

一个 16p11.2 微缺失综合征家系的产前诊断及遗传学分析

王翠霞^{1*}, 王艳飞¹, 刘颖慧¹, 张昊昱¹, 宋占云¹, 朱文爽¹, 杨丹¹, 朱俊真²

(1. 河北生殖妇产医院, 河北石家庄 050000; 2. 河北省人民医院, 河北石家庄 050071)

*通讯作者: 1326753406@qq.com

【摘要】目的 探讨一个 16p11.2 微缺失综合征家系基因型与表型的关系, 为临床遗传咨询和产前诊断提供依据。**方法** 分别对孕妇夫妻、胎儿、患儿进行染色体核型分析及 750K SNP-Array 芯片检测。**结果** 染色体核型分析未见异常; 基因芯片检测发现孕妇及胎儿在 16p11.2 区段存在 761.4 kb 片段的缺失, 患儿在 16p11.2 区段存在 610.0 kb 片段的缺失, 其丈夫芯片结果未见异常。**结论** 传统的细胞遗传学方法不能诊断 16p11.2 微缺失综合征, 应用 750K SNP-Array 芯片检测技术可明确断裂点与临床表型的关系, 验证了患儿及胎儿的 16p11.2 缺失片段均来自母亲遗传, 为临床遗传咨询提供科学依据。

关键词: 16p11.2 微缺失综合征; 750K SNP-Array 芯片检测技术; 家系分析

DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2022.08.031

Prenatal diagnosis and molecular genetic analysis of one family with 16p11.2 microdeletion syndrome

WANG Cuixia¹, WANG Yanfei¹, LIU Yinghui¹, ZHANG Haoyu¹, SONG Zhanyun¹,

ZHU Wenshuang¹, YANG Dan¹, ZHU Junzhen²

(1. Hebei Maternal Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China;

2. Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050071, China)

ABSTRACT Objective To investigate the correlation between genotype and clinical manifestations of 16p11.2 microdeletion syndrome, then address the foundation for clinical genetic counseling and prenatal diagnosis. **Methods** Peripheral blood of the proband, pregnant mother and her husband and amniotic fluid of intrauterine fetus were collected for G-banding karyotype analysis. 750K SNP-Array chip detection was utilized to identify the genotypes of family members. **Results** Karyotype analysis showed no abnormalities. Results of 750K SNP-Array chip showed the mother and fetus have a 761.4 kb deletion in 16p11.2 while the proband has a 610.0 kb deletion in 16p11.2. The father does not carry the microdeletion in the same region. **Conclusion** Traditional cytogenetics methodologies are not eligible for 16p11.2 microdeletion syndrome diagnosis. Microarray has provided a better approach for identifying the correlation between chromosomal breakpoints and clinical manifestations. Results of our research showed the microdeletions of the proband and fetus were inherited from the mother, and provided evidence for genetic counselling.

KEY WORDS 16p11.2 microdeletion syndrome; 750K SNP-Array chip detection; pedigree analysis

16p11.2 微缺失综合征是一类基因组缺陷性疾病, 其临床特征包括自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorders, ASD)、智力低下 (intellectual disability, ID)、发育迟缓 (developmental delay, DD)、癫痫、脊柱畸形等^[1-2]。典型的缺失范围为 500~600 kb, 涉及 24~29 个基因^[3], 该缺失在人群中的发生率约为 1/2000^[4], 在 ASD 患儿中可达 0.5%^[1,5]。16p11.2 微缺失综合征多在儿童期被诊断, 约 75% 的缺失为新发变异^[6], 遗传自亲代的情况非常少见, 在一个家系中发生连续遗传的情况尤为罕见。本文对 1 个 16p11.2 微缺失的家系进行了基因型和表型相关性的遗传学分析。在这个家系中, 孕妇为 16p11.2 微缺失综合征患者, 连续两次妊娠, 均将这一致病片段遗传到下一代。

1 对象与方法

1.1 研究对象

孕妇 22 岁, 广西人, 身高 135 cm, 轻度智力低下, 双眼上睑下垂, 左眼斜视, 视力异常, 右眼正常 (图 1)。



图 1 孕妇表型图

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题 (20200211)

丈夫 47 岁，河北人，未见异常，夫妻双方非近亲婚配。婚后自然怀孕，孕期未进行规律产前检查，于 2018 年 7 月 6 日足月剖宫产分娩一男婴，出生时体质量 2200 g，出生后喂养困难，就诊时 13 个月，能独坐，不能独立站立及行走。头颅 MRI 检查提示为：双侧额叶至半卵圆中心层面异常信号影，考虑灰质异位症。双侧侧脑室后角终末带。垂体较小。DTI 序列测得双侧内囊前肢 FA 值低于同龄儿童正常范围。生长发育落后，GESELL 发育测评：适应性 74 分，粗大运动 54 分，精细运动 68 分，语言 40 分，个人-社交 28 分。患儿面部特征：双上睑下垂，左眼斜视，视力不详，右眼未见其他异常（图 2）。家系生育情况见家系图（图 3）。



图 2 患儿表型图

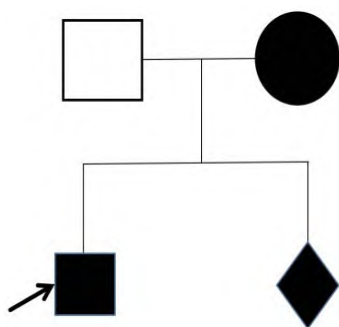


图 3 16p11.2 微缺失综合征家系图

本次妊娠情况：末次月经为 2019 年 1 月 30 日，孕早期无上呼吸道感染及用药史，无阴道出血及保胎治疗史。当地医院进行产检，NT 0.16 cm，无创 DNA 筛查提示为低风险。孕 26 周当地超声检查发现胎儿：永存左上腔；双侧侧脑室增宽（1.2 cm）。孕 27 周来我院就诊，进一步胎儿心脏超声检查提示：残存左上腔；主动脉肺动脉比例失调，主肺动脉增宽（图 4）。

1.2 方法

1.2.1 羊水细胞 G 显带核型分析^[7] 孕妇及其丈夫签署知情同意后，在超声引导下以一次性羊膜腔穿刺针抽

取羊水 30 mL，平均注入 3 个离心管内；一管送基因检测，余 20 mL 进行离心，弃去上清液，留 0.5 mL 的羊水细胞，混合均匀后将其接种于 2 个培养瓶中，置 5% 二氧化碳培养箱，37 ℃ 培养 5 d 后，观察细胞贴壁生长情况，换液继续培养，观察细胞贴壁生长良好，并达到需要的数量，即可收获。制片显带同外周血。



图 4 胎儿心脏异常超声图

1.2.2 SNP-Array 芯片检测 取羊水 10 mL，由北京贝康医学检验所进行 DNA 提取，应用 AffymetrixCytoScan 750K 芯片平台提供检测。

1.2.3 外周血染色体核型分析及 SNP-Array 芯片检测进行验证 抽取夫妻双方及患儿外周血各 2 管，一管肝素抗凝，离心后接种于 2 个培养瓶中进行培养，常规制片进行染色体核型分析^[7]，另一管 EDTA 抗凝，由北京贝康医学检验所进行 DNA 提取，应用 AffymetrixCytoScan 750K 芯片平台提供检测。

2 结果

2.1 羊水染色体核型 G 显带分析结果

羊水细胞染色体核型分析未见异常（图 5）。

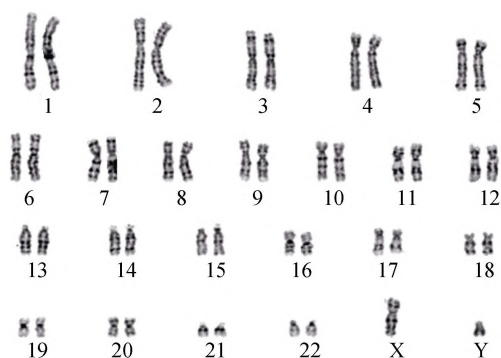


图 5 胎儿染色体核型图 46,XY

2.2 外周血染色体核型 G 显带分析结果

孕妇夫妻双方及患儿外周血染色体核型分析均未见异常。

2.3 SNP-Array 芯片检测结果

胎儿芯片结果：arr[hg19]16p11.2(29,428,531-30,190,029)x1，即在 16 号染色体 16p11.2 区段存在 761.4 kb 片

段的缺失(图6)。孕妇芯片结果: arr[hg19]16p11.2(29,428,531-30,190,029)x1; 即在16号染色体16p11.2区段存在761.4 kb片段的缺失(图7)。患儿芯片结果: arr[hg19]16p11.2(29,580,020-30,190,029)x1; 即在16号染色体16p11.2区段存在610.0 kb片段的缺失(图8)。丈夫芯片结果: arr(1-22)x2,(X,Y)x1; 即在全染色体基因组范围内未发现染色体片段拷贝数的异常变化(图9)。以上标本均未检测到其他基因组位点的致病性或可疑致病性变异。

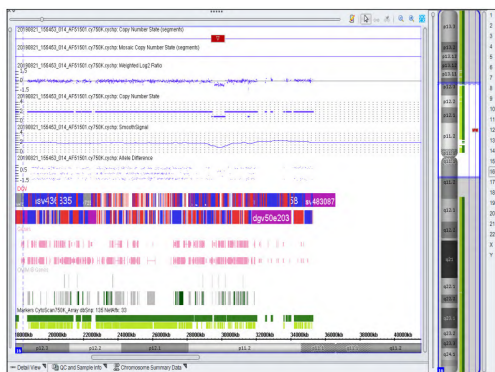


图6 胎儿芯片结果
16p11.2(29,428,531-30,190,029)x1

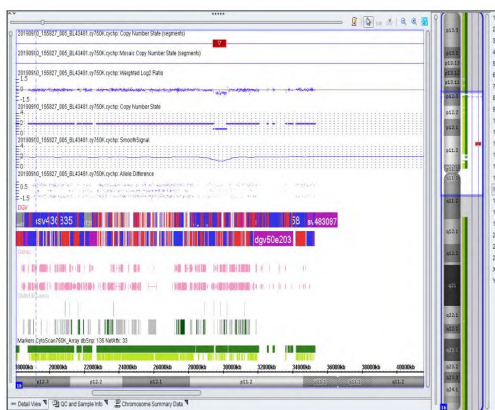


图7 孕妇芯片结果
16p11.2(29,428,531-30,190,029)x1



图8 患儿芯片结果
16p11.2(29,580,020-30,190,029)x1



图9 丈夫芯片结果未见异常

3 讨论

染色体核型分析技术是诊断染色体异常的金标准,可以更直观地检测染色体非整倍体、大于5 Mb的平衡性结构异常以及非平衡性结构异常。然而随着基因检测技术的飞速发展,更多的基因检测技术逐渐应用到产前诊断中,越来越多的微小结构异常综合征被发现,并得以在产前被诊断。这些微小结构异常包括微缺失和微重复综合征。染色体微缺失主要是由于受精卵在形成过程中随机的基因组丢失所致,可以发生在受精卵形成的各个阶段,对胎儿的生长发育造成不同程度的影响。16p11.2区段核心易感区两侧存在低拷贝重复区域,减数分裂过程中较易因同源染色体上非等位基因重组而产生CNV,且该区域CNV无论微缺失还是微重复,均已证实能引发临床症状,被ClinGen剂量敏感评分系统判断为致病性。16p11.2微缺失综合征于2008年由Kumar等在自闭症谱系障碍病因的研究中首次提出^[8]。典型的16p11.2缺失综合征为16号染色体29.5~30.1 Mb区域上500~600 kb的缺失,是最常见的类型,常规的染色体核型分析不能诊断,而SNP-Array芯片的检测方法,则可以发现100 kb以上的微小结构异常,随着这一检测技术在临床的逐渐应用,显著提高了16p11.2微缺失综合征的诊断率。

16p11.2微缺失综合征涉及的基因较多,缺失的基因是如何导致患者出现一系列的临床表型的机制,至今仍不完全明确。多项研究正在逐步揭示特定基因和相关表型的关系。该区域覆盖有: *PRRT2*、*KCTD13*、*TBX6*、*HIRIP3*、*SEZ6L2*、*ALDOA*、*TLCD3B*等29个基因。*PRRT2*基因缺失可引起阵发性运动源性运动障碍、家族性阵发性舞蹈样手足徐动症、良性家族性婴儿癫痫等^[9]。*TBX6*基因与脊柱畸形密切相关^[10-11],*TBX6*基因缺失后引起*TBX6*蛋白转录活性下降,从而引起脊柱畸形^[12-13]。*TLCD3B*与视力下降、畏光、周围性视网膜萎缩等相关。*ALDOA*则与糖原贮积症XII相关,可引起身材矮小、上睑下垂、内眦赘皮、黄疸、智力障碍及先天性非球形细胞溶血性贫血等。孕妇与患儿均表现出双眼上睑下垂,左眼异常、生长发育异常、语言迟缓等,可能与孕妇及患儿缺失的16p11.2区段包含的*TLCD3B*、*PRRT2*、*ALDOA*等基因的功能异常有关。

16p11.2 微缺失综合征的临床表型有明显的异质性,涉及临床各个系统。葛婷等^[14]在 2014 年综合国内外报道的 16p11.2 微缺失病例 1378 例进行了分析,其中神经系统异常占 39.7%、内分泌异常占 26.9%、生长发育及骨骼异常占 6.1%,这几类异常所占比例相对较高,而泌尿生殖、消化系统异常(0.7%)、心血管异常(0.3%)和免疫系统异常(0.07%)报道较少。同样的缺失片段,表型差距较大,分析 16p11.2 微缺失综合征的临床表型的严重程度存在异质性,可能与外显率密切相关。Shen 等^[15]也提出患者与亲代临床表型的差异性,可能因该综合征有明显的表型异质性和低外显率导致。Kirov 等^[16]通过对 846882 例精神分裂和发育迟缓拷贝数变异患者以及 6316 例对照进行疾病的外显率评估,发现 16p11.2 末端缺失的外显率约 40%。由于超声检查是妊娠期主要的检查方法,而超声检查只能发现大部分的胎儿畸形,对于神经系统异常、内分泌异常等功能性的异常不能诊断,因此产前报道的 16p11.2 微缺失综合征较少,仅有少数文献报道,其超声异常征象有心脏畸形、单侧多囊肾、鼻骨缺失、单脐动脉、宫内发育迟缓等^[17-18]。本文报道的这一家系中,胎儿的异常包括心脏畸形和侧脑室增宽,没有骨骼及脊柱畸形,可能与 16p11.2 微缺失综合征的临床表型的异质性有关。

这一家系为产前诊断发现,孕中期常规超声检查时,发现胎儿有双侧侧脑室增宽及残存左上腔、主肺动脉增宽等超声异常指标,符合产前诊断的指征,经遗传咨询后羊水穿刺进行诊断。结果,羊水细胞染色体核型分析未见异常,遂进一步 SNP-Array 芯片检测,发现胎儿携带 16p11.2 区段的微小缺失。由于孕妇已经生育过一个与其自身异常表型非常相似的患儿,因此胎儿的 16p11.2 微缺失片段遗传而来的可能性明显升高。遂对孕妇及家系中其他成员进行了外周血标本的染色体核型分析及 SNP-Array 芯片验证,结果:孕妇、丈夫及患儿的染色体核型分析均未发现异常;而 SNP-Array 芯片检测提示孕妇、患儿均携带 16p11.2 区段的微小缺失,而孕妇的丈夫未发现异常。结合孕妇及患儿均有异常表型,明确诊断孕妇及患儿均为 16p11.2 微缺失综合征患者,患儿的 16p11.2 微缺失片段遗传自母亲。患儿与孕妇的 16p11.2 微缺失片段存在微小的区别,分析原因如下:一方面,芯片检测技术的分辨率是 100 kb,重复实验的时候可以出现微小差异,从而导致两次检测结果不完全一致,但患儿的核心缺失区段与孕妇的核心缺失区段重合,因此仍考虑为遗传;另一方面,亲代的遗传物质在向子代传递的过程中,异常的片段常常会出现自体修复或丢失,也可以导致两者不完全一致。最终判定,孕妇在第一次怀孕时将自身携带的 16p11.2 缺失片段遗传给胎儿,致使其出生后表型异常,而第二次怀孕时则再次将这一异常片段遗传给胎儿,推测第二胎出生后将会表现出和母亲及哥哥同样的异常。更多的基因型和表型的关系有赖于持续的追踪随访。本文报道这一罕见的 16p11.2 微缺失综合征家系的诊断过程,有望为今后的产前诊断工作提供更多的科学依据。

参 考 文 献

- [1] Kumar RA, Karamohamed S, Sudi J, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(4): 628-638.
- [2] Hanson E, Bernier R, Porche K, et al. The cognitive and behavioral phenotype of the 16p11.2 deletion in a clinically ascertained population[J]. *Biol Psychiatry*, 2015, 77(9): 785-793.
- [3] Basuk AG, Geraghty E, Wu S, et al. Deletions of 16p11.2 19p13.2 in a family with intellectual disability and generalized epilepsy[J]. *Am J Med Genet A*, 2013, 161A(7): 1722-1725.
- [4] Jacaumont S, Reymond A, Zuferey F, et al. Mirrorextreme BMI phenotypes associated with gene dosage at the chromosome 16p11.2 locus[J]. *Nature*, 2011, 478(7367): 97-102.
- [5] Weis LA, Shen Y, Korn JM, et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(7): 667-675.
- [6] Dell Edera D, Diluca C, Alegreti A, et al. 16p11.2 microdeletion syndrome: A case report[J]. *J Med Case Rep*, 2018, 12(1): 90.
- [7] 朱俊真, 张宁, 彭彦辉. 产前诊断学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2005: 134-154.
- [8] Kumar RA, Karamohamed S, Sudi J, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(4): 628-638.
- [9] Heron SE, Grinton BE, Kivity S, et al. PRRT2 mutations cause benign familial infantile epilepsy and infantile convulsions with choreoathetosis syndrome[J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 90(1): 152-160.
- [10] Wu N, Ming X, Xiao J, et al. TBX6 null variants and a common hypomorphic allele in congenital scoliosis[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(4): 341-350.
- [11] Takeda K, Kou I, Kawakami N, et al. Compound heterozygosity for null mutations and a common hypomorphic risk haplotype in TBX6 causes congenital scoliosis[J]. *Hum Mutat*, 2017, 38(3): 317-323.
- [12] Al-Kateb H, Khanna G, Filges I, et al. Scoliosis and vertebral anomalies: Additional abnormal phenotypes associated with chromosome 16p11.2 rearrangement[J]. *Am J Med Genet A*, 2014, 164A(5): 1118-1126.
- [13] Sparrow DB, McInerney-Leo A, Gucev ZS, et al. Autosomal dominant spondylocostal dysostosis is caused by mutation in TBX6[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(8): 1625-1631.
- [14] 葛婷, 崔云, 肖咏梅, 等. 16p11.2 缺失综合征 1 例并文献复习[J]. *中国循证儿科杂志*, 2014, 9(6): 452-455.
- [15] Shen Y, Chen X, Wang L, et al. Intra-family phenotypic heterogeneity of 16p11.2 deletion carriers in a three-generation Chinese family[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2011, 156(2): 225-232.
- [16] Kirov G, Rees E, Walters JT, et al. The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay[J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 75(5): 378-385.
- [17] Hernando C, Plaja, Rigola MA, et al. Comparative genomic hybridisation shows a partial *de novo* deletion 16p11.2 in a neonate with multiple congenital malformations[J]. *J Med Genet*, 2002, 39(5): e24.
- [18] LI L, Huang L, Lin S, et al. Discordant phenotypes in monozygotic twins with 16p11.2 microdeletions including the SH2B1 gene[J]. *Am J Med Genet*, 2017, 173(8): 2284-2288.

收稿日期: 2022-03-24