

高通量基因测序在胎儿染色体非整倍体产前筛查中的应用

马占忠* 许红雁 范舒舒 徐静 刘玉兰 陈伟娟 江孜孜

(汕头大学医学院附属粤北人民医院,广东 韶关 512026)

【摘要】 目的 评价高通量基因测序在胎儿染色体非整倍体产前筛查中的临床应用价值。**方法** 采用高通量基因测序对3186例孕妇进行胎儿染色体非整倍体无创产前筛查(non-invasive prenatal screening, NIPS),高风险者进行侵入性产前染色体核型分析验证和随访。**结果** 3186例孕妇中NIPS发现胎儿染色体异常43例,高风险率为1.35%(43/3186),其中21-三体高风险18例,18-三体高风险5例,13-三体高风险4例和其他染色体异常高风险16例。高风险病例中产前诊断确诊32例,其中确诊21-三体17例,18-三体3例,13-三体3例和其他染色体异常9例。NIPS对21-三体、18-三体、13-三体和和其他染色体异常的敏感度均为100%,特异度分别为99.97%、99.94%、99.97%和99.78%,总阳性预测值为74.42%(32/43),总假阳性率0.35%(11/3186)。**结论** NIPS具有灵敏度高、特异性强、无创安全等优点,有较高的临床应用价值。但NIPS提示高风险,必须通过侵入性产前诊断进行染色体核型分析,低风险孕妇也要加强孕期监测,避免漏诊。

【关键词】 高通量基因测序;染色体非整倍体;无创产前筛查

【中图分类号】 R394.3 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical application value of high-throughput gene sequencing for prenatal screening of fetal chromosomal aneuploidy. **Method** Non-invasive prenatal screening(NIPS) of fetal chromosomal aneuploidy in 3186 pregnant women by high-throughput gene sequencing. High-risk result were verified by invasive prenatal chromosomal karyotype analysis and followed up. **Results**

Among the 3186 pregnant women, 43 cases of fetal chromosomal abnormalities were found by NIPS, the high risk rate is 1.35% (43/3186), including 18 cases of high risk 21 trisomy, 5 cases of high risk 18 trisomy, 4 cases of high risk trisomy 13 and 16 cases of other chromosomal abnormalities. 32 cases of prenatal diagnosis were diagnosed in high risk cases, including 17 cases were diagnosed of 21 trisomy, 3 cases of 18 trisomy, 3 cases of trisomy 13 and 9 cases of other chromosomal abnormalities. The sensitivity for trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13 and other chromosomal abnormalities were 100%, the specificity were 99.97%, 99.94%, 99.97% and 99.78%, respectively. The total positive predictive value was 74.42% (32/43), and the total false positive rate was 0.35% (11/3186). **Conclusions** NIPS has the advantages of high sensitivity and specificity, non-invasive safety, and has a good clinical application value. However, NIPS indicated high risk must be performed through invasive prenatal diagnosis by chromosomal karyotype analysis and the low risk pregnant women should also strengthen pregnancy monitoring to avoid missed diagnosis.

【Key words】 high-throughput gene sequencing; chromosomal aneuploidy; non-invasive prenatal screening

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2018.04.005

基金项目:韶关市科技计划项目(2017cx/016);韶关市卫生计生科研项目(Y17063)

* 通讯作者:马占忠, E-mail: mazhanzhong816@163.com

染色体异常是新生儿出生缺陷的主要原因,最常见的有 21-三体、18-三体、13-三体和性染色体异常。此类遗传病尚无有效的治疗方法,只能通过产前筛查和产前诊断来预防患儿的出生^[1]。现行的产前筛查和产前诊断方法存在一定的局限性^[2]。应用高通量基因测序对母体外周血中的胎儿游离 DNA 进行无创产前基因筛查(noninvasive prenatal screening, NIPS)是产前筛查新技术^[3],与传统血清学筛查及有创产前诊断相比,具有准确可靠、简便快速和无创易接受等优点,在临床上应用日益广泛。本研究对 3186 名孕妇的 NIPS 结果进行分析,探讨其临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 1 月至 2017 年 10 月在粤北人民医院就诊,知情同意自愿进行 NIPS 检测的 3186 例孕妇,年龄 17~47 岁,平均年龄 30 岁,孕周 12~33 周,平均孕周 15 周;所有孕妇在 1 年之内无输血、移植、免疫治疗等异体细胞输入史。

1.2 方法

1.2.1 NIPS 检测 ①样本采集及血浆分离:孕妇签署知情同意后,采集静脉血 5 ml 置于专用游离 DNA 样本保存管(康为世纪生产),室温保存,96 h 内分离血浆,4 ℃下 1 600 g 离心 10 min,取上层血浆,于 4 ℃下 16 000 g 离心 10 min,上层血浆分装于 2 ml 离心管,-80 ℃保存待检。②基因测序:血浆经过 DNA 提取和文库构建,采用华大基因

BGISEQ500 测序平台进行基因测序分析。③结果判读:利用华大基因 NIFTY 软件计算染色体 Z 值, $-3 < Z < 3$ 为低风险, $Z > 3$ 时为高风险, $1.96 < Z < 4$ 时为灰区,重新建库复查。胎儿 DNA 浓度 $< 3.5\%$ 时重新采血复查。

1.2.2 产前诊断 NIPS 提示高风险的孕妇,经遗传咨询在知情同意后经有资质的医师在 B 超引导下对孕 16~24 周行侵入性羊膜腔穿刺采集羊水或孕 24 周后采集脐血进行染色体核型和染色体微阵列分析(chromosomal microarray, CMA)。

1.2.3 随访确认 电话随访所有研究对象的妊娠结局及新生儿生后 3 个月的健康情况。

1.2.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件统计 NIPS 的灵敏度、特异度和阳性预测值。

2 结果

3186 例样本中 NIPS 提示染色体异常高风险 43 例,高风险率为 1.35%(43/3186),高风险病例经羊水或脐血染色体核型分析和 CMA 确诊 32 例,符合率为 74.42%(32/43)。其中 21-三体高风险 18 例,确诊 17 例;18-三体高风险 5 例,确诊 3 例;13-三体高风险 4 例,确诊 3 例;其他染色体异常高风险 16 例,确诊 9 例。NIPS 检测染色体异常的灵敏度、特异度和阳性预测值见表 1。所有 NIPS 低风险孕妇进行随访,截止 2018 年 6 月,未发现有假阴性病例。

表 1 NIPS 检测胎儿染色体非整倍体结果分析($n=3186$)

NIPS 高风险	阳性例数 (例)	确证例数 (例)	假阳性例数 (例)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)
21-三体	18	17	1	100	99.97	94.44
18-三体	5	3	2	100	99.94	60.00
13-三体	4	3	1	100	99.97	75.00
其他染色体异常	16	9	7	100	99.78	56.25
合计	43	32	11	100	99.65	74.42

3 讨论

目前唐氏血清学筛查的假阳性率高达5%,准确率也只有70%~85%,漏检率高,导致无效有创穿刺量增大,浪费医疗资源^[4,5]。加上穿刺引起的流产和宫内感染风险,造成孕妇的心理恐惧和焦虑。

高通量基因测序用于胎儿染色体非整倍体无创产前检测后,大幅提升了准确性,减少了侵入性产前诊断。本研究结果显示 NIPS 对于 21-三体、18-三体、13-三体的灵敏度均为 100%,特异度分别为 99.97%、99.94%和 99.97%。NIPS 总阳性预测值为 74.42%,总假阳性率为 0.35%。Zhang 等^[6]报道 NIPS 检测 146 958 份临床样本中,对于 21-三体、18-三体、13-三体的灵敏度分别为 99.1%、98.2%和 100%,特异性分别为 99.95%、99.95%和 99.96%。翁慧男等^[7]通过对 1865 例 NIPS 分析,对 21-三体、18-三体、13-三体的敏感度均为 100%,特异度分别为 92.9%、100%和 100%。王德刚等^[8]在 4271 例 NIPS 分析中,对 21-三体、18-三体、13-三体及性染色体数目异常的总检出率为 96.43%,总假阳性率为 0.46%,总阳性预测值为 76.06%,总准确率为 99.49%。

综上所述,NIPS 具有灵敏度高、特异性强和假阳性率低等优点,但因其成本高和技术水平要求高、仍存在假阳性和假阴性的风险^[9,10],限制了其在临床的应用。临床遗传咨询医生要客观真实充分的告知孕妇该技术的优势和局限性,指导孕妇在知情同意下自愿选择产前筛查和产前诊断方案,避免由于告知不充分而引起的医疗纠纷^[11]。随着高通量基因测序的技术进步和成本下降,将逐步成为染色体筛查的一线方法和预防出生缺陷的重要手段^[12,13]。

临床资料报道提示,NIPS 仅是筛查手段,不能作为确诊的依据^[14],结果提示为高风险的,必须通过侵入性产前诊断染色体核型分析或其他方法来进

一步确诊。NIPS 结果为低风险也并不能排除异常,要按时孕期监测,以防漏诊。

参 考 文 献

- [1] Xiao H, Yang YL, Zhang CY, et al. Karyotype analysis with amniotic fluid in 12365 pregnant women with indications for genetic amniocentesis and strategies of prenatal diagnosis[J]. J Obstet Gynaecol, 2016, 36(3): 293-296.
- [2] 张玢, 潘凌燕, 王慧艳, 等. 不同指征的孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查效力的比较[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(1): 51-55.
- [3] Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study[J]. Genet Med, 2011, 13(11): 913-920.
- [4] 张丽科, 余学高, 黄彬, 等. 胎儿染色体非整倍体无创检测在产前诊断中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(2): 96-102.
- [5] Benn P, Curnow KJ, Chapman S, et al. An economic analysis of cell-free DNA non-invasive prenatal testing in the US general pregnancy population[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132313.
- [6] Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146, 958 pregnancies[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015, 45(5): 530-538.
- [7] 翁慧男, 梁嘉颖, 曾伟宏, 等. 无创产前基因测序在胎儿染色体非整倍体基因检测中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, (16): 2386-2388.
- [8] 王德刚, 马肇华, 梁少霞, 等. 应用高通量平行测序技术产前筛查胎儿常见非整倍体的前瞻性研究[J]. 中华围产医学杂志, 2018, 21(2): 118-121.
- [9] Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, et al. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) a systematic review[J]. Prenat Diagn, 2017, 37(6): 527-539.
- [10] 文萍, 薛莹, 张芹, 等. 无创产前检测胎儿染色体非整倍体假阴性两例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(6): 884-887.
- [11] 张颖. 无创产前基因检测的临床应用及遗传咨询[J]. 中国计划生育学杂志, 2017, 25(12): 809-811.

- [12] 吴莉,陈敏,钟进,等. 无创产前检测进行染色体缺失或重复检测的临床应用价值[J]. 实妇产科杂志,2017,33(8):622-625.
- [13] Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy,2016 update:a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics[J]. Genet Med,2016,18(10):1056-1065.

- [14] 吕时铭. 产前诊断实验技术的临床选择[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(8):505-507.

(收稿日期:2018-11-07)

编辑:宋文颖