

SNP-array技术在流产组织遗传学分析中的价值



张卫云¹, 王玉敏¹, 李秀勤¹, 李凤启²

1. 周口市妇幼保健院(市儿童医院)检验科(河南周口 466000)
2. 周口市儿科研究所(河南周口 466000)

【摘要】目的 研究单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism microarrays, SNP-array)技术在流产组织遗传学分析中的价值。**方法** 选择2020年7月—2022年2月于周口市妇幼保健院确诊为稽留流产的50例患者作为研究对象,按患者纳入顺序进行编号。使用SNP-array技术(SNP-array组)和荧光原位杂交技术(对照组)分别对每位患者进行检测,比较患者染色体异常检出情况。**结果** SNP-array组中染色体异常34例、整倍体异常22例、非整倍体异常12例,对照组中依次为24例、15例、9例。SNP-array组的染色体异常检出率(68.00%)高于对照组(48.00%),差异有统计学意义($\chi^2=4.105$, $P=0.043$)。SNP-array组染色体微重复微缺失9例,33号为单一位点重复,7号为单一位点缺失,2号为两位点重复,41号为两位点缺失,其余5个均为2个位点及以上微重复微缺失。**结论** SNP-array技术在流产组织遗传学分析中对异常染色体检出率较高,具有较好的临床应用价值。

【关键词】 单核苷酸多态性微阵列; 遗传学; 染色体; 流产组织

Value of SNP-Array technique in genetic analysis of abortion tissue

Wei-Yun ZHANG¹, Yu-Min WANG¹, Xiu-Qin LI¹, Feng-Qi LI²

1. Zhoukou Maternal and Child Health Hospital (Municipal Children's Hospital), Zhoukou 466000, Henan Province, China

2. Zhoukou Institute of Pediatrics, Zhoukou 466000, Henan Province, China

Corresponding author: Feng-Qi LI, Email: zwy1367356@163.com

【Abstract】Objective To investigate the value of single nucleotide polymorphism microarrays (SNP-arrays) in the genetic analysis of abortion tissues. **Method** A total of 50 patients diagnosed with missed miscarriage in Zhoukou Maternal and Child Health Hospital from July 2020 to February 2022 were selected as study subjects, and numbered in the order of patient inclusion. Each patient was detected separately using SNP-array technology (SNP-array group) and fluorescence in situ hybridization technique (control group) to compare the detection of chromosomal abnormalities. **Result** There were 34 cases of chromosomal abnormalities, 22 cases of euploidy abnormalities and 12 cases of aneuploidy abnormalities in the SNP-array group, and 24 cases, 15 cases and 9 cases in the control group, respectively. The

detection rate of chromosomal abnormalities in the SNP-array group (68.00%) was higher than that in the control group (48.00%), and the difference was statistically significant ($X^2=4.105$, $P=0.043$). There were 9 cases of SNP-array microduplicate microdeletions, including single-point duplication on No.33, single-point deletion on No.7, two-point repeat on No.2, two-point deletion on No.41, and the remaining 5 microduplicate microdeletions with 2 sites or more. Conclusion SNP-array technology has a high detection rate of abnormal chromosomes in the genetic analysis of abortion tissue, and has good clinical application value.

【Keywords】 Single nucleotide polymorphism microarray; Genetics; Chromosome; Abortion tissue

稽留流产为临床常见不良妊娠结局,可表现为胚胎停育且滞留女性宫腔内,严重影响母体健康,甚至危及女性生命安全^[1]。研究表明14%流产由染色体异常导致,因此对流产绒毛组织进行染色体分析,有助于明确流产原因且为再次妊娠提供科学指导^[2-3]。目前常采用荧光原位杂交技术进行检测,可用于间期、中期核染色体检测,对于检测周期限制性较小,但是检测过程中染色体分析、细胞培养等操作耗时较长,临床应用时间利用率较低^[4]。单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism microarrays, SNP-array)技术属于新型、方便、高效、快速分子核型分析技术,通过芯片平台可对DNA水平进行较好检测^[5]。近年来SNP-array技术在发育迟缓患儿遗传学分析中应用广泛,在单亲二倍体、杂合性缺失方面检测效果较好^[6]。因此,SNP-array技术应用于流产组织遗传学分析有望改善检测结果。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2020年7月—2022年2月经周口市妇幼保健院确诊为稽留流产的50例患者为研究对象。纳入标准:①符合稽留流产诊断标准且孕周在7~12周^[7];②沟通、理解、智力正常且依从性较好的患者;③单胎妊娠且接受相关检查。排除标准:①存在其他遗传疾病的患者;②合并子宫肌瘤、恶性肿瘤、子宫内膜异位症或其他影响胚胎着床疾病的患者;③由于男方原因导致流产的患者;④合并严重肝、肾、肺、心等功能异常的患者。本研究已获所有患者及家属知情同意。

1.2 检测方法

SNP-array技术步骤主要包括:①预处理:无菌条件下将绒毛组织离心、重悬;②提取DNA:

按照Invitrogen Ambion的RNA试剂盒提取绒毛组织DNA,计算纯度、浓度;③杂交处理:按照Affymetrix Cytoscan 650K芯片说明书进行纯化、扩增、片段化、连接、标记、酶切、孵育、杂交、染色、洗涤等操作;④数据处理:利用Affymetrix Cytoscan 2500Dx系统及CHAS软件对上述结果进行数据处理及分析。

荧光原位杂交技术检测由专业检验医师处理绒毛组织,具体步骤包括:①制片:剔除血块、蜕膜等杂质后采用海斯迪克HKQS-209不锈钢剪刀剪碎成绒毛枝,然后通过固定、消化等操作得到细胞悬浮液,最后进行滴片、固定、烘烤;②探针杂交:将玻片洗涤后给予消化、脱水、高温变性、取出等操作,最后在42℃下给予特异性探针进行杂交;③检测计数:由检验医师利用荧光显微镜(Leica, DM2500 LED)进行细胞计数。

全部患者染色体突变致病性均采用Characterization of Germline variants(CharGer)软件进行自动解读,根据The American College of Medical (ACMG)指南对突变致病性进行评判,数据库采用Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM)。

1.3 观察指标及评价标准

染色体异常:检测染色体异常数低于全部细胞计数的10%为阴性,提示样本正常;染色体异常数高于全部细胞计数的60%为阳性,提示样本异常;染色体异常介于全部细胞计数的10%~60%之间为嵌合体。

1.4 统计学分析

计量资料采用均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验分析;计数资料采用例数和百分比($n, \%$)表示,利用卡方检验分析。本研究采用SPSS 25.0软件进行分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

研究共纳入 50 例患者，平均年龄为 (36.25 ± 4.17) 岁，平均体重为 (53.79 ± 4.20) kg，以中专或高中学历为主 (58%)，患者的一般资料，详见表 1。

表1 患者一般资料

Table 1. Basic information of included patients

项目	数值 (n=50)
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	36.25 ± 4.17
体重 ($\bar{x} \pm s$, kg)	53.79 ± 4.20
既往孕产情况 ($\bar{x} \pm s$, 次)	
孕	4.21 ± 1.03
产	1.98 ± 0.31
流产	2.01 ± 0.22
学历 (n, %)	
初中及以下	11 (22.00)
中专、高中	29 (58.00)
大专及本科	10 (20.00)

2.2 染色体异常检出情况对比

SNP-array 组染色体异常 34 例，其中整倍体异常 22 例，非整倍体异常 12 例；对照组中染色体异常 24 例，其中整倍体异常 15 例，非整倍体异常 9 例。SNP-array 组染色体异常检出率为 68.00%，高于对照组 48.00% ($\chi^2=4.105$, $P=0.043$)。见表 2。

2.3 SNP-array组染色体微重复微缺失具体情况

SNP-array 技术分析按样本纳入顺序进行编号，其中染色体微重复微缺失 9 例，3 例致病性不明确。33 号为单一位点重复，7 号为单一位点缺失，2 号为两位点重复，41 号为两位点缺失，其余 5 个均为 2 个位点及以上微重复微缺失，详见表 3。

2.4 染色体非整倍体异常检出情况对比

SNP-array 组非整倍体异常检出例数多于对照组，其中 45、X 染色体异常检出 3 例，16- 三体异常检出 2 例，18- 三体异常检出 1 例，详见表 4。

表2 两组染色体异常检出情况对比

Table 2. Comparison of detection of chromosome abnormalities between two groups

项目	组别		χ^2 值	P值
	SNP-array组 (n=50)	对照组 (n=50)		
染色体异常 (n, %)			4.105	0.043
整倍体异常	22 (44.00)	15 (30.00)		
非整倍体异常	12 (24.00)	9 (18.00)		
染色体无异常 (n, %)	16 (32.00)	26 (52.00)		

表3 SNP-array组染色体微重复微缺失具体情况 (n, %)

Table 3. Details of chromosome micro-replication and microdeletion in SNP-array group (n, %)

编号	微重复微缺失情况	致病性
2	3q25、Xp22.31重复5.2Mb	可能良性/意义未明确
7	6p14.6缺失2.9Mb	致病
8	3q25、10q22缺失20.0Mb, 13q25.1、7q24.25重复19.8Mb	致病
16	13q15.4、11q12.9、10q9.82重复4.4Mb, 3q24、12q33.6缺失11.6Mb	意义未明确-良性/可能致病
25	6q32.4、2q11.7重复37.6Mb, 11q24、12q31.8缺失37.52Mb	致病
26	11q24.3、3q22.1缺失17.62Mb, 2q24.3、12q26.0重复4.12Mb	致病
33	17p11.6重复2.5Mb	致病
39	5q13.9缺失1.0Mb, 2q12.1、3q11.8重复8.1Mb	意义未明确/疑似致病
41	3p11.7、9p22.0缺失14.4Mb	致病

表4 两组染色体非整倍体异常检出情况对比
(n, %)

Table 4. Comparison of abnormal detection of chromosome aneuploidy between two groups
(n, %)

异常情况	组别	
	SNP-array组 (n=12)	对照组 (n=9)
18-三体	1 (8.33)	1 (11.11)
13-三体	1 (8.33)	1 (11.11)
21-三体	2 (16.67)	1 (11.11)
22-三体	2 (16.67)	1 (11.11)
45、X染色体	3 (25.00)	2 (22.22)
16-三体	2 (16.67)	2 (22.22)
嵌合体及其他	1 (8.33)	1 (11.11)

3 讨论

稽留流产患者胚胎不能排出体外, 滞留宫腔, 严重影响女性患者生命健康与生活质量, 还可导致紧张、焦虑、抑郁、恐慌等负性情绪^[8]。引起稽留流产因素可包括内分泌、免疫、环境、父体、母体及遗传等情况, 其中染色体异常属于常见病^[9]。目前常采用荧光原位杂交技术进行检测, 明确病因并为下次妊娠提供科学指导, 但荧光原位杂交技术检测范围有限, 部分染色体不能覆盖, 对于稽留流产病因检出效果欠佳^[10]。SNP-array 技术着重检测 DNA CNVs, 通过芯片识别染色体重排情况, 同时有利于检出染色体存在的不平衡情况, 明确基因组变异情况及变异数, 应用于流产组织分析可有望改善异常染色体检出率^[11]。

研究结果显示, SNP-array 技术对染色体异常检出率为 68.00%, 高于对照组 48.00%。说明相比于传统荧光原位杂交, SNP-array 技术对流产组织染色体异常检出率较好。因传统荧光杂交检测法不能有效检测整个染色体组, 检测范围局限于 22、21、16、13、18 染色体, 其他倒位、重复、缺失、易位检测效果也较差^[12]。SNP-array 技术可检测所有染色体的丢失与获得, 利用芯片及数据库识别染色体排列情况, 最终得出致病、可能致病、不明确、可能良性、良性五种结果^[13]。SNP-array 技术对染色体的全覆盖对于染色体异常检测优势明显, 有助于改善流产组织染色体异常检出率。本研究结果与谢晓蕊研究结果一

致, SNP-array 对流产绒毛染色体变异异常检出率较高^[14]。

对照组中染色体异常 24 例, 其中整倍体异常 15 例, 非整倍体异常 9 例; SNP-array 组中染色体异常 34 例, 其中整倍体异常 22 例, 非整倍体异常 12 例。说明 SNP-array 技术对于两种染色体异常均可检出, 且相比于传统方法优势明显。原因在于 SNP-array 技术通过监测 DNA 到了拷贝数变异检测染色体重复及微缺失, 检测过程中充分考虑拷贝数变异的多态性特征。朱丽芬等研究也表明 SNP-array 技术对于非整倍体异常检测效果良好^[15]。SNP-array 技术结合 DECIPHER、DGV 等多个数据库对结果进行分析, 数据充分且结果可靠, 对于非整倍体异常检测效果较好^[16]。传统检测手段对于倒位携带、平衡易位等情况检测效果较差, 且对于绒毛染色体显带效果欠佳, 分辨率较低, 而 SNP-array 技术分辨率可达到 1Mb, 可有效确定重复片段断裂情况及染色体缺失情况。

SNP-array 组中有 3 例致病性不明确。一方面由于研究过程中突变结果解读为自动化解读, 因此存在数据库资源丰度不足导致部分致病情况分析欠佳的情况; 另一方面可能是由于检测来源为母亲单方, 需要增加父亲染色体检测得出最终结果。

综上, SNP-array 技术在流产组织遗传学分析中对异常染色体检出率较高, 具有较好的临床意义, 有望广泛应用。

参考文献

- 1 Kirsten Sasaki, Charles E. Miller. Hysteroscopic morcellation for missed abortion[J]. Fertility and Sterility, 2021, 116(3): 875-877. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2021.07.875.
- 2 慕铭坤, 孙思敏, 郑威, 等. 辅助生殖技术助孕女性稽留流产绒毛组织各型染色体异常发生率的研究 [J]. 中华生殖与避孕杂志, 2021, 41(6): 538-542. [Mu MK, Sun SM, Zheng W, et al. The incidence of chromosomal abnormalities in the villus tissue of women with missed abortion by assisted reproductive technology[J]. Chinese Journal of Reproduction and Contraception, 2021, 41(6): 538-542.] DOI: 10.3760/cma.j.cn101441-20200922-00524.

- 3 周珊珊, 岳艳玲. 不同月经初潮年龄的女性稽留流产绒毛染色体结果分析 [J]. 湘南学院学报 (医学版), 2021, 23(3): 34–36. [Zhou SS, Yue YL. Chromosome analysis of missed aborted embryo villus in women with different menarche ages[J]. Journal of Xiangnan University(Medical Sciences), 2021, 23(3): 34–36.] DOI: [10.16500/j.cnki.1673-498x.2021.03.008](https://doi.org/10.16500/j.cnki.1673-498x.2021.03.008).
- 4 黄艳, 王晓华, 侯东霞, 等. 单核苷酸多态性微阵列芯片与荧光原位杂交在流产绒毛组织遗传学分析中的比较研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(1): 87–90. [Huang Y, Wang XH, Hou DX, et al. Comparative study of single nucleotide polymorphism microarray and fluorescence in situ hybridization in histogenetic analysis of abortion villi[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2021, 42(1): 87–90.] DOI: [10.3969/j.issn.1673-4130.2021.01.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-4130.2021.01.020).
- 5 杨灿锋, 徐征凤, 肖建平. 122 份稽留流产绒毛的 FISH 检测与染色体核型分析结果的对比 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(10): 1177–1178, 1195. [Yang CF, Xu ZF, Xiao JP. Comparison of FISH and chromosome karyotype analysis in 122 missed abortion villi[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2019, 27(10): 1177–1178, 1195.] DOI: [CNKI:SUN:ZYAA.0.2019-10-009](https://doi.org/CNKI:SUN:ZYAA.0.2019-10-009).
- 6 熊卿圆, 岑锦明, 曾赤佳. 应用单核苷酸多态性微阵列技术对不明原因智力低下 / 发育迟缓患儿的遗传学分析 [J]. 广东医学, 2020, 41(20): 2096–2101. [Xiong QY, Cen JM, Zeng CJ. Genetic analysis of children with unexplained mental retardation/ developmental delay using single nucleotide polymorphism array[J]. Guangdong Medical Journal, 2020, 41(20): 2096–2101.] DOI: [10.13820/j.cnki.gdyx.20192358](https://doi.org/10.13820/j.cnki.gdyx.20192358).
- 7 中华医学会儿科学分会. 早期妊娠稽留流产治疗专家共识 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(1): 70–73. [Family Planning Branch of Chinese Medical Association. Expert consensus on treatment of missed abortion in early pregnancy[J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2020, 36(1): 70–73.] DOI: [10.19538/j.fk.2020010117](https://doi.org/10.19538/j.fk.2020010117).
- 8 顾恒, 杨慧, 杜梦轩, 等. 75 例早期自然流产组织物的单核苷酸多态性微阵列芯片结果分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2021, 29(5): 648–652. [Gu H, Yang H, Du MX, et al. Analysis of single nucleotide polymorphism array detection of 75 cases of early spontaneous abortion[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2021, 29(5): 648–652.] [https://doc.taixueshu.com/journal/20210149zgysyczz.html](https://doi.org/https://doc.taixueshu.com/journal/20210149zgysyczz.html).
- 9 魏洁, 余珍, 刘璇, 等. 单核苷酸多态性微阵列技术检测 175 例稽留流产组织染色体异常分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2021, 29(3): 389–391. [Wei J, Yu Z, Liu X, et al. Analysis of 175 cases of missed miscarriage by SNP array technique[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2021, 29(3): 389–391.] <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7105483190>.
- 10 程苾恒, 陈建华, 徐万洲. 单核苷酸多态性微阵列技术检测自然流产妊娠产物的应用价值 [J]. 中华妇幼临床医学杂志 (电子版), 2018, 14(2): 236–240. [Cheng BH, Chen JH, Xu WZ. Application value of single nucleotide polymorphism microarray technology in detecting spontaneous abortion pregnancy products[J]. Chinese Journal of Obstetrics & Gynecology and Pediatrics(Electronic Edition), 2018, 14(2): 236–240.] DOI: [10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2018.02.018](https://doi.org/10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2018.02.018).
- 11 崔静静, 王莉, 吴青青, 等. 单核苷酸多态性微阵列技术在早期胎停育流产绒毛组织检测中的应用 [J]. 中国医刊, 2019, 54(12): 1331–1335. [Cui JJ, Wang L, Wu QQ, et al. Application of single nucleotide polymorphism array in detection of villi tissue in early suspending embryo growth[J]. Chinese Journal of Medicine, 2019, 54(12): 1331–1335.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-1070.2019.12.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-1070.2019.12.018).
- 12 沈晔, 钱芳波, 司雯淼, 等. 单核苷酸多态性微阵列芯片在分析流产或死胎染色体中的应用 [J]. 现代妇产科进展, 2022, 31(2): 131–135, 139. [Shen Y, Qian FB, Si WM, et al. Application of Single Nucleotide Polymorphism Microarray Chip in the Analysis of Abortion or stillbirth Chromosomes[J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2022, 31(2): 131–135, 139.] DOI: [10.13283/j.cnki.xdfckjz.2022.02.009](https://doi.org/10.13283/j.cnki.xdfckjz.2022.02.009).
- 13 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测 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. [Sun D, Wang XY, Luo MM, et al. Prenatal genetic diagnosis of 7 cases of trisomy 21q detected by single nucleotide polymorphism microarray and karyotype analysis[J]. Journal of Reproductive Medicine, 2022, 31(6): 834–837.] DOI: [10.3969/j.issn.1004-3845.2022.06.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-3845.2022.06.020).
- 14 谢晓蕊. 单核苷酸多态性微阵列技术 (SNP-array) 在

自然流产遗传学诊断中的应用 [D]. 福州: 福建医科大学, 2018.

- 15 朱丽芬, 张慧敏, 杜绮婷, 等. 应用单核苷酸多态性微阵列分析早、中孕期流产的遗传学因素 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2022, 39(6): 576–580. [Zhu LF, Zhang HM, Du QT, et al. Comprehensive genetic analysis in first or second trimester pregnancy loss using chromosomal microarray with single nucleotide polymorphism probes[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2022, 39(6): 576–580.] DOI: [10.3760/cma.j.cn511374-20210506-00387](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn511374-20210506-00387).
- 16 夏政怡, 周冉, 孟露露, 等. 染色体微阵列分析技术在偶发自然流产遗传学诊断中的应用 [J]. 现代妇产科进展, 2022, 31(3): 191–195. [Xia ZY, Zhou R, Meng LL, et al. Application of chromosomal microarray analysis in

genetic diagnosis of spontaneous a-bortion[J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2022, 31(3): 191–195.] DOI: [10.13283/j.cnki.xdfckjz.2022.03.007](https://doi.org/10.13283/j.cnki.xdfckjz.2022.03.007).

- 17 何文凤, 姜艳华, 黄红丽, 等. 单核苷酸多态性微阵列芯片技术在稽留流产伴复发性流产诊断中的应用 [J]. 实用预防医学, 2020, 27(8): 1001–1004. [He WF, Jiang YH, Huang HL, et al. Application of single nucleotide polymorphism microarray technology in the diagnosis of missed abortion with recurrent abortion[J]. Practical Preventive Medicine, 2020, 27(8): 1001–1004.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-3110.2020.08.031](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-3110.2020.08.031).

收稿日期: 2022 年 12 月 06 日 修回日期: 2023 年 01 月 19 日
本文编辑: 李 阳 黄 笛

引用本文: 张卫云, 王玉敏, 李秀勤, 等. SNP-array技术在流产组织遗传学分析中的价值[J]. 数理医药学杂志, 2023, 36(1): 55–60. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202212004](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202212004)
Zhang WY, Wang YM, Li XQ, et al. Value of SNP-Array technique in genetic analysis of abortion tissue[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2023, 36(1): 55–60. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202212004](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202212004)