

基因序列变异致病性自动化评级工具研究进展

刘 婷 李长龙 杨树法

摘 要 本文在简要总结美国医学遗传学和基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 判定规则的基础上,介绍了 Varsome、Intervar、Franklin、AutoPVS1 等常见的序列变异致病性解读网站和软件。这些软件对 ACMG 指南规则中基于人群频率和生物信息学预测数据的规则能够进行很好的判读,而基于文献方面的规则需要手工判读。实验室和临床工作者合理使用自动化解读工具,可以提高对基因序列变异致病性判读的效率,确定临床患者的遗传学病因,建立临床症状和基因间的关系。

关键词 序列变异 ACMG 指南 评级 网站 软件

中图分类号 R596 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2026.01.025

基因序列变异指生物体内基因的 DNA 序列发生改变,造成个体间差异^[1]。不致病的序列变异称为多态^[2];导致遗传病或癌症的序列变异,称为致病性变异^[3]。随着全基因组测序和全外显子测序广泛应用,越来越多的基因序列变异被检出,如何准确快速判定序列变异的致病性成为基因检测领域面临的难题。目前,变异致病性判定的主流标准是美国医学遗传学和基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)、美国分子病理学会 (Association for Molecular Pathology, AMP) 以及美国病理学家学院 (College of American Pathologists, CAP) 在 2015 年发表的序列变异解读指南 (简称 ACMG 指南),使用过程中需对 26 条规则进行评级,过程复杂。为了更好的辅助实验室按照 ACMG 指南解释序列变异致病性,研究人员开发了自动化解读工具。

当前应用于 ACMG 指南解读的在线工具主要分为两种类型:一类是以 GeneBe、Varsome、TAPES、CharGer、Intervar 和 Franklin 为代表的综合评价网站,能够实现 ACMG 指南多数规则进行判定,对基因序列变异进行致病性评级;另一类如 VarCards 和 Van-

noPortal 等工具则聚焦于特定 ACMG 规则的判读。本文系统梳理了现有工具的功能特征与适用范围,旨在为临床医生和遗传检测实验室建立标准化的变异解读流程提供技术参考,从而提升序列变异注释的准确性和工作效率。

一、综合评价网站

2015 年 ACMG 关于序列变异致病判定规则包括 28 条,在可靠来源证据 (PP5 和 BP6) 废弃后,剩余 26 条^[4,5]。各条证据项以及条目见表 1。对每个变异按照条目进行评分,相加得到总分。然后,按照如下标准评级:致病性 (>10 分);可能致病性 (6~9 分);意义不明确 (0~5 分);可能良性 (-3~-1 分);良性 (<-4 分)。综合性评价网站能够对 28 条 (或 26 条) 中的大多数进行评级,最终给出序列变异的致病性评级 (良性、可能良性、意义不明确、可能致病以及致病)。

1. GeneBe 网站:GeneBe 网站是由波兰华沙医科大学 Piotr 等开发的^[6]。该网站对 ACMG 指南中的 17 条 (PVS1、PM1、PM2、PM4、PM5、PP2、PP3、PP5、PS1、BS1、BS2、BA1、BP1、BP3、BP4、BP6 和 BP7) 进行了评级。需要查阅文献的新发突变 (PS2、PM6)、功能实验证据 (PS3、BS3)、病例对照证据 (PS4)、反式位置证据 (PM3、BP2)、共分离证据 (PP1、BS4)、表型证据 (PP4) 以及替代分子证据 (BP5) 需要手动评级。在文件检索方面,网站获取了 Litvar 网站来源的序列变异相关的文献。网站还提供了 Lifter 工具以及 HGVS 转换工具,Lifter 工具可以在 Hg19 和 Hg38 两个版本基因坐标间转换。HGVS 转换工具可以将

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (32070537);北京妇产医院科技创新及转化专项课题 (FCYYGL202504)

作者单位:100026 北京,首都医科大学附属北京妇产医院/北京妇幼保健院科技处 (刘婷);100069 北京,首都医科大学基础医学院医学遗传学与发育生物学系 (李长龙);100026 北京,首都医科大学附属北京妇产医院/北京妇幼保健院产前诊断中心 (杨树法)

通信作者:杨树法,电子邮箱:sfyang@mail.ccmu.edu.cn

表 1 ACMG 评级表

证据项	分值(分)
非常强致病性证据(pathogenic very strong, PVS)	
PVS1:致病机制为功能丧失的无功能变异	8
PS1:与先前已确定为致病性的变异有相同的氨基酸改变	4
强致病性证据(pathogenic strong, PS)	
PS2:经双亲验证的新发变异	4
PS3:体内、体外实验证明变异导致基因功能受损	4
PS4:变异出现在患病群体中的频率显著高于对照群体	4
PM1:位于热点突变区域	2
PM2:正常人群数据库中未发现的变异	2
PM3:在隐性遗传病中,反式位置检测到致病变异	2
中等致病性证据(pathogenic moderate, PM)	
PM4:非重复区域框内插入/缺失或终止密码子丧失	2
PM5:与先前已确定为致病性变异有不同的氨基酸改变	2
PM6:未经父母样本验证的新发变异	2
PP1:突变与疾病在家系中共分离	1
PP2:错义变异为主要致病变异的基因中发现的错义变异	1
支持致病性证据(pathogenic supporting, PP)	
PP3:多种软件预测该变异有害	1
PP4:表型或家族史高度符合某种单基因遗传疾病	1
PP5:有可靠信誉来源的报告认为该变异为致病的(已废止)	1
独立良性证据(benign stand-alone, BA)	
BA1:正常人群数据库中中等位基因频率>5%的变异	-8
BS1:等位基因频率大于疾病发生率	-4
强良性证据(benign strong, BS)	
BS2:对于早期完全外显的疾病,在健康成年人中发现该变异	-4
BS3:体内、体外实验证明变异不影响基因功能	-4
BS4:家系中缺乏共分离	-4
BP1:截短变异为主要致病变异的基因中发现的错义变异	-1
BP2:相同基因上出现可以替代解释病因的变异。	-1
BP3:功能未知重复区域内的整码缺失/插入	-1
支持良性证据(benign supporting, BP)	
BP4:多种统计方法预测该变异对基因或基因产物无影响	-1
BP5:在已经有另一分子致病原因的病例中发现的变异	-1
BP6:有可靠信誉来源的报告认为该变异为良性(已废止)	-1
BP7:同义变异且预测不影响剪接	-1

不同转录本 cDNA 命名的突变转变为基因组坐标。与其他网站比较, GeneBe 提供了以 VCF 格式向网站批量提交序列变异, 进而实现批量解读的功能, 但是该方式只能是 Hg38 版本的序列变异。GeneBe 比较适用利用 VCF 文件完成大量序列变异的批量解读, 也可用于 Hg19 和 Hg38 两个版本基因坐标间转换。

2. Varsome 网站: Varsome 是由瑞士的 Christos 等开发, 该网站持续更新。目前最新版本(12.2.0)所链接数据库多达 144 种^[7]。检索内容可以是基因、转录本、序列变异等。当输入内容为基因时, 网站将返回基因的官方名称、与外部数据库的连接、对基因功能的简短描述以及与疾病的关系。在对生殖系细胞

序列变异进行解读时, 没有对 PS3、BS3、PP5 以及 BP6 进行评级, 需要临床以及实验室评价人员对这 4 条规则进行评级。Varsome 提供了不同的版本: 基础版本、Premium、clinical 以及 API 版本, 不同版本链接的数据库不同, 临床版所链接的数据库最全。ACMG 一些规则 (PM2、BS2、BP1) 的判定需要确定基因的遗传方式。基因的遗传方式主要参考 OMIM 和 CGD 数据库, 补充参考 ClinGen Disease Validity、gene2Phenotype、GenCC 以及 PanelApp 作为 OMIM 和 CGD 数据库。Varsome 适合对每个变异进行相应条目的自动评级, 然后根据网站提供的变异相关文献完成手动评级, 进而完成一个序列变异的完整评级。

3. TAPES 软件: TAPES 是由澳大利亚 Alexandre 等发一个工具包^[8]。与 Intervar 和 CharGer 比较, TAPES 考虑了队列中序列变异的频率, 能够更好地预测序列变异致病性并且过滤良性序列变异。通过与一般群体比较, TAPES 能够富集特征症状群体携带的变异。通过对致病性序列变异的通路分析, TAPES 软件还可以计算基因负担指数, 该指数与特征性队列中基因的潜在致病性密切相关。在序列变异评级层面, TAPES 软件利用 ANNOVAR 对变异进行注释, 然后对每个序列变异进行 ACMG 评级。在队列水平, TAPES 可以借助用户提供的基因集、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路基因集或者特征性基因集过滤序列变异, 并对每个标本中序列变异按照致病性概率进行排序, 方便对致病性变异筛选。TAPES 利用 EnrichR 软件包对序列变异进行功能富集分析, 以携带有致病性序列变异的基因为对象, 进行功能富集分析, 进而阐述序列变异对机体功能的影响。TAPES 软件更适合从基因功能富集分析的角度对基因进行筛选, 探索疾病的潜在致病基因。

4. CharGer 软件: CharGer 基于 python2.7 开发, 可以在 PyPI 库下载^[9]。CharGer 包括 16 个评级模块, 其中 10 模块与 ACMG 相关 (8 个致病性和 2 个良性模块), 6 个模块为用户自定义模块 (4 个致病性和 2 个良性模块)。CharGer 对序列变异的评级也分为两个方式, 一种是依照 ACMG 规则, 另一种将用户自定义规则与 ACMG 规则共同使用。CharGer 软件使用 VCF 格式文件为输入格式, 使用 VEP 软件进行注释, 用户可以设置每个模块的阈值使其评级过程具有很大的弹性。当需要设定更多筛选条件时, 尤其是用

户需要设定个性化的筛选条件时, CharGer 有更多优势。

5. Intervar 网站: Intervar 是最早的按照 ACMG 指南对序列变异解读的自动化软件, 最初的 Intervar 利用 ACMG 指南中的 18 条规则 (PVS1、PS1、PS4、PM1、PM2、PM4、PM5、PP2、PP3、PP5、BA1、BS1、BS2、BP1、BP3、BP4、BP6 以及 BP7) 对序列变异进行评级, 将自动评级和手动评级结果综合获得最终评级结果, 该软件后续进行了升级^[10]。Intervar 页面简洁, 操作方便, 适合对单个基因序列变异进行评级。

6. Franklin 网站: Franklin 网站由 genoox 支持开发。该网站可以对单核苷酸变异以及拷贝数变异分别按照相应指南进行评级^[4, 11]。在对序列变异解读过程中, Franklin 网站对 17 条规则进行了自动评级 (PM2、BA1、BS1、BS2、PM1、PP2、PP3、BP4、PVS1、PS1、PM4、PM5、BP1、BP3、BP7、PS2、PM6)。在获取自动评级结果后, 需要将其他规则 (PS3、BS3、PM3、BP2、PP1、BS4、PP4、BP5 以及 PS4) 进行手动评级。Franklin 的使用范围与 Varsome 类似, 适合对序列变异进行逐次评级, 依次完成自动评级和手动评级, 最终获取变异的致病性评级结果。

7. VIP - HL: 与前面的通用性网站/软件不同,

VIP - HL 仅仅针对耳聋致病性基因的变异进行评级^[12]。VIP - HL 对 ACMG 评级中的 13 条进行了评定 (PVS1、PS1、PM1、PM2、PM4、PM5、PP3、BA1、BS1、BS2、BP3、BP4 以及 BP7)。VIP - HL 按照临床基因组资源耳聋专家组 (clingen hearing loss expert panel) 在 2018 年制定的规则评定, 针对 142 个耳聋相关基因。

上述 7 个综合性软件/网站针对基因序列变异致病性评级过程中, 能够评级的规则主要集中在人群频率以及生物信息学计算两个方面相关的规则。在对自动评级的规则进行评级时, 这些网站所使用的数据库基本一致, 所得结果也类似, 在简要核对后, 能够代替人工评级。对于未报道的序列变异, 不需要查阅文献, 网站的自动评级结果基本就是最终评级结果。对于已经报道的序列变异, 需要查阅文献完成手动评级结果, 然后结合自动评级结果, 即可完成一个序列变异的全部评级。

二、针对部分 ACMG 指南中规则的网站

与综合性网站/软件不同, 另外一些网站只针对 ACMG 规则中的部分规则进行评级, 或者仅仅提供判读 ACMG 规则需要的数据, 这部分网站在 ACMG 指南致病性评级中的特点如表 2 所示。

表 2 辅助 ACMG 指南解读序列变异致病性网站特点

网站名称	网站内容	适用范围
VarCards	整合多个等位基因频率数据库、错义突变功能预测数据库、疾病相关数据库、基因耐受性数据库、基因功能数据库以及基因表达数据库	PP3/BP4 和 PM2 评级
VannoPortal	提供人群频率信息、与疾病/特征关联信息、保守性信息、等位基因不平衡和致病性等信息	潜在致病性位点发现
CAUSALdb	GWAS 数据库, 呈现了变异位点与症状间关联概率	潜在致病性位点发现
dbNSFP	整合预测软件预测值、保守性预测值以及人群队列等位基因频率	PP3/BP4 和 PM2 评级
AutoPVS1	适用于无效变异, 分析基因致病机制, 根据不同的类型进行评定 PVS1 强度	PVS1 规则评级

1. VarCards: VarCards 最初整合了 60 多种基因组相关的数据库, 后来陆续增加一些数据库^[13]。这些数据库可以分为等位基因频率数据库、错义突变功能预测数据库、疾病相关数据库、基因耐受性数据库、基因功能数据库以及基因表达数据库等。在输入序列变异后, 网站会给出该序列变异在不同数据库的返回值, 根据返回值, 对 ACMG 中的 PP3、BP4、PM2 等规则进行判定。另外, 一些实验室将有害预测数量 > 13 作为是否使用 PP3 的规则。

2. VannoPortal: VannoPortal 整合了 40 个数据库信息, 提供了 ACMG 评定中常用的人群频率信息、与

疾病/特征关联信息、保守性信息、等位基因不平衡和致病性等多种信息^[14]。在提供进化保守性信息时, VannoPortal 除了报道来自 CADD、PhyloP、phastCons、GERP、fitCons 等数据库信息外, 还计算了每个项目的 PHRED - scaled 分值, 方便读者使用, 作者认为 PHRED - scaled 分值大于 10 的位置为保守位置。在致病性/特征方面, 网站调取了 The NHGRI - EBI GWAS Catalog v1.0.2 以及 CAUSALdb 数据库中序列变异相关的临床症状方面信息, 可以辅助 PP4、PM3 等规则判定^[15]。VannoPortal 还提供了与检索变异在人群中常同时出现的变异、基因在不同组织内的表达

信息以及基因在细胞/组织内基因表达调控信息等,这些资料虽然不能直接用于 ACMG 评级,但对了解和探索变异功能具有重要的指导作用。

3. CAUSALdb: 全基因组关联研究 (Genome - Wide Association Studies, GWAS) 时,在建立序列变异与表型间关系过程中,真正引起疾病的序列变异异常难以确定。为了确定显著性特征/疾病位点, Jianhua Wang 等利用 EBI GWAS Catalog、GWASdb 以及 GRASP 等 GWAS 数据库,建立了 CAUSALdb 数据库^[23]。CAUSALdb 数据库最初总结了 3052 个高质量的 GWAS 结果,在 2023 年 6 月进行了更新, GWAS 结果增加到 10342 个。CAUSALdb 总结了 2629 个独立特征或临床症状,利用 fine - map 方法预测了所有基因变异位点是 GWAS 显著位点的概率。CAUSALdb 数据库提供了四种类型的查询模式:序列变异、基因、性状以及基因组位置。CAUSALdb 网站不提供 ACMG 指南中规则评定的直接证据,但是, CAUSALdb 网站可以辅助 ACMG 指南中症状相关规则的评定 (PP4、PM3 等)。

4. dbNSFP: dbNSFP 数据库是针对非同义单核苷酸序列变异进行功能预测和变异注释而开发的数据库,最初在 2011 年发布,目前升级到第四版^[16]。dbNSFP 整合了 43 种预测软件预测值 (SIFT、SIFT4G、Polyphen2 - HDIV、AlphaMissense 以及 ALoFT 等)、9 种保守性预测值 (PhyloP × 3、phastCons × 3、GERP ++、SiPhy 以及 bStatistic)、以及 6 种人群队列等位基因频率数据 (1000 Genomes Project phase 3 data、UK10K 队列、ExAC、gnomAD 数据库以及 NHLBI 外显子测序数据库)。dbNSFP 包括学术版和商业版。dbNSFP 比较全面的总结了目前能够用于预测变异致病性的生物信息。这些信息是 PP3/BP4 和 PM2 的评级基础。dbNSFP 被多种注释软件所采用 (ANNOVAR、VarSome、UCSC Genome Browser's Variant Annotation Integrator、VEP、SnpSift 以及 HGMD 等)。

5. AutoPVS1: AutoPVS1 是华大基因公司开发的针对 PVS1 规则的自动判定工具^[17]。PVS1 适用于无效变异 (null variants), 无效变异包括 (移码变异、终止密码子变异、经典 ± 1, 2 位剪接位点变异、起始密码子变异以及单个或多个外显子缺失)。AutoPVS1 对 PVS1 的评定基于 SVI 工作组 2018 提出的关于 PVS1 的评定细则。评定过程一方面是根据不同的类型进行初步评定 PVS1 强度,在这过程中主要考虑是

否会导致无义介导的 mRNA 降解、转录本选择、是否位于结构域、外显子临床重要性以及剪接位点鉴定等。另一方面是考虑基因致病机制,在这过程中主要考虑基因 - 疾病关系强度分类、已经发现的致病性功能丧失 (loss of function, LOF) 变异的数量、与疾病表型相关的 LOF 变异所占比例以及无效变异小鼠模型再现疾病表型的程度。AutoPVS1 在评级 PVS1 中广泛应用,与手工评级结果的符合度达 93%。

ACMG 指南自 2015 年发布以来,进行了陆续更新:(1)在 2019 年 ACMG 关于 PM3 的规定中,可以根据位于反式位置序列变异致病性等级以及反式位置是否得到确认,对 PM3 进行升降级使用。(2)在 2020 年,ACMG 将 PM2 降级为支持证据。(3)2018 年 ACMG 按照患者症状情况以及新发突变是否得到实验确认,对新发突变相关的 PS2/PM6 规则进行升降级使用。Biesecker 等^[18]细化了 PP1/BS4 共分离规则以及 PP4 表型规则的应用原则。PP3/BP4 规则细化后,可以升降级使用^[19, 20]。Brnich 等^[21]规定了 PS3/BS3 使用中的升降级原则。突变影响剪接时, PVS1、PS3、PP3、BS3、BP4 以及 BP7 与剪接的关系也制定了细则^[22]。另外 ACMG 针对特定基因的致病性成立了不同的专家工作组,制定了特定的评定指南:ACADVL、BRCA1 以及 BRCA2、GAMT 和 GATM 以及 SLC6A8、庞贝氏症、Leigh 综合征、耳聋基因以及 TP53 等^[23 - 29]。

不同软件或网站对同一规则的判定存在差异。Varsome 网站对 PM1 评价规则:(1)热点位置:突变位置前后 25 个碱基,存在至少 4 个致病性变异(仅包括:错义突变、框内缺失/插入突变),然后按照位置计算权重获取 proximity score,按照 proximity score 对 PM1 进行升降级使用。(2)结构域:序列变异存在于 UniProt 数据库的功能性结构域中,并且在该结构域中至少存在 2 个致病性序列变异,然后按照结构域中致病性、VUS 以及良性变异的数量对 PM1 进行升降级。Genebe 网站对 PM1 的评价规则:(1)临近突变分析:分析 15 个氨基酸距离内的编码序列区域。如果 ClinVar 中罕见的错义或框内致病变异体的数量明显高于良性变异体的数量,则使用该规则。(2)结构域分析:检索该序列变异位于 Uniprot 数据库的结构域中,如果影响该结构域的致病性序列变异的数量显著高于良性序列变异数量,则使用该规则。TAPES 软件对 PM1 的评价规则:错义变异位于一个结构域

中,并且位于该结构域中的变异没有良性变异。

序列变异自动化解码软件目前广泛应用到基因序列变异的解读中。对于未报道变异准确度在 90% 以上;对已经报道过的变异需要结合文献完成手动规则的判定,然后结合自动判定条目的结果,快速完成致病性解读。另外,随着已经发现的序列变异的数量增多,完成的致病性判读的变异数量增多,这些完成致病性评级的变异形成数据库,后续开发的软件能够根据这些数据库,快速的完成致病性判定。

基因序列致病性自动化解码,极大的提高了工作效率。在实际应用中也存在一些挑战。序列变异解读是一个复杂的过程,涉及数据库查询、病例采集、文献检索以及湿实验验证等多个方面,软件所采用的数据库能不能及时更新是限制基因序列致病性解读准确与否的重要因素。另外,序列变异解读指南经常更新,软件能否及时更新判读规则也会影响判定准确与否。因此,在使用上述软件/网站时,需要充分理解 ACMG 指南,根据实验室要求选取合理的软件进行组合,同时补充软件/网站未评定的规则,对序列变异进行合理解读。

作者贡献声明: 刘婷负责论文撰写;李长龙负责论文修改;杨树法负责论文修改,研究指导。

利益冲突声明: 本文所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- Czech B, Guldbrandtsen B, Szyda J. Patterns of DNA variation between the autosomes, the X chromosome and the Y chromosome in *bos taurus* genome[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 13641
- Wu K, Kong F, Zhang J, *et al.* Recent progress in single-nucleotide polymorphism biosensors[J]. *Biosensors*: Basel, 2023, 13(9): 864
- Komatsu K, Kato M, Kubota K, *et al.* Identifying pathogenic variants in rare pediatric neurological diseases using exome sequencing[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 24746
- Zhang J, Yao Y, He H, *et al.* Clinical interpretation of sequence variants[J]. *Curr Protoc Hum Genet*, 2020, 106(1): e98
- Kountouris P, Stephanou C, Lederer CW, *et al.* Adapting the ACMG/AMP variant classification framework: a perspective from the ClinGen hemoglobinopathy variant curation expert panel[J]. *Hum Mutat*, 2022, 43(8): 1089-1096
- Stawinski P, Ploski R. Genebe. net: implementation and validation of an automatic ACMG variant pathogenicity criteria assignment[J]. *Clin Genet*, 2024, 106(2): 119-126
- Sorrentino E, Cristofoli F, Modena C, *et al.* Integration of VarSome API in an existing bioinformatic pipeline for automated ACMG interpretation of clinical variants[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021,

- 25(1 Suppl): 1-6
- Xavier A, Scott RJ, Talseth-Palmer BA. TAPES: a tool for assessment and prioritisation in exome studies[J]. *PLoS Comput Biol*, 2019, 15(10): e1007453
- Scott AD, Huang KL, Weerasinghe A, *et al.* CharGer: clinical characterization of germline variants[J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(5): 865-867
- Kim J, Naqvi AS, Corbett RJ, *et al.* AutoGVP: a dockerized workflow integrating ClinVar and InterVar germline sequence variant classification[J]. *Bioinformatics*, 2024, 40(3): btac114
- Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, *et al.* Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)[J]. *Genet Med*, 2020, 22(2): 245-257
- Peng J, Xiang J, Jin X, *et al.* VIP-HL: semi-automated ACMG/AMP variant interpretation platform for genetic hearing loss[J]. *Hum Mutat*, 2021, 42(12): 1567-1575
- Wang Z, Zhao G, Zhu Z, *et al.* VarCards2: an integrated genetic and clinical database for ACMG-AMP variant-interpretation guidelines in the human whole genome[J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1): D1478-D1489
- Huang D, Zhou Y, Yi X, *et al.* VannoPortal: multiscale functional annotation of human genetic variants for interrogating molecular mechanism of traits and diseases[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D1408-D1416
- Wang J, Huang D, Zhou Y, *et al.* CAUSALdb: a database for disease/trait causal variants identified using summary statistics of genome-wide association studies[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D807-D816
- Liu X, Li C, Mou C, *et al.* dbNSFP v4: a comprehensive database of transcript-specific functional predictions and annotations for human nonsynonymous and splice-site SNVs[J]. *Genome Med*, 2020, 12(1): 103
- Xiang J, Peng J, Baxter S, *et al.* AutoPVS1: an automatic classification tool for PVS1 interpretation of null variants[J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(9): 1488-1498
- Biasecker LG, Byrne AB, Harrison SM, *et al.* ClinGen guidance for use of the PP1/BS4 co-segregation and PP4 phenotype specificity criteria for sequence variant pathogenicity classification[J]. *Am J Hum Genet*, 2024, 111(1): 24-38
- Pejaver V, Byrne AB, Feng BJ, *et al.* Calibration of computational tools for missense variant pathogenicity classification and ClinGen recommendations for PP3/PP4 criteria[J]. *Am J Hum Genet*, 2022, 109(12): 2163-2177
- Wilcox EH, Sarmady M, Wulf B, *et al.* Evaluating the impact of in silico predictors on clinical variant classification[J]. *Genet Med*, 2022, 24(4): 924-930
- Brnich SE, Abou Tayoun AN, Couch FJ, *et al.* Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework[J]. *Genome Med*, 2019, 12(1): 3

(转第 82 页)

- signaling in human papillomavirus – positive penile cancer cells[J]. *Transl Oncol*, 2022, 15(1): 101267
- 6 Shi T, Zhang Y, Wang Y, *et al.* DKK1 promotes tumor immune evasion and impedes anti – PD – 1 treatment by inducing immunosuppressive macrophages in gastric cancer[J]. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10(12): 1506 – 1524
- 7 Hou J, Lu M, Guo J, *et al.* DNA – PKcs, a player winding and dancing with RNA metabolism and diseases[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2025, 30(1): 25
- 8 Zhang W, Li W, Yin C, *et al.* PRKDC induces chemoresistance in osteosarcoma by recruiting GDE2 to stabilize GNAS and activate AKT [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(17): 2873 – 2887
- 9 张金英. 膀胱癌术后患者预后影响因素[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(4): 830 – 833
- 10 Chinese guidelines for diagnosis and treatment of urothelial carcinoma of bladder 2018 (English version)[J]. *Chin J Cancer Res*, 2019, 31(1): 49 – 66
- 11 Schwartz LH, Litière S, de Vries E, *et al.* RECIST 1. 1 – Update and clarification: from the RECIST committee[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 62: 132 – 137
- 12 姬文莉, 王翠翠, 林珍珍, 等. 膀胱癌组织 Beclin1、LC3 II 蛋白的表达及与患者肿瘤特征、预后的相关性分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(18): 14 – 19
- 13 王晓甫, 陈文浩, 张胜威, 等. 血清 C 反应蛋白、尿液 miRNA – 129 – 5p 水平与膀胱癌患者预后的关系[J]. *癌症进展*, 2025, 23(6): 680 – 685
- 14 Dylgjeri E, Knudsen KE. DNA – PKcs: a targetable protumorigenic protein kinase[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(4): 523 – 533
- 15 Yang X, Yang F, Lan L, *et al.* Potential value of PRKDC as a therapeutic target and prognostic biomarker in pan – cancer[J]. *Medicine: Baltimore*, 2022, 101(27): e29628
- 16 Miao Z, Li J, Wang Y, *et al.* Hsa_ circ_ 0136666 stimulates gastric cancer progression and tumor immune escape by regulating the miR – 375/PRKDC Axis and PD – L1 phosphorylation [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 205
- 17 Jiang H, Zhang Z, Yu Y, *et al.* Drug discovery of DKK1 inhibitors [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 847387
- 18 Rinella L, Fiorentino G, Compagno M, *et al.* Dickkopf – 1 (DKK1) drives growth and metastases in castration – resistant prostate cancer [J]. *Cancer Gene Ther*, 2024, 31(8): 1266 – 1279
- 19 Shao L, Yu H, Wang M, *et al.* DKK1 – SE recruits API to activate the target gene DKK1 thereby promoting pancreatic cancer progression [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(8): 566
- 20 魏微阳, 杨浩, 周川鹏, 等. 术前血清尿酸及其列线图模型在根治性膀胱切除术患者预后中的价值[J]. *微创泌尿外科杂志*, 2024, 13(5): 329 – 334
- 21 Yi X, Pi J, Liu C, *et al.* The relationship between inflammatory response markers and the prognosis of non – muscle invasive bladder cancer and the development of a nomogram model[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1189086
- (收稿日期: 2025 – 07 – 31)
(修回日期: 2025 – 08 – 18)
- (接第 147 页)
- 22 Walker LC, Hoya M, Wiggins GAR, *et al.* Using the ACMG/AMP framework to capture evidence related to predicted and observed impact on splicing: recommendations from the ClinGen SVI splicing subgroup[J]. *Am J Hum Genet*, 2023, 110(7): 1046 – 1067
- 23 Flowers M, Dickson A, Miller MJ, *et al.* Specifications of the ACMG/AMP guidelines for ACADVL variant interpretation [J]. *Mol Genet Metab*, 2023, 140(3): 107668
- 24 Parsons MT, de la Hoya M, Richardson ME, *et al.* Evidence – based recommendations for gene – specific ACMG/AMP variant classification from the ClinGen ENIGMA BRCA1 and BRCA2 variant curation expert panel[J]. *Am J Hum Genet*, 2024, 111(9): 2044 – 2058
- 25 Goldstein J, Thomas – Wilson A, Groopman E, *et al.* ClinGen variant curation expert panel recommendations for classification of variants in GAMT, GATM and SLC6A8 for cerebral creatine deficiency syndromes[J]. *Mol Genet Metab*, 2024, 142(1): 108362
- 26 Goldstein JL, McGlaughon J, Kanavy D, *et al.* Variant classification for Pompe disease; ACMG/AMP specifications from the ClinGen lysosomal diseases variant curation expert panel[J]. *Mol Genet Metab*, 2023, 140(1 – 2): 107715
- 27 McCormick EM, Keller K, Taylor JP, *et al.* Expert panel curation of 113 primary mitochondrial disease genes for the Leigh syndrome spectrum[J]. *Ann Neurol*, 2023, 94(4): 696 – 712
- 28 Patel MJ, DiStefano MT, Oza AM, *et al.* Disease – specific ACMG/AMP guidelines improve sequence variant interpretation for hearing loss[J]. *Genet Med*, 2021, 23(11): 2208 – 2212
- 29 Fortuno C, Lee K, Olivier M, *et al.* Specifications of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for germline TP53 variants[J]. *Hum Mutat*, 2021, 42(3): 223 – 236
- (收稿日期: 2025 – 02 – 11)
(修回日期: 2025 – 04 – 08)