

# 那些关于 NIPT 的新问题

蒋宇林

(北京协和医院 妇产科,北京 100032)

【中图分类号】 R714.53 【文献标识码】 A

随着我们对于 NIPT 技术临床应用的不断深入,对于其应用于产前筛查的优势及局限性的认识也日益清晰,当前对于胎儿常见染色体非整倍体产前筛查的方法体系正在进行着不断的变化。NIPT 作为一种基于母体血浆细胞游离 DNA(cfDNA)的高通量测序方法,已被临床采用作为胎儿染色体非整倍体如唐氏综合征、Edwards 和 Patau 综合征等的筛查方法。其中 cfDNA 包括来自母体的 DNA 片段以及用作胎儿替代标记物的胎盘 DNA 片段。虽然 NIPT 最初被建议作为妊娠早孕期高风险孕妇的筛选方案,但最近的临床研究表明,NIPT 应用于全年龄段的孕妇的产前筛查均优于常规筛查方法(例如早孕期联合筛查方案)。尽管美国医学遗传学会(ACMG)2016 年更新了相关的建议,提出针对所有孕妇,NIPT 可以是一种胎儿非整倍体筛查的选择,然而,NIPT 在产前临床实践中的这种潜在扩展还是面临着诸多的挑战。例如,目前 NIPT 的结果报告并不统一,而是根据所进行检测的实验室、检测技术方法以及生物信息学分析过程不同而有所不同;同时,虽然是否接受 NIPT 筛查最终由知情的患者选择,但临床咨询的专业意见和咨询能力在孕妇的决定因素中占了很大的比重,这突显了 NIPT 在临床实施中多学科协作的需要。为了解决这些令人兴奋的进步和新出现的挑战,我们邀请了几位专家进行访谈,并从多学科(包括遗传咨询、产科、基因组学、伦理学和临床生化)的角度分享他们对这些问题的看法。

**问题 1:NIPT 是否在针对高危人群常见胎儿非整倍体异常筛查之外有更多的临床应用价值?**



**Judith Jackson:**NIPT 在高危和低风险妊娠的胎儿非整倍体异常筛查方面都起着重要作用。当 NIPT 于 2011 年(开始应用于高风险人群)和 2012 年(开始应用于低风险人群)在美国临床工作中得以应用时,我的部门是早期开展的机构之一。目前,我们已经完成了超过 2600 例低风险妊娠的 NIPT 检测。虽然一些研究表明,与高危人群相比,低风险人群的阳性预测值(PPV)较低,但各项临床验证研究清楚地表明,NIPT 有着显著优于传统产前筛查的效率。所以(对低危人群)做出使用 NIPT 筛查的决定对我们来说并不困难。

此外,低危人群由于基数巨大,会有更多的唐氏综合征、13-三体 and 18-三体胎儿产生。根据我们的经验,在低危人群中开展 NIPT 筛查可以有效地实现常见胎儿非整倍体异常的早期诊断,并且能够有效地防治漏诊。当出现常规筛查的假阳性可能和胎儿存在非整倍体超声软指标往往会导致父母的严重焦虑,这种情况下,除了会对孕妇产生较大的压力之外,这些异常结果的发现都需要临床咨询医生付出大量支持和指导的时间,并常常导致孕妇患者的不满意。在早孕期开展 NIPT 的筛查可以最大程度地降低孕妇和家庭的相关焦虑。虽然成本效益比难以测量,但对所有孕妇人群使用 NIPT 筛查基本上消除了出现既往常规筛查假阳性结果的夫妇所需的咨询时间和医疗资料。



**Mark Evans:**NIPT 是针对唐氏综合征和其他典型的常见非整倍体(如 T18)非常好的产前筛查手段。但对于 T13、性染色体、染色体小片段缺失和重复异常,NIPT 的临床筛查效率和 PPV 要

低得多。值得注意的是,对于30岁的孕妇人群,其中只有1/3的常见胎儿非整倍体异常病例被诊断出是唐氏综合征。在这个年龄组中,唐氏综合征的发病率约为1/1000,而通过全基因芯片技术(microarray)可以检测出包括其他染色体异常、染色体微缺失重复异常等在内的各种染色体异常的几率约为1/100。因此在这个人群中,其他染色体非整倍体(包括小片段拷贝数变异)的发生率比唐氏综合征更大。所以,当需要针对所有孕妇开展普遍的胎儿染色体异常筛查,在这一角度上看NIPT根本不是一个合理的一线方法。只有当NIPT确实可以稳定地检出所有通过介入性绒毛取样(CVS)和后续微阵列比较基因组杂交所能检出的胎儿染色体异常,那么我的意见将会改变。否则,从公共卫生的角度来看,目前在年轻低危孕妇中进行的NIPT筛查本质上是忽视了主要问题,而仅仅关注了相对不重要的问题。

当用作低龄孕妇的唐氏筛查试验时,NIPT具有较高的临床敏感性,但通过NIPT检测发现1例唐氏胎儿,而同时被早孕期联合筛查[游离 $\beta$ hCG(人绒毛促性腺素)、PAPP-A(妊娠相关血浆蛋白A)和颈部透明层(NT)]所漏诊的估计总筛查成本约为300万美元。考虑到照顾和养育一名唐氏儿童的费用约为100万美元,所以从许多国家的卫生行政管理人员或美国卫生健康主管人员来看,这种做法实在太贵了。

所以,我的意见是,所有妇女不论年龄高低,都应该考虑提供介入性产前诊断检查和全基因组芯片检测的服务。这是因为:①microarray对于普通人群检测发现异常CNV的风险最低是1.0%,远高于35岁妊娠史唐氏综合征胎儿0.5%发生风险的“黄金风险切割值”;②介入性诊断并用microarray检测所发现胎儿异常的效率明显高于NIPT;③对于经验丰富的医生来说,介入性产前诊断操作发生不良事件的风险远远低于各NIPT公司经常引用的风险值(CVS和羊膜穿刺术都为1/500)。



**Subhashini Chandrasekharan:** NIPT对常见染色体非整倍体的产前筛查具有高危妊娠筛查之外的作用,特别是当妇女和她的家庭能够充分知情并做出选择时。临床验证研究表明,NIPT在平均风

险怀孕妇女中检测T21、T18和T13的临床特异性与高危妊娠相当。与早孕期筛查相比,NIPT因为其假阳性率较低,可以有效减少平均风险妊娠人群中不必要的侵入性手术数量,降低手术风险或不良后果的发生率。虽然在美国大多数商业医疗保险公司不断提高NIPT对低风险妊娠人群的覆盖,但是否应该将其纳入社会保险体系依然是一个争论。这关乎产前保健服务的公平性和均质化问题,特别是对于那些无法承受NIPT自付费用的低社会经济群体的妇女而言。如果要在所有妇女中平等开展NIPT进行常见非整倍体异常产前筛查,则需要进一步降低NIPT的检测成本。从这个层面来讲,政府需将NIPT作为医疗必需的产前服务的一部分,适用于所有妇女,而不是考虑其妊娠相关风险。为确保NIPT的正确开展,也需要为所有妇女提供标准化的检测前和检测后的咨询服务。然而,这也给目前资源短缺的国家卫生管理系统带来了困难和挑战。



**Lyn Chitty:** 是的,NIPT在那些地理位置偏远,高质量的NT检测无法普及的地区有着更重要的意义。在这种情况下,只要能开展用于估计孕周大小的基本超声检查,单独的NIPT检测也许是这些地区针对常见胎儿非整倍体异常开展筛查一个最好的选择。如果该地区没有其他的产前筛查系统,NIPT用于所有年龄层面的孕妇也是一种可以考虑的模式。这方面NIPT的开展受到检测成本和当地卫生政策的影响最大。当前,在一个完全由政府财政负担筛查成本,并已经建立起成熟的筛查体系的地区,推荐全年龄段的孕妇进行NIPT检测是不经济的。相关费用成本不仅仅指单纯检测的费用,还包括检测前和检测后的咨询工作,而这是最消耗时间和人力成本的,而这些往往在财务分析和资金分配过程中没有充分地加以考虑。



**Glenn Palomaki:** 通过高通量测序的方法进行母血中游离DNA的检测作为胎儿唐氏综合征和其他常见非整倍体异常的产前筛查,在美国不远的将来可能成为一线筛查方案。在2016年美

国妇产科学会(ACOG)和母胎医学协会(SMFM),以及美国医学遗传学学会(ACMG)都更新了各自的指南,提出NIPT可应用于全年龄段的孕妇筛查。在受到这些临床指南性意见的发布、检测成本的不断下降以及更广泛的保险覆盖等几方面因素的推动下,也许常规血清学筛查体系会逐渐往NIPT筛查体系进行过渡。最近,美国和全球的几个临床实验室已经拥有了相应的知识产权,在2017年底之前,NIPT会在多达15个美国的检测实验室内开展。如果那时的保险赔付(不是费用)降低到每例300美元甚至200美元以下,那么这种筛查体系的转换可能会在2或3年内发生。或者,如果收费仍然很高或者波动很大(例如400~2000美元/例以上),那么在将来保险公司仍然很难提供赔付给全美国每年200万~250万明名希望接受NIPT检测的孕妇。

**问题2:您多久会遇到1例与NIPT有关的意外发现?有什么情况与NIPT的意外发现有关?您认为这是NIPT的优势还是局限性?实验室是否会报告NIPT检测的意外发现?**

**Mark Evans:**目前我作为产前诊断和筛查临床中心的主管,而不是NIPT实验室主管,我们只接收实验室选择报告的信息。作为临床医生,我会按照报告的信息进行咨询和处理。然而,我曾经担任多年的细胞遗传学实验室的主任,所以我明白,经常会有一些含糊不清需要内部解释和判断的检测结果产生,而这些结果信息是那些没有接受过细胞遗传学培训的医生或患者所不容易理解的。

同样的原则也适用于NIPT。与所有新技术一样,我们在充分理解分母之前,往往遇到很多作为分子出现的问题。不确定性是常见的,只能依靠多年的经验才能解决,给予病例的结果解释,确定每个实验室检测发现的结果变异是否具有临床致病的可能性。我们在对比绒毛取材与羊水细胞遗传学检查的优劣,评估乙炔雌酚暴露的癌症风险,评估存在脉络丛囊肿,心脏内强回声点和其他超声标记物异常胎儿的产前诊断方面都经历了类似的过程。出现异常的临床病例首先被公布,但往往在发现标志物多年

后我们才得到确实的风险评估,认识到这些标记物并不真正具有临床致病性。NIPT也存在同样的问题,这些问题只是该技术成熟过程中的一部分。

**Judith Jackson:**我们每年在高危和低危患者中开展约1500例NIPT检测。我们有几个意外的结果改变了我们对此的认知。

在3例母体嵌合性特纳综合征病例中,NIPT结果显示胎儿45,XO的风险增加,但特纳综合征未在胎儿中确诊,母亲反而得到了确诊。这些信息使得这些患者有机会接受遗传和心脏病的专业咨询,以处理面临的心脏缺陷和主动脉夹层发病的风险。这些妇女也因为找到了自身存在学习障碍的潜在原因而感到欣慰。

在胎儿及母亲中未确认的NIPT阳性结果被认为存在局限性胎盘嵌合,而局限性胎盘嵌合导致的胎盘能障碍和妊娠不良结局之间存在明确的关系。我们有1例局限性胎盘嵌合病例是胎盘16-三体嵌合,由于有意识提高了产前检测和早产干预救治,最终取得了较好的治疗效果。该例胎儿在妊娠后期出现了宫内生长受限,母亲则出现了严重的先兆子痫和HELLP综合征,并不断恶化,在肾和肝衰竭后出现昏迷,并认为需要进行肝移植。但最终她和她的早产儿完全康复。由于早期诊断胎盘的异常状态,针对这个患者孕期密集的管理和监测对于妊娠的结局至关重要。

在另一个病例中,早孕期的NIPT检测表明是男性胎儿,在孕中期超声检查为女性。在进行遗传咨询后,患者接受羊膜穿刺术,胎儿染色体被证实为46,XY男性。新生儿最终确诊为雄激素不敏感综合征。患儿母亲接受了进一步的遗传咨询,并将该儿童作为一名女性进行专门的生后护理和抚养。

虽然我们目前没有从NIPT检测中发现母亲存在癌症潜在风险的病例,但我们也对这方面的信息感兴趣。

**Subhashini Chandrasekharan:**我的理解是,意外发现的结果可以出现在符合当前cfDNA筛查检测情形的任何病例中。至于这种意外发现是否是一个技术优势还是一种局限性,这完全取决于孕妇和家庭在选择NIPT筛查时是否经过充分的检测前咨

询以准备好面对这种结果的可能性,同时也取决于检测后咨询和结局随访的质量。当然这也要考虑意外信息的性质,比如检测到母体肿瘤可能,虽然会引起焦虑,但也能挽救孕妇的生命。然而检测发现了孕妇以前未检测到的染色体性染色体异常可能,具有较少的临床价值,甚至可能引发一些家庭心理问题。我认为实验室应该报告意外的发现,但必须在确保能够提供坚实的检测前和后天咨询条件的情况下,在通过知情同意遵循孕妇意愿的前提下,或在医学上认为十分有必要的前提下进行报告。

**问题3:什么样的核心信息应该放在孕妇NIPT筛查的知情同意内容里?**

**Lyn Chitty:**我愿意为此写一篇文章。我认为首先要说的是,所包含的内容应该取决于正在使用或提供的检测平台。此外,要包括以下几点:

1. 说明NIPT是一项筛选试验,阳性结果需要介入性产前诊断检测确认。

2. 说明筛查的目标疾病是什么(如果同时也针对染色体微小片段异常、性染色体非整倍体检测的话,也应该明确说明)。

3. 解释为什么结果可能与介入性诊断结果不一致,不能准确反映胎儿核型的原因是什么。

4. 提供主要非整倍体异常疾病的描述性信息,包括有关唐氏综合征患儿客观平衡的疾病信息,以及说明18-三体 and 13-三体胎儿的不良预后但并不总是致死性的情况。

5. 提供检测实验室能够达到的3种目标染色体异常疾病的临床敏感性和特异性。

6. 检测前咨询需要以所使用的平台为基础,因此,如果存在意外发现的问题,则应在检测前的咨询中进行讨论。

7. 是否可选择胎儿性别测试?如果可以,咨询孕妇是否想要这样做?如果需要,那么需要和孕妇讨论检测出胎儿性染色体异常的可能性及其他需要讨论的相关内容,包括检测出母体患有性染色体异常的可能性。同时提供胎儿性别检测的准确性和发

现性染色体异常的临床敏感性及其特异性。

8. 检测结果需要多长时间才能报告,以及如何反馈报告。

9. 检测可能失败或给出不确定的结果。讨论如果是这样,那么孕妇的后续选择是什么。

10. 告知是否选择NIPT是孕妇的权利,并讨论如果结果是阳性的话,她的后续选择是什么,是介入性产前诊断还是拒绝穿刺。

11. 告知如果提供NIPT检测是作为介入性诊断的替代选择,或者胎儿存在超声异常的情况,那么NIPT可能漏诊大量潜在的胎儿致病性染色体重排的情形。

**Mark Evans:** NIPT的送检过程与所有其他实验室检测相比存在巨大的差别,因为医生签署的申请单表明医生已经完全向患者告知了NIPT的局限性。但毫无疑问,99%的咨询医生实际上并不知道这些局限性,或者没有花费足够的时间与孕妇在这些问题上进行交流。因此,当NIPT的报告不准确的时候,实验室利用申请单启动了一个防御机制,职责咨询医生要为这种不可避免的情况负责。

这里必须要理清的主要问题是筛查和诊断之间的差异,即前者仅提供风险的评估,后者提供确定性的答案。NIPT咨询应包括所有对于患者有用的信息,包括完整的个人和家庭病史信息采集、遗传相关疾病的人口统计学信息、种族特异性、以及对遗传病异常类型(孟德尔遗传病、多因素遗传病、染色体病)的解释。同时应提供患者各种可能的选项,包括不进行任何筛查、针对各种单基因病的panel筛查、血清学和超声组成的筛查、NIPT筛查或介入性产前诊断以提供明确的答案。

我们经常看到的病例中有针对性染色体异常或染色体微小片段CNV,如DiGeorge综合征的NIPT异常结果的患者,她们经常被咨询说NIPT已经给出了明确诊断,但她们也许会惊讶地发现阳性预测值与临床敏感度不一样,其风险实际上可能只有5%;另一方面,许多患者认为NIPT可以发现“一切”,而介入性诊断没有任何额外的信息可以获得,这说明需要对医生和患者同时进行必要的宣教工作。对于没有时间和专业知识进行充分咨询的一般

临床医生,患者交由专门的医学遗传中心进行遗传咨询和交流将会更好。

**Judith Jackson:**在我们中心,每一个考虑进行染色体非整倍体筛查的孕妇都会接受一位遗传咨询师的咨询。我们的目标是让充分知情的患者了解非整倍体异常检查的所有选项,包括介入性产前诊断,然后可以为自己本次妊娠做出最佳选择。我们共同确定的标准 NIPT 检测服务包括微缺失和性染色体异常的筛查。一般情况下,不单独提供仅针对 3 项染色体非整倍体异常的 NIPT 检测。我们的“患者优先”的医院文化使得我们投入大量遗传资源用于咨询和教育,每个患者平均花 30 分钟的时间与遗传咨询师进行沟通。我们将我们医院定位为产科诊疗的转诊中心,以确保检测前咨询能够进行充分的讨论和知情同意,并向患者提供最新的和最准确的信息。NIPT 的知情同意过程是不断变化的。有关 NIPT 的信息,临床建议和筛查效率都在以惊人的速度发生变化,在制定知情同意书(包括文件)的时候需要充分考虑。

当将来所有孕妇都可以进行 NIPT 检测时,许多人会在产科医生的办公室完成抽血,这种情况下,相应的检测前咨询就会是不充分的。所以持续开发和利用咨询辅助工具,如由遗传支持基金会(Genetic Support Foundation)提供的与产前检测,特别是 NIPT 相关的一般性咨询视频,都是对临床咨询非常重要的。提供 NIPT 检测的实验室也有责任支持和开发这些辅助工作。

**Glenn Palomaki:**需要包括在知情同意内容中的信息已经在几个专业学术组织的指南建议中得到很好的阐述。我愿意分享我们团队在把 NIPT 作为常规一线筛查方案,并通过基层产科机构向罗德岛普通怀孕人群提供的过程。我们招收了医务人员作为志愿者,制作了自己的演讲幻灯片,并提供了我们自己开发的宣教材料。这些材料包括了专业学术组织建议的信息,将这些建议改写为 8 年级阅读水平的材料,并在目标孕妇人群发放后收集反馈并做出修改。我们通过调查问卷的形式,对接受 NIPT 检测的 100 位孕妇及其咨询医生之间完成结构化访谈的过程进行了解,并对患者宣教和知情同意过程进行了

评估。结果显示,孕妇和医生都一致表示医生与孕妇之间的平均交流时间约 5~6 分钟,大多数孕妇表示这一时间是足够的(97%),所有的问题都得到了回答(97%),并且表示医生表达了这一检测是可选的(99%)。医生报告说,他们和他们的工作人员已经准备好提供 NIPT 作为常规产前保健的一部分。近 10 个月以来,在免费的情况下,已经有近 3000 名孕妇接受了 NIPT 的筛查。

**Subhashini Chandrasekharan:**有很多信息需要向孕妇和她的家庭传递,包括关于 cfDNA 筛查的优点、局限性和筛查效率,特别是在不同的临床条件下。这些信息随着筛查层面的不断扩展而不断变化。我认为在知情同意过程中传达这些信息可能是特别有挑战性的,因为大多数医生并不会在产前保健门诊期间花费很多时间。我建议更多的注意力应该集中在知情决策的过程中,而最后的知情同意也许只是最后一步。充分的知情同意意味着以易于理解的方式向孕妇及其家庭提供关于 NIPT 的信息,给他们足够的时间来消化和考虑所有的选项和选择(包括根本不进行筛查),使他们能够提供真实的“知情同意”,这需要有更多的研究关注于如何有效地开展针对患者和家庭的教育,并重新思考我们应如何教育医护人员,特别是产科医生、妇科医生、护士、助产士、家庭医生和其他在围产保健一线的人员,使他们有权参与知情同意的决策过程。

**问题 4: 每股医学遗传和基因组学会 (ACMG) 2016 年度最新的指南声明建议由开展 NIPT 检测的实验室报告其 NIPT 筛查临床效率的数据,并且在无法报告检出率、临床特异度和阳性预测值的情形下,实验室不应继续提供唐氏综合征、18-三体 and 13-三体综合征的 NIPT 筛查服务,这一举措对于目前开展 NIPT 检测的实验室来说有什么挑战?**

**Lyn Chitty:**主要的挑战是实验室需要开展工作量非常大的验证工作,以提供准确的临床特异性和个性化的 PPV。虽然验证和确定 T21 的临床敏感性和特异性(具有置信限度)可能并不太具有挑战性,因为这是一个常见的染色体疾病,但对于其他非整倍

体异常,尤其是13-三体,想要获得足够的病例数量将更具挑战性。

**Glenn Palomaki:**美国的临床实验室需要在开展临床检测前验证其实验室自助开发的检测项目。这种验证包括检测稳定性和临床验证(通常是临床敏感性和特异性),临床验证通常使用已知染色体核型的样品来进行。这是一个相对直观的方法,用于验证常见的3种非整倍体异常,因为它们是几十年来血清和超声筛查的传统目标疾病。然而在开展临床检测之前,这些临床效率的验证内容常常不包括那些较罕见的疾病(例如染色体微缺失综合征、性染色体非整倍体等)。

对于每种筛查的目标疾病(例如T21),某一特定的筛查流程只有1个检出率/假阳性率,然而阳性预测值(PPV)却取决于接受筛查的人群。NIPT筛查对于高风险人群中的PPV要高于一般或低危人群。而比PPV更重要的是提供准确的患者特异性风险(个体化PPV)的能力,而这正是几十年来在血清筛查过程中开展的工作。数学模型可以帮助产生这样的风险,但必须进行验证。一些临床实验室确实为不同的妊娠情况分配了所谓的“风险值”,但尚不清楚这是指所有具有该阳性结果(如PPV)的患者的平均风险还是针对该特定妊娠的个体化风险。一些报告的风险高达“100中99%”,表明在100例筛查阳性的妊娠中,99例将为真阳性,只有1例为假阳性(可能性为99:1)。然而对来自同一实验室的妊娠结果的随访显示,具有这种风险的孕妇群体只有50%~80%的几率是正确的(异常概率为1:1~4:1),这表明报告的风险概率为99:1是太高了。

**Mark Evans:**在20世纪80年代,当体外受精技术从仅在几个中心完成的纯粹的实验技术扩展到世界各地的多个中心将其应用于临床工作时,来自各方面的监管控制很少。在美国,根据法律,政府没有任何参与监管的可能,因为没有联邦资金可以用于这方面工作。这使得它成为一个可以无限制宣传但没有太多数据支撑的“狂野西部”。许多甚至没有完成过一例妊娠的中心都在引用国家层面的统计数字,暗指这些数据也可以适用于这些中心本身,而事实上,许多患者是被完全地误导了。

对于NIPT来说,临床机构经常可以看到来自美国各个地区实验室的报告,提到各自的“无报告”和“错误报告”几率都比我们自己的中心要低。报告的(阳性预测值)统计数字与可靠性一样好。到目前为止,这些都是非常有问题的。由于NIPT已经将其筛查的范围扩大到更罕见和更困难的疾病领域,因此在理想的情况下,NIPT的有效性将更加难以获得,实验室的道德诚信度在报告数据的可靠性方面将更加重要。

**Judith Jackson:**开展NIPT的实验室报告检出率,临床特异性和PPV,并应主动体现在所有阳性结果中。在当前临床现状下,期望咨询医生了解如何计算特定孕妇的PPV是不切实际的。

**问题5:在监督NIPT服务的质量表现方面存在哪些挑战?**

**Glenn Palomaki:**由于不同的NIPT实验室使用多种方法从母体血浆中的cfDNA提取信息,因此需要开发可靠的外部质量评估/外部能力测试方案来进行评估。与大多数分子遗传测试不同,NIPT的目标不是直接特定的遗传变异,而是以这样的一种方式提取胎儿基因组信息,在染色体水平上对胎儿基因组异常进行高度准确的评估。这些方法有母体-胎儿基因组甲基化差异的评估、计数每个染色体来源的片段读数、目标染色体计数、靶向单核苷酸多态性(SNP)的检测、进行特定区域染色体片段长度检测的方法等。但是,构建可以适用于当前(包括未来)NIPT不同检测模式所依赖的人工cfDNA库样本来进行实验室能力测试是非常困难的。另一种替代方案是适用具有已知妊娠结局的孕妇血浆,但这种策略也由于不同方面的障碍而变得复杂化。美国病理学家学会(CAP)已经发布了质量评估指南(包括实验室自查表),并探索了实施外部能力测试的可能性。

**Lyn Chitty:**NIPT目前没有外部质量保证(EQA)计划。任何相关的计划都将需要包括实验室特定的性能特征和灵活的结果报告方案,以使EQA结果与患者结果具有可比性。为NIPT的EQA计划生产

足够的遗传样本材料将是具有挑战性的工作。在欧洲,使用“标记的”母体血浆进行胎儿性别鉴定的NIPT EQA方案的初步研究没有报告结果,包括使用pooling的母体血浆研究,而基于单核苷酸多态性的NIPT平台则不能使用pooling血浆进行测试。这里主要的挑战在于究竟是要继续开发用于外部质控的人工cfDNA样品还是对各个实验室分发来自多个异常妊娠标本的少量样品作为质控样品。目前,在欧洲有一个小组实验室正在进行一个类似的研究。在最近的国际产前诊断会议(ISPD)上进行了一项关于实验室NIPT报告的调查和讨论,并就最终协商一致的报告模板进行了讨论,讨论了哪些信息将包含在报告中,并将最终为正式的EQA提供指导。

**Subhashini Chandrasekharan:**目前无法将使用不同方法、不同算法、不同服务进行cfDNA筛查的体系进行效能比较。与大多数其他基因检测不同,据我所知,目前没有独立的外部能力测试可用于NIPT检测。这种质量保证方案对于评估NIPT在罕见的非整倍体、性染色体非整倍体和CNV(如微缺失)的筛查表现特别重要。因为与3种常见的非整倍体相比,它们的PPV要低得多,但是越来越多的实验室提供类似检测服务。专业学术机构也没有提供报告结果的指导原则,特别是制定更统一的报告格式,以促进更好的质量控制和评估。

**Mark Evans:**美国的许多产前诊断和筛查技术服务(例如绒毛取材、NT评估、甲胎蛋白筛查、超声筛查、microarray和全外显子测序等)都是先由美国国立卫生研究院(NIH)资助开展临床验证的,并加以考察评估,在商业化推广之前发表了推荐性意见。但NIPT并不是这样,它主要被工程师领导下的商业技术性公司所推动,而不是医生,这些公司的管理者不具有医学伦理背景,并且无法在复杂的临床情况下为临床医生提供支持。商业公司通常采用的策略是通过销售人员攻击区域性产前诊断中心,他们告诉基层的产科医生诸如他们不再需要这样的中心来进行遗传咨询和NT检测评估、介入性产前诊断手术是如此危险又是可以避免的。质量表现的评估必须最终包括评估整个涵盖咨询过程和检测数据,

同时要有可靠的监管机制以确保其准确性。

**问题6:**以您的意见,哪一种NIPT的扩展应用会在将来成为临床最广泛的检测项目?

**Lyn Chitty:**我想我们需要在这里明确一些定义。NIPT是用于胎儿非整倍体的筛查,它是一种筛选试验,同时已经有其他应用也是基于使用母体血浆中的cfDNA进行分析,但这些应用是诊断性的,因此应被称为非侵入性诊断(NIPD)。这些应用包括基于PCR技术的产前胎儿性别鉴定,它是针对Y染色体序列进行靶向测序,此外还有在RhD阴性母亲妊娠中级进行胎儿RHD血型的分型。目前更多的NIPD技术逐步应用于临床,如利用高通量测序的技术进行单基因病的产前诊断(NIPD)。在我们的实验室中,我们提供这种测序服务给那些因家族史或超声异常检查结果而提示妊娠风险增加的孕妇,这些检测被认为是诊断性的,不需要通过侵入性诊断来确认。这些是对于具有高遗传风险的家庭非常有用的诊断技术,应该加以推广,但由于检测规模相对较小并且费用昂贵,迄今为止缺乏显著的商业利益,主要依靠学术或公共部门实验室进行研发和推动。此外,由于是相对罕见的疾病,许多检测必须以家系或家庭为基础,通过定制的方式来开展。至于接下来最有可能发展哪些检测,我想可能是针对更常见的单基因疾病(如镰状细胞贫血)的NIPD吧。一些国家在低风险妊娠中开展人群较常见的遗传致病性显性突变的筛查,相关费用比较昂贵,并且需要大量的类似病例,并在一段时间内可能需要通过侵入性诊断进行确认。在这些检测的目标疾病进一步扩大的同时,也会引发这些基于母体cfDNA的检测是否可以取代介入性产前诊断的伦理问题。

**Subhashini Chandrasekharan:**用于检测全基因组CNV的NIPT在技术上已经是可行的,并可能在临床上得到广泛应用。此外,在英国已经开展了作为临床服务的几种单基因病NIPD检测。我相信,未来在临床上通过NIPD技术将会实现常见孟德尔遗传疾病如地中海贫血、囊性纤维化以及其他目前包括在孕前携带者清单上的单基因疾病的产前诊断。

虽然目前实现这种临床应用在技术上可行的,但这种检测的成本尚无法满足临床的要求。将来这种应用也许会转变为基于胎儿细胞的产前诊断,即通过分离和检测胎盘滋养层细胞基因组的方式来实验。非侵入性胎儿全外显子和全基因组测序在将来可能会变得更有可用性,并且更加便宜,但是目前来自所有学术组织的指南意见均不推荐在产前临床开展这些检测,我想部分是由于伦理问题吧。

**Glenn Palomaki:** 基于理论上的研究表明,使用 cfDNA 可以可靠地对严重单基因病进行诊断性的检测。设想人们可以选择 50~80 种这类疾病,所有女性将进行这些疾病的携带者筛查以确定携带状态(可能仅仅使用来自血浆采集管中的缓冲液部分就可以实现)。对于大多数女性来说,筛查结果往往是阴性的,但也有一些人则是 1 种、2 种或者更多种疾病的携带者。在这种情况下,则可以进行仅针对母体为携带者的那些疾病的 cfDNA 的检测。我只是希望这样的检测可以准确地开展,而无需鉴定和抽

样生物学父亲的样品来进行检测。

**Judith Jackson:** 从我们的观点来看,与 NIPT 相关的下一个广泛可用的临床检测项目可能是全基因组的 CNV 检测,我们目前已经在特定情况下提供这种技术。

**Mark Evans:** 大多数人并不期望创造一个他们以前都没有看到或考虑过的全新的结构性变化。目前针对 5 种染色体的 NIPT 检测已经赶上了 90 年代的荧光原位杂交和 QF-PCR(定量荧光 PCR)检测。现在已经引入了针对 24 条染色体的 NIPT,并且已经赶上了核型分析。这就将是下一代将在未来几年内广泛使用的检测技术。各种诊断实验室检测技术已经转移到增加清晰度和精准性的检测方向,包括染色体微阵列分析、选择性测序和现在的全外显子测序。在 NIPT 最终赶上诊断性检测之前,这些诊断检测技术对于 NIPT 来说总是会有一个明确的诊断优势。

(上接第 11 页)

- [17] De Wit MC, Srebniak MI, Govaerts LC, et al. Additional value of prenatal genomic array testing in fetuses with isolated structural ultrasound abnormalities and a normal karyotype: a systematic review of the literature[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 43(2):139-146.
- [18] Nik-Zainal S, Strick R, Storer M, et al. High incidence of recurrent copy number variants in patients with isolated and syndromic Mullerianaplasia[J]. *J Med Genet*, 2011, 48(3):197-204.
- [19] Nagamani SC, Erez A, Shen J, et al. Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome17q12[J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(3):278-284.
- [20] Bellanne-Chantelot C, Chauveau D, Gautier JF, et al. Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations[J]. *Ann Intern Med*, 2004, 140(7):510-517.
- [21] Edghill EL, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes[J].

*J Med Genet*, 2006, 43(1):84-90.

- [22] Bellanne-Chantelot C, Clauin S, Chauveau D, et al. Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1 beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5[J]. *Diabetes*, 2005, 54(11):3126-3132.
- [23] Mefford HC, Clauin S, Sharp A J, et al. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy[J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(5):1057-1069.
- [24] Nagamani SC, Erez A, Shen J, et al. Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome17q12[J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(3):278-284.

(收稿日期:2017-05-11)

编辑:宋文颖