

早孕筛查联合无创产前基因检测在高龄孕妇产前诊断中的应用

戴禹德,肖建平*

基金项目:无锡市科技发展资金(项目编号:WX18HAN028)

作者单位:214000 江苏 无锡,南京医科大学附属无锡妇幼保健院产前诊断中心

作者简介:戴禹德,研究生在读,主要研究方向为围产医学及产前诊断

* 通信作者,E-mail:jianpingx999@126.com

【关键词】高龄孕妇;产前筛查;产前诊断

【中图分类号】R 714.55

【文献标志码】A

【文章编号】1674-4020(2021)10-030-03

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.10.08

随着女性知识程度的提升及生育观念的转变,孕产妇呈现高龄化趋势。有研究表明,高龄孕妇相较适龄孕妇而言,发生妊娠合并症的风险增加,如妊娠期糖尿病、子痫前期等,低体重儿、胎儿生长受限、出生缺陷等不良妊娠结局发生率也增加^[1]。因此,应重视高龄孕妇这类人群的孕期产检。孕妇年龄增加,卵巢功能发生减退,卵子质量下降,生殖细胞乃至受精卵发生畸变、减数分裂时不分离的机会增加,从而造成胚胎/胎儿发生染色体异常概率变大。孕妇高龄已经发展成为一个染色体异常的独立高危因素。染色体异常是出生缺陷发生的一大常见原因,出生缺陷的发生给患儿及其家庭带来伤害。迄今为止,大多数染色体异常的临床诊疗尚缺乏有效手段。因此,染色体异常的早期发现、早期诊断、早期干预显得尤为重要。

1 现有产前筛查/诊断技术的优、缺点

1.1 血清学筛查

通过检测孕妇血中的相关蛋白和激素的含量水平,使用配套分析软件结合孕妇病史、年龄、体重、孕周等计算出胎儿患有染色体遗传病等疾病的风险。此技术主要筛查21-三体综合征、18-三体综合征风险以及神经管结构畸形。其筛查结果受孕龄、体重、种族、受孕方式、妊娠胎儿数、妊娠期吸烟、实验操作以及实验试剂等多种因素影响。血清学筛查是临床应用最广泛的筛查方法,在一定程度上能增加染色体异常的检出率,有研究显示血清学筛查高风险人群的染色体异常检出率高于低风险人群^[2]。但其同时存在较高的假阳性率,增加有

创诊断操作,有统计发现血清学筛查染色体高风险最终确诊概率只有3.98%^[3]。

1.2 超声探查

在《产前超声检查指南》的指导下可快速筛查出胎儿的综合情况、明确胎儿畸形数目以及胎儿畸形的严重程度,为临床准确评估胎儿的健康状况提供强有力的参考依据,及时同孕妇及其家属进行有效沟通,最大化保障母婴健康。除直观检测出畸形外,超声异常与染色体异常之间存在相关性。在一项研究中,超声提示前脑无裂畸形、脐带外露、巨大儿或颈项透明层 ≥ 3.5 mm的胎儿中,其中约40%合并染色体异常,8%属于21、18、13-三体以及特纳综合征以外的染色体异常^[4]。即便是在分子检测技术快速发展的现在,孕期超声检查也不可或缺,血清学低风险、无创产前基因检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)低风险仍有发生染色体异常以及单纯结构异常的可能。

1.3 无创产前基因检测

NIPT是基于孕妇外周血中游离胎儿DNA片段进行测序,通过对比参考序列从而获得每条染色体序列位置信息,对其进行判读。目前临床上NIPT广泛应用于T21、T18、T13的检测,且检测价值极高。在Gil等^[5]的一项Meta分析中,NIPT对单胎妊娠21-三体的诊断率高达99%,18-三体的诊断率为98%,13-三体的诊断率为99%,以及极低的假阳性率(0.13%)。但对于常见染色体非整倍体之外的染色体异常的检测效果不佳,性染色体的阳性预测值仅为42.9%,染色体微缺失/微重复综合征的阳性预测值更低^[6]。另外,NIPT存在假阴性、假阳性。假

阳性的原因可能与局限性胎盘嵌合、双胎之一胎消亡、母亲携带基因拷贝数变异(copy number variations, CNVs)、母亲患恶性肿瘤等有关。假阴性可能与胎儿嵌合或外周血胎儿游离 DNA 不足等因素相关。在 NIPT 检测前后,医师均应强调 NIPT 的局限性,检测结果不等同核型分析,异常结果仍需通过介入性产前诊断验证。

1.4 介入性产前诊断

在超声波的引导下经孕妇腹部提取胎儿相关样本,进而通过细胞培养、分子遗传学或生化遗传学检查,进行染色体诊断或基因诊断。羊水是目前最常用的检测样本。对样本进行分析方法包括染色体核型分析、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、产前液相芯片技术(bacs-on-beadstm, Bobs)、染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)等。核型分析被认为是遗传性疾病诊断的“金标准”,但其培养周期长,出具报告长达 4 周,且分辨率低,仅能发现 10 Mb 以上的染色体异常。FISH 理论上可以检测所有染色体的异常,但由于探针尚未完善,目前仅用于 21、18、13-三体及性染色非整倍体的快速检测^[7]。FISH 是通过计数单个细胞来决定羊水细胞是否携带染色体数目异常,因此能够准确地检出嵌合体。Bobs 检测目标疾病有限,包括 21、18、13、X、Y 染色体异常及 9 种染色体微缺失、微重复。CMA 是一种新兴的染色体芯片分析技术,其检测周期短,分辨率高,可检出 >1 Kb 的亚显微变异,可提高染色体异常的检出率,但同时也增加了 1%~2% 的临床不明意义的 CNVs,给临床遗传咨询带来挑战,且由于自身限制,无法检测平衡性染色体结构异常^[8]。

2 高龄孕妇产前筛查及诊断应用现状

随着国内外各项筛查技术的发展、完善,高龄孕妇的产前筛查和诊断同步发生变化。2001 年,美国妇产科医师协会及我国母婴保健法均提出高龄孕妇应行介入性产前诊断。但因其有创性可能带来感染、胎儿损伤、医源性胎儿流失等风险,且检测周期长,技术要求高,加重孕妇心理负担,使得高龄孕妇临床依从性下降。2011 年,NIPT 投入临床应用,其无创、早期、高效等优点成为高龄孕妇的备选。Okmen 等^[9]对 NIPT 应用前后产前诊断发生的改变研究中,发现有创产前诊断操作数目明显减少。多项研究均表明 NIPT 可作为高龄孕妇首选筛查手段^[10-12]。2015 年美国妇产科医师协会及母胎医学会均提出 NIPT 可作为一线筛查方式,高风险者再行介入性产前诊断。2016 年《孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断技术规范》中指出孕妇年龄 ≥ 35 岁是 NIPT 的慎用人群。其一,高龄孕妇行 NIPT 较高概率是高风险,从而推迟产前诊断时间及后续处理;其二,NIPT 不能检测到全部染色体异常^[13]。高龄孕妇作为染色体异常高发的高危人群,一旦漏诊,将给患儿及家庭增加负担。因此,高龄孕妇首选 NIPT 还是产前诊断是一个非常艰难的平衡。

血清学筛查是临床应用最广泛的筛查方法,然而随

着 NIPT 不断发展进步,有学者对血清学筛查存在的必要性提出质疑。2016 年,美国医学遗传和基因组学会提出 NIPT 可取代血清学筛查,但结合我国产筛中心覆盖面不全及成本的考虑,血清学筛查仍有存在的必要性。在王宏等^[14]的研究中发现如果孕妇血清学筛查提示高风险,胎儿发生染色体异常风险增加,并且胎儿超声筛查异常、自然流产、死胎、早产等不良妊娠结局也均显著高于血清学筛查低风险人群。

现有产前筛查及诊断手段对高龄孕妇各具优缺点,也发现它们间联合互补将呈现更大的优势。董媛等^[15]通过对具有不同产前诊断指征行羊水穿刺的孕妇进行回顾性分析,有 351 例高龄孕妇胎儿存在染色体异常,其研究假设所有高龄孕妇若只进行血清学筛查,染色体异常胎儿检出率为 51%,只行 NIPT 异常检出率为 69.2%,若先行血清学筛查进行风险分层再行 NIPT 其检出率可达 84.6%。罗丽双等^[16]对各类 NIPT 指征检出染色体异常情况分析中,超声软指标异常组 NIPT 阳性率(10.50%)高于其他组($P < 0.01$)。Kagan 等^[17]的研究中应用早期血清学筛查联合超声可使 21-三体检出率达到 90%,假阳性率为 3%~5%,对早孕联合筛查结果为临界风险进行 NIPT 检测,可使 21-三体检出率提高至 95% 以上,假阳性率在 3% 以下。

3 高龄孕妇产前筛查/诊断策略展望

采用非侵入性方法尽可能筛查出更多的胎儿染色体异常已成为行业风向。近年来,国内外一些产前诊断机构对 NIPT 进行了升级,检测范围拓展至性染色体异常(sex chromosome abnormalities, SCA)、CNV 以及其他常染色体非整倍体的筛查。① SCA。Grati 等^[18]于 2017 年发表了一篇关于 SCA 的研究,NIPT 检测的阳性预测值为 53%。针对合并超声异常病例中,NIPT 对 SCA 的阳性预测值可达到 98.9%。NIPT 对 SCA 检测价值逐渐被认可,但 SCA 不影响智力发育,共同临床特征除多发性畸形外,表现为性特征发育异常或性腺发育不全,可通过激素替代治疗或手术矫正。因此,对 SCA 检测时应进行详细的遗传咨询,避免医疗性胎儿丢失;② CNV(包括染色体微缺失/微重复)。越来越多的临床数据表明,CNV 是人类遗传疾病的主要原因之一,与胎儿结构功能、智力发育等相关。近年来,有研究表明 NIPT 对 21q11 缺失、15q11.2-13 缺失、1p36 缺失、5p 缺失等 CNV 检出率可达 90% 以上^[19]。CNV 的检测取决于胎儿游离 DNA 比例、测序深度、CNV 大小等,测序深度越深,付出的经济成本显著增加,胎儿游离 DNA 扩增技术可提高胎儿游离 DNA 比例至 4% 以上,从而提高 CNV 的检出率^[20];③ 其他常染色体非整倍体。从目前技术上可以检测,但因缺乏足够的临床数据,故也不推荐常规应用于除 T21、T18、T13 以外的常染色体非整倍体。随着测序深度及分析技术的不断进步,临床数据的不断积累,从长远来看,NIPT 有望成为一种常规产前诊断手段。

虽然介入性诊断存在一系列风险,但有学者对进行和未进行产前诊断的孕妇之间的流产率以及死胎率进行比较,发现并无显著性差异^[21-22]。因此,在对有需要的孕妇进行临床遗传咨询时,应详细告知各项可供选择的检测方法的风险与收益,由孕妇自行选择。此外,少数研究对孕妇年龄进一步分组发现,40岁及以上年龄组异常率显著高于35~39岁年龄组^[23-24]。其中一项研究中,35~39岁27例NIPT高风险经羊水穿刺染色体核型分析检出15例染色体异常,年龄 ≥ 40 岁16例NIPT高风险最终检出11例染色体异常。研究发现,孕妇年龄越大,NIPT检测结果与介入性产前诊断结果符合率越高。由此,有学者提出可对年龄 ≥ 40 岁的孕妇直接进行介入性产前诊断。然而,结合目前分子检测范围及水平的限制,是否可以建议针对年龄 > 40 岁的孕妇直接行介入性产前诊断,还需要足够的临床数据支撑。

4 结语

当高龄孕妇同时具有一项或多项的异常筛查结果,胎儿染色体异常的发生风险会更高。随着测序深度的加深、生物信息算法的优化以及实验室检测技术的进步,早孕筛查联合NIPT这一无创、高效的筛查策略将受到更多孕妇青睐、更多产前诊断机构认可。但现阶段,该筛查策略不能检测出全部染色体异常和单基因变异,因此,应对有需要的孕妇进行详细的遗传咨询。

【参考文献】

- [1] Mehari MA, Maeruf H, Robles CC, et al. Advanced maternal age pregnancy and its adverse obstetrical and perinatal outcomes in Ayder comprehensive specialized hospital, Northern Ethiopia, 2017: a comparative cross-sectional study [J]. BMC Pregnancy and Childbirth, 2020, 20(1): 60.
- [2] 李丽丽, 陈雪, 冯春峰. 早孕期唐氏综合征产前筛查结果的回顾性分析 [J]. 医学检验与临床, 2020, 31(2): 20-23, 31.
- [3] 陈益明, 卢莎, 梅瑾, 等. 杭州市 2440 例血清学筛查高风险孕妇产前诊断结果分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(5): 608-610, 613.
- [4] Syngelaki A, Guerra L, Ceccacci I, et al. Impact of holoprosencephaly, exomphalos, megacystis, and high NT in first trimester screening for chromosomal abnormalities [J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, 2017, 50(1): 45-48.
- [5] Gil MM, 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: the Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 2017, 50(3): 302-314.
- [6] Zhou Q, Zhu ZP, Zhang B, et al. Clinical features and pregnancy outcomes of women with abnormal cell-free fetal DNA test results [J]. Annals of Translational Medicine, 2019, 7(14): 317.
- [7] Yang SF, Lv JY, Si YM, et al. Diagnostic differences between patients opting for non-invasive prenatal testing and patients having traditional prenatal diagnosis [J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2018, 11(5): 2831-2838.
- [8] 宋花蕾, 魏学功, 牛淑芳, 等. 探讨染色体微阵列分析技术在产

- 前诊断中的应用 [J]. 滨州医学院学报, 2020, 43(2): 111-114.
- [9] Okmen F, Ekici H, Hortu I, et al. Comparison of indications and results of prenatal invasive diagnostic tests before and after the implementation of the use of cell-free fetal DNA: a tertiary referral center experience [J]. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2020, 37(8): 2019-2024.
- [10] 魏凤香, 罗小金, 胡亮, 等. 一线无创筛查 53634 例单胎性染色体非整倍体胎儿的产前诊断和妊娠选择 [J]. 妇产与遗传(电子版), 2020, 10(1): 19-25.
- [11] 郑芸芸, 万陕宁, 宋婷婷, 等. 无创 DNA 检测在高龄孕妇产前筛查中的应用研究 [J]. 当代医学, 2019, 25(2): 114-116.
- [12] 魏新亨, 雍敏婕, 哈迎春. 高龄孕妇无创 DNA 产前检测和血清唐氏筛查的应用研究 [J]. 宁夏医学杂志, 2020, 42(5): 456-458.
- [13] 付玉荣, 马莹, 杨婷, 等. 2534 例孕妇产前诊断指征与染色体核型结果分析 [J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(9): 1480-1484.
- [14] 王宏, 段纯, 袁晖, 等. 早孕期筛查唐氏综合征或 18-三体综合征不同风险值与胎儿染色体异常及妊娠结局分析 [J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2019, 15(6): 646-654.
- [15] 董媛, 张萌, 王一鹏, 等. 从 351 例胎儿染色体异常的分布探讨高龄孕妇产前筛查及诊断的流程 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(6): 538-542.
- [16] 罗丽双, 孟繁杰, 张宁, 等. 5756 例孕妇外周血胎儿游离 DNA 无创产前筛查结果分析 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(2): 103-106.
- [17] Kagan KO, Sonek J, Wagner P, et al. Principles of first trimester screening in the age of non-invasive prenatal diagnosis: screening for chromosomal abnormalities [J]. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2017, 296(4): 645-651.
- [18] Grati FR, Bajaj K, Zanatta V, et al. Implications of fetoplacental mosaicism on cell-free DNA testing for sex chromosome aneuploidies [J]. Prenatal Diagnosis, 2017, 37(10): 1017-1027.
- [19] 谭虎, 邹玲仟. 无创基因检测的临床应用现状及问题 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36(11): 801-804.
- [20] Welker NC, Lee AK, Kjolby R, et al. High-throughput fetal fraction amplification increases analytical performance of noninvasive prenatal screening [Z], 2020.
- [21] Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis [J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: the Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 2015, 45(1): 16-26.
- [22] Wulff CB, Gerds T, Rode L, et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a National cohort of 147, 987 singleton pregnancies [J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: the Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, 2016, 47(1): 38-44.
- [23] 宋伟, 刘晓晓, 张涛, 等. 9638 例不同年龄阶段孕妇产前诊断结果分析 [J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(17): 4064-4067.
- [24] 龙洋, 罗艳梅, 徐聚春, 等. 无创 DNA 检测在诊断高龄孕妇胎儿非整倍体中的应用 [J]. 实用妇产科杂志, 2017, 33(5): 373-375.