

产前诊断 1 例罕见 49,XXXXY 综合征病例分析

冯拓宇^{1*} 林青² 李丽娇² 陈兰清³ 徐文瑜¹

1. 湛江市妇幼保健院 医学遗传检验中心, 广东 湛江 524000; 2. 湛江市妇幼保健院 产前诊断中心, 广东 湛江 524000; 3. 湛江市妇幼保健院 超声科, 广东 湛江 524000

【摘要】 目的 本研究重点关注 1 例产前诊断 49,XXXXY 综合征胎儿,并深入探讨了该疾病的症状、诊断、治疗和预防。**方法** 通过对因产前早期唐氏筛查 FreeHCG MoM 减低转诊至湛江市妇幼保健院的孕妇先后进行了Ⅱ级彩超、三维/四维Ⅲ级产前超声检查发现胎儿存在异常,随后在孕 20⁺ 周时对该孕妇进行羊膜腔穿刺,将取得的羊水分别进行串联重复序列(short tandem repeats,STR)、染色体核型分析及拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)检测。同时,对该夫妇采取外周血进行染色体核型分析。**结果** Ⅱ、三维/四维Ⅲ级超声检查均提示胎儿双侧胸腔积液和胎儿全身皮肤水肿,羊水 STR 检测提示 X 染色体数目是常染色体 2 倍,羊水染色体核型分析提示为 49,XXXXY,羊水 CNV-seq 结果显示胎儿染色体非整倍体为 seq(X)x4, (Y)x1, (1-22)x2,夫妇双方染色体核型分析均为正常。我们结合以上检测结果将该胎儿明确诊断为 49,XXXXY 综合征。**结论** 本研究结果不仅加深了 49,XXXXY 综合征产前诊断过程、临床表现及遗传学特点的理解,还完善了 49,XXXXY 综合征胎儿期超声表型,为临床医生和遗传咨询提供了宝贵参考,对预防出生缺陷具有重要意义。

【关键词】 49,XXXXY;FreeHCG MoM 减低;水肿;产前诊断;遗传咨询

【中图分类号】 R714.53

【文献标识码】 B

正常男性染色体核型为 46,XY,女性为 46,XX。超 X 组成的核型多有异常,49,XXXXY 综合征即其一,属罕见先天性睾丸发育不全的性染色体综合征,多因亲代生殖细胞减数分裂时 X 染色体连续不分离所致^[1]。主要临床表现以性腺机能减退、生长迟缓、独特面部特征及骨骼、心脏、大脑、肾脏异常等为主^[2]。现将湛江市妇幼保健院产前诊断中心诊断 1 例染色体核型为 49,XXXXY 的胎儿报道如下:

1 对象与方法

1.1 对象 父母双方,男方 35 岁,女方 33 岁,均无职业性有害因素接触史,非近亲结婚,无遗传性疾病家族遗传背景,且二人均未罹患糖尿病、高血压等

基础疾病,孕期平顺,无特殊不适。孕妇分别在 2016、2018、2020 年顺产 3 女胎,三个同胞姐姐发育正常。孕 12 周超声检查胎儿颈项透明层厚度(NT)1.63mm,早期唐氏筛查 FreeHCG 中位数倍数为 0.19,明显低于正常范围(0.4~2.5),拒绝做无创产前筛查(noninvasive prenatal screening, NIPS)选择继续妊娠就诊于湛江市妇幼保健院产前诊断中心。经遗传咨询后,先后进行Ⅱ级彩超、三维/四维Ⅲ级产前超声均发现胎儿异常,随后我们在孕妇孕 20⁺ 周时实施羊膜腔穿刺术对胎儿进行产前诊断。同时,抽取该夫妇双方外周血进行染色体核型家系分析。

1.2 方法

1.2.1 对就诊孕妇进行Ⅱ级彩超、三维/四维Ⅲ级产前超声检测。

1.2.2 标本采集 经孕妇及家属知情同意及广东

湛江市妇幼保健院医学伦理委员会审核批准后(批文号:20241203),对孕妇进行羊膜腔穿刺取羊水 30ml;夫妇双方肝素抗凝外周血 4ml 各一管;孕妇 EDTA 抗凝外周血 4ml 一管。

1.2.3 样本基因检测

1.2.3.1 标本 DNA 获取 将 10ml 羊水和母亲 EDTA 抗凝外周血采用亚能生物技术(深圳)有限公司核酸全血提取试剂(型号:MEB-16C)及广州凯普医药科技有限公司 HBNP-4801A 全自动核酸提取仪提取 DNA,严格按照说明书进行。

1.2.3.2 STR 检测 对羊水与母亲外周血的 STR 进行检测。STR 在人群中具有高度多态性,是由 2~7bp 高度串联重复序列组成的基因组核心序列^[3],在能排除母血污染这一因素的同时能快速检测胎儿 21、13、18 及性染色体非整体。

1.2.3.3 将羊水 DNA 进行 CNV-seq 检测 针对测得的长度超过 100kb 的缺失、重复等异常的片段,将查询的数据库与人类参考基因组比对,客观评估检测结果的实际情况,明确致病性。

1.2.4 染色体核型分析 将 20ml 羊水标本分别装入 2 支 15ml 无菌离心管中,1500r/min 离心 15min 弃上清留沉淀物用作羊水细胞培养。按照本实验室标准操作方法进行双线细胞培养,培养的时间在 1~2 天,以细胞的具体生长情况为依据,及时进行收获及制片。运用染色体自动扫描系统(莱卡 GSL-120)对玻片进行扫描,对中期分裂象展开分析;将夫妇双方肝素抗凝外周血按相同方法进行处理。

2 结果

2.1 超声结果 孕 19⁺周超声显示胎儿生长指标:BPD:4.11cm,HC:15.66cm,AC:15.14cm,FL:3.01cm,HL:2.87cm,CB:1.92cm,HR:141 次/min,脐动脉 RI:0.75,PI:1.41,S/D:4.0。大脑中动脉 PI:1.67,RI:0.78,S/D:4.45,PSV:15.71cm/s,生长发育稍落后于对应孕周;Ⅱ级彩超、三维/四维 III 级产前超声检查均提示双侧胸腔积液和胎儿全身皮肤水肿(图 1)。

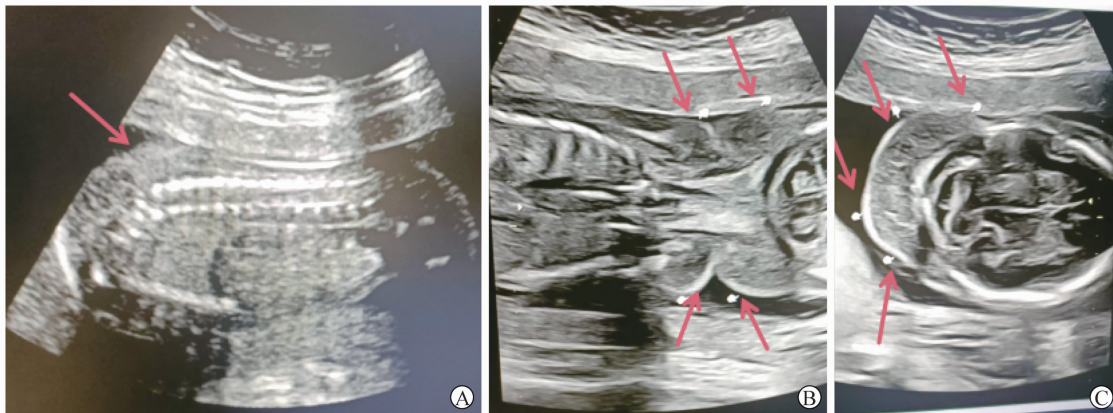


图 1 超声提示胎儿双侧胸腔积液和胎儿全身皮肤水肿(红色箭头所示)

A:胎儿后背纵切面;B:胎儿颈部冠状切面;C:胎儿头颅横切面

2.2 STR 结果 提示羊水标本不存在母血 DNA 污染;染色体位点 TAF9L 峰值比 68055/35965 为 1.89,指的是 X 染色体和 9 号常染色体的同源片段,9 号染色体是 2 拷贝,所以 X 染色体为 4 拷贝;染色体位点 X16 峰值比 5476/2896 为 1.89,指的是 X 染色体和 16 号常染色体的同源片段,16 号染色体是 2 拷贝,所以 X 染色体为 4 拷贝;染色体位点 Y1 峰值比 3613/1964 为 1.84,指的 Y1 是 Y 染色

体和 1 号染色体的同源片段,1 号染色体是 2 拷贝,所以 Y 为 1 拷贝(图 2)。

2.3 染色体核型分析结果 提示胎儿为 49,XXXXY(图 3);夫妻双方分别为 46,XY、46,XX。

2.4 羊水 CNV-seq 结果 提示胎儿染色体非整倍体为 seq(X)x4,(Y)x1,(1-22)x2(图 4)。

2.5 诊断及治疗 结合以上检测结果明确诊断为 49,XXXXY 综合征。本病例无治疗手段。通过进

行产前诊断,运用 STR、染色体核型分析、CNV-seq 检测技术结合超声,确定胎儿染色体的异常情况。为临床遗传咨询提供充分的参考资料,并向父母详

细阐述 49,XXXXY 综合征可能的临床表现,以协助他们作出更为明智的决策。通过明确家系染色体核型,指导该夫妻再生育时应进行产前遗传咨询。

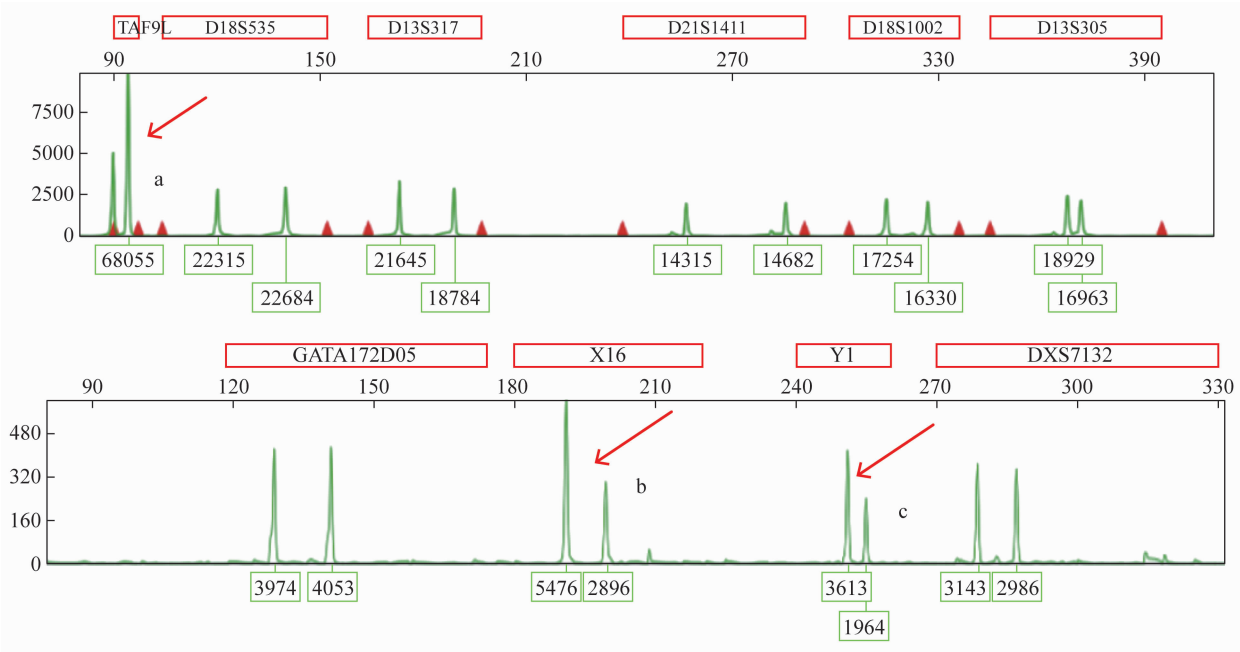


图 2 STR 检测结果

注:a:染色体 TAF9L 位点 9 号染色体为 2 拷贝 X 染色体为 4 拷贝;

b:染色体 X16 位点 16 号染色体为 2 拷贝 X 染色体为 4 拷贝;c:染色体 Y1 位点 1 号染色体为 1 拷贝 Y 染色体为 1 拷贝。



图 3 染色体核型分析提示胎儿为 49,XXXXY

2.6 治疗结果、随访及转归 向孕妇及其家属进行遗传咨询,告知胎儿为 49,XXXXY 综合征患者。出生后主要临床表型为:大脑发育滞后、性腺机能减退、生长迟缓、面容异常、肌张力低下、骨骼及心脏异常等。孕妇及其家属决定终止妊娠,尸检发现胎儿外观呈耳位低、小下颌、右侧面颊部皮赘、眼距宽、胎儿两性畸形,生殖器分化不清,但生殖器男性外观明

显(图 5)。

染色体异常检测报告单 (CNV-Seq)		
送检医院:	送检科室:产前诊断	送检医生:
样本信息		
孕妇姓名:	性别:女	年龄:33
孕周:20 ⁺	联系电话:	
样本类型:羊水	样本编号:	采样时间:2024 年 10 月 15 日
送检原因:高龄孕妇, B 超异常, 不良孕产史, 唐筛单个指标异常		
临床诊断:		
检测内容		
检测项目	☐ 染色体异常检测(5Mb)	
	☒ 染色体异常检测(100Kb)	
检测方法	CNV-Seq + QF-PCR	
检测结果		
1. 胎儿取材母体 DNA 污染鉴定结果:		
D13S305、D18S386、D21S11、DXS981、DXS6809 等 18 个 STR 位点结果提示无母体 DNA 污染。		
2. 该样本检出染色体非整倍体。		
seq(X) × 4, (Y) × 1, (1-22) × 2		
*参考基因组为 GRCh37		
结果说明		
1. CNV-Seq 结果显示:该样本性染色体异常,为 XXXXY。		
2. 涉及综合征为“XXXXY 综合征”。		
3. XXXXY 较正常男性 XY 增加 3 条 X 染色体,为罕见的性染色体非整倍体。“XXXXY 综合征”在新生男婴中的发病率约为 1/85,000~1/100,000,主要临床症状包括:面部畸形(眼距过宽,睑裂上斜,内眦赘皮,短颈);肌张力减退;骨骼缺陷(桡尺骨融合,骨脂发育不良,髌外翻,脊柱后侧凸,髌/膝关节脱位);发育迟缓,身材矮小;性腺功能减退(小阴茎,小睾丸,阴囊发育不全,隐睾);先天性心脏病;肾发育不全;肝腺体发育不全,脑尖畸形;学习障碍,智力障碍随着年龄严重程度增加等[ORPHA 96264]。		

图 4 CNV-seq 提示胎儿染色体非整倍体为

seq(X) × 4, (Y) × 1, (1-22) × 2

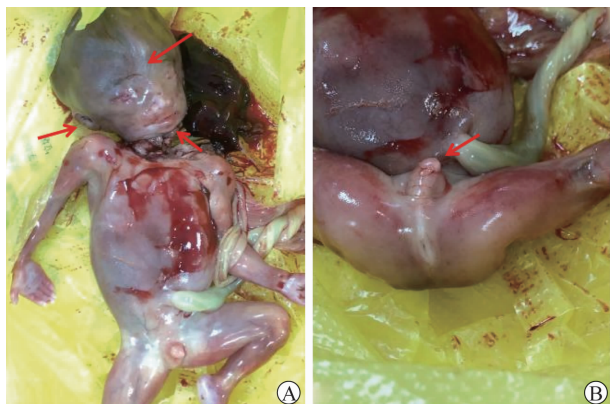


图5 尸检结果。A:胎儿外观呈耳位低、小下颌、眼距宽;B:胎儿两性畸形,生殖器分化不清,男性生殖器官外观明显

3 讨论

49,XXXXY 综合征是一种在新生男婴中发生率约 1/85000 的染色体数目异常的罕见病。1960 年 Fraccaro^[4]首次报道 49,XXXXY 综合征后,全球仅 100 余例病例,产前确诊极少。1986 年李荷斯^[5]在国内首先报道了核型为 49,XXXXY 的男婴,患儿症状主要表现为唐氏综合征脸型,反应迟缓,低耳位,四肢低张力,小阴茎阴囊,睾丸未降等。接着,张燕荷^[6]等也报告一例男婴出生 3 天因通气障碍,脸色苍白,窒息,眼睛及外阴发展障碍等原因夭折。王明胜^[7]等通过尸检病理检查发现一例产前诊断流产胎儿脑沟浅,这或许是该类患者智力低下原因之一。该疾病的发生与母龄无正比关系,刘永章^[8]等研究发现 49,XXXXY 综合征病因或许是因为其孕妇长期触及苯、甲苯类、橡胶类等毒性致畸化学物质,进而引起 X 染色体在减数分裂时不分离所致。49,XXXXY 综合征患儿由于雄性激素分泌降低导致血浆睾酮不足,目前主要治疗方法是在 11 岁时就要开始长期使用睾酮以促进第二性征发育以维持男性特征,此外,对于反应迟缓的患儿,早期介入专业的认知训练和康复教育至关重要,通过个性化的训练计划,帮助其提高智力发育水平和生活自理能力^[9,10]。

49,XXXXY 综合征往往被归入 Klinefelter 综合征的范畴。事实上,49,XXXXY 综合征和 Klinefelter 综合征的临床特征特异性差异明显^[11],我们建议将 49,XXXXY 综合征单独归为一种病

症。一方面,49,XXXXY 综合征虽然是男子先天性睾丸发育不全症之一,但具有智力迟缓、耳位低、四肢作用低、双手贯通、多发性骨发育异常、先天性心脏病等自身独特症状^[12]。另一方面,Klinefelter 综合征中多出的 X 染色体可为父源或母源,由减数分裂 I 期或 II 期 X 染色体不分离造成。49,XXXXY 综合征多余的 X 染色体来源则是母亲,是由于 X 染色体在减数分裂 I 期和 II 期都不分离所致^[13];此外,在遗传咨询方面,Klinefelter 综合征患者一般表现为身材高大,除了行为认知和学习有一定程度障碍外,其智商一般是无异常的,而 49,XXXXY 患者不仅表现为神经发育落后及行为认知有明显迟缓,而且身材矮小,肌肉骨骼、心脏等其他系统也会发生严重畸形。因此对于 Klinefelter 综合征的胎儿,遗传咨询时应告知出生后可能出现的发育障碍以及认知行为风险,而对于 49,XXXXY 综合征的胎儿,则应充分告知其预后不良的风险,以供孕妇及家属制定合理的妊娠决策^[14]。

在本病例中,我们发现孕妇早期产前唐氏筛查 FreeHCG MoM 减低,从而进行后续一系列产前诊断检查最终诊断出该综合征,表明唐筛作为一种普及的出生缺陷血清学筛查手段依然十分重要,尤其对于单项 MOM 值异常有研究指出,血清学指标异常可能与产科并发症如先兆子痫前期、妊娠期糖尿病、流产等存在关联^[15]。尽管唐筛血清指标异常不能作为准确的产前诊断依据,但是为了确保孕妇及胎儿的安全,应当对其进行全面而细致的孕期产科监护。高通量测序 NIPS 在性染色体异常诊断方面准确性较高,可作为 49,XXXXY 综合征产前筛查的有效手段,对于单项血清标志物浓度 MOM 值出现异常的情况,我们推荐进行 NIPS。本病例孕妇拒绝做 NIPS 而选择继续妊娠,所幸后续因 II、III 级超声均提示胎儿可能因淋巴回流受阻而导致双侧胸腔积液及全身皮肤水肿进一步做产前诊断最终确诊为 49,XXXXY 综合征。

在产前诊断方面,传统的染色体核型分析技术虽以其准确性和可靠性作为遗传学诊断的“金标准”^[16],但该技术主要依赖手工操作,需进行细胞培养,导致检测过程耗时较长、通量较低。另外值得注

意的是染色体核型分析技术对于微重复、微缺失等异常染色体的检测存在局限性,有漏检的风险。随着近年来分子遗传学诊断技术的飞速发展极大提高了当前的产前诊断水平。其中,荧光定量 PCR (quantitative fluorescent polymerase chain reaction, QF-PCR) 技术通过检测遗传标记 STR 来进行染色体异常分析的, QF-PCR 技术不仅能在 1~2 天获得结果^[17],而且在检测性染色体数目异常(如 XYY、XO、XXX、XXXY 及 XXXXY)方面具有明显的优势,同时,随着试剂盒能检测 STR 位点增多,该技术还应用于同源染色体鉴别。本案例 STR 检测结果染色体位点 X16 峰值比 5476/2896 为 1.89,这说明 X 染色体与 16 号常染色体存在同源片段;染色体位点 Y1 峰值比 3613/1964 为 1.84,这也说明 Y 染色体和 1 号常染色体存在同源片段。从而表明,该母亲卵细胞首次减数分裂时未分离,致使第二次减数分裂也未分离,由此产生含 4 条 X 染色体的卵子,其与正常精细胞受精后,形成核型为 49,XXXXY 的受精卵,符合相关研究报道^[1,8,18]。

49,XXXXY 综合征的产前超声表型报道极少,而 49,XXXXY 综合征胎儿期呈全身性水肿的病例尚未见报道。为了排除胎儿染色体是否合并微缺失微重复导致的其他致病拷贝数变异(copy number variation, CNV),进一步提高遗传性疾病的诊断预期,我们对标本进行了 CNV-seq 检测后无其他新异常发现,因此,我们推断全身性水肿可能会是 49,XXXXY 胎儿期的一种新病症表型。在临床分子遗传检测中,染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)和 CNV-seq 是直接以 DNA 为检测对象用于 CNV 的检测,可以避免进行繁琐的细胞培养而提高检测效率,另外还能帮助我们更准确地识别出染色体致病基因,从而更有效地预测出潜在的遗传性疾病。然而,每种技术都有其独特的优势和局限性,CNV-seq 技术虽然有助于发现染色体微缺失/微重复涉及的综合征,但是由于它检测的分辨率取决于测序量和有效序列的大小则可能存在漏检或检出的 CNV 片段小于实际范围的问题。相比之下,CMA 技术芯片检测的分辨率受制于探针密度及分布则无法检测其探针覆盖区域以外

的 CNV。此外,CMA 及 CNV-seq 均无法对单碱基变异及低于其分辨率的微小片段缺失/重复所致的单基因遗传病进行检测^[19]。为了提高对胎儿的诊断和治疗效果,我们要和孕妇及家属做好充分的沟通,并且建议其接受完整的产前检查,包括核型分析、STR 检测和染色体拷贝数变异分析等,从而获得最精准的诊断结果。

在遗传咨询领域,当明确了某种综合征的致病变异基因后,若在验证父母时未发现携带该变异基因,这种情况有可能是新发变异,但也不能完全排除生殖腺嵌合体的可能性。生殖腺嵌合体是指在胚胎早期,基因变异发生在具有两个或两个以上细胞系中,从而形成的嵌合体状态^[20,21]。目前,关于生殖腺嵌合体在人群中的携带率确实缺乏权威定论,在产前诊断中,由于生殖腺嵌合体子代再发率与变异细胞所占比例密切相关^[22],这使得诊断面临一定困难。然而,对于怀孕或生育过 49,XXXXY 综合征的家庭,再次妊娠时进行产前诊断以明确胎儿染色体核型是极为重要的举措。这不仅有助于及时发现潜在的遗传问题,还能为家庭提供准确的风险评估和决策依据。一方面 49,XXXXY 综合征是一种染色体异常疾病,通过产前诊断,可以在胎儿发育的早期阶段确定其染色体核型,为家庭提供有关胎儿健康状况的重要信息,在适当的情况下进行胎儿干预。另一方面,对于有遗传疾病家族史的家庭,了解胎儿的遗传状况可以帮助他们做出明智的决策,包括是否继续妊娠、是否进行产前干预以及未来的生育计划。另外,通过产前诊断可以提前评估下一代再发风险,并制定相应的预防措施,如产前诊断或植入前诊断等^[23]。

综上所述,49,XXXXY 综合征是一种胎儿宫内生长受限,出生后患者通常表现出学习困难、低肌张力、性腺机能减退、不育、生长迟缓、独特面部特征及骨骼、心脏、大脑、肾脏异常等缺陷的罕见遗传疾病。该综合征产前可由染色体非整倍体筛查发现,并可通过遗传学检测确诊,对于怀孕或生育过 49,XXXXY 综合征的家庭,再次妊娠时进行产前诊断明确胎儿染色体核型是非常必要的,这有助于为家庭提供准确的风险评估和决策依据,保障胎儿的健

康和家庭的未来。

参 考 文 献

- [1] 刘权章. 遗传咨询[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1999.
- [2] 沈理笑, 陈瑶, 吕莹波, 等. 49,XXXXY 综合征 1 例报告并文献复习[J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(1): 82-84.
- [3] MANN K, PETEK E, PERTL B. Prenatal detection of Chromosome Aneuploidy by Quantitative Fluorescence PCR [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1885: 139-160.
- [4] FRACCARO M, KAIJSER K, LINDSTEN J. A child with 49 chromosomes[J]. Lancet, 1960, 22(7156): 899-902.
- [5] 李荷斯. 49XXXXY 综合征一例报告[J]. 蚌埠医药, 1986, 4(1): 51-56.
- [6] 张燕荷, 翁霞云, 贾风仪. 49,XXXXY1 例报告[J]. 中国人民解放军军医进修学院学报, 1987, 8(4): 252.
- [7] 王明胜, 吕嫵, 蒋宇林, 等. 罕见性染色体非整倍体 49,XXXXY 综合征的产前诊断 1 例报道并文献复习[J]. 生殖医学杂志, 2024, 33(11): 1519-1522.
- [8] 刘永章, 金龙金. 49,XXXXY 综合征一例[J]. 温州医学院学报, 2001, 31(5): 272.
- [9] 孙夏瑜, 武坚锐, 卢洪涌, 等. 49,XXXXY 综合征一例报告并文献复习[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(1): 46-47.
- [10] 叶福玲, 童光磊, 陈露露. 49,XXXXY Klinefelter 综合征一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(12): 1280-1281.
- [11] JENNIFER PEET, DAVID D WWAVER, GAIL H VANCE. 49,XXXXY: a distinct phenotype. Three new cases and review[J]. Med Genet, 1998, 35(5): 420-424.
- [12] Tartaglia N, Ayari N, Howell S, et al. 49,XXXXY: An Unusual Presentation of Klinefelter Syndrome[J]. American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics, 2010, 154(4): 397-402.
- [13] VILLAMAR M, BENITEZ J, FERNÁNDEZ E, et al. Parental origin of chromosomal nondisjunction in a 49,XXXXY male using recombinant-DNA techniques [J]. Clin Genet, 1989, 36: 152-155.
- [14] 中国预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会产前筛查和诊断学组, 中华医学会医学遗传学分会产前诊断学组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用指南(2023)[J]. 中华妇产科杂志, 2023, 58: 565-575.
- [15] KEIKKALA E, VUORELA P, LAIVUORI H, et al. First trimester hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin in serum-a marker of early-onset preeclampsia[J]. Placenta, 2013, 34(11): 1059-1065.
- [16] 尤峻岭. 探讨不同的产前诊断指征与胎儿染色体异常的关系[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(2): 91-92.
- [17] 荧光定量 PCR 技术在产前诊断中的应用协作组. 荧光定量 PCR 技术在产前诊断中的应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(5): 321-324.
- [18] 王慧玲, 孔祥东, 史惠蓉, 等. 49,XXXXY 综合征一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(5): 485.
- [19] 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. 拷贝数变异检测在产前诊断中的应用指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(9): 909-915.
- [20] 何怡, 姜季武, 赵颖, 等. 可疑生殖腺嵌合体一例的基因检测及产前诊断[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 2(6): 411-413.
- [21] FERREIRO V, SZIJAN I, GILIBERTO F. Detection of germline mosaicism in two Duchenne muscular dystrophy families using polymorphic dinucleotide (CA) n repeat loci within the dystrophin gene[J]. Mol Diagn, 2004, 8(2): 115-121.
- [22] 段红蕾, 王皖骏, 朱湘玉, 等. 连续发生两次同种新发 DMD 基因变异的家系[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(4): 495-497.
- [23] 柳宛璐, 石鑫玮, 刘海意, 等. 3 例家族性 Alport 综合征遗传咨询和产前诊断的临床病例分析[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(3): 178-181.

(收稿日期: 2024-12-28)

编辑: 姚红霞