

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.12.030

❖ 短篇与个案 ❖

1 例 X 连锁隐性遗传鱼鳞病合并隐睾患儿家系的遗传学分析

林芳^{1,2}, 景亚玲^{1,2}, 张传英^{1,2}, 牟燕^{1,2}, 邓睿³, 唐丽萍^{1,2}, 宋桂芹⁴, 赵明才⁵, 刘晓芳^{1,2}

(遂宁市中心医院, 1. 产前诊断中心; 2. 生殖医学中心; 3. 儿外科, 四川 遂宁 629000; 4. 川北医学院基础医学与法医学研究所, 四川 南充 637000; 5. 遂宁市中心医院检验科, 四川 遂宁 629000)

【摘要】目的: 对 1 例 X 连锁隐性遗传鱼鳞病合并隐睾的患儿及其家系成员进行遗传学分析, 探讨其致病原因。**方法:** 对患儿及其家庭成员进行常规染色体 G 显带核型分析和低深度全基因组拷贝数变异测序分析 (CNV-seq)。**结果:** 染色体核型分析未见明显异常。CNV-seq 检测发现患儿及哥哥和母亲的 X 染色体 p22.33-p22.31 处缺失 5.28Mb 区域, 该片段包含 Xp22.31 recurrent region (includes STS) 全部。**结论:** 患儿 X 染色体拷贝数变异遗传自其母亲, Xp22.31 缺失是该患儿异常表型的遗传学病因。

【关键词】 鱼鳞病; 隐睾; 染色体 G 显带核型分析; 低深度全基因组测序

【中图分类号】 R758.52 **【文献标志码】** B

Genetic analysis of a child and his family with X-linked recessive ichthyosis complicated with cryptorchidism

LIN Fang^{1,2}, JING Ya-ling^{1,2}, ZHANG Chuan-ying^{1,2}, MU Yan^{1,2}, DENG Rui³, TANG Li-ping^{1,2}, SONG Gui-qin⁴, ZHAO Ming-cai⁵, LIU Xiao-fang^{1,2}

(1. Prenatal Diagnosis Center; 2. Reproductive Medicine Center; 3. Department of Pediatric Surgery, Suining Central Hospital, Suining 629000; 4. Institute of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000; 5. Department of Clinical Laboratory, Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To conduct genetic analysis on a case of X-linked recessive ichthyosis complicated with cryptorchidism and his family members, in order to identify the cause of the disease. **Methods:** Chromosome G-banding karyotype analysis and low-depth whole-genome copy number variation sequencing (CNV-seq) were performed in the patient and his family members. **Results:** The chromosome karyotype showed no specific abnormalities. CNV-seq found a deletion of 5.28Mb on the X chromosome p22.33-p22.31 of the patient, his brother, and mother, which contains all Xp22.31 current regions (including STS). **Conclusion:** The copy number variation of the X chromosome in the patient is inherited from his mother, and the deletion of Xp22.31 is the genetic cause of the abnormal phenotype in the patient.

【Key words】 Ichthyosis; Cryptorchidism; Chromosome G-banding karyotype analysis; Low-depth whole-genome copy number variation sequencing

鱼鳞病常见四肢伸侧或躯干部皮肤干燥、粗糙, 伴有菱形或多角鳞状脱屑, 多由遗传因素引起, 是一组以皮肤角化障碍为主的疾病^[1]。隐睾症是指胎儿时期睾丸不能按正常发育过程沿腹膜鞘突经腹股沟管迁移, 致使一侧或双侧睾丸不能下降到同侧阴囊内, 其病因可能与基因、激素合成与分泌、解剖以及环境因素等有关, 是男性生殖系统先天畸形中最常见的一种现象^[2]。由不同致病基因引起的鱼鳞病、隐睾症, 可伴有不同症状, 治疗方法和预后也不

一样^[3]。本研究拟采用染色体 G 显带核型分析和低深度全基因组拷贝数变异测序分析 (copy number variation sequencing, CNV-seq) 技术, 对 1 例鱼鳞病合并隐睾的患儿进行家系遗传学分析, 以明确导致患儿发育异常的可能原因。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患儿, 男性, 3 岁, 以“发现双侧阴囊内无睾丸 1

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目 (21ZDYF2124); 遂宁市中心医院科研项目 (2021y03)

作者简介: 林芳 (1985 -), 女, 博士, 副主任技师。E-mail: 282541952@qq.com

通讯作者: 刘晓芳 (1982 -), 博士。E-mail: 250549749@qq.com

年余”就诊。查体:身高92 cm,体重15 kg,神志清,精神好,心肺腹无异常,无特殊面容。双侧阴囊发育偏差,双侧阴囊空虚,其内未触及睾丸,在双侧腹股沟区扪及类似睾丸样包块,大小约为1.0 cm × 0.6 cm × 0.5 cm,表面光滑,活动度可,无触痛,不能下拉至阴囊内。右侧阴囊内可触及无痛性包块,透光实验(+),阴茎发育偏小。患儿全身皮肤干燥、弹性减退、粗糙,皮肤似鱼鳞样改变,但未治疗,期间常因感冒发烧、肺炎进行治疗。患儿足月剖宫产,第2胎2产,父母非近亲结婚,生后奶粉喂养,2月抬头,4月翻身,6月坐,9月站,1岁1月走,易感冒。性激素6项:促黄体激素0.06 mIU/mL(↓),雌二醇 < 10.0 pg/mL(↓),泌乳刺激素28.9 ng/mL(↑),睾酮0.15 nmol/L,孕酮 < 0.1 ng/mL,促卵泡激素0.1 mIU/mL(↓)。患儿B超提示双侧睾丸位置偏高,右侧鞘膜积液。家中哥哥、舅舅及表舅也有类似皮肤和隐睾等症状,据此绘制系谱图。见图1。

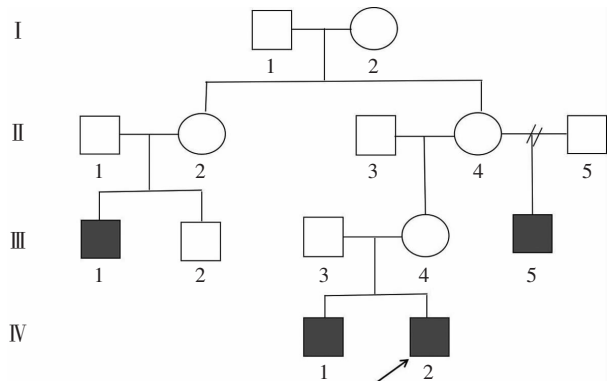


图1 患者系谱图

1.2 染色体G显带核型分析

对患儿及其家庭成员的外周血进行培养,收获和胰酶G显带,核型图像经蔡司全自动染色体扫描分析系统扫描和采集,每张玻片采集50个核型。每个标本至少分析8个核型和计数30个中期分裂相。染色体的分析和命名参考《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN 2020)》^[4]。

1.3 CNV-seq 检测分析

采用天根生化科技(北京)有限公司生产的试剂盒提取患儿及其家庭成员的外周血全基因组DNA。使用Qubit3.0荧光定量仪(thermo fisher scientific)和Exkubit dsDNA HS分析试剂盒对提取的DNA浓度进行定量。应用北京贝瑞和康生物技术有限公司生产的“科诺安”(CNV-Seq)试剂盒,进行测序文库构建。使用Stepone Plus实时荧光定量PCR仪(thermo fisher scientific)和KAPA Library Kit (Illumina) Universal qPCR Mix (Roche)试剂盒进行文库定量。定量后通过NextSeq CN 500高通量测序

仪完成测序(0.1 X),测序所得的Reads通过BWA软件与人类参考hg19基因组进行对比分析,其检测CNV的分辨率约为>100 kb的拷贝数变异。参考ACMG评级指南^[5],将测序所得CNVs数据与DGV、OMIM、DECIPHER、ClinGen、UCSC、gnomAD数据库等进行比对,分析检测结果中CNVs的临床意义。

2 结果

2.1 染色体核型分析

患儿及其父母和哥哥外周血细胞G显带核型分析均未见X染色体短臂明显异常。见图2。

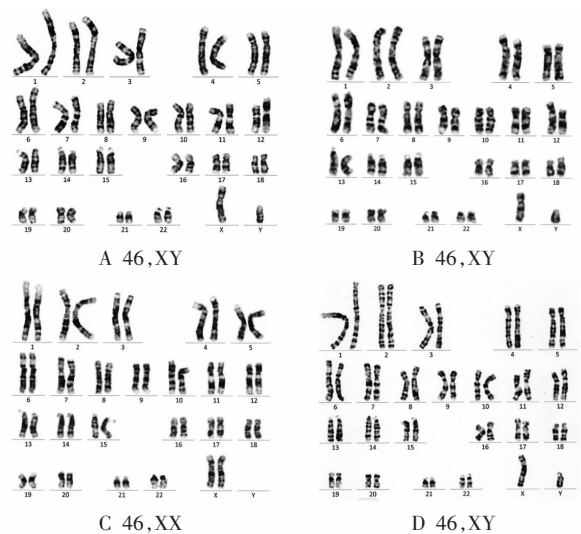


图2 患儿家系核型分析结果

A. 患者核型;B. 患者哥哥核型;C. 患者母亲核型;D. 患者父亲核型。

2.2 染色体拷贝数变异检测

患儿及其哥哥的CNV-seq检测结果为Xp22.33p22.31(4140000-9440000) * 0,缺失片段为5.3 Mb,共缺失11个OMIM基因(ANOS1、FAM9A、FAM9B、NLGN4X、PNPL4A、PUDP、STS、VCX、VCX2、VCX3A和VCX3B)。经查询ClinGen数据库资源,该片段包含Xp22.31 recurrent region (includes STS) (ISCA ID: ISCA-37417)全部。有充分证据(haploinsufficiency score:3)表明该区域单倍剂量不足的患者临床表现出Ichthyosis, X-linked (XLI) (OMIM: 308100)的临床表型。XLI是一种表皮脂类代谢异常疾病,X连锁隐性遗传,又称为X染色体连锁鱼鳞癣,几乎全部见于男性患者,出生时或出生后发病,主要临床表征为四肢、面部、颈部、躯干、臀部常见大面积的鳞屑,以颈部、面部、躯干受累最严重,皮损持续存在且不随年龄而改善,部分患者并发角膜混浊、支气管哮喘、过敏性鼻炎等,部分女性携带者有轻度鳞屑出现在臂及胫前,CNV评级为致病性。患儿母亲CNV结果为Xp22.33p22.31(4140000-

9440000) * 1, 提示其染色体 Xp22.33p22.31 区存在 5.3 Mb 的杂合缺失。患儿父亲 CNV 未见异常。见图 3。

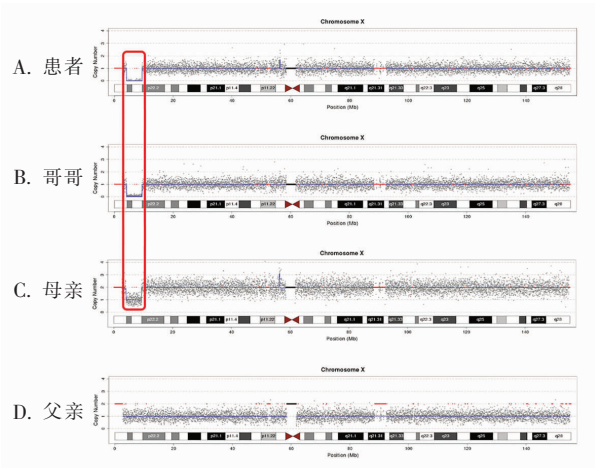


图 3 患者家系 CNV-seq 检测结果图

A-B. 患者及哥哥, CNV-seq 检测结果均提示 Xp22.33p22.31 (4140000-9440000)*0, 患者及哥哥 Xp22.33p22.31 缺失 5.3 Mb; C. 患者母亲, CNV-seq 检测结果提示 Xp22.33p22.31 (4140000-9440000)*1, 患者母亲 Xp22.33p22.31 杂合缺失 5.3 Mb; D. 患者父亲, CNV-seq 检测结果未见异常。红色框线表示异常 CNVs。

3 讨论

本研究中患者因隐睾就诊于本院小儿外科, 通过查体同时发现该患儿皮肤干燥, 伴有鱼鳞状改变, 遂充分利用多学科诊疗模式 (multi-disciplinary treatment, MDT) 优势, 积极为患儿寻找“隐睾”的遗传学病因。家系调查时发现, 该家系中, 患儿哥哥、舅舅和表舅均有相似隐睾及皮肤表现, 但未到皮肤科进行规范诊断及治疗, 因此高度怀疑 X-连锁鱼鳞病 (X-linked ichthyosis, XLI) 可能。研究^[6]提示, CNV-Seq 技术能够可靠地检出 XLI 缺失型变异, 是 XLI 的诊断的新途径。因此遗传咨询医师建议对患儿一家同时行外周血 G 显带核型分析和家系 CNV-seq 检测。但由于某些原因未能采集到患儿舅舅和表舅血样进行检测。遗传学检测结果显示, 该家系成员染色体核型分析未见明显异常, 家系 CNV-seq 提示患儿及其哥哥 X 染色体 p22.33-p22.31 处缺失 5.3 Mb 区域, 共缺失 11 个 OMIM 基因 (ANOS1、FAM9A、FAM9B、NLGN4X、PNPL4A、PUDP、STS、VCX、VCX2、VCX3A 和 VCX3B)。经查询 ClinGen 数据库资源, 该片段包含 Xp22.31 recurrent region (includes STS) (ISCA ID: ISCA-37417) 全部, 有充分证据 (haploinsufficiency score: 3) 表明该区域单倍剂量不足的患者临床表现出 Ichthyosis, X-linked (XLI) (OMIM: 308100) 的临床表型, 患儿母亲 CNV 结果为 Xp22.33p22.31 区域同样存在 5.3 Mb 的拷贝数缺失, 提示患儿及哥哥该片段的缺失来源于携带者母亲。

鱼鳞病是一种皮肤干燥伴鱼鳞状鳞屑, 主要累及四肢伸侧或躯干部为特征的遗传性角化障碍性皮肤病。分为常染色体显性遗传性鱼鳞病 (包括寻常性鱼鳞病、表皮松解性角化过度鱼鳞病)、X-连锁鱼鳞病 (X-linked ichthyosis, XLI) 及常染色体隐性遗传鱼鳞病 (包括板层状鱼鳞病和非大疱性先天性鱼鳞病样红皮病^[7])。XLI 是其中重要的一型, 主要累及男性患者, 女性仅为携带者, 男性 XLI 发病率为 1/1300 ~ 1/1500^[8]。男性病人一般在出生或出生后不久发病, 以四肢伸侧及躯干侧、颈、面、耳等部位受累, 出现全身皮肤干燥、粗糙、黑褐色的鳞屑。1978 年 Shapiro 等^[9]首先发现 X 连锁隐性遗传鱼鳞病患者成纤维细胞类固醇硫酸酯酶 (steroid sulfatase, STS), 证实 STS 基因是其致病基因。STS 基因位于全长 164 kb 的 Xp22.31 区域, 包含 10 个外显子和 2 个非编码区, 其侧翼序列多为低拷贝重复结构, 容易造成同源重组时的缺失^[10]。在正常角质层中, STS 是一种微粒体酶, 能将胆固醇硫酸盐分解为胆固醇和硫酸盐, 这一过程对表皮细胞的粘附及正常脱落起重要作用, XLI 患者缺乏 STS 基因, 角质层中胆固醇硫酸盐积聚, 过多的胆固醇硫酸盐堆积使表皮细胞间的黏附性增加, 稳定性增强, 导致皮肤角化过度, 形成鳞屑^[11]。XLI 病例中约 90% 为包括 STS 基因在内的 Xp22.31 片段缺失型, 少数为小片段缺失和点突变^[12]。

隐睾症是另一种皮肤外症状, 发生在大约 20% 的 XLI 患者中。XLI 患者患与睾丸疾病无关的睾丸生殖细胞瘤的风险也增加。目前尚不清楚 XLI 患者隐睾症风险增加是由于 STS 缺陷还是与睾丸下降有关的 X 染色体附近基因的同时突变所致, 患者的睾丸激素水平、性发育和生育力一般正常^[13]。

本家系中除 STS 基因缺失外, 还有 10 个 OMIM 基因的缺失。研究^[14-16]表明, 约 8% 的 STS 基因缺失患者伴随相邻基因缺失, 由此可导致更加复杂的表型, 如发育异常、智力障碍、角膜混浊、支气管哮喘、过敏性鼻炎和室间隔缺损等。本研究的患者及其哥哥和舅舅, 仅表现鱼鳞病和隐睾, 未发现其他临床症状。

综上, 按分子检测结果和相关专家共识^[17]对患者行双侧睾丸下降固定术及右侧鞘状突高位结扎术; 取鞘状突组织送病检, 结果提示“右侧鞘状突”纤维组织增生。术后彩超复查提示, 睾丸位于阴囊内, 双侧腹股沟管稍增宽, 患儿术后恢复好。皮肤行保湿治疗。根据遗传学检测结果, 遗传咨询医师告知患儿双亲, 在女性携带者与正常人婚配的后代中, 由于 X 连锁隐性遗传的特性, 男性后代 50% 的概率

为鱼鳞病患者,建议该家系的女性携带者在将来生育时,应按规范进行产前诊断。

参考文献

- [1] 刘莉娜,夏俊珂,焦智慧,等. CNV-seq 意外发现 DMD 基因部分重复的不致病胎儿家系分析及遗传咨询[J]. 中华妇产科杂志,2021,56(1):64-68.
- [2] 鲍俏,张文. 小儿隐睾的诊断标准与治疗方案[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(23):1847-1848.
- [3] 李乐乐,巩纯秀. 隐睾症相关基因的研究进展[J]. 临床小儿外科杂志,2021,20(10):990-995.
- [4] 王昊.《人类细胞基因组学国际命名体系(ISCN₂₀₂₀)》更新内容的介绍与解读[J]. 中华医学遗传学杂志,2021,38(12):1165-1170.
- [5] Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, *et al.* Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) [J]. *Genetics in Medicine*, 2020, 22(2):245-257.
- [6] 白周现,陈晨,苏利沙,等. 低深度全基因组测序拷贝数变异检测技术对缺失型X连锁鱼鳞病的检测效力及意义的分析研究[J]. 中华皮肤科杂志,2019,52(10):736-742.
- [7] 孙秀坤,朱学骏. 先天性鱼鳞病致病基因的研究[J]. 临床皮肤科杂志,2003,32(11):690-692.
- [8] Craig WY, Roberson M, Palomaki GE, *et al.* Prevalence of steroid sulfatase deficiency in California according to race and ethnicity [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2010, 30(9):893-898.
- [9] Shapiro LJ, Weiss R, Buxman MM, *et al.* Enzymatic basis of typical X-linked ichthyosis [J]. *Lancet*, 1978, 2(8093):756-757.
- [10] 黄际卫,唐宁,李伍高,等. 1个X连锁鱼鳞病家系的基因突变鉴定与产前诊断[J]. 中国当代儿科杂志,2016,18(11):1136-1140.
- [11] Elias PM, Crumrine D, Rassner U, *et al.* Basis for abnormal desquamation and permeability barrier dysfunction in RXLI [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2004, 122(2):314-319.
- [12] Cañueto J, Ciria S, Hernández-Martín A, *et al.* Analysis of the STS gene in 40 patients with recessive X-linked ichthyosis: a high frequency of partial deletions in a Spanish population [J]. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 2010, 24(10):1226-1229.
- [13] Fernandes NF, Janniger CK, Schwartz RA. X-linked ichthyosis: an oculocutaneous genodermatosis [J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2010, 62(3):480-485.
- [14] 徐两蒲,张敏,黄海龙,等. X-性连锁鱼鳞病两家系基因检测及产前诊断[J]. 中华围产医学杂志,2018,21(5):293-300.
- [15] 刘松常,穆震,孙颖. 伴室间隔缺损、隐睾的性联鱼鳞病一例[J]. 中华皮肤科杂志,2007,40(4):248-249.
- [16] 张阳,许可,孙旭光,等. STS 基因突变致鱼鳞病合并角膜后弹力层前营养不良一例 [J]. 中华眼科杂志, 2019, 55(12):946-949.
- [17] 中华医学会小儿外科学分会泌尿外科学组. 隐睾诊疗专家共识 [J]. 中华小儿外科杂志, 2018, 39(7):484-487.

(收稿日期:2023-06-10

修回日期:2023-07-22)