

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.09.012

文章编号: 1005-8982 (2019) 09-0058-04

新进展研究·论著

## SNP 芯片检测胎儿额外小标记染色体的研究 \*

郑芳秀, 史烨, 王晶, 张峰, 张晓青, 虞斌

[常州市妇幼保健院(南京医科大学附属常州妇幼保健院)实验室, 江苏 常州 213003]

**摘要: 目的** 总结应用 SNP 芯片技术对胎儿额外小标记染色体 (sSMC) 进行鉴定的经验, 为产前遗传咨询提供参考。**方法** 应用传统 G 显带技术对 2 例胎儿羊水细胞及其父母外周血进行染色体核型分析, 进一步用 SNP 芯片技术明确胎儿 sSMC 的来源。**结果** 1 号胎儿羊水染色体核型为 45, X[74]/46, X, +mar[31], 芯片扫描结果为 Xp22.33 ~ p11.22 和 Xq27.3 ~ q28 区域均缺失, 缺失大小分别为 52.7 和 8.6 Mb。2 号胎儿羊水染色体核型为 47, XX, +mar, 芯片结果为 46, XX, 其父亲外周血染色体核型为 47, XY, +mar, 临床表型正常。**结论** SNP 芯片可以确定 sSMC 的来源, 可作为传统核型分析的补充, 为产前诊断和遗传咨询提供帮助。

**关键词:** 产前诊断; 额外小标记染色体 / 染色体; SNP 芯片

**中图分类号:** R715.5

**文献标识码:** A

## Detection of small supernumerary marker chromosomes in fetuses by SNP chip\*

Fang-xiu Zheng, Ye Shi, Jing Wang, Feng Zhang, Xiao-qing Zhang, Bin Yu

(Department of Laboratory Medicine, Changzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the diagnostic value of small supernumerary marker chromosomes (sSMC) by SNP chip technique applied in two fetuses. **Methods** The karyotypes of two fetuses and their parents were analyzed by conventional G banding technique. SNP chip technique was performed to determine the source of sSMC. **Results** The chromosome karyotype of fetus 1 was determined as 45, X[74]/46, X, +mar[31]. The chip has identified of a 52.7 Mb deletion at Xp22.33-p11.22 and of a 8.6 Mb deletion at Xq27.3-q28. The karyotype of Fetus 2 was 47, XX, +mar, while the chip result was 46, XX. Patriarchal karyotype was 47, XY, +mar with normal clinical characteristics. **Conclusions** The SNP chip is able to determine the source of sSMC and serves as supplementation to traditional karyotype analysis for prenatal diagnosis and genetic counseling.

**Keywords:** prenatal diagnosis; small supernumerary marker chromosomes/chromosomes; SNP chip

额外小标记染色体 (small supernumerary marker chromosomes, sSMC) 是指结构异常、但仅用传统细胞遗传学的染色体显带技术不能确定其来源和特征的染色体, 其大小通常 ≤ 同一中期染色体核型中的 20 号

染色体<sup>[1-2]</sup>。不同来源的 sSMC 致病能力差异很大, 临床诊断和处理也不同, 因此在产前诊断中, 快速、准确地鉴别 sSMC 的来源尤为重要。本研究结合传统的染色体核型分析, 应用 SNP 芯片技术对 2 例产前诊断

收稿日期: 2018-10-29

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81773438)

[通信作者] 虞斌, E-mail: ybcz0519@163.com; Tel: 0519-81666011

的 sSMC 进行鉴定。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2006 年 1 月—2017 年 3 月常州市妇幼保健院产前诊断中心进行羊膜腔穿刺术的孕妇,有 2 例胎儿染色体核型分析多 1 条 sSMC。1 号孕妇,35 岁,孕 2 产 1,高龄妊娠,于孕 21 周在签署知情同意下行羊膜腔穿刺;2 号孕妇,25 岁,孕 1 产 0,血清学筛查为 21 三体高风险 (1/52),于孕 19 周在知情同意后行羊膜腔穿刺。为确定胎儿 sSMC 的来源,遂召回这两对夫妇行外周血染色体检查,同时对羊水细胞进行芯片检查。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞遗传学检查** 抽取孕妇羊水及夫妻双方外周血,细胞培养、制片、阅片过程均按本实验室常规操作进行。每例标本选择形态适中、显带清楚的核型分析至少 5 个,计数至少 20 个分裂相,如遇数目异常核型计数量 60 ~ 100 个,如遇结构异常核型则同时

增加分析核型数量。

**1.2.2 全基因组 DNA 提取** 采用苯酚-氯仿法抽提孕妇羊水及夫妻双方外周血基因组 DNA,测定 DNA 浓度及纯度,保持 DNA A260/280 在 1.8 左右。

**1.2.3 SNP 芯片分析** 选用 Affymetrix Cyto Scan 750K Array 芯片,按美国 Affymetrix 公司提供的操作手册进行全基因扩增、标记及全基因组扫描,后用 Chromosome Analysis Suite 软件进行全基因组拷贝贝分析。

## 2 结果

1 号胎儿羊水染色体核型分析结果为 45, X[74]/46, X, +mar[31](见图 1),影像学检测未发现明显异常。夫妻双方外周血染色体检查均正常。该对夫妇已生育一男孩,外表及智力均正常。芯片扫描分析结果显示,该胎儿为 arr[hg 19]Xp22.33p11.22 (168551-52832021) × 1,缺失 52.7 Mb, Xq27.3q28 (146653973-155233098) × 1,缺失 8.6 Mb(见图 2)。在告知上述结果后,孕妇选择终止妊娠,引产胎儿外表无特殊异常,其家属拒绝做进一步检查。



图 1 1 号胎儿羊水细胞染色体核型图

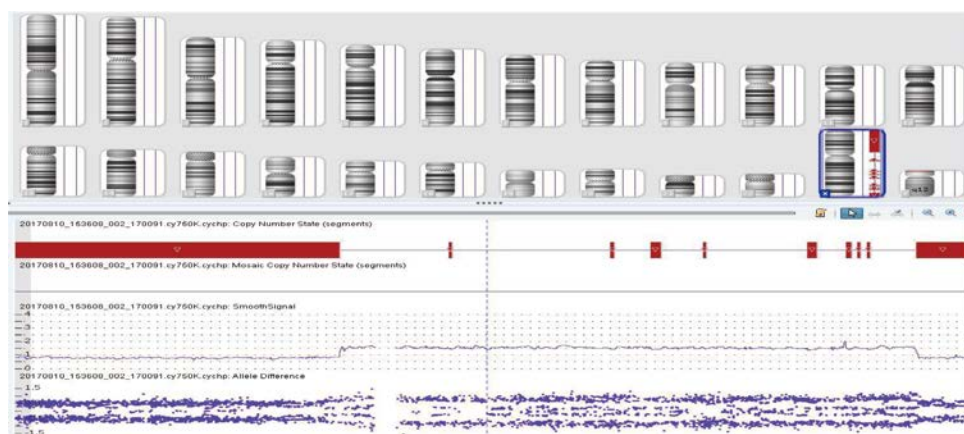
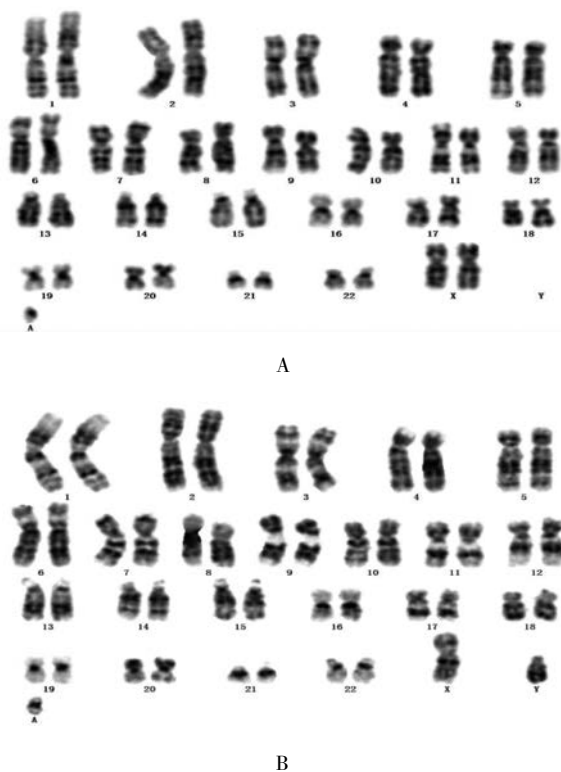


图 2 1 号胎儿羊水细胞芯片扫描图

2号胎儿羊水染色体核型分析结果为47, XX, +mar, 胎儿超声检查无异常。夫妻双方均健康, 非近亲结婚, 外周血染色体检查发现胎儿父亲为47, XY, +mar(见图3), 临床表型正常。芯片结果为46, XX。该夫妇决定继续妊娠, 现已生下一健康女婴。



A: 胎儿羊水细胞染色体核型为47, XX, +mar(箭头所示为sSMC); B: 胎儿父亲外周血染色体核型47, XY, +mar(箭头所示为sSMC)

图3 2号胎儿羊水细胞及父亲外周血染色体核型图

### 3 讨论

sSMC具有以下特点: ①来源多变。可以是常染色体或者性染色体中的任何一条或多条。②形式多样。可能是倒位重复、环状或其他微小结构。③临床表型多变。sSMC所含遗传物质的不确定性导致患者有多变的临床表型<sup>[3]</sup>。由此可见, sSMC的存在给产前诊断带来巨大的困难。传统的染色体核型分析只能发现sSMC, 不能确定sSMC的来源。而SNP芯片技术不仅能确定sSMC的来源和结构, 还能预测胎儿的临床表型<sup>[4]</sup>, 为产前诊断中疑难的sSMC提供可靠的诊断依据。

sSMC在一般人群中的发生率极低, 而LIEHR等<sup>[5]</sup>报道产前诊断中sSMC的检出率高于新生儿中的检出率(前者为0.75%, 后者为0.44%)。其与产前诊断染色体分析是有选择性的针对高龄孕妇、超声异

常、不良生育史等指征进行有关。本研究中1号高龄孕妇羊水核型分析为45, X[74]/46, X, +mar[31], 通过芯片分析发现胎儿X染色体Xp22.33-p11.22和Xq27.3-q28区域分别缺失52.7和8.6 Mb, 从而确定sSMC来源于X染色体, 最终修正1号胎儿羊水细胞染色体核型为45, X[74]/46, X, r(X)(p11.22q27)[31]。谭跃球等<sup>[6]</sup>对11例Turner综合征患者所携带的标记染色体进行鉴定, 发现其均来源于X染色体, 且表现为环状染色体, 均以嵌合型的形式存在。X染色体结构异常的不同, Turner综合征患者临床表现也存在差异, 大部分症状的轻重取决于X染色体异常的程度。相关资料显示<sup>[7]</sup>, X染色体短臂的Xp11-Xp22区域主要与身高有关, X染色体长臂Xq23-Xq27区域与卵巢早衰密切相关。有文献指出<sup>[8]</sup>, 对45, X/46, X, +mar(X)类型的Turner综合征患者, 如果sSMC中存在所谓的X染色体失活特异性转录基因(X-inactive specific transcript, XIST), 则后者的X染色体最有可能是遗传性失活的。如果XIST基因缺失, 但存在其他常染色质, 患者除了Turner综合征特征外, 还可能引起智力低下以及其他的表型异常。

sSMC的遗传方式中, 新生性sSMC约占70%, 另外30%通过双亲之一传递<sup>[9]</sup>。对于表型正常的、由双亲之一传递给子代的sSMC并不增加子代表型异常的风险<sup>[10]</sup>。本研究中2号胎儿羊水细胞染色体核型分析多出一条sSMC, 通过分析其父母外周血染色体, 发现胎儿父亲同样存在一条sSMC, 所以胎儿的sSMC属于家族遗传的sSMC。芯片结果显示胎儿羊水细胞分子核型正常, 考虑到胎儿超声检查无明显异常, 结合胎儿父亲无特殊临床表现, 推测胎儿为正常的临床表型, 建议其继续妊娠, 定期产检。目前该孕妇已产下一表型正常、发育良好的健康女婴。有研究指出<sup>[11-12]</sup>, 来源于近端着丝粒的染色体, 虽然认为这些染色体的短臂及着丝粒附近区域存在卫星DNA和核糖体RNA编码基因等, 但其在NCBI37/HG19里以gap的形式存在, 人类基因组测序没有能够分析出这一区域的具体序列。虽然笔者未对2号胎儿羊水细胞进行C显带分型, 排除易异染色质, 但是芯片结果正常, 再结合上述文献, 推测多余的sSMC为近端着丝粒的易异染色质可能性较大。

随着我国二孩生育政策的全面放开, 给产前诊断和遗传咨询带来更大的挑战。本文在传统G显带核型分析的基础上, 结合具有高分辨率、高准确性的SNP芯片技术分别对2例胎儿的sSMC进行鉴定, 再结合

相关临床资料,对2例胎儿出生后的风险以及妊娠结局做出不同的评估,为胎儿父母提供切实有益的咨询服务。

#### 参 考 文 献:

- [1] ARMANET N, TOSCA L, BRISSET S, et al. Small supernumerary marker chromosomes in human infertility[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2015, 146(2): 100-108.
- [2] LIEHR T, CIRKOVIC S, LALIC T, et al. Complex small supernumerary marker chromosomes-an update[J]. *Mol Cytogenet*, 2013(6): 46.
- [3] LIEHR T. Small supernumerary marker chromosomes-an update[J]. *Mol Cytogenet*, 2014, 7(Suppl 1): 111.
- [4] 闻小慧,戚红,任捷,等.应用单核苷酸多态芯片技术检测标记染色体[J].*中华儿科杂志*, 2015, 53(3): 198-202.
- [5] 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.
- [6] 谭跃球,程德华,狄玉芬,等. Turner 综合征患者标记染色体的鉴定与分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2007, 42(10): 679-682.
- [7] 郑杰梅,刘之英,夏培,等. 607例 Turner 综合征的临床表型及细胞遗传学分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(1): 61-64.
- [8] JAFARI-GHAHFAROKHI H, MORADI-CHALESHTORI M, LIEHR T, et al. Small supernumerary marker chromosomes and their correlation with specific syndromes[J]. *Adv Biomed Res*, 2015(4): 140.
- [9] MELO B C, PORTOCARRERO A, ALVES C, et al. Paternal transmission of small supernumerary marker chromosome 15 identified in prenatal diagnosis due to advanced maternal age[J]. *Clin Med Insights Case Rep*, 2015(8): 93-96.
- [10] LIEHR T, EWERS E, KOSYAKOVA N, et al. Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2009, 9(4): 317-324.
- [11] 偶健,王玮,段程颖,等.人类额外小标记染色体的鉴定及其研究价值的探讨[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30(1): 91-94.
- [12] 章卫国,潘映秋,章鸯,等.胎儿羊水额外小标记染色体的细胞及分子遗传学分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(2): 187-191.

(王荣兵 编辑)