

出生缺陷一级预防的实验室监测方法

马端

(复旦大学出生缺陷研究中心, 上海 200032)



马端教授, 博士生导师, 47 岁。复旦大学分子医学教育部重点实验室副主任, 复旦大学出生缺陷研究中心副主任, 复旦大学儿童发育与疾病转化医学研究中心副主任, 上海市曙光学者。中华医学会医学遗传学分会常务委员, 中国遗传学会理事, 上海市遗传学会科普专业委员会主任委员, 上海市医学会医学遗传学专业委员会副主任委员, 上海市医学会罕见病专业委员会副主任委员。中国产前诊断杂志副主编, BioScience Trends、中华医学遗传学杂志、医学分子生物学和中国临床神经科学编委, 10 余种 SCI 杂志审稿人。在 Blood, Biochemistry Journal, Thrombosis and Haemostasis 和 Apoptosis 等 SCI 杂志上发表论文 40 余篇, 发表中文论文 90 余篇, 主编和主译学术专著各一部, 获美国发明专利 1 项, 中国发明专利 3 项。先后主持国家 973 课题、国家 863

专项、国家重大新药创制、国家十五科技攻关、国家自然科学基金、教育部重点项目、上海市重大和重点科技攻关项目和上海市曙光计划等科研课题 20 余项。

出生缺陷(birth defects)种类繁多, 根据致病基因的来源可以分为遗传性出生缺陷和先天性出生缺陷。遗传性出生缺陷通常具有垂直传递的特征, 可由亲代传至后代。有时突变发生在配子形成(gametogenesis)时期, 父母双方都没有这类缺陷, 故这类患者成为起始性突变者, 可能成为后代子孙患病的祖先。遗传性疾病常具有先天性、终生性和家族性的特点。先天性出生缺陷是指在胎儿发育过程中, 由于环境因素或母体条件的影响, 而发生的出生缺陷。目前临床上对先天性出生缺陷的命名并不准确, 许多已经命名为先天性出生缺陷的疾病实际上也有遗传因素, 只不过遗传因素的效应在亲代不明显。不少非致死性先天性出生缺陷婚育生子后, 可以将缺陷遗传至下一代, 如先天性心脏病、先天性耳聋、先天性唇腭裂和先天性肢体畸形等。

卫生部和中国残疾人联合会共同制订的《中国提高出生人口素质、减少出生缺陷和残疾行动计划(2002-2010 年)》, 将出生缺陷的一级预防重点放在“开展婚前医学检查, 禁止近亲婚育, 科学补碘, 叶

酸等营养素的添加, 避免接触有毒有害作业, 严格控制孕期用药, 教育新婚或准备生育的夫妇禁烟戒酒, 远离毒品”。这些措施的认真贯彻执行, 无疑能够降低部分出生缺陷的发生率。但根据目前的一级预防策略, 大多数遗传性出生缺陷是无法控制的, 因为没有在基因学层面为育龄夫妇实施检查。

1 染色体疾病的一级预防检测

染色体疾病是由于染色体数量或结构异常而发生的疾病, 数量异常比结构异常更为常见。染色体异常且能存活的出生缺陷主要有 21-三体综合征、21q-综合征、18-三体综合征、13-三体综合征、XXX 综合征、XYY 综合征、脆性 X 染色体综合征、克氏综合征、先天性卵巢发育不全、猫叫综合征和染色体断裂综合征(如毛细血管扩张性共济失调症、Bloom 综合征、着色性干皮症和 Fanconi 贫血等)。染色体数量异常引起的出生缺陷通常有明显的表现, 婚配的可能性不大。染色体结构异常引起的症状和体征相对较轻, 部分患者可能生育, 是出生缺陷一级预防

的重点。

分析异常染色体的方法有多种,除常规的染色体核形分析外,尚有荧光原位杂交图像分析系统(FISH)、多色荧光原位杂交系统(mFISH/mBAND)、比较基因组杂交定量分析(CGH)、彗星分析(Comet imager)和自动扫描系统(Metafer),可以根据不同的需要进行选择。

FISH的基本原理是用已知的标记单链核酸为探针,按照碱基互补的原则,与待检材料中未知的单链核酸进行异性结合,形成可被检测的杂交双链核酸。由于DNA分子在染色体上是沿着染色体纵轴呈线性排列,因而可以用探针直接与染色体进行杂交,从而将特定的基因在染色体上定位。FISH具有以下特点:①操作简便,探针标记后稳定,一次标记后可使用2年。②方法敏感,能迅速得到结果。③在同一标本上,可同时几种不同探针。④不仅可用于分裂细胞染色体数量或结构变化的研究,而且还用于静止期细胞的染色体数量及基因改变的研究。FISH可用于标记染色体的识别、特异融合基因的检测、新基因定位,用全染色体涂抹探针识别复杂的染色体结构异常。

M-FISH相当于在一次杂交中给每一条染色体都涂上了不同的颜色,因而很容易就可看到多条染色体间的复杂易位情况和确定标志染色体的来源。M-FISH使用5种荧光染料按比例标记探针,杂交后形成24条染色体上24种特异的荧光色彩以供核型分析。它为人们提供了既丰富又完善的细胞遗传学信息,包括确定标记染色体的来源、检测微小的染色体易位和检测复杂的染色体易位。

CGH不需要制备患者的染色体标本,只需采用被检的基因组DNA和正常人的基因组DNA作为探针,与正常人的中期染色体分裂相进行杂交。比较两种探针所标的荧光信号的强度比率来判断被检者的DNA是否存在缺失、增加或复制。随着CGH精确度的增加,对微小的扩增或缺失也能检测。

彗星分析系统是一种计算细胞内由于放射致癌物质或环境毒素所造成DNA损伤的系统。处理过的细胞在电泳时,小的DNA碎片比大的移动较快,所以染了荧光探针的变异细胞核会形成彗星状,正

常的核仍保持圆形。彗星分析具备了简易及高灵敏度等优点,日渐成为一个监察引致突变物质的强有力手段。

自动扫描系统结合使用电动显微镜和扫描台,自动扫描荧光玻片,自动寻找中期或其他微小的荧光标记。找到的位置可自动或手动用高倍排列在屏幕上以供确认和自动核型分析。每一个扫描视野也可以自动复位以便进一步的观察和分析。该系统可以统计大量间期细胞核的FISH信号,能够在明场或荧光图像中自动查找分裂中期染色体,自动检测荧光标记的特殊细胞,可大大提高常规检测和研究的效率,同时扫描可以在无人看管的情况下在夜间运行,节约了宝贵的日间工作时间。

如果育龄夫妇有遗传病或先天性疾病的家族史或流产史,可以使用上述方法对双方的白细胞和男方的精子进行染色体监测。

2 单基因遗传病的一级预防检测

单基因病(Single Gene Disorder)包括常染色体显性遗传病、常染色体隐性遗传病、X连锁显性遗传病、X连锁隐性遗传病、Y连锁遗传病和线粒体病。目前已知的单基因遗传病有6000余种,大多数单基因是遵循孟德尔遗传规律的,但表观遗传修饰异常的单基因疾病有其独特的遗传模式。

常染色体显性遗传病(autosomal dominant disorder)的致病基因在常染色体上,等位基因之一突变,杂合状态下即可发病。致病基因可以是生殖细胞发生突变而新产生,也可以由双亲任何一方遗传而来。常染色体显性遗传病常见者有Marfan综合征、Ehlers-Danlos综合征、先天性软骨发育不全、多囊肾、结节性硬化、Huntington舞蹈病、家族性高胆固醇血症、神经纤维瘤病、肠息肉病以及视网膜母细胞瘤等。

常染色体隐性遗传病(autosomal recessive disorder)致病基因在常染色体上,基因性状是隐性的,即只有纯合子时才显示病状。此种遗传病父母双方均为致病基因携带者,故多见于近亲婚配者的子女。子代有1/4的概率患病,子女患病概率均等。常见的常染色体隐性遗传病有溶酶体贮积症,如糖原贮

积症、脂质贮积症、黏多糖贮积症;合成酶的缺陷如血 γ 球蛋白缺乏症、白化病;苯丙酮尿症、肝豆状核变性(Wilson 病)及半乳糖血症等。

性连锁遗传病(sex-linked disorder)以隐性遗传病为多见。致病基因在 X 染色体上,性状是隐性的,女性大多只是携带者,这类女性携带者与正常男性婚配,子代中的男性有 1/2 是概率患病,女性不发病,但有 1/2 的概率是携带者。男性患者与正常女性婚配,子代中男性正常,女性都是携带者。因此 X 连锁隐性遗传在患病系中常表现为女性携带,男性患病。男性的致病基因只能随着 X 染色体传给女儿,不能传给儿子,称为交叉遗传。这类常见的疾病有血友病 A、假性肥大性肌营养不良症(Duchenne 肌营养不良)、红绿色盲等。红绿色盲的女性携带者和男性患者婚配,子代中的男性有 1/2 的概率患病,而女性可有 1/2 的概率患病,1/2 概率为携带者。

X 连锁显性遗传病病种较少,有抗维生素 D 性佝偻病等。这类病女性发病率高,这是由于女性有两条 X 染色体,获得这一显性致病基因的概率高之故,但病情较男性轻。男性患者病情重,他的全部女儿都将患病。

Y 连锁遗传病的特点是男性传递给儿子,女性不发病。因 Y 染色体上主要有男性决定因子方面

的基因,其他基因很少,故 Y 连锁遗传病极少见。

目前临床上开展的单基因疾病监测主要是针对编码的蛋白质或已知的突变位点,数量有限,不能满足一级预防的需要。致病基因全序列测定不仅能够对已知突变位点进行监测,也能发现未报道的突变位点,因此能够全面的反映基因的序列变化情况,非常适合一级预防人群的遗传咨询和筛查。

3 多基因遗传病的一级预防

多基因遗传病指某种疾病的发生受两对以上等位基因的控制,它们的基本遗传规律也遵循孟德尔遗传定律。但多基因遗传病除了决定于遗传因素之外,还受着环境等多种复杂因素的影响。常见的多基因遗传病有先天性心脏病、先天性唇腭裂、先天肢体畸形、遗传性肿瘤、脊柱裂和无脑儿等。

对多基因遗传病进行一级预防比较困难,但也有规律可寻。详细的家族史调查和候选基因监测,可对后代发生多基因遗传病的风险进行分析和推断。CGH、基因芯片结合基因测序是目前使用的主要方法。

总之,目前正在推广使用的出生缺陷一级预防方法尚不能满足实际需要,尽快研究和普及染色体和基因的监测技术才是降低出生缺陷的根本措施。

《中国产前诊断杂志》网上投稿通知

为进一步加强本刊信息化建设,加快稿件处理速度,提高编辑工作效率和刊物质量,更好地服务于广大作者,扩展作者与编者,作者与读者之间的联系和交流。自 2012 年 1 月起,本刊将正式启用网上投稿办公系统(网址为:<http://www.chinjpd.com>,对应于我刊的英文名缩写 Chin J Pren Diag),请作者尽可能使用网上投稿系统投稿及查询稿件处理情况。

您只需要在首次投稿时经过简单的注册,便可以永久使用。投稿成功后,系统会自动发送邮件和手机短信通知您稿件各阶段的进展程度,您也可以随时登录系统自助查询稿件处理情况。注册时,请用您常用的电子邮箱作为注册帐号,注册成功后,系统会自动把登录密码发送到您的 Email 中,请到您的 Email 中查看登录密码并登录系统,完善自己的个人信息。如果忘记密码可点击找回密码,系统会自动将用户名和密码发到您的邮箱中。如有疑问请与编辑部宋文颖联系,电话:021-54030916。

欢迎您投稿并请您提出宝贵意见!感谢您对《中国产前诊断杂志》的支持!