

# 5p15 缺失综合征合并 4q32 重复 1 例临床分析与基因诊断

刘舒<sup>1\*</sup> 韦思思<sup>1</sup> 张也<sup>1</sup> 欧阳海梅<sup>2</sup> 梁金群<sup>1</sup> 陈暖<sup>1</sup>

陆鹤云<sup>1</sup> 曾伟宏<sup>1</sup> 江剑辉<sup>1</sup>

(1. 广东省妇幼保健院 儿童遗传代谢与内分泌科, 广东 广州 511442; 2 广东省妇幼保健院 医务科, 广东 广州 511442)

**【摘要】** 目的 探讨 5p15 缺失综合征合并 4q32 重复的临床特征及分子遗传学特点。方法 回顾分析 1 例 5p15 缺失综合征合并 4q32 重复患儿的临床资料以及分子遗传学分析资料。结果 10 月龄女性患儿, 具有特殊面容、发育迟缓、先天性心脏病及喉软骨发育不良等临床表现。全外显子测序和染色体组拷贝数分析精确定位拷贝数异常改变的染色体片段区域, 检出患儿在 5p15. 33p15. 1 区域 16 843kb 的杂合缺失变异, 以及 4q32. 2q35. 2 区域 26701kb 的重复变异。患儿父母临床表型正常, 基因检测未见异常。结合临床表现及各检测结果确诊患儿为 5p15 缺失综合征合并 4q32 重复。结论 5p15 缺失综合征即猫叫综合征, 最常见的临床表型是智能障碍、生长发育迟缓、小头畸形、先天性心脏病、脑积水等。4q32 重复综合征报道非常少, 表现为发育迟缓和畸形面容。患儿具有 5p15 缺失综合征典型临床表现, 同时存在 4q32 重复综合征的临床特点, 染色体 5p15 缺失合并 4q32 重复是其致病原因。对于生长发育迟缓合并多器官异常者应行全外显子测序和染色体组拷贝数分析, 并结合临床特征、影像学、生化检查等, 可有效确诊。

**【关键词】** 发育迟缓; 5p15 缺失综合征; 4q32 重复综合征; 全外显子测序; 染色体组拷贝数分析

**【中图分类号】** R714. 55 **【文献标识码】** A

## Clinical and pedigree genetic analysis of a patient with 5p15 deletion and 4q32 duplication syndrome

Liu Shu<sup>1\*</sup>, Wei Sisi<sup>1</sup>, Zhang Ye<sup>1</sup>, Ouyang Haimei<sup>2</sup>, Liang Jingqun<sup>1</sup>, Chen Nuan<sup>1</sup>, Zeng Weihong<sup>1</sup>, Jiang Jianhui<sup>1</sup>

1. Children Inherited Metabolism and Endocrine Department, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, China; 2. Medical Service Department, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, China

\* Corresponding author: Liu Shu, E-mail: shmicy@163.com

**【Abstract】** **Objective** Clinical and molecular genetic study of 5p15 deletion and 4q32 duplication in a new case. **Methods** The clinical data and molecular genetic analysis data of a child with 5p15 deletion and 4q32 duplication syndrome were retrospectively analyzed. **Results** A 10-month-old girl had clinical manifestations of special facial features, developmental delay, congenital heart disease, and laryngomalacia. Whole exome sequencing and copy number analysis showed the deletion of 16843kb in 5p15. 33p15. 1 region and the duplication of 26,701kb in 4q32. 2q35. 2 region. Phenotype and Genotype of the parents were normal. Based on the combination of clinical manifestations and various test results, the

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2021.01.006

基金项目: 广东省中医药局科研项目(20211046)

\* 通信作者: 刘舒, E-mail: shmicy@163.com

child was diagnosed with 5p15 deletion and 4q32 duplication syndrome. **Conclusion** A child with characteristic manifestation of 5p15 and 4q32 syndrome was diagnosed using next generation sequencing, and the pathogenic deletion and duplication underlined the disease in this patient. Clinical features, imageological and biochemical examinations, and next-generation sequencing technology in combination can effectively diagnose this syndrome.

**【Key words】** Developmental retardation; 5p15 deletion syndrome; 4q32 duplication syndrome; Whole exome sequencing; Copy number variation.

5p 缺失综合征,又叫猫叫综合征(Cri du Chat syndrome, CDCS, OMIM # 123450),是由人类 5 号染色体短臂(5p15 为核心区域)缺失所引起,是临床上相对少见的常染色体缺失综合征,由 Lejeune<sup>[1]</sup>于 1963 年首次报道,其发生率在新生婴儿中约为 1/15 000~1/50 000,在智力障碍人群中,可达 1:350<sup>[2]</sup>。典型猫叫综合征患者的临床表型包括出生后严重生长发育迟缓、猫叫样哭声、小头畸形、满月脸、宽眼距、内眦赘皮、大鼻梁、低耳位、小下颌、高额弓、低出生体重、严重的智力落后等,并可能伴有先天性心脏病等多种表型改变<sup>[3,4]</sup>。4q32 重复常发生以智力及生长发育障碍、面容异常为主的一系列症状,根据染色体重复区域的大小不同,临床表现有所不同<sup>[5,6]</sup>。本文通过对 1 例 5p15 缺失综合征合并 4q32 重复综合征患儿的临床特点与分子遗传学分析,结合多种检测技术相互验证,明确病因,为临床诊断、预后评估及针对性遗传咨询提供有效依据。

## 1 材料与方法

1.1 临床资料 患儿女,2020 年 2 月首次到广东省妇幼保健院儿童遗传代谢与内分泌科门诊就诊,主诉为出生后发现体格发育和运动发育落后。首次就诊时年龄为 1 岁 2 个月,临床表现为不能独坐,不愿翻身,不能爬,无有意义发音,时具有特殊面容。门诊拟诊“生长发育迟滞,遗传代谢病?”。入院后对患儿进行相关检查。患儿女, G1P1, 2018 年 10 月出生,孕 37 周顺产。患儿出生体重 2.15kg,体长 45cm,出生时无窒息, Apgar 评分 10 分,喂养正常。运动发育史:现仍不能独坐,不愿翻身,不能爬;语言发育史:无有意义发音,对外界刺激反应差。体格检查:营养不良貌,特殊面容表现,如小头畸形、满

月脸、宽眼距、内眦赘皮、大鼻梁、招风耳、低耳位、双侧耳廓外侧可见肉赘(副耳)、小下颌、高额弓等(图 1);患儿哭声似猫叫。父母籍贯广东广州,非近亲婚配;否认家族遗传病史。



图 1 患儿体格检查

A. 患儿正面照,可见小头畸形、满月脸、宽眼距、大鼻梁、招风耳、低耳位;B. 患儿侧面照,可见前额突出、低耳位、耳廓外侧可见肉赘(副耳)

## 1.2 辅助检查

1.2.1 常规检查 患儿入院后除了进行肝肾功能、心肌酶谱、电解质、血常规等检查外,还进行血糖、血氨、微量元素、血气分析、铁蛋白、血脂、甲状腺功能等代谢相关检查;同时进行了小儿心脏彩超检查以及遗传代谢病血串联质谱和尿液气相质谱检测。

1.2.2 全外显子组基因检测 本研究通过了广东省妇幼保健院医学伦理委员会审查批准,征得患儿父母的知情同意。抽取患儿静脉血 5ml,采用 Blood DNA Kit V2 CW2553 血液提取试剂盒提取血液 DNA,运用第二代基因测序技术进行分析。DNA 全基因组文库的制备:利用 KAPA Library Preparation Kit (Illumina platforms): KR0453-

v3.13 取 750ng DNA 样本进行超声波打断,得到 150-200 bp 的 DNA 片段。将片段末端补平后用 AMPure XP 纯化磁珠纯化,纯化后的 DNA 片段两端加 A 碱基(A-Tailing)并连接接头,连接后产物进行 8 个循环的 PCR 扩增。DNA 样本捕获:在 Agilent SureSelectXT2 Target Enrich System 反应系统内对真空浓缩 DNA 文库样本进行杂交捕获。杂交混合液在 65℃ 环境下孵育 24h。而后加入 DynabeadsMyOne Streptavidin T1 (Invitrogen)。杂交捕获后的产物进行 PCR 扩增,13 循环。PCR 产物采用 AgencourtAMPure XP 纯化磁珠进行纯化并用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 进行定量。高通量测序:取捕获后的 DNA 样本进行 Illumina novaseq 高通量测序。测序数据经 Illumina Sequence Control Software(SCS)评估合格后,进行数据读取和生物信息学分析。

1.2.3 拷贝数变异测序(copy number variation sequencing,CNV-seq) 将 750 ng DNA 样本进行超声打断,获得平均大小为 200~300 bp 的 DNA 片段,采用 KAPA Library Preparation Kit 试剂盒构建 DNA 文库。取构建好的 DNA 文库样本进行 Illumina NovaSeq 高通量测序。将高质量的双端测序 reads 利用 Burrows-Wheeler Aligner 工具比对到 UCSC 数据库的人类参考基因组序列。以 50kb 为预设窗口,每次调整量为 5kb。每个窗口进行 GC 和人口模型两步校正,去除异常窗口后计算每个窗口的 copy ratio 跟参考集之间的标准差,标准差小于 0.15 则认为通过质控,然后用软件确定断裂点,得到最终的 CNV 区段大小和其 copy ratio 值。

## 2 结果

### 2.1 临床结果

2.1.1 常规检查结果 患儿常规生化检查和血液、尿液的串联质谱检查显示结果无明显异常,排除常见氨基酸、有机酸和脂肪酸代谢异常相关遗传代谢性疾病。

2.1.2 影像检查结果 彩色超声心动图检查提示:房间隔缺损。

### 2.2 全外显子组基因测序及 CNV-seq 全外显子

组基因测序提示:5p15. 33p15. 1 (chr5: 92294-16935982)×1,即 5 号染色体短臂大约 16843kb 的杂合缺失,及 4q32. 2q35. 2 (chr4: 164246454-190948359)×3,即 4 号染色体长臂大约 26701kb 的重复。CNV-seq 结果与全外显子组基因测序结果一致(图 2)。上述拷贝数变异为致病性变异,且 4q32. 2q35. 2 重复在 Decipher 致病数据库中未见报道,而 dbvar 病例数据库中有与该区域相似重复片段的病例报道(病历号: nsv932361,区域: chr4: 161678851-191012562×3,病例临床表型:发育迟缓(或)其他重要的发育或形态学表型。父母 DNA 测序未发现相应变异,提示该变异为新生致病性变异。

## 3 讨论

本研究中,我们应用全外显子组基因测序及 CNV-seq 发现:患儿存在 5p15. 33p15. 1 区域 16843kb 的杂合缺失(chr5:92294-16935982),以及 4q32. 2q35. 2 区域 26701kb 的重复(chr4: 164246454-190948359)。其中,5p15. 33p15. 1 缺失区域包含了猫叫综合症的致病关键区域,即 5p15. 2 (与猫叫综合症临床症状相关区域)及 5p15. 3(典型猫叫样哭声相关区域),这其中约有包含 *hTERT* 基因在内的 100 多个基因位于关键区域内<sup>[7,8]</sup>。*hTERT* 基因位于 5p15. 33,主要编码端粒酶的催化亚基,是维持人体类端粒酶活性的必需成分;而端粒酶则在保持端粒稳定、基因组完整、细胞活性、造血干细胞和生殖细胞潜在增殖能力等方面有重要作用<sup>[9,10]</sup>。研究证实,猫叫综合症患者均存在 *hTERT* 等位基因的纯合缺失,而 *hTERT* 基因拷贝的杂合缺失,被认为是导致猫叫综合症的原因或者主要因素,是导致猫叫综合症表型改变的重要遗传因素<sup>[7]</sup>。另外,4q32. 2q35. 2 区域拷贝数重复主要表现为生长发育迟缓和特殊面容。本例患者,具有猫叫综合症大部分典型临床表现,如:运动发育落后、语言发育落后、猫叫样哭声、体格检查异常包括小头畸形、满月脸、宽眼距、内眦赘皮、大鼻梁、招风耳、低耳位、小下颌、高额弓等;但某些临床表现并未发现,如耳聋、白内障、性腺发育不良等。综上考虑,患儿的异常临床表现,为 5p15. 33p15. 1 区域杂合缺失和

4q32.2q35.2 区域重复综合效应所致。该病例在国内尚属首次报道。

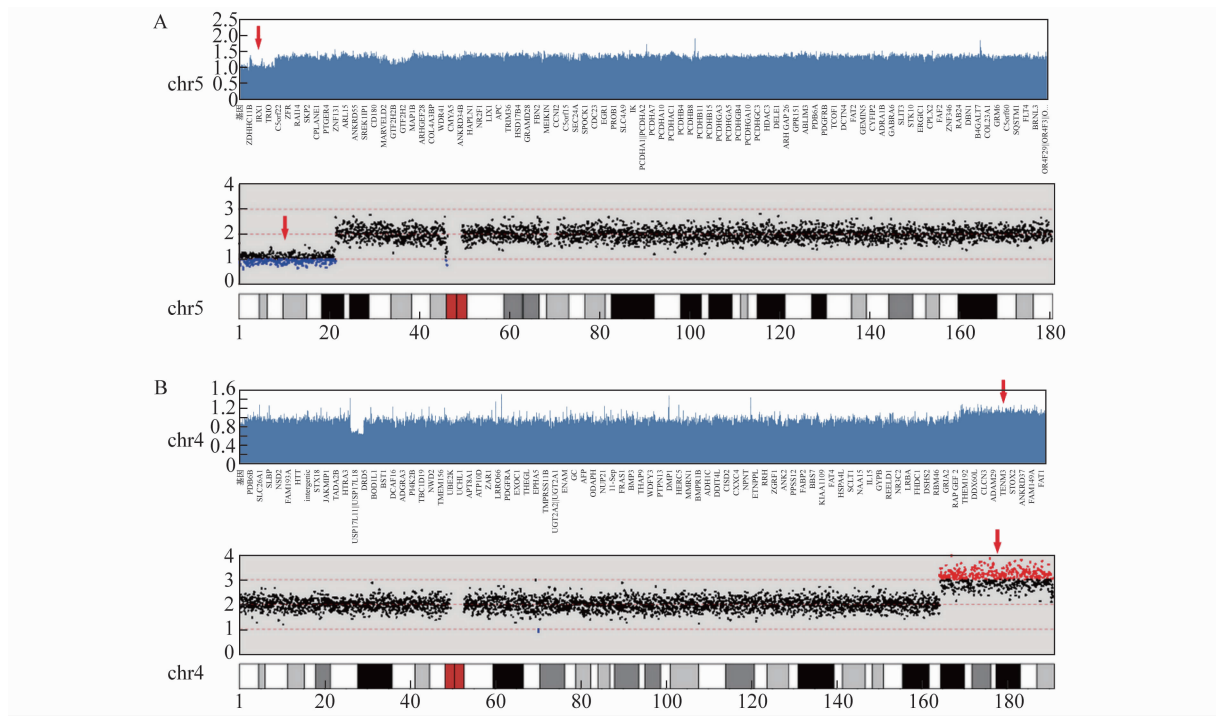


图 2 患儿全外显子组基因测序及 CNV-seq 结果

A. 患儿 5 号染色体存在片段缺失,红色箭头所示为缺失区域;B. 患儿 4 号染色体存在片段重复,红色箭头所示为重复区域

检测染色体病最常用的是细胞遗传学技术-染色体核型分析,它是诊断的“金标准”,能检测的染色体畸变主要包括染色体数目异常及大的染色体结构异常,其分辨率约为 5Mb 以上,这也是光学显微镜对染色体分辨率的极限。染色体核型分析技术的缺点也显而易见,那就是它对于缺失/重复范围小于 5Mb 的亚显微染色体结构异常无能为力,且对检测人员技术要求相对较高,需要长期培训,且受制于外周血细胞培养周期,报告等待时间相对较长(一般 7~10d 以上)。本研究则主要是应用分子遗传学技术-全外显子组基因测序及 CNV-seq,进行染色体微缺失/微重复综合征检测。全外显子组基因测序联合 CNV-seq 是一种灵敏度极高的相对定量技术,自 2007 年临床应用以来<sup>[11]</sup>,已广泛应用于染色体异常、基因位点变异、基因缺失重复变异等研究领域。全外显子组基因测序联合 CNV-seq 弥补了经典细胞遗传学分析方法的不足,具有快速(24h 内)、灵敏度高、特异性强等特点,已经成为常规的分子遗传检测学技术,在检测染色体小片段缺失和重复中

发挥了重要作用<sup>[12,13]</sup>。本研究应用全外显子组基因测序联合 CNV-seq 的方法,为 1 例面容异常、发育迟缓的患者提供了快速准确的个体化诊断及出生后评估,有助于对其进行早期的康复及教育干预,具有临床应用价值。同时,我们的研究明确了患儿发病的遗传学病因,为患儿的精准治疗和后续该家庭的产前诊断和优生优育,打下了坚实的基础。

参考文献

[ 1 ] LEJEUNE J, LAFOURCADE J, BERGER R, et al. 3 cases of partial deletion of the short arm of a 5 chromosome[J]. C R Hebd Seances Acad Sci, 1963, 257:3098-3102.  
 [ 2 ] CERRUTI MAINARDI P. Cri du Chat syndrome [J]. Orphanet J Rare Dis, 2006, 1:33.  
 [ 3 ] AJITKUMAR A, JAMIL RT, MATHAI JK. Cri Du Chat Syndrome[M]. Florida: Stat Pearls Publishing, 2020.  
 [ 4 ] RODRÍGUEZ-CABALLERO A, TORRES-LAGARES D, RODRÍGUEZ-PÉREZ A, et al. Cri du chat syndrome; a critical review[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2010, 15 (3):e473-478.

(下转第 42 页)

- (11): 880-884.
- [19] METWALLY M, CUTTING R, TIPTON A, et al. Effect of increased body mass index on oocyte and embryo quality in IVF patients[J]. *Reprod Biomed Online*, 2007,15(5): 532-538.
- [20] HASSOLD T, HUNT P. Maternal age and chromosomally abnormal pregnancies: what we know and what we wish we knew[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2009,21(6): 703-708.
- [21] 《胚胎植入前遗传学诊断/筛查专家共识》编写组. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2018,35(2): 151-155.
- [22] JUNEAU C, FRANASIAK J, TREFF N. Challenges facing contemporary preimplantation genetic screening [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2016,28(3): 151-157.
- [23] ORVIETO R, SHIMON C, RIENSTEIN S, et al. Do human embryos have the ability of self-correction? [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020,18(1): 98.
- [24] NIU X, LONG J, GONG F, et al. Does ICSI for in vitro fertilization cause more aneuploid embryos? [J]. *Mol Cytogenet*, 2020,13: 27.
- [25] GUNNALA V, O'NEILL C, ZANINOVIC N, et al. A rationale for biopsying embryos reaching the morula stage on Day 6 in women undergoing preimplantation genetic testing for aneuploidy[J]. *Hum Reprod*, 2018,33(5): 935-941.
- [26] 马会平, 周晓航, 梁悦, 等. 不同年龄组女性胚胎的非整倍性分析[J]. *中国医科大学学报*, 2018,47(12): 1098-1101.
- [27] MAJUMDAR G, MAJUMDAR A, VERMA I C, et al. Relationship between morphology, euploidy and implantation potential of cleavage and blastocyst stage embryos[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2017,10(1): 49-57.
- [28] VEGA M, BREBOROWICZ A, SAUERBRUN M, et al. Day 3 biopsy and blastulation rates[J]. *J Reprod Med*, 2016, 61(7-8): 336-340.

(收稿日期:2021-01-12)

编辑:宋文颖

(上接第28页)

- [5] VAN BUGGENHOUT G, MAAS NM, FRYNS JP, VERMEESCH JR. A dysmorphic boy with 4qter deletion and 4q32.3-34.3 duplication: clinical, cytogenetic, and molecular findings[J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 131(2):186-189.
- [6] BELLUCCO FT, FOCK RA, DE OLIVEIRA-JÚNIOR HR, et al. Complex small supernumerary marker chromosome leading to partial 4q/21q duplications: clinical implication and review of the literature[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2018, 156(4):173-178.
- [7] CERRUTI MAINARDI P. Cri du Chat syndrome [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2006, 1:33.
- [8] RODRÍGUEZ-CABALLERO A, TORRES-LAGARES D, RODRÍGUEZ-PÉREZ A, et al. Cri du chat syndrome: a critical review[J]. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2010, 15(3):e473-478.
- [9] ECKBURG A, DEIN J, BEREI J, et al. Oligonucleotides and microRNAs Targeting Telomerase Subunits in Cancer Therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9):2337.
- [10] CAO Y, BRYAN TM, REDDEL RR. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(6):1092-1099.
- [11] HODGES E, XUAN Z, BALIJA V, et al. Genome-wide in situ exon capture for selective resequencing[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(12):1522-1527.
- [12] KAUR P, GAIKWAD K. From Genomes to GENE-omes: exome sequencing concept and applications in crop improvement[J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8:2164.
- [13] MASSON J, DEMILY C, CHATRON N, et al. Molecular investigation, using chromosomal microarray and whole exome sequencing, of six patients affected by Williams Beuren syndrome and Autism Spectrum Disorder [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2019, 14(1):121.

(收稿日期:2020-12-10)

编辑:宋文颖