

• 论 著 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 09. 009

产前诊断中额外小标记染色体的临床及遗传学分析*

李燕青, 傅婉玉, 王元白, 江裔颖, 苏景明, 庄建龙[△]

福建省泉州市妇幼保健院/儿童医院产前诊断中心, 福建泉州 362000

摘要:目的 联合单核苷酸多态性微阵列(SNP-array)与染色体核型分析技术探索产前诊断中额外小标记染色体(sSMC)的来源并分析其致病性。方法 回顾性分析 2017 年 1 月至 2020 年 3 月于泉州市妇幼保健院/儿童医院产前诊断中心行羊水穿刺的孕妇 5 766 例,对羊水染色体核型分析结果显示为 sSMC 的标本进一步行 SNP-array 检测 sSMC 的来源并分析其致病性。结果 染色体核型分析共检出 7 例 sSMC,其中 3 例为嵌合型,1 例伴有 18-三体综合征。进一步通过 SNP-array 检测 4 例 sSMC 的来源,其中 2 例为性染色体来源,2 例未发现拷贝数变异。结论 将分子遗传学与细胞遗传学方法相结合对明确 sSMC 的来源及致病性有重要意义,可为产前遗传咨询及妊娠结局评估提供参考。

关键词:额外小标记染色体; 产前诊断; 遗传咨询; 单核苷酸多态性微阵列

中图分类号:R714.55

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)09-1185-04

Clinical and genetic analysis of small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnosis*

LI Yanqing, FU Wanyu, WANG Yuanbai, JIANG Yuying, SU Jingming, ZHUANG Jianlong[△]

Prenatal Diagnosis Center, Quanzhou Women's and Children's

Hospital, Quanzhou, Fujian 362000, China

Abstract: **Objective** Combine single nucleotide polymorphism microarray (SNP-array) and chromosome karyotype analysis technology to explore the source and pathogenicity of small supernumerary marker chromosome (sSMC) in prenatal diagnosis. **Methods** A total of 5 766 pregnant women carried out amniocentesis in the Prenatal Diagnosis Center of Quanzhou Women's and Children's Hospital from January 2017 to March 2020 were retrospectively analyzed. SNP-array was further used to detect the source of sSMC and analyze its pathogenicity in the subjects whose chromosome karyotype analysis of amniotic fluid showed sSMC. **Results** Chromosome karyotype analysis revealed 7 cases of sSMC, included 3 cases of chimeric type and 1 case combined with trisomy 18 syndrome. SNP-array was used to analyze the source of sSMC in 4 cases, of which 2 cases were sex chromosome origin and 2 cases without any of copy number variants. **Conclusion** The combination of molecular genetics and cytogenetics is of great significance in determining the origin and pathogenicity of sSMC, and could provide reference for prenatal genetic counseling and pregnancy outcome evaluation.

Key words: small supernumerary marker chromosome; prenatal diagnosis; genetic counseling; single nucleotide polymorphism microarray

额外小标记染色体(sSMC)是指不能通过细胞遗传学常规显带方法辨认的染色体结构畸变,其大小通常等于或小于同一个中期染色体核型中的 20 号染色体^[1]。sSMC 的表型效应取决于它的来源、片段大小和常染色质所占比例。由于 sSMC 本身形态结构异常,无法用传统 G 显带技术判断其来源,而分子遗传学检测能协助判断 sSMC 的来源,为临床咨询提供更精准有益的信息。本研究对泉州市妇幼保健院/儿童

医院产前诊断中心经产前羊水细胞培养及染色体核型分析检出 sSMC 的病例进行分析,并对部分病例采用单核苷酸多态性微阵列(SNP-array)检测 sSMC 的来源,以进一步明确其致病性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2020 年 3 月于泉州市妇幼保健院/儿童医院产前诊断中心就诊的高危孕妇 5 766 例。产前诊断纳入指征包括高龄孕妇

* 基金项目:福建省卫生健康委员会青年科技计划项目(2020QNB045)。

作者简介:李燕青,女,主治医师,主要从事产前诊断研究。△ 通信作者,E-mail:415913261@qq.com。

本文引用格式:李燕青,傅婉玉,王元白,等. 产前诊断中额外小标记染色体的临床及遗传学分析[J]. 检验医学与临床,2022,19(9):1185-

(≥35 周岁)、胎儿超声检查结果异常、有不良孕产史、孕中期血清学产前筛查高风险等。所有孕妇均有详细的病历资料和体格检查资料,并完善术前检查排除穿刺手术禁忌证,同时签署知情同意书。本研究经泉州市妇幼保健院/儿童医院医学伦理委员会批准(伦理审批号:2020No. 31)。

1.2 细胞培养及染色体核型分析 在超声引导下行羊膜腔穿刺术,抽取 20 mL 羊水用于羊水细胞培养,培养 7~10 d 后用胰酶消化法进行细胞收获,通过自动染色体收获系统 Sinochrome Chromprep II (上海乐晨生物科技有限公司)进行染色体制备,经吉姆萨染液染色后进行核型分析。采集夫妻双方外周血标本于无菌条件下接种至 Chromed P 细胞培养基中,分两瓶培养 68~72 h 后分别收获、制片、染色、染色体核型分析。羊水细胞计数 30 个核型,并分析 5 个核型。外周血细胞计数 20 个核型,并分析 5 个核型。染色体的命名依据人类细胞基因组学国际命名体系(ISCN 2016)标准。

1.3 SNP-array 检测 采集孕妇 10 mL 羊水标本及夫妻双方外周血标本各 3 mL 送至第三方检测公司(北京贝康医学检验所)进行检测,离心收集沉淀,采用 DNA 提取试剂盒提取羊水/外周血细胞基因组 DNA,经稀释消化、扩增、纯化后,形成 25 bp 的片段。将芯片上的探针与生物素标记后的相应碱基片段进行杂交、洗涤、结合染色后放入 Affymetrix 公司 GeneChip Scanner 3000Dx v. 2 with AutoLoaderDx 扫描仪进行扫描,采用 Chromosome Analysis Suite (ChAS)v4.0 软件对荧光信号进行分析。通过数据库查询判读拷贝数变异(CNVs)的致病性。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2010 进行数据收集和分析。

2 结 果

2.1 羊水染色体核型分析结果 检出 sSMC 的胎儿共 7 例,其中嵌合型 3 例,1 例伴有 18-三体综合征,见表 1。

表 1 检出 sSMC 胎儿的羊水染色体核型、SNP-array 检测结果、父母验证及妊娠结局

病例序号	羊水染色体核型	产前诊断指征	父母验证	SNP-array 检测结果	妊娠结局
1	mos45,X[27]/46,X,+mar[23]	高龄孕妇	未见异常	Xp22.33(168,546-2,408,127)×1-2 或 Yp11.32(118,546-2,358,127)×1-2,Xq28(154,946,915-155,233,731)×1 或 Yq12(59,049,921-59,336,737)×1,Yp11.31q11.221(2,650,140-16,358,958)×0-1,Yq11.221q11.23(16,358,957-28,799,937)×0	终止妊娠
2	45,X[35]/46,X,+mar[15]	胎儿颈项透明层(NT)增厚、静脉导管未显示	未见异常	Xp22.33p11.22(168,551-52,659,071)×1,Xp11.22q13.3(52,771,956-74,756,108)×1-2,Xq13.3q28(74,854,255-155,233,098)×1	终止妊娠
3	47,XN,+mar	高龄孕妇	未见异常	arr(1-22)×2,(XN)×1	继续妊娠
4	46,XX[75]/47,XX,+mar[5]	高龄孕妇、孕中期血清学产前筛查高风险	—	arr(1-22)×2,(XN)×1	继续妊娠
5	48,XN,+18,+mar	高龄孕妇、胎儿脉络丛囊肿	—	—	终止妊娠
6	47,XN,+mar	胎儿单心房、单心室、永存动脉干	—	—	终止妊娠
7	47,XN,+mar	高龄孕妇、不良孕产史	遗传自父亲	—	继续妊娠

注:—为未验证或未检测。

2.2 SNP-array 检测结果 7 例检出 sSMC 的胎儿中有 4 例进行了 SNP-array 检测,其中 2 例 sSMC 分别来源于 X 和 Y 染色体,2 例未检出 CNVs。病例 1 中羊水染色体核型提示 mos45,X[27]/46,X,+mar[23],SNP-array 检测结果显示为男性胎儿,该胎儿在性染色体 Y 上的拟常染色体区域存在 2 处缺失,因此羊水染色体核型更正为 mos45,X[27]/46,X,del(Y)(q11.221)[23]。病例 2 SNP-array 检测结果显示为女性胎儿,X 染色体存在 3 处缺失,羊水染色体核型更正为 45,X[35]/46,X,del(X),(Xp11.22q13.3)。

病例 3 和病例 4 SNP-array 检测结果未见异常,见表 1。

2.3 妊娠结局及父母验证 病例 1 及病例 2 经 SNP-array 检测提示胎儿性染色体嵌合异常,均为致病性变异,父母验证无异常,显示胎儿携带的 sSMC 为新发突变。病例 1 于妊娠 26 周引产一男性无生机儿,外观未见明显异常;病例 2 引产一女,外观未见明显异常。病例 3 及病例 4 因 SNP-array 检测未发现异常 CNVs,均选择继续妊娠,后期随访胎儿体健。此外,3 例未行 SNP-array 检测的病例中有 1 例因合并

胎儿 18-三体综合征选择终止妊娠;1 例因合并胎儿复杂型先天性心脏病选择终止妊娠;1 例因父母验证提示胎儿 sSMC 遗传自其表型正常的父亲,孕妇及其家属选择继续妊娠,后期随访显示胎儿出生后未见异常。见表 1。

3 讨 论

据报道,约 1 000 例行染色体核型分析的羊水穿刺标本中就可检出 1 例存在 sSMC 的病例^[2]。sSMC 的遗传效应差异很大,大多数对个体无影响,但也有 10%~15% 可导致严重智力低下和其他异常表型,明确 sSMC 来源对临床产前咨询尤其重要^[3]。

SNP-array 检测有助于明确 sSMC 来源^[4-5]。本研究中 2 例通过 SNP-array 检测明确 sSMC 为性染色体来源的致病性变异,病例 1 羊水染色体核型为 mos45,X[27]/46,X,+mar[23],SNP-array 检测结果提示 sSMC 来源于部分缺失的 Y 染色体,最终病例 1 羊水染色体核型更正为 mos45,X[27]/46,X,del(Y)(q11.221)[23]。胎儿 Y 染色体存在涉及无精症因子(AZF)区段及 Y 染色体性别决定区(SRY)等 OMIM 基因相关区域的 2 处缺失,同时胎儿在 Xq28 或者 Yq12 区段存在 291.8 Kb 的缺失,在 Xp22.33 或 Yp11.32 区段存在包含 SHOX 等基因的 2.2 Mb 的嵌合缺失。SHOX 基因的单倍剂量不足会导致身材矮小^[6]。位于 Y 染色体短臂远端的 SRY 基因在胚胎早期原始性腺组织分化过程中起着关键作用,SRY 基因的缺失可能导致性器官发育异常^[6]。徐丹萍等^[7]总结相关文献报道发现,嵌合型 Y 染色体长臂大片缺失的存活个体中,34.8%(8/23)存在身材矮小的情况(原因尚不明确),大部分男性患者存在阴茎结构正常但伴有尿道下裂。病例 1 存在涉及 Y 染色体的多处缺失,不仅影响胎儿的性别及生长发育,还会影响其成年后的生育问题,因此孕妇及家属选择终止妊娠。

胎儿 NT 增厚与染色体异常和部分结构畸形密切相关^[8]。病例 2 因胎儿 NT 增厚要求进行产前诊断,羊水染色体核型为 45,X[35]/46,X,+mar[15],SNP-array 检测明确该 sSMC 为部分缺失的 X 染色体,羊水染色体核型更正为 45,X[35]/46,X,del(X), (Xp11.22q13.3)。在 45,X 基础上发生的 sSMC 并不影响 Turner 综合征表型^[9]。研究表明,约 32.6% 的嵌合型 Turner 综合征患者中有一些自发的青春期发育表现,但最终继发闭经,其可能与 Xq13-q26 区域缺失导致卵巢功能相关基因的单倍剂量不足有关,临床表型为卵巢功能障碍、性腺发育障碍、原发闭经等,需要长期激素替代治疗^[10-11]。

产前诊断中发现的 sSMC 是否有表型效应,与

sSMC 的染色体来源、基因组含量、家族再发性,是否为嵌合型和嵌合度,是否存在单亲二倍体效应等因素有关^[12-15]。本研究中病例 7 因胎儿 sSMC 遗传自其表型正常的父亲,推测胎儿出现异常表型的风险低,建议孕妇继续妊娠,后期随访显示胎儿出生后健康状况良好。约 30% 的 sSMC 遗传自父母,由表型正常的父亲或母亲传递而来的 sSMC 通常不增加子代异常表型的风险^[16],因此首先建议对胎儿的父母进行染色体核型分析,帮助判断胎儿的 sSMC 来源^[9]。

sSMC 大部分来源于近端着丝粒染色体^[17-18]。本研究中病例 3 及病例 4 的 SNP-array 检测结果均未发现异常,提示 sSMC 来源于探针未覆盖的异染色质区,来源于异染色质区的 sSMC 通常是不致病的^[17]。

sSMC 形态学的多样性,如何评价其对胎儿的影响,以及是否需要终止妊娠等,是产前遗传咨询面临的重要问题,尽快明确 sSMC 的来源尤为重要,因此将分子遗传学与细胞遗传学方法相结合对明确 sSMC 的来源及致病性有重要意义,可为产前遗传咨询及妊娠结局评估提供参考。

参考文献

- [1] LIEHR T,CLAUSSEN U,STARKE H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans[J]. Cytogenet Genome Res,2004,107(1/2):55-67.
- [2] GUANCIALI-FRANCHI P,CALABRESE G,MORIZIO E, et al. Identification of 14 rare marker chromosomes and derivatives by spectral karyotyping in prenatal and postnatal diagnosis[J]. Am J Med Genet A,2004,127(2):144-148.
- [3] TSENG J J,CHOU M M,LO F C,et al. Prenatal diagnosis of extrastructurally abnormal chromosomes: clinical experience and literature review[J]. J Chin Med Assoc, 2009,72(1):29-33.
- [4] XUE H,HUANG H,WANG Y,et al. Molecular cytogenetic identification of small supernumerary marker chromosomes using chromosome microarray analysis[J]. Mol Cytogenet,2019,12:13.
- [5] 陶逸伦,张敏,韩冬,等. 染色体微阵列芯片检测染色体核型异常胎儿的临床意义[J]. 中华妇产科杂志,2020,55(5):338-342.
- [6] 吴坚柱,林少宾,周祎,等. 109 例原发性闭经患者的遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2015,32(4):589-590.
- [7] 徐丹萍,戴美珍,管荷琴,等. 两例嵌合 Y 染色体长臂大片缺失的产前诊断及文献回顾分析[J]. 浙江医学,2019,41(20):2189-2192.
- [8] 倪梦瑶,李洁,朱湘玉,等. 染色体微阵列分析在颈项透明层增厚胎儿产前诊断中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志,2019,36(10):970-974.
- [9] 潘虹. 额外小标记染色体的特点、产前(下转第 1192 页)

- Guidelines on the management of ascites in cirrhosis[J]. Gut, 2021, 70(1): 9-29.
- [3] LANGHOLM L L, MANON-JENSEN T, KARSDAL M A, et al. Enhanced processing of von Willebrand factor reflects disease severity and discriminates severe portal hypertension in cirrhosis[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2019, 31(8): 1040-1048.
- [4] 陈钊, 田李芳, 马晓桃, 等. 血清 sCD40L、sICAM-1 水平检测对 2 型糖尿病肾病的诊断价值[J]. 山东医药, 2019, 59(22): 1-3.
- [5] ZHANG C F, WANG H J, TONG Z H, et al. The diagnostic and prognostic values of serum and urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in sepsis induced acute renal injury patients[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(10): 5604-5617.
- [6] ALLEGRETTI A S, SOLA E, GINES P. Clinical application of kidney biomarkers in cirrhosis[J]. Am J Kidney Dis, 2020, 76(5): 710-719.
- [7] ISLEK A, ILHAN D, OZTURK N, et al. Altered von willebrand factor (vWF) and ADAMTS13 levels in children with cirrhosis and extrahepatic portal hypertension[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2020, 43(7): e951-e956.
- [8] SCHWARZER R, REIBERGER T, MANDORFER M, et al. The von willebrand factor antigen to platelet ratio (VITRO) score predicts hepatic decompensation and mortality in cirrhosis[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(5): 533-542.
- [9] KALAMBOKIS G N, OIKONOMOU A, CHRISTOU L, et al. Von willebrand factor and procoagulant imbalance predict outcome in patients with cirrhosis and thrombocytopenia[J]. J Hepatol, 2016, 65(5): 921-928.
- [10] 徐鸿丽, 周跃华. 血清 vWF、 β_2 -MG、sICAM-1 在妊娠高血压疾病早期肾损害中的诊断价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(9): 830-833.
- [11] 蓝芳, 谢丽萍, 谢永祥, 等. 加味附子理中汤对药物性急性肾损伤患者 T 淋巴细胞亚群及血管性假血友病因子的影响[J]. 临床肾脏病杂志, 2017, 17(6): 336-339.
- [12] 王建, 雷雨涵. 血清 C1q、Th17/CD4⁺T、sICAM-1 联合检测在评估糖尿病肾病预后中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(19): 2356-2360.
- [13] 李培培. 早期糖尿病肾病患者血清 CysC、sICAM-1、Hcy 水平的表达意义[J]. 实用糖尿病杂志, 2020, 16(5): 10-11.
- [14] 熊伟, 费润欢, 周克湘, 等. 乙型肝炎肝硬化患者血清 sICAM-1、IL-6、IL-18 及 TNF- α 水平的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(17): 3321-3324.
- [15] QI B T, WANG P, LI J, et al. Levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-2 in plasma of patients with hemorrhagic fever with renal syndrome, and significance of the changes in level[J]. Viral Immunol, 2006, 19(3): 565-569.
- [16] 曾福英, 蒋伟勇, 张秋梅. RBP、CysC、sICAM-1、u-MALB 联合检测对早期糖尿病肾病的诊断价值[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(1): 35-38.
- [17] GOHDA T, KAMEI N, KOSHIDA T, et al. Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease[J]. J Diabetes Investig, 2020, 11(2): 435-440.
- [18] 苏冬娜, 吴诗品. 外周血 KIM-1 在肝硬化合并肝肾综合征患者中的表达及意义[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(5): 751-753.

(收稿日期: 2021-10-02 修回日期: 2022-01-09)

(上接第 1187 页)

- 诊断和遗传咨询[J]. 中华围产医学杂志, 2012, 15(10): 588-591.
- [10] 李静, 陈雪, 刘晓丽, 等. 92 例特纳综合征核型和表型的临床分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(9): 58-62.
- [11] CASTRONOVO C, ROSSETTI R, RUSCONI D, et al. Gene dosage as a relevant mechanism contributing to the determination of ovarian function in Turner syndrome[J]. Human Reproduction, 2014, 29(2): 368-379.
- [12] LIEHR T, EWERS E, KOSYAKOVA N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(4): 317-324.
- [13] MANOLAKOS E, KEFALAS K, NEROUTSOU R, et al. Characterization of 23 small supernumerary marker chromosomes detected at prenatal diagnosis: the value of fluorescence in situ hybridization[J]. Mol Med Rep, 2010, 3(6): 1015-1022.
- [14] VAN OPSTAL D, BOTER M, NOOMEN P, et al. Multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) for rapid distinction between unique sequence positive and negative marker chromosomes in prenatal diagnosis[J]. Mol Cytogenet, 2011, 4: 2.
- [15] BALDWIN E L, MAY L F, JUSTICE A N, et al. Mechanisms and consequences of small supernumerary marker chromosomes: from Barbara McClintock to modern genetic-counseling issues[J]. Am J Hum Genet, 2008, 82(2): 398-410.
- [16] 佟玉龙, 潘虹, 卫凯平, 等. 20 486 例产前诊断样本中额外小标记染色体的核型结果分析[J]. 中华围产医学杂志, 2019, 22(5): 303-309.
- [17] 马聪, 占杰, 马梦亚, 等. 应用 aCGH 技术检测额外小标记染色[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(8): 952-953.
- [18] 章卫国, 潘映秋, 章鸯, 等. 胎儿羊水额外小标记染色体的细胞及分子遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(2): 187-191.

(收稿日期: 2021-10-16 修回日期: 2022-01-09)