

中检院制定的 BRCA 解读规则细则

1. 变异临床意义的分类

Class5: 致病

Class4: 疑似致病

Class3: 意义未明

Class2: 疑似良性

Class1: 良性

2. 致病证据等级

A: 致病的证据等级

(1) Very strong evidence of pathogenicity (PVS)

PVS1: Null 突变（无义突变、截短型移码突变、2bp 以内剪接突变、起始密码子丢失突变、单个或多个外显子缺失），且该基因的功能缺失（LOF）是已知的致病机制

备注 1: BRCA1 [编码 1863 AA] 第 1855 位氨基酸和 BRCA2 [编码 3418 AA] 第 3309 位氨基酸前发生的无义突变或移码突变。若为 1855 和 3309 氨基酸后发生的无义突变或移码突变需要结合文献情况进行综合判断。

备注 2: 对于 2bp 以内剪接突变，部分剪接突变会导致 in-frame 的 RNA 异构体，这类异构体可能会修复基因功能，不构成 PVS1 证据。详见 [附表 1]。

备注 3: 对于任意外显子重复突变，如果该变异导致 BRCA1 第 1855 位氨基酸和 BRCA2 第 3309 位氨基酸前发生移码突变。可以作为 PVS1 证据支持。

(2) Strong evidence of pathogenicity (PS)

PS1: 变异和已经报道的致病突变有相同的氨基酸改变，仅核苷酸改变不一样。例：

Val>Leu 可由 G>C 或 G>T 导致

备注：若已经报道的致病突变是通过影响 splicing 致病，PS1 证据需谨慎

PS3: 有公认的体内或体外功能试验结果支持变异常能导致基因或者基因产物产生破坏性影响

备注：功能试验是要能被验证的，可重复的，且是在临床诊断实验室被广泛成熟运用的。能直接评估突变对蛋白活性影响的证据力度强于间接评估方法，评估所采用的试验方法精度越高的力度越强，蛋白表达载体和人亲缘关系越近的力度越强，体内实验结果支持力度强于体外实验

PS4: 变异在患者中的频率显著高于健康对照人群中的频率（p 值小于 0.05；对于患者和对照中风险值，OR>5，相对风险置信区间不能包含 1）。

备注：某些非常罕见的变异在 Case-control 研究无显著统计学差异，但在多个无亲缘关系，且具有相同表型的患者体内检测到，且该变异在对照中未检出，需降至中等水平支持致病证据(PM)。

(3) Moderate evidence of pathogenicity(PM)

PM1: 位于突变热点区或者非常明确的功能结构域,且该区域无任何良性突变.

PM2: 变异在 1000G、1000G 亚洲、ExAC、ExAC 亚洲人群数据库中无记录或频率极低 (<0.0003) .

PM4: 非重复区域的框内缺失 插入突变引起的蛋白质长度的改变以及终止密码子处的延伸突变导致的蛋白质长度的改变.

PM5: 变异位置上其他氨基酸改变为已报道的致病突变。例：检测出 Arg156Cys 变异，该位置的 Arg156His 为已知致病突变.

备注：若已经报道的致病突变是通过影响 mRNA 剪接致病，除有体外实验证明目标剪接突变也导致 mRNA 剪接时发生跳跃，否则 PM5 证据需谨慎使用，详见[附表 2]。

(4) Supporting evidence of pathogenicity (PP)

PP1: 疾病致病基因的变异在家系患者中和疾病呈现共分离现象.

备注：共分离家系成员越多，支持度越强，可以提升到 moderate 或 Strong

PP3: 多种计算机软件预测变异会对基因或者基因产物功能有害（包括进化、保守性、剪接影响等）（判断时不作为证据等级，但可写在报告）。

备注：若所有的预测软件结果一致的时候可以作为一个证据；如果预测结果不一致则不可作为一个证据。常用错义突变预测软件为 SIFT、Polyphen2、MutationAssessor, MutationTaster 等。

PP4: 携带变异的患者表型或家族史与疾病的临床特征具有高度的一致性，表型需

满足 NCCN 指南（Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian）中 2 条.

a. 罹患上皮卵巢癌的患者

b. 诊断为乳腺癌的患者，且满足以下条件之一：在家系成员中有已知的肿瘤易感基因突变；早发型乳腺癌（如 <45 岁）； ≤ 60 岁，诊断为三阴性乳腺癌（ER-，PR-，HER2-）；在一个个体中为乳腺癌双侧原发；任何年龄诊断为乳腺癌，且有 ≥ 1 个较近的血缘关系亲属 ≤ 50 岁时诊断为乳腺癌或有 ≥ 1 个较近的血缘关系亲属在任何年龄诊断为浸润性乳腺癌或有 ≥ 2 个较近的血缘关系亲属在任何年龄诊断为乳腺癌/胰腺癌或在任何年龄诊断为胰腺癌或高风险人群；男性乳腺癌患者

c. 德系犹太人，且为早发的乳腺癌、卵巢癌或胰腺

d. 个体罹患或家族史中有以下 3 种或更多肿瘤（尤其是早发的，在 1 个患者中可能涉及到多种原发肿瘤）：乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌（gleason 评分 ≥ 7 ）、黑色素瘤、肉瘤、肾上腺肿瘤、脑肿瘤、血液病、弥散性胃癌、结肠癌、子宫内膜癌、甲状腺癌、肾癌、皮肤肿瘤或大头畸形、胃肠道间质错构息肉瘤

e. 个体无肿瘤家族史，但亲近的亲属有以下情况之一：在家族中有肿瘤易感基因突变或在个体中有 ≥ 2 个乳腺癌原发或 ≥ 2 个个体具有一侧原发性乳腺癌且至少 1 个诊断年龄 ≤ 50 岁或卵

巢癌或男性乳腺癌；一级或二级亲属为乳腺癌，且诊断年龄≤45岁；家族史中有以下3种或更多肿瘤（尤其是早发的，在1个患者中可能涉及到多种原发肿瘤）：乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌（gleason评分≥7）、黑色素瘤、肉瘤、肾上腺肿瘤、脑肿瘤、血液病、弥散性胃癌、结肠癌、子宫内膜癌、甲状腺癌、肾癌、皮肤肿瘤或大头畸形、胃肠道间质错构息肉瘤

PP5：可信的报道认为是致病突变但无独立的实验室实验结果加以证明。

备注：Clinvar 或 BIC 或 UMD，若不同数据库对1个点的判断结果是跨级别（4和5一个级别；1，2和3一个级别）的，则该证据不能使用。

B:支持良性证据

（1）Stand-Alone evidence of benign impact (BA)与 Strong evidence of benign impact (BS)

BA1：变异在1000G、1000G 亚洲、ExAC、ExAC 亚洲人群数据库或者中国人的基线数据库（比如 NIFTY）中的频率≥1%..

BS1：等位基因频率大于疾病发病率。

BS2：对于早期完全外显的疾病，在健康成年人中发现该变异(隐性遗传病发现纯合、显性遗传病发现杂合，或者 X 连锁半合子)。

备注：此条应限定为变异在患者和健康对照中的频率无显著性差异

BS3：体内或体外蛋白功能试验结果显示变异对蛋白功能或 mRNA 剪接无影响。

BS4：在一个家系成员中缺乏共分离。

备注：这部分需要考虑复杂疾病和外显率问题，比如在小家系中缺乏共分离现象可能是非遗传因素或疾病未外显引起的

（2）Supporting evidence of benign impact (BP)

BP1：变异基因相关疾病的主要致病突变类型为 Null 突变，但检出的为错义突变。

BP2：变异与另一致病突变呈 trans，且基因相关疾病为完全外显的 AD 遗传。

BP3：变异为框内缺失/插入，且变异所在位置为非重要功能的重复区域。

BP4：多种计算机软件预测变异对基因或者基因产物功能无影响（保守性、进化、对剪接影响等）

BP6：可信的报道认为变异为良性但无独立的实验室实验结果加以证明。

BP7：变异为同义突变，且 SIFT、Polyphen2、MutationAssessor, MutationTaster 等软件预测变异不会影响剪接或产生新的剪接位点，且变异所在位置氨基酸不保守。

3.临床意义的判定

类别	其他表述	证据
致病 (pathogenic)	5 类 (class 5)	PVS1 且 a) ≥1 PS 或 b) ≥2 PM 或 c) 1PM +1PP 或 d) ≥2 PP 或
		≥2 PS

		1 PS 且 a) 3PM 或 b) 2PM+2PP c) 1PM + 4PP
疑似致病 (likely pathogenic)	4 类 (class 4)	PVS1+1 PM
		1 PS +1-2PM
		1PS +≥2 PP
		3PM
		2PM + 2PP
		1PM+4PP
意义未明, (variant of uncertain significance)	3 类 (class 3)	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。
疑似良性 (likely benign)	2 类 (class 2)	BS3 + 1BP
		≥2 BP
良性 (benign)	1 类 (class 1)	1BA1

资料性附录

附表 1：已知或预测的 BRCA1/BRCA2 基因外显子边界突变会导致 in-frame RNA 异构体，可能对基因功能具有修复作用，这类突变不可作为 PVS1 证据。

基因	变异后果	变异
BRCA1	Δ8p	c.442-1 (IVS7-1) c.442-2 (IVS7-2)
	Δ9,10	c.548-1 (IVS8-1) c.548-2 (IVS8-2) c.593 to non-G c.593+1 (IVS9+1) c.593+2 (IVS9+2) c.594-1 (IVS9-1) c.594-2 (IVS9-2) c.670 to non-G c.670+1 (IVS10+1) c.670+2 (IVS10+2)
	Δ11q, Δ11	c.4096 to non-G c.4096+1 (IVS11+1) c.4097+2 (IVS11+2)
	Δ13p	c.4186-1 (IVS12-1) c.4186-2 (IVS12-2)
	Δ14p	c.4358-1 (IVS13-1) c.4358-2 (IVS13-2)
BRCA2	Δ12	c.6842-1 (IVS11-1) c.6842-2 (IVS11-2) c.6937 to non-G c.6937+1 (IVS12+1) c.6937+2 (IVS12+2)

附表 2：已知的会影响剪接的 BRCA1/2 基因的 missense 突变

变异名称	mRNA 改变	预测的蛋白改变
BRCA1 R1495M (c.4484G>T (p.Arg1495Met))	r.[4358_4484del, 4358_4675del]	p.(Ala1453GlyfsTer10) - predominant transcript
BRCA1 E1559K (c.4675G>A (p.Glu1559Lys))	r.[4665_4675del]	p.(Gln1366AlafsTer13)
BRCA1 A1623G (c.4868C>G (p.Ala1623Gly))	r.[4868_4986del]	p.(Ala1623AspfsTer16)
BRCA1 D1692N (c.5074G>A (p.Asp1692Asn))	r.[4987_5074del, 5074_5075ins5074+1_5074+153]	p.(Val1665SerfsTer8) – predominant transcript
BRCA2 R2659K (c.7976G>A (p.Arg2659Lys))	r.[7806_7976del]	p.(Ala2603_Arg2659del)
BRCA2 R2659T (c.7976G>C (p.Arg2659Thr))	r.[7806_7976del]	p.(Ala2603_Arg2659del)
BRCA2 P3039P (c.9117G>A (p.Pro3039Pro))	r.[8954_9117del]	p.(Val2985Glyfs*4)

附表 3:BRCA1 基因保守区域/结构域及目前已报道过的变异

Domain/Motif	氨基酸起始	氨基酸结束	已报道过的位点（VUS/疑似致病/致病）	参考文献
RING	1	101	L22S (c.65T>C (p.Leu22Ser))	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/15988069 ; http://hci-exlovd.hci.utah.edu ; Multifactorial analysis for H41R (c.122A>G (p.His41Arg)) (Whiley et al., 2014).
			T37K (c.110C>A (p.Thr37Lys))	
			C39R (c.115T>C (p.Cys39Arg))	
			H41R (c.122A>G (p.His41Arg))	
			C44S (c.130T>A (p.Cys44Ser))	
			C44Y (c.131G>A (p.Cys44Tyr))	
			C61G (c.181T>G (p.Cys61Gly))	

NES	81	99	None reported	Domain location description (Rodriguez and Henderson, 2000)
NLS1	503	508	None reported	Domain location description (Chen et al., 1996, Thakur et al., 1997).
NLS2	607	614	None reported	Domain location description (Chen et al., 1996, Thakur et al., 1997).
NLS3	651	656	None reported	Domain location description (Chen et al., 1996).
COILED-COIL	1391	1424	None reported	Domain location description (Hu et al., 2000)
BRCT DOMAINS	1650	1863	T1685A (c.5053A>G (p.Thr1685Ala))	Domain boundaries derived from X-ray crystallography data are aa1646-1863 (1T15, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdbs/mmdbsrv.cgi?uid=27907), and ENIGMA functional assay data (Monteiro, unpublished). Digestion data indicate aa1860-1863 are dispensable based on susceptibility to digestion (Lee et al., 2010), while pathogenic variant data indicate that 1855-1862 are dispensable (Hayes et al., 2000). Position 1854 is implicated as clinically important by the observation that Y1853X (c.5559C>G (p.Tyr1853Ter)) is a recognized high-risk pathogenic variant. These data combined indicate that position 1854 or 1855 is the C-terminal border of the BRCT/BRCA1 relevant to clinical interpretation of sequence variants in exon 24 of BRCA1. That is, a variant predicted to disrupt expression of protein sequence only upstream of position 1855 would not be considered clinically important.
			T1685I (c.5054C>T (p.Thr1685Ile))	
			V1688del (c.5062_5064del (p.Val1688del))	
			R1699W (c.5095C>T (p.Arg1699Trp))	
			G1706E (c.5117G>A (p.Gly1706Glu))	
			A1708E (c.5123C>A (p.Ala1708Glu))	
			S1715R (c.5143A>C (p.Ser1715Arg))	
			G1738R (c.5212G>A (p.Gly1738Arg))	
			L1764P (c.5291T>C (p.Leu1764Pro))	
			I1766S (c.5297T>G (p.Ile1766Ser))	
			M1775K (c.5324T>A (p.Met1775Lys))	
			M1775R (c.5324T>G (p.Met1775Arg))	
			C1787S (c.5359T>A (p.Cys1787Ser))	
			G1788V (c.5363G>T (p.Gly1788Val))	
			V1838E (c.5513T>A (p.Val1838Glu))	

附表 4:BRCA2 基因保守区域/结构域及目前已报道过的变异

Domain/Motif	氨基酸起始	氨基酸结束	已报道过的位点 (VUS/疑似致病/致病)	参考文献
PALB2 Binding	10	40	None reported	Domain location description (Oliver et al., 2009, Xia et al., 2006)
BRC-1	1002	1036	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-2	1212	1246	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-3	1422	1453	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-4	1518	1549	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-5	1665	1696	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-6	1837	1871	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-7	1971	2005	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
BRC-8	2051	2085	None reported	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2
DBD (DNA/DSS1 binding domain - helical, OB1, OB2, OB3)	2481	3186	c.7878G>C (p.Trp2626Cys) c.7879A>T (p.Ile2627Phe) c.7988A>T (p.Glu2663Val) c.8165C>G (p.Thr2722Arg) c.8168A>G (p.Asp2723Gly) c.8167G>C (p.Asp2723His)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000050.2 ; http://hci-exlovd.hci.utah.edu . Pathogenic variant c.8486G>A (also recorded as Gln2829Arg) results in a transcript encoding an in-frame exon 19 deletion only (Houdayer et al., 2012), indicating that genetic variation encompassing loss of this entire exon (AA2778-2829) should be considered clinically important. The clinical impact of alteration/deletion of individual amino acids in exon 19 is not yet established.

			c.8243G>A (p.Gly2748Asp)	
			c.8332_8487del (p.Ile2778_Gln2829del)	
			c.9154C>T (p.Arg3052Trp)	
NLS1	3263	3269	None reported	Domain location description (Guidugli et al., 2014)
BRC-9 or TR2	3265	3330	None reported	Note, although amino acids 3270-3305 within this fragment is reported to bind RAD51-DNA filaments (Davies and Pellegrini, 2007), there is no sequence conservation with the BRC repeats located between aa1002 and aa2014. Domain boundaries are derived from x-ray chrystallography data are aa3265-3330 (Esashi et al., 2005, Esashi et al., 2007). Case-control and frequency data indicate that BRCA2 c.9976A>T (p.Lys3326Ter) does not confer a high risk of cancer (OR 1.3-1.5, dependent on breast or ovarian cancer subtype (Meeks et al., 2016), demonstrating that residues at and downstream of 3327 are likely dispensable. Position 3308 is implicated as clinically important by the observation that a nonsense variant c.9924C>G (p.Tyr3308Ter) is recognized as a high-risk pathogenic variant with known functional relevance ((Vallee et al., 2016); Bayes score 1122:1 from a single large kConFab family, Spurdle unpublished data). There is currently no publicly available clinical information to support pathogenicity of nonsense or frameshift variants located between positions 3309 and 3325. These data combined suggest that the C-terminal border of the BRC-9 relevant to the clinical interpretation of sequence variants in exon 27 of BRCA2 lies between 3309 and 3325. That is, a variant predicted to disrupt expression only of protein sequence downstream of position 3325 would be considered unlikely to be clinically important. Further functional and clinical studies are underway to refine risk, if any, for predicted nonsense or frameshift variants downstream of position 3326.
NLS2	3381	3385	No	Domain location description (Guidugli et al., 2014). This domain is considered unlikely clinically relevant since it lies downstream of position 3326.