·临床研究·

家系全外显子组检测在胎儿股骨短小中的诊断应用

陈曼绮[1]，黄泽薇[2]，徐　琦[1]，张蜀宁[1]，陈晓君[2]，严海燕[1]，李　翔[2]，付　帅[1]
（1. 中山大学孙逸仙纪念医院产科，广东 广州 510120；2. 中山大学孙逸仙纪念医院深汕中心医院产前诊断与医学遗传中心，广东 汕尾 516600）

摘　要：【目的】为了提升胎儿股骨短小（FL）的遗传学病因诊断水平，探讨全外显子组测序（WES）与染色体异常检测联合应用在产前诊断中的价值。【方法】选取 2023 年 11 月至 2025 年 5 月于中山大学孙逸仙纪念医院深汕中心医院产前诊断与医学遗传中心就诊的 27 例孕中晚期股骨短小胎儿［FL＜同孕周第 5 百分位数或＜−2 标准差（SD）］为研究对象，采集羊水或脐血样本并行染色体核型分析（19 例）、染色体微阵列分析（CMA）或低深度全基因组测序（CNV-seq）（27 例），并开展家系三重全外显子组测序（Trio-WES）（27 例）。检测结果依据美国医学遗传学与基因组学学会（ACMG）指南进行致病性解读。【结果】27 例胎儿中，共 17 例检出 26 个基因组变异，包括染色体数目异常（嵌合型）、拷贝数变异（CNV）、单核苷酸变异（SNV）和插入缺失（INDEL）。其中 11 例病例检出的基因组变异可解释股骨短小的表型，总体诊断率为 11/27，其中致病/疑似致病变异解释 9 例，意义不明变异（VUS）解释 1 例，另外染色体核型分析发现染色体数目异常（嵌合型）解释 1 例。CNV 检测（CMA/CNV-seq）诊断率为 2/27，WES 诊断率为 10/27，并在 CNV 检测阴性或意义不明病例中额外提升诊断率 8/27。检出变异包括 *FGFR3*、*SHOX*、*DUOX2*、*CLCN5* 及 *HBA1/HBA2* 等基因相关致病突变。【结论】Trio-WES 检测可显著提高胎儿股骨短小的遗传学诊断率，尤其适用于常规染色体检测无法明确病因的病例。核型分析仍具备检测低比例嵌合的染色体大片段异常的能力，可对 WES 及 CNV 检测形成有效补充。推荐在产前诊断中采用阶梯式或并行遗传检测策略，以优化诊断效能与临床决策支持。

关键词：全外显子组；拷贝数变异；股骨短小；产前诊断；遗传病学
中图分类号：R714.5；R394　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-3554（2026）02-0368-11
DOI：10.11714/jsysu.med.YX20250170

Clinical Utility of Whole Exome Sequencing in the Diagnosis of Fetal Short Femur

CHEN Manqi[1], HUANG Zewei[2], XU Qi[1], ZHANG Shuning[1], CHEN Xiaojun[2], YAN Haiyan[1], LI Xiang[2], FU Shuai[1]
（1. Department of Obstetrics, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 2. Prenatal Diagnosis and Medical Genetics Center, Shenshan Medical Center, Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Shanwei 516600, China）
Correspondence to: FU Shuai; E-mail: fush7@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】To enhance the genetic diagnostic yield for fetal short femur length (FL) and to evaluate the integration of whole exome sequencing (WES) with chromosomal abnormality detection in prenatal diagnosis.【Methods】A total of 27 mid-to-late trimester fetuses diagnosed with short FL [FL < 5th percentile for gestational age or < −2 SD (Standard Deviation)] at the Prenatal Diagnosis And Medical Genetics Center, Shenshan Medical Center, Memorial Hospital of Sun Yat-Sen University between November 2023 and May 2025 were included. Amniotic fluid or umbilical cord blood samples were collected and subjected to chromosomal karyotyping (19cases), chromosomal microarray analysis

收稿日期：2025-11-13　　**录用日期：**2026-02-14
基金项目：汕尾市 2025 年科技支撑“百千万工程”专项资金（2025B001）
作者简介：陈曼绮，第一作者，研究方向：产前筛查与基因检测，E-mail：cmq199107@126.com；付帅，通信作者，副主任医师，研究方向：围产期高危胎儿产前筛查与临床研究，E-mail：fush7@mail.sysu.edu.cn

(CMA) or low-coverage whole genome copy number variation (CNV-Seq) (27 cases), and trio-based whole exome sequencing (trio-WES) (27 cases). The pathogenicity of genetic variants were interpreted according to the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) guidelines.【Results】Twenty-six genomic variants were detected in 17 of the 26 fetuses, including numerical chromosomal abnormalities (mosaic type), copy number variations (CNVs), single nucleotide variants (SNVs) and insertions-deletions (INDELs). Genomic variants detected in 11 cases could explain the short femur phenotype. The overall diagnostic rate was 11/27, with pathogenic/likely pathogenic variants explaining 9 cases and variants of uncertain significance (VUS) accounting for 1 cases. In addition Chromosomal karyotype analysis revealed chromosome mosaicism explaining 1 case. The diagnostic rate of CNV detection (CMA/CNV-seq) was 2/27, while WES achieved a diagnostic rate of 10/27, with an incremental yield of 8/27 in cases with negative or inconclusive CNV results. Pathogenic mutations involved genes such as *FGFR3*, *SHOX*, *DUOX2*, *CLCN5*, and *HBA1/HBA2*.【Conclusion】Trio-WES significantly improves the genetic diagnostic rate for fetal short femur length, particularly in cases where chromosomal analysis fails to identify a cause. Karyotyping remains valuable for detecting low-level mosaicism in large-scale chromosomal abnormalities, thereby complementing WES and CNV detection. A stepwise or parallel genetic testing strategy is recommended in prenatal diagnosis to optimize diagnostic efficiency and support clinical decision-making.

Key words: whole exome sequencing; copy number variation; short femur; prenatal diagnosis; genetic pathology

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci),2026,47(2):368-378]

胎儿股骨长度(femur length, FL)是产前超声监测的重要指标之一，常用于评估孕周、胎儿生长和骨骼发育等情况。短股骨作为一种产前常见软指标异常，病因复杂，既可能源于个体、家庭或种族特征导致的生理性差异，也可能提示胎儿生长受限、染色体异常或骨骼发育不良等病理状态[1-3]。尽管多数股骨短胎儿可获得正常分娩结局，但相关研究仍表明其与不良妊娠结局风险增加密切相关，因此，产前对股骨短的评估及准确诊断至关重要[3-4]。传统核型分析在分子诊断中的检验性能有限(>5 Mb)，而染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis，CMA)和基于高通量测序的拷贝数变异(copy number variation，CNV)检测CNV-seq可发现亚显微水平(>500 kb)的CNV，能解释更多的胎儿异常表型[5]。按照本中心实验室技术规范，对CNV-Seq发现的100 Kb以上的微缺失/微重复变异予以常规进行报告。然而，部分股骨短胎儿的病因来自单基因突变，常规CMA或CNV-seq仍难以检出。近年来，全外显子测序(whole exome sequencing，WES)在产前遗传学研究中的应用日益增多，为识别与骨骼发育异常相关的致病变异提供了新的途径[6-7]。本研究纳入了27例孕中期或孕晚期超声发现股骨短的胎儿，联合应用CMA/CNV-seq及WES，以全面探索其潜在的遗传学病因及临床意义。

1　材料与方法

1.1　研究对象

选取2023年11月到2025年5月因超声诊断胎儿股骨短(胎儿股骨小于相应孕周5%或2个标准差以上定义为股骨短)在中山大学孙逸仙纪念医院深汕中心医院产前诊断与医学遗传中心就诊的孕妇27例作为研究对象。纳入标准：①单胎妊娠；②母亲无严重妊娠期合并症，如重度妊娠相关高血压疾病、妊娠期糖尿病、自身免疫性疾病等；③接受介入性产前诊断并获得妊娠结局；④无明显孕期宫内感染。所有研究对象均知情同意自愿参与研究，该项目已经过医院伦理委员会批准(2025-SSKY-139-01)。

1.2　临床信息及数据采集

1.2.1　*临床资料收集*　收集胎儿股骨短孕妇的病例资料。包括年龄、孕产次、不良孕产史、产前诊断指征、穿刺孕周、孕中期超声结果、常见母体并发症、妊娠结局、分娩孕周，分娩方式、出生体质量。

1.2.2　*股骨长度的超声测量*　测量股骨两端骨化的干骺端之间的最长直线距离即为股骨长度。标尺均放置于股骨两端骨化的干骺端边缘，不包括远侧的骨骺，避免将三角形凸起毛刺伪影包括在内，使股骨边缘长度延伸并引起测量误差。对获得的胎儿股骨超声测量数值使用NICHD亚裔人群标准

进行计算,对胎儿股骨小于相应孕周5%或2个标准差(standard deviation, SD)以上定义为短股骨。

1.2.3 随 访 所有病例根据孕妇及家属意愿选择继续妊娠或终止妊娠,追踪并记录其妊娠结局,存活者持续随访至围产期结束;引产病例追踪大体结构及病理结果。

1.3 侵入性产前诊断

1.3.1 标本的采集 依据孕周大小,在超声引导下行羊膜腔穿刺术抽取羊水30 mL或脐静脉穿刺术抽取脐血3 mL。

1.3.2 核型分析 对羊水或脐血标本进行常规细胞培养、制片,G显带,按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)标准进行G显带核型分析诊断,显微镜下计数20个核型,分析5个核型,若出现嵌合体则计数100个核型。

1.3.3 染色体微阵列分析 采用美国Affymetric公司提供的高分辨率全基因组CytoScan 750K芯片进行染色体微阵列分析,检测胎儿染色体拷贝数变异,包括基因组缺失、重复,以及纯合状态和单亲同二体。CNV评级标准参考2019年ACMG和ClinGen专家协作组发布的基因组拷贝数变解读指南,主要参考数据库:DGV; DECIPHER; ClinGen Dosage Sensitivity Map; Clinvar; GeneReviews® ; CAGdb; UCSC; Leiden Muscular Dystrophy database ; UMD-DMD ; Pubmed。

1.3.4 CNV-seq检测及分析 胎儿羊水样本的基因组DNA经试剂盒提取后,进行酶切片段化、末端修复、接头连接及PCR扩增构建测序文库并完成质控。测序在MGISEQ-2000平台(MGI, Shenzhen, China)上完成,生成约500万条36 bp的测序读长。测序后原始数据经严格质控后,所得序列利用Burrows-Wheeler Aligner(BWA)比对至人类参考基因组(hg19, UCSC Genome Browser)。拷贝数变异(CNVs)的检测基于EXCAVATOR算法,通过对每条染色体按20 kb区间分箱并进行比较实现。所有检出的CNVs进一步经注释,并与公共数据库(包括DECIPHER、Database of Genomic Variants, DGV,以及Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)比对,以评估潜在致病性。

1.3.5 全外显子组测序及分析 胎儿羊水及父母外周血样本的基因组DNA分别经试剂盒提取后,进行打断并制备文库,然后通过BGI V4芯片对目标基因外显子及临近剪切区的DNA进行捕获和富集,最后使用MGISEQ-2000测序平台(MGI, Shenzhen, China)进行变异检测。测序数据质控指标为:目标区域平均有效测序深度≥100 X,其中目标区平均深度>20 X的位点所占比例>95%。测序后原始数据经严格质控后,所得序列利用Burrows-Wheeler Aligner(BWA)比对至人类参考基因组(hg19, UCSC Genome Browser),去除重复。使用GATK进行碱基质量值校正单核苷酸变异(single nucleotide variants, SNV)和插入缺失(insertions-deletions, INDEL)和基因型检测。使用ExomeDepth进行外显子水平的拷贝数变异检测。WES评分标准参考2015版ACMG变异分类指南及后续SVI工作组的更新指南,主要参考数据库及预测软件版本如下:ClinVar(2024-01-07);ESP6500(V2);千人基因组(Phase3);gnomAD(r2.1.1);ExAC(r1);BPDD(V4.0.3);BGIWX_disease;dbscSNV(1.1);SpliceAI(1.3); dbNSFP(4.4a); SIFT; MutationTaste; Polyphen2;Phylop;GERP等。

1.4 基因组变异的致病性解读

检出的基因组变异按照美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南进行致病性判定,分为致病变异、可能致病变异、意义不明变异(variants of uncertain significance, VUS)、可能良性变异和良性变异类别。在临床解读中,仅致病、可能致病及VUS结果被视为具有临床相关性。对于检测到的SNV及INDEL辅以Sanger测序进行验证。

1.5 统计学方法

采用SPSS tatistics 26.0软件(IBM Corp., Armonk, NY, USA)对数据进行整理和描述性统计分析,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\overline{X} \pm S$)表示,非正态分布的资料以中位数$M(P_{25}\sim P_{75})$表示,计数资料用频率及百分率[n(%)]表示。基于本研究样本量有限,且研究目的主要为描述性总结,我们未进行组间差异的推断性统计学检验。

2 结 果

2.1 一般临床资料

本研究共纳入27例股骨短且进行产前诊断的胎儿,包括21例孤立性股骨短和6例股骨短合并超声异常(胎儿腹腔积液、胎儿心胸横径比增大;胎儿胆囊缺如;双手多指及双足多趾;胎儿鼻梁扁平;胎

儿左侧第十二肋骨缺如、羊水过多），其中24例胎儿的股骨长度小于相应孕周均值2个标准差（*Z*值<−2 SD），3例股骨长度的*Z*值在−1.97 SD到−1.72 SD之间，但小于相应孕周5%（3.2%~4.4%；表1）。母体平均年龄28.7±4.1（18~36）岁。超声首次发现股骨短时的平均孕周为27.9±3.1（22^{+5}~33^{+5}）周。进行侵入性产前诊断时的平均孕周为27.9±3.3（18^{+6}~34^{+0}）周。在妊娠结局方面，6例选择引产，7例早产，14例足月分娩。

2.2　股骨短胎儿的综合遗传学检测与产前诊断结果

27例股骨短胎儿均同步进行了CNV检测（CMA或CNV-seq）和家系三人WES检测（胎儿及父母3人，trio-WES），其中有19例胎儿还开展了染色体核型分析。27例胎儿中共有16例（16/26）检出了26种基因组变异，包括14种CNV、11种SNV（单碱基变异）、1种INDEL（插入缺失变异），另外1例胎儿通过染色体核型分析检出嵌合性染色体数目异常（低比例X单体），详见表2。在检出的26种基因组变异中，致病变异有10种（10/27），包括4种CNV、5种SNV、1种INDEL；疑似致病变异有2种，均为SNV；意义不明变异有14种（14/27），包括10种CNV，4种SNV。短股骨合并其他超声异常组共有6例胎儿，在其中3名胎儿中检出1种致病CNV、1种致病SNV；1种疑似致病SNV，可解释胎儿表型1例（阳性检出率1/6）。孤立性短股骨组共有21例胎儿，在其中14个患者中检出变异23种，其中检出致病变异8种，包括3种CNV、4种SNV、1种INDEL；检出疑似致病变异有1种，为SNV；意义不明变异有14种，包括10种CNV，4种SNV，可解释胎儿表型9例，阳性检出率为9/21。

结合先证者家系的表型信息和相关基因变异的进一步文献调研结果，27例股骨短胎儿中共有11例胎儿的表型可以得到解释，总阳性检出率为11/27。其中，9例胎儿表型与致病或疑似致病变异相关，包括4例CNV、4例SNV或INDEL以及1例嵌合性染色体数目异常；2例胎儿表型与意义不明变异有关，均为SNV。有3例胎儿虽然检出了致病性变异（均为SNV），但变异基因与股骨短表型关联性不明，详见表2。

2.3　CNV检测与WES检测的结果比较

本次研究中，CNV检测（CMA或CNVseq）在9例股骨短胎儿中共检出了12种CNV，包括7种重复（Duplication）和5种缺失（Deletion）。按致病等级可分为2种致病CNV和10种意义不明CNV，整体诊断率2/27。WES检测在13例股骨短胎儿中检出了11种SNV和1种INDEL，检出4种CNV，均为缺失。按致病等级可分为10种致病变异、2种疑似致病变异和4种意义不明变异，共可解释10例异常表型，整体诊断率10/27，详见表3。

同时具有CNV检测和WES检测阳性结果的胎

表1　股骨短胎儿的相关临床特征

Table 1　Clinical characteristics of fetuses with short femur　（*n* =27）

US findings	Isolated short femur	Short femur with other US malformations
n	21	6
Z score		
Z>−2 SD	3	0
−2 SD≥*Z*≥−4 SD	17	5
−4 SD>*Z*	1	1
GA at initial diagnosis		
Mid-trimester（14~27^{+6} weeks）	12	4
Late-trimester（≥28 weeks）	9	2
Maternal age		
< 35 years	20	5
> 35 years	1	1
Results		
Chromosomal abnormalities	1	0
Copy number variations，CNV	9	1
Single nucleotide variants，SNV	7	2
Insertions-deletions，INDEL	1	0
Clinical interpretation	9（9/21）	1（1/6）
Pregnancy Outcomes		
Induction of labor	5	1
Preterm birth	7	0
Term delivery	9	5

US：ultrasound；GA：gestational age（weeks+days）.

表2 股骨短胎儿中检出的CNV阳性结果及妊娠结局

Table 2 The positive results of CNV in fetus with short femur and the pregnancy outcome

Case no.	Maternal age/year	GA at initial diagnosis/week	*Z* score	CNV results	Clinical Interpretation	Outcome
3	30	30^{+1}	−2.52	VUS: 100.18 kb duplication at 2q24.2 (copy number: 3)	Unexplained	C-section (39^{+3} weeks)
5	30	27^{+5}	−2.60	VUS: 101.40 kb deletion at 6q24.2 (copy number: 1)	Unexplained	TOP (32^{+6} weeks)
6	32	$26+^{6}$	−1.85	Pathogenic: 806.50 kb deletion at 16p12.2 (copy number: 1)	Explained	C-section (39^{+4} weeks)
7	30	26^{+2}	−2.14	VUS: 104.82 kb duplication at 5p12 (copy number: 3)	Unexplained	Vaginal delivery (40^{+3} weeks)
8	25	26^{+2}	−3.79	VUS: Three CNVs detected: 1. 198.48 kb deletion at 6q24.1 (copy number: 1); 2. 113.00 kb duplication at 9p13.3 (copy number: 3); 3. 404.60 kb deletion at 14q21.2 (copy number: 1)	Unexplained	C-section (37^{+2} weeks)
10	30	26^{+0}	−4.11	Pathogenic: 3.49 mb deletion at Xp22.33 (copy number: 1)	Explained	TOP (29^{+4} weeks)
12	24	25^{+4}	−2.28	VUS: 313.13 kb duplication at 11p14.1 (copy number: 3)	Unexplained	Vaginal delivery (39^{+1} weeks)
14	18	27^{+6}	−2.72	VUS: 2.33 Mb duplication at 1p13.3 (copy number: 3)	Unexplained	C-section (37^{+4} weeks)
15	29	27^{+0}	−2.85	VUS: Two CNVs detected: 1. 271.96 kb, duplication at 9p24.3 (copy number: 3); 2. 337.40 kb duplication at Xp11.21 (copy number: 3)	Unexplained	C-section (33^{+3} weeks), Fetal distress

US: ultrasound; GA: gestational age (weeks+days); VUS: variant of uncertain significance; TOP: termination of pregnancy; C-section: cesarean section. All the fetuses in this list have no other ultrasound abnormalities.

儿共有6例(6/27)。其中,在2例胎儿中CNV检测和WES检测检出的CNV相似,均为致病变异,且可解释表型。在CNV检测阴性的18例胎儿中,WES检测可在7例胎儿中额外检出7种基因变异,包括6种SNV和1种CNV(涉及*HBA1/HBA2*的16p13.3区域缺失,15.3 kb),共可解释4例胎儿表型。在CNV检测阳性但无法获得诊断的7例胎儿中,WES检测可在4例胎儿中额外检出7种基因变异,包括5例SNV,1例INDEL和1例CNV(*SHOX*基因6号外显子缺失,2.4 kb),共可解释4例胎儿表型。综上,WES(家系)检测可在CNV检测的基础上额外提升8/27的诊断率,详见表3。

表3　股骨短胎儿中检出的WES阳性结果及妊娠结局

Table 3　WES-positive results detected in fetuses with short femur and pregnancy outcomes

Case no.	Maternal age/year	GA at initial diagnosis /week	*Z* score	other US findings	WES results	Source of variation	Parental phenotype	Clinical Interpretation	Outcome
1	21	30^{+3}	−4.39	Cystic area in abdomen, Enlargement of the cardiac silhouette	Pathogenic: 15.11 kb homozygous deletion at chr16: 215997-231107 involving *HBA1/HBA2*	Heterozygous in mother only	None	Explained	TOP (32^{+4} weeks)
2	28	30^{+2}	−3.02	None	VUS: *SHOX*, c.633+3A>G	maternally inherited	*	Explained	TOP (33^{+4} weeks)
3	30	30^{+1}	−2.52	None	**Pathogenic:** *CLCN5*, c.727-2A>G hemizygous Likely pathogenic: *EVC*, c.2562-2A>C heterozygous	*CLCN5*: maternally inherited; *EVC*: paternally inherited	None	Explained	C-section (39^{+3} weeks)
4	34	29^{+4}	−3.73	None	Pathogenic: *FGFR3*, c.1138G>A (p.Gly380Arg) heterozygous	De novo variant	None	Explained	TOP (33^{+4} weeks)
5	30	27^{+5}	−2.60	None	Pathogenic: *SHOX*, EX6 deletion heterozygous	De novo variant	None	Explained	TOP (32^{+6} weeks)
6	32	26^{+6}	−1.85	None	Pathogenic: 0.42 mb deletion, 16p12.2 (21964744_22385630)x1	maternally inherited	**	Explained	C-section (39^{+4} weeks)
7	30	26^{+2}	−2.14	None	Pathogenic: *DUOX2* compound heterozygous: : 1. c.3285_3286delTT (p.Ile1097Leufs*24); 2. c.1588A>T (p.Lys530*), VUS: *PIEZO1*, chr16: 88786210, NM_001142864.2: c.6323G>A (p.Gly2108Glu)	*DUOX2*: 1. c.3285_3286delTT (p.Ile1097Leufs*24) maternally inherited; 2. c.1588A>T (p.Lys530*) paternally inherited *PIEZ01*: De novo variant	None	Explained	Vaginal delivery (40^{+3} weeks)

续表

Case no.	Maternal age/year	GA at initial diagnosis /week	*Z* score	other US findings	WES results	Source of variation	Parental phenotype	Clinical Interpretation	Outcome
8	25	26^{+2}	−3.79	None	VUS: *PIGB*, c.484A>G (p.Met162Val) homozygous	Heterozygous in both parents	None	Explained	C-section (37^{+2} weeks)
9	27	26^{+0}	−3.64	None	Pathogenic: *FGFR3*, c.1138G>A (p.Gly380Arg) heterozygous.	De novo variant	None	Explained	TOP (32^{+4} weeks)
10	30	26^{+0}	−4.11	None	Pathogenic: 3.72 mb deletion, Xp22.33 (60500_3777031)x1	maternally inherited	*	Explained	TOP (29^{+4} weeks)
13	32	27^{+2}	−2.66	Gallbladder agenesis	Pathogenic: *ALDH18A1*, c.755G>A (p.Arg252Gln) heterozygous	Paternally inherited	None	Unexplained	C-section (37 weeks)
16	26	26^{+6}	−3.15	Polydactyly	Likely pathogenic: *BRCA2*, c.8165C>T (p.Thr2722Ile) heterozygous	Maternally inherited	None	Unexplained	Vaginal delivery (38^{+6} weeks)
17	29	28^{+0}	−3.27	None	VUS: *GABBR1*, c.2156G>A (p.Gly719Asp) heterozygous	De novo variant	None	Unexplained	C-section (36 weeks)

US: Ultrasound; GA: Gestational age (weeks+days); VUS: Variant of uncertain significance; TOP: Termination of pregnancy; C-section: Cesarean section. * Mother's height:150 cm; ** Mother's height:149.2 cm,There is no obvious abnormality in intelligence and the development is normal.

3 讨 论

胎儿股骨长度是妊娠中期之后一个重要的测量指标,常被用来辅助评估胎儿生长发育状况。股骨短小是产前超声检查中常见的软指标之一,其病因复杂,既可能为良性体质变异,也可能与染色体异常、单基因遗传病或非整倍体等相关,为临床诊断带来挑战。近年来,染色体微阵列分析(CMA)与高通量测序技术的应用显著提高了胎儿各类超声异常的遗传学诊断率,包括骨骼发育异常[7-9]。本研究通过对27例中晚孕期股骨短小胎儿开展家系全外显子组测序(trio-WES)、CNV检测(CMA或CNV-seq)及核型分析,旨在明确产前股骨短的遗传学病因,评估trio-WES在CNV检测难以解释的病例中的额外诊断效能,并探讨不同遗传学检查在产前诊断胎儿股骨短小的应用价值与注意事项。

3.1 股骨短与染色体异常

胎儿骨骼系统发育异常已被众多研究证实与多种染色体异常相关,包括染色体非整倍异常和拷贝数变异(CNV)等。股骨短是提示胎儿染色体非整倍体的超声软指标之一,与21三体和Turner综合征(X单体)等密切相关,偶尔也会出现在染色体部分三体、染色体嵌合体等情况中[10]。Liu等[11]对59例股骨短胎儿同时进行了核型分析和CMA检测,发现了5例为21三体(8.5%),2例为X单体嵌合体(3.4%)。本次研究未发现21三体胎儿,可能

与纳入的病例数量偏少，以及部分21三体病例在出现股骨短的超声表型前已因唐氏筛查异常、颈项透明层厚度增宽等进行了核型分析等检测获得了诊断有关。在11号胎儿中通过核型分析发现了1例X单胎的低比例嵌合(45，X[3]/46，XN[97])，CMA和WES检测均为阴性。本例胎儿染色体核型检出嵌合比例低，但实验室分析时已严格进行2人独立培养和实验操作，检出的2种不同核型都出现在2线或2线以上培养瓶(培养瓶法)，且异常核型的染色体异常一致，遂予报出。因FISH通常无法准确检出极低比例嵌合(<10%)，结合胎儿股骨短与胎儿特纳嵌合相关，本例患者未经过FISH验证。股骨短小是产前超声筛查中Turner综合征的典型表现，X单体嵌合体的临床表现与Turner综合征有不同程度的相似，特征包括身材矮小、卵巢早衰和生殖系统发育不良[12]。

拷贝数变异(CNV)包括基因组片段的缺失和重复，是遗传病和出生缺陷的重要原因。CMA，也称染色体芯片，以微阵列比较基因组杂交(array-based comparative genomic hybridization，aCGH)和单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism array，SNP array)技术为基础，能够同时检测基因组中几乎所有的显微和亚显微水平的CNV。其中，SNP array技术既可以基于CNV诊断基因组缺失或重复导致的遗传综合征和染色体疾病，也可以通过SNP分析诊断纯合性区域(region of homozygosity，ROH)、不平衡易位等。

低深度全基因组测序技术是基于下一代测序(next generation sequencing，NGS)技术的基因组拷贝数变异测序(copy number varaition sequencing，CNV-Seq)。CNV-Seq采用NGS技术对样本DNA进行的低深度全基因组测序，通过生物信息分析以发现受检样本存在的CNVs[5]。

既往文献基于CMA的研究报道，致病性CNV在股骨短胎儿中的检出率介于3%－10%之间，如Cai等在218例股骨短胎儿中检出了33种CNV(15.1%。33/218)，其中19种致病性CNV(8.7%，19/218)[8]；Liu等[11]在64例股骨短胎儿中发现了11种CNV(17.2%，11/64)，2种致病性/疑似致病CNV(3.1%，2/64)；Li等[9]在161例股骨短胎儿中检出了12种致病性/疑似致病CNV(7.5%，12/161)；本次研究在27例股骨短胎儿中共检出了14种CNV，其中12种通过CMA或CNVseq技术检出，2例为致病性CNV(2/27)，与既往研究相近。不过整体CNV检出率为12/27(仅统计CMA和CNVseq结果)明显高于其他研究，可能与CNV-seq检出有关。相比于CMA技术主要检测已知致病性CNV，CNVseq技术无预设探针，因此可能检出更多种类的意义不明CNV[5]。本次研究在27例股骨短胎儿中检出2例致病性CNV，其中1例在股骨短合并胎儿腹腔积液、胎儿心胸横径比增大的胎儿中检出，1例在孤立股骨短的胎儿中检出。

股骨短相关的常见CNV包括Xp22.33、7q11.23、4p16.3等区域的微缺失/微重复，这些区域涵盖多个与骨骼或多系统生长发育相关的关键基因。如本次研究检出1例Xp22.33区域3 Mb以上的致病性杂合缺失，该区域缺失会破坏矮小同源盒基因(*SHOX*)功能，导致身材矮小或Leri-Weill软骨骨生成障碍[13-15]。本次研究还检出一例16p12.2区域约400 kb以上的致病性杂合缺失，DECIPHER数据库中发现1例相似大小CNV的患者记录。16p12.2复发性缺失的特征是临床表现多样，常见表型包括：发育迟缓、认知障碍、生长障碍(包括身材矮小)、心脏畸形、癫痫以及精神和/或行为问题。16p12.2复发性缺失以常染色体显性遗传方式遗传，约95%的患者是从父母处遗传而来，但外显率较低[16]。本例胎儿的16p12.2遗传自母亲，通过查阅母亲表型资料，其身高为149 cm，相对偏矮，未报道其他明显异常表型。

3.2　股骨短与单基因异常

随着高通量测序技术的普及，越来越多与骨骼或胎儿生长发育相关的单基因病因被揭示[17-18]。本次研究WES家系检测共在13例股骨短胎儿中检出了11种SNV和1种INDEL，以及2种小片段CNV，整体诊断率达10/27，与广东省妇幼保健院在2023年的研究结果相近。其团队通过WES家系检测，在94例股骨短胎儿中，检出了38例(40.4%，共16个基因，38个变异)由致病性变异(或疑似致病性)导致的股骨短胎儿；检出了5例(5.3%)可能由意义不明变异导致的股骨短胎儿[7]。另外，与近年其他三项队列研究结果相比，它们的产前WES诊断率显著更高，分别为80%(12/15)、85%(11/13)和70%(21/30)[11, 19-20]。WES检出率受多方面因素影响，如研究入选标准、病例数量、仅先证者或家系三重测序策略等。既往研究样本量较小，可能造成较高的选择偏倚。部分研究排除胎儿生长受限及非

遗传性病因,也可能引入选择偏倚。

本次研究检出的导致股骨短表型的单基因变异主要集中在*FGFR3*、*SHOX*等已知骨骼发育相关基因,同时也涉及*DUOX2*、*CLCN5*等可能与胎儿整体生长发育相关的非典型基因。成纤维细胞生长因子受体3(*FGFR3*)是四种特异性跨膜酪氨酸激酶之一,作为多种成纤维细胞生长因子的高亲和力受体,在骨骼发育中起关键作用[19, 21]。*FGFR3*基因功能获得性突变是导致软骨发育不全、致死性发育不良等骨骼疾病的最常见原因,其中c.1138G>A(p.G380R)为热点突变,该突变导致FGFR3受体持续激活,过度激活下游信号通路(如*MAPK*、*STAT*),抑制软骨细胞分化,引发骨骼发育障碍,呈显性遗传模式[21-22]。本研究亦检测到2例胎儿携带该经典变异(7.4%,2/27),均为胎儿新发变异。

*SHOX*基因(short stature homeobox-containing gene)是编码同源框转录因子的关键基因,位于X染色体上,可结合DNA调控靶基因表达,主要促进生长板软骨细胞分化与增殖,影响四肢长骨(桡骨、尺骨、胫骨、腓骨)和脊柱发育,参与骨骼发育和身高调控。*SHOX*基因突变导致的临床症状有明显的异质性,但身材矮小是其基本的表型特征,可导致特发性矮小、Leri-Weill软骨骨生成障碍综合征(LWD)、Langer肢中部骨发育不良(LMD)和Turner综合征(TS)等疾病。*SHOX*基因具有剂量敏感性,一个*SHOX*基因拷贝的功能异常可导致生长落后。*SHOX*基因可以逃避X染色体失活,在正常女性失活和未失活的X染色体上均可表达[23-24]。本次研究共检出2例携带*SHOX*基因突变的胎儿,其中5号病例携带*SHOX*基因6号外显子杂合性缺失(2.4 kb,hg19 chrX: 605125-607558),为新发突变,已有该变异的致病性报道[25]。该例于妊娠28周进行产前诊断,32^{+6}周引产。2号病例携带*SHOX*基因剪切区杂合SNV(*SHOX*,c.633+3A>G),遗传自母亲。虽然该变异目前致病性证据尚不充分,依据ACMG指南规则仅能判定为意义不明,但结合其所在功能域及既往类似报道,以及其母的身高特征(150 cm,相对偏矮),仍较大怀疑其致病可能,在本研究中认为可解释股骨短表型,应开展进一步功能实验以进行验证。

除经典基因外,本研究还检出*DUOX2*、*CLCNX*、*PIGB*等非典型基因突变,以及1例重型α地贫。*DUOX2*基因是编码双氧化酶2蛋白的关键基因,主要参与甲状腺激素合成,其缺陷可导致先天性甲状腺功能减退症(CH),多为常染色体隐性遗传。胎儿一般在妊娠12周后由甲状腺开始自主分泌激素,此前依赖母体供应。胎儿的甲状腺激素缺乏可能抑制软骨细胞增殖,影响长骨生长,另外还可导致神经元迁移和髓鞘化异常,增加智力障碍风险[26-27]。本次研究在7号病例中检出了2种不同的*DUOX2*基因致病性突变(复合杂合突变),分别遗传自父母双方。该胎儿在26^{+6}周进行产前诊断,于40^{+3}周顺产。*CLCN5*基因位于X染色体上,是编码氯离子通道蛋白的关键基因,主要参与肾脏和骨骼系统的离子转运,其突变则与Dent病相关,该病以低分子蛋白尿和佝偻病为主要表现,骨骼表现虽非其主要表型,但相关代谢性骨病可能间接影响长骨发育[28-29]。本次研究在3号病例中检出*CLCN5*剪切区的致病性突变(*CLCN5*,c.727-2A>G),遗传自母亲,胎儿为男性(半合子)。该胎儿在30^{+2}周进行产前诊断,于39^{+3}周进行剖宫产,新生儿随访结果未见明显异常。本次研究在8号病例中检出*PIGB*基因上一意义不明的纯合错义突变(*PIGB*,c.484A>G, p.Met162Val),其父母均为该突变的杂合携带者。*PIGB*基因(phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class B)编码磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成B类蛋白,参与糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定合成途径,对蛋白质的细胞膜定位和信号传导至关重要。PIGB的基因异常可导致婴儿早期癫痫性脑病80型等疾病,一般呈常染色体隐性遗传。婴儿早期癫痫性脑病80型患者有严重的全面发育延迟,且可能具有其他可变特征,包括畸形或粗糙的面部特征、远端骨骼畸形和听觉视觉的损伤[30]。本例检出的变异虽依据ACMG规则判定为意义不明,但鉴于该基因相关疾病与胎儿发育及骨骼异常密切相关,且胎儿基因型为纯合子,因此高度怀疑其为股骨短诱因。该胎儿后续于37周正常分娩,未见明显异常。此外,WES检测在本次研究中还检出了1例累及*HBA1/HBA2*基因(α珠蛋白基因)的小片段纯合缺失[15.1 kb,(chr16: 215997-231107)],诊断为--SEA/--SEA地贫,即重型α地贫,又称巴氏水肿胎。其母亲为杂合缺失,父亲为野生型,后经父亲精液地贫基因检测仍为野生型,考虑可能胎儿为新发的地贫基因缺失。重型α地贫胎儿由于4个α珠蛋白基因全部缺失不能合成α链,表达为γ链,聚合为四聚体γ4。这种血红蛋白

对氧的亲和力特很强，故胎儿因缺氧和严重贫血而致全身水肿，临床表现还包括腹部膨大，肝脾肿大，四肢短小等，常于妊娠晚期死亡。本例胎儿于妊娠30周因“胎儿股骨短、胎儿腹腔积液、胎儿心胸横径比增大”进行介入性产前诊断，32^{+4}周引产。这些结果提示，胎儿股骨短小未必均源于骨骼系统特异基因突变，代谢、内分泌等相关基因缺陷亦可能通过全身性生长发育障碍间接导致股骨偏短。

3.3　不同遗传学检测技术在股骨短小胎儿中的应用比较

随着遗传检测技术的不断发展，核型分析、CMA/CNV-seq和WES等技术已逐步整合应用于产前诊断中[31]。本研究结果显示，传统核型分析仍具备检测低比例嵌合非整倍体的能力，有效检出1例CNV和WES检测都未发现的低比例X单体嵌合体；CMA/CNV-seq对100 kb以上CNV的检测效能明确，尤其适用于Xp22.33等经典缺失综合征；而WES不仅能检测单核苷酸变异和小片段插入缺失，还可通过外显子覆盖深度分析识别外显子及临近区域小于100 kb的CNV，如本研究中SHOX外显子缺失和α珠蛋白基因缺失即通过WES成功检出。

从诊断率角度看，CNV检测对本研究的贡献为2/27，而WES将诊断率进一步提升至10/27，且完全覆盖CNV检测的致病性结果，证明其在胎儿股骨短小病例的遗传诊断中具有显著优势。类似地，Tang等[20]报道CMA在12例疑似骨骼发育不良的胎儿中仅检出1例致病性CNV，WES在剩余的11例CMA阴性胎儿中额外检出7例致病或疑似致病变异。Bai等[32]对55例经超声检查发现骨骼异常的胎儿，依次使用CNV-seq、靶向骨骼基因面板测序（panel检测）或WES进行序贯检测。共有81.82%的受累胎儿（45/55）获得了明确诊断，其中，在7个病例中发现了染色体异常，在38个病例中发现了36个单基因变异，包括从11个基因中发现的18个致病或疑似致病变异。

然而，各项技术亦存在明显局限性。CNV检测无法检出平衡性重排和低水平嵌合，且意义不明比例较高（本研究达83.3%，10/12）；WES对非编码区、深度内含子及线粒体变异检测能力有限，且数据解读高度依赖表型信息和数据库完整性。此外，WES成本较高、分析周期更长，也在一定程度上限制了其临床普及。

综上，对于产前诊断孕周较早的胎儿，可考虑采取阶梯式检测策略：首选核型分析+CNV检测以排除非整倍体及大片段CNV；如结果阴性或无法解释表型，进一步行trio-WES以挖掘单基因病因；对疑似骨骼发育不良者，可优先选择具有骨骼疾病相关基因包或trio-WES的分析方案。对于孕周较大或对诊断周期敏感的孕妇，可考虑多种技术并行检测，相互补充，在最短时间内最大程度提高诊断率，为遗传咨询和妊娠管理提供关键依据。

参考文献

[1] Zhang YX, Meng H, Jiang YX, et al. Chinese fetal biometry: reference equations and comparison with charts from other populations[J]. Matern Fetal Neonatal Med, 2019, 32(9): 1507-1515.

[2] Kasraeian M, Shahraki HR, Asadi N, et al. Cross-sectional study of fetal long-bone length in an Iranian population at 17-25 weeks of gestation[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2017, 137(1): 20-25.

[3] Tzadikevitch Geffen K, Singer A, Maya I, et al. Chromosomal microarray should be performed for cases of fetal short long bones detected prenatally[J]. Arch Gynecol Obstet, 2021, 303(1): 85-92.

[4] Kaijomaa M, Ulander V, Ryynanen M, et al. Risk of adverse outcomes in euploid pregnancies with isolated short fetal femur and humerus on second-trimester sonography[J]. Ultrasound Med, 2016, 35(12): 2675-2680.

[5] 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[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4): 293-296.
Clinical Genetics Group of Medical Genetics Branch Chinese Medical Association, Professional Committee for Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases Medical Genetics Branch of Chinese Medical Association, Group of Genetic Disease Prevention and Control Birth Defect Prevention and Control Committee of Chinese Society of Preventive Medicine. Expert consensus on the application of low-depth whole genome sequencing in prenatal diagnosis[J]. Chin J Med Genet, 2019, 36(4): 293-296.

[6] Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study [J]. Lancet, 2019, 393 (10173): 758-767.

[7] Huang Y, Liu C, Ding H, et al. Exome sequencing in fetuses with short long bones detected by ultrasonography: a retrospective cohort study [J]. Front Genet, 2023, 14: 1032346: 1-15.

[8] Cai M, Que Y, Chen M, et al. Pathogenic copy number variations are associated with foetal short femur length in a tertiary referral centre study [J]. Cell Mol Med, 2023, 27 (16): 2354-2361.

[9] Li Q, Zhang Z, Wang J, et al. Prenatal diagnosis of genetic aberrations in fetuses with short femur detected by ultrasound: a prospective cohort study [J]. Prenat Diagn, 2021, 41 (9): 1153-1163.

[10] Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LCY, et al. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21 [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2013, 41(3): 247-261.

[11] Liu J, Huang L, He Z, et al. Clinical value of genetic analysis in prenatal diagnosis of short femur [J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(11):e978.

[12] Wan KL, Brown EL, Krishnaswamy R, et al. Turner syndrome [J]. J Paediatr Child Health, 2025, 11. doi: 10.1111/jpc.70132.

[13] Wiel LC, Bruno I, Barbi, E, et al. From Wolf-Hirschhorn syndrome to NSD2 haploinsufficiency: a shifting paradigm through the description of a new case and a review of the literature[J]. Ital J Pediatr,2022, 48(1): 72.

[14] Homma TK, Krepischi, ACV, Furuya TK, et al. Recurrent copy number variants associated with syndromic short stature of unknown cause[J]. Horm Res Paediatr, 2018, 89(1): 13-21.

[15] Lü X, Yang X, Li L, et al. Prenatal diagnosis of 7q11.23 microdeletion: two cases report and literature review [J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(43):e34852.

[16] Pizzo L, Andrieux J, Amor DJ, et al. Clinical utility gene card for: 16p12.2 microdeletion [J]. Eur J Hum Genet, 2017, 25(2). doi: 10.1038/ejhg.2016.158.

[17] Jiang M, Zhang B, Wang J, et al. Exome sequencing and prenatal skeletal abnormalities: comprehensive review and meta-analysis and way forward [J]. Front Genet, 2025, 16: 1502538.

[18] Unger S, Ferreira CR, Mortier, GR, et al. Nosology of genetic skeletal disorders: 2023 revision[J]. Am J Med Genet A, 2023, 191(5): 1164-1209.

[19] Peng Y, Yang S, Huang X, et al. Whole exome sequencing analysis in fetal skeletal dysplasia detected by ultrasonography: an analysis of 38 cases [J]. Front Genet, 2021, 12: 728544.

[20] Tang H, Zhang Q, Xiang J, et al. Whole exome sequencing aids the diagnosis of fetal skeletal dysplasia[J]. Front Genet, 2021, 12: 599863.

[21] Ornitz DM, Marie PJ. Fibroblast growth factor signaling in skeletal development and disease [J]. Genes Dev, 2015, 29 (14): 1463-1486.

[22] Chen H, Zhang R, Jin M, et al. Advances in the mechanism and therapies of achondroplasia [J]. Genes Dis, 2025, 12 (4): 101436.

[23] Ogata T, Hattori A, Fukami M. SHOX and sex difference in height: a hypothesis[J]. Endocr J, 2025, 72(1): 37-42.

[24] Liu L, Li J, Li J, et al. Novel heterozygous mutation in the SHOX gene leading to familial idiopathic short stature: a case report and literature review[J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(41): e35471.

[25] Sandoval GT, Jaimes GC, Barrios MC, et al. SHOX gene and conserved noncoding element deletions/duplications in Colombian patients with idiopathic short stature [J]. Mol Genet Genomic Med, 2014, 2(2): 95-102.

[26] 谢婷, 谭敏沂, 蒋翔, 等. 31例新生儿筛查阴性的先天性甲状腺功能减退症患儿临床特点及转归[J]. 浙江大学学报(医学版), 2022, 51(3): 314-320.
Xie T, Tan MY, Jiang X, et al. Clinical features and outcomes of 31 children with congenital hypothyroidism missed by neonatal screening[J]. J Zhejiang Univ (Med Sci), 2022, 51(3): 314-320.

[27] Uehara E, Abe K, Tanase-Nakao K, et al. Molecular and clinical features of congenital hypothyroidism due to multiple DUOX2 variants[J]. Thyroid, 2024, 34(7): 827-836.

[28] Gianesello L, Del Prete D, Ceol M, et al. From protein uptake to Dent disease: an overview of the CLCN5 gene[J]. Gene, 2020, 747: 144662.

[29] Zhou H, Fu F, Wang Y, et al. Genetic causes of isolated and severe fetal growth restriction in normal chromosomal microarray analysis [J]. Int J Gynaecol Obstet, 2023, 161 (3): 1004-1011.

[30] Schiavoni S, Spagnoli C, Rizzi S, et al. Further delineation of PIGB-related early infantile epileptic encephalopathy[J]. Eur J Med Genet, 2021, 64(10):104268.

[31] 刘利娜, 吴和明, 郑志远, 等. 超声评估颈项透明层厚度增厚和鼻骨钙化不良结合染色体微阵列分析在胎儿产前诊断中的应用[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(19): 2755-2759.
Liu LN, Wu HM, Zheng ZY, et al. SHE. Application of ultrasound evaluation of NT thickening and nasal bone dyscalcification combined with CMA in prenatal diagnosis of fetuses[J]. J Pract Med, 2024, 40(19): 2755-2759.

[32] Bai Y, Sun Y, Liu N, et al. Genetic analysis of 55 cases with fetal skeletal dysplasia [J]. Orphanet J Rare Dis, 2022, 17 (1):410.

(编辑 余 菁)