

## 第四章：遗传评估

Megan Sutherland, Carlos De Brasi, Barbara A. Konkle, Shrimati Shetty, Glenn F. Pierce, Alok Srivastava

### 建议

#### 4.1 | 介绍

##### 建议 4.1.1

对于血友病患者，WFH 建议进行基因检测，以确定与其疾病相关的特定潜在遗传变异。**CB**

##### 建议 4.1.2

对于血友病的肯定携带者，血友病患者或潜在血友病携带者的“高危”女性亲属，WFH 建议对先前确定的 *F8* 或 *F9* 基因变异进行基因检测。**CB**

##### 建议 4.1.3

对于具有低表型凝血 *FVIII* 或 *FIX* 水平的女性，WFH 建议对该表型的遗传/表观遗传基础进行研究。**CB**

##### 建议 4.1.4

对于血友病的肯定携带者，血友病患者或潜在血友病携带者的“高危”女性亲属，WFH 建议纳入详细的家谱，以支持基因检测转诊。**CB**

##### 建议 4.1.5

对于疑似血友病患者和潜在血友病携带者，WFH 强烈建议在转诊至基因检测之前，对 *FVIII* 或 *FIX* 水平、*VWF* 抗原和 *VWF* 活性进行表型筛查。**CB**

##### 建议 4.1.6

对于血友病患者、血友病肯定携带者、“高危”女性亲属或凝血因子水平较低的个人，WFH 强烈建议在基因检测之前进行详细的遗传咨询。

- **备注：**遗传咨询应包括根据现有的实践方法对分子结果的实验限制进行讨论。
- **备注：**如果研究实验室使用的方法（例如，下一代测序[NGS]）可以检测到这种基因变异，遗传咨询应包括讨论偶然发现 *F8* 或 *F9* 以外基因的可能性。
- **备注：**如果可能，应由遗传顾问进行遗传咨询。如果没有遗传顾问，可以由了解血友病遗传学的专业医护人员提供遗传咨询。**CB**

##### 建议 4.1.7

对于所有转诊至基因检测的患者，WFH 强烈建议获得患者、父母或法定监护人的知情同意。既需要得到开展检测的许可，也需要教育患者，确保他们充分了解检测程序、检测的益处和限制，以及检测结果的可能后果。

- **备注：**根据当地政策和惯例，临床医生或遗传顾问可能需要获得书面的知情同意，并将其记录在案。**CB**

#### 4.2 | 遗传评估的适应症

##### 建议 4.2.1

对于接受基因检测的疑似或确诊血友病患者，WFH 建议对指示病例（先证者）进行基因分型，以确定潜在的基因变异。**CB**

##### 建议 4.2.2

对于血友病的肯定携带者和受感染先证者或潜在血友病携带者的“高危”女性亲属，WFH 建议就其成为携带者的风险进行遗传咨询。**CB**

##### 建议 4.2.3

对于所有血友病的肯定携带者和血友病患者或潜在血友病携带者的“高危”女性亲属，WFH 建议测量表型凝血因子水平。**CB**

## 第四章：遗传评估

### 建议 4.2.4

对于所有血友病的肯定携带者和血友病患者的“高危”女性亲属，WFH 建议对先前确定的 *F8* 或 *F9* 基因变异进行基因检测。<sup>CB</sup>

### 建议 4.2.5

对于具有低表型凝血 *FVIII* 或 *FIX* 水平的女性，WFH 建议对该表型的遗传/表观遗传基础进行研究。<sup>CB</sup>

### 建议 4.2.6

对于携带 *F8* 或 *F9* 变异且怀有男性胎儿的怀孕女性，WFH 建议提供产前诊断 (PND) 来确定胎儿的血友病状态。

- 备注：遗传咨询应包括讨论 PND 程序对怀孕的风险。
- 备注：请务必了解并遵守提供服务的国家就相关程序的法律。<sup>CB</sup>

### 建议 4.2.7

对于希望在出生前为血友病患者做好准备或希望终止受影响胎儿分娩的家庭，WFH 建议提供绒毛膜取样或羊膜穿刺术的产前诊断 (PND)。

- 备注：请务必了解并遵守提供服务的国家就相关程序的法律。
- 备注：通过妊娠后期羊膜穿刺术，可以为妊娠早期或妊娠后期提供 PND，以指导受影响患儿分娩的管理。<sup>CB</sup>

### 建议 4.2.8

对于疑似或确诊的血友病患者，WFH 建议进行基因检测；对基因变异的了解可能有助于预测抑制物发展的风险、免疫耐受诱导 (ITI) 反应和表型严重程度的深度，并确定是否可用基因操作技术。<sup>CB</sup>

## 4.3 | 先证者基因检测策略

### 建议 4.3.1

对于男性先证者，WFH 建议根据先证者的凝血因子基线表型水平进行基因检测，以显示疾病的严重程度。

- 在重度 A 型血友病 (*FVIII:C* <1 IU/dL) 或中度 A 型血友病伴低交界因子活性水平 (*FVIII:C* 1-3 IU/dL) 的患者中，应首先进行 *F8* 内含子 22 倒位和 *F8* 内含子 1 倒位分析。
- 对于不能检测到复发性倒位（即 *F8* 内含子 22 和内含子 1 倒位）的重度 A 型血友病患者，应进行小型变异的筛选和鉴定，包括覆盖 *F8* 基本区域的单核苷酸变异 (SNV) 和小型插入、重复或缺失变异，包括 26 个外显子、外显子/内含子边界和 5' 和 3' 非翻译区。如果这些检测仍然无法提供信息，患者应筛查拷贝数变异 (CNV)，包括大型 *F8* 缺失、重复或复杂的重排。
- 对于中度 (*FVIII:C* 1-5 IU/dL) 或轻度 (*FVIII:C* 5-40 IU/dL) A 型血友病患者，应该先筛选和鉴定覆盖 *F8* 必需区的小型变异（即 SNV 和小型插入、重复或缺失），包括 26 个外显子，外显子/内含子边界以及 5' 和 3' 非翻译区。如果这些检测仍然无法提供信息，患者应筛查 *F8* CNV。
- 在所有患有 B 型血友病（即重度 [*FIX:C* <1 IU/dL]、中度 [*FIX:C* 1-5 IU/dL] 和轻度 [*FIX:C* 5-40 IU/dL] B 型血友病的患者），应先筛选和鉴定覆盖 *F9* 必需区的小型变异（即 SNV 和小型插入、重复或缺失），包括 8 个外显子、外显子/内含子边界，以及 5' 和 3' 非翻译区。如果这些检测仍然无法提供信息，患者应筛查 *F9* CNV。<sup>CB</sup>

## 4.4 | 遗传评估技术

### 建议 4.4.1

对于患有重度 A 型血友病或中度 A 型血友病且具有较低的交界因子活性水平 (*FVIII:C* 1-3 IU/dL) 的患者，WFH 建议在一线基因检测中检测 *F8* 内含子 22 倒位和 *F8* 内含子 1 倒位。

- 备注：根据现有的技术专长和资源，可以使用不同的技术来检测 *F8* 内含子 22 倒位和内含子 1 倒位。
- 备注：应通过 DNA 样本的独立分析检测来确认所有结果。<sup>CB</sup>

## 第四章：遗传评估

### 建议 4.4.2

对于F8内含子22倒位和F8内含子1倒位均为阴性的重度A型血友病患者，WFH建议对F8的必需区进行全基因筛选，包括26个外显子、拼接边界、启动子和5'和3'非翻译区。

- **备注：**例如，根据可用资源，全F8基因筛选可以采取聚合酶链反应(PCR)和桑格测序或下一代测序(NGS)的形式。如果资源有限，实验室可以在桑格测序之前选择一种经济有效的筛选方法。
- **备注：**在选择分析技术时，实验室必须了解所使用方法的灵敏度和特异性，以及生成解释性报告所需的周转时间。
- **备注：**在分析使用桑格测序检测到变异时，应在5'（正向）和3'（反向）方向确认是否存在变异，特别是在杂合子携带者中。
- **备注：**应通过DNA样本的独立分析检测来确认所有结果。CB

### 建议 4.4.3

对于B型血友病患者，WFH建议对F9的必需区进行全基因筛选，包括8个外显子、拼接边界、启动子和5'和3'非翻译区。

- **备注：**例如，根据可用资源，全F9基因筛选可以采取聚合酶链反应(PCR)和桑格测序或下一代测序(NGS)的形式。如果资源有限，实验室可以在桑格测序之前选择一种经济有效的筛选方法。
- **备注：**在选择分析技术时，实验室必须了解所使用方法的灵敏度和特异性，以及生成解释性报告所需的周转时间。
- **备注：**在分析使用桑格测序检测到变异时，应在5'（正向）和3'（反向）方向确认是否存在变异，特别是在杂合子携带者中。
- **备注：**应通过DNA样本的独立分析检测来确认所有结果。CB

### 建议 4.4.4

如果A型或B型血友病患者的倒位分析或全基因测序均未检测到变异，WFH建议检查大型缺失或重复事件。

- **备注：**可以使用不同的验证技术分析拷贝数变异(CNV)，这取决于实验室可用的资源。根据该技术的实际局限性，在提供结果时应提供误差估计（如果适用）。
- **备注：**应通过DNA样本的独立分析检测来确认所有结果。CB

### 建议 4.4.5

对于产前检测，WFH建议对胎儿样本进行母体细胞污染检测。

- **备注：**根据现有的技术专长和资源，可以使用不同的技术进行母体细胞污染检测。例如，可以使用多常染色体短串联重复序列(STR)标志物。
- **备注：**在选择分析技术时，实验室必须了解所使用方法的灵敏度和特异性，以及生成解释性报告所需的周转时间。CB

## 4.5 | 变异的分类和描述

### 建议 4.5.1

WFH建议根据美国医学遗传学和基因组学学院(ACMG)的指南对变异进行分类。

- **备注：**ClinGen是一个由美国国立卫生研究院资助的资源机构，致力于建立定义基因和变异的临床相关性的中心资源，它已经组建了一个国际专家委员会，将ACMG建议应用于F8和F9变异，从而得到更多有关血友病的具体建议。CB

### 建议 4.5.2

WFH建议使用人类基因组变异学会(HGVS)命名法来描述变异。CB

## 4.6 | 解释性报告

### 建议 4.6.1

WFH建议解释性报告应包括：

- 患者信息包括患者姓名、出生日期、开具医嘱的临床医生、样本采集日期、诊断、基线因子水平和家谱；

## 第四章：遗传评估

- 分析方法的描述、参考文献（如适用）、检测的局限性以及用于分析的参考基因组序列；
- 结果包括人类基因组变异协会 (HGVS) 命名法和美国医学遗传和基因组学学院 (ACMG) 变异分类中的 DNA 变异；以及
- 应采用对开具医嘱的临床医生有用的形式解释检测结果，包括对后续检测的建议，检测结果对患者和家属的影响，以及遗传咨询的作用。CB

### 建议 4.6.2

对于所有接受血友病基因检测的个体的所有解释性报告，WFH 建议，开具医嘱的临床医生和出具报告的科学家应根据需要讨论所报告基因型的潜在表型后果。CB

## 4.7 | 未检测到致病变异时的策略

### 建议 4.7.1

对于已确诊为血友病，但使用当前的诊断基因检测未检测到F8或F9变异的患者，WFH 建议考虑其他遗传原因（如深层内含子变异）。

• **备注：**目前的检测技术不断发展，有望在不久的将来将下一代测序 (NGS) 和全基因组测序 (WGS) 包括在内。

• **备注：**应仅使用 NGS 和 WGS 技术，但必须确定该技术可以检测到结构变异。CB

### 建议 4.7.2

对于血友病患者的“高危”女性亲属，如果通过标准的诊断基因检测没有检测到家族变异，特别是对于有受影响患儿的女性亲属，WFH 建议在遗传咨询期间考虑并讨论嵌合型的可能性。CB

### 建议 4.7.3

如果 A 型血友病患者的遗传模式不是决定性的，并且当前诊断测试未检测到倒位或变异，WFH 建议检查其他潜在的诊断，包括 2N 型血管性血友病 (VWD)、联合 FV 和 FVIII 缺乏或其他类型的 VWD。CB

### 建议 4.7.4

对于具有低表型凝血 FVIII 或 FIX 水平的有症状女性，

如果只发现了一个致病变异，WFH 建议进行 X 染色体失活模式的探索性试验（如果在当地可行）。CB

## 4.8 | 质量保证

### 建议 4.8.1

WFH 建议，基因诊断实验室应接受经批准的机构的定期认证。CB

### 建议 4.8.2

WFH 建议在实验室内对基因检测进行内部质量控制 (IQC)，并定期进行记录。CB

### 建议 4.8.3

WFH 建议实验室参与其提供的基因检测的外部质量评价方法 (EQAS)。

• **备注：**参与 EQAS 可以确保提供稳固可靠的检测。可以通过参与正式的 EQAS 或实验室之间的非正式样本轮换来参与该检测。CB

CB, 基于共识; VWF, 血管性血友病因子; NGS, 下一代测序; PND, 产前诊断; ITI, 免疫耐受诱导; CNV, 拷贝数变异; SNV, 单核苷酸变异; DNA, 脱氧核糖核酸; PCR, 聚合酶链反应; STR, 短串联重复序列; ACMG, 美国医学遗传学和基因组学学院; HGVS, 人类基因组变异学会; WGS, 全基因组测序; IQC, 内部质量控制; EQAS, 外部质量评价方法。