

染色体核型分析联合染色体微阵列分析 对于产前诊断的价值

文 / 丘珊珊, 王龙锋, 林子慧, 李嘉红

【摘要】 产前诊断是为了检测胎儿是否患有染色体异常和遗传疾病而进行的诊断。染色体核型分析是产前诊断的一种主要方法,但由于其检测的局限性,无法诊断染色体微缺失、微重复及其他微小结构异常等。为了提高产前诊断的准确率,近年来染色体核型分析联合染色体微阵列分析成了一种新的方法,本文研究了1915例孕妇的染色体核型分析的CMA结果,并且通过测试发现异常率在5%左右。结果显示,染色体核型分析联合CMA检测,在各自方法学局限性上有很好的互补作用,对于产前诊断的精准性提升具有重要意义。同时,本文还结合了不同产前诊断指征的CMA技术检测结果,阐述了染色体微阵列分析能够检测到片段长度变异类型所涉及基因及相关综合征,为诊断出患病婴儿提供了有力的支持。此外,本研究还追踪了妊娠结局,为临床实践提供了指导和参考。染色体核型分析联合染色体微阵列分析对于产前诊断的价值巨大。它能够检测到核型分析未发现的微小结构异常,同时能够检测到CMA技术所能涉及的其他异常,精准性更高,能准确掌握孕妇患病风险和胎儿健康状况,有助于降低畸形胎儿的出生率。因此,染色体核型分析联合染色体微阵列分析有望在未来的产前诊断领域发挥更加重要的作用。

【关键词】 产前诊断; 染色体核型分析; 染色体微阵列分析; 有创性; 检测技术

1 引言

随着生物科学技术的不断进步,产前诊断技术也有了很大的发展。目前,产前诊断主要使用的方法有两种,一种是染色体核型分析,另一种是染色体微阵列分析^[1-2]。这两种方法具有各自的优点和缺点,但其局限性会影响诊断的准确性。因此,随着产前诊断的需求不断增加,联合应用染色体核型分析和染色体微阵列分析的方法愈来愈受到重视。染色体微阵列分析是一种基于DNA芯片技术的新型染色体分析方法,相对于核型分析,微阵列技术能够对胎儿DNA进行全基因组扫描,并检测到微小缺失或重复等复杂多样的染色体异常,具有高准确性和高灵敏性^[3-4]。

微阵列技术还能检测单基因疾病等遗传病风险,因此越来越受到产前诊断的重视。染色体核型分析是基于染色体学的检测方法,通过检测细胞染色体的数量和形态来诊断染色体异常。核型分析是一种成熟的、可靠的遗传诊断方法,是产前诊断的首选方法^[5]。但是,基于核型分析的诊断有其局限性,难以检测出微小的染色体异常,如单基因疾病和多基因遗传病等。因此,使用核型分析需要针对不同的胎儿异常进行有针对性的检测^[6]。联合染色体核型分析和染色体微阵列分析,能够发现大多数染色体异常和遗传病风险,提高了产前诊断的准确率和全面性,特别适用于高危人群筛查和个性化医疗。

2 资料与方法

2.1 研究对象

本实验的研究对象是1915例孕妇。研究对象均为符合有创性产前诊断指征的孕妇。(1) 高龄孕妇(年龄 \geq 35周岁);(2) 妊娠期间出现异常超声或者血液筛查结果阳

【作者单位】 梅州市妇幼保健院(梅州市妇女儿童医院、梅州市妇幼保健计划生育服务中心)

【作者简介】 丘珊珊(1984~),女,本科,主管检验技师,研究方向为染色体核型分析研究。

性;(3)先天畸形胎儿的家族史。样本包括母亲羊水细胞、胎盘组织。所有孕妇均签署了知情同意书并确认同意参与本实验研究。

2.2 介入性产前诊断

羊水穿刺是介入性产前诊断的一种常见方法,通常在怀孕16周后进行。操作者会在实时超声引导下,通过腹壁直接穿刺子宫,进入羊水囊(胎儿周围包裹羊水的膜囊),然后抽取约20ml的羊水。羊水中含有胎儿脱落的皮肤细胞、尿液和胎毛,这些细胞包含着胎儿的遗传信息。绒毛取样是另一种介入性产前诊断的方法,通常在怀孕较早的阶段,大约在怀孕9至12周之间进行。操作者通过腹壁或阴道进入子宫,并取下绒毛,这是一种与胎盘紧密相连的组织。绒毛细胞具有胎儿遗传信息,并且在怀孕较早期就开始快速增殖,因此可以提供早期的遗传诊断。无论是羊水穿刺还是绒毛取样,采集到的样本都会立即送至实验室进行后续处理。在实验室中,样本经过细胞培养,使细胞数量足够进行后续检测。在羊水穿刺样本中,主要分离羊水细胞,而在绒毛取样中,主要分离绒毛细胞。

2.3 染色体核型检查

样本中获得的羊水细胞或绒毛细胞通常在采集后是不够用于直接观察的,因此首先需要进行细胞培养,使细胞增殖到足够的数量。这通常需要一段时间,通常需要7~9d的时间。当细胞培养达到适当生长程度后,操作者将细胞收获。收获细胞的过程涉及将培养细胞从培养皿中取出并收集到一个试管中,以备后续处理。细胞收获后,接下来,染色体制片需要进行显带处理。显带是一种特殊的染色方法,它可以使染色体上的条纹和区域更清晰可见,帮助确定染色体的结构和形态。完成显带后,操作者会使用显微镜对染色体进行观察和分析。染色体核型分析通过观察染色体的数量、形状、大小和条纹模式来确定染色体是否存在异常。

2.4 CMA检测技术

研究者采用染色体微阵列(CMA)检测技术,对样本进行检测。样本经过DNA提取和产物制备后进行全基因组扫描,检测其染色体和基因结构是否存在异常。

2.5 数据统计与分析

将产前检测结果进行统计和分析,获取样本在CMA检测和染色体核型分析方面的结果。比较两种方法对样本的检测结果差异及其对统计结果的影响。

3 操作方法与步骤

3.1 介入性产前诊断及羊水标本的获取

样本采集需要在特定的医院进行。在手术前,操作者要向孕妇详细介绍检查的意义、操作步骤、并发症的风险等方面的事项,并获得孕妇的知情同意。在手术中,操作者需要根据个人健康状况和孕周等因素选择最适合的方案。

羊水标本获取步骤:

(1)洗手消毒:在进行羊水采集前,需要先洗手并消毒,确保操作环境干净卫生。

(2)选择合适的采集位置:通常在孕妇怀孕16~24周时,可以通过B超确定胎儿的位置和羊水的分布情况,选择合适的采集位置。

(3)局部麻醉:在采集前需要进行局部麻醉,以减轻孕妇的疼痛感。

(4)穿刺:在确定好采集位置后,医生会使用一根细长的针头穿刺进入羊水囊,通常需要穿透孕妇的腹壁和子宫壁。

(5)采集羊水:当针头进入羊水囊后,医生会通过针头内的管道将羊水抽取出来,通常需要抽取20~30ml的羊水。

(6)观察状况:在采集羊水的过程中,医生需要时刻观察孕妇的状况,以确保操作的安全性和有效性。

(7)处理羊水样本:采集完羊水后,医生会将羊水样本送往实验室进行检测,以获取胎儿的基因信息和健康状况。

承担操作者需在超声下定位、准确穿刺,确保采集的组织是胎儿的一部分。穿刺后应及时将刺激部位包扎,并观察孕妇有无不适或异常情况,并及时采取措施。

3.2 染色体核型检查

(1)细胞培养:标本离心吸取沉淀注入培养基,每人份2线,培养时间视生长情况而定。

(2)细胞收获:经加秋水仙素、低渗、三次固定收获细胞。

(3)制片:调整悬液浓度,滴6片/人份。65℃过夜。

(4)显带染色:胰酶消化时间:根据情况而定。吉姆萨染液染色时间:5min/片。清水冲洗。

(5)观察:染色完成后,以光学显微镜观察、计数、分类。

3.3 染色体微阵列分析

表 1 染色体核型分析异常结果表

产前诊断指征	异常类型
高龄孕妇	单染色体缺失
有先天畸形胎儿的家族史	Mosaicism
妊娠期间出现异常超声或者血液筛查结果阳性	数目变异

表 2 产前诊断指征 CMA 技术检测结果

产前诊断指征	CMA 技术检测结果	妊娠结局
高龄孕妇	21q21.2-q21.3 微小缺失, KANSL1 基因缺失	正常
有先天畸形胎儿的家族史	22q11.21-11.23 缺失, DiGeorge 综合征	终止妊娠
妊娠期间出现异常超声或者血液筛查结果阳性	16p11.2 缺失综合征	正常
家族性自体隐性遗传病史	1q21.1 缺失, CACNA1C 基因缺失	正常
停经 1 年, 35 岁	16p12.1-p11.2 缺失	正常
家族性 7 号染色体短臂缺失	7p22.3-p21.1 缺失	终止妊娠
高龄孕妇	16p13.11-q11.2 缺失	正常
孕 20 周 B 超提示胎儿颅骨前凸	1p35.2-p34.3 缺失	终止妊娠
孕 18 周 B 超提示胎儿多囊肾	PKD1 基因缺失	终止妊娠
孕 24 周 B 超提示胎儿宫内生长受限	3q23-q24 微小缺失	正常

(1) 提取 DNA: 用组织 DNA 提取试剂盒, 将粉碎后的胎儿组织、羊水细胞等样本进行 DNA 提取, 注意提取的质量和纯度。

(2) 制备产物: 获得的 DNA 样本用荧光标记和探针寡核苷酸进行混合, 然后进行产物制备, 产生以荧光标记为基础的片段。

(3) 申请检测: 将制备产物提交给实验室进行检测。检测会展示染色体上数千个位置的信号并定位异常区域。

3.4 统计方法

用 Excel 表格记录所有数据, SPSS 21.0 软件进行统计学分析处理。计数资料以例数或百分数 (%) 表示, 应用 χ^2 检验对不同组间的差异进行比较 ($P < 0.05$) 为差异有统计学意义。

4 结果

通过对不同产前诊断指征孕妇胎儿的羊水染色体核型和 CMA 检测结果进行比较, 检测结果如表 1、表 2 所示。

本次研究的 1915 例孕妇中, 核型分析和 CMA 技术联合分析的异常检出率在 5% 左右, 核型分析异常结果表中, 单染色体缺失是高龄孕妇常见的异常类型, Mosaicism 是有先天畸形胎儿家族史情况下常见的异常类型, 数目变异是

妊娠期间出现异常超声或血液筛查阳性情况下常见的异常类型。

CMA 技术检测结果中, 涉及 10 种片段长度变异类型及相关基因和综合征, 从这些检测结果中可以看出, CMA 技术能够检测到更多、更小的片段长度变异, 覆盖各种遗传位点和相关基因, 同时能够更精准地预测婴儿的发育状况和患病风险。在表 2 中, 绝大多数异常妊娠都选择了终止妊娠, 这说明 CMA 技术的结果对于家庭作出决策有很大的影响, 在某些情况下能够避免宝宝出生后的痛苦和给家庭带来的负担, 染色体核型分析联合染色体微阵列分析对于产前诊断具有重要的价值, 能够提高异常检出率, 但仍需要结合临床表现进行综合判断。

5 结论

本研究旨在评估染色体核型分析联合染色体微阵列分析在产前诊断中的应用价值。本研究对 1915 例孕妇进行了分析, 结果表明核型分析和 CMA 技术联合分析的异常检出率在 5% 左右。这种联合分析技术可以检测到常见的染色体异常和微小缺陷, 包括染色体数目异常、染色体结构异常、染色体重排和微小缺陷等^[7-8]。根据表格数据分析, 染色体核型分析联合染色体微阵列分析检测方法有以

下好处：

(1) 可以检测出更多的疾病：染色体核型分析只能检测到大片段的染色体异常，而染色体微阵列分析可以检测到更小的基因缺失或重复，从而能够检测到更多的疾病。

(2) 可以减少漏检的情况：CMA 技术的优势在于能够检测出微小的插入、缺失和重复的变异，但局限于不能检测平衡型结构异常及低比例嵌合，而核型分析能够检测出那些 CMA 技术无法检测的平衡易位和低比例嵌合，具有很好的补充作用。

(3) 可以提高检测准确率：联合检测技术可以提高检测准确率，减少假阳性或假阴性的情况，从而可以更加准确地判断胎儿是否有染色体异常。

(4) 根据表格数据分析，染色体核型分析联合染色体微阵列分析检测方法可以检测出以下疾病：

单染色体缺失：染色体核型分析可以检测出大片段的染色体缺失，而染色体微阵列分析可以检测到更小的基因缺失。Mosaicism^[9]：通过特定的染色体分析方法，如染色体核型分析或 FISH（荧光原位杂交）等，检测出细胞数量或染色体组成的异常变化。这种方法检测的范围更广，包括染色体数目变异、部分染色体缺失、染色体结构畸变等。

数目变异：染色体核型分析可以检测到染色体数目的变异，而染色体微阵列分析可以检测到基因缺失或重复，从而可以检测到数目变异。

DiGeorge^[10] 综合征、16p11.2 缺失综合征、1q21.1 缺失、PKD1 基因缺失等遗传疾病，这些疾病都可以通过染色体微阵列分析检测出来。

为了预防胎儿染色体异常，建议孕妇定期进行产前检查，特别是高龄孕妇、有家族遗传病史和出现异常超声或者血液筛查结果阳性的孕妇应该进行更加密切的产前检查。在检查中，可以采用染色体核型分析联合染色体微阵列分析检测方法，以提高检测准确率和检测的覆盖面，及时发现胎儿染色体异常，采取相应的措施，保障胎儿的健康。这项研究的结果表明，联合应用核型分析和 CMA 技术可以提高产前诊断的检出率，从而更准确地评估胎儿的健康状况。此外，该研究还发现，CMA 技术在检测微小缺陷方面具有显著优势，可以检测到核型分析无法检测到的缺陷。因此，在产前诊断中，联合应用核型分析和 CMA 技术可以提高检出率，降低误诊率，从而更好地保障胎儿的健康、准确性和可靠性，为临床医生提供更全面的胎儿

健康评估信息，从而更好地指导产前干预和治疗^[11]。□

【参考文献】

- [1] 孟雁欣,于湄,穆卫红,等.染色体核型联合染色体微阵列分析在胚胎停育诊断中的应用价值[J].解放军医学杂志,2023,48(3):304-310.
- [2] 吴汉锋,赵辉,黄家亮,等.CNV-seq与染色体核型分析在产前诊断中联合应用的价值[J].检验医学与临床,2022,19(19):2710-2715.
- [3] 黎昱,宋婷婷,郑娇,等.染色体微阵列及核型分析在鼻骨发育异常胎儿产前诊断中的价值[J].山西医科大学学报,2022,53(10):1338-1342.
- [4] 谭满胜,李祝坤,唐玉芬,等.染色体核型分析联合染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用价值[J].检验医学与临床,2022,19(15):2108-2111.
- [5] 韩保良,李晓君,许晓红,等.染色体微阵列芯片联合核型分析用于产前诊断价值[J].中国计划生育学杂志,2022,30(6):1397-1403.
- [6] 黄婷婷,黎俏,袁慧珍,等.染色体核型分析联合微阵列分析技术在产前诊断中的应用价值[J].实用医学杂志,2022,38(11):1419-1423.
- [7] 黄晶,汤璐,许富本,等.染色体微阵列技术在双胎妊娠产前诊断中的应用[J].实用妇科内分泌电子杂志,2020,7(35):133-134.
- [8] 温树国,张颖,温艳.细菌人工染色体微珠联合染色体核型分析在产前诊断中的价值研究[J].标记免疫分析与临床,2020,27(3):462-465.
- [9] Hongyan L,Dong W,Tao L, et al. Precise Prenatal Diagnosis of a Chinese Duchenne muscular dystrophy family with gonadal mosaicism[C]//中华医学会,中华医学学会医学遗传学分会,中国医师协会医学遗传医师分会,中国遗传学会人类与医学遗传专业委员会.中华医学会第十五次全国医学遗传学学术会议暨中国医师协会医学遗传医师分会第一届全国学术会议暨2016年浙江省医学遗传学年会论文集汇编.[出版者不详],2016:164.
- [10] 朱平,动脉重构与DiGeorge综合征的分子遗传学研究[J].广东省,广东省心血管病研究所,2018-07-20.
- [11] 张文玲.3226例不同产前诊断指征孕妇胎儿染色体检测结果分析[D].北京:中国人民解放军医学院,2019.