

# 关于国际产前诊断学会等机构发布的“使用全基因组测序进行胎儿诊断”联合声明的指南解读

张彦<sup>1</sup> 丁红珂<sup>1</sup> 詹文丽<sup>1</sup> 胡蓉<sup>1</sup> 齐一鸣<sup>1</sup> 尹爱华<sup>1\*</sup> 陆国辉<sup>2\*</sup>

(1. 广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511400;

2. 广州嘉检医学检测有限公司, 广东 广州 510300)

国际产前诊断学会(International Society of Prenatal Diagnosis, ISPD)、母胎医学学会(Society for Maternal-Fetal Medicine, SMFM)和围产期质量基金会(Perinatal Quality Foundation, PQF)于2018年1月在*Prenatal Diagnosis*上发表了联合立场声明。此声明是高通量测序,尤其是全基因组测序在产前诊断领域临床应用的第一篇指南性建议/意见。鉴于国内尚无相关政策、规范或共识。本文仅就此联合声明结合国内产前诊断管理规范、高通量测序应用现状等进行解读,联合声明就以下三方面展开讨论。

## 1 有关胎儿进行高通量测序适宜性

**【指南建议】**尽管经验有限,目前已有数据表明以下情况使用胎儿测序是有益的:①胎儿发育异常,常规检测未见异常或高度提示单基因遗传病;②有不良孕产史,本次妊娠再发类似异常,先证者未确诊且无法获取样本;③没有证据表明可以用侵入性产前诊断手段获取的胎儿样本(羊水、绒毛或脐带血)进行除胎儿发育异常以外的其他情况检测。

**【解读】**高通量测序对于遗传病的诊断价值已经得到充分肯定,不同的研究团队利用全外显子组进行诊断性测序,阳性率达到25%~50%<sup>[1,2]</sup>,应用全基因组测序,阳性率达到40%~60%<sup>[3]</sup>。绝大多数的数据来源于新生儿科/儿科,产前胎儿异常的研究资料较少。由于胎儿期可获得的临床表型很有限,大多依赖于影像学检查结果,因此不能把新生儿

科/儿科的经验直接挪用至产前检测。但是现有经验至少可以说明对于疑难遗传病,高通量测序具有较高的辅助诊断价值,因此,对于产前发现胎儿结构畸形或发育异常,常规手段无法确诊的时候,应用高通量测序作为补充检测是可行的。

由于高通量测序技术在临床应用时间尚短,大多数临床医师不能很好把握其应用范围,存在滥用的情况,一定程度上增加了医疗资源的浪费,也给家庭造成了额外经济负担。依据目前资料,高通量测序能用于且仅用于胎儿发育异常情况的辅助诊断,其余情况均不适合。

## 2 有关产前高通量测序需要注意的事项

2.1 关于给“谁”检测 **【指南建议】**对胎儿适应证的诊断测序最好是对核心家系分析,即对胎儿和父母双方的样本同时进行测序和分析。

**【解读】**针对疑难遗传病,仅检测患儿或同时检测核心家系尚有争议<sup>[4-6]</sup>,但核心家系同时检测可以提供更多信息,较多研究数据表明对于提高诊断率有价值<sup>[6]</sup>。对于胎儿,可获得的表型信息更少,因此,在对胎儿进行高通量测序检测时,有必要同时检测父母,为改善时效性和提高准确性提供更多保证。

2.2 关于表型描述 **【指南建议】**目前,由于超声成像常常不能很好地描述表型,部分原因是由于许多疾病在胎儿期表型还未出现,因此在胎儿期发现的遗传病的基因型-表型相关性资料非常有限。所以目前还无法确定测序应该集中在与胎儿表型有关的有限的基因上,还是应该对全基因组范围进行测序。此外,我们也不清楚在产前诊断中基因组测序所发现的变异,是应依循儿童和成人结果解释及报

告的一般准则,还是采用更具限制性的方法仅报告和解释表型相关的那些变异结果。

**【解读】**疾病在不同阶段可以有不同表现。胎儿期可获得的疾病相关表型资料很有限,一方面是观察手段有限,大多只能依赖于影像学检测;另一方面是很多疾病在胎儿期无可见的异常表现。面对这种情况,高通量测序应该仅针对有限表型进行检测,进行更大范围(全外显子组或全基因组)的检测并无指南或依据;另,高通量测序可能发现一些跟已观察到的表型不相关的基因突变,是否应当逐一仔细分析这些与当前表型“无关”的突变的致病性并报告给孕妇及其家属,或者对这些“无关”突变置之不理,目前尚无依据或准则。

2.3 关于团队分工 **【指南建议】**产前诊断测序的从业者,以及进行检测前教育及咨询、获得知情同意、并进行检测后咨询和报告发放的单位和个人,必须对基于核心家系测序项目给胎儿及其父母带来的益处和风险有深入的了解。结果的解释和检测后的咨询工作是非常复杂的,最好是在具有产前诊断和胎儿测序的临床和实验室专业知识和经验的多学科小组的协商下进行。理想情况下,团队成员可以查阅所有临床记录、测序结果和胎儿影像学结果。

**【解读】**高通量测序的检测前知情同意、临床资料收集、实验室检测、数据分析、报告生成和检测后遗传咨询应该由同一个团队完成,因为完成整个咨询和检测过程需要不同专业的人员多次沟通。检测前,咨询医师应当清楚高通量测序的应用范围,并告知孕妇和家属可能出现的检测结果;针对检测结果的分析,临床医师应当参与其中,确认基因型-表型相关性,必要时应当可以随时调取查阅其他相关记录和检查资料;检测后报告解释和遗传咨询工作应当由有遗传背景和对相关疾病充分熟悉的专家完成。产前高通量测序结果关系到胎儿的去留问题,一定程度上是孕妇及其家属决定妊娠结局的依据,必须慎之又慎。

限于国内专业设置和临床遗传学发展的历史原因,目前临床医师队伍中有遗传学背景的比例极少。因此,产前咨询、实验室检测的无缝对接目前仍有较大困难,但部分机构已经开始了很好的尝试。

2.4 关于知情同意 充分的检测前教育、咨询和知情同意,以及检测后咨询都是非常重要的,建议至少考虑以下要素。

2.4.1 **【指南建议】**检测前的教育和咨询应个性化,如果可能,也应该提供给父母双方。有可供选择的替代或补充个性化现场遗传咨询的患者教育工具,在将其引入临床之前应对其有效性进行评估。

**【解读】**跟所有其他检测项目一样,检测前的相关解释和咨询应该充分细化和个性化。高通量测序还可能涉及比其他项目更多的隐私信息,因此很有必要对每个参与检测个体进行充分的知情同意,胎儿的父母作为共同监护人原则上应当共同接受检测前教育。

为了使得专业知识更浅显易懂,产前咨询应当配置教具,用于作为必要的讲解示教工具,并对其实际使用效果进行评估。

2.4.2 **【指南建议】**由于测序可以揭示胎儿的遗传信息,这些信息可能会影响父母一方或双方以及整个家庭,因此理想情况下,生物学父母双方(如果可能的话)都应该同意对胎儿进行测序。然而,对于所有产前检查,只有孕妇才能同意对其进行获取胎儿遗传物质的侵入性手术。

**【解读】**遗传病检测常常会涉及到整个家庭甚至家族,因此,在检测前应当征得胎儿父母双方的同意,而不仅仅是其中一方。当然,产前诊断的侵入性手术则只有孕妇本人同意才可以进行。由于部分疾病属于性连锁遗传方式,可能涉及家庭稳定性,应当慎重对待。

2.4.3 **【指南建议】**如果进行核心家系测序,每个父母都应该为他或她自己样本的测序提供独立的知情同意。以下几点需要注意告知:①结果类型的告知(包括“致病”、“可能致病”、“意义不明确”、“可能良性”以及“良性”);②获得具有临床意义结果的概率;③预计获得结果的时间;④无法获得结果的可能性(如样本质量不合格),或者无法在胎儿出生前获得结果;⑤结果中纳入或者排除一些偶然发现(如意外的儿童期疾病);⑥结果中纳入或者排除一些次要发现(如肿瘤易感基因);⑦胎儿样本中发现的成年期发病的变异位点的处理;⑧可能会发现非亲子或

者近亲亲子关系(如胎儿生物学父母的同族或近亲关系);⑨结果报告和检测后咨询是基于当时(该领域的)知识(水平),我们对疾病基因、序列变异的致病性和胎儿表型的认识可能会随着时间改变,因此应该包括关于样本和(或)数据的储存及重分析的可用策略的信息;⑩在去除个体身份识别信息的数据库中数据共享的重要性(ISPD、SMFM 和 PQF 认可 ACMG 的立场,认为实验室和临床的基因组数据共享对遗传病诊疗至关重要),如果可以,储存数据应经过知情同意,并且其父母应被告知谁有权限获取数据以及获取数据的目的。

**【解读】**每次检测前咨询以及知情同意应当至少做到以下要素的宣教:①可能出现的检测结果。依据现有知识库,跟检测前发现的胎儿异常能够充分吻合的基因突变仅占少数,较多情况属于发现部分可疑基因突变,但跟胎儿表型相关性不明确,还有可能遇到在现有认识范围内所有发现基因突变均与胎儿异常不相关或无法解释胎儿异常。以上情况均应当在检测前充分告知胎儿父母,避免出现“阴性结果是无效检测”的误解。②依据国内外主要的研究资料,结合本机构资料给出检测周期、阳性检出率以及实验室检测其他风险。③针对高通量测序的大量数据产出,就其中可能有意外发现的情况做出提前讨论,并对是否报告形成初步意见。如可能发现与胎儿当前异常无关的儿童期遗传性疾病(如神经肌肉病)、成年期遗传病(如共济失调、肿瘤等)以及胎儿的生物学父母问题。④检测结果/结论是依据现有的疾病/遗传学认知水平以及可获得的知识库做出,有可能随着认知水平的提升而发生结论更新或者改变。如 GJB2 基因测 c.109 G>A(p.V37I)几年前曾被认为是人群多态性位点,目前认为是耳聋的致病位点<sup>[7]</sup>。⑤有关检测数据再分析和保存以及共享问题。鉴于目前全外显子组测序或全基因组测序阳性检出率鲜有超过 50%报道,意味着近一半的病例需要进一步检测分析,已有证据表明对全外显子组测序数据进行重分析可以提高阳性检出率<sup>[6,8]</sup>。因此,在检测前应该就检测数据的保存、获取、共享和再分析等问题跟胎儿父母讨论并达成协议。

### 3 有关执行标准和报告

3.1 **【指南建议】**应该遵循用于其他临床诊断测序的实验室质量标准、分析和变异注释原则。与所有的诊断检测一样,该项检测只能在有资质且具有产前基因组诊断检测和解释相关经验的诊断实验室中进行。

**【解读】**高通量测序属于分子遗传检测手段,开展临床应用应当遵循分子遗传项目的通用标准和原则。比如,实验室应该满足临床 PCR 实验室管理规范、技术人员应当具备 PCR 上岗证、遗传咨询人员应当在具备产前诊断资格的机构开展咨询并具备遗传咨询资质。实验室对基因突变的分析流程应当具备 GATK 分析能力、ANNOVA 注释能力,突变分析须遵照 ACMG 指南。

3.2 **【指南建议】**表型相关的临床信息是测序数据解释的组成部分。在开始检测之前,临床信息必须进行咨询的临床医生以标准格式提交,优先使用人类表型本体术语。此外,临床医生还应提供影像资料(至少要有报告,最好能补充相关图像)以支持对胎儿的表型发现。鼓励实验室建立便于提交标准化表型信息的系统,这些信息作为检测申请过程的一部分。

**【解读】**临床表型在遗传病诊断中的作用非常重要,任何与表型不吻合的基因突变都不可作为主要诊断依据。因此,标准化、详尽的临床资料对于保证基因诊断结果的准确性是非常必要的。对产前病例而言,胎儿可获得的表型资料有限,更应当具备标准化和可溯源性。由于临床遗传学和传统病历诊断的管理和发展并不一致,因此表型描述不统一、不规范的现象普遍存在,对于交流和深入分析非常不利。人类表型本体术语(human phenotype ontology, HPO)在临床病历书写中的使用仍然非常有限,虽然国内同行在数据库汉化(CHPO)的工作中做了大量尝试,但临床应用还需要大力推广。

3.3 **【指南建议】**最初的变异注释和分类最好由诊断实验室进行。再根据胎儿表型和其他相关临床信息来解释变异位点的致病性和临床意义。为了能考虑到所有相关的临床信息,最好由多学科团队共同完成,包括临床医师/遗传学家、临床遗传学家或具

有产前专业知识的遗传咨询师和产前诊断专家。考虑到测序数据的复杂性,强烈建议实验室和临床医生在相关临床专家的支持下进行沟通,以便给出最终解释或可能修改的解释。

**【解读】**高通量测序的数据分析过程目前并无统一标准,所有的分析流程大致可以分为两个阶段:数据的质控、比对拼接、过滤和变异的注释。前一阶段的分析和后一阶段的前期工作几乎都有特定的程序和计算机系统完成;而生成的带有注释信息的变异列表以后的筛选工作则最好由熟悉病情的临床医师和生物信息学专业人员进行共同完成。因为筛选过程涉及到表型关键词的挑选和患儿实际情况是否吻合的判断,对于最后选定的疾病相关/可能相关突变的致病性评估仍然需要熟悉具体病情的医师给出意见,参与最终诊断结论的拟定。仅仅依靠生物信息学技术人员分析并完成检测报告拟定的数据分析流程是脱离临床的,不适合于诊断性测序。

**3.4 【指南建议】**关于变异的报告问题。胎儿样品测序数据的结果报告,最好集中在与胎儿表型有关基因的致病性和可能致病的变异位点上。一些实验室可能会报告与胎儿表型相关的重要候选基因的某些意义不明的变异。例如,与表型相关的一个常染色体隐性基因,若胎儿遗传了来自父母一方的某个致病(或可能致病)变异,同时也遗传了父母另一方的某个意义不明的变异。一些实验室可能会报告中重度的儿童期和成人期发病的疾病相关基因中的致病和可能致病的变异。当进行核心家系测序时,临床实验室可能会报告其他重要的临床发现,如父母双方是某些严重的儿童期疾病的致病基因携带者,这可能对当前的检测或者将来的妊娠有着重要影响。以上情况均应在检测前的遗传咨询中详细讨论和充分知情同意,并在检测后由遗传专家及熟悉相关疾病的专家提供遗传咨询。

**【解读】**目前国内针对遗传病高通量测序的报告范围并无规范或指南可循。各机构按照自己的标准执行,报告格式和内容差别很大。开展遗传病高通量测序和遗传咨询的单位如果能自行完成全部环节工作,应当在检测前就可能产生的报告内容给予受试者足够详细的讨论和宣教,在检测后也应当有

专业的遗传咨询;如果部分环节(如测序)需要与其他机构合作,负责检测前咨询和检测后咨询的机构应当具备检测数据的再处理能力,能够报告合适的结果给受试者,并完成报告解释,而不应当把测序机构的检测结果列表或部分列表直接报告给受试者。

针对胎儿的产前高通量测序报告,虽然目前并无具体的规范,但依据传统产前诊断的管理规范,胎儿的产前诊断是对已明确遗传学病因和家族遗传史的特定疾病的针对性检测,而不是筛查。因此,即使是高通量测序,对于胎儿标本,共识建议仅报告胎儿特定表型相关的基因突变。原因之一是目前我们对于胎儿的表型-基因型相关性的研究资料还太少,不足以依据“其他”基因型判定胎儿去留。

**3.5 【指南建议】**建议对先前的胎儿、婴儿或其他相关家庭成员的不确定或缺乏信息的测序结果进行回顾性分析,因为这些结果有可能增加将来妊娠的风险。若距离上次报告分析的时间太久,而患者处于备孕或妊娠状态,应在知情同意前提下进行重新分析。

**【解读】**产前诊断应当仅针对已确认的问题(父母或先证者)进行检测。对于已经进行过基因检测的家庭成员,如果临床表型、其他检查结果或基因诊断结果存疑,应当在产前诊断前给予重新评估,为即将进行的胎儿基因诊断提供足够充分的证据,而不可在无依据或证据不充分的情况下贸然进行。如果距离上次基因诊断时间太久(一般建议超过半年),有必要将原来的数据重新进行分析,由于数据库和研究资料的更新,有可能改变基因诊断结论,从而影响产前诊断的整体方案。

**3.6 【指南建议】**建议报告的结果应包含关于指导夫妻双方生育和选择检测项目的讨论。使用通俗易懂的语言和便于指导患者未来生育决策的方式,向夫妻双方提供关于检测结果、遗传咨询和生育选择的书面信息。

**【解读】**关于遗传病基因检测报告,国内尚无统一标准和规范。由于医患之间专业信息高度不对称,因此,为了最大程度地改善沟通效果,建议在不影响科学性前提下,尽量以简洁通俗易懂的用语和措辞将基因诊断和产前诊断结果报告给孕妇及其家

属,并根据检测结果给予病患家属充分的解释和遗传咨询。

#### 4 结论

这份国际产前诊断协会(ISPD)、母胎医学学会(SMFM)和围产期质量基金会(PQF)的联合声明基于在2017年11月编写该共识时可获得的数据和技术。作者们意识到基因组技术正在迅速发展,而可将其用于产前诊断中评估胎儿疾病和畸形的科学和临床知识仍然不完整,并在不断地变化,因此需要广泛的卫生专业教育,使有效且有益的胎儿基因测序在临床上得到适当的应用和实施。该领域需要进行临床和转化医学研究,应被优先资助。研究结果也可能进一步完善这份声明,这就需要我们定期审查和修改,将不断发展的科学、临床、伦理和社会背景考虑进来。

#### 参考文献

[1] Yang Y, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing[J]. JAMA, 2014, 18; 1870-1879.

[2] Long PA, Evans JM, Olson TM. Diagnostic yield of whole

exome sequencing in pediatric dilated cardiomyopathy[J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2017, 4(3):pii: E11.

[3] Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability[J]. Nature, 2014, 7509: 344-347.

[4] Hu X, Li N, Xu Y, et al. Proband-only medical exome sequencing as a cost-effective first-tier genetic diagnostic test for patients without prior molecular tests and clinical diagnosis in a developing country: the China experience[J]. Genet Med, 2018, 20(19): 1045-1053.

[5] Nolan D, Carlson M. Whole exome sequencing in pediatric neurology patients: clinical implications and estimated cost analysis[J]. J Child Neurol, 2016, 7: 887-894.

[6] Zhu X, Petrovski S, Xie P, et al. Whole-exome sequencing in undiagnosed genetic diseases: interpreting 119 trios[J]. Genet Med, 2015, 10: 774-781.

[7] ClinGen Hearing Loss Expert Workgroup. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing Loss[J]. Hum Mutat, 2018, 39(11): 1593-1613.

[8] Alfares A, Aloraini T, Subaie LA, et al. Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing [J]. Genet Med, 2018. doi: 10.1038/gim.2018.41. [Epub ahead of print].