

染色体微阵列分析在检测自然流产胚胎 染色体异常中的应用*

胡 婷^{1,2}, 朱红梅^{1,2}, 张 竹^{1,2}, 王嘉敏^{1,2}, 张海霞^{1,2},
杜 泽^{1,2}, 李玲萍^{1,2}, 王 和^{1,2}, 刘珊玲^{1,2△}

1. 四川大学华西第二医院 妇产科(成都 610041);

2. 出生缺陷与相关妇女儿童疾病教育部重点实验室(四川大学)(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)技术在诊断自然流产胚胎染色体异常的临床应用价值。**方法** 用CMA技术对我院2014年9月至2016年4月共431例自然流产胚胎绒毛组织染色体进行检测。**结果** 431例标本CMA检测全部成功,检出染色体异常标本283例,异常率为65.66%。异常标本中常见的染色体非整倍体(13、16、18、21、22三体及性染色体数目异常)126例(44.52%),不常见的染色体非整倍体72例(25.44%),染色体复合三体10例(3.53%),染色体部分非整倍体9例(3.18%),多倍体29例(10.25%),嵌合体4例(1.41%),全染色体多处重复缺失31例(10.95%),微缺失/微重复综合征2例(0.71%)。**结论** CMA技术与传统的荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)等技术相比,在针对流产胚胎染色体异常检测中的优势明显,对自然流产病因诊断、再次妊娠指导具有重要意义。

【关键词】 染色体微阵列分析 自然流产 染色体异常

Application of Chromosomal Microarray Analysis for Chromosomal Abnormalities of Spontaneously Aborted Fetuses

HU Ting^{1,2}, ZHU Hong-mei^{1,2}, ZHANG Zhu^{1,2}, WANG Jia-min^{1,2}, ZHANG Hai-xia^{1,2}, DU Ze^{1,2}, LI Ling-ping^{1,2}, WANG He^{1,2}, LIU Shan-ling^{1,2△}. 1. Department of Obstetric and Gynecologic, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu 610041, China
△ Corresponding author, E-mail: sunny630@126.com

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical significance of chromosomal microarray analysis (CMA) for detection of chromosomal abnormalities in spontaneously aborted fetuses. **Methods** Chorionic villi samples from 431 spontaneously aborted fetuses were detected on the chromosomal abnormalities by CMA in our department from September 2014 to April 2016. **Results** The overall success rate of CMA was 100%, and 283 cases were detected with abnormalities (65.67%). Of these 283 cases with abnormal results, 126 were common aneuploidies (trisomy 13, 16, 18, 21, 22 as well as X and Y aneuploidies) (44.52%), 72 were uncommon aneuploidies (25.44%), 10 were composited aneuploidies (3.53%), 9 were partial aneuploidies (3.18%), 29 were polyploidy (10.25%), 4 were mosaicism (1.41%), 31 were with multiple duplications and deletions (10.96%), and 2 were micro-duplication/micro-deletion syndromes. **Conclusion** CMA has great advantage for the detection of chromosomal abnormalities in spontaneously aborted fetuses comparing with fluorescence *in situ* hybridization (FISH). It is of great clinical significance for etiological diagnosis of spontaneous abortion and guidance on reproduction.

【Key words】 Chromosomal microarray analysis Spontaneous abortion Chromosomal abnormalities

自然流产的发生率约占全部妊娠的10%~20%,其中80%为早期流产(孕6~12周)。自然流产的原因众多,涉及到胚胎、内分泌、免疫、环境等因素^[1]。50%~60%的早期流产是由胚胎染色体异常导致^[2]。染色体核型分析是诊断染色体疾病的金标

准,但需要进行细胞培养。流产绒毛往往存在标本陈旧、易污染等问题,导致细胞培养失败率高,临床应用存在一定的局限。目前较为广泛应用的技术为荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH),其针对最常见的染色体(13、16、18、21、22及性染色体)数目异常,具有快速、简便、高效、特异性强等特点^[3]。但因其采用探针存在局限性,无法将其用于全染色体数目异常的检测。

* 国家自然科学基金(No. 81270660)和四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2012SZ0136)资助

△ 通信作者, E-mail: sunny630@126.com

染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)也称为基因芯片,是一项新兴的染色体分析技术。它针对全染色体进行分析,能够检测出拷贝数变异(copy number variation, CNV)大于1 kb的微缺失/微重复,且无需细胞培养,故而被称作“分子核型”^[4]。从2005年开始,CMA技术已经在欧美发达国家逐渐应用于临床,而在国内特别是西南地区尚处于起步阶段。本研究对431例早期自然流产胚胎绒毛组织采用Affymetrix 750K基因芯片进行检测,探讨CMA技术在自然流产病因研究中的临床应用价值,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2014年9月至2016年4月于四川大学华西第二医院就诊,因不明原因自然流产或经超声确认胚胎停止发育需行清宫术孕妇431例,取得流产胚胎绒毛组织进行检测。所有孕妇夫妻双方均进行外周血染色体核型分析,排除夫妻一方或双方为染色体异常携带者。孕妇孕周6~12周,平均 (7.68 ± 2.14) 周;年龄21~42岁,平均 (30.48 ± 4.21) 岁,其中35岁以上74例;孕次1~6次,平均 (2.94 ± 1.37) 次,既往无自然流产史者296例,1次自然流产史者97例,2次及以上自然流产史者38例。所有孕妇均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本处理 绒毛标本剪取:将送检流产胚胎组织于生理盐水中反复漂洗,去除蜕膜组织及污染母血细胞,剪取典型绒毛枝约1~2 mL;全基因组DNA提取:采用人类组织和细胞DNA提取试剂盒[QIAamp® DNA Mini Kit(Cat. No. 51306)]提取绒毛组织细胞DNA,并将DNA稀释为50 ng/ μ L, -20℃储存备用。

1.2.2 CMA相关试剂 芯片相关试剂:采用美国Affymetrix公司750K芯片试剂盒[CytoScan® 750K Array Kit and Reagent Kit Bundle (901859)];DNA扩增试剂:采用美国Clontech公司DNA扩增试剂盒[Clontech TITANIUM™ DNA Amplification Kit(639243)]。

1.2.3 CMA检测 按照CMA相关试剂说明进行操作:①消化:将5 μ L全基因组DNA随机消化为短片段;②连接:将消化后产物末端补齐后连接上共同引物;③PCR扩增;④PCR产物纯化:将PCR扩增产物通过磁珠法纯化;⑤片段化;⑥标记;⑦

杂交:将标记后产物与杂交液混合均匀并变性后加载于750K芯片,置于杂交仪中(Genechip hybridization oven 645)50℃ 60 r/min杂交16~18 h;⑧冲洗、染色:将杂交后芯片置于洗涤工作站(GeneChip® Fluidics Station 450Dx v. 2)洗涤并染色;⑨扫描:将洗涤后芯片置于扫描仪(GeneChip® Scanner 3000Dx v. 2 with AutoLoader)中扫描,获取数据。

1.2.4 CMA结果判读 对于CMA检测所得CNV及单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)结果判读标准如下:①常染色体整条染色体拷贝数为3或1,则为三体或单体;②性染色体整条X染色体拷贝数为2,Y染色体拷贝数为0则为正常女性,整条X染色体拷贝数为1,Y染色体拷贝数为1则为正常男性,X单体、XXY及XYY判读以此类推;③某条染色体片段大于10 Mb且部分片段拷贝数为3或1,则为部分三体或单体;④对于以上拷贝数变异,若异常比例大于20%小于60%判定为嵌合体;⑤全染色体CNV异常(重复大于1 Mb或缺失大于500 kb)片段在5个以上,则记为全染色体多处重复或缺失;⑥对于以上标准均未发现异常但存在大于200 kb的CNV,查找DECIPHER数据库(<http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher/>)是否存在相关临床微重复/微缺失综合征或有明确致病意义CNV;⑦SNP结果提示染色体Allele Difference为4则为三倍体,5则为四倍体,以此类推;⑧其余结果均认为自然流产无明确相关性,定义为未见明显异常结果。

1.2.5 FISH检测相关试剂 探针选用北京金菩嘉医疗科技有限公司13/21、18/X/Y、16/22染色体数目异常检测试剂盒,包括3组探针:GLP13/GLP21、CSP18/CSPX/CSPY、GLP16/GLP22,分别定位于13q14/21q22、18p11.1-q11.1/Xp11.1-q11.1/Yp11.1-q11.1、16q22/22q11.2。

1.2.6 FISH检测 ①将制备好的细胞悬液滴片厚56℃烤片;②预处理:将老化好玻片于依次置于37℃ 2×SSC(Ph7.0)溶液、37℃胃蛋白酶HCl溶液、1×PBS(Ph7.0)溶液、0.95%甲醛溶液、-20℃预冷70%、85%、100%乙醇溶液中处理后,自然干燥;③杂交变性:将10 μ L探针混合物加于玻片杂交区域,立即加盖盖玻片,透明胶带封片,杂交16 h;④洗涤:移除盖玻片,将玻片依次于47℃ 50%甲酰胺/2×SSC洗涤液、47℃ 2×SSC洗涤液、47℃ 0.1%NP-40/2×SSC洗涤液、70%、85%、100%乙

醇溶液中处理后,自然干燥;⑤复染:15 μ L DAPI 复染后盖上盖玻片,暗处放置 15 min 后阅片。

1.2.7 FISH 结果判读标准 在 Olympus BX51 正置荧光显微镜下观察。GLP13(绿色)/GLP21(红色)探针及 GLP16(红色)/GLP22(绿色)探针,正常细胞为 2 个红色信号/2 个绿色信号;CSP18(蓝色)/CSPX(绿色)/CSPY(红色)探针,正常男性细胞为 1 个红色信号/1 个绿色信号/2 个蓝色信号,正常女性细胞为 2 个绿色信号/2 个蓝色信号。判读标准如下:①每组探针计数至少 100 个细胞;②单独判断每一指标,正常细胞比例大于 90%,异常细胞比例均小于 10%,提示该指标无异常;③某一指标异常细胞比例大于 60%,提示该指标异常;④某一指标异常比例介于10%~60%之间,加大细胞计数至 200 个细胞,如实记录异常细胞比例,提示为嵌合体。

2 结果

2.1 CMA 检出的染色体结果异常病例

431 例流产胚胎绒毛标本全部检测成功,成功率为 100%。共检出染色体异常标本 283 例,异常率为 65.66%。

2.2 CMA 检出的染色体结果异常类型

CMA 所检出的 283 例染色体异常标本中,常见的染色体非整倍体(13、16、18、21、22 三体及性染色体数目异常)126 例(44.52%),不常见的染色体非整倍体 72 例(25.44%),染色体复合三体 10 例(3.53%),染色体部分非整倍体 9 例(3.18%),多倍体 29 例(10.25%),嵌合体 4 例(1.41%),全染色体多处重复或缺失 31 例(10.95%),微缺失/微重复综合征 2 例(0.71%)。检出最多的染色体数目异常类型为 16 三体,检出 50 例(17.67%);其次为 X 单体,检出 28 例(9.89%);其他比例较高的异常类型为 22 三体(20 例,7.07%)、15 三体(20 例,7.07%)、21 三体(16 例,5.65%),见表 1。

2.3 FISH 检测能够发现的染色体异常

在 CMA 检出的 283 例染色体异常标本中,FISH 技术能够检出其中的 164 例异常标本,占总检测例数的 38.05%,占 CMA 检出异常例数的 57.95%,包括常见的染色体非整倍体(13、16、18、21、22 三体及性染色体数目异常)126 例(44.52%),多倍体 29 例(10.25%),嵌合体 3 例(1.06%),染色体复合三体 1 例(0.35%),且将其他 9 例染色体复合三体中 5 例错误判断为常见的染色体非整倍体

(1.77%)。见表 2。

表 1 CMA 检出的自然流产胚胎绒毛染色体异常类型
Table 1 The abnormal types of chorionic villi samples detected by CMA

Type	Abnormal/ case	Percentage in 431 total cases/%	Percentage in 283 abnormal cases/%
Aneuploidies			
Trisomy 2	6	1.39	2.12
Trisomy 4	6	1.39	2.12
Trisomy 7	6	1.39	2.12
Trisomy 8	6	1.39	2.12
Trisomy 13	8	1.87	2.83
Trisomy 15	20	4.64	7.07
Trisomy 16	50	11.60	17.67
Trisomy 18	4	0.93	1.41
Trisomy 21	16	3.71	5.65
Trisomy 22	20	4.64	7.07
Monosomy X	28	6.50	9.89
Other trisomy	28	6.50	9.89
Composited aneuploidies			
Trisomies 16/22	1	0.23	0.35
Trisomies 18/20	1	0.23	0.35
Trisomies 18/9	1	0.23	0.35
Trisomies 21/5	1	0.23	0.35
Trisomies 21/20	1	0.23	0.35
Trisomies 22/9	1	0.23	0.35
Trisomies 2/7	1	0.23	0.35
Trisomies 9/15	1	0.23	0.35
Trisomies 9/20	1	0.23	0.35
Trisomies 7/10	1	0.23	0.35
Partial aneuploidies			
Partial trisomy	9	2.10	3.18
Polyploidy			
69,XXX	14	3.25	4.95
69,XXY	9	2.10	3.18
69,XYY	6	1.39	2.12
Mosaicism			
Mosaicism Trisomy 2(30%)	1	0.23	0.35
Mosaicism monosomy 21(25%)	1	0.23	0.35
Mosaicism X/XX(23%)	1	0.23	0.35
Mosaicism XXX/XX(20%)	1	0.23	0.35
Multiple duplications and deletions	31	7.20	10.95
Microduplicaiton/microdeletion syndromes			
DiGeorge syndrome	2	0.46	0.71
Total	283	65.66	100

3 讨论

近年来,自然流产特别是早期自然流产的发生率呈逐渐上升的趋势,明确自然流产的病因是指导下一次成功妊娠的关键。研究表明,50%~60%的早期流产是由胚胎染色体异常所致,因此如何准确的检测染色体异常尤为重要。中期染色体 G 显带核型分析是诊断染色体异常的“金标准”,但需要进行无菌细胞培养,由于流产胚胎均从阴道取出,特别是稽留流产胚胎细胞活性极低,因此培养成功率很低,不适用于对流产胚胎染色体进行检测。CMA

表 2 FISH 技术能检出的自然流产胚胎绒毛染色体数目异常类型

Table 2 The abnormal types of chorionic villi samples detected by FISH

Type	Abnormal/ case	Percentage in 431 total cases/%	Percentage in 283 abnormal cases/%
Common aneuploidies			
Trisomy 16	50	11.60	17.67
Monosomy X	28	6.50	9.89
Trisomy 22	20	4.64	7.07
Trisomy 21	16	3.71	5.65
Trisomy 13	8	1.86	2.83
Trisomy 18	4	0.93	1.41
Polyploidy			
69,XXX	14	3.25	4.95
69,XXY	9	2.09	3.18
69,XYY	6	1.40	2.12
Mosaicism			
Mosaicism monosomy 21	1	0.23	0.35
MosaicismX/XX	1	0.23	0.35
MosaicismXXX/XX	1	0.23	0.35
Composited aneuploidies			
Trisomies 16/22	1	0.23	0.35
Trisomies 18/20	1 (M)	0.23	0.35
Trisomies 18/9	1 (M)	0.23	0.35
Trisomies 21/5	1 (M)	0.23	0.35
Trisomies 21/20	1 (M)	0.23	0.35
Trisomies 22/9	1 (M)	0.23	0.35
Total	164	38.05	57.95

M: Misdiagnosis

作为一项高分辨率检测全基因组 CNV 的技术,是将待测样本及对照样本全基因组 DNA 共同与固定于固体介质如玻片上的特异性探针进行杂交,通过荧光信号强弱,从而检出待测样本染色体的重复和缺失;同时也可以通过 SNP 探针,将待测样本信号强度与参考数据进行比较,判断特定 DNA 序列变异是否存在^[5]。

目前,对于流产胚胎染色体方面的检测,最常用的方法是 FISH 技术,针对常见的染色体非整倍体((13、16、18、21、22 三体及性染色体数目异常),具有快速、简便、高效、特异性强等特点^[6]。本研究发
发现,CMA 可检出 FISH 技术能检出的所有常见染色体非整倍体,同时还能检出不常见的染色体非整倍体。这些不常见染色体非整倍体可发生于任何一条染色体,且发生率与常见染色体非整倍体相比,比例并不低。另外,对于复合三体的检出,也是 CMA 相对于 FISH 技术的一大优势。首先,对于不常见染色体的复合三体,FISH 技术无法检出,存在漏诊风险;第二,对于常见染色体和不常见染色体的复合三体,FISH 技术存在误诊的风险,这些问题 CMA 技术都可以很好的弥补。本研究发
发现,CMA 与 FISH 技术相比,可将早期流产胚胎染色体异常检出率从 38.05%提高到 65.66%,为临床咨询提供更多的实

验室依据。

细菌人工染色体标记-磁珠分离法(BoBs™)也是目前逐渐推广的一种针对流产胚胎染色体数目异常的一种有效检测方法,具有快速、高通量、高自动化及操作简便的特点^[7]。BoBs™针对全染色体,可发现所有的非整倍体,这是与 FISH 技术相比最大的优势,但是 BoBs™不能检出多倍体,而多倍体是导致早期自然流产的一大重要原因。CMA 技术除了 a-CGH 平台同时也包含了 SNP 平台,可检出多倍体,且可区分三倍体、四倍体等,可弥补 BoBs™技术造成的多倍体检出漏诊问题。另外,针对染色体部分三体,由于 BoBs™探针覆盖的局限性,也存在漏诊可能,而 CMA 探针覆盖所有染色体全部区域,可检出所有的染色体部分三体。

CMA 技术的一大优势为诊断染色体微缺失/微重复。本研究发现,在检出的异常标本中,有 10.95%存在染色体的多处重复或缺失,这些重复或缺失片段可位于染色体的任何部分。这也是以往针对流产胚胎染色体检查不能发现的。我们考虑,这可能是胚胎早期发育过程中,受到了一些外界环境的影响,如射线、化学物质等,使胚胎染色体被多处随机打断,造成了胚胎停止发育。另外,本研究发现了 2 例 DiGeorge 综合征的流产胚胎。虽然这可能和早期胚胎停育无明显直接关系,但提示夫妻双方可能存在下次妊娠胚胎染色体再次发生异常的风险,因此,我们建议其在下次妊娠时于孕中期进行 CMA 产前诊断,排除染色体异常可能。

对于嵌合体的诊断,目前最优方法仍然是 FISH 技术,其可以发现低比例嵌合,而 CMA 技术只能发现>20%的嵌合,但低比例嵌合通常较少引起胚胎停育或流产,胎儿一般可存活至分娩。另外 CMA 技术针对全染色体可发现 FISH 技术不能发现的其他染色体嵌合,可为孕妇提供更多的遗传学信息,因此认为在诊断嵌合体方面,CMA 仍然存在优势。

综上,CMA 技术在针对早期流产胚胎染色体异常检测中的优势明显,不仅可检出所有的染色体非整倍体、多倍体,还可检出部分三体、>20%的嵌合体,另外对全染色体多处重复、缺失以及染色体微缺失/微重复综合征也可有效检出。这是其他任何针对染色体异常的检查如 FISH、BoBs™等技术无法相比的^[8]。CMA 检测可尽可能多的发现流产胚胎遗传学方面的问题,对患者下次妊娠的成功提供更多的信息。但 CMA 检测费用较 (下转第 754 页)

- e322 [2016-12-03]. <http://circ.ahajournals.org/content/131/4/e29.long>. doi: 10.1161/CIR.000000000000152.
- [2] 刘 丹, 张连生, 陈晓英, 等. 心脏二尖瓣、主动脉瓣双瓣置换术患者 ICU 停留时间延长的危险因素分析. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(2): 203-208.
- [3] ZHENG Z, ZHANG L, HU S, *et al.* Risk factors and in-hospital mortality in Chinese patients undergoing coronary artery bypass grafting: analysis of a large multi-institutional Chinese database. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 144(2): 355-359, 359 e351 [2017-02-18]. [http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223\(11\)01097-X/fulltext](http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223(11)01097-X/fulltext). doi:10.1016/j.jtcvs.2011.10.012.
- [4] 王 崇, 韩 林, 陆方林, 等. SinoSCORE 预测瓣膜手术在院死亡风险——第二军医大学长海医院胸心外科经验. 中华胸心血管外科杂志, 2013, 29(4): 193-195.
- [5] 于 泉, 王 云, 顾继伟, 等. SinoSCORE 评估冠状动脉旁路移植术后患者死亡风险的价值. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(4): 412-414, 423.
- [6] QADIR I, ALAMZAIB SM, AHMAD M, *et al.* EuroSCORE vs. EuroSCORE II vs. Society of Thoracic Surgeons risk algorithm. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2014, 22(2): 165-171.
- [7] GUIDA P, MASTRO F, SCRASCIA G, *et al.* Performance of the European System for Cardiac Operative Risk Evaluation II: a meta-analysis of 22 studies involving 145, 592 cardiac surgery procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 148(6): 3049-3057. e3041 [2017-02-18]. [http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223\(14\)01010-1/fulltext](http://www.jtcvsonline.org/article/S0022-5223(14)01010-1/fulltext). doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.07.039.
- [8] NASHEF SA, ROQUES F, SHARPLES LD, *et al.* EuroSCORE II. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2012, 41(4): 734-744.
- [9] 江 宇, 王 寅, 董念国, 等. 心脏瓣膜手术风险预测模型研究现状及展望. 中华外科杂志, 2014, 52(2): 89-93.
- [10] 郭立新, 李瑞冰, 霍毅中. 瓣膜病手术风险评估系统的建立. 中国医药, 2013, 8(9): 1347-1348.
- [11] NISHIMURA RA, OTTO CM, BONOW RO, *et al.* 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 148(1): e1-e132 [2017-02-18]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-5223\(14\)00535-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-5223(14)00535-2). doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.05.014.
- [12] 白 涛, 来永强, 尤 斌, 等. 左心室射血分数在不同病理瓣膜手术中的临床意义. 中国医药, 2012, 7(8): 921-924.

(2016-12-05 收稿, 2017-05-08 修回)

编辑 吕 熙

(上接第 735 页)

高、技术难度较大, 目前在国内特别是西南地区, 针对流产胚胎普及开展此项检测尚存在一定困难。另外, 在全球范围内, 针对早期流产胚胎的 CMA 检测数据尚有限, 还需要更大量的数据积累分析^[9]。相信通过进一步的临床研究, CMA 必将对早期自然流产病因诊断、再次妊娠指导提供更有意义的指导信息。

参 考 文 献

- [1] BETTIO D, VENCI A, LEVI SETTI PE. Chromosomal abnormalities in miscarriages after different assisted reproduction procedures. *Placenta*, 2008, 29(S2): 126-128.
- [2] 谢 幸, 苟文丽. 妇产科学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 47, 335.
- [3] 胡 婷, 张雪梅, 刘珊玲, 等. FISH 技术诊断自然流产胚胎染色体数目异常的临床研究. 西部医学, 2014, 5(26): 543-545.
- [4] BRADY PD, VERMEESCH JR. Genomic microarrays: a technology overview. *Prenat Diagn*, 2012, 32(4): 336-343.
- [5] 余海燕, 王晓东, 刘兴会. 出生缺陷的产前诊断与围生期处理. 成都: 四川大学出版社, 2015: 44-45.
- [6] 梁永昌, 陈 敏, 刘严德光, 等. 产前诊断中常见染色体异常的快速检测与核型分析技术的应用. 中华妇产科杂志, 2007, 42(5): 348-350.
- [7] CHOY RK, CHEN Y, SUN XF, *et al.* BACs-on-beads: a new robust and rapid detection method for prenatal diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(3): 273-280.
- [8] RAJCAN-SEPAROVIC E. Chromosome microarrays in human reproduction. *Hum Reprod Update*, 2012, 18(5): 555-567.
- [9] American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol*, 2013, 122(6): 1374-1377.

(2016-12-21 收稿, 2017-03-12 修回)

编辑 汤 洁