

Clinical Value Analysis of Ultrasound Screening Combined with Sequencing Technology in Prenatal Diagnosis

Hua Han Xiaoyan Zhu Yingchun Ha Xinting Wei Yanna Zhang Cui Guo

Yinchuan Maternal and Child Health Hospital Prenatal Diagnosis Center, Yinchuan, Ningxia, 750001, China

Abstract

Objective: Exploring the application value of fetal ultrasound abnormalities combined with whole exome sequencing (WES), chromosome number abnormalities, and pathogenic genome copy number variations (CNV) in prenatal diagnosis of adverse fetuses in Yinchuan Maternal and Child Health Hospital system. **Methods:** 89 pregnant women who underwent amniocentesis at the prenatal diagnosis center of Yinchuan Maternal and Child Health Hospital from January 2020 to July 2024 were selected for prenatal diagnosis at 18+1~30+6 weeks. Whole exome sequencing, chromosome number abnormalities, and pathogenic genome copy number variation (CNV) techniques were performed to analyze their ultrasound abnormalities and WES CNV. The value of relationship and ultrasound combined with WES and CNV detection techniques in prenatal diagnosis. **Results:** Among the 89 fetuses who underwent amniocentesis, 60 cases (67.42%) had abnormal fetal ultrasound, and 29 cases (32.58%) had a history of adverse pregnancy and childbirth; Among the 89 fetuses who underwent amniocentesis, 78 underwent whole exome sequencing, and 5 cases were detected as positive (6.41%). Three cases were followed up for the outcome. Among them, one child with EHMT1 pathogenic mutation and GJB2 gene heterozygous mutation chose to induce labor, while the others chose to continue pregnancy; Among the 52 cases of CNV testing, 5 cases (9.62%) were detected as positive, and 1 case (1.9%) with trisomy 21 mutation was detected during follow-up. Induced labor was chosen for the child, while the rest were chosen for birth. **Conclusion:** Ultrasound combined with WES and CNV techniques can improve the detection rate of fetal chromosomal abnormalities. The combined application of multiple techniques can provide a more comprehensive evaluation of the fetus in prenatal diagnosis, effectively carry out prenatal diagnosis, and shorten the waiting time for mothers.

Keywords

whole exome sequencing technology; system ultrasound examination; copy number variation; prenatal diagnosis

超声筛查联合测序技术在产前诊断中的临床价值分析

韩华 朱小燕 哈迎春 魏新亭 张燕娜 郭翠

银川市妇幼保健院产前诊断中心, 中国·宁夏银川 750001

摘要

目的: 探究银川市妇幼保健院系统胎儿超声异常联合全外显子测序(WES)、染色体数目异常和致病性基因组拷贝数变异(CNV)在不良胎儿的产前诊断中的应用价值。**方法:** 选择2020年1月至2024年7月在银川市妇幼保健院产前诊断中心产前妊娠18+1~30+6周时超声提示的89例行羊水穿刺术的孕早中期孕妇, 行全外显子测序、染色体数目异常和致病性基因组拷贝数变异(CNV)技术, 分析其超声异常和WES、CNV、关系及超声联合WES、CNV检测技术在产前诊断中的价值。**结果:** 89例行羊水穿刺术的胎儿中有60例(67.42%)胎儿超声异常, 29例(32.58%)有不良孕产史; 89例行羊水穿刺术的胎儿, 有78例行全外显子测序, 检出5例阳性(6.41%), 结局随访到3例, 其中1例EHMT1致病性变异且GJB2基因杂合突变患儿选择引产, 其他均选择继续妊娠; 52例行CNV检测中检出5例(9.62%)阳性, 结局随访1例(1.9%)检出21三体突变患儿选择引产, 其他均选择出生。**结论:** 超声联合WES、CNV技术能够提高胎儿染色体异常的检出率, 多种技术的联合应用可为产前诊断中的胎儿提供更全面的评估, 有效进行产前诊断, 缩短产妇等待时间。

关键词

全外显子测序技术; 系统超声检查; 拷贝数变异; 产前诊断

【基金项目】 基于二代测序技术的遗传病携带者筛查及产前诊断体系(项目编号: 2022ZDSF06); 遗传性耳聋基因产前筛查技术在银川市推广及应用(项目编号: 2020CMG03022)。

【作者简介】 韩华(1977-), 女, 中国陕西咸阳人, 硕士, 主任医师, 从事产前诊断研究。

1 引言

有报道显示, 中国每年约有10万染色体异常患儿出生^[1]。孕期产前筛查, 综合评估胎儿携带染色体的异常风险, 降低遗传性疾病的出生缺陷率, 是保障优生优育的重要举措。超声是产前筛查的常用方法, 据统计, 10%的胎儿均可能出现超声异常指标^[2], 超声异常胎儿出现染色体异常的风险高于正常胎儿。羊水穿刺是确定染色体异常胎儿的金标

准,但侵入性操作可能引起胎儿损伤、感染、流产等严重后果^[3]。运用新型的高通量及高分辨率二代测序技术,目前已应用于临床诊断^[4]。基于此,本研究将探讨银川市妇幼保健院羊水穿刺结果与超声指标异常对诊断孕中晚期胎儿染色体异常的诊断价值。

2 资料与方法

2.1 一般资料

选择2020年1月—2024年7月在银川市妇幼保健院产前诊断中心收治的89例羊水穿刺术的孕早中期孕妇的病例资料,年龄19~42岁,平均(30.70±4.22)岁;孕周18~31周,平均(24.83±5.11)周。

纳入标准:①具有羊水穿刺结果;②单胎妊娠;③孕妇既往有不良孕产史或染色体异常携带者;④临床资料完整者。

排除标准:①具有先兆流产征兆;②胎儿存在严重结构畸形;③无法进行临床随访;④合并妇科炎症或肿瘤。

2.2 检测方法

2.2.1 超声检查

89例孕妇均进行胎儿超声系统检查,使用GE彩色超声诊断仪(厂家:GE公司;型号:GE LOGIQ E9 XDclear 2.0)。孕妇取仰卧位,探头频率为(3.5~5.0)MHz,常规扫查孕妇腹部。根据胎儿产前诊断超声扫查方法对胎儿头颅、四肢及脏器完成扫查,检测胎儿是否存在畸形。检查期间,测定、记录胎儿畸形出现的位置,并常规检测胎儿的腹围、头围、股骨等指标。

2.2.2 遗传学检测

89例羊水穿刺遗传学检测:告知产妇羊水穿刺的原因、目的,可能存在的风险,征得孕妇及家属同意后,行羊水穿刺术。仰卧体位下,医师按超声引导,做定位点皮肤消毒,抽取20mL羊水。分别装入2个无菌管,送入实验室完成相应的测序工作。

2.2.3 统计方法

采用描述性统计分析,符合正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以(%)表示。

3 结果分析

3.1 系统胎儿超声检查

89例羊水穿刺术的胎儿中有60例(67.42%)胎儿超声异常,29例(32.58%)有不良孕产史,其中60例胎儿超声异常中汉族45例(75%),回族11例(18.3%),其他民族4例(6.67%)。系统超声结果显示:26例(43.33%)为多发超声异常,如主动脉横弓及峡部狭窄、三尖瓣反流、肠管回声增强等,其他34例(56.67%)为未合并其他超声异常,如室间隔缺损、单脐动脉等。

3.2 遗传学检测

89例羊水穿刺术的胎儿,有78例行全外显子测序,检出5例阳性(6.41%),结局随访到3例,其中1例EHMT1致病性变异且GJB2基因杂合突变患儿选择引产,其他均选择继续妊娠;52例行CNV检测中检出5例(9.62%)阳性,结局随访1例(1.9%)检出21三体突变患儿选择引产,其他均选择继续妊娠。

3.2.1 WES 检测

78例行全外显子测序的患儿中,有56例(71.79%)胎儿超声显示异常,22例(28.21%)有不良孕产史,测序结果显示:有5例阳性(6.41%),其中1例AR:c.292C>T:p.Q98*致病性变异,其第一胎不良孕产史为G1假两性畸形(AR基因c.292C>T);1例CREBBP:c.4592dup:pT1532Hfs*10致病性变异,超声显示胎儿偏小,且有1次胚胎停育不良孕产史。1例EHMT1致病性变异且GJB2基因杂合突变,其他2例为非致病性突变,详见表1。

3.2.2 CNV 检测

CNV检测中,52例中检出5例(9.62%)阳性,1例(1.9%)检出21三体,其超声结果显示为:主动脉弓缩窄(以横弓为著)、室间隔缺损、右锁骨下动脉迷走等。1例(1.9%)X染色体p21.2处存在约0.64Mb大小杂合重复区域,遗传变异分析其为临床意义未明。超声结果显示:胃泡略大;其父母双方均智力低下,且其父亲Y染色体上重复23.77Mb大小片段,XXY综合症。其他三例均为可能良性变异。

表1 5例WES阳性胎儿超声、遗传及妊娠结局

编号	孕产次	孕周	年龄	超声异常	不良孕产史	全外	妊娠结局
1	G1P0	18+4	26		—	EHMT1的1个变异,为致病性,临床特征:智力残疾;GJB2:c.35delG杂合突变	引产
2	G3P1	18+2	33		2021年足月顺产耳聋孩子,且夫妻双方均为GJB2:c.235del携带者	GJB2基因c.235delC杂合	出生
3	G2P0	27+5	23	胃泡略大	—	Y染色体上重复23.77Mb大小片段	出生
4	G2P1	19+3	36		G1假两性畸形(AR基因c.292C>T)	AR:c.292C>T;p.Q98*变异(可能致病)	出生
5	G3P1	28+2	31	胎儿偏小	胚胎停育1次	CREBBP:c.4592dup:pT1532Hfs*10变异(致病性)	出生

表 2 5 例 CNV 阳性胎儿超声、遗传及妊娠结局

编号	孕产次	孕周	超声异常	不良孕产史	CNV	妊娠结局
1	G2P1	18+6	—	有一智力低下患儿，WES 示 P.1264Ffsx25，为移码突变，致病性变异，父母 WES 未见异常	12q11q12 重复 0.32Mb，良性	出生
2	G3P1	18+2	—	2021 年足月顺产耳聋孩子，且夫妻双方均为 GJB2: c.235del 携带者	3q13.11 重复 1.18Mb，临床意义不明	出生
3	G1P0	24+3	主动脉弓缩窄（以横弓为著）、室间隔缺损、右锁骨下动脉迷走、三尖瓣反流（中度）、鼻骨未显示、部分肠管回声增强、羊水较多	—	21- 三体	引产
4	G2P0	27+5	胃泡略大	—	X 染色体 p21.2 处存在约 0.64Mb 大小杂合重复区域（临床意义未明）	出生
5	G2P1	19+3	—	G1 假两性畸形（AR 基因 c.292C > T）	Xp22.31 缺失 0.48Mb（可能良性）	出生

4 讨论

胎儿出生缺陷指新生儿在母体内即出现的结构、功能或代谢异常等情况，是导致胎儿出生缺陷的重要原因^[5]，是造成可预防的儿童生命损失的重要因素^[6]。因此，孕早期非常有必要对胎儿实施有效且微创的胎儿染色体异常检测。

孕期系统性保健检查是产前诊断胎儿畸形最为重要的手段，但在临床诊断中，胎儿染色体异常超声单独检测的诊断准确率较低^[7]。研究表明：全外显子测序技术（WES）可检出 85% 以上胎儿致病突变的 4000 多种单基因疾病，目前已广泛应用于超声异常胎儿遗传疾病的产前诊断中^[8]。本研究中，78 例行全外显子测序的患儿中，有 56 例（71.79%）胎儿超声显示异常，22 例（28.21%）有不良孕产史，检出 5 例阳性（6.41%），其中 1 例 AR: c.292C > T: p.Q98* 致病性变异，其超声显示正常；1 例 CREBBP:c.4592dup:pT1532Hfs*10 致病性变异，超声显示胎儿偏小，且有 1 次胚胎停育不良孕产史。1 例 EHMT1 致病性变异且 GJB2 基因复合杂合突变，其他 2 例为非致病性突变，且均超声正常。因此，WES 在超声正常但有不良孕产史及遗传家族人群中有良好的应用价值。

染色体拷贝数变异（copynumbervariation, CNV）、染色体大片段缺失/重复及单基因病等染色体病是出生缺陷最常见的遗传因素之一^[9]，其中致病性 CNV 在正常人群中的发病率可达 1.0%~1.7%，远高于 21- 三体综合症的发病率^[10]。因此，CNV 联合超声检查可能会增加其检查的准确性。本研究 52 例超声异常行 CNV 的胎儿中检出 5 例（9.62%）阳性，其中 1 例（1.9%）检出 21- 三体，其超声结果显示为：主动脉弓缩窄（以横弓为著）、室间隔缺损、右锁骨下动脉迷走等。1 例（1.9%）X 染色体 p21.2 处存在约 0.64Mb 大小杂合重复区域，遗传变异分析其为临床意义未明，超声结果显示：胃泡略大。由此可见，产前超声有助于提高胎儿染色体异常的筛查效果，CNV 检测可验证超声检查的准确性。

综上所述，多种检测技术联合超声检查可在一定程度上提高胎儿的染色体异常的检出率。本研究选取的样本量较

少、选择地区比较单一，后期还需扩大多区域样本数进行进一步验证。

参考文献

- [1] 田焯,袁秋文,胡梁深.骨质疏松性骨折患者术后再骨折的风险列线图构建与验证[J].实用医学杂志,2023,39(18):2294-2299.
- [2] 张艳飞,胡滨,孔凡斌,等.孕早期颈项透明层超声筛查在高龄孕妇产前诊断胎儿染色体异常中的应用[J].山西医药杂志,2024,53(16):1216-1219.
- [3] 向丹丹,牛凤鹤.CNV-Seq技术和羊水细胞染色体核型检测在产前羊水穿刺中的价值比较[J].菏泽医学专科学校学报,2022,34(4):22-25.
- [4] 冯思航,姜北雪,陆炎,等.全外显子测序技术对 1 例 IV 型 Waardenburg 综合征的突变分析[J/OL].中国皮肤性病学杂志,1-10.
- [5] Wang H, Lin X, Lyu G, et al. Chromosomal abnormalities in fetuses with congenital heart disease: a meta-analysis[J]. Archives of gynecology and obstetrics, 2023.
- [6] STRONG K, ROBB-MCCORD J, WALANIS, et al. Action against birth defects: if not now, when?[J]. Glob Health Action, 2024,17(1):2354002.
- [7] TZELA P, ANTONAKOPOULOS N, ANASTASOPOULOS P, et al. Karyotyping and chromosomal microarray analysis in women requesting amniocentesis for isolated sonographic soft markers or advanced maternal age[J]. Acta Inform Med, 2021, 29(4):288-292.
- [8] He M, Dul, Xie H, et al. The Added Value of Whole-Exome Sequencing for Anomalous Fetuses With Detailed Prenatal Ultrasound and Postnatal Phenotype[J]. Front Genet, 2021,22(12):6272.
- [9] Deden C, Neveling K, Zafeiropoulou D, et al. Rapid whole exome sequencing in pregnancies to identify the underlying genetic cause in fetuses with congenital anomalies detected by ultrasound imaging[J]. Prenatal Diagnosis, 2024,21(1):16-20.
- [10] KRSTIC N, OBICAN S G. Current landscape of prenatal genetic screening and testing[J]. Birth Defects Res, 2020,112(4):321-331.