98(57.31)	33(71.74)	17.37	0.001
阳性	151(43.52)	150(44.51)	97(56.73)	33(71.74)	20.04	<0.001
染色体数目异常	131(37.75)	134(39.76)	94(54.97)	31(67.39)	26.43	<0.001
致病性CNV异常	20(5.76)	16(4.75)	3(1.75)	2(4.35)	4.23	0.231

表7 不同孕期孕妇流产组织CMA结果(n)

组别	未见异常	染色体数目异常	致病性CNV	VOUS	良性CNV	总数
孕早期组	426	388	39	10	1	864
孕中期组	26	2	2	0	0	30
孕晚期组	6	0	0	1	0	7
总计	458	390	41	11	1	901

表8 不同孕期组孕妇流产组织CMA统计学结果(%)

项目	孕早期组(n=864)	孕中期组(n=30)	孕晚期组(n=7)	χ^2	P
染色体总异常率	438(50.69)	4(13.33)	1(14.29)	19.630	<0.001
阳性率	427(49.21)	4(13.33)	0(0.00)	21.600	<0.001
染色体数目异常率	388(44.91)	2(6.67)	0(0.00)	22.660	<0.001
致病性CNV查出率	39(4.51)	2(6.67)	0(0.00)	0.646	0.724

表 9 901 例自然流产患者流产组织染色体异常的双因素非条件 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
孕妇年龄	0.041	0.015	7.803	0.005	1.042	1.012~1.072
孕周阶段	-2.043	0.536	14.534	<0.001	0.130	0.045~0.371

3 讨 论

研究显示,对于传统的 G 带显色核型分析技术存在多种限制,如细胞培养失败率高、实验耗时、微生物污染和母体膜细胞的选择性生长。此外,它的分辨率低,几乎无法检测小于 5 Mb 的 CNV,并且难以确定 CNV 的大小和断裂点^[4]。而其他技术,如荧光原位杂交(FISH)由于其局限性而很少应用。CMA 技术具有无需培养细胞、高通量、高分辨率和高准确性的优势,它可以通过一次杂交实验扫描整个基因组内的染色体非平衡变异,并在亚显微结构水平上检测 CNV^[5-6]。因此,染色体微阵列分析方法被推荐用于超声结果异常的胎儿的诊断检测,也可用于流产后的流产组织检测^[6]。此外,CMA 改进了基因水平的染色体疾病诊断,避免了核型、FISH 和其他分子检测技术的限制^[7]。

KATARZYNA 等^[8]应用比较基因组杂交技术(aCGH)对 62 例复发性流产组织样本进行分析,发现在 62 例流产样本中,56.5%(35/62)检测到染色体异常,表明复发性流产中染色体异常是主要原因,其中染色体非整倍体最为常见,约占所有异常的 65.80%。而 CMA 技术同 aCGH 技术相比不但同样具有可检测小型结构异常的优点外,还有可检测出多倍体和单亲二体的特点,有助于流产原因的进一步探究^[3]。本研究使用 CMA 技术对 901 例自然流产患者的流产组织进行检测,对检测出的 CNV 片段进一步解析,检测出染色体异常和(或)存在意义未明 CNV 的有 443 例,异常率达 49.17%(443/901),其中染色体 CNV 例数占总异常例数的 11.96%,而以往的研究此百分比在 1.50%~9.00%^[9],证明本研究使用 CMA 方法检测 CNV 发生的百分比高于其他研究的结果,此方法具有高准确性和高灵敏度的特点。同时本研究检测出致病性 CNV 共 41 例,占总异常例数的 9.26%。这些致病的 CNV 已明确报道与四肢发育、神经系统、骨骼系统发育异常相关,另外这些 CNV 对胚胎在宫内发育及生长都有不良影响,可能与临床自然流产和胚胎停育有一定关联。尤其本研究中检测出两例同时存在染色体末端的微缺失及微重复的情况,提示夫妇中的一方携带涉及微小片段的平衡易位,平衡易位携带者因遗传物质无增加减少,其表型基本正常,尤

其是微小片段的染色体易位夫妻双方行外周血染色体 G 显带检查结果基本正常,因为染色体 G 显带无法分辨 10 Mb 以下的微小缺失重复,但其生殖细胞在减数分裂中将产生 18 种配子,其中仅 1 种为正常,1 种携带平衡易位。与正常配子受精后,形成的单体或三体的胚胎将发生流产、胎停或胎儿畸形。只有染色体正常或者易位的配子能够产生健康的子代,而染色体不平衡的配子将会导致不育、自然流产、胎儿畸形等。因此 CMA 方法对流产组织的检测结果对此类患者夫妻的临床诊断,下次妊娠指导有着重要意义^[9-10]。在本研究中还检测出意义未明或不确定 CNV 有 11 例,占总异常例数的 2.48%,它们是否会影响胚胎发育,对胎儿发育失败是否存在调控机制还有待以后进一步剖析。

GOU 等^[11]报道染色体数目异常是自然流产最常见的原因,在 222 个流产组织中,染色体异常的总体检出率为 40.54%,包括 53 例常染色体非整倍体(23.87%)、16 例性染色体非整倍体(7.21%)、5 例多倍体(2.25%)、4 例三倍体(1.80%)和 12 例致病性拷贝数变异(pCNV)为 5.41%。而本研究中最常见的染色体异常也是非整倍体,占所有异常的 60.50%(268/443),大多数非整倍体发生的原因是染色体第一次减数分裂时异常导致的。最常见的三体发生在 16 号染色体(24.63%,66/268)、22 号染色体(15.67%,42/268)、21 号染色体(13.06%,35/268)、15 号染色体(7.84%,21/268)、13 号染色体(7.90%,19/268)和 18 号染色体(6.72%,18/268)。除此之外,本研究还发现染色体四体异常及单亲二倍体,对于这些稀少病例的研究有利于进一步解析染色体异常的遗传机制。

高龄孕妇往往是出现胎儿染色体异常的主要群体,随着女性年龄的增加,卵巢微环境改变,卵母细胞质量下降,同时伴随纺锤体及端粒的异常,导致后续胚胎发育过程中染色体分离异常的概率增加,可能导致胚胎发育的失败^[12-14]。DING 等^[15]利用 CMA 对 1 065 例自然流产患者组织进行检测,检出染色体异常阳性率 53.50%(570/1 065),染色体非整倍体率 45.90%(489/1 065),研究分析显示孕妇的年龄、既往流产的次数及 IVF-ET 妊娠与流产组织中的染色体是否异常密切相关,高龄是导致胎儿染色体异常的危险因素。在本研究进一步对各年龄阶段进行细分,发现适龄组中孕妇流产组织检测出的染色体异常率为 45.53%,而随着年龄的增加该比例也逐渐攀升,到超高龄组达 71.74%。多因素非条件 Logistic 回归分析结果进一步提示孕妇年龄每增加一岁,其胎儿发生染色体异常的风险上升 4.20%。本研究对其中的 CNV

深入分析。本研究发现适龄组孕妇中流产组织检测出的致病性CNV为5.76%，显著高于其他更高龄组别的孕妇。同时本研究检出的致病性CNV的比例并没有伴随随孕妇年龄增加出现显著变化。此结果与最新的多项研究结果相似^[16-17]，表明CNV可能不会受到年龄变化的影响，年轻患者流产出现可能更多受非染色体数目异常的其他因素影响，CNV形成过程与基因组重复序列、微卫星序列不稳定性等机制相关^[18]，基于CNV的产生及遗传机制复杂，还待未来继续研究。

目前已有的很多流产组织染色体分析研究基本以孕早期为主，本研究入组样本量大，覆盖孕早期、孕中期和孕晚期。孕中期流产虽然不常见，但也需要引起重视，其中染色体异常导致孕中期流产是其中关键因素。本研究发现孕中期染色体异常导致流产原因中性染色体单体即特纳综合征更为常见，与相关研究结果相同^[19]。同时本研究比较发现孕中期、孕晚期流产组织染色体数目异常显著低于孕早期，证明孕早期流产可能更多与染色体数目异常相关，而其他研究尚未针对此方面统计分析。患者孕中期和孕晚期流产可能更多由于免疫、感染、母体因素等其他原因。除此之外，本研究发现致病CNV的查出率没有随着孕周增加而改变，CNV可能也不会受到孕周变化的影响。

本研究中纳入孕中晚期病例数较少，存在样本分布不均衡的问题，会导致分析区间偏宽。同时可能存在选择偏倚问题，大多患者在早期发现胎儿染色体异常而选择终止妊娠，统计中孕中晚期流产组织染色体异常率自然更低。鉴于研究资源和患者隐私等因素，研究中并未对种族或地理背景进行分层收集和分析，具有一定局限性，参考本院服务患者中，以广东省汉族人群为主，笔者认为在本研究范围内取得的结论可适用于该主流人群。另一方面，CMA技术无法检测到所有类型的染色体结构变异，像染色体平衡易位、倒位等。高龄孕妇中胎儿组织发生染色体平衡易位比例不少，而因CMA的技术局限性，实际高龄组的染色体异常发生率或许更高。CMA主要检测拷贝数的增减，不具备直接检测单核苷酸突变或微小插入/缺失的能力，对于点突变或单基因遗传病可能存在漏诊情况。CMA的分辨率取决于探针密度、分布及平台芯片等，虽然比传统核型分析精细许多，但仍存在可检测变异大小的极限。

综上所述，本研究利用CMA技术检测自然流产患者流产组织发现，随着孕妇年龄增加，胚胎发生染色体异常的比例显著增加，其中主要影响染色体数目异常率，而对致病性CNV的异常率几乎不受影响。

除此之外，孕中期流产组织染色体数目异常率也显著低于孕早期流产组织。通过本研究，可以看到利用CMA技术检测自然流产组织对微小片段易位患者夫妻的临床诊断及下次妊娠指导有着重要意义，CMA技术对于流产组织染色体异常检测的有效性及优秀应用前景。

参考文献

- [1] 庄建龙,曾书红,江裔颖,等.染色体微阵列技术在自然流产遗传学病因诊断中的应用[J].中华医学遗传学杂志,2022,39(8):903-906.
- [2] NIKITINA T V,SAZHENOVA E A,ZHIGALINA D I,et al. Karyotype evaluation of repeated abortions in primary and secondary recurrent pregnancy loss[J]. J Assist Reprod Genet,2020,37(3):517-525.
- [3] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组.流产基因组拷贝数变异检测应用及家庭再生育咨询的专家共识[J].中华医学遗传学杂志,2023,40(2):129-134.
- [4] WANG Y,LI Y,CHEN Y,et al. Systematic analysis of copy-number variations associated with early pregnancy loss[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2020,55(1):96-104.
- [5] AMADO-PUENTES A,REPARAZ-ANDRADE A,DEL CAMPO-GARCÍA A,et al. Neurodevelopmental disorders and array-based comparative genomic hybridization: sensitivity and specificity using a criteria checklist for genetic test performance[J]. Neuropediatrics,2019,50(3):164-169.
- [6] PAUTA M,GRANDE M,RODRIGUEZ-REVENGA L,et al. Added value of chromosomal microarray analysis over karyotyping in early pregnancy loss:systematic review and meta-analysis[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2018,51(4):453-462.
- [7] LEVY B,WAPNER R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis[J]. Fertil Steril,2018,109(2):201-212.
- [8] KOWALCZYK K,SMYK M,BARTNIK-GŁASKA M,et al. Application of array comparative genomic hybridization (aCGH) for identification of chromosomal aberrations in the recurrent pregnancy loss[J]. J Assist Reprod Genet,2022,39(2):357-367.
- [9] WANG Y,ZHOU R,JIANG L,et al. Identification of chromosomal abnormalities in early pregnancy loss using a high-throughput ligation-dependent probe amplification-based assay[J]. J Mol Diagn,2021,23(1):38-45.
- [10] 鲁宁,胡爽,孔祥东.146例胎儿染色体易位核型分析[J].中华医学遗传学杂志,2021,38(7):705-706.
- [11] GOU L,LIU T,WANG Y,et al. Clinical utilization of chromosomal microarray analysis for the genetic analysis in subgroups of pregnancy loss[J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2022,35(22):4404-4411. (下转第2377页)

• 论 著 •

血清 NRF2、HO-1 水平与狼疮性肾炎患者疾病活动度及预后的关系研究*

李林芳¹, 李玲艳², 武元会^{1△}

神木市医院:1. 检验科;2. 肾内科, 陕西榆林 719300

摘要:目的 分析血清核因子 E2 相关因子 2(NRF2)、血红素氧合酶-1(HO-1)水平与狼疮性肾炎(LN)患者疾病活动度及预后的关系。方法 选择 2020 年 3 月至 2022 年 1 月就诊于该院的 188 例 LN 患者作为病例组, 按照系统性红斑狼疮疾病活动指数(SLEDAI)评分分为稳定组(60 例, <10 分)、活动组(128 例, ≥10 分), 另选同期 160 例健康体检者作为对照组。比较病例组、对照组血清 NRF2、HO-1 水平差异, 对比稳定组、活动组血清 NRF2、HO-1 水平及肾功能指标[肾小球滤过率(GFR)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)], 经 Pearson 相关性分析血清 NRF2、HO-1 水平与 LN 患者疾病活动度、肾功能的相关性。随访 2 年, 根据 LN 患者肾脏相关终点事件发生情况分为预后良好组(117 例)、预后不良组(71 例), 比较两组血清 NRF2、HO-1 水平及其他临床资料, 多因素 Logistic 回归模型分析 LN 患者预后的影响因素。基于影响因素构建列线图预测模型并进行验证。结果 病例组血清 NRF2、HO-1 水平低于对照组($P < 0.05$); 活动组 NRF2、HO-1、GFR 水平低于稳定组, Scr、BUN 水平及 SLEDAI 评分高于稳定组($P < 0.05$); Pearson 相关性分析发现, 血清 NRF2、HO-1 水平与 LN 患者 SLEDAI 评分、Scr、BUN 呈负相关($r < 0, P < 0.05$), 与 GFR 呈正相关($r > 0, P < 0.05$); 预后不良组的 NRF2、HO-1、GFR 低于预后良好组, 慢性肾脏病分期(CKD)分期为 3~4 期占比、SLEDAI 评分高于预后良好组($P < 0.05$); 多因素 Logistic 回归模型发现, CKD 分期为 3~4 期、SLEDAI 评分上升是影响 LN 患者不良预后的独立危险因素($P < 0.05$), NRF2、HO-1、GFR 水平上升是独立保护因素($P < 0.05$)。基于影响因素建立的列线图预测模型对 LN 患者的预后具有良好的预测价值。结论 LN 患者血清 NRF2、HO-1 低表达, 二者水平与患者疾病活动度、肾功能密切相关, 且二者高表达会降低 LN 患者肾脏相关终点事件发生风险。基于影响因素构建的列线图预测模型对 LN 患者的预后具有较好的预测价值。

关键词:狼疮性肾炎; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素氧合酶-1; 疾病活动度; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.19.011

中图法分类号:R593.2

文章编号:1673-4130(2025)19-2371-07

文献标志码:A

Relationship between serum NRF2, HO-1 levels and disease activity and prognosis in patients with lupus nephritis*

LI Linfang¹, LI Lingyan², WU Yuanhui^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Nephrology, Shennmu Hospital, Yulin, Shaanxi 719300, China

Abstract: Objective To analyze the relationship between serum nuclear factor E2-related factor 2 (NRF2), heme oxygenase-1 (HO-1) levels and disease activity and prognosis in patients with lupus nephritis (LN). **Methods** A total of 188 LN patients who visited the hospital from March 2020 to January 2022 were selected as the case group, and were divided into a stable group (60 cases, <10 points) and an active group (128 cases, ≥10 points) according to the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) score. Another 160 healthy subjects were selected as control group. The differences of serum NRF2 and HO-1 levels between case group and control group were compared, the serum NRF2 and HO-1 levels and renal function indexes [glomerular filtration rate (GFR), serum creatinine (Scr), urea nitrogen (BUN)] were compared between stable group and active group, and the correlation between serum NRF2 and HO-1 levels and disease activity and renal function in LN patients was analyzed by Pearson. After 2 years of follow-up, LN patients were divided into good prognosis group (117 cases) and poor prognosis group (71 cases) according to the occurrence of renal-related endpoint events. Serum NRF2, HO-1 levels and other clinical data were compared be-

* 基金项目:2023 年陕西省科技计划项目(2023-JC-QN-0927)。

作者简介:李林芳,女,主管技师,主要从事临床医学检验、分子方面的研究。△ 通信作者,E-mail:530884337@qq.com。