

DOI: 10.19538/j.fk2020090101

产前筛查——从血清学筛查到无创产前检测

戚庆伟, 边旭明

关键词: 染色体非整倍体; 血清学筛查; 无创产前检测**Keywords:** aneuploidy; serum screening; NIPT**中图分类号:** R714.5 **文献标志码:** C

产前筛查一般指的是对胎儿常见染色体非整倍体的筛查, 即 21-三体综合征、18-三体综合征、13-三体综合征, 不包括其他染色体非整倍体。

根据产前筛查原理的不同, 可将对常见胎儿染色体非整倍体的产前筛查分为 3 类: (1) 基于母血清生化指标的产前筛查, 简称母血清学筛查 (maternal serum screening, MSS)。 (2) 以胎盘游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 作为检测指标的产前筛查方法, 即无创产前检测 (non-invasive prenatal testing, NIPT)。 (3) 基于超声检查的产前筛查。 本文将对前两种产前筛查方法进行阐述。

1 母血清学筛查

MSS 的适用人群是 35 岁以下的低龄孕妇, 且不具有其他产前诊断指征。 其目标疾病是 21-三体综合征、18-三体综合征以及开放性神经管缺陷 (open neural tube defect, ONTD)。 MSS 是指通过定量测定孕妇血液中与妊娠有关的生化标志物浓度, 对胎儿患有常见染色体非整倍体和 ONTD 的风险进行筛查评估, 从而筛查出需要行产前诊断的高风险妊娠。

1.1 常用的筛查指标 早孕期筛查指标包括胎儿颈项透明层 (nuchal translucency, NT) 厚度、血清绒毛膜促性腺激素的游离 β 亚单位 (free β -human chorionic gonadotropin, free β -hCG)、妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy associated plasma protein A, PAPP-A)。

中孕期筛查指标包括血清甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP)、hCG 或 free β -hCG、游离雌三醇 (unconjugated estriol, uE₃)、抑制素 A (inhibin A, Inh A)。

1.2 常用母血清学筛查方案 (1) 二联筛查 (double test): 以 AFP、hCG 或 free β -hCG 做为筛查指标, 结合孕妇年龄等参数, 计算中孕期 (15~20 周) 胎儿罹患唐氏综合征风险的联合筛查方案。 (2) 三联筛查 (triple test): 以 AFP、hCG 或 free β -hCG、uE₃ 做为筛查指标, 结合孕妇年龄等参数, 计算

中孕期 (15~20 周) 胎儿罹患唐氏综合征风险的联合筛查方案。 (3) 四联筛查 (quadruple test): 以 AFP、hCG 或 free β -hCG、uE₃、Inh A 做为筛查指标, 结合孕妇年龄等参数, 计算中孕期 (15~20 周) 胎儿罹患唐氏综合征风险的联合筛查方案。 (4) 早孕期联合筛查 (combined test): 以血清 free β -hCG、PAPP-A、超声测量的胎儿 NT 厚度做为筛查指标, 结合孕妇年龄等参数, 计算早孕期 (11~13 周) 胎儿罹患唐氏综合征风险的联合筛查方案。

1.3 常用 MSS 模式 (1) 独立的序贯筛查 (independent sequential screening): 先行早孕期筛查并计算风险值, 对高危者直接行绒毛活检 (chorionic villus sampling, CVS), 低危者进一步行中孕期筛查, 依据风险计算结果决定是否进行产前诊断。 (2) 逐步的序贯筛查 (stepwise sequential screening): 先行早孕期筛查并计算风险值, 是否依据早孕期风险即进行产前诊断, 还是等待完成中孕期筛查, 结合早孕期筛查结果共同计算风险值之后再决定是否行产前诊断, 则由患者自行选择。 (3) 分层的序贯筛查 (contingent sequential screening): 先进行早孕期联合筛查, 对风险值 $> 1/60$ 者直接行 CVS; 对风险值 $< 1/1000$ 者继续随访至妊娠终止; 对风险值介于前两者之间者, 至中孕期完成全面的整合筛查后, 根据风险值再决定是否进行产前诊断。

1.4 MSS 模式的选择 对于早、中孕期各种不同筛查模式效率的评价方面的研究, 以 SURUSS^[1-2]、FASTER^[3] 以及 BUN^[4] 这几个多中心大样本前瞻性的临床研究最为重要。 SURUSS 研究纳入了 25 个筛查中心的 47 053 例筛查病例, 最终有 101 个胎儿被诊断为唐氏综合征。 FASTER 研究纳入了美国 15 个筛查中心的 38 033 例单胎妊娠病例, 最终有 117 个胎儿被诊断为唐氏综合征。 除此之外, 还有一些其他的荟萃分析研究^[5]。

中孕期三联筛查的检出率仅为 60%。 SURUSS 研究显示, 与三联筛查相比, 中孕期四联筛查的检出率虽然仅增加 7%, 但假阳性率却下降了 33%, 说明四联筛查可以使 1/3 的孕妇避免不必要的羊膜腔穿刺; FASTER 研究也显示了相同的结果。 SURUSS 研究结果显示, NT 用于早孕期产前筛查的 DR_s (即 5% 假阳性率下的检出率) 为 69%, 而 FPR_s

作者单位: 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院, 北京 100730

电子信箱: qiqingwei@163.com

(即85%检出率下的假阳性率)为20%;在BUN研究中,NT的DR_s为69%而FPR₈₅为15%;在FASTER研究中,NT的DR_s为68%而FPR₈₅为23%。这些研究结果说明,如果将NT作为独立的筛查指标,其检出率与中孕期血清筛查类似,但假阳性率则较高。也有一些其他的研究显示出不同的结果。造成这些研究结果存在较大差异的原因是由于超声测量NT的准确性受检测技术、设备、检测人员经验等多种因素影响,不仅测量结果难以实现精确化,测量的重复性也较差^[6]。同时,NT检测的中位数在不同的检测机构之间也存在差异,因此NT的测量需要完善的质量控制和监测。

早中孕期联合筛查的主要优势是阳性预测值(positive predictive value, PPV)较高,例如在SURUSS研究中PPV为1:6,这能够大大提高羊膜腔穿刺术的效率。但这一筛查模式的缺陷在于中孕期回访率不高,例如在SURUSS研究中仅为60%,一旦早孕期高危的孕妇在中孕期失访,这不但使得整个筛查无法完成,而且连早孕期干预的时机也丧失了。FASTER研究所提出的早中孕期序贯筛查模式的DR_s为95%。上述研究的结果认为,筛查效能最理想的筛查模式是早中孕期序贯筛查模式。如果筛查单位不能很好地完成NT检测,也可以选择单纯的血清学筛查模式。Knight等^[7]的研究得出,早中孕期血清学联合筛查的DR_s达88%。

2 无创产前检测

1997年香港中文大学Lo等^[8]首次报道在母血中含有胎儿源性的cfDNA片段,随着二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术的迅速进展,针对胎儿21、18和13-三体综合症的、基于母血浆中胎儿源性cfDNA的NIPT在2013年之后快速整合进入产前筛查体系,成为目前最有效、应用最广泛的产前筛查方法。

2.1 NIPT的临床适用性 综合近年来国外的相关文献,NIPT对于21-三体综合症的检出率为99.7%,假阳性率为0.94%;对于18-三体综合症的检出率为87.5%~100%,假阳性率为0.22%;对于13-三体综合症的检出率为40.0%~100%,假阳性率为0.25%^[9-10]。2016年7月,美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics, ACMG)在有关胎儿染色体非整倍体无创产前筛查的共识中明确指出,NIPT是目前最敏感的对于胎儿21、18、13-三体综合症的产前筛查技术手段,但不推荐将NIPT应用于其他染色体非整倍体的产前筛查^[11]。2016年我国国家卫生计生委组织制定的《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》(以下简称《技术规范》)也明确地将NIPT筛查目标疾病确定为胎儿21、18及13-三体综合征。

2.2 NIPT的慎用人群 作为一项产前筛查技术,NIPT不能替代产前诊断,NIPT结果异常的患者仍然需要进行产前遗传学诊断。我国的《技术规范》中将高龄(预产期年龄≥35岁)、血清学筛查结果为高风险、肥胖人群列为NIPT应

用的慎用人群,在具体的临床应用中,对上述人群的处理也具有一定的特殊性^[12]。

2.2.1 高龄孕妇 根据以往法律法规的有关规定,临床上应建议对预产期年龄≥35岁的孕妇进行产前诊断。随着NIPT技术的快速发展,这些法律法规的规定就存在一定程度上的争议。国内外的相关指南和技术规范都明确提出,对高龄孕妇可以进行NIPT^[11]。临床医生在提供检测前咨询时,应简单介绍我国有关法律法规的内容,阐明NIPT与羊膜腔穿刺术的性质以及各自的优势和局限性,在知情同意的基础上,由孕妇本人自愿选择,对于拒绝产前诊断者应有书面的知情同意签字。

2.2.2 MSS结果为高风险的孕妇 孕周计算的准确性直接影响MSS结果的准确性。对于MSS结果为高风险者,首先应核对孕周计算的准确性。对于孕周计算错误者,可行NIPT;对于孕周计算无误者,孕妇既可以选择NIPT,也可以选择直接进行羊膜腔穿刺术;对于拒绝进行产前诊断者,应有书面的知情同意签字。国外文献报道,当MSS结果为高风险而NIPT结果为低风险时,胎儿染色体异常的残余风险为2%^[13]。2016年美国妇产科医师学会/母胎医学会(ACOG/SMFM)的相关指南将“对MSS结果阳性的妇女不直接进行产前诊断而是进行NIPT,可能会漏诊某些非整倍体胎儿,并延误诊断和处理的时间”列为基于Ⅲ级证据的建议^[14]。

2.2.3 肥胖孕妇 由于肥胖孕妇外周血的循环游离DNA中的胎儿DNA含量(fetal fraction, FF)不足,可能会导致NIPT检测失败或出现假阴性的结果。FF是一个比值,指的是从孕妇外周血中的总游离DNA中能够分离出来的胎儿游离DNA的量,一般认为当FF高于4%时,才能达到足够的测序读长深度^[15]。FF与孕妇的体重和体重指数(body mass index, BMI)之间呈负相关。同时,孕妇体重的增加导致其血容量增加,进一步稀释胎儿源性cfDNA,从而导致FF下降^[15-17],使NIPT出现假阴性的结果。因此,国外相关指南明确建议肥胖孕妇直接使用传统筛查方法,而不是NIPT^[11]。我国的《技术规范》将孕妇肥胖定义为BMI≥40。临床上对于肥胖孕妇,应先计算其BMI,对于BMI≥40者,建议直接选择MSS。如果孕妇在被告知相关风险之后仍然坚决要求进行NIPT,则应有书面的知情同意签字。

2.3 NIPT的检测后咨询 作为一项筛查技术,NIPT同样存在假阳性和假阴性的风险。NIPT结果为低风险,并不排除胎儿除21、18、13-三体综合征以外的其他染色体异常的风险。对NIPT检测结果异常者,应由产前遗传咨询医师对其进行进一步的咨询,建议行产前诊断;对于拒绝行产前诊断者,应留下相关医疗文件。

NIPT异常结果,除了胎儿21、18、13-三体综合征高风险以外,还有NIPT检测失败、假阳性和假阴性以及非预期结果。

2.3.1 NIPT检测失败 所谓NIPT检测失败,是指由于某

些实验室因素导致NIPT的结果无法报告或无法解释。Gil等^[18]在其荟萃分析中总结NIPT检测失败的原因有3大类:(1)采血或标本运输过程中的问题,包括血量不足、溶血、贴错标签或延误将标本运送至实验室的时间。(2)FF低,一般指低于4%。(3)检测失败,包括无法提取cfDNA、扩增和测序。文献报道的NIPT失败率各不相同,一般在1%~8%之间,与检测平台有相关性,大规模平行测序相关的检测平台NIPT失败率为1.58%^[19]。NIPT失败最主要的原因是FF低^[20-21]。NIPT失败的后续处理较为棘手,究竟是换用MSS进行产前筛查,还是再次采血进行第2次NIPT检测,亦或是直接进行产前诊断,目前有关这方面的研究较少,国际和国内并无有关指南或专家共识进行阐述。Hui等^[21]在其最近的一篇综述中提出,临床医生不一定需要懂得NIPT失败的生物学和技术方面的原因,但需要明白如何进行后续处理。要综合考虑孕妇的孕周大小、其胎儿罹患染色体非整倍体的背景风险、孕妇有无其他风险因素以及孕妇本身的意愿来决定后续处理方案。

2.3.2 NIPT的假阳性和假阴性 导致NIPT假阳性结果的发生机制包括:双胎之一胚胎停育、母源性拷贝数变异(copy number variant, CNV)、母体恶性肿瘤、限制性胎盘嵌合体(confined placental mosaicism, CPM),其中最常见的是CPM。NIPT假阴性相对少见,其发生机制主要为FF不足以及胎儿嵌合体。临床上要尽量明确NIPT假阳性或假阴性的发生机制,并给予相应的遗传咨询意见。

2.3.3 非预期结果 所谓非预期结果,指的是除胎儿21、18、13-三体综合征以外的其他异常情况,其发生机制包括孕妇本身存在染色体异常或CNV、母体恶性肿瘤、胎儿或胎盘其他染色体异常等。例如,NIPT提示为性染色体非整倍体阳性高风险时,有8.6%的孕妇本身存在X染色体非整倍体^[22]。尽管目前对于不同的非预期结果的具体处理尚缺乏有关指导意见,但应建议孕妇行进一步的遗传咨询和产前诊断。

3 产前筛查方案的选择

应为所有孕妇提供筛查或诊断的选择。孕妇的选择受多种因素影响,其他影响因素包括就诊时的孕周、是否能进行可靠的NT测量、筛查敏感性与局限性、筛查费用、患病胎儿的远期照护、诊断胎儿异常时终止妊娠的选择等等。没有一项检测方法在所有检测特征上都能优于其他方法,检测中心也不是都能提供所有方法的检测。每一种方法都有其优势和局限性,医务人员应当熟悉现有的筛查和诊断方法,并进行规范的咨询,告知患者敏感性、阳性率和假阳性率、方法优劣及局限性;还应在非整倍体筛查咨询时告知患者羊膜腔穿刺、CVS的收益和风险。咨询后,患者可以拒绝筛查或诊断。

MSS的优点是价格比较低廉,相对于NIPT而言,最大的优势在于没有检测失败的风险,也不会出现非预期结

果。NIPT是目前最有效的胎儿非整倍体筛查的方法,国内外都对此制定了很多指南、共识或立场申明,但由于具体国情不同,国外的指南不一定适用于国内的实际情况。在具体临床工作中,要遵守国家各项法律法规,规范应用NIPT,强调孕妇的知情选择权,严格把控NIPT的适应证,做好NIPT的检测前和检测后咨询。对于有明确产前诊断指征的情况,不应采用NIPT;对于NIPT结果异常者,应建议进行产前诊断。

国内不同地区的医疗技术水平和经济发展水平均不一致,MSS和NIPT具有各自的优势和局限性,如何将这两种筛查方案有机地结合起来,目前还缺乏有关临床应用的可行性、可操作性、卫生经济学方面的客观评价。各地区或医疗机构应选择成本合理、实验室操作简便易行、质控全面、仪器设备和检测标本的可及性强、具备临床服务的可行性和可操作性、卫生经济学评判合理的筛查技术作为适宜技术,制定相应的实验室规范、实验室和临床沟通机制规范、临床质控规范,从而达到最好的筛查效果。

参考文献

- [1] Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS) [J]. *J Med Screen*, 2003, 10: 56-104.
- [2] Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. SURUSS in perspective [J]. *BJOG*, 2004, 111: 521-531.
- [3] Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353: 2001-2011.
- [4] Wapner R, Thom E, Simpson JL, et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18 [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1405-1413.
- [5] Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, et al. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 25: 221-226.
- [6] D'Alton M, Cleary-Goldman J. First and second trimester evaluation of risk for fetal aneuploidy: the secondary outcomes of the FASTER Trial [J]. *Semin Perinatol*, 2005, 29: 240-246.
- [7] Knight GJ, Palomaki GE, Neveux LM, et al. Integrated serum screening for Down syndrome in primary obstetric practice [J]. *Prenat Diagn*, 2005, 25: 1162-1167.
- [8] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet*, 1997, 350 (9076): 485-487.
- [9] Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: up-

- dated meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45 (3): 249-266.
- [10] 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 Obstet Gynecol*, 2017, 50 (3): 302-314.
- [11] 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.
- [12] 戚庆伟. 无创产前检测临床应用相关指南解读 [J]. *发育医学电子杂志*, 2019, 7 (3): 161-167.
- [13] Norton ME, Jelliffe-Pawłowski LL, Currier RJ. Chromosome abnormalities detected by current prenatal screening and noninvasive prenatal testing [J]. *Obstet Gynecol*, 2014, 124: 979-986.
- [14] Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, the Society for Maternal-Fetal Medicine. Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy [J]. *Obstet Gynecol*, 2016, 127 (5): e123-e137.
- [15] Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies [J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33 (7): 667-674.
- [16] Haghiac M, Vora NL, Basu S, et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2012, 20 (11): 2213-2219.
- [17] Wang E, Batey A, Struble C, et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma [J]. *Prenat Diagn*, 2013, 33 (7): 662-666.
- [18] Gil MM, Akolekar R, Quezada MS, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: Meta-analysis [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2014, 35 (3): 156-173.
- [19] Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: A review of an under-discussed phenomenon [J]. *Prenat Diagn*, 2016, 36 (5): 391-396.
- [20] Galeva S, Gil MM, 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 Obstet Gynecol*, 2019, 53 (6): 804-809.
- [21] Hui L, Bianchi DW. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know [J]. *Prenat Diagn*, 2020, 40 (2): 155-163.
- [22] Wang Y, Chen Y, Tian F, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing [J]. *Clin Chem*, 2014, 60: 251-259.

(2020-06-01 收稿)