

1例罕见 Emanuel 综合征胎儿的遗传学分析及追溯

李燕青¹ 傅婉玉¹ 刘夏莹¹ 谢俊杰² 王元白¹ 江裔颖^{1*}

(1. 泉州市妇幼保健院 儿童医院产前诊断中心,福建 泉州 362000;2. 福建医科大学附属泉州第一医院 骨科,福建 泉州 362000)

【摘要】目的 对1例膈疝伴室间隔缺损引产胎儿的病因进行探讨及追溯。**方法** 通过产前超声检查、染色体核型G显带技术及单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism array, SNP array)检测对胎儿及其家系成员进行研究。**结果** 孕妇2次不良孕史产前超声检查均表现为胎儿膈疝、室间隔缺损,2次羊水染色体核型均为47, XN, + der(22?),本次羊水SNP-Array显示胎儿染色体11q23.3q25和22q11.1q11.21及7p12.1区段存在片段重复,孕妇外周血染色体核型为46, XX, t(11;22)(q23;q11),结合超声检查报告及遗传学检测结果,本次引产胎儿确诊为Emanuel综合征。**结论** 胎儿染色体异常是来自其母亲染色体平衡易位引起的不平衡重排导致的Emanuel综合征。

【关键词】 膈疝; Emanuel综合征; 染色体核型分析; 单核苷酸多态性微阵列芯片

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

A case of fetus induced by Emanuel syndrome genetic counseling and tracing

LI Yanqing¹, FU Wanyu¹, LIU Xiaoying¹, XIE Junjie², WANG Yuanbai¹, JIANG Yuying^{1*}

1. Prenatal diagnosis centre, Quanzhou Women's and Children's Hospital, Quanzhou 362000, Fujian Province, China; 2. Department of orthopedics, Quanzhou First Hospital Affiliated Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Fujian, China (XIE Jun-jie)

* Corresponding author: Jiang Yuying, E-mail: 1287194067@qq.com

【Abstract】 Objective A case of diaphragmatic hernia with ventricular septal defect was induced to give birth. **Methods** The fetus and its family members were studied by prenatal ultrasound examination, g-banding technique of chromosome karyotype and detection of single nucleotide polymorphic microarray (SNP-array). **Results** Prenatal ultrasound examination of pregnant women with two adverse pregnancy history showed diaphragmatic hernia and ventricular septal defect of the fetus, and chromosome karyotypes of amniotic fluid were 47, XN, + der(22?). In this study, the amniotic fluid snp-array showed the duplication of fragments in fetal chromosome 11q23.3q25 and 22q11.1q11.21 and 7p12.1, and the chromosome karyotype in peripheral blood of pregnant women was 46, XX, t(11;22)(q23;q11). Combining with the ultrasonic examination report and genetic test results, the fetus induced labor was diagnosed as Emanuel syndrome. **Conclusion** Fetal chromosomal abnormalities are caused by Emanuel syndrome caused by unbalanced rearrangement caused by balanced translocation of maternal chromosomes **【Key words】** Diaphragmatic hernia; Emanuel syndrome; Analysis of chromosome karyotype; Single nucleotide polymorphic microarray chips

染色体显带技术是将染色体标本经过一定程序处理,并用特定染料染色,使各号染色体显现其独特的条纹,但一些人细胞核内另有多余的不能通过常规显带方法明确结构畸变的染色体片段,被称为额外小标记染色体(small supernumerary marker chromosome, sSMC)。sSMC因其片段太小,并缺少明显的显带模式,无法通过传统的细胞遗传学显带技术进行识别,需要采用芯片比较基因组杂交或荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH)等多种分子生物学诊断方法才能确诊^[1-3]。由sSMC导致的染色体异常综合征较多,常见为Pallister-Killian综合征、等臂18p染色体综合征、猫眼综合征、Emanuel综合征^[4-5]。我们对1例超声提示颈项透明层厚度(nuchal translucency, NT)增厚、膈疝、室间隔缺损、脉络丛囊肿的引产胎儿进行了详细的遗传学分析,并对病因进行了追溯,通过明确其携带的衍生染色体的性质和来源,确诊其为Emanuel综合征。

1 材料与方法

1.1 研究对象 患者女,34岁,孕3产1,育有一健康男孩;夫妻均健康,非近亲结婚。否认有毒有害物质接触史,否认孕前及孕期服药史,夫妻双方家族史无特殊。2018年5月孕22周因胎儿膈疝、室间隔缺损引产一女无生机儿,引产儿外观未见明显异常,引产羊水染色体核型为47, XN, +der(22?), 拒绝行夫妻双方外周血染色体核型检查。2019年9月孕19⁺1周外院超声检查胎儿NT增厚,及曾有不良孕史到泉州市妇幼保健院要求行羊膜腔穿刺术,术前超声检查显示胎儿膈疝、室间隔缺损、脉络丛囊肿,通过遗传咨询后孕妇选择终止妊娠。经孕妇及家属知情同意后,在羊膜腔注入依沙吖啶之前抽取30 ml羊水行染色体核型及SNP检查,同时抽取胎儿父母双方外周血各3 ml,分别进行染色体核型检查。

1.2 细胞培养及染色体核型分析 采集孕妇羊水进行羊水细胞培养,培养7~10d后用胰酶消化法进行细胞收获,通过自动染色体收获系统Sinochrome Chromprep II(上海乐晨生物科技有限公司)进行

染色体制备,经吉姆萨染液染色后,进行核型分析。采集夫妻双方外周血样于无菌条件下接种入Chromed P细胞培养基中,分两瓶培养68~72h后收获后分别制片。羊水细胞共计数可分析核型30个,分析5个核型。外周血每例计数20个核型,分析5个核型。染色体的命名依据人类细胞遗传学国际命名体制(2016)的标准。

1.3 单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism array, SNP array)技术检测 签署知情同意书后将采集10ml羊水样本送至第三方检测公司(北京贝康医学检验所)进行检测,通过离心收集沉淀,采用DNA提取试剂盒提取羊水细胞基因组DNA,经稀释消化、扩增、纯化后,形成25碱基左右的片段。将芯片上的探针与用生物素进行标记后的相应碱基片段进行杂交、洗涤、结合染色后放入Affymetrix公司GeneChip@3000Scanner with7G upgrade扫描仪扫描,采用Chromosome Analysis Suite(ChAS)v4.0软件对扫描检测荧光信号进行分析。通过查询DGV、OMIM、NCBI、DECIPHER以及UCSC数据库明确拷贝数变异(copy number variants, CNVs)的临床意义

2 结果

羊水染色体核型检查显示胎儿染色体核型为47, XN, +der(22?), 见图3C,其父亲外周血染色体核型为46, XY;母亲外周血染色体核型为46, XX, t(11;22)(q23;q11), 见图3A,提示母亲11号与22号染色体相互易位,本次引产胎儿羊水染色体核型为47, XN, +der(22?), 追溯前一次引产胎儿染色体核型47, XN, +der(22?), 见图3B,两次引产胎儿羊水染色体核型一致。

SNP-Array芯片检测结果显示男性胎儿,在下列染色体存在拷贝数的异常变化:①22号染色体22q11.1q11.21区段(16 888 899~20 716 903)存在3.8 Mb片段的重复,见图1C,内含43个OMIM基因,涉及Emanuel综合征相关区域;②11号染色体11q23.3q25区段(116 684 163~134 938 470)存在18.2 Mb片段的重复,见图1B,内含128个OMIM基因,涉及Jacobsen综合征疾病区域;③7号染色体

7p12.1 区段(51 690 431~53 295 058)存在 1.6 Mb 片段的重复,见图 1A,查询数据库发现该片段内未包含 OMIM 基因。

根据胎儿彩超报告及遗传学检测结果,结合孕妇外周血染色体核型,本次引产胎儿羊水染色体核

型为 47,XN,+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2),被确诊为 Emanuel 综合征伴 7 号染色体微重复。经过沟通,孕妇及家属拒绝进行引产羊水 FISH 检查及夫妻双方染色体单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)检查验证。

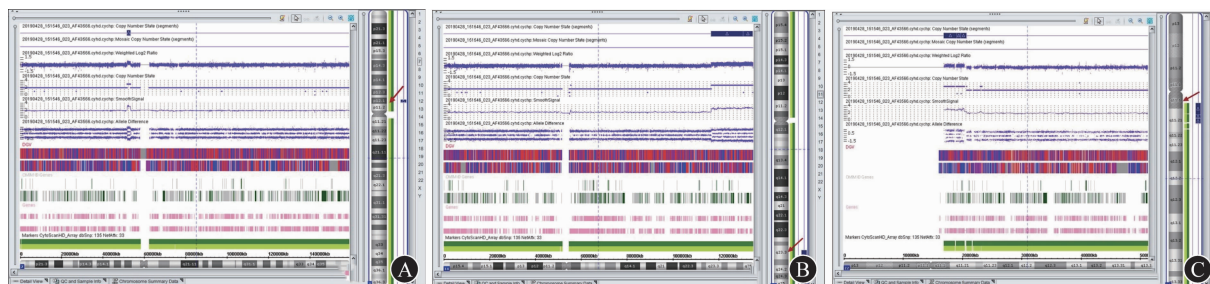


图 1 本次引产羊水 HD SNP-Array 图

A. 7 号染色体存在微重复;B. 11 号染色体存在片段重复;C. 22 号染色体存在片段重复

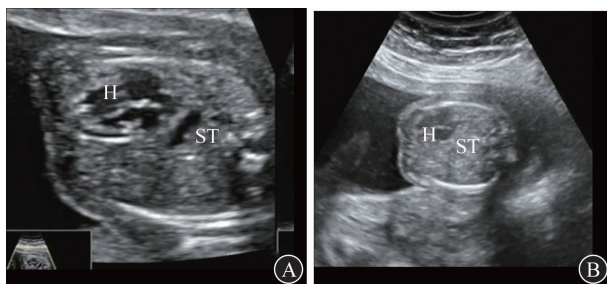


图 2 两次引产胎儿超声检查图(H:心脏;ST:胃泡)

A. 前一次引产胎儿超声报告,胃泡位于胸腔、室间隔缺损;B. 本次引产胎儿超声报告,胃泡位于胸腔

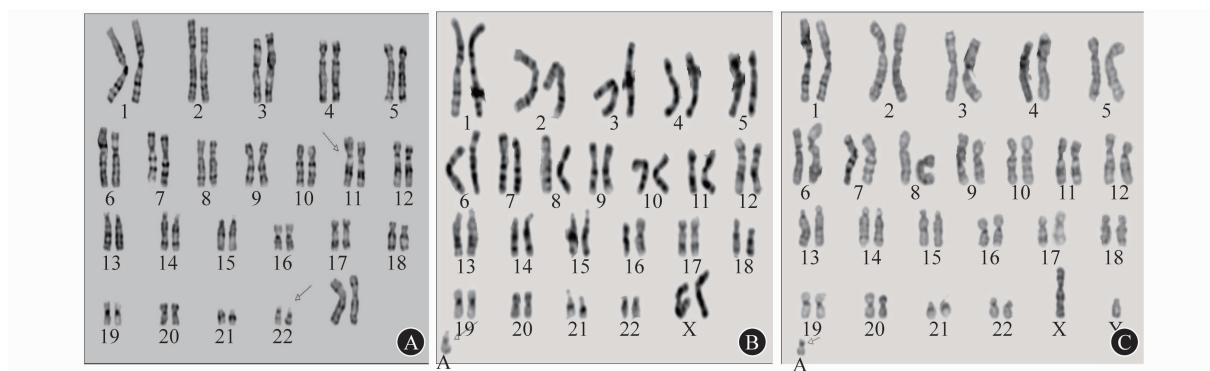


图 3 染色体核型图,箭头所示为异常染色体

A. 孕妇外周血染色体核型 46,XX,t(11;22)(q23;q11);B. 前一次引产胎儿染色体核型 47,XN,+der(22)?;

C. 本次引产胎儿染色体核型 47,XN,+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)

3 讨论

t(11;22)是最常见的非同源染色体间的平衡易位,携带者一般无表型,但其产生的配子在减数分裂

中可形成四射体,后者在减数分裂 I 期通过 2:2 和 3:1 分离可产生至少 18 种不同配子,其中 1/18 为正常,1/18 为携带者,其余均为部分三体、部分单体或单体、单体并三体,从而产生相关的表型效应,主要

表现为反复流产、胚胎停育、畸胎或生育 Emanuel 综合征等^[6]。Shaikh 等^[7]使用 11 号染色体和 22 号染色体上的短串联重复序列多态性标记对 16 个 t(11;22) 家族进行了分析表明, t(11;22) 平衡易位携带者父母中 3:1 减数分裂 I 的异常分离是导致超数 der(22) 综合征的主要机制。

2004 年, 超数的 der(22)t(11;22) 综合征被正式命名为 Emanuel 综合征(OMIM 609029)。超过 99% 的 Emanuel 综合征患者的亲代之一携带 t(11;22)(q23;q11) 平衡易位, 且母亲为平衡易位携带者时生育 Emanuel 综合征患儿的概率更高, 母亲易位携带者影响后代的风险为 4%~10%, 父亲易位携带者影响后代的风险为 0~7%^[8]。这种差异与精母细胞、卵母细胞在减数分裂时的形式不同有关, 男性平衡易位携带者正常精子优先受精, 异常精子被排斥, 而女性平衡易位携带者卵子无择优机会^[9-10]。

Emanuel 综合征的特征是多种先天性异常和发育障碍^[8], 典型的临床症状包括耳畸形、腭裂、小颌畸形、先天性心脏病(包括室间隔缺损、房间隔缺损、动脉导管未闭等)、皮埃尔罗宾序列征、孤立肾、肾功能不全、智力低下、发育迟缓及 Dandy-Walker 畸形、脑积水、癫痫等^[8,11]。胎儿异常表型主要由 22q11.1q11.21 和 11q23.3q25 的重复引起, 该区域涉及包含 171 个 OMIM 基因, 涉及 Jacobsen 综合征、Emanuel 综合征、22q11.2 微重复综合征和 22q11 重复综合征等疾病区域。

本研究中胎儿携带 22q11.1q11.21 区段 3.28 Mb 的重复片段, 包含 ZNF74、SCARF2 以及 DGCR6L 3 个涉及心血管发育的基因^[12], 这可能是导致胎儿室间隔缺损的重要原因。室间隔缺损是最常见的先天性心脏病之一, 研究发现胎儿室间隔缺损合并染色体异常的发生率为 36.5%^[13], 合并心外畸形时染色体异常概率显著升高^[12,14]。赵颖等^[14]认为先天性心脏病伴有染色体异常经常属于某些综合征, 因此强烈建议对心脏畸形合并心外异常的胎儿进行染色体核型分析和基因芯片检测。

Klaassens 等^[15]认为“部分三体性 11q 综合征”具有高度可变的表型, 11q23.3-qter 上约 19 Mb 区域内基因的重复可能会促进先天性膈疝(congenital

diaphragmatic hernia, CDH) 的发展, CDH 应该添加到该综合征可能出现的异常范围内。CDH 指腹腔内容物横膈上的裂孔或缺损进入胸腔。膈疝在活产儿中的发生率为 1/2200, 60% 为孤立性膈疝, 40% 为复杂性膈疝或综合征类疾病, 约 40% 的病例可合并其他部位的畸形, 染色体异常发生率 5%~15%, 尤其是 18-三体综合征, CDH 还与多种遗传综合征有关, 如 Fryns 综合征、Berkenstsd 综合征、Bieber 综合征等^[16]。本研究中孕妇前次妊娠因胎儿膈疝及室间隔缺损引产一女无生机儿, 引产羊水染色体核型为 47, XN, + der(22?), 因受传统染色体核型技术的影响, 无法明确其来源, 结合超声表示推测其为 Emanuel 综合征可能。本次引产羊水染色体核型及 SNP 检测结果结合超声检查报告和孕妇 46, XX, t(11;22)(q23;q11), 胎儿被确诊为 Emanuel 综合征, 两次不良孕史均提示胎儿膈疝, 研究提示 11q 远端基因的上调可能在 CDH 的发生中发挥作用^[17], 因此本研究推测胎儿膈肌发育异常导致 11q 三体, 与 Klaassens 的研究相符合。

经查询数据库发现 7 号染色体 7p12.1 区段存在 1.6 Mb 片段的重复未包含 OMIM 基因, 相关文献未见该片段重复的致病报道, 因未能取得家属同意, 未能针对该重复片段来源进行验证, 本研究认为该片段重复目前临床意义不明确。

综上, 本研究通过对 1 例超声异常胎儿进行遗传学分析并追溯其父母染色体检查, 确诊了该病例由母源性染色体平衡易位引起不平衡重排导致的 Emanuel 综合征, 通过分析认为当胎儿染色体核型异常时应对父母双方的染色体进行检测。编外标记染色体无法明确其来源时应使用分子遗传学检测。

参 考 文 献

- [1] LEE JH, CHO HS, LEE ES, et al. A case of partial trisomy 2p23-pter syndrome with trisomy 18p due to a de novo supernumerary marker chromosome[J]. Korean J Lab Med, 2010, 30(3):312-317.
- [2] AMIEL A, FEJGIN M, APPELMAN Z, et al. Fluorescent in-situ hybridization (FISH) as an aid to marker chromosome identification in prenatal diagnosis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1995, 59(1):103-107.

- [3] 刘玉鹏, 秦炯. 编外标记染色体与18p染色体异常[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 31(8): 561-564.
- [4] LIEHR T, EWERS E, KOSYAKOVA N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2009, 9(4):317-324.
- [5] BLENNOW E, NIELSEN KB, TELENUS H, et al. Fifty probands with extra structurally abnormal chromosomes characterized by fluorescence in situ hybridization[J]. *Am J Med Genet*, 1995, 55(1): 85-94.
- [6] 左伾. 医学遗传学[M]. 第6版. 北京:人民卫生出版社, 2019.
- [7] SHAIKH TH, BUDARF ML, CELLE L, et al. Clustered 11q23 and 22q11 breakpoints and 3:1 meiotic malsegregation in multiple unrelated t(11;22) families[J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 65(6):1595-1607.
- [8] CARTER MT, PIERRE SAS, ZACKAI EH, et al. Phenotypic delineation of emanuel syndrome (supernumerary derivative 22 syndrome): clinical features of 63 individuals[J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A(8):1712-1721.
- [9] 余慕雪, 李晓瑜, 陈东平, 等. 染色体平衡易位 t(11;22)携带者一例三次妊娠分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13(4):49-50.
- [10] 傅文婷, 赵文忠, 江惠华, 等. 11例 t(11;22)(q23;q11)染色体平衡易位患者的临床与遗传学分析[J]. 重庆医学, 2018, 47(20):2700-2702,2705.
- [11] ATLI Eİ, GÜRKAN H, VATANSEVER Ü, et al. A case with Emanuel syndrome; extra derivative 22 chromosome inherited from the mother[J]. *Balkan J Med Genet*, 2016, 18(2):77-82.
- [12] 李付广, 唐江, 谢小雷, 等. 产前诊断 11q23.3q25 和 22q11.1q11.21 三体胎儿一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(6):632-635.
- [13] 杜柳, 谢红宁, 李丽娟, 等. 胎儿室间隔缺损与染色体异常的相关性研究[J]. 中华妇产科杂志, 2013, 48:809.
- [14] 赵颖, 雷彩霞, 李笑天, 等. 176例胎儿心脏超声异常表现与染色体异常的关系[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(6):54-57.
- [15] KLAASSENS M, SCOTT DA, DOOREN MV, et al. Congenital diaphragmatic hernia associated with duplication of 11q23-qter[J]. *Am J Med Genet*, 2006, 140A(14):1580-1586.
- [16] 李笑天, 张斌, 严英榴, 等. 胎儿疾病多学科会诊指导手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2018.
- [17] PARK JP, MCDERMET MK, DOODY AM, et al. Familial t(11;13)(q21;q14) and the duplication 11q, 13q phenotype[J]. *Am J Med Genet*, 1993, 45(1):46-48.

(收稿日期:2020-08-26)

编辑:宋文颖

(上接第29页)

- [7] 张野. 外周血染色体核型在染色体病诊断中的应用价值[J]. 中国医药指南, 2019, 12(17):89-90.
- [8] KEIFY F, ZHIYAN N, MIRZAEI F, et al. Two novel familial balanced translocations t(8;11)(p23;q21) and t(6;16)(q26;p12) implicated in recurrent spontaneous abortion[J]. *Arch Iran Med*, 2012, 15(4):249-252.
- [9] 魏莉, 倪璟, 朱红芬. 染色体罗伯逊易位与女性不良孕产关系探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(12):79-80.
- [10] TURKI RF, ASSIDI M, BANNI HA, et al. Associations of recurrent miscarriages with chromosomal abnormalities, thrombophilia allelic polymorphisms and/or consanguinity in Saudi Arabia[J]. *BMC Medical Genetics*, 2016, 17(1): 69.
- [11] 代鹏, 赵干业, 侯雅勤, 等. 河南地区 1126 对不良孕产史患者的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(12): 55-56.
- [12] YU MC, LEE CW, LEE YS, et al. Prediction of early-stage hepatocellular carcinoma using OncoScan chromosomal copy number aberration data[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(44):7818-7829.
- [13] HOLZER M, HANANEL EG. Recurrent implantation failure: gamete and embryo factors[J]. 2012, 97(5): 1021-1027.
- [14] CHENG R, MA Y, NIE Y, et al. Chromosomal polymorphisms are associated with female infertility and adverse reproductive outcome after infertility treatment: a 7-year retrospective study[J]. *Report Biomed Online*, 2017, 35(1):72-80.
- [15] 林慧, 段金良. 9号染色体臂间倒位的研究概述[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(3): 127-129.
- [16] 王贺, 肖晓素, 纪玲, 等. 9号染色体臂间倒位与不孕不育相关性的探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(3): 47-48.
- [17] 梁济慈, 王兴, 郭媛媛, 等. 9号染色体臂间倒位与生育异常的相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(12): 55-56.
- [18] 代海兵, 宋洁, 刘侠, 等. 6例9号染色体倒位的遗传学分析[J]. 实验室科学, 2019, 2(22): 33-34+37.

(收稿日期:2020-06-30)

编辑:宋文颖