



周產期會訊

發行人: 許德耀 電話: (02) 2381-6198 郵政劃撥帳號: 12420668
秘書長: 蔡明松 手機: 0911-366551 戶名: 中華民國周產期醫學會
會訊主編: 蘇怡寧 傳真: (02) 2381-4234 會址: 台北市常德街一號景福館2樓203室
http: www.tsop.org.tw
E-mail: tsop23816198@gmail.com

2009年
第一五七期

參加第八屆FMF世界會議心得

台北市立聯合醫院婦幼院區 蕭慶華 醫師

這是我連續第六年參加FMF的第八屆世界會議，本來以為台大林佳慧醫師計畫今年也來斯洛凡尼亞參加此會議，但是由於參加的人員太熱門了，她又太晚預訂飯店以致於訂不到住宿處；最後只有我及致力於母胎醫學的張東曜醫師帶她女兒一道參加。因此，只好由我向各位前輩們報告會議心得。會議於斯洛凡尼亞(Slovenia)海濱之Portorose的Bernadin Hotel舉行，風光明媚，標準歐美人是夏天渡假曬太陽、游泳的好地方。

各位都知道Nicolaides教授是第一孕期篩檢的大師，如果全部超音波軟體標誌都通過認證且運用於篩檢的話，第一孕期染色體異常篩檢的偵測率可以達到95-96%。今年第一孕期篩檢強調兩個重點。第一：free β -hCG & PAPP-A以血清方式儲存於攝氏溫度5下，可以保存一星期，準確度差別不大；但是free β -hCG受溫度影響很大，如果溫度20度最多兩天，溫度30度僅兩小時。PAPP-A則受溫度影響較小，即使30度仍可穩定一星期。第二：十年前以孕婦方便為主的OSCAR篩檢方式思維，如今以提高篩檢偵測率及降低假陽性為主的篩檢方式，方法是於胎兒8-10週時，抽母血檢驗free β -hCG & PAPP-A，於12週掃描頸部透明帶(NT)，這種方式稱之為First Trimester Sequential Screening。此方式目前林口長庚與台北市立婦幼醫院已實施之中；方便之處是讓孕婦於第一次產檢時，只要CRL大於17mm(胎兒8週)，可與一般抽驗母血項目可合併，順便約孕婦於12週做NT。唐氏症篩檢最早從英國Wald Nicolas、Howard Cuckle、Kevin Spencer開啓第二孕期篩檢，近幾年轉由Kypros Nicolaides、Kevin Spencer以NT配合生化實施第一孕期染色體異常篩檢，美國幾乎都是跟在後頭實施。大會今年也邀請了英國NHS Fetal Anomaly Screening Programme Committee 主持人Patricia Ward，說明英國歷年來與未來的政策。2003至2010年以第一孕期篩檢為主，篩檢偵測率高於75%、假陽性低於3%為標準，此標準他們已經做到了。2010年後的標準為篩檢偵測率高於90%、假陽性低於2%且Cut off值訂於1/150。看看英國的政策，畢竟！專注完美，近乎苛求。是醫師為病人應盡力的方針，豈不是嗎？

另外，此次會議內容研究第一孕期(11-14週)染色體異常篩檢的範疇也不斷的擴張，以強調超音波與free β -hCG & PAPP-A它具有更多元功能性的醫學價值；諸如，妊娠高血壓、心臟缺損、生長遲緩、早產...等。由歐洲跨國篩檢及異常通報系統得知，歐洲人發現異常胎兒，而中止妊娠大約僅六成；其中以法國八成最高、北愛爾蘭最低僅三成。因此於胎兒治療方面，也就有發展的空間，包括先天性橫膈缺損以及雙胞胎兒TTTS治療，此次會議也集合歐洲衆大師，以一天的時間討論此主題。當然胎兒心臟超音波檢查也是重點，目前研究主題為STIC也朝第一孕期方向，這種電子化的超音波機器時代變化得讓人眼花撩亂。今年起新式超音波監視器(Monitor)CRL將成絕響，幾乎都是全頻LCD的天下了。

產前基因晶片之比較與省思

臺大醫院 林芯仔醫師/蘇怡寧醫師

科技的進步為生活帶來許多便利，提升生活品質，但是，選擇多樣化的另一面影響，卻是不知從何做決定，而這情形似乎也在基因檢測上發生了。生物晶片之應用，這幾年風起雲湧，改變了我們對產前診斷之思維與極限，當然不可否認也帶來了一些迷思與衝擊，目前生物晶片的發展日新月异，一直不斷有更高密度、更多探針、更昂貴的新式晶片研發問世，但是，是不是愈多探針就愈好愈準確？事實上，並非如此，可以說每一種晶片有它適用的場合。簡單來說，當探針的密度愈高，自然解析度就愈高，可以看到更多之細微基因變化，但是這裡要談到一個重要之概念，基因劑量的變化並不同於疾病或異常，人與人之間會有身高、髮色、虹膜顏色等等的不同，就是負責調控這些臨床表現的基因劑量不同所造成，也就是說，基因劑量的改變在某些時候並不會引起疾病或異常，此時，基因劑量的變化即是所謂的「正常變異(Copy number variation, CNV)」。

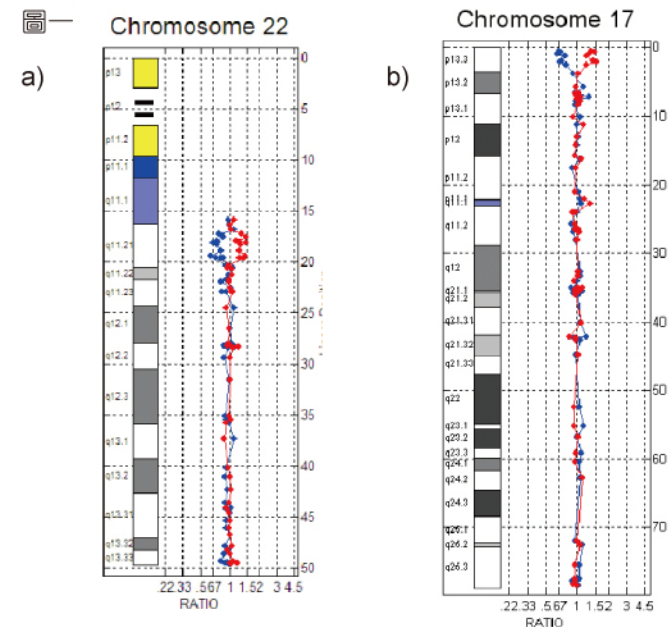
所以，當我們希望藉由更高密度的晶片看到更多之細微基因變異所引起之疾病時，相對必須付出之代價就是看到

更多“無害”正常變異之CNV，根據統計，當我們想多偵測2%之疾病，平均一個人將會看到多30個以上之CNV，而這些CNV將嚴重干擾判讀，甚至造成不必要之困擾與恐慌，所以我們這裡必須闡述的是所謂“最適當解析度”(just enough resolution)之概念，也就是說，每種晶片都有他最適合之用途，我們必須選擇特定之晶片，用在特定之用途，而且也沒有任何一種晶片可以符合所有之用途。

以下將針對台大醫院分子實驗室已進行臨床應用的三種晶片做一簡單之介紹。

一、BAC array 晶片式比較基因體分析技術 (CMDX, U.S.A.):

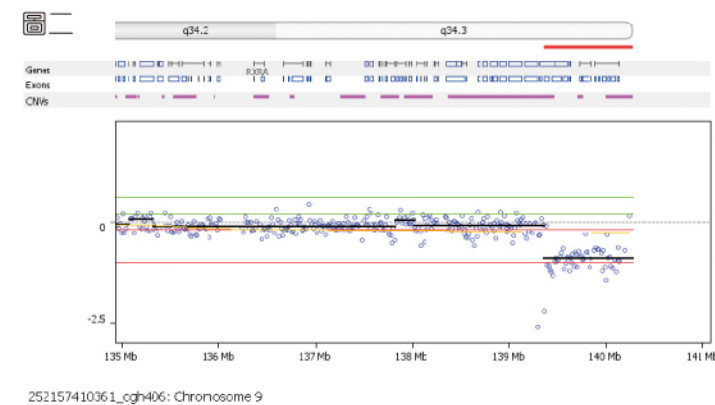
目前我們所使用的CA3000是將三千組細菌質體成長度約100-200Kb的探針點在晶片上，將待測檢體與參考用標準檢體分別標上不同的螢光(紅光與藍光)再與晶片探針進行雜合，如此一來，若是兩方檢體的基因劑量相當，則會在該點呈現黃色，若是有一方基因劑量出現增加或減少，則會呈現出紅色或藍色的結果。這三千組的探針分散在各條染色體，並且針對產前可能發生微缺失或微重複的片段又特別增加探針密度，可以提供約1Mb的解析度，此外，在41個染色體末段(subtelomeric)區域，至少有5Mb的區段會有平均290Kb的解析度；在43個染色體中心結附近(pericentromeric)，亦可以提供平均349Kb的解析度。為了確保基因劑量改變的存在，晶片設計上將每組探針進行三重複，並且每一個待測檢體會進行兩組實驗，一次標上紅光，一次標上藍光，兩組實驗應該都要看到相同位置的基因劑量改變。因此，假設當其中一組實驗發現有紅光增加時，另一組實驗就應該會看到藍光增加，若兩組實驗都確認了相同的變化，我們就可以確定的確存在著基因劑量的變化，這樣的好處是可以提高實驗的可信度，比較不會受到雜訊的干擾而誤判。



說明：圖一為兩個經由BAC array產前診斷出具有微片段缺失的個案。a)31歲的孕婦於妊娠26周經超音波發現胎兒具有心室中膈缺損，經抽取臍帶血進行基因晶片分析後發現胎兒於第二十二號染色體有一段2.6Mb的微片段缺失，確診為CATCH22症候群，此胎兒出生後可能有面部發育異常、內分泌與免疫系統異常、學習障礙和智能障礙等問題。b)28歲的孕婦於妊娠35周時經產前超音波發現其頭圍較小，轉診至台大醫院接受BAC array晶片檢查，發現其第十七號染色體具有一段長1.2Mb的微缺失，確診為Miller Dieker Syndrome，此類胎兒出生後亦會有發育遲緩、智能障礙、癲癇，且大部份僅存活至嬰幼兒期而已。

二、寡核苷酸比較式基因體晶片 (CMDX, U.S.A.):

此晶片的原理和BAC array 晶片一樣，是比較待測檢體與標準檢體的基因劑量多寡來判斷結果，不過晶片上的探針改成十萬條獨特的寡核苷酸探針，平均每35Kb的距離就會有一個探針，而在125種先天性疾病的相關基因以及染色體末端與中心體附近上，則會增加探針數密度到每10Kb的距離就會有一個探針。探針的密度增加，就可以幫助我們更精確地定位出有問題的片段是始於哪裡，終於何處，這樣對其上所含有的基因訊息也較能清楚掌握，並且可以比較出每個個案其發生問題的片段大小是否有所差異，以進行臨床症狀的比較與預後的分析。

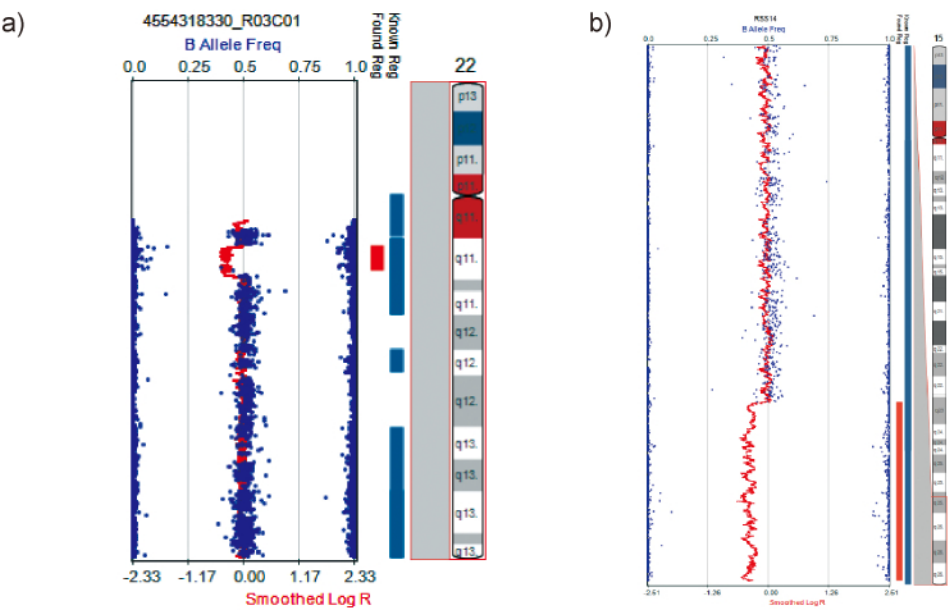


說明：此孕婦因高齡接受羊膜穿刺檢查，染色體報告為平衡性轉位，46,XX,t(9;13)(q34.3;q12.1)dn，然由於非遺傳自父母親，建議其進一步接受寡核苷酸比較式基因體晶片檢查，結果發現其在第九號染色體斷點處存在長度為0.9Mb的微缺失，由於此片段太小，無法由傳統染色體檢查發現。根據文獻報告，9q34.3微缺失症候群的小孩會有發育遲緩、學習障礙以及肌肉張力過低的現象，也有可能具有心臟和泌尿道發育異常等多發性的問題。

三、寡核苷酸基因晶片(Illumina,U.S.A.):

此晶片上的三十萬個探針分布在**46**條染色體，平均每**6.2Kb**就有一個探針，並特別針對**400**個與發展遲緩、智能障礙等先天疾病相關基因作設計。此晶片所採用「引子延長」的技術不同於前述兩者，它並不是利用待測檢體和標準檢體去競爭探針，而是將四種不同的**ddNTP**標上不同的螢光，進行生化反應去得知待測點位的核苷酸為何，利用晶片上三十萬個基因多型性變異(**SNP**)的點位資料，去判斷基因劑量的改變，除此之外，它還可以用來判斷基因異質性(**loss of heterozygosity**)。然而，這三十萬個核苷酸的多型性變異程度不同，設計上與判讀上比較困難，目前此晶片主要是用來進行研究，尚不建議直接應用於臨床第一線。

圖三



說明:a)為圖一a)個案以寡核苷酸基因晶片(Illumina,U.S.A.)進行斷點確認的結果。b)以寡核苷酸基因晶片(Illumina,U.S.A.)進行生長遲緩患者之基因診斷，由於此患者有可能為基因甲基化異常或單親源染色體導致缺乏基因異質性(LOH)，因此使用此種晶片一方面檢查是否具有微片段缺失，一方面也可以檢查是否有單一親源染色體(UPD)的情況。此個案經基因晶片發現在第15號染色體末段具有一段4.4Mb的微片段缺失。

當晶片的使用從實驗室慢慢走向臨床，不管是BAC比較式基因體晶片還是各家的寡核苷酸晶片，都為大家帶來了無限的期待與困惑，高密度的oligo array可以偵測到許多微小片段的改變，卻也讓人不知如何判斷其改變的臨床意義到底為何。Koen Devriendt在2009年歐洲人類遺傳學會中指出，當大家一窩蜂地想要將愈來愈高密度的基因晶片運用到臨床時，就會發現到愈來愈多不知如何處理與解釋的基因變異訊息，當使用6K的高密度基因晶片時平均一個檢體會發現到122個正常的基因變異，這個數字讓基因學家必須好好思考要如何去判讀一個晶片的報告。反觀目前所使用在臨床的BAC array CGH，雖然解析度只有1Mb左右，但絕大部分的微缺失症候群或微重複疾病，都可以被這種晶片檢測出來，同時它也不會偵測到太多正常的基因變異，因此這一類的晶片應該是目前比較適合用於「產前篩檢」的晶片。

當我們使用3000個探針的BAC array來偵測先天性發育遲緩的患者時，約可以找到15%的致病原因，若將探針密度提昇到一百萬個點的時候，我們到底可以提升多少的診斷率?是不是可以和我們所使用的探針密度成正比呢?答案是，不行。2009年Itsara等人對2493位正常人進行高密度的基因晶片檢測，結果發現平均每一個正常人會有5.5個區域出現大段的正常變異，甚至有大於1%的正常人會有25個以上的正常變異。那麼，當我們將這些晶片使用在患者身上時，要如何區分我們偵測到的變化是導致疾病的原因，還是正常的變異呢?這正是目前晶片使用上最大的困擾，問題解決的方式當然有賴於正常變異區域資料庫的建立，但是選擇最合適的基因晶片則可以減少這一方面的困擾。

另一方面，寡核苷酸基因晶片並非一無用處，若能妥善應用，它可以與BAC array 晶片式比較基因體分析技術相輔相成。首先，由於它的探針密度高，因此可以更確切地提供斷點的位置。其次，對於較小片段的基因劑量改變，寡核苷酸基因晶片也較有機會偵測得出來，舉例來說，近日有一個案經傳統染色體檢查發現為平衡性染色體轉位的個案(圖二)，但由寡核苷酸基因晶片卻發現其染色體斷點處仍然存在有0.9Mb的基因片段缺失，所以該個案其實是「不平衡性轉位」，文獻報告亦指出該區域的缺失確實會造成臨床症狀。最後也最重要的是，像上述第三種利用引子延長技術的晶片，非但可以偵測基因劑量的改變，亦可以偵測出基因異質性(heterozygosity)，例如單親源性染色體(uniparental disomy)或者loss of heterozygosity。也因此，臨床醫師應該根據個案疾病的不同選擇合適的基因晶片。

	傳統羊水染色體檢查	BAC array 比較基因體晶片	寡核苷酸比較式基因體晶片	寡核苷酸基因晶片
優勢	可以偵測平衡性染色體轉位	1.解析度約有1Mb 2.適用於第一線產前篩檢	探針密度高，可以提供確切斷點	1.探針密度高，可以提供確切斷點 2.可以偵測出基因異質性
缺點	解析度只有5-10Mb左右，無法偵測微缺失/重複症候群	片段小於1Mb的變化則無法偵測	費用較高，且較BAC array更易偵測到正常變異	容易偵測到正常變異

周產期專科醫師請注意有關換證注意事項

(專科醫師申請換證時，六年內需滿180學分。)

- 1.經本會甄審合格之周產期專科醫師，應每六年提出申請再審查，經本會甄審委員會審查認定資格後，更換證書有效期限，並繳納證書工本費新台幣貳仟元整。
- 2.如果會員換證不符本會繼續教育積分認定辦法中之換證規定，需於一年期限內補完學分，若一年後仍未補齊學分，則取消資格，並需重新參加本會專科醫師之筆試及口試，通過後始能再度取得本會專科醫師證書。
- 3.請自行上網(www.tsop.org.tw)查詢積分總額(附上個人密碼以便自行上網查詢)

學會將於98年11月8日星期日假國泰醫院(國泰人壽大樓B1國際會議廳)舉辦98年度周產期專科醫師甄試，符合考試資格之會員，學會將於9月掛號寄出或請自行上網下載專科醫師甄試相關報名辦法

生命之寶 只選生寶 臍帶血銀行領導品牌

贊助單位: 生寶臍帶血銀行 0800-333-668