

# 1例环状X染色体嵌合型Turner综合征的 产前诊断与遗传咨询

吴轲<sup>1</sup> 朱沅珍<sup>2\*</sup> 王璐<sup>1</sup>

(1 义乌市妇幼保健院 产前诊断中心,浙江 义乌 322000;2 义乌市妇幼保健院 检验科,浙江 义乌 322000)

【中图分类号】 R714.55 【文献标识码】 B

特纳综合征(Turner syndrome, TS)是最常见的染色体异常疾病之一,以X染色体整体或部分缺失为遗传学特征。多数患者因青春期生长受限、身材矮小而确诊,由此错过最佳干预治疗期,许多TS患者直到成年才被诊断出来<sup>[1]</sup>。环状染色体(Ring chromosomes, RCs),罕见出现于真核生物核基因组中,由于其不稳定性,可能会造成基因变异引起相关疾病。经过多年努力,我国出生缺陷防治体系逐步完善,识别和诊断染色体疾病能力也显著提高,因此产前识别和诊断TS,有助于预防与诊治。染色体核型分析技术一直被认为是确诊染色体畸变的“金标准”,也是染色体病产前诊断的一线方法,但其检测周期长、分辨率较低。近年来专家共识推荐基于下一代测序(next generation sequencing, NGS)技术的基因组拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)为可作为一线产前诊断技术应用于临床<sup>[2]</sup>。在本文中,我们将CNV-seq技术与常规染色体核型分析技术联合应用,产前诊断一例罕见的环状X染色体嵌合型Turner综合征胎儿,并为孕妇提供遗传咨询。

## 1 资料与方法

1.1 病例资料 孕妇,25岁,孕19周,孕1产0,平素月经规律,非近亲结婚,孕期体健,无化学物质、农药、放射性物质、毒物等接触史,无遗传病家族史。

孕妇血清学产前筛查结果为低风险,胎儿颈后透明层厚度(nuchal translucency, NT) < 2.5 mm,孕期B超未见异常,因羊水量较少、孕早期服用黄体酮胶囊、固肾安胎丸保胎治疗1月,故自愿要求进行基础版无创产前筛查(non-invasive prenatal testing, NIPT)。因NIPT筛查结果显示高风险(提示性染色体数目偏少),孕妇来我院产前诊断中心咨询。

### 1.2 方法

1.2.1 羊膜腔穿刺 该孕妇符合产前诊断指征,知情同意后,在B超引导下经母腹羊膜腔穿刺,无菌抽取羊水30ml。25ml用于常规染色体核型分析,5ml用于CNV-seq分析。使用纯化柱法(QIAamp DNA Blood Mini Kit,德国QIAGEN公司)提取基因组DNA。采用QF-PCR技术检测母源污染,并辅助异倍体的检出,当母源信号>10%提示母血污染。

1.2.2 G-显带核型分析 羊水细胞染色体核型分析采用双人双线法接种收获羊水细胞,具体步骤为羊水1500 r/min离心10min,无菌操作弃上清液,余0.5 ml左右沉淀,加入羊水培养基,制成细胞悬液,分别涂抹于3个原位培养盒的载玻片上,接种后置置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱,静止培养7d。培养后制片采用G显带技术,按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2016)标准进行核型分析,在不同集落中,计数15个分散好、中等长度的中期分裂相染色体,分析5个以上核型,染色体核型嵌合则加大计数至50个。

1.2.3 CNV-seq分析 羊水细胞基因组DNA提

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.04.011

\* 通信作者:朱沅珍, Email: 410442371@qq.com.

基金项目:2021年义乌市科研计划项目(21-3-131)

取, DNA 片段化处理, 构建测序文库, 进行低覆盖度全基因组高通量测序, CNV 分辨率约为 100 kb。测序所得的 Reads 通过 BWA 软件与 hg19 基因组进行比对分析, 仅保留唯一定位的 Reads。经过数据分析, 根据 Stouffer'S Z 值来判断 DNA 拷贝数变异情况。同时进行 STR 连锁分析排除羊水细胞 DNA 受母源污染。

1.2.4 父母验证 胎儿的 G-显带核型和(或) CNV-seq 结果异常者, 抽取胎儿父母外周血进行核型分析和(或) CNV-seq 分析, 以确定染色体变异来源。

## 2 结果

2.1 染色体核型分析 G 显带核型分析发现中期分裂相存在环状 X 染色体(图 1), 断裂重接点可能在 p22.3 和 q23 间, 其核型为 mos 45, X[53]/46, X, r(X)(p22.3q23)[15]。其父母外周血染色体核型正常, 故可推测环状染色体源于新生突变, 但无法排除生殖腺嵌合的可能性。

2.2 CNV-seq 检测结果 CNV-seq 见表 1, 其中, Xp22.31-q23 处缺失 107.06Mb 区域(拷贝数为 1.5), 缺失嵌合比例约为 50%。CNV-seq 检测结果验证了染色体核型分析结果, 并精准地判定断裂重接位点。

2.3 妊娠结局 此例胎儿诊断为环状 X 染色体嵌合型 Turner 综合征, 父母验证得知, 胎儿的环状 X 染色体属于新发变异, 经遗传咨询、知情同意后, 孕妇于 25 周终止妊娠, 并拒绝对胎儿做进一步遗传学检测。

表 1 CNV-Seq 检测结果

检测结果(ISCN)	CNV 类型	片段大小	ACMG 评级
seq[hg19]Xp22.33p22.31 (2700000-7500000)×1	缺失	4.80Mb	致病性
seq[hg19]Xp22.31q23 (7500000-114560000)×1.5	缺失	107.06Mb	致病性
seq[hg19]Xq23q28 (114560000-154940000)×1	缺失	40.38Mb	致病性

## 3 讨论

特纳综合征, 又称先天性卵巢发育不良综合征, 在 1938 年美国医师 Turner 首次发现并描述该疾病。TS 外生殖器表型为女性, 典型临床表现为身材

矮小(95%~100%)、第二性征发育不全、原发性闭经、卵巢及子宫发育不良、短颈、颈蹼、后发际低躯体畸形、糖代谢紊乱、甲状腺疾病等, 此外还有皮肤、肌肉骨骼、面容、心血管、胃肠道、肾脏等系统异常, 部分患者有视觉和听觉障碍、语言交流障碍、认知异常等表型<sup>[3]</sup>, 智力通常与一般人群相当, 但部分 TS 较正常同龄人平均智力低<sup>[4]</sup>。国外数据显示每 10 万个活产女婴中有 25~50 个 TS 患儿, 平均诊断年龄在 15 岁左右<sup>[5]</sup>。TS 是最常见的染色体异常疾病之一, 也是人类唯一能生存的染色体单体综合征, 但与一般人群相比, 他们的寿命明显减少了 13~15 年, 约 50% 的 TS 超额死亡(excess mortality)归咎于心血管疾病<sup>[6]</sup>。

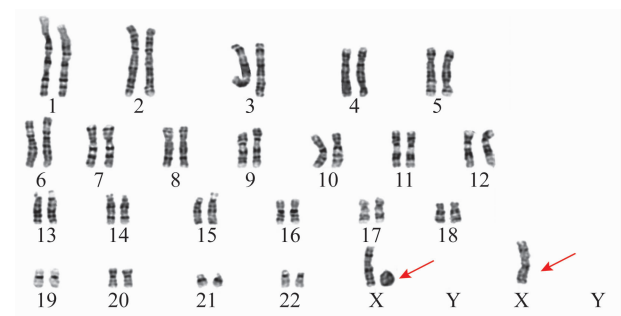


图 1 染色体核型分析结果

目前发现 TS 的核型有以下类别<sup>[7]</sup>: 40%~50% 为 X 染色体单体核型(45, X), 此类胎儿有 99% 概率在母亲孕早期或孕中期自然流产; 15%~25% 为嵌合型(mos 45, X/46, XX), 此类嵌合型胎儿病情相对较轻, 易于存活, 通常异常核型嵌合比例越高, 表型越明显; 10%~20% 为等臂 X 染色体(46, X i(Xq); 46, X, idic(Xp); mos 45, X/46, X, i(Xq)), 症状较单体核型(45, X)轻, 但听力丧失、先天性心脏病、自身免疫病、糖尿病等疾病风险增加<sup>[8]</sup>; 10%~12% 为混合型生殖腺发育不全(45, X/46, XY), 与患性腺母细胞瘤的风险增加有关; 3% 为嵌合 X 三体型(45, X/47, XXX; 45, X/46, XX/47, XXX), 此类表型温和; 1%~7% 为嵌合型环状 X 染色体(45, X/46, X, r(X))<sup>[9-10]</sup>, 环状染色体的表型主要取决于环状染色体大小、结构和嵌合比例。研究表明, 携带环状 X 染色体的嵌合体患者通常比核型 45, X 的患者症状轻, 且生育率较后者高<sup>[11]</sup>, 但

其智力障碍程度较经典型 TS 严重<sup>[12]</sup>。

而目前世界范围内,关于环状 X 染色体嵌合型 TS 产前诊断的文献报道极少,国内仅 3 篇文献报道(4 例胎儿);国外仅 4 篇文献报道(5 例胎儿)(见表 2),其中一例,孕期未见任何异常,出生后随访至 1 周岁,也未见明显异常(例 6 胎儿)。环状 X 染色体嵌合型 TS 胎儿无特征性表型,已报道的胎儿表型

为宫内生长迟缓、胼胝体发育不良、血清学筛查异常、NT 增厚(3/9)、心脏结构异常等。不同核型的 TS,其临床表型可以从典型到最轻或没有,因此 TS 核型和临床表型的关联性是影响疾病风险分层和管理的重要因素。本报告提供的环状 X 染色体嵌合型 TS 胎儿表型的文献复习,丰富了 TS 胎儿的产前遗传咨询理论。

表 2 环状 X 染色体嵌合型 TS 胎儿的表型总结

文献病例	胎儿核型结果	胎儿的其他遗传学检测结果	胎儿异常表型(或妊娠结局)	父母验证情况
例 1 <sup>[12]</sup>	mos 45,X/46,X,r(X)	无	宫内生长迟缓(孕 38 周,胎儿因窘迫而行剖腹产)	胎儿母亲为 mos 45,X/46,X,r(X),胎儿父亲核型分析正常
例 2 <sup>[13]</sup>	mos 46,X,r(X)(q10q13)[32]/45,X[18]	羊水 Prenatal-Bac on Beads 检测结果:XC1(Xp22)、XC2(Xp22)、XC3(Xp21)、XC5(Xq27)四个探针拷贝数为 1,XC4(Xq13)探针拷贝数为 2	孕 20 周血清学筛查“21 三体高风险”;超声发现脐带绕颈一周	胎儿父母双方核型分析正常
	mos 46,X,r(X)(p11.1q13.3)[35]/45,X[15]	SNP array 芯片结果: Xp22.33p11.1 和 Xq13.3q28 分别缺失 57.9Mb 和 80.2Mb	孕 30 周超声提示“胎儿胼胝体发育不良(完全型)”	胎儿父母双方核型分析正常
例 3 <sup>[14]</sup>	mos 46,X,r(X)[42]/45,X[56]/47,X,r(X),+dic r(X;X)[2]	SNP array 芯片结果: Xp21.31-p22.33 和 Xq21.2-q28 区分别缺失 28.3b 和 70.2Mb	孕中期胎儿 NT 增厚(6.30 mm)(终止妊娠)	胎儿父母双方核型分析正常
例 4 <sup>[15]</sup>	mos 45,X/46,X,r(X)	无	孕 20 周超声发现“上颌寄生胎”(孕 20 周终止妊娠)	未检测
例 5 <sup>[16]</sup>	mos 45,X[29]/46,XX[20]	45,X(60)/46,X,+r.ish r(X)(DXZ1+,XIST+)(40)	孕 10 周胎儿 NT 增厚(6.3 mm)(孕 28 周终止妊娠,尸检显示胎儿为女性,无任何外部和内脏畸形,但面部有轻微的畸形,嘴小,睑裂窄,大而畸形的耳朵)	未检测
	mos 45,X[67]/46,X,r(X)[223]	无	孕 13 周胎儿 NT 增厚(7.5 mm)(孕 22 周终止妊娠,尸检显示,颈部皮肤过厚,主动脉峡部延长,无其他畸形)	未检测
例 6 <sup>[17]</sup>	mos 45,X/46,X,r(X)/46,XX	无	孕 21、25、31 周胎儿超声检查未见异常(父母继续妊娠)	未检测
例 7 <sup>[18]</sup>	mos 45,X/46,X,r(X)(p11.1q21.31)	SNP array 芯片结果: Xp22.33q11.1 和 Xq21.31q28 区分别缺失 50.0Mb 和 58.0Mb	孕 18 周发现卵圆孔未闭、孕 22 周发现主动脉瓣狭窄(孕 24 周终止妊娠)	胎儿父母双方核型分析正常

环状染色体(Ring chromosomes, RCs)其本质是形成圆形的 DNA 分子,罕见出现在真核生物基因组中(约 1/50 000)<sup>[19]</sup>,主要出现在原核生物、病毒、真核质体和线粒体中。由于 RCs 不稳定性,通常不具有遗传性,以新发变异(de novo)为主。目前研究发现环形 DNA 形成主要有三种方式:①染色体两端断裂,断裂处重接形成环形,两个无着丝粒的末端染色体片段丢失,遗传物质的缺失引起相关疾病表型。这种形成可能与紫外辐射有关;另有研究发现遭受切尔诺贝利核灾难的人群,其环状染色体携带者数量增加<sup>[20]</sup>。②染色体两端粒直接连结

成环,这与年龄增加引起的端粒缩短有关,且可遗传<sup>[21]</sup>。因不涉及遗传物质的缺失,往往无明显临床表型,但可能会有身材矮小、生育生殖问题。③通过染色体片段插入、缺失、重复、重排等复杂变异形成环状。

文中此例胎儿的常规核型分析可见环状 X 染色体,由于分辨率低,仅能推测该环状 X 染色体断裂重接点可能发生在 p22.3 和 q23 附近。因该孕妇羊水量较少,所抽取的羊水仅供核型分析与 CNV-seq 分析,无剩余样本用于 FISH 验证。CNV-seq 技术则可以帮助确定染色体缺失 DNA 片段的位置

及大小,从分子水平探讨表型与基因型之间的相关性。CNV-seq分析可知 Xp22.31(7500000)和 Xq23(114560000)断裂,两个末端丢失;结合核型分析结果,X染色体在 Xp22.31-q23(7500000-114560000)处重接形成环状(见图2),验证核型分析结果。Xp22.33区域的关键基因 *SHOX*,其单倍剂量不足与身材矮小、骨骼发育异常密切相关<sup>[22]</sup>,Xq23-q28区域缺失包括了 *POF1* 位点(Xq26-qter),这是卵巢功能维持的重要区域,与原发闭经、卵巢早衰

(premature ovarian failure,POF)有关<sup>[23]</sup>。研究发现在环状X染色体嵌合型TS患者中,部分有不同程度的智力低下、肝脏代谢异常疾病表现<sup>[24]</sup>,发生心血管疾病和听力丧失可能性较单体型低,这可能与Xp22.31-q23区域内的 *XIST* 基因异常有关<sup>[11]</sup>。*XIST* 基因异常会引起X染色体失活机制障碍,造成剂量敏感基因异常表达。环状X染色体嵌合型TS临床表型及严重程度不一,但多个文献报道身材矮小是其共同特征<sup>[18-20]</sup>。

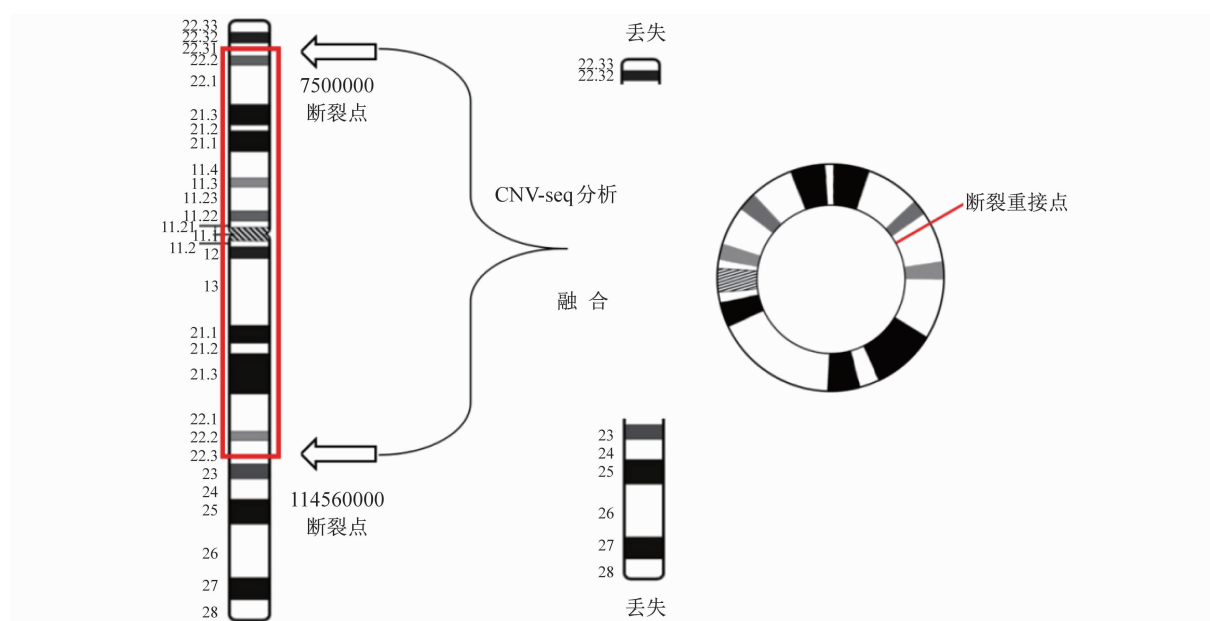


图2 环状X染色体形成示意图

综上所述,CNV-seq分析显示 Xq23-q28和 Xp22.31-p22.33缺失1个拷贝数,出生之后可能出现身材矮小、性腺功能异常等TS相关的临床表型;考虑CNV-seq提示 Xp22.31-q23区域拷贝数为1.5,嵌合比例约50%,此例胎儿诊断为环状X染色体嵌合型Turner综合征,因此相比于典型的TS,其临床表现较轻,但不能排除出现智力低下的可能。

#### 参考文献

- [1] TUKE MA, RUTH KS, WOOD AR, et al. Mosaic Turner syndrome shows reduced penetrance in an adult population study[J]. *Genet Med*, 2019, 21(4):877-886.
- [2] 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.

- [3] GRAVHOLT CH, VIUFF MH, BRUN S, et al. Turner syndrome: mechanisms and management [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019;15(10):601-614.
- [4] HONG DS, REISS AL. Cognitive and neurological aspects of sex chromosome aneuploidies[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(3):306-318.
- [5] STOCHHOLM K, JUUL S, JUEL K, et al. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(10):3897-3902.
- [6] MORTENSEN KH, ANDERSEN NH, GRAVHOLT CH. Cardiovascular phenotype in Turner syndrome-integrating cardiology, genetics, and endocrinology [J]. *Endocr Rev*, 2012;33(5):677-714.

- [7] GRAVHOLT CH, ANDERSEN NH, CONWAY GS, et al. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting [J]. *Eur J Endocrinol*, 2017, 177(3):G1-G70.
- [8] BAKALOV VK, CHENG C, ZHOU J, et al. X-chromosome gene dosage and the risk of diabetes in Turner syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(9):3289-3296.
- [9] CAMERON-PIMBLETT A, LA ROSA C, KING TFJ, et al. The Turner syndrome life course project: Karyotype-phenotype analyses across the lifespan[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2017, 87(5):532-538.
- [10] 贺静, 赵庆芬, 王瑞红, 等. 198例Turner综合征患者的核型与临床表现分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(4):580-582.
- [11] 何轶群, 郭莉, 郑来萍, 吴丽华, 伦妙栩, 任丛勉. 应用荧光原位杂交技术诊断嵌合型环状X染色体Turner综合征1例[J]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2021, 13(3):53-56.
- [12] 谢清华. 应用多种技术综合诊断胎儿嵌合型X环状染色体[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26(2):46-48.
- [13] 张海霞. 特纳综合征妇女同时伴有环状X染色体[45,X/46,X,r(X)CP~(22.3)q~(27).]出生环状X染色体婴儿[J]. *国外医学(计划生育分册)*, 1998(1):46-47.
- [14] 陈黎恒, 陶逸伦, 胡志鹏, 李晓泽, 孔祥东. 1例环状X染色体产前诊断和遗传咨询策略研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2022, 39(6):658-661.
- [15] WITTERS I, MOERMAN P, LOUWAGIE D, et al. Second trimester prenatal diagnosis of epignathus teratoma in ring X chromosome mosaicism with inactive ring X chromosome[J]. *Ann Genet*, 2001, 44(4):179-182.
- [16] SIFFROI JP, DUPUY O, JOYE N, et al. Usefulness of fluorescence in situ hybridization for the diagnosis of Turner mosaic fetuses with small ring X chromosomes[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2000;15(4):229-233.
- [17] LE BRIS MJ, LE GUERN H, PLOUHINEC C, et al. Prenatal diagnosis of a mosaic 45,X/46,X,r(X)46,XX with a small ring of the X chromosome[J]. *Genet Couns*, 2006, 17(4):429-434.
- [18] XUE H, CHEN X, LIN M, et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic identification of small supernumerary marker chromosomes: analysis of three prenatal cases using chromosome microarray analysis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 13(2):2135-2148.
- [19] PRISTYAZHNYUK IE, MENZOROV AG. Ring chromosomes: from formation to clinical potential [J]. *Protoplasma*, 2018, 255(2):439-449.
- [20] FUCIC A, AGHAJANYAN A, DRUZHININ V, et al. Follow-up studies on genome damage in children after Chernobyl nuclear power plant accident[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(9):2147-2159.
- [21] OPRESKO PL, SHAY JW. Telomere-associated aging disorders[J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 33:52-66.
- [22] RAPPOLD G, BLUM WF, SHAVRIKOVA EP, et al. Genotypes and phenotypes in children with short stature: clinical indicators of SHOX haploinsufficiency [J]. *J Med Genet*, 2007, 44(5):306-313.
- [23] BILGIN EM, KOVANCI E. Genetics of premature ovarian failure[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2015, 27(3):167-174.
- [24] Al ALWAN I, M K, AMIR, et al. Turner Syndrome Genotype and phenotype and their effect on presenting features and timing of Diagnosis [J]. *Int J Health Sci (Qassim)*, 2014, 8(2):195-202.

(收稿日期:2022-05-24)

编辑:曲晓星