

# 影响无创产前筛查准确性的因素分析

赵晓敏 郭颖 李姗姗 李雯 崔洪艳 常颖\*

(天津市中心妇产科医院 产科、天津市人类发育与生殖调控重点实验室,天津,300100)

**【摘要】 目的** 对非侵入性产前筛查准确性的影响因素进行分析。**方法** 选取 2015 年 1 月至 2017 年 11 月因 NIPT 结果异常(多家检测公司)在我院行羊膜腔穿刺进行产前诊断的病例,共 441 例。根据 NIPT 异常结果进行分类统计。**结果** 441 例 NIPT 异常结果中,包括 21 三体高风险 149 例(真阳性 116 例,阳性预测值 78.0%),18-三体高风险 49 例(真阳性 22 例,阳性预测值 45.0%),13-三体高风险 24 例(真阳性 5 例,阳性预测值 21.0%),性染色体数目偏多 81 例(真阳性 54 例,阳性预测值 67.0%),性染色体数目偏少 53 例(真阳性 9 例,阳性预测值 17.0%),性染色体数目异常 26 例(真阳性 9 例,阳性预测值 35.0%),由于微缺失、微重复例数较少,统计学意义较差,统一归类为罕见染色体异常共 59 例(真阳性 7 例,阳性预测值为 12.0%)。**结论** NIPT 的结果受多种因素的影响(检测公司,取血孕周,孕妇年龄,BMI 等),统计结果表明 NIPT 只是筛查手段,尚不能替代目前临床上常用的诊断手段。对于 21-三体具有最高的检出率,而对于其他类型的染色体异常效果较差。此外,目前还尚未推荐 NIPT 用于罕见染色体非整倍体及微缺失、微重复的筛查。因此,在进行 NIPT 前,应明确其适用人群,加强质量控制,进一步提高其阳性预测值。产前咨询医生应明确告知患者及其家属筛查手段的局限性,并对筛查结果进行解读,以便及时获得进一步的医疗帮助。

**【关键词】** 非侵入性产前筛查; 产前诊断; 微缺失、微重复综合征; 阳性预测值

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** Analysis of the factors affecting the accuracy of non-invasive prenatal testing. **Method** A total of 441 cases were selected for prenatal diagnosis of amniocentesis in our hospital from January 2015 to November 2017 due to the abnormal NIPT result (a number of test companies). According to the results of NIPT anomalies, the classification and statistics were carried out. **Results** The abnormal results of NIPT included 149 cases of trisomy 21 with high risk (116 cases of true positive, 78.0% of positive predictive value), 49 cases of high risk of trisomy 18 (22 cases of true positive, 45.0% of positive predictive value), 24 cases of high risk of trisomy 13 (5 cases of true positive, 21.0% of positive predictive value), 81 cases of excessive number of sex chromosomes (54 cases of true positive, 67.0% of positive predictive value), 53 cases of decreased number of sex chromosomes (9 cases of true positive, 17.0% of positive predictive value), 26 cases of abnormal number of sex chromosomes (9 cases of true positive, 35.0% of positive predictive value), due to the number of microdeletion/microrepeats was less, and the statistical significance was poor, 59 cases were classified as rare chromosome abnormalities (7 cases of true positive, 12.0% of positive predictive value). **Conclusions** The results of NIPT are affected by many factors (test company, gestational weeks of blood collection, age of pregnant women, BMI, etc.). The statistical results show that NIPT is only a screening method, which cannot replace the diagnostic methods commonly used in clinic at present. It has the highest detection rate for trisomy 21, but has poor effect on

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2019.02.009

基金项目:天津市科学技术委员会重大专项(18ZXDBSY00230)

通讯作者:常颖,E-mail:changying4470@sina.com

other types of chromosome abnormalities. In addition, NIPT has not been recommended for rare chromosome aneuploidy and microdeletion/microduplication screening. Therefore, before the NIPT, it is necessary to clarify the suitable population, strengthen the quality control, and further improve its positive predictive value. The prenatal counselors should clearly inform patients and their families of the limitations of screening methods and interpret the screening results in order to obtain further medical assistance in a timely manner.

**【Key words】** non-invasive prenatal testing; prenatal diagnosis; microdeletion/microduplication syndromes; positive predictive value

NIPT(non-invasive prenatal testing, NIPT), 即利用母体外周血中胎儿游离细胞 DNA(cell-free fetal DNA, cfDNA) 进行大规模平行测序<sup>[1, 2]</sup>。自从 2011 年 NIPT 正式引入临床<sup>[3, 4]</sup>, 其应用价值就备受临床医生和科研人员的关注。随着科学技术的进步, 目前 NIPT 的筛查范围已不仅仅是常见染色体三体(21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征), 还包括性染色体非整倍体、罕见染色体异常以及特定微缺失、微重复综合征的筛查<sup>[5]</sup>。然而, 随着筛查范围的不断扩大, 迫切需要大量数据进一步证实其临床可行性<sup>[6, 7]</sup>。NIPT 的准确率受多种因素影响, 统一的筛查标准, 严格的质控是 NIPT 应用于临床的重要前提。

随着研究的不断进展, 发现染色体亚显微结构的缺失和重复并不少见, 有报道指出在常见三体高风险而超声结构正常的胎儿中, 有临床意义的微缺失、微重复综合征的发生率为 1%~1.7%<sup>[8]</sup>。微缺失、微重复综合征在产前较难发现的原因分为以下两点: ①产前异常较为微小或者常规的产前超声检查难以发现, 目前产前超声异常小于 40% 是在中期超声筛查中发现, 而早期并无结构异常发生; ②不同于非整倍体, 存在高龄等明确的危险因素。大多数拷贝数变异(copy number variants, CNVs) 缺乏明确的危险因素。因此, 目前将 cfDNA 用于微缺失、微重复综合征的筛查对于产前遗传咨询专家和患者来说都面临着巨大的挑战。

本研究的目的是对影响 NIPT 准确性的相关因素进行分析。明确其适用人群, 加强质量管理, 进一步提高其阳性预测值。

## 1 资料与方法

1.1 基本资料 选取 2015 年 1 月至 2017 年 11 月

因胎儿 NIPT 结果异常(多家检测公司)进一步于天津市中心妇产科医院行羊膜腔穿刺进行产前诊断的病例。纳入标准: ①单胎、活胎妊娠; ②羊水清亮, 无混血; ③父母无家族性遗传性疾病、无血液系统传播疾病及先天性免疫缺陷病; ④自然受孕, 排除促排卵、胚胎移植等辅助生殖技术的妊娠。

1.2 研究方法 收集的数据包括人群的基本信息(身高、体重、年龄、孕周、孕次、产次), 部分胎儿颈部透明层厚度、NIPT 结果和羊膜腔穿刺结果。由于纳入病例 NIPT 检测公司不同, 对于性染色体异常并无统一报告标准, 然而 NIPT 对于不同类型性染色体数目异常的检出率并不相同, 因此将 NIPT 结果分类为: 常见染色体三体(21-三体、18-三体、13-三体)高风险、性染色体数目偏多、性染色体数目偏少、性染色体数目异常、罕见染色体异常, 将产前诊断结果与产前筛查结果进行对比分析。同时, 研究孕妇年龄、身体质量指数(body mass index, BMI) 等因素是否影响筛查结果的准确性。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较根据条件采用  $t$  检验、 $\chi^2$  检验、Fisher 确切概率进行分析, 当  $P < 0.05$  时有统计学差异。

## 2 结果

2.1 样本分布分析 最终纳入 NIPT 异常结果病例共 441 例, 人群一般特征见表 1。对 441 例患者进行羊膜腔穿刺产前诊断并对 NIPT 和羊膜腔穿刺结果进行分类统计, 计算其真阳性(true positive, TP) 例数, 阳性预测值(positive predictive value, PPV) 和假阳性率(false positive rate, FPR)(表 2), 本研

究对于真阳性例数的纳入标准包括:①筛查结果与产前诊断结果完全相符;②诊断结果为高度嵌合(如:NIPT 为 13 三体,而产前诊断结果为 13 三体的高度嵌合);③部分相符:如 NIPT 结果为 13 三体,而产前诊断结果为三体中的一部分为 13-三体。符合以上任意一项即为真阳性。真阴性病例则为 NIPT 与产前诊断结果完全不符。NIPT 21-三体高风险、18-三体高风险、13-三体高风险、性染色体数目偏多、性染色体数目偏少、性染色体数目异常、罕见染色体异常纳入例数分别为 149 例、49 例、24 例、81 例、53 例、26 例、59 例,最终产前诊断确诊的例数分别为 116 例(78.0%)、22 例(45.05%)、5 例(21.0%)、54 例(67.0%)、9 例(17.0%)、9 例(35.0%)、7 例(12.0%)。

随着 NIPT 技术水平的不断提高,罕见染色体异常正逐渐被纳入其筛查范围,本研究中 NIPT 发现罕见染色体异常 59 例(染色体数目异常或拷贝数变异),产前诊断最终证实 7 例与筛查结果一致,准确率较低,因此 NIPT 用于罕见染色体异常的筛查仍然需要进一步研究。

## 2.2 孕妇年龄因素对于筛查结果准确性的影响

为了进一步探讨年龄因素对于筛查结果准确率的影响,将 NIPT 提示 21-三体、18-三体、13-三体以及性染色体异常的 441 例患者根据年龄分为两组:高龄组( $\geq 35$ 岁)和适龄组(18~34岁),高龄组 139 例,羊膜腔穿刺核型分析最终结果 39 例为 46,XN,100 例为染色体非整倍体且与筛查结果相符;适龄组

243 例,羊膜腔穿刺核型分析最终结果 127 例为 46XN,116 例为染色体非整倍体且与筛查结果相符(表 3)。统计学分析结果最终  $P=0(P<0.05)$ ,孕妇年龄与筛查准确率具有统计学意义,说明高龄是影响 NIPT 准确率的因素之一。此外,两组间孕次、产次统计学分析结果  $P<0.05$ ,存在统计学差异。因此,对于年龄 $>35$ 岁的妊娠妇女推荐直接进行产前诊断,本研究统计结果与我国母婴保健法建议相一致。

## 2.3 孕妇 BMI、胎儿颈项透明层厚度对于筛查结果准确性的影响

为了研究孕妇 BMI 对于产前筛查准确度的影响,我们随机调查了 187 例孕妇的 BMI(其中 NIPT 结果为常见染色体非整倍体或性染色体非整体的孕妇为 105 例),根据 BMI 分类标准,进行统计(表 4)。此外,本研究通过对比胎儿颈项透明层厚度(nuchal translucency, NT),进一步验证 NIPT 对于染色体非整倍体筛查的应用价值。441 例 NIPT 异常患者中随机调查了 48 例患者的早期 NT 数据,其中 6 例  $NT \geq 3.0$ mm 的患者产前诊断最终证实 5 例为非整倍体,且与 NIPT 结果相符,1 例为 46XN。42 例 NT 小于 3.0mm 的患者产前诊断最终证实 21 例为 46XN,21 例为染色体非整倍体,且与 NIPT 结果相符(表 5),采用 Fisher 确切概率进行统计分析, $P=0.199(P>0.05)$ ,因此,本研究中 48 例患者 NT 值的差异 NIPT 准确率的影响没有统计学意义。

表 1 人群一般特征

	例数(例)	年龄(岁)	孕周(周)	孕次(次)	产次(次)
x $\pm$ s	441	32.07 $\pm$ 5.60	21.36 $\pm$ 1.85	2.32 $\pm$ 1.28	0.60 $\pm$ 0.68
CI	—	31.54~32.59	21.19~21.36	2.20~2.44	0.53~0.66

表 2 cffDNA 与产前诊断结果

cffDNA	n(例)	真阳性(例)	阳性预测值(%)	假阳性率(%)
21-三体	149	116	78.0	22.0
18-三体	49	22	45.0	55.0
13-三体	24	5	21.0	79.0
性染色体数目偏多	81	54	67.0	33.0
性染色体数目偏少	53	9	17.0	83.0
性染色体数目异常	26	9	35.0	65.0
罕见染色体异常	59	7	12.0	88.0
合计	441	222	—	—

表3 孕妇年龄与 NIPT 准确率的关系

	年龄(岁)	孕次(次)	产次(次)	例数(例)	TP(例)	PPV(%)
高龄组	38.24±2.83	3.11±1.27	0.96±0.80	139	100	71.9
适龄组	28.66±3.40	1.84±0.94	0.40±0.51	243	116	47.7
F 值/2	8.97	12.48	14.67	—	—	19.28
P	<0.05	<0.05	<0.05	—	—	<0.05

注:由于 NIPT 用于罕见染色体异常的效果尚无确切数据,本表格中数据仅对 NIPT 提示 21-三体高风险、18-三体高风险、13-三体高风险以及性染色体异常的病例进行统计

表4 孕妇 BMI 对于 NIPT 准确率的影响

	cffDNA (例)	TP (例)	PPV (%)
A:正常(BMI19~24.9)	64	38	59.4
B:超重(BMI25~29.9)	34	21	61.8
C:肥胖 I 级(BMI30~34.9)	5	1	20.0
D:肥胖 II 级(BMI35~39.9)	1	0	0.0
E:极度肥胖(BMI≥40)	1	0	0.0

(注:表中数据仅对 NIPT 提示 21-三体高风险、18-三体高风险、13-三体高风险以及性染色体异常的病例进行统计)

表5 48 例 NIPT 高风险患者 NT 值与产前诊断结果的关系

	cffDNA (例)	羊膜腔穿刺		P >0.05
		46XN [例(%)]	非整倍体 [例(%)]	
NT<3.0mm	42	21(50.0)	21(50.0)	
NT≥3.0mm	6	5(83.3)	1(16.7)	

### 3 讨论

染色体非整倍体是导致遗传缺陷的主要原因,在活产儿中最常见的染色体非整倍体是 21-三体(唐氏综合征)、18-三体(Edwards 综合征)、13-三体(Patau 综合征)和性染色体非整倍体。大量研究表明,每 800 例新生儿中就有 1 例唐氏综合征患儿<sup>[9]</sup>,而且随着二孩政策的开放,高龄产妇逐渐增多,染色体非整倍体的发生率逐渐增加,相关研究发现对于一位 45 岁的妊娠女性,胎儿发生 21-三体综合征的概率上升至 1/35<sup>[10, 11]</sup>。研究表明,NIPT 对于 21-三体和 18-三体的敏感度高于 99%,对于 13-三体的敏感度为 78.6%~91.7%<sup>[12, 13]</sup>,而关于性染色体非整倍体敏感度的研究相对较少。本研究再一次验证了 NIPT 对于 21-三体的准确率最高(78.0%),其次是 18-三体(45.0%),13-三体最低为 21.0%。然而相对于大样本研究数据,本研究中 21-三体的准确率仍然较低,分析其可能的原因主要为以下几个方面:① NIPT 检测公司不同,其准确率不同;② cffDNA 的浓度受采血孕周的影响,孕周偏小会导

致 cffDNA 浓度偏低,影响 NIPT 的准确率,本研究中所纳入病例的采血孕周未知;③ 孕妇年龄、BMI 等也是影响 cffDNA 浓度以及 NIPT 准确率的重要因素<sup>[14]</sup>,例如本研究中 1 例肥胖 II 级和 1 例极度肥胖孕妇并不属于进行 NIPT 的适应证,造成了假阳性的结果。因此,在产前筛查和诊断中应该进一步关注质控问题,减少假阳性和假阴性率的发生,更好地提高 NIPT 在临床应用中的效力。近来,关于 NIPT 对于性染色体非整体准确率较低的原因分析备受关注,可能的原因是 NIPT 筛查的遗传信息即 cffDNA,来源于胎盘滋养层细胞而不是真正的胎儿细胞<sup>[15]</sup>。因此,当存在性染色体的局限性胎盘嵌合时会造成 NIPT 假阴性或假阳性结果<sup>[16]</sup>。所以,这也是 NIPT 筛查相对于传统核型分析的局限性之一。

目前将 NIPT 用于筛查微缺失、微重复综合征引发热议。不同于非整倍体筛查,大多数常见的微缺失、微重复综合征不受年龄因素影响。有研究认为,NIPT 筛查特定的微缺失、微重复综合征可以减少不必要的产前诊断以及减少临床意义不明的 CNVs 出现,有效降低了遗传咨询的压力,减少患者及家属不必要的焦虑。然而值得提出的是,临床中尚不能提供充足的数据以证明其敏感度、阳性预测值等。本研究中 441 例 NIPT 高风险中 59 例为罕见染色体数目异常或 CNVs,产前诊断最终证实 7 例存在异常且与 NIPT 结果一致,4 例存在异常但与 NIPT 结果不一致。NIPT 对于罕见染色体异常的准确率较低,与相关文献结论一致<sup>[17]</sup>。由于本研究中例数较少且 CNVs 自身发生率较低,因此,尚不能说明 NIPT 用于这一领域的准确性。此外,相关指南目前尚不推荐将 NIPT 用于筛查所有 CNVs,仅用于特定的 CNVs。因此,对于选择 NIPT 进行微缺失、微重复综合征筛查的孕妇,应告

知 NIPT 技术目前的局限性,以便更好的进行遗传咨询工作。

伴随二孩政策的开放,高龄产妇逐渐增加。本研究中高龄孕妇占总体的 35.8%,NIPT 高风险的高龄组孕妇与适龄组孕妇发生染色体非整倍体的概率存在统计学差异  $P=0(P<0.05)$ 。高龄组的染色体非整倍体发生率较适龄组高。因此,本研究认为 NIPT 对于非整倍体产前筛查有着很大的优势,ACOG 指南<sup>[18]</sup>指出 NIPT 适用于 35 岁以上所有孕妇,但是,我国目前尚无相关共识及指南,仍需大数据的积累,同时需考虑其经济成本效益。

总之,相对于传统的筛查方法,NIPT 有着更多的优势,而且随着 NIPT 技术水平的不断提高,其在产前筛查中会有着更加广阔的应用前景。当然,这一技术带来效益的同时,也对临床工作带来了极大的挑战。在临床中应更加注重质控问题,应向患者及家属告知 NIPT 筛查的局限性以及做好对筛查结果的遗传咨询工作<sup>[19]</sup>。NIPT 目前仍然主要用于常见染色体非整倍体以及性染色体异常的筛查。对于微缺失、微重复综合征以及罕见染色体异常的筛查有待进一步验证。需要说明的是,本研究例数较少,并且纳入病例来源于多家 NIPT 检测公司,仍然需要更多的数据进行支持。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Sparks AB,Wang ET,Struble CA,et al. Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy[J]. *Prenat Diagn*,2012,32(1):3-9.
- [ 2 ] 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.
- [ 3 ] Benn P,Cuckle H,Pergament E. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing[J]. *Obstet Gynecol*,2012,119(6):1270.
- [ 4 ] 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.
- [ 5 ] Rose NC,Benn P,Milunsky A. Current controversies in prenatal diagnosis 1: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications? [J]. *Prenat Diagn*,2016,36(1):10-14.
- [ 6 ] Helgeson J,Wardrop J,Boomer T,et al. Clinical outcome of

- subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing[J]. *Prenat Diagn*,2015,35(10):999-1004.
- [ 7 ] Pescia G,Guex N,Iseli C,et al. Cell-free DNA testing of an extended range of chromosomal anomalies: clinical experience with 6,388 consecutive cases[J]. *Genet Med*,2017,19(2):169-175.
- [ 8 ] Wapner RJ,Martin CL,Levy B,et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*,2012,367(23):2175-2184.
- [ 9 ] Driscoll DA,Gross S. Clinical practice. Prenatal screening for aneuploidy[J]. *N Engl J Med*,2009,360(24):2556-2562.
- [10] Morris JK,Mutton DE,Alberman E. Revised estimates of the maternal age specific live birth prevalence of Down's syndrome [J]. *J Med Screen*,2002,9(1):2-6.
- [11] Savva GM,Morris JK,Mutton DE,et al. Maternal age-specific fetal loss rates in Down syndrome pregnancies[J]. *Prenat Diagn*,2006,26(6):499-504.
- [12] Canick JA,Kloza EM,Lambert-Messerlian GM,et al. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations [J]. *Prenat Diagn*,2012,32(8):730-734.
- [13] Dan S,Wang W,Ren J,et al. Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11,105 pregnancies with mixed risk factors[J]. *Prenat Diagn*,2012,32(13):1225-1232.
- [14] 薛莹,丁洁,贺权泽,等. 孕妇年龄、孕周及体重指数对孕妇外周血中胎儿游离 DNA 比例的影响[J/CD]. *中国产前诊断杂志(电子版)*,2017. 9(03):5-10.
- [15] Chim SS,Tong YK,Chiu RW,et al. Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2005,102(41):14753-14758.
- [16] 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.
- [17] Petersen AK,Cheung SW,Smith JL,et al. Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2017,217(6):691.e1-691.e6.
- [18] ACOG. Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy[J]. *Obstet Gynecol*,2015,126(3):e31-e37.
- [19] Lewis C,Hill M,Chitty LS. Offering non-invasive prenatal testing as part of routine clinical service. Can high levels of informed choice be maintained? [J]. *Prenat Diagn*,2017,37(11):1130-1137.

(收稿日期:2019-04-21)

编辑:宋文颖