

参与编写的临床专家 中国医学科学院 北京协和医学院  
北京协和医院(吴晰、姚方)

### 参 考 文 献

[1] Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994 [J].

Am J Surg Pathol, 1996, 20(10):1161-1181.

[2] Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma[M]. 14th ed. Tokyo: Kanehara & Co. Ltd, 2010.

[3] Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al. WHO classification of tumours of the digestive system[M]. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2010.

(收稿日期:2016-12-27)

(本文编辑:常秀青)

## · 标准与规范 ·

# BRCA 数据解读中国专家共识

《BRCA 数据解读中国专家共识》编写组

乳腺癌易感基因 (breast cancer susceptibility gene, BRCA) 是重要的抑癌基因与肿瘤易感基因, 包括 BRCA1 及 BRCA2。BRCA 在 DNA 修复的同源性重组 (homologous recombination) 机制中扮演重要角色, BRCA 基因突变会导致基因组不稳定性显著增加。胚系 BRCA1/2 突变 (gBRCAm) 将显著提高女性乳腺癌、卵巢癌以及其他癌症的发病风险。近年来的研究发现, 在一小部分无胚系 BRCA 基因突变患者的乳腺癌或卵巢癌肿瘤组织中也可以检测到 BRCA 基因体细胞突变 (sBRCAm)。BRCA 基因也是与精准治疗密切相关的生物标志物, 具有 BRCA1/2 突变的卵巢癌患者对铂类化疗非常敏感, 预后良好, 并可获益于聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 抑制剂的治疗<sup>[1]</sup>。随着精准医学和靶向治疗的进展, 对相关肿瘤患者血液和/或肿瘤组织进行 BRCA 突变检测将有助于更好地判断预后、选择靶向药物、选择化疗方案、在适当的条件下对家族遗传史患者亲属的患病风险进行评估, 帮助医师根据患者的基因状态来选取更精准的治疗方案。

BRCA1/2 基因序列较长, 变异形式多样, 变异位点分散遍布于 2 个基因的全长<sup>[2]</sup>, 并且不是所有的 BRCA 变异都会损伤蛋白质功能, 因而, 变异的解

读是 BRCA 检测中一个关键的环节。BRCA 基因变异解读需要依据各类信息 (包括来自群体数据库、疾病数据库、文献和患者病史的信息) 进行综合评判。近年来国外多个权威机构先后发布了 BRCA 基因变异数据解读的标准或指南。目前, 我国在 BRCA 基因变异数据解读领域尚缺乏规范性指导。因此, 中华医学会病理学分会特组织分子病理学领域的相关专家进行了充分讨论, 并形成共识发布, 以指导与规范我国 BRCA 基因检测数据的解读, 推动 BRCA 检测在我国的临床应用。

### 一、BRCA 变异类型、检测区域及检测方法

BRCA 变异类型主要包括点突变、小片段插入/缺失和大片段重排 (large rearrangement) 等。除 BRCA 基因编码区的变异外, 内含子发生的一些变异亦可能会通过干扰 RNA 剪切等方式影响蛋白质功能, 因此 BRCA 检测必须同时覆盖编码区和相邻边界区 (以  $\pm 20$  bp 为佳)。

Sanger 测序是检测 BRCA 基因点突变和小片段插入缺失的传统技术, 也可以作为其他检测方法的补充或结果验证手段。多重连接依赖性探针扩增 (multiplex ligation-dependent probe amplification assay, MLPA)、定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 和长片段聚合酶链反应 (long range PCR, L-PCR) 是目前用于检测 BRCA 基因大片段重排的三个主要技术平台。

近年来, 随着二代测序 (next generation sequencing, NGS) 技术的飞速发展, 国内外越来越多的实验室已将 NGS 技术应用于 BRCA 基因变异的临床检测。除应用于点突变和小片段插入缺失的检测外, 在测序策略和生物信息学工具方面有着特殊设计的 NGS 也可用于大片段重排的检测。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.05.002

基金项目: 科技部卫生行业科研专项基金 (201402001)

执笔人: 吴焕文 (中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院病理科); 叶丰 (四川大学华西医院病理研究室/病理科)

通信作者: 梁智勇, 100730 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院病理科, E-mail: liangzhiyong1220@yahoo.com; 步宏, 610041 四川大学华西医院病理研究室/病理科, E-mail: hongbu@scu.edu.cn

### 二、BRCA 基因变异命名规则

推荐使用人类基因组变异协会(Human Genome Variation Society, HGVS)命名法作为基因变异命名的主要指导原则以规范基因序列变异的命名。同时参考序列必须包含在内以确保基因变异命名的准确无误。HGVS 命名法的首选 DNA 编码参考序列是基因座参考基因组序列(Locus Reference Genomic sequence, LRG, <http://www.lrg-sequence.org/>),但 LRG 尚未被广泛应用在解读的数据库和文献里。因此根据目前的情况,推荐使用最常用的 2 个转录本序列,分别为 NM\_007294.3 (BRCA1) 和 NM\_000059.3 (BRCA2),相应的蛋白质参考序列为 NP\_009225.1 (BRCA1) 和 NP\_000050.2 (BRCA2)。同时推荐使用命名工具(<https://mutalyzer.nl>)对基因变异的 HGVS 命名进行校验。

### 三、BRCA 变异分类

根据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)<sup>[3]</sup>、美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)<sup>[4-5]</sup>和胚系突变等位基因解读实证联盟(Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles, ENIGMA, <https://enigmaconsortium.org/>)<sup>[6]</sup>的分类系统,将 BRCA 基因变异按照风险程度由高至低分为以下 5 类:致病性(5 类,致病可能性>0.99)、可能致病性(4 类,致病可能性在 0.95~0.99 之间)、意义未明(3 类,致病可能性在 0.05~0.949 之间)、可能良性(2 类,致病可能性在 0.001~0.049 之间)和良性(1 类,致病可能性<0.001)。受试者的总体 BRCA 状况应为其所有 BRCA1/2 基因变异中风险程度最高的类别。

### 四、BRCA 变异解读

目前,BRCA 变异解读最权威的指南或标准包括:ACMG 和美国分子病理学会(Association for Molecular Pathology, AMP)序列变异解读标准和指

南(2015 版)<sup>[4]</sup>,欧洲分子基因诊断质量联盟(European Molecular Genetics Quality Network, EMQN)遗传性乳腺癌/卵巢癌分子遗传分析最佳实践指南(2008 版)<sup>[7]</sup>和 ENIGMA BRCA1/2 基因变异分类标准(1.1 版)<sup>[6]</sup>。

ACMG 于 2000 年发布了第 1 版变异解读总体指南,并于 2007 年进行了修订,2015 年 ACMG 和 AMP 联合发布了该变异解读指南的最新版本。EMQN 是一家为全球实验室提供室间质量评估(external quality assessment)服务的非营利性机构,致力于提高临床分子遗传学检测质量。1999 年 EMQN 起草了第 1 版遗传性乳腺癌/卵巢癌分子遗传分析最佳实践指南,并于 2007 年 EMQN 研讨会讨论,后在 2008 年更新了该指南。ENIGMA 是一个国际研究者联盟,致力于确定 BRCA1、BRCA2 和其他已知或可疑乳腺癌基因序列变异的临床意义。基于已发表的指南(包括 ACMG 2007 版)和各成员制定的分类标准,ENIGMA 于 2015 年发布了专门针对 BRCA1/2 的变异分类标准。在其标准里,ENIGMA 根据已知的对功能域的认知,总结了 BRCA1/2 的功能域以及可能恢复 BRCA1/2 基因功能的自然存在的框内 RNA 异构体(naturally occurring in-frame RNA isoforms;表 1)。除此之外,ENIGMA 还发表了一些针对临床意义未明变异的研究。这些都是变异解读非常有用的资源。同一变异依据不同的解读指南或标准所得到的解读结果可能会略有差异,因而我们建议在变异解读时具体指明所依据的指南或标准名称。

综合以上指南解读规则以及 BRCA 基因的特征,我们总结出以下解读规则:

1.致病性(pathogenic)-5 类。包括以下几种情况:(1)编码提前终止密码子的序列变异,即 BRCA1 第 1 855 位氨基酸和 BRCA2 第 3 309 位氨基酸前发生的无义突变或移码突变。(2)发生在剪切位点即外显子上下游第一或第二个碱基的变异,但是,需除

表 1 BRCA1 和 BRCA2 外显子交界区域变异

基因	选择性剪切事件	变异位点
BRCA1	Δ8p <sup>[8]</sup>	c.442-1, c.442-2
	Δ9,10 <sup>[8]</sup>	c.548-1, c.548-2, c.593 to non-G, c.593+1, c.593+2, c.594-1, c.594-2, c.670 to non-G, c.670+1, c.670+2
	Δ13p <sup>[8]</sup>	c.4186-1, c.4186-2
	Δ14p <sup>[8]</sup>	c.4358-1, c.4358-2
BRCA2	Δ12 <sup>[9]</sup>	c.6842-1, c.6842-2, c.6937 to non-G, c.6937+1, c.6937+2

注:除非另有证据,上述位点发生的变异应考虑为 3 类(意义未明),这些变异可以产生自发框内 BRCA1/2 RNA 异构体,后者可能恢复 BRCA1/2 基因功能

外经预测或已明确的可产生可能恢复 BRCA1/2 基因功能的自然存在的框内 RNA 异构体的变异(表 1)。(3)拷贝数缺失变异,该变异导致 BRCA1 第 1 855 位氨基酸和 BRCA2 第 3 309 位氨基酸前发生移码突变,或者该变异移除 1 个或多个外显子且不是经预测或已明确的可产生可能恢复 BRCA1/2 基因功能的自发框内 RNA 异构体的变异。(4)任意大小的拷贝数重复变异,该变异导致 1 个或多个外显子重复并已被证实会导致 BRCA1 第 1 855 位氨基酸和 BRCA2 第 3 309 位氨基酸前发生移码突变。(5)体外或体内功能研究显示对基因或基因产物有破坏作用且与肿瘤高危相关的其他类型变异。

2.可能致病性(likely pathogenic)-4 类。包括以下几种情况:(1)该变异经 mRNA 水平的实验证实能够改变剪接,但是不会产生可能恢复基因功能的自然存在的框内 RNA 异构体。(2)该变异编码的氨基酸改变与之前定义的 5 类致病性错义突变相同,但发生改变的基础核苷酸不同,而且既往疾病关联并非由剪接事件所致,并且变异未见于作为对照的外显子组测序项目(Exome Sequencing Project)、千人基因组计划(1000 Genomes Project)或外显子组整合数据库(Exome Aggregation Consortium),或变异位于已确认的功能区。(3)移除密码子的小片段框内缺失变异,该变异涉及的氨基酸位点已被证实可发生错义替换 5 类变异,且既往疾病关联并非由于剪接事件所致,并且变异未见于作为对照的外显子组测序项目、千人基因组计划或外显子组整合数据库,或变异位于已确认的功能区。(4)体外或体内功能性研究显示对基因或基因产物有破坏作用的其他类型变异,并且变异未见于作为对照的外显子

组测序项目、千人基因组计划或外显子组整合数据库,或者变异位于已确认的功能区。

3.意义未明(uncertain significance)-3 类:证据不足以将其归类为 1、2、4 或 5 类的变异,或证据与良性和致病性分类相矛盾的变异。

4.可能良性(likely benign)-2 类。包括以下几种情况:(1)该变异编码的氨基酸改变与已确认的 1 类良性变异相同,但发生改变的基础核苷酸不同,且无证据表明该变异会导致剪接事件。(2)个体发生的胚系变异与已知致病变异在同一基因上呈反式(in trans)排列,且该个体除了 BRCA 相关肿瘤外无明显其他临床表征。

5.良性(benign)-1 类:(1)外显子组测序项目、千人基因组计划或外显子组整合数据库中等位基因频率>5% 的变异。(2)体外或体内功能研究显示对蛋白质功能或剪接无破坏作用的变异。

### 五、BRCA 变异解读数据库

变异解读的关键步骤之一是收集证据,并基于这些证据对变异进行分类。数据库是挖掘这些证据的重要资源。表 2 列出了一些常用的数据库,依使用情况分为 2 类:群体数据库和 BRCA 相关数据库。群体数据库记录的是以种群为基础的研究中发现的变异。大群体中的变异频率可从此类数据库中获得。BRCA1/2 变异相关研究已开展多年,有一些专门收集 BRCA 变异的数据库和积累大量 BRCA 变异的疾病数据库,可从中找到变异解读和相应的支持证据。

### 六、BRCA 检测报告

一份完整的 BRCA 检测报告要能够被肿瘤科医师或其他非分子病理学专业的医师理解,报告内容

表 2 BRCA 变异解读常用数据库

名称	网址
群体数据库	
dbSNP	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp</a>
Exome Variant Server	<a href="http://evs.gs.washington.edu/EVS/">http://evs.gs.washington.edu/EVS/</a>
Exome Aggregation Consortium	<a href="http://exac.broadinstitute.org/">http://exac.broadinstitute.org/</a>
1000 Genomes Project	<a href="http://browser.1000genomes.org/index.html">http://browser.1000genomes.org/index.html</a>
BRCA 相关数据库	
ClinVar	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/</a>
Breast Cancer Information Core (BIC)	<a href="http://research.nhgri.nih.gov/bic/">http://research.nhgri.nih.gov/bic/</a>
BRCA Exchange database	<a href="http://brcaexchange.org/">http://brcaexchange.org/</a>
Leiden Open Variation Database(LOVD)	<a href="http://www.lovd.nl">http://www.lovd.nl</a>
Human Gene Mutation Database (HGMD)	<a href="http://www.hgmd.org">http://www.hgmd.org</a>
Utah database	<a href="http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA1">http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA1</a> , <a href="http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA2">http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA2</a>
BRCA Share	<a href="http://www.umd.be/BRCA1">http://www.umd.be/BRCA1</a> , <a href="http://www.umd.be/BRCA2">http://www.umd.be/BRCA2</a>

应至少包括以下部分:样本信息、检测结果、基因变异分类的详细解释、检测方法和覆盖区域、签名和联系信息。样本信息部分应包括患者基本信息、样本类型、临床诊断、家族史。若送检的是肿瘤组织,样本信息部分还应该包括病理诊断、肿瘤细胞含量、取材时间、样本处理方式等信息<sup>[10]</sup>。检测结果部分应列出在该被检测者中发现的所有 2~5 类基因变异和总体 BRCA 状态。基因变异分类的详细解释部分应提供基因变异分类证据的简要说明。检测方法和覆盖区域部分应明确描述使用的是何种 BRCA 检测方法以及该方法覆盖的指定序列区域。签名和联系信息部分应列出实验操作、数据分析与报告撰写、报

告复核的人员姓名及便于进一步询问的联系信息。数据分析人员应具有临床医学、分子生物学或遗传学知识背景并经生物信息学培训。最终报告应由中级或硕士以上具有相关背景、经培训合格的本单位执业医师或者授权签字人(高级职称或医学博士学位)审核。检测报告模板如表 3。

**编写组成员**(按单位名称汉语拼音字母顺序排列):北京大学医学部病理学系(张波);北京医院病理科(王征);成都军区昆明总医院病理科(杨举伦);第三军医大学大坪医院病理科(肖华亮);第三军医大学西南医院病理科(阎晓初);第四军医大学西京医院病理科(王哲、叶菁);福建省肿瘤医院病理科(陈刚);复旦大学附属妇产科医院病理科(赵晨燕);

表 3 BRCA1/BRCA2 基因检测报告

检测编号:

姓名:	性别:	年龄:	收样日期:
联系方式: 门诊号/住院号: 家族史:		送检单位: 样本类型: 临床诊断:	科室: 样本部位: 送检医师:

检测结果:

基因	BRCA 总体评价	cDNA 改变	蛋白改变	纯合/杂合	变异解读
BRCA2	致病	c. 9294C>G	p. Tyr3098Ter	杂合	致病 (Pathologic)

结果说明:

该患者的外周血白细胞 DNA 样品检测出 BRCA2 基因 25 号外显子发生杂合子无义突变 c. 9294C>G (p. Tyr3098Ter)。该患者的外周血白细胞 DNA 样品和参考序列间的 DNA 序列比对分析未见其他差异(已知的多态性位点除外)。  
MLPA 分析结果显示未发现 BRCA1 或 BRCA2 外显子缺失或重复。  
BRCA2 c. 9294C>G p. Tyr3098Ter 突变在乳腺癌/卵巢癌家族中已有报道并在 BIC 数据库中被视为具有临床意义的突变,因此该突变被认为是致病性突变。  
在适当情况下可对其他有风险的家属进行该突变的检测。

备注:BRCA1 和 BRCA2 基因的整体编码序列(包括剪接供体和受体位点)经长片段 PCR 扩增后通过 Illumina MiSeq 平台进行二代测序。整个编码区及其邻近 +/- 20 bp 区域的最低测序深度为 100 x,经由自定义的生物信息分析方法进行突变和变异识别。任何未满足测序要求的区域采用双向 Sanger 测序进行筛选。检测到的突变和未分类的变异用 Sanger 测序法确认 (BigDye ver. 3. 1)。

采用 P002-C2 (BRCA1) 和 P045-B3 (BRCA2) MRC-Holland 探针混合物用 MLPA 方法检测 BRCA1 24 个编码外显子和 BRCA2 27 个编码外显子的拷贝数。

报告的突变遵从突变命名的 HGVS 指南 (<http://www.hgvs.org/>),并根据 GenBank 登记号 NM\_007294.3 (BRCA1) 或 NM\_000059.3 (BRCA2)命名。

本报告中突变的解读基于当前对 BRCA1/2 的认识,随着数据库尤其是中国人群数据的完善及文献等资料的更新,对突变的解读有可能发生变更。

实验操作: (签字/盖章有效)	报告分析:	报告审核:
--------------------	-------	-------

本结论只针对本次样本,如有疑问,请及时与我科联系

地址: 邮编: 电话: 报告日期:

复旦大学附属中山医院病理科(侯英勇);复旦大学附属肿瘤医院病理科(周晓燕);复旦大学医学院病理学系(朱虹光);广东省人民医院病理医学部(刘艳辉);哈尔滨医科大学附属第一医院病理科(吴鹤);河北医科大学第四医院病理科(刘月平);河南省肿瘤医院病理科(马杰);华中科技大学同济医学院病理科(段亚琦);吉林大学第二医院病理科(孙平丽);江苏省人民医院病理科(张智弘);解放军总医院病理科(石怀银);南方医科大学南方医院病理科(梁莉);南京军区南京总医院病理科(饶秋、周晓军);山东省肿瘤医院病理科(穆殿斌);山西省肿瘤医院病理科(郝彦凤);上海交通大学附属胸科医院病理科(张杰);上海交通大学医学院附属新华医院病理科(王立峰);同济大学附属上海市肺科医院病理科(武春燕);首都医科大学宣武医院病理科(滕梁红);四川大学华西医院病理研究室/病理科(步宏、刘卫平、叶丰);天津医科大学肿瘤医院乳腺病理研究室(付丽、李帅);天津医科大学病理学教研室(张丹芳);西安交通大学附属第一医院病理科(张冠军);浙江大学医学院病理学系(毛峥嵘);浙江大学医学院附属第一医院病理科(丁伟);浙江大学医学院附属邵逸夫医院病理科(许颂霄);浙江省肿瘤医院病理科(孙文勇);郑州大学第一附属医院病理科(姜国忠);中国科学院计算技术研究所(赵屹);中国医科大学附属第一医院病理科(邱雪杉);中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院病理科(梁智勇、吴焕文);中国医学科学院肿瘤医院病理科(应建明);中南大学医学院湘雅医院病理科(周建华);中山大学附属第一医院病理科(王连唐);中山大学附属肿瘤医院分子病理室(邵建永);中山大学肿瘤防治中心科研部(左志向)

### 参 考 文 献

- [1] Scott CL, Swisher EM, Kaufmann SH. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors; recent advances and future development [J]. J Clin Oncol, 2015, 33 ( 12 ): 1397-1406. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.8848.
- [2] Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7 ( 12 ): 937-948. DOI: 10.1038/nrc2054.
- [3] Plon SE, Eccles DM, Easton D, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results[J]. Hum Mutat, 2008, 29(11):1282-1291. DOI: 10.1002/humu.20880.
- [4] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. Genet Med, 2015, 17(5):405-424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
- [5] Richards CS, Bale S, Bellissimo DB, et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: revisions 2007 [J]. Genet Med, 2008, 10 ( 4 ): 294-300. DOI: 10.1097/GIM.0b013e31816b5cae.
- [6] ENIGMA Consortium. ENIGMA BRCA1/2 gene variant classification criteria [EB-OL]. ( 2015-03-26 ) [ 2016-08-10 ]. [https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2016/06/ENIGMA\\_Rules\\_2015-03-26.pdf](https://enigmaconsortium.org/wp-content/uploads/2016/06/ENIGMA_Rules_2015-03-26.pdf).
- [7] Larsson N, Borg Å, Hodgson S, et al. EMQN best practice guidelines for molecular genetic analysis in hereditary breast/ovarian cancer [EB-OL]. (2007-10-25) [2016-09-25]. [https://www.emqn.org/emqn/digitalAssets/0/232\\_EMQNBRCAGuidelines0908.pdf](https://www.emqn.org/emqn/digitalAssets/0/232_EMQNBRCAGuidelines0908.pdf).
- [8] Colombo M, Blok MJ, Whiley P, et al. Comprehensive annotation of splice junctions supports pervasive alternative splicing at the BRCA1 locus: a report from the ENIGMA consortium [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23 ( 14 ): 3666-3680. DOI: 10.1093/hmg/ddu075.
- [9] Li L, Biswas K, Habib LA, et al. Functional redundancy of exon 12 of BRCA2 revealed by a comprehensive analysis of the c.6853A>G (p.I2285V) variant [J]. Hum Mutat, 2009, 30(11):1543-1550. DOI: 10.1002/humu.21101.
- [10] 《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》编写组. 临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识 [J]. 中华病理学杂志, 2017, 46 ( 3 ): 145-148. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.03.001.

(收稿日期:2016-12-31)

(本文编辑:倪婧)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊编辑部工作人员的联系方式

本刊编辑部电话:010-85158244, 传真:010-85158373;  
E-mail: cjpa@cma.org.cn, 网址: <http://www.epathology.org.cn>。  
编辑部主任常秀青; 电话:010-85158243, E-mail: changxq@cma.org.cn; 王世贤; 电话:010-85158373, E-mail:

wangshixian@cma.org.cn; 倪婧; 电话:010-85158242, E-mail: nijing@cma.org.cn。

(本刊编辑部)