

应用 QF-PCR 产前诊断 1 例 48,XXYY 综合征

刘娜 李东至

(广州市妇女儿童医疗中心 产前诊断中心,广东 广州 510623)

48,XXYY 综合征是一种罕见的性染色体异常,其发生率在新生儿中约为 1/50 000,但在需要治疗的智障者中为 1/300^[1]。患者常见的体征包括身材高大、乳腺发育、向心性肥胖、皮肤溃疡、智力障碍和“拳击手”面容(pugilistic face)。目前文献报道的 48,XXYY 综合征已超过 70 例,其中只有 1 例在产前通过母血甲胎蛋白(AFP)筛查而诊断,妊娠随即终止^[2]。本文报道应用荧光定量 PCR(QF-PCR)技术产前诊断 1 例 48,XXYY 综合征。

1 染色体微卫星分析

1.1 样本 DNA 制备 胎儿 DNA 从羊水细胞提取,父母 DNA 分别从外周血提取,使用德国 QIAGEN 公司 DNA 提取试剂盒。

1.2 QF-PCR 扩增的微卫星(STR)位点 2 对 X 染色体的特异性引物,扩增 HPRT(Xq26.1)和 DXS6809(Xq);2 对 13 号染色体特异性引物,扩增 D13S305(13q12.1-q14.1)和 D13S258(13q21.2-q31);2 对 18 号染色体特异性引物,扩增 D18S535(18 染色体)和 D18S386(18q22.1-q22.2);2 对 21 号染色体特异性引物,扩增 D21S1435(染色体 21)和 D21S1446(染色体 21);2 对在 X 和 Y 染色体上均表达的位点引物,扩增 AMXY 和 X22。所有 STR 位点的引物序列来自 Pubmed 数据库,片段分析的仪器为 ABI3100 遗传分析仪,内在分子量标准 35~500 bp(单链),GENESCAN 基因分型软件扫描分析凝胶上扩增产物及内标的位置,确定产物片段的大小。

1.3 QF-PCR 结果判断 在 QF-PCR 图谱中,一个正常的双等位基因的样本显示出 2 个 STR 峰,其比值非常接近 1:1;染色体三体样本显示出比值为 1:1:1 的 3 个 STR 峰或为比值为 2:1 的 2 个峰。

AMXY 扩增后,正常男性显示为 1:1 的 2 个峰,正常女性显示为单个峰。X22 扩增后,若为杂合子,46,XY 的男性和 46,XX 的女性显示比值为 1:1 的 2 个峰,47,XXY 的男性显示为比值 1:1:1 的 3 个峰或 2:1 的 2 个峰;若为纯合子,男性(46,XY)和女性(46,XX)显示为 1 个峰。

2 病例报道

孕妇,28 岁,妊娠 18 周,G2P1。一子 3 岁,为前次婚姻所生。现丈夫 56 岁。双方体健,孕前及孕期无不良接触史,妊娠 12 周时超声检查正常,妊娠 16 周时血清学筛查阴性。孕 18 周时由于担心丈夫高龄而焦虑,坚持要求产前诊断,行羊膜腔穿刺术,抽取羊水 20 ml。

15ml 羊水常规送检细胞培养,5 ml 羊水行 QF-PCR 快速核型分析。QF-PCR 结果发现(图 1):胎儿的 AMXY 显示 2 个峰,提示为男性胎儿。DXS6809 显示为 1:1 双等位基因峰,一个位于 256 bp,对应于父源性的 X 染色体,一个位于 260 bp,对应于母源性的 X 染色体,提示有 2 个 X 染色体的存在。因此,AMXY 和 X22 显示 X 和 Y 的峰值比为 1:1,类似 46,XY 核型,但 DXS6809 又提示胎儿存在 2 条 X 染色体。据此预测,胎儿同时存在 2 条 Y 染色体,核型为 48,XXYY。因为,如果胎儿核型为 47,XXY,那么 X 和 Y 的比值是 2:1 而不是 1:1。染色体 13,18 和 21 上的标记物显示为双亲二体型。羊水培养后的细胞遗传学分析证实了 QF-PCR 结果。48,XXYY 源自于含 1 条 X 染色体的卵子和 XXY 核型的精子受精,后者是由于在精子发生中,性染色体的第 1 次和第 2 次减数分裂连续不分离所致。

孕妇选择终止妊娠。引产胎儿生殖器为男性,

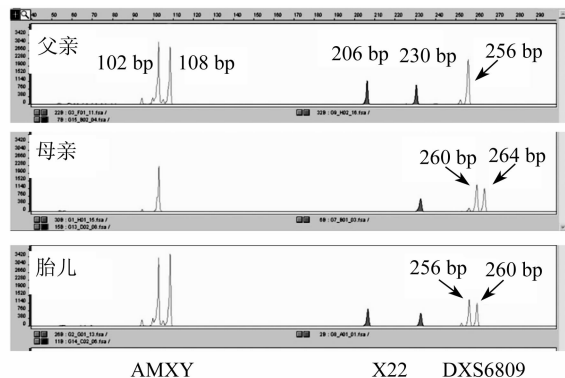


图1 QF-PCR图谱:胎儿AMXY为1:1双峰,X22为1:1双峰,DXS6809为1:1双峰。

外观无异常发现,家属拒绝胎儿尸解。取胎盘组织行QF-PCR检查,同样显示核型48,XXYY。夫妇双方外周血核型分析正常。

3 讨论

在产前诊断临床,高龄孕妇通常定义为年龄≥35岁。但在生育问题上,父亲的年龄很少受到关注。目前尚无高龄父亲的明确定义,一般指在生育时父亲的年龄至少超过40岁。母亲年龄是非整倍体妊娠的一个高风险因素,相对来说,父亲年龄的相关性并不显著。源自于父亲的21三体只占唐氏综合征病例的5%~10%,已有的研究也未证实21三体存在父亲的年龄效应^[3,4]。同样,其他几种常染色体非整倍体(如13、15、16和18三体)的发生率也未发现与父亲年龄相关^[5]。但是和常染色体不同,性染色体非整倍体(如47,XXY、47,XYY、47,XXX、45,X)有更多的父源性^[6]。本文病例中,胎儿性染色体异常源自于高龄父亲也支持了这一观点。

应用QF-PCR快速产前诊断性染色体数目异常的文献不多,Chen等^[7]产前诊断1例49,XXXXY。近年来,许多细胞遗传中心已将QF-PCR作为检测常见染色体三体的有效手段^[8,9]。我们相信,通过X/Y染色体上的STR标记物,如X22,

AMXY和HPRT,QF-PCR同样可用于产前快速诊断性染色体的非整倍体。本文结果也证实了QF-PCR用于诊断性染色体数目异常的精确性。

参考文献

- [1] Sorensen K, Nielsen J, Jacobsen P, et al. The 48,XXYY syndrome [J]. Ment Defic Res,1978,22:197-205.
- [2] Nyberg RH, Karhu R, Karikoski R, et al. The 48,XXYY syndrome: a case detected by maternal serum alpha fetoprotein screening [J]. Prenat Diagn,1994,14:644-645.
- [3] Roth MP, Stoll C, Taillemite JL, et al. Paternal age and Down's syndrome diagnosed prenatally: no association in French data [J]. Prenat Diagn,1983,3:327-335.
- [4] Cross PK, Hook EB. An analysis of paternal age and 47,+21 in 35,000 new prenatal cytogenetic diagnosis data from the New York State Chromosome Registry: no significant effect [J]. Hum Genet,1987,77:307-316.
- [5] Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy [J]. Nat Rev Gene, 2001,2: 280-291.
- [6] Slotter E, Nath J, Eskenazi B, et al. Effects of male age on the frequencies of germinal and heritable chromosomal abnormalities in humans and rodents [J]. Fertil Steril,2004, 81:925-943.
- [7] Chen CP, Chern SR, Chang CL, et al. Prenatal diagnosis and genetic analysis of X chromosome polysomy 49,XXXXY [J]. Prenat Diagn,2000,20:754-757.
- [8] Cirigliano V, Voglino G, Marongiu A, et al. Rapid prenatal diagnosis by QF-PCR: evaluation of 30,000 consecutive clinical samples and future applications [J]. Ann N Y Acad Sci,2006,1075:288-298.
- [9] Cirigliano V, Voglino G, Adinolfi M. Non-invasive screening and rapid QF-PCR assay can greatly reduce the need for conventional cytogenetic analyses in prenatal diagnosis [J]. Reprod Biomed Online, 2005,11:671-673.

编辑:熊诗诣

(收稿日期:2011-03-23)