

# 唐氏综合征孕中期血清学筛查研究进展

吴莲

(海南现代妇婴医院产科, 海口 570206)

**[摘要]** 本文总结孕中期唐氏综合征筛查的各种血清学指标, 比较了各种筛查指标或组合指标的检出率、假阳性率, 总结了母体血液中胎儿游离 DNA 测序的方法及适用条件, 认为基因测序是目前产前无创筛查的最优方法。

**[关键词]** 唐氏综合征; 血清; 筛查

中图分类号: R714.1 文献标识码: A 文章编号: 2095-5200(2017)04-016-03

DOI: 10.11876/mimt201704007

我国是出生缺陷高发的国家之一<sup>[1-2]</sup>, 为降低先天性缺陷儿的出生比例, 必须采取有效的干预措施, 而产前筛查是干预措施的重要环节。唐氏综合征是染色体异常<sup>[3]</sup>导致的疾病, 发生率高, 占活产新生儿的 1/700 ~ 1/800<sup>[4-5]</sup>; 唐氏综合征患儿呈特殊面容, 嗜睡、喂养困难、智能低下、伴有先天性心脏病等畸形, 易患白血病, 生存率低, 且目前无有效治疗手段, 孕期通过各项技术手段筛查, 能够最大限度地减少该病患儿的出生, 提高人口素质。

1980年羊膜腔穿刺术最先用于唐氏综合征的筛查, 但是只有 30% 的患者可以被检测出来, 同时羊膜腔穿刺等侵入性操作可带流产风险, 因此针对唐氏综合征的产前筛查处于停滞状态。1993年  $\beta$  人绒毛膜促性腺激素 ( $\beta$ -HCG) 和甲胎蛋白 (AFP) 应用于孕中期孕妇的筛查<sup>[6-7]</sup>, 大大提高了唐氏综合征的检出率, 唐氏综合征患儿出生率从 70% 降低到 30%。妊娠相关血浆蛋白 A (PAPP-A) 作为胎盘合体滋养层和蜕膜细胞产生的一种特异性蛋白<sup>[8]</sup>, 产量随孕周的增长而增加<sup>[9]</sup>, 妊娠结束就很快从血清中消失, 因而自 1999 年成为筛查染色体数目异常的标记物之一<sup>[10]</sup>,  $\beta$ -HCG/AFP/PAPP-A 联合检测成为产前筛查的重要项目。2004 年游离雌三醇 (uE3)/Inhibin-A/AFP/ $\beta$ -HCG 四项血清检测指标应用于唐氏综合征, 临床检出率高达 92.9%<sup>[11-12]</sup>, 同时假阳性率明显降低。目前, Dennis 等<sup>[13]</sup> 人提出仅抽取母体血液, 提取母体血液中胎儿游离 DNA, 对游离 DNA 进行测序, T21 的检测准确度为 100%, T18 检出率为 100%, 假阳性率为 0.28%, 已经成为唐氏综合征筛查的重要手段。本综述通过分析各血清学检测指标对唐氏综合征的筛查价值, 探讨唐氏综合征的早期诊断指标选择。

## 1 $\beta$ -HCG/AFP 二联检测

由于羊膜腔穿刺等侵入性操作易导致孕妇发生流产等风险, 因此血清学检测作为唐氏综合征的筛查方法, 得以大力发展。人绒毛膜促性腺激素 (HCG)<sup>[14]</sup> 是最早成为血清学筛查的指标之一。人绒毛膜促性腺激素是由  $\alpha$  和  $\beta$  二聚体的糖蛋白构成, 主要由胎盘绒毛滋养层细胞分泌, 在

维持妊娠方面有着重要的功能。HCG 可以增强子宫内膜细胞和基质细胞对白介素 1 的敏感性<sup>[15]</sup>, 有利于胚胎的着床以及胚胎在子宫体内生长。此外, HCG 可以直接刺激黄体, 促进雌激素和黄体酮持续分泌, 维持妊娠。孕妇血清 HCG 水平在妊娠前 8 周增长迅速, 在孕 8 ~ 10 周达最高峰, 之后逐渐下降妊娠中晚期仅为高峰时的 1/10。而孕中期 HCG 水平明显增高, 则唐氏综合征的风险增加。有研究者认为, HCG 在整个妊娠中持续的增高可反映胎盘慢性血液灌注不足, 从而引发胎儿生长异常。

甲胎蛋白是胎儿特异性糖蛋白, 由胎儿肝脏和卵黄囊合成和分泌, 正常人血中含量甚微<sup>[16]</sup>。甲胎蛋白浓度在孕早期即可测出, 孕 14 ~ 20 周逐渐增高, 至 20 周后出现下降趋势。甲胎蛋白在孕中期孕妇血清中升高与胎儿开放性神经管缺损、腹裂等发育缺陷的发生有明显相关关系<sup>[17]</sup>, 原因可能是当胎儿患有开放性神经管缺损时, 脑组织或者脊髓会出现外露等症状, 甲胎蛋白会透过脑组织或者脊髓液外渗等途径进入母体的血液中, 从而使母体血液中甲胎蛋白含量明显高出正常范围<sup>[18]</sup>。因此, 甲胎蛋白在母体的含量可以作为胎儿是否患有神经管缺陷等的检测指标之一。而在孕中期, 甲胎蛋白在孕妇血液中的含量低于正常范围提示唐氏综合征的可能, 可能由于胎儿发育异常, 合成甲胎蛋白的能力差。 $\beta$  人绒毛膜促性腺激素联合甲胎蛋白 (AFP) 应用孕中期孕产妇的筛查, 大大提高了唐氏综合征的检出率, 但是  $\beta$  人绒毛膜促性腺激素联合甲胎蛋白 (AFP) 作为筛查指标假阴性率和假阳性率较高, 存在漏诊和误诊的情况。

## 2 $\beta$ -HCG/AFP/PAPP-A 三联检测

20 世纪 70 年代, Lin 等人在孕妇血浆中发现 PAPP-A, 它是由胎盘滋养层和蜕膜细胞分泌的一种分子量 200kDa 二硫化物结合的同源二聚体的大分子糖蛋白<sup>[19]</sup>。PAPP-A 基因定位在人染色体 9q33.1, 包含 22 个外显子。PAPP-A 可以水解胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs)4/5, 释放胰岛素生长因子 (IGF)<sup>[20]</sup>, 而 IGF 在滋养层的植入、胎盘着床等过

程中发挥重要作用。研究者发现唐氏综合征患儿 PAPP-A 蛋白含量降低,但是 PAPP-A 基因水平的表达未受影响。原因可能是染色体功能的异常,导致合成和分泌 PAPP-A 蛋白降低。

$\beta$ -HCG/AFP/PAPP-A 三联检查,唐氏综合征的检出率是在 82% ~ 87% 之间,假阳性率 5%,有效提高了唐氏综合征的检出率。但是有数据显示胎儿非整倍体被诊断为唐氏综合征,占假阳性率的 4.7%。同时,研究者发现同型半胱氨酸的表达水平会影响 PAPP-A 在血清中的含量。因此  $\beta$ -HCG/AFP/PAPP-A 三联检查在唐氏筛查过程中存在一定缺陷。

### 3 uE3/Inhibin-A/AFP/ $\beta$ -HCG 四联检测

游离雌三醇(uE3)是由胎盘、胎儿肝脏和肾上腺皮质合成的一种甾体类激素。1988年,Canick等<sup>[21]</sup>发现胎儿为唐氏综合征的孕妇血清中游离雌三醇的含量明显低于同期正常孕妇水平,提出将游离雌三醇作为唐氏筛查的血清学检测指标。Revnolds等<sup>[22]</sup>通过实验数据统计,发现唐氏综合征孕妇游离雌三醇血清学含量是同期正常孕妇的 0.78 倍,与 Canick 观点相符。

抑制素是由腺体合成分泌包括抑制素 A 和抑制素 B 的异二聚体糖蛋白,属于  $\beta$  转化生长因子超家族中的一员,通过旁分泌、自分泌的形式调节卵泡刺激素(FSH)的合成和分泌。抑制素 A 以前体、成熟体、修饰后等多种分子量形式存在于妊娠期间的母体血清、胚胎、胎盘及胎膜中。抑制素 A 在胚胎胎盘及胎膜中表达,主要功能是调控胎儿生长过程中内分泌激素。抑制素 A 在母体血液中的含量随孕周期的不同而有所波动,而在孕 15 ~ 25 周处于相对稳定状态,因此可作为孕中期孕妇血清学检查项目。

目前有两种方法检测抑制素 A 在孕中期血液中的表达。Serotes 法进行测量前需要用十二烷基硫酸钠对血清样本进行预处理,提高抑制素 A 测量敏感性。而 DSL 不需要十二烷基硫酸钠预处理这一步骤,缩短了样本分析时间。有研究者通过实验对比两种方法筛查唐氏综合征的检出率,结果显示在 5% 假阳性率下, Serotes 和 DSL 两种方法测得抑制素 A 在唐氏综合征的检出率分别为 75%、79%, DSL 法在抑制素 A 的检测敏感性方面更具优势。临床数据统计显示游离雌三醇(uE3)/Inhibin-A/AFP/ $\beta$ -HCG 四项血清筛查唐氏综合征,检出率高达 92.9%,同时降低假阳性率,最大限度的避免了误诊和漏诊现象发生。

### 4 基因检测

血清学筛查的发展尤其是 uE3/Inhibin-A/AFP/ $\beta$ -HCG 四项指标应用于唐氏综合征的检测明显降低了唐筛患儿出生率。但是 uE3/Inhibin-A/AFP/ $\beta$ -HCG 四项指标仍有 5% 左右的假阳性率存在,同时血清学筛查后,仍有 5% 左右的人群需要进行侵入性操作取样,增加孕妇流产的风险。

目前,应用第二代 DNA 测序技术对孕妇血液中胎儿游离 DNA 进行染色体非整倍体的检测已成为无创产前诊断的重要方法,其操作过程是按照血液采集标准程序,采集孕妇外周血 10mL,充分混匀,在 4 °C 离心 2 次,将上清血

浆转入新的离心管,对血浆标本进行 DNA 的抽提(磁珠分离法),测定样品 DNA 浓度,进行 DNA 末端修饰、末端加 A、连接,扩增 DNA,对产物进行纯化,对 DNA 进行高通量测序,将 DNA 测序所得的游离 DNA 序列比对人类基因组序列,计算染色体 Z 值,对结果进行判断。许多研究者研究发现游离 DNA 法对胎儿非整倍体产前检测的效率很高。2011 年, Ehrich M 等<sup>[23]</sup>对孕妇血浆游离 DNA 进行 T21 检测,共检测 480 例高危者,结果显示, T21 灵敏度为 100%, 特异性为 99.7%。2012 年, Palomaki GE 等<sup>[24]</sup>利用第二代 DNA 测序方法,检测孕妇血浆中胎儿游离 DNA, T18 检出率为 100%, 假阳性率为 0.28%, 对唐氏综合征的筛查非常有效。2015 年, 徐彬等<sup>[25]</sup>人采集 2596 例孕妇的血样本, 筛查高危者 176 例, 检测游离 DNA 后检出 43 例阳性: 28 例 T21; 5 例 T18; 1 例 T13; 4 例 45, XO; 3 例 45, X; 2 例 47, XXY。经羊水细胞染色体核型分析证实的染色体非整倍体异常共 42 例, 游离 DNA 检测的假阳性率为 2.3%。更为可贵的是, 血液胎儿游离 DNA 检测不受孕周与年龄的限制, 可避免大量不必要的侵入性产前诊断操作, 是较好的孕中期产前筛查技术。

总之, 各项血清筛查指标的组合尤其是第二代 DNA 测序技术应用于产前检查大大提高了唐氏综合征的检出率, 最大程度避免了假阴性和假阳性现象的发生, 为提高人口出生质量奠定了重要基础。

### 参 考 文 献

- [1] 刘建琼. 湖北省主要出生缺陷的流行现状及影响因素研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [2] 吴清明, 周瑾. 出生缺陷产前筛查及产前诊断研究进展 [C]// 全军妇产科学术会议. 2011:129-131.
- [3] ROSEN TD, ALTON ME. Down syndrome scmemng in the First and Second Trimesters: What Do the Data Show ?[J]. Semin Perinatol, 2005, 29(6):367-375.
- [4] HONUCHI K, KASAHARA K, KURODA K, et al. Step-down therapy in well-controlled asthmatic patients using salmeterol xinafoate/fluticasone propionate combination therapy[J]. Asthma Allergy, 2016, 9:65-70.
- [5] LEWIS C, HILL M, CHITTY LS. Women' s Experiences and Preferences for Service Delivery of Non-Invasive Prenatal Testing for Aneuploidy in a Public Health Setting: A Mixed Methods Study[J]. PLoS One, 2016, 11(4):e0153147.
- [6] TANAKA M, NATORI M, KOHNO H, et al. Fetal growth in patients with elevated maternal serum HCG levels [J]. Obstet Gynecol, 1993, 81(3):341-343.
- [7] LIU DF, DICKERMAN LH, REDLINE RW. Pathologic findings in pregnancies with unexplained increases in midtrimester maternal serum human chorionic gonadotropin levels [J]. Am Clin Pathol, 1999, 111(2):209-215.
- [8] OVERGAARD MT, OXVIG C, CHRISTIANSEN M, et al. Messenger ribonucleic acid levels of pregnancy-associated plasma protein-A and the proform of eosinophil major basic protein: expression in human reproductive and nonreproductive tissues[J]. Biol Reprod, 1999, 61(4):1083-1089.
- [9] OVERGAARD MT, HAANING J, BOLDT HB, et al.

- Expression of recombinant human pregnancy-associated plasma protein-A and identification of the proform of eosinophil major basic protein as its physiological inhibitor[J]. *Biol Chem*,2000,275(40):31128-31133.
- [10] PETERSON SE, SIMHAN HN. First-trimester pregnancy-associated plasma protein A and subsequent abnormalities of fetal growth[J]. *Am Obstet Gynecol*,2008,198(5):43-45.
- [11] LAMBED- MEASERLIAN GM, CANICK JA. Clinical application of inhibin A measurement: prenatal serum screening for Down syndrome[J]. *Semin Reprod Med*,2004, 22(3): 235-242.
- [12] WILSON G, LIITTI P, POLONEN T, et al. A technical and clinical evaluation of a new assay for inhibin A and its use in second trimester Down syndrome screening[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016,54(9):1473-1479.
- [13] DENNIS LY. Prenatal diagnosis :progress through plasma nucleic acids[ J]. *Nat Rev Genet*,2007,8(1):71-77.
- [14] ULF-HAKAN S, AILA T, HENRIK A, et al. The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG[J]. *Hum Reprod Update*, 2006,12(6):769-184.
- [15] COWANS NJ, STAMATOPOULOU A, HELLSTROM J, et al. PAPP-A and free ss-hCG stability in first trimester serum using PerkinElmer AutoDELFI A and DELFIA Xpress systems[J]. *Prenat Diagn*, 2010,30(2):127-132.
- [16] 侯红瑛, 王林琳, 吴玲玲等. 孕中期甲胎蛋白和游离  $\beta$  人绒毛膜促性腺激素及脐动脉血流变化与不良妊娠结局的关系 [J]. *中山大学学报*, 2010, 31 (5): 661-665.
- [17] 李守荣, 杜民. 免疫层析金标法测定 AFP 度筛查出生缺陷 [C]// 全国妇产科高级学术论坛. 2001.
- [18] SHAWSW, CHENC P, CHENG PJ. From Down syndrome screening to noninvasive prenatal testing: 20 years' experience in Taiwan [J]. *Taiwan Obstet Gynecol*, 2013, 52(4):470-474.
- [19] BOLDTHB, CONOVERCA. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A): a local regulator of IGF bioavailability through cleavage of IGFBPs [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2007, 17(1):10-18.
- [20] GAIDAMAUSKAS E, GYRUP C, BOLDT HB, et al. IGF dependent modulation of IGF binding protein (IGFBP) proteolysis by pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A): multiple PAPP-A-IGFBP interaction sites [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(3):2701-2709.
- [21] CANICK JA, KNIGHT GJ, PALOMAKI GE, et al. Second-trimester levels of maternal serum unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin in pregnancies affected by fetal anencephaly and open spina bifida [J]. *Prenat Diagn*, 1990, 10(11):733-737.
- [22] REYNOLDS T, VRANKEN G, VAN NUETEN J, et al. Down' s syndrome screening: population static dependency of screening performance [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2008, 46(5):639-647.
- [23] EHRICH M, DECIU C, ZWIEFELHOFER T. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood :a study in a clinical setting [J]. *Am Obstet Gynecol*, 2011, 204(31):201-205.
- [24] PALOMAKI GE, DECIU C, KLOZA EM. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study [J]. *Genet Med*, 2012, 14(3):296-305.
- [25] 徐彬, 余元勋, 章小琳, 等. 无创产前基因检测在产科门诊的应用研究 [J]. *安徽卫生职业技术学院学报*, 2015, 6(14):89-91.

---

(上接第15页)

- [7] BEAUDENON-HUIBREGTSE S, ALEXANDER E K, GUTTLER R B, et al. Centralized molecular testing for oncogenic gene mutations complements the local cytopathologic diagnosis of thyroid nodules [J]. *Thyroid*, 2014, 24(10): 1479-1487.
- [8] HAUGEN B R, ALEXANDER E K, BIBLE K C, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2016, 26(1): 1-133.
- [9] HO A S, SARTI E E, JAIN K S, et al. Malignancy rate in thyroid nodules classified as Bethesda category III (AUS/FLUS) [J]. *Thyroid*, 2014, 24(5): 832-839.
- [10] 郭燕. 细针穿刺细胞学检查在甲状腺结节中的临床评价 [D]. 太原: 山西医科大学, 2011.
- [11] MCIVER B, CASTRO M R, MORRIS J C, et al. An independent study of a gene expression classifier (Afirma) in the evaluation of cytologically indeterminate thyroid nodules [J]. *J Clin Endocr Metab*, 2014, 99(11): 4069-4077.
- [12] ARMSTRONG M J, YANG H, YIP L, et al. PAX8/PPAR $\gamma$  rearrangement in thyroid nodules predicts follicular-pattern carcinomas, in particular the encapsulated follicular variant of papillary carcinoma [J]. *Thyroid*, 2014, 24(9): 1369-1374.
- [13] 宋建明, 刘远飞, 曾晓英, 等. 彩超联合组织弹性成像在甲状腺结节诊断中的对比研究 [J]. *中国超声医学杂志*, 2015, 31(8): 673-675.
- [14] BERNET V, HUPART K, PARANGI S, et al. AACE/ACE disease state commentary: molecular diagnostic testing of thyroid nodules with indeterminate cytopathology [J]. *Endocr Pract*, 2014.
- [15] 李宁, 施丽丹, 林纬. 两种不同弹性成像技术在甲状腺结节的诊断价值 [J]. *福建医科大学学报*, 2014, 48(3): 201-204.
- [16] ANGELL T E, FRATES M C, MEDICI M, et al. Afirm benign thyroid nodules show similar growth to cytologically benign nodules during follow-up [J]. *J Clin Endocr Metab*, 2015, 100(11): E1477-E1483.
- [17] KIM H, KIM J A, SON E J, et al. Quantitative assessment of shear-wave ultrasound elastography in thyroid nodules: diagnostic performance for predicting malignancy [J]. *Eur Radiol*, 2013, 23(9): 2532-2537.
- [18] YEON J S, BAEK J H, LIM H K, et al. Thyroid nodules with initially nondiagnostic cytologic results: the role of core-needle biopsy [J]. *Radiology*, 2013, 268(1): 274-280.