

ferential expression of innate immune （下转第 150 页）

• 论 著 •

无创产前筛查中胎儿游离 DNA 比例的影响因素分析*

王 杰^{1,2}, 冀小平¹, 武丽琼¹, 安 瑾¹, 侯东霞¹, 朱 博¹, 郭志远¹,
张美玲¹, 王 艳¹, 王晓华^{1△}

1. 内蒙古自治区妇幼保健院遗传优生科, 内蒙古呼和浩特 010020; 2. 内蒙古大学省
部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 内蒙古呼和浩特 010021

摘 要:目的 分析无创产前筛查(NIPS)中影响胎儿游离 DNA(cffDNA)比例的因素,探讨 cffDNA 比例偏低造成 NIPS 检测失败的原因,为不同孕妇制订个体化的产前遗传学检测方案提供参考。**方法** 对 4 268 例进行 NIPS 检测的孕妇跟踪随访至胎儿出生,并对孕妇的相关资料进行收集,分析孕妇孕周、体质量指数(BMI)、年龄、妊娠单双胎、标本运输时间与血浆 cffDNA 比例的相关性,并对 cffDNA 比例<3.5%的标本重新采血后进行检测,探讨标本重新采血的可行性。**结果** cffDNA 比例与孕周呈正相关($r=0.113, P<0.05$)。cffDNA 比例与孕妇 BMI 和年龄呈负相关($r=-0.261, -0.088, P<0.05$)。妊娠单双胎和标本运输时间与 cffDNA 比例无相关性($P>0.05$)。cffDNA 比例<3.5%的孕妇经重新采血后检测,50%的孕妇能够得到检测结果。**结论** cffDNA 比例与孕周呈正相关,与孕妇 BMI、年龄呈负相关。临床可根据筛查对象的 BMI、年龄、孕周制订个体化的采血时间,对于肥胖、年龄较大的孕妇可适当将筛查孕周后移。

关键词:无创产前筛查; 胎儿游离脱氧核糖核酸; 体质量指数
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.02.005 **中图法分类号:**R446.11+9
文章编号:1673-4130(2021)02-0146-05 **文献标志码:**A

Analysis of influencing factors in fetal cell-free DNA ratio during non-invasive prenatal screening*
WANG Jie^{1,2}, JI Xiaoping¹, WU Liqiong¹, AN Jin¹, HOU Dongxia¹, ZHU Bo¹, GUO Zhiyuan¹,
ZHANG Meiling¹, WANG Yan¹, WANG Xiaohua^{1△}

1. Department of Genetics and Eugenics, Inner Mongolia Autonomous Region Maternity and Child Health Care Hospital, Hohhot, Inner Mongolia 010020, China; 2. Province-Ministry Co-Building National Key Laboratory of Reproductive Regulation and Breeding of Grassland Livestock, Inner Mongolia University, Hohhot, Inner Mongolia 010021, China

Abstract: Objective To analyze the factors affecting the cell-free fetal DNA (cffDNA) in the non-invasive prenatal screening (NIPS), and to investigate the further cause of NIPS detection failure due to low cffDNA ratio to provide references for formulating the individualized prenatal genetic detection scheme for different pregnant women. **Methods** A total of 4 268 pregnant women undergoing NIPS were followed up to the birth of the fetus, and the pregnant women related data were collected. The gravida's gestational week, body mass index(BMI), age, single and twin pregnancy, sample transport times and plasma cffDNA ratio conducted the correlation analysis. Moreover the samples of cffDNA ratio<3.5% conducted the detection after the second blood collection to investigate the feasibility of the blood sample re-collection. **Results** The cffDNA ratio showed the positive correlation with the gestational week ($r=0.113, P<0.05$). cffDNA ratio was negatively correlated with BMI and age of the pregnant women ($r=-0.261, -0.088, P<0.05$). No correlation between the single fetus, twin fetus and sample transport time with the cffDNA ratio was not be found ($P>0.05$). In the detection after blood re-collection in the pregnant women with cffDNA<3.5%, 50% of pregnant women could obtain the detection results. **Conclusion** The cffDNA ratio has the positive correlation with the gestation weeks and negatively correlated with the BMI and age of the pregnant women. In clinical application, the

* 基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2019MS08006)。
作者简介:王杰,女,主管技师,主要从事分子遗传学及产前诊断研究。 △ 通信作者, E-mail: wangxiaohua2222@163.com。
本文引用格式:王杰,冀小平,武丽琼,等. 无创产前筛查中胎儿游离 DNA 比例的影响因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(2): 146-

individualized blood collection time can be formulated according to the BMI, age and gestational weeks of the screening subjects. For the pregnant women with obesity and older age, the screening gestational week can be appropriately delayed.

Key words: non-invasive prenatal screening; cell-free fetal DNA; body mass index

血液中的游离 DNA 主要是指存在于外周血中的游离于细胞外的 DNA 片段, 主要通过活细胞的主动释放或凋亡、死亡细胞的被动释放而产生, 经快速降解后释放到血循环中^[1]。1997 年, LO 等^[2]发现孕妇外周血中的游离 DNA 除了来源于孕妇自身外, 还有极少部分是来自于胎儿, 其中来源于孕妇的游离 DNA 占 80%~95%, 来源于胎儿游离 DNA (cffDNA) 占 5%~20%。孕妇外周血中的 cffDNA 主要来源于穿过胎盘屏障的胎盘滋养细胞。因此, 理论上当胎儿为三体时, 孕妇外周血中的 cffDNA 也同样为三体, 这使得该染色体上孕妇外周血 cffDNA 比例与健康孕妇相比, 明显升高。这一发现为无创产前筛查 (NIPS) 技术打下了理论基础。

由于 cffDNA 在孕妇外周血中占比极低, 因此 NIPS 检测的可靠性在很大程度上取决于所测试样品中是否有足够的 cffDNA。一般来说, 孕妇外周血 cffDNA 比例通常在 3%~30%^[3]。通常情况下, 胎儿非整倍体的产前筛查要求 cffDNA 比例至少达 4%^[3]。如果孕妇外周血中的 cffDNA 比例过低, 则可能受相对比例较高的孕妇正常 DNA 的影响, 进而影响检测结果的准确性, 甚至造成检测失败。这不仅给孕妇造成了困扰, 也影响了该技术在临床中的推广、应用。有研究提示, cffDNA 比例与孕周呈正相关, 与孕妇体重、体质量指数 (BMI) 呈负相关, 妊娠期并发症或合并症、孕妇年龄、孕中期唐氏筛查结果、胎儿染色体核型及颈后透明层也是潜在的影响因素^[4]。本研究对在内蒙古自治区妇幼保健院进行 NIPS 检测的 4 268 例孕妇外周血 cffDNA 比例与孕周、孕妇 BMI、孕妇年龄、妊娠单双胎、标本运输时间等相关因素之间的关系进行了回顾性分析, 对所有筛查对象跟踪随访至胎儿出生, 以探讨影响 cffDNA 比例的因素, 分析 NIPS 失败的原因, 为不同孕妇制订个体化的产前遗传学检测方案提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 9 月至 2019 年 3 月于内蒙古自治区妇幼保健院进行 NIPS 检测的 4 268 例孕妇, 孕周为 11⁺³~36 周, 其中孕早期 (11~12 周) 157 例, 孕中期 (>12~27 周) 4 091 例, 孕晚期 (>27~36 周) 20 例; 单胎 4 158 例 (97.42%), 双胎 110 例 (2.58%); 孕妇年龄 18~47 岁, 平均 (31±6) 岁; BMI 为 15.62~35.71 kg/m², 中位 BMI 为 23.44 kg/m²。所有研究对象根据孕周、BMI、年龄、妊娠单双胎、标本运输时间分成不同的组别。检测孕周不在

最适检测孕周 (12⁺⁰~22⁺⁶ 周) 的孕妇, 其中 <12⁺⁰ 周 6 例, >22⁺⁶ 周 149 例。由临床医生告知研究对象本研究的目的、方法等, 研究对象均签署知情同意书, 本研究获得医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 NIPS 检测方法 抽取孕妇外周静脉血 5 mL, 置于 cffDNA 专用真空采血管 (康为世纪, 中国) 中, 分别以 1 600×g 及 16 000×g 低温离心 10 min 后得到血浆标本。应用联合探针锚定聚合测序法, 按照胎儿染色体非整倍体 (T21、T18、T13) 检测试剂盒说明书操作, 并借助于 BGI500 测序平台进行测序, 利用高分辨率成像系统及生物信息系统转换得到待测序列。所得序列经与人参考基因组 (GRCh37/hg19) 比对, 确定每一测序 reads 染色体的定位, 计算得出标准化 Z 值。当标本满足度量标准 (有效数据量 ≥3.5 Mb, 无扩增偏倚, cffDNA 比例 ≥3.5%) 时根据标准化 Z 值评估检测结果: 若 Z 值的绝对值 ≥3, 提示高风险; 若 Z 值为 >-3~<3, 结果为低风险。

1.2.2 cffDNA 比例的评估方法 (1) Y 染色体估算法^[3]: 健康女性的染色体核型为 46, XX, 是不含 Y 染色体的, 也就是说一旦在孕妇血浆中检测出了来源于 Y 染色体的 cffDNA 片段, 则为 cffDNA。(2) SeqFF 估算法^[5]: 在孕妇血浆中检测到的 cffDNA 并非是均匀、散在分布在染色体所有区域的。实际上, 在有的染色体区域内, cffDNA 占比高, 而在有的染色体区域内, cffDNA 占比很少。利用 cffDNA 这一特性, 将各常染色体按照每 50 kb 分割成区间窗口 (bin), 选出 cffDNA 片段为 100~150 bp 的 bin, 计算这些 cffDNA 片段长度较短的 bin 占有所有 bin 的比例, 并以 GC 含量、读段数等指标作为参数, 建立一个高度回归模型, 即 seqFF 模型, 通过该模型即可估算 cffDNA 比例。本研究将 Y 染色体估算法和 seqFF 估算法综合运用, 评估标本中 cffDNA 比例。选择 3.5% 作为 cffDNA 比例最低检测限^[6]。

1.2.3 妊娠结局随访 查询电子病历记录系统或打电话对孕妇的妊娠结局进行追踪随访。随访内容包括胎儿或新生儿是否表现为典型的 21、18、13-三体综合征, 孕妇有无流产、引产、双胎之一消失, 分娩孕周, 以及新生儿出生时健康状况、体格检查结果、有无其他临床诊断和 (或) 遗传学诊断的异常。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析, 采用 Graphpad Prism8.0 软件对数据进行绘图。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采

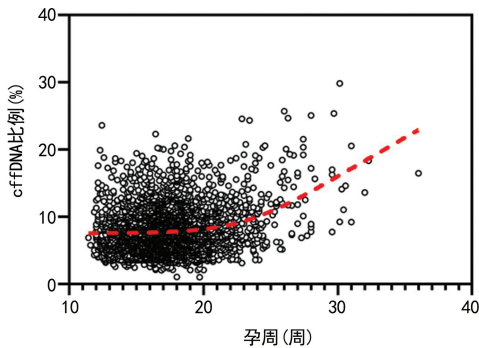
用多样本均数的方差分析;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 孕妇血浆 cffDNA 比例与孕周的相关性分析

4 268 例孕妇 cffDNA 比例为 1.025%~29.851%,中位 cffDNA 比例为 7.392%,其中孕 19⁺ 周最低,孕 30⁺ 周最高。相关性分析发现,cffDNA 比例与孕周呈正相关($r=0.113, P<0.05$)。但 cffDNA 比例随孕周增长的速度不一致,孕 11~22 周,cffDNA 比例每周约增加 0.2%,孕 22 周以后,每周约增加 0.7%。见图 1。

在 75 例 cffDNA 比例<3.5%的孕妇中,孕 15 周 cffDNA 比例<3.5%的孕妇比例最低,为 0.41%(2/493),孕 19 周 cffDNA 比例<3.5%的孕妇比例最高,为 3.36%(11/327)。cffDNA 比例<3.5%的孕妇的孕周比较,各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。



注:曲线为 spline 拟合曲线。

图 1 cffDNA 比例与孕周的相关性

表 1 cffDNA 比例<3.5%的孕妇在不同孕周的分布[n(%)]

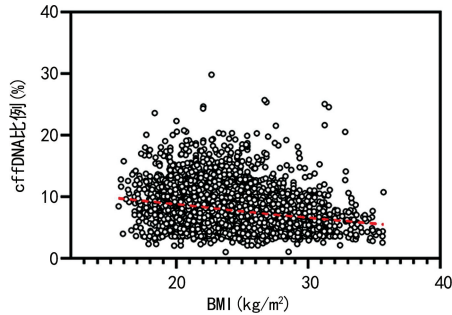
检测孕周(周)	n	cffDNA 比例<3.5%
12	151	2(1.32)
13	266	3(1.13)
14	346	9(2.60)
15	493	2(0.41)
16	822	16(1.95)
17	694	17(2.45)
18	566	11(1.94)
19	327	11(3.36)
20	212	3(1.42)
22	105	1(0.95)

注:此部分仅列出 cffDNA 比例<3.5%的标本,孕 12 周之前、21 周、22 周之后未发现 cffDNA 比例<3.5%的标本。

2.2 孕妇血浆 cffDNA 比例与 BMI 的相关性分析

相关性分析发现,cffDNA 比例与 BMI 呈负相关($r=-0.261, P<0.05$)。依据世界卫生组织(WHO)制

定的 BMI 界限值,将孕妇按照 BMI 分为 4 组:低体质量组(BMI<18.50 kg/m²)、正常体质量组(BMI 为 18.50~<25.00 kg/m²)、超重组(BMI 为 25.00~<30.00 kg/m²)和肥胖组(BMI≥30.00 kg/m²)。低体质量组、正常体质量组、超重组和肥胖组平均 cffDNA 比例分别为 9.26%、8.29%、7.26%、6.29%,各组之间差异有统计学意义($P<0.05$),随着 BMI 的升高,cffDNA 比例明显降低。见图 2。

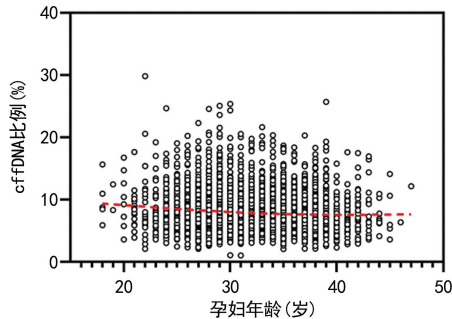


注:曲线为 spline 拟合曲线。

图 2 cffDNA 比例与 BMI 的相关性

2.3 孕妇血浆 cffDNA 比例与孕妇年龄的相关性分析

相关性分析发现,cffDNA 比例与孕妇年龄呈负相关($r=-0.088, P<0.05$)。根据孕妇年龄,将孕妇分为高龄组(≥35 岁)和低龄组(<35 岁),高龄组、低龄组平均 cffDNA 比例分别为 7.57%、8.11%,经单因素分析后得出两组之间差异有统计学意义($P<0.05$),随着年龄的升高,cffDNA 比例明显降低。见图 3。



注:曲线为 spline 拟合曲线。

图 3 cffDNA 比例与孕妇年龄的相关性

2.4 孕妇血浆 cffDNA 比例与妊娠单双胎的相关性分析

单胎组、双胎组平均 cffDNA 比例分别为 7.92%、8.47%。经单因素分析后得出两组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。经相关性分析,妊娠单双胎与 cffDNA 比例无相关性($r=0.025, P>0.05$)。

2.5 孕妇血浆 cffDNA 比例与标本运输时间的相关性分析

使用 cffDNA 专用采血管采集全血,按照相关标准运输,放置于 6~35 ℃ 环境中,96 h 内运送至实验室并处理。将运输时间分为 4 组:<24 h 组、24~<48 h 组、48~<72 h、72~<96 h 组。各组平均 cffDNA 比例分别为 7.92%、7.83%、8.05%、8.14%。经单因素分析后得出 4 组之间差异无统计

学意义($P>0.05$)。经相关性分析,标本运输时间与 cffDNA 比例无相关性($r=0.021, P>0.05$)。见图 4。

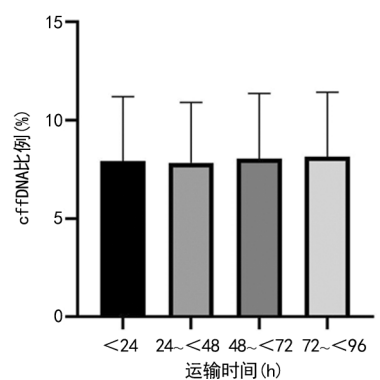


图 4 cffDNA 比例与运输时间的相关性

2.6 cffDNA 比例 $<3.5\%$ 的标本重新采血后的检测结果 对 16 例 cffDNA 比例 $<3.5\%$ 的标本(孕 $12^{+5}\sim 19^{+4}$ 周)进行了重新取样检测,中位间隔时间为 17.1 d。其中 8 例标本经重新取样检测后 cffDNA 比例 $>3.5\%$,中位间隔时间 17.3 d;另有 8 例标本经重新取样检测后 cffDNA 比例依旧 $<3.5\%$,中位取样间隔时间 16.9 d,这 8 例孕妇超重 3 例,肥胖 2 例。经随访,妊娠结局均未发现明显异常。

3 讨论

近年来,随着高通量测序技术的成熟及测序成本的不断降低,基于孕妇外周血 cffDNA 的 NIPS 技术越来越多地被应用于胎儿染色体数目异常相关疾病的检测。NIPS 技术要有效地检测出胎儿染色体数目异常,cffDNA 比例十分重要^[7]。

研究表明,cffDNA 比例受孕妇和胎儿两方面因素的影响,孕妇因素包括孕周、体质量、妊娠期并发症或合并症、年龄、孕中期唐氏综合征血清学筛查的危险系数、血清妊娠相关蛋白 A 和游离 β -人绒毛膜促性腺激素的变化^[8]。其中 cffDNA 比例与孕周呈正相关,与孕妇 BMI 呈负相关。胎儿因素包括胎儿的单胎或多胎、胎儿染色体核型及胎儿颈后透明层厚度等,这些也是潜在的影响因素^[4,7,9]。此外,标本运输时间或实验室提取方法的差异也会对 cffDNA 比例产生一定影响。

3.1 孕妇自身因素对 cffDNA 比例的影响 在本研究中 cffDNA 比例与孕妇采血时的孕周呈正相关。随着孕周的增加,胎盘体积逐渐增大,凋亡的滋养层细胞增多,因此释放到孕妇血液中的 DNA 片段增加。但是本研究发现,cffDNA 比例在不同孕周增长速度不一致,孕 11~22 周,cffDNA 比例每周约增加 0.2%,22 周以后,每周约增加 0.7%,这与之前报道的在孕 10~21 周,cffDNA 每周约增加 0.1%,21 周后,每周约增加 1.0%类似^[10]。在孕 19 周时,cffDNA 比例 $<3.5\%$ 的比例相对较高,较少见相关的报道。

本研究还发现 cffDNA 比例与孕妇 BMI 之间存在负相关性,与之前的研究结果一致^[11]。可能的原因是受到孕妇血液中总体游离 DNA 水平的影响,随着孕妇体质量的增加,血容量增加,导致血液中的总体游离 DNA 水平升高,从而稀释了外周血中的 cffDNA,使 cffDNA 比例降低。另一方面,由于肥胖孕妇具有的更多的脂肪组织,可通过脂肪细胞坏死或基层层的血管组织凋亡进行活跃的脂肪重建。脂肪细胞裂解后,cffDNA 释放入血,从而导致血中来源于孕妇的 DNA 含量更高,而 cffDNA 含量不变,因此导致 cffDNA 比例更低^[12]。针对高 BMI 对 cffDNA 比例的影响,2016 年美国医学遗传学与基因组学学会指南指出,肥胖孕妇外周血中的 cffDNA 比例通常较低,建议肥胖孕妇直接使用传统筛查方法,而不采用 NIPS。我国的相关技术规范也将肥胖孕妇列入 NIPS 慎用人群。与年龄的相关性分析发现,cffDNA 比例与孕妇年龄呈负相关,与 HOU 等^[11]的研究结果相符。

3.2 妊娠单双胎及运输时间对 cffDNA 比例的影响 本研究发现,适宜孕周内的妊娠单双胎以及按照采血管要求的运输条件下的运输时间与 cffDNA 比例无相关性。这一发现对于地广人稀,东西、南北跨度均较大的内蒙古地区至关重要,在合适的运输条件下 96 h 内 cffDNA 比例没有明显差异,有助于偏远地区标本的收集及检测,为 NIPS 在欠发达地区的普及提供可能。

3.3 cffDNA 比例 $<3.5\%$ 的标本 2 次采样的可行性评估 对首次检查发现 cffDNA 比例低的孕妇建议重新采血进行第二次检测,有 50%的孕妇经第 2 次检测后会得到结果,这与之前的研究结果一致^[13-14]。二次采血后 cffDNA 仍偏低的标本中 BMI $\geq 25.00\text{ kg/m}^2$ 的占 65.5%(5/8),推测在最适的检测孕周,BMI 是影响 cffDNA 比例的主要因素。另有 3 例 BMI 在正常范围的孕妇 cffDNA 比例仍 $<3.5\%$,可能是受其他因素的影响。目前对于重新采血时机的选择及再次行 NIPS 获得结果的可能性尚未达成共识,因为重新采血时,随着孕周的增加,孕妇体质量和 BMI 也会增加。美国医学遗传与基因组学学会在 2016 年发布的关于 NIPS 在胎儿染色体非整倍体疾病筛查的应用指南中建议:如果孕妇是在合适的检测孕周出现了 cffDNA 比例低导致 NIPS 失败,可建议孕妇直接进行产前诊断,而不是重新采血再次进行 NIPS 检测^[15]。我国目前多采用先重新采血检测,而不直接进行有创产前诊断,对于第 2 次 NIPS 失败的孕妇,建议接受进一步的遗传咨询、全面的超声评估和产前诊断^[16]。

综上所述,孕周越小、BMI 越大、年龄越大,cffDNA 比例越低,NIPS 的失败率越高。因此,临床需要告知孕妇相关风险,可根据筛查对象的 BMI、年龄、孕

周制订个体化的采血时间,对于肥胖、年龄较大的孕妇可适当将筛查孕周后移。对首次采血 cffDNA 比例未达标的标本,可以先进行重新采血检测,对于第 2 次 NIPS 失败的孕妇,建议接受进一步的遗传咨询、全面的超声评估和产前诊断,并对胎儿结局进行随访。仍有一部分 cffDNA 比例低导致 NIPS 失败的孕妇,具体原因不明,后续关于胎儿染色体核型、孕期并发症/合并症、重新采血时机和其他影响 cffDNA 比例因素的研究需要进一步完善。同时,也需要不断研究新的 cffDNA 富集方法,提高 cffDNA 比例,不断提高 NIPS 的检出率。

参考文献

[1] RYKOVA E Y, MOROZKIN E S, PONOMARYOVA A A, et al. Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes; mechanisms of generation, concentration and content[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(Suppl 1): S141-S153.

[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] SPARKS A B, STRUBLE C A, WANG E T, et al. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18[J]. Am J Obstet Gynecol, 2012, 206(4): 319. e1-319. e9.

[4] 李佳欣, 魏瑗, 赵扬玉. 胎儿游离 DNA 浓度低导致无创产前检测失败的相关因素研究进展[J]. 中华围产医学杂志, 2019, 22(1): 30-34.

[5] KIM S K, HANNUM G, GEIS J, et al. Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts[J]. Prenat Diagn, 2015, 35(8): 810-815.

[6] KANG X, XIA J, WANG Y, et al. An advanced model to precisely estimate the cell-free fetal dna concentration in maternal plasma[J]. PLoS One, 2016, 11(9): e0161928.

[7] CANICK J A, PALOMAKI G E, KLOZA E M, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next

generation sequencing tests for common fetal aneuploidies[J]. Prenat Diagn, 2013, 33(7): 667-674.

[8] ASHOOR G, SYNGELAKI A, POON L C, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation; relation to maternal and fetal characteristics[J]. Fetal Diagn Ther, 2013, 31(4): 237-243.

[9] KINNINGS S L, GEIS J A, ALMASRI E, et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing[J]. Prenat Diagn, 2015, 35(8): 816-822.

[10] ERIC W, ANNETTE B, CRAIG S, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma[J]. Prenat Diagn, 2013, 33(7): 662-666.

[11] HOU Y, YANG J, QI Y, et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction; statistical analysis of 13 661 maternal plasmas for non-invasive prenatal screening[J]. Human Genomics, 2019, 13(1): 62.

[12] MARICELA H, VORA NL, SUBHABRATA B, et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell free DNA into systemic circulation of obese women[J]. Obesity, 2012, 20(11): 2213-2219.

[13] EUGENE P, HOWARD C, BERNHARD Z, et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort[J]. Obstet Gynecol, 2014, 124(1): 210-218.

[14] WILLEMS P J, DIERICKX H, VANDENAKKER E, et al. The first 3 000 Non-Invasive Prenatal Tests (NIPT) with the Harmony test in Belgium and the Netherlands[J]. Facts Views Vision Obgyn, 2014, 6(1): 7-12.

[15] GREGG A R, SKOTKO B G, BENKENDORF J L, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics[J]. Genet Med, 2016, 18(10): 1056-1065.

[16] WILSON R D. Committee Opinion No. 640: cell-free DNA screening for fetal aneuploidy[J]. Obstet Gynecol, 2015, 126(3): 31-37.

(收稿日期:2020-06-12 修回日期:2020-08-30)

(上接第 145 页)

response genes in clinical phases of chronic hepatitis B infection[J]. J Viral Hepat, 2017, 24(9): 776-788.

[12] 林孟新, 苏智军, 郭如意. 乙型肝炎患者血清免疫球蛋白和补体 C3/C4 检测的意义[J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18(2): 182-183.

[13] 祁冬冬. 乙型肝炎患者血清免疫球蛋白水平的变化及其临床意义[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2017, 6(4): 703-704.

[14] 邱厚兵, 王春燕, 彭胡, 等. 血清补体 C3、C4 在慢性乙型肝炎病变程度判断中的应用价值分析[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(1): 100-102.

[15] WANG G, LIU Y, HUANG R, et al. Characteristics of regulatory B cells in patients with chronic hepatitis B virus infection in different immune phases[J]. Discov Med, 2017, 23(128): 295-304.

[16] 练明建, 王前明, 曾秀雅, 等. 肝硬化患者自身抗体检测的临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(23): 84-86.

[17] 吴迪, 黄达, 宁琴. 慢性乙型肝炎临床治愈新策略: 病毒抑制联合免疫调节及其路线图[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(5): 14-20.

(收稿日期:2020-05-25 修回日期:2020-08-29)