

产前诊断额外小标记染色体的细胞遗传学 回顾性分析

胡晶晶 李星 蔡婵慧 李显箏*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511442)

【摘要】 目的 总结标记染色体携带胎儿的一般临床特征,为临床提供基础的循证医学依据。方法 回顾性分析广东省妇幼保健院医学遗传中心近5年3万多例产前诊断病例中发现的携带额外小标记染色体胎儿的核型分析结果。结果 在32 422例样本中,核型分析共检测出49例标记染色体携带胎儿,检出率1.51%。其中纯合15例,约占总数的30.61%(15/49);嵌合34例,约占总数的69.39%(34/49)。在2020例绒毛组中检测出4例标记染色体携带胎儿,检出率1.98%;在5891例脐血组中检测出11例标记染色体携带胎儿,检出率1.87%;在24 511例羊水组中检测出34例标记染色体携带胎儿,检出率1.39%;在21 449例适龄孕妇组中共检测出25例标记染色体携带胎儿,检出率1.17%;在10 973例高龄孕妇组中共检测出24例标记染色体携带胎儿,检出率2.19%。结论 产前诊断胎儿额外小标记染色体(small supernumerary marker chromosomes, sSMC)的检出率约为1.51%,sSMC携带胎儿至少有一半是嵌合体。孕妇高龄是sSMC携带胎儿形成的高危因素。对于sSMC携带胎儿,需要细胞、分子多种方法共同检测,才能准确地判断胎儿的临床表型和去留。

【关键词】 额外小标记染色体;核型分析;产前诊断

【中图分类号】 R394.3 **【文献标识码】** A

Cytogenetic retrospective analysis of small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnosis

Medical Genetics Center, Guangdong Women and Children Health Care Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010, China

Hu Jingjing, Li Xing, Cai Chanhui, Li Xianzheng*

* Corresponding author: Li Xianzheng, E-mail: hubel2005@126.com

【Abstract】 Objective To summarize the general clinical characteristics of the fetus carried by marker chromosome, and to provide basic evidence-based medical basis for clinical practice. **Methods** Retrospectively analysis the results of karyotype analysis of fetuses with small supernumerary marker chromosomes (sSMC) found in more than 30,000 cases of prenatal diagnosis in our center in recent 5 years. **Results** In 32,422 samples, 49 fetuses with small supernumerary marker chromosomes were detected by karyotype analysis, with a detection rate of 1.51%, including 15 cases of homozygous fetuses, accounting for 30.61% (15/49) of the total and 34 cases of mosaic fetuses, accounting for 69.39% (34/49) of the total; In 2020 cases of chorionic villi group, 4 cases of fetuses were detected, the detection rate was 1.98%. In 5891 cases of cord blood group, 11 cases of fetuses were detected, the detection rate was 1.87%. In 24,511 cases of amniotic fluid group, 34 cases of fetuses were detected, the detection rate was 1.39%. 24 fetuses with marker chromosome were detected in 10,973 elderly pregnant women, the detection rate was 2.19%. **Conclusion** The detection rate of fetal sSMC was about 1.51%, and at least

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2020.04.012

* 通信作者:李显箏, E-mail: hubel2005@126.com

half of the fetuses carrying sSMC were mosaics. Advanced maternal age was a high risk factor for the formation of fetus with sSMC. In order to accurately determine the clinical phenotype and survival of the fetus, it was necessary to detect the fetus with sSMC by cytogenetic and molecular methods.

【Key words】 Small supernumerary marker chromosome; Karyotype analysis; Prenatal diagnosis

额外小标记染色体 (small supernumerary marker chromosomes, sSMC), 简称标记染色体 (marker chromosomes), 被认为是一种异常的染色体重排, 其片段大小通常小于或等于同一分裂相中的 20 号染色体^[1]。理论上, sSMC 可来源于任何一条染色体, 但其结构却复杂多样, 可能是某一条染色体着丝粒上下的区域, 也可能是包括倒位、倒位重复、环状或其他复杂结构衍生的小染色体片段, 其在个体中的存在形式可以是纯合型, 也可以是嵌合型。目前在人群中已发现 sSMC 跟多种疾病有关^[2], 包括不育、肿瘤、智力低下等, 其携带者的临床表型和轻重程度与 sSMC 所携带的基因剂量密切相关, 如果 sSMC 含有常染色质, 那么其携带者一般会有异常的临床表型; 如果 sSMC 不含有常染色质而只是由异染色质组成, 那么其携带者一般临床表型正常。有报道显示, sSMC 携带者中约有 2/3 临床表型正常^[3]。在国外有 sSMC 各类人群的相关数据报道, 但是国内并未见各类人群中 sSMC 检出率的相关报道, 特别是产前诊断胎儿中 sSMC 检出率的相关数据报道。由于产前诊断的特殊性, 胎儿临床表型通过现有的技术不一定能够完全表现出来, 因此, 如果在产前诊断中发现胎儿携带 sSMC, 对判断胎儿的预后和临床表型的轻重以及遗传咨询将会带来非常大的挑战。本文通过回顾性总结分析广东省妇幼保健院医学遗传中心近 5 年 3 万多例产前诊断病例中发现的携带额外小标记染色体胎儿的细胞遗传学检测结果, 以期总结这类胎儿的一般临床特征, 为临床提供基础的循证医学依据。

1 资料与方法

1.1 基本资料 选择 2015 年 1 月至 2019 年 12 月在本院医学遗传中心产前诊断门诊进行介入性产前诊断的胎儿 32 422 例。按孕妇不同孕周选择不同的穿刺手术, 孕 11~14 周行经腹绒毛吸取术, 孕 16

~25 周行经腹羊膜腔穿刺术和孕 25~31 周行经腹脐静脉穿刺术, 在对孕妇和家属进行充分告知并签署知情同意书后孕妇及家属自愿选择将获得的绒毛、羊水和脐血样本进行细胞遗传学核型分析检测。其中进行绒毛吸取术的孕妇 2020 例, 年龄 15~49 岁, 平均年龄 31 岁; 行经腹羊膜腔穿刺术的孕妇 24 511 例, 年龄 14~52 岁, 平均年龄 32 岁; 行脐静脉穿刺术的孕妇 5891 例, 年龄 15~50 岁, 平均年龄 29 岁。按不同因素分组如下: ①按不同样品类型分为绒毛组、羊水组和脐血组; ②按孕妇年龄分组: ≥ 35 岁孕妇 (10 973 例) 为高龄孕妇组, < 35 岁孕妇 (21 449 例) 为适龄孕妇组。

1.2 方法 将 B 超引导下穿刺获得的绒毛 (20~30mg)、羊水 (20ml) 和脐血 (1ml) 用于体外培养, 其中绒毛和羊水用至少 2 个培养瓶进行原位培养, 脐血直接接种入 3 瓶培养基悬浮培养。经收获、吉姆萨染色制片。在显微镜下, 绒毛和羊水计数 15~20 个克隆, 每个克隆分析 1~2 个核型, 如有嵌合则增加计数完所有克隆; 脐血计数 20 个核型, 至少分析 5 个核型, 如有嵌合则增加计数至 100 个核型。结果依据人类细胞基因组学国际命名体系 (ISCN 2013)^[4] 对染色体核型进行命名。绒毛和羊水的 G 显带分辨率为 420~450 条带, 脐血 G 显带分辨率为 500 条带。

2 结果

在 32 422 例样本中共检测出 49 例标记染色体携带胎儿, 检出率 1.51%, 其中纯合 15 例, 约占总数的 30.61% (15/49), 嵌合 34 例, 约占总数的 69.39% (34/49); 在 2020 例绒毛组中检测出 4 例标记染色体携带胎儿, 检出率 1.98%, 其中纯合 2 例, 嵌合 2 例; 在 5891 例脐血组中检测出 11 例标记染色体携带胎儿, 检出率 1.87%, 其中纯合 4 例, 嵌合 7 例; 在 24 511 例羊水组中检测出 34 例标记染色体

携带胎儿, 检出率 1.39%, 其中纯合 9 例, 嵌合 25 例。具体结果见表 1~3。

表 1 49 例标记染色体携带胎儿的染色核型分析结果

病例编号	样本类型	孕妇年龄(岁)	产前诊断指征	核型分析结果
1	绒毛	38	高龄, 丈夫染色体: 47, xy, +mar	47, xx, +mar
2	绒毛	30	不良孕产史, 本人 9 号染色体倒位	47, xx, inv(9)(p11q12), +mar
3	绒毛	28	NT 增厚(3.2mm)	mos 47, xy, +mar[14]/46, xy[5]
4	绒毛	43	NT 增厚(4.7mm); 高龄	mos 46, XX, del(13)(q22)[10]/46, XX, -13, +mar[6]/46, XX, der(13)t(10;13)(q22;q22)[4]
5	脐血	29	无创提示 22 号染色体异常	47, xy, +mar
6	脐血	28	无创提示 22 号染色体异常	47, xx, +mar
7	脐血	36	高龄	47, xy, inv(9)(p12q13), +mar
8	脐血	33	胎儿室间隔缺损, 左侧胸腔积液	47, XN, del(4)(q32), +mar
9	脐血	23	双侧侧脑室增宽(12.5 mm /11.5mm)	mos 47, xy, +mar[89]/46, xy[11]
10	脐血	36	高龄, 胎儿侧脑室增宽(14 mm /5mm)	mos 46, x, +mar[81]/45, x[19]
11	脐血	16	胎儿 FGR	mos 47, xx, +mar[77]/46, xx, i(18)(q10)[23]
12	脐血	33	胎儿头颈部皮肤及皮下组织层增厚, 羊水过多	mos 47, xx, +i(12)(p10)[2]/46, xx[98]
13	脐血	35	高龄, 羊水过多, 左侧侧脑室约 12mm	mos 47, xx, +i(12)(p10)[3]/46, xx[97]
14	脐血	40	高龄, 胎儿头围大于孕周 4 周, 羊水过多	mos 47, XY, +i(12)(p10)[5]/46, XY[95]
15	脐血	28	胎儿室间隔缺损	mos 48, xxy, +mar[83]/47, xxy[17]
16	羊水	24	胎儿右足内翻	47, XX, +mar
17	羊水	41	高龄, 唐筛高风险	47, XX, +mar
18	羊水	33	唐筛临界风险	47, XY, +mar
19	羊水	27	唐筛高风险	47, XY, +mar
20	羊水	35	高龄, 唐筛高风险, 胎儿多发畸形: NT 增厚(5.6mm); 左侧膈疝; 左肾缺如或发育不良	47, XY, +mar
21	羊水	19	NT 增厚(2.6mm)	47, XY, +mar
22	羊水	41	高龄, 唐筛高风险	47, XY, +mar
23	羊水	43	高龄, NT 增厚(3.6mm), 三尖瓣反流	47, XY, +mar
24	羊水	32	唐筛高风险	47, XY, +mar
25	羊水	38	高龄	mos 47, XX, +mar[3]/46, XX[23]
26	羊水	39	高龄, 唐筛高风险	mos 47, XX, +mar[4]/46, XX[18]
27	羊水	23	唐筛高风险	mos 47, XX, +mar[6]/46, XX[23]
28	羊水	44	高龄, 无创提示 16 号染色体异常	mos 47, XX, +mar[8]/46, XX[14]
29	羊水	35	高龄, 胎儿左侧肾多囊性发育不良	mos 47, XX, +mar[8]/46, XX[16]
30	羊水	23	无创提示 9 号染色体异常	mos 47, XX, +mar[11]/46, XX[9]
31	羊水	28	唐筛高风险	mos 47, XY, +mar[2]/46, XY[18]
32	羊水	42	高龄, 曾生育唐氏儿	mos 47, XY, +mar[2]/46, XY[38]
33	羊水	40	高龄	mos 47, XY, +mar[4]/46, XY[22]
34	羊水	31	无创提示 18-三体高风险	mos 47, XY, +mar[4]/46, XY[34]
35	羊水	42	高龄	mos 47, XY, +mar[5]/46, XY[15]
36	羊水	35	唐筛高风险, 高龄	mos 47, XY, +mar[6]/46, XY[23]
37	羊水	39	高龄, 唐筛高风险, 无创提示 18-三体高风险	mos 47, XY, +mar[7]/46, XY[23]
38	羊水	33	胎儿肠管回声增强, 肾脏回声增强	mos 47, XY, +mar[9]/46, XY[14]
39	羊水	44	高龄, 无创提示 18-三体高风险	mos 47, XY, +mar[11]/46, XY[21]
40	羊水	23	唐筛临界风险	mos 47, XY, +mar[12]/48, XY, +2mar[3]
41	羊水	26	胎儿 NT 增厚(5.0mm)	mos 47, XY, +mar[14]/46, XY[16]
42	羊水	39	高龄	mos 47, XY, +mar[16]/46, XY[4]
43	羊水	28	羊水过多, 无创提示 12 号染色体异常	mos 47, XY, +mar[40]/46, XY[6]
44	羊水	30	唐筛高风险, 无创提示性染色体数目异常	mos 45, X[22]/46, X, +mar[4]
45	羊水	42	高龄, NT 增厚(3.4mm)	mos 46, X, +mar[14]/45, X[8]
46	羊水	27	NT 增厚(4.3mm)	mos 46, X, +mar[20]/45, X[6]
47	羊水	38	高龄, 无创提示 21-三体高风险	mos 47, XY, +21[20]/48, XY, +21, +mar[2]
48	羊水	23	NT 增厚(3.4mm)	mos 47, XX, +mar[10]/46, XX[33]
49	羊水	39	高龄, 无创提示 18-三体高风险	mos 47, XX, +mar[4]/46, XX[29]

注: NT 颈项透明层厚度

表2 sSMC在不同产前诊断样品类型中检出率的比较

样品类型	总例数 (例)	检出例数 (例)	检出率 (%)
绒毛	2020	4	1.98
羊水	24 511	34	1.39
脐血	5891	11	1.87
合计	32 422	49	1.51

在21 449例适龄孕妇组中共检测出25例标记染色体携带胎儿,检出率1.21%,其中纯合9例,约占总数的36.00%(9/25),嵌合16例,约占总数的

64.00%(16/25);在10 973例高龄孕妇组中共检测出24例标记染色体携带胎儿,检出率2.19%,其中纯合6例,约占总数的25.00%(6/24),嵌合18例,约占总数的75.00%(18/24);在检出的49例sSMC携带胎儿中,高龄孕妇有24例,占比48.9%(24/49)。sSMC在适龄组和高龄组中检出率的比较结果见表3。

表3 sSMC在适龄组和高龄组中检出率的比较

年龄	总例数 (例)	检出例数 (例)	检出率 (%)	纯合 (例)	占检出总数比例 (%)	嵌合 (例)	占检出总数比例 (%)
适龄组(<35岁)	21 449	25	1.17	9	36.00	16	64.00
高龄组(≥35岁)	10 973	24	2.19	6	25.00	18	75.00
合计	32 422	49	1.51	15	30.61	34	69.39

3 讨论

sSMC于1961年首次由Ilberry报道^[5],据国外报道,sSMC在新生儿中的检出率约为0.44%^[2,6],在产前诊断胎儿中的发生率为0.75%,其中超声异常胎儿的sSMCs发生率增高到2.04%,国外也有学者估计全球80亿人口中约330万左右的sSMC携带者^[7-9]。国内sSMC在不同人群中检出率的报道较少,而且,在产前诊断中如此规模的胎儿人群报道几乎没有。大多数是对产前诊断胎儿sSMC检出的个案或病例报道。本文通过回顾性分析3种产前诊断样本共计32 422例胎儿染色体G显带核型分析结果,共检测出49例sSMC携带胎儿,检出率是1.54%,跟国外报道结果基本一致。在不同产前诊断样本类型中,绒毛样本的检出率最高,达到1.94%,其次是脐血样本,羊水样本的检出率最低,只有1.43%。

sSMC的形成机制非常复杂,根据sSMC的染色体来源和形态不同,其形成机制也不尽相同,目前并未完全清楚。当前报道的sSMC形成机制主要有以下3种:①U型交换:主要发生在来源于近端着丝粒染色体形成sSMC的过程中。U型交换在减数分裂过程中可发生在同一染色体内也可以发生在不同染色体之间^[10]。②三体自救失败:当胎儿三体自救时,如果清除多余的染色体过程发生中断,便会形成新的sSMC^[11]。③形成环状标记染色体:该形成

机制还未完全阐明,推测有2种机制:(a)一条性染色体在短臂和长臂各断裂一次,有着丝粒的片段在断端发生融合形成环状标记染色体,(b)一个染色体断裂发生在着丝粒 α 卫星阵列内,第二个断裂发生在染色体的p或q臂中。这一机制产生了2个有功能的着丝粒和2条新的衍生染色体。这2条新的染色体其中一条即形成环状标记染色体,另一条为缺少新生环状染色体基因组片段的缺失型染色体,因此,该细胞系的基因组是平衡的。

一般认为孕妇年龄 ≥ 35 岁,即为高龄孕妇。孕妇高龄也是胎儿发生遗传性变异的高危因素。同样的,孕妇高龄也是sSMC形成的高危因素。综合国外报道来看,高龄孕妇和适龄孕妇相比较,高龄孕妇检出sSMC携带胎儿的检出率是适龄孕妇的2~3倍。国内未见相关数据的报道。本研究中发现,高龄孕妇检出sSMC携带胎儿的检出率是2.19%,适龄孕妇检出sSMC携带胎儿的检出率是1.17%,高龄孕妇检出sSMC携带胎儿的检出率是适龄孕妇的1.87倍,接近2:1,跟国外的数据基本一致。说明孕妇高龄可能跟胎儿形成标记染色体有关。

本研究中,核型分析结果发现15例sSMC携带胎儿是纯合型,约占sSMC携带胎儿总数的30.61%(15/49),34例sSMC携带胎儿是嵌合型,约占sSMC携带胎儿总数的69.39%(34/49)。说明在产前诊断病例中,约1/3的sSMC携带胎儿是纯合型,约2/3的sSMC携带胎儿是嵌合型,即纯合型

sSMC 携带胎儿和嵌合型 sSMC 携带胎儿的比例约 1:2。这跟国外报道的约有 50%~70% 的 sSMC 携带胎儿是嵌合型的一致^[11]。但是需要注意的是, sSMC 在单一组织来源的嵌合比例跟其引起的临床表型并不一定有相关性, 据报道, Liehr T^[9] 总结认为胎儿的不同组织部位, sSMC 的嵌合比例可能不同, sSMC 的嵌合比例可以从羊水细胞的 13% 到胎儿心肌细胞的 62%。因此, 在产前诊断中, 胎儿 sSMC 的嵌合比例并不能完全反映胎儿临床表型的严重程度。

现阶段能够应用于检测标记染色体的方法有很多, 包括传统的 G 显带核型分析、CMA、荧光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、多重连接依赖式探针扩增 (multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA) 技术、高通量全基因组测序技术、光谱核型分析技术等。目前, 染色体病产前诊断的金标准仍然是传统细胞遗传学分析—核型分析, 由于 sSMC 是在正常染色体核型基础上多出来的额外衍生染色体, 通过核型分析能很好的检测出 sSMC, 但是并不能完全鉴别出 sSMC 的来源和致病性。

sSMC 的结构复杂多变, sSMC 携带者的临床表型也可能表现不一、轻重不一。在人群中约有 2/3 的个体无临床表型, 但也有表型较重的个体, 如精神运动发育异常、多器官结构畸形和功能异常等。由于产前诊断的特殊性, 再加上 sSMC 携带者至少有一半是嵌合体, 这些都增加了 sSMC 携带者产前遗传咨询的难度, 如何准确的进行产前遗传咨询, 如何合理的建议胎儿的去留, 对于临床遗传咨询者来说, 这些都需要慎重考虑的。Liehr 等^[9] 认为, sSMC 携带者的临床表型主要跟 sSMC 携带的基因剂量效应和印记介导的表观遗传影响, 因此, 对 sSMC 携带胎儿除进行传统的核型分析, 还必须进行分子和分子细胞学检测, 如染色体微阵列检测和高通量测序, 以便能更准确地判断胎儿的临床表型和去留。

综上所述, 本地区产前诊断胎儿 sSMC 的检出率约为 1.51%, sSMC 携带胎儿至少有一半是嵌合体, 孕妇高龄是 sSMC 携带胎儿形成的高危因素。对于 sSMC 携带胎儿, 需要细胞、分子多种方法共同检测, 才能准确的判断胎儿的临床表型和去留。

参 考 文 献

- [1] HUANG M H, LEE C, CHANG J S, et al. Retrospectively investigating the 12-year experience of prenatal diagnosis of small supernumerary marker chromosomes through array comparative genomic hybridization [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2019, 58:139-144.
- [2] LIEHR T, WEISE A. Frequency of small supernumerary marker chromosomes in prenatal, newborn, developmentally retarded and infertility diagnostics [J]. *Int J Mol Med*, 2007, 19 (5):719-731.
- [3] 潘虹. 额外小标记染色体的特点、产前诊断和遗传咨询 [J]. *中华围产医学杂志*, 2012, 15(10):588-591.
- [4] MCGOWAN-JORDAN J, SIMONS A, SCHMID M. ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature (2013) [M]. Basel: Karger, 2013.
- [5] LIEHR T, CLAUSSEN U, STARKE H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2004, 107:55-67.
- [6] RECALCATI MP, BONATI MT, BELTRAMI N, et al. Molecular cytogenetics characterization of seven small supernumerary marker chromosomes derived from chromosome 19: Genotype-phenotype correlation and review of the literature [J]. *Eur J Med Genet*, 2018, 61:173-180.
- [7] LIEHR T, EWERS E, KOSYAKOVA N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2009, 9:317-324.
- [8] MALVESTITI F, DETOFFOL S, GRIMI B, et al. De novo small supernumerary marker chromosomes detected on 143000 consecutive prenatal diagnoses: chromosomal distribution, frequencies, and characterization combining molecular cytogenetics approaches [J]. *Prenat Diagn*, 2014, 34:460-468.
- [9] LIEHR T, AL-RIKABI A. Mosaicism: Reason for normal phenotypes in carriers of small supernumerary marker chromosomes with known adverse outcome. A systematic review [J]. *Front Genet*, 2019, 11(10):1131.
- [10] OU J, WANG W, LIEHR T, et al. Characterization of three small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2013, 26 (1): 106-108.
- [11] MATSUBARA K, YANAGIDA K, NAGAI T, et al. De novo small supernumerary marker chromosomes arising from partial trisomy [J]. *Front Genet*, 2020, 11:132.

(收稿日期:2020-07-28)

编辑:宋文颖