

3015 例遗传咨询者外周血染色体核型嵌合体分析

张孝乾* 张艳萍 周玉侠 吴玉苏 古晋

(青岛大学附属山东省妇幼保健院, 国家卫生健康委员会生育调控技术重点实验室, 山东济南, 250000)

【摘要】目的 探究遗传咨询者外周血染色体核型嵌合类型、嵌合比例及其与临床表型的关系。**方法** 回顾性分析 3015 例来自山东省妇幼保健院遗传咨询者外周血染色体核型, 分析不同嵌合类型、嵌合比例个体的身高、体重、智力及生殖能力。**结果** 3015 例外周血样本中染色体核型嵌合体 27 例, 嵌合比例 0.9%。致病性嵌合体 21 例, 多态性嵌合体 6 例。致病性嵌合型中, X 染色体嵌合体 19 例, 多于常染色体嵌合体数量。X 重复型嵌合体身高大于 X 丢失型嵌合体($P=0.032$)。X 嵌合体嵌合比例 3%~5%, 显著低于其他类型嵌合比例($P=0.000$; $\chi^2=23.5$)。**结论** 纳入研究的样本中 X 染色体较常染色体嵌合比例更高; X 染色体低比例嵌合体在所有嵌合体中占比大, 且可能会影响个体身高发育。

【关键词】 X 染色体嵌合; 嵌合体; 嵌合比例; 卵巢发育不全综合征

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Analysis of peripheral blood karyotype chimerism in 3015 cases of genetic counselors

Zhang Xiaojian*, Zhang Yanping, Zhou Yuxia, Wu Yusu, Gu Jin

Key Laboratory of Birth Regulation and Control Technology of National Health Commission of China, Maternal and Child Health Care Hospital of Shandong Province Affiliated to Qingdao University, Jinan 250000, Shandong, China

【Abstract】Objective To investigate the chimerism types and chimerism ratios of karyotypes from counseled patients peripheral blood, and its relationship with clinical phenotypes. **Methods** We retrospectively analyzed peripheral blood karyotypes from 3015 genetic counseling patients, and analyzed its height, weight, intelligence and fertility. **Results** There were 27 cases of chimerism in 3015 samples, with a chimerism ratio of 0.9%. There were 21 cases of pathogenic chimerism and 6 cases of polymorphic chimerism. Among pathogenic chimerism, there is 19 cases of X-chromosome chimerism, which is more than autosomal chimerism. The X repeat chimerism was higher than X-loss chimerism ($P=0.032$). The percentage of X-chimerism chimerism was 3%-5%, which was lower than the percentage of other types chimerism significantly ($P=0.000$; $\chi^2=23.5$). **Conclusion** Compared to the autosomes chimerism, the X chromosome chimerism had more quantity. H; Low proportion of X chromosome chimeras are more prevalent in the X chromosome low percentage chimerism may affect individuals height.

【Key words】 X-chromosome chimerism; Chimera; Chimeric ratio; Ovarian hypoplasia syndrome

染色体核型嵌合体是常见染色体异常类型, 约

占染色体异常的 0.2%~2.5%^[1]。染色体嵌合体发生机制复杂, 并且嵌合体间染色体嵌合比例存在差异性, 这给临床诊断和治疗带来很大的挑战性, 因此探究染色体嵌合类型、嵌合比例与临床表型的关

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.02.002

* 通信作者: 张孝乾, Email: Ziv2019@163.com

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划(202002081383)

系具有重要理论意义和临床价值。

染色体嵌合体类型包含多态性染色体嵌合体和致病性染色体嵌合体^[2]。多态性染色体嵌合体包含多态性染色体 1qh+、inv(9)(p12q13)、+mar 和 inv(19)(p11q12)等类型,该类染色体不具备临床致病性;致病性染色体嵌合体包含异常染色体 i(X)(q10)、del(5)(p15.2)等类型,该类染色体具有临床致病性,但致病严重程度与嵌合类型及嵌合比例有关,具体嵌合类型、比例与表型的关系值得进一步研究^[3]。本研究通过外周血细胞培养获得细胞分裂中期 T 型淋巴细胞,经 G 显带技术分析染色体核型,使用 SPSS22.0 统计分析致病性染色体嵌合类型、嵌合比例与临床表型的关系,以期为染色体嵌合诊断和遗传咨询提供新的科学依据。

1 材料与方法

统计 2017 年 1 月至 2020 年 6 月期间在山东省妇幼保健院就诊接受外周血染色体核型检查的个体,收集临床资料。排除标准:有免疫治疗史以及骨髓移植史个体。外周血染色体制片采用 G 显带(320 条带)方法,核型分析使用 Leica GSL120 全自动染色体扫描系统。细胞计数要求:纯合个体计数 20 个以上,嵌合型个体计数 50 个以上。染色体嵌合体诊断的标准:双线培养细胞均发现 1 个以上同一类型嵌合染色体;嵌合染色体总细胞数大于 3 个。嵌合比例为嵌合细胞数占计数细胞总数的百分数。统计数据使用 SPSS.22.0 软件,嵌合比例聚类分析采取系统聚类的方法。本研究经过山东省妇幼保健院伦理委员会批准。具体研究流程见图 1。

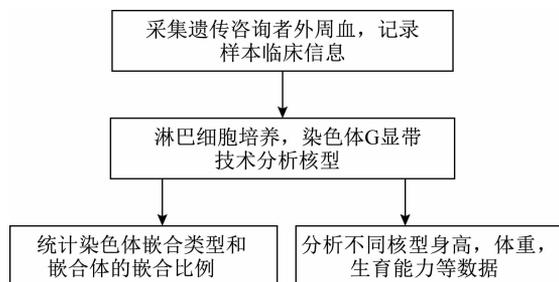


图 1 本研究实验设计的流程图

2 结果

3015 例遗传咨询者外周血核型中染色体嵌合体 27 例,占总体比例 0.9%,其中,致病性染色体嵌

合体 21 例,占有所有样本的 0.7%,多态性染色体嵌合体 6 例,占有所有样本的 0.2%(见表 1)。

表 1 外周血染色体核型嵌合体统计

核型	数量(例)	比例(%)
染色体纯合体	2988	99.11
致病性染色体嵌合体	21	0.70
多态性染色体嵌合体	6	0.20
总计	3015	100.00

在 21 例致病性染色体嵌合体中,包含 1 例常染色体嵌合体,核型为 46,XY,del(5)(p15.2)[11]/46,XY[46]嵌合体,其余 20 例为 X 染色体嵌合体。X 染色体嵌合体包括核型为 XXX[2]/45,X[4]/46,XX[64]个体 1 例,X 染色体丢失型个体 10 例,核型为 45,X/46,XX;45,X/46,X,i(X)(q10)。X 染色体重复型个体共 9 例,核型为 47,XXX/46,XX 及 48,XXXX/46,XX(见表 2、3)。核型 45,X[51]/46,X,i(X)(q10)[8]和 45,X[5]/46,XX[90]个体表现出典型 Turner 综合征特点,身材矮小,原发性闭经,卵巢子宫发育异常,其余 X 染色体嵌合体临床表型正常。

临床表型统计分析表明,X 染色体重复型嵌合体身高 163.1~168.6 cm,高于中国人群平均身高;X 染色体缺失型个体身高 149.7~164.9 cm,低于中国人群平均身高。X 染色体重复型嵌合体身高大于 X 染色体丢失型嵌合体($P=0.032$,见表 4),体重、体重指数和月经周期比较无显著性差异。X 染色体嵌合体生育情况分析发现,1 例 45,X[3]/46,XX[69]核型个体为不孕不育患者,1 例 45,X[6]/46,XX[94]核型个体后代智力发育障碍,其余 7 例 X 嵌合体可自然受孕或人工辅助受孕(见表 2)

利用 SPSS.22 软件采用系统聚类分析法对嵌合体嵌合比例聚类分析发现,低于 8% 的 X 染色体嵌合体聚类成群,嵌合体比例为 3%~5%(见表 5),显著低于其他嵌合体群体比例($P=0.000$; $\chi^2=23.5$)(见图 2)。

3 讨论

生物体内几乎所有细胞的遗传物质是相同的,然而嵌合体体内存在两种不同染色体核型。本研究

表 2 21 例染致病性染色体嵌合体临床特征描述

No.	核型	性别	身高 (mm)	体重 (kg)	月经周期 (d)	生殖器官异常	生育情况
1	45,X[3]/46,XX[67]	女	160	60	—	无	P1
2	47,XXX[4]/46,XX[98]	女	163	50	28	无	P1
3	48,XXXX[2]/46,XX[98]	女	165	50	30	无	P1
4	45,X[6]/46,XX[74]	女	162	65	27	无	P1
5	45,X[3]/46,XX[107]	女	162	60	30	无	IVF
6	47,XXX[4]/46,XX[106]	女	167	63	27	无	—
7	47,XXX[3]/46,XX[99]	女	165	55	—	无	—
8	47,XXX[3]/46,XX[60]	女	164	60	33	无	—
9	45,X[51]/46,X,i(X)(q10)[8]	女	150	40	—	子宫卵巢发育不良	—
10	45,X[5]/46,XX[90]	女	142	52	原发闭经	子宫卵巢发育不良	—
11	45,X[3]/46,XX[97]	女	160	65	40	无	—
12	47,XXX[2]/46,XX[77]	女	172	54	30	无	—
13	45,X[3]/46,XX[69]	女	165	65	30	无	未生育
14	47,XXX[2]/46,XX[78]	女	165	52	30	无	IVF
15	45,X[3]/46,XX[60]	女	160	60	—	无	P1
16	47,XXX[2]/45,X[4]/46,XX[64]	女	162	—	—	无	—
17	47,XXX[3]/46,XX[98]	女	—	—	—	无	—
18	45,X[6]/46,XX[94]	女	—	—	—	无	智力低下患儿
19	45,X[5]/46,XX[96]	女	—	—	—	正常	未生育
20	45,X[4]/46,XX[104]	女	—	—	—	—	—
21	46,XY,del(5)(p15.2)[11]/46,XY[46]	男	110	15	—	无	—

注：“—” 未采集信息,P1 代表正常生育一孩, IVF 代表试管婴儿。

表 3 6 例多态性染色体嵌合体核型描述

No.	核型	No.	核型
22	46,XX,1qh+,inv(19)(p11q12)[17]/46,XX,1qh+[33]	25	46,XX,inv(16)(p11.1q11.2)[10]/46,XX[50]
23	47,XX,+mar[55]/46,XX[46]	26	46,XY,inv(12)(p11q13)[45]/46,XY[5]
24	46,XY,inv(19)(p11q12)[11]/46,XY[45]	27	46,XX,inv(9)(p12q13)[75]/46,XX[10]

表 4 X 染色体重复与 X 染色体缺失个体身高、体重和 BMI 比较

指征	+X 嵌合体(置信区间)	-X 嵌合体(置信区间)	正常参考	P 值
身高(cm)	165.6(163.1~168.6)	158.5(149.7~164.9)	161.3~165.7	0.032
体重(kg)	54.9(50.3~59.5)	62.0(49.6~66.7)	52.6~63.4	0.204
BMI	18.3(15.2~21.4)	23.6(16.6~26.9)	18.5~23.9	0.397

表 5 嵌合体嵌合比例分析

嵌合类型	数量(例)	嵌合比例	显著性(P 值)
X 染色体低比嵌合	19	3%~5%	0.000
其他嵌合体	8	9%~33%	
合计	27	—	

发现受检者外周血型嵌合体发生率 0.9%，这之前研究基本一致。目前为止，染色体纯合个体中仅发现常染色体 13 号、18 号、21 号染色体三体，以及 X 染色体单体或三体可以存活；嵌合体中，发现 7、8、9、12、14、15、16、17、20 和 22 染色体三体以及 7、18 和 21 染色体单体均可存活，且此类嵌合体临床表型与嵌合染色体类型和嵌合比例有关^[4]。染色体嵌合体形成机制复杂，生殖母细胞减数分裂中初次卵

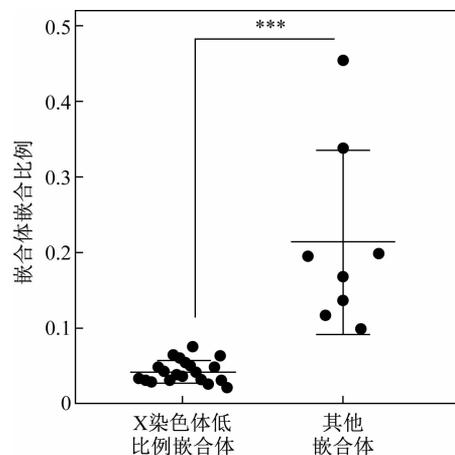


图 2 嵌合体嵌合比例比较。低于 8% 的 X 染色体嵌合体独立聚类,嵌合比例显著区别于其他类型嵌合体

母细胞染色体不分离,形成单体或三体细胞,异常染色体细胞发生染色体拯救易形成嵌合体;早期胚胎有丝分裂异常也会导致染色体嵌合体形成,但发生嵌合的具体分子机制远未阐明^[5]。之前已报道 X 染色体嵌合体的典型临床表型,但并未集中分析嵌合体嵌合比例与临床特征的相关性,本研究分析表明 X 染色体较常染色体嵌合体多,并以低比例嵌合体居多。临床表现来看,虽然 X 染色体重复嵌合体并未有临床表型,但 X 染色体重复型嵌合体身高高于 X 染色体缺失型个体,这表明低比例 X 染色体缺失和重复存在身高发育的遗传效应。

X 染色体较常染色体嵌合体多存在细胞遗传学基础。人类女性 46 条染色体中,X 染色体是唯一发生整条染色体丢失或重复,细胞仍可存活的染色体,X 染色体包含有 155Mb 碱基,所含基因数量约占整个人类基因组的 5%^[6]。Mary Lyon 提出 X 染色体剂量补偿效应的学说,即细胞仅有一条 X 染色体处于活性状态,另一条染色体多数基因表达沉默,形成巴氏小体^[7]。已有研究发现 X 染色体失活可引发 X 染色体丢失及 X 嵌合体形成。Matsuura 等发现,X 染色体失活有关的基因 *BUB1B*(OMIM:602860)突变会引起纺锤体组装检测缺陷,导致有丝分裂细胞着丝粒提前分裂,引起 X 染色体丢失^[8]。X 染色体结构异常也会导致细胞有丝分裂过程中 X 染色体丢失及嵌合体形成。Carl Dobkin 等研究发现,在 106 例 *FRM* 基因全突变的脆 X 综合征产前诊断样本中存在 5 例胎儿出现 45,X/46,XX 嵌合现象,*FRM* 基因全突变与 X 染色体丢失存在显著相关性,进一步的分子机制分析表明脆 X 综合征个体细胞有丝中期染色体特殊结构易导致染色体丢失^[9]。综上所述,X 染色体增加或丢失可能与 X 染色体选择性失活机制有关。

X 染色体重复染色体核型为 47,XXX 或 48,XXXX,临床表现为超雌综合征,新生儿体重偏低,头围偏小,婴幼儿表现出语言发育迟缓,青春期发育提前^[10]。成年女性身高偏高,身体比例异常,形似“芭比娃娃”,部分女性表现出脑电图异常及运动协调障碍,智力发育异常。超雌综合征临床症状严重程度与 X 染色体数量负相关。与标准型超雌综合

征相比,本研究中 X 染色体重复型嵌合体核型为 47,XXX/46,XX,48,XXXX/46,XX,该类个体身高偏高,体重指数较正常个体偏小,智力未表现出异常,月经周期、生殖器官子宫和卵巢发育正可通过体外辅助生殖完成生育过程。

细胞中 X 染色体丢失的女性称作 Turner 综合征,染色体核型为 45,X,该疾病在新生人群中发病率为 1/2 000~1/4 000,临床表现为先天性卵巢发育不全,原发性闭经,身材矮小,颈蹼等,成年后女性表现为不孕不育或反复流产^[11,12]。本研究中嵌合比例低于 8%的 45,X 嵌合体,临床表现为身高偏矮,智力和生殖能力基本正常。这与之前国外 Sophia Zachaki 等报道的一致^[13]。值得注意的是,已有研究表明 45,X 嵌合体症状严重程度与嵌合比例密切相关。Homer 等人对法国 1996 年至 2006 年间的 71 例 X 染色体非整倍体人群回顾性分析发现,嵌合比例大于 8%可导致 45,X/46,XX 嵌合体身材矮小,女性初潮时间提前,但促排卵激素、黄体生成素、雌二醇、抑制素 B 以及促甲状腺激素水平与正常个体没有差异。嵌合比例大于 6%个体体重指数 BMI 明显增加^[14]。45,X/46,XX 嵌合体发生自然流产的概率与嵌合比例呈正相关,部分 45,X/46,XX 低比例嵌合体表现出原发或继发闭经,卵巢早衰及子宫异常等临床症状^[15,16]。

本研究中核型 45,X[51]/46,X,i(X)(q10)个体表现出明显的 Turner 综合征症状,该个体 3 岁后接受过生长激素治疗,仍表现为身材矮小,身高 150 cm,低于中国人平均身高;生殖器官发育异常,超声检查表明子宫偏小,未有月经,第二性征发育不良。在 45,X 嵌合体细胞中易出现 Xiq 等臂染色体,且该类型染色体伴有 45,X 嵌合比例高,临床表现特征明显。因此,45,X 染色体嵌合体中等臂染色体 Xiq 易导致典型 Turner 综合征。

本研究发现 1 例 46,XY,del(5)(p15.2)[11]/46,XY[46]个体,受检者 4 岁,身高 110 cm,体重 15 kg,目前为止未见明显异常。据报道 46,XY,del(5)(p15.2)纯合型个体表现 Cri-du-Chat 综合征,其中 p15.2 为关键功能区域与 cri-du-chat 综合征的表型变化有关,临床表现为单色哭声、小头畸形、宽鼻梁、

内眦赘皮、小颌畸形以及智力低下^[17]。本研究中此嵌合个体未发现临床表型异常,可能由于细胞中异常染色体比例较低,遗传效应不显著。

本研究发现的 X 染色体低比例嵌合体发生机制还不清楚。主流观点认为,X 低比例嵌合体是胚胎早期 X 染色体突变细胞系沿留下来^[18]。也有观点认为“X 低比例嵌合由淋巴细胞 X 染色体有丝分裂染色体丢失或重复造成”^[19]。

本研究存在如下几点不足:本研究共纳入 27 例嵌合体进行研究,样本数量相对有限;本研究嵌合体核型分析采用染色体 G 显带技术,该技术存在准确性和灵敏度不高的缺点;本研究采用淋巴细胞体外培养的方法,该方法与体内淋巴细胞自然生长情况有差异,易造成嵌合假象。

参 考 文 献

- [1] TZU H C, YA P C, MENGJ L, et al. The Incidence of mosaicism for individual chromosome in human blastocysts is correlated with chromosome length[J]. *Front Genet*, 2021, 11: 565348.
- [2] ROBERT E W. A review of the biology and classification of human chimeras[J]. *Transfusion*, 2018, 58(8): 2054-2067.
- [3] KAMLESH M. Natural human chimeras: A review[J]. *Eur J Med Genet*, 2020, 63(9):103971.
- [4] Malan V, VEKEMANS M, TURLEAU C. Chimera and other fertilization errors[J]. *Clin Genet*, 2006, 70(5):363-373.
- [5] 邬玲仟,张学,等. 医学遗传学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015:1-2835.
- [6] BIESECKER L G, SPINNER N B. A genomic view of mosaicism and human disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 14: 307-320.
- [7] ELSIE C J, AMY P J, KATHRIN P. A lifelong duty: how Xist maintains the inactive X chromosome[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2022, 75:101927.
- [8] MATSUURA E I, TAUCHI H, KOMATSU K, IKEUCHI T, et al. Chromosomal instability syndrome of total premature chromatid separation with mosaic variegated aneuploidy is defective in mitotic-spindle checkpoint[J]. *Am J Hum Genet*, 2020, 67(2):483-486.
- [9] CARL D, GABRIEL R, XIAO H D, et al. X prenatal analyses show full mutation females at high risk for mosaic Turner syndrome: fragile X leads to chromosome loss[J]. *Am J Med Genet*, 2009, (10):2152-2157.
- [10] SAEID S A, ELAHE K A, FAKHREDIN S B, et al. Triple X syndrome: a review of the literature[J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(3):265-271.
- [11] CAROLYN, A. BONDY, CLARA CHENG. Monosomy for the X chromosome[J]. *Chromosome Res*, 2009, 17(5):649-658
- [12] 郑杰梅,刘之英,王和 等. 607 例 Turner 综合征患者临床表现与遗传学分析[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 34(1):61-64.
- [13] SOPHIA Z, ELISAVET K, AMELIA P, et al. Low-level X Chromosome Mosaicism: A Common Finding in Women Undergoing IVF[J]. *In Vivo*, 2020, 34(3):1433-1437.
- [14] HOMER L, MARTELOT M, MOREL F, et al. 45,X/46, XX mosaicism below 30% of aneuploidy: clinical implications in adult women from a reproductive medicine unit[J]. *Eur J Endocrinol*. 2010, 162(3): 617-623.
- [15] CHUANG T H, CHANG Y P, LEE M J, et al. The Incidence of mosaicism for individual chromosome in human blastocysts is correlated with chromosome length[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 565348.
- [16] TINE D C, HELEEN M, OLGA T, et al. Parental genomes segregate into distinct blastomeres during multipolar zygotic divisions leading to mixoploid and chimeric blastocysts[J]. *Genome Biol*, 2022, 23(1):201.
- [17] CORCUERA F J, CASTTELLANOS C L, TORRES L D, et al. A systematic review of the oral and craniofacial manifestations of cri du chat syndrome[J]. *Clin Anat*, 2016, 29(5):555-560.
- [18] ERNEST B H, DOROTHY W. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45, X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss[J]. *Hum Genet*, 2014, 133(4):417-424.
- [19] SMEETA G, ANIL KY, MANORAMA B, et al. Acute Promyelocytic Leukemia with t(2;3): An Unusual Additional Chromosomal Abnormality [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*[J]. 2022, 38(1):202-203.

(收稿日期:2023-04-04)

编辑:姚红霞