

产前诊断罕见 5 号染色体片段缺失合并 16 号衍生染色体一例

卢春风 徐芳 赖燕军 张振林^{通讯作者}

珠海市人民医院检验科

DOI:10.32629/bmtr.v8i2.18866

[摘要] 目的: 探讨 1 例 5 号染色体部分片段缺失合并 16 号衍生染色体胎儿在产前诊断中, 染色体核型分析及染色体微阵列检测技术的应用效果。方法: 以 1 例生长受限, 超声提示异常的胎儿为研究对象, 对胎儿羊水进行染色体核型分析和 CMA 检测, 对胎儿的父母进行外周血染色体核型分析。结果: 羊水染色体核型分析显示胎儿染色体为 46,XN,del(5)(q11.2),der(16)ins(16;5)(q23;p14p15.1),inv(9)(p12q13); 染色微阵列检测提示 5 号染色体 p15.1p13.3 区域出现 13.87Mb 重复, 5 号染色体 q11.2 区域出现 4.17 Mb 缺失, 5 号染色体 q12.3 区域出现 1.81 Mb 缺失; 夫妻双方核型分析结果正常。结论: 染色体核型分析和染色体微阵列技术联合应用, 既能确定其结构及来源, 又能预测胎儿的临床表型, 为临床提供更加详细精确的数据, 对遗传咨询的溯源性提供了更精准的指导意义。

[关键词] 产前诊断; 衍生染色体; 染色体核型分析; 染色体微阵列

中图分类号: R714.5 文献标识码: A

A rare Case of Chromosome 5 Fragment Deletion Combined with Chromosome 16 Derivative Was Diagnosed Prenatal

Chunfeng Lu, Fang Xu, Yanjun Lai, Zhenlin Zhang^{Corresponding Author}

Department of Laboratory Medicine, Zhuhai People's Hospital

[Abstract] Objective To investigate the application of cell culture karyotyping and chromosomal microarray analysis in the prenatal diagnosis of a fetus with partial deletion of chromosome 5 and a derivative chromosome 16. Method A fetus with growth restriction and abnormal ultrasound findings was studied. Amniotic fluid samples from the fetus were subjected to chromosome karyotype analysis and CMA. Peripheral blood samples from the fetus's parents were analyzed using karyotyping. Results Amniotic fluid karyotype analysis revealed a fetal karyotype of 46,XN,del(5)(q11.2),der(16)ins(16;5)(q23;p14p15.1),inv(9)(p12q13). CMA identified a 13.87 Mb duplication in the 5p15.1p13.3 region, a 4.17 Mb deletion in the 5q11.2 region, and a 1.81 Mb deletion in the 5q12.3 region of chromosome 5. The karyotypes of both parents were normal. Conclusion chromosomal karyotype analysis and chromosomal microarray

techniques enables the determination of chromosomal structure and origin, facilitates the prediction of the fetal clinical phenotype, provides more detailed and accurate diagnostic data for clinical practice, and offers more precise guidance for traceability in genetic counseling

[Key words] Prenatal diagnosis; derivative chromosome; chromosomal karyotype analysis; chromosomal microarray

引言

衍生染色体 (derivative chromosome), 根据人类细胞基因组学国际命名体系 (ISCN2020), 是指由于同一条染色体发生多处异常而产生的结构重排染色体, 该术语只能用于表示具有完整着丝粒的染色体。主要涉及常见的两条以上染色体结构重排, 目前多为单一病例报道的衍生染色体, 缺

乏遗传方式统计以及溯源分析^[1-2]。因此, 为了更好地发现衍生染色体, 在实际工作中应联合采用不同的遗传学检查方法以判断其溯源性及临床可能的表现型, 辅助临床进行高效的遗传咨询。本研究对一例超声提示异常的胎儿进行羊水染色体核型分析, 该胎儿出现了生长受限的情况, 并且在分析中发现了衍生染色体。通过结合分子遗传学检测中的染色体微

阵列分析 (CMA) 及父母外周血的染色体核型结果, 旨在研究染色体核型分析与染色体微阵列分析检测的有效性及其应用价值。更加全面且高效地辅助出生缺陷的预防与控制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

一名 30 岁的孕妇, 怀孕 12 周时在外院接受了早期唐氏筛查, 结果显示低风险, 怀孕 18 周时又在外院进行外周血胎儿游离 DNA (NIPT) 产前筛查, 结果同样为低风险。孕 23 周外院 B 超检查显示 BPD59.4mm, Hc218.9mm, AC185.4mm, FL39.2mm, 胎心 128 次/分, 胎盘 29.5mm, 前壁, 羊水最大深度为 68.6mm。左侧室宽 9.2mm, 右侧室宽 10.0mm。患者于 24+3 周转至我院进行产前咨询, 2025-01-04 本院超声提示胎儿生长发育迟缓, 双侧侧脑室宽临界高值: BPD63m(25w+4d), HC233m(25w+2d), AC192m(百分位数为 8%, -1.4SD), FL39mm(百分位数为 0.6%, -2.5SD), EFW614g(百分位数为 0.2%, -2.8SD)。胎盘: 位于子宫前壁, 厚 24mm, 成熟度 0 度。胎盘下缘距离宫颈内口约 19mm。羊水暗区 50mm。HR:135 次/分。得到患者的知情同意, 行羊水穿刺后进行细胞染色体核型分析及染色体微阵列分析 (CMA) 检测。随后, 患者经过充分的遗传咨询, 决定终止妊娠。所有研究步骤都是在充分了解病人同意的情况下完成的。

1.2 方法

(1) 染色体核型分析通过采集的羊水, 进行 4000 转每分钟离心 10 分钟, 随后取出 2mL 沉淀物接种于羊水细胞培养基, 经培养、换液、传代、收获、染色体制备及 G 显带核型分析, 双人双核计数 ≥ 20 个分裂相, 并分析至少 5 个中期核型分裂相。依据国际人类细胞基因组学命名体系 (ISCN 2020) 进行相关描述。

(2) 染色体微阵列分析 (CMA) 采用美国 Affymetrix CytoScan 750K 基因芯片平台 (Thermo Scientific, 美国) 参照 2019 年《原发性拷贝数变异解读与报告》技术标准, 对芯片扫描进行全基因组染色体拷贝数检测。对拷贝数变异和纯合区域进行评估的是美国医学遗传学与基因组学院和临床基因组资源的共同共识建议。

羊水染色体核型分析结果:

胎儿核型为:

46,XN,del(5)(q11.2),der(16)ins(16;5)(q23;p14p15.1),inv(9)(p12q13) (图 1), 为 5 号染色体长臂部分片段缺失合并 16 号衍生染色体。

该衍生染色体结合 CMA 结果发现是 5p14p15.1 片段插入 16q23 位置组成, 16 号衍生染色体替代了正常的 16 号染色体, 造成染色体不平衡。此外, 还发现了 9 号染色体常见的臂间倒位。

染色体微阵列分析 (CMA) 结果 (图 2) 显示:
arr[GRCh37]5p15.1p13.3(16291809-30159937)×3
arr[GRCh37]5q11.2(52908512-57081450)×1
arr[GRCh37]5q12.3(63657560-65472390)×1

CMA 结果提示 5 号染色体 p15.1p13.3 区域出现 13.87Mb 重复, 5 号染色体 q11.2 区域出现 4.17 Mb 缺失, 5 号染色体 q12.3 区域出现 1.81 Mb 缺失。

胎儿父母染色体核型分析结果提示: 母亲为: 46,XX, inv(9)(p12q13) (图 3A); 父亲为: 46,XY (图 3B)。

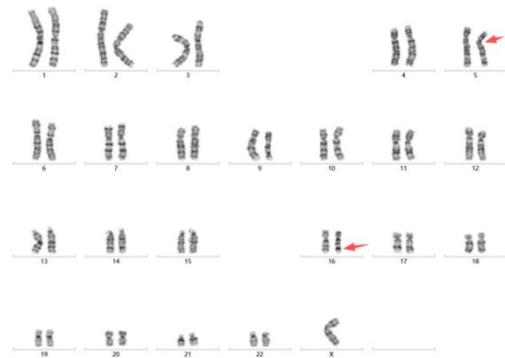


图 1 胎儿羊水细胞染色体核型结果



图 2 胎儿羊水 CMA 检测结果

图 A

图 B

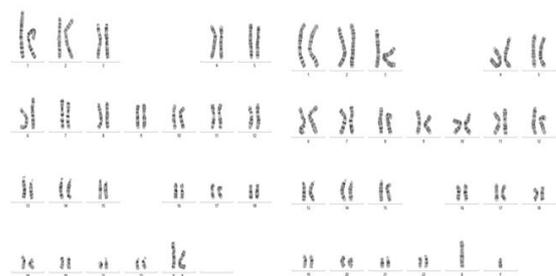


图 3 外周血染色体核型分析结果

注: 图 A 为母亲核型结果; 图 B 为父亲核型结果。

2 讨论

在对染色体核型分析检测中, 本人采用了同步化培养的方法, 加入脱氧胸腺嘧啶可以阻断细胞内 DNA 合成, 使细

胞同步化, 以此获得大量中前期、晚前期和前中期的细长染色体, 提高分析的分辨率。而加入脱氧胞苷酸可恢复 DNA 合成, 有丝分裂继续进行。在合适的时机加入秋水仙素破坏纺锤体形成, 收获后可得到较长的染色体, 染色体的长短在染色体结果的分析中起着重要作用, 染色体越长其带型越丰富, 更有利于分析带纹。席微^[3]等研究指出, 高分辨率染色体核型分析对于微小片段染色体异常、隐匿性平衡易位、罗氏易位、倒位等染色体结构异常的检查更可靠。本例通过使用同步化试剂, 核型带纹达到 550 条带水平以上, 5 号染色体 q11.2 区域出现 4.17 Mb 缺失在核型分析中同时被发现, CMA 检测和高分辨染色体核型分析相互验证和参考, 更有利于微小片段异常的检出, 从而减少漏诊、误诊。通过有针对性的技术手段, 发现染色体异常状况, 不漏诊、误诊, 实现优生优育。

由于方法学限制, 染色体核型分析一般可以检测数目异常及大于 5-10 Mb 的片段缺失、重复、倒位、插入等结构异常, 对染色体异常片段的来源也很难判断^[4]。但该方法直观, 为产前诊断提供形态学证据, 传统的染色体核型分析仍是诊断染色体病时应用最为广泛的技术^[5-6]。本例中核型发现一条 16 号染色体长臂 q23 位置增加了一段未知来源片段的深带, 该形态清晰明确地对异常区域进行了定位。结合分子遗传学检测技术考虑该未知片段来源于 5 号染色体 p15.1p13.3 区域, 故该衍生染色体更正为 der(16)ins(16;5)(q23;p14p15.1)。

本例中的胎儿核型分析发现了 9 号常见的臂间倒位, 目前临床上尚未得出关于染色体正常变异(多态性)的统一结论, 但不能忽视其对生育健康的作用, 研究表明, 染色体多态性会对同源染色体的配对和分离产生影响。姐妹染色单体未能分离从而产生不平衡的配子, 导致受精失败或形成非整倍体胚胎最终引发流产、死胎或畸形儿的发生^[7-10]; 研究表明, inv(9)可能会增加后代其他染色体异常的风险^[11], 因此不能轻易将染色体多态性视为正常的染色体核型。随着分子遗传学技术的发展与应用, 染色体正常变异还需要在遗传学和表观遗传学层面进一步研究, 为临床实践提供更加充分的证据。

染色体微缺失、微重复是基因组变异的常见形式, 研究表明^[12-13] 特定染色体区域的微缺失、微重复与多种胎儿畸形相关。染色体微阵列检测是通过基因扩增, 与商品化芯片杂交后进行检测, 分辨率可达到 100kb 以上。有相关文献报道^[14]对 296 例核型正常的样本进行 CMA 检测, 结果发现有 11 例 <10Mb 的小片段致病性 CNVs, 检出率 3.7%, 杂合性缺失 LOH 共发现 5 例(其中 1 例伴有 VOUS), 检出率 1.7%, 而这两类异常在传统的染色体核型分析无法检测到。CMA 相较于染色体核型分析, 能够额外发现 5.4% 的异常情况。由

此可以发现, CMA 对染色体的异常检出率更高, 对染色体的微量缺失、微量重复、杂合性缺失等进行了明确的诊断, 从而为遗传学方面提供了更有力的证据进行产前诊断的风险评估。但也有报道 CMA 由于没有形态学证据, 致使很多不可控情况发生: CMA 技术不能检测三倍体及多倍体, 无法发现平衡性的结构重排, 对于 45X 与 47,XXX 等比例嵌合体也无法被检测到^[15]。该报告研究总结了 CMA 存在漏检情况: 在 6 名存在染色体核型分析异常但 CMA 漏检的胎儿中, 有 4 名确认为平衡易位、1 名为倒位、1 名为低比例嵌合。

该病例联合 CMA 检测, 发现了核型分析无法识别的 5 号染色体 q12.3 区域 1.81 Mb 缺失。通过对比 DECIPHER 及 ClinVar 数据库, 我们发现一家系中 3 例患者检出 5q12.3 区段 2.8Mb 微缺失, 且该缺失区域与我们所发现的重叠。临床表型表现为智力障碍、语言发展迟缓、总体发育延迟、癫痫发作以及异常行为等。另外染色体 5p15.1p13.3 区段 13.87Mb 重复, 经 DECIPHER 及 ClinVar 数据库比对, 多项研究报道患者携带片段包含在本检出区段, 临床表型包括脑室周围结节性异位, 前脑无裂畸形, 智力障碍, 精神运动发育迟缓, 语言发育迟滞, 癫痫, 多动症, 失用症, 异常面容, 先天性心脏病, 身材矮小等, 临床表现为脑室周围结节性异位, 前脑无裂畸形, 智力障碍, 精神运动发育迟缓, 语言发育迟滞, 癫痫, 多动症、失用症等。本例 5 号染色体 CMA 提示 5q11.2 区域出现 4.17 Mb 缺失, 通过 DECIPHER 及 ClinVar 数据库的比对, 我们发现该缺失区域涵盖了约 23 个编码蛋白质的 RefSeq 基因, 其中 CCNO、HSPB3、IL31RA、IL6ST、MAP3K1、MCIDAS、NDUFS4 等关键基因提示可能为单倍剂量不足敏感基因, 共同导致了胎儿的多种发育缺陷与畸形。

本例通过染色体核型分析明确检测到形态异常, 联合染色体微阵列结果确认了异常区域的来源, 准确推测胎儿的临床表型, 正确判断了患者的病情, 为临床进行高效的遗传咨询奠定基础。

综合以上, 目前染色体微阵列技术无法检测到的染色体核型分析, 其具有预览染色体的全貌, 直观地发现当前染色体微阵列技术的弊端: 染色体数目异常、结构改变和空间位置变化。而染色体的核型分析同时存在着分辨率不足, 在染色体的微小片段中缺少或重复的检测是没有办法做到的。CMA 作为不需要细胞培养的分子遗传学技术的代表进行检查, 解决了能够真实反映样本染色体拷贝数组成的细胞优势生长的困境, 其结果能够达到 100KB 以上的分辨率。染色体核型分析和 CMA 联合检查是当前产前诊断中普遍采用的检测技术组合^[16-18]。在临床医学检验中, 可根据不同的临床需求, 选择不同的检测方法, 互为补充, 为胎儿预后评估和夫妻再生育提供科学依据, 对减少出生缺陷患儿社会效益显著。

[参考文献]

- [1]邹甜甜,费安兴,魏莉平,等.染色体平衡易位致不良孕产史3例报道[J].检验医学,2022,37(9): 894.
- [2]衡睿,李琳.父系遗传的染色体平衡易位四家系八例[J].华医学遗传学杂志,2019,36(9): 948.
- [3]席微,等.高分辨染色体数据分析在完善孕产优生检查中的作用.吉林医药学院学报,2022.
- [4]朱宇宁.胎儿染色体异常与适宜产前诊断技术研究[D].浙江大学,临床医学妇产科学,2015.
- [5]中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组,中华医学会医学遗传学分会临床遗传学组,中国医师协会医学遗传医师分会遗传病产前诊断专业委员会等.流产物基因组拷贝数变异检测应用及家庭再生育咨询的专家共识[J].中华医学遗传学杂志,2023(2):129-134.
- [6]雒瑶,戚红,祝建疆,等.海淀区10784例遗传咨询患者外周血染色体核型及多态性分析[J].中国妇幼保健,2023,38(8):1507-1511.
- [7]朱佳鹏,何慧燕,梁灼健,等.染色体多态性与生殖异常的相关性分析[J].中华医学遗传学杂志,2018,35(6):921-922.
- [8]王桂玲,任春娥,姜爱芳.染色体多态性qh+与复发性流产关系的探讨[J].中华医学遗传学杂志,2015,32(4):591-592.
- [9]陈竞茜,马燕琳,黎明红,等.D、G组染色体随体多态性的临床生殖异常分析[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(8):44-45.
- [10]何瑶,刘东云,袁莉,等.Y染色体AZFc区缺失患者行体外受精-胚胎移植结局分析[J].中华医学遗传学杂志,2018,35(5):762-764.
- [11]陈欢,沈鉴东,谢佳孜,等.9号染色体倒位携带对于胚胎染色体及妊娠结局的影响[J].生殖医学杂志,2019,28(5):509-514.
- [12]Wetzel AS, Darbro BW. A comprehensive list of human microdeletion and microduplication syndromes[J]. BMC Genom Data, 2022, 23(1-3): 82.
- [13]Xue H, Yu A, Lin M, et al. Efficiency of expanded noninvasive prenatal testing in the detection of fetal subchromosomal microdeletion and microduplication in a cohort of 31,256 single pregnancies[J]. Sci Rep, 2022, 12(1-15): 19750.
- [14]Manning M, Hudgins L. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities[J]. Genet Med, 2010, 12(11): 742-745.
- [15]王飞,鲍幼维,庄丹燕,等.染色体微阵列分析在高龄孕妇产前诊断胎儿染色体异常中的应用[J].中国优生与遗传杂志,2023,31(2):355-358.
- [16]中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会,张雪梅,戚庆炜,等.胎儿染色体核型分析判读指南[J].中华医学遗传学杂志,2021,8(5):409-413.
- [17]中华医学会医学遗传学分会临床遗传学组,中国医师协会医学遗传医师分会遗传病产前诊断专业委员会,中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会遗传病防控学组.低深度全基因组测序技术在产前诊断中的应用专家共识[J].中华医学遗传学杂志,2019,36(4):293-296.
- [18]李翠,赵明刚,贺芳,等.CNAseq及染色体核型分析在染色体异常检测中的比较[J].西安交通大学学报(医学版),2019,40(6):993-996.

作者简介:

卢春风(1985.04-),女,汉,广东省珠海市人,大学本科,珠海市人民医院,细胞遗传室组长,研究方向为细胞遗传。

张振林(1978.10-),男,汉,福建省泉州市人,博士研究生,珠海市人民医院,检验科主任,研究方向为病理生理学。