

• 专家述评 •

全基因组测序技术在临床诊断中的应用*

姚如恩^{1,2}, 傅启华^{2▲}, 郁婷婷^{1,2△}

1. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心遗传分子诊断科, 上海 200127;

2. 上海市儿科临床分子诊断重点实验室, 上海 200127

摘要:全基因组测序技术以其技术原理和检测范围为主要优势, 已经在遗传病基因诊断、肿瘤基因检测、个体化用药研究等不同场景中展现出强大的应用价值。虽然全基因组测序技术相对于其他基因检测技术拥有更好的诊断效率、检测灵敏度和准确性等特点, 但作为新技术必然存在应用及推广过程中的困难与挑战。该文主要述评了全基因组测序技术在临床诊断及其他相关领域中的应用及部分实例, 同时为进一步优化和完善该技术的应用前景, 详细探讨了该技术的优势与挑战。

关键词:全基因组测序; 遗传病; 肿瘤基因组; 药物基因组; 遗传咨询

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.001

中图法分类号:R446

文章编号:1673-4130(2023)17-2049-04

文献标志码:A

Application of whole genome sequencing technology in clinical diagnosis*

YAO Ruen^{1,2}, FU Qihua^{2▲}, YU Tingting^{1,2△}

1. Department of Genetic Molecular Diagnosis, Shanghai Children's Medical Center Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnostics for Pediatrics, Shanghai 200127, China

Abstract: Whole genome sequencing technology, with its technical principle and detection range as its main advantages, has shown strong application value in different scenarios such as genetic disease gene diagnosis, oncogene detection, and personalized drug research. Although whole genome sequencing technology has better diagnostic efficiency, detection sensitivity, and accuracy compared to other genetic testing technologies, as a new technology, there are inevitably difficulties and challenges in the application and promotion process. This article mainly reviews the practical application examples of whole genome sequencing technology in clinical diagnosis and other related fields. At the same time, to further optimize and improve the application prospects of this technology, the advantages and challenges of this technology are discussed in detail.

Key words: whole genome sequencing; genetic disease; tumor genome; drug genome; genetic counseling



郁婷婷



傅启华

全基因组测序(WGS)技术是利用计算机科学和生物技术结合的方法, 对生物体整个基因组序列进行测序, 并分析其遗传信息的基因检测技术。相比其他分子检测技术, WGS 技术具有检测基因组所有区域内几乎所有类型遗传变异的重要优势。近年来, 基因测序技术的快速发展, 尤其是国产测序仪的不断推出

* 基金项目: 上海市浦东新区卫健委重点学科群(PWZxq2022-07)。

专家简介:郁婷婷, 医学博士, 副研究员, 硕士生导师。上海儿童医学中心遗传分子诊断科副主任(主持工作)。哈佛大学医学院附属波士顿儿童医院以及哈佛大学口腔医学院访问学者。中华医学会儿科学分会罕见病青年学组副组长、上海市医学会医学遗传学分会青年委员、上海市医学会分子诊断专科分会青年委员、上海市医师协会检验医师分会委员等。主要从事遗传病/罕见病的基因诊断、遗传咨询和分子发病机制研究, 承担国家自然科学基金 3 项、省部级科研项目 2 项, 在 *Nucleic Acids Research*、*Journal of Bone and Mineral Research* 等杂志发表 SCI 论文三十余篇, 曾获教育部高等学校科学研究优秀成果奖、全国妇幼保健科学技术奖和上海市科技进步奖等, 入选上海市浦江人才、上海卫生系统优秀青年人才等人才培养计划。

专家简介:傅启华, 医学博士, 教授, 博士生导师。上海交通大学医学院科技发展处处长, 上海交通大学医学院儿科转化医学研究所副所长、出生缺陷研究室主任, 上海市儿科临床分子诊断重点实验室主任。兼任中国妇幼保健协会常务理事/临床诊断与实验医学分会主任委员、中国医师协会医学遗传医师分会常务委员、中国遗传学会遗传咨询分会委员、中华医学会医学遗传学分会遗传与基因组学学组副组长、上海市遗传学会常务理事/遗传与分子诊断专委会主任委员、上海市医学会输血分会主任委员等。

△ 通信作者, E-mail: yutingting@scmc.com.cn. ▲ 共同通信作者, E-mail: qihuafu@126.com.

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230517.1716.004.html\(2023-05-18\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230517.1716.004.html(2023-05-18))

和优化,推动着测序成本的降低,使得 WGS 技术越来越多地应用于临床诊断。特别是在遗传病诊断领域中,WGS 技术已经逐渐展现出强大的诊断实力和广泛的应用前景。

目前在遗传病基因诊断、肿瘤基因检测、个体化用药研究等临床应用中,靶向测序和全外显子组测序(WES)已经得到临床广泛认可,但由于技术特点,这些测序方法在检测结构变异(SV)、深度内含子区等方面仍存在局限性。随着基因检测技术的大规模推广、临床研究的不断深入,复杂致病变异不断涌现,亟需更加全面的检测手段。WGS 技术对受检者基因组中的全部 DNA 序列进行检测,不仅覆盖了全部基因的外显子序列,也覆盖了内含子序列和基因间序列,同时 WGS 技术可有效避免在对相关基因组区域进行靶向富集时产生的技术性扩增偏差,不仅可以检出单个核苷酸变异(SNV)、碱基插入缺失(InDel)、拷贝数变异(CNV),还可以对 SV 进行分析,并可以常规性地对线粒体基因组(mtDNA)变异进行分析,极大地扩展了检测范围,同时其操作步骤相对简化,能更加快速地获得更完整的基因组信息。随着近年临床实践及科学研究的不断深入,WGS 技术的应用也在不断拓展,在药物基因组学、肿瘤及感染性疾病的基因组学研究等多方面的应用进一步成熟,WGS 技术已逐渐成为分子诊断领域的重要技术平台和研究工具。

1 WGS 技术在遗传病基因诊断中的应用

基因组学的发展推动了遗传病诊断的革新与转变,在已经发布的 WGS 技术临床应用专家共识中指出,WGS 技术应用于临床遗传病诊断可以提高诊断率,缩短诊断流程,节省时间及降低诊疗费用^[1]。目前 WGS 技术的适应证范围主要为高度怀疑为遗传病,但前期一种或多种遗传学检测未获得明确分子诊断的病例^[1]。多项研究和实践已经证明,WGS 技术有助于临床快速诊断疾病,帮助患者家庭避免漫长的诊断过程,从而及时为患者提供个性化的治疗方案^[2-10]。WGS 在技术上的优势及特点,已在许多遗传病的分子诊断过程中得到了充分的体现,促进了遗传病诊疗水平的提高。

1.1 出生缺陷及遗传综合征 在出生缺陷防控中,基因诊断是极其重要的一个环节,WGS 技术已经在许多出生缺陷及遗传综合征的临床诊断中展现出更好的诊断效率。在一项针对 22 例 Rubinstein-Taybi 综合征患儿的队列研究中,研究者比较了高分辨率熔解曲线分析、染色体芯片分析(CMA)、靶向测序、WES 和 WGS 等多项基因检测技术在该综合征诊断中的应用,发现其中 4 例患儿的变异位于致病基因的 5'端非翻译区、内含子区等非编码区,结合此类疾病患儿表型的多样性,提示 WGS 技术是针对此类疾病患儿诊断的有效检测技术^[2]。目前在产前诊断领域中,针对超声异常胎儿的分子诊断主要还是采用序贯检

测方法,即先采用 CMA 或低深度全基因组拷贝数测序(CNV-seq)技术分析染色体拷贝数异常,如 CMA/CNV-seq 检测结果阴性则进一步采用 WES 技术排查单基因病。一项针对 WGS 技术在产前诊断中的应用的前瞻性研究显示,在结构异常胎儿的产前诊断中,WGS 技术与 CMA/WES 序贯检测方法相比,具有检测更全的基因组变异类型、较短的报告周期以及较低的 DNA 用量等优势^[3]。

1.2 神经系统遗传病 相对于 WES 技术,WGS 技术在神经系统遗传病的基因诊断中更为高效,可获得更高的诊断率。在一项线粒体基因和核基因检测均阴性的以脑病、癫痫等神经系统异常为主要临床表现的患者队列研究中,通过 WGS 技术的应用,以及个性化定制的生物信息学分析流程、针对性的表型及功能学实验验证等,可将诊断率从 16.7% 提高到 31.4%^[4]。同时 WGS 技术对于 SV 的检测效果显著,如 PACOT 等^[5]通过 WGS 技术成功鉴定到 1 型神经纤维瘤患儿 NF1 基因启动子区域至第一外显子之间大小为 24.6 kb 的嵌合缺失。

1.3 肌肉系统疾病 WGS 技术可用于肌萎缩性肌无力症、肌营养不良等肌肉系统遗传病的诊断。临床上常见部分肌肉疾病患者,其病史和/或肌肉活检结果高度提示遗传病可能,但无法通过 WES 技术检测中得到准确的诊断,强烈提示变异可能位于致病基因深部内含子区域或其他非编码区域。如 PLUTA 等^[6]利用 WGS 技术检测发现 3 号染色体上 SGCG 基因和 LINC00621 基因的纯合子倒位变异,产生融合基因 LINC00621-SGCG,造成 SGCG 基因翻译异常,导致常染色体隐性遗传性肢带肌营养不良症 5 型;ZAUM 等^[7]和 GONÇALVES 等^[8]分别利用 WGS 技术检测发现 DMD 基因 44 号内含子和 Xq13.3 区域发生臂间倒位、第 74 号内含子和 PRDX4 基因上游区域的重排等特殊类型的变异,从而确诊以往 WES 技术检测无法明确病因的假肥大型肌营养不良病例,为此类患者的精准诊治提供了重要的遗传学证据。

1.4 遗传代谢性疾病 家族性高胆固醇血症(FH)最常见的致病基因为低密度脂蛋白受体(LDLR)基因,LDLR 基因致病性突变的人群发病率较高,大约 50% 的 LDLR 杂合子基因突变在 40~50 岁会发展为各种类型的心血管疾病,因此通过基因检测早期诊断或筛查 LDLR 基因致病性突变,对于高胆固醇血症及相关心血管系统疾病的防治有着重要的作用。在一项针对 FH 患者的分子诊断研究中,通过 WGS 技术检测到 LDLR 基因 Alu 序列之间的非等位基因同源重组引起的拷贝数重复,并准确定位变异的位置及断裂位点,从而实现精准诊断^[9]。随着测序成本的不断降低,WGS 技术以其强大的检测能力可能在未来被广泛应用于遗传代谢病的分子诊断,甚至可能扩展应用于疾病筛查。有研究通过对比常规串联质谱技术

和 WGS 技术在新生儿疾病筛查中的应用,发现 WGS 技术不仅降低了假阳性结果的发生,还在特定疾病和目标基因中发现更多具有临床意义的致病突变位点和 CNV,为未来 WGS 技术在疾病筛查领域的应用提供了新的思路^[10]。

2 WGS 技术在肿瘤精准防治中的应用

WGS 技术作为综合、全面的变异检测方法,在肿瘤基础研究和临床诊断中的应用成果层出不穷。越来越多的证据显示,该技术在肿瘤精准检测方面有其独特的优势,有充分的潜力成为肿瘤研究和临床诊断更佳的选择^[11-12]。

通过 WGS 技术检测可以得到肿瘤患者全基因组数据,揭示患者肿瘤样本中的突变特征、DNA 损伤等信息,为分析其致癌作用提供全方位视角。有研究团队利用 WGS 技术揭示了 22 种转移性实体瘤的全基因组变化特征,证明 WGS 技术在癌转移研究中发挥重要作用^[11];在肿瘤变异检测研究中,通过采用 WGS、WES 和 RNA-Seq 3 种不同的测序方法,对 78 例儿科肿瘤样本进行变异检测及交叉验证,结果显示 WGS 技术能极大提升肿瘤变异检测的灵敏度和准确度,对于低肿瘤纯度或高肿瘤内异质性样本的检测极具潜力^[12]。WGS 技术在变异检测及肿瘤变异数据深度挖掘方面展现出高度的敏感性、全面性和准确性,该技术将在肿瘤基础研究和临床诊断方面的应用发挥不可替代的重要作用。

3 WGS 技术在个体化用药中的应用

药物遗传学的揭示有望实现个体化用药,WES 技术应用于药物遗传学的不足之处在于其缺失部分编码区的捕获探针,对含鸟嘌呤胞嘧啶(GC)序列的敏感性较差,以及对于一些非外显子区域的药物遗传学变异信息无法分析,包括 CYP2C19 * 17、CYP3A5 * 3、UGT1A1 * 28 / * 37 和 VKORC1 * 2 等^[13]。而 WGS 从技术上更适合个体化用药研究,WGS 技术检测及分析可以帮助识别患者对某些药物的敏感性或耐受性,从而提高药物的疗效和降低不良反应的风险,因此个体化用药也是 WGS 技术今后临床应用的一个重要场景。

目前,WGS 技术在个体化用药中的应用包括在急性早幼粒细胞白血病患者中鉴别隐匿的融合基因和指导治疗方案^[14];在恶性肿瘤患者中,通过 WGS 技术检测分析识别体细胞驱动突变和指导抑制突变的治疗^[15];在非瘤样病变的治疗中,用于鉴别华法林敏感性生殖细胞系多态性并指导用药剂量^[16];进行多巴-反应性肌张力障碍患者的疾病鉴别诊断进而指导临床用药等^[17]。尽管 WGS 技术在个体化用药中已经取得了实质性进展,但目前其临床应用还不够完善,未来通过在基因组信息全面评估的基础上进行药物治疗的个性化评分,结合药物基因突变作用的精确预测和其他患者特异性因素,有望最终达到基于药物

基因组学的精准治疗和安全用药的目的。

4 WGS 技术在家族遗传咨询及疾病预防中的应用

通过 WGS 技术,可以评估家族成员的遗传风险,以便提供遗传咨询服务。WGS 技术可以帮助识别患者潜在的疾病风险,以便采取预防措施,降低疾病的发生风险。目前大规模人群队列的基因组学和多组学大数据在重大慢病、肿瘤和遗传病的预防、诊断和新药研发中发挥引领作用,推动个体化精准健康管理及疾病诊疗的变革。美国和欧洲已实施多项以大规模队列的基因分型、基因组测序数据为基础的医学研究计划,包括著名的英国生物样本库(UK Biobank)、肿瘤基因组图谱计划(TCGA)和多组学精准医学研究计划(TOPMed)等,已得出的一系列具有深远影响的里程碑式成果。我国的中国代谢解析计划(ChinaMAP)是目前最大规模的中国人 WGS 和表型研究^[18]。该研究通过高深度 WGS 数据和精细表型分析,以覆盖中国各地区的研究队列为基础建立高质量中国人群数据库,为疾病机制研究、预防、遗传咨询和公共卫生管理提供依据。在复杂疾病的遗传因素中,效应较强的基因变异大多存在于特定的地理区域和种族群体中,只有基于特定人群完善的数据分析才有可能对该类人群的疾病遗传风险进行精准评估,通过本地人群大规模 WGS 数据累积及临床研究的深入,也必将为疾病预防、遗传咨询、精准治疗等提供全面的基因组信息和证据。

5 WGS 技术应用与推广面临的挑战

WGS 技术具有非常重要和多样化的临床应用,但作为一项新技术,WGS 技术临床应用的全面推广仍面临着诸多挑战。

5.1 技术复杂性及数据分析困难 (1)数据规模:WGS 技术生成的数据量巨大,在解决数据存储、管理和分析问题方面需要先进的计算机技术和软件工具;(2)复杂的基因组结构:人类基因组结构复杂,其中包含大量的基因重复和变异,因此数据分析难度较高;(3)数据准确性:WGS 技术的数据准确性受到诸多因素的影响,如序列误差、技术偏差等,这需要在数据分析过程中进行充分校正;(4)缺乏标准化:WGS 技术缺乏统一的数据分析标准,这导致了数据分析结果的不一致性和可重复性差;(5)参考数据库的缺失:虽然目前有内含子区域变异、SV 等相关罕见变异类型的数据库,但相对于 WES 技术分析常用的参考数据库,WGS 技术参考数据库仍处于初步发展阶段,需要大量临床数据的累积及经验。

5.2 临床医生对于 WGS 技术检测的认识及结果解读能力 国内临床医生能力差异显著,绝大多数基层医生及非遗传专科医生对于基因检测报告的解读能力有限,因此也极大地限制了新技术如 WGS 技术等

5.3 信息安全 与所有的高通量测序技术相同,

WGS 技术所产生的数据包含个人隐私信息,如果不妥善处理,可能会造成个人隐私泄露的风险;同时 WGS 数据属于人类遗传资源管理保护体系,需严格按照《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》做到有效保护和合理利用。

5.4 检测费用 虽然高通量测序成本目前已经逐步下降,但 WGS 技术由于分析难度高等原因,大多需要核心家系同时检测,总体费用较高,对于国内多数患者来说,检测费用很难负担。

面对上述挑战和限制,通过进一步加强相关技术的研发,提升对数据的保护和管理,促进相关领域的合作和交流,遵循相关的道德和法律规定,保护个人隐私的安全,确保临床诊断的准确性和公正性,将促进 WGS 技术在临床医学领域的健康发展。WGS 技术在临床医学领域的应用具有广阔的前景,随着技术的持续完善、应用的不断规范及检测成本的降低,未来 WGS 技术在临床医学领域的应用将得到进一步提升,WGS 技术的广泛应用将为临床诊疗带来显著益处。

参考文献

[1] 中国医师协会医学遗传医师分会,中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组,等.全基因组测序在遗传病检测中的临床应用专家共识[J].中华儿科杂志,2019,57(6):419-423.

[2] ENOMOTO Y,YOKOI T,TSURUSAKI Y,et al. Divergent variant patterns among 19 patients with Rubinstein-Taybi syndrome uncovered by comprehensive genetic analysis including whole genome sequencing[J]. Clin Genet,2022,101(3):335-345.

[3] ZHOU J,YANG Z,SUN J,et al. Whole genome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies:a parallel test with chromosomal microarray plus whole exome sequencing[J]. Genes (Basel),2021,12(3):376.

[4] MACKEN W L,FALABELLA M,MCKITTRICK C,et al. Specialist multidisciplinary input maximises rare disease diagnoses from whole genome sequencing[J]. Nat Commun,2022,13(1):6324.

[5] PACOT L,PELLETIER V,CHANSAVANG A,et al. Contribution of whole genome sequencing in the molecular diagnosis of mosaic partial deletion of the NF1 gene in neurofibromatosis type 1[J]. Hum Genet,2023,142(1):1-9.

[6] PLUTA N,HOFFJAN S,ZIMMER F,et al. Homozygous inversion on chromosome 13 involving SGCG detected by short read whole genome sequencing in a patient suffering from limb-girdle muscular dystrophy[J]. Genes (Basel),2022,13(10):1752.

[7] ZAUM A K,NANDA I,KRESS W,et al. Detection of pericentric inversion with breakpoint in DMD by whole genome sequencing[J]. Mol Genet Genomic Med,2022,10(10):e2028.

[8] GONÇALVES A,FORTUNA A,ARIYUREK Y,et al. Integrating whole-genome sequencing in clinical genetics: a novel disruptive structural rearrangement identified in the Dystrophin Gene (DMD) [J]. Int J Mol Sci,2021,23(1):59.

[9] HORI M,TAKAHASHI A,HOSODA K,et al. Identification of a novel large duplication (exon2_6dup): copy number variation in the LDLR gene in a large family with familial hypercholesterolemia by whole-genome sequencing[J]. J Clin Lipidol,2022,16(2):167-172.

[10] JIAN M,WANG X,SUI Y,et al. A pilot study of assessing whole genome sequencing in newborn screening in unselected children in China[J]. Clin Transl Med,2022,12(6):e843.

[11] PRIESTLEY P,BABER J,LOLKEMA M P,et al. Pan-cancer whole-genome analyses of metastatic solid tumours[J]. Nature,2019,575(7781):210-216.

[12] RUSCH M,NAKITANDWE J,SHURTLEFF S,et al. Clinical cancer genomic profiling by three-platform sequencing of whole genome, whole exome and transcriptome[J]. Nat Commun,2018,9(1):3962.

[13] VAN DER LEE M,ALLARD W G,BOLLEN S,et al. Repurposing of diagnostic whole exome sequencing data of 1 583 individuals for clinical pharmacogenetics[J]. Clin Pharmacol Ther,2020,107(3):617-627.

[14] GAO H,XU H,WANG C,et al. Optical genome mapping for comprehensive assessment of chromosomal aberrations and discovery of new fusion genes in pediatric B-acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancers (Basel),2022,15(1):35.

[15] NAKAGAWA H,FUJITA M. Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine[J]. Cancer Sci,2018,109(3):513-522.

[16] GAEDIGK A,BOONE E C,SCHERER S E,et al. CYP2C8, CYP2C9, and CYP2C19 characterization using next-generation sequencing and haplotype analysis:a geT-RM collaborative project[J]. J Mol Diagn,2022,24(4):337-350.

[17] BAINBRIDGE M N,WISZNIEWSKI W,MURDOCK D R,et al. Whole-genome sequencing for optimized patient management[J]. Sci Transl Med,2011,3(87):87re3.

[18] CAO Y,LI L,XU M,et al. The ChinaMAP analytics of deep whole genome sequences in 10 588 individuals[J]. Cell Res,2020,30(9):717-731.