临床研究 文章编号:0253-3626(2010)04-0602-03

287 例唐氏综合征患儿细胞及分子遗传学分析

宋 萃[1],朱 岷[1],包黎明[2],邹 琳[2]
(1. 重庆医科大学附属儿童医院特需病房,重庆 400014;2. 重庆医科大学附属儿童医院临床分子医学中心,重庆 400014)

【摘 要】目的:了解我院确诊的唐氏综合征(Down's syndrome,DS)患儿核型分布情况;比较荧光原位杂交技术(Fluorescence in situ hybridization, FISH)较常规 G 显带染色体核型分析技术在确诊并检出嵌合型 DS 患儿异常核型方面的优势。方法:采集疑诊为 DS 患儿的血液进行常规 G 显带染色体核型分析,描述 DS 患儿核型分布情况;从经常规 G 显带染色体核型分析确诊为嵌合型 DS 的患儿中随机抽取 5 名进行 FISH 分析,对比 2 种方法检出异常核型百分比的差异。结果:本文检出的 DS 患者共 287 例,其中单纯型达 91.29%,占 DS 患者中的绝大多数,易位型 DS 患者中,D/G 易位 11 例,占 73.33%,G/G 易位 4 例,占 26.67%。本文易位型 DS 患者中有 1 例为 D/G 易位嵌合型,以往文献罕见报道;常规 G 显带染色体核型分析确诊为嵌合型 DS 的患儿经 FISH 分析全部为嵌合型,2 种方法检出异常核型的比例无统计学差异。结论:本文所收集的 DS 患儿核型以单纯型占绝大多数,易位型患儿中以 D/G 易位多见。常规染色体核型分析技术能准确诊断 DS,但对于 3 倍体细胞所占比例较少,临床表现较轻的嵌合型 DS 患儿建议采用 FISH 计算异常细胞百分率。

【关键词】唐氏综合征;染色体核型分析;荧光原位杂交
【中国图书分类法分类号】R394.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-05-14

Cytogenetic and molecular genetic analysis of Down's Syndrome–287 cases

SONG Cui, et al
(*Special Care Ward, Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To better understand the karyotype distribution of the patients with Down's syndrome (DS) who have been finally diagnosed in our hospital. To compare the strengths of G-banding karyotype analysis and FISH (Fluorescence In Situ Hybridization, FISH) in diagnosing the DS patients with the Chromosome mosaicism and Calculating the percentage of abnormal karyotypes. *Methods*: Blood of the patients who were likely to suffer from DS was selected for G-banding karyotype analysis to describe the karyotype distribution. 5 of the finally diagnosed patients with the chromosome mosaicism were randomly selected for FISH to compare the percentage of abnormal karyotypes of the two methods. *Results*: 287 DS patients were diagnosed, 91.29% of whom had the simple karyotype. Among the patients with the translocation karyotype, 11 D/G translocation karyotype were detected ,accounting for 73.33% ,while 4 G/G translocation karyotype were diagnosed, constituting 26.67%. One patient with both of the translocation

作者介绍:宋 萃(1980-),女,硕士,
研究方向:细胞及分子遗传学。
通讯作者:熊 丰,女,教授,E-mail: xiongfengw@yahoo.com.cn。
基金项目:重庆市科委自然科学基金计划资助项目(编号:CSTC,2008BB5231);重庆市卫生局医学科学技术研究项目(编号:2008-2-161)。

参 考 文 献

[1] 中华医学会精神分会编.CCMD-3 中国精神障碍分类与诊断标准[M].第 3 版.济南:山东科学技术出版社,2001.87-88.
[2] 汪向东.心理卫生评定量表手册[M].第 1 版.北京:中国心理卫生杂志社出版,1993.220-223.
[3] 陈日访.现代电休克治疗精神分裂症的疗效比较结果[J].四川精神卫生,2004,17(3):158-159.
[4] Bengmark S. Gut microenvironment and immune function[J].Currop in Clin Nutr Metab Care,1999,2(1):83-85.
[5] 李大奇,况 利.不同电休克方法对抑郁模型大鼠海马白介素-6 受体表达的影响[J].中国行为医学科学,2007,16(9):792-793.
[6] Madsen T M,Treschow A,Bengzon J,et al. Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy[J].Biol Psychiatry,2000,47(12):1043-1049.
[7] Nibuya M, Morinobu S, Duman R S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidep ressant drug treatments[J]. J Neurosci,1999,15(11):7539-7547.
[8] Huainss,Kevanim,Linnell R,et al. Electroconvulsive therapy in depressive illness that has not responded to drug treatment[J].J Clin,2004,83(213):121-124.
[9] Walter W, Ariejan L, Paul G H, et al. Effect of centidepressant medication resistance on short-termresponse to electroconversivetherapy [J]. Psychopharmacology,2004,24(9):400-401.
[10] 潘能荣,杨小男,张承安,等.电休克治疗对抑郁症的疗效研究[J].临床精神医学杂志,2005,15(2):75-77.
[11] 哈保卫,李秀芳,张李娜,等.改良无抽搐电休克合并氟西汀与单用氟西汀治疗抑郁症的对照研究[J].精神医学杂志,2007,20(6):370-372.

(责任编辑:冉明会)

karyotype and the mosaicism karyotype was detected in our research, which was uncommon in recent report. The results of FISH and G-banding karyotype analysis were consistent. There was no significant difference of the abnormal karyotype rates for DS patients with the chromosome mosaicism by G-banding karyotype analysis and FISH. *Conclusion*: The simple karyotype is the main karyotype of the DS patients in our research. Among the translocation karyotype, the D/G kind is common. DS patients can be diagnosed efficiently by G-banding karyotype analysis, but we still suggest to use FISH to get the proportion of the abnormal cell for the patients who have less triploid cell and slighter clinical manifestation.

【Key words】Down's syndrome; Karyotype analysis; Fluorescence in Situ Hybridization(FISH)

唐氏综合征(Down syndrome,DS)是最常见的小儿染色体疾病。该病的临床特点是精神发育迟滞、特殊面容、多种先天性畸形、免疫系统功能异常、30~40 岁后出现自由基参与的早老性退行性病变[1,2]。为了解我院确诊的 DS 患儿核型分布情况;分析荧光原位杂交技术(Fluorescence in situ hybridization,FISH)较常规 G 显带染色体核型分析技术在确诊并检出嵌合型 DS 患儿异常核型方面的优势,我们进行了此项研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2007 年 8 月 ~2008 年 8 月,我院门诊或住院病人中,临床诊断或疑诊为 DS 的患儿进行常规 G 显带染色体核型分析。共确诊 DS 患儿 287 例其中年龄最小出生 2 h, 最大 15 岁,男患儿 171 例,女患儿 116 例。

1.1.1 纳入标准 具有眼裂小、眼距宽、双眼外眦上斜、塌鼻梁、内眦赘肉、鼻梁低平、外耳小等特殊面容;可有通贯掌,手掌三叉点 t 移向掌心,atd 角增大;智能发育落后;生长发育迟缓;伴发心脏、消化道等系统畸形。具有上述临床表现怀疑为 DS 的患儿。

1.2 研究方法

对临床疑诊为 DS 的患儿进行常规 G 显带染色体核型分析,按照 ISCN 描述染色体数目及结构变化。从常规 G 显带染色体核型分析技术确诊为嵌合型 DS 的患儿中随机抽取 5 名进行 FISH 分析,对比两种方法检出的异常核型百分率。

1.2.1 常规 G 显带染色体核型分析 采集疑诊患者静脉血 2 ml,进行外周血淋巴细胞培养,常规方法收获细胞,低渗、固定、胰酶消化、制片经 G 显带处理,镜检。每例均分析 30 个分裂像,并进行显微摄像。按照 ISCN 描述染色体数目及结构变化。

1.2.2 FISH 取患者细胞悬液混匀后滴片、干燥,加入适量 VYSIS FISH 探针, 于 HybriteTM 杂交仪中进行杂交,72℃解链 2 min,37℃杂交过夜。经 SSC 洗片, 干燥后于 OLYMPUS 荧光显微镜下观察,计数 500 个间期细胞,并进行显微摄像。

2 结 果

2.1 DS 患儿染色体核型 见表 1。

2.2 嵌合型 DS 患儿 FISH 核型分析 见图 1。

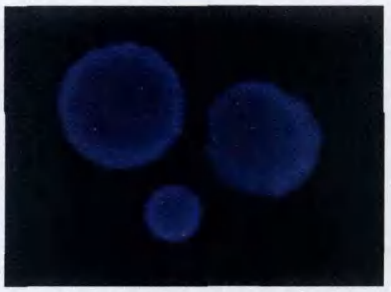


图 1 嵌合型 DS 患儿 FISH 分析

表 1 DS 患儿染色体核型分布

类型	染色体核型	例数	构成比%
单纯型	47,XY,+21	157	54.70
	47,XX,+21	105	36.58
易位型	46,XY,der(14;21)(q10;q10),+21	4	1.39
	46,XX,der(14;21)(q10;q10),+21	5	1.74
	46,XX,t(18;21)(q22;q22)	1	0.35
	46,XY, t(18;21)(q22;q22)[16]/46,XY[4]	1	0.35
	46,XY,i(21)(p10p10)	2	0.7
	46,XX,i(21)(p10p10)	2	0.7
嵌合型	47,XY+21/46,XY	5	1.74
	47,XX,+21/46,XX	3	1.05
	46,XY,t(12;21)(p13;q11.2),del(13)(q12q14)[6]/46,xy[14]	1	0.35
21 三体合并其他染色体异常	47,XY,inv(9)(p13.3;q21.2),+21	1	0.35

表 2 比较常规 G 显带染色体核型分析与 FISH 分析计算嵌合型 DS 患儿异常核型百分率

试验序号	试验方法	
	常规 G 显带染色体核型分析	FISH 分析
1	82%	86%
2	94%	96%
3	96%	96%
4	90%	92%
5	80%	88%

2 种方法比较差异无统计学意义 $t=-2.359$, $P>0.05$

2.3 嵌合型 DS 患儿常规 G 显带染色体核型分析及 FISH 分析异常核型检出率，见表 2。

3 讨 论

3.1 DS 是导致儿童智力低下的常见原因。

其在活产婴儿的发生率为 1/600~1/1 000，并且是导致胎儿流产的主要原因之一，有数据显示 DS 相关的流产达到 1/150[3]，而且 80% 的 DS 胎儿会出现流产。根据“全国妇幼卫生监测报告”，DS 全国各地发病率不尽相同。国内数据表明：2005 年全国发病率为：2.71/1 万，其中城市发病率为 3.2/1 万，农村为 1.7/1 万。男性发病率为 2.85/1 万，女性发病率为 2.52/1 万，男女发病率比例约为 1.13/1[4]。本研究显示 2007~2008 年间于我院经常规 G 显带染色体核型分析确诊为 DS 的患儿男女比例为 1.47，仍显示 DS 的发病率男性略高于女性。DS 核型主要包括单纯型、易位型、嵌合型。一般认为单纯型 DS 是因父母生殖细胞在减数分裂时发生了 21 号染色体不分离，使其中某一配子无 21 号染色体，而另一配子则有 2 条 21 号染色体，它们与正常配子受精后，前者一般是流产，而后者则形成了 3 条 21 号染色体。目前 21 号染色体不分离的机制尚未完全清楚，一般认为在减数分裂过程中发生不分离与高龄孕妇的卵子老化有关，新近研究发现某些编码叶酸代谢关键酶的基因在人群中的多态现象与之相关；易位型 DS 中，75%是新生易位，25%来源于平衡易位的双亲。本文检出的 DS 患者中单纯型达 91.29%，占所有 DS 患者中的绝大多数；本文 15 例易位型 DS 患者中，D/G 易位 11 例，占 73.33%，G/G 易位 4 例，占 26.67%。本文易位型 DS 患者中有一例为 D/G 易位嵌合型，以往文献罕见报道；嵌合型 DS 则发生于受精卵在前几次卵裂过程中不分离，其患者的临床症状有较大差异，文献报道嵌合型患者症状的典型程度取决于 21 三体细胞数量的多寡，有学者认为 21 三体细胞比例在 9%以下时，临床上可不出现任何症状[5]。本文中嵌合体 DS 患儿异常核型细胞所占比例均在 30%以上，其中一例异常核型细胞所占比例甚至高达 96%，9 例嵌合型 DS 患儿，智商发育明显落后，均具有较典型的临床表现。

3.2 20 世纪 80 年代后期，起源于放射性杂交的 FISH 技术开始用于定位人类基因，很快该技术在临床细胞遗传学实验室中被用于分析染色体重排、微小缺失、和常见非整倍体个体及胚胎的临床诊断及产前诊断。应用间期 FISH，不需要细胞培养和染色体制备，即可分析人类所有组织中处于任何分裂周期的细胞的基因组改变。具有操作简单，特意性和灵敏性均较高的优势。本文随机抽取 5 例经过常规染色体 G 显带确诊为嵌合型 DS 的患者，取其细胞悬液进行间期 FISH 技术分析，结果显示常规染色体 G 显带染色体核型分析技术与 FISH 技术均能确诊嵌合型 DS 患儿。

3.3 常规 G 显带染色体分析技术通常是将人类外周血淋巴细胞进行染色体标本制备，淋巴细胞增生消亡很快，易受血循环环境因素影响，对于一些异常细胞所占比较较少的嵌合体，容易在细胞传代过程中丢失。而 FISH 技术则能够更加准确快捷的对嵌合型 DS 个体三倍体细胞进行定量分析，能够计数更多的间期细胞。本文显示常规 G 显带染色体核型分析技术与 FISH 技术检出的嵌合型 DS 患儿异常核型百分率无显著差异，可能与本文嵌合型 DS 患儿异常细胞所占比例均较高有关。对于三体细胞数很少，无明显 DS 临床表现的个体 FISH 仍是一种准确、灵敏的检测方法。采用这一方法可以从表型正常的人群中筛查出嵌合型 DS 个体，通过采取针对性的遗传咨询及产前检查，可以在一定程度上减少出生缺陷的发生。

参 考 文 献

[1] de Haan JB, Wolvetang EJ, Cristiano F, et al. Reactive oxygen species and their contribution to pathology in down syndrome [J]. Adv Pharmacol, 1997, 38: 379-402.

[2] Simonian NA, Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative disease [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1996, 36: 83-106.

[3] 陆国书，杜传书，李 巍，等. 产前遗传病诊断[M]. 广州：广东科技出版社. 2002. 265-266.

[4] 洪 淳，杨琳琳. MTHFR 基因多态性与唐氏综合征发生易感性的关系[J]. 中国优生与遗传杂志，2008，16(3)：15-16.

[5] 左 伋. 医学遗传学[M]. 第 4 版. 北京：人民卫生出版社. 2004. 182-184.

（责任编辑：关蕴良）