

T/GDPMAA

广东省精准医学应用学会团体标准

T/GDPMAA 0007—2021

染色体嵌合体的产前遗传学诊断 与遗传咨询

Prenatal Diagnosis and Genetic Counseling of Chromosomal Mosaicism

(本稿完成时间：2021-09-11)

2021-09-12 发布

2021-09-12 实施

广东省精准医学应用学会 发布

广东省精准医学应用学会（GDPMAA）是广东省组织开展精准医学学术交流、国际交流、人才培养、出版刊物、科技创新、产学研相结合等活动的省级社会团体。制定广东省精准医学应用学会标准（以下简称：粤精准医标准），满足企业需要，推动企业标准化工作，是广东省精准医学应用学会的工作内容之一。中国境内的团体和个人，均可提出制、修订粤精准医标准的建议并参与有关工作。

粤精准医标准按《广东省精准医学应用学会团体标准管理办法(试行)》进行制定和管理。

粤精准医标准草案经向社会公开征求意见，并得到参加审定会议的75%以上的专家、成员的投票赞同，方可作为粤精准医标准予以发布。

考虑到本标准中的某些条款可能涉及专利权，广东省精准医学应用学会不负责对其任何专利权的鉴别。

在本标准实施过程中，如发现需要修改或补充之处，请将意见和有关资料寄给广东省精准医学应用学会，以便修订时参考。

该标准为广东省精准医学应用学会制定，其版权为广东省精准医学应用学会所有。除了用于国家法律或事先得到广东省精准医学应用学会文字上的许可外，不许以任何形式再复制该标准。

广东省精准医学应用学会地址：广东省广州市越秀区天河路 45-21 号

邮政编码：510075 电话：020-87001157 传真：020-87001157

网址：www.gdpmaa.com 电子信箱：pm@gdpmaa.com

目 次

前 言.....	I
引 言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 缩略语.....	3
5 制定染色体嵌合体的产前诊断与遗传咨询团体标准的必要性说明.....	3
5.1 嵌合体的产前诊断及遗传咨询中存在的问题.....	3
5.2 制定染色体嵌合体的产前诊断与遗传咨询团体标准的必要性.....	3
6 产前诊断中嵌合体的分类.....	4
6.1 根据组织分布差异分类.....	4
6.2 根据变异类型差异分类.....	4
6.3 产前嵌合体分类的特殊性.....	5
7 产前诊断中不同样本应用于染色体嵌合体检测的适用性说明.....	6
7.1 绒毛样本应用于染色体嵌合体检测的适用性.....	6
7.2 羊水样本应用于染色体嵌合体检测的适用性.....	6
7.3 脐血样本应用于染色体嵌合体检测的适用性.....	7
8 产前染色体嵌合体的诊断方法与原则.....	7
8.1 产前遗传学检测染色体嵌合体的技术及诊断标准.....	7
8.2 产前染色体嵌合体的检测方案与诊断原则.....	15
9 产前染色体嵌合体的常见临床场景及处理方案.....	17
9.1 NIPS 提示胎儿非整倍体高风险.....	17
9.2 产前诊断不同取材方式下染色体非整倍体嵌合体的诊断.....	18
10 产前染色体嵌合体的遗传咨询标准.....	20
10.1 产前染色体嵌合体遗传咨询的知情告知原则.....	20
10.2 产前染色体嵌合体预后评估的基本原则.....	20
10.3 审慎分析嵌合比例与胎儿预后的相关性.....	20
10.4 染色体三体嵌合体的预后咨询.....	21
10.5 染色体嵌合体再发风险评估.....	22
参 考 文 献.....	23

前 言

本标准按GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由广东省妇幼保健院提出，由广东省精准医学应用学会归口。

本标准起草单位：广东省妇幼保健院、中山大学附属第一医院、深圳市龙岗区妇幼保健院、中山大学附属第三医院、广东省标准化研究院、东莞博奥木华基因科技有限公司、赛默飞世尔科技（中国）有限公司、深圳华大基因股份有限公司、北京贝瑞和康生物技术有限公司、广东省人民医院、广州医科大学附属第一医院、暨南大学附属第一医院、南方医科大学附属珠江医院、广东省第二人民医院、广州市花都区妇幼保健院、深圳市人民医院、深圳市第二人民医院、广州医科大学附属第三医院、深圳南山区妇幼保健院、惠州市第一妇幼保健院、惠州市第二妇幼保健院、中山市博爱医院、江门市妇幼保健院、粤北人民医院、韶关市妇幼保健院、清远市人民医院、清远市妇幼保健院、东莞市人民医院、东莞市妇幼保健院、东莞市松山湖中心医院、阳江市妇幼保健院、茂名市人民医院、佛山市第一人民医院、佛山市妇幼保健院、佛山市南海区妇幼保健院、佛山市顺德区妇幼保健院、肇庆市妇幼保健院、云浮市妇幼保健院、揭阳市妇幼保健院、揭阳市榕城区妇幼保健院、汕头大学附属一院、湛江市妇幼保健院、梅州市妇幼保健院。

本标准主要起草人：尹爱华、林少宾、刘维强、郭莉、章钧、卢建、陈汉彪、王游声、陈样宜、沈均涛、魏晓明、朱慧慧。

参与修改人：白承宗、赵婧、周祎、罗艳敏、张彦、李萍、陈敏、李志华、何志晖、查庆兵、杨芳、魏佳雪、许碧秋、郭辉、赵卫华、魏凤香、张静、陈剑虹、张蕊、王德刚、李浩贤、范舒舒、陈亚军、谭卫荷、钟小焯、李婵、刘彦慧、何淑贞、曾昭珊、刘传勇、黄淑瑜、黄湘、杨发达、赵卓姝、陈静、陈焕卿、郑春璇、王戩、徐岚、林青、吴美梅、孙隽、郗睿、郑丽红。

本标准首次制定，将根据国内外行业最新发展陆续完善更新。

引 言

随着染色体微阵列分析、基于高通量测序技术的无创产前筛查和拷贝数变异测序等高敏感性遗传学技术在疾病诊断中的广泛应用，无论是在胚胎植入前遗传学诊断和胎儿产前遗传学诊断中，或是在儿科和成人疾病遗传学诊断中，嵌合体尤其是染色体嵌合体的检出越来越普遍。

产前检测的嵌合体有其特殊性，胎儿和胎盘可以存在遗传组成不一致的情况。在临床实践中，往往需要将胎儿和胎盘作为一个整体来分析和评估嵌合体的风险。染色体嵌合体的产前诊断和遗传咨询主要包含两个关键环节：1. 产前诊断样本和遗传学检测技术的合理选择，以及不同技术检测结果的综合评估；2. 基于遗传学检测结果的胎儿预后评估和再发风险评估。但是，由于产前诊断的取材限制、检测技术局限性和分析误差，使得染色体分析结果容易产生假阳性或假阴性嵌合体结果；再加上胎儿表型获取受限，以及嵌合体组织分布的不确定性，使得产前嵌合体胎儿的预后和再发风险评估尤为困难。因此，染色体嵌合体的精准产前诊断与遗传咨询，需要对上述两个关键环节的各个细节进行规范化或标准化，以期更好地指导临床实践工作。

染色体嵌合体的产前遗传学诊断与遗传咨询

1 范围

本标准旨在规定产前遗传学诊断中染色体嵌合体的定义、分类、检测技术、诊断原则、预后和再发风险评估。本标准仅就染色体嵌合体的产前诊断与遗传咨询进行详细讨论，其余变异类型嵌合体如拷贝数变异、单核苷酸变异/小片段缺失插入等嵌合体不在本标准讨论范围内。

本标准适用于开展产前诊断技术服务的医疗机构，应用细胞遗传学或分子遗传学技术进行产前诊断时，对检出的染色体嵌合体进行分析、判读、验证、评估及遗传咨询。其中，产前遗传咨询意见需在开展产前诊断技术服务的医疗机构由产前咨询医师和遗传咨询师共同出具和执行

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 29859-2013 生物信息学术语

GB/T 34798-2017 核酸数据库序列格式规范

T/GDPMAA 0001-2020 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范

T/GDPMAA 0004-2020 基于孕妇外周血浆游离DNA高通量测序无创产前筛查胎儿基因组病技术标准

3 术语和定义

（T/GDPMAA 0001-2020 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范）界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用，以下重复列出了（T/GDPMAA 0001-2020 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范）中的某些术语和定义。

3.1

同源嵌合体 **mosaicism**

一个个体或一种组织中，含有源于单个受精卵但遗传组成不一致的两种或以上细胞系的现象。一般而言，其遗传组成不一致仅限于特定基因位点、基因组片段或染色体。

注：目前国内对mosaicism和chimerism的中文译名不统一，包括：Mosaicism：嵌合体、同源嵌合体、镶嵌体；chimerism：嵌合体、异源嵌合体、奇美拉、开米拉等。本标准中采用同源嵌合体-mosaicism、异源嵌合体-chimerism的习惯用法。标准中提及的“嵌合体”、“嵌合”、“嵌合现象”、“同源嵌合体”、“嵌合型变异”“生殖腺嵌合体”、“体细胞嵌合体”、“体细胞-生殖腺嵌合体”、“限制性胎盘嵌合体”及“真性胎儿嵌合体”均属于“同源嵌合体”范畴。

3.2

异源嵌合体 **chimerism**

来源于不同受精卵的两种或两种以上遗传组成不一致的细胞系存在于同一个体或一种组织中的现象。一般而言，其遗传组成不一致遍布整个基因组。

3.3

生殖腺嵌合体 **germline mosaicism**

嵌合体只局限于生殖腺细胞，不存在于其它体细胞中。

3.4

体细胞嵌合体 somatic mosaicism

嵌合体存在于除生殖腺细胞以外的其它体细胞中。

3.5

体细胞-生殖腺嵌合体 gonadosomatic mosaicism

嵌合体既存在于生殖腺细胞，也存在于其它体细胞中。

3.6

限制性胎盘嵌合体 confined placental mosaicism; CPM

嵌合体只局限于胎盘组织，不存在于胎儿或新生儿。

3.7

真性胎儿嵌合体 true fetal mosaicism; TFM

嵌合体不仅存在于胎盘组织中，还存在于胎儿和新生儿中。

3.8

染色体异常 chromosome abnormality

体细胞或生殖细胞内染色体发生的异常改变，分为数目异常和结构异常两大类。染色体数目异常可分为整倍体异常和非整倍体异常；染色体结构异常可分为显微水平的缺失、重复、易位、倒位和插入等。

3.9

拷贝数变异 copy number variant; CNV

由基因组重排形成的结构变异，一般指长度 ≥ 50 bp的基因组片段拷贝数增加或者减少，主要表现为亚显微水平的缺失和重复，是人类疾病的重要致病因素之一。

[产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范（T/GDPMAA 0001-2020），拷贝数变异（3.3）]

3.10

纯合区域 regions of homozygosity; ROH

对于大部分的二倍体细胞如人类体细胞，拥有两份基因组，一份来自于父亲，另一份来自于母亲，在某一个碱基上，如果来自父本和母本的碱基不同时，则该位点为杂合（heterozygous）。如果因为某种机制（如远亲关系或近亲关系婚姻或基因转换）导致在一定范围内连续的等位基因序列都是纯合子而无杂合子（拷贝数仍为2个），则该区域为基因组纯合区域（regions of homozygosity, ROH）。

[产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范（T/GDPMAA 0001-2020），基因组纯合区域（3.4）]

3.11

单亲二体 uniparental disomy; UPD

指来自父母一方的染色体片段被另一方的同源部分取代，或一个个体的两条同源染色体都来自同一亲本。

[产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范（T/GDPMAA 0001-2020），单亲二体（3.5）]

3.12

染色体微阵列分析 chromosomal microarray analysis; CMA

基于核酸分子杂交的原理，采用特异性寡核酸探针或单核苷酸多态性探针对全基因组进行杂交检测，以分析基因组CNV或ROH的一种检测技术。

[产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范（T/GDPMAA 0001-2020），染色体微阵列分析（3.1）]

3.13

CNV测序 CNV sequencing; CNV-seq

基于高通量测序技术，对基因组进行低深度测序，结合生物信息学方法确定基因组CNV的方法，其对染色体微缺失、微重复有较高的分辨率，但不能检测染色体结构异常。

[产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域数据分析解读及报告规范 (T/GDPMAA 0001-2020), 基因组拷贝数变异测序技术 (3.2)]

4 缩略语

以下缩略语适用于本文件。

aCGH——微阵列比较基因组杂交 (array comparative genomic hybridization)

BPD——双亲二体 (biparental disomy)

CMA——染色体微阵列分析 (chromosomal microarray analysis)

CNV——拷贝数变异 (copy number variant)

CNV-seq——CNV测序 (CNV sequencing)

CPM——限制性胎盘嵌合体 (confined placental mosaicism)

DNA——脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)

FISH——荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization)

LTC——长期培养法 (long-term culture)

MLPA——多重连接依赖性探针扩增技术 (multiplex ligation-dependent probe amplification)

NIPS——无创产前筛查 (noninvasive prenatal screening)

QF-PCR——荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative fluorescent polymerase chain reaction)

ROH——纯合区域 (regions of homozygosity)

SNP——单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism)

SNP array——单核苷酸多态性微阵列 (single nucleotide polymorphism array)

STR——短串联重复序列 (short tandem repeat)

STC——短期培养法或直接法 (short-term culture)

TFM——真性胎儿嵌合体 (true fetal mosaicism)

UPD——单亲二体 (uniparental disomy)

5 制定染色体嵌合体的产前诊断与遗传咨询团体标准的必要性说明

5.1 嵌合体的产前诊断及遗传咨询中存在的问题

染色体嵌合体的检测、预后和再发风险评估在临床实践尤其是产前诊断中,一直是难以彻底阐明的难题。主要体现在以下几个方面:

(1) 产前样本的检测结果显示胎儿或胎盘本身遗传组成的可靠性如何?例如,绒毛检测结果与羊水或脐血检测结果不一致,或者羊水与脐血检测结果不一致时,该如何分析差异的产生原因,评估哪种结果代表胎儿遗传组成的可信度更高,以及如何进一步验证。

(2) 核型分析中,真性和假性嵌合如何鉴别?核型分析检出的极低比例嵌合体该如何验证?

(3) 多种遗传学技术检测结果不一致或嵌合比例不一致时,以哪种技术作为临床诊疗的参照?

(4) 产前嵌合体与胎儿表型的相关性评价、嵌合体胎儿的预后评估以及嵌合体家系的再发风险评估等问题,在临床诊疗过程中如何尽可能实现规范化和标准化,以最大程度避免诊疗过度或诊疗不足?

5.2 制定染色体嵌合体的产前诊断与遗传咨询团体标准的必要性

虽然国际上已有一些关于嵌合体分类与诊断的共识或建议,但是这些规范主要针对儿童或成人个体相关疾病(如皮肤疾病、肿瘤或神经发育障碍疾病),并不适用于产前诊断或胎儿医学领域^[1-3]。目前国内关于染色体嵌合体的产前遗传学诊断和遗传咨询尚无相关指南、共识、联合声明或行业规范,不同单位对嵌合体的诊断方法和处理措施不尽相同。产前遗传咨询和临床处理措施存在过度或不足现象,

这不仅给实验室、产前遗传咨询和胎儿医学工作人员增加了工作难度，也容易给孕妇及其亲属造成焦虑与困扰。

因此，本文拟对产前诊断中染色体嵌合体相关临床问题进行规范，从而使得染色体嵌合体的产前诊断和遗传咨询得以标准化。

6 产前诊断中嵌合体的分类

嵌合体可以根据变异的组织分布差异或变异的类型进行分类与鉴别。

6.1 根据组织分布差异分类

根据染色体异常是否累及生殖腺细胞以及是否可传递给子代，嵌合体可分为体细胞嵌合体、生殖腺嵌合体和体细胞-生殖腺嵌合体^[4,5]。在产前诊断中一般难以鉴别胎儿嵌合体属于上述哪种类型嵌合。然而，若成人个体检出嵌合体，需进行上述嵌合类型的鉴别，以评估子代的患病风险。体细胞嵌合体的诊断主要是通过在外周血样本（临床最常用的检测样本之一）或其它组织样本中检出染色体嵌合体而确立的，但是，如果染色体嵌合体不存在于外周血中，而仅局限于特定组织（如皮肤或脑组织等）中，这种情况下采用外周血样本进行检测容易漏诊。因此，当临床上怀疑染色体嵌合体，而外周血样本检测结果为阴性时，可尝试获取口腔粘膜细胞、泌尿道脱落细胞或皮肤组织等多种组织样本进行检测。生殖腺嵌合体的诊断，男性可以采集精液进行生殖细胞检测，从而判断是否存在生殖腺嵌合；但女性生殖腺细胞采集较为困难，一般难以直接判断是否存在生殖腺嵌合，临床上往往通过检测多种类型体细胞（如外周血、口腔粘膜、泌尿道脱落细胞）并结合家族史，从而间接推测是否存在生殖腺嵌合。体细胞-生殖腺嵌合体的诊断，需要在体细胞和生殖腺细胞（直接或间接）中同时检出嵌合体，并结合家族史，方可确立诊断。

6.2 根据变异类型差异分类

根据变异类型的差异，可以将嵌合体分为染色体嵌合体、UPD嵌合体、CNV嵌合体和SNV/Indel嵌合体几种重要类型。通过应用各种细胞遗传学和分子遗传学技术，可以对不同变异类型嵌合体进行有效鉴别，详见第8章节。

6.2.1 染色体嵌合体

染色体异常主要包括非整倍体、多倍体、大片段缺失/重复（ ≥ 10 Mb）、易位、倒位、环状染色体、等臂染色体等；目前已知人类染色体非整倍体中，只有13、18、21、性染色体三体以及X单体胎儿能妊娠至活产，其余染色体非整倍体胚胎/胎儿通常是致死性的，胎儿或活产儿中仅观察到这些染色体非整倍体嵌合体^[3]。

① 普通人群中最常见的染色体非整倍体嵌合体是性染色体非整倍体嵌合体，其它各号染色体非整倍体嵌合体也偶有文献报道，详见《中国产前诊断杂志》三体/UPD系列专题报道^[6]。以Turner综合征为例，其典型核型为45, X。实际上，非嵌合型45, X胚胎往往是致死性的，约99%的非嵌合型45, X胚胎自然流产^[7]。有研究认为，几乎所有45, X活产儿都是隐匿的嵌合体，存在各种类型的挽救细胞系（rescue line），如46, XX、46, X, del(Xq)、47, XXX、46, XY、47, XYY^[8,9]。隐匿的嵌合现象还可能是胎儿胎盘嵌合，表面上非嵌合的45, X胚胎/胎儿，其胎盘可能存在挽救细胞系，使妊娠得以维持和完成。

② 胚胎/胎儿多倍体嵌合体较罕见，通常在妊娠早期自然流产。一些三倍体或其嵌合体胎儿可存活至妊娠中晚期，但是四倍体胎儿或其嵌合体极罕见，虽然有少数一些文献报道四倍体嵌合体胎儿或新生儿，但是体外细胞培养或染色体制备过程中，容易引起假“四倍体”核型^[10]。

③ 染色体结构异常嵌合体相对较少见，该类染色体异常可以是等臂染色体、环状染色体、部分三体/单体、易位、倒位等。其中，等臂或环状染色体嵌合体是较常见的染色体结构异常嵌合体。大部分等臂染色体（除外X等臂染色体）通常以额外染色体（supernumerary chromosome）嵌合体的形式存在，

常见有i(12p)、i(22q)、i(15q11)和i(18p)^[3]。人类23对染色体都已有环状染色体的报道，包括嵌合体或非嵌合体。环状染色体可以形成单环、双环或多环嵌合体，如r(13)。

6.2.2 UPD 嵌合体

活产儿UPD的患病率约为1/2000^[11]。UPD的形成来源于细胞分裂过程中染色体分离缺陷，可以发生在减数分裂和/或有丝分裂过程中，其主要机制是三体自救、单体自救、合子后有丝分裂错误和配子互补，其中主要是三体自救机制^[12]。三体自救、合子后有丝分裂错误机制可以形成UPD、三体/UPD嵌合体、三体/BPD嵌合体等类型，其中可能有一部份病例为低比例嵌合体。染色体结构重排或标记染色体导致的UPD，一般为片段性UPD。片段性UPD比较常见的是引起Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS)的UPD(11p15.5)pat，大约占到BWS的20%^[13]。几乎所有UPD(11p15.5)pat均为单亲同二体嵌合体，非嵌合型UPD(11p15.5)pat可能在胚胎发育早期是致死性的^[13]。

UPD的形成往往与三体/单体的发生密不可分，容易形成嵌合体^[6]。

6.2.3 CNV 嵌合体

CNV是由基因组重排形成的结构变异，一般指长度 ≥ 50 bp但 ≤ 10 Mb的基因组片段拷贝数增加（微重复）或者减少（微缺失），可分为复发性CNV（recurrent CNV）和非复发性CNV（nonrecurrent CNV），两者嵌合体发生率不同。

6.2.4 SNV/Indels 嵌合体

相对于染色体异常和CNV而言，该类变异主要代表DNA序列的微小变异，包括SNV和Indel（ < 50 bp）等。

6.3 产前嵌合体分类的特殊性

产前检测的嵌合体有其特殊性，胎儿和胎盘可以存在核型不一致的现象。由于组织来源和分化发育的差异，即囊胚滋养外胚层（trophectoderm, TE）发育成胎盘结构，而内细胞团（inner cell mass, ICM）发育成胎儿结构，胎儿和胎盘染色体核型不一致的现象在产前诊断中并不少见。不管是胎儿嵌合体还是胎盘嵌合体，都有可能对胎儿的生长发育产生影响。两者在组织来源、分化发育和遗传变异等方面密不可分，因此，建议在妊娠期将胎儿和胎盘作为一个整体的胎儿胎盘单位（fetoplacental unit）来分析 and 评估嵌合现象。胎儿胎盘嵌合（fetoplacental mosaicism）包含六种类型嵌合体类别（I~VI型），其中根据染色体异常在胎儿/胎盘的定位差异，又可以分为CPM和TFM^[13]。CPM和TFM的鉴别详见8.2.4章节。

6.3.1 限制性胎盘嵌合体

CPM既可能来源于有丝分裂过程中的染色体异常改变，例如染色体异常仅发生在形成胎盘的细胞系中而未发生在形成胎儿的细胞系中；也可能是异常受精卵（染色体异常形成于减数分裂过程中）通过自救机制形成的，也称为回复变异形成的嵌合（revertant mosaicism）^[7]。例如，当受精卵为某一常染色体三体时，在合子后的有丝分裂过程中可能通过三体自救机制形成二体细胞系和三体细胞系，如果二体细胞系形成胎儿，而三体细胞系（三体/二体嵌合，或三体）形成胎盘，则形成CPM。CPM存在胎盘发育异常的风险，可能会导致子痫前期、胎儿生长受限等风险增加。根据绒毛滋养层细胞和间充质核心细胞的染色体核型差异，CPM分为3种类型（表1）；在产前绒毛活检为嵌合体的病例中，CPM I~III的占比分别约为35.73%、40.45%和10.46%^[10]。

6.3.2 真性胎儿嵌合体

类似地，根据绒毛滋养层细胞和间充质核心细胞的核型差异，TFM也可以分为3种类型（表1）；在产前绒毛活检为嵌合体的病例中，TFM IV~VI的占比分别约为1.55%、5.36%和6.55%^[10]。

表 1 不同类型胎儿胎盘嵌合的检出情况

胎盘/胎儿	胎儿胎盘嵌合体类型	滋养层细胞*	间充质细胞*	羊水*	不同类型频率% (检出例数/总例数)
仅胎盘受累	CPM I	异常	正常	正常	35.73% (393/1100)
	CPM II	正常	异常	正常	40.45% (445/1100)
	CPM III	异常	异常	正常	10.36% (114/1100)
胎盘和胎儿同时受累	TFM IV	异常	正常	异常	1.55% (17/1100)
	TFM V	正常	异常	异常	5.36% (59/1100)
	TFM VI	异常	异常	异常	6.55% (72/1100)

*异常包括嵌合和非嵌合型异常。

引自: Grati FR, Malvestiti F, Branca L, et al. Chromosomal mosaicism in the fetoplacental unit. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017, 42:39-52.

7 产前诊断中不同样本应用于染色体嵌合体检测的适用性说明

产前染色体嵌合体的诊断,样本的代表性和采样准确性极为重要。绒毛、羊水和脐血等胎儿样本以及胎盘样本,均需进行母体细胞污染鉴定(基于STR或SNP技术),以确保获取相对纯净的胎儿或胎盘样本。合理选择产前样本是提高嵌合体检出率的重要因素。

7.1 绒毛样本应用于染色体嵌合体检测的适用性

产前绒毛染色体核型分析中,嵌合体的发生率约为1%~2%,但其中绝大部分(86.5%)是CPM,少部分(13.5%)是TFM^[10,14-15]。典型的绒毛组织学结构包含外层的滋养细胞和内层的间充质核心细胞,前者起源于囊胚TE,后者起源于胚外中胚层(extra-embryonic mesoderm, EEM),而EEM和胎儿均起源于囊胚ICM^[16]。因此,一般认为对于胎儿的遗传组成研究而言,绒毛间充质核心细胞更具有代表性^[17]。

产前诊断中,绒毛染色体核型分析通常采用LTC法检测绒毛间充质细胞的染色体核型,一般不建议单独采用STC法检测绒毛滋养细胞的染色体核型。虽然目前细胞遗传学实验室极少开展绒毛滋养细胞检测(STC法),但是以绒毛滋养细胞和间充质细胞DNA混合液为样本的QF-PCR、MLPA、CMA、CNV-seq等分子检测方法可以弥补单独行绒毛间充质核心细胞染色体核型分析(LTC法)的不足。绒毛样本的分子遗传学检测需要提取绒毛细胞基因组DNA。理论上,通过绒毛枝干的剪碎、裂解、酶解等处理措施可以获得滋养细胞和间充质细胞两种细胞的DNA混合液,但是,由于细胞系所处绒毛结构的特殊物理构造以及不同实验室前处理方法的差异,实际上提取到的DNA混合液,通常是滋养细胞DNA占比相对较高,间充质细胞DNA占比相对较低^[18-19]。个别文献也报道,在极端情况下有可能提取到的DNA只包含滋养细胞DNA,未包含间充质细胞DNA或其含量极低,这种情况有可能漏诊或误诊TFM^[10,20]。但是这种情况较罕见,绝大多数情况下绒毛细胞提取的DNA为滋养细胞和间充质细胞的DNA混合液,不影响产前遗传学诊断的可靠性。另外一点需要注意的是,由于产前绒毛或胎盘绒毛活检的取材仅限于局部胎盘组织,可能并不能完全代表胎盘组织的整体情况。

7.2 羊水样本应用于染色体嵌合体检测的适用性

产前羊水染色体核型分析中,真性胎儿嵌合体的发生率约为0.1%~0.3%^[14-15]。妊娠早期,胚胎外、中、内三个胚层已逐渐分化成各个器官的原基。羊水中细胞的来源包含了外、中、内三个胚层来源的细胞类型,其中既有外胚层表皮脱落细胞、中胚层泌尿系脱落细胞和内胚层消化道脱落细胞等^[21]。虽然羊水中三个胚层细胞的构成比例无法确定,但理论上羊水仍是诊断胎儿嵌合体的最佳样本,其检测结果可以较全面地代表胎儿的遗传学组成,绝大部分情况下无需进行脐血验证。然而,是否进行脐血验证还取决于具体的染色体异常类型,某些染色体嵌合体可能会出现羊水中比例极低甚至无法检出,反而在脐

血中比例较高能够检出的情况。如个别文献报道8号三体可能呈组织限制性嵌合状态，羊水中异常细胞比例低而不易检出，脐血中异常细胞比例高较易检出。由于无法确定羊水中异常细胞系的胚层定位，嵌合比例的高低与表型的有无或严重程度之间并不一定呈现同步变化趋势，因此极少数情况下容易夸大或忽视嵌合体的潜在表型效应。另外，细胞在羊膜腔液体内的分布并不均匀，羊膜腔不同象限细胞含量和种类可能会随着孕妇体位和活动状态而改变。极其罕见的情况下，两次羊水穿刺行同一项检测的结果可能存在差异甚至截然不同。对于血性羊水，若经母源污染鉴定排除母体细胞污染，则直接提取DNA进行检测；若经母源污染鉴定明确存在母体细胞污染，则需要采用培养后细胞进行检测，但是这种情况下对于嵌合体的评估，尤其是嵌合比例，可能存在误差。

7.3 脐血样本应用于染色体嵌合体检测的适用性

脐血染色体核型分析中，嵌合体的发生率较低。这可能由于血细胞是单一胚层细胞来源以及脐血较少作为产前诊断样本的缘故，这方面目前尚缺乏较大的研究数据。脐血细胞来源于中胚层，原则上不适用于嵌合体的筛查和确诊，应尽量避免采用脐血作为嵌合体产前诊断的单一样本来源。需要强调的是，脐血检测结果仅代表胎儿中胚层细胞，不能否定羊水或绒毛检测结果，仅作为辅助判断。

8 产前染色体嵌合体的诊断方法与原则

产前遗传学检测技术中，无论是核型分析、FISH等传统细胞遗传学技术，还是CMA、CNV-seq等分子遗传学技术，均可能检出嵌合体。原则上，建议至少两种检测技术均检出嵌合时才能确立真性嵌合体的诊断；当只有一种检测技术检出嵌合体时，其结果解释需谨慎，建议结合临床进行综合分析。

8.1 产前遗传学检测染色体嵌合体的技术及诊断标准

8.1.1 细胞遗传学技术检测染色体嵌合体的技术及诊断标准

(1) 概要

G显带染色体核型分析是用于确定染色体数目异常嵌合体或染色体结构异常嵌合体的形态学标准技术。目前产前诊断实验室常规采用培养瓶法或原位培养法进行培养细胞（绒毛、羊水和脐血）的G显带染色体核型制备与分析。

(2) G显带染色体核型分析嵌合体的判定标准

① 常规核型分析建议：I. 培养瓶法（羊水、绒毛和脐血）：计数 ≥ 20 个中期分裂相，且分别来自两线或两线以上独立培养容器，非集中分布；分析 ≥ 5 个中期分裂相，且分别来自两线或两线以上独立培养容器，非集中分布，所分析的染色体G显带分辨率 ≥ 400 条带^[22-24]。II. 原位法（羊水）：计数 ≥ 15 个中期分裂相，且分别来自两线或两线以上独立培养的15个细胞克隆，一个克隆计数一个细胞；如果不足15个克隆，则至少计数10个克隆中的15个细胞；分析 ≥ 5 个中期分裂相，且分别来自两线或两线以上独立培养的5个细胞克隆，所分析的染色体G显带分辨率 ≥ 400 条带^[22-24]。

② 嵌合体核型分析建议：嵌合体诊断的关键在于真性和假性嵌合体的鉴别。原则上，真性嵌合体的确定必须满足以下两个基本要求：I. 两线或两线以上（两人或两人以上）独立培养和实验操作；II. 检出两种或两种以上不同核型，各种核型都出现在两线或两线以上培养瓶（培养瓶法），或是两线或两线以上培养皿中的不同细胞克隆（原位法）中，且异常核型的染色体异常一致。

当上述常规核型分析检出嵌合体时，需要进一步鉴别几种不同类别的嵌合体：① I级嵌合体（level I）：单细胞假性嵌合。异常核型只出现在来自单个培养瓶（培养瓶法）或单个细胞克隆（原位法）的单个核型。② II级嵌合体（level II）：多细胞假性嵌合。在同一培养瓶中（培养瓶法）检出两个或两个以上相同的异常核型，或同一培养皿（原位法）中检出一个或多个细胞克隆的两个或多个相同的异常核型。③ III级嵌合体（level III）：真性嵌合。在两个或两个以上培养瓶（培养瓶法）或培养皿（原位法）中，检出两个或两个以上相同的异常核型。I级和II级嵌合体需要按照不同类型的染色体异常进一步分析^[22-25]。经详细分析后，确定为I级嵌合体的，无需报告；确定为II级嵌合体的，一般无需

报告，若可计数分析的中期分裂相不足、胎儿表型疑似与该嵌合体相关、或某些特殊类型的嵌合体，经与临床医师沟通商议后，可考虑酌情报告“II级嵌合体”或“不确定的结果”，但必须进一步验证^[25]。

(3) FISH分析嵌合体的判定标准

① 每份FISH结果双人独立阅片。

② 常规检测建议：仅计数信号清晰可辨的细胞；每组探针随机计数50个细胞；若发现1个以上信号异常的细胞，则扩大计数至100个细胞。单独判断每种探针信号指标，正常细胞比例 $\geq 90\%$ ，异常细胞比例 $< 10\%$ ，提示该指标无异常；某种指标异常细胞的比例 $\geq 10\%$ ，提示该指标异常。

③ 嵌合体验证建议：建议采用未培养细胞进行间期FISH检测；怀疑嵌合体或进行嵌合体验证时，可扩大计数至100~500个细胞。FISH用于检测嵌合体，其建议报告的嵌合比例下限一般为10%。但是，当异常细胞比例 $< 10\%$ ，而其它实验室检测结果（如染色体核型分析、CMA、CNV-seq）、影像学检测结果（超声、MRI等）或临床信息等提示可能存在低比例嵌合时，建议报告附上具体计数结果（各个实验室需经前期试验以确定本实验室FISH能够可靠检出的嵌合比例下限阈值），供临床医师参考。

④ FISH结果分析需结合其它实验室检测结果（如核型分析、CMA、CNV-seq）进行综合判读。

(4) 检测与分析的注意事项

① 产前样本均建议行STR或SNP方法排除母源污染；绒毛标本在接种前应尽量尽可能清除血污和蜕膜。

② 羊水培养瓶法容易产生假性嵌合，也容易漏诊嵌合体，建议将培养的上清液继续培养或传代，必要时可收获进行染色体制备，以备补充计数分析。

③ 建议有条件的实验室优先采用原位培养法进行羊水染色体核型分析。

④ NIPS非整倍体高风险，或者其它临床信息、实验室或影像学检查提示可能存在嵌合体时，建议羊水穿刺后保留5 ml未培养羊水，经低渗固定处理后置于 -20°C 冰箱留存，或者未经低渗固定处理的样本置于 -20°C 或 -80°C 冰箱保存（保存有效性和保存时限，实验室需根据自身条件进行前期试验验证），以备后续行FISH验证。

8.1.2 分子遗传学技术检测染色体嵌合体的技术及诊断标准

(1) 概要

近年来分子遗传学技术的发展，使得传统产前遗传学诊断的模式由单一的细胞遗传学核型分析+FISH逐渐转变成核型分析+FISH/QF-PCR/CMA/CNV-seq，极大地提高了染色体嵌合体的诊断效率。产前诊断中常用的分子遗传学技术主要有QF-PCR、CMA、CNV-seq、全外显子组测序(whole-exome sequencing, WES)和全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)等，各种技术性能的比较见表2。WES和WGS检测非整倍体或染色体嵌合体多数采用 \log_2 值或结合allele difference (AD)或B-allele Frequency (BAF)进行分析判断，但染色体非整倍体或嵌合体不属于WES和WGS的常规检测目的，本节不再展开描述。上述所列实验室方法均可检测染色体嵌合体，但是染色体嵌合体的诊断及验证一般不推荐采用QF-PCR、WES和WGS。

(2) QF-PCR分析嵌合体的判定标准

① 胎儿待测STR位点因父母各自位点上的重复次数不等而形成片段大小不等的杂合性STR位点，如果两个STR峰面积比为1:1，可以判定目标区域为两个拷贝（二体）；如果出现三个比率接近1:1:1的峰或两个比率接近2:1或1:2时表示目标区域存在三体；如果STR位点仅观察到单峰，则该位点为无效位点。

② 因PCR扩增偏好性等因素的影响，STR峰面积实际值与理论值会存在差异。根据临床基因组科学学会（Associate for Clinical Genomic Science, ACGS）指南（<http://www.acgs.uk.com/quality/best-practice-guidelines/>），对STR峰面积的判断标准为：二体的STR峰面积比介于0.8~1.4之间（对一些等位基因跨度超过24 bp的STR位点，峰面积比可放宽到1.5），三体的STR峰面积比为0.45~0.65或1.8~2.4或出现三个等高峰。

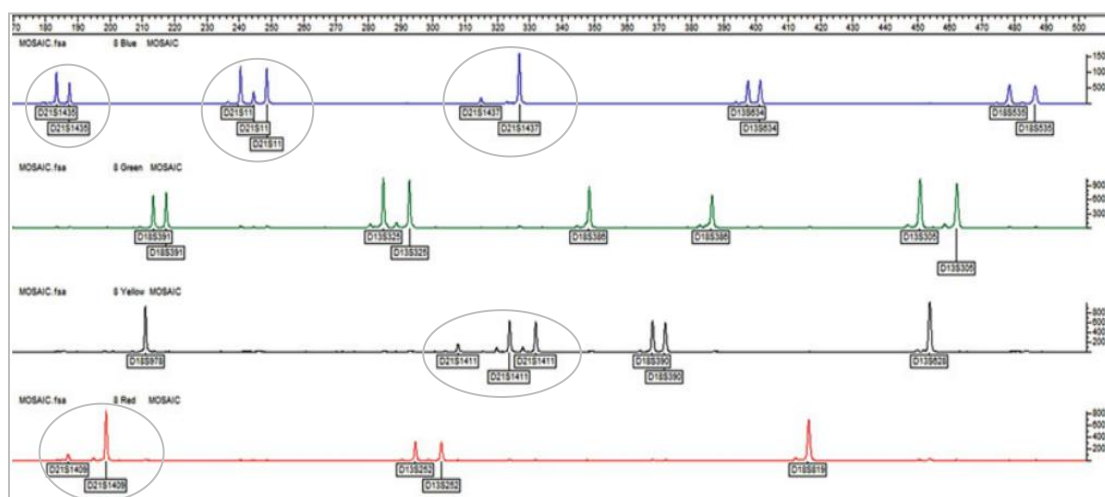
表2 产前细胞与分子遗传学技术检测染色体嵌合的适用性

检测技术	非整倍体	三倍体	四倍体	染色体结构异常 (非平衡型)	UPD	检测范围	建议常规报告的嵌合比例下限*	建议常规报告周期(工作日)
G 显带核型分析	+	+	+	+	-	≥5~10 Mb	-#	15~20
FISH	+	+	+	+	-	特定位点	10	3
QF-PCR	+	+	±	-	-	特定位点	20	3
SNP array	+	+	±	+	+	全基因组	30	10
aCGH	+	-	-	+	-	全基因组	30	10
CNV-seq	+	-	-	+	-	全基因组	20	10

* 染色体嵌合比例下限可根据染色体异常的实际情况而适当提高。

不设具体的嵌合比例下限，根据前述判定标准确定的真性嵌合体均可报告。

③ QF-PCR可以检出三体细胞系和正常细胞系的嵌合体，嵌合比例通过比较峰面积进行计算。例如，对三体和二体细胞的嵌合，通过计算峰面积最小的第三峰（三体细胞峰）与另两个峰之一的峰面积比，估算出三体细胞的嵌合比例，如图1 [26-27]。



说明: STR 检测结果提示 21-三体嵌合。21 号染色体 STR 位点或者是不相等的三等位基因模式(D21S11 和 D21S1411)，或者是不相等的双等位基因比率(D21S1435、D21S1437 和 D21S1409)，提示 21 号染色体存在嵌合可能。

图1 STR检测结果

④ 如果某条染色体上有单个或多个STR位点检测结果出现4个STR峰时，应考虑是否存在异源嵌合体。

⑤ QF-PCR检测与分析的注意事项: I. 绒毛、羊水或脐血等均可应用QF-PCR技术进行检测，样本需求量一般为绒毛0.2~2.0 mg，羊水1~5 ml，脐血0.2~2.0 ml [28]。II. 产前QF-PCR方法主要用于13、18、21、X和Y染色体非整倍体或嵌合体的快速筛查，需针对性设计STR位点进行检测，每条常染色体和X染色体上最少设计4个STR位点，Y染色体上最少设计2个特定STR位点。QF-PCR可检出嵌合比例大于20%的13、18或21-三体嵌合体 [26,28]。需要注意的是，单个STR位点异常可能代表罕见CNV或其他多态性STR位点，不能作为染色体非整倍体的结果报告。III. 由于STR位点数目有限以及低比例嵌合对峰面积特别是无三

峰情况下影响较小，可能会漏诊嵌合体。因此，若其他检测方法检出嵌合体，一般不建议采用QF-PCR方法进行验证，QF-PCR检测结果仅作为嵌合体诊断的一项补充证据。IV. 产前QF-PCR既不能检测除13、18、21和性染色体以外的其他染色体数目异常，也不能检测染色体结构异常，因此QF-PCR结果为阴性时，非平衡型染色体异常的残余风险约为0.44%，若将平衡型染色体异常纳入统计，则残余风险约为0.73% [29]。

(3) CMA分析嵌合体的判定标准

① 基于log2值的嵌合比例计算：理论上，当拷贝数为2时，log2值=0；当拷贝数为1时，log2值=-1；当拷贝数为3时，log2值=0.58，实际应用中受多种因素影响，真实的log2值可参考表3。某些CMA分析软件除了提供log2值分析拷贝数，还提供SmoothSignal（每个探针拷贝数平滑值）和MedianCnState（每条染色体拷贝数的中值）来直观地分析拷贝数，当MedianCnState位于2.1~2.9之间或1.1~1.9之间时，提示存在二体/三体或二体/单体的嵌合，嵌合比例可通过软件提示。

表 3 CNV 检测的 log2 值分布

拷贝数	Log2 理论值	Log2 实际值
1	-1	-0.45
2	0	0
3	0.58	0.3

② 基于SNP分型的嵌合比例计算：含SNP探针的CMA可通过SNP分型对log2值计算的拷贝数进行确认（图2和表4）。其大致原理是标准化SNP信号A和B等位基因的探针强度，对每一个探针产生等位基因信号值。对每一个探针信号，其等位基因差异AD是通过计算A等位基因减去B等位基因的汇总信号之间的差值。单个A和B等位基因信号将分别赋值0.5和-0.5。正常情况下，二体细胞含AA、AB、BB三种基因型，通过AD计算，纯合子AA的AD值为+1，纯合子BB的AD值为-1，而杂合子AB的AD值为0，因此，正常二体可见三条AD条带，如果二体与三体细胞嵌合或二体/单体嵌合时，通过AD条带可以推算出嵌合比例（图3和表4）。嵌合比例的计算可参考以下公式（对复杂嵌合及性染色体嵌合不适用）：假设非整倍体细胞比例P，其拷贝数为CN，正常细胞比例为1-P；其计算公式为 $CN \times P + 2(1-P) = \text{MedianCnState}$ 。因此图4嵌合比例为 $3 \times P + 2 \times (1-P) = 2.33$ ， $P = 0.33$ ，即嵌合比例约为33%。



图 2 SNP 基因型分析拷贝数的示意图

表 4 基于 SNP 分型的 allele difference (AD) 计算拷贝数

二体细胞			三体细胞		
基因型	AD 值	算法	基因型	AD 值	算法
AA	1.0	0.5+0.5	AAA	1.5	0.5+0.5+0.5
AB	0.0	0.5-0.5	AAB	0.5	0.5+0.5-0.5
			ABB	-0.5	0.5-0.5-0.5
BB	-1.0	0-0.5-0.5	BBB	-1.5	0-0.5-0.5-0.5

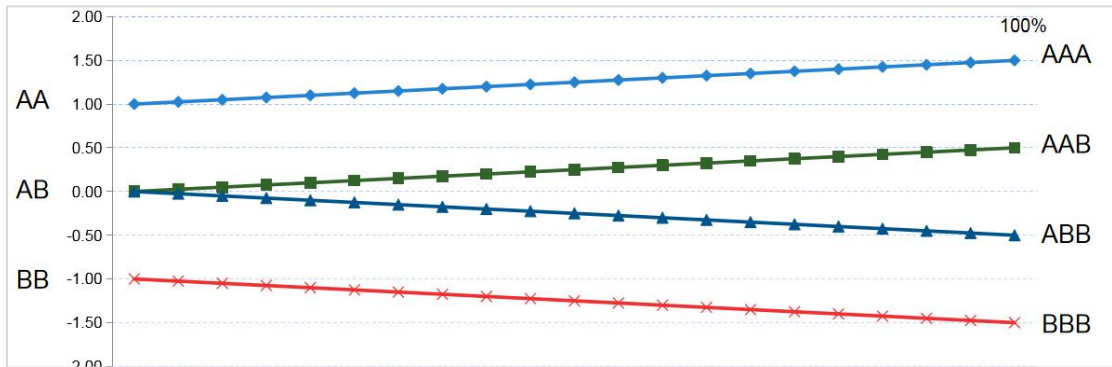
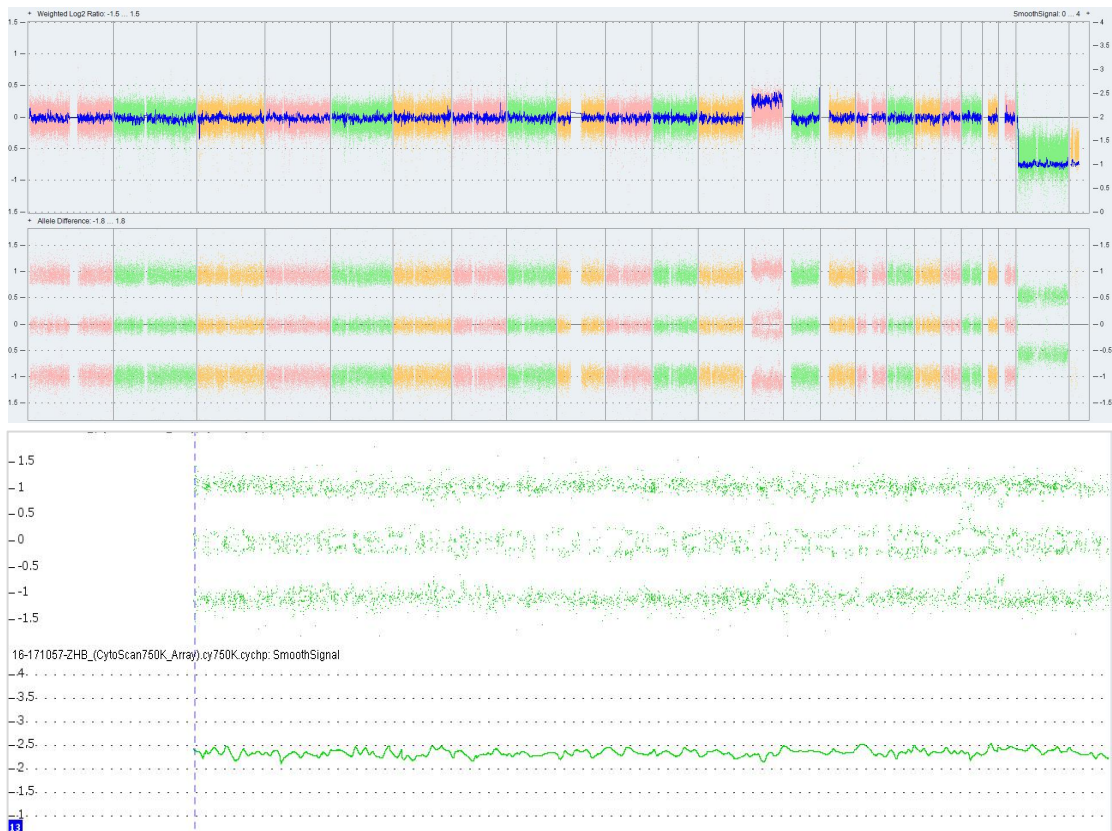


图 3 不同比例二体/三体细胞嵌合的 allele difference 图谱



说明：CMA结果提示13-三体嵌合体。上图显示13号染色体的Log2值介于0和0.5之间，拷贝数在2~3之间，提示13-三体嵌合体。下图MedianCnState显示拷贝数均值约为2.33，提示嵌合比例约为33%。

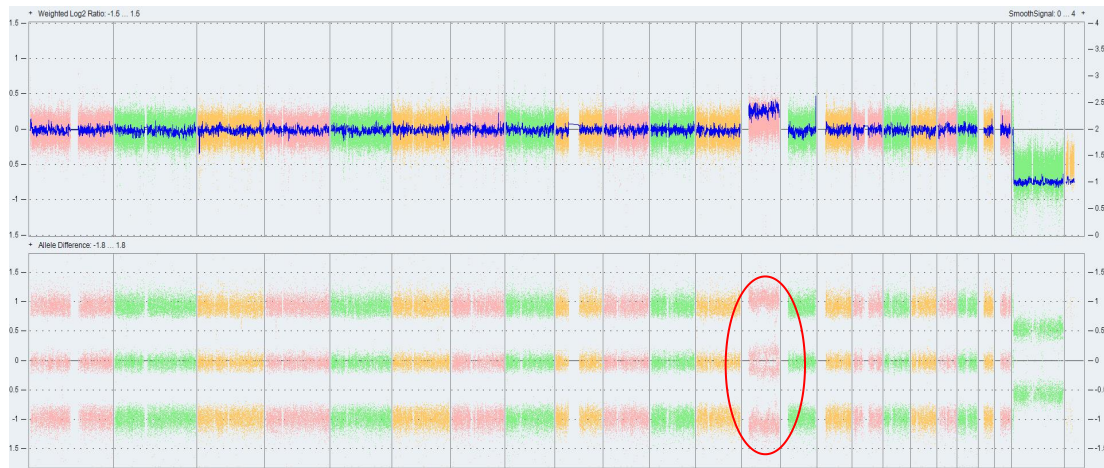
图4 CMA结果图示

基于SNP分型还可以计算BAF，即计算B等位基因在所在细胞中的比例，计算公式为 $BAF = [B] / ([A] + [B])$ ，正常二体细胞三条allele线是AA=0，AB=0.5，BB=1。BAF算法分析嵌合原理同AD。此外，基于SNP分型还可以区分同源嵌合体 and 异源嵌合体。

I. 同源嵌合体的嵌合体比例计算：同源扩增，从纯合子等位基因AA（或BB）扩增的等位基因只能是A（或B），而杂合子等位基因AB则存在扩增A或者B的两种可能。假设P为异常细胞百分比， $A=0.5$ ， $B=0.5$ ，AD的计算公式详见表5，示例详见图5。

表5 基于SNP分型的allele difference (AD) 计算嵌合比例

二体细胞	三体细胞	AD 值计算公式
AA	AAA	$3PA + 2(1 - P)A = 1 + P/2$
AB	AAB	$2PA + (1 - P)A - (1 - P)B - PB = P/2$
	ABB	$(1 - P)A + PA - 2PB - (1 - P)B = -P/2$
BB	BBB	$0 - 3PB - 2(1 - P)B = -(1 + P/2)$



说明：AD显提示13号染色体存在二体/三体嵌合。① 最上面的一条allele线，值大约1.15左右，根据 $1+P/2=1.15$ ，得出P约0.3左右；②中间偏上的一条allele线，值大约0.15左右，根据 $P/2=0.15$ ，得出P约0.3左右；③中间偏下的一条allele线，值大约-0.15左右，根据 $-P/2=0.15$ ，得出P约0.3左右；④最下面的一条allele线，值大约-1.15左右，根据 $-(1+P/2)=-1.15$ ，得出P约0.3左右。AD结果与Log2 ratio结果相符，对嵌合进行了双重确认。

图5 基于allele difference (AD) 的嵌合体分析示例图

II. 异源嵌合体的嵌合体比例计算：异源扩增，由于存在第三种自由的单倍型基因，因此每种基因型都存在扩增A或者B的两种可能。假设P为异常细胞百分比， $A=0.5$ ， $B=0.5$ ，AD的计算公式详见表6。异源嵌合体AD图可显示6条带，详见图6。

③ CMA检测与分析的注意事项：CMA对标本的要求与QF-PCR方法相同。CMA对于嵌合比例 $\geq 30\%$ 的嵌合体的检测结果可靠性高^[30]。虽然有研究表明CMA可检出嵌合比例低至 $8\% \sim 10\%$ ^[31]或 $10\% \sim 20\%$ 的嵌合体^[32-33]，但是，在产前诊断中，若CMA报告嵌合比例 $10\% \sim 30\%$ 的嵌合体，建议进一步采用其它方法验证。

表6 基于 SNP 分型的 allele difference (AD) 计算异源嵌合比例

二体细胞	三体细胞	AD 值计算公式
AA	AAA	$3PA + 2(1 - P)A = 1 + P/2$
AB	AAB	$2PA + 2(1 - P)A - PB = 1 - P/2$
BB	ABB	$2PA + (1 - P)A - (1 - P)B - PB = P/2$
	BBB	$PA + 2(1 - P)A - 2PB - (1 - P)B = -P/2$
		$PA - 2PB - 2(1 - P)B = -(1 - P/2)$
		$0 - 3PB - 2(1 - P)B = -(1 + P/2)$

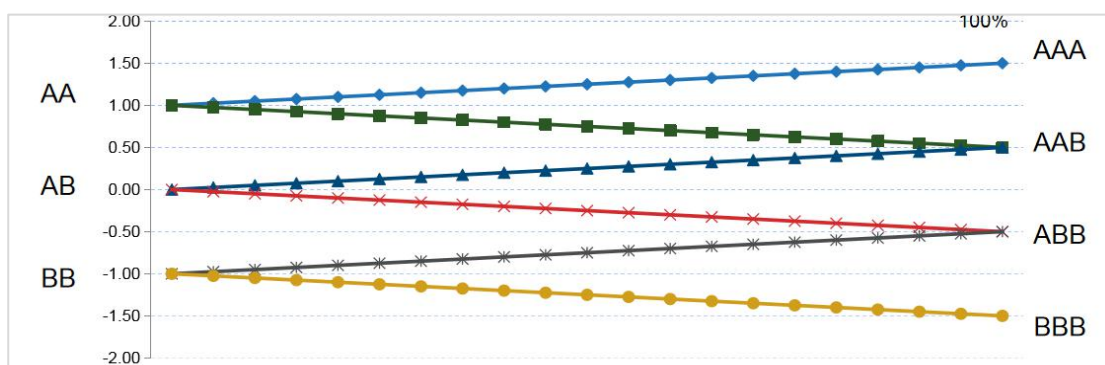


图6 不同比例异源嵌合的allele difference图谱。

(4) CNV-seq分析嵌合体的判定标准

① CNV-seq计算每条染色体拷贝数并作为结果判断值。在常染色体和女性性染色体的判断中：重复（三体）的理论值为3，缺失（单体）的理论值为1。实际应用中受多种因素影响，当计算染色体拷贝数在2.8或以上时，提示存在三体；当计算染色体拷贝数在0.8~1.2时，提示存在单体^[34]。当计算染色体拷贝数在2.1~2.8之间时，提示存在二体/三体嵌合；当计算染色体拷贝数在1.2~1.9之间时，提示存在单体/二体嵌合体^[35]。在性染色体异常的判断中，需要同时根据X和Y两个染色体的拷贝数值作判断，如X单体的理论X值为1，Y的理论值为0；XXY的理论X值为2，Y的理论值为1；XYY的理论X值为1，Y的理论值为2；XXX的理论X值为3，Y的理论值为0。实际应用中性染色体异常受多种因素影响，需结合检测系统对不同异常类型的信号波动范围，构建合适的模型对实际检出的X和Y的信号值进行分类判断。

② CNV-seq检测与分析的注意事项：与CMA的检测效能类似，CNV-seq对于嵌合比例≥30%的嵌合体的检测结果可靠性高。虽然在理想条件下可检测嵌合比例低至5%的嵌合体，在临床样本中也报道可检出>10%的染色体非整倍体嵌合，但是其敏感性和特异性受诸多因素影响^[36-37]。在产前诊断中，若CNV-seq报告嵌合比例10%~30%的低比例嵌合体，建议进一步采用其它方法验证。CNV-seq检测染色体嵌合体的准确性与染色体区域、建库方法、测序平台、数据质量（测序质量、唯一比对reads数等）、分析算法等因素有关，选择不同方案的CNV-seq技术时需要综合考量^[38]。

(5) 分子遗传学技术分析UPD嵌合体的判定标准

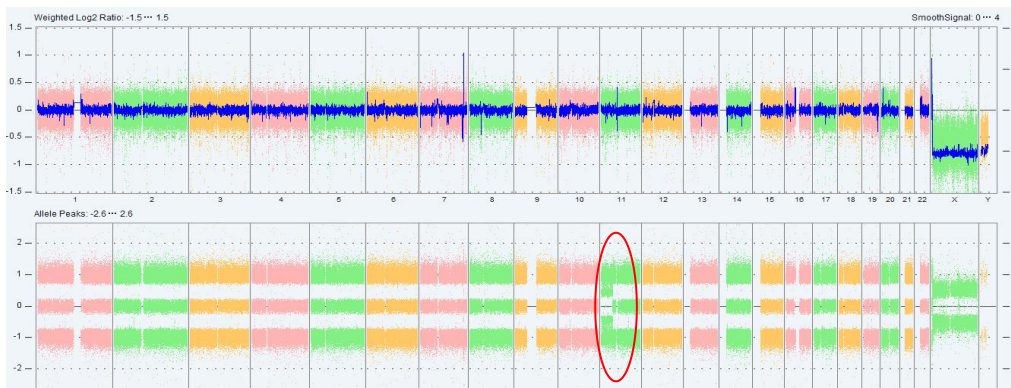
由于6、7、11、14、15、20号染色体与已知的印记综合征相关，涉及这些染色体异常的嵌合体，需要进一步明确是否存在UPD。采用含SNP探针的CMA或基于AD/BAF的WES分析，可以判断出单亲同二体（isodisomy）嵌合。单亲异二体（heterodisomy）嵌合可通过甲基化MLPA比较峰面积大致判断，或者通过家系SNP array、STR或WES进行大致判断，但总体上对嵌合比例的评估不精确。

单亲同二体嵌合的判断标准：① \log_2 值=0，即拷贝数为2；② AD显现出4条带；最上面一条带和最下面一条带的AD值分别为1和-1（双重验证二体细胞）；③ 正常双亲二体（BPD）与UPD嵌合的计算公式可参考表7。示例详见图7和图8。

表 7 BPD 与 UPD 嵌合的计算方法

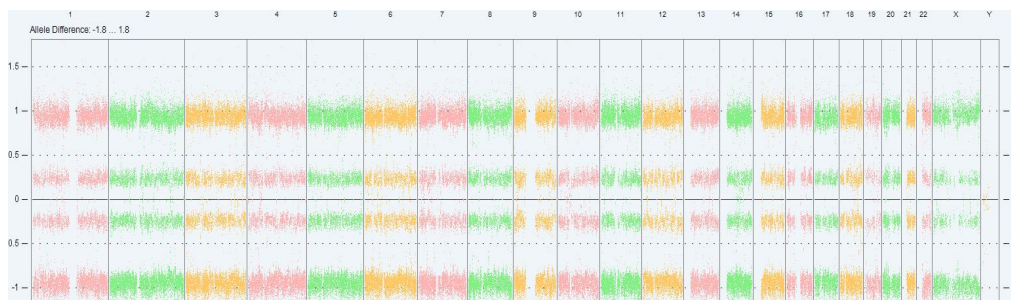
细胞类型*		计算方法
BPD 细胞	UPD 细胞	AD 值计算公式
AA	AA	$2PA+2(1-P)A=2A=1$
AB		$2PA+(1-P)A-(1-P)B =P$
BB	BB	$(1-P)A -(1-P)B-2PB=-P$
		$2PB+2(1-P)B =2B=-1$
BPD 细胞	UPD 细胞	B allele frequency 值计算公式
BB	BB	$2PB+2(1-P)B/[0+2PB+2(1-P)B]=1$
AB		$[2PB+(1-P)B]/[(1-P)A+ 2PB+(1-P)B]=(1+P)/2$
AA	AA	$(1-P)B/[(1-P)A+2PA+(1-P)B]=(1-P)/2$
		$0/[2PA+2(1-P)A+0]=0$

*BPD 细胞：1-P； UPD 细胞=P。



说明：11号染色体短臂存在UPD嵌合，allele difference在此区域有4条线，最上和最下条带的值为1和-1，与 \log_2 ratio值相符。中间两条allele 线的值大约为0.5和-0.5，根据上表可估算出UPD嵌合比例为50%左右。

图7 allele difference计算UPD嵌合比例



说明：23对染色体都存在UPD嵌合，allele difference有4条线，最上和最下条带的值为1和-1，与 \log_2 ratio值相符。中间两条allele 线的值大约为0.2和-0.2，根据上表可估算出UPD嵌合比例为20%左右。

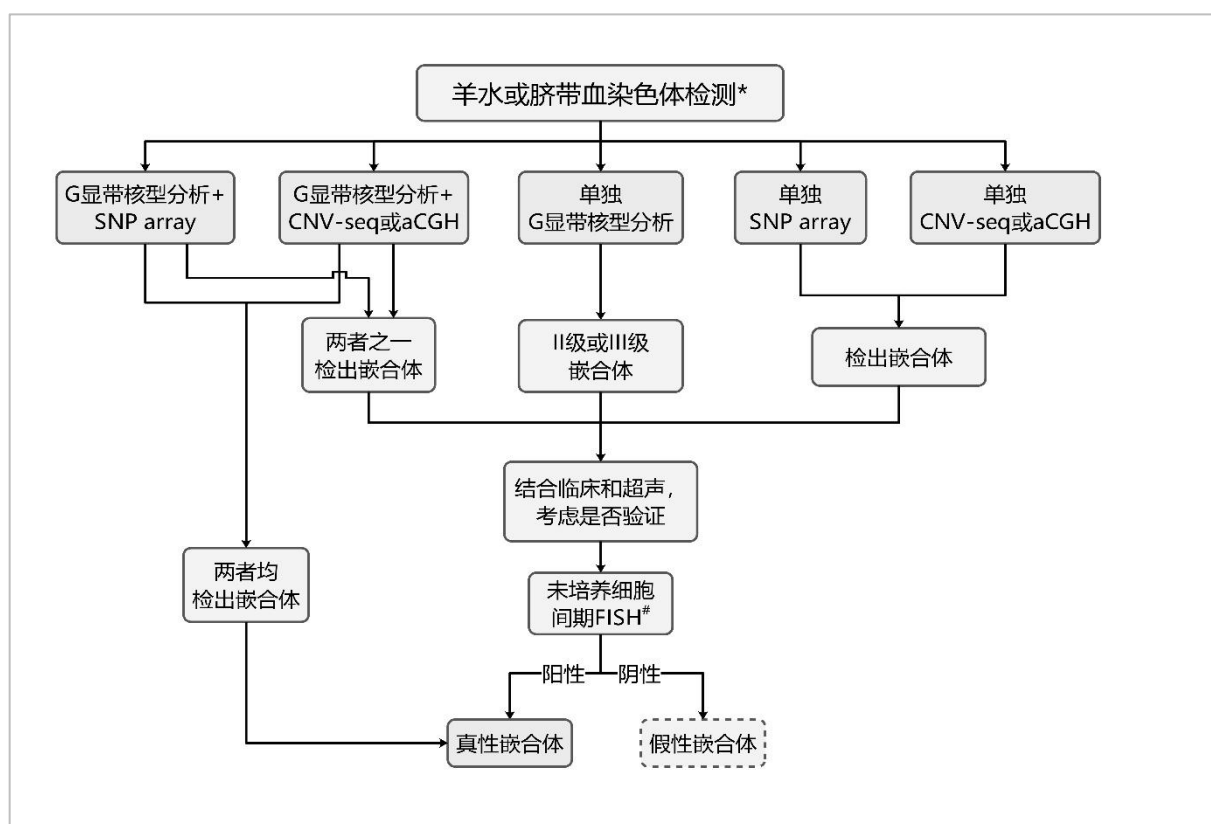
图8 allele difference计算UPD嵌合比例

8.2 产前染色体嵌合体的检测方案与诊断原则

8.2.1 产前染色体嵌合体的检测方案

近年来,分子遗传学技术在产前染色体疾病检测中的广泛应用,极大提高了染色体嵌合体的检出率,并使得染色体嵌合体胎儿的诊断和预后评估更加精准化。但是,需要强调的是,传统细胞遗传学技术作为诊断染色体异常的形态学标准,尤其在性染色体异常或染色体结构异常嵌合体的检测方面,有着分子遗传学技术无法比拟的技术优点,它仍然是目前产前染色体疾病诊断中不可或缺的一项检测技术。目前,临床上通常将传统细胞遗传学技术与分子遗传学技术联合应用,用于产前染色体嵌合体的精准诊断。虽然目前并未推荐对所有产前诊断病例行CMA或CNV-seq等分子遗传学检测,但是在临床实践中,许多病例进行侵入性产前检查行遗传学诊断时选择核型分析+CMA或CNV-seq。在这种模式下,需要辩证地分析核型分析结果和CMA或CNV-seq分析结果。

不同单位对染色体疾病的产前诊断方案不尽相同,根据检测方案的差异,对嵌合体的诊断需采取不同的流程。见图9。



* 绒毛活检时,任何一种方法检出嵌合体,不考虑方法间相互验证,而是建议进一步羊水或脐血验证。

FISH: ①需要注意的是, FISH 通常无法准确检出极低比例嵌合 (<10%), 并且也无法排除其它因素导致的假性结果 (如样本本身的细胞抽样误差等); 建议结合临床信息, 根据病例实际情况考虑是否结合其它适宜技术验证。②常染色体非整倍体或结构异常嵌合时, 若 FISH 探针较难获得, 建议结合实验结果和临床信息, 考虑选择适宜技术验证 (如初检核型异常则选择 CNV-seq/aCGH, 初检为 CNV-seq 则采用 SNP Array 验证, 诸如此类)。③多倍体嵌合、性染色体非整倍体或结构异常嵌合时, 不建议采用 CNV-seq 或 CMA 辅助验证, 建议结合临床, 酌情考虑其它适宜技术。

图 9 产前羊水或脐血染色体检测流程图。

(1) 核型分析+CMA或核型分析+CNV-seq的检测方案

核型报告的 II 级或 III 级嵌合体, 需结合 CMA (SNP array 或 aCGH) 或 CNV-seq 结果进行分析:

① 嵌合比例 $\geq 30\%$ ：对于常染色体非整倍体、片段缺失或重复的嵌合体，理论上CMA或CNV-seq可以验证该嵌合体并准确判断嵌合比例；若CMA或CNV-seq为阴性，建议进一步行未培养细胞间期FISH验证。但是，对于性染色体非整倍体、多倍体、环状染色体、等臂染色体和标记染色体等嵌合体，某些情况下CMA或CNV-seq可能会漏诊，并且对嵌合比例的判断也可能存在偏差（形态学嵌合和拷贝数目嵌合的区别）。这种情况下，CMA或CNV-seq的结果必须根据核型分析的结果进行判读和解释，嵌合比例的确定需要以核型结果为参照，对嵌合比例存疑或其比例高低影响临床处理时，需要进一步行FISH验证。

② 嵌合比例 $< 30\%$ ：若CMA或CNV-seq结果为阳性，两者结果相符，可以确立诊断；若CMA或CNV-seq结果为阴性时，建议进一步行未培养细胞间期FISH验证：FISH结果阳性时，可以确立诊断；FISH结果阴性时，可以确定“II级嵌合体”为假性嵌合，但对于“III级嵌合体”需详细评估是否存在影响细胞培养和核型分析结果的因素（例如采用原位培养还是培养瓶方法，是否继续加做备份培养皿增加计数等），并结合临床情况具体分析。

（2）单独核型分析的检测方案

核型报告的II级或III级嵌合体，建议进一步采用FISH验证，原则如上所述（III级嵌合体建议结合临床信息和超声结果，考虑是否进一步验证）。

（3）单独CMA或CNV-seq的检测方案

① 嵌合比例 $\geq 30\%$ ：如上所述，单独应用CMA或CNV-seq可以有效检出该类嵌合体，但建议结合临床信息和超声结果，酌情考虑是否采用另一种检测技术进行验证。需要注意的是，单独应用CMA或CNV-seq可能会漏诊某些类型嵌合体。

② 嵌合比例 $< 30\%$ ：单独应用CMA或CNV-seq可能会漏检该类嵌合体，需做好检测前的知情告知。若单独应用CMA或CNV-seq检出该类嵌合体，建议结合临床，酌情考虑进一步FISH验证。

8.2.2 不同类型染色体嵌合体的诊断原则

（1）染色体非整倍体嵌合体的诊断原则

① 目前临床上常规LTC法绒毛染色体核型分析可以检测绒毛间充质核心细胞的染色体核型是否为非整倍体嵌合体，但由于存在CPM现象，绒毛染色体核型分析结果可能与羊水核型分析结果不一致。不过目前常规绒毛染色体核型分析的同时应用QF-PCR或FISH进行快速非整倍体（13，18，21和性染色体非整倍体）检测，或者同时应用CMA或CNV-seq进行检测，这些技术可以检测绒毛滋养层细胞和间充质核心细胞的染色体非整倍体，与LTC法互为补充，可在一定程度上降低漏诊或误诊概率。但需要强调的是，绒毛检测结果需结合临床具体分析，若检测结果与超声表型相符，通常无需进一步羊水验证；若与超声表型不相符，则建议进一步羊水验证。

② 绝大多数情况下，羊水染色体核型分析和/或CMA/CNV-seq检测，是确诊TFM的必要条件。这些检测技术均可以有效检出高比例（ $\geq 30\%$ ）胎儿非整倍体嵌合体，但核型分析不能准确反映真实的嵌合比例，必须结合未培养细胞的CMA/CNV-seq或FISH检测结果进行综合分析；若核型检出低比例（ $< 30\%$ ）嵌合体（需详细评估是否存在影响细胞培养和核型分析结果的因素），建议采用羊水未培养细胞行FISH验证。在某些FISH探针难以获得的情况下，CMA或CNV-seq可作为辅助验证技术，但建议选择对于嵌合检测精准度更高的技术复核，如SNP array验证CNV-seq/aCGH等。

③ 脐血样本绝大部分情况下不建议作为嵌合体产前诊断的首检样本来源。血细胞来源于中胚层，相对羊水细胞而言，脐血对于胎儿胎盘嵌合体诊断而言不具有胚层代表性。并且血液中某些三体细胞系在体外培养时可能会因为被植物血凝素抑制生长，导致嵌合体的漏检。

（2）环状染色体、等臂染色体和标记染色体嵌合体的诊断原则

该类嵌合体通常需要联合染色体核型分析、FISH和CMA/CNV-seq才能有效诊断，其主要诊断原则参照上述内容（1）。

除了细胞培养可能造成嵌合比例的偏倚外，此类染色体异常在细胞分裂和体外培养过程中，稳定性较差，其染色体结构也容易发生变异甚至丢失，如i(12p)、i(15q)、i(18p)、i(22q)、i(8p)、i(9p)、r(13)等^[3,39]。若核型分析检出该类异常，建议进一步采用羊水未培养细胞间期FISH和CMA/CNV-seq验

证。这类异常绝大部分在羊水细胞中可以检出，但也有极个别例外，如个别文献报道i(8p)、i(9p)或8-三体通常较易在血液淋巴细胞中检出^[39]。需要注意核型和CMA/CNV-seq在嵌合比例描述上的“差异”，例如，一个胎儿羊水或脐血核型分析结果为mos 47, XN, +inv dup(22)(pter→q11.2)[40]/46, XN [60]，异常嵌合比例为40%，CMA结果为arr[GRCh37] 22q11.1q11.21(16888900_18640300)×2.8，异常嵌合比例为80%，两者比例似乎相差显著但其实只是结果描述上的差异，将核型的嵌合比例换算成拷贝数的表达形式，22q11.2区域的拷贝数是： $0.4 \times 4 + 0.6 \times 2 = 2.8$ 拷贝，即嵌合比例和CMA结果是一致的。在这种情况下，我们对嵌合体的预后评估，应该是基于核型分析的嵌合比例来考虑，而不是CMA。

(3) 染色体片段重复或缺失(≥10 Mb)嵌合体的诊断原则

该类嵌合体通常需要联合染色体核型分析、FISH和CMA/CNV-seq才能有效诊断，其主要诊断原则参照上述内容(1)。单独应用核型分析检出该类嵌合体时，建议进一步采用FISH+CMA/CNV-seq验证，嵌合比例以羊水未培养细胞FISH+CMA/CNV-seq结果为准。

(4) 平衡型染色体结构重排或多态性变异嵌合体的诊断原则

该类嵌合体通常需要核型分析和/或中期FISH才能有效诊断。由于该类异常携带者一般无表型效应(极个别例外)，且相关验证技术(如中期FISH)较难常规开展，若产前检出该类嵌合体，原则上不建议进一步验证。

(5) 注意事项

对于额外存在的结构异常染色体(环状染色体、等臂染色体、标记染色体)、性染色体非整倍体嵌合体或结构异常嵌合体，由于这些染色体异常的细胞系与正常细胞系可以不同比例组合，可能导致CMA/CNV-seq的检测结果并不能准确反映实际的核型组成和嵌合比例，因此对于这类染色体异常嵌合体，通常需要结合核型和FISH分析结果才能最终明确嵌合体的组成情况和比例。

8.2.3 UPD 的检测方案与诊断原则

染色体嵌合体时常会伴随着ROH或UPD的产生。ROH或UPD嵌合体的检测相对较为困难。STR或甲基化MLPA等方法对于这类嵌合体并不敏感，且都属于靶向检测技术，只有在特定染色体或区域疑似嵌合体时才能应用。SNP array或WES可以通过家系SNP的比对，统计子代SNP的遗传错误率进行UPD的判定和嵌合比例的估算，总体而言也只是一种“半定量”评估。当然，除了已知的印记综合征相关染色体(6, 7, 11, 14, 15, 20号染色体)，其余染色体的UPD嵌合体明确后，其实更应该关注是否有潜在的三体嵌合体^[6]。

8.2.4 CPM 和 TFM 的鉴别

产前诊断中，CPM和TFM的检测和鉴别主要依赖于绒毛活检(滋养层细胞和间充质细胞分离检测)和羊膜腔穿刺后进行相关遗传学检测。由于目前临床上未常规进行绒毛滋养层细胞和间充质核心细胞的分离检测，因此通常只能区分CPM和TFM，而难以有效区分CPM或TFM的亚型。对于未行产前绒毛活检的病例，结合NIPS检测结果，或者是对分娩或引产后的胎盘绒毛检测，有助于明确CPM或TFM的诊断。胎盘绒毛采集和处理方法可参考《基于孕妇外周血浆游离DNA高通量测序无创产前筛查胎儿基因组病技术标准》(T/GDPMAA 0004-2020)相关内容。

9 产前染色体嵌合体的常见临床场景及处理方案

9.1 NIPS 提示胎儿非整倍体高风险

9.1.1 NIPS 检测的是胎盘绒毛滋养细胞释放到母血中的游离DNA，有研究表明NIPS对于CPM的检测敏感性优于绒毛活检染色体核型分析(绒毛活检只是局部小范围取材)^[40-41]。但是，一般认为绒毛间充质核心细胞(而不是滋养细胞)才能较好的代表胎儿的遗传学组成，并且由于存在CPM现象，不能单独以NIPS结果作为临床诊疗依据，NIPS非整倍体高风险的病例需行产前诊断方可确诊^[10]。

9.1.2 当 NIPS 提示染色体非整倍体高风险时, 胎儿或胎盘可能是: I. 正常核型; II. 非整倍体; III. UPD; IV. 正常核型、非整倍体或 UPD 不同组合的嵌合体。因此, 一部分病例可能需要行甲基化检测、家系 SNP array 或 STR, 才能确立或排除 UPD; 一部分病例可能为低比例非整倍体嵌合体, 需行 FISH 检测或验证。

9.1.3 某些印记综合征相关染色体发生 UPD 时, 胎儿可能表现出一些相对特异的影像学异常征象(表 8)。如胎儿影像学检出表中所述异常时, 临床医师需考虑到胎儿罹患印记综合征的可能性, 应建议行侵入性产前诊断, 并增加甲基化分析技术、SNP array 技术及核型分析技术作为首选检测方案, 同时保留部分样本以备后续 FISH 检测。

表 8 目前已知的 UPD 疾病及主要表型

UPD 类型	综合征/疾病	OMIM(#)	主要表型
父源性 UPD(6)	新生儿暂时性糖尿病	601410	胎儿生长受限、新生儿暂时性糖尿病
父源性 UPD(11)	Beckwith-Wiedemann 综合征	130650	产前产后过度生长、器官增大、舌大、脐膨出、新生儿低血糖、肿瘤风险增加
父源性 UPD(14)	Kagami-Ogata 综合征	608149	羊水过多、腹壁缺损、骨骼异常、狭窄的钟型胸廓合并前肋骨尾弓
父源性 UPD(15)	Angelman 综合征	105830	小头畸形、共济失调、癫痫、严重智力障碍、语言发育迟滞、微笑面容
父源性 UPD(20)	假性甲状旁腺	139320	假性甲状旁腺功能减退症
母源性 UPD(7)	Silver-Russell 综合征	180860	胎儿生长受限、大头畸形、三角形脸、肢体和面部不对称
母源性 UPD(11)	Silver-Russell 综合征	180860	胎儿生长受限、大头畸形、三角形脸、肢体和面部不对称
母源性 UPD(14)	Temple 综合征	616222	胎儿生长受限、出生后发育迟缓、低出生体重、肌张力低下、运动发育迟滞、喂养困难、青春期提前、青春期后躯干型肥胖、成年期身材矮小、小手小脚
母源性 UPD(15)	Prader-Willi 综合征	176270	新生儿肌张力低下、婴儿期喂养困难、儿童期后肥胖、生长发育迟缓、智力障碍、行为问题
母源性 UPD(20)	Mulchandani-Bhoj-Conlin 综合征	617352	胎儿生长受限、出生后发育迟滞、喂养困难

(3) NIPS 的目标疾病主要是 13-三体、18-三体和 21-三体综合征, 其阳性预测值较高。这些疾病的产前筛查与诊断方案相对较为系统和完善, 根据首诊孕周的差异, 可以相应选择不同的产前诊断方案。NIPS 目标疾病以外的意外发现中, 除 13、18 和 21 号染色体以外的其它常染色体和性染色体非整倍体高风险通常以补充报告形式告知。NIPS 对这类染色体非整倍体的阳性预测值不高, 这类染色体非整倍体大多数可能局限在胎盘, 在胎儿中一般以嵌合体形式存在。因此, 无论胎儿超声检测结果是否异常, 均建议行羊膜腔穿刺(绝大多数情况下羊水穿刺是首选, 极少数可能需要脐血穿刺验证) 产前诊断。

考虑到染色体嵌合体检测的敏感性和特异性，建议在核型分析、FISH、CMA、CNV-seq等检测技术中选择至少两种技术进行嵌合体的相互验证。此外，对于已知的印记综合征相关染色体（6、7、11、14、15、20），建议同时行甲基化分析或家系STR检测，或者家系CMA检测，以明确是否存在UPD。

9.2 产前诊断不同取材方式下染色体非整倍体嵌合体的诊断

9.2.1 绒毛检测提示染色体非整倍体嵌合体

① 绒毛染色体嵌合体的发生率相对较高。若胎儿超声检查未见异常但绒毛检出染色体嵌合时，不能据此做临床处理，建议结合临床指征或超声表型进行综合考虑，以确定是否进行临床处理或进一步羊水或脐血验证。

② 未培养细胞间期FISH检测嵌合体的敏感性优于其他分子遗传学技术，故在羊水验证时，应以FISH技术作为嵌合比例评估的核心方案。

③ aCGH或CNV-seq检测嵌合体的敏感性相对低于FISH技术，且无法排除母源污染的干扰，因此低比例（<30%）嵌合体行羊水验证时不作为首选。但是SNP array具备基因分型功能，有助于判断UPD和推测非整倍体发生机制，指导再生育，故目前在羊水验证时仍应作为一线检测技术。

④ 羊水验证时，若核型分析、FISH、CMA检测结果不一致，以未培养细胞间期FISH结果为优先判断标准；如无FISH结果，则以CMA结果为次选判定标准（BAF/AD与log2值分析结果必须一致）。

⑤ 如绒毛与羊水检测结果不一致，以羊水结果为准。

⑥ 例外情况说明：绒毛嵌合体未经羊水或脐血验证，不建议依据该检测结果进行临床处理。但是，当嵌合体的诊断与胎儿超声异常相符，经孕妇及其家属知情同意可选择终止妊娠，建议引产时行羊水或胎儿组织检测以完善胎儿胎盘嵌合体诊断。

9.2.2 羊水检测提示染色体非整倍体嵌合体

① 绒毛检测后行羊水验证时，以羊水检测结果作为胎儿的最终诊断依据，并以此制定遗传咨询意见，无需进一步脐血检测。

② 羊水作为首检样本，且仅采用单一技术（核型分析、CMA或CNV-seq任一种）检测时，若检测结果提示非整倍体嵌合时，建议进一步行FISH验证。当嵌合体的诊断与胎儿超声异常相符，经孕妇及其家属知情同意可选择终止妊娠，建议引产时行胎儿组织检测以评估嵌合体的组织分布情况。

③ 羊水作为首检样本，且采用核型分析+CMA或核型分析+CNV-seq任一检测方案时，当两种不同检测技术均提示染色体嵌合，可以确立诊断；当两种不同检测技术检测结果不一致，建议进一步行FISH验证。当嵌合体的诊断与胎儿超声异常相符，经孕妇及其家属知情同意可选择终止妊娠，建议引产时行胎儿组织检测以评估嵌合体的组织分布情况。

④ 印记综合征相关染色体的非整倍体嵌合体，建议完善甲基化分析、STR或SNP array分析以明确是否存在UPD。

9.2.3 脐血检测提示染色体非整倍体嵌合体

脐血嵌合体检测方案和诊断原则参照上述9.2.2羊水检测提示染色体非整倍体嵌合体的内容。晚孕期产前诊断选择脐血作为检测样本主要是考虑到羊水核型分析需要细胞培养，周期长且失败率高，而脐血核型分析所需细胞培养周期短，且相对而言成功率高。但是，若检测方案中不包含核型分析，建议以羊水作为产前诊断样本，而不是脐血。

羊水和脐血的胚层来源不同，当两者的检测结果不同，并非结果不准确，只是分别代表了两者的对应胚层细胞的染色体嵌合情况，均予以认可。若脐血检测结果为阴性，不能否定羊水或绒毛嵌合体；若脐血检测结果为嵌合体，可以验证羊水或绒毛嵌合体，但是其嵌合比例不具有代表性，嵌合比例原则上应该以羊水检测结果为准（极个别情况例外）。若在羊水的基础上进一步进行脐血检测，其意义仅在于推测中胚层来源细胞是否存在嵌合体，若脐血检出嵌合体，则中胚层来源的器官组织如泌尿生殖系、骨骼肌肉、血液、心血管及结缔组织等，有可能存在该嵌合体；若脐血检测结果为阴性，则考虑上述器官

组织可能不存在该嵌合体；若脐血检测结果阴性或嵌合比例低于羊水嵌合比例，提示羊水中嵌合体细胞可能主要来源于外胚层和内胚层。

10 产前染色体嵌合体的遗传咨询标准

10.1 产前染色体嵌合体遗传咨询的知情告知原则

① 鉴于产前诊断中不同样本应用于染色体嵌合体检测的适用性差异，咨询医师应当告知胎儿父母不同样本染色体嵌合体发生率的差异，并且根据病例的孕周和临床指征，提供适宜的产前诊断路径。同时，应当告知在绒毛样本中检出嵌合体时，某些情况下需要获取羊水或脐血再验证的必要性。

② 鉴于不同的染色体嵌合体检测技术敏感性和特异性存在差异，咨询医师应当告知胎儿父母各种检测技术结果差异的原因以及某些检测结果再验证的必要性，同时，咨询医师需综合各种实验室检测结果、影像学检查结果和临床相关信息，评估遗传学诊断与临床诊断是否相符，并出具遗传咨询意见。

③ 咨询医师应当告知胎儿父母，产前染色体嵌合体与表型或疾病的相关性具有一定程度的不确定性，基于目前的诊疗手段和医学认知水平，产前诊断中尚无法准确地评估染色体嵌合体是否会导致胎儿产生某种异常表型或罹患某种疾病。

10.2 产前染色体嵌合体预后评估的基本原则

正确区分假性嵌合体、CPM和TFM是正确评估预后的基础。假性嵌合体是在实验过程中产生的假性异常细胞系，一般不会对胎儿造成不良影响。虽然CPM是仅影响胎盘的组织特异性染色体嵌合，但是CPM也可能与胎儿发育异常和不良妊娠结局相关^[42]。怀疑CPM的妊娠应归为高危妊娠，尤其是2, 3, 7, 13, 15, 16或22号三体CPM，建议从早孕期开始密切监测胎儿生长指标和筛查胎儿结构畸形^[42]。CPM与胎儿生长受限、早产，低出生体重和胎儿结构畸形相关，尤其是2, 3, 7, 13, 15, 16或22号三体CPM，其中以16号染色体相关性最强；并且，绒毛高比例三体嵌合或同时合并UPD，与不良妊娠结局具有显著相关性^[42-43]。TFM的评估，由于嵌合体的组织分布差异、嵌合比例高低、所涉及的染色体不同及临床表型的缺乏等可导致不同结局，对嵌合体进行遗传咨询时往往没有明确的可参考依据。如果产前超声检出胎儿存在相关异常指标，对胎儿预后的判断总体上可归于高危风险；但如果产前超声未检出异常，胎儿预后的评估则尤为困难，因此需要对特定类型异常过往文献报道进行数据总结，从而为预后判断提供帮助。孕妇经产前遗传咨询后可能选择继续或终止妊娠，建议在获得孕妇及其家属的知情同意下，获取分娩后的胎盘组织、新生儿口腔粘膜细胞和尿液脱落细胞等多种组织样本进行检测，明确嵌合体的诊断和组织分布情况，并加强后续追踪随访。

10.3 审慎分析嵌合比例与胎儿预后的相关性

产前诊断中相对明确的一个嵌合体评估指标是嵌合比例，参考Martinez-Glez等^[1]根据受累组织异常细胞比例的高低划分为几个等级：① 轻度：异常细胞<10%；② 中度：异常细胞10%~30%；③ 重度：异常细胞30%~50%；④ 极重度：异常细胞>50%。过高或过低的嵌合比例，对于临床预后的评估通常不会有太大偏差。如<10%的低比例嵌合和大于>30%的高比例嵌合，前者极低比例的嵌合本身就存在漏检的可能，其潜在的表型效应可能在产前难以有效鉴别或者其表型效应甚微（普通人群中也可能存在一些无明显表型的低比例嵌合个体，当然这并非绝对，临床诊疗中需结合胎儿表型进行评估）；后者的嵌合比例属于传统常规技术可以有效检测的比例范围，由文献报道的各类嵌合体病例报道可知其表型效应可能足以在临床诊疗时被识别，当然，文献报道的病例会存在一定的选择偏倚。10%~30%的嵌合比例相对而言属于灰区，其潜在的表型效应难以评估。另外，过高的嵌合比例对于检测技术而言也存在挑战，如>80%~90%的极高比例嵌合，也可能被误判为非嵌合型异常。但是，由于产前样本和表型获取的局限性，以及缺乏产前相关的有效研究证据，上述嵌合比例的划分主要基于常规技术检测的有效性和可靠性，只能作为产前评估的参考。某些情况下，嵌合比例与表型的关系可能不是正相关。虽然普遍的观念和一些产后的病例报道认为，嵌合体的临床表现较非嵌合体轻。但是嵌合比例的高低不能作为预后评估的唯

一指标，还需要考虑到嵌合体在胚胎期的发生时间以及异常细胞的组织分布也是影响表型的重要因素，并且，实验室检测结果必须结合临床指征和胎儿影像学检测结果才能进行综合评估。

10.4 染色体三体嵌合体的预后咨询

染色体三体嵌合体是产前诊断中最常见的嵌合体类型之一，不同染色体三体嵌合体的预后不完全一致，需要对以往文献报道病例进行总结分析，以期为胎儿的预后评估提供咨询意见。下面简单列举一些常见染色体三体嵌合体的预后情况，主要参考经典书籍《牛津案头参考手册：临床遗传学》^[44]和相关文献^[45]。各号染色体三体嵌合体更新和更详细的文献回顾分析，可参见《中国产前诊断杂志》三体/UPD系列专题报道^[6]。

嵌合型2-三体：绒毛嵌合型2-三体，多数为CPM，绝大多数胎儿出生后表型正常，但部分可存在胎儿生长受限；羊水嵌合型2-三体，胎儿预后不良风险极高（>60%）。

嵌合型3-三体：多在绒毛中被检出，也可在羊水中被检出，在脐血中的报道较少。羊水嵌合型3-三体，胎儿预后不良风险极高（>60%）。

嵌合型7-三体：绒毛阳性率高，而羊水阳性率较低。大多数绒毛嵌合型7-三体是由有丝分裂不分离引起的，一般为CPM。羊水嵌合型7-三体可能会伴随存在UPD(7)，后者会导致表现为胎儿生长受限的Silver-Russell综合征。羊水嵌合型7-三体，胎儿预后不良风险中高（20%~40%）。

嵌合型8-三体：胎儿超声可能检出脊柱、心脏、肾脏畸形，一般无胎儿生长受限。有个别文献报道认为羊水检测可出现假阴性，建议采用脐血进行检测。嵌合比例高低不能反应表型的严重程度，胎儿预后不良风险中低（<20%）。

嵌合型9-三体：主要表现为心脏、肾脏、脑和眼畸形等。大多数患儿有严重的智力障碍。羊水嵌合型9-三体，胎儿预后不良风险极高（>60%）。

嵌合型13-三体：主要表现为前脑无裂畸形、脑中线缺陷、面裂及多指/趾等。羊水嵌合型13-三体，胎儿预后不良风险中高（20%~40%）。

嵌合型14-三体：需要注意UPD(14)印记综合征，包括Kagami-Ogata综合征（父源性UPD）和Temple综合征（母源性UPD）。羊水嵌合型14-三体，胎儿预后不良风险较高（40%~60%）。

嵌合型15-三体：绒毛中较多见，建议羊水检测是否存在UPD(15)【Angelman综合征（父源性UPD）或Prader-Wili综合征（母源性UPD）】和潜在的TFM；羊水嵌合型15-三体，胎儿不良预后风险较高（40%~60%）。

嵌合型16-三体：产前可表现为胎盘发育异常，常见的胎儿表型包括早发型（从孕16周起）胎儿生长受限、心脏畸形（室间隔缺损常见）等；常见不良妊娠结局包括自然流产、早产、新生儿死亡、先兆子痫等；脐血中常检测不出。羊水嵌合型16-三体，胎儿预后不良风险极高（>60%）。

嵌合型18-三体：表现为胎儿生长受限、桡骨缺陷、心脏畸形等。羊水嵌合型18-三体，胎儿不良预后风险较高（40%~60%）。

嵌合型20-三体：胎儿超声未检出异常者，约90%出生后预后良好。脐血检测存在假阴性。羊水嵌合型20-三体，胎儿预后不良风险中低（<20%）。

嵌合型21-三体：需仔细筛查21-三体的超声标志物。羊水嵌合型21-三体，胎儿不良预后风险较高（40%~60%）。

嵌合型22-三体：主要表现为心脏、肾脏和耳畸形等。羊水嵌合型22-三体，胎儿预后不良风险极高（>60%）。

嵌合型性染色体异常：可表现为外生殖器异常、生育功能缺陷和性腺肿瘤风险增加等。

对于CPM而言，虽然染色体异常只存在于胎盘组织中，但是胎盘细胞的染色体异常可能会导致胎盘功能不全，从而引起胎儿发育异常和不良妊娠结局。据估计约16%~21%的CPM会导致妊娠并发症^[41]。染色体非整倍体CPM已被报道与胎儿发育异常和不良妊娠结局相关，如胎儿生长受限、小于胎龄儿、流产、死胎、早产等。但是，目前的一些研究报道尚存争议^[42,46-49]。

10.5 染色体嵌合体再发风险评估

胎儿染色体嵌合体的再发风险评估，主要取决于胎儿嵌合体是胎儿体细胞有丝分裂不分离引起，还是父母生殖细胞嵌合体伴随三体自救引起的。产前诊断中检出胎儿染色体嵌合体，对家系再发风险评估需要结合亲代检测结果进行综合分析，基本可分为三种类型：① 极低风险：胎儿体细胞有丝分裂不分离引起的嵌合体，属于新发的嵌合体，其再发风险极低，通常可以忽略不计；② 低风险：任一亲代未检出体细胞嵌合体，但不能排除生殖腺嵌合体；③ 中风险：若亲代为体细胞和/或生殖腺嵌合体，其再发风险高于普通人群。男性可以采集精液进行生殖细胞检测，从而判断是否存在生殖腺嵌合；但女性生殖腺细胞采集较为困难，一般难以直接判断是否存在生殖腺嵌合，临床上往往通过检测多种类型体细胞（如外周血、口腔粘膜、尿液细胞）并结合家族史，间接推测是否存在生殖腺嵌合。因此，若胎儿检出嵌合体，建议采集亲代的外周血、口腔粘膜、精液、尿液或皮肤等不同组织类型样本，应用高敏感性检测技术进行确认。上述风险的划分主要基于临床实践作为定性参考，目前尚缺乏染色体嵌合体再发风险等级的风险值数据，或许可以大致参考SNV/Indel嵌合体再发风险等级的风险值数据，如低风险和中风险病例的再发风险分别约为0.5%和5%~20%。但是，临床上通常很难区分胎儿嵌合是因有丝分裂不分离、或者三体自救机制所引起的；因此，即使经验上再次妊娠的风险通常较低，仍应建议再次妊娠时行产前诊断。

参 考 文 献

- [1] Martinez-Glez V, Tenorio J, Nevado J, et al. A six-attribute classification of genetic mosaicism. *Genet Med*. 2020, 22(11):1743-1757.
- [2] Happle R. The categories of cutaneous mosaicism: A proposed classification. *Am J Med Genet A*. 2016, 170A(2):452-459.
- [3] Biesecker LG, Spinner NB. A genomic view of mosaicism and human disease. *Nat Rev Genet*. 2013, 14(5):307-320.
- [4] Spinner NB, Conlin LK. Mosaicism and clinical genetics. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2014, 166C(4):397-405.
- [5] Campbell IM, Shaw CA, Stankiewicz P, et al. Somatic mosaicism: implications for disease and transmission genetics. *Trends Genet*. 2015, 31(7):382-392.
- [6] 刘维强, 孙路明, 沈亦平. 染色体三体、嵌合体及单亲二体的产前诊断和遗传咨询. *中国产前诊断杂志(电子版)*. 2020, 12(2):1-5.
- [7] Forsberg LA, Gisselsson D, Dumanski JP. Mosaicism in health and disease - clones picking up speed. *Nat Rev Genet*. 2017, 18(2):128-142.
- [8] Berglund A, Viuff MH, Skakkebaek A, et al. Changes in the cohort composition of turner syndrome and severe non-diagnosis of Klinefelter, 47,XXX and 47,XYY syndrome: a nationwide cohort study. *Orphanet J Rare Dis*. 2019, 14(1):16.
- [9] Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet*. 2014, 133(4):417-424.
- [10] Grati FR, Malvestiti F, Branca L, et al. Chromosomal mosaicism in the fetoplacental unit. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017, 42:39-52.
- [11] Nakka P, Pattillo Smith S, O'Donnell-Luria AH, et al. Characterization of Prevalence and Health Consequences of Uniparental Disomy in Four Million Individuals from the General Population. *Am J Hum Genet*. 2019, 105(5):921-932.
- [12] Yamazawa K, Ogata T, Ferguson-Smith AC. Uniparental disomy and human disease: an overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2010, 154C(3):329-334.
- [13] Eggermann T, Soellner L, Buiting K, et al. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis. *Trends Mol Med*. 2015, 21(2):77-87.
- [14] Stetten G, Escallon CS, South ST, et al. Reevaluating confined placental mosaicism. *Am J Med Genet A*. 2004, 131(3):232-239.
- [15] Grati FR, Grimi B, Frascoli G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi. *Eur J Hum Genet*. 2006, 14(3):282-288.
- [16] Ojosnegros S, Seriola A, Godeau AL, et al. Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques. *Hum Reprod Update*. 2021.
- [17] Van Opstal D, Srebniak MI. Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016, 16(5):513-520.
- [18] Kooper AJA, Faas BHW, Feuth T, et al. Detection of chromosome aneuploidies in chorionic villus samples by multiplex ligation-dependent probe amplification. *J Mol Diagn*. 2009, 11(1):17-24.

- [19] Kooper AJ, Faas BH. Comment on 'confined placental mosaicism: implications for fetal chromosomal analysis using microarray comparative genomic hybridization'. *Prenat Diagn.* 2014, 34(8):815-816.
- [20] Waters JJ, Mann K, Grimsley L, et al. Complete discrepancy between QF-PCR analysis of uncultured villi and karyotyping of cultured cells in the prenatal diagnosis of trisomy 21 in three CVS. *Prenat Diagn.* 2007, 27(4):332-339.
- [21] Larry R. Cochard著; 高英茂主译. *Netter's Atlas of Human Embryology*. 奈特人体胚胎学彩色图谱/高英茂主译. 2004, 人民卫生出版社, 北京.
- [22] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会, 张雪梅, 戚庆炜等. 胎儿染色体核型分析的判读指南. *中华医学遗传学杂志.* 2021, 38(5):409-413.
- [23] Standards and Guidelines for clinical genetics laboratories e: clinical cytogenetics. American college of medical genetics and genomics (ACMG). 2018.
- [24] Arsham MS, Barch MJ, HJ. L. *The AGT cytogenetics laboratory manual*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc. 2017.
- [25] CCMG practice guidelines for cytogenetic Analysis. A: Recommendations for the Indications, Analysis and Reporting of Prenatal Specimens. Canadian College of Medical Geneticists. 2010.
- [26] Donaghue C, Mann K, Docherty Z, et al. Detection of mosaicism for primary trisomies in prenatal samples by QF-PCR and karyotype analysis. *Prenat Diagn.* 2005, 25(1):65-72.
- [27] Mann K, Petek E, Pertl B. Prenatal Detection of Chromosome Aneuploidy by Quantitative Fluorescence PCR. *Methods Mol Biol.* 2019, 1885(139-160).
- [28] 荧光定量PCR技术在产前诊断中的应用协作组. 荧光定量PCR技术在产前诊断中的应用专家共识. *中华妇产科杂志,* 2016, 51(5):321-324.
- [29] Langlois S, Duncan A. Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. *J Obstet Gynaecol Can.* 2011, 33(9):955-960.
- [30] 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. *中华妇产科杂志,* 2014, 49(8):570-572.
- [31] Hall GK, Mackie FL, Hamilton S, et al. Chromosomal microarray analysis allows prenatal detection of low level mosaic autosomal aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2014, 34(5):505-507.
- [32] Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, et al. Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens. *Am J Med Genet A.* 2006, 140(24):2757-2767.
- [33] Cross J, Peters G, Wu Z, et al. Resolution of trisomic mosaicism in prenatal diagnosis: estimated performance of a 50K SNP microarray. *Prenat Diagn.* 2007, 27(13):1197-1204.
- [34] Liang D, Peng Y, Lv W, et al. Copy number variation sequencing for comprehensive diagnosis of chromosome disease syndromes. *J Mol Diagn.* 2014, 16(5):519-526.
- [35] Ma N, Xi H, Chen J, et al. Integrated CNV-seq, karyotyping and SNP-array analyses for effective prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism. *BMC Med Genomics.* 2021, 14(1):56.
- [36] 中华医学会医学遗传学分会临床遗传学组, 中国医师协会医学遗传医师分会遗传病产前诊断专业委员会, 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识. *中华医学遗传学杂志,* 2019, 36(4):293-296.
- [37] Wang J, Chen L, Zhou C, et al. Prospective chromosome analysis of 3429 amniocentesis samples in China using copy number variation sequencing. *Am J Obstet Gynecol.* 2018, 219(3):287 e281-287 e218.

[38] Xie C, Tammi MT. CNV-seq, a new method to detect copy number variation using high-throughput sequencing. *BMC Bioinformatics*. 2009, 10(80).

[39] El Khattabi L, Jaillard S, Andrieux J, et al. Clinical and molecular delineation of Tetrasomy 9p syndrome: report of 12 new cases and literature review. *Am J Med Genet A*. 2015, 167(6):1252-1261.

[40] Van Opstal D, Eggenhuizen GM, Joosten M, et al. Noninvasive prenatal testing as compared to chorionic villus sampling is more sensitive for the detection of confined placental mosaicism involving the cytotrophoblast. *Prenat Diagn*. 2020, 40(10):1338-1342.

[41] Brison N, Neofytou M, Dehaspe L, et al. Predicting fetoplacental chromosomal mosaicism during non-invasive prenatal testing. *Prenat Diagn*. 2018, 38(4):258-266.

[42] Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, et al. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Hum Reprod Update*. 2021.

[43] Eckmann-Scholz C, Mallek J, von Kaisenberg CS, et al. Chromosomal mosaicisms in prenatal diagnosis: correlation with first trimester screening and clinical outcome. *J Perinat Med*. 2012, 40(3):215-223.

[44] Helen V. Firth, Jane A. Hurst编著; 祁鸣, 黄涛生主译. 牛津案头参考手册: 临床遗传学. 2008, 浙江大学出版社, 浙江.

[45] Wallerstein R, Misra S, Dugar RB, et al. Current knowledge of prenatal diagnosis of mosaic autosomal trisomy in amniocytes: karyotype/phenotype correlations. *Prenat Diagn*. 2015, 35(9):841-847.

[46] Grati FR, Ferreira J, Benn P, et al. Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA. *Genet Med*. 2020, 22(2):309-316.

[47] Toutain J, Horovitz J, Saura R. Type 3 confined placental mosaicisms excluding trisomies 16 are also associated with adverse pregnancy outcomes. *Genet Med*. 2020, 22(2):446-447.

[48] Del Gobbo GF, Yin Y, Choufani S, et al. Genomic imbalances in the placenta are associated with poor fetal growth. *Mol Med*. 2021, 27(1):3.

[49] Lund ICB, Becher N, Christensen R, et al. Prevalence of mosaicism in uncultured chorionic villus samples after chromosomal microarray and clinical outcome in pregnancies affected by confined placental mosaicism. *Prenat Diagn*. 2020, 40(2):244-259.

