

ECHO

中華民國醫用超音波學會
會 訊

Newsletter
July/August 2022 (7-8)

外顯子定序在產科的臨床運用

初福傑醫師 / 台北長庚紀念醫院 婦產科

婦產科超音波專欄

外顯子定序在產科的臨床運用
/ 初福傑 P01

超音波在先天性肺部呼吸道畸形的應用
/ 莊雅淳 P04

胛胝體發育不全 / 陳彥廷 P06

病例報告 - 同卵四胞胎的減胎以及生產故事 / 宋承媛 P10

人物專訪

謝燦堂院長 / 蕭勝文 P12

床邊超音波在心臟驟停病患復甦後照護的應用

/ 許家瑀 P15

第四屆亞太醫用超音波新進展國際論壇暨學會 2022 年會暨第四次學術研討會

P32

AFSUMB 2022

P45

最新課程活動消息

P46

隨著臨床資料庫對於基因和疾病相關性的進步，國際醫學會也開始建議，針對超音波異常的胎兒，如果在染色體核型分析和晶片都正常的情况下，可以考慮產前外顯子定序來增加臨床診斷的幫助。但是外顯子定序並不是萬能的，大約可以再增加約 10% 的診斷率。除了檢查費用高，報告分析的時間較長，可能會影響終止妊娠的時機，臨床產科醫師也必需提供完整和準確的臨床超音波發現。但是如果在產前能夠順利藉由外顯子定序得到疾病的診斷，不僅能準確了解孩子的患病風險及預後，提早制定出生後的治療計畫，也能進一步了解未來懷孕時疾病再次復發的風險。

人類基因組：

人類的 DNA 由大約 30 億個核苷酸排列組成，而一段有

功能的核苷酸序列就稱作基因，人體每個細胞約有兩萬個基因。基因的基本結構由密碼子組成，每三個核苷酸的排列稱作一個密碼子(Codon)，不同的密碼子則會轉譯為對應的蛋白質氨基酸。

在 DNA 轉錄成 mRNA 的過程中，會保留並且轉錄成 mRNA 的密碼子稱作外顯子(Exon)，而不會轉錄成 mRNA 的密碼子稱作內含子(Intron)。這些外顯子(Exon)的比例雖然只佔所有密碼子的 1.5%，但是外顯子的變異卻會造成將近 85% 遺傳疾病的發生^[1,2]。

基因定序：

基因定序的範圍可以分成三個等級，包含全面性檢測的全基因組定序(Whole-Genome Sequencing, WGS)，只針對全基因組中所有外顯子的全外顯子定序(Whole-Exome

Sequencing, WES)，以及只針對特定目標基因的外顯子定序 (Targeted Exome Sequencing, ES)。

運用次世代定序的技術 (Next generation sequencing)，我們可以偵測核苷酸的單點變異 (Single nucleotide variant, SNV)，或是小片段核苷酸的插入或刪除 (Small insertions and deletions, INDELs)。考量到定序的成本價格和報告的分析時間，目前醫學臨床運用上主要在於全外顯子定序，將定序深度集中在只占整個基因組約 1.5% 的外顯子上，來偵測基因編碼區 (coding regions) 上約 85% 的遺傳變異。

外顯子定序的臨床運用：

現階段外顯子定序在臨床上有三個主要的運用時機，分別是成人，兒童及產前。成人的運用主要是診斷神經肌肉疾病、確認癌症基因來建立個人化醫療。兒童的運用是針對多重器官異常，神經肌肉疾病或發展遲緩來尋找相關的罕見遺傳疾病原因。而產前的運用則是針對產前超音波發現的胎兒結構異常來診斷可能的遺傳疾病。

但是產前外顯子定序的挑戰在於時間的壓力和決定終止妊娠的時機。但是相反的，如果在產前能夠順利藉由外顯子定序得到疾病的診斷，不僅能了解孩子的患病風險及預後，提早制定出生後的治療計畫，也能進一步了解未來懷孕時疾病再次復發的風險。

基因定序的分析流程：

一份外顯子定序的報告完成往往需要耗時至少一個月的時間，甚至超過兩個月以上，這是因為基因定序後的分析是非常耗時的挑戰。每一個人和人類基因組不同的核苷酸變異位點大約有上萬個，如何過濾篩選這些核苷酸變異，從上萬個變異點過濾剩下一個或兩個真正和臨床表現相關的變異點，將是決定外顯子定序的報告完成時間最大的因素。

基因定序的分析流程主要可以分成五項步驟^[3]：

1. 第一個步驟是基因定序 (Next generation sequencing)：現階段主流的基因定序機器主要還是運用次世代定序的技術 (Next generation sequencing)。

2. 第二個步驟是和定序資料庫的比對和分析 (Bioinformatic analysis)：將定序後的核苷酸排列結果和定序資料庫 (Sequence database) 來做比對，找出和人類基因組不同的變異點。常用的定序資料庫像是 NCBI genome。

3. 第三個步驟是排列變異點的臨床影響順序 (Variants prioritization)：比對人種資料庫 (Population database) 後，搜尋變異點在不同人種的發生頻率以及預測可能的致病程度後，再過濾篩選這些變異點。常用的人種資料庫像是 Exome Variant Server (EVS)，Exome Aggregation Consortium (ExAC) 或 dbSNP。

4. 第四個步驟是分析臨床表現和變異點的關聯性

(Phenotype-based filter)：這個步驟會依據臨床醫師提供的病人臨床表現來分析和變異點的關聯性，分析的效率取決於臨床醫師能提供愈完整也愈精準的臨床發現。常用的疾病資料庫 (Disease database) 像是：ClinVar, OMIM, HGMD, Human Phenotype Ontology 或 Decipher。

5. 第五個步驟是確認結果 (Confirmation assays)：最後會運用 Sanger sequencing 再次確認變異點的正确性。

產前外顯子定序對於胎兒超音波異常的幫助：

產科醫師在產前遇到超音波診斷的結構異常胎兒，如果第一線的染色體核型分析和晶片無法找到可能的致病原因，第二線的外顯子定序可以增加多少診斷率的幫助？

在 2018 年以前發表的文獻中所提出的數據差異很大，增加的診斷率落在 6.2% 至 80%，主要受限於個案數不多以及選樣的偏差。一直到 2019 年的 2 月，Lancet 發表兩篇重要的前瞻性研究才有了較客觀的結論。一篇是英國衛生部所主導的 Prenatal Assessment of Genomes and Exomes (PAGE) study，針對 610 個產前超音波異常，但是染色體核型分析和晶片都正常的胎兒，安排胎兒和夫妻同時做外顯子定序的分析 (trio analysis)，發現外顯子定序可以額外增加 12.5% 的診斷率，尤其在多重器官異常和骨骼異常的個案都有較高的診斷率^[4]。

另一篇是美國哥倫比亞大

學所發表的研究，針對 234 個產前超音波異常的胎兒，安排胎兒和夫妻同時做外顯子定序的分析，發現額外增加 10% 的診斷率，其中診斷率較高的器官異常在胎兒骨骼異常，淋巴回流異常和中樞神經異常^[5]。

所以美國遺傳學會目前認定，產前外顯子定序對於染色體核型分析和晶片都正常的超音波異常胎兒，可以增加 10% 的診斷率，對於多重器官異常則是可以增加約 15.4% 至 18.9% 的診斷幫助。

國際學會的建議

美國婦產科醫學會 (ACOG) 在 2016 年先提出外顯子定序在產科的建議，聲明不建議在產前每個個案都常規性的使用外顯子定序，同時也提出醫療團隊安排基因體檢測需要考量的倫理議題和遺傳諮詢的重要性^[6]。

美國遺傳學會 (ACMG) 在 2020 年^[2]，以及英國婦產科醫學會 (BJOG) 在 2021 年^[1]也分別發表建議。產前外顯子定序的適應症主要針對超音波異常的胎兒，但是染色體核型分析和晶片都正常的情况下，可以考慮產前外顯子定序來增加臨床診斷的幫助。以現階段的先天異常疾病診斷率來看，染色體核型分析可以大約診斷 30% 的遺傳疾病，晶片可以額外診

斷約 6% 的遺傳疾病，外顯子定序則再增加約 10% 的診斷率。

如果要加快產前外顯子定序的報告分析時間，建議臨床產科醫師直接安排胎兒和夫妻同時做外顯子定序的分析 (trio analysis)，以及提供愈完整也愈準確的臨床超音波發現。另

外美國遺傳學會也建議，如果產前的超音波表現懷疑是特定的疾病，可以第一線先安排該疾病相關的單基因檢測 (Single-gene testing) 或是基因套組檢查 (Phenotype-based gene panel)，臨床醫師可以比較快速地獲得診斷。



作者初福傑醫師

參考文獻

1. Mone F, McMullan DJ, Williams D, Chitty LS, Maher ER, Kilby MD; Fetal Genomics Steering Group of the British Society for Genetic Medicine; on behalf of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Evidence to Support the Clinical Utility of Prenatal Exome Sequencing in Evaluation of the Fetus with Congenital Anomalies. Scientific Impact Paper No. 64. BJOG 2021;128:e39–e50.

2. Monaghan KG, Leach NT, Pekarek D, Prasad P, Rose NC; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2020 Apr;22(4):675-680. doi: 10.1038/s41436-019-0731-7. Epub 2020 Jan 8. PMID: 31911674.
3. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25741868; PMCID: PMC4544753.
4. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, Rinck G, Hamilton SJ, Quinlan-Jones E, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet* 2019;393:747–57.
5. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet* 2019;393:758–67.
6. Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No.682: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology: The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology. *Obstet Gynecol*. 2016 Dec;128(6):e262-e268. doi: 10.1097/AOG.0000000000001817. PMID: 27875474.