

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.04.007

胎儿右锁骨下动脉迷走应用单核苷酸多态性微阵列
技术检查的价值*陈耿波,江裔颖,傅婉玉,王元白,庄建龙,李燕青[△]

福建省泉州市妇幼保健院儿童医院产前诊断中心,福建泉州 362000

摘要:目的 探讨单核苷酸多态性微阵列(SNP-array)检查对胎儿右锁骨下动脉迷走(ARSA)的临床意义。方法 选取2018年1月1日至2022年7月31日于该院进行产检的75例孕妇的胎儿为研究对象,所有胎儿Ⅱ~Ⅲ级彩超检查提示ARSA,且所有孕妇均在该院产前诊断中心进行羊水/脐血染色体核型分析及SNP-array检查,总结分析其染色体检查结果、临床表型及妊娠结局。结果 染色体核型分析检出4例染色体结构异常,包含2例致病性变异和2例46,XN,inv(9)(p11q13),致病性变异检出率为2.67%(2/75);SNP-array检出12例异常,包含5例致病性变异(pCNVs)、2例存在杂合性缺失(LOH)、5例临床意义尚不明确(VOUS),致病性变异检出率为6.67%(5/75)。合并心脏其他结构畸形的ARSA胎儿染色体pCNVs检出率最高(33.33%),其次为孤立性ARSA胎儿(10.71%)。结论 ARSA胎儿建议进行染色体SNP-array检查排除染色体微小病变。

关键词:右锁骨下动脉迷走; 单核苷酸多态性微阵列; 胎儿; 染色体异常; 致病性变异

中图分类号:R446.9;R714.55

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)04-0463-04

Clinical value for fetal right subclavian artery vagus by single nucleotide polymorphism array technique*

CHEN Gengbo,JIANG Yuying,FU Wanyu,WANG Yuanbai,ZHUANG Jianlong,LI Yanqing[△]

Prenatal Diagnosis Center,Children's Hospital,Quanzhou Maternal and

Child Health Hospital,Quanzhou,Fujian 362000,China

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of single nucleotide polymorphism array (SNP-array) in the treatment of fetal aberrant right subclavian artery vagus (ARSA). **Methods** The fetuses of 75 pregnant women who underwent antenatal examination in Quanzhou Maternal and Child Health Hospital from January 1, 2018 to July 31, 2022 were selected as the study objects. All fetuses of grade Ⅱ to Ⅲ color ultrasound indicated ARSA, and all pregnant women underwent chromosome karyotype analysis of amniotic fluid/umbilical blood and SNP-array technology examination in our prenatal diagnostic center. The results of chromosome examination, clinical phenotype and pregnancy outcome were summarized and analyzed. **Results** Chromosome karyotype analysis detected 4 cases of chromosome structural abnormalities, including 2 cases of pathogenic variation and 2 cases of 46, XN, inv(9)(p11q13), the detection rate of pathogenic variation was 2.67% (2/75). SNP-array detected 12 abnormalities, including 5 cases of pathogenic variation (pCNVs), 2 cases of heterozygosity loss (LOH), and 5 cases of clinical significance unknown (VOUS). The detection rate of pathogenic variation was 6.67% (5/75). The detection rate of pCNVs in ARSA fetuses with cardiac malformations was the highest, followed by isolated ARSA fetuses. **Conclusion** Fetal ARSA relates closely to chromosomal lesions, and SNP-array detection is recommended to improve the detection rate.

Key words: right subclavian artery vagus; single nucleotide polymorphism array; fetus; chromosomal abnormalities; pathogenic variation

胎儿右锁骨下动脉迷走(ARSA)是主动脉弓最常见的先天异常,正常情况下,右锁骨下动脉起源于头臂干,而ARSA直接起源于主动脉弓,位于左锁骨下动脉的远端,通常绕气管和食管后方向右肩部走行,临床上多无明显症状。健康人群中ARSA的发生率为1.0%~1.5%,在非整倍体人群尸检中检出率为19%~36%,提示ARSA与胎儿非整倍体异常关系密

切^[1]。本研究回顾分析通过单核苷酸多态性微阵列(SNP-array)技术联合染色体核型分析产前诊断为ARSA的75例胎儿,对其染色体异常检出情况进行总结,以期对产前遗传咨询提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月1日至2022年7月31日于本院进行产检的75例孕妇的胎儿为研究

* 基金项目:福建省卫生健康重大科研专项资助项目[闽卫科教函(2021)905号];福建省科技重大专项[闽财指(2021)741号]。

作者简介:陈耿波,男,副主任医师,主要从事优生优育及计划生育研究。△ 通信作者,E-mail:liyanqing.vip@foxmail.com。

对象,所有胎儿Ⅱ~Ⅲ级彩超检查提示 ARSA,且所有孕妇均在本院产前诊断中心接受羊水/脐血染色体核型分析及 SNP-array 检查。根据有无合并其他高危因素将 75 例胎儿分为孤立性 ARSA 胎儿组及非孤立性 ARSA 胎儿组,非孤立性 ARSA 胎儿组高危因素包括胎儿超声结构异常、超声软指标异常、孕妇高龄、唐氏筛查高风险、不良孕产史等。所有接受介入性产前诊断的孕妇在检查前均充分知情,并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会批准(2020NO. 31)。

1.2 细胞培养及染色体核型分析 采用超声引导进行羊膜腔穿刺术或脐血穿刺术,抽取 30 mL 羊水或 2 mL 脐血用于染色体核型分析和 SNP-array 检查。20 mL 用于羊水细胞培养,羊水培养后收获细胞,制备染色体并染色后进行核型分析。羊水细胞共计数可分析核型 30 个,分析 5 个核型。1 mL 脐血用于脐血细胞培养,计数可分析核型 20 个,分析 5 个核型。染色体的命名参照人类细胞遗传学国际命名体制标准(ISCN 2020)。

1.3 SNP-array 检查 将 10 mL 羊水或 1 mL 脐血标本送至第三方检查公司(北京贝康医学检验所)采用 AffymetrixCytoScan 750K 芯片进行 SNP-array 检查。按照试剂盒说明书,提取羊水细胞基因组 DNA,经稀释、消化、扩增、纯化后,将芯片上的探针与生物

素标记的相应待测片段进行杂交、洗涤、结合染色后放入 GeneChip 扫描仪(Affymetrix 公司)扫描,采用 Chromosome Analysis Suite(ChAS)v4. 0 软件对荧光信号进行分析。根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)指南,通过查询 DGV、OMIM、Pubmed、DECIPHER 及加州大学圣克鲁斯分校(UCSC)数据库对拷贝数变异的临床意义进行分析。

2 结 果

2.1 染色体核型分析结果 共纳入 75 例产前超声提示 ARSA 胎儿,染色体核型分析检出 4 例染色体结构异常,包括 2 例致病性变异(分别为 47,XN,+21 和嵌合型 Turner 综合征)和 2 例 46,XN,inv(9)(p11q13),总检出率为 5. 33%(4/75),致病性变异检出率为 2. 67%。

2.2 SNP-array 检查结果 SNP-array 技术共检出 12 例异常,包括 5 例致病性变异、2 例存在杂合性缺失(LOH)、5 例临床意义尚不明确(VOUS),检出率为 16. 00%(12/75),致病性变异检出率为 6. 67%。见表 1。

SNP-array 技术对 ARSA 胎儿染色体异常的致病性变异检出率比传统染色体核型分析检出率提高 4%。孤立性 ARSA 胎儿组、非孤立性 ARSA 胎儿组染色体异常检出率比较见表 2。

表 1 ARSA 胎儿 SNP-array 异常检出情况及妊娠结局随访

序号	产前诊断指征	SNP-array 检查结果	父母验证	临床意义	核型分析	妊娠结局
1	ARSA	22q11. 21 重复 3. 3 mb	—	致病性变异	未见异常	终止妊娠
2	NT;5. 1 mm;静脉导管 a 波反向;室间隔缺损,永存左上腔静脉;ARSA	arr(21)x3	—	致病性变异	47,XN,+21	终止妊娠
3	心脏强回声;ARSA	3p22. 1p14. 3 杂合性缺失 13. 0 mb	—	LOH	未见异常	活产
4	ARSA	4q31. 23q34. 1 杂合性缺失 21. 5 mb	—	LOH	未见异常	活产
5	ARSA	22q11. 21 重复 2. 5 mb	—	致病性变异	46,XN,inv(9)(p11q13)	活产
6	DS1/200;先天性心脏病;法洛四联症,肺动脉闭锁,ARSA,左上腔静脉存在并引流入左房可能	4q21. 22q22. 2 缺失 11. 5 mb	—	致病性变异	未见异常	终止妊娠
7	ARSA;羊水过多;鼻骨发育不良;中筛 mom 异常;	2q12. 3 缺失 0. 59 mb; 17q11. 2 重复 0. 464 mb	—	VOUS	未见异常	活产
8	ARSA;肠道强回声	4q27 缺失 0. 17 mb	遗传自母亲	VOUS	未见异常	活产
9	ARSA	10q22. 1 缺失 0. 18 mb	遗传自母亲	VOUS	未见异常	出生后失访
10	ARSA;心脏强回声;肠道强回声;	11p14. 3 重复 1. 0 mb	新发突变	VOUS	未见异常	活产
11	ARSA;心脏强回声;侧脑室增宽;肾盂扩张;	18p11. 21 重复 0. 48 mb	—	VOUS	未见异常	活产
12	ARSA	45,X[22%]/46,XX[78%], 或 XXX/X/XX, 或 XXX/X 等形式异常嵌合	新发突变	致病性变异	45,X[47]/47, XXX[3]	终止妊娠

注:—表示未验证;DS 为唐氏综合征。

表 2 ARSA 胎儿具体分组及染色体异常检出情况

组别	n	SNP-array 检出情况			染色体核型检出情况		
		检出异常 (n)	总检出率 (%)	致病性变异检出率 (%)	核型异常 (n)	总检出率 (%)	致病性变异检出率 (%)
孤立性 ARSA 胎儿组	28	5	17.86	10.71	3	10.71	3.57
心脏其他畸形	6	2	33.33	33.33	1	16.67	16.67
超声软指标异常	33	5	15.15	0.00	0	0.00	0.00
非孤立性 ARSA 胎儿组							
孕妇高龄	5	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00
唐氏筛查高风险	1	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00
不良孕产史	1	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00
伴骨骼发育异常	1	0	0.00	0.00	0	0.00	0.00
合计	75	12	16.00	6.67	4	5.33	2.67

2.3 妊娠结局随访情况 经遗传咨询后,12 例合并染色体异常 ARSA 胎儿中例 1、2、6、12 家属选择终止妊娠;其余 8 例胎儿家属选择继续妊娠;7 例出生后随访家属均自述出生后未见明显异常,1 例出生后失访。

63 例染色体核型分析及 SNP-array 检查未发现异常的 ARSA 胎儿中 1 例于羊水穿刺术后 1 周自然流产(男性无生机儿,外观未见明显异常);1 例因超声提示胎儿小头畸形可能,于孕 26 周 5 d 在外院引产(无生机儿,性别及外观不祥);57 例出生后随访均未见明显异常;4 例失访。

1 例超声检查提示 ARSA 的胎儿染色体核型分析及 SNP-array 检查均未发现异常,彩超随访发现小头畸形,家属选择终止妊娠。

3 讨 论

染色体微阵列分析(CMA)技术又被称为“分子核型分析”,目前已广泛应用于产前诊断,能检查出 10 mb 以下的染色体小片段拷贝数变异^[2-4],与传统染色体核型分析相比,不仅能减少检查时间,同时能提高诊断率^[5]。本研究中 SNP-array 技术对 ARSA 胎儿染色体致病性变异检出率为 6.67%,与染色体核型分析相比,检出率提高了 4%。

ARSA 与胎儿染色体异常之间存在明显关联^[6]。目前的研究认为非孤立性的 ARSA 会增加胎儿染色体异常的风险,主要是 21-三体 和 22q11 微缺失^[7-8]。本研究中例 2 胎儿合并心脏其他结构畸形,检出 21-三体综合征。本研究检出 2 例 22 号染色体 22q11.21 区段存在微重复(分别为 3.3/2.5 mb),该片段位于 22q11.2 缺失/重复疾病的关键区域,已有研究报道 22q11.2 区段重复可导致不同程度的智力障碍,学习障碍,生长迟滞,肌张力减退等^[9],但 22q11.21 重复与 ARSA 的关系鲜有报道,例 5 作为存活案例,有待继续随访以充实临床数据。有研究报道 ARSA 可能是 Turner 综合征等染色体异常的产前超声表现^[10],本研究例 12 胎儿羊水染色体核型分析及 SNP-array 检出嵌合型 Turner 综合征伴 X 染色体微重复。

Turner 综合征是常见的染色体异常疾病之一,也是人类能生存的唯一单体综合征,Turner 综合征典型临床表现为第二性征发育不全、原发性闭经、身材矮小、躯体畸形、不能生育等,还可伴发一系列内分泌异常,如糖代谢紊乱、甲状腺疾病等^[11]。例 6 胎儿超声提示复杂先天性心脏病,羊水 SNP-array 技术检查提示 4 号染色体 4q21.22q22.2 区段存在 11.5 mb 片段的缺失,内含 HNRNPDL、DSPP、PKD2 等 46 个 OMIM 基因,已有小于和相似片段缺失与脑病(nsv533949,杂合缺失,Pathogenic)、巨头畸形、肌张力减退(nsv3110060,杂合缺失,Pathogenic)、发育迟缓(nsv993537,杂合缺失,Pathogenic)、视力异常、隐睾症、癫痫痉挛、全面发展迟缓、心室肥大、腕骨骨化延迟、大头畸形(Patient:306769,Pathogenic)等临床表型相关的病例报道。已有研究报道在智力障碍、低眼压、矮小等临床表型相关的患者中检查到 4q21.3 区段的缺失^[12],例 6 胎儿超声表型与既往报道不相符,但本研究只关注染色体微小病变,不排除基因突变、环境因素、病毒感染等因素引起例 6 胎儿的超声表型。有研究报道 LOH 可能与胎儿 ARSA 有关,但其机制尚不清楚^[7]。本研究中例 3、4 分别发现染色体 3p22.1p14.3 及 4q31.23q34.1 区段存在 LOH,包含多个常染色体隐性遗传疾病相关的基因,胎儿 ARSA 是否与染色体 LOH 的发生有关还有待更多的病例被识别和进一步的深入研究。孤立性 ARSA 通常被认为是一种正常血管变异,大多预后良好。对于孤立性 ARSA 胎儿是否需要介入性产前诊断目前仍没有较一致的观点,部分观点甚至存在冲突。有研究报道孤立性 ARSA 胎儿预后良好,如果无创产前基因检查(NIPT)结果为低风险,则不需要进行羊水或脐血等介入性检查^[13-14]。但 BEHRAM 等^[10]研究发现孤立性的 ARSA 可能是 21 三体综合征、DiGeorge 综合征等染色体异常的唯一产前预测因子,建议应进行染色体基因组疾病筛查。本研究中孤立性 ARSA 胎儿组染色体异常检出率为 17.86%(5/28),包括 3 例致

病性的拷贝数变异、1 例染色体 10q22.1 区段存在 0.18 mb 片段缺失、1 例 4 号染色体 LOH, 以上 5 例均不能被传统染色体核型分析技术检出, 鉴于孤立性 ARSA 与染色体微小病变关系密切, 建议进行染色体 SNP-array 检查以提高检出率, 减少因染色体核型分析技术分辨率低而导致漏诊。

虽然 CMA 对胎儿染色体疾病的诊断能力很强, 但该技术常常发现许多与临床表型相关性不明确的拷贝数改变, 给产前临床遗传咨询及家属带来很大的困扰^[15]。本研究共检出 5 例 VOUS, 变异检出率为 6.67% (5/75), 与文献^[16]报道一致。部分变异是健康人群的多态性表现, 不具有致病性, 当检出 VOUS 时, 建议进行亲本来源验证^[17]。本研究中共 3 例 VOUS 进行父母验证, 2 例遗传自表型正常的亲代, 1 例为新发突变; 大多数情况下, 来源于父母的 VOUS 倾向于可能良性^[18]。若胎儿 VOUS 为新发突变, 则需要结合其所涉及的基因、片段大小、胎儿影像学检查结果、家族史等综合评估胎儿预后^[19]。5 例 VOUS 均选择继续妊娠, 除 1 例出生后失访外, 其余 4 例出生后电话随访家属均自述发育良好。本研究尚存在一定的局限性: 样本量小, 可能导致数据分析出现偏差; 方法不够完善, 基因突变导致的综合征可能出现胎儿 ARSA, 本研究中 1 例超声检查提示 ARSA 的胎儿, 两种检测方法检查均未见异常, 导致胎儿小头畸形的病因未明确, 新一代测序技术能为胎儿发育异常提供更多的有用信息^[20], 有希望为 ARSA 胎儿预后的判断提供更全面的依据。

综上所述, 本研究认为 ARSA (包括孤立性与非孤立性) 与胎儿染色体病变 (包括染色体非整倍体和微缺失微重复) 关系密切, 建议进行介入性产前诊断; SNP-array 技术可以有效提高 ARSA 胎儿染色体异常的检出率, 建议进行介入性产前诊断对胎儿染色体核型分析的同时进行胎儿 SNP-array 检查。

参考文献

[1] 肖珍, 尚宁, 冯景煦, 等. 103 例胎儿孤立性迷走右锁骨下动脉的染色体分析[J]. 国际医药卫生导报, 2022, 28(4): 529-531.

[2] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(8): 570-572.

[3] 孙丹, 王小艳, 罗曼曼, 等. 应用单核苷酸多态性微阵列芯片及核型分析检查 7 例 21q 部分三体的产前遗传学诊断[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(6): 834-837.

[4] 胡仲任, 陈敏, 张宇, 等. 染色体微阵列分析技术在产前遗传性疾病诊断中的价值研究[J]. 中国现代医生, 2017, 55(30): 1-3.

[5] BERISHA S Z, SHETTY S, PRIOR T W, et al. Cytogenetic and molecular diagnostic testing associated with prenatal and postnatal birth defects[J]. Birth Defects Res, 2020, 112(4): 293-306.

[6] ATANASOVA D, MARKOV D, PAVLOVA E. Aber-

rant right subclavian artery (ARSA): a new ultrasound marker for chromosomal fetal abnormalities[J]. Akush Ginekol (Sofia), 2015, 54(4): 12-17.

[7] CAI M, LIN N, FAN X, et al. Fetal aberrant right subclavian artery: associated anomalies, genetic etiology, and postnatal outcomes in a retrospective cohort study[J]. Front Pediatr, 2022, 10: 895562.

[8] 赵菲, 张婷, 齐彩静, 等. 孕早期胎儿 ARSA 检出率及其 21 三体综合征发生的 Meta 分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2020, 31(7): 922-927.

[9] WOODWARD K J, STAMPALIA J, VANYAI H, et al. Atypical nested 22q11.2 duplications between LCR22B and LCR22D are associated with neurodevelopmental phenotypes including autism spectrum disorder with incomplete penetrance[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(2): e00507.

[10] BEHRAM M, SÜZEN ÇAYPINAR S, et al. Should isolated aberrant right subclavian artery be ignored in the antenatal period? A management dilemma[J]. Turk J Obstet Gynecol, 2021, 18(2): 103-108.

[11] 中华医学会内分泌学会国家学组. 特纳综合征诊治专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34(3): 181-186.

[12] TRAN T M, SHERWOOD J K, DOOLITTLE M J, et al. Loss of cGMP-dependent protein kinase II alters ultrasonic vocalizations in mice, a model for speech impairment in human microdeletion 4q21 syndrome[J]. Neurosci Lett, 2021, 759: 136048.

[13] 韩华, 李建玲. 胎儿迷走右锁骨下动脉对染色体异常的诊断价值[J]. 现代医药卫生, 2020, 36(13): 1984-1986.

[14] ANNETTA R, NISBET D, O'MAHONY E, et al. Aberrant right subclavian artery: embryology, prenatal diagnosis and clinical significance[J]. Ultrasound, 2022, 30(4): 284-291.

[15] 蒋宇林, 戚庆炜, 孟华等. 308 例高危妊娠产前诊断 CMA 技术发现不明确拷贝数变异的结果分析[J]. 生殖医学杂志, 2017, 26(9): 863-868.

[16] LEVY B, WAPNER R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis[J]. Fertil Steril, 2018, 109(2): 201-212.

[17] 吴海荣, 李琳, 马祎楠, 等. 染色体微阵列分析技术亲缘分析对判定拷贝数变异临床意义的影响[J]. 中华围产医学杂志, 2021, 24(9): 658-664.

[18] 杨扬, 王昊. 亲本来源验证在临床意义未明拷贝数变异致病性判别中的作用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2022, 39(5): 542-545.

[19] 蔡艾杞, 章锦曼, 唐新华, 等. 胎儿拷贝数变异的产前诊断与遗传咨询[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2021, 17(3): 262-267.

[20] LORD J, MCMULLAN D J, EBERHARDT R Y, et al. Prenatal Assessment of Genomes and Exomes Consortium. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography(PAGE): a cohort study[J]. Lancet, 2019, 393(10173): 747-757.