

QF-PCR与CMA技术在稽留流产及细胞学检查中的联合应用

罗桂香¹,李磊¹,肖鸽飞¹,陈晓薇²,李恋湘¹

珠海市妇幼保健院检验科/遗传研究所¹、产前诊断中心²,广东 珠海 519000

【摘要】 目的 探讨染色体微阵列芯片技术(CMA)和定量荧光PCR技术(QF-PCR)在稽留流产物及羊水细胞遗传学检查中的应用价值与方法学评价。方法 回顾性分析2018年11月至2020年2月珠海市妇幼保健院妇科门诊169份稽留流产的绒毛组织及产前诊断中心进行孕中期羊膜腔穿刺的224例孕妇的临床资料,所有孕妇同时接受QF-PCR及CMA两种方法进行病因诊断,比较两种技术在非整倍体数目异常及结构异常诊断中的符合度。结果 CMA分析169例流产绒毛,胎儿染色体异常检出119例(70.4%),其中数目异常为107例(89.9%),结构异常12例(10.1%),其中13、18、21三体及性染色体非整倍体异常在QF-PCR中检出率为100%,224例羊水细胞中QF-PCR检出21三体39例,18三体6例,13三体1例,46,XO 6例,47,XXX 4例,47,XXY 13例,47,XYY 4例,1例疑为45,XO嵌合体。检出5种常见染色体异常74例(33.0%)。以上病例均在CMA成功检出,CMA检出微变异150例(67.0%),7例拷贝数纯合状态(CNV AOH),2例无法有效识别异源性单亲二倍体(hetero UPD),检出率为99.1%。结论 QF-PCR技术可快速诊断常见染色体非整倍体数目异常,可有效检出45,XO及47,XXY等性染色体拷贝数异常,检出率达到100%。但其存在局限性,只能检出大于20%的嵌合体,对于染色体存在的结构异常无法检出。CMA技术对小片段CNV的检测具有更高的检出能力,为基因型与表型的相关性研究提供依据并对夫妻双方再生育进行遗传风险评估和指导。

【关键词】 染色体微阵列分析;定量荧光PCR;稽留流产;嵌合体;非整倍体

【中图分类号】 R714.21 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2021)11-1421-05

Combined application of QF-PCR and CMA technology in missed abortion and cytological examination. LUO Gui-xiang¹, LI Lei¹, XIAO Ge-fei¹, CHEN Xiao-wei², LI Lian-xiang¹. Department of Clinical Laboratory/Institute of Genetics¹, Prenatal Diagnosis Center², Zhuhai Maternity and Child Health Hospital, Zhuhai 519000, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To explore the application value and methodological evaluation of chromosomal microarray analysis (CMA) and quantitative fluorescent PCR (QF-PCR) in cytogenetic examination of retained products of conception after missed abortion and amniotic fluid. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the specimen data of the villous tissue samples of 169 missed abortions from the gynecological outpatient clinic, as well as the amniot-

基金项目:广东省珠海市科技创新局项目(编号:20191208E030013)

通讯作者:李磊,E-mail:379962812@qq.com

- sFlt-1、PlGF、VEGF表达的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(9): 601-607.
- [5] 赵应梅, 丁海英, 胡花, 等. STOX1在正常妊娠不同阶段绒毛及胎盘组织中的表达及意义[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(13): 1003-1007.
- [6] 杨孜, 张为远. 《妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)》解读[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(6): 425-432.
- [7] YUSRAWATI, NPK S, LIPOETO NI, et al. Analyses of nutrients and body mass index as risk factor for preeclampsia [J]. J Obstet Gynaecol India, 2017, 67(6): 409-413.
- [8] 汪家燕. 子痫前期产妇胎盘组织中metastin表达量及其对滋养细胞增殖、凋亡的影响[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(4): 6-9.
- [9] GIORGINA P, ISABELLE K, ROSSELLA A, et al. A systematic review on materno-foetal outcomes in pregnant women with IgA nephropathy: a case of "late-maternal" preeclampsia? [J]. J Clin Med, 2018, 7(8): 212.
- [10] 苏丽莎. 子痫前期患者血清铁蛋白及TNF- α 、CRP、IFN- γ 检测的临床意义[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(8): 714-717.
- [11] 夏丹. 硫酸镁、酚妥拉明联合硝苯地平对子痫前期孕妇VEGF表达和miR-26a-5p的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(11): 2435-2437.
- [12] 赵应梅, 段迎春, 朱建龙, 等. 胎盘组织中STOX1表达与早发型子痫前期发病的相关性[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(21): 1664-1668.
- [13] 张温, 刘宏健, 李宝, 等. 子痫前期孕妇的血清BNP、sFlt-1、NO水平及其与病情变化的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(12): 1473-1475.
- [14] 金莉娅, 李慧敏, 吕玲, 等. 重度子痫前期孕妇血清VEGF、sFlt-1及IGF-1水平与围生儿结局的关系研究[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(9): 1977-1979.
- [15] 刘筠, 李萍, 张敏. 子痫前期患者血清STOX1、sFlt-1与病情及妊娠结局的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(20): 96-100.

(收稿日期:2020-08-18)

ic fluid samples of 224 pregnant women undergoing amniocentesis in the second trimester from the prenatal diagnosis center, at Zhuhai Maternity and Child Health Hospital during November 2018 and February 2020. All pregnant women received both QF-PCR and CMA methods for etiological diagnosis. Comparison was performed on the coincidence of the two techniques in the diagnosis of aneuploidy (numerical abnormalities) and structural abnormalities. **Results** In 169 cases of chorionic villi in retained products of conception after missed abortion, 119 cases (70.4%) of fetal chromosomal abnormalities were detected by CMA, including 107 cases (89.9%) of numerical abnormalities and 12 cases (10.1%) of structural abnormalities. The detection rate of trisomy 13, trisomy 18, trisomy 21, and sex chromosome aneuploidies was 100% by QF-PCR. In the 224 cases of amniotic fluid cells, 39 cases of trisomy 21, 6 cases of trisomy 18, and 1 case of trisomy 13 were detected by QF-PCR, as well as 6 cases of 46,XO chimera, 4 cases of 47,XXX chimera, 13 cases of 47,XXY chimera, 4 cases of 47,XYY chimera, and 1 case of suspected 45,XO chimera. 74 cases (33.0%) of 5 common chromosomal abnormalities were detected. All the above cases were successfully detected by CMA, and 150 cases (67.0%) of microvariations, 7 cases of copy number homozygous (CNV AOH), and 2 cases of heterogeneous uniparental diploids (hetero UPD) that cannot be effectively identified were also detected by CMA; the detection rate was 99.1%. **Conclusion** QF-PCR can quickly diagnose the abnormal number of common chromosome aneuploidies, and can effectively detect the copy number abnormalities of sex chromosomes, such as 45,XO and 47,XXY, with a detection rate of 100%. However, there are limitations in this method, which can only detect chimeras greater than 20% and cannot detect structural abnormalities in chromosomes. CMA technology has a higher detection ability for the detection of small fragments of CNV, provides a basis for the study of the correlation between genotype and phenotype, and conducts genetic risk assessment and guidance for the reproduction of both spouses.

【Key words】 Chromosome microarray analysis; Quantitative fluorescence PCR; Missed abortion; Chimera; Aneuploidy

稽留流产(missed abortion, MAB)又称过期流产,为妊娠疾病中自然流产的一种特殊类型。主要表现为胚胎已停止发育但未及时排出,一般情况下早期妊娠反应消失并伴有先兆流产症状,发病机理可能同时涉及胚胎发育、母体因素、母-胎交界免疫失衡、内分泌异常和环境因素影响。超过 50%的稽留流产与胚胎染色体异常有关,特别是孕 12 周前的早期流产,多为胎儿染色体异常所致^[1]。

近年来,针对胎儿流产的绒毛组织开展的定量荧光 PCR 技术(QF-PCR)和染色体微阵列芯片技术(chromosomal microarray analysis, CMA)被广泛应用于临床^[2], QF-PCR 技术是一种快速准确、可批量检测的实验方法,可对 13、18、21 号和 X、Y 染色体数目异常进行快速检测^[3-4],一个 STR 基因座代表一条染色体,因此个体 STR 基因座的等位基因数量与染色体数目具有对应关系^[5]。而 CMA 技术可在全基因组范围内同时检测染色体的数目异常和微重复、微缺失等结构异常、嵌合体 and 纯和区域(region of homozygosity, ROHs)。因无需细胞培养,实验周期短,结果准确可靠。本研究回顾性分析上述两种检测方法对流产绒毛及羊水细胞检测结果的符合度,以便对夫妻双方再生育及孕中期的遗传风险进行评估。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 11 月至 2020 年 2 月在珠海市妇幼保健院妇科门诊就诊,经超声确认胚胎停止发育而自然流产的孕妇 169 例,无菌清宫术取出胚胎绒毛。在产前诊断中心就诊,无创筛查提示异常

及胎儿超声异常的孕妇 224 例,在超声引导下羊膜腔穿刺取羊水两管 20 mL,分别进行 QF-PCR 和 CMA 检测。孕妇年龄 24~43 岁,平均(33.4±4.5)岁。本研究获得本院医学伦理委员会批准,所有孕妇均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 QF-PCR 检测 采用瑞典 Devyser 公司的非整倍体检测试剂盒,对 13、18、21、X、Y 共 5 条染色体进行非整倍体分析,标记了 26 个特异的 STR 位点。德国 QIAGEN 公司的 DNA 提取试剂盒 QIAamp DNA Blood Mini Kit 进行 DNA 提取。按照操作说明书扩增程序,PCR 扩增产物在 ABI3500 测序仪进行毛细管电泳,使用 GeneMapper[®]ID-X1.4 软件进行数据分析,在 48~72 h 出检测结果。结果判断标准根据国际公认的标准(欧盟 ACC/CMGS)。

1.2.2 CMA 检测 使用德国 QIAGEN 公司生产的组织提取试剂盒提取基因组 DNA,采用美国 Afymetrix 公司生产的 CytoScan750K (55 万个 CNV 探针及 20 万个 SNP 探针)芯片进行检测,使用 Chromosome Analysis Suite Software 软件进行 SNP 和拷贝数变异分析。参照国际基因组 CNV 多态性数据库 OMIM、ISCA、DGV、DECIPHER 及相关文献等对致病性进行分析。

1.3 诊断标准 诊断以 CMA 结果为标准,判断 QF-PCR 与 CMA 两种检测方法在羊水细胞染色体异常的方法学差异。

1.4 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计软件分析

数据,计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流产绒毛检测结果 169例流产绒毛行QF-PCR检测,检出Turner综合征7例,13三体18三体均为3例,21三体4例,余未见异常。169例流产绒毛的CMA均获得检测结果,成功率为100.0%,其中异常结果119例,异常率为70.4%,数目异常107例,染色体嵌合体12例。在异常的结果中三体病例为96例,占比89.7%。染色体三体发生率排在前三位的分别为16三体(22.40%)、22三体(11.20%)、15三体(6.50%),个

别次序不同可能是样本量不足导致的偏倚。此外检出Turner综合征7例(6.50%),三倍体4例(3.70%),3例69,XXY,1例69,XXX。T13、T18、T21三种常见三体及性染色体拷贝数异常在QF-PCR中全部检出,见表1。而嵌合体在QF-PCR检测中仅检出4例,检出率为33.3%。检出的4例嵌合体样本,无法准确判断嵌合比例。样本中有1例胎儿性染色体上的4个STR位点有3个为纯和单峰,有意义的STR位点不足而无法判断,需结合其他诊断方法进行确诊。此外,CMA检出1例异源性单亲二倍体,因CMA技术的局限性,加做该病例父母双方CMA检测以判断其来源。

表1 107例流产绒毛染色体数目异常的类型

染色体数目异常	染色体单体		染色体三体								三倍体	
	Turner		chr16	chr22	chr15	chr7	chr21	chr13+14+18	chr2+3+5+9+12+20	chr6+8+10		其他
例数	7		24	12	7	6	4	各3	各2	各1	14	4
占比(%)	6.5		22.4	11.2	6.5	5.60	3.70	8.40	11.20	2.80	13.10	3.70

2.2 羊水细胞检测结果 224例孕妇行羊膜腔穿刺的临床指征均为无创检测异常或胎儿超声异常,QF-PCR检出21三体39例,18三体6例,13三体1例,46,XO6例,47,XXX4例,47,XXY13例,47,XYY4例,1例疑为45,XO嵌合体。检出5种常见染色体异常74例(33.0%)。以上病例均在CMA成功检出,此外150例中检出微变异141(62.9%)例,7例拷贝数纯合状态(CNV AOH),2例无法有效识别异源性单亲二倍体(heteroUPD),检出率为99.1%。

在CMA检测的7例异常病例中有1例漏检;QF-PCR检测结果有3例漏检,4例误检。其中病例1在X染色体检出一段CNV重复;病例2检出45,XO与X染色体长臂等臂嵌合体;病例3为双胎妊娠,经染色体核型确定其中胎一核型正常,胎二核型为XO/XXX嵌合体,嵌合比例为15.0%,两种方法均漏检;病例4和5分别检出部分18三体综合征和X染色体3拷贝重复合

并杂合性缺失,仅从QF-PCR结果无法检出该病例;病例6、7、8检出性染色体拷贝数异常及微变异,见表2。NIPT或胎儿彩超异常的224例孕妇行羊膜腔穿刺,应用QF-PCR或CMA明确病因行产前诊断,对发病机理给予验证,可在短期内对结果进行全面分析,减缓孕妇焦虑。病例1在QF-PCR检测结果中,X与3号和7号染色体峰面积比为2:1,AMELX与AMELY的峰面积比为1:1且检出SRY基因,提示核型有1条X染色体,1条Y染色体。但是XY3基因出现杂合双峰,峰面积比值为1:1,因只检出一个杂合双峰,按照国际公认的标准(欧盟ACC/CMGS)未报异常。而CMA检出Xq26.3q28位置一段约19.5 Mb的CNV重复及20q13.33一段1.7 Mb缺失。分别涉及CD40LG等137个、39个OMIM基因。当QF-PCR性染色体出现1个杂合双峰时应引起注意,可以考虑应用CMA的方法验证,加强优势互补,这样可以有效避免漏检。

表2 8例羊水细胞的QF-PCR与CMA结果对比分析

病例	临床指征	QF-PCR检测结果	CMA检测结果	解释意见
1	胎儿肠管积液	46,XY	arr[GRCh37] Xq26.3q28(135650511_155233098)×2;arr[GRCh37] 20q13.33(61190629_62913645)×1	检出Xq26.3q28位置一段约19.5 Mb的CNV重复及20q13.33一段1.7 Mb缺失。分别涉及CD40LG等137个、39个OMIM基因,含Xq28重复综合征和Xq27.3-q28重复综合征区域
2	无创提示胎儿性染色体减少	46,XX	arr[GRCh37] Xp22.33p11.21(168551_7171863)×1;arr[GRCh37] Xp11.21q28(57619761_155233098)×2-3	检出1拷贝的X染色体短臂,2.52拷贝的X染色体长臂,和2拷贝的1-22号常染色体,涉及PLCXD1等711个OMIM基因。45,XO与X染色体长臂等臂(iXq)的嵌合体,嵌合比例约76%
3	DCDA,无创提示胎儿性染色体减少	46,XX	双胎均为 arr[GRCh37] (1-22)×2, (XN)×1	经染色体核型分析发现,其中胎一核型正常,胎二核型为XO/XXX嵌合体。上述两种检测方法均漏检
4	无创18三体高风险	T18三体	arr[GRCh37] 18p11.32q23 (136227_74550122)×3	检出染色体18p11.32q23区域一段约74.4 Mb的CNV重复,涉及USP14等213个OMIM基因,涵盖18三体综合征的大部分区域,临床称为部分18三体综合征

病例	临床指征	QF-PCR 检测结果	CMA 检测结果	解释意见
5	FGR	T13 三体	arr[GRCh37] 13q11q33.3 (19436286_107374069)×3; arr[GRCh37] 13q33.3q34 (107375074_115107733)×1	检出染色体 13q11q33.3 片段有 3 拷贝重复, 片段大小为 87.9 Mb, 涉及 TUBA3C 等 232 个 OMIM 基因。另外还检出 13q33.3q34 片段有杂合性缺失, 该缺失 CNV 大小为 7.7 Mb, 涉及 LIG4 等 28 个 OMIM 基因。临床表现有: 发育迟缓、癫痫等
6	无创异常	47, XYY	arr[GRCh37] Yp11.32q11.221 (118551_18016216)×2; arr[GRCh37] Yq11.221q11.23 (18047379_28799654)×0	检出 Y 染色体 Yp11.32q11.221 区域有 2 拷贝重复涉及 SRY 等 39 个 OMIM 基因。检出 Y 长臂的 Yq11.221q11.23 区域完全缺失, 涉及 XKRY 等 23 个 OMIM 基因。可导致严重少弱精症和无精子症
7	不良生育史	46, XX 合并 SRY 性反转综合征	arr[GRCh37] Yp11.31 (2650424_2759057)×1	检出一段增加的 Yp11.31(2650424_2759057)CNV 重复, 长度约 109 kb, 包含 SRY、RPS4Y1 两个 OMIM 基因。其中 SRY 基因的突变导致 XY 女性性腺发育不良, 即 Swyer 综合征, 含有该基因的 Y 染色体部分易位到 X 染色体可引起 XX 男性综合征
8	不良生育史	47, XYY 或 Y 染色体部分重复	arr[GRCh37] Yp11.31q11.1 (2650424_13134518)×2; arr[GRCh37] Xp22.33q28; (2693466_155233098)×1	检出 1 拷贝的 X 染色体、2 拷贝 Yp, 及 2 拷贝的 1~22 号常染色体, 未检测到 Yq11.1q12 片段, 涉及 SRY 等 38 个 OMIM 基因。此样本重复的 Yp 片段包含整个与男性生精功能有关的无精子因子(AZF)a-c 区, 其全段缺失 100% 表现为无精子症

3 讨论

绒毛组织染色体的常规检测方法有中期染色体核型 G 显带, 为传统的“金标准”, 其准确率高达 99.5%^[6], 但该方法需对细胞进行培养, 检测结果也容易受母体细胞污染的影响^[7]。近年来, QF-PCR 和 CMA 两种技术在产前诊断得到广泛应用^[8]。本研究回顾性分析 169 例流产绒毛和 224 例 NIPT 或胎儿超声异常的羊水细胞, 对两种检测技术做出方法学评价。

流产绒毛组织检出染色体异常 119 例, 异常检出率为 70.4%, 与文献报道相近^[9]。SHEN 等^[10]采用高通量测序技术检测了 436 例流产绒毛, 检出异常核型 225 例, 占 51.6%。本研究中涉及 5 条常见染色体的 QF-PCR 检出全部相关异常流产绒毛, 其中 12 例低比例嵌合体该方法仅检出 4 例。除 1 例嵌合体漏检外其余全部检出, 检出率达到 99.1%。此外, 150 例微变异中临床致病性 CNVs 检出 112 例(74.7%), 为临床诊断提供依据。QF-PCR 由于方法学的局限性仅对 5 条染色体的检出存在特异性。染色体结构异常的胚胎, 提示夫妇染色体异常携带可能性较大, 再发的风险也较高^[11-12]。

CMA 在分析解读流产绒毛时如果检测无异常可基本排除稽留流产非遗传物质染色体畸变所致。比如染色体畸变也可能是由于生殖细胞在成熟或受精卵早期卵裂过程中, 染色体丢失或者不分离造成的^[13]。此外, 在 169 例稽留流产患者中胚胎染色体核型异常就有 107 例, 比例高达 63.3%, 以致非整倍体或三倍体核型的发生, 也是导致稽留流产的重要因素。

病例 2 和病例 3 为 QF-PCR 在染色体嵌合体漏检

的案例, 其中病例 2 检出 1 拷贝的 X 染色体短臂, 2.52 拷贝的 X 染色体长臂, 涉及 PLCXD1 等 711 个 OMIM 基因; 为 45, XO 与 X 染色体长臂等臂(iXq)的嵌合体, 嵌合比例约 76%。而 QF-PCR 方法因在 X 染色体上的探针设计未涉及该区域, 所以从 STR 峰型上无法检出异常。病例 3 为双羊膜腔双胎妊娠, 两种检测方法在双胎染色体检测结果上基本一致, 但是回顾性分析染色体核型后发现该病例胎二为 XO/XXX 低比例嵌合, 两种方法均漏检。

病例 4 应用 CMA 方法检测出部分 18 综合征, 即 18qter 综合征。在 18p11.32q23 区域检出一段约 74.4 Mb 的 CNV 重复, 涉及 USP14、THOC1、COLEC12 等 213 个 OMIM 基因, 涵盖了 18 三体综合征的大部分区域。有学者^[14]提出典型的爱德华综合征的临床表型与 18 号染色体长臂上的 q12.1→q21.2 及 q22.3→qter 这两个关键区域三倍体重复的协同作用相关, 而重度精神发育迟缓则可能与 q12.1→q21.2 的三倍体重复相关。

病例 6、7、8 均为 Y 染色体上检出微变异, 均涉及到 SRY 基因, 其中病例 7 SRY 基因的突变导致女性性腺发育不良, 即 Swyer 综合征, 含有该基因的 Y 染色体部分易位到 X 染色体可引起 XX 男性综合征。QF-PCR 检测该病例染色体非整倍体结果 SRY 基因阳性, X 染色体与 3 和 7 号染色体峰面积比值约为 1:1; ZFYX 和 AMELX 均为单峰型, 疑为 XX, SRY+性反转, 需结合染色体核型和超声结果诊断全面分析。后抽取夫妇二人外周血, 孕妇本人 CMA 未检出异常, 未检测到与胎儿相同的致病性 CNV 片段。其丈

夫抽取外周血CMA检出1拷贝X染色体、1拷贝Y染色体。本病例中含有该基因的Y染色体部分易位到X染色体可能使得其结构域发生空间位置改变,从而抑制了SRY基因表达功能^[15]。CMA在该病例中发挥了技术优势,为该夫妇的遗传咨询和指导妊娠有重要意义。

综上所述,染色体异常再一次证实是自然流产的主要原因。QF-PCR技术操作简便、检测时间短,是适用流产绒毛非整倍体的快筛手段,也是作为CMA的重要补充以减轻孕妇心理负担^[16]。能够提供快速的常见染色体非整倍体异常,但是使用的QF-PCR探针只涉及21、18、13、X、Y五条探针,含26个特异STR位点,受检测位点选择、STR位点杂合度等因素的影响,只能检测它们的数目异常,对于嵌合体及微小变异的检出存在不足。CMA可准确的对流产物全基因组进行分析,不只能检出染色体数目异常、结构异常,还可以检出嵌合体和AOH等,能提供比传统的细胞遗传学检测更多的遗传信息,可为早期流产病因分析,对胎儿超声异常或NIPT筛查异常的孕中期孕妇进行明确诊断,两者联合应用对夫妻双方再次生育指导提供更全面更有价值的信息。

参考文献

- [1] KASER D. The status of genetic screening in recurrent pregnancy loss [J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2018, 45(1): 143-154.
- [2] CIRIGLIANO V, EJARQUE M, CANADAS MP, et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies [J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(10): 1001-1006.
- [3] MASLOW BS, BUDINETZ T, SUELDO C, et al. Single-nucleotide polymorphism-microarray ploidy analysis of paraffin-embedded products of conception in recurrent pregnancy loss evaluations [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(1): 175-181.
- [4] DONAGHUE C, ROBERTS A, MANN K, et al. Development and targeted application of a rapid QF-PCR test for sex chromosome imbalance [J]. *Prenat Diagn*, 2003, 23(3): 201-210.
- [5] KOJIMA K, KAWAI Y, NARIAI N, et al. Short tandem repeat number estimation from paired-end reads for multiple individuals by considering coalescent tree [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(Suppl 5): 494.
- [6] 宋巍, 杨华, 梁致怡. 高通量测序技术用于稽留流产绒毛染色体检测37例分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2016, 24(2): 123-125.
- [7] TEKCAN A, TURAL S, ELBISTAN M, et al. The combined qf-pcr and cytogenetic approach in prenatal diagnosis [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(11): 7431-7436.
- [8] MARTIN CL, KIRKPATRICK BE, LEDBETTER DH. Copy number variants, aneuploidies, and human disease [J]. *Clin Perinatol*, 2015, 42(2): 227-242.
- [9] 孙义锡, 罗玉琴, 钱叶青, 等. 单核苷酸多态性微阵列芯片在早期自然流产绒毛组织遗传学分析中的应用[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 46(3): 262-267.
- [10] SHEN J, WU W, GAO C, et al. Chromosomal copy number analysis on chorionic villus samples from early spontaneous miscarriages by high throughput genetic technology [J]. *Mol Cytogenet*, 2016, 9: 7.
- [11] DU L, XIE HN, HUANG LH, et al. Prenatal diagnosis of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with ventricular septal defects by chromosomal microarray-based analysis [J]. *Prenat Diagn*, 2016, 36(13): 1178-1184.
- [12] NAGIRNAJA L, PALTA P, KASAK L, et al. Structural genomic variation as risk factor for idiopathic recurrent miscarriage [J]. *Hum Mutat*, 2014, 35(8): 972-982.
- [13] FRYNS JP, DETAVERNIER F, VAN FLETEREN A, et al. Partial trisomy 18q in a newborn with typical 18 trisomy phenotype [J]. *Hum Genet*, 1978, 44(2): 201-205.
- [14] GERSEN SL, KEAGLE MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics* [M]. Totowa: Humana Press, 2005: 142-143.
- [15] DINAPOLI L, CAPEL B. SRY and the stand-off in sex determination [J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22(1): 1-9.
- [16] SAGI-DAIN L, GOLDBERG Y, PELEG A, et al. The rare 13q33-q34 microdeletions: Eight new patients and review of the literature [J]. *Human Genetics*, 2019, 138(10): 1145-1153.

(收稿日期:2020-11-30)