

漩涡中的无创产筛

□本报记者 张晓琪

无创产前基因检测近期被推至风口浪尖。一些患儿家长质疑:为什么检测结果显示低风险,结果生下唐氏宝宝。风波发酵至今,质疑的焦点主要集中在产检医院是否具有相关资质、医生是否充分履行告知义务,以及检测过程中是否存在疏漏。目前,国内基因测序公司高度依赖NIPT(无创产前基因检测技术)作为扩张方向。如果该技术准确性遭受质疑,对整个行业打击很大。



新华社图片

质疑之声不断

王敏(化名)是“无创假阴”QQ群活跃分子之一。2016年5月13日,王敏生下一名女婴,医生发现小孩面容特殊,建议进行染色体检测。后经云南省第一人民医院确诊,为18号染色体长臂缺失。

王敏于2016年2月16日做的无创产筛。根据报告单,检测机构为广州金域医学检验中心(简称“金域检验”),送检单位为临沧市人民医院。王敏告诉记者,报告出来后,后续的B超检查发现胎儿偏小、腿短,但由于无创产前基因检测的“低风险”结论,医生让其继续观察,并未建议羊水穿刺等进一步的检查。

王敏曾多次找临沧市人民医院交涉,但对方回复认为,无创DNA检测只针对13、18和21号染色体三倍体情况进行检测,染色体长臂缺失并不在检测范围,因此不承担责任。不过,王敏又提出,金域检验和临沧市人民医院均不在无创产前基因检测的试点机构名单中。依据是国家卫计委于2014年12月22日公布了第一批高通量基因测序技术临床应用试点单位名单,纳入“产前筛查与诊断专业”的基因检测公司共有9家单位,其中没有金域检验。2015年1月15日,国家卫计委妇幼司发布了第一批可以开展NIPT的产前诊断试点单位,全国31个省市地区共有109家机构入选。在这批名单中,云南省入选机构并无临沧市人民医院。

“关键是应用没有按照规范。”王敏对中国证券报记者表示,一方面金域

检验不在试点名单内,应属违规开展无创产筛检测;另一方面,由于临沧市人民医院不在产前诊断机构试点范围内,医生缺乏相关培训,致使盲目相信无创产筛技术,令胎儿错失进一步检查的机会。

对于王敏提及的相关问题,中国证券报记者联系了广州金域医学检验集团股份有限公司和云南省临沧市人民医院,但截至发稿时未得到回复。

王敏提供给中国证券报记者一份文件,2018年3月26日金域检验回复广州市海珠区卫生计生局的《情况说明》。就“广州金域医学检验中心是否具有开展无创产前基因检测项目资格”的问题,公司表示,2015年1月,卫计委妇幼司以便函方式发出《关于产前诊断机构开展高通量基因测序产前筛查与诊断临床应用试点工作的通知》指出,试点产前诊断机构“可”(不是“应当”,带有建议性质)择优与承担高通量基因测序检验试点任务的医疗机构(试点检验所)建立合作关系。据此,对于非试点检验所,强制性要求以《关于调整基因芯片诊断技术管理类别的通知》为准,通过省级卫生行政部门组织的临床基因扩增实验室技术审核而开展相关项目并未违反监管规定。

金域检验认为,2015年6月发布的《国家卫生计生委关于取消第三类医疗技术临床应用准入审批有关工作的通知》中,基因芯片诊断技术已不属于《限制临床应用的医疗技术(2015版)》,实际上放开了试点范围的限制。在随后的

2016年10月,国家卫计委办公厅发布《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》,进一步废止涉及产前筛查与诊断专业试点机构的有关规定。因此,广州金域医学检验中心具有开展无创产前基因检测项目的合法资格。

根据金域检验的解释,王敏在做这项检测时试点范围限制实际已经放开,也就不存在违规之说。2018年6月,云南省卫计委在接到王敏的投诉后,调查确认临沧市人民医院和昆明金域医学检验所有限公司(由广州金域医学检验集团股份有限公司100%控股)均不在国家公布的试点名单中,已经构成违规,已责成临沧市卫计委、昆明市卫计委分别对其依法进行处理。王敏表示,就临沧市人民医院违规开展无创产前诊断及提供不当诊断意见已向法院起诉,目前还没有结果。

除质疑检验机构的合法资格外,一些患儿家属认为,在选择无创产前筛查时,并未得到充分的风险提示。

陈明的妻子琳琳(化名)怀孕17周左右时,传统唐筛显示21三体高风险。在医生的建议下,于2017年12月2日通过广州达安进行无创DNA检查,检测报告显示,胎儿21-三体、18-三体、13-三体均为低风险。一个月后,琳琳进行B超检查,结果显示胎儿眉骨未见明显显示,建议到上级医院产前诊断。2018年1月29日,琳琳再度进行超声波检查,提示婴儿眉骨发育不良。而这正是很多唐氏

宝宝的特征之一。“医生说如果报告没出问题,小孩子理论上没问题,所以没建议做羊水穿刺。”陈明告诉记者。

4月14日,琳琳产下一名男婴,因面容特殊被建议再去做一次基因检测。随后,达安基因出具的检验报告显示孩子21号染色体异常,为唐氏综合征。

“我不认为这种情况纯粹是意外。医生都没给解释无创检测内容以及存在漏检的可能,只是让我们签名。”陈明告诉记者。

记者针对“无创假阴”人群进行了小范围的调查问卷,共回收17份有效问卷。对于“医生是否有告知无创产筛可检测内容以及结果不是100%准确”一项,53%选择“并未告知可检测内容和结果不是100%准确”,35%选择“没有告知可检测内容,但告知结果不是100%准确”。

不过,在陈明等多位家长展示的检测单上,均列出了无创产筛检测范围、适宜人群、存在漏检可能等风险提示。对于是否留意这些风险提示,41%受访者表示“完全没留意”,近30%表示“看了提示内容,但看不懂”,医生让签就签了。

“无创产筛知情同意书上的风险提示,是对技术局限性和适用范围的一个全面诠释。如果各家医院能够逐一解释给孕妇,或孕妇和家属主动了解清楚,不太可能出现大家对技术局限性了解不够,或盲目认为这项技术万能的情况。”贝瑞基因CEO周代星告诉中国证券报记者。

信任危机发酵

虽然华大基因多次对相关案例和技术进行了澄清,但从二级市场表现看来收效甚微,且波及到多家A股基因测序公司。

在媒体报道“无创假阴”事件后,7月16日、17日华大基因两个交易日跌停,市值缩水70多亿元。为提升投资者信心,7月17日、19日和23日,华大基因接连三次发布管理层、股东增持公告,增持金额累计不低于1.9亿元。

贝瑞基因同样未能幸免。华大风波后两个交易日,公司连续拉出两条阴线,跌幅达5%。此后股价一路萎靡。

信任危机在不断发酵,越来越多孕妇开始质疑技术本身。半个多月来,除“受害者”外,不少传统唐筛呈现高危的孕妇涌入“无创假阴”群。能否相信无创产筛、是否需要做羊水穿刺进一步确认,成为普遍的焦虑和疑惑。

“目前,国内基因测序公司仍高度依赖NIPT作为扩张方向,NIPT是其营收贡献的主力。如果技术准确性遭受质疑,对整个行业而言都是巨大的打击。”业内人士告诉记者。

赛迪顾问发布的《2018中国基因测序产业演进及投资价值研究》白皮书指出,2017年中国基因测序市场规模增长至72亿元,无创产前筛查市场总规模占比超过55%,是基因测序市场份额最大的细分领域。报告同时预测,到2022年国内基因测序市场规模将达到183亿元。目前国内每年出生的缺陷新生儿约90万人,利用第二代测序技术开展无创产前筛查的市场前景巨大,达百亿级。

一位私募机构投资合伙人透露,目前华大基因、贝瑞基因、达安基因、安诺优达四家企业占据无创产筛的市场份额超过90%。其中,华大基因和贝瑞基因因市场影响力最大。

年报显示,华大基因2017年生育健康板块营收达11.36亿元,增幅达22.28%。2016年、2017年生育健康板块对营收贡献比例均超过50%,2017年毛利率在各项业务排名第一,达67.77%。

贝瑞基因方面,2017年年报显示,公司检测服务和试剂销售合计占总营收比例约为88%。其中,检测服务收入约6.47亿元,试剂销售收入3.82亿元。业内人士透露,这两项业务主要围绕NIPT展开。

“基因测序行业发展这么多年,NIPT是目前最有效、最广泛的落地产品。”该合伙人指出,检测机构实际上是将通用技术转化为临床方案。这个过程不存在太高的门槛和壁垒;测序产业的上中下游发展到比较成熟的阶段,提供了较好的落地土壤。

“像华大基因这样的基因测序企业,早期营收和利润都比较微薄,NIPT这样的可快速应用产品一出现,自然会大力推广。”该人士指出,NIPT目前市场普及率高,主要有两方面原因:一是技术本身安全性较高,能够减少有创诊断手段带来的损伤;二是NIPT基本技术方法同质化严重,未来成长主要看销售渠道。这促使各家机构积极与医院展开合作。

“需要指出的是,无创产筛知识的普及率跟不上其在全国范围铺开速度,”该合伙人表示,“有些医院可能自己对这个技术理解还不到位,无法起到完整告知义务,或者疏忽告知,致使部分家长没有认识到这是一个筛查手段而非诊断手段。”

他认为,基因测序下一个商业化爆发点在肿瘤筛查和诊断领域。目前,国内已有多家基因测序企业开始布局肿瘤筛查基因检测,包括华大基因、贝瑞基因、安诺优达等。肿瘤检测需要突破的难题,一方面在于技术落地累积足够的检测病例数。这直接决定了企业测序数据和临床数据的积累;另一方面打通整个产品开发路线,包括与优质医院和医生建立合作关系,积累足够样本获得政府认证、市场推广等。“肿瘤筛查和诊断市场空间巨大,但要短期达到无创产筛的商业化高度还比较困难。”

“无创产筛是基因测序领域第一个商业化产品,其发展好坏对肿瘤早筛和检测具有很强的借鉴意义。”上述业内人士称。

无创产筛优与劣

“就检测染色体数量异常而言,NIPT是目前最好的选择。”周代星强调,这是与羊水穿刺和传统唐筛对比之后的结论。

周代星告诉记者,以唐氏综合征为例,数据显示,平均每700多个新生儿中会有一个患唐氏综合征。目前中国每年大概有1700万名新生儿,在不采取任何筛查和诊断措施的情况下,每年会有近2.5万名唐氏综合征婴儿出生。

如果采用侵入性的产前诊断方法,包括绒毛穿刺、羊水穿刺、脐血穿刺等,最低的流产风险率为0.3%。他指出,如果1700多万名孕妇均进行侵入性的产前诊断,且百分之百被诊断出来,假定流产风险率为0.3%,每年约有50000名小孩会流产。

另一种常用方式是传统唐筛。周代星指出,传统血清学唐筛检测设定了5%的阳性率。即每一百个孕妇去检查,5个人的检测呈现阳性。但实际上每七百个胎儿中,只有一个会患有唐氏综合征。

“也就是说,每个检测呈阳性的孕妇有比较大的可能所怀胎儿是正常的,即PPV(阳性预测值)很低。我们从医院了解的信息是,单纯唐筛高危的孕妇去做羊水穿刺,一般只有1%左右是真正的阳性,”他指出,“加上羊水穿刺的流产风险,相当部分人被查出高危后,不会去做羊水穿刺。根据在各家医院了解的情况,这个比例约为50%。”

周代星展示了其计算过程。目前传统唐筛的灵敏度一般认为是60%至65%。如果每年1700万名孕妇都去做检测,以65%的上限计算,同时唐筛高危人群仅有一半会继续做羊水穿刺确诊,则每年会查出8000多个唐氏小孩,漏掉超过1.6万个小孩。

如果采用NIPT进行筛查,“目前贝瑞基因的NIPT技术在筛查唐氏综合征上,灵敏度达99.51%。以这个数值计算,假定所有的孕妇都去做NIPT检查,仅122名唐氏儿被漏掉。因为NIPT检测母亲的外周血,

且NIPT的阳性预测值高达95%,且几乎不会导致流产。”

周代星表示,按照卫计委的规定,在国内开展NIPT检测服务要以有资质的产前诊断机构为中心。产前诊断机构的工作主要包括三个方面,一是确定产前筛查与诊断方案,进行检测前咨询;二是提出检测申请和出具临床报告。这需要其具备专业分析和诊断能力;三是后续咨询、诊断与妊娠结局随访。“如果NIPT检测结果呈现阳性,产前诊断机构需尽快通知孕妇进行后续咨询及相应产前诊断,进一步确诊胎儿是否存在异常。即便NIPT检测结果为低风险,仍然应当建议孕妇定期进行常规产前检查。对于存在合作关系的产前筛查机构,产前诊断机构有义务对其进行技术指导、人员培训和质量控制。”

目前,内地检测机构普遍为受检者购买检测医疗保险,如果“漏检”则予以赔付。卢煜明告诉记者,香港检测机构一般不会给受检者购买相关检测保险。“对受检者的责任下放给保险公司并不是解决方法。重要的是建立优良的NIPT服务链,其中包括三大要素:第一,实验室要采用一系列严谨的测试指标,达标后才发出报告。第二,医生要明确给孕妇解释NIPT可应用的指定疾病,以及筛查不能百分之百准确的事实。第三,医生和孕妇们要明白NIPT只是产前检查系统的一环,而医生会继续用其他手段在怀孕期对胎儿作出持续观察。”

“怀孕大概20周左右时,还可以通过超声波检查胎儿的生长情况。如果NIPT呈现假阴性,这个时候还有机会纠正。如果观察到胎儿生长不正常,比如心脏或脑袋发育不正常,医生应该考虑是否可能存在于一些染色体或者其他疾病。”卢煜明指出,临床情况非常复杂,有些情况下医生会基于专业判断,认为不需要进一步做有创诊断项目,但需要把不同选择的风险告诉孕妇。比如,无创可能漏检,羊水穿刺虽有风险但准确性更高。

为何检测不准

与检测机构资质以及风险提示相比,家长们更担心的是这一技术的准确性,以及因检测机构的疏忽而可能导致的错检。

香港中文大学教授卢煜明被业内认为是无创产前基因检测技术发明人,其于1997年发现孕妇的血浆内存有胎儿的DNA,并开创NIPT检测技术,随后把这一技术授权给Illumina、Sequenom、Xcelom等检测机构。卢煜明接受中国证券报记者专访时指出,在无创产筛过程中,最重要的是确认孕妇血浆内有多少胎儿的DNA。出现假阴性的重要因素之一是母亲血浆样本中胎儿的DNA不足。最稳健的无创检测,应先检测血浆样本中胎儿DNA的浓度,这个浓度一般至少要达4%。

“检测胎儿DNA浓度技术要求很高。如果要把成本、价格降下来,有些检测可能不会测量这个浓度。”卢煜明表示,“如果浓度值低于4%,这个检测无效。”

记者就此事向华大基因、贝瑞基因、达安基因、金域医学求证。华大基因回复称,通常而言,无创产前基因检测

会对胎儿DNA浓度进行测定。如孕妇体内提取的血浆中胎儿DNA浓度未达到标准,会要求重新抽血处理。若多次均无法达到要求的浓度,则建议其他途径进行检测。

“检测胎儿DNA浓度是一个自主性的行为。卫计委在文件中没有直接对胎儿DNA的浓度进行相关规定。”贝瑞基因CEO周代星告诉记者,公司在实际操作中会对浓度进行检测。

他指出,目前精确检测胎儿DNA浓度两种主流方式是长度检测和点突变检测。如果采用长度检测方法,需要检测DNA双端,测序成本会大大提高。如果用点突变检测,需要用大量数据训练软件,并经过大量运算最终确定算法,在临床实际操作中具有一定门槛。但总体来说,国内主流机构基本具备检测DNA浓度的技术能力。

金域医学截至发稿前并未答复,达安基因表示目前处于中报披露期不太方便。中报披露后再与记者联系。

如果没有做浓度检测,抽取样品中血浆浓度低于4%的可能性有多高?卢煜明指出,怀孕周数越长,胎儿DNA浓度越高。如果是在怀孕第十周以后抽取血液样本,大概有99%的孕妇其血液中胎儿DNA浓度超过4%,1%的孕妇低于4%。

卫计委下发的《孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范》中明确要求,孕妇外周血胎儿游离DNA检测适应孕周为12+0~22+6周。记者拿到的华大基因、金域检验的检测单均列明,检测可在孕12周开始进行。如果孕周推测不准,或孕周过小,可能影响检测

结果准确性。广州达安检测单则明确备注道,该方法不适宜检测孕周小于12+0的孕妇。

周代星认为,生物学的原因对技术造成了一定限制,这并非是一个完美技术。“NIPT从母亲的血浆里检测胎儿DNA,这部分DNA大都是由胎盘释放的,有极小的概率会与胎儿自身DNA不符。这都可能导致假阴性和假阳性的发生。”

卢煜明则指出,假阳性发生的一个重要原因就是胎盘释放的染色体与胎儿染色体不同。比如,出现胎盘嵌入体,一个人体内有过一种模式的染色体,可能胎盘里的染色体不正常,但胎儿其他部位的染色体正常。由于NIPT是研究胎盘中的DNA,所以检测可能呈现假阳性。

NIPT检测方法可能导致假阳性的出现。“NIPT过程是取孕妇的血浆做DNA排序,做完之后计算孕妇血液中不同染色体的比例。如果胎儿患有唐氏综合征,21号染色体多出一条,染色体比例会高于正常范围。发明这项技术时,我们根据统计学方法设定这个范围。但实际上,不排除极少数个体染色体比例在正常范围之外,但并未出现染色体数量异常。”卢煜明告诉中国证券报记者。此外,母亲一些身体状况,比如罹患癌症、免疫系统疾病以及接受过器官移植等,也可能导致产生假阴性或假阳性。

在“无创假阴”的家长看来,相比假阳性,假阴性的后果更严重。因为假阳性可以引起重视,从而通过羊水穿刺、脐血穿刺等进一步确认。但是,如果是假阴性

则可能导致疏忽后续检查,最后生下染色体异常的宝宝。

“目前来看,胎盘嵌合也是导致无创假阴的一个主要因素。”周代星说,一小部分胎儿是从双胞胎起源,发育过程中只存留下另一个胎儿。如果这对双胞胎有一个患有唐氏综合征,另一个正常,则胎盘上有可能嵌合两类细胞。有一种很罕见的情况是最后存留的是唐氏综合征胎儿,但胎盘上大部分是消逝的正常胎儿的细胞。这种情况可能导致假阴性。

卢煜明认为,如果样本统计项不具有代表性也可能导致假阴性的出现。国内做NIPT主要方式是进行随机的全基因组排序。“这不是说把所有染色体的DNA图谱都做出来,而是从样本中抽取一部分血浆去做,从血浆中再抽取部分DNA片段进行排序,”卢煜明指出,如果抽取DNA代表性不足则可能检测呈现假阴性。

卢煜明强调,从技术原理上看,NIPT技术出现“漏检”的概率很小。以唐氏综合征为例,NIPT筛查准确率大概为99.3%-99.5%。这个准确性主要指灵敏度和特异性两个指标。其中,灵敏度约为99.3%,特异性约为99.9%。周代星透露,2017年底产前诊断机构完成的100多万例临床病例的回访数据表明,筛查唐氏综合征方面,贝瑞基因NIPT技术的灵敏度达99.51%,特异性达99.97%。华大基因方面,2017年年报显示,截至报告期末公司生育产品临床检测累积服务近500万人,已完成超过280万例无创产前基因检测,检出率和特异性均大于99%。