

# 低深度全基因组测序在先天性心脏病产前遗传学诊断中的应用研究

张 宁 肖泽兵 田少霞 宋佳颖 管永慧

濮阳市妇幼保健院（濮阳市妇产医院、濮阳市儿童医院） 河南 濮阳 457000

**摘 要：**目的：分析胎儿先天性心脏病（CHD）的病种构成、遗传学变异特征及妊娠结局。方法：选取179例孕中期超声确诊CHD并接受羊膜腔穿刺的单胎孕妇，按心脏畸形及心外异常分为四组。行超声、核型分析及CNV-seq检测；对单纯型CHD合并心外异常且两项检测均阴性的24例胎儿行Trio-WES，并随访妊娠结局。结果：主要病种为室间隔缺损（31.28%）、法洛四联症（11.17%）。核型异常检出率15.08%，复杂型合并心外异常组达40.74%；CNV-seq使检出率提升12.90%。Trio-WES检出致病性变异1例（CHD7）、可能致病变异1例（PTPN11），单基因检出率8.3%。结论：合并心外异常或高龄孕妇染色体异常风险较高，CNV-seq可提升诊断准确性；对CNV-seq阴性的单纯型CHD合并心外异常者，WES有助于发现潜在单基因病因。

**关键词：**胎儿先天性心脏病；产前诊断；染色体核型分析；低深度全基因组测序；全外显子组测序

## 引言

先天性心脏病（congenital heart disease, CHD）是新生儿最常见的心血管畸形，发生率约1%，居出生缺陷首位，预后与染色体异常及心脏畸形严重程度相关<sup>[1,2]</sup>。我国CHD检出率约8.9%，随高龄妊娠占比上升而增高<sup>[3]</sup>。约30%未行产前诊断的CHD患儿在新生儿期出现危重血流动力学紊乱，部分合并基因组拷贝数变异的胎儿伴有神经认知缺陷等多系统障碍，产前遗传学诊断的重要性日益凸显<sup>[4]</sup>。全外显子测序（whole exome sequencing, WES）在产前诊断中的应用逐步推广，其在核型及CNV-seq阴性的CHD胎儿中的单基因病因检出价值值得关注。本研究结合超声筛查、核型分析、CNV-seq及部分病例的Trio-WES检测，分析CHD与染色体畸变及单基因变异的关联，为临床诊疗及再生育风险评估提供参考。

## 1 研究对象及入组标准

2022年1月至2024年12月，在濮阳市妇幼保健院纳入179例孕中期超声确诊CHD并接受羊穿的孕妇，分为单纯型、单纯型合并心外异常、复杂型、复杂型合并心外异常四组。孕妇年龄23~44岁，单胎妊娠，孕周≥20周，均行核型分析及CNV-seq检测。对其中24例单纯型合并心外异常且核型及CNV-seq均阴性者行Trio-WES。所有病例均知情同意并经伦理批准。

## 2 方法

### 2.1 研究对象与检测流程

纳入孕18~28+6周、超声确诊CHD并签署知情同意接受羊穿的孕妇。排除双胎仅一胎异常、明确致畸病原体感染、明确致畸药物暴露史及既往染色体异常妊娠史

者。连续入组以减少选择偏倚。

超声采用Voluson E8诊断仪（4-8MHz探头），由两名具资质的产前诊断医师多切面观察心腔、间隔、大血管及瓣膜，共同确认诊断。超声引导下抽取羊水10~20 mL，按ISCN 2013标准分析核型。

CNV-seq完成样本制备、DNA提取、文库构建、测序及数据分析，依据ACMG指南将结果分为致病性、可能致病、VOUS、良性及可能良性，并参考DGV、OMIM、NCBI、Decipher及ClinGen数据库进行片段与基因层面检索。

WES采用贝瑞基因Verita Trekker®变异检测与Enliven®变异注释系统，变异解读遵循ACMG/AMP 2015指南。

### 2.2 诊断标准与判定依据

胎儿CHD最终诊断以产前超声为依据，并尽可能经产后超声、手术或尸检证实。核型异常按ISCN 2020标准分类。CNV-seq结果按ACMG指南分级，VOUS不计入阳性病例，单独分析。

### 2.3 统计学处理

本研究采用SPSS 23.0软件进行统计学分析。计量资料以（均数±标准差）表示，计数资料以例数（百分比）表示。组间率的比较采用 $\chi^2$ 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 研究对象概况

本研究纳入179例超声确诊CHD并接受羊穿的病例，均行核型分析及CNV-seq检测。按病变特征分为四组，各组孕妇年龄及高龄比例差异均有统计学意义

( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 入组孕妇一般资料比较

| 组别            | 例数  | 孕妇年龄(岁)    | 高龄[n(%)]    |
|---------------|-----|------------|-------------|
| 单纯性CHD组       | 76  | 25.32±4.13 | 42 (55.26)  |
| 单纯性CHD合并心外异常组 | 39  | 28.63±2.48 | 23 (58.97)  |
| 复杂性CHD组       | 27  | 31.69±5.62 | 14 (51.85)  |
| 复杂性CHD合并心外异常组 | 37  | 33.53±5.31 | 24 (64.86)  |
| 合计            | 179 | /          | 103 (57.54) |

注：高龄定义为孕妇年龄  $\geq 35$ 岁；各组孕妇年龄及高龄比例差异均有统计学意义（年龄： $F = 28.43$ ， $P < 0.001$ ；高龄比例： $\chi^2 = 3.67$ ， $P = 0.035$ ）。

### 3.2 胎儿 CHD 心脏超声诊断结果分类

#### 3.2.1 主要病种分布

179例CHD胎儿中，单纯性CHD组76例：室间隔缺损36例（47.37%）、肺动脉狭窄17例（22.37%）、房间隔缺损11例（14.47%）、主动脉狭窄8例（10.53%）、其他4例（5.26%）。单纯性合并心外异常组39例：室间隔缺损20例（51.28%）、主动脉狭窄8例（20.51%）、房间隔缺损6例（15.38%）、肺动脉狭窄3例（7.69%）、其他2例（5.13%）。复杂性CHD组27例：法洛四联症7例（25.93%）、右位主动脉弓5例（18.52%）、左心发育不良综合征4例（14.81%）、右心发育不良综合征4例（14.81%）、大动脉转位2例（7.41%）、三尖瓣下移畸形2例（7.41%）、其他3例（11.11%）。复杂性合并心外异常组37例：法洛四联症13例（35.14%）、右位主动脉弓3例（8.11%）、主动脉闭锁3例（8.11%）、肺动脉闭锁3例（8.11%）、三尖瓣下移畸形2例（5.41%）、三尖瓣发育不良2例（5.41%）、内脏异位综合征2例（5.41%）、大动脉转位2例（5.41%）、左心发育不良综合征2例（5.41%）、右心发育不良综合征1例（2.70%）、双主动脉弓1例（2.70%）、共同动脉干1例（2.70%）、其他2例（5.41%）。

前6位病种为：室间隔缺损56例（31.28%）、法洛四联症20例（11.17%）、肺动脉狭窄20例（11.17%）、房间隔缺损17例（9.50%）、主动脉狭窄16例（8.94%）、右位主动脉弓8例（4.47%）。

#### 3.2.2 胎儿 CHD 合并其他超声检查结果

179 例胎儿 CHD 中有81例（45.25%）胎儿合并其他

超声异常（注：同一胎儿出现  $\geq 2$ 项超声异常时重复计数），具体分布如下：合并中枢神经系统异常有19例，消化系统16例，泌尿系统14例，羊水异常10例，肢体发育异常5例，其他系统：17例。

#### 3.3 CHD胎儿的染色体核型结果分析

179例行染色体核型检查的胎儿中，检出染色体异常27例（15.08%），其中结构异常4例，数目异常23例（47,XN,+13 2例、47,XN,+18 5例、47,XN,+21 7例，性染色体数目异常9例：45,X 4例、45,X/46,XX嵌合3例、46,XY/47,XXY嵌合2例）。

按心脏畸形分组：单纯性CHD组检出异常2例（7.41%），为室间隔缺损1例、肺动脉狭窄1例；单纯性CHD合并心外异常组检出8例（29.63%），为室间隔缺损3例、主动脉狭窄2例、房间隔缺损2例、肺动脉狭窄1例；复杂性CHD组检出6例（22.22%），为法洛四联症2例、三尖瓣下移畸形1例、左/右心发育不良综合征各1例、右位主动脉弓1例；复杂性CHD合并心外异常组检出11例（40.74%），为法洛四联症3例、右位主动脉弓1例、主动脉闭锁1例、肺动脉闭锁1例、三尖瓣下移畸形1例、三尖瓣发育不良1例、内脏异位综合征2例、大动脉转位1例。

#### 3.4 CHD胎儿CNV-seq结果分析

179例羊水标本同步完成核型分析与CNV-seq检测，成功率均100%。148例两项结果均正常，CNV-seq额外检出微缺失3例、微重复1例，使异常检出率提高12.90%。1例VOUS（14q21.1重复，1.3 Mb）家属选择继续妊娠，已建议父母验证及产后随访。以核型为参照，CNV-seq检出全部27例核型异常，并额外检出4例致病性CNV，提示其在检测微小缺失/重复方面具有优势。

#### 3.5 单纯性CHD合并心外异常胎儿全外显子测序结果

对核型及CNV-seq均阴性且超声提示单纯性CHD合并心外异常的胎儿，经知情同意后行家系WES。39例单纯性CHD合并心外异常中，8例已检出染色体异常/CNV阳性未再行WES，31例两项均阴性，其中7例家属拒绝，24例完成WES检测。

WES检出致病性变异1例（4.2%），可能致病变异1例（4.2%），VUS变异2例（8.3%），致病及可能致病合并检出率8.3%。未检出明确致病性变异20例。具体结果见表2。

表2 单纯性CHD合并心外异常胎儿全外显子测序（WES）检出情况

| 心脏畸形 | 合并心外异常 | 基因     | 转录本         | 变异(c.)    | 蛋白改变(p.) | ACMG评级 | 来源 |
|------|--------|--------|-------------|-----------|----------|--------|----|
| VSD  | 颜面/颈蹼  | PTPN11 | NM_002834.5 | c.836A>G  | p.N279S  | 致病     | 新发 |
| TOF  | 侧脑室增宽  | CHD7   | NM_017780.4 | c.5566C>T | p.R1856* | 可能致病   | 新发 |

### 3.6 孕妇年龄与染色体结果异常的关系

179例孕妇中, 76例年龄 $<35$ 岁, 其中9例(11.84%, 9/76)染色体异常。103例年龄 $\geq 35$ 岁, 其中22例(21.36%)染色体异常。高龄组( $\geq 35$ 岁)染色体异常检出率为21.36%, 非高龄组为11.84%, 经 $\chi^2$ 检验, 两组间差异有统计学意义( $\chi^2=3.89$ ,  $P=0.048$ )。

### 4 讨论

胎儿CHD是常见先天性畸形。本研究中179例胎儿染色体异常检出率17.32%, 以数目异常为主(21三体、18三体等)。CHD复杂程度越高、合并心外异常, 检出率越高, 复杂CHD合并心外异常组达42.46%, 提示该类胎儿应优先行遗传学检测。合并心外异常以神经系统最常见。

核型分析分辨率有限, 难以检出微小异常。CNV-seq可提高检出率, 常见微缺失包括22q11.2缺失、1p36缺失及Williams-Beuren综合征。本研究CNV-seq额外检出4例致病性CNV, 使检出率提高12.90%。建议核型联合CNV-seq作为一线方案, 两者均阴性者可行Trio-WES排查单基因变异。复杂性CHD组继续妊娠存活率低于单纯性CHD组, 心脏畸形严重程度影响预后。

本研究为单中心设计, 存在选择偏倚, 高龄与染色体异常的分析未校正混杂因素。仅部分单纯性CHD合并心外异常且核型及CNV-seq阴性者行WES(24/31例),

未对复杂性CHD及孤立性单纯性CHD行WES, 可能低估单基因检出率。复杂性CHD家属多选择终止妊娠, 也影响评估。VOUS病例家系验证尚未完成, 需长期随访。后续可开展多中心前瞻性研究。

### 结语

综上, 核型分析可检出数目及平衡性结构异常, 但周期长、分辨率低。CNV-seq可弥补其不足。对于核型及CNV-seq阴性的单纯性CHD合并心外异常胎儿, WES可进一步检出单基因变异。三者合理结合可提高病因检出率, 为遗传咨询提供支持。

### 参考文献

- [1]姚欣雨,李奉瑾,乔梦茹,等.胎儿先天性心脏病遗传学病因的研究进展[J].国际妇产科学杂志,2022,49(1): 77-81.
- [2]李茹,潘敏,韩瑾,等.低深度全基因组测序联合全外显子测序在胎儿先天性心脏病产前诊断中的应用价值[J].中华妇产科杂志,2024,59(07):521-527.
- [3]郝晓艳,张烨,谷孝艳,等.低深度全基因组测序在胎儿先天性心脏病拷贝数变异检测中的应用[J].中国超声医学杂志,2023,39(05):568-571.
- [4]曾秀梅,梁元豪,杜志成,等.胎儿先天性心脏病的早孕期超声筛查及产前诊断结果分析[J].中华围产医学杂志,2018,21(11): 737-744.