

伴有室间隔缺损和 7q11.23q21.3 三体的 双胞胎产前诊断 1 例

刘轶¹ 文娟² 刘娜¹ 牟凯^{*} 程翠云^{1*}

(1. 淄博市妇幼保健院 遗传实验室, 山东 淄博 255000; 2. 中南大学生命科学学院医学遗传学研究中心, 医学遗传学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410078)

【摘要】 目的 明确孕妇宫内双胞胎的遗传信息和发育情况, 为产前诊断及遗传咨询提供依据。**方法**

对孕妇实施羊膜穿刺术, 获得羊水胎儿脱落细胞, 利用染色体核型分析、SNP array 和 FISH 技术获得胎儿遗传信息, 并根据超声评价其胎儿宫内发育情况。同时抽取孕妇夫妇、孕妇的儿子和父母的外周血, 进行染色体核型分析和 SNP array 检测。并于孕妇孕 29 周时, 进行胎儿系统超声检查。**结果** 胎儿染色体核型分析提示该双胞胎都有一条衍生的 4 号染色体, SNP array 提示胎儿是 7q11.23q21.3 三体, FISH 提示衍生的 4 号染色体是由片段 7q11.23q21.3 插入 4 号染色体长臂所致。在外周血的检测中, 我们发现孕妇、孕妇儿子及其母亲都是 7q11.23q21.3 三体的携带者, 其他人未见异常。孕妇 29 周的超声结果提示胎儿存在室间隔缺损。**结论** 双胞胎的 7q11.23q21.3 三体遗传于母亲, 家族中的携带者表型都正常, 提示胎儿表型正常可能性极高。导致室间隔缺损的原因十分复杂, 与 7q11.23q21.3 三体是否有关无法确定, 基于缺损很小, 且目前手术能够修复, 我们建议孕妇继续妊娠, 并定期进行超声监测。

【关键词】 产前诊断; 室间隔缺损; SNP array; FISH; 7q11.23q21.3 三体

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective Determine the genetic information and development of two fetuses and provide the basis for prenatal diagnosis. **Method** Fetal shedding epithelial cells was obtained by amniocentesis. Chromosome karyotype analysis, SNP array and FISH were performed in the fetuses. The development of two fetuses was evaluated by ultrasound. At the same time, the peripheral blood coming from the parents of two fetuses, the son and the parents of the pregnant woman were collected for chromosome karyotype analysis and SNP array analysis. About 29 weeks of gestation, the woman took fetal ultrasound examination systematically and roundly. **Results** Karyotype analysis suggests two fetuses have a derivative chromosome 4, SNP array suggests two fetuses have trisomy 7 q11.23 q21.3, FISH suggests that 7q11.23q21.3 insert in chromosomes 4 long arms, which generates derivative chromosome 4. In the peripheral blood detection, we found that the pregnant woman, her son and her mother were all carriers of trisomy 7q11.23q21.3. However, all these carriers are normal. Ultrasound examination demonstrated two fetuses both had ventricular septal defect at 29 weeks of gestation. **Conclusions** The trisomy 7q11.23q21.3 of two fetuses is inherited from their mother, and the carriers in the family all have normal phenotype, indicating that two fetuses have the probability of normal phenotype is very high. Due to the causes of ventricular septal defect are complex, we are not sure that ventricular septal defect is associated with trisomy 7

q11.23 q21.3. Basing on the small defect and the mature operation, we recommend that pregnant woman could continue her pregnancy, and take ultrasound examinations regularly to observe two fetuses.

【Key words】 prenatal diagnosis; VSD; SNP array; FISH; trisomy 7q11.23q21.3

产前诊断是出生缺陷防治体系中的重要内容,是在遗传咨询的基础上,在胎儿出生之前应用各种检测技术,包括影像学、生物化学、细胞遗传学以及分子生物学等,来了解胎儿宫内的发育情况,为先天性和遗传性疾病做出诊断。随着技术的革新和临床经验的累积,人们越来越认识到产前诊断的重要性。从 20 世纪 70 年代末开始,有创羊膜穿刺术、绒毛膜绒毛取样、脐血穿刺术、高分辨率超声检查等技术相继出现,为产前诊断提供了新的手段。产前诊断的主要临床适应症包括高龄(≥ 35 岁)、产前筛查提示高风险、超声检查提示胎儿异常、有不良孕产史的孕妇等。传统的产前诊断方法是染色体核型分析,由于分辨率低,对产前诊断指导作用有限,为满足临床的需要,越来越多的基于 DNA 分子水平的产前筛查和诊断技术出现,包括 aCGH、SNP array、QF-PCR、一代测序、高通量测序技术等。为产前诊断提供更多更详细的信息,对指导妊娠起到非常重要的作用。

室间隔缺损(ventricular septal defect, VSD)是最常见的先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)类型。对 VSD 胎儿进行遗传学病因检测具有重要临床意义,有助于判断其预后,而且对手术的取舍具有指导价值^[1]。尽管现有的外科手术能对大部分出生后 VSD 进行有效干预,但由遗传缺陷引起的先心病伴有其他并发症,即使手术修补了 VSD 的缺口,仍会导致预后不佳。对 VSD 胎儿进行遗传学病因检测有助于对该对夫妇再次妊娠做出风险评估和产前诊断。

在本研究中,该孕妇 36 岁,无创产前筛查(NIPT)结果提示胎儿为 7q21.11q21.3 三体,约 15.54Mb。行羊膜穿刺术后,对羊水胎儿上皮脱落细胞进行染色体核型分析、FISH 以及 SNP array 分析,并对胎儿进行系统的超声及心脏彩超检查,以探求 7q21.11q21.3 三体的来源及对胎儿生长发育的影响,为是否终止妊娠提供依据。现报告如下:

1 材料和方法

1.1 临床资料 患者:女,36 岁,孕 3 产 1 流 1。既

往体检,无过敏史,平素月经规律,颜色与量均正常,心肺腹部四肢脊柱等相关检查未见异常,否认家族遗传病史,已生育一健康男孩。此次妊娠为双胎妊娠,末次月经为:2016. 3. 10, NIPT 提示 7q21.11q21.3 三体,遂来我院进行遗传咨询,经医生建议行羊膜穿刺术,进行染色体核型分析、SNP array 分析以及 FISH 检测,同时对胎儿进行系统的超声检查。

1.2 细胞遗传学分析 对孕妇行羊膜穿刺术,分别抽取两个胎儿的羊水 20 ml, 1 500 rpm, 离心 10 min, 收集羊水细胞,进行常规培养;抽取孕妇夫妇、孕儿子以及孕妇父母的外周血,肝素钠抗凝,淋巴细胞培养。对羊水细胞和淋巴细胞进行常规染色体的制备,G 显带,镜检 30 个中期分裂相,分析 5 个核型。诊断标准参考 2016 年人类细胞遗传学国际命名体系(ISCN)。

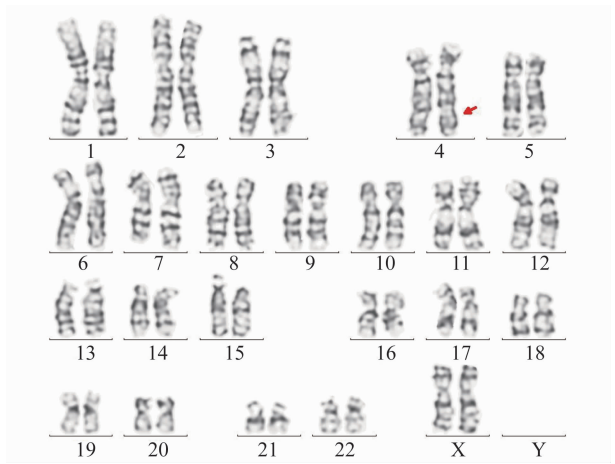
1.3 SNP array 分析 分别从羊水中胎儿脱落细胞和孕妇夫妇、儿子和父母的外周血中提取基因组 DNA,进行 SNP array 分析。DNA 提取采用 DNeasy 血液与组织提取试剂盒,之后将样本浓度调整到 50 ng/ μ l。使用人类全能四分体芯片和 Illumina BeadScan 基因分型系统来获取 SNP 探头的信号强度。这个芯片包含了超过 110 万个人类基因组的基因座。GenomeStudio V2011 软件用于分析基因型(人类基因组构建 37/Hg19 进行分析)并评价实验质量。样品的通过率超过了 99.5%。

1.4 荧光原位杂交(FISH)分析 FISH 分析使用的 3 个探针包括:4p16.3(2,156,895-2,351,734)、7q21.12(86,802,721-86,97,97,95,95,903)和 7p22.3(1,645,493-1,814,816)。用荧光显微镜对每条染色体的中期分裂相进行分析。

1.5 超声检查 孕妇孕 29 周时,进行胎儿系统超声检查,结果发现胎儿存在心内结构发育异常,于是进行了双胎的心脏彩超,结果提示双胎儿室间隔上段均探及连续中断,分别约为 3.1 mm、2.9 mm,并伴有双向分流信号,诊断为室间隔缺损。

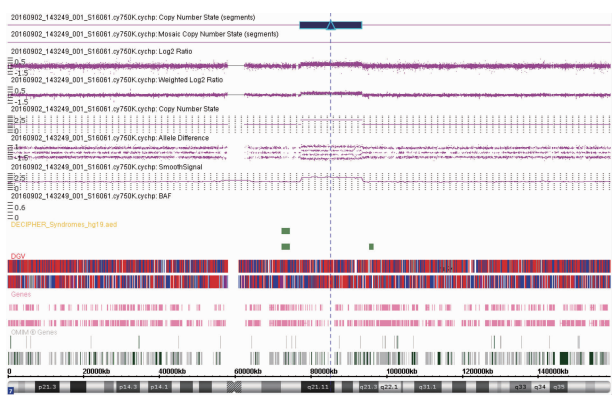
2 结果

羊水细胞的常规细胞遗传学分析结果显示:两个胎儿具有相同的核型,即 46,XN、der(4)in(4;?) (q31.3;?)(图 1);SNP array 结果显示:2 个胎儿都是 7q11.23q21.3(77,283,926-93,528,760)(图 2)三体。为了探究 7 q11.23q21.3 三体的来源,我们建议对孕妇和她的丈夫进行细胞遗传学和 SNP array 分析。孕妇的结果是 46,XX,der(4)ins(4;?) (q31.3;?),7 q11.23q21.3(77283926-93528760)×3(数据未显示),其丈夫相关检测未见异常。同时,我们又对孕妇的儿子及父母进行了细胞遗传学和 SNP array 分析。孕妇的儿子及其母亲拥有相同的核型和 SNP array 结果(数据未显示)。FISH 结果显示:重复的 7q11.23q21.3 片段插入到 4 号染色体的长臂上,产生了一条衍生的 4 号染色体(图 3)。胎儿



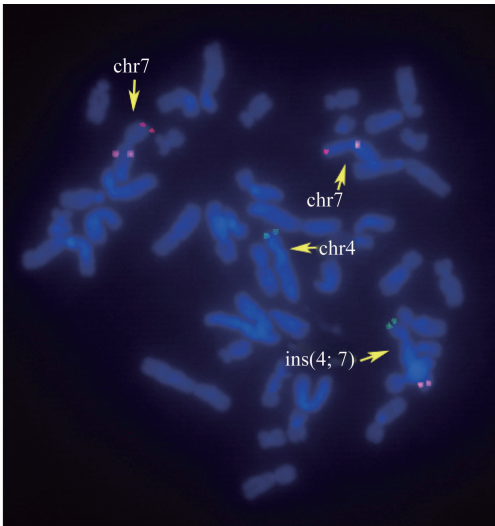
注:箭头所示衍生 4 号染色体插入的片段 7q11.23q21.3

图 1 胎儿的染色体核型



注:蓝色区域为 7q11.23q21.3 三体区域

图 2 胎儿的 SNP array 结果



注:红色荧光代表 7p22.3(1,645,493-1,814,816);橘黄色荧光代表 7q21.12(86,802,721-86,975,903);绿色荧光代表 4p16.3(2,156,895-2,351,734)

图 3 胎儿的 FISH 结果

心脏彩超显示:2 个胎儿室间隔上端均探及连续中断,分别约 3.1 mm、2.9 mm,提示室间隔缺失。

3 讨论

染色体异常分为结构异常和数目异常,其异常频率在正常人群中占 0.40%(1:250)~0.65%(1:154)^[2]。大约有 50%~60%的自然流产是由染色体异常引起的。传统的核型分析能够发现数目异常以及大片的缺失和重复,而微小片段的缺失和重复往往被漏诊。随着科技的进步,新的基因组技术的引入,包括 aCGH、SNP array,高通量测序技术等,微缺失、微重复的识别变得简单,为遗传咨询提供更多的遗传信息。然而伴随庞大信息量的检出,不确定的信息也越来越多,这需要在进行产前诊断时非常慎重,从多方面考虑检测结果与临床的相关性。有关 7 号染色体长臂部分三体的报道很多,其产生的原因是由染色体易位、倒置和复杂的重新排列引起的。Carpentier 等^[3]首次描述了 7 号染色体长臂部分三体的个案。Grace 等^[4]描述的一例 7q22q32 三体的患者,表现为额叶轴突、斜视、大耳朵和低张力。Vogel 等^[5]的一项研究中发现,在低出生体重、生长和智力发育迟缓、微颌、腭裂和白内障等患者中,存在 7q22 或 7q31-qter 三体的比例相

对较高。Romain 等^[6]描述的 7q22q31.2 三体的患者表现为发育迟缓、右肾发育不良、缺铁性贫血和轻度听力损失。虽然很多报道关于 7 号染色体长臂部分三体的患者有各种临床表型,但与本例重复的区段有所不同,且孕妇、孕妇儿子及孕妇母亲等家族中携带者的表型都正常,我们推测胎儿表型正常的可能性极高。因此并不建议孕妇终止妊娠。

室间隔缺损指室间隔在胚胎时期,由于室间隔肌部与心内膜垫及主动脉球形成的左、右球嵴相互融合异常形成,在心室水平产生左向右分流。室间隔缺损是最常见的先天性心脏病,发病率约为 12%~25%^[7]。据统计,在我国室间隔缺损的年发病率为 17.3‰^[8]。室间隔缺损受到遗传因素和环境因素的影响。既可以表现为单一的心脏缺陷,也可以伴随多种复杂的畸形。复杂的畸形难以治愈,但对于单一的心脏缺陷,应做到早发现、早诊断、早治疗。对于室间隔缺损不是很大者预后良好,其自然寿命甚至可达 70 岁以上;缺损小者有可能在 10 岁以前自行关闭。缺损较大者 1~2 岁时即可发生心力衰竭,有肺动脉高压者预后差。但如能及时手术治疗,一般可以达到和正常人无异的效果。因此,针对室间隔缺损的胎儿的产前诊断,一定要结合临床充分评估后,再进行遗传咨询,帮助患者做出最有利的选择。

在本研究中我们通过染色体核型分析、SNP array、FISH 和超声技术,不仅明确胎儿确实是 7q11.23q21.3 三体,同时明确三体的来源。结合家族中其他三体携带者表型,我们有理由相信胎儿正常的可能性极高,可以继续妊娠。孕 29 周的超声结果虽然提示胎儿存在室间隔缺损,基于缺损较小且未发现其他畸形,缺损可能会出于生后自行闭合,且目前心脏手术又非常成熟,缺损完全可通过手术修补。给予充分告知,患者同意继续妊娠。胎儿于 2016 年 11 月 29 日出生,生后生长发育正常,没有出现喂养困难、憋喘、发绀、反复肺炎等症状,双胞胎 1 岁 4 个月时彩超提示室间隔缺损,缺损大小分别为 3 mm、4 mm,于上级医院就诊,建议随访,待小儿 3 岁后进行手术治疗。

随着 SNP array 广泛应用于产前诊断,拷贝数

变异的检出率逐渐上升,尤其检测中发现的未知意义的(variant unknown significance, VUS) CNVs 一直是争论的焦点^[9]。从某种意义上来说,也许是目前对这些变异的研究比较少,即在临床上还不能确定这些变异与表型之间的相关性或者证据不足;这些变异也许可能是受到表型异质性影响的微缺失和微重复,所以也无法将此变异简单地推理为超声异常胎儿的致病原因。然而由于染色体结构异常的胎儿常含有致病性的遗传变异,所以检测发现的 CNV 即使当时无法解释,仍有可能是致病的原因,从这个角度上来说,排除家族性良性突变并给予家属合理的遗传咨询是非常必要的。

参 考 文 献

- [1] 刘翠云,孙瑞红,王艳,等. 外显子捕获测序技术用于室间隔缺损胎儿遗传学病因检测[J]. 现代妇产科进展, 2015, 12: 929-933.
- [2] Gilbert-Barnes E, Debitch-Spicer D. Embryo & Fetal pathology[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.
- [3] Carpentier S, Rethore MO, Lejeune J. Trisomie partielle 7q par translocation familiale t(7;12)(q22;q24) [J]. Ann Genet (Paris), 1972, 15: 283-286.
- [4] Grace E, Sutherland GR, Bain AD. Familial insertional translocation[J]. Lancet, 1972, 2(7770): 231.
- [5] Vogel W. New chromosomal syndromes[M]. New York: Academic Press, 1977: 185-95.
- [6] Romain DR, Cairney H, Stewart D, et al. Three cases of partial trisomy 7q owing to rare structural rearrangements of chromosome 7[J]. J Med Genet. 1990, 27: 109-113.
- [7] Porstmann W, Wierny L, Warnke H. Closure of persistent ductus arteriosus without thoracotomy[J]. German medical monthly. 1967, 12: 259.
- [8] Zhao QM, Ma XJ, Jia B, Huang GY. Prevalence of congenital heart disease at live birth: an accurate assessment by echocardiographic screening[J]. Acta Paediatr. 2013; 102: 397-402.
- [9] 安宇,吴柏林. 染色体微阵列芯片分析技术应用于产前诊断的关键问题探讨[J]. 国际生殖健康 / 计划生育杂志, 2014, 33(3): 157-162.

(收稿日期: 2019-02-26)

编辑: 宋文颖