

• 个案分析 •

# 全外显子组测序检测猫叫综合征 2 例\*

易 薇<sup>1</sup>, 张志丹<sup>2#</sup>, 杨必清<sup>1</sup>, 葛世军<sup>1</sup>, 禹崇飞<sup>1</sup>, 尹祖伦<sup>1</sup>, 林克勤<sup>2</sup>, 黄 锐<sup>2</sup>, 褚嘉祐<sup>2</sup>, 杨昭庆<sup>2△</sup>

1. 德宏州人民医院检验科, 云南芒市 678400; 2. 中国医学科学院 & 北京协和医学院

医学生物学研究所医学遗传学研究室, 云南昆明 650118

**关键词:** 猫叫综合征; 染色体核型分析; 全外显子组测序

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.06.029

**中图法分类号:** R596.3

**文章编号:** 1673-4130(2021)06-0759-04

**文献标志码:** C

猫叫综合征又称 5p 缺失综合征, 是由于 5 号染色体短臂部分或完全缺失所导致的染色体缺失综合征。早在 1963 年就有研究者就对 3 例无亲缘关系的猫叫综合征患儿进行了报道, 此后世界各地均有发现病例<sup>[1]</sup>。该病主要的临床特征包括婴儿期似猫叫样哭声、独特的面部畸形、智力障碍和生长发育迟缓等<sup>[2]</sup>。猫叫综合征存在明显的遗传异质性和临床表现差异, 患者由于受染色体 5p 缺失片段的位置、大小、参与的修饰基因、有无伴随其他染色体变异等因素的影响, 在临床表型上显示出较大差别<sup>[3-4]</sup>。

国内外关于猫叫综合征的报道多为散发病例, 既往的研究较多集中于临床资料和细胞遗传学分析, 初步揭示了该病在染色体核型上的多样性。但核型分析难以对较小片段的微缺失或微重复(<5 Mb)进行定位, 荧光原位杂交(FISH)和基因芯片等技术从分子水平上提供了更加精细的染色体异常片段定位分析方法, 但仍然存在检测周期长、检测效率低和费用高等方面的局限性, 临床诊断上仍然需要对染色体片段异常进行更加高通量、更加精细的定位, 从而揭示基因型与表型特征的关联性。目前, 随着高通量测序技术的发展, 全外显子组测序技术以其所需标本量少、成本低、编码区域覆盖深度高等优点, 在单基因、多基因遗传病及产前诊断中得以广泛应用。全外显子组测序技术在染色体病的分析中, 尤其是通过拷贝数变异(CNVs)分析遗传病方面还存在争议。近年来该技术已逐渐在一些病例中得以应用<sup>[5]</sup>, 但还缺乏更多的评价和验证。本文采用染色体核型分析与全外显子组测序相结合的方法, 结合临床资料, 对两例猫叫综合征病例进行综合分析, 探讨应用全外显子组测序技术检测 CNVs 来定位染色体缺失片段在猫叫综合征临床诊断中的价值, 并为深入阐明猫叫综合征基因型与表型的关联性提供参考, 现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 患儿 1: 女, 6 月龄, 汉族, 系第 2 胎第 2 产, 36 周早产, 出生体质量 1 850 g, 因无明显诱因发热住院。反应差, 哭声小, 似猫叫, 小头畸形, 鼻梁塌, 眼距宽。前囟平软, 张力不高。双肺呼吸音粗, 可闻及痰响。胸片示支气管炎征象。心脏彩超示卵圆孔未闭, 三尖瓣轻度反流。头颅 MRI 示胼胝体形态略纤细, 双侧侧脑室体部间距增宽, 双侧侧脑室及三脑室扩张, 蛛网膜下腔增宽。肝胆胰脾双肾彩超未见明显异常。儿保康复科测评示发育落后。

患儿 2: 男, 1 月龄, 汉族, 系第 2 胎第 2 产, 足月顺产, 出生体质量 2 440 g, 以新生儿肺炎收住院。反应差, 哭声细弱, 似猫叫。皮肤苍白, 吃奶慢, 前囟平软, 张力不高。吸气性三凹征阳性(重度), 双肺可闻及痰鸣音。呼吸略急促, 有喉喘鸣。血常规示中度贫血。心电图示窦性心动过速。胸片检查心膈未见异常。

2 例患儿的父母 3 代以上均为云南德宏地区汉族, 表型智力均未见异常, 健康状况良好, 否认近亲婚配, 否认孕期患病史及放射性物质和有毒物质接触史, 否认家族遗传病及传染病史, 生育患儿时的年龄均在 35 周岁以下。患儿 1 有一姐姐, 表型智力正常, 健康状况良好。患儿 2 有一哥哥, 表型智力亦正常, 健康状况良好。

## 1.2 方法

**1.2.1 外周血染色体核型分析** 经患者家属知情同意, 并征得医院伦理委员会同意后, 抽取患儿及其父母、亲兄弟姐妹外周静脉血 2 mL, 采用外周血淋巴细胞培养方法常规收获细胞和制备染色体, 并进行 G 显带分析。镜下计数 20 个中期分裂相, 分析 5 个核型, 参照《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN)2013》的有关规定确定染色体核型。

\* 基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC1201704); 云南省高层次卫生健康技术人才培养专项(L-2018003)。

# 共同第一作者。△ 通信作者, E-mail: zyang@imbcams.com.cn。

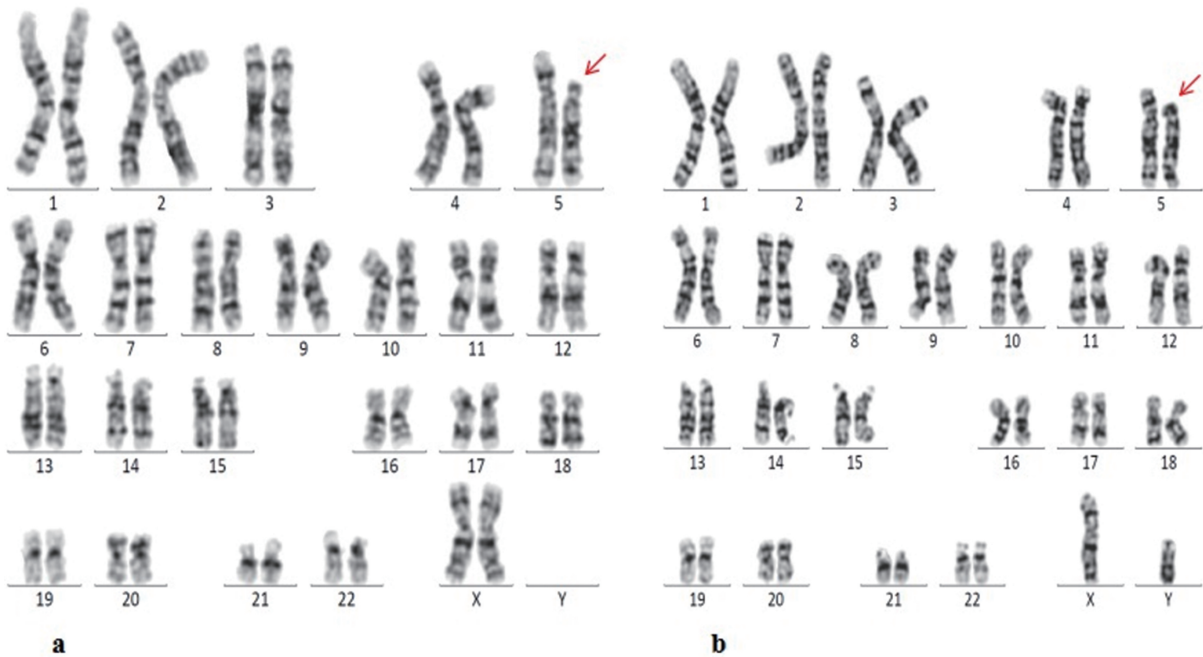
本文引用格式: 易薇, 张志丹, 杨必清, 等. 全外显子组测序检测猫叫综合征 2 例[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(6): 759-762.

**1.2.2 全外显子组测序** 提取 2 例患儿基因组 DNA,利用 iGeneTech 人全外显子组 AIExomeV1 检测试剂盒(北京艾吉泰康生物科技公司)构建文库,使用 NovaSeq6000 平台进行 150 bp 高通量双端测序(PE150),测序深度设定为 100×。测序所得原始数据经质量控制过滤去除重复序列、接头序列等,基于 UCSC 的参考基因组(hg19,2009),采用 BWA、Cnv-kit、ANNOVAR、SIFT、Polyphen 等软件对测序数据进行单核苷酸多态性(SNPs)和小插入缺失(InDels)变异分析,对单标本全外显子采用自行构建的数据库作为正常参照进行 CNVs 寻找,并结合以往的全基因组关联研究(GWAS)数据和 CNVD 数据库进行结果注释。

2 结 果

**2.1 染色体核型分析结果** 两例患儿的代表性 G 显带核型结果见图 1。患儿 1 的核型为 46,XX,del(5)(p13);患儿 2 的核型为 46,XY,del(5)(p14)。两例患儿的父亲核型均为 46,XY;母亲核型均为 46,XX;患儿 1 的姐姐核型为 46,XX;患儿 2 的哥哥核型为 46,XY。根据核型分析和临床表现,两例患儿诊断为猫叫综合征。

**2.2 全外显子组高通量测序结果** 全外显子组测序 CNVs 分析结果显示,两例患儿在 5p 上均存在不同程度的染色体片段缺失,缺失片段分别为 34.68 Mb 和 22.01 Mb,相应的缺失区域、范围及缺失所涉及的部分基因见表 1。



注:a 为患儿 1 有 5p13→pter 片段缺失;b 为患儿 2 有 5p14→pter 片段缺失;图中箭头所示为 5p 缺失断裂点。

图 1 两例患儿的 G 显带染色体核型图

表 1 两例患儿 CNVs 检测结果

序号	染色体 编号	区间 起始	区间 终止	区间长度 (bp)	拷贝 数目	CNV 覆盖到的 染色体区段名称	基因
患儿 1	5	10500	34686487	34 675 987	1	5p15.33-p13.2	TERT,SEMA5A,CTNND2,SLC6A3,CDH18,CDH12,MARCH6,CDH10,CDH9,CDH6,PRDM9,DROSHA,PDZD2,GOLPH3,MT-MR12,ZFR,SUB1,NPR3,RXFP3,SLC45A2,LINC 等 161 个
患儿 2	5	10500	22025370	22 014 870	1	5p15.33-p14.3	TERT,SEMA5A,CTNND2,SLC6A3,CDH18,CDH12,MARCH6,LINC 等 127 个

3 讨 论

猫叫综合征(CDCS,OMIM 123450)是典型的染色体缺失综合征,其在活产婴儿中的发病率约为 1/50 000~1/15 000,占小儿染色体病的 1.3%,男女发病性别比例为 5:7,约 1%的患儿存在严重智力障

碍(IQ<20)<sup>[6]</sup>。遗传学检查中,77.50%的病例为 5p 末端缺失,8.75%为中间缺失,5.00%为新发的染色体易位,3.75%为嵌合体型。5p 缺失的病因来源,85%~90%的病例源自新发突变,再发风险相对较低;10%~15%的病例源自平衡易位携带的双亲,且

多源自平衡易位的父亲,再发风险相对较高<sup>[7-8]</sup>。本研究中,两例患儿的父母、患儿 1 的姐姐及患儿 2 的哥哥外周血染色体核型分析结果均未检出异常,因此,两例患儿均属于新发的染色体突变,且均为 5p 末端缺失。

猫叫综合征具有明显的遗传异质性和临床表型差异,患者病情的严重程度、智力水平、发育迟缓及预后效果与 5p 缺失的片段大小及位置有关。与猫叫综合征表型密切相关的关键区域主要定位于 5p15.2 和 5p15.3。5p15.2 缺失与患儿小头、圆脸、宽眼距、低耳位、小下颌等典型面部特征及智力低下的临床表现相关。5p15.3 缺失与患儿喉肌发育不良、猫叫样哭声和语言发育迟缓等症状有关<sup>[9-10]</sup>。本研究中,患儿 1 的核型为 46,XX,del(5)(p13),在 5p15.33-p13.2(10500-34686487)区域存在 34.68 Mb 的单拷贝缺失,患儿 2 的核型为 46,XY,del(5)(p14),在 5p15.33-p14.3(10500-22025370)区域存在 22.01 Mb 的单拷贝缺失。两例患儿均缺失了 5p15.2 和 5p15.3 关键区域,并符合猫叫综合征的临床特点。

分子遗传学研究在猫叫综合征患者关键区域进一步发现并定位了与疾病表型特征密切相关的一些特异基因。在 5p15.33-p11 区域的 314 个基因中,TERT、SEMA5A、CTNND2、MARCH6、NPR3 等为单倍剂量不足的敏感基因,SLC6A3、CDH18、CDH12、CDH10、CDH9、CDH6 等在其他遗传因素或环境因素作用下具有单倍剂量不足效应,RICTOR、DAB2 等具有单倍剂量致死效应<sup>[3]</sup>。TERT 端粒反转录酶基因主要编码端粒酶催化亚基,是维持端粒酶活性的必要成分,对人体正常细胞的生长发育具有关键的调控作用。TERT 基因缺失可造成胎儿发育障碍,同时也是影响猫叫综合征患儿表型变化的重要遗传因素<sup>[1]</sup>。SEMA5A、CTNND2 及 CDH18、CDH12、CDH10、CDH9、CDH6 等基因与大脑发育密切相关,其剂量不足将阻碍大脑正常发育,导致泛自闭症障碍症候群或不同程度的智力障碍<sup>[11-12]</sup>。而编码 E3 泛素连接酶的 MARCH6 基因参与蛋白质的降解途径,其缺失可能与猫叫样哭声有关<sup>[13]</sup>。本研究中,两例患儿均表现出猫叫样哭声、肌张力低、生长发育迟缓等典型症状,笔者认为这与二者均缺失了 5p15.33-p14.3 片段,缺失了诸如 TERT、SEMA5A、CTNND2 等上述多个单倍剂量不足或条件性单倍剂量不足的敏感基因有关。此外,与患儿 2 相比,患儿 1 的临床表现更为严重,还表现出心脏及脑部发育异常、智力障碍等其他症状。笔者推测,这可能与患儿 1 在 5p 上缺失了更大的片段(即 5p14.3-p13.2 片段),有更多的基因(包括 CDH10、CDH9、CDH6、PRDM9 等数个关键基因)发生了拷贝数异常有关。CHIHPING 等<sup>[14]</sup>的报道也发

现 5p14.3-p14.1 缺失的胎儿产前超声检查提示有先天性心脏病。尽管本研究全外显子组测序结果提示性预测患儿 1 的临床症状可能重于患儿 2,但临床表型还受到其他遗传和环境因素的影响。同时,因本研究纳入的病例年龄较小,患儿 2 尚不足 1 个月,对其是否存在智力低下、语言障碍、心肝脾肺肾异常等基因型-表型关联性的评价还有待后期对其进行随访和检查,且还需积累更多病例资料,以便对相应的关键染色体区域进行更加深入的分子遗传学分析,从而更深入地揭示猫叫综合征缺失基因型与表型的相关性。

染色体核型分析是目前诊断染色体疾病的“金标准”,可检测到染色体数目异常及较大片段(>5 Mb 以上)的结构异常<sup>[15]</sup>。FISH 和多重连接依赖式探针扩增技术能分辨较小的染色体缺失或重复,但检测通量较低,操作相对繁琐<sup>[16]</sup>。全外显子组测序技术能在全基因组水平上检测到外显子区绝大部分疾病的相关变异,具有高通量、高灵敏度和高性价比等优势,已在临床基因检测和基因诊断中逐渐被推广应用,但基于全外显子组测序技术检测 CNVs 来分析染色体疾病的研究尚不多见。随着探针捕获技术和生物信息数据算法的不断优化,一些研究和报道表明全外显子组测序技术是一种经济、快速有效的筛查染色体 CNVs 的辅助诊断方法<sup>[5,17]</sup>。

本研究采用全外显子组测序技术将两例无亲缘关系猫叫综合征患儿的 5 号染色体缺失区域进行了精细定位,发现了不同大小片段的染色体拷贝数缺失区域及缺失片段所涉及的关键基因,进一步提供了猫叫综合征遗传异质性的实验证据,其结果与核型分析能相互印证,进一步表明采用全外显子组测序与核型分析相结合的联合分析方法,有利于弥补常规细胞遗传学分析方法的不足,可在全基因组范围内对染色体异常位点和片段进行精确定位,可对染色体片段缺失等染色体病进行辅助诊断,为染色体病的临床表型异质性分析、症状预测预警与疾病管理等提供更多分子遗传学线索和辅助诊断措施,其临床应用价值和策略值得通过更多的案例来进行验证和优化。

## 参考文献

- [1] ESPIRITO SANTO L D, MOREIRA L M, RIEGEL M. Cri-Du-Chat Syndrome: clinical profile and chromosomal microarray analysis in six patients[J]. BioMed Res Intern, 2016, 2016: 5467083.
- [2] BIN Z, MARCIA W, DOROTHY K G, et al. Multigenerational autosomal dominant inheritance of 5p chromosomal deletions[J]. Am J Med Genet A, 2016, 170(3): 583-593.
- [3] JOANNE M N, QUALMANN K J, OKASHAH R, et al. 5p deletions: current knowledge and future directions[J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2015, 169(3): 224-



238.

[4] MAK A S, MA T W, CHAN K Y, et al. Prenatal diagnosis of 5p deletion syndrome: report of five cases[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2019, 45(4): 923-926.

[5] 张彦, 孙樱桐, 许艺明, 等. 医学外显子组测序检测遗传病拷贝数变异的初步探索[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2019, 40(1): 144-149.

[6] SIGAFOOS J, O'REILLY M F, LANCIONI G E. Cri-du-chat[J]. Dev Neurorehabil, 2009, 12(3): 119-121.

[7] CERRUTI M P, SPUNTON M, ARCURI V, et al. The Cri du chat syndrome: a study on the quality of care[J]. Minerva Pediatr, 2012, 64(4): 395-400.

[8] TYAGI S, KUMAR S, KUMAR A, et al. Cri du Chat syndrome-a rare genetic disorder: an overview[J]. J Chem Pharmac Res, 2010, 2(4): 604-609.

[9] 贺文凤, 陈贺, 牟海燕, 等. 1 例不典型新生儿猫叫综合征的遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(1): 104-106.

[10] 曾丹, 范舒舒. 连续三胎猫叫综合征产前诊断病例 1 例报道并文献复习[J/CD]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2018, 10(2): 51-52.

[11] YUNTAO D, SHIH-HSIU W, JUAN S, et al. Semaphorin 5A inhibits synaptogenesis in early postnatal-and adult-born hippocampal dentate granule cells[J]. Elife, 2014, 3(7): e04390.

[12] HOFMEISTER W, NILSSON D, TOPA A, et al. CT-

• 个案分析 •

NND2-a candidate gene for reading problems and mild intellectual disability[J]. J Med Genet, 2015, 52(2): 111-122.

[13] ELMAKKY A, CARLI D, LUGLI L, et al. A three-generation family with terminal microdeletion involving 5p15.33-32 due to a whole-arm 5;15 chromosomal translocation with a steady phenotype of atypical cri du chat syndrome[J]. Eur J Med Genet, 2014, 57(4): 145-150.

[14] CHIHPIING C, SHUYUAN C, CHENJU L, et al. Prenatal diagnosis of a familial 5p14.3-p14.1 deletion encompassing CDH18, CDH12, PMCHL1, PRDM9 and CDH10 in a fetus with congenital heart disease on prenatal ultrasound[J]. Taiwanese J Obstet Gynecol, 2018, 57(11): 734-738.

[15] 吴坚柱, 谢英俊, 林少宾, 等. 1 例 9p 部份单体合并 11q 部分三体的分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(1): 69-72.

[16] 王松涛, 潘虹, 裴珮, 等. MLPA 技术检测发育迟缓和智力障碍患儿的染色体微小重排的应用价值[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(32): 2514-2518.

[17] 陈文杰, 符娜, 梁晶晶, 等. 全外显子测序检测 10p15.3 微缺失综合征 1 例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(4): 331-335.

(收稿日期: 2020-06-26 修回日期: 2020-10-21)

胆红素吸附治疗严重多发伤并发胆汁淤积性肝病 1 例\*

王金汇<sup>1</sup>, 向江侠<sup>2</sup>, 鲁力<sup>1△</sup>

1. 重庆医科大学附属大学城医院重症医学科, 重庆 401331; 2. 重庆市急救医疗中心创伤医学科, 重庆 400014

关键词: 血浆分离; 胆红素吸附; 多发伤; 胆汁淤积性肝病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.06.030 中图分类号: R473.6

文章编号: 1673-4130(2021)06-0762-03 文献标志码: C

严重多发伤患者即使度过最初的复苏期, 后期仍可能继发器官功能衰竭, 最终导致死亡。在没有直接肝胆损伤及胆道梗阻的情况下, 严重创伤后肝功能的改变多以转氨酶升高为主, 黄疸多为轻、中度的肝细胞性黄疸<sup>[1]</sup>。严重多发伤患者经早期损伤控制、外科处理及复苏治疗后, 出现进行性加重的淤胆型肝炎的情况极为少见, 通常药物治疗效果不佳, 预后不良。本文报道 1 例应用血浆分离胆红素吸附成功治疗严

重多发伤伴重度淤胆型肝炎的病例, 结合文献讨论血浆分离胆红素吸附在严重多发伤器官支持中的应用。

1 临床资料

1.1 病例资料 患者, 王某某, 女, 48 岁, 因“高处坠落致全身多处伤 1 d+”于 2019 年 7 月 14 日入院。2019 年 7 月 13 日患者从 4 楼高处坠落, 当即昏迷伴右侧大腿活动性出血。送往当地医院时呈创伤失血性休克, 行紧急复苏抢救, 剖腹探查见腹膜后巨大血

\* 基金项目: 重庆市卫生和计划生育委员会 2015 年医学科研计划重点项目(2015ZDXM036)。

△ 通信作者, E-mail: luli80@163.com。

本文引用格式: 王金汇, 向江侠, 鲁力. 胆红素吸附治疗严重多发伤并发胆汁淤积性肝病 1 例[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(5): 762-764.