

# 染色体非整倍体无创产前基因检测假阳性假阴性生物学原因分析

张红云 符美丽 王威

(深圳华大临床检验中心,广东 深圳 518083)

**【摘要】** 染色体非整倍体无创产前基因检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)是一种基于孕妇外周血中游离胎儿 DNA 的新型产前检测技术。该技术在目前的临床应用中展现出了很高的灵敏度与特异性,但由于母体外周血中游离胎儿 DNA 的来源以及含量变化等生物因素,会影响 NIPT 检测准确性,对于目标疾病,会出现 cfDNA 检测出的胎儿染色体异常结果与胎儿真实的核型分析结果存在不一致的情况。通过临床实践与案例研究,造成 NIPT 检测结果与胎儿核型不一致的生物学原因主要包括:限制性胎盘嵌合、双胎一胎凋亡、母亲染色体异常、DNA 拷贝数异常、母血中胎儿 DNA 含量低以及母亲罹患肿瘤等因素。本文将对上述 NIPT 结果准确性的生物学影响因素及相关研究进展进行综合性阐述,通过系统深入分析,将有助于明确无创产前基因检测这项技术在母胎医学领域的应用范围;同时,对出现 NIPT 假阴性与假阳性的分析策略也提出了指导性建议。

**【关键词】** 无创产前基因检测;假阴性;假阳性;生物学原因分析

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

染色体非整倍体无创产前基因检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)是一种基于孕妇外周血中游离胎儿 DNA 的新型产前检测技术。该技术目前的临床定位是一项产前筛查技术,主要目标疾病是常见的常染色体三体,包括 21-三体、18-三体以及 13-三体。NIPT 通过采集孕妇外周血,分离血浆,提取血浆中的游离 DNA,进行高通量测序并结合生物信息分析方法,检测胎儿患染色体异常的情况。基于 NGS 的全基因组鸟枪法(“shotgun” massively parallel sequencing, s-MPS)是目前的主要 NIPT 技术策略<sup>[1]</sup>。此外也可以对待检测的目标基因组区域(targeted, sequencing, t-MPS)或 SNP 位点杂交捕获后的 DNA 产物进行 NGS 测序<sup>[2,3]</sup>。在过去的 5 年中,NIPT 检测技术在临床的应用日益广泛。目前已有临床研究显示,该技术对 21-三体、18-三体以及 13-三体,灵敏度分别可达到 99%、96.8%和 92.1%;特异性分别为 99.92%、99.85%和 99.8%;假阳性率分别是 0.08%、0.15%和 0.20%<sup>[4]</sup>。

NIPT 的检测靶标是孕妇血浆中的游离 DNA(cfDNA)。其中,大部分来自母体自身细胞降解所释放的游离 DNA。在妊娠期,胎盘 DNA 滋养层细胞的凋亡也将释放游离 DNA 进入母体外周血循环,这部分 DNA 即游离胎儿 DNA,通常认为可以准确反映胎儿的遗传信息。目前的 NIPT 方法并不对血浆中母体和胎儿来源的游离 DNA 进行物理分离,而是通过非整倍体胎儿所引入的额外染色体剂量,通过高通量测序来进行准确检测。简言之,基于 cfDNA 测序的 NIPT 技术,其检测的是母体血浆中游离 DNA 的平均分子剂量。因此,尽管 NIPT 的准确性显著高于传统血清学生化筛查,但由于母体外周血中游离胎儿 DNA 的来源以及含量变化等生物因素,都会影响 NIPT 检测准确性,对于目标疾病,会出现 cfDNA 检测出的胎儿染色体异常结果与胎儿真实的核型分析结果存在不一致的情况<sup>[5,6]</sup>。鉴于此,该技术在临床的应用被定位成筛查技术而非诊断技术,NIPT 检测结果阳性一定要进行进一步介入性产前诊断<sup>[7]</sup>。

通过临床实践与案例研究,造成 NIPT 检测结果与胎儿核型不一致的生物学原因主要包括限制性胎盘嵌合<sup>[8]</sup>、双胎一胎凋亡<sup>[9]</sup>、母亲染色体异常<sup>[10]</sup>、DNA 拷贝数异常<sup>[11]</sup>、母血中胎儿 DNA 含量低以及母亲罹患肿瘤等因素<sup>[12,13]</sup>。本文将对上述影响 NIPT 结果准确性的生物学影响因素及相关研究进展进行综述;同时,对出现 NIPT 假阴性与假阳性的分析策略也提出了建议。

## 1 孕妇血浆中的胎儿游离 DNA 来源及生物学特性

1997年,Lo 等人<sup>[14]</sup>通过 PCR 的方法在孕妇血浆中发现了胎儿游离 DNA,为通过母体血液对胎儿异常的检测奠定了科学基础。

在正常妊娠过程中,胎儿游离 DNA (cffDNA)几乎全部来源于胎盘滋养层细胞。孕妇外周血中的游离胎儿 DNA 主要以短片段的形式存在。经研究发现,孕妇血浆中母体来源的 DNA 其长度峰值在 166bp,而胎儿游离 DNA 的长度峰值为 143bp<sup>[15]</sup>。

游离胎儿 DNA 在母体血液循环中出现的时间以及含量变化有一定规律。从妊娠 4 周开始,孕妇外周血中就可以检出 cffDNA;妊娠 7 周胎盘循环建立后,cffDNA 在母体外周血中则以一定比例稳定存在。其含量随着孕周增加而增加;妊娠第 10 周,孕妇血浆游离 DNA 中胎儿来源的 DNA 片段含量 (fetal fraction)平均约为 10%,此后每周以一定的比例缓慢增加,妊娠 20 周左右,会再以比较明显的比例上升<sup>[16-18]</sup>。一项对 23 067 例 NIPT 样本回顾性分析发现,随着孕周的增加胎儿浓度也在增加,在孕 10 周时,胎儿浓度平均约为 9%,直到孕 21 周,这个浓度一直保持相对稳定(整体增加 1%),21 周以后胎儿浓度增加会比较明显,以每周 1% 的浓度进行增长。游离胎儿 DNA 含量变化也存在个体间的差异在这些样本中,2% 的样本胎儿浓度小于 3.5%,0.9% 的样本的胎儿浓度大于 25%<sup>[19,20]</sup>。

除了孕周因素外,其他一些因素,如孕妇体重、胎儿染色体核型等也会影响孕妇血浆中游离胎儿 DNA 的含量<sup>[8,17]</sup>。胎儿浓度与孕妇体重呈负相关,与之前的研究结论基本一致<sup>[19,20]</sup>。研究也发现,21-三体胎儿妊娠的孕妇,其外周血中胎儿 DNA 含量

会整体偏高,而胎儿为 18-三体的孕妇,其胎儿 DNA 含量整体偏低。目前认为这种现象可能与胎盘病理生理因素有关。怀有两个男孩的双胞胎孕妇,其胎儿浓度明显高于单胎孕妇,是单胎评价胎儿浓度的 1.62 倍,患有原发性高血压的孕妇其胎儿浓度会降低<sup>[20,21]</sup>。

游离胎儿 DNA 片段的半衰期很短,孕妇分娩后数小时便无法检测到此次怀孕的游离胎儿 DNA 片段。近期有研究发现,游离胎儿 DNA 的降解经过两个阶段:第一个阶段平均半衰期为 30~60 分钟,第二个阶段平均半衰期为 13 个小时,在 1~2 天后游离胎儿 DNA 便无法检出。这些研究均说明,此次妊娠产生的游离胎儿 DNA 将不会影响下一次妊娠时的检测<sup>[22]</sup>。

## 2 胎儿 DNA 含量 (fetal fraction) 对 NIPT 结果的影响

由于 cffDNA 含量很低,常规的检测方法很难检测<sup>[22-24]</sup>。随着高通量测序 (next generation sequencing, NGS) 技术的出现及发展,使得通过检测孕妇血浆中的游离 DNA 来检测胎儿异常得以实现<sup>[25]</sup>。该技术是通过高通量测序技术对母体血浆中的游离 DNA 进行测序,并分析比对到每条染色体的数据量,将待测孕妇的数据与正常妊娠孕妇的数据进行统计学比较,分析胎儿染色体是否异常<sup>[26]</sup>。

这种方法的假设前提是母体染色体不存在非整倍体。那么,如果胎儿某条染色体出现非整倍体,即待测 DNA 模板量更高,经过测序,分布在该染色体的测序片段 (reads) 数量比正常二倍体时增多。通过 NGS 测序,可以发现这种微量的差异,从而准确判断是否出现非整倍体。该分析主要采用的是 T 检验的方法,为了提高检测的准确度,还可以增加双假设检验的方法<sup>[26]</sup>。研究发现,胎儿含量越高,T 检验所得的 Z-scores 值越高,就越容易区分出胎儿染色体整倍体和非整倍体<sup>[21]</sup>。

由于上述方法并非对母血中 cffDNA 进行物理分离,而是利用 cffDNA 测序片段的计数差异,在较高母体游离 DNA 含量下,要检测出胎儿染色体非

整倍体与整倍体之间在数据方面的差异,cffDNA含量是一个比较重要的参数。基于全基因组高通量测序技术的染色体非整倍体检测,测序的有效数据量和胎儿含量决定了检测的灵敏度。如,Jiang等<sup>[26]</sup>研究显示,对于胎儿含量为3.5%的样本,有效测序数据量(unique reads)需要达到1.7M时,才可以达到很高的检测灵敏度。在测序数据量一定的情况下,胎儿含量低于3.5%时,则容易出现假阴性的情况。

对于胎儿含量低而无法获得NIPT检测结果(no call)的孕妇,可给予重新采血检测或者进行全面临床评估后进行介入性诊断。Song等<sup>[27]</sup>报告了相关研究结果:在229 454例NIPT筛查标本中,对由于胎儿DNA含量低而重新采血的病例其后续检测情况进行了评估。对于选择二次采血的孕妇,68%的受检者可以获得NIPT检测结果,其中98%的NIPT结果为非整倍体低风险。

另一个影响胎儿含量的主要因素就是染色体嵌合的情况。出现目标染色体非整倍体嵌合时,该染色体有效DNA含量就会低于其他没有嵌合的染色体。如,某一条染色体三体的嵌合比例为50%,该母体血浆中的胎儿含量是10%,那出现三体嵌合的这条染色体则是5%,这样就给后续数据信息分析带来了很大的挑战<sup>[21]</sup>。

### 3 胎儿胎盘嵌合

胎盘是胎儿主要附属物之一,胎盘绒毛组织与胎儿来自同一受精卵,遗传物质相同,理论上核型一致。由于母体血浆中的胎儿游离DNA主要来自于胎盘,因此,胎儿与胎盘的核型不一致的情况,会影响NIPT检测的准确性。

3.1 限定性胎盘嵌合可以导致NIPT假阳性 影响NIPT的胎盘因素主要是限制性胎盘嵌合(confined placental mosaicism, CPM)。CPM为细胞遗传学异常。一般性的嵌合,在胎儿及其胎盘中存在2个及以上不同的细胞系,而CPM是只影响胎盘的组织特异性染色体嵌合性。

根据胎盘细胞中不同类型细胞的异常,将胎盘嵌合分成3种类型。I型:异常局限于细胞滋养层;

II型:异常位于绒毛间质;III型:两种细胞类型均涉及。I型和II型主要是有丝分裂时出现异常,III型主要是减数分裂时出现异常。研究发现,在不同的CPM类型中,染色体异常的类型并不是随机出现:I型中3、7、13、18、20和21号染色体异常出现的频率会高,8、9、15出现的频率低,X染色体出现完全单体和嵌合的概率要比其他染色体高;II型CPM出现的概率比I型低,在这个类型中,2、7和18号染色体三体出现的频率比较高,5、8、9、10、12、13、21和22比较罕见;III型CPM代表着三体合子逃逸,在这种类型中,15、16、18发生的频率比7、13、20和22高,其他染色体很少发生。I型CPM一般会导致自发流产、胎儿生长受限(IUGR)、宫内死亡或者围产期死亡;II型CPM大多数会出生正常,有一小部分会出现胎儿生长受限或者宫内死亡;III型CPM宫内死亡和胎儿生长受限非常普遍,并且大多数案例报道胎儿宫内死亡与CPM 16相关<sup>[28]</sup>。

嵌合形成可以是有丝分裂不分离错误或者减数分裂不分离错误所致。前者通常发生在正常合子中,在其有丝分裂中发生不分离错误。有报道显示,这是导致嵌合的主要机制,与性别无关<sup>[29]</sup>。同源染色体不分离(NDJ)也可以发生在减数分裂中,导致异常合子,随后有丝分裂中通过三体自救或者后期延迟,丢失多余的染色体,而生成正常二倍体细胞<sup>[30]</sup>。减数分裂NDJ错误通常发生在母亲卵细胞减数分裂中。三体性合子丢失多余的染色体,还与其发生的细胞系纠正时间点及涉及的染色体有关系。如果多余的染色体丢失发生在早期滋养层细胞中,那么会形成嵌合性胎盘,二倍体仅限于滋养层细胞,间质为三体,胎儿为非嵌合性的三体。如果非整倍体自救发生在内细胞团或者胚细胞中,丢失多余的染色体后,会发育成非嵌合性的二倍体胎儿,而胎盘滋养层与间质均为三体<sup>[31]</sup>。

有研究报道,妊娠9~12周时通过CVS进行产前诊断的病例中,CPM的发生率约1%~2%<sup>[33,34]</sup>。不同类型的胎盘嵌合在进行绒毛膜穿刺培养时,因采用的绒毛膜穿刺培养技术差异,常常会呈现不同的结果。绒毛膜标本有两种分析技术,包括短期培养法(STC-villi)和长期培养法(LTC-villi)<sup>[35]</sup>。短

期培养绒毛来源于细胞滋养层,长期培养绒毛主要来源于内细胞层,叶间质细胞,因此I型CPM仅在短期培养后能观察到。II型CPM只有经过长期培养方可观察到;对于III型CPM,短期培养和长期培养均可以见到<sup>[28]</sup>。为了使绒毛膜穿刺结果更准确,既需要检测STC(细胞滋养层)也需要检测LTC(叶间质细胞)<sup>[36]</sup>。对于NIPT,主要检测来源于细胞滋养层的DNA,就相当于短期培养绒毛(STC-villi)的结果。不同类型的CPM,NIPT检测结果与羊水核型分析结果的一致性也不同(表1)<sup>[37]</sup>。

表1 胎盘嵌合类型绒毛膜穿刺培养、羊水核型分析及NIPT结果

CPM 型别	细胞滋养层(直接法/短时培养)	绒毛间质(长时培养)	羊水细胞	预期 NIPT 结果
CPM I	异常	正常	正常	假阳性
CPM II	正常	异常	正常	真阴性
CPM III	异常	异常	正常	假阳性

例如,Hochstenbach<sup>[38]</sup>报道,NIPT与CVS直接制片显示正常男胎,而绒毛培养与脐血核型则显示为T18。胎盘组织标本显示为细胞滋养层与间质均有嵌合,滋养层细胞嵌合比例较低,而间质均为高比例嵌合。这些胎儿-胎盘差异是由于绒毛组织是由来源不同的多种胚外组织构成,与处于早期发育阶段的胚胎不同。CVS培养结果代表绒毛间叶细胞核心,并最大限度地反映胎儿染色体的组成,直接制片只能反映滋养层细胞(绒毛的外胚层),与胚胎细胞有一定差距。

由于CPM中胎盘内同时存在两种或多种细胞系,其染色体核型与胎儿存在差异,此时胎儿染色体核型大多正常<sup>[28]</sup>。这种情况会导致NIPT假阳性。为了对胎盘嵌合情况进行详细的分析,Grati FN等人<sup>[37]</sup>对52 673例CVS标本进行回顾性分析发现,在不同胎盘嵌合类型中都会存在一定比例的13-三体、18-三体和21-三体。在CPM I和CPM III中,三体细胞的比例在10%~100%之间,据保守估计,三体细胞的比例 $\geq 70\%$ 时就可以使NIPT检测结果为阳性,21-三体、18-三体和13-三体这些常见的三体假阳性率为0.033%(1/3006);对于常见的三体和X单体,假阳性率为0.08%(1/1243);对于所有染色体,假阳性率为0.091%(1/1105)。

NIPT自临床应用以来,研究人员报道了一些由于CPM引起NIPT检测结果假阳性的病例。例如,Hall等人<sup>[39]</sup>报道了1例NIPT出现13-三体假阳性的案例:羊水核型分析胎儿为正常二倍体核型(46,XY),孕36<sup>+</sup>6周时由于羊水过少进行剖腹产手术,随后对胎盘组织进行了检测,胎盘的4个象限中有2个象限的标本核型为47,XY,+13[5]/46,XY[38]和47,XY+13[5]/46,XY[15],另外两个象限核型均为46,XY。Choi H等人<sup>[40]</sup>也报道了一个关于胎盘22号染色体嵌合的假阳性案例。TK Lau等人<sup>[8]</sup>报道了由于胎盘嵌合而引起另一个NIPT检测假阳性的案例,NIPT检测结果为47,XXY,并且T21、T7嵌合,CVS QF-PCR结果XXY嵌合,核型分析结果为49,XXY,+7,+21[24]/46,XY[6],孕16周羊水穿刺QF-PCR和核型分析结果均为46,XY。在这个胎盘嵌合病例原因排查过程中,同时发现了对于嵌合体的检测,NIPT的检测灵敏度高于QF-PCR。

对于减数分裂型CPM,三体受精卵“胎儿自救”过程中会丢失掉一条染色体,因此剩余的两条染色体有可能来自于同一个亲本,即出现单亲二倍体<sup>[41]</sup>。Pan等<sup>[42]</sup>报道了1例这样的案例:孕妇早孕期唐筛为高风险(1/5),在孕12周进行CVS、QF-PCR检测21号染色体的7个STR都为单峰,核型分析结果为46,XX,高度怀孕该样本为单亲二倍体(UPD),进一步的分子生物学检测发现,胎儿21号染色体来自于母亲。在等待CVS结果的时候,孕妇进行了NIPT检测,结果为T21,由于CVS和NIPT结果不一致,孕妇在孕16周进行了羊水穿刺,结果为46,XX,UPD 21。胎盘检测分析4个位点,其中3个位点为T21,1个位点为UPD21。因此,当NIPT检测结果与胎儿染色体核型不一致时,也应考虑UPD的情况。

3.2 胎儿、胎盘染色体核型不一致可以导致NIPT假阴性 由于对NIPT检测阴性病例的随访难度,对于NIPT与染色体核型不一致导致假阴性结果的病例报道较为有限。少数发表的病例显示与胎儿-胎盘核型结果不一致有关。

通过对52 673例CVS标本检测结果进行回顾

性分析,Grati 等人<sup>[37]</sup>发现通过计算真正胎儿嵌合的病例,即羊水和 CVS 均含有同样的异常的病例,来推测 NIPT 检测的假阴性率约为 1/107。Opstal 等人<sup>[43]</sup>通过对绒毛膜进行细胞遗传学研究,来评估 NIPT 检测出现假阴性的风险。他们通过对 5967 例进行绒毛穿刺检测的孕妇检测数据进行分析,由于存在核型正常或嵌合比例低于 30%,所有 13-三体、18-三体和 21-三体的胎儿在进行短期培养穿刺时都进行回顾性分析,在 5967 例样本中,发现了 404 例(6.8%)13-三体、18-三体和 21-三体。其中,14/404 例(3.7%)是正常核型或者低比例嵌合,这些病例在进行 NIPT 检测时将可能会被漏掉;21-三体漏检的比例为 2%(5/242),18-三体漏检的比例为 7.3%(9/123)。

由于胎盘嵌合引起的 NIPT 检测假阴性,一般都是后期 B 超发现异常或者 NIPT 检测显示其他染色体异常进行羊水穿刺发现的。Wang 等人<sup>[44]</sup>报道了 2 例由于胎盘嵌合导致的 21-三体假阴性的案例,NIPT 检测结果均为低风险,在 B 超检查异常后进行羊水或脐血检测才发现,并对引产后的胎盘进行检测得以确定。另外两个案例都是关于 18-三体假阴性:Pan 等人<sup>[45]</sup>报道的案例,NIPT 检测结果为 45,X,但 B 超异常,羊水穿刺核型结果为 47,XX,+18。胎盘组织检测发现大部分细胞为 45,X(67%,62/69),只有小比例的 T18 细胞(30%,28/92)。Gao 等人<sup>[46]</sup>报道了 1 例胎盘嵌合导致 T18 漏检的案例,孕妇 NIPT 检测结果为 XXX 高风险,B 超显示双侧马蹄足,双侧脉络丛囊肿,后进行羊水穿刺,QF-PCR 和核型分析,结果为 48,XXX,+18,孕妇选择终止妊娠,分别在胎盘 7 个位置取组织进行 QF-PCR 和测序进行检测,结果显示 T18 的嵌合比例为 20%~30%,XXX 的嵌合比例较高 70.8%(73/103)。胎儿组织检测为完全的 XXX 和 T18。

NIPT 检测结果仅仅反映的是细胞滋养层的核型,而非胎儿的核型。与 CVS 类似,NIPT 阳性可能仅反映细胞滋养层而非胎儿核型,其检测结果与胎儿核型分析结果会出现不一致的情况,会导致 NIPT 假阳性,应行介入性产前诊断确诊。在临床应用时,如果 NIPT 检测结果为 13-三体、18-三体或

者 21-三体,后续应当进行介入性产前诊断,优先选择羊水穿刺,有助于对 NIPT 假阳性进行鉴定<sup>[47-49]</sup>,这是因为羊水细胞主要来自于胎儿,而非胎盘细胞。同样,医生必须提供 NIPT 结果的咨询,即使 NIPT 有很高的检出率,但 NIPT 阴性并不能完全排除胎儿异常<sup>[50,51]</sup>。

## 4 母体因素的影响

### 4.1 母体染色体异常或嵌合对 NIPT 结果的影响

目前所有 NIPT 检测方法都是根据母体外周血浆中的游离 DNA 序列分析来进行统计,该统计是基于所有孕妇游离 DNA 贡献量相等的情况。而实际因个人染色体的变异,以及个体间的差异而出现不同。如果孕妇本身存在某条染色体的异常或者嵌合,在统计分析时会增大相应染色体来源的游离 DNA 比例,进而会影响血浆中真实胎儿染色体 DNA 片段的计算,提高 Z 值或 T 值而被判定为阳性,导致 NIPT 检测结果与核型结果不一致。

母体染色体拷贝数异常会导致 NIPT 检测结果出现假阳性。Simmons 等<sup>[11]</sup>报道了 2 例由于母亲 18 号染色体片段重复引起 NIPT 检测结果为 18-三体假阳性的案例。另外,也有由于母亲 13 号染色体片段缺失为 22%嵌合所导致的一个 NIPT 检测结果为 13 号染色体单体的假阳性案例<sup>[52]</sup>。无论胎儿是否有遗传母体的染色体重复变异,都会使相应的染色体分子剂量提高至阳性范围,从而出现 NIPT 假阳性<sup>[11]</sup>。Flowers 等人<sup>[53]</sup>报道了一个特殊的案例,该孕妇 38 岁,唐氏血清学筛查 18-三体与 21-三体均为低风险,孕 20 周的 B 超显示右锁骨下动脉异常,室中隔缺损。NIPT 检出结果显示 18 号染色体存在部分重复,羊水 FISH 正常,染色体微阵列结果显示 18 号染色体长臂存在 16.1Mb 的重复(q12.1,q21.1)。胎儿父亲染色体核型正常,母亲染色体核型显示在 18 号染色体相同位置存在重复,为嵌合体(46,XX,dup(18)(q12.1q21.1)<sup>[12]</sup>/46,XX<sup>[48]</sup>)。NIPT 发现胎儿 18 号染色体存在一个染色体片段重复,遗传自母亲。由于母亲为低比例嵌合型,因而并无明显临床症状。但是,当该变异遗传给胎儿并非嵌合型时,则会引起相应的临床表型而

致病。当母亲自身的嵌合重复片段大到足以混淆 NIPT 结果时,即使这个重复片段没有遗传给胎儿仍然会引起 NIPT 假阳性的结果。

母亲的某条染色体非整倍体,完全性或者嵌合性,也会对 NIPT 结果造成干扰。首例报道来自 Yao 等<sup>[54]</sup>,这是孕妇本人核型为 XXX 而导致的 NIPT 出现胎儿 X-三体假阳性的案例。孕妇本人表型正常,其 NIPT 结果提示为 X 染色体三体征。进一步的羊水染色体核型分析则呈现正常的 46,XX。新生儿出生表型正常。追踪孕妇血细胞染色体核型发现,孕妇本身为完全的 47,XXX。这一病例同时也说明 47,XXX 核型的女性可以生育染色体正常的后代。Song 等人<sup>[55]</sup>报道了 1 例因母体 6% 的 18-三体嵌合而引起的 NIPT 检测出现 18-三体假阳性的案例,证明了母体染色体异常可显著影响胎儿相应染色体的 Z 值计算。Lau TK 等人<sup>[8]</sup>报道一个案例,44 岁的高龄孕妇,NIPT 检测为 X 单体(Turner syndrome)(t-score = -26),按母血中的游离胎儿 DNA 含量来说,如果胎儿也是 X 单体,那么 T 值范围应该是在 -6.23 ~ -4.50 之间,而以该 t-score 逆推出来的胎儿含量则达到了 55.4%,理论上是极其罕见的,所以实验室方面推测是母体嵌合影响。母亲核型分析结果为 45,X[3]/46,XX[27],孩子出生后核型正常。Wang Y 等人<sup>[56]</sup>通过在 187 例 NIPT 性染色体异常的前瞻性样本中,发现有 16 例(8.6%)因母体 X 染色体存在异常嵌合而出现了 NIPT 的假阳性。

母体的嵌合可以发生在 X 染色体上,同样也能发生在其他染色体上。目前完全的 21-三体在胎儿含量为 3.5% 以上可以被检测出来。那么,在嵌合性的 21-三体,其胎儿 DNA 含量会因降低(低于 3.5%)而在 NIPT 检测中被漏掉。因此,母体嵌合也是 NIPT 产生假阴假阳的一个原因<sup>[1]</sup>。对于母体染色体拷贝数变异(CNVs)对 NIPT 检测准确性的影响可以通过算法优化进行改进,降低假阳性率<sup>[11]</sup>。同时,在进行 NIPT 检测时如果怀疑母体染色体嵌合或异常时,应对母体白细胞进行检测,以排除母体嵌合原因<sup>[56]</sup>。

4.2 母体肿瘤对 NIPT 结果的影响 由于母体血

浆中的游离 DNA 是母体自身的游离 DNA 和胎盘游离 DNA 的混合,因此,母体染色体的异常也可能导致 NIPT 结果的不一致性。母亲罹患肿瘤时,肿瘤来源的循环 DNA 可以干扰 NIPT 对胎儿源性 DNA 的分析,导致 NIPT 检测结果出现偏差。

Osborne MC 等人<sup>[13]</sup>报导了 NIPT 检测的一例特殊病例。NIPT 显示 13 号染色体剂量偏高,而 18 号染色体则偏低。胎儿羊水核型与 FISH 均正常。产后胎儿核型正常,胎盘染色体正常。孕妇诊断为下耻骨恶性肿瘤。通过对肿瘤组织的石蜡切片 DNA 检测,显示 80% 细胞除出现了 13、18 号染色体非整倍体异常。

Diana 等人对进行 NIPT 检测的 125 426 例样品中检出的 3757(3%)例染色体非整倍体病例进行随访研究,发现其中有 10 名孕妇后续被诊断出罹患癌症,其中 8 例获得了有效的测序数据。对这 8 例样本测序结果进一步分析显示,这些标本在多条染色体上都会存在非特异性的染色拷贝数增加与缺失。在 1 例结直肠癌的病例中,患者在进行治疗后,这些异常的染色体情况都不再存在。

Duijf 等人<sup>[58]</sup>通过 43 205 例肿瘤样本细胞遗传学和染色体分析,发现其中有 68% 的实体瘤会出现染色体非整倍体。研究发现,小一些的染色体,如 21、18 和 13 号染色体,相比大的染色体,更加容易发生缺失。基因和染色体畸变是肿瘤的主要原因,染色体错分离导致染色体非整倍体,染色体非整倍体则会导致肿瘤抑制基因的缺失、或者癌基因的获得。

孕期肿瘤是导致 NIPT 检测结果与核型结果不一致的重要生物学原因。血浆中的游离 DNA 主要来自于肿瘤细胞代谢并进入母体血液循环,为循环肿瘤 DNA(ctDNA)。来自凋亡、坏死的肿瘤细胞或者肿瘤细胞的外泌体,主要以核小体的形式释放入血,含量约占循环游离 DNA 的 1%,甚至 0.01%。孕期肿瘤的发生率大概是千分之一,在孕期常见的肿瘤类型有乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、霍奇金淋巴瘤、恶性黑色素瘤<sup>[13,59,60]</sup>。目前文献报道的 NIPT 发现肿瘤类型有神经内分泌癌、霍奇金与非霍奇金淋巴瘤、结直肠癌、T 细胞急性淋巴细胞白血病、肛门癌、

阴道源性的转移性小细胞神经内分泌癌、卵巢癌等。从目前的数据来看,罹患肿瘤的孕妇,其外周血标本进行 NIPT 检测时,普遍会存在多条染色体同时出现非整倍体异常的情况<sup>[57]</sup>。因此,当 NIPT 结果出现常染色体单体、多染色体非整倍体等较为罕见的变异时,应进行介入性产前诊断,以避免 NIPT 假阳性结果造成不当妊娠终止,同时,这种很罕见的染色体异常也对应用 NIPT 进行孕期肿瘤诊断有积极的意义,这方面的应用有待进一步探讨。

## 5 消失双胎 (vanishing twin, VT) 对 NIPT 结果的影响

Grömminger S 等人<sup>[61]</sup>报道了 2 例因消失双胎而导致的 NIPT 假阳性案例。其中一个案例,39 岁辅助生殖的孕妇植入两个胚胎,孕 10 周时 B 超发现只有一个胎心,孕 17<sup>+</sup>2 周时,NIPT 检测结果为 21-三体阳性,羊穿结果为正常核型。在孕 38<sup>+</sup>2 周时再进行一次 NIPT 检测结果为正常。胎儿出生后对纸样胎儿组织进行了核型分析,结果为 47,XX,+21,母亲和胎儿均为正常核型。另一个案例是孕妇在孕 13<sup>+</sup>2 周由于早孕期唐筛高危进行 NIPT 检测,结果为 21-三体,用 Y 染色体检测的胎儿含量为 3%,用其他方法检测胎儿含量为 13.4%,由于数据偏差太大,推测该孕妇为消失双胎,最后经临床证实。也有发现通过孕妇血浆游离 DNA 检测性别时 VT 可以引起判断错误<sup>[62]</sup>。Lau 等人<sup>[62]</sup>发现了一个特殊的案例,孕妇孕 12<sup>+</sup>3 周抽血进行 NIPT 检测,被发现是 VT,后来在孕 12<sup>+</sup>3 周,13<sup>+</sup>2 周和 14<sup>+</sup>4 周分别抽血进行 NIPT 检测,发现用 Y 评估出的胎儿浓度在 2.2%~3.5%,并且 18 号染色体的 t-score 在 1.4~2.7 之间,从而无法提供检测结果。这名孕妇后来进行羊水穿刺,核型为 46,XX。从以上案例可以看出,消失双胎会对 NIPT 结果产生影响,但对于双胎之一死亡后,其游离 DNA 在母体血浆中存在时间等问题尚不明确。

Curnow KJ 等人采用 SNP-based cfDNA 测序对母血中胎儿单倍体型进行分析,以发现未识别的双胎妊娠、消失双胎等情况。在 30 795 例临床单胎妊娠孕妇中,共发现 130(0.42%)例三倍体、消失双

胎和未被发现的双胎妊娠。对其中的 76 例进行了确诊,包括 37 例(48.7%)存活双胎妊娠、32 例(42.1%)消失双胎。研究发现消失双胎的胎儿 DNA 含量与双胎没有显著差异。其中,5 例消失双胎有明确的胎儿死亡时间,研究发现胎儿死亡后 8 周,NIPT 仍可检测到消失胎儿的遗传物质。在这一研究中还发现,发生消失双胎的孕妇年龄显著高于双胎妊娠孕妇,符合孕妇年龄越大,发生染色体异常概率越高这一情况<sup>[10]</sup>。

对单胎妊娠的研究发现,相同孕周时,自然流产孕妇的胎儿 DNA 含量是正常妊娠的 5 倍<sup>[63]</sup>,流产发生后至少连续 7 天胎儿 DNA 含量呈现上升趋势<sup>[64]</sup>。双胎妊娠出现一胎消亡时,也有可能引起孕妇外周血中胎儿 DNA 含量胎儿上升。

双胎妊娠发生率约为 1%~3%。双胎之一胎死宫内(single intrauterine fetal death, sIUFD)是双胎妊娠较复杂的一种并发症,在早孕期发生率为 12%~38%,中晚孕期为 0.5%~6.8%。早孕期双胎妊娠出现双胎之一胎死宫内的证据为超声发现 2 个孕囊,而分娩时仅见一个胎儿,称消失双胎(vanishing twin, VT)。单绒毛膜性(MC)双胎发生 sIUFD 的风险是双绒毛膜性(DC)双胎的 2~5 倍,若孕龄 3~4 个月发生 sIUFD,则羊水、胎儿及胎盘组织的水分被吸收,剩余组织被存活胎儿压缩至宫壁,称为纸样胎儿,发生率为 1/12 500<sup>[65]</sup>。研究发现,消失双胎的比例为 0.18%,染色体异常相关的消失双胎比例为 0.11%<sup>[9]</sup>。Thurik 等人<sup>[66]</sup>通过胎儿 Rh<sup>-</sup>血与游离 DNA RH<sup>+</sup>结果不一致的现象,推测消失双胎在孕妇中的发生频率至少为 0.23%。

随着高龄孕妇增加,辅助生殖技术(ART)的广泛开展,双胎妊娠发生明显增加,消失双胎的发生率也将有所增加。如果 NIPT 检测在早孕期应用,将会遇到更多消失双胎的病例,进一步增加 NIPT 无法出具结果(no call)以及假阳性的几率,因此在临床应用中应充分考虑这一情况。

## 6 异常结果临床排查流程

综上所述,尽管基于孕妇外周血游离胎儿 DNA 的 NIPT 检测针对胎儿非整倍体有较高的检测性

能,但一些生物学因素会对其检测结果形成干扰,从而导致 NIPT 检测结果与胎儿核型不一致,出现假阳性和假阴性。这一方面提醒我们,NIPT 临床定位是一项产前筛查技术,而非诊断性检测。因此,当 NIPT 检测结果为阳性时,进行介入性产前诊断确诊十分必要。此外,NIPT 作为一项新技术,在其与已有产前筛查与诊断体系整合的过程中,临床咨询与护理依然非常重要。例如,当 NIPT 检测结果阴性时,B超检查起到非常重要的作用;当 B超结果正常,孕妇只需按照医院产检流程进行产检即可;当 B超结果异常时,需进行介入性产前诊断(图 1)。

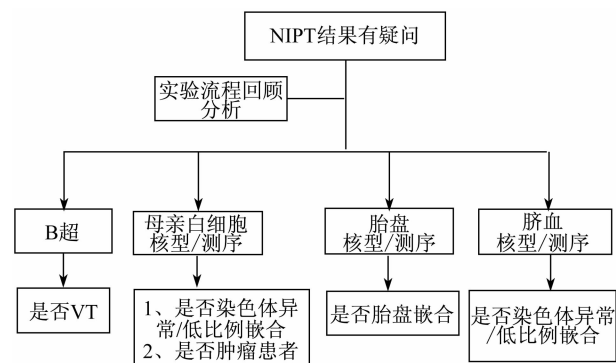


图 1 NIPT 结果异常排查流程

对于 NIPT 检测机构与产前诊断机构,有必要建立一套 NIPT 异常结果分析体系,以便对这些异常结果的原因进行分析,不仅有助于临床决策,同时可以经验积累,以逐步完善 NIPT 临床整合工作。当 NIPT 检测结果异常而介入性核型分析结果正常时,即疑似 NIPT 假阳性,首先有必要对实验室检测流程及数据进行回顾分析,同时对孕妇进行 B超检查,以排除是否有双胎一胎消亡出现,还需对母亲白细胞进行核型分析、测序或者微阵列检测,以排除母体染色体异常、嵌合、染色体拷贝数变异或肿瘤等因素的影响。当怀疑是胎盘因素影响时,在分娩时还应留取胎盘进一步检测,同时,应对胎盘组织进行 UPD 分析。如果出现两条或者多条染色体异常时,可以再次采血进行检测,并根据复检结果同时综合考虑母亲其他临床检查情况进行临床决策。当 NIPT 检测结果正常而介入性核型分析结果为异常或孩子分娩后出现异常,即 NIPT 假阴性时,同样建议进行实验室检测流程及数据回顾分析,对母体白

细胞和胎盘细胞进行检测以排查是否母体和胎盘因素引起。同时,还需要对脐血或新生儿血液进行核型分析以确定是否会存在低比例嵌合情况。由于胎儿 DNA 含量低会出现漏诊的情况,或者当胎儿含量低于检测要求而无法获得 NIPT 检测时,可以根据孕周等具体情况决定是否需要重新采血检测,同时根据孕妇全临床评估结果决定是否需要进行介入性产前诊断。

## 7 总结

总之,NIPT 有很高的检测灵敏度和特异性,但仍然会存在较低概率的假阳性或假阴性。因此在孕妇接受该项检测时,临床医生需要对该技术的优势和局限性给予充分的介绍,同时,也应重视孕期包括超声学检查等常规临床检测,用以弥补 NIPT 的技术局限性。在 NIPT 临床应用过程中,很多假阴性情况多在分娩后发现,如果当时出生时没有留取胎盘标本,将无法对假阴性原因进行彻底调查。因此,加强临床随访工作,同时及时留取胎盘、脐血等标本,对 NIPT 假阴性和假阳性原因分析尤为重要。

## 参考文献

- [1] Jiang F, Ren J, 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.
- [2] Sparks AB, Struble CA, Wang ET, et al. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18 [J]. Am J Obstet Gynecol, 2012,206:319e1-9.
- [3] Norton ME, Brar H, Weis J, et al. NonInvasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18 [J]. Am J Obstet Gynecol, 2012,207:137e1-8.
- [4] Gil MM, Akolekar R, Quezada MS, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: meta-analysis [J]. Fetal Diagn Ther, 2014,35 (3): 156-173.
- [5] Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: what has happened since the rubber met the road? [J]. Clin Chem, 2014, 60(1):78-87.
- [6] Wang JC, Sahoo T, Schonberg S, et al. Discordant noninva-



- sive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases[J]. *Genet Med*, 2015, 17(3):234-236.
- [7] Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy[J]. *Genet Med*, 2013, 15(5):395-398.
- [8] Lau TK, Jiang FM, Stevenson RJ, et al. Secondary findings from non-invasive prenatal testing for common fetal aneuploidies by whole genome sequencing as a clinical service[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(6):602-608.
- [9] Curnow KJ, Wilkins HL, Ryan A, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 212(1):79.e1-79.e9.
- [10] Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S, et al. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology[J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 125(2):375-382.
- [11] 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(17):1639-1645.
- [12] Osborne CM, Hardisty E, Devers P, et al. Discordant noninvasive prenatal testing results in a patient subsequently diagnosed with metastatic disease[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33(6):609-611.
- [13] Vandenberghe P, Wlodarska I, Tousseyn T, et al. Non-invasive detection of genomic imbalances in Hodgkin/Reed-Sternberg cells in early and advanced stage Hodgkin's lymphoma by sequencing of circulating cell-free DNA: a technical proof-of-principle study[J]. *Lancet Haematol*, 2015, 2(2):e55-e65.
- [14] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. *Lancet*, 1997, 350(9076):485-487.
- [15] Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. Maternal plasma DNAs sequenced reveal the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2:841-849.
- [16] Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study[J]. *Genet Med*, 2012, 14(3):296-305.
- [17] American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics, Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee opinion No. 640: cell-free DNA screening for fetal aneuploidy [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(3):e31-37.
- [18] Benn P, Borrell A, Cuckle H, et al. Prenatal detection of Down syndrome using massively parallel sequencing (MPS): a rapid response statement from a committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(1):1-2.
- [19] Wang E, Batey A, Struble C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33:662-666.
- [20] Zhou Y, Zhu Z, Gao Y, et al. Effects of maternal and fetal characteristics on cell-free fetal DNA fraction in maternal plasma[J]. *Reprod Sci*, 2015, 22(11):1429-1435.
- [21] Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies[J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33:667-674.
- [22] Lo YM, Zhang J, Leung TN, et al. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma[J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64(1):218-224.
- [23] Lo YM, Tein MS, Lau TK, et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for non-invasive prenatal diagnosis[J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62:768-775.
- [24] Birch L, English CA, O'Donoghue K, et al. Accurate and robust quantification of circulating fetal and total DNA in maternal plasma from 5 to 41 weeks of gestation[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(2):312-320.
- [25] 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, 45:530-538.
- [26] Jiang F, Ren J, 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.
- [27] Abstracts of the ISPD 20th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy Berlin, Germany 10-13 July 2016[J]. *Prenat Diagn*, 2016, 36Suppl 1:3-90.
- [28] Lestou VS, Kalousek DK. Confined placental mosaicism and intrauterine fetal growth[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1998, 79:F223-F226.
- [29] Antonarakis SE, Avramopoulos D, Blouin JL, et al. Mitotic errors in somatic cells cause trisomy 21 in about 4.5% of cases and are not associated with advanced maternal age[J]. *Nat Genet*, 1993, 3:146-150.
- [30] Sirchia SM, Garagiola I, Colucci G, et al. Trisomic zygote rescue revealed by DNA polymorphism analysis in confined

- placental mosaicism [J]. *Prenat. Diagn.*, 1998, 18: 201-206.
- [31] Simoni G, Fraccaro M. Does confined placental mosaicism affect the fetus? [J]. *Hum Reprod.*, 1992, 7:139-140.
- [32] Kalousek, D. K. Pathogenesis of chromosomal mosaicism and its effect on early human development[J]. *Am J Med Genet.*, 2000, 91: 39-45.
- [33] Ledbetter DH, Zachary JM, Simpon JL, et al. Cytogenetic results from the US Collaborative Study on CVS[J]. *Prenat Diagn.*, 1992, 12:317-345.
- [34] Kalousek DK, Dill FJ. Chromosomal mosaicism confined to the placenta in human conceptions [J]. *Science*, 1983, 221: 665-667.
- [35] Smidt-Jensen S, Christensen B, Lind AM. Chorionic villus culture for prenatal diagnosis of chromosome defects: reduction of the long-term cultivation time [J]. *Prenat Diagn.*, 1989, 9(5):309-319.
- [36] van den Berg C, Van Opstal D, Brandenburg H, et al. Accuracy of abnormal karyotypes after the analysis of both short- and long-term culture of chorionic villi [J]. *Prenat Diagn.*, 2000, 20(12):956-969.
- [37] Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, et al. Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results [J]. *Genet Med.*, 2014, 16(8):620-624.
- [38] Hochstenbach R, Nikkels PG, Elferink MG, et al. Cell-free fetal DNA in the maternal circulation originates from the cytotrophoblast: proof from a unique case [J]. *Clin Case Rep.*, 2015, 3(6):489-491.
- [39] Hall AL, Drendel HM, Verbrugge JL, et al. Positive cell-free fetal DNA testing for trisomy 13 reveals confined placental mosaicism [J]. *Genet Med.*, 2013, 15:729-732.
- [40] 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.
- [41] 周希亚, 戚庆炜, 郝娜, 等. 限制性胎盘嵌合体对产前诊断的影响 [J]. *生殖医学杂志*, 2015, 24 (3) :171-176.
- [42] Pan M, Li FT, Li Y, et al. Discordant results between fetal karyotyping and non-invasive prenatal testing by maternal plasma sequencing in a case of uniparental disomy 21 due to trisomic rescue [J]. *Prenat Diagn.*, 2013, 33:598-601.
- [43] Van OD, Srebnik MI, Polak J, et al. False negative NIPT results: risk figures for chromosomes 13, 18 and 21 based on chorionic villi results in 5967 cases and literature review [J]. *PloS One.*, 2016, 11(1):e0146794.
- [44] Wang Y, Zhu J, Chen Y, et al. Two cases of placental T21 mosaicism: challenging the detection limits of non-invasive prenatal testing [J]. *Prenat Diagn.*, 2013, 33 (12): 1207-1210.
- [45] Pan Q, Sun B, Huang X, et al. A prenatal case with discrepant findings between non-invasive prenatal testing and fetal genetic testings [J]. *Mol Cytogenet.*, 2014, 7:48.
- [46] Gao Y, Stejskal D, Jiang F, et al. False-negative trisomy 18 non-invasive prenatal test result due to 48,XXX,+18 placental mosaicism [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2014, 43:477-478.
- [47] Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2013, 42(1):15-33.
- [48] Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy [J]. *Genet Med.*, 2013, 15(5):395-398.
- [49] Benn P, Borell A, Chiu R, et al. Position statement from the Aneuploidy Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis [J]. *Prenat Diagn.*, 2013, 33(7):622-629.
- [50] ACOG American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy [J]. *Obstet Gynecol.*, 2012, 120:1532-1534.
- [51] Dagmar KK, Michel V. Confined placental mosaicism [J]. *J Med Genet.*, 1996, 33:529-533.
- [52] Brady P, Brison N, Van Den Bogaert K, et al. Clinical implementation of NIPT-technical and biological challenges [J]. *Clin Genet.*, 2016, 89(5):523-530.
- [53] Flowers N, Kelley J, Sigurjonsson S, et al. Maternal mosaicism for a large segmental duplication of 18q as a secondary finding following non-invasive prenatal testing and implications for test accuracy [J]. *Prenat Diagn.*, 2015, 35(10):986-989.
- [54] Yao H, Zhang L, Zhang H, et al. Noninvasive prenatal genetic testing for fetal aneuploidy detects maternal trisomy X [J]. *Prenat Diagn.*, 2012, 32:1114-1116.
- [55] Song Y, Liu C, Qi H, et al. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies by massively parallel sequencing in a prospective Chinese population [J]. *Prenat Diagn.*, 2013, 33(7): 700-706.
- [56] Wang Y, 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.
- [57] Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies[J]. JAMA, 2015,314(2):162-169.
- [58] Duijff PH, Schultz N, Benezra R. Cancer cells preferentially lose small chromosomes[J]. Int J Cancer, 2013, 132(10): 2316-2326.
- [59] Amant F, Verheecke M, Wlodarska I, et al. Presymptomatic identification of cancers in pregnant women during noninvasive prenatal testing[J]. JAMA Oncol, 2015,1(6):814-819.
- [60] Pavlidis NA. Coexistence of pregnancy and malignancy[J]. Oncologist, 2002,7(4):279-287.
- [61] Gr? mminger 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(3):679-692.
- [62] Lau TK, Cheung SW, Lo PS, et al. Non-invasive prenatal testing for fetal chromosomal abnormalities by low-coverage whole-genome sequencing of maternal plasma DNA: review of 1982 consecutive cases in a single center[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2014;43:254-264
- [63] Yin A, Ng EH, Zhang X, et al. Correlation of maternal plasma total cell-free DNA and fetal DNA levels with short term outcome of first-trimester vaginal bleeding[J]. Hum Reprod, 2007, 22:1736-1743.
- [64] Lim JH, Kim MH, Han YJ, et al. Cell-free fetal DNA and cell-free total DNA levels in spontaneous abortion with fetal chromosomalaneuploidy[J]. PLoS One, 2013,8: e56787.
- [65] 林颖, 王蕴慧. 双胎之一胎死宫内的病因、处理及存活儿的预后 [J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2013, 09(3): 388-392.
- [66] Thurik FF, AitSoussan A, Bossers B, et al. Analysis of false-positive results of fetal RHD typing in a national screening program reveals vanishing twins as possible cause for discrepancy[J]. Prenat Diagn, 2015,35:754-760.

(收稿日期:2017-06-16)

编辑:宋文颖

## · 视频导读 ·

## NGS 在严重遗传病产前筛查与诊断中的应用

邬玲仟

(中南大学医学遗传学国家重点实验室、中南大学湘雅医院、湖南家辉遗传专科医院)



## NGS在严重遗传病产前筛查与诊断中的应用

邬玲仟

wulingqian@skimg.edu.cn

中南大学医学遗传学国家重点实验室

中南大学湘雅医院产前诊断中心

湖南家辉遗传专科医院

2016年5月12日

除了我们所熟知的唐氏综合征之外,目前已报道的染色体病综合征已超过 250 种。在第六届“中国胎儿医学大会”上,来自中南大学医学遗传学国家重点实验室的邬玲仟教授介绍了高通量测序(NGS)技术对严重遗传病的诊断。视频包括高通量测序能检测的严重遗传病、染色体病综合征、NIPT 理论、多国出台 NIPT 指南、全球 NIPT-Plus 开展情况、单基因病产前诊断以及一些有代表性的病例。

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2017.03.011