

DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2021.03.006

染色体微阵列分析和低深度高通量全基因组测序技术在流产遗传学诊断中的应用

沈晔¹, 尹婷婷¹, 袁文博², 钱芳波^{1*}

(1. 南京医科大学附属无锡妇幼保健院计划生育科, 无锡 214000; 2. 浙江博圣生物技术股份有限公司, 杭州 310012)

【摘要】 目的 探讨染色体微阵列分析(CMA)和低深度全基因组测序(CNV-seq)技术在流产遗传学病因诊断中的应用价值。方法 收集 2018 年 5 月至 2019 年 10 月在无锡妇幼保健院计划生育门诊就诊并确诊稽留流产患者的流产样本 89 例, 对所有流产样本分别进行 CMA 和 CNV-seq 检测, 比较两种方法整体检出率以及各种染色体异常情况的检测结果。结果 89 例样本采用两种技术全部检测成功, 其中两种技术对于染色体非整倍体异常检出一致, 共检出 28 例常染色体三体体和 5 例特纳综合征; CMA 检出了 8 例三倍体和 3 例杂合性缺失, 而 CNV-seq 由于技术局限性只能提示男性三倍体, 不能检出杂合性缺失; 对于染色体缺失重复和嵌合体, CMA 与 CNV-seq 在检测范围内各有检出。结论 CMA 对于三倍体和单亲二倍体的检测优势更为突出, 对于染色体非整倍体异常和拷贝数异常的检测与 CNV-seq 技术相当; 但 CNV-seq 在高通量、扩展性、经济方面等具有优势。两种技术均可用于流产遗传学分析, 能为临床诊断提供更多选择。

【关键词】 染色体微阵列分析; 低深度全基因组测序; 拷贝数异常; 嵌合体; 三倍体

【中图分类号】 R715.5

【文献标识码】 A

Application of chromosomal microarray analysis and copy number variation sequencing in genetic diagnosis of miscarriage

SHEN Ye¹, YIN Ting-ting¹, YUAN Wen-bo², QIAN Fang-bo^{1*}

1. Department of Family Planning, Wuxi Maternity and Children's Hospital Affiliated to NMU, Wuxi 214000

2. Zhejiang Biosan Biochemical Technologies Co., Ltd. Hangzhou 310012

【Abstract】

Objective: To assess the value of chromosomal microarray analysis (CMA) and low depth whole genome sequencing (CNV-seq) in the genetic etiological diagnosis of miscarriage.

Methods: A total of 89 abortion samples of patients with spontaneous miscarriage were collected from May 2018 to October 2019 in the Family Planning Clinic of Wuxi Maternal and Child Health Hospital. CMA and CNV-seq tests were performed on all abortion samples. The overall detection rate and the detection results of various chromosomal abnormalities of the two methods were compared.

Results: Eight nine samples (100%) were successfully detected by two techniques. The results of the two methods are consistent for the detection of chromosome aneuploidy, of which 28 cases of autosomal trisomy and 5 cases of Turner's syndrome were detected by two techniques. Eight cases of triploids and 3 cases of loss of heterozygosity were detected by CMA, while CNV-seq only suggested male triploid, but could not detect loss of heterozygosity. CMA and CNV-seq detected some chromosome deletion, duplication and chimerism in the detection range.

【收稿日期】 2020-07-23; **【修回日期】** 2020-11-02

【基金项目】 江苏省妇幼健康重点学科资助项目(FXK2017); 青年 LARC 专项研究基金(GJB-3-20190805-335); 无锡市卫生健康委科研面上项目(M202057)

【作者简介】 沈晔, 女, 江苏无锡人, 硕士, 副主任医师, 妇产科学专业. (* 通讯作者, Email: 191529771@qq.com)

Conclusions: CMA has more advantages in detection of triploid and loss of heterozygosity, while the detection of chromosomal aneuploidy and copy number abnormality is similar to that of CNV-seq. CNV-seq has advantages in detection of high throughput, expansibility and economy. Both techniques can be used for genetic analysis of miscarriage, providing more options for clinicians.

Key words: Chromosomal microarray analysis; Low depth and high throughput sequencing; Copy number abnormality; Mosaicism; Triploid

(*J Reprod Med* 2021,30(03):313-318)

自然流产是指妊娠小于 28 周、胎儿体重小于 1 kg 时终止妊娠^[1]。临床上自然流产的发生率为 15%~25%^[2],其病因十分复杂,包括遗传、血栓、内分泌、免疫、环境等因素或多种因素共同作用,其中遗传因素占比最高^[3]。据报道,超过 50% 的早期流产是由于胚胎染色体异常导致的^[4],染色体的数目或结构异常所致的疾病称染色体病,是导致反复流产及不孕不育的主要原因。因此流产物样本的遗传学分析,有助于明确本次流产胚胎的遗传学病因,减轻患者的心理负担,同时为下次妊娠再发风险评估和生育指导提供合理的遗传咨询^[5]。

染色体微阵列分析技术(chromosomal microarray analysis, CMA)是将一定数量的探针固定于支持物上,与带荧光标记的 DNA 分子进行杂交,通过检测每个探针的杂交信号强度,进而获得样品中核酸序列的分子数目和序列信息的高通量方法。低深度全基因组测序也被称为基因组拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq),是基于二代测序技术对 DNA 样本进行低深度测序,测序结果与人类参考基因组进行比对,通过生物信息学分析以发现受检样本可能存在的染色体相关异常。

本研究通过对 89 例流产组织分别进行 CMA 和 CNV-seq 检测,以 CMA 为基准,探讨 CNV-seq 对流产样本遗传学诊断的可行性,评估 CMA 和 CNV-seq 技术在染色体疾病检测中的应用价值。

资料与方法

一、研究对象

选取 2018 年 5 月至 2019 年 10 月在无锡市妇幼保健院计划生育门诊就诊并确诊稽留流产行清宫术的患者共 89 例(85 例流产绒毛,4 例流产组织),年龄 20~44 岁,孕周 6~19 周。患者纳入标准:(1)无生殖器官器质性病变;(2)孕期无病毒感染及有害物质接触史;(3)无相关自身免疫性疾病;(4)经阴道彩超提示胚胎停止发育。患者全部知情同意并签署知

情同意书,研究经医院伦理委员会审批通过。

二、研究方法

1. 标本处理:清宫手术中获取稽留流产患者的流产绒毛或组织,将流产绒毛或组织放置无菌生理盐水中漂洗 3~4 次,除去母血成分,-80℃ 保存备用。

2. CMA:使用德国 QIAGEN 公司生产的组织提取试剂盒提取流产物基因组 DNA,采用美国 Affymetrix 公司生产的 CytoScan 750K [55 万个 CNV 标记和 20 万个单核苷酸多态性(SNP)标记] SNP 微阵列芯片(SNP 750K)对样本进行检测,严格按照 Affymetrix 公司提供的标准实验操作流程进行基因组 DNA 消化、扩增、纯化、片段化、标记,芯片的杂交、洗涤和扫描以及数据分析^[6]。本实验的报告阈值为 100 kb 以上的缺失和 200 kb 以上的重复,不报告全基因组中已知属于正常多态的拷贝数变化。

3. CNV-seq:采用德国 QIAGEN 公司生产的组织提取试剂盒提取流产物基因组 DNA,并用 Qubit™ 3 荧光计测定 DNA 浓度,应用博圣染色体拷贝数变异检测试剂盒(可逆末端终止测序法)进行文库构建、纯化操作,通过 KAPA Library Quantification kits 对文库进行定量测定浓度。对定量后文库 pooling 并在 Illumina 500 测序平台进行测序,最后应用软件对染色体非整倍体及 1 Mb 以上的 CNV 进行分析。样本质控后的 reads 数不低于 8 M,测序深度约 0.1×。数据分析以人类基因组 GRCh37/hg19 参考序列为依据。本检测仅报告与受检者临床表型相关的 CNV,不报告小于 1 Mb 的片段缺失和重复,也不报告全基因组中已知良性、疑似良性的拷贝数变化。

4. 数据结果解读:参考国际公共数据库,如 OMIM (<https://omim.org>)、DGV (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)、DECIPHER (<https://decipher.sanger.ac.uk/search>)、UCSC ([\(C\)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>](http://ge-</p>
</div>
<div data-bbox=)

nome.ucsc.edu)、PubMed (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)、ClinVar (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/)、ISCA (http://dbsearch.clinicalgenome.org/search/)、ClinGen (https://www.clinicalgenome.org/)及相关文献报道等进行 CNV 的判读。根据 CNV 的性质不同,将其分为致病性 CNV、不明确意义 CNV (variants of unknown significance, VOUS) 以及良性 CNV 三类^[7]。

三、统计学处理

研究采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计分析,

计数资料采用率(%)进行统计描述,即各组染色体异常阳性检出率用百分数(%)表示。

结 果

一、89 例流产样本的遗传学检测结果

89 例样本采用 CMA 和 CNV-seq 分别检测,通过质控标准分析,两种方法检测成功率达 100%。其中 CMA 阳性检出 54 例,染色体异常率为 60.7% (54/89); CNV-seq 阳性检出 49 例,染色体异常率为 55.1% (49/89),详见表 1。

表 1 CMA 与 CNV-seq 对 89 例流产物的检测结果比较(n,%)

检测方法	未见异常	三倍体	染色体非整倍体异常	结构异常	嵌合体	杂合性缺失	异常检出率(%)
CMA	35	8	33	11	5	3	60.7(54/89)
CNV-seq	40	6*	33	7	3	0	55.1(49/89)

注: * 提示疑似三倍体

二、CMA 及 CNV-seq 检出的染色体整倍体异常结果比较

CMA 检出三倍体共 8 例(男女比例为 6:2),包含嵌合型三倍体 3 例(男女比例 2:1); CNV-seq 检出疑似三倍体 6 例, CMA 与 CNV-seq 检出的三倍体具体样本情况见表 2。

三、CMA 及 CNV-seq 检出的染色体非整倍体数目异常结果比较

CMA 和 CNV-seq 对于 89 例流产物的染色体非整倍体数目异常检出效率完全一致,共检出 33 例,其中检出常染色体三体 28 例,特纳综合征 5 例,具体情况见表 3。

表 2 CMA 与 CNV-seq 检出的三倍体结果比较

样本	CMA	CNV-seq
P26	69,XXX/68,XX 或其他异常形式的三倍体嵌合	嵌合型 45,X
P27	69,YYY 三倍体	X:Y≈1:2,疑似三倍体 XYY
P28	69,XXX 三倍体	未检出
P44	69,YYY 三倍体	X:Y≈1:2,疑似三倍体 XYY
P45	70,XXY,+11[65%]/69,XXY[35%]嵌合型三倍体	X:Y≈2:1,疑似三倍体 XXY
P48	69,XXY 三倍体	X:Y≈2:1,疑似三倍体 XXY
P52	69,XXY/68,XXY,-18 嵌合型三倍体	X:Y≈2:1,疑似三倍体 XXY
P70	8p23.3p11.21 区段存在 42.1 Mb 片段的缺失,8p11.21q24.3 区段存在 103.9 Mb 片段的重复,胎儿可能为 69,XXY,i(8)(q10)的三倍体患者	X:Y≈2:1,疑似三倍体 XXY

表 3 CMA 与 CNV-seq 检出染色体非整倍体结果(n=33)

变异类型	3 号 三体	4 号 三体	8 号 三体	10 号 三体	13 号 三体	14 号 三体	15 号 三体	16 号 三体	22 号 三体	特纳 综合征
例数	1	1	2	1	6	1	3	10	3	5
占比(%)	3.0	3.0	6.1	3.0	18.2	3.0	9.1	30.3	9.1	15.2

四、染色体结构异常检测结果比较

CMA 共检出 11 例染色体结构异常,包括合并缺失重复 2 例,缺失 5 例,重复 4 例,其中<1 Mb 拷贝数异常 5 例,拷贝数异常范围为 414.1 Kb~34.6 Mb; CNV-seq 检出拷贝数异常 7 例,其中合并缺失重复 1 例,缺失 3 例,重复 3 例,拷贝数异常范围为 1 Mb~34.4 Mb。详见表 4。

P18、P29、P55、P64、P74 五个样本拷贝数异常小于 1 Mb,不在本次 CNV-seq 检测范围,CNV-seq 均未报告,同时评估这 5 个区段的拷贝数变异均为临床意义不明(VOUS)的变异。P61 号样本 CMA

检出 17q25.3 区段 1.4 Mb 微缺失,CNV-seq 未识别 P18 号样本染色体长臂末端缺失,实际缺失大小未知,不确定是否大于 1 Mb,所以未报告;P78 号样本 CMA 检出 12p13.33p11.1 区段存在 4 个拷贝,而 CNV-seq 判断为 3 拷贝;CNV-seq 在 P23 号样本检出 3p22.3 区段 1 Mb 的微重复。对于 P38、P72、P83 号样本以及 P58 号样本的缺失重复、P74 号样本的微重复,CNV-seq 与 CMA 的检出效力相当,不存在显著差异。CMA 与 CNV-seq 在本次检测范围内对于缺失重复异常检出一致率达 77.8%,其中 CMA 和 CNV-seq 分别多检出 1 例。

表 4 CMA 与 CNV-seq 在染色体结构异常上的检测结果比较

样本	CMA			CNV-seq			异常片段 病理学分类
	异常类型	染色体区段	片段大小	异常类型	染色体区段	片段大小	
P18	微重复	Xq28	414.1 Kb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			VOUS
P23	未检出染色体拷贝数异常			微重复	3p22.3	1.0 Mb	可能致病
P29	微缺失	17q25.1	594.3 Kb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			VOUS
P38	微缺失	16p13.11	1.4 Mb	微缺失	16p13.11	1.4 Mb	可能致病
P55	微重复	17p13.3	450.9 Kb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			VOUS
P58	微重复	6p25.3p24.3	9.0 Mb	微重复	6p25.3p24.3	9.1 Mb	致病性
	微缺失	8q24.13q24.3	22.8 Mb	微缺失	8q24.13q24.3	22.9 Mb	致病性
P61	微缺失	17q25.3	1.4 Mb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			可能致病
P64	微重复	16p13.2	629.7 Kb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			VOUS
P72	微缺失	18p11.32p11.21	14.9 Mb	微缺失	18p11.32p11.1	15.5 Mb	致病性
P74	微重复	13q12.12	1.4 Mb	微重复	13q12.12	1.4 Mb	致病性
	微缺失	21q22.3	564.0 Kb	未检出 1 Mb 以上已知的、明确致病的 CNV			VOUS
P78	微重复	12p13.33p11.1	34.6 Mb	微重复	12p13.33p11.1	34.4 Mb	致病性
P83	微缺失	5q35.1q35.3	8.6 Mb	微缺失	5q35.1q35.3	8.7 Mb	致病性

五、CMA 及 CNV-seq 检出的嵌合体异常结果比较

CMA 检出嵌合型常染色体三体 4 例,嵌合比例为 32%~67%,同时对低比例嵌合进行了提示,此外嵌合型重复检出 1 例;CNV-seq 检出嵌合型常染色体三体 2 例(26 号样本实际为嵌合型三倍体,结果已在染色体整倍体异常讨论),CMA 与 CNV-seq 检出嵌合体异常不一致的具体情况见表 5。两种方法对于 P14 号样本的检测,发现为嵌合型 22 号染色体三体,嵌合比例相差 13%;CMA 检测 P39、P58 号样本均为嵌合型常染色体三体,而 CNV-seq 未检出;检测 P39 号样本,CNV-seq 数据分析时发现 9

号染色体存在轻度上移,由于未达到嵌合报告阈值,所以软件未提示,人工审核时考虑到嵌合比例低,但准确性存在疑问,所以未报告;对于 P58 号样本,CNV-seq 未发现 7 号染色体三体嵌合;同时 CNV-seq 也未检出 CMA 检出的 P72 号样本 18q12.1q23 区段存在 49.9 Mb 低比例嵌合型重复。

六、CMA 及 CNV-seq 杂合性缺失检测结果比较

CMA 共检出杂合性缺失 3 例,具体结果见表 6,P17 号样本为单亲二倍体,P49 号样本为 22 号染色体单亲二倍体,P82 号样本 11p15.4p15.1 区段存在 11.5 Mb 片段的杂合性的缺失。而 CNV-seq 在 89 例流产样本中均未检测出杂合性缺失。

表 5 CMA 与 CNV-seq 检出嵌合体异常不一致的情况比较

样本	CMA	CNV-seq
P9	嵌合型低比例 9 号染色体三体	嵌合型低比例 9 号染色体三体
P14	47,XX,+22[67%]/46,XX[33%] 嵌合型 22 号染色体三体	80% 的 22 号染色体三体
P39	男性胎儿,疑似为嵌合型低比例 9 号染色体三体	未见染色体数目异常
P58	47,XX,+7[32%]/46,XX[68%] 嵌合型 7 号染色体三体	未见染色体数目异常
P72	18q12 1q23 区段存在 49.9 Mb 低比例嵌合型重复	未检出 18q12 1q23 区段存在 49.9 Mb 低比例嵌合型重复

表 6 CMA 与 CNV-seq 检出的杂合性缺失结果比较

编号	CMA	CNV-seq
P17	单亲二倍体	未见杂合性缺失
P49	22 号染色体单亲二倍体	未见杂合性缺失
P82	11 号染色体 11p15.4p15.1 区段存在 11.5 Mb 片段的杂合性的缺失	未见杂合性缺失

讨 论

目前,用于流产标本遗传学诊断的技术中,染色体核型分析是临床上染色体病诊断的“金标准”^[8],可以检测染色体数目异常及大于 10 Mb 的片段缺失、重复、易位、倒位等结构异常^[9]。但该技术步骤相对复杂、技术性要求较高,同时存在标本采集和送检过程中易污染、母体细胞污染鉴别困难、细胞培养成功率低(60%~90%)^[8]、检测周期长(3~4 周)等问题导致检测失败及漏诊,限制了其在流产标本检测时的应用。荧光定量聚合酶链式反应(QF-PCR)、荧光原位杂交(FISH)、多重连接探针扩增技术(MLPA)等^[10-11]一般只能对特定染色体的数目异常进行检测,无法对全染色体组检测。国内外研究者均对 CNV-seq 技术的临床适用性及准确性进行了评估,Liu 等^[12]对 500 例流产样本进行 CNV-seq(0.06×测序深度)和核型分析比较,发现 CNV-seq 相比核型分析能够有效地检出非整倍体和部分小片段异常,提示 CNV-seq 是可以有效应用于早期胚胎停育的新的遗传学诊断技术。

本研究利用 CMA 和 CNV-seq 两种技术对流产物进行遗传学检测,对比结果显示在不同类型染色体异常中,两种方法的检测结果有一定的差异。

关于整倍体的检测,CMA 由于涵盖 SNP 探针和 CNV 探针可以很好的检出,而 CNV-seq 是通过

测序片段与正常基因组的对比,无法对染色体整倍体改变进行判断,所以无法检测三倍体。但男性三倍体可以通过性染色体 X 和 Y 的比例得出疑似三倍体的结论,女性多倍体则会误判为其他结果,如对于 26 号样本嵌合型三倍体 69,XXX/68,XX,CNV-seq 分析软件会判断 X 染色体部分缺失,报告为嵌合型 45,X。由于流产胚胎三倍体的比例较高,建议 CNV-seq 做流产物遗传学检测应先做短串联重复序列(STR)检测,来排除样本是否为三倍体。而非整倍体的检测结果,CMA 与 CNV-seq 均检出常染色体三体 28 例,特纳综合征 5 例,检出效力相当,一致率达 100%。

在染色体缺失重复的检测中,本次 CNV-seq 检测由于测序深度原因,只检测 1 Mb 以上的重复和缺失,CNV-seq 由于测序深度和分析软件原因漏检 1 例 17q25.3 区段的微缺失,说明 CNV-seq 的准确性有待进一步完善;但本次 CNV-seq 检测比 CMA 多检测出 1 例 3p22.3 区段 1 Mb 的微重复,表明 CNV-seq 检测能够发现芯片探针未覆盖的染色体拷贝数异常,进而发现新的染色体疾病。本次实验,样本染色体的缺失或重复片段长度从 414.1 Kb 到 49.9 Mb 不等,当涉及大量功能基因或发育基因时会导致胚胎停育。本研究中共检出 5 例临床意义不明的 CNVs,片段大小均<1 Mb,且均不涉及数据库中明确的致病基因。当检测到临床意义不明的

CNV 时,一般需要对父母的染色体进行检测,以确认 CNV 的来源,最后综合数据库和文献来判断致病等级。Wang 等^[13]对 551 例流产样本进行 CMA,发现致病性微缺失、微重复 31 例,片段大小为 1.542 Mb~8.883 Mb,而小片段异常(1 Mb 以下)往往致病性不明确,较难评估是否为流产原因,为临床报告解读增加了难度。因此,CNV-seq 在检测致病性拷贝数变异中与现有 CMA 平台具有几乎一致的检测效果。

关于嵌合体的检测,CMA 的 CNV+SNP 双探针设计可以较好地检测 >30% 的嵌合体,但对于异常细胞比例小于 30% 的嵌合体检测效率较低^[14],本次 CNV-seq 检测由于测序深度仅为 0.1×,只能对一定比例的嵌合体进行提示。造成这些差异的原因可能是技术的差异,CNV-seq 测序深度不足,也可能是由于标本不同位置嵌合比例不一致造成的。有研究表明,当 CNV-seq 测序深度增加到 0.25×时,嵌合体分辨率在 25% 左右^[15]。

在杂合性缺失的检测上,与 CMV 相比,CNV-seq 由于无法进行 SNP 的检测,所以无法检出杂合性缺失。

本研究比较了 CMA 与 CNV-seq 在流产组织遗传学检测中的价值,结果显示 CMA 和 CNV-seq 对流产胚胎全基因组检测方面准确率高,特异性强,两种技术对染色体非整倍体和 >1 Mb 的拷贝数异常的检出率无明显差异。其中 CMA 分辨率达 100 Kb,在检测多倍体、单亲二倍体等具有明显优势,而 CNV-seq 可根据需要调整测序深度,以更好地检出拷贝数异常以及嵌合体,同时结合 STR 检测可检测三倍体。

相比于 CMA,CNV-seq 检测对于 DNA 样本的需求量更小,最低仅需要 10~50 ng 基因组 DNA^[16],远低于 CMA 检测的 200 ng。临床实践中部分 DNA 样本量较少,且 DNA 完整性欠佳,不能达到 CMA 的上样质控要求,而 CNV-seq 可以克服这些缺点;同时近几年高通量测序技术已经得到了大量推广和普及,CNV-seq 所需要的测序仪可以与其他项目(如产前无创基因筛查)共用,可以一机多用,兼容性更高,避免了额外购买昂贵的染色体芯片专用设备,因此 CNV-seq 技术的普及和推广也更容易;CNV-seq 具有高通量、操作简便、报告周期短(10 个工作日左右)、成本低等优势,同时可以检测 CMA 探针未覆盖区域,因此 CNV-seq 结合 STR 可为早孕期胎停育和流产提供遗传学病因诊断。

【参 考 文 献】

- [1] 谢幸,孔北华,段涛 主编. 妇产科学[M]. 第 9 版. 北京:人民卫生出版社,2018:70.
- [2] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion[J]. Fertil Steril,2012,98:1103-1111.
- [3] 陈兰婷,李大金,王凌. 复发性流产的遗传学相关因素研究进展[J]. 生殖医学杂志,2017,26:1158-1162.
- [4] Sahoo T,Dzidic N,Strecker MN, et al. Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays,outcomes, benefits, and challenges[J]. Genet Med,2017,19:83-89.
- [5] Menten B,Swerts K,Delle Chiaie B, et al. Array comparative genomic hybridization and flow cytometry analysis of spontaneous abortions and mors in utero samples[J]. BMC Medical Genetics,2009,10:89.
- [6] 钱芳波,沈晔. 全基因组染色体芯片在流产绒毛及死胎遗传学诊断中的应用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2018,38:1586-1592.
- [7] Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, et al. American college of medical genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants[J]. Genet Med,2011,13:680-685.
- [8] 李翠,赵明刚,贺芳,等. CNV-seq 及染色体核型分析在染色体异常检测中的比较[J]. 西安交通大学学报(医学版),2019,40:993-996.
- [9] Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, et al. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan[J]. J Obstet Gynaecol Res,2004,30:237-241.
- [10] 郑雷,陈雪,闫有圣,等. FISH 方法进行流产组织染色体非整倍体改变的检测分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24:42-43.
- [11] 钟福春. MLPA 在早期自然流产胚胎绒毛染色体异常快速检测中的应用[D]. 福州:福建医科大学,2014.
- [12] Liu S, Song L, Cram DS, et al. Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2015,46:472-477.
- [13] Wang Y, Cheng Q, Meng L, et al. Clinical application of SNP array analysis in first-trimester pregnancy loss: a prospective study[J]. Clinical Genetics,2017,91:849-858.
- [14] 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,2014,49:570-572.
- [15] Dong Z, Zhang J, Hu P, et al. Low-pass whole-genome sequencing in clinical cytogenetics: a validated approach[J]. Genet Med,2016,18:940-948.
- [16] Liang D, Peng Y, Lv W, et al. Copy number variation sequencing for comprehensive diagnosis of chromosome disease syndromes[J]. J Mol Diagn,2014,16:519-526.

[编辑: 辛玲]