

## ● 诊疗经验 ●

# QF-PCR 在 5 358 例地中海贫血产前诊断中对 常见染色体病的诊断价值

麦明琴 熊盈 周伟宁 黄伟伟 秦丹卿 张琪

(广东省妇幼保健院医学遗传中心 广州 511442)

**摘要:**目的:研究荧光定量 PCR(Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction, QF-PCR)技术在地中海贫血(简称地贫)产前诊断病例中对常见非整倍体染色体的检测作用,了解此方法的运用对地中海贫血产前诊断,同时快速排除胎儿常见染色体病的诊断价值。方法:回顾分析 2015 年 1 月~2017 年 1 月因夫妇双方为同型地贫在我院医学遗传中心行介入性产前诊断(取样标本包括绒毛、羊水与脐血)检测胎儿地贫基因,同时行 QF-PCR 快速诊断常见染色体数目异常的 5 358 例产前诊断结果。总结常见非整倍体染色体病在这组人群的检出率,QF-PCR 异常而地贫基因正常或轻型的病例再次行胎儿染色体核型分析验证。结果:5 358 例地贫产前诊断标本中,所有样本均同时行 QF-PCR 检测,选用 STR(Short Tandem Repeat, STR)位点排查胎儿常见染色体非整倍体异常(13、18、21、X 与 Y 染色体),共检测出染色体异常占 0.47%(25/5 358),其中 4 例合并重型地贫,胎儿引产未行染色体核型分析,其余 21 例均行染色体核型分析确诊结果一致。结论:QF-PCR 技术定量分析 STR 多态性位点能准确、快速诊断常见非整倍体染色体病,是产前诊断中不可缺少的重要检验方法,在常规地贫产前诊断病例中运用能避免漏诊染色体异常胎儿。

**关键词:**地中海贫血;荧光定量 PCR;产前诊断;染色体非整倍体

中图分类号:R714.55

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2017.04.061

QF-PCR 技术是在 PCR 扩增和毛细管电泳分离技术基础上,通过定性、定量分析 STR 的多态性,诊断常见染色体非整倍体。目前能诊断的目标染色体为 21、18、13、X 和 Y 5 种,诊断准确率为 99.2%~100.0%。该技术由 Adinolfi 等于 1995 年建立。随着产前诊断需求的不断上升,QF-PCR 技术凸显出来的快速、准确、不需要细胞培养、自动化程度高等特点在产前诊断中有很大的应用价值<sup>[1-2]</sup>,对地贫产前诊断病例同时行 QF-PCR 检测,可减少漏诊常见染色体病。地中海贫血是世界范围内最常见的常染色体隐性遗传病,主要发病机制是由于珠蛋白基因缺陷导致血红蛋白珠蛋白合成障碍或减少。地中海沿岸、东南亚、印度、中东及我国南方地区高发<sup>[3]</sup>。一项针对广东地区 26 543 例个体的地贫基线调查显示地贫基因携带率是 16.83%,其中  $\alpha$ 、 $\beta$  地贫的携带率分别是 12.96%和 4.51%,同型夫妇携带率 1.87%<sup>[4]</sup>。我院产前诊断中心承担了广东省全省重要的地贫防控工作,每年有大量的地贫产前诊断病例,其中大多数来源于基层转诊。快速、准确的产前诊断是防止出现重型地贫患儿的重要措施。本文统计在我中心行地贫产前诊断的 5 358 例诊断结果,其中胎儿重型及中间型地贫的检出率是 20.1%(1 079/5 358),联合 QF-PCR 快速诊断常见染色体非整倍体,染色体异常的检出率是 0.47%(25/5 358)。现具体分析如下

## 1 研究对象和方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 1 月~2017 年 1 月在我院医学遗传中心因夫妇双方为同型地中海贫血携

带者而前来行介入性产前诊断手术、诊断胎儿地贫基因类型的病例 5 358 例,所有取样均同时行 QF-PCR 分析 STR 多态性排除常见染色体非整倍体。

## 1.2 方法

1.2.1 产前诊断样本取样 根据孕妇就诊孕周,采用绒毛活检术、羊膜腔羊水穿刺术、脐静脉穿刺术三种介入性产前诊断方法。排除穿刺的禁忌症后,孕 11~14 周适宜行绒毛活检术,16 周后采取羊膜腔穿刺术,晚孕亦可采用胎儿脐静脉穿刺取术。所有受检胎儿术前超声检查,了解胎儿发育情况、羊水量、胎盘位置等信息,绒毛穿刺术前常规超声胎儿颈项透明层厚度(Nuchal Translucency Thickness, NT)检查排除严重发育异常。

1.2.2 送检样本量 地贫基因与 QF-PCR 检测所需标本的含量,绒毛需取样 2 mg,羊水取样 15 ml,脐血标本需 0.5 ml。

1.2.3 实验仪器与方法 配备毛细管电泳仪、PCR 扩增仪,QF-PCR 技术检测 STR 位点诊断常见染色体非整倍体 13、18、21、X 和 Y。采用跨越断裂点多聚酶链反应 Gap-PCR 技术和反向斑点杂交 RDB-PCR(Reverse Dot Blot, RDB)技术,分别检测 6 种常见  $\alpha$  基因缺失与点突变及 17 种常见  $\beta$  点突变。染色体细胞培养方法分别是:根据取样标本不同,分别采用羊水原位细胞培养、绒毛细胞培养与脐血淋巴细胞培养。

## 2 结果

2.1 QF-PCR 阳性率 5 358 例地贫产前诊断样本

中均同时行 QF-PCR 检测常见染色体数目,共检测出 25 例阳性病例,检出率为 0.47%。其中 4 例因诊断为重型地贫胎儿引产而未行染色体核型分析以外,其余 21 例均行染色体 G 显带核型分析,结果与 QF-PCR 检测一致。

2.2 地贫基因结果 5 358 例胎儿地贫产前诊断病例中重型及中间型地贫的检出率为 20.1% (1 079/5 358),其中重型及中间型  $\alpha$  地贫占 77.5% (836/1 079),重型及中间型  $\beta$  地贫的检出率占 22.5% (243/1 079)。

2.3 染色体核型结果 QF-PCR 阳性病例中 21 例行染色体 G 显带核型分析,两者结果一致。其中 21 三体 12 例,18 三体 4 例,13 三体 1 例,性染色体异常 4 例,包括 1 例 XXY,2 例 XYY,1 例 X。胎儿染色体核型异常的 21 例。孕妇均选择引产放弃胎儿。

### 3 讨论

21、18、13、X 和 Y 染色体非整倍是常见的染色体疾病,是胎儿染色体异常中的主要类型,其中的染色体三体是活产儿里唯一可以出现的染色体异常类型<sup>[5]</sup>。传统的染色体核型分析目前仍是诊断染色体病的金标准,但存在报告时间长、人员技术要求高、标本需细胞培养、相对费用较高等局限<sup>[6]</sup>。因此,在我们地贫产前诊断病例中,对筛查无胎儿染色体异常高危征象的胎儿,不需行报告周期长的染色体核型分析,采用 QF-PCR 即能达到排除常见染色体异常的快速诊断目的,其具有高通量检测、性价比高等优点,因报告周期短 (2~3 d),甚至 24 h 就能发放报告,可实现早诊断的目的<sup>[7-8]</sup>。在我中心行地贫产前诊断的病例,对已排除不良孕产史、胎儿超声结构异常、胎儿染色体异常超声软指标、母体高龄状态等高危因素后,诊断地贫的同时采取单独 QF-PCR 检测;若合并上述高危因素时,则同时行染色体核型分析及(或)染色体微阵列分析。Rahil 等在 400 例有产前诊断指征病例行羊水 QF-PCR 检测中发现 1.5% (6/400) 21、18、13 染色体三体综合征,结果与染色体核型分析一致,其结论提示 QF-PCR 检测目标染色体准确率达 100%<sup>[5]</sup>。Baig 的研究提示 QF-PCR 对 21、18、13、X 和 Y 染色体检测的灵敏度与特异度均为 100%<sup>[9]</sup>。在我中心所做的 5 358 例地贫产前诊断病例中均采用 QF-PCR 方法同时行常见染色体非整倍的检测,针对上述目标染色体,我们的染色体异常检出率为 0.47%,与染色体 G 显带核型分析结果一致。

广东省为地中海贫血高发区,在某些地区,地贫基因携带率可高达 16.83%<sup>[4]</sup>,婚前、孕前筛查及孕后产前诊断是地贫防控的重要措施,孕期产前诊断作为二级预防是防止出生缺陷的重要环节。对地贫产前诊断的胎儿若无染色体异常的高危因素,我们建议采用 QF-PCR 技术同时排除常见染色体病。联合 QF-PCR 的优点包括:(1)快速、准确地诊断目标染色体病,包括 13、18、21、X 和 Y 染色体数目,减少后续进一步产前诊断的可能;(2)减少地贫产前诊断中遗漏染色体异常病例;(3)报告时间短,实现早诊断的目的,极大地减少孕妇焦虑、紧张的情绪;(4)在染色体阅片人力不足的情况下,可降低染色体核型分析检测量、减少产前诊断费用;(5)可作为染色体核型分析及染色体微阵列分析的有力补充<sup>[10]</sup>。因此,我们运用 QF-PCR 技术检测胎儿 21、18、13、X 和 Y 染色体作为地贫产前诊断中排除常见胎儿染色体病的第一选择。

### 参考文献

- [1]朱宇宁,吕时铭.荧光定量 PCR 技术在产前诊断中的应用专家共识[J].中华妇产科杂志,2016,51(5):321-324
- [2]Rostami P,Valizadegan S,Ghalandary,et al.Prenatal Screening for Aneuploidies Using QF-PCR and Karyotyping:A Comprehensive Study in Iranian Population[J].Arch Iran Med,2015,18(5):296-303
- [3]陆国辉,徐湘民.临床遗传咨询[M].北京:北京大学医学出版社,2007.237-240
- [4]Yin A,Li B,Luo M,et al.The prevalence and molecular spectrum of  $\alpha$ -and  $\beta$ -globin gene mutations in 14,332 families of Guangdong Province,China[J].PLoS One,2014,9(2):e89855
- [5]Rahil H,Solassol J,Philippe C,et al.Rapid detection of common autosomal aneuploidies by quantitative fluorescent PCR on uncultured amniocentesis[J].Eur J Hum Genet,2002,10(8):462-466
- [6]Atef SH,Hafez SS,Mahmoud NH,et al.Prenatal diagnosis of fetal aneuploidies using QF-PCR:the Egyptian study [J].J Prenat Med,2011,5(4):83-89
- [7]Xu AQ,Xia M,Liu JT,et al.Validation of quantitative fluorescent-PCR for rapid prenatal diagnosis of common aneuploidies in the Chinese population[J].Genet Mol Res,2013,12(4):6379-6388
- [8]Badenas C1,Rodríguez-Reventa L,Morales C,et al.Assessment of QF-PCR as the first approach in prenatal diagnosis [J].J Mol Diagn,2010,12(6):828-34
- [9]Baig S,Ho SS,Ng BL,et al.Development of quantitative-fluorescence polymerase chain reaction for the rapid prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies in 1 000 samples in Singapore [J].Singapore Med J,2010,51(4):343-348
- [10]Shin YJ,Chung JH,Kim DJ,et al.Quantitative fluorescent polymerase chain reaction for rapid prenatal diagnosis of fetal aneuploidies in chorionic villus sampling in a single institution [J].Obstet Gynecol Sci,2016,59(6):444-453

(收稿日期:2017-03-17)