

泌尿系统结构异常胎儿的染色体微阵列分析

李玲 钟燕芳* 饶腾子 赵馨

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

【摘要】 目的 分析 aCGH 在泌尿系统结构异常胎儿产前诊断的应用价值。**方法** 回顾性分析 87 例产前超声诊断为泌尿系统结构异常的胎儿的 aCGH 结果, 所有病例行介入性产前诊断且染色体核型正常。**结果** 87 例胎儿 aCGH 结果中, 致病性 CNVs 的检出率为 5.7% (5/87), VOUS 的检出率为 3.4% (3/87), 良性 CNVs 的检出率为 91% (79/87)。单独泌尿系统结构异常 aCGH 的致病性 CNVs 检出率为 2.9% (2/70); 泌尿系统结构异常合并泌尿系统外超声结果异常 CNVs 的检出率为 17.6% (3/17)。**结论** 对于产前超声提示泌尿系统结构异常的胎儿, 即使染色体核型正常, aCGH 也可能检出异常, 对于产前超声提示胎儿泌尿系统结构异常的胎儿建议行 aCGH 检查。

【关键词】 泌尿系统结构异常; 染色体微阵列; 产前诊断

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To analyze the correlation fetal anomalies of the kidney and aCGH. **Method** A retrospective study of aCGH of outcomes of 87 cases with CAKUT and normal karyotypes. **Results** In 87 cases, detection rate of pathogenic CNVs, VOUS and benign CNVs were 5.7% (5/87) 91%, 3.4% (3/87) and (79/87) respectively. Isolated CAKUT rate of pathogenic CNVs were 2.9% (2/70), CAKUT combined with other ultrasound abnormalities case rate of pathogenic CNVs were 17.6% (3/17). **Conclusions** ACGH analysis should be offered to all case with CAKUT.

【Key words】 CAKUT; aCGH; prenatal diagnosis

先天性泌尿系统结构畸形 (congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT) 发生率为 0.15%~0.4%^[1]。随着彩色多普勒超声技术的发展, 胎儿泌尿系统畸形的检出率越来越高, 约占所有胎儿畸形的 20%。导致胎儿泌尿系统畸形的病因复杂, 目前为止关于泌尿系统结构异常的遗传性病因有较多报道, 传统的染色体核型分析对于 CAKUT 的产前诊断具有很大的局限性。染色体微阵列分析 (chromosome microarray analysis, CMA) 分子核型分析技术将染色体病的检测提高到基因水平。本文回顾性分析 87 例产前超声诊断为泌尿系统结构异常的胎儿的 (array-based comparative genomic hybridization, aCGH) aCGH 结果, 所有病例

行介入性产前诊断且染色体核型正常, 探讨胎儿泌尿系统畸形的部分病因, 为临床咨询提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 回顾性分析了 2012 年 12 月至 2014 年 12 月于广东省妇幼保健院行 III 级超声检查发现胎儿泌尿系统结构畸形并行介入性产前诊断查胎儿染色体核型分析及 aCGH 检测的病例 87 例, 所有病例染色体核型分析正常。包括多囊性肾发育不良 (22 例)、融合肾 (4 例)、发育不良 (4 例)、肾积水 (8 例)、肾囊肿 (4 例)、肾缺如 (18 例)、肾上腺囊肿 (2 例), 肾盂分离不伴泌尿系统内异常但合并肾外超声异常 (9 例)、双肾盂 (1 例)、重复肾 (3 例)、输

尿管梗阻(3例)、输尿管囊肿(2例)、异位肾(1例)、异位肾合并多囊肾(3例)、异位肾合并肾缺如(1例)、双肾回声增强(2例)。

1.2 研究方法

1.2.1 超声检查 肾盂积水诊断标准:肾盂前后径(anteroposterior diameter, APD) > 6mm (< 20周), APD > 8mm (20~30周), APD > 10mm (> 30周); 侧脑室增宽:侧脑室宽度 > 10mm。

1.2.2 介入性产前诊断 87例患者全部于孕24周后行脐静脉穿刺术抽取脐血2ml。

1.2.3 实验室检查 ①染色体核型分析:常规进行细胞培养、收获、制片和G显带、全自动扫描仪扫描、拍照,按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)标准进行G显带染色体核型分析诊断,必要时加做C显带、N显带;②染色体微阵列芯片比较基因组杂交:使用agilent公司生产的8×60k的芯片进行全基因组扫描检测,结果参照DECIPHER、ISCA、OMIM、DGV、UCSC等数据库进行分析。

2 结果

2.1 aCGH阳性结果 87例胎儿泌尿系统畸形或不伴泌尿系统外超声结果异常,其中5例(5.7%)致病性拷贝数变异(copy number variations, CNVs),3例临床意义不明确的CNVs(variants of unknown significant, VOUS)。单纯的泌尿系统畸形致病性CNVs的检出率为2.9%,泌尿系统合并泌尿系统外超声结果异常致病性CNVs的检出率为17.6%,见表1。

表1 aCGH在单独泌尿系统异常和合并其他超声结果异常病例中的具体检出率

超声表现	病例数(例)	致病性CNVs 检出率(%)	VOUS检出率 (%)
单独泌尿系统结构异常	70	2.9(2/70)	3.4(3/87)
泌尿系统异常并其他超声结果异常	17	17.6(3/17)	0.0(0/17)
总共	87	5.7(5/87)	3.4(3/87)

2.2 胎儿泌尿系统异常结果 22例多囊性肾发育不良中1例合并肾外结构畸形。4例融合肾中1例合

并脉络丛囊肿和单脐动脉;4例单/双肾发育不良;8例肾积水中1例合并肠管回声增强;4例肾囊肿;18例肾缺如中2例合并单脐动脉;2例肾上腺囊肿中1例并肠管回声增强和三尖瓣反流;9例肾盂分离中3例合并肠管回声增强,2例合并心室强光斑,1例同时合并心室强光斑和肠管回声增强,1例合并侧脑室增宽,1例合并FGR,1例合并长骨短;2例输尿管囊肿均合并肾盂分离;3例输尿管梗阻中2例合并肾盂分离,1例合并肾积水;1例双肾盂;1例异位肾、3例异位肾合并多囊肾、1例异位肾合并肾缺如;2例双肾回声增强其中1例合并羊水过多;3例重复肾。

2.3 aCGH检出致病性CNVs结果 本研究中一共检出5例致病性CNVs。①病例1:孕25⁺周超声提示胎儿融合肾,aCGH结果为arr14q32.33(103755340-106329869)×1,提示胎儿染色体14q32.33区域内发生了2.5Mb的片段缺失,该片段缺失与“14q32.3缺失综合征”有关;②病例2:孕27⁺周超声提示胎儿肾盂分离,胎儿各经线小于孕周3周,aCGH结果为arrXp11.3(44260932-45598004)×0,提示胎儿染色体Xp11.3发生了1.34Mb的纯合性缺失,该缺失区域包含KDM6A、CXORF36、DUSP21、FUNDCl等基因,与Kabuki syndrome相关;③病例3:孕29⁺周超声提示肾盂分离,输尿管囊肿,永存左上腔静脉,aCGH结果为arr17p12(14052497-15382791)×1,提示17p12区域内发生了1.3Mb缺失,缺失区域包含OMIM数据库收录致病基因“PMP22基因”,该基因缺失与遗传性压力易感性周围神经病(HNPP)有关。HNPP是一种常染色体显性遗传疾病,临床上表现为肢体轻微受压即可发生反复发作的单神经或多神经麻痹,可有运动和感觉障碍,压迫性麻痹常累及尺神经、桡神经和腓总神经;④病例4:孕31⁺周,超声提示胎儿双肾回声增强,羊水过多,aCGH结果为arr17q12(31925650-33726757)×1,提示17q12发生了1.8Mb片段缺失,可导致17q12微缺失综合征,临床表现包括发育迟缓、肾脏发育异常、糖尿病等;⑤病例5:超声提示胎儿双肾回声增强,aCGH结果为arr17q12(31925650-33242217)×1,提示arr17q12发生了1.8Mb片段缺失,该片段包含HNF1B等基因,可导致17q12微缺失综合征,见表2。

表 2 aCGH 检出致病性 CNVs 结果

病例	结构异常类型	aCGH 结果	大小	结果判读
1	融合肾	arr14q32.33(103755340-106329869)×1	2.5Mb,del	该片段缺失与“14q32.3 缺失综合征”有关
2	肾盂分离,胎儿各径线小于孕周	arrXp11.3(44260932-45598004)×0	1.34Mb,del	该缺失区域包含 <i>KDM6A</i> 、 <i>CXORF36</i> 、 <i>DUSP21</i> 、 <i>FUNDC1</i> 等基因,与 Kabuki syndrome 相关
3	肾盂分离,输尿管囊肿,永存左上腔静脉	arr17p12(14052497-15382791)×1	1.3Mb,del	缺失区域包含 OMIM 数据库收录致病基因“PMP22 基因”
4	双肾回声增强,羊水过多	arr17q12(31925650-33726757)×1	1.8Mb,del	可导致 17q12 微缺失综合征
5	双肾回声增强	arr17q12(31925,650-33242217)×1	1.8Mb,del	该片段包含 <i>HNF1B</i> 等基因,可导致 17q12 微缺失综合征

2.4 aCGH 检出 VOUS 结果 本研究中一共检出 3 例 VOUS。①病例 6:孕 26⁺周,超声提示单侧多囊性肾发育不良,arrCHG 结果为 arr7q22.1(98892187-100767476)×3 重复和 arr15q11.2(18741716-20010618)×3,提示 7q22.1 区域内发生了 1.9Mb 重复,为正常多态性,15q11.2 区域内发生了 1.3Mb 的重复意义不明确;②病例 7:孕 25 周超声提示胎儿左

肾缺如,aCGH 结果为 arr15q24.2(73906991-75921991)×3,提示 15q24.2 区域内发生了 2.0Mb 重复;③病例 8:孕 30 周超声提示胎儿肾盂分离,侧脑室增宽,aCGH 结果为 arr17q25.1(71457212-71511380)×1,提示 17q25.1 区域发生了 0.05Mb 的片段缺失,OMIM 基因 *ACOX1*,编码脂酰辅酶 A 氧化酶 1,临床意义不明确。见表 3。

表 3 aCGH 检出 VOUS 结果

病例	结构异常类型	aCGH 结果	大小	结果判读
6	多囊肾	arr7q22.1(98892187-100767476)×3 arr15q11.2(18741716-20010618)×3	1.9Mb,dup 1.3Mb,dup	正常多态性 意义不明确
7	肾缺如	arr15q24.2(73906991-75921991)×3	2.0Mb,dup	意义不明
8	肾盂分离,侧脑室增宽	arr17q25.1(71457212-71511380)×1	0.05Mb,del	OMIM 基 <i>ACOX1</i> ,编码脂酰辅酶 A 氧化酶 1

3 讨论

本研究中泌尿系统结构异常的 aCGH 致病性 CNVs 的检出率为 5.7%,相关文献报道泌尿系统结构异常的致病性 CNVs 检出率为 4%~10%^[2],本研究与其他文献报道一致。单纯的泌尿系统结构异常 aCGH 的致病性 CNVs 的检出率为 2.9%,低于文献报道的 6.1%。

22 例多囊性肾发育不良(multicystic dysplastic kidney,MCDK),其中 1 例合并肾外结构畸形。22 例病例中 aCGH 均未检出有致病性 CNVs。有研究报道在 MCDK 的致病性 CNVs 的检出率为 13.5%^[3]。在 CAKUT 亚型中,MCDK 检出 CNVs 概率最高(30%)^[4],其中 *HNF1B*、*PAX2* 和 *UPK3A* 与 MCDK 的发生关系较大。可能本研究的样本量的有限,需进一步扩大样本量通过 aCGH 检测,分析 MCDK 与

CNVs 之间的关系,发现 MCDK 遗传性病因。

本研究中共有 18 例染色体核型正常的肾缺如病例,aCGH 未检出致病性 CNVs。单纯的肾缺如检出基因异常的报道极少见,一般合并其他眼、神经系统、肢体等异常时染色体和 aCHG 结果异常的报道较常见^[5]。本研究中 18 例肾缺如其中 16 例为单纯的肾脏畸形,无肾外表现,另外 2 例合并单脐动脉。可能也是本研究 18 例肾缺如无 aCGH 异常结果的原因。

9 例肾盂分离中均合并其他肾外异常,其中检出 1 例合并 FGR 检出致病性 CNVs,结果为 arrXp11.3(44260932-45598004)×0,提示胎儿染色体 Xp11.3 发生了 1.34Mb 的纯合性缺失,该缺失区域包含 *KDM6A*、*CXORF36*、*DUSP21*、*FUNDC1* 等基因,与 Kabuki syndrome 相关,临床表现包括智力低下、特殊面容等。此例 aCGH 结果异常与胎儿生长受限关系可能性较大,与胎儿肾盂分离的关系性较

小。另1例合并输尿管囊肿,永存左上腔静脉,aCGH结果为 arr 17p12(14052497-15382791)×1,1.3Mb 片段缺失,缺失区域包含 OMIM 数据库收录致病基因“PMP22 基因”。PMP22 基因缺失是遗传性压力易感性神经病常见的致病基因。目前暂无相关报道该基因与肾脏发育异常相关。

样本中共有4例融合肾,其中1例合并脉丛丛囊肿和单脐动脉。4例病例中,aCGH 检测出1例致病性 CNVs。该致病性 CNVs 与“14q32.3 缺失综合征”有关。14q32.3 缺失综合征报道过的症状有低出生体重、宽鼻梁、上颌发育异常、小头畸形、小下颌畸形等,鲜有报道肾发育异常。该病例超声提示肾融合,未提示肾外其他异常表型,aCGH 检出 14q32.3 区域 2.5Mb 缺失,可能肾融合与 14q32.3 缺失综合征相关。其间的相关性需要更多的病例证实。

本研究中有1例单纯双肾回声增强病例,aCGH 检测到 arr17q12(31925650-33242217)×1,1例双肾回声增强合并羊水过多病例,aCGH 同样检测到 arr 17q12(31925650-33242217)×1,均为 1.8Mb 片段缺失,该片段包含 HNF1B 等基因。此2例病例1例顺产后1个月随访婴儿左耳听力异常,余发育良好,因婴儿尚小,可能肾功能异常尚未表现,之后该病例失访。另1例病例引产。大量的样本研究表明 HNF1B 的突变是先天性肾脏和尿道畸形的遗传性原因,能解释 15% 的先天性肾脏和泌尿系统畸形的发生^[6]。在产前超声诊断出肾脏异常的患者 89% 发生了 17q12 片的缺失^[7],数据表明 17q12 片段的缺失会导致肾脏异常的表现较早出现,因此超声提示双肾实质回声增强,行产前诊断 aCGH 检测的必要性显而易见。

3例 aCGH 检出的 VOUS 病例中,1例超声提示肾缺如 aCGH 结果为 arr15q24.2q24.3(73906991-75921991)×3,2.0Mb 重复,意义不明确,双方 aCGH 结果正常,胎儿出生后随访双肾正常,精神智力发育正常。病例6超声提示 MCDK,病例8超声提示肾盂增宽和侧脑室增宽,aCGH 有阳性发现,但是并未发现有意义的基因。

综上所述,回顾性分析 87 例因超声提示胎儿泌

尿系统异常且染色体核型正常的胎儿的 aCGH 结果,aCGH 可额外检出 5.7% 致病性 CNVs。本研究中 5 例致病性 CNVs 有 2 例发生在 17q12 片段的缺失,说明 17q12 上的基因对肾脏系统的发育起着重要的调控作用。据其他文献报道 PAX2、KAL、EYA1 等基因突变也是导致泌尿系统结构发育异常的常见基因^[8]。传统的染色体核型分析不能检出基因缺失,所以对于超声提示泌尿系统结构异常的胎儿行 aCGH 检查具有产前诊断意义,可以协助临床评估胎儿预后。因此 CMA 技术在对先天性泌尿系统异常的胎儿的产前诊断具有重要的价值。

参 考 文 献

- [1] Stoll C, Clementi M, Euroscan study group. Prenatal diagnosis of dysmorphic syndromes by routine fetal ultrasound examination across Europe[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2003, 21(6): 543-551.
- [2] Weber S, Landwehr C, Renkert M, et al. Mapping candidate regions and genes for congenital anomalies of the kidneys and urinary tract by array-based comparative genomic hybridization[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(1): 136-143.
- [3] 奚琦. 染色体微阵列分析在胎儿多囊性肾发育不良的产前遗传学诊断中的应用研究[D]. 南京: 南京大学, 2016.
- [4] Verbitsky M, Sanna-Cherchi S, Fasel DA, et al. Genomic imbalances in pediatric patients with chronic kidney disease[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(5): 2171-2178.
- [5] Sanna-Cherchi S, Caridi G, Weng PL, et al. Genetic approaches to human renal agenesis/hypoplasia and dysplasia[J]. *Pediatr Nephrol*, 2007, 22(10): 1675-684.
- [6] Miyazaki Y, Ichikawa I. Ontogeny of congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT[J]. *Pediatr Int*, 2003, 45(5): 598-604.
- [7] Fujita H, Hida M, Kanemoto K, et al. Cyclic stretch induces proliferation and TGF-β-1 mediated apoptosis via 38 and ERK in ureteric bud cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(3): 648-655.
- [8] Nakanishi K, Yoshikawa N. Genetic disorders of human congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) [J]. *Pediatr Int*, 2003, 45(5): 610-616.

(收稿日期: 2016-10-20)

编辑: 熊诗诣