

• 论 著 •

绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测在高危孕妇产前诊断中的价值

宋 冉¹,李继霞^{2△},何 琳¹,刘 丹¹,杨志峰¹,焦 颖¹
河北省保定市第二医院:1. 妇科;2. 产科,河北保定 071000

摘 要:目的 研究胎盘绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测在高危孕妇产前诊断中的价值。方法 将 2018 年 2 月至 2021 年 3 月于该院就诊的高危孕妇 120 例纳入研究作为高危组,其中唐氏综合征 26 例,东南亚缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称“地贫”)13 例,其他 α 地贫 19 例, β 41-42 杂合子型 β 地贫 12 例, β 654 杂合子型 β 地贫 15 例, β 28 杂合子型 β 地贫 11 例, β 17 杂合子型 β 地贫 9 例,其他 β 地贫 15 例。另外,选取正常妊娠的孕妇 120 例作为对照组。观察绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性;比较两组 miR-423 相对表达水平;分析绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的效能。结果 绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性较好;高危组 miR-423 相对表达水平低于对照组($t=78.691, P<0.001$);绒毛组织活检联合 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的特异度高于单独检测($P<0.05$);受试者工作特征曲线分析结果显示,绒毛组织活检联合 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的曲线下面积高于单独检测。结论 绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的效能较高。

关键词:绒毛组织; miR-423; 高危孕妇
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.08.021 **中图法分类号:**R446.11
文章编号:1673-4130(2022)08-0998-04 **文献标志码:**A

Value of villus biopsy combined with serum miR-423 detection in prenatal
diagnosis of high-risk pregnant women
SONG Ran¹, LI Jixia^{2△}, HE Lin¹, LIU Dan¹, YANG Zhifeng¹, JIAO Ying¹
1. Department of Gynecology; 2. Department of Obstetrics, Baoding Second
Hospital, Baoding, Hebei 071000, China

Abstract: **Objective** To investigate the value of villus biopsy combined with serum miR-423 detection in prenatal diagnosis of high-risk pregnant women. **Methods** A total of 120 high-risk pregnant women who were diagnosed and treated in our hospital from February 2018 to March 2021 were enrolled in the study as high-risk group, including 26 cases of Down's syndrome, 13 cases of α -thalassemia of Southeast Asian deletion, 19 cases of other α -thalassemia, 12 cases of β 41-42 heterozygote, 15 cases of β 654 heterozygote, 12 cases of β 41-42 heterozygote, 11 cases of β 28 heterozygote, 9 cases of β 17 heterozygote and 15 cases of other β -thalassemia. In addition, 120 women with normal pregnancy in the same period were enrolled as the control group. The diagnostic consistency between villus biopsy and clinical final diagnosis was observed; the serum miR-423 levels between the two groups were compared; the diagnostic efficacy of villus biopsy combined with serum miR-423 detection in prenatal diagnosis of high-risk pregnant women was investigated. **Results** There was a good consistency between villus biopsy and clinical final diagnosis. The serum miR-423 level in high-risk group was significantly lower than that in the control group ($t=78.691, P<0.001$). The specificity of villus biopsy combined with miR-423 level was significantly higher than those of single detections. ROC curve analysis showed that the area under the curve of villus biopsy combined with miR-423 level detection in the diagnosis of high-risk pregnant women was significantly higher than those of single detection. **Conclusion** Villus biopsy combined with serum miR-423 detection is highly effective in prenatal diagnosis of high-risk pregnant women.

Key words: villus biopsy; miR-423; high-risk pregnant women

作者简介:宋冉,女,主治医师,主要从事临床肿瘤学的相关研究。△ 通信作者, E-mail: coldstar1015@126.com。
本文引用格式:宋冉,李继霞,何琳,等. 绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测在高危孕妇产前诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43 (8): 998-1001.

孕妇染色体异常是造成胎儿早产、流产及死胎的重要因素,在孕期进行染色体检查对于优生优育具有重要价值^[1]。流行病学调查显示^[2],我国的出生缺陷新生儿比例可达到 4%~6%。所以,通过产前诊断可以提升人口质量,产前诊断的方法是临床研究的热点之一。目前,国内对于高危孕妇的确诊主要依靠中孕期及孕晚期进行羊水穿刺或者脐带穿刺来获取标本并进行检测^[3]。但是,这种方法对于早期异常情况检出的灵敏度较差,同时可能会对孕晚期孕妇的心理造成影响^[4]。胎盘绒毛组织活检主要是对孕周为 11~13 周的孕妇进行产前诊断^[5],对于重型珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称“地贫”)及常见的染色体疾病可做到产前诊断,以便及早干预,减少孕妇中晚期的并发症。微小核苷酸(miRNA)主要存在于机体的真核细胞中,母体血清 miR-423 对于神经管缺陷的诊断具有明确价值^[6]。本研究将绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测用于高危孕妇的产前诊断,旨在为临床诊断提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2018 年 2 月至 2021 年 3 月于本院诊治的高危孕妇共 120 例纳入研究作为高危组,年龄 25~36 岁、平均(29.57±2.09)岁,体质指数为(25.25±2.18)kg/m²,孕周为(12.09±0.89)周,其中唐氏综合征 26 例,东南亚缺失型 α 地贫 13 例,其他 α 地贫 19 例,β41-42 杂合子型 β 地贫 12 例,β654 杂合子型 β 地贫 15 例,β28 杂合子型 β 地贫 11 例,β17 杂合子型 β 地贫 9 例,其他 β 地贫 15 例。另外,选取同期正常妊娠的孕妇 120 例作为对照组。两组年龄、孕周、体质指数等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有纳入研究者均签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会审批通过(伦理批号为 20180201)。纳入标准:(1)年龄在 40 岁以下;(2)孕周为 11~13 周。排除标准:(1)有唐氏综合征生育史者;(2)妊娠期糖尿病患者;(3)自身免疫性疾病患者;(4)有长期不良嗜好者,包括吸毒、酗酒等。

1.2 方法 在超声引导作用下,嘱受检孕妇膀胱充盈,使用绒毛组织活检针经宫颈进入胎盘内,使用负压注射器进行绒毛组织吸取。在无菌条件下,使用无菌生理盐水对受检孕妇的绒毛组织进行洗净,对红细胞及虹膜组织进行清除后,在倒置的显微镜下进行观察,确认留下的组织仅为绒毛组织。然后,将绒毛组织使用无菌剪刀进行剪碎后,加入到培养瓶中进行培养,培养环境条件设定为温度 37℃,二氧化碳浓度设定为 5.5%,培养时间设定为 10 h,在培养结束后,在瓶壁上发现 5 团以上的大克隆既可以收获细胞。在收获的细胞中加入秋水仙素后继续进行培养,培养时

间设定为 4~6 h,在常规状态下对以上组织进行 G 显带,每位受检者的计数为 30 个分裂相,至少对受检者的 5 个核型进行分析,在检测过程中,如果出现嵌合体则需要扩大计数。随后对绒毛组织的 DNA 进行提取,然后进行 DNA 诊断。

血清 miR-423 检测:所有研究对象均在入组后采集血液 4 mL,3 000 r/min 离心 10 min 取上清液,将样品立即置于无 DNA 酶和 RNA 酶的灭菌采血真空管内,将所得样品在离心(3 000 r/min,20 min)后,按照 Trizol 试剂(上海联硕生物科技有限公司)说明书提取血清总 RNA,以 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTGCACTGGATACGACTTCAGTT-3'为引物,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)进行检测。检测前使用紫外分光光度计进行 miR-423 浓度和纯度的测定。

1.3 观察项目 (1)绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性。(2)两组血清 miR-423 水平。(3)联合检测的效能:采用受试者工作特征(ROC)曲线来分析绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的效能。灵敏度=100%×真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数),特异度=100%×真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数),符合率=100%×(真阳性例数+真阴性例数)/总例数,阳性预测值=100%×真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数),阴性预测值=100%×真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用例数或百分率表示,一致性分析采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性 绒毛组织活检对于唐氏综合征、东南亚缺失型 α 地贫、其他 α 地贫、β41-42 杂合子型 β 地贫、β654 杂合子型 β 地贫、β28 杂合子型 β 地贫、β17 杂合子型 β 地贫、其他 β 地贫、无异常的诊断与临床最终诊断结果的一致性较好,见表 1。

2.2 两组患者的血清 miR-423 水平比较 高危组血清 miR-423 相对表达水平低于对照组(0.55 ± 0.18 vs. 2.28 ± 0.16 , $t=78.691$, $P<0.001$)。

2.3 联合诊断效能分析 绒毛组织活检联合 miR-423 检测联合用于高危孕妇产前诊断的特异度高于单独检测($P<0.05$),见表 2。

2.4 ROC 曲线分析 ROC 曲线分析显示,绒毛组织活检联合 miR-423 检测用于高危孕妇产前诊断的曲线下面积大于单独检测,见表 3。

表 1 绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性观察 (n)

绒毛组织活检	唐氏综合征	其他 α 地贫	其他 β 地贫	东南亚缺失型 α 地贫	β41-42 杂合子型 β 地贫	β654 杂合子型 β 地贫	β28 杂合子型 β 地贫	β17 杂合子型 β 地贫
唐氏综合征	22	0	0	0	0	0	1	0
其他 α 地贫	1	17	1	0	0	0	0	0
其他 β 地贫	0	0	11	0	0	0	0	0
东南亚缺失型 α 地贫	1	0	1	12	0	0	0	0
β41-42 杂合子型 β 地贫	1	0	1	1	9	1	0	0
β654 杂合子型 β 地贫	0	1	1	0	1	12	0	0
β28 杂合子型 β 地贫	1	0	0	0	1	1	10	0
β17 杂合子型 β 地贫	0	0	0	0	1	0	0	9
无异常	0	1	0	0	0	1	0	0

表 2 联合诊断效能分析

诊断方法	真阳性 (n)	假阳性 (n)	真阴性 (n)	假阴性 (n)	准确度 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
绒毛组织活检	118	28	92	2	87.50	98.33	43.81	80.82	97.87
miR-423 检测	110	22	98	10	86.67	91.67	47.12	83.33	90.74
联合检测	105	5	115	15	91.67	87.50	52.27	95.45	88.46

表 3 ROC 曲线分析

诊断方法	标准误	AUC	AUC(95%CI)	P
绒毛组织活检	11.231	0.775	0.520~0.872	0.017
miR-423 检测	9.252	0.603	0.600~0.746	<0.001
联合检测	10.263	0.892	0.654~0.912	<0.001

3 讨 论

产前诊断对于高危孕妇具有重要意义^[7], 决定了是否会对胎儿进行干预。目前受到产前诊断设备及实验技术的限制, 国内用于胎儿产前诊断的技术较为滞后^[8]。在对患者早孕期绒毛组织的取材中, 由于取材的绒毛组织较少, 而且受到母体其他组织污染的可能性较高, 术后并发症发生的风险较高, 各个机构对于绒毛组织的培养及染色体制备开展得不够, 这导致胎儿的遗传性诊断存在一定不足。所以, 在对高危孕妇的诊断中, 及时有效地通过和其他指标的联合使用以提升诊断效能^[9]。在对孕妇绒毛组织进行取材的过程中, 有可能会 导致宫内感染、阴道出血及流产等。在诊断能力较高的产前诊断中心, 通常在早孕期(孕 11~13 周)对患者进行绒毛组织的取材, 导致胎儿流产概率与既往的羊膜腔穿刺相当; 而在对孕 10 周的孕妇进行绒毛组织取材时, 胎儿发生横向肢体短缺畸形的风险为 1%~3%^[10], 同时下颌肢体发育不良的风险显著升高; 在孕 11~13 周进行绒毛组织的取材, 相对安全^[11]。所以本研究选择在孕 11~13 周对孕妇进行绒毛组织取材。在实际的检测过程中, 首先在 B

超的引导作用下, 对孕妇进行绒毛组织进行采集, 一方面可以避免引起胎儿的肢体发育障碍, 同时孕 11 周的绒毛组织较为丰富, 有助于 B 超下进行穿刺^[12]。笔者发现在对患者绒毛组织进行取材过程中, 在子宫前壁更容易到绒毛组织, 但是当患者的子宫过度倾/ 届时则存在一定的难度^[13]。所以在实际的取材过程中, 及时对患者的腹部进行加压, 同时嘱患者进行膀胱充盈, 必要时通过手法对子宫位置进行调整, 有助于提升绒毛组织取材的成功率^[14]。

本研究结果显示, 绒毛组织活检与临床最终诊断结果的一致性较好, 但是仍存在一定的差异, 所以在产前诊断过程中, 可以联合其他指标, 提升诊断效能。已有的研究报道显示^[15], 孕妇血清中的 miRNA 主要是来自于造血细胞, 与妊娠密切相关, 同时 miRNA 的稳定性较好, 其检测便于在临床开展。所以, 探讨血清 miR-423 检测在产前诊断中的应用, 对于高危孕妇的产前诊断具有重要意义。有研究报道, 产后母体血清 miRNA 会被快速清除, 所以孕妇血清 miRNA 的检测有望成为高危孕妇诊断的重要依据。有研究发现, 在神经管缺陷胎儿的母体血清中 miR-423 水平呈显著下降^[6]。在本研究中, 通过对研究对象进行绒毛组织活检和 miR-423 水平的联合检测, 提升了产前诊断的效能。但是本研究还存在一定的局限性, 例如纳入本研究的样本量较小, 还有待进一步地扩大样本量进行验证。

综上所述, 绒毛组织活检联合血清 miR-423 检测

在高危孕妇产前诊断中的效能较高。

参考文献

- [1] 佟玉龙,潘虹,卫凯平,等. 985 例早孕期绒毛活检样本的遗传学结果分析[J]. 中华围产医学杂志, 2020, 23(1): 2-7.
- [2] 史珊珊,查庆兵,施资坚,等. 产前绒毛染色体核型分析为假阴性的 13 三体胎儿的遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(8): 839-842.
- [3] 刘妍,山丹,杨怡珂,等. 探讨 NT 增厚经腹行绒毛活检的适应证-附 30 例临床病例分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2018, 19(1): 75-76.
- [4] 龙喜贵,覃婷,莫伟英,等. 1 875 例孕妇产前遗传学诊断结果与产前诊断指征分析[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(10): 1630-1634.
- [5] 杨微微,任晨春,王文靖,等. 13 042 例孕妇早期产前筛查的研究分析[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(3): 179-181.
- [6] SILJEE J E, KNEGT A C, KNAPEN M F, et al. Positive predictive values for detection of trisomies 21, 18 and 13 and termination of pregnancy rates after referral for advanced maternal age, first trimester combined test or ultrasound abnormalities in a national screening programme (2007-2009)[J]. Prenat Diagn, 2014, 34(3): 259-264.
- [7] 李娜,崔玉兰. 从孕妇外周血分选胎儿细胞行无创性产前诊断的研究[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(11): 2056-2057.
- [8] 唐卉,卢建,刘玲,等. 可疑复发性胎儿 Beckwith-Wiedemann 综合征产前诊断一例并文献复习[J]. 中华围产医

学杂志, 2021, 24(4): 283-287.

- [9] 代鹏,赵干业,王晓锋,等. 无创产前诊断 EDA 基因突变致外胚层发育不良一例[J]. 中华围产医学杂志, 2020, 23(7): 456-459.
- [10] 佟玉龙,潘虹,卫凯平,等. 20 486 例产前诊断样本中额外小标记染色体的核型结果分析[J]. 中华围产医学杂志, 2019, 22(5): 303-309.
- [11] 胡仲任,陈敏,赖峥菲,等. 无创 DNA 检测在单项超声软指标异常中的应用价值[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(9): 2014-2017.
- [12] 王挺,黄华梅,胡晶晶,等. 染色体核型分析联合超声检查对胎儿颈部淋巴水囊瘤预后评估[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(4): 794-796.
- [13] INBAR-FEIGENBERG M, BLASER S, HAWKINS C, et al. Mitochondrial POLG related disorder presenting prenatally with fetal cerebellar growth arrest[J]. Metab Brain Dis, 2018, 33(4): 1369-1373.
- [14] BAKKER M, BIRNIE E, ROBLES DE MEDINA P, et al. Total pregnancy loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: a cohort study[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017, 49(5): 599-606.
- [15] KANCHERLA V, RAISANEN S, GISSLER M, et al. Placenta previa and risk of major congenital malformations among singleton births in Finland[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2015, 103(6): 527-535.

(收稿日期: 2021-08-18 修回日期: 2022-03-30)

(上接第 997 页)

- [2] 邱敏珊,尹海燕. 输血相关性急性肺损伤 1 例[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(7): 764-766.
- [3] 杜红梅,李淑红,吴松远. 输血相关性急性肺损伤回顾性调查分析: 附 2 例报告[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(4): 395-397.
- [4] 张海云,韩伟东,刘海梅,等. microRNA-1285-3p 在脓毒症急性肺损伤中的表达及其与炎症因子水平的相关性[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(8): 683-689.
- [5] 王贵强,林新梅,杨盛泉,等. 大量输血前后血清凝液糖链抗原-6 的变化及其临床价值[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(6): 888-892.
- [6] 王秋实,杨巧妮,林强. 成人手术患者输血相关呼吸系统不良反应调查分析[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(12): 1345-1349.
- [7] 周鹏,王文萍,覃景. 上饶市区 3 年内输血不良反应的回顾分析[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(1): 67-69.
- [8] 林强,王秋实,徐昕,等. 骨科患者输血不良反应的临床研究[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(6): 617-620.
- [9] PENAJOSEPH J, BOTTIGERBRANDI A, MILTIADISANDREA N. Perioperative management of bleeding and transfusion for lung transplantation[J]. Semin Cardiothorac Vasc Anesth, 2020, 24(1): 74-83.

- [10] KULDANEK S A, KELHER M, SILLIMAN C C. Risk factors, management and prevention of transfusion-related acute lung injury: a comprehensive update[J]. Expert Rev Hematol, 2019, 12(9): 773-785.
- [11] CLIPPEL D D, EMONDS M P, COMPERNOLLE V. Are we underestimating reverse TRALI? [J]. Transfusion, 2019, 59(9): 2788-2793.
- [12] ROBERT S B, ROY B, BIN C, et al. The clinical and economic burden of patients with chronic liver disease and thrombocytopaenia receiving platelet transfusions during planned invasive procedures[J]. GastroHep, 2019, 1(5): 236-248.
- [13] SARAH V, JED G, DEBRA A K, et al. Ten years of TRALI mitigation: measuring our progress[J]. Transfusion, 2019, 59(8): 2567-2574.
- [14] 李保德,杨恒沛. 微量元素与红细胞对脑出血患者肺部感染的影响[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(8): 1214-1216.
- [15] SANGHAMITRA R, RAKESH G, DEEPTI J. Transfusion-related acute lung injury due to iatrogenic IVIG overdose in Guillain-Barre syndrome[J]. J Pediatr Neurosci, 2019, 14(3): 140-142.

(收稿日期: 2021-09-22 修回日期: 2022-02-28)