

产前母源性 UPD(16)的临床病例随访及遗传学分析

曾果 林彭思远 卜秀芬 周世豪 曾黎*

(湖南师范大学附属长沙市妇幼保健院 区域遗传性出生缺陷防控研究湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410007)

【摘要】 目的 对1例产前超声诊断为宫内生长受限的胎儿进行遗传学分析及出生后随访。**方法** 孕24⁺周孕妇因孕中期血清学筛查21三体高风险、扩展性无创产前检测提示16号染色体数目偏多和胎儿生长受限行介入性产前诊断,取胎儿羊水细胞行染色体核型分析、染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)和全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)分析。抽取父母静脉血,提取基因组DNA,分析确定胎儿变异的遗传来源。**结果** 320条带G显带核型分析未见异常,全外显子组测序结果未检出与受检者临床表型相关的致病/疑似致病变异/遗传模式相符的临床意义未明变异。CMA未检出有临床意义的拷贝数变异,但提示:arr[hg19] 16p13.3p12.2(94,808-23,024,688)x2hmz,即胎儿16号染色体16p13.3p12.2区域存在22.93Mb的纯合区域。经过对父母和胎儿的SNP位点进行比对分析,确定这1例胎儿为整条16号染色体的混合型母源性单亲二体。充分告知遗传学风险后,父母决定继续妊娠。新生儿出生时体重极低,但出生后生长追赶,精神运动发育良好,目前已随访至2岁6月。**结论** 本病例存在的母源性16号染色体单亲二体和胎儿生长受限表型可能没有直接关联,本研究中胎儿FGR的致病原因可能是由胎盘16号染色体三体造成,这为今后产前母源性UPD(16)的遗传咨询提供了参考。

【关键词】 产前诊断;单亲二体;胎儿生长受限;无创产前检测

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Clinical and genetic analysis of a case of prenatal maternal UPD (16)

Zeng Guo, Lin Pengsiyuan, Bu Xiufen, Zhou Shihao, Zeng Li*

Hunan Provincial Key Laboratory of Regional Hereditary Birth Defects Prevention and Control, Changsha Hospital for Maternal and Child Health Care Affiliated to Hunan Normal University, Changsha 410007, Hunan, China.

* Corresponding author: Zeng Li, E-mail: 1246185691@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the genetics of a fetus with fetal growth restriction (FGR) diagnosed by prenatal ultrasonography and followed up after birth. **Methods** A healthy woman underwent amniocentesis at 24 weeks of gestation because of a high risk of Down syndrome, high risk of expanded non-invasive prenatal testing for trisomy 16 and FGR. Amniocentesis followed by karyotype, chromosomal microarray analysis (CMA) and whole exome sequencing (WES) were performed. **Results** The fetus had a normal karyotype, no apparent copy number variation and genovariation. 22.93Mb of homozygous copy-neutral regions on chromosome 16p13.3p12.2 were identified, which showed that the fetus carried the

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2024.01.004

基金项目:湖南省胎儿先天性心脏病遗传研究临床医疗技术示范基地基金资助项目(2021SK4036)

* 通信作者:曾黎, E-mail: 1246185691@qq.com

whole maternal UPD(16) with segmental hetero- and isodisomy. The parents decided to continue with the pregnancy after genetic counseling, and the neonate was born with very low birth weight and catch-up growth after birth during a long-term intensive follow-up. **Conclusion** In this case, there may be no direct correlation between maternal UPD(16) and FGR. FGR phenotype of the proband may result from the trisomy 16 in placenta. Our study present a reference for the prenatal diagnosis and genetic counseling of UPD(16) in the future.

【Key words】 Prenatal diagnosis; Uniparental disomy; Fetal growth restriction; Non-invasive prenatal testing

胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR), 是指受母体、胎儿、胎盘等病理因素影响, 胎儿生长未达到应有的遗传潜能, 多表现为胎儿超声估测体重或腹围低于相应胎龄第10百分位^[1]。FGR病因复杂, 与多种因素相关, 通常可归为母体、胎儿、胎盘脐带三个因素。胎儿因素主要包括遗传学异常和结构畸形, 其中遗传因素占FGR病因的5%~20%^[1]。遗传因素包括染色体数目或结构异常引起的染色体病或基因组病、基因变异引起的单基因病、单亲二体等引起的表观遗传学异常等。单亲二体(uniparental disomy, UPD)是指个体的一对同源染色体整条或某个区域均来自于一个亲本, 而不是分别来自父母双方^[2]。如果个体携带的两份拷贝均来自母亲, 称为母源性单亲二体, 反之则称为父源性单亲二体。UPD主要分为单亲同二体(isodisomy, isoUPD, 来自同一亲本的同一条染色体)和单亲异二体(heterodisomy, hetUPD, 来自同一亲本的两条同源染色体)及混合型单亲二体(mixUPD, 一个单亲二体同时包含单亲同二体和单亲异二体)。UPD的发生是非随机的, 与染色体的大小无关。Nakka等^[3]对440多万份样本研究后发现, UPD在活产儿中的发生率可达1/2000, 最常发生在1号、4号、16号、21号、22号和X染色体。UPD的发生与母亲年龄高度相关, 母源性UPD为父源性UPD的三倍^[4]。UPD可因印记障碍或isoUPD的隐性致病基因暴露而导致异常表型。目前6、7、11、14、15、20号染色体上有已知明确的印记区域^[5]。通常, 父源性UPD能够促进胎儿的生长发育, 而母源性UPD抑制生长发育。

目前, 母源性UPD(16)本身和FGR的关联目

前还无法得到明确的结论。大部分产前检出的母源性UPD(16)合并了16三体嵌合, 多在孕期终止妊娠, 继续妊娠的很少。本研究中, 我们报告了一例产前的母源性UPD(16)病例, 胎儿孕晚期出现重度FGR, 经遗传咨询后, 孕妇选择继续妊娠, 新生儿出生后生长追赶, 精神运动发育良好。我们的研究可为明确UPD(16)和FGR的关联提供新的证据。

1 对象与方法

1.1 对象 孕妇, 38岁, 孕4产0, 人流3次, 本次为宫内妊娠, 单胎, 孕早期无流血保胎史。孕中期血清学筛查查21三体高风险(风险值为1:160), 开放式神经管畸形筛查高风险, 扩展性无创产前检测(expanded non-invasive prenatal testing, NIPT-plus)提示16号染色体数目偏多。停经12⁺周, B超示胎儿双顶径16mm, 头臀长约58mm, 胎儿大小与孕周相符。怀孕23⁺5周, B超示胎儿各测值约21⁺周, 双顶径约53mm, 头围约200mm, 腹围约173mm, 股骨长约36mm, 肱骨长约33mm, 胎儿估测体重(estimated fetal weight, EFW)约461g(低于第10百分位)。孕妇因高龄妊娠、孕中期血清学筛查21三体高风险、NIPT-plus异常、FGR而进行遗传门诊咨询。孕妇签署知情同意书, 要求行羊水产前诊断。夫妻为非近亲结婚, 体格、智力均发育正常, 家族中无类似病例。孕妇妊娠期糖尿病, 否认孕早期毒物、放射性物质接触史。本研究获得长沙市妇幼保健院伦理委员会批准(2021046)。

1.2 方法

1.2.1 染色体核型分析 无菌条件下取孕妇羊水40 ml, 其中20 ml羊水分两线进行细胞培养。待羊

水细胞贴壁后,加秋水仙素,使染色体分裂像阻滞在有丝分裂中期,然后进行染色体核型制备和320条带G显带核型分析。

1.2.2 染色体微阵列分析及全外显子组测序分析

取10 ml羊水进行SNP array检测。采用TIANamp Micro DNA Kit试剂盒提取羊水基因组DNA后,检测DNA纯度及浓度。使用Affymetrix CytoScan 750K芯片对DNA标本进行全基因组变异检测,用ChAs 4.2进行数据分析。CNVs致病性分为五级,参照2019年美国ACMG和ClinGen联合发布的指南对拷贝数变异(Copy number variants, CNVs)进行判定。报告缺失 $>500\text{kb}$,重复大于 $>1\text{Mb}$ 的CNVs,报告 $>10\text{Mb}$ 的纯合区域(regions of homozygosity, ROH)。对检出的CNV和ROH行父母外周血验证性检测,采用UPDtool软件进行SNP位点的孟德尔遗传错误率分析。

取10 ml羊水,采用Novaseq6000平台(Illumina, San Diego, United States)进行全外显子组测序,利用贝瑞基因自主研发的Verita Trekker[®]变异位点检测系统和Enliven[®]变异位点注释解读系统对数据进行分析(委托北京贝瑞生物有限公司进行检测)。

1.2.3 FGR诊断标准 采用共识中推荐的美国国家儿童健康与人类发展研究所(National Institute of Child Health and Human Development,

NICHD)胎儿生长曲线(亚裔)进行FGR的判定^[1],胎儿预估体重均低于同胎龄体重第10百分位数,诊断为FGR,低于第3百分位数,诊断为重度FGR。

1.2.4 随访 对病例妊娠结局进行电话随访,了解孕妇妊娠结局及新生儿生长发育情况。

2 结果

2.1 320条带G显带核型分析结果 常规计数30个分裂相后未发现异常细胞核型。考虑NIPT-plus提示16三体综合征,胎儿存在16三体嵌合的可能,遂加大计数,计数100个分裂相后,两线平行培养羊水均未发现异常细胞核型,确定胎儿无嵌合。

2.2 CMA和全外显子组测序结果 CMA未检出有临床意义的CNVs,但检测结果提示为:arr[hg19]16p13.3p12.2(94,808-23,024,688)x2hmz,即胎儿16号染色体16p13.3p12.2区域存在22.93Mb的ROH(图1A)。经过父母和胎儿的SNP位点对比分析,确定这1例胎儿为混合型母源性UPD(16)。胎儿16号染色体16p13.3p12.2区域约22.93Mb的ROH为母源性isoUPD,16号染色体16p12.2q24.1区域约67.44Mb的片段为母源性hetUPD(图1B)。全外显子组测序未检出与受检者临床表型相关的致病/疑似致病变异/遗传模式相符的临床意义未明变异。

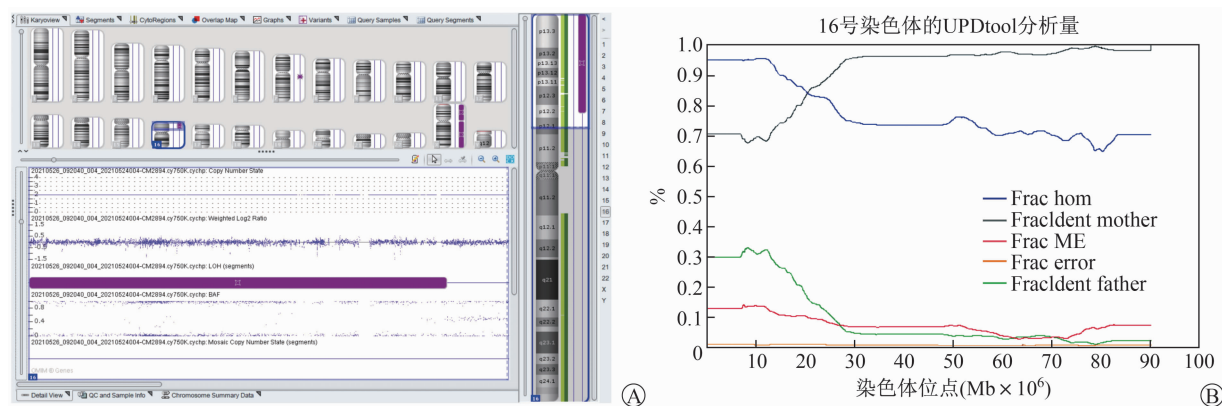


图1 胎儿16号染色体为混合型母源性UPD(16)

A:ChAS软件提示胎儿16p13.3p12.2区域纯合;B:UPDtool软件提示胎儿为混合型母源性UPD(16)

注:FracHom小于0.8,说明该区带基因型纯合度正常,接近1.0,说明该区带基因型纯合度高;FracME升高,说明SNP位点存在遗传错误;FracIdentMorthor较高,说明该UPD为母源性UPD。

2.3 胎儿宫内生长曲线图 孕妇停经 12⁺周,B 超示胎儿双顶径约 16mm,头臀长 58mm,胎儿大小与孕周相符。停经 23⁺周,B 超示胎儿双顶径约 53mm,头围 200mm,腹围 173mm,股骨长 36mm,肱骨长 33mm,EFW 约 461g(低于第 10 百分位)。孕 29⁺周和 35⁺周,胎儿再次超声评估发育情况。孕

29⁺周,胎儿双顶径约 72mm,头围 259mm,腹围约 218mm,股骨长约 47mm,肱骨长约 42mm,EFW 约 926g(低于第 3 百分位)。孕 29⁺周,胎儿双顶径约 80mm,头围约 290mm,腹围约 255mm,股骨长约 55mm,肱骨长约 50mm,EFW 约 1462g(低于第 3 百分位)(图 2)。

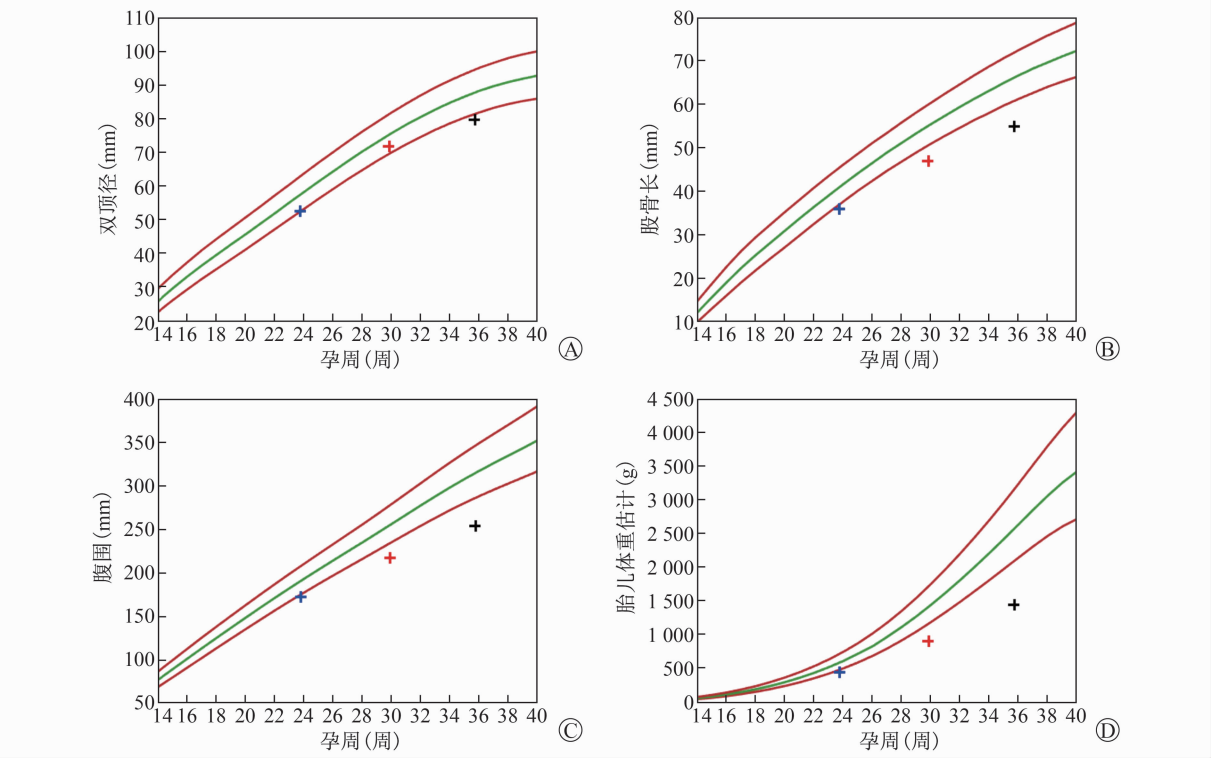


图 2 胎儿宫内生长曲线图
A:双顶径随孕周增长的曲线图;B:股骨随孕周增长曲线图;C:腹围随孕周增长曲线图;D:胎儿体重随孕周增长曲线图

2.4 妊娠结局 孕 36⁺周因胎儿胎心不稳,胎儿脐动脉血流阻力指数与大脑中动脉血流阻力指数比值大于 1,提示胎儿宫内窘迫,外院行剖宫产一男婴,出生体重为 1.35 kg,身长 42cm,头围 28cm,外观无异常,Apgar 评分:8-9-10 分。该胎儿出生后因极低体重入住外院新生儿科,出院时体重为 1.7 kg,生命体征稳定。分别于 3 月龄、1 周岁、1 周岁 10 月龄和 2 周岁 6 月龄对该家庭进行随访,幼儿母亲表示幼儿生长良好且按时前往县妇幼保健中心体检,1 岁左右开始走路,语言和运动等发育良好,身高体重已逐步追赶生长(图 3)。因路途遥远,幼儿父母拒绝来本院进行详细的生长发育评估。

3 讨论

UPD 通常源自亲本配子减数分裂过程中染色

体不分离,导致形成的配子为二体或缺体。与正常配子结合后,形成三体或单体合子细胞。在早期有丝分裂的过程中,数目异常合子细胞通过三体自救、单体复制等形式,使细胞恢复二倍体正常数目。三体自救是三体细胞通过丢弃额外多出的一条染色体,使细胞恢复二倍体正常数目,在这个过程中有三分之一的概率可形成 UPD^[6]。染色体三体自救是 UPD 发生的主要机制,约占 19%^[2],若自救不完全往往会造成胎盘或胎儿染色体三体和二体细胞嵌合体。UPD 不会导致基因拷贝数发生改变,是一种拷贝数中性的变异,据统计,约 35% 的 UPD 病例伴核型异常^[2]。在生殖细胞减数分裂过程中,16 号染色体较易发生染色体不分离。母亲年龄越大,越易发生分裂错误。根据 UPD 数据库收录的信息,UPD (16) 约占各种染色体 UPD 的 3.0%,是最常见的

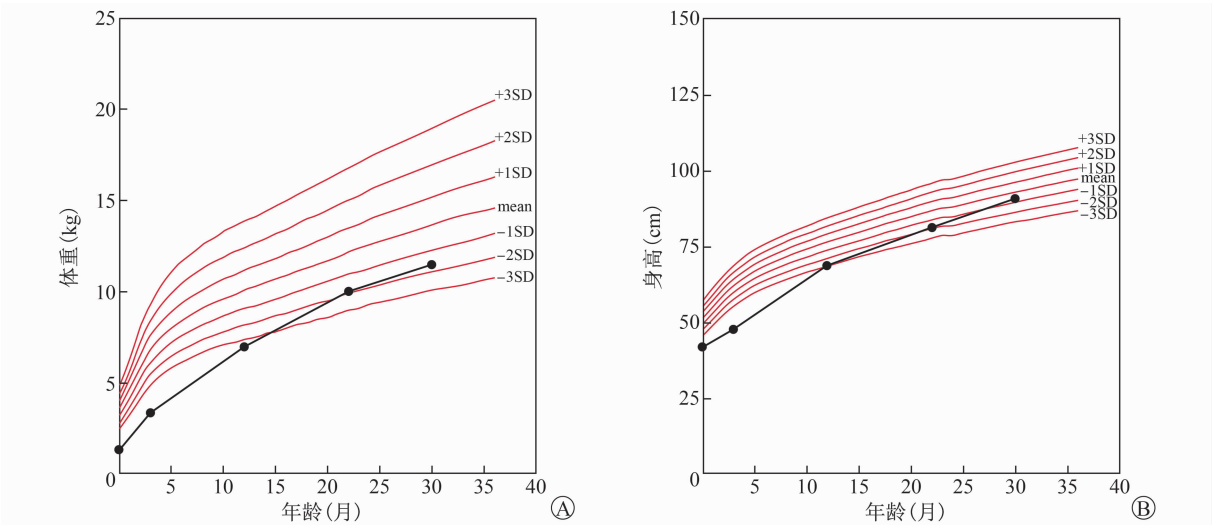


图 3 新生儿生长曲线图
A: 体重随年龄增长的曲线图; B: 身高随年龄增长曲线图
注: 参照中华人民共和国卫生行业标准(WS/T 423—2022)。

UPD 之一^[7]。16 号染色体不分离通常发生在第一次减数分裂过程中,且同源染色体联会过程中易发生交叉互换而重组,常以 isoUPD 和 hetUPD 的混合型 UPD(16)形式出现。本例孕妇 38 岁,为高龄孕妇,通过对家系三个样本的 CMA 结果进行基因型比对和孟德尔遗传错误率分析,发现胎儿为整条染色体母源性混合型 UPD(16)。

UPD(16)与 FGR、心脏畸形、肺发育不全、食管瘘、肠旋转不良、胆囊缺失、肾发育不全、肾积水、肛门闭锁和单脐动脉等多种先天性畸形有关^[8]。但在产前约 70.9% 的 UPD(16)病例表现为 16 号染色体三体 and UPD(16)的嵌合体^[9],因此,很难确定临床表型是由三体导致还是 UPD 导致,部分研究认为胎儿 UPD(16)不是导致 FGR 的根本原因^[9]。在这些已报道的母源性 UPD(16)病例中,少部分病例表型完全正常,大部分病例会出现 FGR,约占 63%,少部分伴有其他系统结构畸形,其中心血管畸形、骨骼系统畸形和颜面部畸形的发生率分别为 23%、20% 和 11%^[10]。本例孕妇孕早期 NIPT-plus 提示 16 号染色体数目偏多,孕晚期出现重度 FGR。羊水 CMA 结果显示胎儿为母源性 UPD(16),我们通过羊水染色体核型和 CMA 结果排除了胎儿为 16 三体嵌合的可能。已知 16 号染色体三体胎盘可引起胎盘功能不全,会影响胎儿的血液供应,从而导致

FGR^[9,10]。我们欲确定本例胎儿胎盘是否为 16 三体或嵌合体,遂追踪孕妇妊娠情况。遗憾的是,孕妇提前分娩,我们未追踪到胎盘组织,不能明确本例胎儿 FGR 是否是 16 三体的限制性胎盘嵌合体所致。由于 NIPT 检测的是母体外周血中胎盘滋养层细胞的游离 DNA,有大样本研究表明,NIPT 提示罕见三体,胎盘阳性的可能性为 88.3%^[11]。因此,我们有理由相信本例胎儿胎盘大概率为三体或三体嵌合,由于胎盘功能不全导致本例胎儿重度 FGR。

因完全性 UPD(16)合并正常核型的病例很少,且多在孕期终止妊娠,继续妊娠的很少,目前母源性 UPD(16)本身和 FGR 的关联还无法得到明确的结论。UPD 既可通过印记障碍,也可通过隐性致病基因暴露而导致异常表型。16 号染色体包含 3 个明确的母源表达基因^[12]。其中,ZNF597 基因位于 16p13.3 区域,该基因纯合突变,具有小鼠胚胎致死性。ZNF597 在胎盘中的高表达,在胎盘发育过程中发挥重要作用^[13]。除此之外,近期也有研究表明 16 号染色体可能存在其他一些差异甲基化位点参与母源性 UPD(16)相关表型的产生^[14,15]。16 号染色体上 ALG1、CDT1、ORC6 等生长相关基因的突变也可能导致 FGR。为了排除 UPD(16)导致的纯合变异与其他基因变异引起的 FGR,我们对胎儿进行了全外显子组测序。WES 结果排除了 16 号染色

体上可能致病的纯合变异,以及生长发育相关基因的致病变异。综合CMA、NIPT-Plus和WES的结果,胎儿FGR的病因极有可能是由胎盘16号染色体三体或嵌合三体导致。在我们充分告知遗传学风险后,孕妇及家人决定继续妊娠。孕晚期胎儿持续偏小,胎儿出生时,为极低体重儿(低于-3SD),出生体重仅为1.35 kg,由于体重过低,皮下脂肪少,保温能力差,生长发育较同龄的新生儿相比已经处于落后状态。出生后我们一直随访追踪,希望继续探究母源性UPD(16)和FGR的关联。分别于3月龄、1周岁、1周岁10月龄和2周岁6月龄对该家庭进行随访,体重由低于-3SD追至-2SD以上,身高由低于-3SD追至-1SD以上,生长追赶,精神运动发育正常。这些随访结果进一步提示本病例存在的母源性UPD(16)和FGR表型可能没有直接关联。

4 结论

综上所述,本病例存在的母源性UPD(16)和胎儿生长受限表型可能没有直接关联,该胎儿宫内生长受限可能是由于16号染色体三体限制性胎盘嵌合引起。对本例胎儿出生后长期随访发现,新生儿生长追赶,生长发育正常。因此在产前诊断为母源性UPD(16)的情况下,需要注意UPD本身可能并不具有致病性,应当考虑胎盘三体的可能性,并结合全外显子组测序分析等其他检测手段,深入寻找致病因素。

参考文献

- [1] 中华医学会围产医学分会胎儿医学学组,中华医学会妇产科学分会产科学组. 胎儿生长受限专家共识(2019版)[J]. 中华围产医学杂志,2019(06):361-380.
- [2] LIEHR T. Uniparental disomy (UPD) in clinical genetics: A guide for clinicians and patients[M]. Heidelberg: Springer, 2014.
- [3] NAKKA P, PATTILLO SMITH S, O'DONNELL-LURIA AH, et al. Characterization of prevalence and Health consequences of uniparental disomy in four million individuals from the general population[J]. Am J Hum Genet, 2019, 105: 921-932.
- [4] BENN P. Uniparental disomy: origin, frequency, and clinical significance[J]. Prenat Diagn, 2021, 41(5): 564-572.
- [5] DEL GAUDIO D, SHINAWI M, ASTBURY C, et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)[J]. Genet Med, 2020, 22: 1133-1141.
- [6] CONLIN LK, THIEL BD, BONNEMANN CG, et al. Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis [J]. Hum Mol Genet, 2020, 19, 1263-1275.
- [7] LIEHR T. Cases with uniparental disomy[DB/OL]. (2023-08-01). <http://upd-tl.com/upd.html>.
- [8] 彭小芳,林少宾,萧晓琴,等. 16号染色体三体、嵌合体、单亲二体—更新的认识[J]. 中国产前诊断杂志(电子版),2021, 13(1):12-16.
- [9] WANG H, LUO C, LIU Y, et al. UPD16 itself is not a cause of intrauterine growth restriction [J]. Fetal Pediatr Pathol, 2018,37(6):452-464.
- [10] SCHEUVENS R, BEGEMANN M, SOELLNER L, et al. Maternal uniparental disomy of chromosome 16 [upd(16)mat]: clinical features are rather caused by (hidden) trisomy 16 mosaicism than by upd(16)mat itself[J]. Clin Genet, 2017,92(1):45-51.
- [11] XIANG J, LI R, HE J, et al. Clinical impacts of genome-wide noninvasive prenatal testing for rare autosomal trisomy [J]. Am J Obstet Gynecol MFM, 2023,5(1):100790.
- [12] YINGJUN X, ZHIYANG H, LINHUA L, et al. Chromosomal uniparental disomy 16 and fetal intrauterine growth restriction[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2017,211:1-7.
- [13] TANABE Y, HIRANO A, IWASATO T, et al. Molecular characterization and gene disruption of a novel zinc-finger protein, HIT-4, expressed in rodent brain[J]. J Neurochem, 2010,112:1035-1044.
- [14] SCHULZE KV, SZAFRANSKI P, LESMANA H, et al. Novel parent-of-origin-specific differentially methylated loci on chromosome 16[J]. Clin Epigenetics, 2019,11(1):60.
- [15] CHEN CP, KO TM, CHERN SR, et al. Prenatal diagnosis of maternal uniparental disomy 16 associated with mosaicism trisomy 16 at amniocentesis, and pericardial effusion and intrauterine growth restriction in the fetus[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2021,60(3):534-539.

(收稿日期:2024-02-19)

编辑:姚红霞