

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

題目(中)：透納氏症之分子遺傳學研究：著重於染色體Y成分存在之角色

(英)：Molecular genetics of Turner syndrome with emphasis on the role of existence of chromosomal Y component

計畫編號：NSC 87-2314-B-002-173

執行期限：86年8月1日至87年7月31日

主持人：侯家瑋 執行機構及單位名稱：台大醫學院小兒科

## 一、中文摘要

大多數的透納氏症病人只有一個正常功能的X染色體，另一個X染色體可能早已逸失，缺損或以拼湊型式存在。吾等以傳統細胞遺傳學分析102名透納氏症病人，其中52名之核型為純45,X(51%)，其餘則表現出X染色體構造異常(拼湊型或非拼湊型同染色體Xq，環形X染色體，X長臂缺失，X短臂缺失及存在額外染色體標誌)(17%)，及拼湊型單X染色體症/合併XY核型細胞(32%)。為探討帶有純45,X核型透納氏症病人為何存在程度不同的表現型，吾等以聚合鏈反應分析DNA(以人類雄激素接受器基因序列引子)，結果發現仍有15%(6/40)出現低比率的46,XX拼湊型，但無法發現有Y染色體成分(以Y一特異基因序列引子)。經由螢光性原位雜交法分析，帶有標誌染色體的9個病例中，有5名源於Y染色體(56%)。核型及表現型關聯分析發現帶有Y來源標誌之染色體者及各式不同比率的46,XX/46,XY拼湊型者之相對較高身長及不會發生先天性心臟血管疾病(尤其是帶有Y基因者)。然而經剖腹檢查仍有一個45,X/46,XY病例已出現生殖腺母細胞瘤。

**關鍵詞：**透納氏症、染色體Y、生殖腺母細胞瘤

## Abstract

Most patients with Turner syndrome (TS) have only one normal functioning X chromosome; the other is either missing, deleted, or present in the mosaic form. Conventional cytogenetic studies in 102 TS

patients have showed that 51% have the karyotype 45,X, whereas the rest have structural aberrations of the X chromosome (ie, mosaic/non-mosaic, isoXq, r(X), Xp-, Xq-, +marker of unknown origin) (17%), or mosaicism with a second (even a third) cell line containing a structurally normal X or Y chromosome (32%). To study the possible role of cryptic mosaicism in phenotypical variation of 45,X TS, we analysed low-level mosaicism by methods based on the polymerase chain reaction (PCR) by HUMURA assay. A further finding was the detection of a frequency of 16% (9/56) mosaicism with 46,XX in TS girls who by cytogenetic analysis were thought to have a pure 45,X karyotype. No Y component could be detected in those patients. DNA (PCR) and FISH (fluorescence in situ, hybridization) analysis were carried out in 9 cases with chromosome markers. Five of them showed positive signal of PYZ3 (Y centromere) and/or DYZ1 (Yqh). Karyotype-phenotype study showed relatively higher height and no cardiovascular disorders in TS patients with Y component or with mosaic 46,XY/46,XX cell line. However, a case with 45,X/46,XY has developed gonadoblastoma after laparotomy and excision of the residual gonadal tumors in those TS patients with Y component.

**Keywords:** Turner Syndrome, Chromosome Y, Gonadoblastoma

## 二、計畫緣由與目的

透納氏症首先被描述於1938年，主要症狀包括身材矮小及生殖腺發育不良，另

外還有大動脈狹窄、腎畸形、蹼狀頸及手足淋巴水腫。即使在相同核型(即45,X)情況下,病人之表現型仍有相當大歧異。透納氏症是一種常見的人類染色體異常症,發生率在女嬰約為1/1500至1/2500(實際上98%以上已流產掉了)。由於透納氏症乃一相當常見的疾病,但其變化多端的外表(包括多重畸形與智障),使吾等之診斷及遺傳諮詢相當困難,雖然目前有幾種理論解釋,包括隱藏性的拼湊症,基因或基因組印記現象(imprinting)或異常的X染色體去活化現象,仍不足以解釋此疾病之致病機轉。根據以往研究統計,大約70-80%透納氏症病人留下母親的一個X染色體,且理論上35-40%病例可能有隱藏性的Y染色體拼湊症,此Y物質的存在可導致高至30%的生殖腺衍生出生殖母細胞瘤。目前如果在傳統細胞遺傳學檢查發現有Y染色體,吾等通常會建議做剖腹檢查作生殖腺摘除;然而在異常結構的Y或僅有Y片段之情況下,是否要做如此侵襲性的處理的確是難處。由於上述理由-染色體核型、基因型-表現型之歧異性,吾等亟思利用polymerase chain reaction (PCR)分析, Southern blot法,並結合傳統的染色體分析及螢光原位雜交法(FISH)來探索透納氏症之:一、性染色體拼湊症之真實情形,二、X染色體構造異常對表現型的影響,三、探索透納氏基因在含有Y成份或Y染色體之拼湊型病例。吾等將以血液、生殖腺或其腫瘤細胞,或其他組織之檢體去找出易導致腫瘤之危險區域(亦即生殖母細胞瘤基座)。

本計劃之病人來源為具有透納氏症徵象之病人,在經過初步的臨床評估及內分泌學檢查後,血液先做染色體檢查,若有結構異常的染色體或染色體片段則用FISH方法來決定它的性質及來源,另外參照Y染色體基因圖譜上的DNA序列以PCR方法來篩檢Y之拼湊程度,最後以相關的GBY (gonadoblastoma locus on the Y chromosome) 例如 TSPY (testis-specific protein, Y-encoded) or YRRM (Y chromosome RNA recognition motif) 於腫瘤細胞做基因表現研究。

### 三、結果

共有102名病人經由臨床評估及超音波診斷為透納氏症(Turner syndrome),並做染色體核型分析,結果如下:

分類	核型	數目(%)
完全	45,X	52 (51%)
拼湊型	45,X/46,XX	30
	45,X/46,XX/47,XXX	2
	45,X/46,XY	1
性染色體構造異常(包括標誌染色體)	45,X/46,X,iXq	3
	46,X,iXq	1
	46,X,r(X)	1
	46,X,Xp-	2
	46,X,Xq-	1
	45,X/46,X,+mar	9

經由PCR分析40名45,X TS病人,(HUMARA assay),結果6名(15%)顯示仍有低頻率的46,XX拼湊型存在。而以ZFY, SRY, TSPY YRRM為引子之PCR分析並無法偵測出Y染色體成份。而以FISH(DXZ1及DYZ1/DYZ3探針)發現5/9之標誌染色體源於Y。並無iXp存在。

經由核型-表現型關聯分析,吾等發現一、完全45,X核型多呈現典型的TS表徵,合併的器官畸形及身材矮小也較明顯,二、拼湊型TS的表現型與正常細胞比例,X染色體缺損範圍大小有相關,三、構造異常者,除了iXq外,TS表徵較緩和,四、帶有iXq或Y染色體成份者均無先天性心臟病之發生,有相對較高的身材,但出現男性化的人格氣質(較具攻擊性,陰蒂肥大),五、帶有X標誌染色體者(4/9)中,2名不含Xist(另外之研究計畫成果)者出現輕度智障及腦波異常,另外一名45,X/46,XY病人,即有完整的Y染色體者(生殖腺細胞核型亦然)已出現生殖腺母細胞瘤,與同年齡病人來說,發病較早。

### 四、討論

透納氏症(Turner syndrome, TS)是小兒科常見的染色體異常疾病。約有99%的TS受精卵呈現45,X核型,但是大多在胚胎時期即自然流產掉,只有不到2%可存活

至生產，即使如此，TS在活產女嬰的比率仍達1/1500至1/2500。由於45,X的高流產率，似乎拼湊型(mosaicism)的存在對胚胎的發展及存活占有重要的角色。吾等使用HUMURA assay發現有15%是拼湊型。除此之外染色體X獨特的去活化現象亦會影響TS之表現型，吾等在其他計畫已探討此特殊的遺傳現象。

透納氏症之拼湊型分析由四個因素決定：1. 所分析組織之型式及數目，2. 分析細胞之數目，3. 使用方法之敏感度，4. 可能的自然選擇作用造成某種細胞系消失。傳統細胞遺傳學方法可偵測出部分拼湊型，但需要較多的細胞數目，較費時費力。目前分子遺傳學的加入及應用，例如FISH或PCR已大大幫助一些低頻率的細胞系或可能的結構異常的研究，例如利用HUMURA assay 即使只有很低的45,X/46,XX，也因第二個X有更佳效率增幅，此基因也接近中心體，在缺失的X染色體中仍有很大機會保留著，所以細微的拼湊型亦可偵測出。另外含有Y-DNA cell line的拼湊型TS病人具有兩種危險性：(1)Y誘發之生殖腺母細胞瘤 (2)Y導致之非特異性男性化，如陰蒂肥大。若有第一種情況吾等通常建議做剖腹檢查、腹腔鏡、或甚至預防性的生殖腺切除。

生殖腺母細胞瘤(GB)及男性化常發生於具有腹腔內睪丸組織之病人，尤其是帶有Y-特異性DNA之透納氏症病人。雖然真正的GB基因(GBY gene)仍未被找出，但經由deletion mapping之努力已知它位於Yq上接近中心小體的地方。將來吾等可利用reverse-transcription (RT)-PCR可在不同組織(腫瘤與非腫瘤細胞)偵測GBY critical region (GBYCR)的基因表現，以探討這些基因的multiple copies copy number及其sequence變異的意義，不同的transcripts表現，untranscribed elements的出現，甚至其它在GBY CR內尚未鑑定出的基因。

經由上述的臨床評估及遺傳學方法，由核型及表現型研究，對Turner基因之找尋更有幫助，有關TS之核型與先天性心臟病的關係發現具有isoX或mosaicism with Y

component較不會有心臟血管畸形發生。因此TS之表現型並非因整個X染色體缺失，可能是某些基因只有半套或三套劑量而造成。由於在TS病人中，純iXp並不存在，顯示帶有此種核型的細胞因缺少X去活化中心，造成過多活性基因干擾正常生理功能導致胚胎不能存活。

## 五、計畫成果自評

(一)對於學術研究、國家發展及其他應用方面貢獻：

1. 早期診斷出具有生殖母細胞瘤危險性之TS病例，以早日給予建議及適當的處理，在臨床上具有預防重於治療之效果。
2. 釐清TS之genotype-phenotype關係，以利遺傳諮詢(包括產前診斷之病例)，並落實國家優生保健政策。
3. 對Y染色體上之基因有更進一步的了解。
4. 對X染色體上之Turner gene(s)有更進一步的了解。

(二)對於參與研究者預期可獲之訓練：

1. 結合傳統與分子細胞遺傳學之研究方法。
2. 對可能致病基因之探索與界定之分子遺傳學研究方法。

(三)將來需補足處：

1. 收集更多腫瘤或殘留生殖腺細胞以研究致癌基因(GBY)的不同表現。

## 六、參考文獻

- [1] Ogata T, Matsuo N (1995): Turner syndrome and female sex chromosome aberrations: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features. *Hum Genet* 95:607-629.
- [2] Yorifuji T, Muroi J, Kawai M, et al (1997): PCR-based detection of mosaicism in Turner syndrome patients. *Hum Genet* 99:62-65.
- [3] Petrussevska R, Beudt U, Schäfer D, et al (1996): Distribution of marker-Y chromosome containing cells in different tissues of a Turner mosaic patient with mixed gonadal dysgenesis. *Clin Genet* 49:261-266.