

混合型母源 16 号染色体单亲二体与胎儿生长受限

王晔 纪媛君 周祎*

(中山大学附属第一医院 产科, 广东 广州 510080)

【摘要】 目的 探讨 2 例因“早发型胎儿生长受限”就诊的胎儿遗传学病因与表型之间的关联。**方法** 收集 2 例胎儿的临床资料并进行羊水细胞的核型分析和染色体微阵列分析, 后续抽取父母外周血确认纯合区域的来源。对其中 1 例病例胎盘的 3 处位点取样后进行荧光原位杂交分析, 推测单亲二体的可能发生机制。**结果** 2 例胎儿羊水细胞的染色体核型结果均正常, 微阵列分析结果提示存在 16 号染色体末端的纯合区域(regions of homozygosity, ROH), 长度分别为 6.97Mb(位于 16p13.3)和 16.42Mb(位于 16q22.3q24.3)。经过父母和胎儿的 snp 位点进行分析, 确定这 2 例胎儿为单亲同二体和单亲异二体的混合型母源 16 号染色体单亲二体[uniparental disomy 16, UPD(16)]。最后对其中 1 例胎儿胎盘 3 个部位取材样本的荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH)结果显示, 胎盘绒毛细胞中 16 号染色体三体比例占 95% 以上, 证实为限制性胎盘嵌合体。**结论** 母源性 16 号染色体单亲二体和胎儿生长受限表型的直接关联仍需要深入研究, 该表型可能是由于胎盘限制性嵌合三体所引起, 我们的结果为进一步理解 16 号染色体单亲二体对胎儿和胎盘的临床效应提供了新数据。

【关键词】 胎儿生长受限; 单亲二体; 染色体微阵列分析; 荧光原位杂交

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

Complex maternal uniparental disomy 16 and fetal growth restriction

Wang Ye, Ji Yuanjun, Zhou Yi*

Department of Obstetrics & Gynecology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

* Corresponding author: Zhou Yi, E-mail: zhouyi6@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Objective To identify the genetic cause for two Chinese fetuses with fetal growth restriction (FGR). **Methods** Chromosomal microarray analysis(CMA) was used to detect Region of homozygosity (ROH), while Fluorescence in situ hybridization (FISH) was used to identify chromosome abnormalities. **Results** In this study, we identified two intrauterine growth restricted fetuses carrying a maternal UPD 16 with segmental hetero- and isodisomy using the Affymetrix CytoScan HD SNP-array and the UPDtool. We also performed FISH to identify trisomy mosaicism of chromosome 16 (over 95 percent). We then explored the relationship between clinical abnormalities and UPD 16. **Conclusion** Considering UPD mechanism of potential impact on the function of the placenta, the genetic composition of chromosome 16, we think more studies are needed to further investigate the relationship between FGR and UPD16.

【Key words】 Fetal growth restriction; Uniparental disomy; Chromosomal microarray analysis; Fluorescent in situ hybridization.

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2020.04.008

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31801045); 广东省自然科学基金博士科研启动项目(2018A030310244)

* 通信作者: 周祎, zhouyi6@mail.sysu.edu.cn

单亲二体(uniparental disomy, UPD)是指个体的一对同源染色体上的部分片段或者整条均来源于双亲中的一方,而没有另一方染色体的存在。三体细胞自救和单体细胞的自身复制(单体自救)都可以产生单亲二体。UPD从形成机制来分主要分为单亲同二体(isodisomy, iUPD)及单亲异二体(heterodisomy, hUPD)及混合型3种。早期的研究表明UPD的发生率约为 $1/3500 \sim 1/5000$ ^[1],最近Nakka团队^[2]对440多万份样本研究后发现,UPD在活产儿中的发生率可达 $1/2000$ 。许多疑似遗传原因的胎儿和新生儿患者,经过常规临床实践的工作流程,如表型鉴别、影像学检查和生化检查,甚至病理活镜检查,最终都不能得到明确的诊断。未确诊的患者可能会错过潜在的治疗,以及无法评估后续妊娠的复发风险,这对家庭和我们的医疗系统都意味着巨大的负担。随着近年来染色体微阵列分析技术(chromosomal microarray analysis, CMA)在产前诊断领域的广泛使用,其对于染色体微缺失、微重复,特别是单亲二体等异常的检测,已经被证明是一种准确有效的诊断方法,也大大提高了UPD在产前胎儿中的检出率^[3, 4],使我们对于UPD在胎儿期的临床表现有了更多的认识。

目前明确涉及印记疾病的染色体有6、7、11、14、15、20号染色体^[5],此外,关于母源性UPD(16)的临床效应也有部分文献报道。在报道的为数不多的文献中,母源性UPD(16)的临床效应尚存争议,其中少部分病例表型完全正常,多数病例会出现胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR),少部分伴有其他系统结构畸形,但涉及的结构畸形不存在特异性^[6-10]。因此母源性UPD(16)本身和FGR的关联目前还无法得到明确的结论。我们国内的研究人员也曾经报道过几个母源性UPD(16)的病例^[11, 12],认为它和FGR的发生存在关联,但是他们并没有对胎盘进行检测来排除胎盘异常而引起FGR的可能性。

本研究中我们对2例早发型FGR的胎儿进行了遗传学相关检测。结果显示,2例胎儿的染色体核型为正常,染色体微阵列分析结果提示存在16号染色体末端的纯合区域(region of homozygosity,

ROH),长度分别为6.97Mb(位于16p13.3)和16.42Mb(位于16q22.3q24.3)。然后对父母进行分析后确定这2例胎儿为单亲同二体和单亲异二体的混合型母源UPD(16)。最后通过荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)对其中1例胎儿胎盘3个部位取样的胎盘绒毛细胞检测,结果发现3处组织中95%以上的细胞为16号染色体三体,证实为限制性胎盘嵌合体。我们进一步探索母源性UPD(16)和FGR的关联,推测母源性16号染色体单亲二体和胎儿生长受限表型的直接关联尚不明确。我们的研究为理解16号染色体单亲二体对胎儿和胎盘的临床效应提供了新数据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2名孕妇均为2019年在中山大学附属第一医院产前诊断中心就诊的病人,怀孕期间一直在我中心规律产检。2对夫妻均为中国汉族人,自述身体健康,个人无不良生活习惯,孕期前后未接触明显化工及其他有毒有害物质。胎儿父母非近亲结婚。本研究经患者及其家属同意,并获得中山大学附属第一医院伦理委员会的批准。2例病例的详细临床情况描述如下。

1.1.1 病例1 孕妇29岁,丈夫31岁,孕1产0,月经规律,周期30d,停经 8^{+6} 周时超声检测提示“宫内妊娠 8^{+} 周,胚胎存活”。停经 12^{+} 周时超声检测提示胎儿大小和孕周相符。停经 20^{+4} 周时超声检测提示“双顶径47mm,头围168mm,腹围138mm,股骨长28mm,胎儿估重267g,胎儿大小相当于 19^{+} 周”,脐动脉S/D4.11,腹围、股骨长及胎儿体质量估计均小于正常孕龄的第十位百分数。停经 22^{+3} 周时超声检测提示“双顶径54mm,头围188mm,腹围152mm,股骨长33mm,胎儿估重355g,胎儿大小相当于21周”,脐动脉S/D4.68,PI1.29,MCA-PSV36.6cm/s,PI1.22;头围、股骨长、腹围及胎儿体质量估计均小于正常孕龄的第十位百分数,诊断为早发型FGR”。孕妇CMV、RV、TOX IgM均为阴性。Acl的IgA、IgG、IgM均为阴性,自身免疫相关抗体ANA、ds-DNA、SS-A、SS-B均为阴性。孕妇未合并糖尿病、高血压等疾病,未行无创产前检测(non-

invasive prenatal testing, NIPT)。停经 23^{+3} 周时因早发型FGR行产前诊断羊水细胞学检查,G显带核型分析显示核型为46,XN。进一步用CMA技术对羊水细胞进行遗传学分析。结果显示16号染色体短臂末端存在染色体纯合区域,具体位置是16p13.3区段,长度约为6.97Mb(见图1A)。抽取父母外周血进行家系分析后确认胎儿16号染色体为混合型母源性单亲二体,给该夫妻进行了详尽的遗传咨询后,夫妻要求终止妊娠。孕妇于 27^{+4} 周行利凡诺引产,经孕妇知情同意引产时取胎盘3处样本行FISH检测16号染色体数目情况,引产儿未发现明显的结构畸形。大体病理提示胎盘大小 $12\text{cm} \times 10\text{cm} \times 1.5\text{cm}$,镜下病理提示胎盘见灶性钙化,胎膜未见明显炎症细胞浸润。

1.1.2 病例2 孕妇33岁,丈夫31岁,孕1产0,月经规律,周期28d,停经 8^{+4} 周时超声检测提示“宫内妊娠 8^{+} 周,胚胎存活”。停经 13^{+2} 周时超声检测提示胎儿宫内妊娠 12^{+1} 周。早孕期血清学筛查结果提示唐氏综合征高风险,风险率为1:32;18号染色体三体高风险,风险率为1:6。NIPT提示非整倍体均未低风险。孕 16^{+2} 周时超声检测提示“双顶径28mm,头围109mm,腹围77mm,股骨长16mm,胎儿估重98g,胎儿大小相当于 14^{+4} 周”,脐动脉舒张末期血流信号消失,双顶径、头围、腹围、股骨长及胎儿体重估计均小于正常孕龄的第十位百分数,诊断为“早发型FGR”。孕妇未合并糖尿病、高血压等疾病,未行感染、免疫相关检查。孕 17^{+3} 周时因“早发型FGR、唐筛高风险”行产前诊断羊水细胞学检查,G显带核型分析显示核型为46,XN。进一步用CMA技术对羊水细胞进行遗传学分析。结果显示16号染色体长臂末端存在染色体纯合区域,具体位置是16q22.3q24.3区段,长度约为16.42Mb(图1B)。抽取父母外周血进行家系分析后确认胎儿16号染色体为混合型母源性UPD,给该对夫妻进行了详尽的遗传咨询后,夫妻选择终止妊娠。孕妇于 20^{+5} 周行利凡诺引产,拒绝对胎盘做进一步遗传学分析,引产儿未发现明显的结构畸形。大体病理提示胎盘大小 $11.5\text{cm} \times 8\text{cm} \times 2.5\text{cm}$,镜下病理提示胎盘内未见明显钙化,胎膜内见较多中性粒细胞浸

润,其余未见异常。

1.2 标本采集 经过知情同意,母亲在超声引导下进行羊膜腔穿刺抽取羊水,抽取孕妇羊水20ml,其中10ml接种羊水培养基培养后,按本科室常规制成G显带染色体玻片标本;10ml用于提取基因组DNA进行染色体微阵列分析。抽取孕妇和丈夫外周血3ml用于提取基因组DNA进行染色体微阵列分析,对16号染色体纯合区域行家系分析。采用QIAGEN的QIAamp DNA Mini kit提取DNA试剂盒提取外周血和羊水的DNA。操作过程按照试剂盒说明书进行。提取的DNA于 -20°C 保存待检。

1.3 方法

1.3.1 染色体核型分析 无菌环境下将羊水离心弃上清,保留管中约0.5ml羊水细胞层,滴管打均匀后分别接种至2个50ml培养瓶底部,再沿着培养瓶边缘注入3.5~4.5ml的2种不同的羊水培养液, 37°C 5% CO_2 恒温培养箱培养。6~7d后更换培养液,并在倒置显微镜下观察细胞生长情况,在瓶底出现若干形态较好的梭形克隆,传代后继续培养并持续观察,在合适时终止培养。加入 $50\mu\text{g/ml}$ 秋水仙素,继续培养2.5h,将培养的细胞悬液2000 r/min($r=12\text{cm}$)室温离心,分离的细胞加入 0.075mol/L KCl低渗固定,胰蛋白酶消化及Giemsa染色,染色体片经G显带,进行细胞遗传学分析,每个样本计数20个分裂相,至少分析5个分裂相。按细胞遗传学命名国际体制(International system for cytogenetics nomenclature 2016, ISCN 2016)进行染色体核型分析和命名。

1.3.2 染色体微阵列分析技术 应用Qiagen Blood DNA mini kit提取外周血基因组DNA,选用CytoScan™ HD (Affymetrix, USA)芯片,包含约270万个标志物,同时涵盖SNP标志物约75万个及非多态性标志物约195万个,按Affymetrix提供的操作手册,进行限制性酶消化、连接、PCR扩增反应、PCR产物检测、PCR产物纯化、纯化产物定量、片段化、片段化产物标记、杂交、洗涤、染色和扫描,然后用Chromosome Analysis Suite (ChAS)软件行全基因组拷贝数分析。选择大于100 kb且大于

50 个以上连续可信探针的拷贝数变异 (copy number variation, CNV) 区域, 依据美国医学遗传学和基因组学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 指南对数据的临床意义解读分为 5 类: 致病性、可能致病性、临床意义不明、可能良性以及良性变异; 对于 SNP 探针提示的 ROH 区域, 选择大于 10Mb 的片段或者大于 5Mb 位于染色体末端的片段。常用参考的患者数据库包括但不限于 ClinVar、DECIPHER、OMIM、GeneReview、UCSC、基因变异的数据库 (Database of Genomic Variants, DGV), 并通过 PubMed 等文献搜索对检出的 CNV 进行分析。对于检测到的 ROH, 使用 UPDtool 来进行胎儿该区域的亲缘鉴定和 UPD 来源区分^[13]。

1.3.3 荧光原位杂交 引产胎儿的胎盘去除蜕膜后用生理盐水清洗干净, 在胎儿面胎盘绒毛取三个部位进行荧光原位杂交分析。将制备完成的细胞片于 60℃ 烤 20~30min, 2×SSC 中浸泡 5min, 然后向杂交区域加入 10μl 配好的探针, 加盖玻片 (20mm×20mm), 封片胶封固。于杂交仪上进行变性和杂

交。杂交完成后去除封片胶并移去盖玻片, 于 73℃ 预热的 0.3% NP40/1×SSC 溶液中孵育 2min, 室温 0.1% NP40/2×SSC 中处理 2min, 使用 75%、85%、95% 乙醇各依次处理 1min 后室温晾干, 加 10μl 4',6-二脒基-2-苯基吡啶复染液, 室温 10min 后镜下观察分析结果。用 OLYMPUS BX51 荧光显微镜下进行观察, 用 CytoVision 软件分析影像, 计数分析至少 200 个细胞。

2 结果

2.1 羊水细胞的染色体核型和染色体微阵列分析结果 2 例胎儿的染色体核型结果均为 46, XN。2 例胎儿的染色体微阵列分析结果未发现具有明确临床致病意义的非整倍体和拷贝数目变异, 但是 SNP 探针信号提示胎儿 1 的 16 号染色体短臂末端 (16p13.3, chr16:89560_7064036) 有 1 个 6.97Mb 的染色体 ROH 区域 (图 1A); 胎儿 2 的 16 号染色体长臂末端 (16q22.3q24.3, chr16:73738443_90163275) 有 1 个 16.42 Mb 的染色体 ROH 区域 (图 1B)。

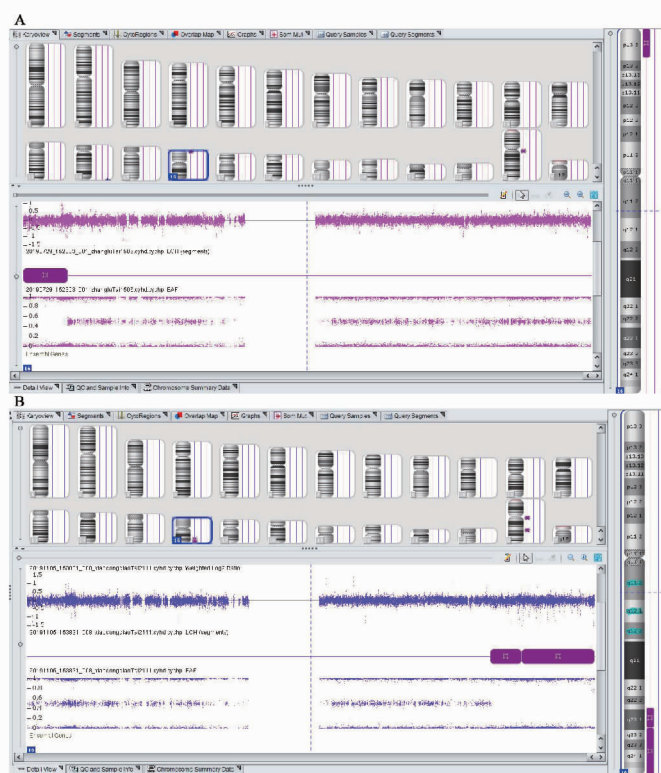


图 1 2 例胎儿羊水细胞的染色体微阵列分析提示 16 号染色体末端存在纯合区域

ROH 的形成一般是由于血缘一致性或者 UPD 的原因,由于该 ROH 区域位于 16 号染色体末端且片段长度较大,结合胎儿早发型宫内生长受限的表型,高度怀疑胎儿 16 号染色体为单亲二体,因此进一步抽取胎儿父母的外周血进行染色体微阵列分析。使用 UPDtool 软件对父母和胎儿的染色体微阵列中的 SNP 信号进行家系分析,结果显示胎儿 1 的 16 号染色体是母源性单亲二体,并且为母源性单亲同二体(isodisomy, iUPD)和母源性单亲异二体(heterodisomy, hUPD)的混合(见图 2A),母源性 iUPD 位于 16p13.3 短臂末端区域,长度为 6.97Mb;母源性 hUPD 位于 16p13.3q24.3 区域,长度为 83.2Mb;胎儿 2 的 16 号染色体也为母源性

单亲二体,并且为母源性单亲同二体(iUPD)和母源性 hUPD 的混合(图 2B),母源性 iUPD 位于 16q22.3q24.3 长臂末端区域,长度为 16.42Mb;母源性 hUPD 位于 16p13.3q22.3 区域,长度为 73.75Mb。

2.2 胎盘的荧光原位杂交结果 对胎儿 1 的胎盘 A、B、C 3 个不同部位取材进行荧光原位杂交分析,使用的为 16 号染色体着丝粒探针(CEP16),探针荧光颜色为红色,在 A 处取材计数的 200 个胎盘绒毛细胞中,显示 3 个红色信号的细胞占比约为 95%,并且在 B、C 处取材进行的荧光原位杂交分析中,3 个红色信号的细胞占比均大于 95%(图 3)。我们从胎盘 A、B、C 3 个部位的结果推测,胎盘绒毛细胞中 16 号染色体三体细胞应该占据很高的比例,这也提示该例胎儿存在限制性胎盘嵌合体(confined placental mosaicism, CPM)的现象。

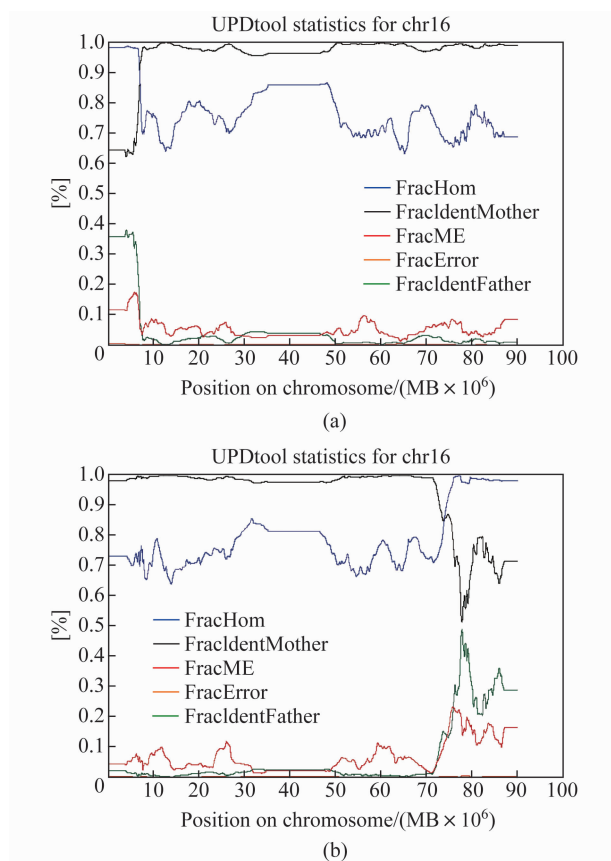


图2 UPDtool 软件提示胎儿 1 和 2 中 16 号染色体为混合型母源性 UPD(16)

FracHom:蓝色线,数值代表在 1K 的窗口分辨率下纯合基因型的比例;FracME:红色线,数值代表在 1K 的窗口分辨率下发生孟德尔错误的概率;FracIdentFather:绿色线,数值代表在 1K 的窗口分辨率下等位基因的基因型和父亲相同的比例;FracIdentMother:黑色线,数值代表在 1K 的窗口分辨率下等位基因的基因型和母亲相同的比例(有关本图的更详细说明,请参阅本文的全文)

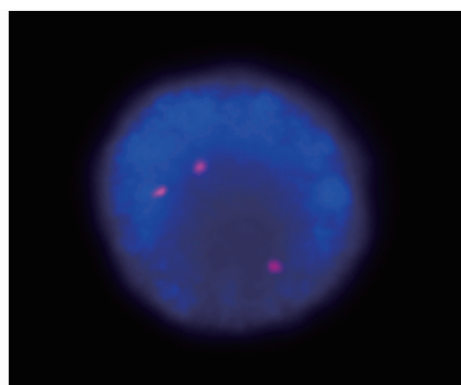


图3 胎儿 1 胎盘绒毛细胞的荧光原位杂交结果提示为 16-三体

3 讨论

FGR 是导致围产儿患病和死亡的重要原因,还可能带来远期的不良结局。国际上对于 FGR 的定义至今尚无统一的“金标准”,2019 年中华医学会妇产科学会共识^[14]对于 FGR 的定义为,受病理因素(母体、胎儿、胎盘疾病)影响,胎儿生长未达到其应有的遗传潜能,多表现为胎儿超声估测体重或腹围低于相应胎龄第 10 百分位。目前美国、英国、加拿大等国家的临床指南均以超声检查作为诊断 FGR 的金标准^[15],诊断早发型 FGR(孕周<32 周)有 3 个充分条件:①腹围<第 3 百分位数;②估测胎儿体重<第 3 百分位数;③脐动脉舒张末期血流消失;满足 3 个充分条件之一或满足腹围或估测胎儿体重<

第10百分位数,且同时满足脐动脉或子宫动脉搏动指数>第95百分位数即可诊断早发型FGR^[16]。早发型FGR从理论上说更有可能是由于胎儿或胎盘本身的遗传学改变所引起。

FGR的病因是多方面的,包括母体原因、胎儿原因和子宫胎盘血管功能不全原因三方面,病因之间的重叠并不少见。母体因素包括妊娠合并症及并发症(如妊娠期高血压、胰岛素依赖型糖尿病、严重肾脏疾病引起的血管病变)、先天性或获得性易栓症、营养不良、吸烟等。25%~30%的FGR病例与母体血管疾病相关的子宫胎盘灌注减少有关,它是非异常胎儿最常见的病因。胎盘植入和附着的结构异常和改变也可能涉及到FGR的病因学,包括双叶胎盘、绒毛膜血管瘤、脐带绒毛插入和单脐动脉等。胎儿原因中包括非遗传因素(主要是宫内感染)和遗传因素,遗传因素中包括:①染色体异常,特别是13、18和21染色体三体中的染色体异常,这些占FGR病例的5%~20%,尤其是早期FGR病例;②染色体拷贝数目变异,如22q11.2缺失综合征、Silver-Russell综合征、猫眼综合征等综合征;③单基因遗传病,如IGF1基因突变引起的发育迟缓伴耳聋和智力低下,NIPBL基因突变引起的Cornelia de Lange综合征1型,RNU4ATAC基因突变引起的Roifman综合征等。

本研究发现的2例混合型单亲二体病例,分别在16p13.3和16q22.3q24.3区域有单亲同二体区域存在,这可能会引起染色体隐性遗传致病基因的暴露,如果这两个区域中有影响胎儿生长发育的基因存在,那么单亲二体导致FGR的作用机制也可能与这个基因的显性化有关。在第一例胎儿中,单亲同二体存在位于染色体短臂末端16p13.3,长度是6.97 Mb,我们在该区域发现2个和胎儿生长受限相关的基因:NDUFB10和ALG1,分别可引起常染色体隐性遗传的线粒体复合体I缺陷35型(OMIM#619003)和先天性糖基化障碍1K型(OMIM#608540)在这个区域,但这些综合征往往伴有胎儿非免疫水肿、心肌病、肝脾肿大、小头畸形和肺发育不全等其他系统的异常。在第二例胎儿中,单亲同二体存在位于染色体长臂末端16q22.3q24.3,长度是

16.42 Mb,我们在该区域发现4个和FGR相关的隐性基因,其中CDK10可引起Al Kaissi综合征(OMIM#617694),主要表现为宫内发育迟缓、严重肌张力减退和面部畸形;CDT1可引起Meier-Gorlin综合征4型(OMIM#613804),主要表现为FGR和小头畸形;CTU2可引起小头畸形-面部畸形-肾脏发育不良-生殖器性别不清综合征(OMIM#618142),主要表现为FGR、严重小头畸形伴胼胝体发育不全、小颌畸形、肾脏发育不良、先天性心脏病和生殖器异常;RFWD3可引起范可尼贫血(OMIM#617784),主要表现为FGR、十二指肠闭锁、拇指缺失、肾发育不良和多脾。目前,母源性UPD(16)影响胎儿生长的作用机制仍不清楚,推测可能与印记基因的作用或常染色体隐性遗传致病基因的暴露有关,上述FGR相关的隐性基因疾病大多伴有其他系统的畸形,而本研究的2例病例均只表现为早发型FGR,故我们从表型上推测可能未出现隐性致病基因的暴露,但由于我们未行区域内基因测序故无法完全排除此种情况的存在。

随着诊断技术水平的提高,越来越多的UPD病例被报道。早期的研究表明UPD的发生率约为1/3500~1/5000^[1]。而实际上UPD的发生率可能更高,因为可能某些类型的UPD严重影响胚胎的生长发育而导致早期流产,但很少有研究者对流产产物进行UPD筛查,此外有些类型的UPD患者可无任何异常临床表型,如UPD2。最近Nakka等^[2]对440多万份样本研究后发现,UPD在活产儿中的发生率可达1/2000。其中母源性UPD(maternal uniparental disomy, mUPD)的发生率约是父源性UPD(paternal uniparental disomy, pUPD)的3倍,其遗传方式并不遵循传统的孟德尔遗传^[19]。几乎所有的染色体都有UPD的报道,但18号染色体UPD(18)和UPD(19)发生率很低,推测可能是由于具有较强的胚胎致死性,而报道最多的是UPD(15)。

目前明确涉及印记疾病的染色体有6、7、11、14、15、20号染色体^[5],此外关于母源性16号染色体单亲二体的临床效应也有部分文献报道。在报道的位数不多的文献中,母源性UPD(16)的临床效应尚存争议,其中少部分病例表型完全正常,多数病例

会出现宫内生长受限,少部分伴有其他系统结构畸形(如心脏结构畸形、神经系统异常、肛门闭锁等),但是报道的结构畸形又缺乏特异性。而且,若胎儿为 UPD(16),通常提示可能还存在胎儿 16 三体低比例嵌合体或限制性胎盘 16 三体嵌合体,这些嵌合体可能增加妊高症、子痫前期、早产、低出生体重儿及新生儿 ICU 入住率增加等围产期并发症风险^[6-8]。本研究发现的 2 例混合型母源单亲二体病例,分别在孕 19⁺ 周和 16⁺ 周时开始出现 FGR,第二个病例出现表型的时间很早,结合第二个病例 16 周时脐动脉舒张末期血流信号消失,推测可能由于胎盘功能减低加重了第二个病例 FGR 的严重程度。

目前对于 mUPD(16)本身是否是导致 FGR 的原因还存在很大的争议,主要难点在 UPD(16)本身常伴有胎儿自身 16 号染色体三体低比例嵌合或 16 号染色体三体限制性胎盘嵌合体,在分析 UPD 自身的效应时很难排除以上这些因素的干扰。在 UPD(16)形成的三体补救过程中^[20],会有相当数量的二体和(或)三体嵌合体存在。我们取自胎盘的 3 处绒毛细胞 FISH 结果显示 16 号染色体三体占绝大部分比例,也证实了上面这些推测。CPM 主要是指染色体嵌合体仅存在于胚外组织胎盘绒毛组织,而未存在于胎儿组织细胞中,故对胎儿细胞的直接检测,包括 G 显带染色体核型分析和微阵列分析中染色体数目显示为正常。母源性 UPD(16)常和 CPM 同时存在,CPM 引起的胎盘结构异常,会影响胎儿的血液供应,从而导致营养不足和 FGR^[21]。但一般认为,CPM 不会引起胎儿结构的畸形,且发生严重 FGR 的病例中往往有 CPM 和 UPD 的共存,从而推断 UPD 对胎儿生长发育可能有相当程度的影响^[22],本研究中的 2 个病例结果也支持这一观点,我们推测 FGR 可能并不是母源性 UPD(16)本身直接引起的,而是由于胎盘的异常嵌合体所造成。

本研究中我们对 2 例早发型 FGR 的胎儿进行了遗传学相关检测,首先通过染色体核型分析和 CMA 检测孕妇羊水细胞,结果发现 2 例胎儿羊水细胞的染色体核型均正常,CMA 结果提示存在 16

号染色体末端的 ROH 区域,长度分别为 6.97Mb(位于 16p13.3)和 16.42Mb(位于 16q22.3q24.3)。经过父母和胎儿的 SNP 位点进行比对,确定这 2 例胎儿为 iUPD 和 hUPD 的混合型母源 UPD(16)。最后对其中 1 例胎儿胎盘 3 个部位取材样本的 FISH 结果显示,胎盘绒毛细胞中 16 号染色体三体比例占 95%以上,证实为 CPM。我们的结果提示母源性 16 号染色体单亲二体和 FGR 表型的直接关联尚不明确,表型可能是由于胎盘限制性嵌合三体所引起,mUPD(16)的表型效应仍需要更多的证据来进行研究,我们的结果对胎儿父母未来的生育指导和产前诊断具有重要意义,为理解 16 号染色体单亲二体对胎儿和胎盘的临床效应提供了新数据。

参 考 文 献

- [1] LIEHR T. Cytogenetic contribution to uniparental disomy (UPD)[J]. *Mol Cytogenet*,2010,3:8.
- [2] NAKKA P, PATTILLO SS, O'DONNELL-LURIA AH, et al. Characterization of prevalence and health consequences of uniparental disomy in four million individuals from the general population[J]. *Am J Hum Genet*,2019,105(5):921-932.
- [3] LEVY B, WAPNER R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis[J]. *Fertil Steril*,2018,109(2):201-212.
- [4] WAPNER RJ, MARTIN CL, LEVY B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis[J]. *N Engl J Med*,2012,367(23):2175-2184.
- [5] DEL GD, SHINAWI M, ASTBURY C, et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)[J]. *Genet Med*,2020,22(7):1133-1141.
- [6] GRATI FR, FERREIRA J, BENN P, et al. Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA[J]. *Genet Med*,2020,22(2):309-316.
- [7] SPARKS TN, THAO K, NORTON ME. Mosaic trisomy 16: what are the obstetric and long-term childhood outcomes?[J]. *Genet Med*,2017,19(10):1164-1170.
- [8] SCHEUVENS R, BEGEMANN M, SOELLNER L, et al. Maternal uniparental disomy of chromosome 16 [upd(16)mat]: clinical features are rather caused by (hidden) trisomy 16 mosaicism than by upd(16)mat itself[J]. *Clin Genet*,2017,92(1):45-51.
- [9] SCHEUVENS R, BEGEMANN M, SOELLNER L, et al.

- Maternal uniparental disomy of chromosome 16 [upd(16)mat]: clinical features are rather caused by (hidden) trisomy 16 mosaicism than by upd(16)mat itself[J]. Clin Genet, 2017,92(1):45-51.
- [10] EGGERMANN T, CURTIS M, ZERRES K, et al. Maternal uniparental disomy 16 and genetic counseling: new case and survey of published cases[J]. Genet Couns, 2004,15(2):183-190.
- [11] XIE Y J, HU Z Y, LIN L H, et al. Chromosomal uniparental disomy 16 and fetal intrauterine growth restriction[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2017,211:1-7.
- [12] 邓妮,尹玉竹,郝秀兰,等. 部分型母源性 16 单亲二体型与均称型胎儿生长受限[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2013, 34(06):883-887.
- [13] SCHROEDER C, STURM M, DUFKE A, et al. UPDtool: a tool for detection of iso- and heterodisomy in parent-child trios using SNP microarrays[J]. Bioinformatics, 2013, 29(12):1562-1564.
- [14] 中华医学会围产医学分会胎儿医学学组,中华医学会妇产科学分会产科学组. 胎儿生长受限专家共识(2019 版)[J]. 中华围产医学杂志, 2019(6):361-380.
- [15] LAUSMAN A, KINGDOM J. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management[J]. J Obstet Gynaecol Can, 2013,35(8):741-748.
- [16] 谢红宁. 胎儿生长发育受限的超声诊断与监测[J]. 中国医学影像技术, 2019,35(10):1582-1585.
- [17] NARDOZZA LM, CAETANO AC, ZAMARIAN AC, et al. Fetal growth restriction: current knowledge [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 295(5):1061-1077.
- [18] LIN CC, SANTOLAYA-FORGAS J. Current concepts of fetal growth restriction: part I. Causes, classification, and pathophysiology[J]. Obstet Gynecol, 1998, 92(6):1044-1055.
- [19] QUINTANA A, GARABEDIAN MJ, WALLERSTEIN RJ. Antenatal detection of maternal uniparental disomy of chromosome 2 in a fetus with non-chromosomal, non-syndromic alobar holoprosencephaly[J]. Am J Med Genet A, 2014, 164A(1):276-278.
- [20] GRATI FR, MALVESTITI F, BRANCA L, et al. Chromosomal mosaicism in the fetoplacental unit[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017,42:39-52.
- [21] SPINELLA F, FIORENTINO F, BIRICIK A, et al. Extent of chromosomal mosaicism influences the clinical outcome of in vitro fertilization treatments[J]. Fertil Steril, 2018, 109(1):77-83.
- [22] YONG PJ, BARRETT IJ, KALOUSEK DK, et al. Clinical aspects, prenatal diagnosis, and pathogenesis of trisomy 16 mosaicism[J]. J Med Genet, 2003, 40(3):175-182.

(收稿日期:2020-10-12)

编辑:熊诗诣