

孕妇血浆游离 DNA 无创产前筛查检测失败及相关妊娠结局

林颖 梁栋 胡平*

(南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院 产前诊断中心,江苏 南京,210004)

【摘要】 孕妇血浆游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 无创产前筛查 (noninvasive prenatal screening, NIPS) 是胎儿常见染色体非整倍体最有效的一种产前筛查方法,国内外已广泛开展。值得注意的是,该技术存在无法避免的检测失败,且近几年的一些研究报道发现,这种检测失败可能与胎儿染色体非整倍体和妊娠相关并发症发生存在一定相关性。目前,这方面的报道文献还相对有限,临床意义尚未完全明确。本文将回顾研究报道,探讨无创产前筛查检测失败原因及与胎儿染色体非整倍体、妊娠并发症相关性,探索在检测失败后对孕妇进行临床咨询和妊娠管理指导的理论依据。

【关键词】 无创产前筛查,血浆游离 DNA,检测失败,妊娠并发症,染色体非整倍体

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

无创产前筛查 (noninvasive prenatal screening, NIPS) 是通过高通量测序技术检测母体血浆中存在的胎儿游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA), 从而评估胎儿罹患染色体非整倍体风险一种筛查方法。自 2011 年引入临床以来,该技术在产前筛查领域获得了快速地发展。我们和其他研究报道的临床实践数据显示,该技术对 21 三体、18 三体和 13 三体综合征检测的敏感性可达 97% 以上,假阳性率低于 0.07%^[1, 2]。最新的指南认为 NIPS 是检测胎儿常见染色体非整倍体最敏感和特意的的方法。可以代替传统的血清学筛查成为一线筛查手段^[3, 4]。尽管有着优越的检测性能,但是该技术还是存在不可避免的检测失败风险,而目前关于这些检测失败的临床意义尚不完全不明确。本文就 NIPS 检测失败发生率、发生原因及 NIPS 检测失败孕妇中染色体非整倍体发生情况、妊娠相关并发症的研究情况进行综述,以便临床对检测失败的孕妇进行及时干预和规范化管理。

1 检测失败的发生率和发生原因

Palomaki 等^[5] 系统地回顾了 2015 年 1 月至

2017 年 9 月关于报道 NIPS 检测失败的文献,发现初次检测失败率为 0.1%~12.2%;初次检测失败率与重新采样的再次检测失败率有明显差异,分别为 3.3% 和 1.2%;人种的差异检测失败也存在不同,如亚洲国家检测失败率明显低于西方国家,分别为 0.6% 和 2.4%。另外双绒双胎的检测失败率明显高于单胎检测失败率分别为 11.4% 和 3.4%^[6];采用不同检测方法,检测失败率也不同,如使用大规模平行鸟枪测序方法检测失败率为 1.6%,染色体特异性测序方法检测失败率为 3.6%,而使用单核苷酸多态性方法检测失败率最高为 6.4%^[7]。

NIPS 检测失败的原因主要包括:标本采集、运输和储存不当,或实验室处理以及由于 DNA 提取、扩增或测序等导致的技术分析失败^[7, 8]。技术分析失败主要由一些生物学原因导致,包括母体基因组异常(染色体异常、恶性肿瘤、自身免疫疾病)、消失双胎、药物使用等^[9, 10],然而最常见的原因是胎儿浓度不足,约占检测失败总数的 32.2%~78.4%^[7, 11-13]。胎儿浓度是胎儿 cfDNA 占孕妇血浆总 cfDNA 的含量,研究认为胎儿浓度越高,检测准确性就越高^[14, 15]。为获得可靠的检测结果,大多数实验室通常将胎儿浓度的阈值下限设置为 2%~4%^[16, 17],对

于胎儿浓度低于检测下限的样本,通常被判断为检测失败。

2 NIPS 检测失败与胎儿染色体非整倍体的发生风险

NIPS 检测失败与胎儿非整倍体的关系一直是研究的热点,研究表明检测失败中胎儿染色体非整倍体的发生风险增加^[18-20]。如 Norton 等^[18] 研究认为初次检测失败的人群中非整倍体发生率显著高于整个队列的非整倍体发生率(2.7%与 0.4%, $P < 0.001$),尤其是在胎儿浓度小于 4%的检测失败人群中非整倍体的发生率更高(4.7%,9/192)。他们报道了 488 例(3.0%)初次检测失败,共发现了 13 例非整倍体,包括 3 例 21 三体,1 例 18 三体,2 例 13 三体,4 例三倍体,1 例 16 三体嵌合体,1 例 11p 缺失,1 例染色体结构异常。Chan 等^[19] 在 123 例初次检测失败中报道了 8 例染色体非整倍体,包括 1 例 13 三体,2 例三倍体,2 例 9 三体,1 例 10 三体嵌合体和 2 例性染色体非整倍体。与普通产科人群相比,初次检测失败组中非整倍体的发生率显著升高(6.5%与 0.2%, $P < 0.0001$)。因此作者建议这类孕妇可能需要进行产前诊断,并进行更严格的产前监测。需要注意的是,该研究将 NIPS 提示的其他染色体异常也判断为检测失败,这可能会增加检测失败中的非整倍体的发生率。

最近两项大规模队列研究专门针对检测失败与胎儿常见三体发生之间的关系进行了研究分析。Bellai-Dussault 等^[21] 基于 35146 例人群的回顾性队列研究中,发现初次检测失败率 4.8%(1670 例),多次尝试后检测失败率为 2.2%。回归分析发现,与 NIPS 检测结果低风险人群相比,初次检测失败的孕妇胎儿患常见三体的风险增加,但性染色体非整倍体的风险没有增加。Norton 等^[12] 在一项涉及 2 万多例样本的多中心前瞻性研究中,分析了 602 例(3.4%)初次检测失败的研究结果显示,与检测成功组相比,初次检测失败组常见三体的发生率明显更高(分别为 1.7%与 0.7%, $P = 0.013$)。此外,该研究还对检测失败原因和常见三体的发生率进行了分层分析,包括 194 例(32.2%)由于胎儿浓度过低(小于 2.8%)、197 例(32.7%)由于胎儿浓度大于 2.8%

但无法解释染色体异常风险以及 211 例(35.0%)由于胎儿浓度不可测定的无效报告,不同原因的检测失败组中常见三体的检出率分别为 1.0%、2.0%和 1.9%,组间检出率未有明显差异。上述两项研究均证实了检测失败中常见三体的检出率更高,且均支持美国妇产科医师学会和母胎医学会指南关于对检测失败的孕妇提供有创产前诊断的建议。

尽管上述研究为常见三体与 NIPS 检测失败之间的关系提示了证据,但还存在一些局限性。首先,对于检测失败中的其他染色体异常的情况目前仅是一些描述性分析或个例报道^[18, 19],还缺乏大规模的研究;其次,大部分报道仅针对初次检测失败后非整倍体的发生率进行了报道,目前尚无研究针对重抽样后检测失败中的非整倍体的发生率进行分析;第三,检测失败的原因较多,一些生物学因素如母体基因组异常等导致的失败可能与胎儿染色体异常无关,目前尚无文献对检测失败的原因进行分层分析,因此无法判断检测失败中是哪一种因素与胎儿染色体非整倍体有关;第四,目前的研究对胎儿浓度的测定方法和检测失败的判定标准存在差异,如 Chan 等^[19] 在结果判读中将 NIPS 提示的其他染色体异常也判断为检测失败,Norton 等^[12] 将检测失败的胎儿浓度截断值定为 2.8%,而其他研究定为 4%^[18, 19],这些情况都可能影响检测失败中的非整倍体的发生率,还有研究未报道检测失败的原因^[21]。

3 NIPS 检测失败与妊娠并发症

关于 NIPS 检测失败与妊娠并发症的关系目前也有报道,如妊高症和先兆子痫、早产和妊娠期糖尿病等^[12, 19, 22-24]。Chan 等^[19] 报道了 110 例检测失败的孕妇中先兆子痫和妊娠期糖尿病的发生率显著高于一般产科人群(9.8%与 1.5%, $P < 0.0001$;20%与 7.5%, $P < 0.0001$),低体重儿(出生体重 < 10 百分位)和早产则无明显差异。Becking 等^[22] 研究发现在低胎儿浓度(胎儿浓度小于 4%)导致的检测失败中,先兆子痫和妊娠糖尿病的发生率显著高于一般产科人群,低体重儿(出生体重 < 10 百分位)和早产则无显著差异。Clapp 等^[23] 报道了低胎儿浓度组

(胎儿浓度小于 5.34%)低体重儿(出生体重<第 5 百分位)的发生率显著高于正常胎儿浓度组(6.9%与 3.2%, $P=0.04$),而妊高症的发生率则无显著差异。Norton 等^[12]报道检测失败中早产与先兆子痫显著高于检测成功组,且在再次检测失败中的发生率更高。这些结果提示,NIPS 检测失败与妊娠并发症有关,特别是与先兆子痫有关,而与妊娠期糖尿病、早产和妊高症的关联还需要进一步研究。另外,这些研究样本量相对较小,在研究设计和妊娠结局的定义方面也存在较大的差异。

随着 NIPT 的应用越来越广泛,检测失败的数量也随之增加,确定 NIPS 检测失败的临床意义变得越来越重要。根据现有的研究报道,检测失败与胎儿染色体常见三体发生风险增加有关,和其他染色体非整倍体、妊娠并发症的关系还需要进一步的研究。目前相关研究文献有限,且各研究的检测平台、纳入人群以及结果判读的差异,这些结果尚不能推广到所有实验室。因此关于 NIPS 检测失败与妊娠结局的关系还需要进一步的大规模研究,从而探寻检测失败中真正的临床价值,更好地指导后续的临床咨询和妊娠管理。

参 考 文 献

- [1] ROSE N C, BARRIE E S, MALINOWSKI J, et al. Systematic evidence-based review: The application of noninvasive prenatal screening using cell-free DNA in general-risk pregnancies [J]. *Genetics in Medicine*, 2022, 24(7): 1379-1391.
- [2] LIANG D, LIN Y, QIAO F, et al. Perinatal outcomes following cell-free DNA screening in > 32 000 women: Clinical follow-up data from a single tertiary center [J]. *Prenatal diagnosis*, 2018, 38(10): 755-764.
- [3] DUNGAN J S, KLUGMAN S, DARILEK S, et al. Noninvasive prenatal screening (NIPS) for fetal chromosome abnormalities in a general-risk population: An evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) [J]. *Genetics in medicine*, 2023, 25(2): 100336.
- [4] AMERICAN COLLEGE OF O, GYNECOLOGISTS' COMMITTEE ON PRACTICE B-O, COMMITTEE ON G, et al. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities; ACOG Practice Bulletin, Number 226 [J]. *Obstetrics and gynecology*, 2020, 136(4): e48-e69.
- [5] PALOMAKI G E, KLOZA E M. Prenatal cell-free DNA screening test failures: a systematic review of failure rates, risks of Down syndrome, and impact of repeat testing [J]. *Genetics in medicine*, 2018, 20(11): 1312-1323.
- [6] GALEVA S, GIL M M, KONSTANTINIDOU L, et al. First-trimester screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in singleton and twin pregnancies: factors affecting test failure [J]. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 2019, 53(6): 804-809.
- [7] YARON Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon [J]. *Prenatal diagnosis*, 2016, 36(5): 391-396.
- [8] GIL M M, ACCURTI V, SANTACRUZ B, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis [J]. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 2017, 50(3): 302-314.
- [9] SAMURA O, OKAMOTO A. Causes of aberrant non-invasive prenatal testing for aneuploidy: A systematic review [J]. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*, 2020, 59(1): 16-20.
- [10] BIANCHI D W. Cherchez la femme: maternal incidental findings can explain discordant prenatal cell-free DNA sequencing results [J]. *Genetics in Medicine*, 2018, 20(9): 910-917.
- [11] CHANG J, QI Q, ZHOU X, et al. Factors associated with test failure in pregnant women undergoing cell-free DNA-based testing for fetal trisomy [J]. *Journal of medical screening*, 2021, 28(4): 411-418.
- [12] NORTON M E, MACPHERSON C, DEMKO Z, et al. Obstetrical, perinatal, and genetic outcomes associated with nonreportable prenatal cell-free DNA screening results [J]. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2023, 229(3):300.e1-300.e9.
- [13] HUI L, BIANCHI D W. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know [J]. *Prenatal diagnosis*, 2020, 40(2): 155-163.
- [14] CANICK J A, PALOMAKI G E, KLOZA E M, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies [J]. *Prenatal diagnosis*, 2013, 33(7): 667-674.
- [15] WRIGHT D, WRIGHT A, NICOLAIDES K H. A unified approach to risk assessment for fetal aneuploidies [J]. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 2015, 45(1): 48-54.

- [16] FIORENTINO F, BONO S, PIZZUTI F, et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods [J]. *Prenatal diagnosis*, 2016, 36(4): 304-311.
- [17] ASHOOR G, SYNGELAKI A, POON L C, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics [J]. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 2013, 41(1): 26-32.
- [18] NORTON M E, JACOBSSON B, SWAMY G K, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy [J]. *The New England journal of medicine*, 2015, 372(17): 1589-1597.
- [19] CHAN N, SMET M E, SANDOW R, et al. Implications of failure to achieve a result from prenatal maternal serum cell-free DNA testing: a historical cohort study [J]. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 2018, 125(7): 848-855.
- [20] PERGAMENT E, CUCKLE H, ZIMMERMANN B, et al. Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Screening in a High-Risk and Low-Risk Cohort [J]. *Obstetrics & Gynecology*, 2014, 124(2): 210-218.
- [21] BELLAI-DUSSAULT K, MENG L, HOWLEY H, et al. Cytogenetic outcomes following a failed cell-free DNA screen: a population-based retrospective cohort study of 35, 146 singleton pregnancies [J]. *American journal of obstetrics and gynecology*, 2023, 229(2): 168.e1-168.e8.
- [22] BECKING E C, WIRJOSOEKARTO S A M, SCHEFFER P G, et al. Low fetal fraction in cell-free DNA testing is associated with adverse pregnancy outcome: Analysis of a subcohort of the TRIDENT-2 study [J]. *Prenatal diagnosis*, 2021, 41(10): 1296-1304.
- [23] CLAPP M A, BERRY M, SHOOK L L, et al. Low Fetal Fraction and Birth Weight in Women with Negative First-Trimester Cell-Free DNA Screening [J]. *American journal of perinatology*, 2020, 37(1): 86-91.
- [24] SCHEFFER P G, WIRJOSOEKARTO S A M, BECKING E C, et al. Association between low fetal fraction in cell-free DNA testing and adverse pregnancy outcome: A systematic review [J]. *Prenatal diagnosis*, 2021, 41(10): 1287-1295.

(收稿日期:2023-08-25)

编辑:刘邓浩

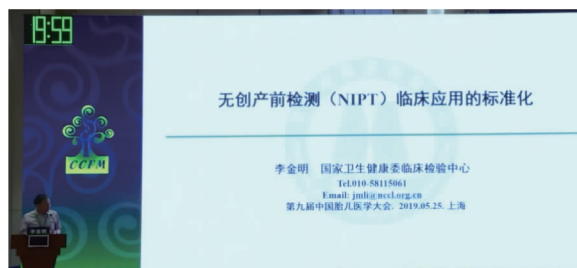
· 视频导读 ·

无创产前检测临床应用的标准化

李金明

(国家卫生健康委临床检验中心 临床分子与免疫室,北京 100730)

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.03.014



来自国家卫生健康委员会临床检验中心副主任兼临床分子与免疫室主任李金明教授给我们带来了“无创产前检测临床应用如何标准化”的讲座,他从标准化与质量保证的关键环节,分子检测科研与临床应用之间的异同,临床有效性与临床预期用途,分析前标本采集的重要性,性能验证与性能确认以及结果报告与解释六个方面给我们

进行了详细阐述。从每一个详细的细节让我们了解了实验室质量管理的“灵魂”,以及遗传咨询的流程,作为分子遗传咨询师应该了解的内容及 NIPT 遗传咨询的关键点。