

471例 NIPT 阳性孕妇产前诊断结果分析

卢建 侯亚萍 黄伟伟 李怡 周伟宁 尹爱华*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511442)

【摘要】 目的 探讨无创产前基因检测技术在产前筛查染色体异常中的应用价值。**方法** 选取2015年4月至2017年4月因无创产前基因检测(NIPT)结果阳性来本院就诊的471例孕妇,其中11例为双胎妊娠,在知情同意原则下行介入性手术,采集羊水或脐血标本进行产前诊断。**结果** ①471例NIPT阳性孕妇中,其中21-三体232例,18-三体83例,13-三体45例,性染色体异常77例,其他染色体异常34例;通过胎儿染色体核型分析结果发现21、18、13及性染色体NIPT假阳性率分别为7.3%、25.3%、51.1%和51.9%;其他染色体NIPT假阳性率为91.2%。②81例核型分析正常胎儿进一步染色体微阵列(CMA)检测发现4例存在异常,阳性率4.9%。**结论** 无创产前基因检测具有较高的检测敏感性和特异性,但由于该技术尚存在一定的假阳性率,因此NIPT提示高风险的孕妇仍需进一步行有创产前诊断来进行确诊。

【关键词】 染色体非整倍体异常;无创产前检测;假阳性率

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To investigate the accuracy and applicability of noninvasive prenatal genetic testing for chromosome abnormalities in prenatal screening. **Method** From April 2015 to April 2017, a total of 471 pregnant women with abnormal NIPT results were recruited in our center. Amniocentesis or cordocentesis were suggested to pregnant women with abnormal NIPT results. **Results** ①471 cases of pregnant women with abnormal NIPT results, including Trisomy 21 in 232 cases; Trisomy18 in 83 cases; Trisomy 13 in 45 cases; sex chromosome abnormalities in 77 cases; other chromosomal abnormalities in 34 cases. False positive rates of NIPT for trisomy 21/18/13 and sex chromosomal abnormalities were 7.3%、25.3%、51.1%、51.9%, respectively; 91.2% for other chromosomal abnormalities. ②81 cases of fetal with normal karyotype analysis results underwent chromosome microarray analysis (CMA), and 4 cases of abnormalities detected, the positive rate was 4.9%. **Conclusions** NIPT has high sensitivity and specificity for screening fetal chromosome abnormalities, however, false positive results mean that amniotic fluid/umbilical cord blood examinations were still needed.

【Key words】 chromosome abnormalities; non-invasive prenatal testing; false positive rate

染色体非整倍体异常是造成我国出生缺陷的主要原因之一。常见的染色体非整倍体异常主要涉及21、18、13、X和Y染色体,且发病率相对较高。目前对于这类染色体非整倍体异常造成的疾病尚无有效的治疗方法,及时通过产前筛查和诊断检出异常

胎儿成为预防此类出生缺陷的唯一有效途径。自20世纪90年代起,我国逐渐采用孕中期(15~20周)血清学标记物对21-三体和18-三体进行产前筛查,并取得了一定效果,但这一筛查方法假阳性率和假阴性率均较高,导致了过度产前诊断和漏诊的风险。近年来,母体外周血中胎儿游离DNA的发现^[1]和新一代基因测序技术的应用,特别是大规模平行测序技术的迅猛发展,为无创产前基因检测胎

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2017.04.003

基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(B2017057)

* 通讯作者:尹爱华, E-mail: yinaiwa@vip.126.com

儿染色体非整倍体异常开辟了新的发展方向^[2]。目前,无创产前基因检测技术(non-invasive prenatal testing, NIPT)以其无创性、高准确性等优势越来越广泛地应用于临床。本研究对近两年于本院因无创产前基因检测阳性并进一步行产前诊断孕妇的诊断结果进行回顾性分析,总结 NIPT 阳性结果进行有创性产前诊断符合率情况,为遗传咨询提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015年4月至2017年4月因无创产前基因检测(NIPT)结果阳性于本院进一步行产前诊断的471例孕妇,其中11例为双胎妊娠。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 对 NIPT 阳性孕妇进行产前遗传咨询,在知情同意原则下行介入性手术,采集羊水或脐血标本进行产前诊断。

1.2.2 QF-PCR 在 21、18、13、X 和 Y 染色体上选择 22 个 STR 位点进行多重 PCR 反应,扩增产物通过 3500xl 遗传分析仪(美国 LIFE 公司)进行毛细管电泳,检测结果应用 GeneScan3.7 软件进行分析处理,根据峰图形式进行结果判断。STR 位点信息及 PCR 反应条件具体参见文献^[3]。

1.2.3 核型分析 按照常规细胞培养,制片,G 显带,参照 ISCN(2009)标准进行核型分析。

1.2.4 染色体微阵列分析(CMA) 使用 QIA-GEN 公司生产的 Qiamp DNA Blood Mini Kit 进行基因组 DNA 的提取,使用美国昂飞公司生产的 cyto 750k 芯片进行 CMA 检测,严格按照试剂操作说明书进行实验,检测结果使用 Chromosome Analysis Suite(ChAS; version 3.0.0.15)软件进行分析。

2 结果

2.1 NIPT 结果与有创性产前诊断结果比较 471 例 NIPT 阳性孕妇中,其中 21-三体 232 例、18-三体 83 例、13-三体 45 例、性染色体异常 77 例、其他染色体异常 34 例;通过有创性产前诊断发现 21、18、13 及性染色体 NIPT 假阳性率分别为 7.33%、25.30%、51.11% 和 51.95%;其他染色体 NIPT 假阳性率为 91.85%(表 1)。

2.2 CMA 结果 81 例核型结果正常和 3 例核型分析提示染色体结构异常胎儿则在知情同意下选择 CMA 进一步诊断,发现 7 例 CMA 结果异常(表 2),其中 3 例核型分析结果与 CMA 结果一致,且与 NIPT 提示异常相符,4 例核型分析结果提示正常。

表 1 471 例 NIPT 检测阳性病例产前诊断结果及假阳性率

NIPT 异常分类	例数(例)	QF-PCR 阳性例数(例)	核型阳性例数(例)*	假阳性例数(例)	假阳性率(%)
T21	232	215	215	17	7.3
T18	83	61	62	21	25.3
T13	45	22	22	23	51.1
SCA#	77	36	37	40	51.9
其他染色体异常	34	0	3	31	91.2

注: *:核型阳性不包括染色体平衡易位、倒位等异常;SCA:性染色体非整倍体异常

表 2 CMA 检测阳性结果

NIPT 分类	核型结果	CMA 结果
21-三体	46,XN	arr[hg19] 21q21.3q22.11(31,143,150-32,811,202)x3 mat
X 三体	46,XN	arr[hg19] 16p13.11(15,499,445-16,289,059)x3 mat
X 单体	46,XN	arr[hg19] 1q21.1q21.2(146,106,723-147,830,830)x1 mat
16-三体	46,XN	arr[hg19] 16p13.3p13.2(94,807-10,363,708)×2 hnz
X 单体	46,X,der(X)t(X;?)(p22.3;?)	arr[hg19] 14q32.11q32.33(89,913,007-107,284,437) x3, Xp22.33p22.31(168,551-6,357,748) x1
9 号染色体部分重复	46,XN,dup(9)(p? 21.1p? 24.3)	arr[hg19] 9p24.3p21.1(208,454-32,631,725)x3
10 号染色体部分单体	46, XN,del(10)(q25.3)	arr[hg19] 10q25.3q26.3(117,957,129-132,442,893) x1

3 讨论

近年来,采用无创产前基因检测(NIPT)技术筛

查胎儿染色体非整倍体异常已广泛应用于临床,但由于其存在一定比例的假阳性率和假阴性率,目前仅可作为筛查手段,尚不能用于诊断。本研究发

NIPT 阳性孕妇进一步有创性产前诊断符合率分别为 21-三体 92.7%(215/232)、18-三体 74.7%(62/83)、13-三体 48.9%(22/45)、性染色体异常 48.1%(37/77),其他染色体异常 8.8%(3/34),与文献报道基本相符(表 3)。由于文献报道中的 13-三体及

其他染色体异常高风险阳性例数较少,导致不同文献中这两类异常阳性符合率跨度较大,而本研究中这两类异常阳性例数较多,因此也相对更加接近真实符合率。

表 3 本研究无创阳性结果产前诊断符合率与文献数据比较

异常分类	无创阳性结果产前诊断符合率(%)				
	参考文献 ^[4]	参考文献 ^[5]	参考文献 ^[6]	参考文献 ^[7]	本研究
T21	95.3(41/43)	97.6(41/42)	92.2(47/51)	95.5(42/44)	92.7(215/232)
T18	80.0(4/5)	88.9(8/9)	91.7(11/12)	100.0(10/10)	74.7(62/83)
T13	100.0(1/1)	100.0(4/4)	36.4(4/11)	66.7(2/3)	48.9(22/45)
SCA	52.2(17/32)	71.4(5/7)	59.3(16/27)	—	48.1(37/77)
其他	—	11.1(1/8)	0.0(0/5)	—	8.8(3/34)

注:SCA 性染色体非整倍体异常

由于染色体核型分析技术耗时较长,为缓解 NIPT 高风险孕妇的焦虑情绪,我们在对孕妇进行产前诊断的同时采用 QF-PCR 技术对常见的 13、18、21 号染色体和性染色体数目异常进行快速诊断以获得初步结果。从本研究可以看出,QF-PCR 对 13、18、21 号染色体非整倍体和性染色体数目异常检测结果与核型分析结果符合率为 99.4%(334/336),2 例不一致结果均是染色体非平衡结构异常导致{1 例为 18 衍生染色体[46,XN,der(18)t(18;?)(p? 11.32;?)];1 例为 X 衍生染色体携带者[46,X,der(X)t(X;?)(p22.3;?)],进一步 CMA 检测提示为 14 号和 X 染色体的非平衡易位},超出了 QF-PCR 的检测范围。因此,当 NIPT 提示高风险时,QF-PCR 结果提示为相应染色体非嵌合型三体时,提前做出临床处置是可行的;但当 QF-PCR 提示为嵌合体或与 NIPT 结果不相符时,则建议等待染色体核型分析结果,再做进一步处理。

NIPT 结果假阳性原因很多,主要有限制性胎盘嵌合^[8,9]、孕妇本身存在拷贝数变异^[10]、孕妇本身染色体嵌合^[11]和双胞胎之一胚胎停育^[12]等。因此对于 NIPT 假阳性病例,进一步的 CMA 检测可帮助解释导致假阳性的可能原因及发现一些核型分析无法发现的染色体微缺失微重复。一些多中心研究^[13],对于核型结果正常样本中,如果产前超声提示异常,CMA 可检出 6.5%(201/3090)的阳性率;对于高龄孕妇,其 CMA 阳性率是 1.0%(50/5108);其他因素如血清学筛查阳性、焦虑、染色体异常生育

史等,其阳性率是 1.1%(44/4164)。因此对于 NIPT 阳性核型分析正常孕妇,如存在超声异常根据相关指南应建议进一步进行 CMA 检测^[14];其他因素如血清学筛查阳性、高龄等原因,如核型检测正常,进一步 CMA 检测虽可以增加约 1%的检出率,但同时会有约 1%~2%临床意义不明 CNV 检出率^[15,16],对于这类人群是否进行 CMA 检测存在争议,因此检测前充分的遗传咨询必不可少。本研究中发现的 1 例 NIPT 21-三体高风险假阳性是由于孕妇和胎儿均存在 21 号染色体微重复而导致;1 例 NIPT 16-三体高风险假阳性病例发现胎儿 16 号染色体存在大片段杂合性缺失,考虑为部分型 UPD(16),从单亲二体产生原因推测造成 NIPT 16-三体高风险的原因可能是胎盘中尚存在 16-三体细胞系。另外,本研究中 1 例 NIPT 提示性染色体数目偏多孕妇,CMA 检测未发现胎儿性染色体异常,而发现胎儿 1 号染色体存在一处临床意义不明 CNV,进而检测胎儿父母时,发现胎儿母亲为 X 三体,这一结果提醒临床医生在 NIPT 提示性染色体异常高风险时,要考虑到可能孕妇本身性染色体异常,从而造成 NIPT 检测结果假阳性的可能。

对于双胞胎妊娠病例进行 NIPT 筛查的数据尚不充足,因此需要谨慎选择使用^[17],但目前的一些研究发现 NIPT 对于双胞胎妊娠仍有较好检出率^[18,19]。本研究中有 11 例双胞胎孕妇,NIPT 提示 6 例 21-三体高风险、3 例 18-三体高风险、1 例性染色体异常高风险和 1 例其他染色体异常高风险。其中 21-三

体和18-三体高风险孕妇均被染色体核型分析证实双胎之一染色体异常;性染色体和其他染色体异常高风险孕妇双胎染色体核型分析结果均正常。这些结果说明,NIPT对双胎妊娠仍有较高的检出率,但由于总例数较少,尚不能确定NIPT在双胎妊娠与单胎妊娠中产前诊断符合率的差别。

综上所述,无创产前基因检测(NIPT)作为一种新的筛查技术,相较传统的血清学筛查具有较高的检测敏感性和特异性,可大大降低有创产前诊断例数,减少过度产前诊断。但由于循环游离DNA(cell free DNA,cfDNA)主要来源于胎盘绒毛的滋养层细胞,后者并不总是能代表胎儿情况,导致该技术尚存在一定的假阳性率,因此NIPT提示高风险的孕妇仍需进一步行有创产前诊断来进行确诊^[20]。

参 考 文 献

- [1] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. *Lancet*, 1997, 350(9076):485-487.
- [2] Chiu RW, Chan KC, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(51):20458-20463.
- [3] 卢建, 杜丽, 李海霞, 等. 应用 QF-PCR 技术对 3075 例常见染色体非整倍体快速产前诊断结果分析[J]. *热带医学杂志*, 2012, 12(9):1083-1085, 1099.
- [4] 张盼, 刘建兵, 张晓青, 等. 高通量基因测序产前筛查技术在常州地区的临床应用经验总结[J/CD]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2016, 8(3):25-30.
- [5] 杨洁霞, 郭芳芳, 彭海山, 等. 无创产前基因检测技术在胎儿染色体非整倍体筛查中的应用研究[J/CD]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2016, 8(3):31-34.
- [6] 吴琦嫦, 孙丽, 许亚松, 等. 厦门地区 11118 例无创产前基因检测结果回顾性分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2017, 25(1):31-33.
- [7] 林颖, 胡平, 马定远, 等. 胎儿常见染色体非整倍体无创基因检测结果分析与遗传咨询[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2014, 31(5):672-673.
- [8] Choi H, Lau TK, Jiang FM, et al. Fetal aneuploidy screening by maternal plasma DNA sequencing: "False positive" due to confined placental mosaicism[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33:198-200.
- [9] Crooks K, Edwardsen G, O'Connor S, et al. Cell-free DNA testing in a trisomy 21 pregnancy with confined placental mosaicism for a cell line with trisomy for both chromosomes 18 and 21[J]. *Clin Case Reports*, 2016, 4:19-22.
- [10] Snyder MW, Simmons LE, Kitzman JO, et al. Copy-number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372:1639-1645.
- [11] Wang YL, Chen Y, Tian F, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing[J]. *Clin Chem*, 2014, 60:1 251-259.
- [12] Grömminger S, Yagmur E, Erkan S, et al. Fetal aneuploidy detection by cell-free DNA sequencing for multiple pregnancies and quality issues with vanishing twins[J]. *J Clin Med*, 2014, 3:679-692.
- [13] Callaway JL, Shaffer LG, Chitty LS, et al. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33:1119-1123.
- [14] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(8):570-572.
- [15] Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 41:610-620.
- [16] Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, et al. Experience with microarray based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32:976-985.
- [17] 刘俊涛, 周希亚. 双胎妊娠非整倍体异常的产前筛查与产前诊断[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2015, 31(7):607-609.
- [18] Fosler L, Winters P, Jones KW, et al. Aneuploidy screening by non-invasive prenatal testing in twin pregnancy[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 49(4):470-477.
- [19] Huang X, Zheng J, Chen M, et al. Noninvasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies[J]. *Prenat Diagn*, 2014, 34(4):335-340.
- [20] 李旭红, 尚丽新. 83 例妊娠中期胎儿出生缺陷分析[J/CD]. *发育医学电子杂志*, 2017, 5(4):244-247.

(收稿日期:2017-11-21)

编辑:宋文颖