

染色体三体、嵌合体及单亲二体的产前诊断和遗传咨询

刘维强¹ 孙路明^{2*} 沈亦平^{3,4,5*}

(1. 广州医科大学附属第三医院 妇产科研究所实验部, 广东 广州 510150; 2. 同济大学附属第一妇婴保健院 胎儿医学科, 上海 201204; 3. 广西壮族自治区妇幼保健院 遗传代谢中心实验室, 广西 南宁 530000; 4. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心医学遗传科, 上海 200127; 5. 美国哈佛医学院 神经系; 美国波士顿儿童医院 遗传及基因组部, 美国波士顿 02115)

【摘要】 染色体三体是导致胚胎停育、胎儿流产的主要原因之一, 部分可存活三体如 21-三体又是严重的出生缺陷, 因此开展产前筛查和产前诊断对生育健康和出生缺陷的早期预防有重要的意义。随着新技术在产前诊断中的广泛应用, 临床检测出越来越多的三体嵌合体和罕见的单亲二体, 进一步加剧了遗传咨询的难度。本期刊我们会同全国 50 余家产前诊断机构及第三方医学检验所通过查询文献及汇总各自单位多年来的数据, 对三体、嵌合体和单亲二体的发生机制、发生率、临床特征、预后及治疗和再发风险等进行综述, 将每条染色体相关信息系统地进行总结, 为我们更好地开展循证的产前诊断和遗传咨询提供指导。

【关键词】 染色体; 三体; 嵌合体; 单亲二体

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** A

根据 2012 年中国出生缺陷防治报告, 我国是出生缺陷高发的国家, 出生缺陷率约 5.6%^[1], 与世界中低收入国家的平均水平接近, 每年新增出生缺陷患儿数约 90 万例, 其中染色体畸变约占出生缺陷遗传学病因的 80% 以上^[2], 因此, 基于遗传变异的产前筛查和产前诊断对出生缺陷的早期预防意义重大。随着下一代测序技术(next generation sequencing, NGS)、染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)、孕妇外周血胎儿游离 DNA 无创染色体非整倍体筛查(noninvasive prenatal screening, NIPS) 等技术在产前筛查、产前诊断中的广泛应用, 除了常见的染色体数目异常外, 临床也检测出越来越多的嵌合体(mosaicism)及罕见的单亲二体(uniparental disomy, UPD)。

对于因非整倍体等染色体数目异常而导致胚胎

停育、胎儿宫内死亡或因此主动终止妊娠的夫妇来说, 他们迫切想知道再次妊娠时类似异常的再发风险, 而对于胎儿嵌合体和罕见的单亲二体, 特别是不伴超声等影像学异常时, 预测胎儿出生后是否发病或评估疾病严重程度都存在极大的困难, 是产前诊断专科医生面临的巨大挑战。从现有的文献报道来看, 并不是所有的嵌合或单亲二体都会导致不良的结局, 不同异常的预后会有较大差异, 因此分别对待不同的情况, 以循证为原则, 科学客观地提供遗传咨询, 可以帮助夫妇更全面地了解胎儿的预后, 在充分知情的情况下做出他们认为正确的决定。鉴于此, 我们会同全国 50 余家产前诊断机构及第三方医学检验所, 结合查询发表过的文献和统计各单位多年来的数据, 对 22 对常染色体及 1 对性染色体的三体、嵌合体和单亲二体的发生机制、发生率、临床特征、预后及治疗、实验室检查和再发风险等进行汇总综述, 以期给从事产前诊断的临床医生、实验室人员及遗传咨询师提供各条染色体的系统汇总信息, 为产前诊断和遗传咨询提供客观、科学的循证数据支持。

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2020.02.001

基金项目: 广东省自然科学基金(2019A1515011302)

* 通信作者: 孙路明, E-mail: lumings@tongji.edu.cn; 沈亦平, E-mail: yiping.shen@childrens.harvard.edu

1 染色体三体的产前诊断和遗传咨询

正常个体具有46条染色体,包括22对常染色体和一对性染色体。非整倍体是指额外增加或减少了一条或多条染色体,通常会导致胚胎或胎儿生长发育出现严重问题,是胚胎停育、胎死宫内的常见原因。染色体三体是最常见的非整倍体,其中21-三体(trisomy21, T21)、18-三体(trisomy18, T18)、13-三体(trisomy13, T13)及涉及性染色体的三体因为可在活产儿中检出,因此也称为“可存活三体”(viable trisomy)。除外以上几条染色体,其他染色体的三体通常会导致胚胎停育或自发流产,故也称为不可存活三体(nonviable trisomy)。

染色体三体的产生机制是由亲本配子减数分裂或胎儿细胞有丝分裂过程中染色体不分离导致^[3]。研究显示,每1000个活产儿中,可存活三体的发生率以T21、47, XXY和47, XYY最高,可达1.5/1000, T18和T13的发生率约0.12/1000及0.07/1000, 45, X和47, XXX的发生率约0.4/1000和0.65/1000^[4]。在流产组织中检出的不可存活三体则以22-三体(trisomy 22, T22)和16-三体(trisomy 16, T16)为多^[4, 5]。了解各条染色体三体的发生机制及发生频率,可以为遗传咨询提供详实的数据,有利于产前遗传咨询工作的开展。

常染色体可存活三体具有一些共同临床特征,如智力障碍、生长发育迟滞、特殊面容等。性染色体三体相对来说表型较轻或无特殊临床表型。了解可存活三体的产前和产后表型有助于临床医生及早、正确地进行医疗干预。对于常染色体可存活三体,以T21胎儿为例,常见的超声异常包括颈项透明层(nuchal translucency, NT)增厚、胎儿颈部皮肤皱褶(nuchal fold, NF)厚度增厚、鼻骨阙如或发育不良、房室间隔缺损、肠管回声增粗等。出生后的患儿则以特殊面容、智力障碍、生长发育迟缓等主,可合并心脏、骨骼系统、消化系统、内分泌系统、血液系统及生殖系统的异常。

不可存活三体胎儿大多在孕早期发生了胚胎停育或自然流产。对流产组织的遗传学查因发现,染色体三体因素可占全部自然流产原因的60%以上^[4]。对流产组织开展遗传学检测有助于明确流产原因,对再次妊娠的风险进行评估。对曾生育过或有过染色体三体胎儿流产史的夫妇再次妊娠时的再发风险进行评估需要考虑以下因素:①夫妇核型是

否正常;②孕妇是否高龄妊娠;③夫妇双方是否存在生殖腺细胞的嵌合;④夫妇是否存在可能导致减数分裂错误的风险因素等^[6]。特别是对于T21,年龄因素、夫妇是否存在涉及21号染色体的平衡易位或罗氏易位等都是评估再发风险的重要影响因素。理论上,生育过一个T21患儿的夫妇再次生育唐氏患儿的风险虽然是比较低,但仍高于正常人群,可达1%^[4]。

2 染色体嵌合体的产前诊断和遗传咨询

三体嵌合体的产生主要有以下两种机制:胚胎细胞在有丝分裂过程中,一部分细胞发生染色体不分离错误,产生三体和单体两种子代细胞。在胚胎发育过程中,单体细胞无法继续发育而凋亡,剩下的三体细胞与其他正常复制、分裂的细胞形成了三体/二体的嵌合;还有一种机制是三体细胞的自救(trisomy rescue),对减数分裂过程中因配子染色体不分离而形成的三体细胞在有丝分裂的过程中会丢弃额外多出的一条染色体,使细胞恢复二倍体正常数目^[7]。由于三体自救对内细胞团细胞(发育成胎儿部分)及滋养外胚层细胞(发育成胎盘等胚外组织)的不同影响,自救过程的不完全可产生以下几种形式的嵌合体:①胎盘等胚外组织为完全三体细胞而胎儿本身则是正常二倍体;②胎盘是完全三体而胎儿为三体和二体细胞的嵌合;③胎儿完全正常而胎盘为三体和二体细胞的嵌合;④胎儿是完全三体而胎盘为三体和二体细胞的嵌合;⑤胎儿为完全三体而胎盘正常;⑥胎儿为三体和二体细胞的嵌合而胎盘正常;⑦胎儿和胎盘都为三体和二体细胞的嵌合。

当嵌合仅发生在胎盘组织而胎儿完全正常时称为限制性胎盘嵌合现象(confined placental mosaicism, CPM)。CPM的发生率大约为1%~2%^[8],这也是NIPS筛查提示高风险但验证后为假阳性的主要原因之一。CPM分为3型:I型CPM是指嵌合仅限于绒毛的细胞滋养层;II型CPM指嵌合仅限于绒毛间充质核部分;III型CPM则是绒毛细胞滋养层和间充质核部分均存在嵌合。研究表明,只有III型CPM才会导致胎儿宫内生长受限或宫内死亡^[9]。

在孕早期采集绒毛进行的产前诊断中嵌合体的检出率约为1%~2%,而在羊水细胞中嵌合体的检出率为0.2%左右^[10]。如果嵌合被证实存在于胎儿细胞中,称为真性胎儿嵌合(true fetal mosaicism, TFM)。因为羊水细胞包含胎儿泌尿生殖道、呼吸

系统及上皮细胞等不同胚胎层来源的细胞,能较真实地反映胎儿的遗传信息,因此绒毛细胞中发现了嵌合建议在孕16周以后进行羊水细胞验证,以证实TFM或排除CPM。Grati等^[7]通过对67030份产前标本的分析发现,绒毛细胞的嵌合检出率为2.17%(1457例)。对其中的1100例嵌合病例进行的羊水验证表明,TFM仅占有绒毛异常结果的13.5%(148/1100)。在所有检出的嵌合异常中,各型CPM和TFM的发生率结果见表1。

表1 CPM和TFM在检出嵌合体中发生频率*(n=1100)

嵌合部位	嵌合类型	在不同组织的检出情况			发生率(%) (检出数/总数)
		细胞滋养层	间充质细胞	羊水细胞	
仅在胎盘组织	CPM I	异常	正常	正常	35.73(393/1100)
	CPM II	正常	异常	正常	40.45(445/1100)
	CPM III	异常	异常	正常	10.36(114/1100)
胎盘和胎儿均存在	TFM IV	异常	正常	异常	1.55(17/1100)
	TFM V	正常	异常	异常	5.36(59/1100)
	TFM VI	异常	异常	异常	6.55(72/1100)

*数据引用自参考文献^[7]

由于临床数据的有限性及嵌合发生的部位不同、嵌合比例不一可导致不同结局等复杂性,对三体嵌合体进行遗传咨询时往往没有明确的可参考的依据。如果超声发现胎儿存在结构或器官的异常,对胎儿的发育和预后判断总体上可归于高危风险,但如果超声未发现异常,异常风险的评估则更加困难,因此基于临床案例的大数据汇总将为我们提供有力的帮助。Wallerstein等^[11]对660例羊水标本中发现的常染色体三体嵌合的预后风险进行了总结,详见表2。对各条染色体三体嵌合体的表型及预后将在本专刊各部分详细展开描述。

表2 常染色体三体嵌合体的预后风险评估

风险等级	不良结局风险涉及的染色体三体嵌合(T*M)
极高风险(>60%)	T2M、T9M、T16M、T22M、T3M [#] 、T4M [#]
高风险(40%~59%)	T5M、T14M、T15M、T18M [#] 、T21M [#]
中高风险(20%~39%)	T7M、T12M、T17M、T13M [#]
中风险(0%~19%)	T6M、T8M、T20M
低风险(0%)	无

注:T*M代表几号染色体三体嵌合体,未提及的染色体因临床数据太少而未进行统计;表格中数据及#标记数据均统计自参考文献^[11]

由于嵌合部位的不确定性,仅对某一组织细胞中排除嵌合并不代表个体其他组织中不存在嵌合现象。另外羊水培养细胞的嵌合可能存在优势生长的问题也需要引起注意。嵌合的再发风险因素与三体

的再发风险因素相同。

3 UPD的产前诊断和遗传咨询

UPD是指个体的一对同源染色体整条或某个区域均来自于一个亲本,而不是分别来自父母双方。三体细胞自救和单体细胞的自身复制(单体自救,monosomy rescue)都可以产生单亲二体。UPD从形成机制来分主要产生单亲同二体(isodisomy)及单亲异二体(heterodisomy)及混合型三种。早期的研究表明UPD的发生率约为1/3500~1/5000^[12,13],最近Nakka等^[14]对440多万份样本研究后发现,UPD在活产儿中的发生率可达1/2000。

UPD与疾病的关系可以通过查询<http://ssmc-tl.com/DB.html>数据库了解。对每条染色体UPD可能涉及的印记基因的信息可通过<http://www.geneimprint.com/site/genes-by-species>专业网站获得。对UPD特别是罕见UPD的产前遗传咨询目前也存在不少挑战,主要是因为UPD可能合并低比例的三体嵌合或单亲同二体可能存在隐性遗传致病基因的纯合变异。

目前明确的涉及印记疾病的几条染色体是6、7、11、14、15、20号染色体^[15],对它们涉及的综合征及相关表型见表3。产前检查中如果发现涉及以上染色体的嵌合或相关超声异常(如父源性14号染色体UPD的特殊钟形胸廓)或涉及14、15号染色体的罗伯逊易位、平衡易位等,应考虑进行UPD的检测^[15]。其他染色体UPD较罕见,目前也未见有明确的相关印记疾病报道。需要引起重视的是,由于姐妹染色单体不分离而产生的单亲同二体isodisomy,要考虑可能存在的隐性遗传基因纯合变异情况。对单亲同二体区域内的隐性遗传疾病相关基因可通过<https://www.sivotecbioinformatics.com/>网站查询。如果胎儿的超声等影像学证据提示与纯合区域内某个基因导致的疾病表型相符,应建议进一步的检查如外显子测序或基因测序以明确原因。

4 检测三体、嵌合体及UPD的实验室方法

对产前标本开展遗传学检测可根据检测的目的不同选用不同的方法,NIPS技术可应用于常见的3条

表3 常见的UPD综合征及主要表型^[10]

UPD类型	综合征/疾病	OMIM编号	主要表型
父源性UPD6	新生儿短暂性糖尿病	#601410	新生儿短暂性糖尿病,宫内生长受限
母源性UPD(7)	Silver-Russell综合征	#180860	宫内生长受限,出生后发育迟滞,大头畸形,三角形脸,肢体、面部不对称
母源性UPD(11)	Silver-Russell综合征	#180860	宫内生长受限,出生后发育迟滞,大头畸形,三角形脸,肢体、面部不对称
父源性UPD(11)	Beckwith-Wiedemann综合征	#130650	产前产后过度生长,器官增大,舌大,脐膨出,新生儿低血糖,肿瘤风险增加
父源性UPD(14)	Kagami-Ogata综合征	#608149	羊水过多,腹壁缺损,骨骼异常,狭窄的钟形胸廓合并前肋骨弯弓
母源性UPD(14)	Temple综合征	#616222	宫内生长受限,出生后发育迟滞,出生时低体重、肌张力低下、运动功能落后、早期喂养困难、青春期提前、青春期后的躯干型肥胖、成年身高显著偏低,小手小脚
父源性UPD(15)	Angelman综合征	#105830	小头,共济失调,癫痫,智力发育迟滞,语言能力差,微笑面容
母源性UPD(15)	Prader-Willi综合征	#176270	新生儿肌张力低下,婴儿期喂养困难,儿童期后肥胖,生长发育迟缓,智力迟钝,行为问题
父源性UPD(20)	假性甲状旁腺	#139320	假性甲状旁腺功能减退功能减退症
母源性UPD(20)	Mulchandani-Bhoj-Conlin综合征	#617352	宫内生长受限,出生后发育迟滞

UPD的再发风险总体较低,Moradkhani等^[16]发现夫妻如果涉及非同源罗氏易位染色体,他们的胎儿形成UPD的风险为0.06%。

可存活三体的筛查;对染色体数目异常或结构异常,核型分析、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)等是经典的方法;CMA、基因组拷贝数变异测序技术(copy number variation sequencing, CNV-seq)检测微缺失微重复是一线的技术,也适用于非整倍体及嵌合体的检测;甲基化特异性多重连接依赖的探针扩增(methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification,

MS-MLPA)、含单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)探针的CMA及短串联重复序列(short tandem repeat, STR)标记物对提示、检测UPD是较敏感的技术。全外显子、全基因组测序(whole exome/whole genome sequencing, WES/WGS)等技术已经或正准备在产前遗传学领域应用,除了检测单个碱基的变异外,对拷贝数异常、非整倍体及嵌合也可检出。对各方法的临床适用性见表4。

表4 非整倍体、嵌合及UPD的遗传学检测主要技术的临床适用性

检测技术	检测/报告周期	主要应用领域	简要技术原理描述
核型分析	7~14d	大于5Mb以上的染色体结构异常,染色体数目异常,嵌合体	生长旺盛期的培养细胞特殊处理,使细胞分裂终止于中期,用染液染色,光镜下进行染色体数目、结构分析,是染色体分析的经典方法
FISH	24~48h(直接检测)	13、18、21、X、Y染色体的非整倍体及嵌合体;特定、已知区域的微缺失、微重复及结构重排	带有荧光染料的特定DNA探针与间期细胞进行杂交,荧光显微镜下观察特定信号,判定染色体数目或结构是否异常。用于分析低比例嵌合敏感度较高
QF-PCR (STR)	24~48h(直接检测)	13、18、21、X、Y染色体的非整倍体,鉴别母源性污染,连锁分析鉴别单亲二体	设计带不同荧光标记的多条STR探针,对胎儿标本进行扩增,通过毛细管电泳进行片段化分析,通过峰高或峰面积判断是否存在非整倍体,并与胎儿父母标本比对,判断是否为UPD或是否有母源污染
CMA	3~5d(直接检测)	检测拷贝数变异,分辨率可达100kb甚至更小,可同时检出纯合区域,提示UPD,可检出非整倍体及10%~30%以上的嵌合。不能检出平衡易位	预先设定涵盖全基因组范围的或特定区域的探针(可多达上百万条)与DNA片段在特定的载体上进行杂交反应,对杂交后的芯片经过激光扫描,得到的信号再与对照标本或标准参考基因组进行比对,得到检测结果
CNV-seq	3~5d(直接检测)	检测拷贝数变异,分辨率可达100kb,可同时检出非整倍体、理解状态下能检出5-10%的嵌合。不能检出纯合区域、UPD及平衡易位	利用二代测序技术对DNA标本进行低深度全基因组大规模平行测序,将测序结果与人类参考基因组进行比对,通过生物信息学分析判断结果。对不同的标本加入标签后可同时对几十个标本进行检测
MS-ML-PA	2d	检测甲基化异常,可提示UPD,对特定基因或区域进行拷贝数检测	对DNA标本变性处理,与特定的探针进行靶向杂交,再进行连接反应,对产物分别进行常规的片段化分析拷贝数变异及进行酶切反应检测甲基化状态
NIPS	报告周期7d左右	主要针对13、18、21号染色体进行非整倍体筛查	提取孕妇外周血中的游离DNA,通过高通量测序技术评估胎儿常见的染色体非整倍体异常风险。除外13、18、21号染色体,NIPS也可同时筛查其他染色体非整倍体情况但敏感性和特异性不如以上染色体
WES/WGS	报告周期较长,通常大于2周	主要用于单个碱基突变或微小插入缺失(Indel)的检测,可同时进行拷贝数变异、非整倍体、嵌合,对父母及胎儿同时进行SNP信号分析也可检出UPD。检测费用较高,检测周期长	通过对DNA进行片段化处理,与特定的全外显子探针(WES)进行杂交或在全基因组范围内随机捕获(WGS),构建文库,然后进行高通量测序,对数据进行组装和比对,再利用生物信息学算法得到结果

5 对三体、嵌合体及 UPD 综述的意义

随着新技术的广泛应用,产前诊断中检测出越来越多以前不能检出的染色体异常。由于胎儿表型信息有限且较难获得,对三体、嵌合体及 UPD 的遗传咨询缺乏明确的表型指导。通过对各条染色体异常的发生率、产前产后的临床表型、预后、干预治疗、检测方法等进行系统汇总,有助于临床工作者包括遗传咨询师进一步掌握相关染色体疾病信息,为更客观更循证地开展产前诊断和遗传咨询工作提供重要依据和指导。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 中国出生缺陷防治报告[R]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.

[2] EVANS MI, WAPNER RJ, BERKOWITZ RL. Noninvasive prenatal screening or advanced diagnostic testing: caveat emptor[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215:298-305.

[3] HASSOLD T, HALL H, HUNT P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going[J]. *Hum Mol Genet*, 2007, Spec No. 2:R203-208.

[4] HARPER PS. *Practical Genetic Counselling*[M], 7ed. London: Hodder Education Group, 2010.

[5] JACKSON-COOK C. Constitutional and acquired autosomal aneuploidy[J]. *Clin Lab Med*, 2011, 31(4):481-511, vii.

[6] WARBURTON D, DALLAIRE L, THANGAVELU M, et al. Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data[J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 75(3):376-385.

[7] GRATI FR, MALVESTITI F, BRANCA L, et al. Chromosomal mosaicism in the fetoplacental unit[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 42:39-52.

[8] HAHNEMANN JM, VEJERSLEV LO. European collaborative research on mosaicism in CVS (EUCROMIC)—fetal and extrafetal cell lineages in 192 gestations with CVS mosaicism

involving single autosomal trisomy[J]. *Am J Med Genet*, 1997, 70(2):179-187.

[9] ECKMANN-SCHOLZ C, MALLEK J, VON KAISENBERG CS, et al. Chromosomal mosaicisms in prenatal diagnosis: correlation with first trimester screening and clinical outcome[J]. *J Perinat Med*, 2012, 40(3):215-223.

[10] EGGERMANN T, SOELLNER L, BUITING K, et al. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis[J]. *Trends Mol Med*, 2011, 21(2):77-87.

[11] WALLERSTEIN R, MISRA S, DUGAR RB, et al. Current knowledge of prenatal diagnosis of mosaic autosomal trisomy in amniocytes: karyotype/phenotype correlations[J]. *Prenat Diagn*, 2015, 35(9):841-847.

[12] LIEHR T. Cytogenetic contribution to uniparental disomy (UPD)[J]. *Mol Cytogenet*, 2010, 3:8.

[13] ROBINSON WP. Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences[J]. *Bioessays*, 2000, 22(5):452-459.

[14] NAKKA P, PATTILLO SMITH S, O'DONNELL-LURIA AH, et al. Characterization of prevalence and health consequences of uniparental disomy in four million individuals from the general population[J]. *Am J Hum Genet*, 2019, 105(5):921-932.

[15] DEL GAUDIO D, SHINAWI M, ASTBURY C, et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)[J]. *Genet Med*, 2020, 22(7):1133-1141.

[16] MORADKHANI K, CUISSET L, BOISSEAU P, et al. Risk estimation of uniparental disomy of chromosome 14 or 15 in a fetus with a parent carrying a non-homologous Robertsonian translocation. Should we still perform prenatal diagnosis? [J]. *Prenat Diagn*, 2019, 39(11):986-992.

(收稿日期:2020-03-26)

编辑:宋文颖