

孕早期淋巴水囊瘤胎儿的绒毛染色体及微阵列结果分析

饶腾子 李玲 钟燕芳 刘倩 魏然*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 510010)

【摘要】 目的 分析孕早期超声发现的单纯性淋巴水囊瘤胎儿的绒毛染色体及微阵列结果,为遗传咨询提供依据。**方法** 纳入孕 14 周前超声诊断为单纯性淋巴水囊瘤并行绒毛穿刺产前诊断的单胎妊娠胎儿。回顾性分析其染色体及微阵列结果。**结果** 29 例胎儿中,共有 21 例(72%)胎儿染色体异常,其中 18 例为染色体非整倍体异常,1 例为环状染色体,1 例为染色体易位,1 例为染色体部分重复。微阵列结果中,共有 22 例(76%)异常。**结论** 早孕期超声诊断为单纯性淋巴水囊瘤胎儿染色体异常率较高, array-CGH 检查有助于明确染色体异常中的具体片段及可能包含的致病基因。染色体核型分析仍是单纯性淋巴水囊瘤胎儿查找病因的重要方式。

【关键词】 淋巴水囊瘤;产前诊断;染色体核型分析;微阵列

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To provide the basis for genetic counseling of fetus with cystic hygroma, we analyzed the karyotypes and array-CGH outcomes of fetus with cystic hygroma which was diagnosed by ultrasound before 14 weeks. **Method** We retrospectively analyzed the karyotypes and array-CGH outcomes of single fetus with cystic hygroma which was diagnosed by ultrasound before 14 weeks. All these fetus took chorionic villus for prenatal diagnosis. **Results** 29 cases of fetus, 21 cases (72%) of fetus had chromosomal abnormalities, including 18 cases of abnormal chromosome aneuploidy, 1 case of ring chromosome, 1 cases of chromosome translocation, 1 cases of chromosome repeat. As to the results of array-CGH, 22 cases (76%) were CNVs. **Conclusions** The chromosome abnormality rate was rather high in the single fetus with cystic hygroma which was diagnosed by ultrasound before 14 weeks. Array-CGH was helpful to confirm the specific chromosomal abnormalities and pathogenic gene. Karyotype analysis was still the important way to find the cause of fetus with cystic hygroma.

【Key words】 lymphatic hygroma; prenatal diagnosis; karyotype analysis; array-CGH

随着早孕 NT 超声的开展,许多胎儿异常得以在早孕期被发现,广东地区已普遍开展在孕 11~13 周行胎儿 NT 超声检查。因此,胎儿淋巴水囊瘤的早期检出率有所提高。孕妇在得知胎儿患淋巴水囊瘤未合并其他异常时,常纠结于胎儿去留问题,本文拟分析孕早期发现的单纯淋巴水囊瘤未合并其他异常胎儿的染色体及微阵列检查结果,拟更好为此类

胎儿做好遗传咨询工作。

1 资料与方法

1.1 基本资料 2003 年 1 月至 2016 年 6 月在本院行产前超声检查的单胎孕妇中发现的胎儿淋巴水囊瘤 29 例,纳入其中的胎儿为单纯淋巴水囊瘤,未合并其余异常胎儿。孕妇年龄 22~43 岁,平均(28.89±6.13)岁,孕周 11~14 周,平均(12.83±0.70)周。29 例孕妇均要求进行绒毛穿刺产前诊断

行胎儿染色体核型分析及 array-CGH 分析。

1.2 仪器与方法 采用 GE Voluson E8 与 GE Voluson730 expert 彩色多普勒超声诊断仪,腹部凸阵探头频率均为 3~8 MHz。实验室检查包括染色体核型分析和微阵列芯片比较基因组杂交技术(array-CGH)。常规操作进行培养、收获、制片和 G 显带,全自动扫描仪扫描、拍照。按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)标准进行 G 显带染色体核型分析诊断。必要时加做 C 显带、N 显带;同时使用 agilent 公司生产的 8×60k 的芯片进行全基因组扫描检测,数据分析参照 DECIPHER、ISCA、OMIM、DGV、UCSC 等数据库。

1.2.1 于 11~14 周行胎儿颈项透明层(nuchal translucency,NT)厚度测量,受检孕妇取仰卧位,胎儿自然屈曲姿势,取正中矢状切面进行测量,声束垂直颈背部皮肤,显示颈后部皮下组织、皮肤、羊膜形成的 3 条强回声带,测量胎儿颈部皮肤与脊椎表面软组织之间无回声区最大径,同时观察胎儿颅内结构、鼻骨、心脏、胃泡、膀胱、脐带腹壁入口及双侧上下肢。

1.2.2 当超声检出单胎胎儿颈项部或身体其他体表部位的双层囊性结构,伴 1 个至多个典型分隔时,诊断为胎儿淋巴水囊瘤^[1];此时,纳入单胎并诊断为单纯为淋巴水囊瘤未合并其他异常的胎儿。

1.2.3 分析在孕 11~14 周行胎盘绒毛行染色体 G 显带核型分析及 array-CGH 分析的胎儿资料。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行数据处理,采用(均数±标准差)对连续型变量进行描述,采用构成比(%)对分类变量进行描述。

2 结果

2.1 染色体核型分析 29 例淋巴水囊瘤胎儿中,18 例(62%)为染色体核型为非整倍体异常。其中包括 9 例 X 单体,1 例 13-三体,3 例 21-三体,4 例 18-三体,1 例 47,XYY。另有 3 例(10%)其余染色体异常,其中 1 例检出环状染色体,46,XN,r(13)(9? 11.2q? 34),1 例检出染色体易位,46,XN,? t(3;13)(q27;q22)。1 例检出重复,46,XN,dup(2)(p16p22)。见表 1。

2.2 CMA 检测结果 Array-CGH 检测结果发现,除了 18 例胎儿染色体非整倍体异常外,有 4 例胎儿检出致病性 CNVs,检出率为 76%(22/29)。见表 1。

表 1 胎儿绒毛染色体 G 显带及 array-CGH 阳性结果

染色体异常类型	例数(例)	Array-CGH 异常
45,X	9	X 单体
47,XN,+13	1	13-三体
47,XN,+21	3	21-三体
47,XN,+18	4	18-三体
47,XXY	1	47,XXY
46,XN,? t(3;13)(q27;q22)	1	arr3q28q29(190193565-199324736)×3 arr13q22.2q34(74724554-114077122)×1
46,XN,r(13)(9? 11.2q? 34)	1	arr13q3.1q31.3(78804020-93706403)×3
46,XN,dup(2)(p16p22)	1	arr2p22.3p16.2(35784014-52751466)×3 arr10q26.2q26.3(127516914-135254513)x1, arr22q13.33(38927964-49525130)x3
46,XN	1	

3 讨论

胎儿淋巴系统从孕 10 周开始发育,由散在的原始淋巴囊发展形成淋巴管,至孕 14 周左右淋巴系统发育完全,全身淋巴回流入颈部的胸导管和右淋巴管,于颈内静脉与锁骨下静脉之间的夹角处汇入左右头臂静脉。淋巴系统发育健全前,少部分淋巴液可能积聚于颈淋巴囊或淋巴管内,形成颈项透明层。孕 14 周发育完善后,淋巴系统迅速将聚集于此的淋巴液引流至静脉系统,颈项透明层随之消失。淋巴系统发育缺陷或各种原因导致的胎儿静脉压升高,致淋巴回流障碍均可引起胎儿颈项透明层显著增厚,表现胎儿颈部直至全身的水囊样改变^[1-3]。

胎儿淋巴水囊瘤在胎儿发育异常中较为常见,其发病率约为 1/6000^[4]。Olivier G 等^[5]认为,淋巴水囊瘤预后不佳。即使染色体核型正常者,也容易发生流产或胎死宫内,若继续妊娠,发育至妊娠晚期,易伴发心脏、骨骼及肺的畸形。大多数 Turner 综合征胎儿在早孕期或中孕早期即胎死宫内,只有少数可以存活至出生^[6]。孕早期超声发现胎儿淋巴水囊瘤,部分患者会选择直接终止妊娠,随着产前诊断技术的广泛开展,越来越多的淋巴水囊瘤胎儿得

以在早孕期被检出,同时及时行介入性产前诊断查找可能的病因。本文纳入 29 例在孕 11~13⁺ 周常规行 NT 检查过程中发现胎儿淋巴水囊瘤,并在孕 14 周前行绒毛穿刺产前诊断行胎儿染色体及微阵列分析。染色体异常率高达 72%,与凌晨等^[7]报道的胎儿染色体异常率接近。染色体异常胎儿中,有 18 例为染色体非整倍体异常,其中包括 9 例 X 单体,1 例 13 三体,3 例 21 三体,4 例 18 三体,1 例 47,XYX。Malone FD 及 Kharrat R 等^[8,9]认为,第一孕期出现的胎儿淋巴水囊瘤染色体三体异常的比例之和高于 Turner 综合征。本文 18 例染色体非整倍体异常中,Turner 综合征有 9 例,其余 9 例为各种染色体三体异常,两者比例相等。

除了 18 例胎儿染色体非整倍体异常之外,绒毛染色体 G 显带技术结合 array-CGH 技术另外检出 3 例其他染色体异常。1 例绒毛染色体提示 13 号环状染色体(46, XN, r(13)(9? 11. 2q? 34)), array-CGH 结果提示 13 染色体 13q31. 1-q31. 3 位置发生重复,片段大小约 14. 9Mb。该区域包含基因 10 个,其中 OMIM 数据库收录致病基因 4 个,分别为 *SLITRK1*、*SLITRK6*、*MIRHG1*、*GPC6*。数据库未检索到类似片段重复的个案报道,由于重复区域较大,考虑可能为致病性 CNV。1 例绒毛染色体易位(46, XN, ? t(3; 13)(q27; q22)), array-CGH 提示:结果发现 2 处染色体变异。3 号染色体长臂 q28-q29 位置发生复制,片段大小约 9. 13Mb。13 号染色体长臂 q22. 2-q34 位置发生缺失,片段大小约 39. 4Mb。3 号染色体长臂部分三体和 13 号染色体长臂部分单体可引起胎儿发育迟缓、智力低下、肌张力减退、进行性脑病等症状;13q22. 2q34 缺失也可能会引起 Dandy-Walker 综合征。该结果提示夫妻一方可能存在 3 号和 13 号染色体平衡易位。1 例绒毛染色体提示重复(46, XN, dup(2)(p16p22)), array-CGH 结果提示 2 号染色体 2p16. 2-p22. 3 位置发生重复,片段大小约 20. 0Mb。2p16-p22 位置染色体重复可能与生长发育迟缓、特殊面容等有关(PMID: 24115558)。对于胎儿染色体异常情况,Array-CGH 对拷贝数异常定位更准确,进一步明确该异常是否打断了编码基因,是否在

断裂点附近存在小片段的缺失与重复,这些均对我们评估胎儿预后提供了可靠的信息,有利于遗传咨询,故对临床有重要的指导意义^[10]。

在 1 例绒毛染色体正常胎儿中, array-CGH 结果提示 2 处染色体异常;在 10 号染色体 10q26. 2-q26. 3 位置发生缺失,片段大小约 7. 74Mb。10q26 区域大片段缺失与患者多种先天性畸形和轻度精神发育迟滞有关(PMID: 9894164);在 22 号染色体 22q13. 1-q13. 33 位置发生重复,片段大小约 10. 60Mb。该区域重复与患者小头畸形、肌张力低下、发育迟缓、特殊面部等症状有关(PMID: 22378673)。

29 例早孕期发现的淋巴水囊瘤胎儿中,染色体非整倍体异常 18 例,在 3 例染色体非整倍体异常的胎儿中,利用 array-CGH 技术发现了明确的异常位点及大小。另有 1 例染色体正常胎儿中,利用 array-CGH 技术发现了明确异常。微阵列比较基因组杂交(array comparative genomic hybridization, array-CGH)技术是在 CGH 技术基础上发展起来的新的染色体病诊断技术,分辨率高,可以检测到一些核型分析检测不到的染色体的微小缺失或重复,是研究整个基因组缺失或重复的非常有应用价值的分子细胞遗传学技术^[11]。因此 Array-CGH 技术结合染色体分析,可以帮助明确染色体异常区带及可能包含的致病基因,两者的结合,对早孕期发现的单纯性淋巴水囊瘤能进一步发现病因。但从我们的结果中较高的染色体异常率可以发现,染色体核型分析仍是单纯性淋巴水囊瘤胎儿查找病因的重要方式。

本文纳入的 29 例行绒毛穿刺胎儿,全部绒毛培养成功,但也有部分胎儿因绒毛培养失败未成功完成染色体检查而未纳入分析的病例。但鉴于早孕期发现的淋巴水囊瘤胎儿经染色体及 array-CGH 检查后,异常阳性率较高,对于早孕期发现的淋巴水囊瘤胎儿,我们建议在与家属充分沟通绒毛穿刺风险及培养失败可能的基础上,应积极完善绒毛染色体检查,以明确可能的病因,并对胎儿的遗传咨询提供充分的依据。

的染色体片段,仅表现为边缘智力和轻微异常的面容,其机理尚不明确,可能为染色体的大片段缺失对个体的影响与基因突变的影响不同所致。

因为患者存在染色体微缺失,其姐姐表型正常,建议其姐姐做染色体核型分析,以排除染色体平衡易位可能。核型分析显示其姐姐核型正常,表明其生育染色体微缺失患儿可能性小。

从本例资料可知,染色体微缺失综合征患者的临床表现复杂,有些病例临床表现比较轻微。因此,在产前诊断后的遗传咨询时,应该做到充分的知情。

参 考 文 献

- [1] Brady PD, Vermeesch JR. Genomic microarrays: a technology review[J]. Prenat Diagn, 2012, 32: 336-343.
- [2] Breman A, Pursley AN, Hixson P, et al. Prenatal chromosomal microarray analysis in a diagnostic laboratory: experience with >1000 cases and review of the literature[J]. Prenat Diagn, 2012, 32: 351-361.
- [3] Deardorff M, Kaur M, Yaeger D, et al. Mutations in cohesin complex members SMC3 and SMC1A cause a mild variant of Cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation[J]. Am J Hum Genet, 2007, 80: 485-494.
- [4] Gil-Rodriguez MC, Deardorff MA, Ansari M, et al. De novo heterozygous mutations in SMC3 cause a range of Cornelia de Lange syndrome-overlapping phenotypes[J]. Hum Mutat, 2015 36: 454-462.

- [5] Revenkova E, Focarelli ML, Susani L, et al. Cornelia de Lange syndrome mutations in SMC1A or SMC3 affect binding to DNA[J]. Hum Molec Genet, 2009, 18: 418-427.
- [6] Brauch KM, Karst ML, Herron KJ, et al. Mutations in ribonucleic acid binding protein gene cause familial dilated cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54: 930-941.
- [7] Li D, Morales A, Gonzalez-Quintana J, et al. Identification of novel mutations in RBM20 in patients with dilated cardiomyopathy[J]. Clin Transl Sci, 2010, 3: 90-97.
- [8] Cordeddu V, Di Schiavi E, Pennacchio LA, et al. Mutation of SHOC2 promotes aberrant protein N-myristoylation and causes Noonan-like syndrome with loose anagen hair[J]. Nature Genet, 2009, 41: 1022-1026.
- [9] Gripp KW, Zand DJ, Demmer L, et al. Expanding the SHOC2 mutation associated phenotype of Noonan syndrome with loose anagen hair: structural brain anomalies and myelofibrosis. Am J Med Genet, 2013, 161A: 2420-2430.
- [10] Hoban R, Roberts AE, Demmer LJ, et al. Noonan syndrome due to a SHOC2 mutation presenting with fetal distress and fatal hypertrophic cardiomyopathy in a premature infant [J]. Am J Med Genet, 2012, 158A: 1411-1413.
- [11] Bass AJ, Lawrence MS, Brace LE, et al. Genomic sequencing of colorectal adenocarcinomas identifies a recurrent VTI1A-TCF7L2 fusion[J]. Nature Genet, 2011, 43: 964-968.

(收稿日期:2016-11-18)

编辑:宋文颖

(上接第 59 页)

参 考 文 献

- [1] 李胜利. 胎儿产前诊断教程[M]. 2 版. 北京:人民军医出版社, 2009: 267-268.
- [2] Dario P, Paolo V. Ultrasound of congenital fetal anomalies: differential diagnosis and prognostic indicators[M]. 2nd ed. Florida: CRC Press. 2014.
- [3] 严英榴. 产前超声诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003.
- [4] 李映桃. 胎儿颈部囊性淋巴瘤. 中国优生与遗传杂. 2005, 13 (3): 130.
- [5] Olivier G, Emilie D, Elisabeth A. Characteristics and outcome of fetal cystic hygroma diagnosed in the first trimester. Acta Obstet Gynecol Scand, 2007, 86(12): 1442-1446.
- [6] Dario P, Paolo V. Ultrasound of congenital fetal anomalies differential diagnosis and prognostic indicators. Informa UK Ltd, 2007: 301-311.
- [7] 凌晨, 邓学东, 刘一琳, 等. 胎儿淋巴水囊瘤超声诊断联合染色体核型分析[J/CD]. 中华医学超声杂志: 电子版, 2011, 8(4):

838-842.

- [8] Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, et al. First-trimester septated cystic hygroma: prevalence, natural history, and pediatric outcome[J]. Obstet Gynecol, 2005, 106(2): 288-294.
- [9] Kharrat R, Yamamoto M, Roume J, et al. Karyotype and outcome of fetuses diagnosed with cystic hygroma in the first trimester in relation to nuchal translucency thickness[J]. Prenat Diagn, 2006, 26(4): 369-372.
- [10] 周祎, 谢英俊. 染色体微阵列技术在产前诊断中的应用[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(5): 328-330.
- [11] Stumm M, Klopocki E, Gasiorek-Wiens A, et al. Molecular cytogenetic characterisation of an interstitial deletion 12p detected by prenatal diagnosis[J]. Prenat Diagn, 2007, 27(5): 475-478.

(收稿日期:2016-11-01)

编辑:宋文颖