

# 母胎医学领域高通量测序遗传检测新技术及其临床效度分析

王威<sup>1</sup> 殷旭阳<sup>2</sup> 周祎<sup>3</sup>

(1. 深圳华大临床检验中心, 广东 深圳 518083; 2. 深圳华大基因研究院, 广东 深圳 518083; 3. 中山大学附属第一医院 妇产科胎儿医学中心, 广东 广州 510080)

**【摘要】** 随着基因组分析技术发展, 基于高通量测序的新型遗传检测技术已经开始应用于母胎医学实践。本文将介绍高通量遗传检测技术、其临床应用效度评估的主要内容、评估指标及其影响因素; 同时也将介绍目前几项代表性的新型高通量遗传检测技术的临床效度研究情况。通过系统深入研究与评估, 将有助于这些新型技术在母胎医学领域的应用得到完善与规范。

**【关键词】** 母胎医学; 高通量测序; 新型遗传检测技术; 临床效度评估

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

高通量测序技术, 也称二代测序技术(next generation sequencing, NGS), 在产前筛查与产前诊断领域的应用, 是该项技术的重要发展和突破。高通量测序技术使得一次测序实验获得 DNA 序列信息有了大幅度增加。由于可以同时分析多种疾病致病基因和位点, 可以检测出更多的变异, 从而提高检测效率。近年来, 基于高通量测序技术的新型遗传检测技术亦有了快速发展并逐步应用于母胎医学实践。2013年, 美国食品与药品管理部门(FDA)批准了世界首个使用高通量测序平台与检测的试剂盒, 用于囊性纤维化体外检测及诊断。2014年6月30日, 我国全国食品药品监督管理总局(CFDA)批准了全球第一个用于无创产前检测(NIPT)的高通量测序平台与检测试剂盒。此外, NGS技术应用领域还包括植入前遗传学检测、遗传病诊断以及携带者筛查等, 显示出其潜在的临床应用价值。

然而, 由于一次测序提供的信息量大, 一些突变的致病性尚不能得以明确, 检测结果难以给出明确的临床说明。因此, 与针对少量特定基因与位点的经典分子诊断技术相比, 基于NGS的新型遗传检测尽管具备自身优势, 但其临床效度还需要进行科学系统的

评估。决定一项新型遗传检测技术是否适用于临床, 可用的评估方法包括: 分析效度(analytic validity)、临床效度(clinical validity)以及后续临床应用(clinical utility)评估, 同时需要关注检测后实施干预后的医学与社会学结局, 即开展临床实用性评估<sup>[1]</sup>。

本文将对当前几项代表性 NGS 新型遗传检查技术展开论述, 重点介绍遗传检测效度评估的主要内容、评估方法与指标, 评价其临床效度研究情况, 以期为母胎医学工作者尤其是产前诊断领域的医师提供详实可靠的信息, 为其临床决策与应用提供帮助。

## 1 基于高通量测序的新型遗传检测技术

高通量测序技术自 2005 年开始市场化应用。随着技术不断发展, 测序的通量与准确性有了进一步提升, 成本也随之大幅度下降, 每百万 DNA 碱基的原始测序数据成本从 2010 年的 0.52 美元降低到 2015 年 10 月的 0.0014 美元<sup>[2]</sup>, 使得 NGS 应用于医学实践成为可能。

根据检测目标 DNA 区域, NGS 测序技术可以分为目标基因集的组合测序(panel sequencing)、全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)以及全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)。其中, 后两者属于全基因组范围的测序技术。基因集组合

测序可以对某疾病或者某类疾病的目标致病基因区域进行捕获,并进行一次性测序检测。相比单个基因的检测,组合测序可以提高致病基因的检测效率,可以用于对某遗传病的高风险群体进行筛查者筛查,也可以用于辅助诊断或鉴别诊断。相比全基因组与外显子组测序,目标基因组合测序检测目标基因更加明确、有针对性,且数据分析与解读也相对简单;在使用时,需要对待检测的疾病进行临床分析,以便选择适合的基因组合检测产品进行检测。

在已知疾病致病基因检测未果的情况下,全外显子组与全基因组测序或将是一种有效的诊断工具。这两项检测技术近年来正逐渐成为一种常规诊断方法,称之为临床全基因组与全外显子组测序(clinical genome sequencing 与 clinical exome sequencing)。人类基因组共 30 亿个碱基对,只有约 1%的 DNA 序列编码蛋白质,称为外显子,基因组中全部外显子的集合就是外显子组。约 85%的疾病相关变异都发生在外显子区域<sup>[3]</sup>。外显子组测序可以同时人类蛋白编码基因中寻找致病变异,能够显著提高遗传病的诊断能力<sup>[4]</sup>。全基因组测序也是一项有潜力的技术,其目前的应用挑战主要在于数据解读更为复杂、检测费用更高。

大多数人类遗传病存在遗传异质性,不同的突变可引起相同或者相似的表型。突变的基因具有多效性,经常呈现表现度不一致。还有一些疾病,其致病基因庞大而复杂。例如,杜氏进行性肌营养不良(DMD)的致病基因抗肌萎缩蛋白基因长约 2.3Mb,包含 79 个外显子,突变机制复杂,多个区域的片段缺失、重复、点突变都可以导致发病<sup>[5]</sup>。Sanger 测序是遗传病致病基因分子诊断技术的金标准,准确性高,但需要针对待扩增的区域逐一设计引物进行 PCR 反应并优化反应体系。如果目标扩增区域没有涵盖到致病位点,则无法给出诊断,需要逐一排查其他区域。全外显子组与全基因组测序尽管一次性检测周期较长,成本也更高,但其检测区域比较广,能够提高发现致病突变的可能性,从而提高诊断率。随着疾病基因与表型信息逐渐完善、测序成本进一步降低,这两项技术有望发挥更大作用。

## 2 新型遗传检测的效度评估

2.1 分析效度 分析效度是指遗传检测能够准确、可靠检测出待测基因型的能力<sup>[6]</sup>。分析效度评估主要指标包括分析灵敏度(analytic sensitivity)、分析特异性(analytic specificity)、实验室质量控制(quality control)以及分析稳健性(robustness)。分析灵敏度是指能否有效鉴定出标本中的特定遗传特征(基因型),包括染色体数目与结构变异以及 DNA 序列变异等。大部分有临床意义的遗传特征都可以通过一系列技术策略得以检测。分析特异性是指该分析正确判断出不含有特定基因型的能力。实验室质量控制对检测过程进行评估,以确保结果的可靠性。分析稳健性是检测在噪声因素存在的条件下,保持检测预期的能力。一些生物学或者技术因素如等位基因脱扣、扩增偏倚、嵌合体等会影响检测的分析效度,是基因检测中的技术难点,值得重视;此外,在评估一项检测的分析效度时,还需要考虑某项检测的特定技术需求、不同实验室间可靠性的差异以及检测结果解读的质量<sup>[7]</sup>。

2.2 临床效度 临床效度是指一项检测方法能够发现或者评估患者临床状态(表型)的准确性,主要包括临床灵敏度(又称检出率或者真阳性率)、临床特异性(或者真阴性率)、阳性预测值以及阴性预测值等指标(表 1)<sup>[6]</sup>。临床效度的评估,需要考虑受众群体的特征、所用检测技术、临床评估结点、标准参照的定义等等。例如,受检测群体的大小与选择标准可能会在临床评估中引入偏倚,从而影响评估。标准参照的定义也很重要,当临床数据和家系调查数据作为评估参照时,临床实施标准则会对评估结果造成影响。在评价外显率较低的突变时,还需要对影响临床结局的非遗传因素同时进行评估,才能明确这项检测的临床效度<sup>[6]</sup>。

当疾病外显率和检测方法灵敏度较高时,检测的阳性和阴性预测值通常也会高。然而,阳性预测值还取决于相关疾病在受检人群中的患病率(prevalence)。因此,当受检者属于某遗传病高发群体时,或者受检者的家族史与临床检查提示其患有该遗传病,那么相关检测的阳性预测值会比较高。反

之,如果受检人群的患病率较低,则该检测的阳性预测值也会比较低。灵敏度则与患病率无关,但是会受到遗传异质性的影响。同一种单基因病可能由多个基因、不同的等位基因、不同的突变位点导致。如果诊断性检测只能检测全部致病突变中的一部分,

则检测的灵敏度会受到影响,这一点在 FISH、ML-PA、Sanger 测序等针对特定 DNA 位点的方法中尤为明显。另外,在不同族群的受检人群中,导致疾病的突变位点可能不同,因此灵敏度有时会受到影响<sup>[8]</sup>。

表 1 遗传检测临床效度的主要评估指标

| 检测指标                                 | 定义                                 |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| 灵敏度(sensitivity)                     | 筛检方法能将实际有病的人正确地判定为患者的比例,又称真阳性率或检出率 |
| 特异性(specificity)                     | 筛检方法能将实际无病的人正确地判定为非患者的比例,又称真阴性率    |
| 阳性预测值(positive predictive value,PPV) | 筛检方法检出的全部阳性例数中,真正有病的例数(真阳性)所占的比例   |
| 阴性预测值(negative predictive value,NPV) | 指检验结果为阴性的受试者中,真正未患病的比例             |

上述遗传检测临床效度评估的问题凸显了临床全基因组与全外显子组分析的重要挑战。WGS 与 WES 是评估多个目标基因变异的有效的手段,除诊断相关信息外,还可以提供许多与受检者现病症无关的基因信息,即机会性筛检(opportunistic screening)的可能性,可以用来确定其他遗传风险<sup>[6]</sup>。但是这样的检测无法计算阳性与阴性预测值,缺乏充分的基于人群的分析数据。此外,随着检测提供的信息越多,阳性和阴性结果都需要考虑,包括假阳性或不确定信息的发现。全基因组与全外显子组检测的偶然发现增加了决策的复杂度。

2.3 临床实用性 临床实用性是指检测存在的风险与收益,以及对于治疗、疾病管理与健康指导的作用。决定临床实用性最重要的因素包括:①检测以及后续的干预措施是否能够改善检测结果为阳性的患病者的健康水平;②与测试相关的风险<sup>[6]</sup>。完整的临床实用性评估需要评价检测及后期干预的医疗和社会学结局。如果目标检测疾病尚无治疗方式,临床效率高的检测更有助于疾病诊断并判断预后。这时检测的临床实用性就由其临床效率决定。当存在治疗方法时,评估临床实用性最重要的依据来自随机对照试验,如果治疗组的临床结局好于未经治疗组,一般认为是临床收益最有力的证据<sup>[9]</sup>。

对于很多遗传性疾病,严格的随机对照试验难以实施。此时,基因检测的临床实用性评估可由通过高质量的临床观察性研究决定,例如严格设计的队列研究或一系列案例分析<sup>[10]</sup>。但是这种方法在治疗后较长的时间内存在不确定性,特别是对治疗

时机选择、以及最有可能从治疗中受益的患者选择。此外,这种基于临床观察性研究的临床有效性评估方法对于复杂疾病的基因变异和药物基因组的基因变异并不适用<sup>[6]</sup>,要确定这些检测是否有足够的临床预测价值,还需要进行对照研究。对于低外显度的基因变异,对照实验对于确定相关检测的临床实用性有重要意义。评价临床实用性的重要变量包括研究人群的大小和选择标准、实验室分析鉴定所用的设备和方法、临床结局、病例与对照的可比较性、干预措施、预期收益、对疾病的认知。在对基因与基因组检测的临床实用性的评价中,定性与定量的研究方法也是一个重要的挑战。由于存在诸多的技术、应用、咨询与临床分析的不确定性,遗传检测的社会伦理方面也值得重视。

### 3 代表性高通量测序遗传检测技术的临床效度评估研究进展

3.1 基于母体血浆游离 DNA(cfDNA)测序的无创产前检测(NIPT) 基于 cfDNA 测序的 NIPT 是高通量测序新型遗传检测最为成功的一项应用。目前,我国及欧美等国家将这项新技术定位于一项产前筛查性检测技术,而非诊断性检测。因此对于 NIPT 检测结果为高风险的孕妇,还应当建议其进行后续介入性产前诊断来确诊。现阶段 NIPT 目标疾病主要为常见胎儿染色体非整倍体,包括 21-三体综合征(T21)、18-三体综合征(T18)以及 13-三体综合征(T13)。

NIPT 临床效率的评估可以采用对照研究或者前瞻性队列研究的方法,以核型分析结果或者临床

妊娠结局作为决定性诊断的金标准,评估 NIPT 对于目标疾病检测的灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值等指标。

基于 cfDNA 测序的 NIPT 检测方法,根据检测目标区域,分为全基因组鸟枪法测序、目标 DNA 片段捕获测序,以及 SNP 测序。目前多家检测机构已经完成了较大人群的验证工作,评估了 NIPT 的检测性能与表现。现有临床应用评估研究均显示,无论采用何种检测方法,NIPT 对于常见常染色体非整倍体检测,均具有很高的临床灵敏度与特异性<sup>[11-14]</sup>。例如,Zhang 等<sup>[13]</sup>对 146 958 例样本检测,通过对后续介入性诊断结果的分析以及对胎儿出生后随访,显示 NIPT 对 T21、T18、T13 的检测灵敏度分别为 99.1%、98.2% 与 100%;特异性分别为 99.95%、99.95% 与 99.96%;T21 假阳性率为 0.05%,阳性预测值为 92.19%;T18 的假阳性率同为 0.05%,阳性预测值为 76.6%;T13 的假阳性率为 0.04%,阳性预测值为 32.84%。Norton 等<sup>[14]</sup>针对 15 481 例的大规模 NIPT 临床应用评估显示,对于 T21、T18 与 T13 的检测灵敏度分别达到了 100%、

90% 以及 100%;特异性分别为 99.9%、100% 与 100%;假阳性率分别为 0.1%、0% 与 0%;PPV 分别为 80.9%、90% 与 50%。

在 NIPT 临床应用初期,其临床效度评估主要针对高危孕妇人群开展。随着 NIPT 检验验证研究从高危人群扩展到中、低风险孕妇,国际产前诊断与治疗学会(ISPD)等多家国际学术组织 2015 年发布的指南指出,无论风险如何,NIPT 可以应用于常见非整倍体的产前筛查<sup>[11]</sup>。与检测灵敏度、特异性不同的是,阳性预测值会受到受检人群中疾病发病率的影响,发病率越低,筛查检测的阳性预测值也越低。由于唐氏综合征的发病率在高危孕妇人群中的发生率高于低危孕妇人群,所以 NIPT 在低危人群中的阳性预测值也略低(图 1),但是其检测灵敏度与特异性未受到影响,且显著优于血清学筛查结果<sup>[12]</sup>。此外,染色体非整倍体的发生与民族、族群无显著关联,且不存在外显率问题,因此 NIPT 的临床效度评估受人群的民族与族群的影响小,临床效度的各项指标具有普遍适用性。近年来,NIPT 关注点正逐步聚焦其他疾病如染色体微缺失微重复综合征的检测<sup>[11,12]</sup>。

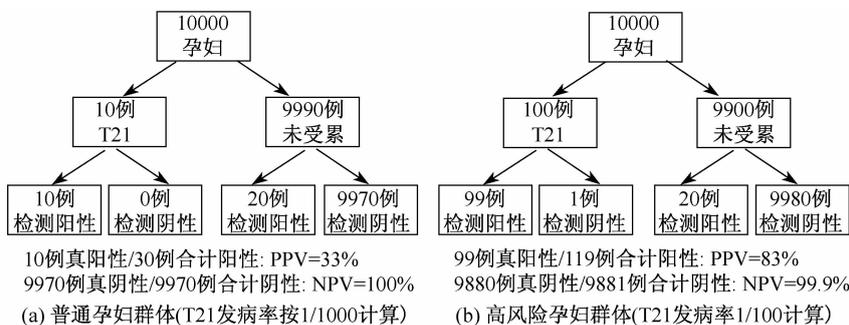


图 1 高风险孕妇与低风险孕妇群体中 NIPT 的阳性预测值与阴性预测值

3.2 胚胎植入前遗传检测 理论上,NGS 可以获得基因组的全部信息,因此通过不同的实验与分析策略,在单个或者数个胚胎细胞中,可以实现从染色体异常到单基因突变甚至是新发突变等异常的检测,为植入前胚胎遗传学筛查与诊断(PGD/PGS)领域打开新的篇章<sup>[15]</sup>。

植入前遗传学诊断(PGD)与植入前遗传学筛查(PGS)是针对体外培养的胚胎在植入母体前开展的一项遗传学检测。PGD 是直接靶向已知致病遗传因素的检测,其目的是阻断相关遗传病在家系内

的进一步传递;PGS 的筛查内容不局限于特定致病遗传因素,其最终目的是提高辅助生殖(in vitro fertilization, IVF)的整体成功率,需要从同批次外培养的胚胎中挑选出最合适的胚胎去移植。相比 PGD, PGS 的目标人群更广,包括高龄不孕不育患者以及辅助生殖治疗反复失败的患者,但其筛查内容基本都相同,当前主要以筛查染色体非整倍体为主<sup>[16]</sup>。

2013 年,Yin 等<sup>[17]</sup>对于来自 16 个 IVF 周期的 38 例废弃滋养层细胞活检标本进行研究,比较低深度(0.07X)全基因组测序与 SNP 微阵列两种技术

检测染色体非整倍体与不平衡易位。数据显示,6例非整倍体与5例不平衡易位标本,WGS与SNParray两种方法结果完全符合;对于1例不平衡易位标本,qPCR结果显示WGS具有更高的检测精度。Treff等<sup>[18]</sup>对6对单基因病携带者夫妇的胚胎标本进行目标区域扩增,随后对扩增产物进行高通量测序。结果显示,对于复合点突变以及小插入与缺失突变,高通量测序结果与基于qPCR的传统PGD方法符合率为100%。

目前,基于NGS的植入前胚胎检测的临床效度评估主要针对胚胎染色体非整倍体筛查开展。现有研究初步显示,基于NGS的胚胎遗传检测技术有较好的临床效度<sup>[19-21]</sup>。Tan等<sup>[19]</sup>对41对随机挑选的夫妇开展的临床研究显示,整倍体的囊胚占总数的47.3%,共33对夫妇有可供移植的染色体正常且形态学合格的囊胚,玻璃化冻存的相应囊胚经过复苏,植入母体后正在妊娠率为58.5%,并成功诞生了7个健康的婴儿。Fiorentino等<sup>[20,21]</sup>的回顾性双盲临床试验中,对临床上55个连续PGS周期的192例囊胚标本,采用NGS与aCGH微阵列两种技术平行对照研究,对全染色体(24-chromosome)非整倍体进行分析。结果显示,对非整倍体,NGS灵敏度为99.98%,特异性为100%;对于全染色体,灵敏度与特异性均为100%,74例为二倍体囊胚;基于NGS结果,47名女性共移植50例胚胎,30名女性有持续妊娠,临床妊娠率为63.8%,32例胚胎植入并发育单胎囊,植入率为64%,所有妊娠进展至足月出生31名健康婴儿。将NGS应用于胚胎植入前遗传学检测是当前辅助生殖领域的研究热点之一,期待有更多数据特别是前瞻性随机对照研究来证实其临床效度。

**3.3 单基因病的诊断性检测** 单基因病是指受一对等位基因控制的遗传性疾病,符合孟德尔遗传规律,也称为孟德尔病。单基因病的诊断性检测,其临床效度评估主要依靠于其准确检测出患病个体的能力,后者又与遗传变异的外显率、遗传异质性以及发病部位有关系。评估一项检测的灵敏度与特异性等指标,需要与另外一种比较成熟可靠的方法即检测金标准进行比较。对于很多遗传疾病,明确的诊断

需要结合临床与家系信息,诊断难度更大,临床效度评估也更复杂。例如,多发性内分泌腺瘤2型(MEN2)是一种常染色体显性遗传、有肿瘤发生倾向的综合征,其相关的特征性肿瘤是髓质甲状腺癌与嗜铬细胞瘤。MEN2主要是由于生殖细胞原癌基因RET突变而导致的病变,RET目前是该病唯一的致病基因。因此,对RET基因检测的准确性决定了其临床效度。MEN2分为3种亚型,包括MEN2A、MEN2B和FMTC(家族性髓质甲状腺癌),均有较高的甲状腺髓样癌发生风险,分别具有不同的遗传外显率。通常,FMTC型髓质甲状腺癌常发病年龄晚于其他两型,且MTC的外显率较MEN2A型以及MEN2B型低。受到遗传外显率不同的影响,在患多发性内分泌腺瘤的人群中,基因检测的灵敏度为95%~98%,检测的特异性可接近100%<sup>[22]</sup>。通常疾病外显率和检测灵敏度都比较高时,阳性预测值与阴性预测值通常也会比较高。由于阳性预测值受人群患病率影响,一项高准确度的检测在低发病风险人群中,其阳性预测值也会比较低。MEN2遗传检测,在一级亲属受累的受检者中,检测阳性预测值可以接近100%;而在发病风险较低的人群中,阳性预测值仅为3.3%。

在已知致病基因检测未果的情况下,临床基因组与外显子组测序有助于寻找致病基因,近两年正逐渐成为一种诊断方法。Yang等<sup>[23]</sup>将外显子组测序应用于单基因病诊断。在临床提示有遗传性的250例患者中,其中80%的患者为具有神经系统表型的儿童,经过全外显子组测序分析,有62名患者获得明确诊断,诊断率达到了25%。该团队随后报道了对2000例连续的临床病例进行诊断研究,结果显示全外显子组测序的诊断率维持在25.2%<sup>[24]</sup>。Taylor等<sup>[25]</sup>对由于非已知致病变异所导致的217例致病突变不明的病例,采用全基因组测序分析,诊断率为21%;其中,对于单基因遗传性病诊断率为34%;如果是一家三口的家系,诊断率达到57%。对于大部分疑似罕见病患者,全基因组与全外显子组测序将有望成为标准诊断评估的一部分,大幅缩短疾病诊断周期。

**3.4 遗传病致病基因携带者筛查(carrier test)**

携带者筛查,是遗传筛查的一种,是指当某遗传病在某一群体中发病率较高,为预防该病在该群体中的发生,采用经济、准确可靠的方法,在群体中将表型正常的携带者筛出,对其进行风险评估和婚育指导。针对高发群体的遗传病筛查项目始于20世纪60年代,针对犹太人群的泰-萨病(Tay-Sachs disease, TSD)的筛查是第一个系统性的携带者筛查项目。TSD是常染色体隐性遗传病,经过30年的努力,其发病例已经下降90%<sup>[26]</sup>。

遗传病携带者筛查可以显著降低目标疾病发病率。成功的疾病筛查项目通常需要具备若干条件:①受检疾病的临床症状较为严重;②目标群体有较高的致病基因携带率;③具备可靠的检测方法;④目标疾病可以进行产前诊断;⑤可以进行遗传咨询。灵敏度是携带者测试的关键参数。通过评估对已知携带者的检测结果可以确定筛查的灵敏度。当灵敏度有限时,开展携带者检测首先应该检测家庭中的先证者。如果发现致病突变,可以对其他家庭成员进行高灵敏度的筛查。如果未能发现致病突变,在其他家庭成员中的筛查需要使用其他方法来确定携带者,如连锁分析。影响筛查灵敏度的因素包括实验中的操作失误、筛查的突变类型与数目,以及受检人群的遗传背景等。例如,对囊性纤维化开展23个致病突变筛查的人群筛查灵敏度在美国白种人中为80%,北欧人中为90%,在德系犹太人中为97%,而在西班牙裔美国人和非裔美国人中分别为57%和69%<sup>[27]</sup>。

携带者筛查主要针对疾病致病基因或其产物进行检测。高通量基因分型与测序技术,特别是NGS测序技术的发展,使得一次性准确筛查更多疾病类型成为可能,称之为扩展性携带者筛查(expanded carrier screening)。扩展性携带者筛查有别于传统的单一病种逐一检测方式,具有以下特点:①依托NGS等高通量基因分析新技术,通常采用致病基因集的组合测序(panel sequencing)方式;②筛查所包含的疾病种类多,可以超过100种遗传病,其中大部分比较罕见;③针对所有受检者,无论种族,均提供同一检测;④因病种多,因此在检测前难以和受检者逐一讲解每种疾病的发病特点与检测特性;在检测前的咨询与知情同意中,应总体描述目标疾病种类、

主要特征以及筛检的局限性等内容;⑤目前扩展性携带者筛查中,大部分疾病为常染色体隐性疾病,少数为常染色体显性与X连锁疾病<sup>[28]</sup>。

2011年,采用NGS致病基因组合测序来进行遗传病携带者筛查被首次报道。Bell等<sup>[29]</sup>对104人进行448种严重的儿科隐性遗传病的携带者筛查,结果显示人均携带2.8个致病突变。用这种技术可以检测上百种甚至更多种类的隐性遗传病致病基因携带信息。这些疾病的严重程度与外显率不尽相同,发病阶段也不同,挑战在于选择适合的检测技术以及配套的遗传咨询。Martin等<sup>[30]</sup>对辅助生殖治疗中配子捐赠者与患者夫妇开展遗传病携带者筛查评估,目标疾病为629种致死致残性的隐性遗传病,共涉及551个致病基因。他们首先对48例携带已知致病突变标本进行分析效度评估,显示方法灵敏度为99%;随后对2570例临床受检群体进行回顾性研究,结果显示84%的受检者为携带者,人均携带2.3个致病突变;在自供配子夫妇,5%夫妇双方携带同一个基因的致病突变,供涉及6种遗传病;1.94%的女性供者为X连锁遗传病携带者。这种综合性携带者筛查检测,结合数据系统与遗传咨询,为辅助生殖实验室提供了新的选择。

针对这一新技术,国际上多家学术组织陆续发布了相关临床应用指南。2013年,美国医学遗传学与基因组学会(ACMG)针对产前/孕前进行扩展性携带者筛查发布了声明,在目标疾病、致病基因的选择,以及检测质量控制方面的提出了参考标准<sup>[31]</sup>;2015年,ACMG联合美国妇产科医师学会(ACOG)等五家专业机构发布联合声明,针对生殖医学中的扩展性携带者筛查发布了指导意见<sup>[29]</sup>。

## 5 小结

随着基于高通量测序技术的新型遗传检测日渐广泛的应用于母胎医学实践,该领域的专业人员已经累积了初步的经验与数据,有关学术组织也出台了部分技术规范。对这一新型临床检测技术进行效度评估,充分了解影响检测效度的各项因素,将有助于临床决策与政策制定,从而让这些新型技术更加科学有效的服务于临床。相信通过对相关应用开展

更加系统深入地研究与评估,这项新型技术的临床应用必将得到完善与规范。

### 参 考 文 献

- [1] Holtzman NA, Watson MS. Promoting safe and effective genetic testing in the United States; Final report of the Task Force on Genetic Testing[J]. *J Child Fam Nurs*, 1999,2(5):388-390.
- [2] National Human Genome Research Institute. The cost of sequencing a human genome[EB/OL]. <https://www.genome.gov/sequencingcosts/>
- [3] Rabbani B, Tekin M, Mahdih N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics[J]. *J Hum Genet*, 2014, 59(1):5-15.
- [4] Biesecker LG, Green RC. Diagnostic clinical genome and exome sequencing[J]. *N Engl J Med*, 2014,370(25):2418-2425.
- [5] Wei X, Dai Y, Yu P, et al. Targeted next-generation sequencing as a comprehensive test for patients with and female carriers of DMD/BMD: a multi-population diagnostic study [J]. *Eur J Hum Genet*, 2014,22(1):110-118.
- [6] Burke W. Genetic tests: clinical validity and clinical utility [J]. *Curr Protoc Hum Genet*, 2014,81:9. 15. 1-8.
- [7] Burke W, Atkins D, Gwinn M, et al. Genetic test evaluation: information needs of clinicians, policy makers, and the public[J]. *Am J Epidemiol*, 2002,156(4):311-318.
- [8] Katsanis SH, Katsanis N. Molecular genetic testing and the future of clinical genomics[J]. *Nat Rev Genet*, 2013,14(6):415-426.
- [9] Woolf SH. Evidence-based medicine and practice guidelines: An overview[J]. *Cancer Control*, 2000,7(4):362-367.
- [10] Wilken B. Rare disease and the assessment of intervention: What sorts of clinical trials can we use? [J]. *J Inherit Metab Dis*, 2001,24(2):291-298.
- [11] Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis[J]. *Prenat Diagn*, 2015,35(8):725-734.
- [12] Committee Opinion No. 640: Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy[J]. *Obstet Gynecol*, 2015,126(3):e31-37.
- [13] Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Noninvasive prenatal testing for trisomy 21, 18 and 13 : clinical experience from 146,958 Pregnancies[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015,45(5):530-538.
- [14] Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for non-invasive examination of trisomy[J]. *N Engl J Med*, 2015,372(17):1589-1597.
- [15] Spath K, Wells D. Deep impact: sequencing embryo biopsy specimens at increasing depth[J]. *Reprod Biomed Online*, 2015,31(1):1-3.
- [16] 李剑, Gábor Vajta, 杜玉涛. 植入前遗传学诊断和筛查的最新进展[J/CD]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2014(2):34-41.
- [17] Yin X, Tan K, Vajta G, et al. Massively parallel sequencing for chromosomal abnormality testing in trophectoderm cells of human blastocysts[J]. *Biol Reprod*, 2013,88(3):69.
- [18] Treff NR, Fedick A, Tao X, et al. Evaluation of targeted next-generation sequencing-based preimplantation genetic diagnosis of monogenic disease[J]. *Fertil Steril*, 2013,99(5):1377-1384.
- [19] Tan Y, Yin X, Zhang S, et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening using next generation sequencing[J]. *Gigascience*, 2014,3(1):30.
- [20] Fiorentino F, Bono S, Biricik A, et al. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles[J]. *Hum Reprod*, 2014,29(12):2802-2813.
- [21] Fiorentino F, Biricik A, Bono S, et al. Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos[J]. *Fertil Steril*, 2014,101(5):1375-1382.
- [22] Marquard J, Eng C. Multiple Endocrine Neoplasia Type 2. 1999 Sep 27 [Updated 2015 Jun 25]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews?* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1257/>
- [23] Yang Y, Muzny DM, Reid JG, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders[J]. *N Engl J Med*, 2013,369(16):1502-1511.
- [24] Yang Y, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing[J]. *JAMA*, 2014,312(18):1870-1879.
- [25] Taylor JC, Martin HC, Lise S, et al. Factors influencing success of clinical genome sequencing across a broad spectrum of disorders[J]. *Nat Genet*, 2015,47(7):717-726.
- [26] Kaback MM. Screening and prevention in Tay-Sachs disease: origins, update, and impact[J]. *Adv Genet*, 2001,44:253-265.
- [27] Lebo RV, Grody WW. Testing and reporting ACMG cystic fibrosis mutation panel results[J]. *Genet Test*, 2007,11(1):11-31.
- [28] Edwards JG, Feldman G, Goldberg J, et al. Expanded carrier screening in reproductive medicine—points to consider: a joint statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine [J]. *Obstet Gynecol*, 2015,125(3):653-662.
- [29] Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, et al. Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing[J]. *SciTransl Med*, 2011,3(65):65ra4.
- [30] Martin J, Asan, Yi Y, Alberola T, et al. Comprehensive carrier genetic test using next-generation deoxyribonucleic acid sequencing in infertile couples wishing to conceive through assisted reproductive technology [J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(5):1286-1293.
- [31] Grody WW, Thompson BH, Gregg AR, et al. ACMG position statement on prenatal/preconception expanded carrier screening[J]. *Genet Med*, 2013,15(6):482-483.

(收稿日期:2016-07-04)

编辑:刘邓浩