

应用单核苷酸多态性微阵列技术检测胎儿染色体 6p25 缺失综合征

罗晓辉 曾玉坤 胡蓉 兰菲菲*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511440)

【摘要】 目的 探讨染色体 6p25 缺失综合征的遗传学病因、临床表型和致病基因, 结合文献探讨单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism microarray, SNP-array)检测技术在胎儿 6p25 缺失综合征产前诊断中的应用。**方法** 羊膜腔穿刺取胎儿羊水, 羊水细胞提取核酸后采用 SNP-array 对胎儿 DNA 进行全基因组扫描后分析基因组拷贝数变异, 同时进行羊水 G 显带染色体核型分析。**结果** 胎儿的 6 号染色体 6p25. 3-p25. 2 区域发生缺失, 缺失片段大小约 2. 7Mb, 包含已知的 *FOXC1*、*FOXF2*、*DUSP22*、*IRF4*、*EXOC2* 等 15 个 OMIM 基因, 该片段缺失可导致 6p25 缺失综合征。羊水 G 显带染色体核型分析提示为 46, XN, 未见明显异常。**结论** 染色体 6p25. 3-p25. 2 区域缺失可导致 6p25 缺失综合征, 单倍剂量不足基因 *FOXC1* 在 6p25 缺失综合征中发挥关键作用。SNP-array 检测技术分辨率高、准确性好, 可以弥补染色体核型分析分辨率的不足, 适用于胎儿 6p25 缺失综合征的产前诊断, 可以为临床遗传咨询医生提供详细的诊断信息和再生育咨询参考。

【关键词】 单核苷酸多态性微阵列; 6p25 缺失综合征; 产前诊断

【中图分类号】 R714. 53 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To explore the genetic causes of chromosome 6p25 deletion syndrome, clinical phenotype and disease genes. And discuss the application of single nucleotide polymorphisms microarray detection technology in 6p25 deletion syndrome prenatal diagnosis combined with the literature review.

Method Fetal amniotic fluid sample was extracted by amniotic cavity puncture. Genome copy number variation of fetus DNA was analyzed by SNP-array genome-wide scan after amniotic fluid cell culture and G banding karyotype analysis was determined. **Results** There is a deletion fragment at 6p25. 3-p25. 2 region in fetus chromosome 6 and the fragment size is 2. 7Mb. It contains some known OMIM genes, for example, *FOXC1*、*FOXF2*、*DUSP22*、*IRF4* and *EXOC2*. The deletion of this region has highly correlated with clinical phenotype of 6p25 deletion syndrome. G banding karyotype of amniotic fluid sample result is 46, XN, no obvious abnormalities. **Conclusions** The deletion at 6p25. 3-p25. 2 region of chromosome 6 could result in 6p25 deletion syndrome. It may be associated with inadequate expression dose of *FOXC1* gene. SNP-array detection technology has high resolution and accuracy, so it can make up for the resolution inadequacy of karyotype analysis. SNP-array detection technology may apply to the prenatal diagnosis of fetal 6p25 deletion syndrome. It Can provide detailed diagnostic information for clinical genetic consult and fertility consulting reference.

【Key words】 Single nucleotide polymorphism microarray; 6p25 deletion syndrome; Prenatal diagnosis

型涉及多系统,表型可为有脑畸形、先天性心脏异常、发育迟缓、眼前段异常、听力丧失等^[1]。染色体拷贝数变异是导致新生儿出生缺陷的关键因素,目前国内关于 6p25 缺失综合征的产前诊断报道较少,本文结合单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism microarray, SNP-array)检测技术诊断 6p25 缺失综合征并进行文献回顾,以提高对该疾病临床表型及致病基因的认识。

1 资料与方法

1.1 基本资料 试验样本来自广东省妇幼保健院医学遗传中心遗传咨询门诊患者夫妇,女方为妊娠状态,孕 23 周,因超声发现 NT 增厚,胎儿脑部发育异常进行遗传咨询。孕期无不良接触史,夫妻双方非近亲结婚,否认不良生育史和家族遗传病史。

1.2 研究方法

1.2.1 胎儿样本采集 经孕妇和家属同意,签署知情同意书后在超声引导下进行羊膜腔穿刺术抽取胎儿羊水 20 ml,其中 15 ml 用于染色体核型分析,5 ml 保存于 4℃ 冰箱用于 SNP-array 检测。

1.2.2 基因组 DNA 提取 羊水 5ml 用 2000 转/分离心 10min,弃上清留取羊水细胞,使用 Qiasm DNA Blood Mini Kit 提取试剂盒(Qiagen 公司,德国)提取基因组 DNA,按照试剂盒的操作说明书进行 DNA 提取操作。

1.2.3 单核苷酸多态性微阵列检测 利用 SNP-array 检测平台,使用 Affymetrix 公司的 Cyto-scan750k 芯片,按照操作手册流程,羊水 DNA 经过酶切、连接、扩增、产物纯化、片段化、标记、杂交、洗涤、扫描后进行数据分析,数据分析过程分别参照本实验室内部数据库以及国际数据库分析 CNV 的致病性,包括 DECIPHER、基因组变异数据库(Data-base of Genomic Variants,DGV)、人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)、UCSC 基因组浏览器,结果分为致病性 CNV、可能致病 CNV、临床意义不明 CNV、可能良性 CNV、良性 CNV。

1.2.4 羊水染色体核型分析 羊水样本 15 ml 在无菌条件下按照 G 显带染色体核型分析标准操作流程进行接种、培养、收获、G 显带及核型分析。

2 结果

SNP-array 检测结果发现胎儿基因组在 6 号染色体短臂 6p25.3-p25.2 区域存在缺失,具体为 arr[hg19]6p25.3p25.2(384,096-3,136,073)×1,缺失片段大小约为 2.7Mb,该缺失区域涉及 *FOXC1*、*FOXF2*、*DUSP22*、*IRF4*、*EXOC2* 等 15 个 OMIM 基因(图 1)。羊水染色体核型结果提示为 46,XN,未见明显异常。

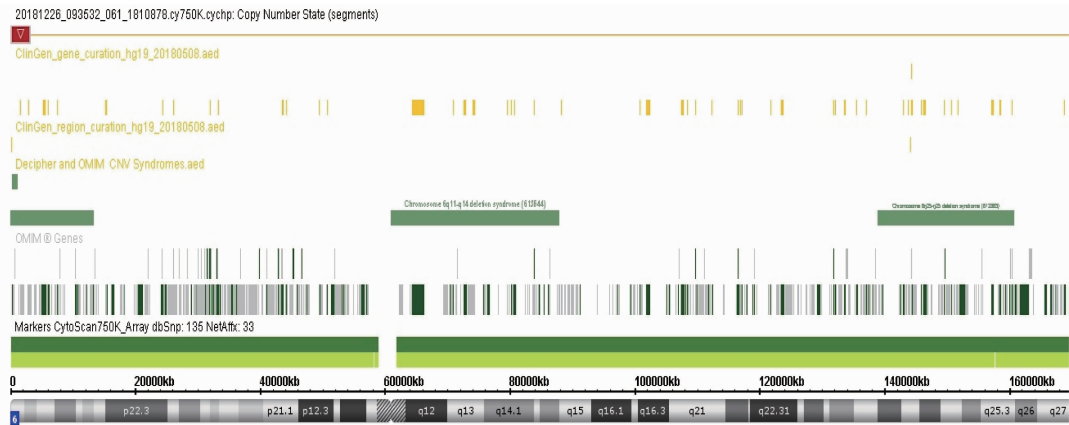


图 1 胎儿羊水 SNP-array 检测结果(红色代表缺失)

3 讨论

染色体拷贝数变异时引起产前胎儿发育异常的

常见病因,分子生物学技术的发展极大提高了胎儿染色体小片段拷贝数变异疾病检出率^[2]。本病例胎儿出现脑中线发育异常,脑室增宽等颅脑发育异常

的声像, SNP-array 检测发现 6p25.3-p25.2 区域发生 2.7Mb 缺失, 该区域包含 *FOXC1*、*FOXF2* 等 15 个 OMIM 基因, 应用疾病数据库检索分析发现该片段区域功能性基因的缺失可导致患者出现 6p25 缺失综合征, 检索文献发现 *FOXC1* 为该综合征的主要致病基因。6p25 缺失综合征临床表型涉及多系统多器官, 其临产表型有脑畸形、先天性心脏异常、发育迟缓、眼前段异常、听力丧失等^[3]。

检索文献发现, 6p25 缺失综合征中有 83% (49/59) 存在 Axenfeld-Rieger 综合征, 大约一半人患有青光眼, 约 24% 患者有视网膜异常, 主要为色素改变^[4]。几乎所有 6p25 缺失综合征患者都存在先天性面部畸形, 典型的面部特征包括眼距过宽(93%)、下斜睑裂(69%)、中面部发育不全(77%)、前额突出(51%)、小颌(21%)和张口(48%)、牙齿异常(44%), 少数表现为小头畸形^[4]。在 6p25 缺失综合征病例中, 各种骨骼异常均有报道, 临床表型以短颈(36%)、手足异常(65%)最为常见, 口腔牙齿异常见于少部分患者。少数病例有身材矮小(31%)和脊柱侧弯(17%)。室间隔缺损、房间隔缺损、动脉导管未闭、心脏流出道异常等心脏畸形见于约 60% 的 6p25 缺失综合征患者^[4,5]。据报道 6p25 缺失患者的脑畸形包括脑积水(39%)、脑室扩张、部分胼胝体发育不全等^[4-6]。6p25 小片段缺失与枕大池和小脑蚓部发育不良有关。包含 *FOXC1* 和 *GMD5* 等基因在内的大片段缺失, 则与典型的 Dandy-Walker 畸形有关, 推测可能因为 *FOXC1* 上游染色体重排会引起相关调控元件的丢失导致基因表达减少而致病。另外 80% 的 6p25 缺失综合征患者有生长发育迟缓和智力障碍^[4-7]。

FOXC1 基因(OMIM 601090)属于转录因子家族基因, 编码胚胎多种组织的叉头/翼状螺旋转录因子。定位于 6p25, 全长 3452bp, 含一个外显子^[8]。*FOXC1* 主要表达于中胚层的生殖嵴、肠系膜处。*FOXC1* 基因是一种对眼的前房发育呈剂量敏感效应的基因, *FOXC1* 基因单倍剂量的不足与患者眼前段发育异常的表型有关。小鼠眼组织中, *FOXC1* 主要表达于小鼠眼间质组织和眼周围间质组织, 其缺失复制均能导致 ASD^[9]。*FOXC1* 基因纯合缺失

小鼠在出生前便可因出血性脑水肿, 严重骨骼、心脏、眼部发育异常而死亡, 而杂合缺失的小鼠表现为眼前段发育不良, 该表型与人类表型一致^[4,10]。

FOXC1 缺失、重复、突变与 Axenfeld-Rieger 综合征密切相关, 其发病率为 1/200 000, 以常染色体显性或者隐性遗传, 少部分为散发病例, 完全外显率, 具有遗传异质性, 其主要临床症状为眼前段、颅面部、牙齿等发育异常, 约半数患者会进展为青光眼, 部分患者伴随心脏缺陷、尿道下裂、生长发育迟缓和智力低下等症^[11,12]。

本文发现的胎儿存在染色体 6p25.3-p25.2 区域缺失, 超声结果显示胎儿脑中线发育异常, 脑室增宽等颅脑发育异常的声像, 出现 6p25 缺失综合征的表型, 而染色体核型分析结果未发现异常。

高分辨率的 SNP-array 技术近些年在产前诊断中的应用较多, 与染色体核型分析相比, SNP-array 技术可以发现染色体的微缺失或者微重复, 对于严重发育畸形的染色体微缺失综合征的诊断有重要意义。因此, 超声发现有发育异常的胎儿应建议进行 SNP-array 检测, 并检测胎儿父母, 结合超声监测结果综合分析, 避免因染色体核型分析分辨率不足导致的漏诊, 同时可以找到一些由于微缺失综合征导致胎儿发病的原因。

参考文献

- [1] Delahaye A, Khung-Savatovsky S, Aboura A, et al. Pre- and postnatal phenotype of 6p25 deletions involving the *FOXC1* gene[J]. *Am J Med Genet A*, 2012, 158A(10): 2430-2438.
- [2] 张丽娜, 孟哲, 何展文, 等. 50 例微缺失和微重复综合征患儿的临床表型及基因拷贝数变异的分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(9): 840-845.
- [3] Caluseriu O, Mirza G, Ragoussis J, et al. Schizophrenia in an adult with 6p25 deletion syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2006, 140(11): 1208-1213.
- [4] Gould DB, Jaafar MS, Addison MK, et al. Phenotypic and molecular assessment of seven patients with 6p25 deletion syndrome: relevance to ocular dysgenesis and hearing impairment[J]. *BMC Med Genet*, 2004, 5: 17.
- [5] Gripp KW, Hopkins E, Jenny K, et al. Cardiac anomalies in Axenfeld-Rieger syndrome due to a novel *FOXC1* mutation[J]. *Am J Med Genet A*, 2013, 161A(1): 114-119.

- [6] van der Knaap MS, Kriek M, Overweg-Plandsoen WC , et al. Cerebral white matter abnormalities in 6p25 deletion syndrome[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2006,27(3):586-588.
- [7] Lorda-Sanchez I, Lopez Pajares I, Roche MC et al. Cryptic 6q subtelomeric deletion associated with a paracentric inversion in a mildly retarded child [J]. Am J Med Genet, 2000, 95:336-338.
- [8] Kume T, Deng KY, Winfrey V, et al. The forkhead/winged helix gene Mf1 is disrupted in the pleiotropic mouse mutation congenital hydrocephalus [J]. Cell, 1998, 93:985-996.
- [9] Zhang HZ, Li P, Wang D, et al. FOXC1 gene deletion is associated with eye anomalies in ring chromosome 6 [J]. Am J Med Genet A, 2004, 124A:280-287.
- [10] Hjalt TA, Semina EV. Current molecular understanding of Axenfeld-Rieger syndrome[J]. Expert Rev Mol Med, 2005,7 (25):1-17.
- [11] Kelberman D, Islam L, Holder SE, et al. Digenic inheritance of mutations in FOXC1 and PITX2 : correlating transcription factor function and Axenfeld-Rieger disease severity[J]. Hum Mutat, 2011,32(10):1144-1152.
- [12] Cella W, de Vasconcellos JP, de Melo MB, et al. Structural assessment of PITX2, FOXC1, CYP1B1, and GJA1 genes in patients with Axenfeld-Rieger syndrome with developmental glaucoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47 (5): 1803-1809.

(收稿日期:2019-08-02)

编辑:宋文颖