



染色体微阵列分析技术在不明原因神经发育障碍性疾病患儿中的应用

邵晨, 闫冬梅, 王艳娟, 赵亚丽, 杨舒婷, 王志伟, 刘双, 仝娇, 王雷雷

引用本文:

邵晨, 闫冬梅, 王艳娟, 等. 染色体微阵列分析技术在不明原因神经发育障碍性疾病患儿中的应用[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(4): 468-474.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.04.012>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

孤立性肾盂扩张胎儿全基因组染色体拷贝数变异测序结果分析

Analysis of the sequencing results of whole genome chromosome copy number variation in isolated fetal pyelectasia

蚌埠医学院学报. 2020, 45(10): 1322-1324,1329 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.10.003>

无创DNA检测结果为高风险孕妇的产前诊断结果及妊娠结局分析

Analysis of the prenatal diagnosis and pregnancy outcome in 64 high risk cases with positive results of non-invasive DNA testing

蚌埠医学院学报. 2019, 44(4): 484-486 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.04.018>

孕中期羊膜腔穿刺胎儿染色体核型分析的临床意义

@@

蚌埠医学院学报. 2016, 41(6): 779-780 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.06.024>

1134例不同指征的胎儿羊水染色体核型产前诊断分析

Prenatal diagnosis of chromosome karyotype of fetal amniotic fluid in 1134 fetuses with different indications

蚌埠医学院学报. 2019, 44(11): 1505-1507 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.11.019>

改良外周血染色体培养效果的评价

Evaluation of the improved chromosome culture in peripheral blood

蚌埠医学院学报. 2019, 44(12): 1681-1683 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.12.028>

染色体微阵列分析技术在不明原因神经发育障碍性疾病患儿中的应用

邵晨¹, 闫冬梅², 王艳娟², 赵亚丽², 杨舒婷², 王志伟², 刘双², 仝娇², 王雷雷²

[摘要] **目的:**探讨染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)技术在神经发育障碍性疾病(neurodevelopmental disabilities, NDDs)患儿遗传学病因诊断中的临床应用价值。**方法:**NDDs 患儿采集外周血之后,提取基因组 DNA 并进行 CMA 检测,检测结果用 ChASv3.0 软件和相关信息学数据库进行分析。**结果:**检测到染色体拷贝数变异患儿 22 例(22.00%, 22/100),其中携带病理性变异及可能致病性变异患儿 14 例(14/100, 14.00%),涉及 17 个致病性及可能致病性 CNVs,包括 14 个微缺失位点(1q21.1q21.2, 6p22.3, 7q11.23, 7q11.23, 7q31.1, 8p23.3p23.1, 9q34.3, 10q26.13q26.3, 15q11.2q13.2, 15q11.2q13.1, 15q11.2q13.1, Xp22.32p22.31, Xp22.33p11.23, Xq21.1q28);3 个微重复位点(2q36.3q37.3, 9q34.12q34.3, 8q24.23q24.3);携带临床意义未知变异的患儿 8 例(8/100, 8.00%)。78 例患儿未见明显染色体异常,样本的检测成功率为 100%。**结论:**染色体拷贝数变异是导致 NDDs 发生的重要遗传学因素之一。CMA 检测能及时发神经发育障碍性疾病患儿染色体异常,同时能够检测出传统染色体核型分析无法发现的大量微缺失或微重复,在检测的敏感性、特异性、可靠性等方面得到很大提高。

[关键词] 染色体微阵列分析;神经发育障碍性疾病;染色体拷贝数变异

[中图分类号] R 394.3 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.04.012

Application value of chromosomal microarray analysis in children with unexplained neurodevelopmental disabilities

SHAO Chen¹, YAN Dong-mei², WANG Yan-juan², ZHAO Ya-li²,
YANG Shu-ting², WANG Zhi-wei², LIU Shuang², TONG Jiao², WANG Lei-lei²

(1. College of Nursing, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225000; 2. Lianyungang Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Yangzhou University Medical College, Lianyungang Jiangsu 222000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the clinical application value of chromosomal microarray analysis(CMA) in the genetic diagnosis of neurodevelopmental disabilities(NDDs). **Methods:** The peripheral blood samples were collected for genomic DNA extracting and CMA detecting. The results were analyzed using ChASv3.0 software and related informatics databases. **Results:** A total of 22 cases (22.00%, 22/100) with chromosome copy number variations(CNVs) were detected, 14 cases(14/100, 14.00%) with pathological and possibly pathogenic variation were found, and 14 microdeletions (including 1q21.1q21.2, 6p22.3, 7q11.23, 7q11.23, 7q31.1, 8p23.3p23.1, 9q34.3, 10q26.13q26.3, 15q11.2q13.2, 15q11.2q13.1, 15q11.2q13.1, Xp22.32p22.31, Xp22.33p11.23 and Xq21.1q28) and 3 microduplications(including 2q36.3q37.3, 9q34.12q34.3 and 8q24.23q24.3) were involved in 17 cases with pathogenic or likely pathogenic CNVs. The unexplained variations with clinical significance in 8 cases (8/100, 8.00%) were found. No obvious chromosomal abnormalities were found in 78 children, and the detection success rate of samples was 100%. **Conclusions:** The CNVs are one of the important genetic factors leading to NDDs. CMA can detect the chromosomal abnormalities, and find numerous microdeletions or microduplications which cannot be found traditional karyotype analysis, the sensitivity, specificity and reliability of detection are greatly improved.

[Key words] chromosomal microarray analysis; neurodevelopmental disabilities; copy number variation

神经发育障碍性疾病 (neurodevelopmental

disabilities, NDDs)通常是指由于异常的神经发育基础而导致的精神、心理、行为发育障碍,包括发育落后/智力障碍 (developmental delay/intellectual disability, DD/ID)、学习障碍、自闭症候群 (autism spectrum disorders, ASD) 等,影响超过 15% 的儿童^[1]。DD/ID 是指发育成熟以前(18 岁以前)出现的认知和适应行为障碍,是儿科门诊较为常见的疾

[收稿日期] 2020-08-13 [修回日期] 2020-12-05

[基金项目] 江苏省科技计划社会发展面上项目(BE2018677)

[作者单位] 1.扬州大学 护理学院,江苏 扬州 225000;2.扬州大学 医学院附属连云港市妇幼保健院,江苏 连云港 222000

[作者简介] 邵晨(1987-),女,硕士研究生,主管护师。

[通信作者] 王雷雷,副研究员。E-mail: wangleileiok@hotmail.com

病之一,国外报道 DD/ID 的患病率为 1% ~ 3%^[2], ASD 是一组严重影响儿童健康、具有显著临床和病因异质性的常见的 NDDs。

NDDs 发病机制复杂,与环境、遗传等因素关系密切^[3],其中遗传因素是主要因素之一。以 ASD 为例,一半以上的致病危险因素可归因于遗传学的变异;DD/ID 的患儿中,有一半以上可以找到遗传学病因^[4]。遗传性因素包括染色体数目和结构异常、单基因病、线粒体病、多基因和/或表观遗传异常等。据统计,染色体数目和结构异常占整个遗传因素的 25% ~ 30%^[5]。拷贝数变异(copy number variations, CNVs)是由基因组发生重排而导致的,一般指长度为 1 kb 至数 Mb 的基因组大片的拷贝数增加或者减少,主要表现为亚显微水平的缺失和重复。CNVs 是导致 DD/ID 和 ASD 发生的重要病因,可以引起基因组与分子表型的异质性,导致疾病的发生。

近年来,随着基因组学技术的快速发展,NDDs 遗传分子机制及诊断方法的研究取得了很大的进展^[6]。染色体微阵列芯片分析(chromosomal microarray analysis, CMA)又称染色体基因芯片分析技术,能够检测出 > 100 kb 的 CNVs^[7],在西方国家 DD/ID、ASD 等疾病的临床诊断中得到广泛应用^[8-9]。相比于传统的染色体核型分析,CMA 能够显著提高具有临床意义的 CNVs 的检出率,已成为 DD/ID、ASD 及多发畸形等疾病的一线实验诊断方法^[10-11]。文献^[12-13]报道显示,CMA 在“原发性”智力障碍或者无法解释的发育迟缓、自闭症和先天性结构畸形病例中体现出了重大应用价值。但 CMA 技术应用于我国 NDDs 儿童诊断的临床实践起步较晚,目前我国 CMA 在 NDDs 儿童的临床分子诊断中的检测性能等信息不够完善,因此本研究对 100 例 NDDs 患儿进行 CMA 检测,针对检测结果进行分析,该研究将有助于扩充临床数据,为 CMA 在儿科疾病诊断中的广泛应用和遗传咨询提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 3 月至 2018 年 8 月于连云港市妇幼保健院就诊的 NDDs 患儿 100 例,其中男 72 例,女 28 例,年龄 40 d 至 11 岁,平均年龄 3.31 岁;ASD 患儿 55 例,DD/ID 患儿 45 例。所有患儿的父母均进行 CMA 检测前的遗传咨询并签署知情同意书,本研究经连云港市妇幼保健院医学伦理委员会审核批准。

1.2 纳入标准 (1)年龄 0 ~ 18 岁;(2)ID:依据韦氏智力测试(WISC-R 及 WPPST) IQ < 70;DD:婴幼儿采用 Gesell 发育量表评测, DQ < 75 者诊断发育迟缓;ASD 患儿为通过美国精神障碍诊断与统计手册(第 5 版)^[14];(3)临床表现及实验室检查无代谢性病、单基因遗传变性病证据;(4)获得病人父母或其他监护人的知情同意,愿意参加本研究。

1.3 排除标准 (1)诊断不明确,或伴有其他神经系统器质性疾病;(2)细胞遗传学分析已明确病因的患儿,如 21-三体、18-三体、13-三体综合征等;(3)临床资料不齐全和/或已诊断病因的患儿病例;(4)患有神经系统疾病的患儿,如脑瘫、癫痫、精神分裂症、Rett 综合征等精神神经疾病及聋哑等。

1.4 研究方法

1.4.1 CMA 检测 样本采集:利用 EDTA 抗凝采血管采集本研究中 NDDs 患儿外周血 2 mL。采用提取试剂盒(QIAamp@ DNA Blood Mini Kit)提取全基因组 DNA,并于 -20 °C 环境中储存备用。染色体微阵列分析检测将 5 μL 全基因组 DNA 用 *NspI* 酶随机消化为短片段,消化后产物末端补齐,连接上共同引物。将上述处理后样本 DNA 扩增为 150 ~ 2 000 bp 的片段,将扩增产物通过磁珠法纯化。将纯化产物通过片段化酶片段化为 25 ~ 125 bp 的片段,连接上生物素标记。将标记后产物与杂交液混合均匀并变性后加载于美国 Affymetrix 公司的 CytoScan750K 芯片(包括 550 000 个非多态性 CNV 探针和 200 000 个 SNP 探针),置于杂交仪中(Genechip hybridization oven 645) 50 °C, 60 r/min, 杂交 16 ~ 18 h 后,置于洗涤工作站(GeneChip@ FluidicsStation450Dx v. 2)洗涤并染色。将洗涤后芯片置于扫描仪(GeneChip@ Scanner 3000Dx v. 2withAutoLoader)中扫描,获取数据并加载于配套 ChASv3.0 软件后利用相关的生物信息学方法分析检测结果。

1.4.2 CMA 数据分析及结果判读 选择芯片识别的 ≥ 200 kb 的微缺失和 ≥ 500 kb 的微重复且可信度 ≥ 90% 的片段利用各种生物信息学数据库进行分析。相关数据库主要包括人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance In Man, OMIM, <https://www.omim.org/>)、国际公共良性 CNVs 数据库(Database of Genomic Variants, DGVs, <http://dgv.tcg.ca/dgv/app/home>)、人类基因组变异和表型数据库(Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources, DECIPHER,

http://decipher. Sanger. Ac. uk/), 人类遗传学细胞遗传学微阵列委员会在线数据库 (International Standard Cytogenomic Array Consortium, ISCA, http://www. iscaconsortium. org/)、美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI, https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/) 等。根据美国医学遗传学和基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 对 CNVs 解释的标准和指南^[10], 按照临床意义将所有检测到的非多态性 CNVs 分成以下 5 类: (1) 致病性 CNVs; (2) 可能为致病性 CNVs; (3) 临床意义未知 CNVs; (4) 可能良性 CNVs; (5) 良性 CNVs。

2 结果

2.1 CMA 检测出的 CNVs

利用 750K 芯片对 100 例 DD/ID 及 ASD 患儿进行了检测, 结果显示 22 例 (22.00%, 22/100) 患儿检测到染色体拷贝数变异, 携带病理性及可能致病 CNVs 患儿 14 例 (14/100, 14.00%), 共涉及 17 个致病性及可能致病性 CNVs, 包括 14 个微缺失 (1q21. 1q21. 2、6p22. 3、7q11. 23、7q11. 23、7q31. 1、8p23. 3p23. 1、9q34. 3、10q26. 13q26. 3、15q11. 2q13. 2、15q11. 2q13. 1、15q11. 2q13. 1、Xp22. 32p22. 31、Xp22. 33p11. 23、Xq21. 1q28); 3 个微重复 (2q36. 3q37. 3、9q34. 12q34. 3、8q24. 23q24. 3)

(见表 1), 检出率达 14.00%。携带临床意义未知 CNVs 的患儿有 8 例 (8/100, 8.00%)。78 例患儿染色体未见明显异常, 所有样本的检测成功率为 100%。

表 1 CMA 检测结果 [n; 百分率 (%)]

分类	n	病理性或可能致病的变异	临床意义未知的变异	未见明显异常
男	72	4(5.56)	7(9.72)	61(84.72)
女	28	10(35.71)	1(3.57)	17(60.71)
ASD	55	2(3.64)	7(12.73)	46(83.63)
DD/ID	45	12(26.67)	1(2.22)	32(71.11)
总	100	14(14.00)	8(8.00)	78(78.00)

对 45 例 DD/ID 患儿进行 CMA 检测发现 12 例病理性或可能致病性 CNVs, 检出率为 26.67%, 其中男 3 例, 女 9 例。12 例 DD/ID 患儿中检测出的 14 个病理性及可能致病性 CNVs, 其中 12 个染色体微缺失, 2 个染色体微重复 (见表 2)。同时在对 55 例 ASD 患儿 CMA 检测中发现 2 例病理性及可能致病性 CNVs, 检出率为 3.64%, 其中男 1 例, 女 1 例。在 2 例 ASD 患儿中检测出的 3 个病理性 CNVs 包含 2 个染色体微缺失, 1 个微重复 (见表 3); 病理性及可能致病性 CNVs 中发现与神经发育相关的 OMIM 基因有 MCPH1、CLN8、TRAPPC9、GPAA1、PUF60 等。

表 2 DD/ID 病人中 CMA 检测结果为病理性及可能致病 CNVs

序号	染色体区段	染色体位置	类型	大小/Mb	OMIM 基因数	与神经发育相关基因	数据库表型	临床表型
case1	1q21. 1q21. 2	chr1:146,023,922-147,856,007	缺失	1.83	13	GJA8, GJA5	发育迟缓、智力障碍、面部轻度畸形等	DD
case2	2q36. 3q37. 3	chr2:226,837,969-240,349,740	重复	13.51	76	ARMC9, ECEL1, HDAC4	发育迟缓等特征, 面容异常等表型	DD
case3	6p22. 3	chr6:16,050,207-22,133,155	缺失	6.08	14	ATXN1, NHLRC1	发育迟缓、智力低下、面部异常等表型	DD
case4	7q11. 23	chr7:72,650,120-74,154,209	缺失	1.50	10	ELN	威廉姆斯综合征; 发育迟缓等	DD
case5	7q11. 23	chr7:72,650,120-74,136,633	缺失	1.49	23	ELN	威廉姆斯综合征; 发育迟缓、面部异常等	DD
case6	7q31. 1	chr7:110,900,501-111,209,005	缺失	0.31	1	IMMP2L	发育迟缓, 面部异常等	ID
case7	9q34. 3	chr9:140,434,785-141,018,648	缺失	0.58	6	EHMT1	9q 亚端粒缺失综合征; 发育迟缓等	DD
case8	9q34. 12q34. 3	chr9:133,693,477-141,018,648	重复	7.32	6	EHMT1	智力障碍, 舌大, 肌张力减退, 痉挛	DD
	10q26. 13q26. 3	chr10:127,130,217-135,426,386	缺失	8.3	36	EBF3, MMP21	神经系统的异常	
case9	15q11. 2q13. 2	chr15:22,770,421-30,370,018	缺失	7.6	26	UBE3a, MAGEL2	发育迟缓、智力低下、孤独内向、癫痫等	DD
case10	15q11. 2q13. 1	chr15:22,770,421-28,540,345	缺失	5.77	23	UBE3A, MAGEL2	Prader-Willi/Angelman 综合征, 生长发育落后, 智力低下, 语言落后等	DD
case11	15q11. 2q13. 1	chr15:23,290,787-28,560,664	缺失	5.27	19	UBE3A	Prader-Willi/Angelman 综合征, 生长发育落后, 智力低下等	DD
case12	Xp22. 33p11. 23	chrX:168,551-46,489,686	缺失	46.3	156	BCOR, CASK, CDKL5	发育迟缓、身材矮小、癫痫等	DD
	Xq21. 1q28	chrX:82,441,085-155,233,098	缺失	72.79	304	ACSL4, AFF2, ALG13	发育迟缓、面部异常、癫痫等表型	

表 3 ASD 病人中 CMA 检测结果为病理性及可能致病 CNVs

序号	染色体区段	染色体位置	类型	大小/Mb	OMIM 基因数	与神经发育相关基因	数据库表型	临床表型
case14	8p23.3p23.1	chr8:158,048-8,540,189	缺失	8.38	20	MCPH1、CLN8	发育迟缓、智力低下、畸形等特征	ASD
	8q24.23q24.3	chr8:139,127,458-146,295,771	重复	7.17	69	TRAPPC9、GPA1、PUF60		
case16	Xp22.32p22.31	chrX:5400001_6840000	缺失	1.44	2	NLGN4	智力障碍, 大脑发育不良, 身材矮小	ASD

对 8 例临床意义未知病例进行 CMA 检测发现 10 个临床意义未知 CNVs, 包括 4 个微缺失 (3p22.2、5q33.3、7q34、22q13.2), 6 个微重复 (2q21.3q22.1、16q24.3、19q13.42q13.43、Xq11.2q12、Xq26.2、

Yq11.223q11.23)(见表 4)。在这些患儿中发现与神经发育相关的 OMIM 基因, 分别是 BRAF、ANKRD11、FANCA、AMER1、GPC3。

表 4 临床意义未知 CNVs

序号	染色体区段	染色体位置	类型	大小/Mb	OMIM 基因数	与神经发育相关基因	临床表型
Case18	3p22.2	chr3:37,347,149-38,090,973	缺失	0.74	6	无	DD
	5q33.3	chr5:157,926,605-159,192,667	缺失	1.27	3	无	
	7q34	chr7:138,531,588-140,810,892	缺失	2.28	12	BRAF	
Case21	22q13.2	chr22:43,214,073-43,805,105	缺失	3.76	7	无	ASD
Case17	2q21.3q22.1	chr2:136480001_136820000	重复	0.34	4	无	ASD
Case19	16q24.3	chr16:89000001_90160000	重复	1.16	19	ANKRD11、FANCA	ASD
Case20	19q13.42q13.43	chr19:56220001_56500000	重复	0.28	7	无	ASD
Case22	Xq11.2q12	chrX:63300001_64640000	重复	1.34	3	AMER1	ASD
Case23	Xq26.2	chrX:132760001_133460000	重复	0.7	1	GPC3	ASD
Case24	Yq11.223q11.23	chrY:24,660,190-28,420,380	重复	0.59	6	无	ASD

2.2 CNVs 染色体分布 检测出 2 例 ASD 患儿的病理性 CNVs, 分别分布在 8 号、X 染色体上, 其中 1 例患儿在 8 号染色体上同时发现缺失片段及重复片段。12 例 DD/ID 患儿检测出的病理性及可能致病性 CNVs 分布在 1 号、2 号、6 号、7 号、9 号、10 号、15 号、X 号染色体上。其中 3 例患儿病理性及可能致病性 CNVs 分布在 15 号染色体上, 3 例患儿病理性及可能致病性 CNVs 分布在 7 号染色体上。2 例患儿病理性及可能致病性 CNVs 分布在 9 号染色体上, 2 例患儿病理性及可能致病性 CNVs 分布在 X 染色体上。1 例患儿 X 染色体上发现 2 个缺失片段。在 8 例患儿检测出的临床意义未知的 CNVs 分布在 2 号、3 号、5 号、7 号、16 号、19 号、22 号、X、Y 染色体上。其中 1 例患儿分别在 3 号、5 号、7 号染色体上发现缺失片段。2 例患儿临床意义未知 CNVs 分布在 X 染色体(见图 1)。

1 例诊断为 DD 的患儿, CMA 技术检测的致病性 CNVs 分析图见图 2, 该片段有两处缺失, 分别是: arr[hg19] Xp22.33p11.23 (168,551-46,489,686) x1, 大小为 46.3 Mb, 包含 OMIM 基因数 156 个; arr

[hg19] Xq21.1q28 (82,441,085-155,233,098) x1, 大小为 72.79Mb, 包含 OMIM 基因数 304 个, 患儿为女孩, 7 个月大, 表现发育迟缓。

1 例诊断为 DD 的 9q34.3 微缺失综合征患儿, CMA 技术检测的致病性 CNVs 分析图见图 3, 该片段有一处缺失: arr[hg19] 9q34.3 (140,434,785-141,018,648) x1, 大小为 0.58 Mb, 包含 OMIM 基因数 6 个。患儿为女孩, 14 个月大, 表现发育迟缓。

3 讨论

随着二胎政策的放开, 高龄产妇的增多, 孕期暴露风险因素的可变性, 越来越多的家庭迎来了第二个宝宝的同时 NDDs 儿童的数量也在逐年增长, NDDs 的发病率因疾病类型不同差异较大, 但整体受累人群比例较高。以 ASD 为例, 全球人口发病率约为 0.6%^[15], 因我国人口众多, NDDs 对我国儿童的健康带来巨大的威胁, 且至今无有效的治疗方法, 不仅给家庭带来经济负担和心理负担, 也给社会带来沉重负担, 同时严重影响人口素质。CNVs 是导致 DD/ID 及 ASD 等 NDDs 发病的遗传学因素之一,

而目前西方发达国家对 CNVs 的研究主要采用 CMA 技术,该技术已成为 DD/ID、多发畸形及 ASD 等疾病的一线诊断实验^[10],但 CMA 技术在我国起步较晚,本研究旨在探讨 CMA 技术在发掘 NDDs 遗传学因素中的应用,同时为本地区建立一套完整的基因诊断路径,为以后儿科遗传疾病的遗传分析提供指导。

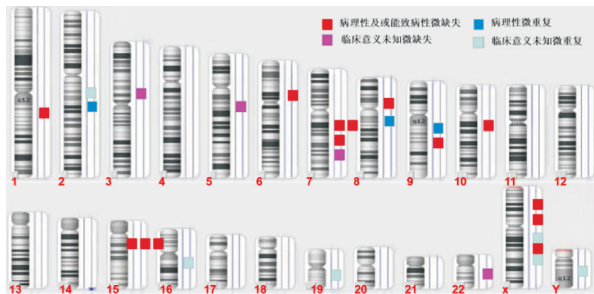


图1 病理性及临床意义未知CNVs染色体位置

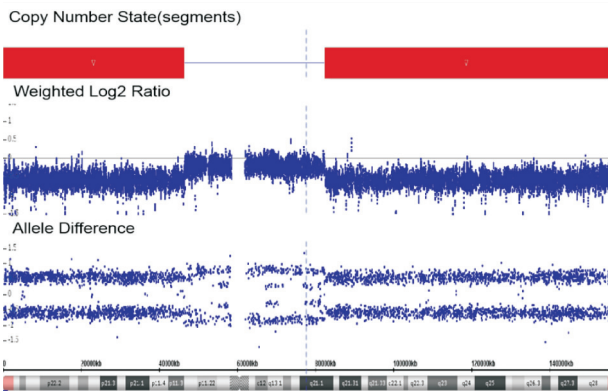


图2 患儿CMA

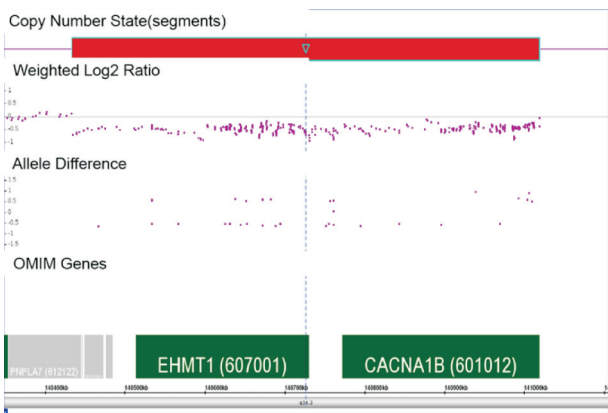


图3 染色体CMA

染色体异常和基因组相关的微缺失微重复是 NDDs 患儿重要的遗传学病因,常染色体显性遗传占智力障碍或全面发育迟缓比例为 13% ~ 39%^[2],新生突变是导致重度智力障碍或全面发育迟缓的重要病因^[16]。常染色体隐性遗传占智力障碍或全面发育迟缓比例为 10% ~ 20%^[17]。本研究显示,

CMA 对 ASD 患儿的分子诊断率为 3.64%,CMA 对 DD/ID 患儿的分子诊断率为 26.67%,诊断水平高于有研究^[18]已报道的 CMA 对 DD/ID 分子诊断率 14.7%;低于 CMA 对 ASD 分子诊断率 12%,高于刘欣等^[3]已报道的 CMA 对 DD/ID 分子诊断率 26.3%。分析原因主要为两个方面,一是纳入标准不同,刘欣等的纳入标准为诊断为 ASD、DD/ID、学习障碍、注意力缺失/多动症 (attention deficit hyperactivity disorder, ADHD) 的患儿及部分伴有面容异常或多发畸形的患儿,纳入病种比本研究多样。二是地域之间的差异。该结果对本地区的 NDDs 患儿临床分子诊断,干预方面具有指导意义。

本研究在 101 例 NDDs 病人中检出的 18 个病理性及可能致病性 CNVs 中包括 3 个已知的 NDDs 致病性热点区域,即 1q21.1q21.2、15q11.2q13.1、7q11.23,与国外已报道的情况^[18]类似,说明这些已鉴定的热点变异同样在我国儿童 NDDs 的发生中发挥重要作用。对检测结果为临床意义未知 CNVs 的 8 个病例中,4 例患儿发现了与已报道的神经发育相关的基因变异,分别是: BRAF、ANKRD11、FANCA、AMER1、GPC3。WU 等^[19]报道 Noonan 综合征是一种常染色体显性遗传病,主要临床表现为先天性心脏病、身材矮小、特殊面容、发育迟缓、凝血功能障碍、骨骼畸形等, BRAF 基因新生突变导致 Noonan 综合征的发生。SACHAROW 等^[20]报道 ANKRD11 基因突变所致 KBG 综合征,以广泛发育迟缓 (语言发育迟缓尤为突出)、颅面异常、上颌中切牙过大和骨骼异常为特征的罕见常染色体显性遗传性疾病。值得注意的是,人种间基因组的差异可能导致同一致病性位点在不同人群中的发生频率出现明显差异,比如 Phelan-McDermid 综合征相关位点 22q13 微缺失在中国 ID 患儿中的发生明显高于西方 (1.7% 和 0.24%)^[21]。这一现象表明建立我国患儿 NDDs 致病性 CNVs 谱系数据库对有效开展相关领域研究的重要性和必要性。

我们对 DD/ID 病人检出的 14 个致病性 CNVs 分析发现与 XU 等^[18]已报道的一些经典的综合征位点如 1q21.1q21.2、15q11.2q13.1、7q11.23 相吻合。另外,我们还发现 1 例 X 染色体异常的发育迟缓患儿;人类全基因组有 25 000 个功能基因 (目前仍在增加中),其中 X 染色体上有 829 个,仅占人类基因组基因的 3.3%,然而 10% ~ 15% 的精神发育迟滞与 X 染色体基因/基因组变异有关^[22],所以本例中的发育迟缓患儿可能与其染色体异常密切相关。

关。另外我们还发现 1 例 9q34.3 微缺失综合征, 研究^[23]表明 9q34.3 微缺失综合征主要临床表型包括智力低下、发育迟缓、语言发育障碍、肌张力低下、特殊面容(如眼距增宽、鼻孔前倾、浓眉), 部分病人可能出现新生儿喂养困难、食管反流、癫痫、心脏畸形及肥胖表型^[23]。本研究中的 9q34.3 微缺失综合征患儿有相似症状。另外 9 号染色体上不同区段的重复临床表型也会不同, 9p22.1-p22.3 区域重复与特殊面容有关, 9p21.2-21.3 区域重复与语言发育落后有关, 9p22.3-24 区域的重复与智力低下有关^[24-25]。

ASD 病因复杂, 近年来研究^[26-27]发现, CNVs 在 ASD 病因中的构成比为 10% ~ 20%。静进等^[28]研究发现 ASD 病人染色体异常包括 2q24 缺失、3p14 缺失和重复、1p36 缺失、3q27 ~ 3q28 缺失、7p21 缺失等, 涉及的易感基因包括 MET、RELN、FOXP2、NRP2、PTEN、Tsc1/Tsc2 等。另外有多项研究发现 EN2、RELN、NRP2、OXTR、GluR6 和 FOXP2 基因的突变或多态性可能与中国人的 ASD 有关^[29]。该研究中对 ASD 患儿检测出 2 例染色体异常包含 3 个 CNVs 分别是: 8p23.3p23.1 缺失、8q24.23q24.3 重复、Xp22.32p22.31 缺失。其中 1 例患儿在 8 号染色体上同时发现缺失片段及重复片段。与神经发育相关的 OMIM 基因有: MCPH1、CLN8、TRAPPC9、GPAA1、PUF60、NLGN4、DUERINCKX 等^[30]的研究表明常染色体隐性智力缺陷(Autosomal recessive intellectual disability, ARID)是智力缺陷的非常不同的亚组, 而 TRAPPC9 和 MCPH1 的每个突变都会导致一种 ARID。LOW 等^[31]研究发现 12 例病人中观察到的临床和分子数据表明 PUF60 的变异导致以身材矮小为特征的综合征, 发育迟缓、面部畸形等。还有学者^[32]报道了 5 个新发的 PUF60 变异与偶发的 ID 患儿常见先天性异常相关的。基于以上研究, 我们认为 TRAPPC9、MCPH1 和 PUF60 可能是导致 ASD 发病的原因, 关于他们的致病机制需要进一步研究。

[参 考 文 献]

[1] BOYLE CA, BOULET S, SCHIEVE LA, *et al.* Trends in the Prevalence of Developmental Disabilities in US Children, 1997 - 2008 [J]. *Pediatrics*, 2011, 127(6): 1034.

[2] MOESCHLER JB, SHEVELL M. Comprehensive Evaluation of the Child With Intellectual Disability or Global Developmental Delays [J]. *Pediatrics*, 2014, 134(3): e903.

[3] 刘欣, 刘宏景, 王丽, 等. 染色体芯片分析对神经发育性疾病的分子诊断率研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39(4):

246.

[4] 彭镜, 尹飞. 重视儿童神经发育障碍性疾病的病因及临床研究 [J]. *中国医师杂志*, 2018, 20(9): 1281.

[5] 中华医学会儿科学分会神经学组, 中国医师协会神经内科学分会儿童神经疾病专业委员会. 儿童智力障碍或全面发育迟缓病因诊断策略专家共识 [J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(11): 806.

[6] 耿娟, 余永国, 傅启华. 儿童神经发育性疾病分子诊断技术应用进展 [J]. *中华检验医学杂志*, 2018(2): 81.

[7] 胡婷, 王嘉敏, 张竹, 等. 染色体微阵列分析技术在超声异常胎儿产前诊断中的应用 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(3): 317.

[8] BEAUDET LA. The utility of chromosomal microarray analysis in developmental and behavioral pediatrics [J]. *Child Development*, 2013, 84(1): 121.

[9] SYRMOU A, TZETIS M, FRYSSIRA H, *et al.* Array comparative genomic hybridization as a clinical diagnostic tool in syndromic and nonsyndromic congenital heart disease [J]. *Pediatr Res*, 2013, 73(6): 772.

[10] MILLER DT, ADAM MP, ARADHYA S, *et al.* Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies [J]. *Am J Human Genet*, 2010, 86(5): 749.

[11] 王艳, 胡平, 林颖, 等. SNP array 技术检测自闭症患儿的拷贝数变异 [J]. *临床检验杂志*, 2015, 33(12): 10.

[12] KIM YM, CHO EH, KIM JM, *et al.* Del(18p) syndrome with increased nuchal translucency in prenatal diagnosis [J]. *Prenat Diagn*, 2004, 24(3): 161.

[13] GIJSBERS AC, LEW JY, BOSCH CA, *et al.* A new diagnostic workflow for patients with mental retardation and/or multiple congenital abnormalities: test arrays first [J]. *Eur J Human Genet*, 2009, 17(11): 1394.

[14] YOUNG RL, RODI ML. Redefining autism spectrum disorder using DSM-5: the implications of the proposed DSM-5 criteria for autism spectrum disorders [J]. *J Autism Dev Disord*, 2014, 44(4): 758.

[15] ELSABBAGH M, DIVAN G, KOH YJ, *et al.* Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders [J]. *Autism Res*, 2012, 5(3): 160.

[16] DE LIGT J, WILLEMSSEN MH, VAN BON BW, *et al.* Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(20): 1921.

[17] MUSANTE L, ROPERS HH. Genetics of recessive cognitive disorders [J]. *Trends Genet*, 2013, 30(1): 32.

[18] XU M, JI Y, ZHANG T, *et al.* Clinical application of chromosome microarray analysis in han Chinese children with neurodevelopmental disorders [J]. *Neurosci Bull*, 2018(6): 981.

[19] WU X, YIN J, SIMPSON J, *et al.* Increased BRAF heterodimerization is the common pathogenic mechanism for noonan syndrome-associated RAF1 mutants [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(19): 3872.

- [20] SACHAROW S, LI D, FAN YS, *et al.* Familial 16q24. 3 microdeletion involving ANKRD11 causes a KBG-like syndrome [J]. *Am J Med Genet Part A*, 2012, 158A(3):547.
- [21] GONG X, JIANG YW, ZHANG X, *et al.* High proportion of 22q13 deletions and SHANK3 mutations in chinese patients with intellectual disability[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e34739.
- [22] LUBS HA, STEVENSON RE, SCHWARTZ CE. Fragile X and X-linked intellectual disability: four decades of discovery [J]. *Am J Human Genet*, 2012, 90(4):579.
- [23] CAMPBELL CL, COLLINS RT, ZARATE YA. Severe neonatal presentation of Kleefstra syndrome in a patient with hypoplastic left heart syndrome and 9q34. 3 microdeletion [J]. *Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol*, 2014, 100(12):985.
- [24] MA J, CRAM DS, ZHANG J. Birth of a child with trisomy 9 mosaicism syndrome associated with paternal isodisomy 9; case of a positive noninvasive prenatal test result unconfirmed by invasive prenatal diagnosis [J]. *Mol Cytogenet*, 2015, 8:44.
- [25] 周晓燕, 胡平, 杨吟秋, 等. 微阵列比较基因组杂交技术诊断 9p 部分三体患儿一例 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2012, 29(1):52.
- [26] SAHIN M, SUR M. Genes, circuits, and precision therapies for autism and related neurodevelopmental disorders [J]. *Science*, 2015, 350(6263):10.
- [27] TORDJMAN S, SOMOGYI E, COULON N, *et al.* Gene X Environment interactions in autism spectrum disorders: role of epigenetic mechanisms [J]. *Front Psychiatry*, 2014, 5:53.
- [28] 静进. 儿童孤独症谱系障碍研究进展及其诊断治疗 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2010(23):19.
- [29] YANG P, LUNG FW, JONG YJ, *et al.* Association of the homeobox transcription factor gene ENGRAILED 2 with autistic disorder in Chinese children [J]. *Neuropsychobiology*, 2008, 57(1/2):3.
- [30] DUERINCKX S, MEUWISSEN M, PERAZZOLO C, *et al.* Phenotypes in siblings with homozygous mutations of TRAPPC9 and/or MCPH1 support a bifunctional model of MCPH1 [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2018, 6(4):660.
- [31] LOW KJ, ANSARI M, JAMRA RA, *et al.* PUF60 variants cause a syndrome of ID, short stature, microcephaly, coloboma, craniofacial, cardiac, renal and spinal features [J]. *Eur J Human Genet*, 2017, 25(5):552.
- [32] CHEHADEH SE, KERSTJENS-FREDERIKSE WS, THEVENON J, *et al.* Dominant variants in the splicing factor PUF60 cause a recognizable syndrome with intellectual disability, heart defects and short stature [J]. *Eur J Human Genet*, 2016, 25(1):43.

(本文编辑 刘璐)

(上接第 467 页)

- [6] JANA D, SARKAR DK, GANGULY S, *et al.* Role of cyclooxygenase 2 (COX-2) in prognosis of breast cancer [J]. *Indian J Surg Oncol*, 2014, 5(1):59.
- [7] PENG L, PENG Z, XIN L, *et al.* Micro ribonucleic acid (RNA)-101 inhibits cell proliferation and invasion of lung cancer by regulating cyclooxygenase-2 [J]. *Thoracic Cancer*, 2015, 6(6):778.
- [8] EISENHAUER EA, THERASSE P, BOGAERTS J, *et al.* New response evaluation criteria in solid Tumours-revised RECIST guide line (version 1.1) [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2):228.
- [9] 张师前, 王稳. 局部晚期宫颈癌术前新辅助化疗的益处 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(11):1199.
- [10] 李雪, 孔为民. 局部晚期子宫颈癌治疗的研究进展 [J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(5):388.
- [11] 刘星宇, 黄欢, 李瑞, 等. 宫颈癌肿瘤标志物在新辅助化疗中的应用 [J]. *江汉大学学报:自然科学版*, 2019, 47(1):87.
- [12] 张燕. 宫颈癌病人血清骨桥蛋白、可溶性 E-钙黏蛋白含量与肿瘤增殖、侵袭活性的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(18):4562.
- [13] 陶潜, 张晓娟, 郑艳莉, 等. 骨桥蛋白在卵巢癌及交界性肿瘤中的表达及临床意义 [J]. *实用癌症杂志*, 2013, 28(6):606.
- [14] 沙仁高娃. 宫颈癌病人化疗前后骨桥蛋白表达水平的变化及意义 [J]. *广东医学*, 2015, 36(10):1554.
- [15] 钱玉洁, 黄昕琼, 申良方. 骨桥蛋白和 E-钙粘素与宫颈癌放疗抵抗的相关性 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(16):24.
- [16] YONG P, YAN J, LIN T, *et al.* Deletion of cyclooxygenase-2 inhibits K-ras-induced lung carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36):38816.
- [17] 陈廷玉, 卢春风, 苗智, 等. 宫颈癌组织中 PTEN 和 COX-2 的表达与侵袭转移的关系 [J]. *解剖学研究*, 2014, 36(6):430.
- [18] 阳袁莉. 环氧酶-2 和血管内皮生长因子-C 在宫颈癌中的表达及意义 [J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(8):1774.
- [19] 辛华栋, 张莉华, 田芬, 等. 环氧酶-2 在宫颈癌组织中的表达及对预后的影响 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(24):30.

(本文编辑 刘璐)