

应用 CMA 诊断 14q32 微缺失综合征

张艳霞 任丛勉 卢建 李怡 周伟宁 胡蓉 罗晓辉 黄华洁 黄伟伟*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广州, 511442)

【摘要】 目的 探讨 14q32 微缺失综合征的临床表现, 进一步提高对该疾病的认识及对该疾病的产前及遗传学诊断。**方法** 对 1 例因“出生后口吐白沫伴气促 1 天”入院的胎儿进行遗传学诊断, 结合常规染色体 G 显带分析及单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism array, SNP-array)技术进行分子细胞遗传学检测, 并进行全基因组拷贝数变异分析。**结果** 发现 14 号染色体 14q32.2-q32.31 位置发生缺失, 片段大小约 5.83Mb, 包含 128 个基因。**结论** 14q32 印迹区域缺失可表现有“UPD(14)综合征”类似的临床症状, 表现为 Temple 综合征或 Kagami-Ogata 综合征。

【关键词】 14q32 微缺失综合征; 染色体核型分析; 单核苷酸多态性微阵列; 拷贝数变异; 产前诊断

【中图分类号】 R714.55

【文献标识码】 A

Diagnosis of 14q32 microdeletion syndrome by CMA

Zhang Yanxia, Ren Congmian, Lu Jian, Li Yi, Zhou Weining, Hu Rong, Luo Xiaohui, Huang Huajie, Huang Weiwei*

Medical Genetics Center, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, Guangdong, China

* Corresponding author: Huang Weiwei, E-mail: 254129529@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical manifestations of 14q32 microdeletion syndrome, and to further improve the understanding of this disease and the prenatal and genetic diagnosis of this disease.

Methods A case of foaming at the mouth with shortness of breath for one day after birth was diagnosed by genetic method. Conventional G-banding analysis and single nucleotide polymorphism array (SNP-array) were used for molecular cytogenetic analysis, and genome-wide CNV analysis was performed.

Results Chromosome 14 was deletions at 14q32.2-q32.31. The fragment size was about 5.83Mb and contained 128 genes. **Conclusions** The deletion of 14q32 imprinting region may present with clinical symptoms similar with “UPD (14) syndrome”, such as Temple syndrome or Kagami-Ogata syndrome.

【Key words】 14q32 microdeletion syndrome; Karyotype analysis single nucleotide; Single nucleotide polymorphism array; Copy number variation; Prenatal diagnosis

14q32 缺失综合征是一组以发育迟缓、肌张力低下和特定面容为特征性疾病。该疾病主要是由 14 号染色体长臂 3 区 2 带(14q32)微缺失所致^[1]。

14q32 缺失目前国内少见相关报道, 本文对因“出生后口吐白沫伴气促 1 天”入院的 1 例患儿进行染色体微阵列分析(chromosomal microarray

analysis, CMA)分析, 提高对 14q32 微缺失疾病表型及致病基因的认识。

1 对象与方法

1.1 对象 患儿, 男, 1d, 因“出生后口吐白沫伴气促 1 天”入院。父母非近亲结婚, 否认家族病史。否认放射性物质接触史, 否认孕期感冒等病史。孕妇无上胎溶血史、习惯流产史、剖腹产史、死胎史、畸胎史、出血史, G4P2, 孕 37⁺₂ 周。1 天前在当地医院顺

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2021.02.012

基金项目: 广东省医学科研基金(B2019150)

* 通信作者: 黄伟伟, E-mail: 254129529@qq.com

产娩出,出生时羊水浑浊,Apgar 评分 7-8-8,反应差,出生体重 2.4kg。出生后口吐白沫伴气促,胃管不能置入,考虑先天性食道闭锁,为进一步诊治转至本院新生儿科。患儿精神反应差,足月小样儿貌,全身皮肤轻度黄染,愚型面容,呼吸三凹征,通贯掌,头颅畸形,诊断为先天性食道闭锁、新生儿肺炎、头皮血肿、双侧脑室扩张、迷走右锁骨下动脉、卵圆孔未闭、染色体异常。

1.2 方法

1.2.1 核型分析 抽取肝素抗凝外周血 3 ml,并进行接种、培养、收获、制片、G 显带及核型分析。

1.2.2 单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism array, SNP-array)检测外周血基因组 DNA 提取采用德国 QIAGEN 公司生产的 QIAamp DNA Blood Mini Kit 试剂盒提取,SNP-array 检测则采用美国 Affymetrix 公司的 CytoScan 750 K SNP 基因芯片进行检测:取提取好的外周血

DNA 标本,严格按照标准操作规程进行限制性内切酶的酶切,连接接头,PCR 扩增,纯化 PCR 产物并测定纯化后的 PCR 产物浓度,PCR 纯化产物片段化及片段化产物电泳,标记,50℃杂交,芯片洗染,芯片扫描,用配套的 ChAS 软件进行结果判读及应用 OMIM、DECIPHER、DGV、ClinGen 等数据库对判读结果进行临床数据分析。

2 结果

2.1 染色体核型分析结果 该患儿母亲染色体核型为 46,XX,inv(9)(p11q13),父亲染色体核型为 46,XY,患儿染色体核型为 46,XY。

2.2 SNP-array 检测分析结果 发现 14 号染色体 14q32.2-q32.31 位置发生缺失 arr[hg19] 14q32.2q32.31(97,063,146-102,888,545)×1,片段大小约 5.83Mb,包含 128 个基因(图 1)。

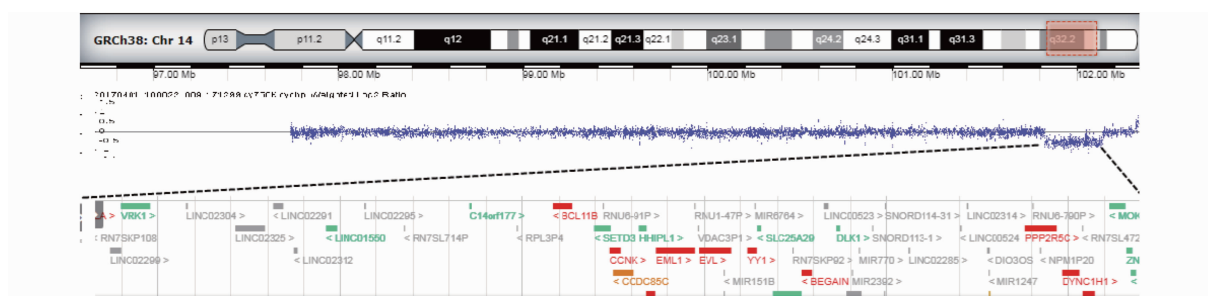


图 1 患儿外周血 CMA 分析结果图

2.3 胎儿结局及遗传咨询 经详细向患儿家属交代病情,及患儿可能存在多发畸形、智力发育异常等问题,告知其手术方式、手术风险及术中术后可能并发症,征得家属同意并签署手术同意书后行“经胸膜外食管气管瘘结扎、食道端端吻合术、胸腔闭式引流术”。术后第 18d,患儿自主呼吸平顺,胸腔引流管无明显引流液,大小便正常,家属拒绝进一步诊治,要求办理出院,劝阻无效,予办理签字出院。

随后在对该患儿的跟踪随访中,该患儿夫妇拒绝接受随访,故不明确该患儿在出院后的生长发育状况。

3 讨论

产前诊断染色体 14q32 缺失应该引起人们对

14q32.2 基因印记基因的重视。人类染色体 14q32.2 印迹区域带有几个父本表达的基因(paternally expressed genes, PEGs),例如 *DLK1* 和 *RTL1*,母本表达的基因(maternally expressed genes, MEGs),例如 *MEG3* (*alias*, *GTL2*) 和 *RTL1as* (*RTL1* 反义),以及从种系衍生的初级 *DLK1-MEG3* 基因间差异甲基化区域(intergenic differentially methylated region, IG-DMR)和受精后衍生的二级 *MEG3-DMR*^[2]。

当同源染色体或者染色体上的某部分片段都来源于双亲中的一方时,就会发生单亲二体(uniparental disomy, UPD)^[3],父源性 14 号染色体单亲二体[paternal uniparental disomy 14, pUPD (14)]和母源性 14 号染色体单亲二体[maternal

uniparental disomy 14, mUPD(14)]引起了明显的临床表型^[4,5]。mUPD(14)的特征是出生前和出生后发育迟缓、肌张力低下、进食问题、运动延迟、身材矮小、青春期提前发作以及面部、手和脚的轻微畸形^[6]。DLK1 和 RTL1 的表达降低或 DMR 的父本甲基化缺失会导致 UPD(14) mat-like 表型^[1]。pUPD(14)表现出独特的表型,其特征是面部异常,小钟形胸腔,腹壁缺损,胎盘肥大和羊水过多^[7]。本病例中该患儿部分临床表现与上述描述有所重合。

14q32 缺失综合征是较少见的染色体缺失综合征之一,本病例应用 CMA 检测发现 14 号染色体 14q32.2-q32.31 位置发生缺失,片段大小约 5.83Mb,该区域包含 128 个基因,其中 OMIN 基因 52 个。该疾病的主要致病基因有 BCL11B、CCNK、DYNC1H1、PPP2R5C、YY1、DLK1、RTL1、MEG3 等。

BCL11B 是具有多种功能的锌指蛋白转录因子。它既充当遗传抑制子又充当激活子,直接作用于启动子区域,也间接作用于启动子结合的转录因子。BCL11B 是胎儿发育中的基本转录因子,对于中枢神经系统(central nervous system, CNS)中各种神经元亚型的分化和发育具有重要作用^[8]。另外, BCL11B 在皮肤发育、脂肪形成、牙齿形成和颅面骨骼形成中发挥着重要的作用^[9]。

CCNK 是一种具有 580 个氨基酸的蛋白质,属于细胞周期蛋白的一个子类别,其不随细胞周期振荡,主要参与转录控制^[10]。Fan 等^[11]研究表明斑马鱼幼虫 CCNK 敲低会导致大脑发育缺陷、小眼睛和卷曲的脊髓,其研究指出 CCNK 变化引起的具有 DD/ID 和面部特征的综合征性神经发育障碍,可能是由于单倍机能不全的机制引起的。

DYNC1H1 是一种细胞质动力蛋白,该蛋白在神经元逆行轴突运输中起关键作用, DYNC1H1 中的突变可导致广泛的表型谱,包括严重的 ID 和可变的神经元迁移缺陷以及周围神经病变^[12]。相关学者^[13-16]在小鼠模型的研究中还表明, DYNC1H1 的杂合错义突变与神经系统疾病有关。表型包括步态异常,肌力降低,反射减弱以及异常原肠和夜盲症,以及运动和感觉神经元的丧失。另外, DYNC1H1 的纯合子功能丧失在胚胎上具有致死

性,表明 DYNC1H1 在人类胚胎发育中具有重要作用^[17]。

PPP2R5C 是蛋白磷酸酶 2A 调节亚基的成员之一,基于它在各种残基上诱导 P53 的去磷酸化,在细胞增殖、分化和转化中起着关键作用。近来,特征在于 PPP2R5C 的表达模式的改变与细胞恶性转化有关,因此 PPP2R5C 被认为是 B-CLL 中进行性疾病的标志^[18]。

YY1 是一种无处不在的表达转录因子,调节各种生物过程,在细胞分化和组织发育中的作用,特别是在肌肉、神经和免疫细胞/组织中的作用^[19]。

另外,有文献报道以下这些基因 BCL11B^[20]、CCNK^[11] 和 YY1^[21] 其单倍剂量不足会引起多种不同的神经发育和同源性障碍。

本病例通过 SNP-array 技术检测出该缺失位于 14q32.2-q32.31,此缺失为国内暂未有相关报道的新变异。本病例中患儿该缺失部位包含大脑及肌肉运动功能相关的基因,查询 DECIPHER 等数据库,除上述致病基因外,如 HSP90AA1、RCOR1、TRAF3、WDR20 等,在匹配的患者中均有 40% 以上的智力残缺和 20% 以上的肌肉无力症,因此推测为致病变异的可能性比较大。虽然该缺失位置部分基因的功能分析可以解释该患儿的部分表型,但由于目前国内外对该缺失位置所包含致病基因的功能尚未完全阐明,而且该缺失位置包含的致病基因的临床表型涉及多个系统,具有较大的个体差异,因此,此缺失部位致病基因所引起的临床表型及导致的相关疾病尚待进一步研究。

SNP-array 技术除了能检测出一些由于染色体微缺失或微重复引起的发育迟缓、智力及精神障碍等异常疾病外,还能检测出大多数的 UPD 及低水平的嵌合体。另外,由于国内暂未有对于 14q32.2-q32.31 位置缺失的报道,因此,该检测技术及该病例可提高人们对该缺失位置所引起的临床表现的认识及可为产前诊断、遗传咨询提供重要的依据。

另外,要诊断本病,应合理选择遗传学及产前诊断检测方法,结合超声、羊水染色体核型分析及 CMA 检测技术。临床上应重视微重复微缺失病例的诊断,避免漏诊。

参 考 文 献

- [1] YOUNGS EL, HELLINGS JA, BUTLER MG. A clinical report and further delineation of the 14q32 deletion syndrome[J]. Clin Dysmorphol, 2011, 20(3):143-147.
- [2] ZADA A, MUNDHOFIR FE, PFUNDT R, et al. A rare, recurrent, De Novo 14q32. 2q32. 31 microdeletion of 1.1Mb in a 20-Year-Old female patient with a maternal UPD(14)-like phenotype and intellectual disability [J]. Case Rep Genet, 2014, 2014:530134.
- [3] ENGEL E. A new genetic concept: uniparental disomy and its potential effect, isodisomy[J]. Am J Med Genet, 1980, 6(2):137-143.
- [4] KAGAMI M, NISHIMURA G, OKUYAMA T, et al. Segmental and full paternal isodisomy for chromosome 14 in three patients: narrowing the critical region and implication for the clinical features[J]. Am J Med Genet A, 2005, 138A(2):127-132.
- [5] KOTZOT D. Maternal uniparental disomy 14 dissection of the phenotype with respect to rare autosomal recessively inherited traits, trisomy mosaicism, and genomic imprinting [J]. Ann Genet, 2004, 47(3):251-260.
- [6] SUTTON VR, SHAFFER LG. Search for imprinted regions on chromosome 14: comparison of maternal and paternal UPD cases with cases of chromosome 14 deletion[J]. Am J Med Genet, 2000, 93(5):381-387.
- [7] KAGAMI M, SEKITA Y, NISHIMURA G, et al. Deletions and epimutations affecting the human 14q32. 2 imprinted region in individuals with paternal and maternal UPD(14)-like phenotypes[J]. Nat Genet, 2008, 40(2):237-242.
- [8] LENNON MJ, JONES SP, LOVELACE MD, et al. Bcl11b- A critical neurodevelopmental transcription factor-roles in health and disease[J]. Front Cell Neurosci, 2017, 11:89.
- [9] DAHER MT, BAUSERO P, AGBULUT O, et al. Bel11b/ Ctip2 in skin, tooth, and craniofacial system[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:1-15.
- [10] LIM S, KALDIS P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation[J]. Development, 2013, 140(15):3079-3093.
- [11] FAN Y, YIN W, HU B, et al. De Novo mutations of ccnk cause a syndromic neurodevelopmental disorder with distinctive facial dysmorphism[J]. Am J Hum Genet, 2018, 103(3):448-455.
- [12] WILLEMSSEN MH, VISSERS LE, WILLEMSSEN MA, et al. Mutations in DYNC1H1 cause severe intellectual disability with neuronal migration defects[J]. J Med Genet, 49(3):179-183.
- [13] CHEN XJ, LEVEDAKOU EN, MILLEN KJ, et al. Proprioceptive sensory neuropathy in mice with a mutation in the cytoplasmic Dynein heavy chain 1 gene[J]. J Neurosci, 27(52):14515-14524.
- [14] HAFEZPARAST M, KLOCKE R, RUHRBERG C, et al. Mutations in dynein link motor neuron degeneration to defects in retrograde transport[J]. Science, 2003, 300(5620):808-812.
- [15] ROGERS DC, PETERS J, MARTIN JE, et al. SHIRPA, a protocol for behavioral assessment; validation for longitudinal study of neurological dysfunction in mice[J]. Neurosci Lett, 2001, 306(1-2):89-92.
- [16] HRABÉ DE ANGELIS MH, FLASWINKEL H, et al. Genome-wide, large-scale production of mutant mice by ENU mutagenesis[J]. Nat Genet, 2000, 25(4):444-447.
- [17] HARADA A, TAKEI Y, KANAI Y, et al. Golgi vesiculation and lysosome dispersion in cells lacking cytoplasmic dynein[J]. J Cell Biol, 1998, 141(1):51-59.
- [18] 李扬秋, 周羽竝, 杨力建. PPP2R5C 基因结构特点和生物学功能[J]. 中国实验血液学杂志. 2009, 17(5):1127-1129.
- [19] CHEN F, SUN H, ZHAO Y, et al. YY1 in cell differentiation and tissue development[J]. Crit Rev Oncog, 2017, 22(1-2):131-141.
- [20] LESSEL D, GEHBAUER C, BRAMSWIG NC, et al. BCL11B mutations in patients affected by a neurodevelopmental disorder with reduced type 2 innate lymphoid cells[J]. Brain, 2018, 141(8):2299-2311.
- [21] GABRIELE M, VULTO-VAN SILFHOUT AT, GERMAIN PL, et al. YY1 haploinsufficiency causes an intellectual disability syndrome featuring transcriptional and chromatin dysfunction[J]. Am J Hum Genet, 2017, 100(6): 907-925.

(收稿日期:2021-04-21)

编辑:宋文颖