

围产医学

DOI:10.11699/cyxb20131008

母血胎儿游离 DNA 用于无创产前诊断染色体异常疾病准确性的系统评价

何小玲,徐红兵

(重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016)

【摘要】目的:评价母血胎儿游离 DNA 无创产前诊断染色体异常方法的准确性。**方法:**对 Medline 数据库进行文献检索,关键词为全文检索“prenatal”和“aneuploidy”和“noninvasive”或“non-invasive”和“maternal”,对检索的文章用 QUADAS 工具筛选,对符合标准的文章进行全文分析。**结果:**4 篇研究文章符合 QUADAS 所设定的标准,21-三体综合征无创产前诊断 4 167 例,灵敏度为 100.00%,特异性为 99.30%;18-三体综合征无创产前诊断共 3 455 例灵敏度为 97.40%,特异性为 99.95%。**结论:**母血胎儿游离 DNA 无创产前诊断染色体异常方法具有高精度性。

【关键词】无创;产前诊断;染色体异常

【中国图书分类法分类号】R714.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-15

Accuracy of maternal serum free fetal DNA for prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities:a systematic review

HE Xiaoling, XU Hongbing

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To evaluate the accuracy of maternal serum free fetal DNA used for noninvasive prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities. **Methods:** Medline database was searched with keywords of ‘prenatal’ and ‘aneuploidy’ and ‘noninvasive’ or ‘non-invasive’ and ‘maternal’ by QUADAS tool, then the eligible full-texts were analyzed. **Results:** Four articles complied with the QUADAS standards. Noninvasive prenatal diagnosis was performed on 4 167 trisomy-21 syndrome cases, with sensitivity of 100.00% and specificity of 99.30%; non-invasive prenatal diagnosis was performed on 3 455 trisomy-18 syndrome cases, with sensitivity of 97.40% and specificity of 99.95%. **Conclusion:** Maternal serum fetal free DNA used for noninvasive prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities is of high accuracy

【Key words】noninvasive; prenatal diagnosis; chromosomal abnormalities

染色体异常是严重的可导致胎儿畸形、发育不全等疾病的疾病,出现概率约为 1:600~1:800^[1]。产前诊断始于 20 世纪 70 年代,目前检测流程为:首先通过血清学和超声影像方法判断孕妇是否为高危孕妇,即唐氏血清学筛查,高危孕妇再通过核型分析或荧光原位杂交(以下简称传统诊断方法)诊断胎儿是否为染色体异常^[2]。此方法面临的问题是唐氏筛查具有 5%的假阳性率^[3],而核型分析与荧光原位杂交均为有创诊断,造成多数高危孕妇承受绒毛

穿刺、脐带血穿刺、羊水穿刺等不必要的痛苦^[4]。

1997年 Lo 和 Chiu 等^[5]报道母血中存在胎儿游离 DNA,使无创诊断胎儿染色体异常成为可能,即仅抽取母血,通过对母血中胎儿游离 DNA 进行测序或 PCR 检测,即可诊断胎儿是否为染色体异常(以下简称无创诊断)。目前,通过游离胎儿 DNA 判断胎儿性别以诊断性别相关遗传性疾病已经成为临床常规方法^[6],而因母血中存在大量母亲自身游离 DNA 片段,判断染色体异常仍面临巨大的挑战^[7]。

本文通过分析母血游离胎儿 DNA 诊断染色体异常方法准确性相关文献,系统评价无创产前诊断的准确性,为今后大规模临床研究和临床应用提供循证医学论证。

作者介绍:何小玲,Email:694229094qq.com,

研究方向:围产期医学。

通信作者:徐红兵,Email:xhbyhr2008@sina.com。

基金项目:国家临床重点专科建设经费资助项目(编号:201101ckZD)。

1 方 法

1.1 检索标准

对 Medline 数据库进行检索,时间设定为 1997–2013 年,关键词设定为全文检索“prenatal”和“aneuploidy”和“noninvasive”或“non-invasive”和“maternal”,语言设定为英文。

1.2 入选标准

对所有检出文献筛选,标准为:①研究目的为判断利用母血血浆或血清中胎儿游离 DNA 诊断染色体异常疾病方法的准确性。②判断准确性过程必须与传统金标准核型分析、荧光原位杂交相对比。

1.3 文献选择

2 组独立的专家组根据入选标准阅读文献题目和摘要判断文献的相关性。意见一致的文献直接纳入本研究,意见不一致的由专家组阅读全文再一次判断。同一数据的多次发表仅选择最新发表纳入分析。

1.4 数据提取

所有纳入分析的文章必须包括无创诊断的准确性分析及与传统核型分析的同步比对分析。所有纳入分析的文章数据加以组合评价无创方法的灵敏性和特异性。置信区间为 95%。

2 结 果

2.1 文献选择

选择过程见图 1,通过关键词检索共检索到 160 篇文献,经过题目和摘要的筛选,筛选出 22 篇与无创产前诊断相关文献进入全文阅读挑选,其中 15 篇为新技术新方法发明相关文章,并未大规模判断无创产前诊断的准确性,因此排除,剩余的 7 篇文章中 3 篇分别由于未做金标准对照,非原始数据,非染色体异常疾病而被排除。最后 4 篇文章纳入分析范围。

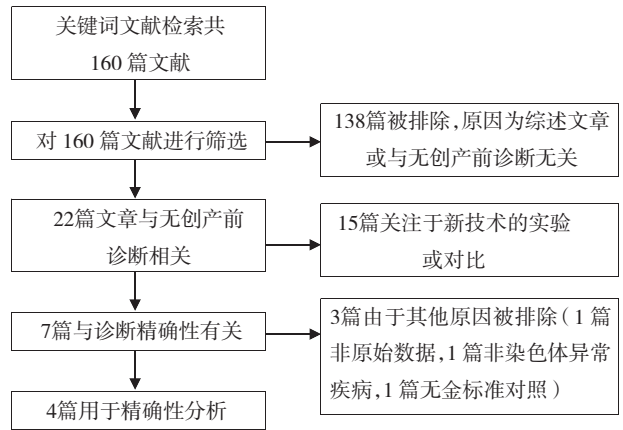


图 1 文献选择流程

Fig.1 Process of literature selection

2.2 结果分析

经过筛选与排除,共 4 篇文献数据纳入分析。Lau 等^[8]2012 年新近对 567 例高危孕妇进行无创产前诊断,诊断得出 8 例为 21-三体综合征,1 例为 18-三体综合征,经过核型分析证实无假阳性和假阴性,结果证明无创产前诊断的准确率为 100.00%,特异性为 100.00%,可避免孕妇由于假阳性而造成不必要的有创诊断痛苦。

Norton 等^[9]2012 年报道,实验设计为多中心群组研究,样本采用母血中游离胎儿 DNA,利用测序分析方法分析 21 号与 18 号染色体(判断是否为高风险)。结果 2 888 例孕妇中,81 例被检出为 21-三体综合征,其中 1 例为假阳性,检出率为 100.00%,假阳性率为 0.03%。在 38 例 18-三体综合征中,37 例被检出,其中,2 例为假阳性,检出率为 97.40%,假阳性率为 0.07%。

Chiu 等^[10]2011 年采用 8-plex 和 2-plex 两种方法分别对 753 个孕妇和 314 个孕妇进行分析,8-plex 的方法对 21-三体的检出率仅为 79.10%,特异性为 98.90%,而 2-plex 的方法检出率为 100.00%,特异性为 97.70%,文章结论为 2-plex 方法优于 8-plex,本文将 2-plex 方法纳入分析(表 1)。

表 1 21- 三体综合征无创产前诊断数据统计

Tab.1 Statistics of non-invasive prenatal diagnostic for trisomy-21 syndrome

参考文献	孕妇总数	实际 21- 三体 综合征例数	检出例数	假阳性例数	灵敏度	特异性	方法
Lau 2012 ^[8]	567	8	8	0	100.00%	100.00%	无创测序
Norton 2012 ^[9]	2 888	80	81	1	100.00%	99.97%	无创测序
Chiu 2011 ^[10]	232	86	87	1	100.00%	97.70%	无创测序
Ehrich 2011 ^[11]	480	39	40	1	100.00%	99.70%	无创测序
整合数据	4 167	213	216	3	100.00%	99.30%	

表 2 18- 三体综合征无创产期诊断数据统计

Tab.2 Statistics of non-invasive prenatal diagnostic for trisomy-18 syndrome

参考文献	孕妇总数	实际 18- 三体 综合征例数	检出例数	假阳性例数	灵敏度	特异性	方法
Lau 2012 ^[8]	567	1	1	0	100.00%	100.00%	无创测序
Norton 2012 ^[9]	2 888	38	37	2	97.40%	99.93%	无创测序
整合数据	3 455	39	38	2	97.40%	99.95%	

Ehrich 等^[11]于 2011 年对 480 例孕妇样本进行分析,其中 13 个由于样本不足和样本质量问题未完成实验,18 例样本基因组 DNA 质量未通过质控。共 449 例样本进行统计,39 例诊断为 21-三体综合征,通过核型分析验证,1 例为染色体异常但非 21-三体综合征。结果为灵敏度为 100.00%,特异性为 99.70%。

综合文献数据,无创测序诊断对 21-三体综合征的检测灵敏度为 100.00%,特异性为 99.30%。对 18-三体综合征的检测灵敏度为 97.40%,特异性为 99.95%(表 2)。

3 讨 论

胎儿畸形、胎儿发育不全等疾病的主要病因为染色体异常。目前结合孕妇年龄、产科病史、唐氏筛查及超声检查判断是否为高危孕妇,对这类人群进行核型分析/荧光免疫组化检测以明确。这些有创诊断方法的假阳性率^[3]使孕妇需承受穿刺等不必要的痛苦。

自 1997 年母血胎儿游离 DNA 的发现^[3],无创产前诊断染色体异常疾病成为可能。随着生物技术的发展,无创产前诊断技术逐渐为产科保健者、产前诊断专家及孕妇们所接受,其将来可能具有较好的临床应用前景。本文通过对 Medline 数据库相关文献的检索,得出结论无创产前诊断具有较高的灵敏度及特异性,但因其成本较高,国内尚缺乏大型前瞻性研究或病例对照研究来证实,且母血中存在大量母体自身游离 DNA 片段,因此,判断染色体异常仍面临巨大的挑战。

Verweij 等^[12]在 2011 年报道过无创测序产前诊断 21-三体综合征的准确性系统性分析,而由于测序技术的飞速发展和胎儿游离 DNA 分析技术的改进,此技术在 2012-2013 年得到迅猛发展,相对诊断领域拓展到 18-三体综合征和其他染色体异常遗传疾病,灵敏度和特异性也得到大幅度提高。然而,报道数字均为世界领先实验室的结果,在实际临床应用,其灵敏度和特异性会随各医院的科研水平和实验水平变化。另外,尽管在 2012 年后技术迅猛发展,21-三体综合征的诊断已非常成熟,2 个新近研究灵敏度均为 100%,特异性也为 100%和 99.97%,而 18-三体综合征仍为起步阶段,灵敏度和特异性均不够理想。由此可见,不同的染色体对应的技术难度不同,每一条染色体异常的诊断方法的成熟都需要一定时间摸索。

循证医学研究的意义在于对一个技术的历史研究数据综述并寻找可靠的证据对方法的可行性或下一步决策提供论证。系统评价对工作的开展提供了基础。然而,系统评价方法的缺点为其得出的结

论是依靠其他研究人员提供的数据综合得出,缺乏自身实践,因此对自身的决策仅能提供参考依据。

4 结 论

母血游离胎儿 DNA 用于无创产前诊断染色体异常疾病具有较高的灵敏度和特异性,该方法用于 21-三体综合征的产前诊断日趋成熟,而用于 18-三体综合征的产前诊断正在起步阶段。无创测序产前诊断技术的推广和普及仍需等待未来测序成本的下降。

参 考 文 献

- [1] Avent N D. Maternal plasma biomarkers for Down syndrome: present and future [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2013, 49(2): 145-152.
- [2] Qu X, Randhawa G, Friedman C, et al. A novel four-color fluorescence in situ hybridization assay for the detection of TMPRSS2 and ERG rearrangements in prostate cancer [J]. *Cancer Genet*, 2013, 206(1-2): 1-11.
- [3] Alldred S K, Deeks J J, Guo B, et al. Second trimester serum tests for Down's syndrome screening [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012. doi: 10.1002/14651858.CD009925 [Epub ahead of time].
- [4] Stumm M, Entezami M, Trunk N, et al. Noninvasive prenatal detection of chromosomal aneuploidies using different next generation sequencing strategies and algorithms [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2012, 32(6): 569-577.
- [5] Lo Y M, Chiu R W. Genomic analysis of fetal nucleic acids in maternal blood [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2012, 13: 285-306.
- [6] Liu H, Wu D, Li H, et al. Significance of detecting free DNA from maternal plasma for the diagnosis of fetal chromosomal aneuploidies [J]. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2012, 29(4): 435-438.
- [7] Simpson J L. Cell-free fetal DNA and maternal serum analytes for monitoring embryonic and fetal status [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(4): 1124-1134.
- [8] Lau T K, Chan M K, Salome Lo P S, et al. Clinical utility of noninvasive fetal trisomy (NIFTY) test—early experience [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012, 25(10): 1856-1859.
- [9] Norton M E, Brar H, Weiss J, et al. Non-invasive chromosomal evaluation (NICE) study: results of a multicenter, prospective, cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18 [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 207(2): 137.
- [10] Chiu R W, Akolekar R, Zheng Y W, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study [J]. *BMJ*, 2011, 342: c7401.
- [11] Ehrich M, Deciu C, Zwielfhofer T, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2011, 204(3): 205.
- [12] Verweij E J, van den Oever J M, De Boer M A, et al. Diagnostic accuracy of noninvasive detection of fetal trisomy 21 in maternal blood: a systematic review [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2012, 31(2): 81-86.

(责任编辑:冉明会)