

1 例 13 号染色体复杂嵌合型结构畸变的细胞遗传学分析

李显箏 许玲 蔡婵慧 胡晶晶*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511442)

【摘要】 目的 报道 1 例产前诊断 13 号染色体复杂嵌合型结构畸变的病例, 并深入探讨其可能发生的机制。**方法** 孕早期超声联合 G 显带核型分析及染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)对胎儿绒毛及羊水标本进行检测。**结果** 孕早期超声发现胎儿颈项透明层 4.7mm, 绒毛标本 G 显带核型结果为 mos 46, XX, del(13)(q22)[10]/46, XX, -13, +mar[6]/46, XX, der(13)t(10;13)(q22;q22)[4], CMA 检测结果显示存在两种基因拷贝数的变化: ①10 号染色体 10q22.1-q26.3 位置发生嵌合重复(比例约 23%); ②13 号染色体 13q22.1-q34 位置发生嵌合缺失(比例约 40%)。该病例羊水标本 G 显带核型结果为 46, XX, del(13)(q31.1), CMA 检测结果显示胎儿 13 号染色体 13q31.1-qter 位置发生缺失。结合超声检查、核型结果及 CMA 检测结果, 推测胎儿绒毛标本存在限制性胎盘嵌合(confined placental mosaicism, CPM)的可能, 应以羊水检测结果为准, 由于羊水染色体 13q31.1-qter 位置发生缺失会导致“13q 缺失综合征”, 主要临床表现为严重的智力障碍、特殊面容、中枢神经系统异常、肌张力低下等, 经遗传门诊咨询后, 孕妇及家属决定终止妊娠。**结论** 当绒毛核型分析发现嵌合体时应充分考虑 CPM 的可能性, 复查羊水或脐带血进一步确诊, 对于确定存在 CPM 且胎儿核型正常的妊娠, 孕期应加强对胎儿生长发育的监测, 分娩时留取胎盘多点取材检测染色体核型进一步印证。

【关键词】 染色体缺失; 染色体微阵列分析; 限制性胎盘嵌合

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

Cytogenetic analysis of a complex chromosomal rearrangements mosaicism of chromosome 13

Li Xianzheng, Xu Ling, Cai Chanhui, Hu Jingjing*

Guangdong Women and Children Hospital, Guangdong 511400, Guangzhou, China

Corresponding author: Hu Jingjing, E-mail: hubel2005@126.com

【Abstract】 Objective To report a case of complex chromosomal rearrangements mosaicism of chromosome 13 in prenatal diagnosis and to investigate its possible mechanism. **Methods** Early pregnancy ultrasound combined with G-banding karyotype analysis and chromosomal microarray analysis (CMA) were used to detect fetal villi and amniotic fluid. **Results** Ultrasound in early pregnancy showed that the nuchal translucency (NT) of the fetus had thickened by 4.7mm, and the G-banding karyotype of the villi samples was mos 46, XX, del(13)(q22)[10]/46, XX, -13, +mar[6]/46, XX, der(13)t(10;13)(q22;q22)[4], CMA test showed that there were two gene copy number changes: (1) Mosaic duplication occurred at the position of 10q22.1-q26.3 on chromosome 10 (proportion of about 23%); Mosaicism missing occurred at sites 13q22.1-q34 on chromosome 13 (about 40%). The G-banding karyotype of the amniotic fluid in this case was 46, XX, del(13)(q31.1), and the CMA test showed that the position 13q31.1-qter of fetal chromosome 13 was missing. Combined with ultrasound, karyotype results and CMA test results analysis,

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2021.03.012

* 通信作者: 胡晶晶, E-mail: hubel2005@126.com

speculated that fetal villi specimens confined placental mosaicism (CPM). The main clinical symptoms of "13q deficiency syndrome" was severe mental disorders, special features, central nervous system abnormalities. The pregnancy was terminated after genetic consultation. **Conclusion** When chromosomal mosaicism was found by villi karyotype analysis, the possibility of CPM should be fully considered, and amniotic fluid or umbilical cord blood should be reviewed for further confirmation. In a pregnancy with CPM and normal fetal karyotype, the monitoring of fetal growth and development should be strengthened during pregnancy, and multiple samples of placenta should be taken during childbirth to detect chromosome karyotype for further verification.

【Key words】 Chromosome deletion; Chromosomal microarray analysis; Confined placental mosaicism

绒毛染色体核型分析是孕早期常见的产前诊断方法之一。相对于羊水染色体核型分析,绒毛核型分析更容易出现嵌合体,而这些嵌合体有些是真性嵌合,有些是假性嵌合,如何鉴别和预测这些嵌合体对胎儿的风险,是产前诊断中的一大难题^[1]。目前,临床上绒毛嵌合体多数为非整倍体数目异常嵌合,染色体结构重排畸变嵌合比较少见(79.3% vs 20.7%)^[2]。本文将探讨1例13号染色体复杂结构畸变的嵌合体病例,并深入探讨其可能发生的机制。

1 对象与方法

1.1 对象 孕妇,43岁,2019年3月27日来本院就诊。末次月经为2018年12月19日,于2018年12月23日通过体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer, IVF/ICSI-ET)手段植入2枚冷冻胚胎,早期超声提示存活1枚。2009年顺产一女,现体健,平素月经规则,无特殊,夫妻双方外周血染色体核型均正常。孕12⁺周左右,超声提示宫腔内单活胎,胎儿颈项透明层厚度(nuchal translucency, NT)4.7mm。就诊完善相关检查,孕妇及家属签署知情同意书,于孕14⁺周,经腹B超行绒毛膜穿刺术,同时送检绒毛染色体核型分析及染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)检测。因绒毛染色体结果提示嵌合体,孕妇于孕18⁺周,经腹B超行羊膜腔穿刺术,再次送检羊水核型分析及CMA检测。

1.2 方法

1.2.1 绒毛染色体核型分析孕11~15周孕妇在B超介导下经腹穿刺绒毛20~30mg,用无菌生理盐

水清洗干净后,送至无菌培养室,于解剖显微镜下挑选出绒毛组织,经无菌手术刀剁碎和酶消化后,接种到3个培养瓶中,培养观察,1瓶进行原位收获、制片,1瓶传代、收获和制片,另1瓶留作备份继续培养,于显微镜下分析计数核型,若出现嵌合现象时加大计数量并对备份培养瓶中的细胞进行传代、收获和制片,加数尽量多的核型进行分析。

1.2.2 羊水染色体核型分析本中心采用原位羊水细胞培养法,孕妇于孕18~24周在B超介导下经腹穿刺羊水30ml,双人双线操作,接种2个培养瓶和2个培养皿,常规羊水培养,将2个培养瓶进行原位收获和制片,显微镜下计数15个细胞克隆,分析5个核型,若出现嵌合现象时加大计数量并对2个备份培养皿中的细胞进行传代、收获和制片,加数尽量多的核型进行分析。

1.2.3 CMA检测签署知情同意书后,采集孕妇绒毛或羊水。使用Agilent公司生产的8×60K芯片进行全基因组范围的不平衡现象检测。整个过程严格按照标准化操作进行,包括DNA的提取、酶切、连接、PCR、纯化、片段化、标记、杂交、扫描和分析。最终以正常男性DNA作为对照标准,利用ChAS软件进行分析。

2 结果

2.1 经腹超声结果经腹部超声扫描提示:子宫增大,宫腔内见一胎儿回声,头臀径63mm,可见胎心搏动,胎儿NT4.7mm,胎盘位于子宫前壁,厚16mm,胎盘成熟度0度,羊水暗区31mm,子宫宫底壁见1个低回声团,大小约23mm×12mm,边界清,内部回声分布均匀,图1。

2.2 染色体 G 显带核型结果绒毛染色体核型分析共发现 3 种异常核型:①46,XX,del(13)(q22);②46,XX,-13,+mar;③46,XX,add(13)(q22),均涉及 13 号染色体,嵌合比例分别为 50%、30% 和 20%,图 2A-C,羊水染色体核型分析结果为 46,XX,del(13)(q31.1),胎儿仅存在一种异常核型,图 2D。

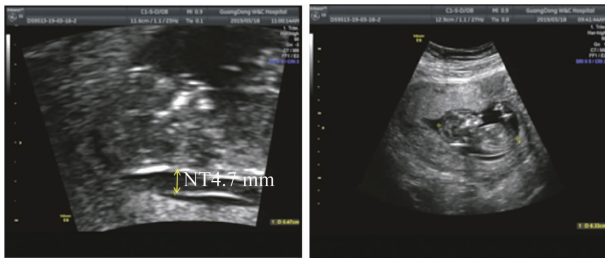


图 1 超声结果:NT4.7mm

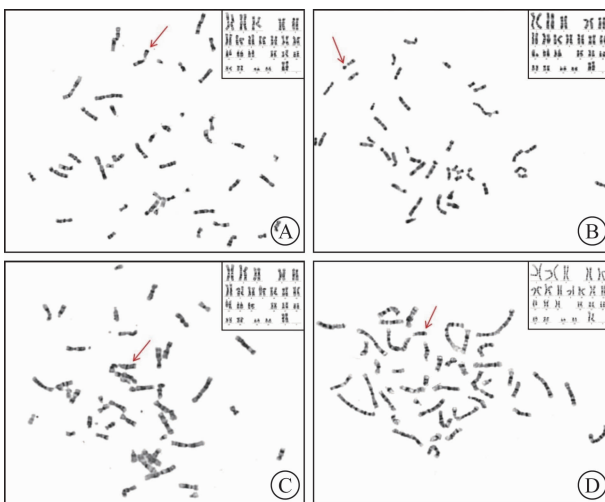


图 2 染色体核型结果

A. 绒毛染色体核型:46,XX,del(13)(q22);B. 绒毛染色体核型:46,XX,-13,+mar;C. 绒毛染色体核型:46,XX,add(13)(q22);
D. 羊水染色体核型:46,XX,del(13)(q31.1)

2.3 染色体微阵列检测结果绒毛染色体微阵列结果提示:arr[hg19] 10q22.1q26.3(70,857,961-135,426,386) x2-3,13q22.1q34(74,346,851-115,107,733) x1-2,发现胎儿存在两种基因拷贝数的变化:①10 号染色体 10q22.1-q26.3 位置发生嵌合重复(比例约 23%),片段大小约 64.6Mb,包含 616 个基因;②13 号染色体 13q22.1-q34 位置发生嵌合缺失(比例约 40%),片段大小约 40.7Mb,涉及 251 个基因,图 3A。

羊水染色体微阵列结果提示:arr[hg19] 13q31.1q34(84,336,388-115,107,733) x1,发现胎

儿 13 号染色体 13q31.1-qter 位置发生缺失,片段大小约 40.7Mb,涉及 251 个基因,其中 97 个为 OMIM 基因,图 3B。

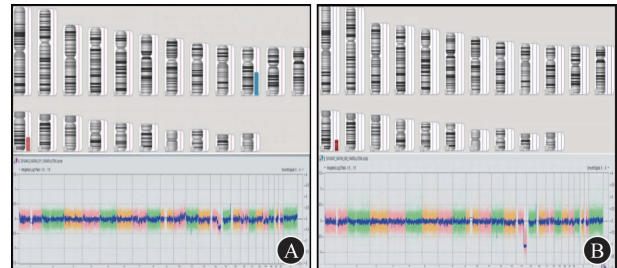


图 3 染色体微阵列结果

A. 绒毛微阵列结果:10q22.1q26.3(10,857,961-135,426,386) × 2-3,13q22.1q34(74,346,851-115,107,733) × 1-2;
B. 羊水微阵列结果:13q31.1q34(84,336,388-115,107,733) × 1

3 讨论

绒毛是胚胎和母体进行物质交换的重要组成部分^[3]。绒毛染色体核型 G 显带分析技术在临床中具有早发现、早干预、降低孕妇心理及身体创伤等优点,但其技术手段仍存在一定的弊端^[4]。众所周知,胎盘由羊膜、叶状绒毛膜和底蜕膜构成,羊膜和叶状绒毛膜构成胎盘的胎儿部分,叶状绒毛膜是绒毛穿刺的目标物^[5];底蜕膜构成胎盘的母体部分,绒毛穿刺时不慎抽到底蜕膜是造成母体组织污染的主要原因^[6]。同时,由于绒毛取材过程中易污染、取材难度大、绒毛量多少不同、孕周不同、培养时间长短等因素,对最终绒毛染色体结果都会造成不同程度的影响^[7]。

绒毛检查所取标本主要为滋养细胞及绒毛间质细胞,虽然与胎儿来源于同一个受精卵,属于胎盘的一部分,但其并非真正的胎儿组织。在胚胎发育至 64 个细胞胚泡阶段,4 个细胞发育成胎儿,12 个细胞发育成胚外中胚层,其余 48 个细胞发育成滋养层,在胚胎发育早期,理论上非胎儿结构比胎儿更容易发生有丝分裂错误^[8]。一般情况下绒毛核型能代表胎儿核型,但也可能由于母体组织污染或者限制性胎盘嵌合体(CPM)的存在,不能真实反映胎儿情况。当绒毛染色体嵌合现象发生时,应首先鉴别胎儿真性嵌合的可能性。如果在胚胎时期,细胞融合或分裂错误形成嵌合体,一般是真性嵌合体^[9]。所以,准确分析判断绒毛染色体嵌合体的真假性,排除 CPM 的可能,对胎儿及妊娠结局的影响是非常重要的。

在孕早期绒毛活检中,CPM 的发生率大约在

1%~2%^[10]。当发生 CPM 时,绒毛核型与胎儿核型结果可能出现不一致,出现绒毛嵌合现象。目前,CPM 根据发生机制,可分为减数分裂型以及有丝分裂型:减数分裂型指受精卵染色体异常,在之后的分裂中,由于“错误”导致囊胚内细胞团中形成胚胎的细胞丢失异常染色体,而其余异常细胞被“驱赶”至滋养细胞层,这个过程被称为“胎儿自救”(fetal rescue);有丝分裂型指受精卵染色体正常,异常分裂发生在胎盘细胞的前体中^[11]。对于绒毛染色体发现异常核型嵌合现象时,不能盲目认定胎儿染色体存在异常,需进一步复查羊水,但即使后续羊水诊断核型结果正常,胎儿仍可能存在低水平的嵌合,并且有 1/3 的机会是单亲二体(uniparental disomy, UPD),对于某些可能存在印记基因的染色体,例如 5、6、7、9、11、14、15、16 号染色体,诊断 CPM 的同时还要除外 UPD 的存在^[5]。

本病例绒毛核型与 CMA 结果均提示 13 号染色体存在异常。由于 CMA 的结果提示 10 号染色体存在嵌合重复,且重复片段断裂位点位于 10q22,结合第三种异常核型,与 10 号染色体带纹进行比对,我们认定第三种异常核型中的未知 13 号染色体为一条衍生染色体,其未知附加片段来源为 10 号染色体的部分三体,同时伴随 13 号 q22 位置至末端的部分单体,其核型描述修正为:46,XX,der(13)t(10;13)(q22;q22)。CMA 提示 10 号染色体嵌合重复的比例为 23%,而 13 号染色体嵌合缺失的比例为 40%,除了 10 号与 13 号染色体易位重排的衍生染色体外,还存在 13 号 q22 至末端缺失的情况,即第一种异常核型 46,XX,del(13)(q22)。由于核型分析与 CMA 技术均存在局限性,不能排除绒毛 CPM 的存在,同时 CMA 技术对低比例的嵌合不能准确检出,所以第二种异常核型仍不能确认其来源及异常类型,需进一步复查羊水。经检测,羊水染色体核型分析以及 CMA 结果均提示胎儿为纯合状态的 13 号染色体 q31 至末端的缺失,“13p 缺失综合征”主要临床表现为严重的智力障碍、特殊面容、中枢神经系统异常、肌张力低下等,孕妇及家属选择终止妊娠。

该病例绒毛与羊水检测出现了不同的结果,经分析发现,绒毛核型与绒毛 CMA 结果基本一致,羊水核型与羊水 CMA 结果一致,从而排除由于细胞体外培养、收获等操作造成的假性嵌合现象,可以确定该病例 CPM 的存在,推测 13 号染色体的畸变细

胞异常分裂可能发生在减数分裂期,由于胎儿复杂的自救过程,导致胎盘存在三种不同形式的异常核型的嵌合,而胎儿由一种异常核型发育而来。遗憾的是本病例外院引产,未能留取胎盘组织进一步印证。

综上所述,绒毛核型分析的嵌合现象仍然是产前诊断和咨询中的难点。虽然 CPM 的发生率较低,当绒毛核型分析发现嵌合体时仍应充分考虑 CPM 的可能性,复查羊水或脐带血进一步确诊。临床上应重视 CPM 的存在,加强对 CPM 的遗传咨询。对于存在 CPM 且胎儿核型正常的妊娠,孕期应加强对胎儿生长发育的监测,分娩时留取胎盘多点取材,分别检测染色体核型进一步印证。

参考文献

- [1] 罗小金,郭碧芸,魏凤香. 孕早期绒毛嵌合体在产前诊断中的临床分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(3):41-42.
- [2] GRATI FR, GRIMI B, FRASCOLI G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi[J]. Eur J Hum Genet,2006,14(3):282-288.
- [3] HAHNEMANN JM, VEJERSLEV LO. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's syndrome. No reason to doubt standard of prenatal diagnosis[J]. BMJ, 1996, 312(7038):1100-1101.
- [4] NISHIYAMA M, YAN J, YOTSUMOTO J, et al. Chromosome abnormalities diagnosed in utero: a Japanese study of 28 983 amniotic fluid specimens collected before 22 weeks gestations[J]. J Hum Genet,2015,60(3):133-137.
- [5] 吴坚柱,周秣,谢英俊. 产前诊断中绒毛嵌合体的研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2015,32(5):748-749.
- [6] 李显箴,李星,许玲. 孕早期产前诊断中绒毛嵌合体的遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2019,36(8):848-850.
- [7] 欧阳鲁平,陈少科,费冬梅. 1160 例孕早期绒毛染色体细胞遗传学分析[J]. 重庆医学,2015,44(6):813-815.
- [8] LOS FJ, VAN OPSTAL D, VAN DEN BERG C, et al. Uniparental disomy with and without confined placental mosaicism: a model for trisomic zygote rescue[J]. Prenat Diagn,1998,18(7):659-668.
- [9] 王琳凯,张阮章,王沙燕. 先天性嵌合体的形成与临床 1[J]. 国际遗传学杂志,2014,37(3):114-118.
- [10] WILKINS-HAUG L, QUADE B, MORTON CC. Confined placental mosaicism as a risk factor among newborns with fetal growth restriction[J]. Prenat Diagn,2006,26(5):428-432.
- [11] 周希亚,戚庆炜,郝娜,等. 限制性胎盘嵌合体对产前诊断的影响[J]. 生殖医学杂志,2015,24(03):171-176.

(收稿日期:2021-01-11)

编辑:宋文颖