

阵列基因组杂交技术在产前诊断中运用的加拿大指南

SOGC

【摘要】 目的 为产科保健的医护人员总结关于阵列基因组杂交技术在产前诊断中应用的最新文献进展,并概括加拿大学院遗传学家关于将这项技术应用于产前的建议。**证据** 以 DNA QF-PCR、荧光定量聚合酶链反应、胎儿染色体异常、产前诊断、阵列基因组杂交、胎儿结构异常和拷贝数变异等做为关键词,在 PubMed 和 Medline 两个数据库搜索 2004~2010 年间的英文文献。搜索结果限制在系统文献、随机对照试验/临床对照试验和观察性研究文章的范围内。搜索结果在研究过程中定期更新并将文献纳入到 2011 年 9 月的指南中。**价值** 本文档的证据质量均按照加拿大专责小组在预防保健报告中的标准来规范(表 1)。

【关键词】 阵列基因组杂交;胎儿结构异常;拷贝数变异

1 背景

20 世纪 70 年代,胎儿染色体核型分析第一次应用于对超声引导下羊膜腔穿刺术取得的羊水进行染色体核型制备,自此,该项技术的研究经历了显著的变化。在当时,将染色体数目异常(正常为 46 条)的研究从染色体结构重组的研究中分离出来几乎是不可能的事情。随着核 FISH 技术及近年来 QF-PCR (quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR)等技术的出现,给区别这 2 项分析以及如何调整染色体的研究以适应检查提供了机会。近来的研究建议,在所有的产前诊断病例中, QF-PCR 都应代替传统的细胞遗传学分析法对非整倍体发病风险增加的染色体 13、18、21、X 或 Y 等进行单独的诊断^[1]。传统的细胞遗传学分析(染色体核型分析和位点特异性 FISH)因其分析更具体和检测高风险的迹象而保留,如超声显示多发畸形,或病

例中检测是否有高危的不平衡的染色体结构异常(例如,夫妻中的一个成员是一个平衡易位的载体)。然而传统的细胞遗传学分析仍然受到解析度及观察员经验和敏锐度的限制。阵列基因组杂交技术,一个新的测试方式,现在可以用于在某些情况下甚至是取代传统的细胞遗传学分析。该技术在整个基因组中显示染色体重复或缺失(增多的或丢失的 DNA 序列,分别也称为拷贝数异常)传统的微观染色体分析的灵敏度强^[2]。关于基因组杂交在产前应用的文献表明,该项技术是传统的细胞遗传学分析的有用辅助工具。

2 技术及原理分析

阵列基因组杂交技术是一种基于 DNA 水平的测试,它将从细胞(如羊水)中提取的 DNA 与“阵列”上陈列的已知 DNA 相比较。DNA 通过扫描器进行评估,然后由计算机将信息整合以确定在测试的 DNA 中是否存在任何定量偏差(增加的或缺失的 DNA 序列)。阵列基因组杂交技术的主要优点是增强检测拷贝数异常,可以测量的偏差比光镜检查更为细微,可达分子水平。

阵列基因组杂交现在被广泛应用于产后诊断,加拿大大学医学遗传学家称其为“研究发育迟缓/精

该意见由遗传委员会拟定、医学咨询委员会和医学法律委员会审核,并由加拿大妇产科协会执行委员会批准。于 2011 年 11 月颁布,第 270 号指南。

遗传委员会主要成员: R. Douglas Wilson (Chair), François Audibert, Jo-Ann Brock, Lola Cartier, Valerie A. Désilets, Alain Gagnon, Jo-Ann Johnson, Sylvie Langlois, Lynn Murphy-Kaulbeck, Nanette Okun, Melanie Pastuck。

本指南的中文摘译获得 SOGC 认可,在此表示衷心的感谢!

神发育迟滞、自闭症、多种先天性异常或畸形等患者的第一线实验室”，而这些患者的特点不能通过了解病史和体格检查来解释^[3]。相比之下，这种技术应用于产前预测表型时应该谨慎，因为现象和成果之间的联系是而且刚被认识到且认识并不完全^[4,5]。

关于比较传统细胞遗传学和阵列基因组杂交技术对产前人群进行不平衡的染色体重组检测的研究还比较少，而且样本量也小^[6-12]。但是，根据认定标准和在细胞遗传学评估的分辨率水平，阵列基因组杂交技术在拷贝数异常和发现在多达16%的胎儿的异常超声检测和正常核型的致病异常(表2)方面还是优异的。值得注意的是，三倍体只能被一种特定类型基于SNP(single nucleotide polymorphisms CNV, SNP)平台的基因组杂交技术所检测。阵列基因组杂交技术检测不出平衡的染色体重组，如染色体异位或倒置(遗传物质只是重新安排，而不是丢失或增多)。

这项技术在产前诊断应用中最重要障碍是阵列基因组杂交技术在正常个体时发现特定序列复制的数目发生了变化，被称为拷贝数变异。由于这可以发生人类整个基因组中^[13-16]，所以必须整合家系研究、问题区域的基因信息、CNV(copy number variant, CNV)数据库和最新的文献等信息，来区分致病性的和良性的CNVs。

由于CNVs在正常人群中发病率很高，故用芯片在低危孕妇(例如，高龄产妇，产妇血清检测阳性，三倍体孕产史，或在胎儿超声检测中存在“软标记”)的CNV中检测染色体结构异常的阳性预测价值较低，因为这些情况下的绝大多数的胎儿在临床上是不受影响的。此外，CNVs的解释和跟进需要大量劳动力及完善的数据管理策略和资源。由于缺少大量人群来验证每个平台的CNV数据库，阵列基因组杂交技术对表型预测的相关新式应用受到阻碍。而且，目前对不同类型的平台和后续算法的优点仍然存在争论。人们普遍认为，需要用FISH或者传统细胞遗传学确认阵列基因组杂交检测出的异常结果，将重组排除为非整倍体。因此，FISH或传统细

胞遗传学可进行父母染色体检测来作为对照，这种对照将有助于解释研究结果。当缺乏父母与胎儿之间的比较时，基因组杂交检测的临床意义就变得不明确了。

3 建议

3.1 在染色体结构性异常低风险的孕妇中不推荐应用阵列基因杂交(例如高龄产妇)，产妇血清检测阳性，三倍体综合征孕产史，或胎儿超声检测存在“软标记”。(III-D)

3.2 在以下的情况中阵列基因组杂交技术可能是一个适当的诊断检查：超声或胎儿磁共振成像技术检测胎儿存在结构异常。当进行非整倍体快速扫描的结果是阴性时，阵列基因组杂交技术可以代替染色体核型分析，前提是要确保此结果有适当的周转时间。(II-2A)

3.3 任何适合进行阵列基因杂交检查的孕妇在检查前应向医学遗传学家进行咨询，以确保能够详细地分析检查的益处、局限性及可能出现的结果。在这个过程中也要讨论到解释拷贝数变异的诸多困难，以确保夫妻们能够做出是否进行该项检查的知情决策。(III-A)

表1 证据陈述及建议分级的关键点，根据加拿大专责小组在预防保健报告中的标准规范

证据评估的质量*	建议分级**
I 证据来自至少一项适当的随机对照实验	A 是建议临床进行预防性措施的良好证据
II-1 证据来自设计良好的非随机对照实验	B 是建议临床进行预防性措施的一般证据
II-2 证据来自设计良好的队列(前瞻性或回顾性)或病例对照研究，最好是一个以上的中心或研究小组	C 现有的证据是相互矛盾的，不能作为指导临床预防性措施是否实施的建议。但是，其他因素可对决定起影响作用
II-1 证据来自于经过或未经过干预的不同时间或地域之间的比较。在设计对照组的试验中，但结果变化较明显(如在20世纪40年代青霉素的治疗结果)也包括在这一类	D 是建议临床不进行预防性措施的一般证据
III 权威机构或专家根据临床经验，描述性研究或专家委员会报告所提出的建议	E 是建议临床不进行预防性措施的良好证据
	F 没有足够的证据(在数量或质量上)一个建议，但是，其他因素也可能影响决策

注：* 该指南中提出的证据质量评估改编自加拿大专责小组在预防保健中陈述的证据评估准则^[18]。** 该指南中提出的建议改编自加拿大专责小组在预防保健中陈述的建议标准分类预防保健^[18]。

表2 超声检查异常但染色体核型正常的孕妇的阵列检测结果小结

超声检查异常, 染色体核型正常的孕妇, n	阵列检测结果为致病性的孕妇, n(%)	阵列检测结果可能为良性的孕妇, n(%)	阵列检测结果临床意义不明确的孕妇, n(%)	参考数值
155	4(2.6)	13(8.4)	1(0.6)	5
110	2*(1.8)	12(7.9)	1(0.6)	6
106	11(10.4)	12(11.3)	13**(12.2)	7
77	1(1.3)	NA	1(1.3)	8
50	5(10)	1(2)	0	9
49	4(8.1)	4(8.1)	0	10
31	5§(16.1)	4(12.9)	1(3.2)	11

注: * 两例阵列检测结果为致病性的病例都包含在110个超声检查异常病例中。 ** 父母的发病率高并不能说明胎儿染色体核型不平衡为遗传导致。 § 在5例中, SNP阵列发现2例为单亲二倍体。 NA无相关数据。

以上建议符合2009年美国妇产科医师协会委员会意见^[17]。

参考文献

- [1] Duncan A, Langlois S; SOGC Genetics Committee; CCMG Prenatal Diagnosis Committee. Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. SOGC-CCMG Clinical Practice Guideline No. 265, September 2011. J Obstet Gynaecol Can 2011;33:955-60.
- [2] Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation[J]. Curr Opin Genet Dev, 2007, 17:182-192.
- [3] Canadian College of Medical Geneticists. CCMG Position Statement: use of array genomic hybridization technology in constitutional genetic diagnosis in Canada[EB/OL]. January 2010. Available at: <http://www.ccmg-ccgm.org/policy.html>. Accessed September 28, 2011.
- [4] Friedman JM. High-resolution genomic hybridization in prenatal diagnosis[J]. Prenat Diagn, 2009, 29:20-28.
- [5] Kuehn BM. Prenatal genome testing sparks the debate[J]. JAMA, 2008, 300:1637-1639.
- [6] Coppinger J, Alliman S, Lamb AN, et al. Whole-genome microarray analysis in prenatal specimens identifies clinically significant alterations without increase in results of unclear significance compared to targeted microarray [J]. Prenat Diagn, 2009, 29:1156-1166.
- [7] Shaffer LG, Coppinger J, Alliman, A, et al. Comparison of microarray-based detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens[J]. Prenat Diagn, 2008, 28:789-795.
- [8] Faas BHW, van der Bruggt I, Kooperer AJA, et al. Identification of clinically significant submicroscopic chromosome alterations and UPD in fetuses with ultrasound anomalies using genome-wide 250k SNP array analysis[J]. J Med Genet, 2010, 47:586-594.
- [9] Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, et al. Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases[J]. Prenat Diagn, 2009;29:29-39.
- [10] Valduga M, Philippe C, Bach Segura P, et al. A retrospective by oligonucleotide array-CGH analysis in 50 fetuses with multiple malformations[J]. Prenat Diagn, 2010, 30:333-341.
- [11] Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, et al. High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings[J]. J Med Genet, 2009, 46:531-541.
- [12] Le Caignec C, Boceno M, Sauger-Verber P, et al. Detection of genomic imbalances by array based comparative genomic hybridization in fetuses with multiple malformations[J]. J Med Genet, 2005, 42:121-128.
- [13] Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, et al. Detection of large scale variation in the human genome[J]. Nat Genet, 2004, 36:949-951.
- [14] Sebat J, Lakshmi B, Troge J, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome[J]. Science, 2004, 305:525-528.
- [15] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome[J]. Nature, 2006, 444:444-454.
- [16] Perry GH, Ben-Dor A, Tsalenko A, et al. The fine-scale and complex architecture of human copy-number variation [J]. Am J Hum Genet, 2008, 82:685-695.
- [17] American College of Obstetricians and Gynecologists. Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis. ACOG committee opinion No. 446 [J]. Obstet Gynecol, 2009, 114:1161-1163.
- [18] Woolf SH, Battista RN, Angerson GM, et al. Canadian Task Force on Preventive Health Care. New grades for recommendations from the Canadian Task Force on Preventive Health Care[J]. CMAJ, 2003, 169:207-208.

向心力 翻译
杨颖俊 校对