

NIPT 检测罕见常染色体非整倍体的临床意义

胡亮 刘金星 温丽娟 裴元元 罗琪 魏凤香*

(深圳市龙岗区妇幼保健院 中心实验室, 广东 深圳 518172)

【摘要】 目的 探讨无创产前检测(noninvasive prenatal testing, NIPT)中罕见常染色体非整倍体(rare autosomal aneuploidies, RAAs)的临床意义,为 NIPT 临床应用提供参考。**方法** 以 2017 年 11 月至 2020 年 10 月进行 NIPT 的 78 295 例单胎妊娠孕妇为研究对象。NIPT 提示 RAAs 者,通过染色体核型分析及染色体微阵列(chromosome microarray, CMA)进一步产前诊断。统计分析 NIPT 检测 RAAs 的阳性率、阳性预测值以及孕妇年龄与孕周对阳性率的影响。**结果** 78 295 例受检孕妇中,检出 RAAs 238 例,发生率为 0.30%。常染色体三体,主要分布于 7 号及 8 号染色体,常染色体单体主要分布于 16 号染色体。孕妇年龄与孕周在 RAAs 组与非 RAAs 组的差异无统计学意义。116 例进行了产前诊断的孕妇最终确诊 5 例,其中 1 例为 7 号三体嵌合,2 例为 9 号三体嵌合,1 例为 15 号三体嵌合,1 例为 16 号染色体部分重复。NIPT 检测 RAAs 的阳性预测值为 5.95%。**结论** NIPT 提示的 RAAs 临床意义十分有限,在遗传咨询中应结合临床实际向孕妇明确后续产前诊断的必要性,避免不必要的心理负担及有创性穿刺。

【关键词】 无创产前检测;罕见常染色体非整倍体;阳性预测值

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

Clinical significance of detecting rare autosomal aneuploidies by NIPT

Hu Liang, Liu Jinxing, Wen Lijuan, Pei Yuanyuan, Luo Qi, Wei Fengxiang*

(Shenzhen Longgang Maternal and Child Health Hospital, Guangdong Shenzhen 518172, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of rare autosomal aneuploidies (RAAs) in noninvasive prenatal testing (NIPT), and to provide reference for the clinical application of NIPT.

Methods 78 295 singleton pregnant women who underwent NIPT from November 2017 to October 2020 were selected as the research objects. If NIPT indicates RAAs, karyotype analysis and chromosome microarray (CMA) are recommended for further prenatal diagnosis. The positive rate, positive predictive value and the influence of pregnant women's age and gestational weeks on the positive rate of NIPT in detecting RAAs were statistically analyzed. **Results** Of 78 295 pregnant women, 238 cases of RAAs were detected, the incidence was 0.30%. The autosomal trisomy is mainly distributed on chromosome 7 and chromosome 8, and the autosomal monomer is mainly distributed on chromosome 16. There was no significant difference between the pregnant age and the gestational week between the RAAs group and the non RAAs group. 116 pregnant women who had prenatal diagnosis were finally diagnosed in 5 cases, including 1 case of trisomy 7 chimera, 2 cases of trisomy 9 chimera, 1 case of trisomy 15 chimera and 1 case of partial duplication of chromosome 16. The positive predictive value of NIPT was 5.95%. **Conclusion**

The clinical significance of RAAs suggested by NIPT is very limited. In genetic counseling, we should make clear to pregnant women the necessity of follow-up prenatal diagnosis in combination with clinical

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.03.006

基金项目:深圳市龙岗区医疗卫生科技计划项目(LGKCYLWS2020149, LGKCYLWS2020111);深圳市龙岗区出生缺陷预防重点实验室项目(LGKCZSYS2018000010)

* 通信作者:魏凤香,Email: haowei727499@163.com

practice, so as to avoid unnecessary psychological burden and invasive puncture.

【Key words】 noninvasive prenatal testing; rare autosomal aneuploidies; positive predictive value

近年来,应用高通量基因测序技术检测孕期母体外周血中胎儿游离 DNA 片段,以评估胎儿常见染色体非整倍体异常风险的无创产前检测(noninvasive prenatal testing, NIPT)在临床得到快速应用。根据目前技术发展水平,NIPT 的目标疾病为 3 种常见胎儿染色体非整倍体异常,即 21 三体综合征、18 三体综合征、13 三体综合征,具有阳性预测值及检出率较高的优点^[1]。该技术检测不同染色体来源的游离 DNA 片段,除目标疾病外可得到其他染色体是否存在异常的提示,包括拷贝数变异(copy number variations, CNVs)、性染色体异常(sex chromosomal abnormalities, SCA)以及罕见常染色体非整倍体(rare autosomal aneuploidies, RAAs)等。根据《孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断技术规范》,对于目标疾病以外的其他异常高风险结果,产前诊断机构应当告知孕妇本人或其家属进行进一步咨询和诊断。已有研究表明 NIPT 对 CNVs 及 SCA 具有一定的筛查效果,但对 RAAs 存在较高的假阳性率,临床应用价值有限。NIPT 检测出的 RAAs 为遗传咨询以及孕妇下一步的诊治选择带来了一定的困扰。

本研究旨在通过回顾性分析无创产前检测存在 RAAs 的孕妇的产前诊断及后续随访情况,进一步探讨无创产前检测中 RAAs 的临床意义,为临床应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2017 年 11 月至 2020 年 10 月,于深圳市龙岗区妇幼保健院进行无创产前检测的单胎妊娠孕妇,共计 78 295 例。纳入标准包括:孕周满 12 周;单胎妊娠或采血时双胎之一停育超过 8 周;夫妇双方无明确的染色体异常及单基因病家族史;孕妇本人无合并恶性肿瘤;1 年内未接受异体输血、移植手术、异体细胞治疗等;胎儿超声检查未提示存在需要产前诊断的结构异常。本研究经深圳市龙岗区妇幼保健院伦理委员会审核通过。研究对象均被书面告知及同意其信息在保护受检者隐私的前提下,可能用于非盈利性科学研究。

1.2 NIPT 采集孕妇静脉血 5ml,4℃ 3500g 离心 10 分钟,取上层血浆 16 000g 离心 10 分钟,再取上层血浆 -80℃ 保存备用或利用 SP300(中国 AMTK)提取血浆中游离 DNA 并构建文库,使用 BGI SEQ500(中国 华大智造)测序平台进行单端测序,读长 35bp。样本测序量不少于 3.5Mb,GC 含量介于 0.38—0.42,胎儿游离 DNA 浓度大于 3.5% 视为通过测序质控^[2]。利用华大基因 HALOS 平台进行 NIPT 生物信息学分析并得出是否存在 RAAs 的结果。

1.3 产前诊断及随访 对 NIPT 提示 RAAs 的孕妇,建议进行产前诊断以进一步明确诊断。孕 16 周至 24 周进行羊水穿刺,25 周以上的孕妇进行脐带血穿刺。羊水或脐带血进行染色体核型分析及染色体微阵列分析(chromosome microarray, CMA)检测。

染色体核型分析,采用 G 显带核型分析,核型判读依据《人类细胞遗传学国际命名体制(2016)》。对于难以判断的异染色质、随体等变异通过 C 带或 N 带进行验证。

染色体微阵列分析,按照美国 Affymetrix 公司 Cytoscan750k 基因芯片标准操作规程进行基因组 DNA 消化、连接、扩增、纯化、片段化、标记和杂交,洗涤后对芯片荧光信号进行扫描,扫描结果使用 Affymetrix 公司提供的 Chromosome Analysis Suite(ChAs)4.0 版分析软件进行分析。

对所有受检孕妇,随访至分娩后 3 个月,随访方式包括电话随访及查阅妇幼信息数据库。随访内容包括产前诊断情况、孕期产检监测结果、妊娠结局以及新生儿出生缺陷情况等。

1.4 统计学分析 统计学分析使用 R 语言 3.6.2 版本。计量资料描述采用均值±标准差。正态分布计量资料比较采用 t 检验,非正态计量资料比较采用 Mann-Whitney 检验。计数资料采用卡方检验。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

本研究中阳性预测值(PPV)计算方式如下:

NIPT 检测 RAAs 的 PPV = 产前诊断阳性例数 / (NIPT 检出 RAAs 数 - 失访数 - 未产前诊断数)

2 结果

2.1 NIPT 78 295 例受检孕妇中,NIPT 检出RAAs 异常 238 例,发生率为 0.30%。其中三体 196 例,单体 42 例,分别占异常总数的 82.35%,17.65%。各染色体的异常发生数见表 1。其余 78 057 例受检孕妇中,除去 13/18/21 号染色体非整倍体、性染色体异常、染色体微缺失微重复外,76 824 例 NIPT 结果阴性。

表 1 RAAs 分布统计

染色体	单体(例)	三体(例)
1	1	2
2	0	0
3	0	12
4	2	3
5	0	8
6	0	1
7	0	75
8	0	32
9	1	7
10	0	6
11	0	2
12	0	1
14	8	5
15	0	10
16	26	17
17	0	1
19	0	0
20	3	9
22	1	5
合计	42	196

RAAs 阳性及 NIPT 阴性孕妇受检时年龄分别为(29.35±5)岁,(29.30±4.62)岁,差异无统计学意义($P=0.8788$);受检时孕周分别为(120.23±30.05)天,(118.02±22.92)天,差异无统计学意义($P=0.2537$)。

2.2 产前诊断及随访结果 在 238 例 NIPT 提示存在 RAAs 的孕妇中,116 例进行了产前诊断,产前诊断率为 48.74%,其中羊膜腔穿刺 111 例,脐血穿刺 5 例,分别占 95.69%,4.31%。RAAs 阳性孕妇中,35 岁及以上的高龄妊娠孕妇 36 例,15 例进行了产前诊断;35 岁以下孕妇 202 例,101 例进行了产前诊断。产前诊断率分别为 41.67%、50.00%,差异无统计学意义($P=0.696$)。

产前诊断共计确诊 5 例,其中 1 例为 7 号三体嵌合,2 例为 9 号三体嵌合,1 例为 15 号三体嵌合,1 例为 16 号染色体部分重复,见表 2。

对所有 RAAs 孕妇进行随访,其中 32 例失访,5 例因产前诊断结果异常终止妊娠,4 例因其他原因终止妊娠。在产前诊断结果正常及未产前诊断的孕妇中,无出生缺陷儿出生。追踪 RAAs 孕妇的孕期超声结果,除 9 例终止妊娠的孕妇外,其余均未见明显畸形。

2.3 NIPT 检测 RAAs 的 PPV 在有效随访的人群中,NIPT 检测 RAAs 的阳性预测值为 5.95%。在 78057 例 NIPT 未提示 RAAs 的孕妇中,未发现确诊存在 RAAs 的胎儿或新生儿。

表 2 RAAs 产前诊断阳性结果分析

序号	NIPT			产前诊断			妊娠结局
	异常染色体	异常染色体 Z 值	胎儿游离 DNA 浓度 (%)	产前诊断样本类型	染色体核型	CMA	
1	10(三体)	7.096	11.831	羊水	46,XN,dup(16)(p11.2)	arr[hg19]16p12.1p11.1(26,036,648-35,283,213)x3	终止妊娠
2	7(三体)	6.524	21.945	羊水	47,XN,+7[8]/46,XN[42]	---	终止妊娠
3	9(三体)	12.468	11.972	羊水	47,XN,+9[5]/46,XN[45]	---	终止妊娠
4	9(三体)	6.077	7.19	羊水	47,XN,+9[4]/46,XN[42]	---	终止妊娠
5	15(三体)	9.728	10.078	羊水	47,XN,+15[42]/46,XN[8]	---	终止妊娠

3 讨论

NIPT 对染色体异常的检出可分为 4 类:目标染色体,即 13/18/21 号染色体非整倍体;性染色体异常;罕见常染色体非整倍体;染色体微缺失微重

复。已有大量研究证实,对于目标染色体,NIPT 具有较高的阳性预测值、特异性及敏感性,目前在临床实践中作为一线筛查技术被广泛应用。除目标染色体外,NIPT 对性染色体异常也具有一定提示作用。对于染色体微缺失及微重复,NIPT 的检出效果受

测序深度影响较大,在常规低深度 NIPT 中阳性预测值约 10%。而大多数研究认为 NIPT 对 RAAs 的提示作用有限^[3, 4]。美国医学遗传学与基因组学会(ACMG)不推荐 NIPT 报告 RAAs^[5]。但也有研究认为 NIPT 对 RAAs 存在一定的临床参考价值,应当将 RAAs 作为意外发现提示给临床医师及孕妇^[6, 7]。

本研究通过 NIPT 在 78 295 例孕妇中发现了 238 例 RAAs,阳性率与已有报道接近。在 NIPT 提示的 RAAs 中,常染色体三体,主要分布于 7 号及 8 号染色体,常染色体单体主要分布于 16 号染色体。在针对 NIPT 检出 RAAs 的多项研究中,RAAs 所涉及染色体略有差异。徐红在通过对潍坊市 44 578 例 NIPT 结果分析发现,8 号、16 号及 22 号染色体三体最多见^[8]。Nathalie Brison 等人报道,7 号及 16 号三体最多见^[9]。在 Fergus Scott 等人的研究中 7 号、16 号、22 号染色体三体最多见^[6]。而在 Mark Pertile 等人的研究中,7 号、15 号、16 号染色体三体最多见^[10]。不同研究的差异可能与样本量、研究人群及实验平台的差异有关。

NIPT 基于母体外周血中的游离 DNA 片段,其中胎儿游离 DNA 仅占总游离 DNA 的 3%~30%。胎儿游离 DNA 来源于胎盘细胞滋养层细胞。细胞滋养层细胞与胎儿细胞共同起源于受精卵,经桑葚胚后由滋养层和内细胞团分别发育而成。因此可能存在遗传组成的差异。大量研究显示,胎盘限制性嵌合,即胎盘滋养层细胞与胎儿的遗传物质不一致是导致 NIPT 假阳性和假阴性的重要机制。本研究中,NIPT 检出的 RAAs 存在大量假阳性,可能是由这一机制所造成。Peter Benn 等人比较了胎盘滋养层细胞核型、NIPT 检出的 RAAs 以及自然流产胎盘组织核型,发现 NIPT 检出的 RAAs 的染色体分布与胎盘滋养层细胞异常染色体分布类似,而与自然流产孕妇胎盘组织中检出的 RAAs 分布不同^[11]。在其研究中 NIPT 检出的 RAAs 及胎盘滋养层细胞中 7 号染色体三体最为常见,自然流产胎盘组织中检出的 RAAs 主要为 15 号、16 号及 22 号染色体三体,7 号染色体三体不多见。这一差异提示 NIPT 检出的染色体三体可能实际反映了胎盘滋养层真实

的染色体非整倍体状态,同时也是可能存在胎盘疾病或宫内生长受限等胎儿异常的提示^[10, 12, 13]。

本研究中,NIPT 对 RAAs 的阳性预测值仅为 5.95%,与同类报道相近^[3, 14, 15]。这一预测效果远低于 NIPT 对目标疾病以及性染色体异常和染色体微缺失重复的预测效果,且大部分 RAAs 所导致的畸形可在后续超声检测中发现。故 NIPT 提示的 RAAs 对于出生缺陷预防的临床意义十分有限,在遗传咨询中应结合临床实际决定后续产前诊断的必要性,避免不必要的心理负担及有创性穿刺。

由于本地 NIPT 为全人群筛查模式,即无禁忌征的孕妇均可纳入筛查范围,而不仅仅局限于高风险孕妇人群。本研究可为不同地区 NIPT 筛查模式的应用提供参考。

参 考 文 献

- [1] ZHANG H, GAO Y, JIANG F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(5):530-538.
- [2] JIANG FM, REN JH, CHEN F, et al. Noninvasive Fetal Trisomy (NIFTY) test: an advanced noninvasive prenatal diagnosis methodology for fetal autosomal and sex chromosomal aneuploidies[J]. *BMC Med Genomics*, 2012, 5:57.
- [3] 张玉鑫, 闫露露, 刘颖文, 等. 无创产前检测对于筛查非目标染色体异常的价值[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(6):621-626.
- [4] LUO YM, HU HM, JIANG LP, et al. A retrospective analysis the clinic data and follow-up of non-invasive prenatal test in detection of fetal chromosomal aneuploidy in more than 40,000 cases in a single prenatal diagnosis center[J]. *Eur J Med Genet*, 2020, 63(9):104001.
- [5] ANTHONY RG, BRIAN GS, JUDITH LB, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics[J]. *Genet Med*, 2016, 18(10):1056-1065.
- [6] FERGUS S, MICHAEL B, RHIANNON S, et al. Rare autosomal trisomies: Important and not so rare[J]. *Prenat Diagn*, 2018, 38(10):765-771.
- [7] FRANCESCA RG, JOSE F, PETER B, et al. Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and

- implications for prenatal screening using cell-free DNA[J]. *Genet Med*, 2020, 22(2):309-316.
- [8] 徐红. 潍坊市 44 578 例胎儿无创产前检测结果的回顾性分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(10): 1065-1068.
- [9] NATHALIE B, MARIA N, LUC D, et al. Predicting fetoplacental chromosomal mosaicism during non-invasive prenatal testing[J]. *Prenat Diagn*, 2018, 38(4):258-266.
- [10] MARK DP, MEREDITH HM, NICOLA F, et al. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(405):eaa1240.
- [11] BENN P, MALVESTITI F, GRIMI B, et al. Rare autosomal trisomies: comparison of detection through cell-free DNA analysis and direct chromosome preparation of chorionic villus samples[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2019, 54(4):458-467.
- [12] LI DZ, HE Y. Confined placental trisomy detection through cell-free DNA in the maternal circulation: Benefit for pregnancy management[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 221(3):286.
- [13] DIANE VO, MEREL C MAARLE, KLASKE L, et al. Origin and clinical relevance of chromosomal aberrations other than the common trisomies detected by genome-wide NIPS: results of the TRIDENT study[J]. *Genet Med*, 2018, 20(5):480-485.
- [14] HE Y, LIU YH, XIE RG, et al. Rare autosomal trisomies on non-invasive prenatal testing: not as adverse as expected[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2019, 54(6):838-839.
- [15] ZHENG JL, LU HY, LI M, et al. The Clinical Utility of Non-invasive Prenatal Testing for Pregnant Women With Different Diagnostic Indications[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 624.

(收稿日期:2021-10-18)

编辑:宋文颖

欢迎来稿

欢迎订阅

欢迎关注

欢迎引用