

应用荧光原位杂交技术诊断嵌合型环状 X 染色体 Turner 综合征 1 例

何轶群 郭莉 郑来萍 吴丽华 伦妙栩 任丛勉*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511400)

【摘要】 目的 报道应用染色体 G 显带和荧光原位杂交技术,对 1 例嵌合型环状 X 染色体进行细胞遗传学分析,探讨环状 X 染色体的临床表现和形成机制。**方法** 应用染色体 G 显带技术进行染色体核型分析,并通过荧光原位杂交技术确认环状染色体的来源。**结果** 经患儿外周血染色体核型分析,结果显示为 mos 46,X,r(X)[72]/45,X[34]/46,X,r(X)(p22q26)[4]。经荧光原位杂交技术分析,结果显示为 nuc ish (DYZ3-)r(x)(DXZ1+)。**结论** Turner 综合征与环状 X 染色体相关,矮小患儿应高度警惕 X 染色体异常。

【关键词】 Turner 综合征; 环状 X 染色体; 荧光原位杂交

【中图分类号】 R714.55

【文献标识码】 A

A case of Turner syndrome with mosaic ring X chromosome was diagnosed by Fluorescence in situ Hybridization

He Yiqun, Guo Li, Zheng Laiping, Wu Lihua, Lun Miaoxu, Ren Congmian*

Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, Guangdong, China

* Corresponding author: Ren Congmian, E-mail: rencongmin@163.com

【Abstract】 Objective To report a case of Turner syndrome with mosaic ring X chromosome was diagnosed by chromosome G banding and fluorescence in situ Hybridization (FISH), and explored the clinical manifestations and formation mechanism of ring X chromosome. **Methods** Chromosome karyotype was analyzed by G-banding technique, and the origin of ring X chromosomes was confirmed by FISH. **Results** Karyotype analysis of peripheral blood showed mos 46,X,r(X)[72]/45,X[34]/46,X,r(X)(p22q26)[4]. FISH test showed nuc ish (DYZ3-)r(x)(DXZ1+). **Conclusion** Turner syndrome is associated with ring X chromosome, and children with short stature should be highly alert for X chromosome abnormalities.

【Key words】 Turner syndrome; Ring X chromosome; Fluorescence in situ Hybridization

Turner 综合征(Turner syndrome, TS),又称卵巢发育不全综合征,在新生女婴中的发病率约为 1/2500,临床表型多为身材矮小、性腺发育不全、先天性心脏病和轻度智力低下等。最典型的 TS 患者核型为 45,X,其余大多为嵌合体,或具有一个结构

重排 X 染色体的核型,或 X 环状染色体嵌合体核型等。其中携带环状染色体的嵌合体核型较少见,仅占 5%^[1]。本研究运用染色体 G 显带和荧光原位杂交技术,对 1 例同时携带 2 个不同环状 X 染色体的罕见 Turner 综合征进行了研究报道,并探讨环状 X 染色体的临床表现和形成机制。

1 对象与方法

1.1 对象 女,11岁,足月儿,因身材矮小来本院就诊。查体:身高125cm,身高增长缓慢3年,体重36kg,无面部色素痣,无颈蹼,无肘外翻。乳房未发育,外阴发育如幼女,无月经来潮。B超示:膀胱充盈良好,其下方可见一条形低回声与阴道相连,大小约17mm×4mm×8mm,中间未见明显宫腔膜线状较强回声。双侧卵巢显示不清。考虑始基子宫声像。左腕关节正位片显示:左腕关节可见8个骨化核。头状骨、钩骨、三角骨、大小多骨、月状骨、舟状骨、豆状骨骨骺出现。拇指内侧种子骨未见出现。近排掌指与第一掌骨骨骺未见闭合。尺骨、桡骨远端骨骺未见闭合。各节指骨骨骺未见闭合。左侧尺、桡骨干骺端先期钙化带清晰。左侧腕关节如常。相当于图谱法10~11岁女孩儿童骨龄。化学发光法检测示:甲轴正常,生长激素1.35ng/ml(正常参考值1~10ng/ml),类胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)222ng/ml(正常参考值111-996ng/ml),类胰岛素生长因子结合蛋白3(insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP3)4690ng/ml(正常参考值2400~9500ng/ml)。患儿智力一般,近期考试语文85分,数学75分,英语95分,患儿父母表型正常,非近亲结婚,无化学和放射性物质等接触史。

1.2 方法

1.2.1 制片及G显带 在患儿和监护人签署知情同意后,采集外周血2~5ml,进行淋巴细胞培养、收获、制片及染色体G显带,嵌合体计数100个核型(必要时加数),分析5个核型。按照人类细胞遗传学国际命名体制(International System for Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN 2013),G显带450~550条带水平为标准诊断染色体核型。

1.2.2 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH) 选用X、Y、18号染色体的1:1:1混合探针,其中X染色体是FITC直接标记的着丝粒特异探针(DXZ1)(Xp11.1-q11.1);Y染色体是SpO直接标记的着丝粒特异探针(DYZ3)(Yp11.1-q11.1),18染色体是DEAC直接标记的着丝粒特异探针(D18Z1)(18p11.1-q11.1)。取患儿经3次固定的外周血淋巴细胞悬液,滴片,60℃烤片3~5h,75℃变性5min,4℃杂交16h,洗脱,DAPI复染,封片,在荧光显微镜下通过滤色片观察杂交信号。X染色体显示绿色荧光信号,Y染色体显示红色荧光信号,18号染色体显示湖绿色信号。

2 结果

2.1 经染色体G显带分析,患儿染色体核型为mos 46, X, r(X)[72]/45, X[34]/46, X, r(X)(p22q26)[4],如图1所示。

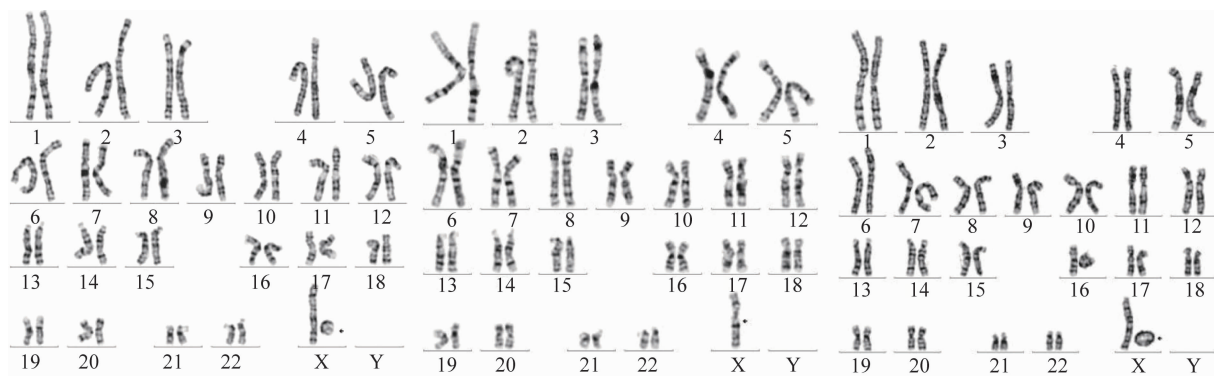


图1 G显带核型分析结果图

A. 46, X, r(X); B. 45, X; C. 46, X, r(X)(p22q26)

2.2 DXZ1、DYZ3和D18Z1混合探针杂交后,在中期细胞核中可见1个或2个绿色信号(X染色体),2个湖绿色的信号(18号染色体),未发现红色信号(Y

染色体)(图A和图B)。在中期分裂相中,正常的X染色体可见1个绿色信号(图C和图E绿色箭头所示),环状染色体可见1个绿色信号(图E红色箭头

所示),2 条 18 号染色体可见 2 个湖绿色信号,未发现红色信号(Y 染色体)。较大的环状染色体由于数

目非常少,在 FISH 片中没有发现。FISH 结果提示异常的环状染色体来源于 X 染色体。

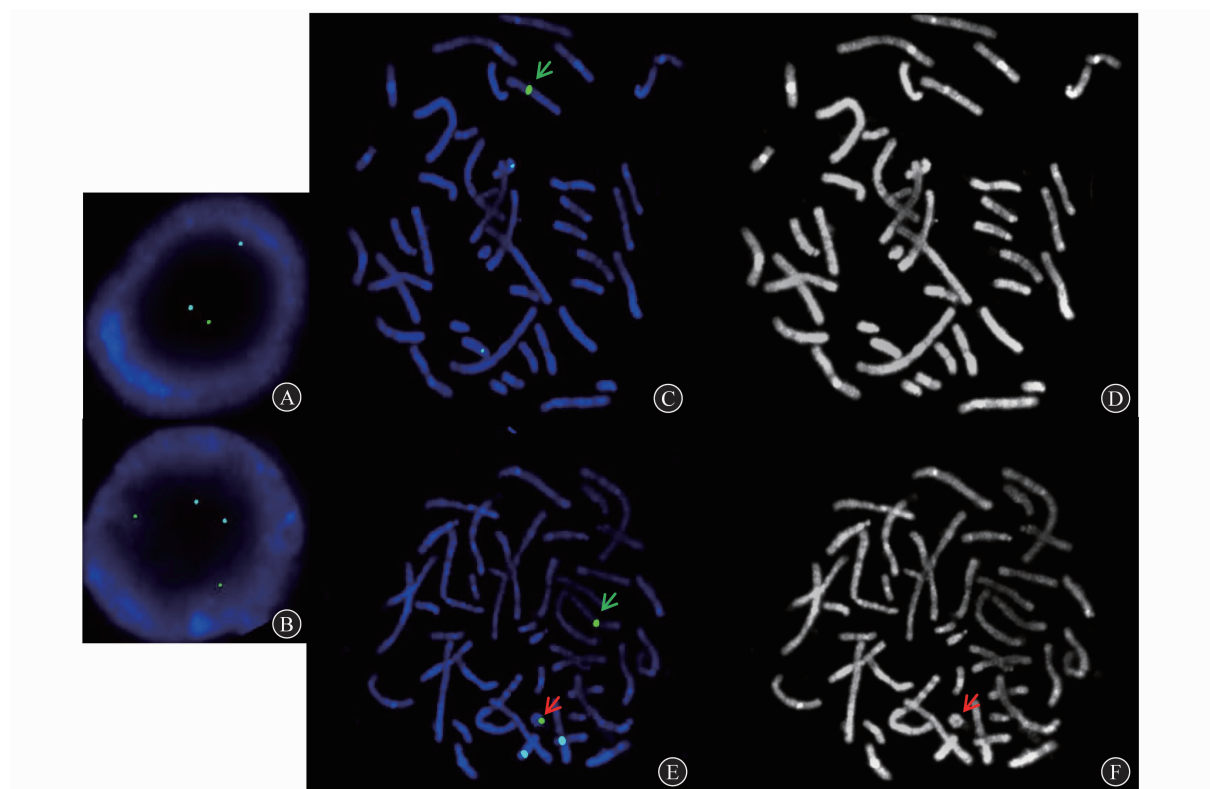


图 2 染色体 X,Y 和 18 探针的 FISH 图

A. 间期细胞核中,可见 1 个绿色信号(X 染色体)和 2 个湖绿色信号(18 号染色体);B. 间期细胞核中,可见 2 个绿色信号(X 染色体)和 2 个湖绿色信号(18 号染色体);C. 中期分裂相中,1 条正常的 X 染色体可见 1 个绿色信号(绿色箭头所示),2 条 18 号染色体可见 2 个湖绿色信号;D. 为图 C 对应的中期细胞核染色体图;E. 中期分裂相中,1 条正常的 X 染色体可见 1 个绿色信号(绿色箭头所示),1 条环状染色体可见 1 个绿色信号(红色箭头所示),2 条 18 号染色体可见 2 个湖绿色信号;F. 为图 E 对应的中期细胞核染色体图,红色箭头所示为环状染色体

3 讨论

TS 是人类常见的染色体遗传病,其中携带环状染色体的嵌合体核型较为罕见,约占 5%^[1]。环状染色体的发生机制有 2 种:一种是一条染色体长臂和短臂末端同时断裂,含有着丝粒的两个黏性末端彼此结合成环,有遗传物质丢失,导致染色体部分单体,患者表现为发育、智力和行为等异常;另一种是染色体末端两端粒融合,无遗传物质丢失,患者表型正常。环的形状取决于有丝分裂过程中两条姐妹染色单体是否进行交换以及交换的次数。若姐妹染色单体未发生交换,形成单个着丝粒的环;若发生一次交换,形成双着丝粒的大环;若发生两次交换形成

彼此缠绕的互锁环,继而导致断裂或其他机械损害^[2]。mos 46, X, r(X) /45, X/46, X, r(X) (p22q26) 患儿携带单个着丝粒的小环 72%,单个着丝粒的大环 4%,说明两患儿的姐妹染色单体未进行交换。环状染色体的表型差异大,主要取决于环状染色体的大小、结构和嵌合比例。研究表明,携带环状 X 染色体的嵌合体患者通常比核型 45, X 的患者症状轻,且生育率较后者高。

有研究表明, X 染色体短臂上的 *SHOX*、*ARSE*、*EBP*、*TRAPPC2*、*PHEX* 和长臂上的 *CUL4B*、*NSDHL* 等基因与身材矮小相关^[3-9]。据报道, Xp22 位置上的生长控制基因,即矮小同源盒基因 (short stature homeobox containing gene,

SHOX),发生突变或缺失,可导致身材矮小。*Xp11* 的缺失会导致约 50% 的患者卵巢衰竭^[10],长臂的缺失同样可致卵巢功能障碍。靠近 X 染色体长臂 *Xq13* 片段的缺失,临床表型通常较为严重,患者会出现乳房未发育、原发性闭经和性腺衰竭等。染色体 *Xq26-q28* 为卵巢早衰 I 区,*Xq13.3-q21.1* 为卵巢早衰 II 区,这两区域均含有特定的卵巢决定基因。研究表明,X 染色体上影响卵巢功能的基因 *FMR1* 和 *BMP15*^[11],其中任何一个突变都会导致促性腺激素分泌过多。

TS 与环状 X 染色体相关,矮小症患者应高度警惕 X 染色体异常。TS 的临床表现具有多样性,因此研究与 TS 相关的基因和致病机制尤为重要。对 TS 患儿,如果出现临床症状,应尽早进行临床干预,改善生存质量。

参 考 文 献

- [1] 夏家辉,李麓云. 染色体病[M]. 北京: 科学出版社, 1989: 226.
- [2] 祁鸣,黄涛生译. 临床遗传学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2008: 663.
- [3] ELLISON JW, WARDAK Z, YOUNG MF, et al. A candidate gene for involvement in the short stature of Turner syndrome[J]. Hum Molec Genet, 1997, 6(8):1341-1347.
- [4] PARENTI G, BUTTITTA P, MERONI G, et al. X-linked recessive chondrodysplasia punctata due to a new point mutation of the ARSE gene[J]. Am J Med Genet, 1997, 73(2): 139-143.
- [5] DERRY JM, GORMALLY E, MEANS GD, et al. Mutations in a delta(8)-delta(7) sterol isomerase in the tattered mouse and X-linked dominant chondrodysplasia punctata[J]. Nat Genet, 1999, 22(3):286-290.
- [6] ISIDOR B, PICHON O, BARON S, et al. Deletion of the CUL4B gene in a boy with mental retardation, minor facial anomalies, short stature, hypogonadism, and ataxia[J]. Am J Med Genet A, 2010, 152A(1):175-180.
- [7] TILLER GE, HANNIG VL, DOZIER D, et al. A recurrent RNA-splicing mutation in the SEDL gene causes X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda[J]. Am J Hum Genet, 2001, 68(6): 1398-1407.
- [8] HOLM IA, HUANG X, KUNKEL LM. Mutational analysis of the PEX gene in patients with X-linked hypophosphatemic rickets[J]. Am J Hum Genet, 1997, 60(4):790-797.
- [9] KÖNIG A, HAPPLE R, BORNHOLDT D, et al. Mutations in the NSDHL gene, encoding a 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, cause CHILD syndrome [J]. Am J Med Genet, 2000, 90(4):339-346.
- [10] COOLS M, DROP SL, WOLFFENBUTTEL KP, et al. Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers[J]. Endocr Rev, 2006, 27(5): 468-484.
- [11] PASQUALE ED, BECK-PECCOZ P, PERSANI L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene[J]. Am J Hum Genet, 2004, 75(1):106-111.

(收稿日期:2020-04-12)

编辑:宋文颖