

# 罕见病遗传诊断技术进展——外显子组测序之外的探索

马雨萌<sup>1</sup>, 傅启华<sup>2</sup>, 范燕洁<sup>1</sup>

1. 上海交通大学医学院附属新华医院, 上海市儿科医学研究所, 上海 200092; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院 (电子科技大学附属医院), 四川 成都 610072

**【摘要】** 罕见病因其发病率低、病种繁多、机制复杂的特点, 给临床诊断带来极大挑战。遗传性因素约占罕见病发病原因的 80%, 因此遗传学检测是罕见病病因学诊断的重要手段。近年来外显子组测序已逐渐成为明确罕见病遗传病因的一线检测技术, 大幅提升了罕见病患者的诊断率。本文将概述罕见病遗传学检测技术发展, 探讨外显子组测序后仍未明确诊断的病例可能采用的下一步检测策略, 包括全基因组测序、长读长测序等在覆盖范围及检测变异类型方面更具优势的测序技术, 以及转录组、表观遗传组、蛋白质组、代谢组等辅助检测手段, 并述评各技术在罕见病遗传变异发现和解读中的优势及局限性。此外, 总结了各国现有罕见病数据库的建立和使用状况, 并讨论了基于数据库进行自动化重分析基因组数据以识别具有相似表型或相似基因突变的患者的重要性。本文旨在为临床医生和研究人员提供外显子组测序未明确诊断时可考虑的其它遗传学检测策略及技术选择。

**【关键词】** 罕见病; 诊断技术; 外显子组测序阴性; 多组学技术; 数字医学

**【中图分类号】** R394-3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-6170(2024)05-0006-06

**Advances in genetic diagnosis technology for rare diseases—explorations beyond exome sequencing** MA Yu-meng<sup>1</sup>, FU Qi-hua<sup>2</sup>, FAN Yan-jie<sup>1</sup> 1. Xinhua Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Institute for Pediatric Research, Shanghai 200092, China; 2. Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital (The Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China), Chengdu 610072, China

**【Corresponding author】** FAN Yan-jie

**【Abstract】** Rare diseases pose great challenges to clinical diagnosis due to their low incidence rate, diverse disease types, and complex mechanisms. Genetic factors account for approximately 80% of the causes of rare diseases. Therefore, genetic testing is a crucial tool for etiological diagnosis of rare diseases. In recent years, exome sequencing has gradually become a frontline detection technology for clarify the genetic causes of rare diseases. It has significantly improved the diagnostic rate of patients with rare diseases. This article provides an overview of the development of genetic testing technologies for rare diseases and explores potential next-step testing strategies for cases that remain undiagnosed after exome sequencing. The next-step testing strategies include sequencing techniques such as whole genome sequencing and long-read sequencing, which have more advantages in coverage and detections of variant types. Some auxiliary testing methods such as transcriptomics, epigenetics, proteomics, and metabolomics analysis should be also included. We also evaluate the advantages and the limitations of each technology in the discovery and interpretation of genetic variations in rare diseases. Furthermore, we summarize the establishment and utilization of existing rare disease databases in different countries. We also discuss the importance of automated reanalysis of genomic data based on databases to identify patients with similar phenotypes or genetic mutations. All in all, aims of this article are to provide clinicians and researchers with alternative genetic testing strategies and technology options when exome sequencing fails to provide a diagnosis.

**【Key words】** Rare disease; Diagnostic technique; Exome-negative; Multi-omics technique; Digital medicine

罕见病是一类发病率和患病率低 (<1/2000 ~ 1/10000), 但种类繁多 (>7000 种)、表现形式及病因机制各异的疾病<sup>[1]</sup>。据估计, 全球约有 4 亿人受到罕见病影响<sup>[2]</sup>, 而中国保守估计约有 2000 万以上罕见病患者<sup>[3]</sup>。罕见病能否被准确及时诊断影响

患者后续治疗, 但由于单病种病例数少, 临床医生经验相对缺乏, 罕见病面临“诊断难”的问题。据统计, 罕见病的平均诊断时间约为 4 ~ 5 年, 部分患者的诊断时间可能长达数十年<sup>[4]</sup>。由于 80% 的罕见病起源于基因变异<sup>[1]</sup>, 遗传检测技术成为诊断罕见病的关键手段之一。近十多年来, 以外显子组测序 (exome sequencing, ES) 为代表的高通量测序技术在罕见病诊断中发挥了重要作用, 已成为多种罕见病的临床一线检测手段, 但 ES 仍存在覆盖区域有限、覆盖率不均匀等限制<sup>[5]</sup>。本文将概述当 ES 未能明确诊断罕见病时 (即结果为阴性或变异意义不明), 可考虑的其他遗传学检测策略及相关技术进

**【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目 (编号: 82171165); 国家重点研发计划 (编号: 2022YFC2703405)

**【通讯作者简介】** 范燕洁, 女, 博士, 副研究员。上海市医学会分子诊断专科分会遗传病学组委员, 上海市医师协会检验医师分会遗传与精神疾病工作组委员。主要研究方向: 儿科遗传病尤其是神经发育障碍相关的分子诊断及病因学研究。

展,主要包括:①DNA 水平检测,如覆盖范围及变异类型比 ES 更为全面的全基因组测序、三代长读长测序等;②辅助明确遗传变异功能和临床意义的检测技术,如转录组、表观修饰组、蛋白质组、代谢组等。此外,也讨论了跨中心的罕见病数据库建立及自动化重分析基因组数据等领域的进展。本文拟通过探讨外显子组测序之外各种技术的适用范围及局限性,为临床医生和罕见病研究人员提供 ES 未明诊断病例下一步检测策略的参考。

## 1 外显子组测序的应用现状及局限性

ES 通过序列捕获将全基因组范围内的外显子区域 DNA 富集并进行高通量测序,可高效检出基因组中蛋白编码区域内的变异<sup>[6]</sup>。由于编码区变异占遗传性疾病相关变异的绝大多数,ES 在检测与遗传性疾病相关的变异上表现出色,其单独作为检测手段的诊断率可达 25% ~ 30%<sup>[7]</sup>。目前,ES 在不明原因发育落后,多发畸形等多种罕见病中,已成为一线临床遗传学检测手段<sup>[8]</sup>。

尽管 ES 显著提升了罕见病的遗传诊断率,但其存在固有的技术限制。首先,ES 仅针对基因编码区(占全基因组区域的 1% ~ 2%)进行测序<sup>[9]</sup>,非编码区 5' UTR、3' UTR、基因调控区域、内含子及基因间区域等变异大多无法覆盖,而非编码区变异致病的情况已在多种遗传性疾病中报道<sup>[10]</sup>。其次,ES 基于对外显子区的捕获,覆盖率在某些区域可能不均匀,如第一外显子、高 GC/AT 区域和低复杂度区域,这可能导致部分基因中的致病变异被遗漏<sup>[11]</sup>。此外,ES 不适用于检测结构变异(如倒位、易位、插入等)、短串联重复、甲基化异常等变异类型,这类变异需要采用其它检测手段进行分析以明确遗传病因。

## 2 ES 未明诊断病例的下一步检测策略

### 2.1 基因组测序(genome sequencing, GS)

与 ES 仅覆盖编码区域不同,GS 具有覆盖整个基因组区域的能力(包括非编码区),且实验过程中无需靶向捕获从而可达到比 ES 更为均一的覆盖。GS 在 ES 未明诊断病例中所带来的诊断率提升主要来源于以下几个方面:①相对更为均匀的外显子覆盖使得即便在编码区中,GS 相比于 ES 能更精确地检测插入缺失和拷贝数变异(copy number variations, CNV)<sup>[12]</sup>;②非编码区域变异的检出<sup>[13]</sup>;③结构变异(structural variations, SVs)的检出;④短串联重复序列(short tandem repeats, STRs)异常的发现;⑤线粒体变异等。

在近期几项大型队列研究中,GS 的诊断率可达到 28% ~ 34%<sup>[7,13,14]</sup>。不同研究针对 GS 与 ES 的

诊断率差异结果不一,基于美国 UDN(未明诊断疾病网络)的研究<sup>[15]</sup>,在已有非诊断性 ES 结果的情况下,GS 可以将诊断率提高 10% ~ 15%;而 Chung 等<sup>[7]</sup>的荟萃分析显示,只进行 GS 的罕见病诊断率为 34%,与只进行 ES 的诊断率(38%)没有统计学差异;而在具有神经系统表型的患者中,GS 的诊断率显著高于 ES。

随着 GS 测序成本的下降及相应分析算法的完善,在临床应用中有广泛的前景,我国亦已有相应的专家共识推出<sup>[16,17]</sup>。当前 GS 临床应用面临的问题及局限性主要在以下方面:首先,由于 GS 测序范围的扩大大幅增加了潜在候选变异数量,这使得意义不明变异(variants of uncertain significance, VUS)的报告率增加,如何结合功能解析手段以明确这些突变的临床意义将是进一步提升 GS 诊断效能的关键方向之一;其次,虽然基于短读长的 GS 可以识别编码区变异、部分 SV 和 STR,但它在检测复杂结构变异和长串联重复序列或位于高度重复和/或高度富含 GC 的区域方面的效能仍有限<sup>[18]</sup>。

### 2.2 长读长测序(long-read sequencing, LRS)

LRS 技术(又称三代测序),能够对含有数千个碱基的 DNA 片段进行直接测序<sup>[19]</sup>。目前两个主要的 LRS 平台为基于单分子实时测序技术(SMRT)的 Pacific Biosciences 和基于纳米孔单分子测序技术的 Oxford Nanopore Technologies(ONT)。二者均可获得超过 10 kb 的读长及 DNA 甲基化信息。相比较而言,SMRT 技术利用荧光标记的核苷酸进行测序,目前准确度更高(HiFi 模式下可达 99.9%);而 ONT 则是基于检测生物传感器(纳米孔)中离子流的变化,可读取更长的 reads(长度可达数个 Mb)<sup>[20]</sup>。

相比于以外显子组测序为代表的短读长测序方法(150 ~ 300 bp),LRS 能够检测复杂的结构变异,包括大片的倒位、缺失及易位等,并对复杂 SV 进行准确的断点定义,从而精确解析复杂的重排(如染色体倒位)<sup>[21]</sup>。根据 Ebert 等<sup>[22]</sup>的研究,LRS 可以识别超过 68% 的 NGS 无法识别的 SV。在一个包含 34 个家族的疑似常染色体隐性遗传病的队列<sup>[23]</sup>中,LRS 发现了 13 例(38%)可能的致病 SV。除此之外,LRS 技术还能检测重复扩增序列导致的疾病,包括亨廷顿病、脊髓小脑性共济失调等<sup>[24]</sup>。

此外,LRS 可直接检测天然 DNA 中的修饰(包括 5-甲基化胞嘧啶等),从而获得碱基级别的甲基化信息,可用于印记疾病以及其他与甲基化改变相关的疾病诊断<sup>[25]</sup>。LRS 作为当前覆盖变异类型最为全面的技术,是 ES/GS 未明诊断样本进一步遗传学检测的重要手段。

**2.3 基因组光学图谱技术 (optical genome mapping, OGM)** OGM 主要针对 SV, 可检测的范围跨度含 500 bp 到完整染色体大小, 类别包括 CNV (重复和缺失)、重复扩增序列、染色体插入、倒置和易位以及非整倍体<sup>[26]</sup>。与上面介绍的 DNA 测序手段不同, OGM 并不能识别 DNA 片段的碱基序列, 而是使用限制性核酸内切酶 (DLE1) 引入荧光标记, 标记全基因组存在的 6bp 基序 (CTTAG), 并生成高分辨率图像与计算机标记的参考序列对比<sup>[27]</sup>。该技术相比于传统的核型分析在分辨率上显著提升, 与染色体微阵列相比则可以检出更多的 SV 变异类别

(如平衡易位等), 而与荧光标记原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术相比具备更高的通量<sup>[28]</sup>。OGM 已被广泛用于各类样本的 SV 检测中, 与传统细胞遗传学分析相比有极高的一致性。OGM 的临床效能已在复发性流产<sup>[29]</sup>和面肩胛肌营养不良症<sup>[30]</sup>等多种疾病场景中得到检验。值得注意的是, OGM 难以检测多倍体、罗伯逊易位和其他涉及着丝粒的整臂易位<sup>[26]</sup>, 在检测微小片段缺失/插入位点时也需要其他分子诊断技术的辅助<sup>[31]</sup>。罕见病遗传诊断现有 DNA 组学技术对比见表 1。

表 1 罕见病遗传诊断现有 DNA 组学技术对比

方法	区域	平均读长	变异检测类别(是/否涵盖)				
			小尺度变异	CNV	SV	STR	甲基化异常
ES	编码区	150 ~ 300 bp	是	部分 (涉及编码区外显子时)	否	非常有限 (涉外显子区时可提示)	否
GS	全基因组	150 ~ 300 bp	是	是	有限	有限 (较长或复杂重复区检测困难)	否
LRS	靶向区域或全基因组	>10 kb	是	是	是 (包括倒位、易位及复杂重排等)	是 (也可检测长重复扩增序列)	是
OGM	所有染色体	>200 kb	否	是 (最高分辨率 500 bp)	是 (包括倒位、易位及复杂重排等)	是 (也可检测长重复扩增序列)	否

### 3 罕见病遗传学诊断的辅助技术

**3.1 转录组学** 作为 ES/GS 的有效补充, 基于 RNA-seq 技术的转录组测序正在成为遗传诊断中的重要工具, 在 ES 阴性样本中的诊断率可达 7.5% ~ 36%<sup>[11,32,33]</sup>。针对目标组织的 RNA-seq 分析可以发现基因的表达量异常、异常剪接、等位基因特异性表达和融合产生的新转录本等, 基于这些功能后果可以对 DNA 变异的致病性做出更为准确的评估<sup>[34]</sup>。

由于各组织之间基因表达和 mRNA 亚型差异较大, 采用受累组织进行 RNA-seq 分析是最理想的选择<sup>[35]</sup>。此前在针对 40 例遗传性皮肤病患者的研究<sup>[36]</sup>中, 其中 13 例 (32.5%) 可以仅根据皮肤成纤维细胞的转录组结果即做出明确诊断; Cummings 等<sup>[35]</sup>在 50 例 ES/GS 未明诊断的罕见肌肉疾病患者中, 对肌肉组织进行采样并进行 RNA-seq 分析, 获得了 34% 的诊断率。然而, 疾病受累组织有时难以获取, 如与神经疾病相关的脑组织等<sup>[37]</sup>。这些情况下可考虑通过可及组织如全血、成纤维细胞和骨骼肌等的检测, 获得与受累组织共表达的基因转录情况。研究表明 >70% 的 OMIM 疾病基因在血液中表达, 全血转录组测序可在 ES/GS 阴性样本中获得约 17% 的诊断率<sup>[11]</sup>。如果潜在目标基因在可及组织中不表达, 也可通过转分化的方法

获得与受累组织更为接近的细胞类型后进行转录组分析<sup>[38]</sup>。

**3.2 表观遗传学** DNA 甲基化等表观遗传修饰可以在不改变 DNA 序列的情况下对基因进行标记并影响基因活性状态, 分析表观基因组的变化可辅助阐明与表观修饰相关的罕见病致病原因<sup>[39]</sup>。基于血液的全基因组甲基化分析, 可用于发育迟缓、印记疾病或三核苷酸重复扩增及其它与甲基化相关疾病的检测, 其中的代表性工具是 Aref-Eshghi 等开发的 EpiSign<sup>[39]</sup> (基于甲基化微阵列技术和提取了多种疾病甲基化特征谱的 EpiSign 知识库)。在最近的一项研究中, Kerkhof 等<sup>[40]</sup>评估了 EpiSign 在 2399 例患者队列中的临床效用——基于 1667 例患者的甲基化特征谱、印记和启动子区域的全面分析, 诊断率为 18.7% (312/1667); 其余 732 例患者接受了靶向区域的甲基化特征分析, 用于评估 VUS、CNV 与所怀疑疾病的相关性, 诊断率为 32.4% (237/732)。然而, 由于缺乏罕见病中表观特征谱的大规模公共数据库, 目前对遗传疾病特异的表观特征谱的了解有限, 其临床解释仍然具有挑战性<sup>[39]</sup>。

**3.3 蛋白质组学** 蛋白质组学技术能够对细胞、组织或器官内包含的所有蛋白质进行分离、鉴定和定量, 为影响机体蛋白质表达水平的罕见病提供辅助

诊断,此外还可能帮助阐释这类疾病的分子发病机制,从而指导后续的靶向治疗以及预后评估。目前,基于质谱或抗体的蛋白质组学技术已被用于溶酶体贮积病、过氧化物酶体疾病、线粒体酶缺陷、中性粒细胞蛋白缺陷等疾病的检测<sup>[37]</sup>。有报道在 ES 阴性的中性粒细胞蛋白缺陷患者中,基于蛋白质组学技术发现的异常表达,帮助 2 例患者锁定了最终的致病基因<sup>[41]</sup>。

**3.4 代谢组学** 代谢组学通过对小分子 (<1500 Da) 代谢产物进行定量和定性分析,确定与疾病相关的特征性代谢标志物,从而帮助明确罕见病诊断或结合 DNA 测序结果阐释疾病发生机制原因。代谢组学检测通常被分为靶向和非靶向两种。非靶向代谢组学分析通过将患者样本与对照组样本的

代谢组全面对比,将从单个样本观察到的代谢物差异和先前数据中的疾病特异性代谢途径建立联系,可辅助 VUS 的重新评估<sup>[42]</sup>。Alaimo 等<sup>[43]</sup>同时结合外显子组测序和非靶向代谢组学数据,可将 170 例未确诊病例中的 74 例 (43.5%) 重新分类,其中 21 例 (12.3%) 得到了临床诊断。靶向代谢组学仅对目标类型的代谢产物进行靶向检测,可用于定向筛查某组先天性代谢缺陷。目前常用的靶向代谢组学检测手段是串联质谱法,能同时测量多种不同的代谢组学标记物,一次采样即可进行多种代谢缺陷疾病筛查<sup>[44]</sup>。但对于代谢组改变较为轻微的疾病,或对于易受患者饮食及用药影响的代谢物指标,其分析及结果解释存在挑战。罕见病遗传学诊断的辅助技术见表 2。

表 2 罕见病遗传学诊断的辅助技术

技术名称	常用检测手段	适用范围
转录组学	RNA-seq	可解析 DNA 变异在转录水平的后果如基因表达/剪接异常等,适用于各类遗传性疾病的受累组织或基因共表达、转分化获得的组织
表观遗传组学	甲基化微阵列芯片	与甲基化修饰相关的罕见病; Rett 综合征、Silver Russel 综合征等
蛋白质组学	质谱法蛋白分析 抗体法分析	中性粒细胞蛋白缺陷、溶酶体贮积病、过氧化物酶体疾病、线粒体酶缺陷等
代谢组学	靶向代谢组学 非靶向代谢组学	代谢异常疾病: 苯丙酮尿症、糖原累积症、有机酸血症等

#### 4 基于罕见病数据库的自动化重分析

随着各类测序手段的发展,从单个样本中检测到的变异数量和复杂程度也在增加,但往往由于缺乏临床数据、信息和证据支持,将检测到的变异进行准确的临床意义评估进而确认或排除诊断是当前的主要挑战之一。因此,对罕见病诊疗信息展开登记,建立能够共享的罕见病数据资料库对诊断、治疗以及疾病表型-基因型关联研究至关重要<sup>[45]</sup>。

在过去的 20 年中,美国、英国、法国、加拿大、澳大利亚等国家已经建立用于管理罕见病数据的国家综合信息网络,同时制定了相关数据收集和管理规则,并构建了数据标准如罕见病分类代码等以促进数据共享<sup>[46]</sup>。2016 年,中国国家罕见病注册系统 (national rare diseases registry system of china, NRDRS) 建立<sup>[3]</sup>。至 2024 年 4 月底, NRDRS 已针对 208 种/类罕见病建立 234 个队列,完成 78498 例罕见病患者的登记注册,为中国罕见病相关临床试验和研究提供了重要的数据支持<sup>[47]</sup>。

数据库的完善为原有数据的重分析提供了平台。随着测序技术的改进和分析手段的优化,重分析原有病例数据有助于未确诊病例所携变异的重新分类。据统计,使用最新信息学工具、文献和表型信息对原有 ES 数据进行重新分析和解释时,ES

诊断率可提高约 18%,并且有助于发现新的基因型-表型关联<sup>[48]</sup>。由于基因组数据数量和复杂性的增加,利用人工智能 (AI) 和机器学习 (ML) 进行定期自动化重分析将成为趋势。

#### 5 展望

随着高通量及多组学技术的发展,遗传检测技术在罕见病诊断中发挥着越来越重要的作用。ES 可达到 25% ~ 30% 的诊断率,但仍存在覆盖区域不全和覆盖率不均的限制。GS 长读长测序和光学图谱技术弥补了 ES 技术在覆盖区域以及检测 CNV、复杂结构变异、重复扩增序列等变异类型上的不足。转录组测序为进一步阐释 RNA 水平上的变异后果提供了可能,甲基化组学分析则降低了诊断异常甲基化修饰相关疾病的难度,而蛋白质组学分析和代谢组学分析为诊断影响特定蛋白和代谢途径的遗传病提供了工具。此外随着罕见病数据库信息的完善和发展,基于临床及基因数据整合架构的自动化重分析可为识别新的基因型-疾病表型关联创造条件。我们相信,随着技术和分析能力的不断优化以及检测成本的下降,遗传性罕见疾病的未解之谜将会被逐步揭开。

## 【参考文献】

- [1] Haendel M, Vasilevsky N, Unni D, et al. How many rare diseases are there [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(2):77-78.
- [2] RARE Disease Facts. Global Genes[GB/OL]. Accessed June 4, 2024. <https://globalgenes.org/rare-disease-facts/>
- [3] 郭健, 吕浩涵, 李杰, 等. 中国国家罕见病注册系统架构和数据质量控制及管理流程[J]. *中国数字医学*, 2021, 16(1):17-22.
- [4] Yan X, He S, Dong D. Determining How Far an Adult Rare Disease Patient Needs to Travel for a Definitive Diagnosis: A Cross-Sectional Examination of the 2018 National Rare Disease Survey in China[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(5):1757.
- [5] Marwaha S, Knowles JW, Ashley EA. A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome[J]. *Genome Med*, 2022, 14(1):23.
- [6] Murdock DR, Rosenfeld JA, Lee B. What Has the Undiagnosed Diseases Network Taught Us About the Clinical Applications of Genomic Testing [J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73:575-585.
- [7] Chung CCY, Hue SPY, Ng NYT, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of exome and genome sequencing in pediatric and adult patients with rare diseases across diverse populations[J]. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*, 2023, 25(9):100896.
- [8] Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders[J]. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*, 2019, 21(11):2413-2421.
- [9] Choi M, Scholl UI, Ji W, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(45):19096-19101.
- [10] Martin-Geary AC, Blakes AJM, Dawes R, et al. Systematic identification of disease-causing promoter and untranslated region variants in 8,040 undiagnosed individuals with rare disease [J]. *Med Rxiv Prepr Serv Health Sci*, 2023, 9(12):23295416.
- [11] Murdock DR, Dai H, Burrage LC, et al. Transcriptome-directed analysis for Mendelian disease diagnosis overcomes limitations of conventional genomic testing [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(1):e141500.
- [12] Qaiser F, Sadoway T, Yin Y, et al. Genome sequencing identifies rare tandem repeat expansions and copy number variants in Lennox-Gastaut syndrome[J]. *Brain Commun*, 2021, 3(3):fcab207.
- [13] Sanchis-Juan A, Megy K, Stephens J, et al. Genome sequencing and comprehensive rare-variant analysis of 465 families with neurodevelopmental disorders [J]. *Am J Hum Genet*, 2023, 110(8):1343-1355.
- [14] Wojcik M H, Lemire G, Berger E, et al. Genome Sequencing for Diagnosing Rare Diseases [J]. *N Engl J Med*, 2024, 390(21):1985-1997.
- [15] Schoch K, Esteves C, Bican A, et al. Clinical sites of the Undiagnosed Diseases Network: unique contributions to genomic medicine and science[J]. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*, 2021, 23(2):259-271.
- [16] 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, 上海市医学会分子诊断专科分会. 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.
- [17] 中华医学会医学遗传学分会细胞与基因组学组, 全基因组测序应用于产前诊断的专家讨论组, 王燕菲, 等. 高深度全基因组测序应用于胎儿结构异常的测试开发和初步实施的专家共识[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2024, 41(6):677-684.
- [18] Mitsuhashi S, Matsumoto N. Long-read sequencing for rare human genetic diseases[J]. *J Hum Genet*, 2020, 65(1):11-19.
- [19] Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications[J]. *Nat Rev Genet*, 2020, 21(10):597-614.
- [20] Damaraju N, Miller AL, Miller DE. Long-Read DNA and RNA Sequencing to Streamline Clinical Genetic Testing and Reduce Barriers to Comprehensive Genetic Testing [J]. *J Appl Lab Med*, 2024, 9(1):138-150.
- [21] Olson ND, Wagner J, McDaniel J, et al. PrecisionFDA Truth Challenge V2: Calling variants from short and long reads in difficult-to-map regions[J]. *Cell Genomics*, 2022, 2(5):100129.
- [22] Ebert P, Audano PA, Zhu Q, et al. Haplotype-resolved diverse human genomes and integrated analysis of structural variation[J]. *Science*, 2021, 372(6537):eabf7117.
- [23] AlAbdi L, Shamseldin HE, Khouj E, et al. Beyond the exome: utility of long-read whole genome sequencing in exome-negative autosomal recessive diseases[J]. *Genome Med*, 2023, 15:114.
- [24] Miyatake S, Koshimizu E, Fujita A, et al. Rapid and comprehensive diagnostic method for repeat expansion diseases using nanopore sequencing[J]. *NPJ Genomic Med*, 2022, 7(1):62.
- [25] Hiramuki Y, Kure Y, Saito Y, et al. Simultaneous measurement of the size and methylation of chromosome 4qA-D4Z4 repeats in facioscapulohumeral muscular dystrophy by long-read sequencing[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1):517.
- [26] Dremsek P, Schwarz T, Weil B, et al. Optical Genome Mapping in Routine Human Genetic Diagnostics-Its Advantages and Limitations [J]. *Genes*, 2021, 12(12):1958.
- [27] Yuan Y, Chung CYL, Chan TF. Advances in optical mapping for genomic research [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18:2051-2062.
- [28] 许伊云, 张沁欣, 胡平, 等. 基因组光学图谱技术在遗传病诊断中的应用[J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(8):636-638, 640.
- [29] Zhang S, Pei Z, Lei C, et al. Detection of cryptic balanced chromosomal rearrangements using high-resolution optical genome mapping[J]. *J Med Genet*, 2023, 60(3):274-284.
- [30] Dai Y, Li P, Wang Z, et al. Single-molecule optical mapping enables quantitative measurement of D4Z4 repeats in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) [J]. *J Med Genet*, 2020, 57(2):109-120.
- [31] Wojcik MH, Reuter CM, Marwaha S, et al. Beyond the exome: What's next in diagnostic testing for Mendelian conditions[J]. *Am J Hum Genet*, 2023, 110(8):1229-1248.
- [32] Frésard L, Smail C, Ferraro NM, et al. Identification of rare-disease genes using blood transcriptome sequencing and large control cohorts[J]. *Nat Med*, 2019, 25(6):911-919.
- [33] Lee H, Huang AY, Wang LK, et al. Diagnostic utility of

- transcriptome sequencing for rare Mendelian diseases [J]. Genet Med Off J Am Coll Med Genet, 2020, 22(3):490-499.
- [34] Montgomery SB, Bernstein JA, Wheeler MT. Toward transcriptomics as a primary tool for rare disease investigation [J]. Cold Spring Harb Mol Case Stud, 2022, 8(2):a006198.
- [35] Cummings BB, Marshall JL, Tukiainen T, et al. Improving genetic diagnosis in Mendelian disease with transcriptome sequencing [J]. Sci Transl Med, 2017, 9(386):5209.
- [36] Youssefian L, Saeidian AH, Palizban F, et al. Whole-Transcriptome Analysis by RNA Sequencing for Genetic Diagnosis of Mendelian Skin Disorders in the Context of Consanguinity [J]. Clin Chem, 2021, 67(6):876-888.
- [37] Kernohan KD, Boycott KM. The expanding diagnostic toolbox for rare genetic diseases [J]. Nat Rev Genet, 2024, 25(6):401-415.
- [38] Li S, Zhao S, Sinson JC, et al. The clinical utility and diagnostic implementation of human subject cell transdifferentiation followed by RNA sequencing [J]. Am J Hum Genet, 2024, 111(5):841-862.
- [39] Sadikovic B, Levy MA, Kerkhof J, et al. Clinical epigenomics: genome-wide DNA methylation analysis for the diagnosis of Mendelian disorders [J]. Genet Med, 2021, 23(6):1065-1074.
- [40] Kerkhof J, Rastin C, Levy MA, et al. Diagnostic utility and reporting recommendations for clinical DNA methylation epigenotype testing in genetically undiagnosed rare diseases [J]. Genet Med, 2024, 26(5):101075.
- [41] Grabowski P, Hesse S, Hollizeck S, et al. Proteome Analysis of Human Neutrophil Granulocytes From Patients With Monogenic Disease Using Data-independent Acquisition [J]. Mol Cell Proteomics MCP, 2019, 18(4):760-772.
- [42] Thistlethwaite LR, Li X, Burrage LC, et al. Clinical diagnosis of metabolic disorders using untargeted metabolomic profiling and disease-specific networks learned from profiling data [J]. Sci Rep, 2022, 12:6556.
- [43] Alaimo JT, Grinton KE, Liu N, et al. Integrated Analysis of Metabolomic Profiling and Exome Data Supplements Sequence Variant Interpretation, Classification, and Diagnosis [J]. Genet Med Off J Am Coll Med Genet, 2020, 22(9):1560-1566.
- [44] DeBerardinis RJ, Keshari KR. Metabolic analysis as a driver for discovery, diagnosis and therapy [J]. Cell, 2022, 185(15):2678-2689.
- [45] 马诗诗, 王春霞, 赵婷婷, 等. 儿童罕见病队列数据库数据共享机制专家共识 [J]. 中国数字医学, 2024, 19(2):35-41.
- [46] Derayeh S, Kazemi A, Rabiei R, et al. National information system for rare diseases with an approach to data architecture: A systematic review [J]. Intractable Rare Dis Res, 2018, 7(3):156-163.
- [47] 中国国家罕见病注册系统 [J]. 罕见病研究, 2024, 3(2):236.
- [48] Schobers G, Schieving JH, Yntema HG, et al. Reanalysis of exome negative patients with rare disease: a pragmatic workflow for diagnostic applications [J]. Genome Med, 2022, 14:66.

(收稿日期:2024-07-29;修回日期:2024-08-05)

(本文编辑:林 贇)

## 《实用医院临床杂志》稿约

《实用医院临床杂志》是由国家新闻出版总署批准,四川省卫生健康委员会主管,四川省医学科学院·四川省人民医院主办的综合性医学期刊,国内外公开发行,标准刊号 CN 51-1669/R,ISSN 1672-6170,为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊。本刊的办刊方针与宗旨是:贯彻执行党和国家的医疗卫生方针政策,面向临床,突出实用,坚持理论与临床结合,提高与普及并重,交流临床诊疗新技术、新方法、新成果、新经验,促进临床医务工作者医疗技术水平的提高。本刊主要栏目有:专题讨论、专家论坛、基础研究、临床研究与实践、综述等。

来稿应具有实用性、创新性、科学性。论著(包括图表和参考文献)8000 字以上,综述 6000 字以上。稿件文字务求精炼、通顺,数字、计量单位准确无误,书写工整规范。特殊文种、上下角标符号、排斜体等,均请在稿件中注明。

来稿请附作者单位介绍信,注明单位对稿件的评审意见及无一稿两投、不涉及保密、署名无争议等项。凡是以人为研究对象的论文,必须附有伦理审查合格证明复印件。

论文如属国家自然科学基金项目或省、部级以上重点攻关课题、其他科研基金资助的项目,请附批文复印件,并在文稿文末标注“【基金项目】×××科研资助项目(编号)”,如获专利请注明专利号。本刊对重大研究成果、国家自然科学基金、卫生部科研基金、国家中医药管理局研究基金以及省、市、自治区、高等院校、军队、教育部、出国留学人员等科研基金所资助的研究成果论文,将优先发表。

来稿文责自负。根据《著作权法》,结合本刊具体情况,编辑部可作文字修改、删节,涉及原意的重大修改,则提请作者考虑。修改稿逾期不寄回者,按自动退稿处理。

通信地址:四川省成都市一环路西二段 32 号四川省医学科学院·四川省人民医院内《实用医院临床杂志》编辑部,邮编:610072。

官网: <http://syyylczs.scyxxx.com>; 8907/

电话: 028-87714683; 87394696; 87394697

Email: [syyylc@vip.sina.com](mailto:syyylc@vip.sina.com)

本刊编辑部