文章编号:1000-5404(2012)02-0093-03

专家述评

产前诊断和宫内治疗的技术进展与展望



梁志清 (400038 重庆,第三军医大学西南医院妇产科,产前诊断中心)

[关键词] 产前诊断;出生缺陷;宫内治疗;胎儿镜
[中图法分类号] R714.5 [文献标志码] A

Progress and prospect of prenatal diagnosis and intrauterine therapy

Liang Zhiqing (Center for Prenatal Diagnosis, Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] Prenatal diagnosis is to test for birth diseases or conditions in an unborn child, such as chromosome abnormalities, single gene disorders and multigenic diseases. Through a variety of techniques, we can check the diseases or conditions of fetus before it is born. At present some new techniques provide chance for prenatal diagnosis, for example, fetal free DNA, comparative genomic hybridization (CGH), sequencing and imaging, meanwhile some difficulties give us challenge. A growing spectrum and complex genetic mechanism of fetal disease become challenges for prenatal diagnosis and fetal therapy. Further improvements in molecular techniques, etoscopic equipment, intrauterine surgical technique, and gene therapy would promote the development of prenatal diagnosis and fetal medical science.

[**Key words**] prenatal diagnosis; birth defect; intrauterine therapy; fetoscopy

Corresponding author: Liang Zhiqing, Tel: 86-23-68754409, E-mail: zhi.lzliang@gmail.com

产前诊断是在胎儿出生前检测胎儿或胚胎是否患有出生缺陷疾病。常见的出生缺陷疾病包括染色体疾病、单基因疾病和多基因疾病等。出生缺陷已成为婴幼儿残疾和死亡的主要原因。全世界每年大约有 500 万出生缺陷婴儿出生[1],其中 85% 发生在发展中国家。这不但增加了家庭和社会的经济和精神负担,而且使人口素质降低。中国每年有(80~120)×10^4 出生缺陷儿出生,占全部出生人口的 4%~6%。产前诊断可有效检测出生缺陷相关疾病,及早终止重度出生缺陷胎儿的出生,或开展轻中度患儿的宫内治疗,早期控制和干预出生缺陷疾病。目前临床常用的产前诊断手段包括:母体外周血产前筛查、胎儿系统彩色超声检查、经腹羊膜腔穿刺术、经腹脐静脉穿刺术和经腹绒毛膜穿刺术,而遗传病的检测技术主要包括:染色体核型分析、分子基因检测等。近年随着科技的发展,新的检测技术层出不穷,为产前诊断的发展提供了新的机遇,同时出生缺陷疾病许多尚未解决的问题也向我们提出了新的挑战。

1 产前诊断的技术进展

1.1 母血游离胎儿 DNA 为无创性产前诊断提供新的起点

1997 年母体血液中的胚胎 DNA 被发现之后,无创伤的母体外周血检测胚胎染色体异常成了一个重大的研究课题[2]。由于 21-三体综合征多了 1 条 21 号染色体的剂量效应,21-三体综合征胎儿的 21 号染色体基因量较正常增多,孕妇外周血既然存在胎儿游离的 DNA,那么在这些 DNA 中 21 号染色体上的基因,尤其是 21-三体综合征关键区(DSCR 区)上的基因量也应该较正常增高,可通过高精度的 TaqMan 荧光定量 PCR 或短串联重复序列,比较孕妇外周血中游离胎儿 DNA 量差异的关系,使得无创性产前诊断 21-三体综合征成为可能。2008 年香港中文大学和美国史坦福大学的研究人员相继发表了应用第 2 代测序技术从母体血浆 DNA 中检测出胎儿 21-三体综合征[3],通过 Solexa 测序技术,直接检测母体血浆中游离的胎儿 DNA

[通信作者] 梁志清,男,博士,主任医师,教授,博士生导师。现任中华医学会妇产科分会委员,中华医学会妇科肿瘤分会委员,中华医学会重庆妇产科学会副主任委员,中国人民解放军妇产科学会副主任委员,中国中西医结合学会重庆市妇产科分会副主任委员。先后获国家自然科学基金资助项目 8 项,"十一五"国家科技支撑计划 2 项,国家"863"计划项目 3 项,国家"973"计划课题 1 项,"十二五"国家科技支撑计划 1 项,重庆市科委攻关课题 1 项,军队医疗成果一等奖 1 项,军队医疗成果二等奖 1 项,重庆市科技进步二等奖 1 项。发表论文 90 余篇,主编专著 3 部,参编专著 7 部。主要从事出生缺陷疾病的产前诊断、双胎输血综合征的胎儿镜下治疗及其他胎儿疾病的胎儿镜下处理。电话:(023)68754409, E-mail: zhi.lzliang@gmail.com

序列,通过序列对比将这些染色体片段精确定位到每个染色体上。2009年香港中文大学和美国Sequenom公司先后开展了临床试验,检测了753例高危孕妇血浆,准确诊断出86例唐氏综合征胎儿,灵敏度达100%,无假阴性,3例假阳性[4]。母体外周血胎儿游离DNA将逐步用于多种遗传病的无创性产前诊断。

1.2 微阵列-比较基因组杂交技术(array base comparative genomic hybridization,Array CGH)为产前诊断染色体疾病提供更精确的检测技术

染色体结构和数目异常是胎儿发育异常的常见原因,传统核型分析技术细胞培养耗时长、G显带技术染色体条带数目有限、不能检测出染色体亚显微结构的重排;而FISH技术设计探针需要事先了解染色体可能存在的异常,并且1次只能对1个或几个染色体异常的位点进行检测,限制了染色体微缺失或重复的检测。近年来在分子杂交基础上发展的Array CGH结合了基因芯片和传统CGH的优点,可在全基因组范围检测基因拷贝数的改变,分辨率为3~10 MB,是检测小片段染色体缺失和重复的重要工具。

Array CGH在出生缺陷疾病的遗传因素检测方面发挥了重要的作用[5]。以往的染色体检测由于检测分辨率太低,无法显示微小染色体片段缺失和重复。目前通过Array CGH已逐步揭示其中存在的基因缺失或重复,成为染色体疾病诊断的重要工具,同时也是传统染色体核型分析的重要补充工具。既往传统染色体核型检测发现的平衡易位,往往被认为没有染色体片段或基因的丢失和重复,但这难以解释少数平衡易位的患者具有明显异常的临床表现现象。如今这一令人困惑的现象已被Array CGH揭示——18%传统染色体核型检测到的平衡易位患者实际隐藏着3个断点以上的染色体基因的重排[6]。这就提示我们在检测到平衡易位时,通过Array CGH检测平衡易位患者是否存在小片段基因的缺失和重复是常规染色体核型分析的重要补充。

1.3 测序技术揭秘遗传疾病的基因根源

近两年,新一代测序技术飞速发展,将基因组序列的测序成本大大降低,从而也引发了新一轮的遗传疾病研究的高潮。其中以探究单基因遗传病致病基因为主要目的全基因组外显子测序技术应运而生。其将人类基因组中所有已知的编码蛋白质的基因序列进行富集,这些序列所占比例仅仅为人类基因组序列的2%。因此,针对每一个患者待测的序列总量大大地降低,同时,导致单基因疾病的突变信息最大限度地富集保留下来。然后,使用新一代测序技术对富集保留的DNA序列进行深度测序,高质量、高通量地获取所有基因的编码蛋白质区域的碱基突变信息。Toydemir等[7]在《自然》杂志发表文章,他们使用全基因组外显子测序方法,对4名Freeman-Sheldon综合征患者进行检测分析,最终将MYH3基因确定为致病基因。Ng等[8]使用同样的方法对Miller综合征进行了分析,鉴定了Miller综合征的致病基因。全基因组外显子测序技术成为近年最具突破性的热点前沿研究技术。

1.4 胎儿疾病的影像学新技术拓展

胎儿影像学检查是出生缺陷疾病极为重要的产前检查手段,主要为胎儿系统超声检查,包括对胎儿颅脑、颜面、心脏、脊椎、胸部、腹部、四肢等分系统多切面的检查。发达国家产前系统超声对常见先天性出生缺陷的检出率可达70%~90%。特别是针对胎儿先天性心脏病的产前诊断具有其他技术无法比拟的优势,只是孕妇肥胖、胎儿羊水过少等情况可能会影响超声检查效果。近年随着核磁共振技术的不断发展和应用的拓展,其对胎儿的检查日趋广泛和深入[9]。MRI可进行胎儿脑部成像、肠道及泌尿系水成像和三维成像,其成像时间短,可重复成像,将胎儿半透明状态与整体结合,可提供三维重建不能获得的信息[10],具有软组织分辨率高,图像质量不受气体、骨骼影响等优点,可以清楚显示胎儿颅内脑实质及其他细微结构,尤其对胎儿神经、泌尿、消化系统疾病的检查是对系统超声检查重要的补充。胎儿核磁共振是产科检查中继超声之后另一个极有价值的影像技术,而且随着胎儿外科学的发展,核磁共振在产前诊断及胎儿宫内治疗术前评估等方面具有更广阔的应用前景。

2 宫内治疗的技术进展

2.1 胎儿镜在产前诊断和宫内治疗的应用

胎儿镜自1970年开始应用于临床,因其可直接观察胎儿体表而主要应用于胎儿的产前检查和诊断[11]。它可直接观察和诊断胎儿体表的发育异常,如白化病、肢指畸形综合征、外生殖器畸形等。随着配套仪器的发展,胎儿镜逐渐用于胎儿各种疾病的宫内治疗。通过胎儿镜可对各时期的双胎输血综合征行血管交通支的阻断术[12];对双胎反向动脉灌注综合征行胎儿镜下畸形胎儿脐带结扎或电凝术,以阻断健康胎儿与异常胎儿间的血供[13],保存健康胎儿;对胎儿前尿道瓣膜采用尿道切开术,而对后尿道瓣膜采用激光切除术[14],以解除尿道梗阻,减轻对肾脏的压迫及功能损害;对先天性膈疝胎儿进行支气管的球囊堵塞,储留肺内液体促进肺扩张,以维持肺的发育[15];对羊膜腔内的羊膜索行松解术,以避免缠绕胎儿肢体和引起的胎儿肢体发育异常,或避免缠绕脐带和胎儿宫内死亡[16];可对喉闭锁的水肿胎儿行胎儿镜气管减压术,使胎儿心脏、肺脏、膈肌功能得以改善[17];还可对胎儿脊柱裂或骶尾部畸胎瘤行胎儿镜下修补术或切除术[18]。随着胎儿镜器械和外科技术的发展,胎儿镜在胎儿宫内治疗方面发挥着重要的作用。

2.2 宫内输血治疗胎儿溶血性贫血

胎儿溶血性贫血是常见的出生缺陷疾病,主要包括胎儿ABO和Rh血型不合引起的溶血性贫血和地中海贫血,重度溶血性贫血胎儿可出现皮肤水肿、胸水、腹水、肝脾肿大、心胸比增大、心包积液、心脏瓣膜反流、肺发育不良、胎盘增厚、羊水过少等临床表现,以致妊娠晚期胎死宫内。通过宫内换血治疗血型不合溶血性贫血胎儿[19]和地中海贫血纯合子突变胎儿[20],改善了胎儿贫血、宫内生长受限和羊水过多等症状,使胎儿分娩成活,因此,宫内换血治疗是胎儿溶血性贫血早期治疗的第1步,其可为后期临床治疗提供宝贵的时间和机会。

3 产前诊断和宫内治疗面临的挑战

3.1 出生缺陷疾病产前诊断的难题

出生缺陷疾病种类繁多,随着科技的进步,通过系统彩超和分子检测技术已可对常见出生缺陷疾病进行产前检查和诊

断,极大程度地扩大了产前诊断疾病的病种和类别,然而目前产前诊断仍然存在诸多困难:①很多遗传性疾病致病基因不清楚,致病机制不明确,产前诊断无从下手,如精神类疾病等;②单基因遗传性疾病基因突变形式复杂,难以对每种突变位点检测,检测疾病范围受限;③部分出生缺陷疾病病变器官结构变异复杂、不同类型其预后不一样,如肺静脉异位反流,检测技术要求高,同时受胎儿位置影响较大,容易漏诊;④一些先天性疾病胎儿期无明显表现,可能成年后才有临床表现,如成人型多囊肾、性染色体嵌合体等,使得这些疾病的产前诊断和遗传咨询仍在探索之中。

3.2 胎儿疾病的宫内治疗方兴未艾

科学技术的发展为产前诊断提供了新的增长点,许多疾病的致病原因逐步揭晓,新的产前诊断方式应运而生。然而相比产前诊断,胎儿宫内治疗只是一个开端,基因组信息仅仅是为我们找到了导致遗传疾病的元凶。但是,如何治愈遗传疾病,如何将遗传疾病的基因组信息和产前诊断及治疗相结合,从而从真正意义上为我国的优生优育政策做出贡献,这些问题还亟待解决。

4 展望

随着社会的发展,国家和社会对优生优育和产前诊断的要求日益提高,人们不但要求生殖安全,而且需要生殖健康,保证胎儿健康,杜绝重度致死、致残患儿的出生,通过宫内治疗开展胎儿出生缺陷疾病的早期干预成为当今胎儿医学发展的目标。胚胎植入前产前诊断从源头做到了生殖健康,其必然成为未来发展的重要趋势,虽然目前单细胞检测技术是制约其在临床运用的瓶颈,然而全基因组扩增等技术的发展最终将会使其变为现实;而随着测序技术的飞速发展,复杂疾病的致病基因和致病机制必将为科学家们所攻克,相信不远的将来,全基因组测序技术将会使多种遗传性疾病及疾病的多种基因突变形式的产前筛查成为可能。产前诊断的进步,必将带动胎儿宫内治疗的发展,出生缺陷疾病涉及胎儿各系统器官疾病,需要各科室的协作和配合治疗,这类疾病的产前诊断和宫内治疗将呼吁新的胎儿医学模式。

参考文献:

[1] 刘静. 降低出生缺陷三级防治体系是关键[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(7): 1-2.

[2] Lo Y M, Corbetta N, Chamberlain P F, *et al*. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. Lancet, 1997, 350(9076): 485-487.

[3] Lun F M, Chiu R W, Allen-Chan K C, *et al*. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma[J]. Clin Chem, 2008, 54(10): 1664-1672.

[4] Chiu R W, Akolekar R, Zheng Y W, *et al*. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study[J]. BMJ, 2011, 342: c7401.

[5] Rifai L, Port-Lis M, Tabet A C, *et al*. Ectodermal dysplasia-like syndrome with mental retardation due to contiguous gene deletion: further clinical and molecular delineation of del (2q32) syndrome[J]. Am J Med Genet A, 2010, 152A(1): 111-117.

[6] Sismani C, Kitsiou-Tzeli S, Ioannides M, *et al*. Cryptic genomic imbalances in patients with de novo or familial apparently balanced translocations and abnormal phenotype[J]. Mol Cytogenet, 2008, 1: 15.

[7] Toydemir R M, Bamshad M J. Sheldon-Hall syndrome[J]. Orphanet J Rare Dis, 2009, 4: 11.

[8] Ng S B, Buckingham K J, Lee C, *et al*. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder[J]. Nat Genet, 2010, 42(1): 30-35.

[9] Nemec S F, Brugger P C, Nemec U, *et al*. Situs anomalies on prenatal MRI [J]. Eur J Radiol, 2011, [Epub ahead of print].

[10] Brown S D, Estroff J A, Barnewolt C E. Fetal MRI[J]. Appl Radiol, 2004, 33: 9-25.

[11] Kohl T. Fetoscopic surgery: where are we today? [J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2004, 17(4): 315-321.

[12] Roberts D, Neilson J P, Kilby M, *et al*. Interventions for the treatment of twin-twin transfusion syndrome[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2008, (1): CD002073.

[13] Robinson M B, Crombleholme T M, Kurth C D. Maternal pulmonary edema during fetoscopic surgery[J]. Anesth Analg, 2008, 107 (6): 1978-1980.

[14] Clifton M S, Harrison M R, Ball R, *et al*. Fetoscopic transuterine release of posterior urethral valves: a new technique[J]. Fetal Diagn Ther, 2008, 23(2): 89-94.

[15] Fayoux P, Hosana G, Devisme L, *et al*. Neonatal tracheal changes following in utero fetoscopic balloon tracheal occlusion in severe congenital diaphragmatic hernia [J]. J Pediatr Surg, 2010, 45(4): 687-692.

[16] Husler M R, Wilson R D, Horii S C, *et al*. When is fetoscopic release of amniotic bands indicated? Review of outcome of cases treated in utero and selection criteria for fetal surgery [J]. Prenat Diagn, 2009, 29(5): 457-463.

[17] Kohl T, Van-de-Vondel P, Stressig R, *et al*. Percutaneous fetoscopic laser decompression of congenital high airway obstruction syndrome (CHAOS) from laryngeal atresia *via* a single trocar--current technical constraints and potential solutions for future interventions[J]. Fetal Diagn Ther, 2009, 25(1): 67-71.

[18] Bruner J P. Intrauterine surgery in myelomeningocele[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2007, 12(6): 471-476.

[19] Ramirez-Robles L J, Gomez-Partida G, Guevara-Rubio G, *et al*. Intrauterine transfusion in alloimmunization Rh in Mexico 1987-2008 [J]. Ginecol Obstet Mex, 2010, 78(9): 469-477.

[20] Dwinnell S J, Coad S, Butler B, *et al*. In Utero Diagnosis and Management of a Fetus With Homozygous α-Thalassemia in the Second Trimester: A Case Report and Literature Review[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2011, 33(8): e358-e360.

(**收稿**:2011-08-10;**修回**:2011-11-23)

(编辑 栾 嘉)