

产前诊断 Angelman 综合征 1 例

舒青青^{1*} 耿娟² 温汉英¹

(1. 浙江省衢州市妇幼保健院, 浙江 衢州 324000; 2. 杭州中翰金诺医学检验所, 浙江 杭州 311188)

【中图分类号】 R714.55

【文献标识码】 B

优生优育日益受到国家、社会和家庭的高度重视和关注,近年高龄孕妇在孕妇的结构中占比较以前提高 18%左右,而外周血无创 DNA 检测技术(non-invasive prenatal testing, NIPT)应用突飞猛进,并在临床“广泛”开展,1 例 NIPT 阴性高龄孕妇,经产前诊断羊水细胞培养进行染色体核型分析和全基因组芯片分析确诊:46, XN, 15q11. 2-q14 13. 8Mb Del 天使综合征(Angelman syndrome, AS),暨母源性 15q11. 2-q14 的缺失。产前诊断全基因组芯片分析技术,有效地阻止了 AS 严重缺陷儿的出生。具体介绍如下。

1 病例报告

孕妇,40岁,孕23周因产前筛查 NIPT 低风险来产前诊断门诊咨询。系统超声:2018年7月17日 RSCA 双顶径 53mm,头围 196mm,腹围 175mm,小脑横径 23mm,侧脑室宽约 3mm,股骨长径 37mm,肱骨长径 34mm,羊水指数(amniotic fluid index, AFI):128mm;胎心:135次/min,规则胎动,可及脐动脉:PI0.91、RI0.58、S/D2.36;胎儿唇部显示,颅骨光环可及,脊柱曲度正常,四肢可及,双手握拳,双足可及,胃泡可及,四腔心可及,双肾可及,膀胱可及,脐带插入处未见明显异常。胎儿左肾大小约 21mm×13mm×11mm,右肾大小约 32mm×17mm×15mm,集合系统分离 3mm,下极见液性暗区,大小约 11mm×15mm×11mm,略向外突起。孕母宫区内见多个中低回声区,较大位于右前壁,大小约 55mm×43mm×42mm。诊断:宫内孕单活胎。胎

儿大小相当于 22 周。胎儿右肾下极囊性结构(①肾囊肿? ②多囊性肾发育不良? ③重复肾待排)。1-0-1-1 第一胎正常,无不良生育史。

由于孕妇高龄,且超声结构异常,符合染色体芯片(chromosomal microarray analysis, CMA)的检测指征,因此在取得孕妇的知情同意后,行羊膜腔穿刺作染色体核型及芯片检测。利用羊水细胞培养进行染色体核型分析。取羊水样本 10ml,依照 QIAGEN 公司试剂盒(Qiagen GMBH, Hilden, Germany)及其标准 DNA 抽提方法提取基因组 DNA。利用 CytoScan™ 750k Array(Affymetrix 公司)对患儿基因组 DNA 进行全基因组芯片分析。该芯片包含 75 万个探针,包括 25 万个可以确定基因型的 SNP 探针和 50 万个非多态性探针,可以对染色体异常进行全基因组范围的检测。基因组芯片杂交实验严格按照制造厂商的检测方案进行,整个过程包括 DNA 的质控、消化、连接、PCR、PCR 产物纯化、PCR 产物定量、片段化、标记、杂交及洗染扫描等几个步骤。最后利用经过 Affymetrix 公司自带软件(Affymetrix GeneChip Convert Console)和 CHAS(Chromosome Analysis Suite)软件将扫描所得的原始芯片数据进行分析。采用 MRC-Holland 公司 SALSA MS-MLPA KIT ME028-C1 Prader-Willi/Angelman 检测试剂盒,对羊水 DNA 样本的 15q 11. 2-q13 染色体区域进行拷贝数变异及甲基化状态的检测,整个实验过程包括 DNA 变性杂交、连接、PCR 扩增、毛细管电泳。毛细管电泳的结果由软件 GeneMarker 进行分析。

染色体核型分析结果显示常规 G 显带核型分析显示该受检羊水样本为正常核型(46, XN)。同

时,芯片分析结果显示,该羊水样本在染色体区域15q11.2-q14有一段13.8Mb的杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)(图1),该片段包含了Prader-Willi综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)/AS的核心区域。受检羊水样本进一步行甲基化多重连接

探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)检测,以确认该15q11.2-q14区域的甲基化状态。结果提示该区域的拷贝数正常(同CMA结果),但甲基化现象消失,即为父源性单亲二倍体。

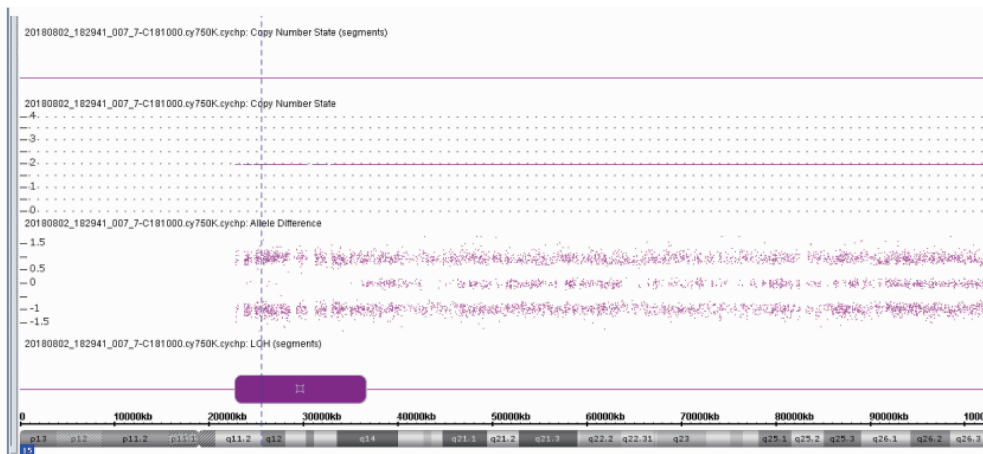


图1 受检羊水15q11.2-q14区域ROH的芯片结果图示

该病例产前诊断为:46,XN。天使综合征。遗传咨询内容如下:①根据已有的文献资料,染色体区域15q11.2-q13是已知的致病区域,包含OMIM致病印迹基因*UBE3A*、*SNRPN*。其中*UBE3A*与Angelman综合征相关,*SNRPN*与Prader-Willi综合征相关;②该区域的父源性单亲二倍体会引起天使综合征。患者主要临床表征包括严重发育落后、智力低下、语言障碍、运动或平衡障碍、行为异常伴大笑、微笑和兴奋;③出生后无特异性的治疗方法,支持治疗效果欠佳,但再次妊娠发生的几率小;④家长经讨论决定放弃妊娠。

2 讨论

Angelman综合征又称愉快木偶综合征,和Prader-Willi综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)俗称小胖威利综合征一样,是一种罕见的先天性疾病,是由15号染色体片段15q11-q13的缺失引起的染色体异常疾病。PWS患儿是由于来自父亲的15号染色体有缺失,而AS发生的原因是由于母源性15q11-q13基因的不表达,其遗传病理包括母源性15q11-q13微缺失、父源性单亲二倍体(uniparental disomy, UPD)、印迹基因和*UBE3A*基因突变4类,其中前

3类都有异常甲基化^[1-3]。*UBE3A*基因属于母源性,并且特异性地在脑组织表达,15%~20%的AS患者与其突变相关,基因突变具有异质性,大多数属新发生性^[3-5]。

AS的发病率为1/12 000~1/24 000,发病率极低,属罕见病,患者主要临床表征包括严重发育落后、智力低下、语言障碍、运动或平衡障碍、行为异常伴大笑、微笑和兴奋。小头畸形和癫痫也较为常见。发育落后,常在出生6月时被发现,但1岁前AS临床表征不明显^[1, 6-8]。无特异性治疗方法,效果差,代价极高。产前羊水全基因组芯片分析能明确诊断,及时终止妊娠,有效地阻止了缺陷儿的出生。

总结该病例值得注意以下几点:①近年高龄孕妇的占比较高,占18%左右,不少医生希望通过NIPT来取代诊断,这例结果就给出了否定的结果。无创DNA检测只是精度较高的筛查,只能对18、13、21 3对染色体进行筛查,对于染色体的微缺失微重复,单亲二倍体等并不能发现,无创检测并非万能,不能替代产前诊断。②高龄孕妇尤其是近40岁,应行产前诊断检查,且常规的细胞学检查并不能发现AS的微缺失异常。③CMA能有效帮助发现染色体结构异常、微缺失。④在此病例中,根据系统

超声发现有可以结构或软指标的异常;故产前诊断检测常规染色体培养联合 CMA 检测,才得以发现母源性 15q11.2-q14 13.8Mb 的杂合性丢失,及时终止出生缺陷儿的发生。⑤产前诊断病例一定要到有产前诊断资质的机构、产前诊断门诊,做好遗传咨询,根据病史、年龄、产前系统超声、产前筛查资料等综合分析,选择合适的诊断方法,明确诊断,以不致漏诊。减少社会家庭的压力,减少医患纠纷。

参 考 文 献

- [1] Buiting K, Williams C, Horsthemke B, Horsthemke. Angelman syndrome - insights into a rare neurogenetic disorder[J]. *Nat Rev Neurol*, 2016, 12(10): 584-493.
- [2] Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, et al. Prader-Willi syndrome[J]. *Genet Med*, 2012, 14(1): 10-26.
- [3] Sell GL1, Margolis SS. From UBE3A to Angelman syndrome: a substrate perspective [J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 322.
- [4] Moncla A, Malzac P, Livet MO, et al. Angelman syndrome resulting from UBE3A mutations in 14 patients from eight families: clinical manifestations and genetic counselling[J]. *J Med Genet*, 1999, 36(7): 554-560.
- [5] Wheeler AC, Sacco P, Cabo R. Unmet clinical needs and burden in Angelman syndrome: a review of the literature[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12(1): 164.
- [6] Clayton-Smith J, Laan L. Angelman syndrome: a review of the clinical and genetic aspects[J]. *J Med Genet*, 2003, 40(2): 87-95.
- [7] Guerrini R, Carrozzo R, Rinaldi R, et al. Angelman syndrome: etiology, clinical features, diagnosis, and management of symptoms[J]. *Paediatr Drugs*, 2003, 5(10): p. 647-61.
- [8] Mane S, Chatterjee R. Angelman syndrome: The blurred lines of interpretation in cognitive defects [J]. *J Pediatr Neurosci*, 2015, 10(1): 70-72.

(收稿日期:2019-08-17)

编辑:宋文颖