

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00442

## 孕妇外周血中胎儿游离 DNA 在产前诊断中的应用

王文博<sup>1,2</sup>, 张毅<sup>2\*</sup>, 孙树汉<sup>2\*</sup>

- 1. 第二军医大学学员十队, 上海 200433
- 2. 第二军医大学基础部医学遗传学教研室, 上海 200433

**[摘要]** 孕妇外周血中胎儿游离 DNA 的发现, 为无创性产前诊断开辟了一条新途径。检测孕妇血浆中特异的胎儿 DNA 序列已被用于胎儿性连锁疾病鉴定、RhD 血型检查和多种单基因遗传病的产前诊断; 游离 DNA 水平的变化还可被用作某些妊娠相关疾病如先兆子、早产和胎儿染色体疾病的临床诊断新指标。本文对母体外周血中胎儿游离 DNA 的生化特征及其临床应用研究, 进行了总结和分析。

**[关键词]** 胎儿游离 DNA; 游离核酸; 无创性产前诊断; 基因诊断; 孕妇血浆

**[中图分类号]** R 714.55      **[文献标志码]** A      **[文章编号]** 0258-879X(2009)04-0442-05

### Prenatal diagnosis value of free fetal DNA in maternal blood

WANG Wen-bo<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi<sup>2\*</sup>, SUN Shu-han<sup>2\*</sup>

- 1. No. 10 Student Team, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
- 2. Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433

**[ABSTRACT]** The discovery of circulating fetal DNA paves a new way for non-invasive prenatal diagnosis. Examining the specific fetal DNA sequence of the circulating fetal DNA has been used for prenatal diagnosis of sex-linked disorders, fetal rhesus D blood typing and single gene inheritance disease. The variation of the circulating DNA levels can also be used for diagnosis of preeclampsia, premature delivery, and fetal chromosome disorders. This paper aims to review the biochemistry characters and clinical application of the circulating fetal DNA in maternal peripheral plasma.

**[KEY WORDS]** cell-free fetal DNA; circulating nucleic acid; non-invasive prenatal diagnosis; gene diagnosis; maternal blood  
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(4): 442-446]

产前筛查与诊断是妇产科保健的重要部分, 对正常怀孕的妇女, 通过孕期检查时的病史询问、母血清生化指标的检测、超声影像学的检查筛选出一部分高风险人群, 再针对此组人群选择适宜的方法进行相关的产前诊断。传统产前诊断方法一般采用羊膜腔穿刺、绒毛膜取样和脐静脉穿刺等, 它们都具有创伤性, 有发生感染、出血甚至流产、死胎的可能。长久以来人们致力于利用孕妇外周血中存在的胎儿有核细胞进行无创性产前诊断, 但由于母体外周血中胎儿有核细胞极少, 每毫升血中仅有 1~2 个<sup>[1]</sup>, 其分离、富集方法繁琐复杂, 且价格昂贵, 其临床应用至今不能推广。孕妇外周血中胎儿游离 DNA 的发现为无创性产前诊断带来了新的希望, 胎儿游离 DNA 含量相对高, 提取及分析过程简单, 易于发展为可应用于临床的大样本高通量的检测方法<sup>[1]</sup>。另外胎儿 DNA 在孕早期就可检测到, 且分娩后很快被清除, 不会受前次妊娠的影响。因此, 对孕妇外周血中胎儿游离 DNA 的检测及其临床应用研究将对无创性产前诊断技术的发展

产生重大影响。

#### 1 孕妇外周血中胎儿 DNA 的生物学特点

1.1 胎儿游离 DNA 的发现 早在几十年前, 研究者就发现人体外周血中存在微量的游离核酸。1977~1990 年, 多个课题组先后在肿瘤患者的外周血中发现了具有肿瘤特征的游离 DNA, 并且证实这些游离 DNA 大多来自患者自身的肿瘤细胞<sup>[2]</sup>。在妊娠过程中, 胎盘滋养层侵入子宫壁的机制类似于肿瘤细胞的入侵, 不同之处在于妊娠的浸润具有时间和空间性; 而在免疫学上, 胚胎之于母体类似于肿瘤之于机体, 有学者将胚胎的部分行为称为“伪恶性”。受此启发, Lo 等<sup>[3]</sup>认为孕妇外周血中应该也存在胎儿的游离 DNA, 并利用实时定量 PCR 的方法从孕妇血浆的总游离 DNA 中成功扩增出男性胎儿的 Y 染色体特异性序列 (SRY 基因序列), 首次证实胎儿 DNA 可以进入母体外周血循环, 并以游离 DNA 的形式稳定存在。

**[收稿日期]** 2008-09-27      **[接受日期]** 2008-11-18

**[基金项目]** 国家科技支撑计划(2006BAI05A05). Supported by the National Key Technology R&D Program of China (2006BAI05A05).

**[作者简介]** 王文博, 第二军医大学生物技术专业 2005 级学员. E-mail: ejdwbb@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding authors). Tel: 021-81871054, E-mail: yizhang@smmu.edu.cn; Tel: 021-81871053, E-mail: shsun@vip.sina.com

1.2 胎儿DNA的来源与释放机制 尽管胎儿游离DNA的存在已被众多学者所证实,但它们的来源及释放机制尚未完全阐明。一般认为胎儿游离DNA释放到母血中的机制可能有以下3种:

(1)胎儿有核细胞进入母体外周血后发生凋亡释放出游离DNA。妊娠期进入母体血循环的胎儿细胞包括淋巴细胞、粒细胞和有核红细胞等。胎儿细胞有穿越绒毛毛细血管内皮和滋养层基膜的现象,胎儿细胞在穿越胎盘时可能发生凋亡。因此孕妇血浆中的游离胎儿DNA可来源于进入母体血的胎儿有核细胞。但无法解释母体外周血中胎儿细胞很少而血浆中游离胎儿DNA含量丰富。Lo等<sup>[4]</sup>测定出孕妇血浆中胎儿游离DNA在早期和晚期妊娠含量是胎儿细胞DNA的970倍和775倍。并且发现胎儿有核细胞数量跟游离DNA浓度没有相关性,尤其在早产孕妇中,血浆游离胎儿DNA显著升高而胎儿有核细胞并没有增加<sup>[5-6]</sup>。分娩后胎儿游离DNA于2h内完全消失<sup>[4]</sup>,而胎儿有核细胞可存在于母血中长达27年之久。因此,即便游离胎儿DNA来源于进入母体的胎儿有核细胞,也只可能是很少部分。

(2)胎儿DNA经母-胎界面进入母血。游离胎儿DNA在羊水中的浓度近乎于母体血浆中的200倍,推测浓度梯度可能导致DNA分子的直接传输。虽然在脐血浆中可测得母源性DNA,但仅占胎儿血循环总游离DNA的0.9%(0.2%~8.4%),而母血中胎儿游离DNA占母体血循环总游离DNA的14.3%(2.3%~64%),说明游离DNA虽可直接穿越胎盘屏障,但此来源的可能也很少。

(3)胎盘滋养层细胞凋亡后释放游离的胎儿DNA。该说法获得了较多的实验支持。胎盘滋养层是母体与胎儿之间进行物质交换的胎源组织,早期胚胎的滋养层发育很快,孕4周时滋养层间隙即被母血所充盈,滋养层细胞可侵入到子宫基层甚至充当子宫螺旋小动脉的管壁,所以,合体滋养层细胞可直接深入母血中。许多研究表明整个正常妊娠期都存在着胎盘细胞的凋亡,晚期胎盘细胞的凋亡更加明显,而且滋养层细胞占凋亡细胞的大多数(>50%)。滋养层细胞的不断凋亡对胎盘的正常发育、维持胎盘的组织和功能完整性具有重要作用。妊娠最早期的胎盘形成处于相对缺氧的环境,最近的研究发现缺氧使滋养细胞凋亡增加,释放含有DNA的膜包裹凋亡小体<sup>[7]</sup>。先兆子 的患者由于胎盘浅着床而导致绒毛滋养细胞缺氧损伤,进而诱发大量绒毛滋养细胞凋亡,目前已发现患有先兆子 的孕妇血浆中胎儿DNA水平明显高于正常妊娠妇女(5~10倍),而且这种增高与疾病的严重程度相关。在可疑为先兆子 但无临床症状及体征的妇女体内监测到胎儿游离DNA含量增高,且后期这些孕妇最终发展为先兆子 。这些研究均支持胎盘滋养层细胞在正常生理和病理状况下的凋亡和损伤是母血中胎儿DNA的重要来源。

1.3 胎儿DNA的存在形式与特点 由于血浆游离胎儿DNA主要来源于凋亡的细胞,因此其特征可能具有细胞凋亡的生化特性即基因组DNA的片段化。Chan等<sup>[8]</sup>研究了孕妇血浆DNA片段的大小分布,表明孕妇血浆DNA片段比非孕妇血浆DNA片段长,且母体来源的DNA比胎儿

DNA长,在31例孕妇中血浆DNA>201bp的占57%,而34例非孕妇只占14%,胎儿来源的DNA仅有20%>193bp,但不超过313bp。目前对此现象尚无确切解释。由于上述研究只适用于<800bp的DNA片断,Li等<sup>[9]</sup>采用琼脂糖凝胶电泳、Southern杂交和定量PCR,使片段大小在10~20kb的DNA也能得到分析,发现胎儿DNA绝大部分<300bp,而母体来源的DNA平均>1kb。

1.4 动力学性质 很多实验室都证实了胎儿游离DNA在孕早期就在母血中出现,但各实验室检测到的具体时间不一致,存在波动。Lo等<sup>[10]</sup>证实在妊娠7周就可以检测到胎儿游离DNA,其浓度随妊娠周次的增加而增加。Rijnders等<sup>[11]</sup>在辅助生殖的孕妇妊娠37d就检测到了胎儿游离DNA,9周时检出率就达到100%。随后Chan等<sup>[12]</sup>发现在晚孕阶段,胎儿游离DNA平均每周增加29.3%。尽管胎儿游离DNA在母血循环中出现的时间和量有波动,但总的趋势还是随着孕周的增加而增加<sup>[13-14]</sup>,且在晚孕阶段还会有一个急剧增加的时期。

1.5 清除机制 孕妇血浆及血清中胎儿游离DNA的清除是学者们关注的另一热点,因为它关系到本次妊娠所进行的各项产前诊断是否受到上次妊娠的影响,即假阳性率问题。虽然胎儿游离DNA量在晚孕阶段急剧增加,但分娩后母血中胎儿游离DNA很快就被清除。Lo等<sup>[4]</sup>对8名孕有男性胎儿的孕妇连续检测,发现大部分孕妇在产后2h检测不到胎儿游离DNA,当时估计胎儿游离DNA平均半衰期是16.3min。说明分娩后胎儿游离DNA在产妇产体内被快速清除,研究中还表明血浆中的核酸酶仅对胎儿游离DNA的清除起部分作用,肝、肾和脾脏可能对清除起主要作用。

## 2 胎儿DNA的制备及其检测技术

2.1 胎儿DNA的制备 在胎儿游离DNA提取过程中,血样的放置时间、抗凝剂的使用、离心速度等都会影响提取DNA的量和实验结果的准确性、可靠性。

Angert等<sup>[15]</sup>考察了抽血后在EDTA抗凝管中放置时间对胎儿游离DNA的影响,发现放置时间对DNA总量有影响,而对胎儿游离DNA无影响,胎儿游离DNA在抽血后24h内都是稳定的,总DNA的增加可能是由于细胞凋亡、细胞死亡和溶解引起的母源DNA的增加。DNA总量与胎儿游离DNA检出的敏感性有关,母亲DNA量的增加会降低低拷贝数目胎儿游离DNA的检出。

在血液样本抗凝剂的选择方面,大多数学者选用EDTA来抗凝,Lam等<sup>[16]</sup>证实,6h内EDTA和肝素、柠檬酸钠效果无明显差别;而血样放置超过6h,EDTA的效果优于肝素和柠檬酸钠等抗凝剂。目前胎儿游离DNA一般采用2次离心之后取上层血浆用试剂盒来提取,然后应用实时定量PCR对胎儿游离DNA进行定量分析。第一次离心速度一般为1600×g左右,主要目的是将存在于血浆中的细胞沉淀初步分离出来同时又要防止细胞破损导致基因组DNA释放到血浆中。第二次离心一般为13000~16000×g的高速离心,进一步将残留血细胞去除。离心速度对胎儿游离DNA的提取至关重要,离心速度过快或在提取DNA之前血液放置时

间过久都会导致完整细胞破坏溶解,从而母血 DNA 量增加,造成胎儿游离 DNA 的相对稀释,影响后续实验如实时定量 PCR 对其的检测。因此胎儿游离 DNA 提取时应尽量减少血样放置时间,以减少细胞坏死和溶解,提高胎儿游离 DNA 的检出率。我们最近的实验证实,对于一些无法规避的长时间的血样存放(如血样采集点到实验室运输时间过长, $>24$  h),可以适当用甲醛处理血样来稳定细胞膜,减少母源 DNA 的释放;同时甲醛处理又可抑制血浆 DNA 酶对胎儿 DNA 的降解作用,最终提高胎儿 DNA 占母血总游离 DNA 的比例<sup>[17]</sup>。

**2.2 胎儿游离 DNA 的检测技术** 目前对孕妇外周血中胎儿游离 DNA 的应用大多局限于检测胎儿从父亲一方继承来的基因或突变,即检测的胎儿基因能与母亲 DNA 序列区分开来(如 Y 染色体上的 SRY、DYS14 基因,Rh 抗原基因等)。由于母亲外周血中的胎儿 DNA 处于一种高母体 DNA 的背景下,这使得检测从母亲继承来的胎儿等位基因曾被认为是不可可能的,但近来表观遗传学的发展提供了打破这些限制的可能。

表观遗传学是指 DNA 序列不发生变化但基因表达却发生了可遗传的改变,即基因型未变而表型却发生了改变。DNA 甲基化是最早发现也是最重要的基因表观修饰方式之一。2005 年 Chim 等<sup>[18]</sup>研究发现,maspin 基因在胎盘细胞中处于低甲基化,而在母血细胞中处于高甲基化,这种不同甲基化状态为其作为母血浆中胎儿游离 DNA 的筛选标记奠定了基础。同时发现,血浆中低甲基化的 maspin 序列中存在胎儿 SNPs 基因型。应用胎儿与母体 DNA 甲基化差异联合等位基因比例可用来无创诊断胎儿染色体异常疾病,如 18-三体、21-三体征。这表明,表观遗传学的方法能够用来发展孕期通用的胎儿 DNA 标记,且不受胎儿性别和胎儿与母亲遗传多态性的影响。

### 3 胎儿游离 DNA 在产前诊断中的临床应用

**3.1 胎儿性别鉴定** 利用孕妇血浆胎儿 DNA 进行性别判定对排除 X 连锁遗传病具有重要意义<sup>[19]</sup>。应用现代分子生物学技术,通过胎儿 DNA 判断胎儿性别已经达到很高的灵敏度。Honda 等<sup>[20]</sup>先通过常规 PCR 检测 13~14 周孕龄的胎儿性别,敏感性达 100%,后用实时定量 PCR 检测 5 周孕龄的胎儿性别,敏感性也接近 100%。通过性别判定,可进一步排除患性连锁遗传病的风险。Bartha 等<sup>[21]</sup>从妊娠 6 周的孕妇血浆中检出了男性胎儿的 SRY 基因,从而排除了女性胎儿因 21-羟化酶缺陷而患上先天性肾上腺增生的危险性。肌营养不良症是常见的 X 连锁隐性遗传病,利用游离胎儿 DNA 进行胎儿性别鉴定后,只需对孕男胎的妇女进行创伤性产前诊断,避免了孕女胎妇女进行创伤性产前诊断导致的不必要的流产致畸风险。

**3.2 胎儿 RhD 血型判断** RHD<sup>-</sup> 的孕妇如果第二胎生育 RHD<sup>+</sup> 的胎儿,就有可能引起胎儿红细胞破坏,进而出现严重的贫血症状,所以对 RHD<sup>-</sup> 孕妇产前胎儿的 RhD 血型检测非常重要,并对孕妇的抗 D 免疫球蛋白治疗方案有重要指导意义<sup>[22-23]</sup>。胎儿游离 DNA 的方法很早就被应用于胎儿

RhD 血型的检测。早在 1998 年,Lo 等<sup>[24]</sup>对 57 名 RHD<sup>-</sup> 的孕妇进行胎儿 RHD 基因的检测,在 12 个早孕的孕妇中有 2 个未检出,其余的 45 名处于中孕和晚孕阶段的孕妇胎儿 RhD 血型全部检出。目前,此项技术的敏感度有了很大提高<sup>[25]</sup>。Chinena 等<sup>[26]</sup>对 97 名 RHD<sup>-</sup> 的孕妇进行胎儿 RhD 血型检测,对 RHD 基因的第 7 外显子进行扩增,敏感度达到 100%,特异性 90.9%,假阴性 0%。

**3.3 妊娠相关疾病筛查** 一些学者研究发现,很多妊娠相关疾病都伴随胎儿游离 DNA 浓度的增加,如早产、先兆子、妊娠剧吐、侵入性胎盘等。其中研究最多最深入的是先兆子。先兆子的孕妇血浆中胎儿游离 DNA 浓度 326.2 copies/ml 明显高于正常对照组的 42.5 copies/ml ( $P < 0.01$ )<sup>[27-28]</sup>。Lau 等<sup>[29]</sup>发现在先兆子患者中胎儿游离 DNA 的半衰期(114 min)明显长于对照组(28 min)。研究发现:发展成为先兆子的孕妇血浆中胎儿游离 DNA 的浓度是相应对照组的 2.39 倍。

因此可以看出在先兆子患者中,胎儿游离 DNA 的量高于正常孕妇,且胎儿游离 DNA 的升高使先兆子症状出现的时间提前,而且升高的程度和先兆子的严重性相关。所以胎儿游离 DNA 可能是一种有应用价值潜力的先兆子患者筛检物。

**3.4 染色体疾病筛查** 随着母血中 DNA 分离和检测技术的改进,胎儿游离 DNA 成为检测非整倍体疾病的一项参考指标。Go 等<sup>[30]</sup>首先发现了母血浆中存在 21 号染色体特异表达 mRNA 片段 LOC90625,这为通过定量检测 mRNA 的表达异常来筛查唐氏综合征提供了可能。Lau 等<sup>[31]</sup>也在母血浆中发现了位于 21 号染色体上胎盘特异表达的 PLCA4 基因片段。为了通过 mRNA 来说明 21 号染色体含量上的差异,Lau 等选择了 PLCA4 编码区域一个 SNP 位点,由于在一个正常胎儿,人类染色体的二倍体性使得杂合性 SNP 其等位基因含量比例将会出现 1:1,而对于一个 21-三体患儿,其等位基因的含量比例将会为 1:2 或 2:1。因此可以用母血浆中胎盘表达的 mRNA 来无创性的评估胎盘细胞染色体含量的异常与否,也可以评估胎儿染色体数目异常与否。前述 2005 年 Chim 等<sup>[18]</sup>发现的在胎盘细胞中处于低甲基化状态而母血细胞中高甲基化状态的 maspin 基因,为表观遗传学用于发展孕期通用的胎儿 DNA 标记奠定了基础,在此研究思路下,Tong 等<sup>[32]</sup>通过对母血浆中 maspin 基因进行表观遗传学检测并对低甲基化的 maspin 基因序列上的等位基因进行了分析,由于 maspin 基因位于 18 号染色体,即可对 18-三体的存在进行确认。

唐氏综合征由于其发病率高而备受人们关注,为了寻找 21 号染色体可用于诊断的表观遗传标记,Hultén 等<sup>[33]</sup>采取了 3 种策略筛选差异甲基化的 DNA 序列:(1)在母血细胞和胎儿中高度差异表达基因的启动子序列;(2)随机的启动子区域;(3)随机的非启动子区域。用甲基化特异性限制性酶分析了 200 多个候选 DNA 序列,结果在 21q22.3 发现了 3 个差异甲基化序列:AIRE、SIM2 和 ERG 基因。其中 AIRE 基因启动子区域的 CpG 位点是高度差异甲基化的,可作为无创性产前诊断唐氏综合征重要的候选表观遗传标记。

3.5 单基因遗传病筛查 单基因遗传病是我国常见出生缺陷的重要原因之一, 较为常见且研究较多的有地中海贫血、苯丙酮尿症、肝豆状核变性、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷、软骨发育不良、囊性纤维化等。除部分单基因遗传病可通过手术加以矫正外, 绝大部分是致死、致残、致畸性疾病, 且目前均无法治疗, 产前诊断则是避免致死、致残、致畸性疾病胎儿出生的重要手段。

在  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血的诊断中, Galbiati 等<sup>[34]</sup> 采用 PNA 钳夹术(PNA-clamping), 以微电子芯片技术对 32 例孕妇诊断中通过检测 7 个常见的  $\beta$  珠蛋白突变得得到 100% 的准确度和 98.3% 的特异性, 这一研究日后若应用于临床, 将对出生前临床干预具有重大指导意义。

#### 4 展 望

胎儿游离 DNA 的含量较胎儿有核红细胞丰富、在母血中出现时间早且产后迅速清除等特征, 使未来的产前诊断更加安全可靠、简单、快捷、易于被患者接受。最近发展起来的后基因组技术对胎盘释放到母体液中的蛋白质和转录子的检测, 使胎儿相关的生物标记又有了新的扩展。尽管胎儿游离 DNA 具有众多的优势, 但仍存在一些问题有待解决: 如胎儿游离 DNA 的来源及清除机制还不甚清楚, 以及需要寻找更多的胎源性 DNA 标记物来诊断临床众多的遗传病及妊娠相关疾病。我们相信, 随着分子生物学技术的不断发展, 孕妇血浆及血清中的胎儿游离 DNA 必将成为未来无创伤性产前遗传病诊断最具临床应用价值的物质。

#### [参 考 文 献]

- [1] Hahn S, Zhong X Y, Holzgreve W. Recent progress in non-invasive prenatal diagnosis [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2008, 13:57-62.
- [2] Leon S A, Shapiro B, Sklaroff D M, Yaros M J. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy [J]. *Cancer Res*, 1977, 37:646-650.
- [3] Lo Y M, Corbetta N, Chamberlain P F, Rai V, Sargent I L, Redman C W, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet*, 1997, 350:485-487.
- [4] Lo Y M, Zhang J, Leung T N, Lau T K, Chang A M, Hjelm N M. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64:218-224.
- [5] Hyodo M, Samura O, Fujito N, Tanigawa M, Miyoshi H, Fujiwara H, et al. No correlation between the number of fetal nucleated cells and the amount of cell-free fetal DNA in maternal circulation either before or after delivery [J]. *Prenat Diagn*, 2007, 27:717-721.
- [6] Hahn S, Chitty L S. Noninvasive prenatal diagnosis: current practice and future perspectives [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2008, 20:146-151.
- [7] Bischoff F Z, Lewis D E, Simpson J L. Cell free fetal DNA in maternal blood: kinetics, source and structure [J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11:59-67.
- [8] Chan K C, Zhang J, Hui A B, Wong N, Lau T K, Leung T N, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma [J]. *Clin Chem*, 2004, 50:88-92.
- [9] Li Y, Zimmermann B, Rusterholz C, Kang A, Holzgreve W, Hahn S. Size separation of circulatory DNA in maternal plasma permits ready detection of fetal DNA polymorphisms [J]. *Clin Chem*, 2004, 50:1002-1011.
- [10] Lo Y M, Tein M S, Lau T K, Haines C J, Leung T N, Poon P M, et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis [J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62:768-775.
- [11] Rijnders R J, van der Lijst R B, Peters E D, Goeree J K, Van Der Schoot C E, Ploos Van Amstel J K, et al. Earliest gestational age for fetal sexing in cell-free maternal plasma [J]. *Prenat Diagn*, 2003, 23:1042-1044.
- [12] Chan L Y, Leung T N, Chan K C, Tai H L, Lau T K, Wong E M, et al. Serial analysis of fetal DNA concentrations in maternal plasma in late pregnancy [J]. *Clin Chem*, 2003, 49:678-680.
- [13] Illanes S, Denbow M, Kailasam C, Finning K, Soothill P W. Early detection of cell-free fetal DNA in maternal plasma [J]. *Early Hum Dev*, 2007, 83:563-566.
- [14] Horinek A, Korabecna M, Panczak A, Ulcova Gallova Z, Nouzova K, Calda P, et al. Cell-free fetal DNA in maternal plasma during physiological single male pregnancies: methodology issues and kinetics [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2008, 24:15-21.
- [15] Angert R M, LeShane E S, Lo Y M, Chan L Y, Delli-Bovi L C, Bianchi D W. Fetal cell-free plasma DNA concentrations in maternal blood are stable 24 hours after collection analysis of first and third-trimester samples [J]. *Clin Chem*, 2003, 49:195-198.
- [16] Lam N Y, Rainer T H, Chiu R W, Lo Y M. EDTA is a better anticoagulant than heparin or citrate for delayed blood processing for plasma DNA analysis [J]. *Clin Chem*, 2004, 50:256-257.
- [17] Zhang Y, Li Q, Hui N, Fei M, Hu Z, Sun S. Effect of formaldehyde treatment on the recovery of cell-free fetal DNA from maternal plasma at different processing times [J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 397:60-64.
- [18] Chim S S, Tong Y K, Chiu R W, Lau T K, Leung T N, Chan L Y, et al. Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102:14753-14758.
- [19] Finning K M, Chitty L S. Non-invasive fetal sex determination: Impact on clinical practice [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2008, 13:69-75.
- [20] Honda H, Miharu N, Ohashi Y, Samura O, Kinutani M, Hara T, et al. Fetal gender determination in early pregnancy through qualitative and quantitative analysis of fetal DNA in maternal serum [J]. *Hum Genet*, 2002, 110:75-79.
- [21] Bartha J L, Finning K, Soothill P W. Fetal sex determination from maternal blood at 6 weeks of gestation when at risk for 21-hydroxylase deficiency [J]. *Obstet Gynecol*, 2003, 101(5 Pt 2):1135-1136.
- [22] Van der Schoot C E, Soussan A A, Koelewijn J, Bonsel G, Paget-Christiaens L G, de Haas M. Non-invasive antenatal RHD typing [J]. *Transfus Clin Biol*, 2006, 13:53-57.
- [23] Daniels G, Finning K, Martin P, Summers J. Fetal RhD geno-

typing: A more efficient use of anti-D immunoglobulin[J]. *Transfus Clin Biol*, 2007, 14:568-571.

[24] Lo Y M, Hjelm N M, Fidler C, Sargent I L, Murphy M F, Chamberlain P F, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma[J]. *N Engl J Med*, 1998, 339:1734-1738.

[25] Geifman-Holtzman O, Grotegut C A, Gaughan J P. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood: a meta-analysis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 195: 1163-1173.

[26] Chinena P A, Nardozaa L M M, Camanoa L, Morona A F, Paresa D B S, Martinhagob C D, et al. Non-invasive fetal RHD genotyping by real-time polymerase chain reaction using plasma from D-negative Brazilian pregnant women[J]. *J Reprod Immunol*, 2007, 75:A8-A9.

[27] Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia[J]. *Lancet*, 2005, 365:785-799.

[28] Engel K, Plonka T, Bilar M, Orzinska A, Brojer E, Ronin-Walkowska E. The correlation between clinical characteristics of pre-eclampsia and the concentration of fetal DNA in maternal circulation [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2008, 139:256-257.

[29] Lau T W, Leung T N, Chan L Y, Lau T K, Chan K C, Tam W H, et al. Fetal DNA clearance from maternal plasma is im-

paired in preeclampsia[J]. *Clin Chem*, 2002, 48:2141-2146.

[30] Go A T J I, Visser A, Mulders M A M, Westerman B A, Blankenstein M A, Oudejans C B M, et al. First-trimester fetal mRNA of placental origin in maternal plasma[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 6:S111.

[31] Lau T K, Lo K W, Chan L Y, Leung T Y, Lo Y M. Cell-free fetal deoxyribonucleic acid in maternal circulation as a marker of fetal-maternal hemorrhage in patients undergoing external cephalic version near term[J]. *Amr J Obstet Gynecol*, 2000, 183:712-716.

[32] Tong Y K, Ding C M, Chiu R W K, Gerovassili A, Chim S S C, Leung T Y, et al. Noninvasive prenatal detection of fetal trisomy 18 by epigenetic allelic ratio analysis in maternal plasma: Theoretical and empirical considerations[J]. *Clin Chem*, 2006, 52:2194-2202.

[33] Hultén M A, Old R W. Non-invasive prenatal diagnosis of Down's syndrome[J]. *Lancet*, 2007,369:1997.

[34] Galbiati S, Foglieni B, Travi M, Curcio C, Restagno G, Sbaiz L, et al. Peptide-nucleic acid-mediated enriched polymerase chain reaction as a key point for non-invasive prenatal diagnosis of beta-thalassemia[J]. *Haematologica*, 2008, 93:610-614.

[本文编辑] 尹 茶

· 读者 作者 编者 ·

### 中草药名称中文、拉丁文及英文对照表(二十一)

汉语拼音名	中文名	拉丁名	英文名
Shiliupi	石榴皮	<i>Pericarpium Granati</i>	Pomegranate Rind
Shilongrui	石龙芮	<i>Herba Ranunculi Scelerati</i>	Poisonous Buttercup Herb
Shinanye	石南叶	<i>Folium Photiniae</i>	Chinese Photinia Leaf
Shishangbai	石上柏	<i>Herba Selaginellae Doederleinii</i>	Doederlein's Spikemoss Herb
Shisuan	石蒜	<i>Bulbus Lycoridis Radiatae</i>	Shorttube Lycoris Bulb
Shiwei	石韦	<i>Folium Pyrrosiae</i>	Pyrrosia Leaf
Shixiantao	石仙桃	<i>Herba Pholidotae Chinensis</i>	Chinese Pholidota Herb
Shufuchong	鼠妇虫	<i>Armadillidium</i>	Pillbug
Shuihonghuazi	水蓼花子	<i>Fructus Polygoni Orientalis</i>	Prince's-feather Fruit
Shuilonggu	水龙骨	<i>Rhizoma Polypodioidis Nipponicae</i>	Japanese Polypody Rhizome
Shuiniujiao	水牛角	<i>Cornu Bubali</i>	Buffalo Horn
Shuitianqi	水田七	<i>Rhizoma Schizocapsae Plantagineae</i>	Lobedfruit Schizocapsa Rhizome
Shuiwugong	水蜈蚣	<i>Herba Kyllingae</i>	Shortleaf Kyllinga Herb
Shuixiancao	水线草	<i>Herba Hedyotidis Corymbosae</i>	Corymbose Hedyotis Herb
Shuiyangmei	水杨梅	<i>Fructus Adinae</i>	Thinleaf Adina Fruit
Shuizhi	水蛭	<i>Hirudo</i>	Leech
Shuliang	薯蓣	<i>Rhizoma Dioscoreae Cirrhosae</i>	Shouliang Yam Rhizome
Shuqucao	鼠曲草	<i>Herba Gnaphalii Affinis</i>	Cudweed Herb
Sigualuo	丝瓜络	<i>Retinervus Luffae Fructus</i>	Towel Gourd Vegetable Sponge
Siguateng	丝瓜藤	<i>Ramulus Luffae</i>	Towel Gourd Stem
Sijiqing	四季青	<i>Folium Ilicis Purpureae</i>	Purpleflower Holly Leaf
Simianmu	丝绵木	<i>Herba Euonymi Bungeani</i>	Winterberry Euonymus Herb
Songhuafen	松花粉	<i>Pollen Pini</i>	Pine Pollen
Songluo	松萝	<i>Usnea</i>	Chinese Usnea
Songmao	松毛	<i>Folium Pini</i>	Pine Leaf
Songta	松塔	<i>Strobilus Pini</i>	Bunge Pine Cone
Songxiang	松香	<i>Colophonium</i>	Colophony