

對非侵入性產前檢測目前狀況的較完整理解

陳明^{1,2}

¹ 彰化基督教醫院基因醫學部主任, 彰化, 台灣

² 台大基因醫學部兼任主治醫師, 台北, 台灣

自從 2011 年香港以及美國首先將母血中胎兒游離 DNA 針對胎兒染色體不整倍的檢測推入臨床以後，開啟了產前診斷的一個典範轉移，從此世界各國紛紛跟進，尤其以美國以及中國大陸兩個大國最為蓬勃，台灣也有不同的廠商引進包括陸商以及美商的多種產品，我們團隊在 2013 年正式也推出台灣本土的檢測平台，並在 2014 年發表演算法 GWNS(GENOME WIDE NORMALIZED SCORE)，在隔年獲得經濟部智慧財產局的專利。

美國的檢測一開始集中在幾家商業公司的控制，但到了去年，由於兩家廠商的互告侵權事件，美國法院裁定不可以整個檢測進行專利化，於是正式鬆綁了美國學術機構可以自行發展演算法，我們也在今年年初，拿到由美國病理醫師學院 (CAP) 認證的非侵入性產前檢測實驗室的資格。至於大陸，相關廠商如雨後春筍，價格越來越低，台灣的臨床醫師接受度也越來越高，但是因為欠缺明確的規範，商業化進入醫學檢測的結果，使得狀況有些混亂，主管機關於是希望進行先期的針對檢測實驗室的品質管制以及前端遺傳諮詢相關規範的研擬。

必須要注意的是，cfDNA 檢測，檢測的是來自胎盤的脫落 DNA 片段，並不完全代表胎兒的情況，在侷限性胎盤胎兒染色體不一致的情況下，也就是 CONFINED PLACENTAL MOSAICISM，有可能發生偽陽性。另外，在極罕見的情況下，母親患有尚未診斷出的潛在惡性腫瘤，其染色體不整倍的細胞，也會造成偽陽性。因此，黃金標準是必須進行侵入性的檢測例如羊膜穿刺或者絨毛採樣來進行確診。

另外也有廠商把 cfDNA 檢測的範圍，從染色體不整倍往微小缺失重複疾病甚至單基因疾病去擴張，也有一些不錯的論文發表，我們也發表過相關的文獻一篇，但因為陽性預測值 (POSITIVE PREDICTIVE VALUE) 受到疾病本身的發生率影響，針對例如極為罕見的 SMITH MAGENIS 症候群等疾病，陽性預測值可能是慘不忍睹的百分之十，這樣仍然增加了侵入性檢測的數量，所以學界目前並不支持這種做法，但因為臨床實際需求，我們團隊仍然有推出我們的檢測，但強調必須進行完整的遺傳諮詢。

另一個嚴重的問題是偽陰性，同樣的剛剛

通訊作者：陳明 醫師 (同步刊登於台灣遺傳諮詢學會刊創刊號)

電話：886-4-7238595 # 2321

地址：彰化市中華路 176 號 3F 基因醫學部 E-mail：
mingchenmd@gmail.com

提過的侷限性胎盤胎兒染色體不一致也會造成這種情形，這是 cfDNA based NIPT 最主要的限制，而其他影響胎兒 DNA 濃度的因素，例如母親 BMI 過高、週數太早，使用抗凝血劑 Clexane 以及多胞胎等等，都是檢測有可能不準的來源，必須向孕婦說明清楚。任何檢測都有侷限，這是第一線遺傳諮詢從業人員必須牢記住的事實。



生物醫學

BIOMEDICINE JOURNAL

游離胎兒 DNA 染色體篩檢假陽性—CPM 惹的禍

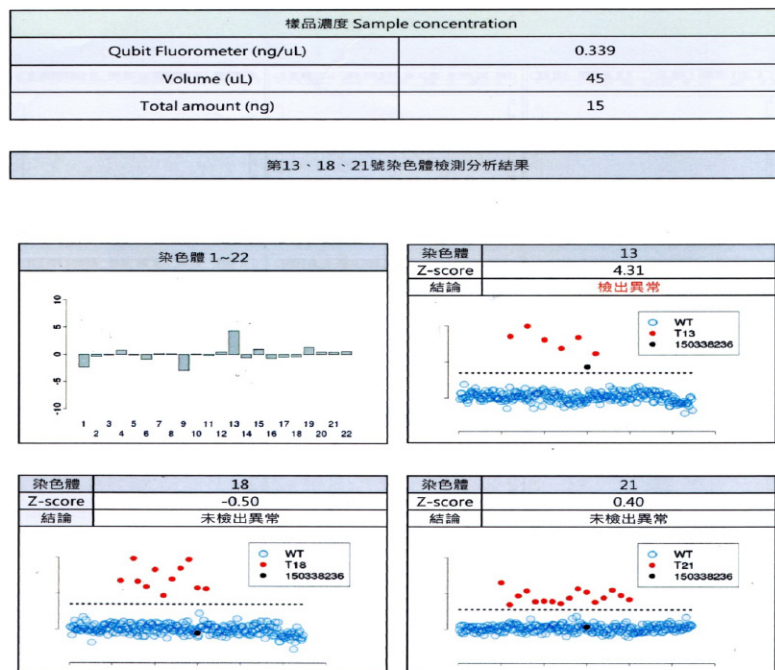
羅鳳菊¹

¹ 臺中榮民總醫院婦女醫學部遺傳諮詢師, 台中, 台北

游離胎兒 DNA 染色體篩檢 (以下簡稱 cfDNA 篩檢) 是目前常見於臨床應用染色體非整倍體疾病, 例如: 唐氏症、愛德華氏症、巴陶氏症等的篩檢, 檢測率幾乎與侵入性的羊膜腔穿刺術診斷方法一樣, 已能達到 99% 以上的水準, 是一種安全又精準的產前染色體篩檢方法¹。然而如此高的檢測率, 也有出現假陽性的可能, 而造成產前臨床諮詢的困擾。此個案是 cfDNA 篩檢造成假陽性, 一個極為常見的現

象——限制性胎盤嵌合體 (Confined Placental Mosaicism, CPM)。

個案孕婦 30 歲, 第一胎, 結婚多年未孕, 此次自然懷孕, 不想做有風險性的產檢, 家族無遺傳疾病史及癌症史, 於懷孕 19 週時選擇做非侵入性 cfDNA 篩檢。結果發現第 13 號染色體發現異常 (trisomy 13), 其他染色體無異常發現 (圖一)。告知個案及家屬篩檢報告的



圖一. 游離胎兒 DNA 染色體篩檢 (cfDNA 篩檢) 報告: 第 13 號染色體發現異常 (trisomy 13)

通訊作者: 羅鳳菊 遺傳諮詢師 (同步刊登於台灣遺傳諮詢學會刊創刊號)

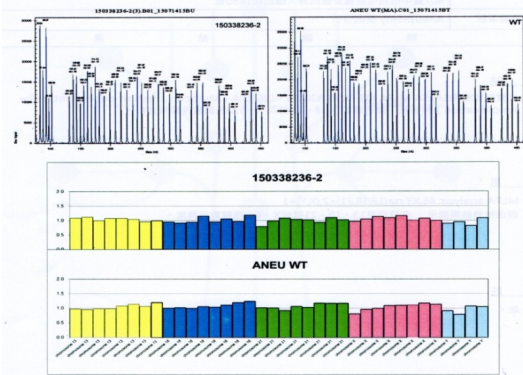
電話: 886-4-2359-2525 # 4436

地址: 407 臺中市西屯區臺灣大道四段 1650 號

E-mail: fclou@vghtc.gov.tw

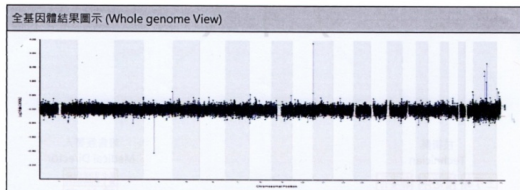
意義、可能偽陽性原因。個案焦慮，但充分了解病情及風險評估後，個案選擇做羊膜腔穿刺術來確認。羊水檢體進行 MLPA、aCGH 及染色體核型檢查，結果均無異常發現 (圖二)，產前診斷為 CPM，即胎盤染色體異常但胎兒

(a) MLPA

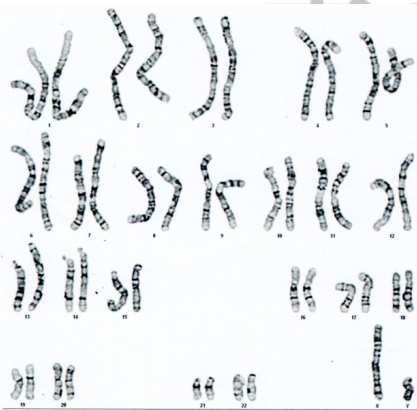


(b) aCGH

| | |
|-----------------------------|---------------|
| 影像品質 | |
| Date of Scan | 2015-07-17 |
| SD Autosome/Robust | 0.16/0.15 |
| %Include Clones | 100.00 |
| Mean Spot Amplitude Ch1/Ch2 | 459.96/585.74 |
| SBR Ch1/Ch2 | 14.75/9.47 |
| DLR Raw/Fused | 0.23/0.21 |



(c) Karyotype



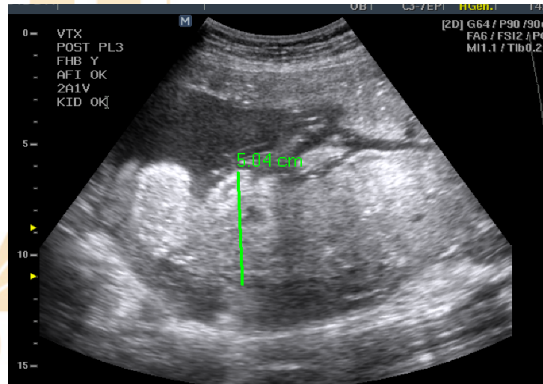
圖二 . 胎兒羊水檢體確認 : (a)MLPA、(b)aCGH、(c) Karyotype 報告：結果均無異常發現

染色體正常。個案懷孕期間高層次超音波及後續追蹤，並無明顯異常，除胎盤稍厚外 (圖四)。個案於 39 週自然生產，胎兒出生體重 2950g，

Pregnant 22+6 weeks



Pregnant 35+2 weeks

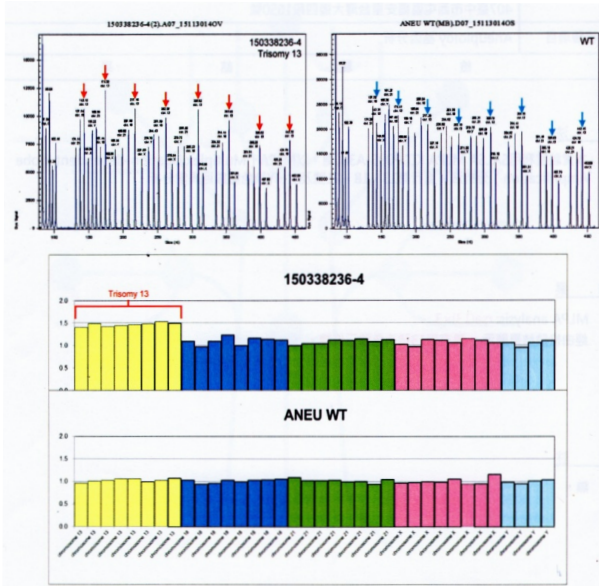


圖三 . 胎兒超音波：無明顯異常

新生兒外觀沒發現不正常。產後進一步做胎盤 MLPA 及臍帶血染色體檢查，結果胎盤 MLPA 報告為 trisomy 13、臍帶血染色體核型則為 46,XY(圖四)。因此，此個案明顯是屬於 CPM 所引起的假陽性。

cfDNA 篩檢中的細胞游離胎兒 DNA 片段主要是來自胎盤細胞。懷孕初期，胎盤一形成，絨毛膜母細胞不斷代謝凋亡，DNA 片段也不斷地流入孕婦血液循環²。懷孕 10 週，孕婦血漿中細胞游離 DNA 片段的胎兒比值平均為 10.2%，一個準確的 cfDNA 篩檢，孕婦血漿中

(a) 胎盤 MLPA



(b) 臍帶血 karyotype



圖四.(a)胎盤及(b)臍帶血染色體確認報告:(a)胎盤 MLPA 報告為 trisomy 13、(b)臍帶血染色體核型為 46,XY

游離胎兒 DNA 染色體篩檢 (以下簡稱 cfDNA 篩檢) 是目前常見於臨床應用染色體非整倍體疾病,例如:唐氏症、愛德華氏症、巴陶氏症等的篩檢,檢測率幾乎與侵入性的羊膜腔穿刺術診斷方法一樣,已能達到 99% 以上的水準,是一種安全又精準的產前染色體篩檢方法¹。然而如此高的檢測率,也有出現假陽性的可能,而造成產前臨床諮詢的困擾。此個案是 cfDNA 篩檢

造成假陽性,一個極為常見的現象——限制性胎盤嵌合體 (Confined Placental Mosaicism, CPM)。

何謂 CPM? 是指胎盤內同時存有兩種或多種細胞體系,其染色體核型異常,但胎兒染色體核型則正常。正常情況下,胎兒與胎盤染色體應呈現相同組合,但在早期懷孕絨毛檢體中 CPM 的發生率為 1%~2%⁵。CPM 中最常見的非整倍體染色體包括 2、7、9、15、16 和 22 號染色體⁶。CPM 發生可能造成胎兒生長遲滯 (intrauterine growth restriction, IUGR)、胎死腹中 (intrauterine fetal demise, IUID) 甚或先天性異常⁷。cfDNA 篩檢所檢測的母體周邊血中的胎兒游離 DNA(cfDNA),並非來自胎兒,而是幾乎全部源於胎盤滋養層細胞 (cytotrophoblasts),所以當胎盤細胞染色體核型異常,則會影響 cfDNA 篩檢結果的準確性,產生了 CPM。有文獻顯示,cfDNA 篩檢結果除了 21、18、13 非整倍體異常與 CPM 有關外,其它染色體非整倍體異常與 CPM 也有著密切關係^{8,9}。可知 CPM 是造成 cfDNA 篩檢結果出現假陽性的一個極為常見因素^{10,11}。

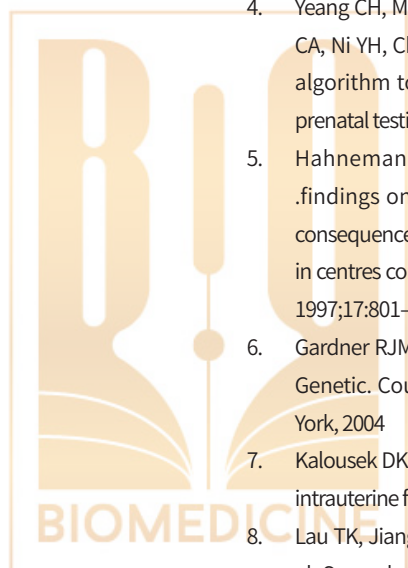
cfDNA 篩檢已逐漸成為產前染色體篩檢的重要方法之一,但其產生假陽性及假陰性的結果,在產前遺傳諮詢上,造成很大的困擾及倫理議題¹²,所以 cfDNA 篩檢的檢測諮詢倫理,是遺傳諮詢師需注意的:1. 測前諮詢 - 了解個案的家族史及疾病史,說明檢測注意事項及限制性,確認個案已充分了解檢測內容。2. 測後諮詢 - 解釋報告意義,若篩檢結果陽性,其結果可能出現假陽性如 CPM,需進一步說明原因並進行超音波追蹤及診斷性確認。3. 篩檢結

果為假陽性 CPM，需注意有胎兒 trisomy 13 mosaicism 及 UPD 的機率。

總之，CPM 是引起非侵入性產前篩檢結果假陽性的重要常見原因，因此當 cfDNA 檢測結果為高風險或者陽性時，需進一步羊水或臍帶血染色體核型分析以確認診斷，此外，產後臍帶血與胎盤組織再次確認也是需要的。

參考文獻

1. Song Y, Liu C, Qi H, Zhang Y, Bian X, Liu J. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies. by massively parallel sequencing in a prospective. Chinese population. *Prenat Diagn* 2013;33:700–6.
2. Huppertz B, Kingdom JC. Apoptosis in the trophoblast-role of apoptosis in placental morphogenesis. *J Soc Gynecol Invest* 2004;11:353–62
3. Diana W. Bianchi and Louise Wilkins-Haug. Integration of Noninvasive DNA Testing for Aneuploidy into Prenatal Care: What Has Happened Since the Rubber Met the Road *Clinical Chemistry*? 2014, 60:1, 78–87.
4. Yeang CH, Ma GC, Hsu HW, Lin YS, Chang SM, Cheng PJ, Chen CA, Ni YH, Chen M. Genome-wide normalized score: a novel algorithm to detect fetal trisomy .21 during non-invasive prenatal testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 44: 25–30.
5. Hahnemann JM, Vejerslev LO. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling. (CVS)– diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1986–1992. *Prenat Diagn.* 1997;17:801–20.
6. Gardner RJM, Sutherland GR. *Chromosome Abnormality and Genetic Counseling*, 3rd edn. Oxford University Press: New York, 2004
7. Kalousek DK. Current topic: confined placental mosaicism and intrauterine fetal development. *Placenta* 1994; 15: 219–230.
8. Lau TK, Jiang FM, Stevenson RJ, Lo TK, Chan LW, Chan MK, et al. Secondary findings from noninvasive prenatal testing for common fetal aneuploidies by whole genome sequencing as a clinical service. *Prenat Diagn* 2013;33:602–8.
9. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:16266–71.
10. Hall AL, Drendel HM, Verbrugge JL, Reese AM, Schumacher KL, Griffith CB, et al. Positive cell-free fetal DNA testing for trisomy 13 reveals confined placental mosaicism. *Genet Med* 2013;15:729–32.
11. Pan M, Li FT, Li Y, Jiang FM, Li DZ, Lau TK, et al. Discordant results between fetal karyotyping and non-invasive prenatal testing by maternal plasma sequencing in a case of uniparental disomy 21 due to trisomic rescue. *Prenat Diagn* 2013;33: 598–601
12. H. Choi, T. K. Lau, F. M. Jiang, M. K. Chan, H. Y. Zhang, P. S. S. Lo, F. Chen, L. Zhang and W. Wang. Fetal aneuploidy screening by maternal plasma DNA sequencing: ‘False positive’ due to confined placental mosaicism. *Prenatal Diagnosis* 2013, 33, 198–200.



生物醫學
BIOMEDICINE JOURNAL

新興產前遺傳檢測暨遺傳諮詢特輯

cfDNA 篩檢個案分享及諮詢討論 — 家族性染色體變異之影響

黃品嘉¹

¹ 訊聯集團 創源生物科技股份有限公司遺傳諮詢師, 台北, 台灣

壹、個案分享

檢測實驗室收到一個欲進行游離 DNA 胎兒染色體異常母血篩檢 (cell-free DNA screening for fetal aneuploidy, 以下簡稱 cfDNA 篩檢) 的血液檢體。此檢體屬於一位高齡的孕婦, 個案於懷孕第 15 週時抽血以 cfDNA 技術針對 Trisomy 21、Trisomy 18、及 Trisomy 13 做產前檢測。個案檢測同意書上所填寫的相關懷孕史資訊, 包括: 單胞胎妊娠、未進行其他類型的產前母血染色體篩檢 (如第一孕期唐氏症篩檢或其他)、沒有產前超音波異常、曾懷有染色體異常之妊娠 (未標註異常細節)。

此個案的檢體經實驗室標準流程進行, 其初檢及複檢之分析結果前後一致。檢體中所偵測到來自第 21 號染色體的 cfDNA 量, 遠超過檢測之正常標準範圍。cfDNA 篩檢報告因而出具為第 21 號染色體異常, 個案之胎兒患有唐氏症的機率為高風險。

實驗室聯絡個案的送檢院所, 進行通報

並與臨床醫護人員說明及討論: 依據 cfDNA 篩檢結果, 個案之胎兒患有 Trisomy 21 的風險很高, 建議進行羊膜穿刺為胎兒做產前遺傳診斷。由於 cfDNA 篩檢為篩檢性質之檢測, 有時該結果和胎兒實際染色體組成並不一致, 例如胎兒染色體為正常, 但胎盤或母體本身為染色體異常, 即可能出現偽陽性。

個案於 22 週時進行羊膜穿刺以做羊水染色體檢測。其羊水染色體檢測結果為 46,XX,?inv dup(21)(q11.2q21), 顯示胎兒共有 46 條染色體, 並無同源染色體不分離型的 Trisomy 21 (non-disjunction Trisomy 21) 或轉位型式的 Trisomy 21 (translocation Trisomy 21)。然而, 其中一條第 21 號染色體, 在長臂 q11.2 至 q21 區有片段擴增, 且疑似同時倒轉。因此變異可能為家族性遺傳, 遂建議進行父母血液染色體檢測再評估。

在個案後續諮詢的過程中, 另獲知個案於兩年前曾懷一胎, 當時在別家醫院產檢時, 即因高齡進行羊水染色體檢測。該羊水染色體結果即發現第 21 號染色體於 q11.2 至 q21 區域

作者: 黃品嘉 遺傳諮詢師 (同步刊登於台灣遺傳諮詢學會刊創刊號)
電話: 886-2-2795-1777
地址: 114 台北市內湖區新湖一路 36 巷 28 號
E-mail: AnyaHuang@gga.asia

有片段擴增，因此後續再加做了羊水晶片檢測及父母血液染色體檢測以輔助評估此異常之臨床重要性。前胎的羊水晶片結果為 arr[hg19]21q11.2q21.3(15170361-29447105)，顯示於第 21 號染色體 q11.2-q21.3 處處有約 14.3Mb 之擴增。而父母血液染色體檢測顯示胎兒的擴增遺傳自母親。因為媽媽本身並無明顯生長、發展或智能方面之異常，家屬當時選擇繼續懷孕，並生下健康的孩子。

此次懷孕再度發現胎兒有相同第 21 號染色體片段擴增，因個案本身和其上一胎也都有相同染色體變化，且皆無臨床重要發展或智能異常，因此家屬再次決定繼續妊娠。

(第 21 號染色體片段擴增之判讀分析、及基因變化對個體臨床表徵之影響研討，非此篇個案分享欲討論之之面向，故不於此做深入探討。)

貳、諮詢討論

此個案情況突顯了許多和 cfDNA 篩檢相關諮詢討論的重點，包括檢測的限制、後續確診的重要性、臨床個人史及家族史對檢測選擇及結果的影響。

1. cfDNA 篩檢所分析之血液游離 DNA 片段，主要來源為母體細胞 (大部分) 及胎盤細胞 (少部分)。故 cfDNA 篩檢之檢測結果會受此兩來源細胞之染色體組成所影響。^{1,2}
2. 若 cfDNA 篩檢結果異常 / 高風險，建議後續進行產前遺傳診斷，如羊水染色體檢測，以

確診胎兒染色體狀況。^{1,2}

* 如果此個案收到高風險 cfDNA 篩檢結果後，誤認為 cfDNA 篩檢為確診式診斷檢測，有可能因此認定胎兒必定患有唐氏症，而未進一步確診便直接進行妊娠引產。

3. 檢測前的遺傳諮詢，需包括家族史及其他臨床史之綜合評估，以判斷 cfDNA 篩檢是否是對個案最合適的產前染色體檢測選擇。

* 以此個案為例，若於檢測前進行遺傳諮詢時，個案便告知本身帶有遺傳性第 21 號染色體之片段擴增，由於此家族史可能影響 cfDNA 篩檢對胎兒有唐氏症風險的計算，則也許 cfDNA 篩檢對此個案並非是最合適的檢測。³ 其他產前染色體檢測，如羊水染色體，能提供此個案更直接更準確的答案。

i. 因為母親傳遞家族性擴增給下一代的機率高達 50%，若胎兒確實遺傳了此擴增，可能會影響 cfDNA 篩檢的數據分析，而誤判胎兒患有唐氏症的機率。

ii. 因為血液中的 cfDNA 主要來自母體本身，母體本身的第 21 號染色體片段若有部分擴增，亦會改變檢測數據，可能進而影響胎兒的風險計算。

4. 若此妊娠為此孕婦個案的第一胎，家屬第一次面對家族性染色體遺傳變異，除了要思考染色體變異可能對胎兒造成的影響外，孕婦本人還要面對偶然發現自己帶有染色體變異的消息。這樣一個訊息亦可能對孕婦本身的心理、生理、醫療照護、保險計劃等帶來莫大的衝擊，這也是醫病諮詢上需要考量的層面。

近幾年新興且快速發展的 cfDNA 篩檢有許多傳統血清染色體篩檢比不上的優點。然而，如同每一種基因檢測，cfDNA 篩檢仍然有其檢測的風險及限制。因為不清楚檢測原理和限制，而造成檢測結果錯誤解讀、或進行不適合的檢測，可能會拖延獲得重要胎兒資訊的時間。這除了可能造成家屬不必要的焦慮外，有時也可能造成無可逆轉的妊娠結果。檢測前及檢測後的遺傳諮詢很重要，其目的是讓受檢個案能更了解檢測的完整面貌，正確地理解檢測所能及所不能提供的資訊，以做最符合他們自身狀況及需求的知情選擇。

參考文獻

1. Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, and the Society for Maternal-Fetal Medicine. (2016). Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol*, 127(5):e123-37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406.
2. Committee on Genetics Society of Maternal-Fetal Medicine. (2015). Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol*, 126(3):e31-7. doi: 10.1097/AOG.0000000000001051.
3. Snyder MW, Simmons LE, Kitzman JO, Coe BP, Henson JM, Daza RM, Gammill HS. (2015). Copy-number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results. *N Engl J Med*, 372(17):1639-45. doi: 10.1056/NEJMoa1408408.



生物醫學
BIOMEDICINE JOURNAL

cfDNA 篩檢個案討論與經驗分享

郭美金¹

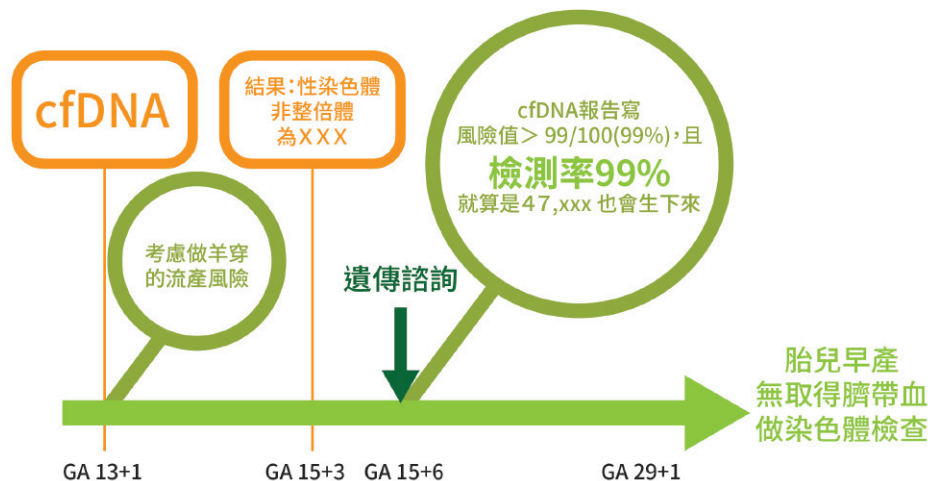
¹ 奇美醫院小兒遺傳科個案管理師, 台南, 台灣

筆者主要服務於小兒遺傳科, 雖僅十五年服務資歷, 但看過形形色色的求診個案及家屬, 希冀藉此 cfDNA 篩檢個案經驗分享能讓讀者了解遺傳檢測諮詢的應注意事項。

近年來, 越來越多未來的爸爸媽媽經由自費產檢項目 (高層次超音波、染色體晶片.. 等) 看到胎兒可能正常變異或異常情形來諮詢, 有時候家長收集三科, 婦產科的遺傳專家、或高層次超音波專家, 也想聽聽小兒遺傳科專家的意見; 所以遺傳諮詢門診前, 美金需先做的功課是打電話給家屬, 了解其訴求, 告知依其諮詢需求需攜帶文件 (相關

報告如羊水染色體報告、染色體晶片報告、基因報告或 cfDNA 檢測報告等), 安排哪個時段為其服務。

所以事先了解個案做過哪些檢測, 報告詳細結果 (最好有正式紙本資料), 哪些醫師有說過什麼診斷, 家族史, 家屬的想法等等, 是美金覺得是在門診前可先服務個案的。如果有些檢測如果媽媽產前有做, 小朋友就不用多挨一針 (或 N 針) 做同樣的檢查, 醫師可往其他面向再思考可能性, 避免重複等待, 以及增加家屬的擔心。



圖一. 遺傳諮詢過程

通訊作者: 郭美金 遺傳諮詢師 (同步刊登於台灣遺傳諮詢學會刊創刊號)
電話: 886-6-2812-811 # 53907
地址: 710 台南市永康區中華路 901 號
E-mail: iamrae1@gmail.com

在此要跟大家分享一個 cfDNA 篩檢的案例：
33 歲的孕婦小金因為游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢 (cfDNA) 報告異常來到遺傳諮詢門診諮詢。

遺傳諮詢過程：孕婦小金今年 33 歲，第二胎懷孕，想要確定胎兒染色體狀況，但又怕羊膜穿刺有流產風險，所以懷孕 13 週時做了 cfDNA 篩檢。

15 週時，得知檢測結果顯示，性染色體非整倍體為 XXX，建議接受遺傳諮詢及進一步檢查確認。

婦產科醫師欲安排羊膜穿刺做進一步確認，但個案及先生怕流產風險，仍不想做羊膜穿刺，故轉介至遺傳諮詢門診。

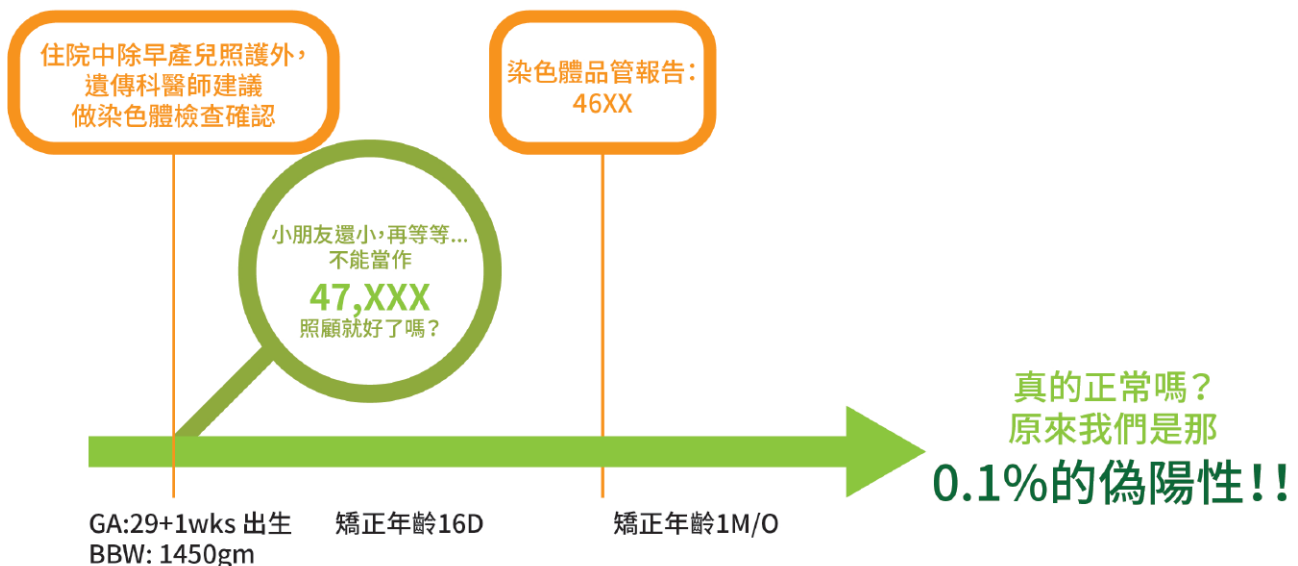
遺傳諮詢師諮詢 cfDNA 篩檢乃是篩檢性質，會有偽陽性情形，這項檢驗還無法取

代羊膜穿刺成為診斷方法，所以要確認胎兒狀態還是要經由羊水染色體檢查，建議進一步進行羊膜穿刺；家屬認為報告顯示風險值 >99/100(99%)，且覺得 cfDNA 檢測率 99%，她就是這樣的情形了，且就算胎兒是 47,XXX 也會生下來，堅持不做羊膜穿刺。

遺傳諮詢師諮詢後建議生產時做臍帶血的染色體檢查以確定胎兒染色體狀況，但由於早產，故無取得臍帶血。

早產住院期間，遺傳科醫師建議做染色體檢查，但小金覺得小朋友太小了，不想抽血做檢驗，仍堅持把她當作 47,XXX 看待。遺傳諮詢師後續追蹤小朋友矯正年齡 1 個月大時，做了血液染色體檢查，確認小朋友染色體無異常。

遺傳諮詢師跟小金及先生除解釋染色體報告外，建議說下一胎若也做 cfDNA 篩檢異常時，還是須進一步做羊膜穿刺來確診。



圖二. 後續諮詢狀況

由於 cfDNA 篩檢應用在 13,18,21 染色體三倍體的檢測率約 99%，故 cfDNA 篩檢的宣傳 DM 都寫檢出率 >99%，偽陽性 <0.1%，造成個案先入為主，認為這就是很準確的檢測工具，直接想把胎兒當作 47,XXX 照護。基本上，需要跟家長澄清的是目前 cfDNA 篩檢性染色體非整倍體的陽性偵測率 (Positive Predictive Value) 僅 55.6%，cfDNA 篩檢性染色體異常之準確性現階段仍須待更多的實證資料來驗證。並且，以基因檢測作為胎兒性別選擇是被禁止的，以性染體變異為理由來選擇終止妊娠也有醫學倫理上的爭議。

今天很幸運的是胎兒後來有出生，經由染色體檢查確定其為正常，只是讓小金及先生擔心了好幾個月；換方面想，要是有人經由 cfDNA 篩檢報告，即去引產，這樣不是很遺憾嗎？

現在的產檢技術越來越先進，但可能是人員說明不足，或是家屬吸收不良，常會讓家屬有 [我花了這麼多錢，為什麼還要再花一筆錢去做另外的檢查？]，或者是 [這個檢查檢測率這麼高，我為什麼要冒著流產的風險再去做另一個檢查？] 的感覺。

在臨床上還會遇到的情形是好不容應適應了家屬所說的價錢對應到的是哪種方案，囊括那些檢驗，過不久可能又有新商品的推出；有些家屬因為信賴專家，就看到一些雜誌或網路文章專家推薦，媽媽部落客大力推薦，就去做了 cfDNA 檢測，但做了之後，看到結果陽性、高風險，就開始想到小朋友的去留、媽媽對不起你之類的，但在之後做了羊膜穿刺，就看到

網誌寫 [原來我是第一例...]，看到這裡，美金就會想如果有一個說明的準則，人員有專業的訓練，經過詳細的說明，家屬再做檢測，相信就算不幸有異常結果，家屬還是會願意再做羊膜穿刺確認及來遺傳諮詢，中間還會這麼恐慌嗎？相信還是會，但至少情緒不會這麼低落、絕望。

若是性別染色體異常個案，雖然家屬都能表示可接受，但若是確認為偽陽性，家屬不用一直擔心因性染色體異常之後可能有學習障礙等狀況，或者出現其他狀況，把它歸類於性染色體異常，而沒有去深究其他可能的情況。

在遺傳諮詢這條路上，大家一起努力，定期案例經驗分享及討論是很不錯的方式，遺傳諮詢包含太多面向，每次聽到不同面相來討論，美金除深深覺得學習的不足，更覺得大家的資源及經驗都是可互通的，有台灣遺傳諮詢學會期刊的誕生，有時候不便到遠地參加會議，就有另外學習的管道了。

游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢 指引及諮詢參考手冊

林秀娟¹

¹ 奇美醫院講座教授兼任遺傳諮詢中心主任, 台南, 台灣

壹、前言

遺傳檢驗新科技快速發展，在台灣許多產前檢驗之新項目也正蓬勃發展；例如游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢 (cfDNA screening for fetal aneuploidy, 以下簡稱 cfDNA 篩檢)、羊水晶片檢測、胚胎著床前基因診斷等。目前這些檢驗項目價格昂貴且尚無政府補助，然而最重要的問題為遺傳諮詢的挑戰。因為新興遺傳檢驗技術雖然可以更多更快地檢測出來，但是在產前時期往往難以確實預知胎兒出生後之結果。尤其面臨是否終止妊娠之重大決定時，不僅諮詢困難，所衍生的醫學倫理及社會法律等問題更是複雜，可見這是值得重視的議題。

生醫科技的新發展與應用，應在鼓勵技術及經濟發展和確保品質以保障民眾權益之間，求取平衡。其前提是應讓醫療人員和民眾能獲得更多的資訊，讓民眾在充分了解的狀態下，能做出最符合自身需要的選擇。醫療人員及民眾普遍希望能有官方或相關專家學者可提供衛教資料供諮詢所用，另外針對檢驗品質，應有品質保證措施。因此，亟需建立專家共識制定

指引，對於提供服務之人員應藉由繼續教育提升的專業知能，對於民眾也應推廣衛生教育及科技風險溝通。此外，政府基於保護民眾權益的立場，應對於檢驗及服務品質有所規範，確保醫療品質以保障民眾權益，使孕期健康照護更為周延。

本計畫乃配合國家生技發展方向，藉由衛生福利部與科技部合作，由科技部委託辦理，進行新興產前遺傳篩檢議題研究；聚集產官學各方專家代表，討論改進由篩檢、遺傳諮詢、確診等作業；為發展臨床指引，邀請國內相關領域專家成立專家委員會，並寄發 cfDNA 篩檢指引建議問卷調查給各領域專家及相關醫學會（人類遺傳學會、母胎醫學會、婦產科醫學會、醫用超音波學會、周產期醫學會、遺傳諮詢學會等），廣徵意見。感謝各專家及學會之支持，共回收 27 份專家問卷，並召開 3 次專家諮詢會議，討論確認指引及建議。目前的內容是根據現有文獻資料、國內現況以及專家委員會討論後，所做出的綜合建議。隨著新技術的進步，日後若有更多更新的發展，亦須隨之修訂。

通訊作者：林秀娟 講座教授 (同步刊登於台灣遺傳諮詢學會刊創刊號)
電話：886-6-281-2811

地址：710 台南市永康區中華路 901 號

貳、指引

(一) 產前遺傳篩檢原則性規範

1. 產前遺傳篩檢應僅限與胎兒健康有直接相關的項目。
2. 產前遺傳篩檢不得以直銷顧客 Direct-to-Consumer(DTC) 之模式進行，對於個案是否適合進行檢測，需由醫師予以專業判定。
3. 為保證檢驗品質，產前遺傳篩檢之檢驗單位須為評核通過之醫事檢驗機構，並應定期主動揭露其檢測技術的穩定性及分析結果之可信度，其公開之宣導內容須符合醫療法之規定。

(二) 產前遺傳檢測諮詢

1. 由於基因資訊的解讀影響重大，產前遺傳檢測前後須提供諮詢，且唯有在有效告知後同意的情形下始得為之；並依檢測結果所需，接受專業遺傳諮詢。
2. 應該和個案討論各種產前遺傳性篩檢或診斷的風險、利益和抉擇，及不進行任何檢測的選擇。
3. 孕婦知情後有權利拒絕接受所有的產前遺傳性篩檢或診斷性檢查。

(三) 游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢

(以下簡稱 cfDNA 篩檢) 篩檢原則

1. 雖然無論個人風險狀況為何，所有個案都可選擇 cfDNA 篩檢，但選擇時應先了解這種篩檢方式的限制和益處，以及是否還有其他篩檢或診斷方式。
2. 個案應被告知即便 cfDNA 篩檢結果為陰性，並不能確保胎兒無異常。
3. 不能僅以 cfDNA 篩檢結果做為生育決策 (包括終止懷孕) 之依據。

4. 無論是否選擇 cfDNA 篩檢，均應提供孕婦做第一孕期超音波檢查。
5. 對於 cfDNA 篩檢結果陽性者，由於 cfDNA 篩檢結果可能出現偽陽性，且為了解染色體異常種類，以便提供爾後再發率之諮詢，應建議進行診斷性檢查。
6. cfDNA 篩檢結果若是無法提供報告、不確定或無法解釋時，染色體異常的風險可能會增加，應該進一步接受遺傳諮詢並進行完整超音波檢查及診斷性檢查。
7. 若超音波檢查發現胎兒有構造異常，應優先進行診斷性檢查而非 cfDNA 篩檢。
8. 母血唐氏症篩檢結果風險 $> 1:10$ 或是頸部透明帶 $> 3.5\text{mm}$ 者，應優先進行診斷性檢查而非 cfDNA 篩檢。

(四) cfDNA 篩檢之限制

1. 一般而言 cfDNA 篩檢對於第 13 和 18 號染色體之三體症篩檢較不如第 21 號染色體之三體症準確。
2. 不應例行性地使用 cfDNA 篩檢做為性染色體及微缺失症候群 (microdeletion syndromes) 的常規性篩檢。
3. cfDNA 篩檢無法檢測出胎兒神經管或腹壁缺損，對於選擇做 cfDNA 篩檢之個案，應提供母血甲型胎兒蛋白篩檢或超音波檢查之選項。
4. 多胞胎懷孕者，不建議 cfDNA 篩檢。
5. 同時並行多種檢驗方式進行染色體數目異常篩檢是不符合經濟效益的。

(五) 診斷性檢查

1. 選擇侵入性診斷檢查之個案，建議告知同時做基因晶片之選項及其檢驗限制，因為即使羊水染色體及超音波檢查正常，仍可能具有

致病性之 DNA 片段數目變異。

2. 若超音波檢查發現胎兒有構造異常，應告知進行羊水染色體核型分析及基因晶片等檢查之目的及檢驗限制。

參、醫護人員衛教參考範本

游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢

► 說明

游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢 (以下簡稱 cfDNA 篩檢) 是近十年來新發展出的產前遺傳疾病篩檢技術，透過採集懷孕婦女的血液，經次世代基因定序技術 (Next Generation Sequencing, NGS)，偵測在母血中微量的游離胎兒 DNA 來篩檢胎兒染色體數目異常。游離胎兒 DNA 片段主要是來自胎盤細胞。懷孕期之胎盤一形成，絨毛膜母細胞會不斷代謝，DNA 片段也會不斷地流入孕婦血液當中進行循環。直到懷孕 10 週左右，孕婦血漿中游離胎兒 DNA 片段的比值平均約為 10.2%，大多數孕婦在懷孕 10 週就可以接受 cfDNA 篩檢，游離胎兒 DNA 片段的半衰期約為 16 分鐘，孕婦生產後 2 小時即再也找不到任何此次懷孕的游離胎兒 DNA 片段；所以下一次的篩檢結果不會受到本次懷孕之影響。

► 篩檢之適應症及準確性

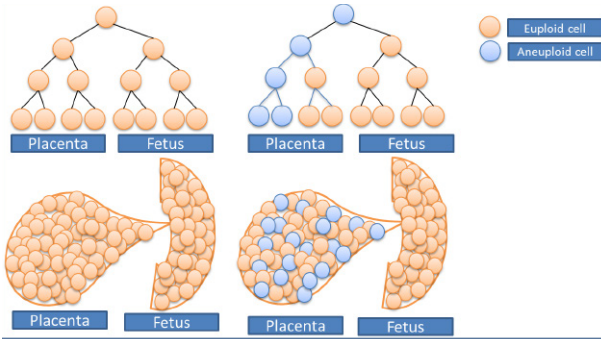
使用游離胎兒 DNA 進行目前最常用於篩檢三種常見的體染色體異常，包括唐氏症 (Trisomy21,T21)、愛德華氏症 (Trisomy18,T18)、巴陶氏症 (Trisomy13,T13) 等；次世代基因定序技術運用於上述三種常見體染色體異常的疾病篩檢上之準確性，

根據大規模的臨床數據顯示篩檢的敏感性 (sensitivity，亦即異常胎兒被可以正確檢出的機率)，在 T21、T18、T13 分別可以達到 >99%、>95%、>80%；而檢驗的特異性 (specificity，亦即正常胎兒被正確排除的機率) 在 T21、T18、T13 都有達到 >95%。可以說是相當準確的篩檢方式。目前有些檢驗單位提出可針對其他染色體異常、染色體微缺失症候群 (microdeletionsyndrome)、以及染色體微複製症候群 (microduplication syndrome) 進行產前篩檢，但是由於這些染色體片段缺失或重複之發生率較低，不易累積足夠的臨床經驗，其準確性尚未有明確數據或文獻佐證。此檢驗技術亦無法分辨平衡性的染色體異常或鑲嵌型 (mosaic) 的染色體異常 (亦即只有部分胎兒細胞有異常)。此外、篩檢單基因遺傳疾病尚有困難；雖然目前檢測方式已能偵測出單基因變異，但費用昂貴，尚未成為常規項目，目前不適用於篩檢胎兒單基因突變。以下之說明乃針對胎兒染色體數目異常 (aneuploidy)。

► 目前篩檢技術的限制

- 若游離胎兒 DNA 片段與母體 DNA 的比例偏低，則不適合進行此項篩檢。例如在妊娠十週之前。
- 如為雙胞胎懷孕，其中之一有死胎或流產，其 DNA 可能干擾檢查結果，不適宜接受此項篩檢。另因目前多數檢測技術不能分辨多胞胎之間的差異，所以也不建議接受此項篩檢。
- 肥胖的孕婦血液中游離胎兒 DNA 片段比例偏低，有可能會影響檢驗的準確度，但是目前對於如何校正孕婦體重所造成的影響，並無定論。

- 母親有低比率的染色體異常細胞 (鑲嵌型, Mosaicism)
- 使用低分子量肝素治療者, 必須停藥 24 小時以上。
- 胎盤細胞有染色體異常, 但是胎兒本身正常 (Confined Placental Mosaicism, CPM)



註：引用 Genetics Education Canada – Knowledge Organization (GEC-KO)

▶ 須了解篩檢與診斷之差異

須強調 cfDNA 篩檢是屬於篩檢性質, 因此並不能單憑此診斷胎兒是正常或異常, 僅能告知檢測結果為高風險 (High Risk) 或是低風險 (Low Risk), 若篩檢結果為高風險, 應再接受侵入性診斷檢查的確認, 因為篩檢仍有發生偽陽性或偽陰性的可能。因此目前並不能取代做為確認診斷之工具。

▶ 進行篩檢前諮詢時提供的資訊

- 提供遺傳篩檢上的適用性、限制與結果所代表的意義。
- 說明第一孕期、第二孕期母血唐氏症篩檢及 cfDNA 篩檢之異同、優缺點。
- 說明目前此項篩檢針對胎兒染色體第 21, 18, 13 對的三體症有較高的偵測準確性, 但仍無法百分之百找出所有的三體症。雖然偽陽性率低, 但偶爾還是會有發生, 建議經過羊膜穿刺或絨毛膜取樣來進行確診。

- 說明篩檢技術有其限制性, 例如對於多胞胎懷孕、BMI 較高及懷孕週數較大而重複篩檢之婦女, 仍會建議進行侵入性如羊膜穿刺或絨毛膜取樣來進行檢查。
- 如果父母為特定單基因遺傳疾病之帶因者或平衡性染色體轉位者, 必須說明 cfDNA 篩檢之限制並建議適當之產前診斷方式。

▶ 檢驗方式及技術

透過靜脈取母親的血液, 並透過次世代基因定序技術及生物資訊演算系統, 偵測胎兒在母血中微量的游離 DNA 來了解胎兒染色體的狀況。

目前在檢驗技術上主要可分為幾種：

(一) 深度高通量定序 (Deep Massive Parallel Sequencing)：將 23 對染色體都進行分析, 解讀每一條染色體上的染色體數目。

(二) 目標片段定序 (Targeted Sequencing)：僅針對欲分析的染色體片段進行定序分析, 又分為 SNP based 和非 SNP based 兩種技術平台。

(三) 微陣列晶片 (Microarray based)：和目標片段定序 (Targeted Sequencing) 類似, 可較節省分析時間, 但僅分析特定的染色體片段, 並未分析全部染色體 DNA 片段。

▶ 適用對象

- cfDNA 篩檢適用之對象經過專科醫師評估後可進行。通常可建議進行篩檢的情形：
- 34 歲以上或有胎兒染色體異常風險的孕婦, 可接受為產前篩檢的選擇項目。
- 懷有染色體異常胎兒之高風險群：如高齡產

婦、具有家族史、曾懷過染色體異常胎兒、習慣性流產、母血唐氏症篩檢結果為高風險者等。

- 不適合做侵入性產前診斷者：如人類免疫缺乏病毒 (HIV) 陽性、孕婦有胎盤前置、羊水過少、合併有子宮肌瘤、安胎中、產前出血…等。

註：本衛教參考範本，乃依據成大醫院郭保麟教授提供資料及目前各檢驗單位的檢驗資訊所擬定。

肆、情境與個案範例

►情境個案分享

以下情境案例為針對母血唐氏症篩檢、cfDNA 篩檢及羊膜穿刺檢查之選擇，其餘產前衛教仍應依循常規說明。案例參考國外資料及國內現況擬定，未來隨科技進步或補助條件更改說明重點仍需再做調整。

【情境一】

35 歲孕婦懷孕 17 週來院產檢並問及 cfDNA 篩檢問題。

說明重點：

- 高齡產婦符合目前國內羊膜穿刺檢查補助對象。
- 羊膜穿刺檢查為診斷性檢查。
- 不適合提供第二孕期母血唐氏症篩檢。
- 若是孕婦要求做 cfDNA 篩檢，雖可尊重其決定，但須告知 cfDNA 為篩檢性質；萬一結果為高風險仍應進行羊膜穿刺檢查，且須考慮到時效性問題。

【情境二】

40 歲孕婦經過多次人工協助生殖才懷孕，現在第 9 週，來院諮詢，表示擔心羊膜穿刺檢查之風險。

說明重點：

- 高齡產婦符合目前國內羊膜穿刺檢查補助對象。
- 羊膜穿刺檢查為診斷性檢查。
- 羊膜穿刺檢查之後的流產機率並不會高於一般懷孕之流產機率。
- cfDNA 篩檢較第一孕期母血唐氏症篩檢準確。
- 若是孕婦要求做 cfDNA 篩檢，雖可尊重其決定，但須告知 cfDNA 為篩檢性質；萬一結果為高風險仍應進行羊膜穿刺檢查。

【情境三】

33 歲孕婦懷孕 10 週，前次懷孕生下唐氏症兒，染色體檢查為不平衡轉位型唐氏症，母親為第 14 號及 21 號染色體平衡型轉位，醫師曾建議作羊膜穿刺檢查；問及可否以 cfDNA 篩檢取代羊水檢查？

說明重點

- 前胎生有異常兒符合目前國內羊膜穿刺檢查補助對象。
- 此次再生到不平衡轉位型唐氏症機率約為 12%，仍有機會生到染色體平衡型轉位或染色體正常的孩子。
- 無法取代診斷性檢查 (羊膜穿刺檢查或絨毛膜取樣) 。
- cfDNA 篩檢無法偵測出平衡型轉位。

【情境四】

32 歲孕婦懷孕 10 週，發現懷雙胞胎。孕婦說她的姊姊曾生下異常兒，經染色體檢查後醫師說是第 18 對多一個，擔心自己的孩子會不會有這種狀況？

說明重點：

她生到第 18 染色體三體症之機率和一般人相仿不須焦慮。

- 第一孕期母血唐氏症篩檢或是 cfDNA 篩檢於雙胞胎都較單胞胎不準確。
- 可選擇篩檢性檢查；但萬一結果為高風險仍應進行羊膜穿刺檢查。
- 同卵雙胞胎與異卵雙胞胎有不同之風險預估。
- 羊膜穿刺檢查之風險於雙胞胎較單胞胎高，且建議於第 15 週後再做。

【情境五】

31 歲孕婦懷孕 18 週，在其他醫院做超音波檢查發現胎兒有心臟異常，來院詢問。

說明重點：

- 盡快安排高層次超音波檢查。
- 建議進行羊膜穿刺檢查，並提供羊水晶片之選項。
- 不須再做母血唐氏症篩檢或是 cfDNA 篩檢。
- 給予支持並預先討論到父母對於胎兒狀況的想法。

【情境六】

29 歲孕婦懷孕 12 週，在外院超音波檢查時發現胎兒頸部透明帶厚度 4.4mm，轉介來院諮詢。

說明重點：

- 建議進行羊膜穿刺檢查並提供羊水晶片之選項
- 不須再做 cfDNA 篩檢
- 給予支持並預先討論到父母對於胎兒狀況的想法

►遺傳諮詢案例分享

33 歲孕婦小金，因為游離胎兒 DNA 染色體異常母血篩檢報告問題來到遺傳諮詢門診諮詢。

遺傳諮詢過程：

孕婦小金懷孕 13 週時做了 cfDNA 篩檢，15 週時得知檢測結果顯示，性染色體非整倍體為 47, XXX，婦產科醫師建議做羊膜穿刺進一步確認，但個案及先生擔心其風險，且為了解 47, XXX，故轉介至遺傳諮詢門診。

遺傳諮詢師說明 cfDNA 篩檢乃是篩檢性質，可能有偽陽性情形，要確認胎兒染色體狀態還是要經由羊水檢查，但家屬認為報告顯示風險值 >99/100(99%)，且 cfDNA 篩檢檢測率 99%，就一定是這樣的情形了，而且就算胎兒是 47,XXX 也會生下來，決定不做羊膜穿刺。

遺傳諮詢師表示尊重其決定並建議生產時做臍帶血的染色體檢查以確定胎兒染色體狀況，但由於早產，故無取得臍帶血。

遺傳諮詢師後續追蹤至矯正年齡 1 個月大時，做了血液染色體檢查，確認小朋友染色體核型為 46,XX 無異常，因此推測可能是胎盤細胞染色體問題或檢驗偽陽性所致。

很幸運的父母經過諮詢決定把孩子生下來並且能接受 47,XXX 狀況，經由染色體檢查確定行。通常可建議進行篩檢的情形：

- 34 歲以上或有胎兒染色體異常風險的孕婦，可接受為產前篩檢的選擇項目。
- 懷有染色體異常胎兒之高風險群：如高齡產婦、具有家族史、曾懷過染色體異常胎兒、習慣性流產、母血唐氏症篩檢結果為高風險者等。
- 不適合做侵入性產前診斷者：如人類免疫缺乏病毒 (HIV) 陽性、孕婦有胎盤前置、羊水過少、合併有子宮肌瘤、安胎中、產前出血…等。

註：本衛教參考範本，乃依據成大醫院郭保麟教授提供資料及目前各檢驗單位的檢驗資訊所擬定。

其為正常，只是讓小金及先生擔心了好幾個月；換方面想，要是有人經由 cfDNA 篩檢報告異常即去引產，這樣不是很遺憾嗎？

現在的產檢技術越來越先進，但可能是說明不易，或是家屬不了解篩檢之限制及偽陽性或偽陰性的意義，常會讓家屬有 [我花了這麼多錢，為什麼還要再花一筆錢去做另外的檢查？]，或者是 [這個檢查檢測率這麼高，我為什麼要冒著流產的風險再去做另一個檢查？] 的感覺！

若有指引準則，加上專業訓練，經過詳細說明，家屬充份了解後再接受檢查，相信就能達到醫病共享決策 (Shared Decision Making, SDM) 的目標。

本指引參考之主要來源包括：

1. 美國婦產科醫學委員會 (The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee ; ACOG) 及母胎醫學會 (Society for Maternal-Fetal Medicine ; SMFM) 於 2015 年 9 月發表 Committee Opinion-Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy 及 2016 年 5 月發表 Practice Bulletin-Prenatal Diagnostic Testing for Genetic Disorders.
2. Cell-Free DNA Testing for Fetal Chromosomal Anomalies in clinical practice: Austrian-German-Swiss Recommendations for non-invasive prenatal tests, 2015 年出版。
3. 國際婦產科超音波學會 (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology ; ISUOG) 於 2014 年 6 月發表 ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing on prenatal ultrasound.
4. 德國基因檢測 (Gendiagnostikgesetz
5. (GEN DG); the Human Genetic
6. Examination Act) , 於 2009 年通過。

聲明：

本指引所列之建議，為本計畫根據現有的文獻資料以及專家委員會討論後，所做出的綜合建議。隨著新技術的進步，日後若有更多的醫學研究發現將適時修改，且不應引用指引條文作為糾紛審議之依據。