

荧光原位杂交技术检测河南地区 472 例尿道下裂患儿的分析

李娴¹ 李瑞¹ 王超杰¹

[摘要] 目的:分析 472 例尿道下裂患儿性染色体及 SRY 基因检测,探讨其与尿道下裂的遗传学效应。方法:采用荧光原位杂交(FISH)技术,检测患儿的性染色体和 SRY 基因[CSP X/CSP Y 染色体着丝粒特异性探针及 SRY(Yp11.2)/Yqh(DYZ1)基因探针]。结果:受检的 472 例患儿中,6 例患儿出现异常,异常检出率为 1.27%。结论:FISH 技术对尿道下裂患儿潜在的基因异常有一定的诊断价值,对于结果有异常的患儿应再进行染色体核型分析及染色体微阵列技术检测。

[关键词] 尿道下裂;FISH 技术;儿童

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2019.12.016

[中图分类号] R726.9 **[文献标志码]** A

Analysis of 472 children with hypospadias in Henan province by FISH

LI Xian LI Rui WANG Chaojie

(Institute of Pediatrics, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, 4450018, China)

Corresponding author: LI Xian, E-mail: lixian220@163.com

Abstract Objective: To analyse sex chromosomes and SRY gene in 472 children with hypospadias and their genetic effects on hypospadias. **Method:** Fluorescence in situ hybridization (FISH) was used to detect the sex chromosome and SRY gene, CSP X/CSP Y chromosome centromere-specific probe and SRY (Yp11.2)/Yqh (DYZ1) gene probe. **Result:** Of the 472 children examined, 6 were abnormal and the abnormal detection rate was 1.27%. **Conclusion:** The FISH technique has a certain diagnostic value for the potential genetic abnormalities of children with hypospadias. For those with abnormal results, chromosome karyotype analysis and chromosome microarray technology should be performed later.

Key words hypospadias; FISH technology; children

尿道下裂是一种常见的小儿尿道开口位置异常的先天性泌尿生殖系统畸形,尿道下裂既可以是单纯性疾病,也可能是其他性发育异常疾病的一种表型,环境因素和遗传因素均可导致^[1,2]。近年来流行病学的研究表明尿道下裂的发生率在国内外均呈持续增加的趋势,遗传因素与尿道下裂发生率的增加密切相关^[3]。有学者研究发现尿道下裂染色体异常中性染色体异常占绝大多数^[4,5],为了解尿道下裂与性染色体和 SRY 基因的关系,我们回顾性分析了 472 例患儿的性染色体和 SRY 基因检测结果,为临床治疗提供遗传学参考依据。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析 2015 年 1 月~2017 年 11 月在我院外科门诊和泌尿外科就诊的 472 例尿道下裂患儿的病例资料,年龄 2 d~5 岁,所有患儿家长均在知情同意的情况下按无菌要求采集患儿外周血 3 ml,肝素抗凝。经腹部 B 超检查所有患儿均

排除肾上腺性征综合征。

1.2 方法

采用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术, CSP X/CSP Y 染色体着丝粒特异性探针及 SRY(Yp11.2)/Yqh(DYZ1)基因探针购自英国 Cyto cell 公司。CSP X 探针镜下显示绿色荧光信号, CSP Y 探针镜下显示红色荧光信号。Yqh(DYZ1)探针镜下显示绿色荧光信号, SRY(Yp11.2)探针镜下显示红色荧光信号。常规方法制片后,按照试剂盒提供的 FISH 操作说明书操作,杂交后的标本在 Olympus Bx51 荧光显微镜下观察杂交信号,每份标本分析 200 个细胞,不计数重叠细胞。对检测出异常的患儿通知其重新采血,采用染色体核型分析 G 显带分析其染色体。

2 结果

健康男性儿童性染色体为 XY, 荧光显微镜下信号为 1 红 1 绿; SRY 基因阳性, 荧光显微镜下信号为 1 红 1 绿。472 例尿道下裂患儿中检出 6 例性染色体和 SRY 基因异常, 异常比例为 1.27%。6 例患儿经染色体核型分析 G 显带检测有 1 例克氏综合征, 1 例超雄综合征, 1 例性反转综合征, 1 例男性特纳氏综合征和 2 例嵌合体。其 FISH 检测

¹ 郑州大学附属儿童医院 河南省儿童医院 郑州儿童医院 儿科研究所(郑州, 450018)

通信作者: 李娴, E-mail: lixian220@163.com

结果如下:1 例克氏综合征其性染色体为 XXY,性染色体探针镜下信号呈现 2 绿 1 红,SRY 基因阳性(图 1A、B);1 例超雄综合征其性染色体为 XYY,性染色体探针镜下信号呈现 2 红 1 绿,SRY 基因阳性,SRY 镜下信号呈现 2 红 2 绿(图 1C、D);1 例性反转综合征其性染色体为 XX,SRY 基

因阳性,SRY 镜下信号呈现 1 红(图 1E、F);1 例男性特纳氏综合征其性染色体为 X,SRY 基因阴性(图 1G、H);1 例嵌合体其性染色体为 XYY/XY,SRY 基因阳性,SRY 镜下信号部分呈现两红两绿(图 1I、J);另外 1 例嵌合体其性染色体为 XY/XXY,SRY 基因阳性(图 1K、L)。

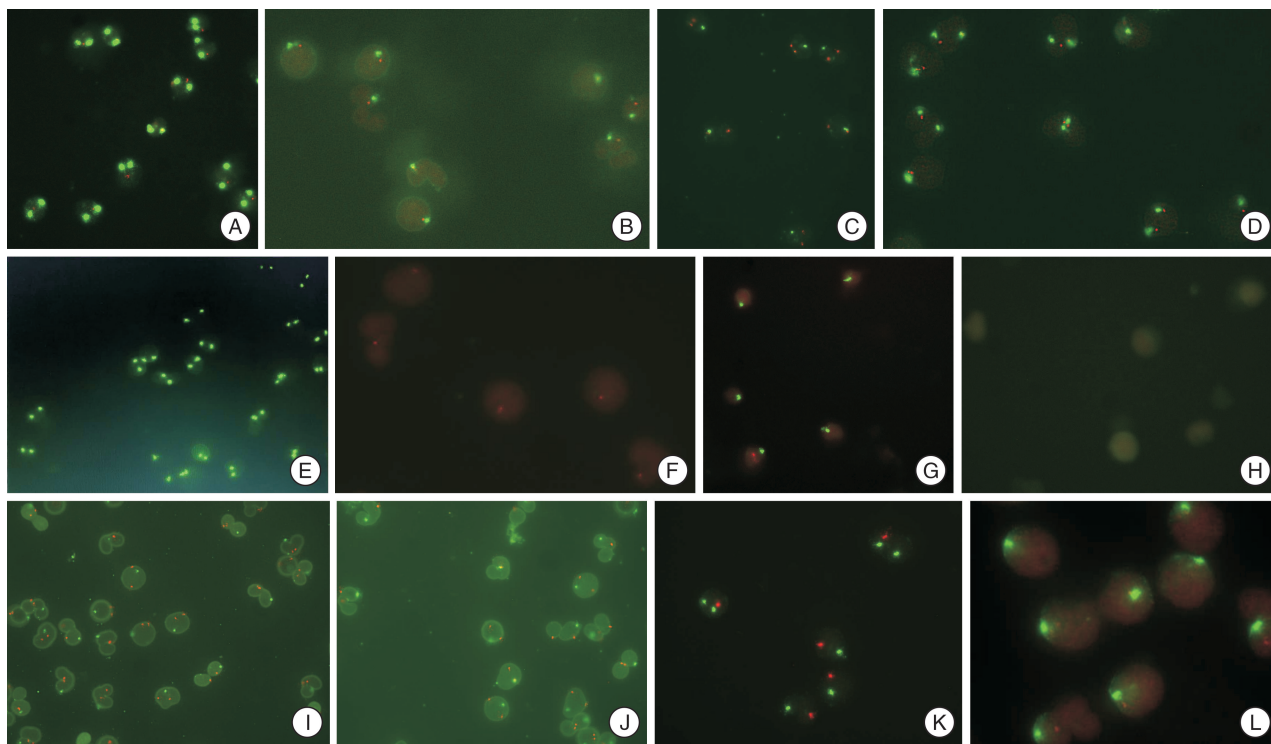


图 1 FISH 技术检测尿道下裂患儿的异常图片

3 讨论

尿道下裂是小儿泌尿外科的常见病,发病机制复杂,病因尚不清楚。梁伟强等^[6]研究发现尿道下裂患儿中性染色体数目或结构异常占据大多数。FISH 技术是 20 世纪 80 年代末在已有放射性原位杂交技术基础上发展起来的一种非放射性分子细胞遗传学技术,具有快速、安全、灵敏度高以及探针可长期保存等特点,现已广泛应用于临床诊断领域。传统细胞培养、核型分析需大量人力,耗时较长,且操作技术要求高,采用 FISH 技术能在 24 h 内快速诊断出性染色体和 SRY 基因的异常,能够满足临床需求。我们检测了 472 例尿道下裂患儿,有 6 例(1.27%)性染色体和 SRY 基因异常。有学者报道尿道下裂患儿的染色体异常率为 5.5%^[7],分析其原因可能是采用 G 显带分析患儿 46 条染色体;我们采用 FISH 方法检测性染色体,会漏掉一些常染色体异常的患儿,因此异常率低于报道。

6 例异常患儿我们又重新采血并采用染色体核型分析 G 显带检测其染色体,均无结构异常。6 例患儿中有 1 例克氏综合征,1 例超雄综合征、1 例

性反转综合征、1 例男性特纳氏综合征和 2 例嵌合体,提示可能由于性染色体的数目或结构异常,导致激素分泌不足,容易引起尿道下裂。这与吴坚柱等^[4]研究结果相符。因此采用 FISH 技术快速筛查患儿的性染色体和 SRY 基因可对尿道下裂的诊断和临床治疗提供重要的遗传学依据。

SRY 是 Y 染色体上的性别决定基因,它是性别分化的起始基因,与性腺的发育密切相关,可能与尿道下裂发生有关。它决定受精卵的生殖腺发育成睾丸,睾丸分泌雄性激素才有可能促进男性外生殖器的进一步发育。6 例性染色体异常患儿,有 2 例 Y 染色体多了 1 条,因此 SRY 基因检测的信号也出现 2 红 2 绿,和其性染色体结果相符。近年来研究认为有 90% 的 XX 男性由载有 SRY 基因的 Y 染色体区段易位到 X 或常染色体上引起^[8]。我们发现 1 例性反转综合征,该患儿 SRY (Yp11.2)/Yqh(DYZ1)探针检测表明有 SRY 基因存在,Yqh 缺失,推测其 SRY 基因易位到其他染色体,验证了其观点。46,XX 男性性反转患儿虽然表现出男性表型,但存在尿道下裂,提示其可能与雄

激素分泌不足有关。我们研究发现 1 例男性特纳氏综合征伴随尿道下裂,目前男性特纳氏综合征发病机制不明。参与性别分化的基因有很多,如 SRY、SOX9、WT-1、SRD5A2、AR、MAMLD1 和 MID1 等^[9]。也验证尿道下裂是基因与环境相互作用的复杂机制所引起。

染色体微阵列比较基因组杂交技术(chromosome microarray analysis,CMA)是近年来发展较快的基因芯片检测技术,它可以检测常见的染色体病,还能检测常规细胞遗传学不能检测到的微缺失或微重复,可以有效提高普通染色体分析的异常检出率^[10]。传统的核型分析技术和 FISH,可以检测大片的染色体缺失/重复,二者的分辨率介于 500 kb~5 Mb,而 CMA 分辨率可达 100 kb。但是 CMA 技术需要较昂贵的机器和较高水平的技术人员,基因变异的报告解读^[11],不能检测低比率的嵌合体等,因此临床上需要结合多种检测技术来研究疾病的发病机制^[12]。我们建议尿道下裂患儿采用 FISH 技术进行性染色体和 SRY 基因检测,对有异常的患儿再进一步查染色体微阵列,为进一步诊治提供依据,也有利于开展遗传咨询,做好优生优育,降低尿道下裂的发病率。

[参考文献]

- 1 Joodi M, Amerizadeh F, Hassanian S M, et al. The genetic factors contributing to hypospadias and their clinical utility in its diagnosis[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 5519—5523.
 - 2 舒林飞,唐开发,肖跃海,等. 环境因素与尿道下裂易感性研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志, 2017, 32(4): 315—318.
 - 3 Marrocco G, Grammatico P, Vallasciani S, et al. Environmental, parental and gestational factors that influence the occurrence of hypospadias in male patients[J]. J Pediatr Urol, 2015, 11(1): 12—19.
 - 4 吴坚柱,谢英俊,陈涌珍,等. 85 例尿道下裂患儿的染色体核型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2016, 33(1): 117—118.
 - 5 祖建成,雍江,胡建军,等. 尿道下裂患儿染色体及核型分析[J]. 临床小儿外科杂志, 2017, 16(6): 580—582.
 - 6 梁伟强,张金明,潘淑娟,等. 218 例尿道下裂的染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(8): 37—39.
 - 7 吕拥芬,李嫔,朱志颖,等. 122 例尿道下裂男性患儿临床表现型与染色体核型关系分析[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2013, 33(2): 181—183.
 - 8 张兰雪,赵向宇,李琳. SRY 阴性 46, XX 男性性反转综合征研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(1): 125—127.
 - 9 孙清,叶辉,吴建新. 男性尿道下裂相关基因研究进展[J]. 北京医学, 2015, 37(10): 990—992.
 - 10 胡婷,张竹,王嘉敏,等. 染色体微阵列分析在染色体核型分析无法明确诊断病例中的应用价值[J]. 四川大学学报(医学版), 2017, 48(3): 460—463, 475.
 - 11 中国医师协会医学遗传学分会, 中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组, 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 染色体基因组芯片在儿科遗传病的临床应用专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(6): 410—413.
 - 12 刘毅东,吴旻,叶惟靖,等. 高通量基因测序调查尿道下裂患者雄激素作用相关基因甲基化研究[J]. 中国男科学杂志, 2019, 33(1): 18—21, 31.
- (收稿日期: 2018-04-18)
-
- (上接第 989 页)
- 11 Wilson M. Causes and management of indwelling urinary catheter-related pain[J]. Br J Nurs, 2008, 17(4): 232—239.
 - 12 Safavi M, Honarmand A, Atari M, et al. An evaluation of the efficacy of different doses of ketamine for treatment of catheter-related bladder discomfort in patients underwent urologic surgery: A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind study[J]. Urol Ann, 2014, 6(1): 51—56.
 - 13 黄建华,彭波,刘敏,等. 经尿道双极等离子前列腺切除术治疗 BPH 继发 OAB 的疗效观察[J]. 临床泌尿外科杂志, 2017, 32(1): 51—53.
 - 14 邢增术,肖亚军,梁培育,等. 坦索罗辛联合索利那新治疗 BPH 伴膀胱过度活动症的临床观察[J]. 临床泌尿外科杂志, 2012, 27(2): 133—135.
 - 15 Verma R, Agarwal A, Singh P K, et al. Evaluation of efficacy of amikacin for attenuation of catheter-related bladder discomfort in patients undergoing percutaneous nephrolithotomy: A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind study[J]. Anesth Essays Res, 2016, 10(3): 613—617.
 - 16 Srivastava V K, Nigam R, Agrawal S, et al. Evaluation of the efficacy of solifenacin and darifenacin for prevention of catheter-related bladder discomfort: a prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind study[J]. Minerva Anesthesiol, 2016, 82(8): 867—873.
 - 17 杨宇,谢辉,郑建建,等. $\alpha 1$ 肾上腺素能受体亚型在慢性前列腺炎前列腺、后尿道及膀胱逼尿肌组织中的分布及其意义[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(46): 3268—3271.
 - 18 吴阶平. 吴阶平泌尿外科学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 118—118.
- (收稿日期: 2018-10-31)