

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.19.032

无创产前基因检测技术对产前筛查指标异常孕妇的应用价值*

谢清华¹, 黎照环¹, 谢锦慧²

1. 南华大学附属长沙中心医院检验科, 湖南长沙 410004; 2. 湖南省人民医院/
湖南师范大学附属第一医院检验一部, 湖南长沙 410000

摘要:目的 探讨无创产前基因检测(NIPT)技术在产前筛查指标异常孕妇中的应用价值。方法 回顾性分析 2015 年 6 月至 2020 年 6 月在南华大学附属长沙中心医院因产前筛查指标异常或高龄选择 NIPT 检测的孕妇 5 523 例,分为高龄组(预产期年龄 ≥ 35 岁)4 544 例,血清学筛查指标异常组[指标中位数倍数(MoM)值异常]710 例及 NT 异常组(胎儿颈项透明层 2.5~3.0 mm)269 例。NIPT 高风险孕妇行羊水或脐带血穿刺染色体核型分析;NIPT 低风险孕妇于 21~27 周对胎儿行多普勒超声检查。对全部孕妇的妊娠结局进行随访和统计,并计算各组孕妇中 NIPT 对常见染色体非整倍体及性染色体非整倍体的检测效能。结果 高龄组 NIPT 提示染色体异常 60 例,经产前诊断分析确诊 45 例;血清学筛查指标异常组 NIPT 提示染色体异常 7 例,确诊 5 例;NT 异常组 NIPT 提示染色体异常 6 例,确诊 4 例。NIPT 在高龄组、血清学筛查指标异常组和 NT 异常组中对 21、18、13-三体及性染色体非整倍体的检测效能如下:灵敏度均为 100.0%,特异度分别为 99.7%(4 484/4 499)、99.7%(703/705)、99.2%(263/265),阳性预测值分别为 75.0%(45/60)、71.4%(5/7)和 66.6%(4/6),阴性预测值均为 100.0%。随访发现 NIPT 低风险孕妇中 18 例胎儿存在超声异常,其中 1 例孕 30 周胎死宫内。结论 NIPT 能有效地筛查高龄、血清学筛查指标异常及 NT 异常的孕妇中常见的染色体非整倍体和性染色体非整倍体异常,并可降低漏诊和介入性产前诊断的比例;NIPT 低风险的孕妇仍有发生超声结构异常的可能,应进行常规产检,必要时行多普勒超声检查以排除胎儿发育异常。

关键词:无创产前基因检测; 高龄; 血清学筛查; 产前诊断; 颈项透明层

中图分类号:R714.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)19-2915-03

胎儿染色体非整倍体无创产前基因检测(NIPT)是基于孕妇外周血中的胎儿游离 DNA 来预测其患染色体疾病的风险,自 2011 年以来该技术在全世界范围内广泛应用^[1-2]。在我国,每年有数百万孕妇选择该项目,在 2016 年实行二孩政策以后,该项目检测数量增长日益明显。2015 年,《孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断技术规范》^[3]中明确规定了 NIPT 技术的临床适应证、慎用指征和禁用指征。但胎儿染色体非整倍体的发生也与其他产前筛查异常指标相关,如颈项透明层(NT)增厚(2.5~3.0 mm)和血清学筛查指标的中位数倍数(MoM)值异常等,其中高龄(预产期年龄 ≥ 35 岁)是 NIPT 的慎用指征。传统的血清学筛查对染色体非整倍体检出率不高,设定假阳性率为 5%时,对 21-三体的检出率为 60%~90%,而羊水穿刺、脐血穿刺等介入性产前诊断作为目前的金标准,存在一定的流产和感染风险,孕妇接受程度相对较低,尤其是对某些高龄孕妇、试管婴儿妊娠者。由于 NIPT 兼有高检出率和低创伤性的优势,本研究选择了单纯高龄、单纯血清学筛查指标 MoM 值异常和单纯 NT 增厚这 3 类孕妇,旨在探讨 NIPT 对这 3 类人群的检验效能和应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择南华大学附属长沙中心医院

2015 年 6 月至 2020 年 6 月就诊、并因产前筛查指标异常而选择 NIPT 的单胎妊娠孕妇。血清学筛查采用珀金埃尔默生产的 auto DELFIA1235 TRFIA 全自动时间分辨荧光免疫分析系统及其配套试剂进行检测,以内置 MoM 值作为参考。纳入标准:仅有高龄(预产期年龄 ≥ 35 岁)、仅有血清学筛查指标 MoM 值异常、仅有 NT 增厚(2.5~3.0 mm)的孕妇。排除标准:血清学筛查结果提示高风险或临界风险的孕妇。单纯血清学筛查指标异常(指标 MoM 值异常)纳入对象有孕早期妊娠相关血浆蛋白 A 和 β 人绒毛膜促性腺激素,孕中期游离雌三醇、甲胎蛋白 MoM 值异常的人群。对于高龄孕妇,本研究根据国家相关规范对其进行充分宣教和咨询,告知其行产前诊断的必要性及拒绝产前诊断的可能风险。本研究通过医院伦理委员会批准,所有孕妇均签订知情同意书后方纳入研究。本研究共收集单胎妊娠孕妇 5 523 例,年龄 23~40 岁、平均(35.8 $\pm$ 2.06)岁,孕周 13~27 周、平均(16.4 $\pm$ 2.21)周。将研究对象分为高龄组(≥ 35 岁)4 544 例,血清学筛查指标异常组 710 例,NT 异常组 269 例。

1.2 方法

1.2.1 NIPT 根据国家相关规范要求,在适宜的孕周内采集孕妇外周乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝静脉血

* 基金项目:湖南省自然科学基金(科卫联合)项目(2021JJ70131)。

5 mL,并于采血后 6 h 内分离孕妇血浆中的胎儿游离 DNA,采用胎儿染色体非整倍体检测试剂盒(联合探针锚定连接测序法)在 BGISEQ 1000 测序平台进行全基因组大规模平行测序。

1.2.2 介入性产前诊断及超声检查 对于 NIPT 结果提示高风险的孕妇,建议孕妇行产前诊断,同时行染色体核型分析和染色体微阵列分析。NIPT 低风险孕妇于 21~27 周对胎儿行多普勒超声检查。

1.2.3 随访 追踪所有孕妇妊娠结局,如流产、死产及引产。未做遗传学相关检测、未确定结果的病例不纳入 NIPT 效能计算。产后新生儿检查或随访未发现明显异常的,作为阴性结果纳入统计。所有在外院行产前诊断的孕妇均电话随访其产前诊断结果,获得检测机构的遗传学检测报告,并记录妊娠选择及结局。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 各组 NIPT 高风险检出及验证情况(高风险/确诊, n/n)

组别	<i>n</i>	21-三体	18-三体	13-三体	性染色体非整倍体	合计
高龄组	4 544	32/30	7/4	4/2	17/9	60/45
血清学筛查指标异常组	710	3/2	2/1	1/1	1/1	7/5
NT 异常组	269	3/3	0/0	1/0	2/1	6/4
合计	5 523	38/35	9/5	6/3	20/11	73/54

表 2 NIPT 在高龄组、血清学筛查指标异常组和 NT 异常组中的检测效能

组别	<i>n</i>	真阳性 (<i>n</i>)	真阴性 (<i>n</i>)	假阳性 (<i>n</i>)	假阴性 (<i>n</i>)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
高龄组	4 544	45	4 484	15	0	100.0	99.9	75.0	100.0
血清学筛查指标异常组	710	5	703	2	0	100.0	99.7	71.4	100.0
NT 异常组	269	4	263	2	0	100.0	99.2	66.6	100.0

2.3 随访结果 NIPT 低风险孕妇随访共发现 18 例胎儿存在异常:高龄组中有 8 例超声发现胎儿发育不良(引产),其中 3 例为骨骼发育畸形,2 例为法洛四联症,2 例为唇腭裂,1 例为多囊肾;血清学筛查指标异常组中共检出 7 例胎儿异常,其中 3 例为胎儿先天性心脏病,1 例为唇腭裂,1 例为多囊肾,1 例生长发育迟缓(孕妇本人甲状腺功能亢进),另 1 例于妊娠 30 周胎死宫内;NT 异常组中 2 例为神经管缺陷高风险,另 1 例为胎儿先天性心脏病。其余 NIPT 低风险孕妇经随访未见胎儿有明显异常,未发现假阴性病例。

NIPT 高风险孕妇随访:73 例高风险孕妇中 54 例经羊水或脐带血产前诊断确诊为阳性,其中 21-三体 35 例,18-三体 5 例,13-三体 3 例,性染色体数目异常 11 例,除 1 例 47,XXX、1 例 47,XXY 选择继续妊娠外,其余均经咨询后选择引产。经产前诊断确认为 NIPT 假阳性的病例均正常妊娠至足月,分娩后随访

2 结 果

2.1 各组 NIPT 高风险检出情况 3 组共检出 NIPT 高风险 73 例。各组 NIPT 高风险检出及验证情况见表 1。以介入性产前诊断(羊水穿刺或脐带血穿刺染色体核型分析)结果为金标准,21-三体阳性预测值最高,达 92.1%(35/38);18-三体、13-三体及性染色体非整倍体的符合率分别为 55.6%(5/9)、50.0%(3/6)和 55.0%(11/20),总体阳性预测值为 74.0%(54/73)。其中 21-三体、18-三体和 13-三体的复合阳性预测值为 79.6%。

2.2 NIPT 在各组中对 21、18、13-三体及性染色体非整倍体的检测效能 高龄组、血清学筛查指标异常组和 NT 异常组中对 21、18、13-三体及性染色体非整倍体检测的灵敏度均为 100.0%,特异度分别为 99.7%(4 484/4 499)、99.7%(703/705)、99.2%(263/265),阳性预测值分别为 75.0%(45/60)、71.4%(5/7)和 66.7%(4/6),阴性预测值均为 100.0%。见表 2。

未见明显异常。

3 讨 论

CHAIPONGPUN 等^[2]和 NORTON 等^[1]的研究表明,NIPT 对常见的染色体非整倍体有着良好的检测效能。DEMKO 等^[4]、BIANCHI 等^[5]及 JUDAH 等^[6]的研究发现,NIPT 的假阳性率分别为 0.1%、0.5%、0.3%,与传统血清学筛查的假阳性率(分别为 4.5%、4.2%、4.4%)相比优势明显。在本研究中,NIPT 的复合检出率和复合阳性预测值(100.0%,79.6%)均优于传统的血清学筛查,说明其对 18-三体、21-三体等常见染色体非整倍体的检测效能更高。当前情况下,NIPT 可以大大减少高风险孕妇的漏诊比例,并可以减少采取介入性产前诊断的孕妇比例。

2016 年原国家卫生和计划生育委员会办公厅《关于规范有序开展孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查

与诊断工作的通知(〔2016〕45 号文件)中将“预产期年龄 ≥ 35 岁”等确定为该技术的“慎用人群”。但国内戚庆伟等^[7]、朱宇宁等^[8]研究发现在高龄指征下,NIPT 用于常见染色体非整倍体检测时,其性能表现相对良好。郭芳芳等^[9]也探讨了 NIPT 在产前筛查异常指标中的应用价值,认为对于高龄、血清学筛查指标 MoM 值异常及 NT 增厚的孕妇,NIPT 表现出较好的筛查效能。在本研究中,高龄组 4 544 例孕妇中共确诊了 45 例染色体非整倍体,包括 21-三体 30 例、18-三体 4 例、13-三体 2 例、性染色体非整倍体 9 例。血清学指标 MoM 值异常目前尚未被纳为产前诊断的指征,本研究在血清学筛查异常组的 710 例孕妇中确诊了 2 例 45,X,如果该病例未行 NIPT,将会漏诊特纳综合征。故本研究结果支持 NIPT 有望成为血清学筛查 MoM 值异常孕妇检测的较好手段。

目前一些研究认为 NT ≥ 3.0 mm 为增厚,且 NT 值(2.5~3.0 mm)与染色体非整倍体的发生密切相关^[10]。多项研究认为,如果孕妇 NT 值为 3.0~3.5 mm 及 ≥ 3.5 mm 时,应推荐孕妇行产前诊断,行染色体微阵列分析,以排除可能的染色体及基因组异常^[10-11]。此外,有研究认为在微阵列和核型均未见异常的 NT 增厚病例中,可以考虑行全外显子组检测,以明确是否存在某些与 NT 增厚相关的基因突变^[12-13]。在本研究中,NT 异常组孕妇经检测发现 3 例 21-三体高风险、1 例 13-三体高风险和 2 例性染色体非整倍体高风险,其中 21-三体和 1 例性染色体异常(47,XXY)经产前诊断确诊。

对 5 450 例 NIPT 低风险孕妇的随访中,共发现 18 例异常胎儿,且多为超声结构异常。这提示对于 NIPT 提示低风险的人群,并不能忽视,因为其仍有发生结构畸形的风险,故仍有必要通过常规产检和三级彩色多普勒超声来进一步排除胎儿的发育异常,以尽量避免漏诊异常胎儿。这同时也再次提示 NIPT 筛查的目标疾病只能是常见的染色体非整倍体,并不能检出胎儿超声结构异常。

综上所述,本研究提示母血胎儿游离 DNA 检测技术在单纯高龄、血清学筛查指标 MoM 值异常、NT 异常 3 种人群中,对常见的染色体非整倍体检测效能良好,对性染色非整倍体的检出也有一定的价值。对于 NIPT 提示高风险的孕妇,必须行进一步的产前诊断,NIPT 不能作为终止妊娠的指征;对于 NIPT 提示低风险的孕妇,由于 NIPT 的目标疾病范围仅限于常见的染色体非整倍体,仍然需要告知孕妇进行后续的常规孕期产检和超声检查,以排除胎儿超声结构异常,尽量避免漏诊。

参考文献

[1] NORTON M E, JACOBSSON B, SWAMY G K, et al.

Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(17):1589-1597.

[2] CHAIPONGPUN N, WANAPIRAK C, SIRICHOTIY-AKUL S, et al. Performance of serum quad test in screening for fetal down syndrome in a large-scale unselected population in a developing country[J]. *Int J Public Health*, 2023, 68:1605441.

[3] 国家卫生计生委办公厅. 关于规范有序开展孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断工作的通知(国卫办妇幼发〔2016〕45 号)[EB/OL]. (2016-10-27)[2023-01-07]. <http://www.nhc.gov.cn/cms-search/xxgk/getManuscriptXxgk.htm?id=0e6fe5bac1664ebda8bc28ad0ed68389>.

[4] DEMKO Z, PRIGMORE B, BENN P. A critical evaluation of validation and clinical experience studies in non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18, and 13 and Monosomy X[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(16):4760.

[5] BIANCHI D W, PARKER R L, WENTWORTH J, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(9):799-808.

[6] JUDAH H, GIL M M, SYNGELAKI A, et al. Cell-free DNA testing of maternal blood in screening for trisomies in twin pregnancy: updated cohort study at 10—14 weeks and meta-analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2021, 58(2):178-189.

[7] 戚庆伟, 蒋宇林, 周希亚, 等. 6 584 例高龄孕妇妊娠中期羊水染色体核型分析结果[J]. *中华围产医学杂志*, 2013, 16(2):76-81.

[8] 朱宇宁, 吕时铭, 陈雁, 等. 12 841 例羊水染色体核型分析与分子技术应用漏诊风险分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(8):517-521.

[9] 郭芳芳, 杨洁霞, 齐一鸣, 等. 无创产前基因检测在产前筛查异常指标中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41(7):509-513.

[10] MAYA I, YACOBSON S, KAHANA S, et al. Cut-off value of nuchal translucency as indication for chromosomal microarray analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 50(3):332-335.

[11] GRANDE M, JANSEN F A, BLUMENFELD Y J, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 46(6):650-658.

[12] DI GIROLAMO R, RIZZO G, KHALIL A, et al. Whole exome sequencing in fetuses with isolated increased nuchal translucency: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2023, 36(1):2193285.

[13] MELLIS R, EBERHARDT R Y, HAMILTON S J, et al. Fetal exome sequencing for isolated increased nuchal translucency: should we be doing it[J]. *BJOG*, 2022, 129(1):52-61.