

# 无创基因检测在低龄与高龄孕妇中的临床应用价值比较

王奕霞 彭海山 侯亚萍 郭芳芳 王东梅 李怡 欧阳浩新 杨洁霞\*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511442)

**【摘要】 目的** 探讨无创基因检测在不同年龄段检测效能是否一致以及在高龄人群中的临床应用价值。**方法** 回顾性分析了 2017 年 1~12 月在广东省妇幼保健院产前诊断中心接受无创产前筛查(non invasive prenatal testing, NIPT)筛查的 10 862 例单胎孕妇,分为 <35 岁、35~39 岁、≥40 岁 3 组比较,对 NIPT 结果与染色体核型结果进行对比分析,计算并比较各年龄组的阳性预测值。**结果** 共检出 110 例 NIPT 高风险孕妇,其中 ≥40 岁组检出率高于 <35 岁和 35~39 岁组。有 91 例孕妇选择经产前诊断确认,其中 60 例 NIPT 结果与核型一致,31 例不一致,无假阴性病例,各组筛查符合率无差别。3 个年龄组对 T21、T18、T13 及性染色体的阳性预测值分别为 <35 岁 93.75%、80.00%、25%、42.42%;35~39 岁组 90.00%、100.00%、100.00%、50.00%;≥40 岁组为 87.50%、100.00%、0.00%、75.00%。**结论** 虽然高龄组染色体异常检出率高于低龄组,但是 NIPT 在高龄人群中的检测效能高,有一定的临床应用价值,对 21 和 18-三体的筛查准确性高于 13-三体 and 性染色体。

**【关键词】** 无创基因检测; 高龄; 阳性预测值; 染色体异常

**【中图分类号】** R714.53 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** To investigate whether the performance of NIPT is consistent in different age pregnancies and its value of clinical practice in advanced age population. **Method** A retrospective analysis of 10862 single pregnancies who voluntary received NIPT in prenatal diagnosis center of the children and women hospital of Guangdong province from January to December 2017. The group was divided into three groups including <35 years old, 35~39 years old, ≥40 years old, and the result of three groups was compared. Pregnancies with high risk results of NIPT received a suggestion for confirmation by karyotype, with comparing the results of NIPT and karyotype, the positive predictive value of three groups was calculated and compared. **Results** The 110 pregnancies with a high risk of NIPT were detected, and the detection rate in the group of ≥40 years old was higher than that in the group <35 years old and 35~39 years old. Among 91 pregnancies who selected prenatal diagnosis to verify the result of NIPT, the results of NIPT were consistent with karyotype in 60 cases and inconsistent in 31 cases. There were no false negative cases, the total consistency rate in the three groups is no difference. The positive predictive value of three groups for T21, T18, T13 and sex chromosomal abnormality respectively was 93.75%, 80.00%, 25%, 42.42% in <35 years old group, 90.00%, 100.00%, 100.00%, 50.00% in 35~39 years old group, 87.50%, 100.00%, 0.00%, 75.00% in ≥40 years old group. **Conclusions** Although the detection rate of numerical chromosomal abnormalities in the advanced age group is higher than that in young age group, the performance of NIPT in advanced age population is efficient, and it has certain clinical application val-

ue. The accuracy of T21 and T18 is higher than that of T13 and sex chromosomal abnormalities.

**【Key words】** Non-invasive prenatal testing; Advanced age; Positive predictive value; Chromosomal abnormalities

自1997年卢煜明教授<sup>[1]</sup>发现孕妇外周血中存在胎盘滋养层细胞凋亡释放的游离DNA,到2011年通过商品化试剂盒检测外周血游离DNA来筛查胎儿染色体非整倍体疾病,无创产前基因检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)技术备受关注。直至今日,该技术已经被广泛应用于临床实践。相比于传统筛查方法,无创基因检测是目前敏感性最高的筛查方法,已被国内外研究证实具有很高的灵敏度和特异度,可达99%<sup>[2-3]</sup>。为了更好地规范无创产前基因检测技术的使用,国家卫生健康委员会也出台了《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》来指导该项技术的临床应用。规范中指出,高龄孕妇为无创产前基因检测的慎用人群。但有研究表明,NIPT技术在高龄孕妇中也有良好的检测性能<sup>[4-6]</sup>。为了进一步明确NIPT在不同年龄段孕妇中的检测效能是否存在差异,高龄孕妇是否适用NIPT,我们回顾性总结分析了2017年本中心接受NIPT检测孕妇的结果,探讨无创产前基因检测在不同年龄段孕妇人群中的应用价值。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2017年1~12月期间至广东省妇幼保健院产前诊断中心就诊的单胎孕妇,孕12周以上,近期末接受过异体输血、细胞治疗、移植手术等,所有孕妇均自愿接受NIPT检测。共收集10862例孕妇,年龄15~49岁,孕周12~35周,所有孕妇均告知了该项方法的适应证、局限性及可能存在的风险,经过知情选择并签署了知情同意书,该项研究符合伦理标准且经过医院伦理委员会审批。

1.2 NIPT检测 抽取2支静脉血5 ml于EDTA抗凝采血管中,颠倒混匀。采集标本后在4℃条件下,8h内运输至广东省妇幼保健院医学遗传中心进行血浆分离,分离后的血浆采用博奥晶芯测序试剂盒进行DNA提取、构建文库、文库定量等操作,将待测文库混合后在Proton测序平台进行测序检测。

测序结果经过比对、拼接等生物信息处理后,经过分析外周血中不同染色体水平的差异情况,进而识别胎儿染色体非整倍体异常,并得出胎儿患染色体非整倍体疾病的风险概率。结果分析采用基于二元假设的Z值判断某条染色体是否有拷贝数异常,主要判断标准为:若 $Z \geq 3$ 或 $Z \leq -3$ 时,结果提示为非整倍体高风险;若 $-3 < Z < 3$ 时,结果提示为非整倍体低风险。对于无创检测提示低风险的孕妇,建议继续妊娠并在医师指导下进行其他常规产前检查;对于无创检测提示高风险者,则建议孕妇接受羊水或脐血穿刺,行染色体核型分析,以核实无创检测结果的准确性。并对所有孕妇进行电话随访。

1.3 核型分析 无创高风险孕妇在知情选择情况下于孕16~24周在超声引导下进行羊膜腔穿刺术,抽取20ml羊水进行羊水细胞培养、收获、制片、阅片,羊水培养及制作核型的过程均按本实验室常规操作进行。

1.4 统计分析 所有数据均采用SPSS10.0统计学软件进行处理,组间比较用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各年龄组NIPT结果分析 10862例单胎孕妇中共检出110例NIPT高风险,其中 $< 35$ 岁组检出67例,检出率0.92%(67/7275),35~39岁组检出27例,检出率0.89%(27/3018), $\geq 40$ 岁组检出16例,检出率2.81%(16/569)。高风险结果中以21-三体 and 性染色体非整倍体高风险占比较大,分别为40.917%(45/110)和44.55%(49/110),远高于18-三体的7.27%(8/110)和13-三体的7.72%(8/110)。不同年龄段NIPT高风险检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 19.406, P < 0.001$ ), $\geq 40$ 岁组的NIPT高风险检出率高于35~39岁及 $< 35$ 岁组( $P < 0.001$ ),具体情况见表1。

表 1 不同年龄组 NIPT 高风险的检出情况

年龄(岁)	总例数(例)	21-三体 [例(%)]	18-三体 [例(%)]	13-三体 [例(%)]	性染色体 [例(%)]	总计 [例(%)]
<35	7 275	21(0.29)	5(0.07)	5(0.07)	36(0.49)	67(0.92)
35~39	3 018	15(0.50)	2(0.07)	2(0.07)	8(0.27)	27(0.89)
≥40	569	9(1.58)	1(0.18)	1(0.18)	5(0.88)	16(2.81)
合计	10 862	45(0.41)	8(0.07)	8(0.07)	49(0.45)	110(1.01)

2.2 NIPT 高风险孕妇的羊水染色体核型结果 NIPT 高风险孕妇需经介入性产前诊断确诊结果,经知情选择后 110 例高风险孕妇中 91 例进行了羊膜腔穿刺术抽取羊水行染色体核型分析。经染色体核型确诊染色体异常的共 60 例,其中 31 例为 21-三体、7

例 18-三体、2 例 13-三体以及 20 例性染色体异常。有 31 例孕妇染色体核型结果与 NIPT 结果不一致,其中 74.19%(23/31)是性染色体异常结果。<35 岁组共检出染色体非整倍体 34 例,35~39 岁组检出 15 例,≥40 岁组检出 11 例,具体结果见表 2。

表 2 不同年龄组羊水染色体核型阳性的检出情况

年龄(岁)	NIPT 高风险例数(例)	羊水染色体核型确诊例数(核型分析例数)[例(%)]				总计(例)
		T21	T18	T13	性染色体	
<35	67	15(16)	4(5)	1(4)	14(33)	34
35~39	27	9(10)	2(2)	1(1)	3(6)	15
≥40	16	7(8)	1(1)	0(1)	3(4)	11
合计	110	31(34)	7(8)	2(6)	20(43)	60

2.3 NIPT 在不同年龄组间检测效能的比较 NIPT 高风险的孕妇中 91 例选择进一步行有创产前诊断,其中 60 例经染色体核型确诊为染色体异常,与 NIPT 结果一致,NIPT 总体阳性预测值为 65.93%(60/91)。经电话随访,所有低风险孕妇中无假阴性病例存在。其中,<35 岁组总体筛查符合率为 99.67%(7242/7266),35~39 岁组总体筛查符合率为 99.87%(3006/3010),≥40 岁组总体筛查符合率为 99.47%(564/567),不同年龄段的总体筛查符合率无统计学差异( $\chi^2=4.151, P=0.126$ ),各组对 T21、T18 和 T13 的阳性预测值及对性染色体的阳性预测值具体情况见表 3。

表 3 不同年龄组各类型染色体非整倍体的阳性预测值

年龄(岁)	阳性预测值(%)			
	T21	T18	T13	性染色体
<35	93.75	80.00	25.00	42.42
35~39	90.00	100.00	100.00	50.00
≥40	87.50	100.00	0.00	75.00

### 3 讨论

据统计,中国每年有 80 万~120 万缺陷儿出生,占出生人口的 4%~6%。其中,染色体异常占

有重要比例,尤其是胎儿染色体非整倍体疾病(21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征等)<sup>[7]</sup>。产前筛查与产前诊断是预防染色体异常出生缺陷的唯一手段。因此,选择效率高,费用适中,且能被大众所接受的筛查方式是十分重要的。随着我国女性接受教育的普及和文化水平的提高,职业女性中大部分选择了晚婚晚育;近年来,国家二胎政策的全面放开以及辅助生育技术的发展等原因使得高龄孕产妇的比例成倍的增加。然而,孕妇年龄与生育染色体异常胎儿的风险存在相关性,随着年龄增长,卵巢储备功能下降,卵泡刺激素升高,卵泡期缩短,卵泡发育的监督机制出现问题的概率增加,在卵母细胞减数分裂的过程中发生染色体的异常分离,使得胎儿出现染色体异常的概率增多<sup>[8]</sup>。我国母婴保健法规定,凡是年龄≥35 岁的产妇都建议进行产前诊断。介入性产前诊断虽然是作为诊断染色体异常的金标准,由于是有创操作,仍存在一定的风险,如:流产、宫内感染、胎儿损伤等;并且该技术还存在检测时间长、技术要求高、可能存在培养失败等缺陷<sup>[8]</sup>,不能被很多高龄孕妇接受。而无创产前基因检测技术的出现为高龄孕妇提供了一个很好的选择。

NIPT 作为一项安全有效的筛查方法,相比传统血清学筛查大大提高了筛查的准确性,降低了假阳性率。多项研究都证实了无创产前基因筛查有很高的筛查效能,如果将该方法应用于高龄孕妇可大大减少不必要的侵入性诊断,缓解高龄孕妇的焦虑心情。

本研究对 2017 年全年在广东省妇幼保健院产前诊断中心接受 NIPT 检测的 10 862 例单胎孕妇进行了回顾性分析。将其分为 <35 岁、35~39 岁、≥40 岁 3 组进行了比较,发现 ≥40 岁组 NIPT 检出的高风险明显高于其他两个年龄组,并且 ≥40 岁经核型确诊的染色体异常检出率 1.93%(11/569)也比 <35 岁的检出率 0.47%(34/7275)、35~39 岁的检出率 0.50%(15/3018)有明显增高,说明年龄超过 40 岁的孕妇生育染色体异常儿的可能性明显升高。并且在检出的染色体异常类型中以 21 号染色体和性染色体非整倍体为主,与陈英莘等<sup>[8]</sup>和莫伟英等<sup>[9]</sup>的研究结果类似。文献中报道,21-三体是新生儿常见的染色体疾病,发病率高达 1/800,而 18-三体综合征和 13-三体综合征的发病率分别为 1/5000 和 1/7000,性染色体异常在男性胎儿发病率达 1/500,女性胎儿发病率有 1/850<sup>[10,11]</sup>,本研究发现检出的异常类型以 21-三体 and 性染色体异常为主,这与 21-三体和性染色体异常比 18、13-三体在人群中的发病率更高是一致的。在 NIPT 筛查出的 110 例高风险孕妇中,有 91 例选择了介入性产前诊断进行确诊,其中有 60 例孕妇核型结果与 NIPT 结果一致,31 例结果不一致,假阳性的结果中多数是性染色体异常,占了 74.19%,这与不同年龄段中 NIPT 对性染色体的阳性预测值均较低的结果一致,可能与 X 染色体的 GC 含量偏移,X 和 Y 染色体高度同源不易区分,以及 Y 染色体与其他染色体有较多相似片段导致性噪比降低等因素有关<sup>[11]</sup>。另外,有 3 例 T21 假阳性,经过追查分析得知,其中 1 例为母体自身存在低比例嵌合导致。造成 NIPT 假阳性的原因有很多,限制性胎盘嵌合是最常见的原因,母体本身存在低比例嵌合以及拷贝数变异,双胎之一消失,母体存在恶性肿瘤以及胎儿本身为嵌合体都可以引起无创假阳性的发生<sup>[12]</sup>。由于无创检测的是母体外周血中胎盘滋养层细胞凋亡释放的胎儿游离

DNA,胎儿游离 DNA 只占母体外周血的 10%~20%,而无创试验过程中没办法将母体的 DNA 完全去除,母体 DNA 仍占很大部分,因此当母体存在染色体拷贝数异常时,可使检测值异常升高,从而引起假阳性。因此 NIPT 高风险需要进一步行介入性产前诊断进行确诊。

本研究中,<35 岁组对 T21、T18 和 T13 的阳性预测值分别达 93.75%、80.00%、25%,性染色体阳性预测值为 42.42%;35~39 岁组对 T21、T18 和 T13 以及性染色体非整倍体的阳性预测值分别达 90.00%、100.00%、100.00%、50.00%;≥40 岁组对 T21、T18、T13 和性染色体的阳性预测值分别为 87.50%、100.00%、0.00%、75.00%。其中,35~39 岁和 ≥40 岁两组高龄组中 21-三体阳性预测值比低龄组反而低一点,可能是因为高龄孕妇没有做唐氏综合征筛查而选择直接进行无创检测,而低龄组基本都是唐氏综合征产前筛查高风险或临界风险人群再进一步行无创检测,从而使得更多异常被检出。在不同年龄组中,NIPT 对 T21 及 T18 的阳性预测值较高,对 T13 和性染色体的阳性预测值偏低,有大样本量的研究显示,NIPT 对 18-三体及 13-三体筛查的准确性比 21-三体低,但仍然远远高于传统血清学筛查,研究显示 NIPT 对 13-三体及 18-三体阳性预测值可达 33%~90%和 50%~70%,而血清学筛查的阳性预测值仅为 14%和 3.4%<sup>[13,14]</sup>,这也与我们的结果一致。且对比高龄组和低龄组,无创总体筛查符合率无差异,因此,NIPT 检测对于高龄和低龄孕妇同样适用。

综上所述,NIPT 是一项安全、有效、快速、准确的染色体非整倍体筛查方法,对于高龄孕妇同样适用,具有很高的检测效能,可降低高龄孕妇的穿刺率,减轻孕妇的焦虑。但是无创仅为一项筛查手段,仍存在假阳性的情况,无创高风险结果必须经过染色体核型确证,不能作为引产的依据。对于性染色体的筛查,还需进一步优化实验和分析方法,以便更准确地筛查出性染色体的异常。

#### 参 考 文 献

[1] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fe-

tal DNA in maternal plasma and serum[J]. Lancet, 1997, 350(9076):485-487.

[ 2 ] 方美仙, 王燕, 何德钦, 等. 2912 例无创性产前基因检测的指征及结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(22):5665-5668.

[ 3 ] Shaw SW, Hsiao CH, Chen CY, et al. Noninvasive prenatal testing for whole fetal chromosomal aneuploidies: a multi-center prospective cohort trial in Taiwan[J]. Fetal Diagn Ther, 2014, 35(1):13-17.

[ 4 ] 惠淑宁, 芮淑贤, 马燕琼, 等. 无创产前筛查技术在高龄孕妇唐氏综合征筛查中的应用[J]. 广东医学, 2016, 37(S1):47-48.

[ 5 ] 张卫华, 唐萍, 王芳. NIPT 产前基因检测技术在高龄孕妇中临床应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(10):54-55.

[ 6 ] 周卫东, 张云清, 韩慧慧. 母血清游离胎儿 DNA 检测在染色体非整倍体无创产前诊断的应用及其临床价值研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(7):38-40.

[ 7 ] 边旭明. 胎儿染色体非整倍体的无创 DNA 产前检测[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(5):330-333.

[ 8 ] 陈英苹, 郑芳秀, 周琴, 等. 无创产前检测在高龄孕妇中检测胎儿非整倍体的临床应用[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(9):708-711.

[ 9 ] 莫伟英, 张鹏, 李友琼, 等. 高龄孕产妇无创 DNA 产前诊断的应用[J]. 中国妇产科临床杂志, 2018, 19(6):541-543.

[10] 侯亚萍, 杨洁霞, 郭芳芳, 等. 广东地区 6668 例孕妇无创 DNA 产前检测结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(6):1241-1244.

[11] 李雅红, 林颖, 孙云, 等. 性染色体异常无创产前筛查回顾性研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(4):505-507.

[12] 刘俊涛. NIPT 用于产前胎儿常见染色体非整倍体筛查的相关问题[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(11):814-816.

[13] Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy[J]. N Engl J Med, 2015, 372(17):1589-1597.

[14] 韩美艳, 梁思颖, 姜楠, 等. 青岛地区 38862 例孕妇外周血胎儿游离 DNA 无创产前检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(03):309-311.

(收稿日期:2019-07-08)

编辑:宋文颖