

网络出版时间:2022-1-20 14:33 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220119.1137.030.html

一种罕见小额外标记染色体的鉴定及临床意义分析

王红丹^{1,2}, 夏海兰², 李永乐², 高越¹, 张晓梅¹, 冯战启³

摘要 对一出生表现为缺血缺氧性脑病患者进行了遗传学诊断和病因分析。运用 MRI 技术对患儿脑部进行检查,运用常规 G 显带核型分析技术对患儿及其父母染色体核型进行分析,运用染色体芯片分析技术(CMA)对患儿及其父母全基因组进行染色体拷贝数变异分析,对多余染色体进行鉴定及定位。MRI 检测结果支持患儿缺血缺氧性脑病诊断,并发现 Dandy-Walker 畸形表现。核型分析结果显示患儿母亲染色体核型为 46, XX, t(10;13)(p11.1;q11)^[1]/46, XX^[19]。患儿父亲染色体核型结果正常。患儿染色体核型为 47, XX, +mar。患儿父母 CMA 检测结果显示不存在 200 kb 以上拷贝数变异(CNVs)。患儿 CMA 检测结果显示 10 号染色体 p15.3p11.1 区域发生了 3 拷贝重复,片段大小为 38.39 Mb。该研究发现一罕见 10 号染色体小额外标记染色体(sSMC),对其遗传方式及致病性进行了分析,认为 sSMC(10)是该患者的致病原因。

关键词 小额外标记染色体;核型分析;染色体芯片分析;10p15.3p11.1 重复

中图分类号 R 394.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)02-0329-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.02.032

小额外标记染色体(small supernumerary marker chromosomes, sSMC)是不能够被传统的染色体核型分析技术识别的多余的结构异常染色体^[1]。大约 60% 的 sSMC 衍生于染色体短臂或者近端着丝粒染色体近中心区域。人群中 sSMC 的发生率为 0.6/1000 左右^[2],是一种罕见染色体异常。25% ~

30% 被发现的 sSMC 产生于 15 号染色体, sSMC(15)是最常见的 sSMC 类型^[2]。起源于 10 号染色体的 sSMC 更为罕见,截至目前国内外仅见 10 余例报道。sSMC 的临床效应取决于 sSMC 中常染色质的含量,染色体的起源以及嵌合比例等因素,因此,为了更好地了解核型与表型的相关性,继续研究报道更多的 sSMC 病例,特别是起源于 10 号染色体的罕见特征性病例。该研究对一携带 sSMC(10)的患者进行了临床表型、遗传特征及临床意义分析。

1 材料与方法

1.1 病例资料 患儿母亲,29 岁, G3P1,有两次早孕期胎停史,未进行遗传咨询。患儿父亲,30 岁,既往体健。患儿,女,7 月龄,因新生儿窒息、缺血缺氧性脑病、生长发育迟缓来河南省人民医院医学遗传研究所遗传门诊进行遗传咨询,患儿体检未见明显结构畸形。患儿父母已经签署知情同意书,本研究通过河南省人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞遗传学核型分析 取患儿及其父母肝素钠抗凝血 2 ml,接种于人外周血淋巴细胞培养基中,置于 37℃ 恒温培养箱中,持续培养 72 h,收获前 1 h 加入秋水仙素,经过氯化钾低渗处理、固定、滴片和烤片等常规过程制片。胰酶消化后采用 Giemsa 染色进行显带。采用全自动染色体核型分析系统(德国 LEICA 公司)计数 30 个分散良好且显带清晰的分裂相进行分析。

1.2.2 染色体芯片分析(chromosomal microarray analysis, CMA) 采集患儿及父母外周血 2 ml,应用柱式全基因组 DNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司)提取基因组 DNA。采用 Qubit 定量平台(美国 Qubit 3.0)定量 DNA 的浓度。应用 Agilent 公司生产的 SurePrint G3 Human CGH Microarray 8 × 60K 芯片(美国 Agilent 公司)对患者及其父母全基因组 CNVs 进行检测。实验原理是将患者样本 DNA 与正常对照样本 DNA 分别用不同的荧光素标记(cy3/cy5)标记、纯化后进行竞争性杂交,采用 Agilent Microarray Scanner 对芯片进行扫描,运用 Agilent

2021-10-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81501336);河南省科技攻关项目(编号:212102310046);国家卫生健康委员会出生缺陷预防重点实验室开放课题(编号:ZD202006);河南省省部共建青年项目(编号:SBGJ202003001)

作者单位:¹ 郑州大学人民医院,河南省人民医院,医学遗传研究所,郑州 450003

² 国家卫生健康委出生缺陷预防重点实验室,河南省人口缺陷干预技术研究重点实验室,郑州 450002

³ 郑州市第一人民医院泌尿外科,郑州 450004

作者简介:王红丹,女,副研究员;

冯战启,男,副主任医师,责任作者, E-mail: fengzhan-qi448590@sina.com

CytoGenomics Edition 软件得到定量的拷贝数检测结果。软件参数设置为对基因检测片段中连续 3 个探针 $\log R$ 值 ≥ 0.25 或 $\log R \leq -0.25$ 的 CNVs 进行标示。据文献^[3]报道,大约 99.34% 致病性拷贝数变异 (copy number variation, CNVs) 长度均大于 300 kb,对 200 kb 以上 CNVs 进行检测并做出提示。此芯片检测不能排除更小的染色体结构异常的可能性。芯片序列信息来源于 2009 年 2 月 UCSC 数据库提供的人类基因组参考序列 (GRCh37/hg19)。

1.2.3 影像学检查 患儿于出生第 2 天及第 11 天进行了 MRI 检查,序列:IR FRFSE SE/EPI;AXI:TI-FLAIR&T2FLAIR,FRFSE T2WI;SE/EPI DWI SAG;T1FLAIR。

2 结果

2.1 细胞遗传学检测结果 患儿母亲染色体核型为 46, XX, t(10;13)(p11.1;q11)^[11]/46, XX^[19] (图 1)。患儿父亲染色体核型结果正常,核型为 46,XY。患儿染色体核型为 47, XX, + mar (图 2)。

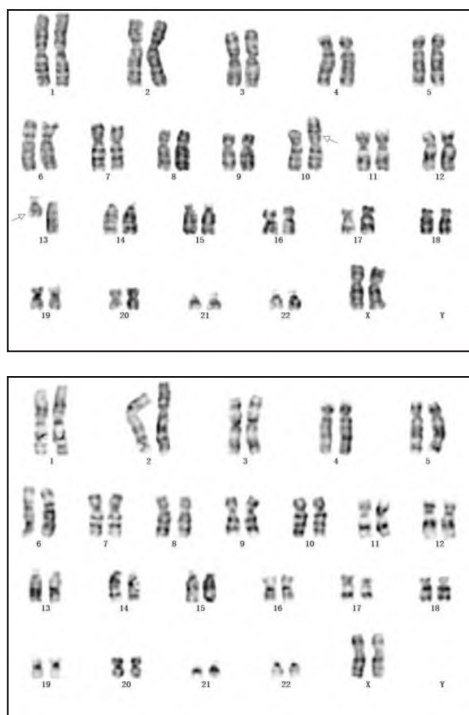


图 1 患儿母亲 G 显带染色体核型分析图

2.2 CMA 技术分析结果 患儿父母 CMA 检测结果显示不存在 200 kb 以上 CNVs。患儿 CMA 检测结果显示 10 号染色体 p15.3p11.1 区域 $\log R$ 值显著升高,大约在 0.5 附近,提示患儿 10 号染色体 p15.3p11.1 区域发生了 3 拷贝重复。CMA 分子核型为:arr[hg19] 10p15.3p11.1(148,206 ~ 38,545,

928) $\times 3$,片段大小为 38.39 Mb,13 号染色体未见重复和缺失 (图 3)。

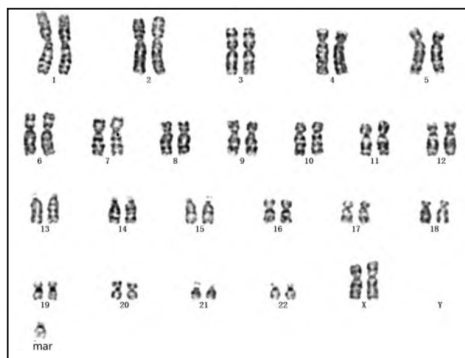


图 2 患儿 G 显带染色体核型分析图

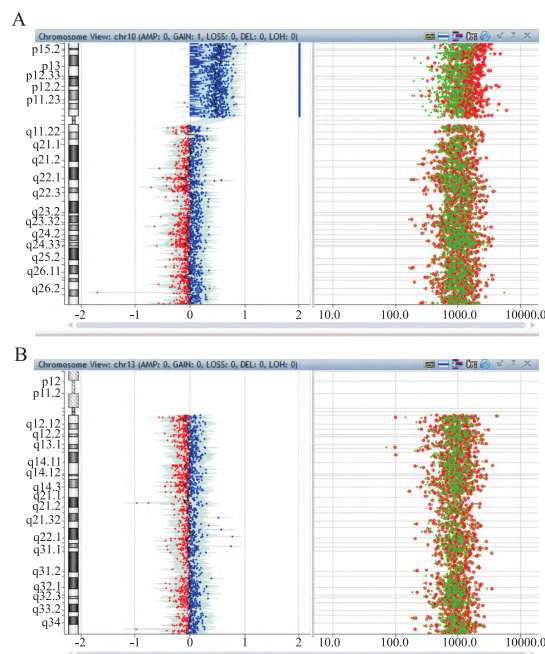


图 3 患儿 CMA 检测结果

A:15 号染色体 p15.3p11.1 区域存在三拷贝重复;B:13 号染色体未见重复和缺失

2.3 影像学检测结果 患儿于出生第 2 天进行了头部 MRI 检查。可见左侧颞叶、右侧枕叶异常信号,双侧侧脑室后角内积血,符合缺氧缺血性脑病;Dandy-Walker 畸形,枕大池内有积血;胼胝体异常信号及左侧头皮下血肿。出生第 11 天进行了头部 MRI 复查,与前片相比,右侧颞叶新见异常信号区,有局部脑软化形成趋势,余同前片。CT 检测结果支持缺血缺氧性脑病。

2.4 回顾性总结以往 sSMC(10) 病例 对文献报道的 sSMC(10) 病例进行了遗传学和临床总结。见表 1。

表1 文献报道的 sSMC (10) 病例的遗传学及临床特征

编号	sSMC 片段来源	嵌合比例	核型	临床表现	参考文献
1	10p11.1p12	66% (外周血)	47,XX,+r(mar)/46,XX	生长发育迟缓,耳部轻微结构畸形,唇腭裂,全身肌无力,脑部 CT 及脑电图正常	[4]
2	10p	100% (外周血)	47,XX,+der(10)p(ter→cen)	特殊面容,皮嵴发育不全,右肾发育不全,指甲发育不全,双侧马蹄内翻足,肌张力减退,吮吸困难	[5]
3	10p11.1p11.21	49% (外周血)	47,XX,+mar/46,XX	长期不孕,余正常表型	[6]
4	10pterp14-15	100% (羊水细胞)	47,XY,+mar	来自正常怀孕的 20 孕周胎儿	[7]
5	10p15q11.1	35% (外周血)	47,XX,+r(mar)/46,XX	多发畸形,生长发育迟缓,智力低下	[8]
6	10p12.31-q11.1	46% (绒毛细胞),33% (羊水细胞)	47,XX,+mar/46,XX	18 孕周终止妊娠胎儿,尸检发现胎儿心脏、肝脏、肾脏及肾上腺发育不全,除右侧输尿管裂外,无结构器官异常	[9]
7	10p11.2q11.2	14% (外周血)	47,XX,+r(mar)/46,XX	生长发育迟缓,智力低下,肌张力减退,注意力下降	[10]
8	10p11.2q11.2	14% (外周血)	47,XX,+mar/46,XX	正常表型	[11]
9	10p11.2q11.2	30%~100% (外周血)	47,XX,+mar/46,XX;47,XY,+mar/46,XY	发现于 6 个正常表型个体	[12]
10	10p15.3p11.1	100% (外周血)	47,XX,+mar	新生儿窒息,缺血缺氧性脑病,Dandy-Walker 畸形,生长发育迟缓,智力低下	本例患者

3 讨论

加用传统核型分析以外的遗传学检测方法,明确 sSMC 的衍生来源、大小、嵌合比例、组成结构以及包含的基因等显得尤为重要,是临床进行遗传学诊断及产前诊断的依据。针对有明确临床表型,同时核型检测到 sSMC 的病例,目前临床多采用 CMA 进行复查及确诊。但是需要注意的是 CMA 不能检测到平衡易位、倒位、低比例嵌合及多倍体等情况。

各个报道给出的 sSMC 携带频率不尽相同,目前尚无中国人群携带 sSMC 频率等相关报道。据文献报道,sSMC 在人群中比较罕见,本病例代表一种新的 sSMC(10) 细胞遗传学形成机制,这在以往尚未见报道。课题组应用 CMA 技术对患儿基因组 DNA 进行分析,结果显示 CMA 分子核型为:arr^[hg19]10p15.3p11.1(148,206~38,545,928)×3,片段大小为 38.39 Mb。结合父母核型结果,分析患儿 mar 可能主要是由 10 号染色体短臂组成。

由于 sSMC 的常染色体组成、与 sSMC 同源的亲本染色体嵌合比例以及单亲二倍体程度等的不同,特定 sSMC 的表型是难以预测的。研究者普遍认为,携带 sSMC 的表型主要取决于 sSMC 中常染色质的含量以及嵌合比例。来自于 10 号染色体的 sSMC 非常罕见,本实验对已报道的 sSMC(10) 案例进行了总结,详见表 1。这些病例中,其中有 5 例出现异常表型。未见异常表型的染色体来源区段分布在 10p11.2q11.2 以及 10pterp14-15^[6,11-12]。Trimborn et al^[10] 报道的患者是一个例外,报道了一个携带环状 sSMC 的 14 岁女孩(淋巴细胞嵌合比例为 14%)

呈现出生长发育迟缓、智力低下、肌张力减退、注意力下降等表型。由于技术手段的局限性,这些病例并未进行单亲二倍体检测,如果 sSMC 同源的亲本染色体来源于一个亲本,这样的患者是有可能表现出异常表型的。排除单亲二倍体以及其它未检测到的遗传学改变的情况下,临床上遇到 10p11.2q11.2 的 sSMC,可以认定为良性变异。Snyder et al^[5] 和 Chen et al^[8] 报道的病例几乎涉及到整个 10 号染色体短臂,患者出现了肾脏发育不全,指甲发育不全等多发畸形。Blennow et al^[4] 报道的 10p11.1p12 是涉及范围最小的致病性 sSMC,本病例显示 10p11.2p12 可能是比较重要的致病区域,但其对 sSMC 范围的认定可能不是那么精确,且未进行单亲二倍体检测。

本研究患者由于涉及的片段比较大,几乎涉及到整条 10 号染色体短臂,且 sSMC 占比达到 100%,依照 ACMG 和 Clingen 制定的 CNV 致病性判定指南,判定该 CNV 为致病性,该 sSMC 即为患儿致病原因。本例患儿是由于母亲的染色体易位,形成 sSMC,在卵子形成过程中没有参与细胞分裂,遗传至患儿,核型分析显示该 sSMC 是由 10 号染色体的短臂和 13 号染色体短臂随体组成。本病例这种新的 sSMC(10) 细胞遗传学形成方式在以往尚未见报道。该患儿未见明显的结构畸形,进行了脑部核磁共振检测,留下了珍贵的病例资料。患儿脑部发现 Dandy-Walker 畸形等,这在以往尚未见报道,于以后的临床遗传学工作是一种启示。

参考文献

- [1] Castronovo C, Valtorta E, Crippa M, et al. Design and validation

- of a pericentromeric BAC clone set aimed at improving diagnosis and phenotype prediction of supernumerary marker chromosomes [J]. *Mol Cytogenet*, 2013, 6(1): 45.
- [2] Liehr T, Claussen U, Starke H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2004, 107(1-2): 55-67.
- [3] 葛运生, 孔辉, 曾寰, 等. 高分辨微阵列比较基因组杂交技术在临床复杂染色体异常遗传诊断中的应用 [J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(1): 46-9.
- [4] Blennow E, Tillberg E. Small extra ring chromosome derived from chromosome 10p: clinical report and characterisation by FISH [J]. *J Med Genet*, 1996, 33(5): 399-402.
- [5] Snyder F F, Lin C C, Rudd N L, et al. A de novo case of trisomy 10p: gene dosage studies of hexokinase, inorganic pyrophosphatase and adenosine kinase [J]. *Hum Genet*, 1984, 67(2): 187-9.
- [6] Santacrose R, Trunzo R, Leccese A, et al. The first case of a small supernumerary marker chromosome derived from chromosome 10 in an adult woman with an apparently normal phenotype [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2015, 61(6): 398-402.
- [7] Levy B, Papenhausen P, Tepperberg J, et al. Prenatal molecular cytogenetic diagnosis of partial tetrasomy 10p due to neocentromere formation in an inversion duplication analphoid marker chromosome [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 91(1-4): 165-70.
- [8] Chen Z, Meloni-Ehrig A, Palumbos J C, et al. Pure trisomy 10p resulting from an extra ring chromosome: characterization by methods of advanced molecular cytogenetics [J]. *Am J Med Genet*, 2001, 102(4): 379-82.
- [9] Schlegel M, Baumer A, Riegel M, et al. Maternal uniparental isodisomy 10 and mosaicism for an additional marker chromosome derived from the paternal chromosome 10 in a fetus [J]. *Prenat Diagn*, 2002, 22(5): 418-21.
- [10] Trimborn M, Grueters A, Neitzel H, et al. First small supernumerary ring chromosome carrying 10q euchromatin in a patient with mild phenotype characterized by molecular cytogenetic techniques and review of the literature [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 108(4): 278-82.
- [11] Sung P L, Chang S P, Wen K C, et al. Small supernumerary marker chromosome originating from chromosome 10 associated with an apparently normal phenotype [J]. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A(12): 2768-74.
- [12] Liehr T, Stumm M, Wegner R D, et al. 10p11.2 to 10q11.2 is a yet unreported region leading to unbalanced chromosomal abnormalities without phenotypic consequences [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2009, 124(1): 102-5.

Genetic diagnosis and analysis of a rare small supernumerary marker chromosome

Wang Hongdan^{1,2}, Xia Hailan², Li Yongle², Gao Yue¹, Zhang Xiaomei¹, Feng Zhanqi³

(¹Medical Genetic Institute of Henan Province, Henan Provincial People's Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003; ²National Health Commission Key Laboratory of Birth Defects

Prevention, Henan Key Laboratory of Population Defects Prevention, Zhengzhou 450002;

³Dept of Urology, The First People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450004)

Abstract Genetic diagnosis and etiological analysis were performed on a patient with hypoxic-ischemic encephalopathy at birth. MRI technology was used to examine the brain of the child. G-band karyotype analysis technology was used to analyze the karyotype of the child and her parents. Chromosomal microarray analysis (CMA) was used to analyze the entire genome of the child and her parents for chromosomal copy number variation (CNV) and to identify the small supernumerary marker chromosomes. The results of MRI supported the diagnosis of hypoxic-ischemic encephalopathy of the child and found the appearance of Dandy-Walker malformation. Karyotype analysis showed that the mother's karyotype was 46, XX, t (10; 13) (p11.1; q11)^[11]/46, XX^[19]. The karyotype of the father was normal. The karyotype of the child was 47, XX, + mar. The CMA results showed that there was no CNVs above 200 kb in the parents. The CMA results of the child showed that the chromosome 10 was repeated in p15.3p11.1, and the fragment size was 38.39 Mb. In conclusion, this study found a rare small supernumerary marker chromosome (sSMC) on chromosome 10. Its genetic pattern and pathogenicity were analyzed. It is considered that sSMC (10) is the cause of the patient.

Key words small supernumerary marker chromosome; karyotype analysis; chromosomal microarray analysis; 10p15.3p11.1 duplication