

· 论 著 ·

# 羊水细胞染色体核型分析联合基因组拷贝数变异 测序技术在产前诊断中的应用\*

张素华, 徐月新, 傅丹<sup>△</sup>

江苏省苏北人民医院产前诊断中心, 江苏扬州 225001

**摘要:**目的 探讨羊水细胞染色体核型分析和基因组拷贝数变异测序(CNV-Seq)技术在产前诊断中联合应用的潜力。方法 316 例孕妇根据产前诊断指征进行羊水穿刺, 同时进行羊水细胞染色体核型分析及 CNV-Seq 检测。结果 两种方法联合检测共发现 49 例异常, 占受检总人数的 15.51%; 其中两种方法同时发现异常 16 例, 染色体核型分析结果异常而 CNV-Seq 未检出异常的有 8 例(主要是平衡易位); CNV-Seq 检测结果异常而染色体核型分析结果正常 25 例。结论 染色体核型分析和 CNV-Seq 检测在产前诊断中各有优缺点, 二者结合可以更科学、合理地指导妊娠, 避免先天缺陷儿的出生。

**关键词:**染色体核型分析; 下一代测序; 拷贝数变异; 产前诊断; 遗传咨询

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.004 **中图法分类号:**R446.9

**文章编号:**1673-4130(2021)10-1166-06

**文献标志码:**A

## Application karyotype analysis and genome copy number variation sequencing of amniotic fluid cell in prenatal diagnosis\*

ZHANG Suhua, XU Yuexin, FU Dan<sup>△</sup>

Department of Prenatal Diagnosis, Subei People's Hospital of Jiangsu  
Province, Yangzhou, Jiangsu 225001, China

**Abstract: Objective** To explore the potential of combined application of amniotic fluid cell karyotype analysis and genome copy number variation sequencing (CNV-Seq) in prenatal diagnosis. **Methods** A total of 316 pregnant women were offered amniocentesis according to the puncture indications. The amniotic fluid was routinely punctured, amniotic fluid was collected and used for karyotype analysis and CNV-Seq. **Results** A total of 49 abnormal cases were detected with abnormal results by the two methods, accounting for 15.51% of the total number of people examined. Among them, 16 cases were found to be abnormal by both methods, there were 8 cases (mainly balanced translocation) with abnormal karyotype results but not detected by CNV-Seq, there were 25 cases with abnormal CNV-Seq results and normal karyotype results. **Conclusion** Karyotype analysis and CNV-Seq have their own advantages and disadvantages in prenatal diagnosis. The combination of the two methods could guide pregnancy more scientifically and reasonably, which prevent the birth defects.

**Key words:** karyotype analysis; next generation sequencing; copy number variation; prenatal diagnosis; genetic counseling

羊水细胞染色体核型分析技术是诊断胎儿染色体异常的金标准,但其检测周期长、分辨率较低,无法检出 5 Mb 以下的基因组拷贝数变异(CNVs)。染色体微阵列分析(CMA)为目前主要用于全基因组范围 CNVs 检测的技术<sup>[1]</sup>。然而,该技术成本较高,通量较低,实验程序较复杂,因此限制了其在产前诊断中的大规模使用。而且 CMA 探针覆盖范围有限,导致一

部分致病性 CNVs 可能无法被检出<sup>[2-3]</sup>。下一代测序(NGS)技术的出现,使得 CNVs 的检测范围更广、通量更大、费用更低,报告周期更短,而且所需 DNA 量更少,临床适用性更强<sup>[4-6]</sup>。虽然国内外学者对基因组拷贝数变异测序(CNV-Seq)技术做了一些临床应用探讨<sup>[7-9]</sup>,但国内对染色体核型分析联合 CNV-Seq 技术的临床应用报道尚不多见。因此,本研究选取了

\* 基金项目:江苏省妇幼保健科研项目(F201944)。

作者简介:张素华,女,副主任技师,主要从事临床产前筛查及产前诊断等研究。△ 通信作者,E-mail:15651057398@163.com。

本文引用格式:张素华,徐月新,傅丹.羊水细胞染色体核型分析联合基因组拷贝数变异测序技术在产前诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2021,42(10):1166-1170.

2017—2019 年在本院进行产前诊断,并选择两种技术联合检测的 316 例病例进行回顾性分析,以探讨羊水细胞染色体核型分析联合 CNV-Seq 技术在临床中的应用价值,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2017 年 1 月至 2019 年 12 月到本院产前诊断中心就诊的具备高危指征的单胎妊娠且接受羊膜腔穿刺的孕妇共计 316 例,年龄 15~48 岁,中位年龄 30 岁;高龄组 ( $\geq 35$  岁) 87 例 (27.53%), 低龄组 ( $< 35$  岁) 229 例 (72.47%); 孕周 17~29 周。产前诊断指征主要包括高龄 ( $\geq 35$  岁)、产前筛查高风险、不良孕产史 (包括胚胎停育、死胎、流产、胎儿畸形等非正常妊娠情况)、B 超指标异常 (包括结构畸形及软指标异常)、高通量测序无创产前筛查 (NIPS) 提示高风险、染色体异常携带者、孕妇本人智力落后、孕早期接触有毒物质、妊娠合并其他疾病等。所有接受羊水穿刺的孕妇及家属均被充分告知羊水细胞染色体核型分析及 CNVs-Seq 的临床意义、穿刺的风险、注意事项,在知情同意及自愿选择的情况下签署两份知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** GSL120 全自动染色体核型扫描分析系统仪购自德国徕卡公司; Illumina NextSeq500 平台购自美国 Illumina 公司; Thermo Forma CO<sub>2</sub> 培养箱购自美国 Thermo Fisher 公司; 羊水培养基购自广州白云山拜迪生物医药有限公司和碧艾生物科技有限公司; 秋水仙素购自美国 Sigma 公司; 吉姆萨染液购自上海乐辰生物科技有限公司; 枸橼酸三钠、三羟甲基氨基甲烷、冰醋酸 (分析纯 AR)、甲醇 (分析纯 AR) 均购自国药集团; 胰蛋白酶购自美国 Amresco 公司; 基因组 DNA 抽提试剂盒购自德国 QIAGEN 公司; 测序反应通用试剂盒购自杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 羊水细胞染色体核型分析** 抽取羊水标本后进行细胞培养及中期染色体制备, G 显带后, 每份标本至少计数 20 个分裂相, 至少分析 5 个核型, 至少达

到 320 条带水平, 按照人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN2009)<sup>[10]</sup> 标准对孕妇染色体命名, 如有异常加倍计数和分析。

**1.3.2 CNV-Seq** (1) 标本采集、DNA 提取、文库构建及测序: 通过羊膜穿刺术获取胎儿羊水标本 5 mL, 通过短串联重复序列 (STR) 排除母血污染, 然后按照基因组 DNA 抽提试剂盒的说明书提取胎儿 DNA, 将 50 ng 基因组 DNA 经过随机消化, 末端补平, 连接接头; 通过聚合酶链反应 (PCR) 进行富集、磁珠纯化后得到 DNA 文库, 最后在 Illumina NextSeq500 平台上对 DNA 文库进行测序, 采用 FASTQ 数据质控; 检测分析非整倍体及全基因组范围 CNVs。(2) 数据判读: 采用 ChAS2.0 软件, 选取长度  $\geq 100$  kb 缺失/重复片段 (可信度  $\geq 90\%$ ) 进行分析。根据 CNVs 的性质不同, 将其分为致病性、可能致病性、致病性未知 (意义未明)、可能良性及良性 CNVs 5 类<sup>[11]</sup>。为了临床数据分析的需要, 本研究只对前 3 类 CNVs 进行分析<sup>[12]</sup>。数据分析参照在线公共数据库, 如 OMIM、DGV、DECIPHER 等, 并查阅相关文献进行 CNVs 的判读。

## 2 结果

本研究中 316 例孕妇同时进行羊水细胞染色体核型分析和 CNV-Seq 检测, 结果发现, 两种方法联合检测共发现 49 例异常, 占受检人数的 15.51%; 其中两种方法同时发现异常共 16 例, 结果见表 1; 羊水细胞染色体核型分析结果异常而 CNV-Seq 未检出异常的有 8 例 (主要是平衡易位, 结果未显示); 胎儿 CNV-Seq 检测结果异常而染色体核型分析结果正常 25 例, 结果见表 2。羊水细胞染色体核型分析结果异常 24 例, 占受检总人数的 7.59%, 包括染色体数目异常 13 例, 结构异常 11 例, 结构异常中包括平衡易位 8 例, 非平衡易位 3 例; CNV-Seq 检测结果异常 41 例, 占受检总人数的 12.97%, 包括染色体数目异常 13 例, 结构异常 28 例, 结构异常包括致病性 CNVs 10 例, 可能致病性 CNVs 7 例, 致病性未知 CNVs 11 例。

表 1 16 例羊水细胞染色体核型分析及 CNV-Seq 检测均异常结果

编号	产前诊断指征	染色体核型分析	CNV-Seq 检测		报告分类	胎儿临床转归
			变异区带	变异类型		
1	胎儿先天性心脏病(心内膜垫缺损)	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
2	NIPS 21 三体高风险	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
3	NT 4.6 mm,NIPS 21 三体高风险 1/35	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
4	NT 3.3~3.5 mm,NIPS 21 三体高风险	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
5	超声提示胎儿先天性心脏病可能	46,XN,rob(21;21)(q10;q10)	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
6	NT 5.0 mm,NIPS 21 三体高风险	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产
7	NIPS 21 三体高风险 1/75	47,XN,+21	21q11.2q22.3	提示 21 三体	致病性	引产

续表 1 16 例羊水细胞染色体核型分析及 CNV-Seq 检测均异常结果

编号	产前诊断指征	染色体核型分析	CNV-Seq 检测		报告分类	胎儿临床转归
			变异区带	变异类型		
8	NT 4.3 mm	47,XN,+21	21q11. 2q22. 3	提示 21 三体	致病性	引产
9	NIPS 21 三体高风险 1/193,既往一胎脑积水引产	47,XN,+21	21q11. 2q22. 3	提示 21 三体	致病性	引产
10	NT 3.8 mm	47,XN,+21	21q11. 2q22. 3	提示 21 三体	致病性	引产
11	NIPS 18 三体高风险	47,XN,+18	18p11. 32q23	提示 18 三体	致病性	引产
12	NT 3.8 mm	45,XN,rob(14;21)(q10;q10)?	21q21. 1q22. 3	重复 27. 68 Mb, 21 三体	致病性	引产
13	NT 3. 1~3. 4 mm	47,XY,Y	Yp11. 32q12	Y 染色体重复, 47,XY,Y	致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
14	NIPS 21 三体高风险 1/90	47,XY,+mar?	Yp11. 32q12	Y 染色体重复, 47,XY,Y	致病性	引产
15	胎儿先天性心脏病(右室双出口,室缺), 胎儿父亲染色体平衡易位	46,XN,add(4)(q35)?	16q21q24. 3	重复 27. 18 Mb	致病性	引产
16	NIPS 胎儿其他染色体异常可能(8 号)	46,XN,der(12)t(8;12)(q22; q24. 1)	8q22. 1q24. 3	重复 48. 5 Mb	致病性	引产

表 2 25 例羊水细胞染色体核型分析正常及 CNV-Seq 检测异常结果

编号	产前诊断指征	染色体核型分析	CNV-Seq 检测		报告分类	胎儿临床转归
			变异区带	变异类型		
17	胎儿先天性心脏病	46,XN	22q11. 2	缺失 2. 94 Mb, DiGeorge 综合征	致病性	引产
18	NIPS 21 三体高风险 1/61	46,XN	5p15. 33p15. 1 7q34q36. 3	缺失 17. 92 Mb, 猫叫综合征 重复 17. 76 Mb	致病性 致病性	引产
19	孕妇本人小脑发育不全?	46,XN	1p36. 33p36. 32	缺失 1. 92 Mb, 1p36 微缺失综合征	致病性	引产
20	NIPS 21 三体高风险 1/68	46,XN	8p23. 3p23. 1	缺失 6. 78 Mb	致病性	引产
21	NIPS 21 三体高风险 1/158	46,XN	17p12	缺失 1. 32 Mb, 遗传性压迫易感性神经病综合征	致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
22	B 超提示胎儿一侧侧脑室增宽 12 mm	46,XN	16p13. 3	缺失 111 kb	致病性, 缺失为母源性遗传	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
23	前一胎先天性心脏病引产(主动脉缩窄)	46,XN	22q11. 21	缺失 1. 08 Mb, DiGeorge 综合征	致病性, 缺失为母源性遗传	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
24	高龄	46,XN	Xp22. 31	重复 1. 68 Mb	可能致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
25	NIPS 21 三体高风险 1/34	46,XN	16p13. 11	重复 1. 62 Mb	可能致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
26	既往生育一女 15 号染色体微缺失	46,XN	Xp22. 31	重复 1. 60 Mb	可能致病性	引产
27	妊娠合并糖尿病, 错过产筛时间	46,XN	Xp22. 31	重复 1. 70 Mb	可能致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
28	高龄, NIPS 21 临界风险	46,XN	Xp22. 31	重复 1. 72 Mb	可能致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
29	高龄	46,XN	Xp22. 31	重复 1. 70 Mb	可能致病性	告知风险, 保留胎儿, 随访健康

续表 2 25 例羊水细胞染色体核型分析正常及 CNV-Seq 检测异常结果

编号	产前诊断指征	染色体核型分析	CNV-Seq 检测		报告分类	胎儿临床转归
			变异区带	变异类型		
30	NT 增厚, 5.0 mm	46, XN	Xp22. 31p22. 2	缺失 2.54 Mb	可能致病性	唇裂, 胸腔积液, 引产
31	近亲婚配(女方外祖父与男方祖母为亲兄妹)	46, XN	Xq27. 2	微重复 0.42 Mb	致病性未知, 微重复为母源性遗传	失访
32	双胎之一腹腔内囊性包块	46, XN	10q23. 1	微重复 0.92 Mb	致病性未知	无囊肿, 出生有窒息
33	胎儿肾积水	46, XN	6p12. 3	微重复 0.72 Mb, 且为 6p12. 3, 部分四体重复	致病性未知	死胎, 超声检查发现胎儿肾积水增加至 22 mm
34	NIPS 21 三体高风险 1/339	46, XN	3p14. 1	重复 1.04 Mb	致病性未知	
35	超声提示胎儿颈部水囊瘤	46, XN	14q24. 2	重复 1.74 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
36	NIPS 提示染色体异常高风险	46, XN	18p11. 32	重复 1.60 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
37	NIPS 21 三体高风险 1/467, 既往一孩不明原因夭折	46, XN	7p11. 2q11. 21	重复 7.0 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
			15q13. 2q13. 3	重复 2.5 Mb	致病性未知	
38	高龄	46, XN	dup (21) (q21. 1q21. 3)	重复 6.84 Mb, 嵌合比例约 30%	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
39	前胎发育迟缓	46, XN	6q12	缺失 1.20 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
40	B 超提示胎儿鼻骨缺失	46, XN	Xq27. 3	微缺失 0.26 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康
41	超声提示胎儿颈部水囊瘤	46, XN	6q16. 3	微重复 0.42 Mb	致病性未知	告知风险, 保留胎儿, 随访健康

### 3 讨 论

胎儿染色体数目或结构异常是导致胎儿畸形、流产、死胎及新生儿死亡的主要原因, 传统细胞遗传学分析难以发现染色体亚显微结构改变, 即 CNVs。目前为止, 已明确由 CNVs 所致的染色体微缺失及微重复综合征已达 300 余种<sup>[13-14]</sup>, 综合发病率约为 1/600<sup>[13]</sup>, 占染色体畸变所致出生缺陷的一半<sup>[15]</sup>。有研究表明, 核型分析正常但超声提示结构异常的胎儿中, 有 6%~7% 存在明确致病或可能致病的 CNVs<sup>[16-18]</sup>。

本研究对 316 例孕妇进行羊水细胞染色体核型分析和 CNV-Seq 检测, 结果发现, 两种方法联合检测共发现 49 例异常, 占受检总人数的 15.51%。染色体核型分析结果异常的有 24 例, 占受检总人数的 7.59%, CNV-Seq 检测结果异常的有 41 例, 占受检总人数的 12.97%, 该技术对致病或可能致病的染色体异常的检出率为 9.49% (30/316), 与染色体核型分析技术相比, 提高了 1.90% 的异常检出率, 与其他研究报道结果相似<sup>[8, 11-12]</sup>。

CNV-Seq 技术可以检测出所有的染色体非整倍体异常, 如 21 三体、18 三体、性染色体异常, 并且对于

核型分析无法判断染色体来源的异常片段能更精准地定位, 对临床遗传咨询及胎儿的去留提供更有力的依据, 如本研究中的 12、14、15 及 16 号孕妇的胎儿。12 号孕妇的胎儿有一条非正常的 21 号染色体, 且 14 号染色体发生了罗伯逊易位, 经 CNV-Seq 检测分析, 发现为 21 号染色体大片段重复, 符合 21 三体的诊断; 14 号孕妇的胎儿染色体核型分析见 mar, 但不能断定是 Y 染色体, CNV-Seq 检测提示为 Y 染色体, 临床诊断为 47, XYY; 15 号孕妇的胎儿父亲存在着 4 号与 16 号的染色体平衡易位, 所以胎儿染色体中发生了不平衡的易位, 16 号染色体和 4 号染色体分别发生了重复和缺失, 后经数据库查询所引起的临床表型和 B 超提示的胎儿先天性心脏病相符合, 提示为致病性 CNVs; 16 号孕妇 NIPS 提示胎儿其他染色体异常可能 (8 号), 经 CNV-Seq 检测, 提示 8 号染色体 q22. 1q24. 3 区段存在约 48.5 Mb 大小的拷贝数重复, 属于 8 号染色体长臂三体综合征, 临床表现包括身材矮小、特殊面容、隐睾等, 因此该拷贝数变异也是致病性 CNVs。本研究表 1 中的 16 例染色体核型分析及 CNV-Seq 检测均异常结果的胎儿, 只有 1 例 47,

XYY 的胎儿在家属知情同意后保留,其余胎儿家属知情同意后均选择引产。

CNV-Seq 能够发现染色体的微重复及微缺失。在羊水细胞染色体核型分析正常的标本中共发现了 7 例致病性 CNVs, 7 例可能致病性 CNVs, 11 例致病性未知的 CNVs。7 例致病性 CNVs 中 17、18 及 19 号孕妇胎儿的异常结果可以引起临床常见的 DiGeorge 综合征、猫叫综合征及 1p36 微缺失综合征, 值得一提的是 18 号孕妇胎儿, CNV-Seq 提示 5p15.33p15.1 缺失 17.92 Mb, 7q34q36.3 重复 17.76 Mb, 这么大片段的缺失和重复在核型中为什么没有明显地表现出来? 后来通过分析发现原来 5 号染色体短臂末端其实是 7q34q36.3 易位至此, 两个缺失和重复的片段很相似, 而两条 7 号染色体正常, 所以羊水细胞染色体核型没有发现异常。如果这例孕妇没有选择进行胎儿的 CNV-Seq 检测, 则很有可能导致猫叫综合征的患儿出生, 从而给家庭带来沉重的精神和经济压力。此外, 本研究还发现, 可能致病性及致病性未知的 CNVs 所占比例也很高, 这给临床遗传咨询工作带来了困难和挑战, 需要结合胎儿的其他检查结果及胎儿父母 CNVs 的溯源检测结果进行分析, 如果可能致病性及致病性未知的 CNVs 源自胎儿父母, 可能对孕妇的遗传咨询有所帮助<sup>[19]</sup>, 如果是新发的 CNVs, 根据美国医学遗传学与基因组学学会 (ACMG) 的建议则需要随访<sup>[20]</sup>。而对于大多数的国内孕妇, 由于 CNV-Seq 费用偏高, 一般拒绝做进一步的胎儿父母溯源检测, 如果没有特殊情况则选择保留胎儿。

CNV-Seq 技术不能检测染色体的平衡易位及倒位<sup>[11, 21]</sup>, 这类携带者出生后可能无异常临床表现, 成年后也有生育能力, 但因产生异常配子的可能性大, 反复发生流产, 且生育染色体异常患儿的风险也随之增加。这类携带者生育期可根据实际情况选择合适的生育方案, 例如自然妊娠后进行孕期产前诊断, 或者利用胚胎植入前遗传学诊断技术选择诊断正常的胚胎移植<sup>[7]</sup>。本研究中的 8 例染色体平衡易位未能被 CNV-Seq 技术检测出, 这也说明易位的过程中没有发生染色体的微缺失和微重复, 为胎儿的保留提供了有利的证据。此外, 若该异常染色体遗传来自临床表型正常的双亲, 则大部分胎儿表型仍可能为正常, 若为新发变异则可能破坏或打断原体内正常基因的表达活性, 导致疾病的发生, 因而需要结合超声及临床检测结果进行充分评估<sup>[22]</sup>。本研究中 8 例发生染色体平衡易位的胎儿均保留, 目前随访均未见异常表型。

综上所述, 羊水细胞染色体核型分析和 CNV-Seq 检测在产前诊断中各有优缺点, 遗传学产前诊断结果

的准确性依赖于分子遗传学的检测结果, 在不增加流产的风险下, CNV-Seq 检测能为传统的羊水细胞染色体核型分析技术提供有效的补充。两者联合检测, 能为孕妇提供更全面、更精准的产前诊断结果。

## 参考文献

- [1] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(8): 570-572.
- [2] HAYES J L, TZIKA A, THYGESEN H, et al. Diagnosis of copy number variation by Illumina next Generation sequencing is comparable in performance to oligonucleotide array comparative genomic hybridisation[J]. Genomics, 2013, 102(3): 174-181.
- [3] DONG Z, ZHANG J, HU P, et al. Low-pass whole-genome sequencing in clinical cytogenetics: a validated approach[J]. Genet Med, 2016, 18(9): 940-948.
- [4] WANG Y, CHEN Y, TIAN F, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing[J]. Clin Chem, 2014, 60(1): 251-259.
- [5] WANG Y Y. Two cases of placental T21 mosaicism: challenging the detection limits of non-invasive prenatal testing[J]. Prenat Diagn, 2013, 33(12): 1207-1210.
- [6] MAO J, WANG T, WANG B J, et al. Confined placental origin of the circulating cell free fetal DNA revealed by a discordant non-invasive prenatal test result in a trisomy 18 pregnancy[J]. Clin Chim Acta, 2014, 433: 190-193.
- [7] LIU S, SONG L, CRAM D S, et al. Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015, 46(4): 472-477.
- [8] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会, 中国优生科学协会基因诊断与精准医学分会. 拷贝数变异检测在产前诊断中的应用指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(9): 909-917.
- [9] ZHU X, LI J, RU T, et al. Identification of copy number variations associated with congenital heart disease by chromosomal microarray analysis and next-generation sequencing[J]. Prenat Diagn, 2016, 36(4): 321-327.
- [10] WILLATT L, MORGAN S M, SHAFFER L G, et al. ISCN 2009 an international system for human cytogenetic nomenclature[J]. Hum Genet, 2009, 126(4): 603-604.
- [11] 刘洪倩, 刘俊涛, 邬玲仟. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4): 293-296.
- [12] JING W, LIN C, CONG Z, et al. Prospective chromosome analysis of 3 429 amniocentesis samples in China using copy number variation sequencing[J]. Am J Obstet Gynecol, 2018, 219(3): 287. e1-287. e18. (下转第 1175 页)

• 论 著 •

# HBV 相关原发性肝癌患者外周血 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 的表达及意义\*

李 欢, 韩素桂<sup>△</sup>, 董宇曦

河北省唐山市人民医院检验科, 河北唐山 063001

**摘要:**目的 分析乙型肝炎病毒(HBV)相关原发性肝癌患者外周血巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、高尔基体糖蛋白 73(GP73)、维生素 K 缺乏或拮抗诱导的异常蛋白Ⅱ(VPIKA-Ⅱ)的水平及意义。方法 选取 2019 年 3 月至 2020 年 4 月该院收治的 72 例 HBV 相关原发性肝癌患者纳入 HBV 相关原发性肝癌组,同时选取于该院进行健康体检的 72 例志愿者纳入健康对照组,选取 72 例无 HBV 感染原发性肝癌患者作为无 HBV 感染原发性肝癌组。采用酶联免疫吸附试验检测 MIF、VPIKA-Ⅱ、GP73 水平。结果 HBV 相关原发性肝癌组 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 水平明显高于无 HBV 相关原发性肝癌组和健康对照组。HBV 相关原发性肝癌组中,有淋巴结转移患者 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 水平高于无淋巴结转移患者,Ⅲ~Ⅳ期患者 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 水平高于 I~II 期患者,肿瘤最大径>5 cm 患者 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 水平高于肿瘤最大径≤5 cm 患者,肿瘤数量>2 个患者 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 水平高于肿瘤数量≤2 个患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。MIF 与 GP73 呈正相关( $r=0.240, P=0.042$ ),MIF 与 VPIKA-Ⅱ 呈正相关( $r=0.368, P=0.002$ ),GP73 与 VPIKA-Ⅱ 呈正相关( $r=0.240, P=0.042$ )。结论 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 与 HBV 相关原发性肝癌患者有无淋巴结转移、TNM 分期、肿瘤最大径和肿瘤数量关系密切。

**关键词:**巨噬细胞移动抑制因子; 高尔基体糖蛋白 73; 维生素 K 缺乏或拮抗诱导的异常蛋白Ⅱ; 乙型肝炎病毒相关原发性肝癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.005

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2021)10-1171-05

文献标志码:A

## Expression and significance of peripheral blood MIF, GP73 and VPIKA-Ⅱ in HBV-associated primary liver cancer\*

LI Huan, HAN Sugui<sup>△</sup>, DONG Yuxi

Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Tangshan City, Tangshan, Hebei 063001, China

**Abstract: Objective** To analyze the levels and significance of macrophage migration inhibitory factor (MIF), golgi glycoprotein 73 (GP73) and abnormal protein induced by vitamin K deficiency or antagonistic induced abnormal protein Ⅱ (VPIKA-Ⅱ) of peripheral blood in hepatitis B virus (HBV) associated primary liver cancer patients. **Methods** A total of 72 patients with HBV-associated primary liver cancer admitted to People's Hospital of Tangshan City from March 2019 to April 2020 were enrolled in HBV-associated primary liver cancer group. At the same time, 72 healthy volunteers who underwent physical examination were selected as control group, and 72 primary liver cancer patients without HBV-infected were selected as non-HBV-associated primary liver cancer group. The levels of MIF, VPIKA-Ⅱ and GP73 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and GP73 was detected by immunohistochemistry. **Results** The levels of MIF, GP73 and VPIKA-Ⅱ in HBV-associated primary liver cancer group were higher than those in non-HBV-associated primary liver cancer group and control group, the levels of MIF, GP73 and VPIKA-Ⅱ in patients with lymph node metastasis were higher than those without lymph node metastasis, MIF, GP73, VPIKA-Ⅱ in patients with Ⅲ—Ⅳ stage were higher than those in patients with I—II stage, the levels of MIF, GP73 and VPIKA-

\* 基金项目:河北省 2017 年度医学科学研究重点课题(20171303)。

作者简介:李欢,女,主管技师,主要从事医学检验研究。△ 通信作者, E-mail:nlolro@163.com。

本文引用格式:李欢,韩素桂,董宇曦. HBV 相关原发性肝癌患者外周血 MIF、GP73、VPIKA-Ⅱ 的表达及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10): 1171-1175.

- ic reovirus as a combined antiviral and anti-tumour agent for the treatment of liver cancer[J]. *Gut*, 2018, 67(3): 562-573.
- [7] LIU Z, MAO X, JIANG Y F, et al. Changing trends in the disease burden of primary liver cancer caused by specific etiologies in China[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(12): 5787-5799.
- [8] LU B, ZHU L, WANG X, et al. Effects of radiofrequency ablation combined with transarterial chemoembolization and antiviral therapy on the prognosis and quality of Life in primary chronic HBV-related liver cancer[J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1979-1984.
- [9] LIU X L, HE L L, HAN J Y, et al. Association of neutrophil-lymphocyte ratio and T lymphocytes with the pathogenesis and progression of HBV-associated primary liver cancer[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0170605.
- [10] PETRICK J L, BRAUNLIN M, LAVERSANNE M, et al. International trends in liver cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1978—2007[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(7): 1534-1545.
- [11] 伍玉南, 张冬, 孙克伟. 鳖龙软肝汤联合经肝动脉化疗栓塞术治疗 HBV 相关原发性肝癌临床观察[J]. *临床肝胆病杂志*, 2017, 33(11): 2152-2157.
- [12] 李成德, 全毅, 蔡健梅, 等. HBV 相关原发性肝癌患者血清 B7-H3 与 IL-21 的表达及其临床意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(4): 569-575.
- [13] 董辉, 王晶, 杨艳娟, 等. 过表达 miR-451a 通过靶向巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)抑制 HepG2 细胞的增殖[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018, 34(12): 1091-1098.
- [14] PARK S, PARK J H, JUNG H J, et al. A secretome profile indicative of oleate-induced proliferation of HepG2 hepatocellular carcinoma cells[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(8): 93-98.
- [15] YOON K, KIM N, PARK Y, et al. Correlation between macrophage migration inhibitory factor and autophagy in *Helicobacter pylori*-associated gastric carcinogenesis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0211736.
- [16] 刘树旺, 黄晓璐, 彭公泽, 等. 肝癌腹腔镜肝切除的临床疗效及其对患者血清 MIF、免疫炎症因子水平的影响[J]. *肝胆胰外科杂志*, 2018, 30(3): 238-240.
- [17] 安晓刚, 马玉, 马娟, 等. 原发性肝癌血清甲胎蛋白和巨噬细胞移动抑制因子水平及其临床意义[J]. *宁夏医科大学学报*, 2017, 39(12): 1442-1444.
- [18] 和海玉, 路明亮, 黄华, 等. GP73 在慢性乙型肝炎、肝硬化、原发性肝癌血清及组织中的表达[J]. *昆明医科大学学报*, 2016, 37(4): 41-44.
- [19] 粟劲松, 丁佑铭. 联合 GGT、GP73、AFP 诊断早期原发性肝癌的价值[J]. *肝胆外科杂志*, 2019, 27(5): 352-355.
- [20] SUN J H, LUO Q, LIU L L, et al. Liver cancer stem cell markers: progression and therapeutic implications [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(13): 3547-3557.
- [21] LI L, WANG H. Heterogeneity of liver cancer and personalized therapy [J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(2): 191-197.

(收稿日期:2020-09-23 修回日期:2020-12-31)

(上接第 1170 页)

- [13] NEVADO J, MERGENER R, PALOMARES-BRALO M, et al. New microdeletion and microduplication syndromes; a comprehensive review [J]. *Genet Mol Biol*, 2014, 37(Suppl 1): S210-S219.
- [14] WEISE A, MRASEK K, KLEIN E, et al. Microdeletion and microduplication syndromes [J]. *J Histochem Cytochem*, 2012, 60: 346-358.
- [15] EVANS M I, RONALD J W, BERKOWITZ R L. Non-invasive prenatal screening or advanced diagnostic testing: caveat emptor [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215(3): 298-305.
- [16] WAPNER R B. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(23): 2175-2184.
- [17] JONATHAN L C, SHAFFER L G, CHITTY L S, et al. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature [J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(12): 1119-1123.
- [18] HILLMAN S C, MCMULLAN D J, HALL G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and Meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 41(6): 610-620.
- [19] NOWAKOWSKA B. Clinical interpretation of copy number variants in the human genome [J]. *J Appl Genet*, 2017, 58(4): 449-457.
- [20] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.
- [21] ZHAO X, FU L. Efficacy of copy-number variation sequencing technology in prenatal diagnosis [J]. *J Perinat Med*, 2019, 47(6): 651-655.
- [22] 杜满兴, 王伟佳, 苏年华, 等. 2018 例孕中期胎儿染色体核型分析结果回顾性分析 [J]. *检验医学*, 2016, 31(9): 778-781.

(收稿日期:2020-07-07 修回日期:2021-01-12)