

# 세포 유리 태아 DNA를 이용한 비침습적 산전검사의 임상적 적용

양 정 인 | 아주대학교 의과대학 산부인과학교실

## Clinical application of non-invasive prenatal testing using cell free fetal DNA

Jeong In Yang, MD

Department of Obstetrics and Gynecology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Non-invasive prenatal testing using next generation sequencing technology with cell free fetal DNA from the blood of pregnant women has been rapidly adopted as a screening test for the detection of disorders involving chromosomal aneuploidy, especially Down syndrome. However as part of a prenatal recommendation in high-risk group, this laboratory assessment should be accompanied by informed counseling at both pre-test and post-test stages. In low-risk group and multifetal pregnancies, only conventional maternal serum screening tests in the first trimester and/or second trimester in addition to measurement of nuchal translucency should be recommended, until this potential tool has been incorporated into current screening strategic modalities on the basis of sufficient published data.

**Key Words:** Cell free fetal DNA; Non-invasive prenatal testing; Aneuploidy

### 서론

최근 산모로부터 얻은 혈액, 즉 비침습적 방법을 통해 다운증후군을 발견한 놀랄만한 일련의 연구들이 2011년 이후 보고되었다[1-6]. 이러한 non-invasive prenatal testing (NIPT)은 산모의 혈액 속에 들어있는 세포 유리 태아 DNA(cell-free fetal DNA, cff DNA)를 이용하는 것으로 산전검사 외에도 다양한 분야의 응용 가능성에 대한 기

대감과 관심이 전 세계적으로 확산 일로에 있다. 일반적으로 출생 전에 실시하는 산전검사는 태아의 이상을 조기에 발견하고 이를 통해 적절한 치료를 가능케 함으로써 주산기 예후를 향상시키기 위함이지만 주 목적은 태아 염색체 이상, 특히 가장 많은 빈도를 차지하는 이수성(aneuploidy) 염색체 이상 중 삼배수체(trisomy) 21, 18, 13 및 성염색체 수적 이상의 진단이었다. 따라서 분만 시 모성 나이 35세 이상이거나 염색체 이상 임신의 과거력, 가족력이 있는 경우에는 산전진단을 위한 침습적 검사가 필수적이다. 산모의 나이에 따라 태아 염색체 이상의 위험도는 올라가지만 실제 태아 염색체 이상의 약 70%는 35세 미만의 산모에서 발생하기 때문에 침습검사에 대한 적응증이 없는 산모에서도 산전진단에 도움을 줄 수 있는 검사가 필요하게 되었다. 1984년 Merkatz 등[7]이 신경관 결손증의 산전검사에 사용되던 모성 혈청 알파태아단백 치가, 후향적 연구를 통

Received: August 3, 2014 Accepted: August 17, 2014

Corresponding author: Jeong In Yang  
E-mail: yangji@ajou.ac.kr

© Korean Medical Association

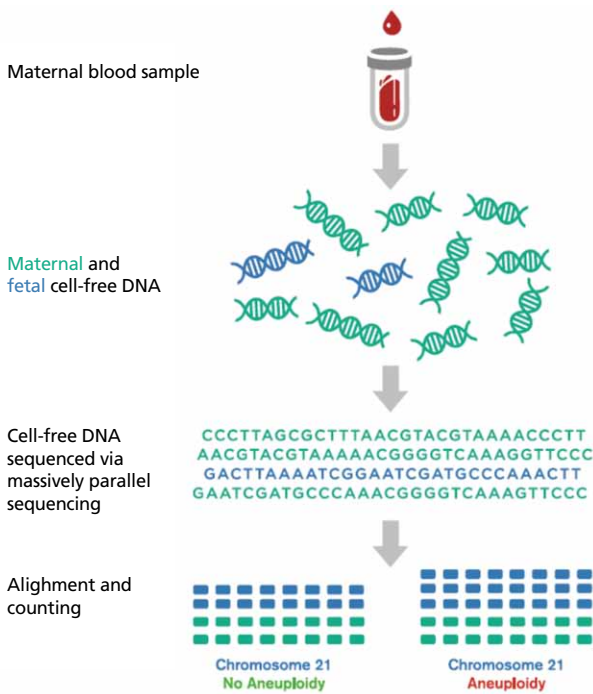
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

해 진단된 다운증후군 32예의 산전검사에서도 감소함을 발표 이후 임신중기 산전진단을 위한 선별검사로서의 산전검사가 시작되었다. 여기에 human chorionic gonadotropin (hCG), unconjugated estriol (uE3)을 더한 삼중검사(triple test), inhibin A가 추가된 사중검사(quad test) 등이 발표되면서 임신 중기 모성혈청 산전 선별검사로 다운증후군의 발견율은 80%까지 올라가게 되었다[8]. 임신 초기의 선별검사는 1994년 Nicolaides 등[9]이 임신 10-13주에 증가된 태아 목덜미투명대(fetal nuchal translucency)를 초음파로 스캔하여 선별검사로, 그리고 모성혈청 표지자로 pregnancy associated plasma protein A와  $\beta$ -hCG를 함께 측정하여 비교적 높은 발견율의 조기 선별검사를 시행할 수 있게 되었다. 그후 임신 제 일 삼분기와 제 이 삼분기에 걸쳐 시행되는 통합선별검사(integrated screening test)를 통해 보다 향상된 결과를 얻게 되었다[10]. 발견율의 개선에도 불구하고 이러한 혈청 표지자 및 태아 목덜미투명대 검사는 산전진단의 선별검사만을 담당하는 것이며 산전진단을 위한 태아의 유전물질을 얻기 위해 임신 제 일 삼분기에는 융모막 검사를, 임신 15주 이후에는 양수검사 또는 제대천자 등 0.5-1% 태아소실의 위험성이 있는 침습적인 검사가 반드시 필요할 뿐만 아니라 선별검사의 민감도 증가에 따른 높은 위양성률로 인해 불필요한 침습검사의 시행횟수 역시 증가하게 된다[11]. 보다 안전하고 비침습적인 방법이 모체혈액 내 태아 유래 유전물질을 이용하는 것으로 1997년 Lo 등[12]이 모체혈장 및 혈청에서 추출한 cff DNA의 Y-염색체 염기서열 분석에 처음으로 성공하였다. 모체혈액 내의 cell free DNA는 태반의 재형성과정 중 세포사멸과정을 겪은 영양막세포(apoptotic villous trophoblast)의 일부분이 물질교환 기전을 통해 모체 순환계로 들어간 것으로 실제로는 태반 기원의 유전물질이며 이중 태아 기원의 DNA를 cff DNA라고 한다(또는 fetal fraction이라고 명칭하여 ff DNA라고도 하지만 여기서는 cff DNA로 통일한다). 빠르면 배아시식 18일째부터, 37일경에는 대부분의 모체혈액 내에서 발견된다[13]. Lo 등[12]의 연구에서는 16.3분의 매우 짧은 반감기를 가지는 것으로 알려졌으나 1시간과 13시간의 시기에 따라 다른 반감기를 나타내며 분만 약 2시간 후에는 대부분,

늦어도 출산 후 1-2일 이내 혈액 내에서 제거된다[14,15]. 이처럼 매우 빠른 모체혈액 내 소멸로 인해 처음 우려와는 달리 과거의 임신에 영향을 받지 않아 다양한 분야에 적용 가능성이 있으며 세포 내 genomic DNA와 다르게 300 bp 이하의 짧은 가닥 DNA로 존재한다는 장점이 있다[1,16]. 또한 X염색체 연관 질환의 발견을 위한 태아 성별 및 Rh 혈액형 여부를 판정하기 위한 검사는 실시간 정량중합요소 연쇄반응(real-time quantitative PCR)으로 거의 100%에 이르는 진단적 정확도로 임상에 사용되고 있다[17-19]. cff DNA로는 필요한 많은 양을 확보하기가 어려운 점 등, 기술적 문제로 인해 답보상태에 있다가 임상적용은 대규모 병렬 염기분석(massively parallel sequencing, MPS)이 소개된 후 다운증후군과 같은 태아염색체 수적 이상의 NIPT가 가능하게 되었다[20,21]. 특히 cff DNA를 이용한 고위험 임신부의 산전 다운증후군검사는 2011년 이후 여러 회사들로부터 고가의 상업적 서비스가 시작됨으로써 현재 사용되고 있는 선별검사들과 적절한 통합 및 임신부 유전상담에 대한 문제가 시작되었다. 따라서 본고에서는 태아 DNA를 이용한 다운증후군을 진단하기 위한 선별검사 또는 산전진단 검사로서의 NIPT 현황, 제한점 및 향후 임상적 적용에 대해 살펴보고자 한다.

## 염기서열분석법 기술의 발전과 Non-invasive Prenatal Testing

태아 이배수체 산전진단의 성공은 염기서열분석법 기술의 발전과 대용량의 바이오데이터를 다루는 생물정보학의 동반 발전이 있었기에 가능하다. cff DNA를 이용한 다운증후군 진단의 대표적인 염기서열 분석기술은 DNA의 미세한 양적 차이를 민감하게 감지할 수 있는 차세대 염기서열분석법(next-generation sequencing)이다. 이미 국내에 NIPT에 흔히 사용되는 염기서열분석법에 대한 자세한 리뷰가 발표되었다[22,23]. 모체 기원과 태아 기원의 양측 DNA 분절을 동시에 수백만 카피로 염기서열을 분석하고 이 자료를 각 염색체의 표준염기서열(reference genome)과 비교한



**Figure 1.** The massively parallel genomic sequencing for the non-invasive prenatal detection of fetal chromosomal aneuploidy.

후 해당 염색체(다운증후군의 경우 21번)의 상대적인 발현 양의 많고 적음을 z-score로 계산하여 ‘양성’ 또는 ‘음성’의 결과를 얻게 된다. 태아 DNA분절을 모두 증폭하는 방법을 shotgun MPS라 하고, 21, 18, 13 등 진단 대상이 되는 염색체에 해당하는 분절만 사용하는 경우 targeted MPS라 하며 이처럼 대량의 병렬 데이터 생산이 가능하도록 만든 자동화된 시퀀서를 사용하는 방법이 차세대 염기서열분석법이다[24] (Figure 1). 비록 고위험군이 대상이었지만 대규모의 코호트연구를 통해 다운증후군은 위양성률 0.03%, 민감도 100%, 에드워드증후군(trisomy 18) 위양성률 0.07%, 민감도 97.4%의 진단적 정확도를 발표 후 고가의 분석장비와 고도의 분석기술인 생물정보학을 확보한 세계적인 염색체 분석 업체들에 의해 상업화된 서비스가 제공되기 시작하였다 [4,25] (Table 1).

그 외 단일염기서열다형성(single nucleotide polymorphism) 방법을 통해 인간 유전체의 약 1.6%를 차지하는 단일염기서열다형성 기원의 부계 또는 모계 기원의 이배수체, 유전자의 재조합, 돌연변이 등의 진단에도 사용 가능성이 있음을 발표하였다[26].

## 영향인자들

NIPT의 성공적인 결과를 얻기 위한 가장 중요한 인자는 모체 혈액 내에 있는 cff DNA의 양으로 일반적으로 임신 10주에는 약 4%, 임신 10-21주 사이에 일주일마다 약 0.1%씩 증가하며 전체 모성혈액 내 세포 유리 DNA의 10-20%를 차지한다[27]. 4% 미만의 적은 cff DNA 양은 결과를 얻을 수 없다. 그 외 다른 생물학적 요인들도 영향을 미칠 수 있다. 산모의 체중 또는 체질량지수가 가장 중요한 생물학적 요인이며 증가에 따라 cff DNA의 양은 감소한다. 모성 순환계의 희석효과 및 보다 많은 양의 모체 유래 혈관세포 및 지방세포 기원의 사멸세포가 모성 순환계로 유입되기 때문이다[28,29]. 이배수체의 타입에 따라서도 영향을 받는데 삼배수체 21은 유입되는 cff DNA의 양이 증가하지만 삼배수체 13, 18, monosomy X는 감소하는데 태반 내 영양막세포의 강화된 세포소멸기전으로 풀이된다[30]. 그 외 다태임신 시 태아의 수 증가와 유입되는 cff DNA 양은 비례하지 않고 오히려 chorionicity와 무관하게 약 50%로 감소하는 경향을 보이며 쌍태임신의 10-15%에서는 태아 염색체 이상 유무와 무관하게 결과를 얻을 수 없을 정도로 낮은 cff DNA값을 보이기도 한다[31]. 그 외 0.1%의 불일치결과를 얻을 수 있는데 이는 정상 염색체를 보이는 태아와 태반에 국한된 모자이시즘(confined placental mosaicism)때문이다. Faas 등[32]은 세포영양막층 및 cff DNA는 45, X 태반 내 간염세포층은 46, XX인 증례를 발표하기도 하였다.

## Non-invasive Prenatal Testing 검사 시 제한점 및 문제점

국한된 검사결과, 개방성 신경관 결손증의 선별검사, 모성혈청검사 시행 시 부가적으로 얻는 정보를 얻을 수 없다는 제한점이 있다. 태아 염색체 이상에 대한 위험도 검사는 삼배수체 21, 18, 13, 이배수성염색체와 같은 매우 한정된 태아 염색체 이수성의 선별검사만이 가능하므로 양수검사 시 얻을 수 있는 세포유전학 이상 소견의 약 50% 정도만 알 수

**Table 1.** Comparison of NIPS according to commercial companies

|                          | Sequenom                                 | Verinata Health (Illumina) | Ariosa Diagnostics  | Natera  |
|--------------------------|--|----------------------------|---|---|
| Test name                | MaterniT21 Plus                          | Verifi                     | Harmony Prenatal Test                                     | Harmony Prenatal Test                                 |
| Platform                 | SEQure Dx technology incorporating s-MPS | MPS using SAFeR algorithm  | DANSR incorporating targeted sequencing & FORTE algorithm | Next generation SNP-based targeted aneuploidy testing |
| Market entry             | October 2011                             | March 2012                 | May 2012  | December 2012   |
| Sensitivity (FPR)        |  |                            |   |   |
| Trisomy 21               | 99.1% (0.2%)                             | >99.9% (0.2%)              | >99% (0.1%)   | >99% (0%)   |
| Trisomy 18               | >99.9% (0.3%)                            | 97.3% (0.4%)               | 98% (0.1%)  | >99% (<0.1%)  |
| Trisomy 13               | 91.7% (0.9%)                             | 87.5% (0.1%)               | 96.7% (0.05%)   | >99% (0%)   |
| Monosomy X               | 94.7% (0.5%)                             | 95.0% (1.0%)               | 96.7%   | 91.7% (<0.1%)   |
| Sex chromosome trisomies | 99.9%                                    | 67%-100%                   | 67%-100%  | >99%  |
| Triploidy                | Undetectable                             | Undetectable               | Undetectable  | >99%  |

Modified from Agarwal A, et al. Prenat Diagn 2013;33:521-531 [25].

MPS, massive parallel sequencing; DANSR, digital analysis of selected regions; SNP, single nucleotide polymorphism; FPR, false positive rate.

있으며 임신부 나이 35세 미만의 약 75%, 35세 이상에서는 43%의 세포유전학 이상을 발견하지 못하게 된다[33,34]. 또한 비대칭 전위, 결손, 중복 등의 염색체 이상 소견은 NIPT 검사로 진단 할 수 없으므로 초음파검사 시 태아기형이 발견되었을 때는 침습적인 검사와 세포유전체 마이크로어레이 검사가 더욱 도움이 된다[35,36]. 그 외 전형적인 다운증후군이 아닌 21번 염색체를 포함하는 로버트슨형 전좌에 의해 발생하는 경우 등 다운증후군의 발생 기전을 구분하지 못하므로 다음 임신을 위한 재발 위험도의 유전 상담을 할 수 없다. 근래 NIPT에 대한 연구결과들이 축적되며 이러한 문제점들도 조금씩 보완되고 있다. 결과의 해석 면에서 검사가 가능하도록 충분한 양의 cfDNA를 얻지 못한 경우 앞서 말한 'uninformative' 결과를 얻을 수 있는데 이는 진단이 지연되거나 위험도 평가시기를 놓치는 결과로 이어질 수 있으므로 가급적 임신 10주 미만의 초기 임신 시는 피하도록 한다[37,38]. 통상적인 모성혈청검사를 통한 선별검사와 비교할 때 NIPT검사는 결과보고까지 약 7-10일 정도의 시간이 소요되므로 임신 10주에서 20주 사이에 시행한다. 임신 15-20주에 시행하는 모성혈청 선별검사 항목에 포함된 알파태아단백은 개방성 신경관결손증 선별검사에 매우 유용하며 다음 단계로 정밀 초음파검사를 시행하여 구조적 이상 소견을 진단할 수 있을 뿐만 아니라 양수검사를 통해 아세틸콜린에스테라제 검사 및 양수 내 알파태아단백치를 검사 할

수 있지만 NIPT는 개방성 신경관결손증의 선별검사에 이용할 수 없다. 따라서 결국 모성혈청 선별검사와 NIPT를 병행해야 하는 문제가 발생하게 된다[39]. 또한 모체 혈청검사는 일차적으로 태아의 이배수성 및 신경관 결손의 위험을 파악하기 위한 것이지만 그 이외에 조산, 태아사망, 전자간증, 저체중아 등의 불량한 임신결과와 연관이 있다. 원인을 알 수 없이 알파태아단백치가 증가한 경우 임신과 연관된 고혈압, 유산, 조산, 자궁 내 성장지연, 자궁 내 태아사망, 양수감소증, 태반박리가 증가하며, hCG의 증가 및 uE3 값이 감소한 경우에도 임신예후와 관계가 있다고 보고되었다[40]. 그러나 NIPT가 모성혈청검사를 대신할 경우 임신경과 및 후기의 합병증에 대한 예측을 통해 집중적인 산전관리의 도움을 받을 수가 없다.

임신 초기 초음파검사는 정확한 임신 주수의 판정을 통해 저체중아 및 과숙임신의 진단을 증가, 다태임신의 확인 및 임신 예후에 영향을 주는 용모막성의 판별, 태반 이상 및 임신 제 일삼분기에 진단 가능한 태아기형의 발견과 더불어 태아 목덜미투명대 측정을 통해 염색체 이상, 선천성 심장 또는 흉부기형의 고위험군, 불량한 주산기예후의 고위험군 등에 대한 예측도를 향상시킬 수 없다[41,42]. 최근 보조생식술의 발달로 인해 쌍태임신을 포함한 다태임신의 빈도가 올라가고 있으며 특히 이 군에 속하는 임신부들은 다태임신, 모성나이의 증가라는 위험요인 외에도 다양한 산과적 위험

인지를 가지고 있는 경우가 많아 보다 NIPT검사가 필요하지만 단태임신에 비해 알려진 정보가 미미하므로 더 많은 자료의 축적, 차별화된 생물정보학의 계발 및 임상적 검증이 우선되어야 한다.

또한 현재 고가의 검사비용으로 인해 공공의료 부분으로 확대가 어렵기 때문에 적응증이 되며 검사를 받기 원함에도 불구하고 할 수 없는 임상적 경우들이 발생하게 되고 다양한 윤리적 문제들이 유발 될 수 있는데 실제 개인정보 차원에서 태아의 염색체검사 결과는 정상이었지만 임신부의 염색체 결과는 XXX로 우연히 발견되기도 한다. 산전 DNA 염기분석(prenatal DNA sequencing)은 2013년 매사추세츠공과대학교 선정 10대 주요기술 중 하나로 선정되기도 하였으며 검사기관, 유전상담의 및 임상가들은 아주 기본적인 문제이지만 환자들과 그들의 샘플에 의무와 책임이 있다. 특히 서비스가 가능한 검사기관 및 특허가 외국(미국 4개, 중국 1개 기관)에 집중되어 있으므로 국내의 검사시료가 국외로 반출되므로 원치 않는 유전정보들이 노출될 수 있는 결과를 가져오게 된다. 시료의 먼 거리 이동은 다행히 검사결과에 영향이 거의 없는 것으로 알려져 있다.

NIPT가 선별검사로서의 요건을 갖추려면 저위험군에서의 결과가 필수적인데 지금까지의 연구결과는 모두 고위험군을 대상으로 이루어진 것이다. 다행히 저위험군에서의 연구가 시작되었다는 점이다. 저위험군 289명을 대상으로한 Fairbrother 등[43]의 임신 제 일 삼분기 연구는 284명 중 모체혈청검사 양성인 4.5% 9.3일 이내 결과를 얻은 NIPT 검사 결과는 모두 음성이었으며 이중 결과를 얻을 수 없었던 경우는 6명(98.6%)이었다. 임신 중기 산모나이 20-34세의 저위험군 1,916명에서 삼중검사와 NIPT를 모두 시행한 중국에서의 연구는 NIPT결과 실패율은 3.8%, cut-off를 270명 중 일로 하였을 때 삼중검사 양성인 249명(14.3%) NIPT양성은 12명(0.68%, 11례의 태아 이배수체, 1례의 모성 모자이시즘으로 인한 불일치 결과)를 얻어 NIPT 검사만 보았을 때 체염색체 이배수의 민감도 100%, 특이도 99.4%, positive predictive value (PPV) 91.67%이며 삼중검사는 민감도 54.5%, 특이도 85.9%, PPV 2.4%로 임신중기 저위험군에서도 선별검사로서의 가능성을 시사하였다. 그러나 저

위험군의 연구는 이제 걸음마 단계로 보다 많은 예에서의 연구가 시급하다[44]. 성염색체 이배수체 연구는 앞서 Song 등[44]의 연구에서 총 4예 중 2예에서 NIP양성을 보여 민감도 50%, 특이도 100%로 아직은 활발한 임상적용은 어렵지만 단일염기서열다형성의 방법이 도입되며 보다 좋은 결과에 기대를 가지고 있다.

### 실제 임상에서의 활용 및 상담

2012년도 American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 그룹은 cff DNA를 이용한 NIPT의 적응증으로, 첫째, 분만 시 산모 나이 35세 이상, 둘째, 이수성 염색체 이상을 시사하는 태아 초음파 소견, 셋째, 과거 삼배수체 염색체 이상을 가진 임신력, 넷째, 태아 이수성 염색체 진단을 위한 선별검사 중 임신 제 일 삼분기 또는 제 이 삼분기 선별검사(순차적, 통합 또는 사중검사 결과)가 양성으로 나온 경우, 다섯째, 부모의 균형 로버트슨형 전좌에 의한 태아 삼배수체 13번 또는 삼배수체 21번의 위험도가 증가할 경우 발표하였다[45]. 또한 NIPT로 통상의 산전검사, 초음파검사 시 발견된 태아의 구조적 이상 평가 및 용모막검사 또는 유전적 양수검사의 진단적 정확도를 대신할 수는 없고, 태아 이수성 염색체 이상의 위험도가 높은 고위험군 산모에서는 다른 산전진단검사가 필요한 가족 내 유전질환의 유무를 파악하기 위해 검사 전 유전상담 및 가족력 상담을 통해 임신부에게 충분한 정보를 제공하도록 하였다. 결과의 판독은 음성일 경우 태아의 염색체 수적 이상이 없다는 것을 확인하지 못하는, 즉 위음성률이 있으며 반대로 양성결과를 얻었다 하더라도 위양성률이 존재하므로 확진을 위해 침습적 산전 진단검사가 필요함을 기본으로 하며 NIPTS는 하나의 대안으로만 제시되어야 한다고 주의하였다.

American College of Medical Genetics and Genomics 및 International Society of Prenatal Diagnosis는 산전 진단에 태반 기원의 세포를 이용 시에는 태아 염색체에 대한 모든 정보가 나타날 수 없으므로 특히 검사 전과 검사 후 상담의 중요성을 강조하였다[46,47]. 검사 전 유전상담

시 NIPT의 목적, 모체혈청을 이용한 선별검사에 비해 높은 발견율과 특히 다운증후군에 대해 높은 음성 예측률과 낮은 위양성률로 침습적 검사 기회의 감소효과, 결과 판정 시 ACOG의 주의 당부와 마찬가지로 NIPT검사 양성 시에는 물론 침습적인 검사를 고려해야 하지만 음성의 결과를 얻었다 할지라도 산전진단검사가 아니므로 선별검사로서의 한계점에 대한 설명이 반드시 포함되어야 함을 제안하였다. 검사 후 상담에는 양성 또는 음성 결과 시 제한점, 태반 모자이시즘, 쌍태임신을 포함한 다태임신 시 자연발생 또는 선택적 태아 감수술을 시행받았을 때 일부 태아 소실로 인한 위양성 가능성 및 ‘uninformative’ 결과를 얻었을 때에도 침습적 확진검사가 필요함을 설명하도록 권고하였는데 이것은 결과의 판정이 개개인의 위험도를 각각 계산해서 맞춤 상담을 시행하여야 한다는 점을 강조한 것이다. 세 전문가집단에 의한 임상진료지침은 분명 NIPT검사를, 다양한 모체혈청 선별검사에 비해 분명 높은 민감도와 특이도의 산전선별검사를 제공가능하며 최종결과를 임신 중기가 아닌 제 일 삼분기에 알 수 있어 실제 사용자인 임신부 특히 고위험군 산모가 불안감을 느끼는 시간을 줄여줄 수 있을 뿐 만 아니라 점점 증가하고 있는 고령 임신부에게 태아유산의 위험성이 있는 침습적 검사를 실시하게 될 임상적 경우의 수들을 줄여줌으로써 고위험 자체가 가지고 있는 고유의 유산기회를 낮춰 보다 임신 예후를 좋게 할 수 있는 큰 장점을 가진 희망적인 검사로 받아들이고 있으나 제한점으로 인해 그 임상적용의 확대에는 매우 조심스러우며 특히 일선에서 직접적인 의료 서비스를 제공 시 주의가 필요하다.

## 국내에서의 적용

NIPT는 전체 염색체지도를 얻을 수 있는 결과가 아니므로 현재까지는 산전선별검사로 분류되어야 하며 저위험군의 양성 예측률은 높지 않으므로 ‘universal screening’이 아닌 조건적 적응증을 가진 고위험군에서 이차적 선별검사로 제안한다. 즉 임신 제 일 삼분기의 모체혈청을 이용한 태아염색체 선별검사를 시행하고 그 후 위험도에 따라 고위험군의

경우 NIPT검사를 시행하며 양성인 경우 통상의 융모막검사 또는 양수검사를, 음성인 경우 더 이상의 선별검사를 시행하지 않는다. 임신 제 일 삼분기의 태아 목덜미 투명대의 측정 은 지속하도록 한다. 분만 시 산모나 35세 이상, 이수성 염색체 이상을 시사하는 태아초음파 소견, 과거 삼배수체 염색체 이상을 가진 임신력 등의 고위험군에서는 임신 10주 이후 NIPT검사 시행을 권유한다. 모성 알파단백 측정 여부는 국내에서 모성혈청검사가 개방성 신경관결손증의 진단에 어느 정도의 기여도가 있는지 다기관연구를 통한 자료축적 이후의 결정이 바람직할 것으로 보인다. 급격히 변하는 NIPT 연구의 흐름에 비추어 보았을 때 임상적 의사결정 흐름은 추후 많은 변화를 겪을 것으로 예측된다.

## 향후 임상적 적용의 기대

전자간증의 산화 스트레스로 인한 태반 내 영양막세포들의 세포사멸 기전이 촉진되므로 모체 순환계로 cff DNA의 유입이 증가되며 된다[48]. 또한 조기진통 및 자궁 내 태아 발육부전의 경우에도 cff DNA의 양이 많아지는 것을 발견하였다[49,50]. 따라서 모체 혈액 내 cff DNA 양의 변화는 본 질환들의 병태생리의 이해, 조기진단을 위한 바이오마커 개발, 태반의 기능 및 건강상태를 예측하는데 적용할 수 있을 것이다.

## 결론

NIPT는 진단적 정확도 및 유용성이 매우 높은 강력하고 새로운, 매력적인 산전검사방법이지만 실제 임상적용을 둘러싸고 뜨거운 논쟁과 관심을 받고 있다. 특히 이른 검사시기, 높은 발견율, 낮은 위양성률로 인해 침습적 검사를 줄일 수 있다는 장점뿐만 아니라 태아와 모체 모두에게 안전한 검사이다. 현재까지는 전체 임신부를 대상으로 실시하는 태아 이수성 염색체의 선별검사로 자리매김할 수는 없으나 저위험군에서의 보다 많은 대규모연구가 선행되고 충분한 유전

상담과 비용문제를 포함한 사회적 지지, 윤리적, 법적 문제 및 연구수행기관들의 정도관리를 아우를 수 있는 적절한 가이드라인을 만든다면 고위험 임신부를 위한 산전 선별검사로서의 가능성이 충분하다. 특히 최근 이삼 년 동안에 여러 대중적 NIPT 서비스기관 및 모성센터들의 집중적, 몰입적이고도 경쟁적인 연구를 통해 이루어진 괄목할만한 검사방법의 개선 등 눈부신 가시적 연구성과들을 보았을 때 염색체 수적 이상 선별검사는 아직은 그 시기를 알 수 없지만 결국 태아의 전체 유전체지도 또는 엑솜염기서열 분석으로 이어질 수 있으므로 빠른 시일 내 임상진료지침의 마련이 필수적이다. 또한 태아 이수성 염색체 검사 외에도 전자간중, 자궁 내 태아발육부전 등 태반 기원 임신특이성 질환들의 병태생리 이해와 조기 진단을 위한 생물학적 바이오마커 개발 등과 같은 다양한 임상적 적용이 가능하며 이를 통해 많은 임상의와 연구자들의 노력을 통해 불량한 주산기예후 향상 및 모성건강의 발전에 이바지 할 수 있을 것이다.

**찾아보기말:** 세포 유리 태아 DNA; 비침습적 산전검사; 이배수체

**ORCID**

Jeong In Yang, <http://orcid.org/0000-0001-5646-9009>

**REFERENCES**

1. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KC, Lun FM, Go AT, Lau ET, To WW, Leung WC, Tang RY, Au-Yeung SK, Lam H, Kung YY, Zhang X, van Vugt JM, Minekawa R, Tang MH, Wang J, Oudejans CB, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ* 2011;342:c7401.
2. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, van den Boom D, Bombard AT, Deciu C, Grody WW, Nelson SF, Canick JA. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 2011;13:913-920.
3. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Birdir C, Nicolaides KH. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:322.e1-322.e5.
4. Norton ME, Brar H, Weiss J, Karimi A, Laurent LC, Caughey AB, Rodriguez MH, Williams J 3rd, Mitchell ME, Adair CD,

- Lee H, Jacobsson B, Tomlinson MW, Oepkes D, Hollemon D, Sparks AB, Oliphant A, Song K. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:137.e1-137.e8.
5. Sparks AB, Struble CA, Wang ET, Song K, Oliphant A. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:319.e1-319.e9.
6. Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, Ryan A, Sigurjonsson S, Chopra N, Dodd M, Levy B, Rabinowitz M. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* 2012;32:1233-1241.
7. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:886-894.
8. ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007;109: 217-227.
9. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJ. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:782-786.
10. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, Berkowitz RL, Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Dukes K, Bianchi DW, Rudnicka AR, Hackshaw AK, Lambert-Messerlian G, Wald NJ, D'Alton ME; First- and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005;353:2001-2011.
11. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007;110:687-694.
12. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-487.
13. Guibert J, Benachi A, Grebille AG, Ernault P, Zorn JR, Costa JM. Kinetics of SRY gene appearance in maternal serum: detection by real time PCR in early pregnancy after assisted reproductive technique. *Hum Reprod* 2003;18:1733-1736.
14. Lo YM, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AM, Hjelm NM. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999;64:218-224.
15. Yu SC, Lee SW, Jiang P, Leung TY, Chan KC, Chiu RW, Lo YM. High-resolution profiling of fetal DNA clearance from maternal plasma by massively parallel sequencing. *Clin Chem* 2013; 59:1228-1237.
16. Chan KC, Zhang J, Hui AB, Wong N, Lau TK, Leung TN, Lo KW, Huang DW, Lo YM. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004;50:88-92.
17. Hyett JA, Gardener G, Stojilkovic-Mikic T, Finning KM, Martin PG, Rodeck CH, Chitty LS. Reduction in diagnostic and therapeutic interventions by non-invasive determination of fetal sex in early pregnancy. *Prenat Diagn* 2005;25:1111-1116.

18. Macher HC, Noguero P, Medrano-Campillo P, Garrido-Marquez MR, Rubio-Calvo A, Carmona-Gonzalez M, Martin-Sanchez J, Perez-Simon JA, Guerrero JM. Standardization non-invasive fetal RHD and SRY determination into clinical routine using a new multiplex RT-PCR assay for fetal cell-free DNA in pregnant women plasma: results in clinical benefits and cost saving. *Clin Chim Acta* 2012;413:490-494.
19. Wikman AT, Tiblad E, Karlsson A, Olsson ML, Westgren M, Reilly M. Noninvasive single-exon fetal RHD determination in a routine screening program in early pregnancy. *Obstet Gynecol* 2012;120(2 Pt 1):227-234.
20. Chiu RW, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W, Leung TY, Foo CH, Xie B, Tsui NB, Lun FM, Zee BC, Lau TK, Cantor CR, Lo YM. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:20458-20463.
21. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:16266-16271.
22. Lim JH, Park SY, Ryu HM. Noninvasive prenatal diagnosis using cell-free fetal nucleic acids in the maternal circulation. *Korean J Perinatol* 2012;23:143-151.
23. Lim JH, Park SY, Ryu HM. Non-invasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 21 using cell-free fetal DNA in maternal blood. *Obstet Gynecol Sci* 2013;56:58-66.
24. Swanson A, Sehnert AJ, Bhatt S. Non-invasive prenatal testing: technologies, clinical assays and implementation strategies for women's healthcare practitioners. *Curr Genet Med Rep* 2013;1:113-121.
25. Agarwal A, Sayres LC, Cho MK, Cook-Deegan R, Chandrasekharan S. Commercial landscape of noninvasive prenatal testing in the United States. *Prenat Diagn* 2013;33:521-531.
26. Taglauer ES, Wilkins-Haug L, Bianchi DW. Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. *Placenta* 2014;35 Suppl:S64-S68.
27. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013;33:662-666.
28. Haghiac M, Vora NL, Basu S, Johnson KL, Presley L, Bianchi DW, Hauguel-de Mouzon S. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:2213-2219.
29. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013;33:667-674.
30. Wright A, Zhou Y, Weier JE, Caceres E, Kapidzic M, Tabata T, Kahn M, Nash C, Fisher SJ. Trisomy 21 is associated with variable defects in cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway. *Am J Med Genet A* 2004;130:354-364.
31. Srinivasan A, Bianchi DW, Liao W, Sehnert A, Rava R. Maternal plasma DNA sequencing: effects of multiple gestation on aneuploidy detection and the relative cell-free fetal DNA (cff DNA) per fetus. *Am J Obstet Gynecol* 2013;208:S31.
32. Faas BH, de Ligt J, Janssen I, Eggink AJ, Wijnberger LD, van Vugt JM, Vissers L, Geurts van Kessel A. Non-invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies using massively parallel sequencing-by-ligation and evidence that cell-free fetal DNA in the maternal plasma originates from cytotrophoblastic cells. *Expert Opin Biol Ther* 2012;12 Suppl 1:S19-S26.
33. Forabosco A, Percesepe A, Santucci S. Incidence of non-age-dependent chromosomal abnormalities: a population-based study on 88965 amniocenteses. *Eur J Hum Genet* 2009;17:897-903.
34. Armengol L, Nevado J, Serra-Juhe C, Plaja A, Mediano C, Garcia-Santiago FA, Garcia-Aragones M, Villa O, Mansilla E, Preciado C, Fernandez L, Angeles Mori M, Garcia-Perez L, Lapunzina PD, Perez-Jurado LA. Clinical utility of chromosomal microarray analysis in invasive prenatal diagnosis. *Hum Genet* 2012;131:513-523.
35. Armengol L, Nevado J, Serra-Juhe C, Plaja A, Mediano C, Garcia-Santiago FA, Garcia-Aragones M, Villa O, Mansilla E, Preciado C, Fernandez L, Angeles Mori M, Garcia-Perez L, Lapunzina PD, Perez-Jurado LA. Clinical utility of chromosomal microarray analysis in invasive prenatal diagnosis. *Hum Genet*. 2012 ;131:513-23.
36. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175-2184.
37. Wataganara T, Peter I, Messerlian GM, Borgatta L, Bianchi DW. Inverse correlation between maternal weight and second trimester circulating cell-free fetal DNA levels. *Obstet Gynecol* 2004;104:545-550.
38. Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, Mosimann B, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: effect of maternal and fetal factors. *Fetal Diagn Ther* 2012;31:237-243.
39. Driscoll DA, Gross SJ; Professional Practice and Guidelines Committee. First trimester diagnosis and screening for fetal aneuploidy. *Genet Med* 2008;10:73-75.
40. Dugoff L; Society for Maternal-Fetal Medicine. First- and second-trimester maternal serum markers for aneuploidy and adverse obstetric outcomes. *Obstet Gynecol* 2010;115:1052-1061.
41. Stenhouse E, Hardwick C, Maharaj S, Webb J, Kelly T, Mackenzie FM. Chorionicity determination in twin pregnancies: how accurate are we? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;19:350-352.
42. Bennett KA, Crane JM, O'shea P, Lacelle J, Hutchens D, Copel JA. First trimester ultrasound screening is effective in reducing postterm labor induction rates: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1077-1081.
43. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn* 2013;33:580-583.



44. Song Y, Liu C, Qi H, Zhang Y, Bian X, Liu J. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies by massively parallel sequencing in a prospective Chinese population. *Prenat Diagn* 2013;33:700-706.

45. ACOG Committee Opinion No. 545: noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2012;120:1532-1534.

46. Gregg AR, Gross SJ, Best RG, Monaghan KG, Bajaj K, Skotko BG, Thompson BH, Watson MS. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genet Med* 2013;15:395-398.

47. Hahn S, Rusterholz C, Hosli I, Lapaire O. Cell-free nucleic acids as potential markers for preeclampsia. *Placenta* 2011;32 Suppl:S17-S20.

48. Benn P, Borell A, Chiu R, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, Gross S, Johnson J, Maymon R, Norton M, Odibo A, Schielen P, Spencer K, Huang T, Wright D, Yaron Y. Position statement from the aneuploidy screening committee on behalf of the board of the international society for prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2013;33:622-629.

49. Farina A, LeShane ES, Romero R, Gomez R, Chaiworapongsa T, Rizzo N, Bianchi DW. High levels of fetal cell-free DNA in maternal serum: a risk factor for spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:421-425.

50. Al Nakib M, Desbriere R, Bonello N, Bretelle F, Boubli L, Gabert J, Levy-Mozziconacci A. Total and fetal cell-free DNA analysis in maternal blood as markers of placental insufficiency in intrauterine growth restriction. *Fetal Diagn Ther* 2009;26:24-28.

### Peer Reviewers' Commentary

본 논문은 세포 유리 태아 DNA를 이용한 비침습적 산전 검사 중 NGS를 활용한 염색체 수적 이상 태아의 선별 검사를 중심으로 현재 임상에 적용할 때 고려하여 할 제한점, 영향 인자, 임상 활용 등 다양한 내용이 기존에 보고된 자료들을 근거로 제시한 종설이다. 현재 NGS를 활용한 비침습적 산전 검사가 국내에 빠르게 보급되고 있는 상황에서 본 논문은 실제 임상에서 이러한 검사를 요구하는 환자들에게 검사에 대한 적절한 상담을 하기 위한 기반 자료로 활용될 가치가 있으며, 이 검사법의 국내 도입에 있어 적절한 기준을 확립하기 위한 기본적인 방향을 제시하고 있다는 점에서 의의가 있는 논문이라 생각된다.

[정리: 편집위원회]