

Impact of chromosome 1 translocation and its breakpoint on semen quality in male carriers

LIU Jing¹, HAN Tingting², MENG Xiangqian¹,
HUANG Tingting¹, WEN Zina¹, ZHOU Lingyi¹,
LIAO Xue², LI Lingxiao², ZHANG Xinyue²,
ZHONG Ying¹, HUANG Jihua^{2,*}

(1. Center for Reproductive Medicine, Chengdu Jinjiang Hospital for Maternal and Child Health Care, Chengdu 610061; 2. Chengdu Jinxin Research Institute for Reproductive Medicine and Genetics, Chengdu 610061, Sichuan, China)

1号染色体平衡易位及其断裂点位置与人精液质量的相关性分析

刘敬¹, 韩婷婷², 孟祥黔¹, 黄婷婷¹,
温子娜¹, 周凌易¹, 廖雪², 李凌霄²,
张心悦², 钟影¹, 黄继华^{2,*}

(1. 成都市锦江区妇幼保健院生殖医学中心, 四川 成都 610061; 2. 成都锦欣生殖医学与遗传学研究所, 四川 成都 610061)

【摘要】目的：探讨1号染色体平衡易位及其断裂点位置对人精液质量的影响。**方法：**29例男性经外周血淋巴细胞培养与G-显带核型分析，确诊为1号染色体平衡易位携带者；按照世界卫生组织《人类精液检查与处理实验室手册》进行精液常规分析。**结果：**大多数携带1号染色体平衡易位的患者精子密度与活力出现异常(25/29, 86%)；其中携带p12、p13、q12、q21、q25断裂点的患者精子密度明显降低；携带p13、p32、p34、q12、q21、q25断裂点的患者精子活力明显降低。**结论：**1号染色体平衡易位可影响精子的密度与活力；精子质量受损的程度与易位断裂点的位置密切相关。对于携带1号染色体平衡易位的男性患者建议可以采用辅助生殖技术结合胚胎植入前遗传学诊断技术阻断染色体易位向下一代的传递。

【关键词】1号染色体；平衡易位；断裂点；男性不育

中图分类号：R394

文献标志码：A

文章编号：1004-616X(2020)05-0391-04 doi: 10.3969/j.issn.1004-616x.2020.05.011

【ABSTRACT】 OBJECTIVE: To investigate impact of chromosome 1 translocation and locations of its breakpoints on semen quality in male carriers. **METHODS:** Lymphocytes in peripheral blood of patients with male infertility were cultured and G-banding technique was used for karyotype analysis. Semen examinations were performed according to WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. **RESULTS:** Twenty-nine male patients with infertility were diagnosed as carriers with chromosome 1 balanced translocations. Abnormal semen parameters were observed in most of patients (25/29, 86%). The different degrees of abnormal semen quality were detected in the patients with the different translocation breakpoints. **CONCLUSION:** The chromosome 1 balanced translocations were associated with reduced semen quality. The degree of impact was closely related to the locations of the translocation breakpoints. Some molecular investigations are needed to better understand the impact of chromosome translocations on reproductive fitness.

【KEY WORDS】 chromosome 1; balanced translocation; breakpoint; male infertility

不孕不育是当今社会育龄夫妇的常见疾病，发生率达10%~12%，其中男性因素不育约占50%^[1]。非梗阻性无精、弱精及精子畸形是造成男性不育的重要原因。染色体核型异常、Y染色体缺失、囊性纤维化跨膜转导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*)基因的变异是已知的可

以导致无精或严重寡精的遗传因素^[2]。由染色体异常引起的男性不育患者在人群中比例高达5.1%，其中涉及性染色体异常约为3.8%，涉及常染色体异常占1.3%^[3]。有文献报道，染色体相互易位可以导致精子生成障碍且1号染色体断裂位点的数目高于其他染色体^[4]。本文对涉及1号染色体相互易位的29例男性患

收稿日期：2020-06-20；修订日期：2020-08-18

基金项目：四川省卫生和计划生育委员会科研课题(18PJ010)

作者信息：刘敬，E-mail: liuj@jxr-fertility.com。*通信作者，黄继华，E-mail: en_huang@sina.cn

者，分析了他们的精液质量与染色体平衡易位之间的关系，并对如何降低易位给生殖健康带来的负面影响提出了合理建议。

1 材料与方法

1.1 研究对象

在2017年1月—2019年12月于成都市锦江区妇幼保健院生殖医学中心就诊的患者中,选取年龄25~46岁、经临床确诊涉及1号染色体相互易位的29例男性患者作为研究对象。所有研究对象的生殖激素水平正常,排除人类免疫缺陷病毒、丙肝病毒、苍白(梅毒)螺旋体、衣原体、支原体等感染以及精索静脉曲张和其他解剖结构异常等能影响男性精液质量的因素。

1.2 方法

1.2.1 G 显带核型分析 在无菌条件下每位患者采集 2 mL 外周血, 常规进行淋巴细胞培养(37 ℃, 72 h), 收获细胞前 3 h 加入 50 μg/mL 秋水仙碱。收获的细胞经离心去上清, 固定、滴片、消化、Giemsa 染色等步骤, 制备染色体标本, 显微镜下用蔡司染色体核型分析系统进行核型分析, 每例样本计数 20 个分裂相完整的核型, 分析 8 个分散好、中等长度的中期分裂相。

1.2.2 精液收集 禁欲 3~7 d, 手淫法采集精液标本于一次性广口无菌杯内, 置于 37 ℃ 孵箱液化。

1.2.3 精液常规分析 应用西班牙精子分析系统 (Sperm Class Analyzer, SCA), 按照世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 《人类精液检查与处理实验室手册》(第五版)^[5]进行精液常规分析, 包括精液体积、精子浓度、存活率、前向运动精子百分率等指标。

1.3 统计学分析

染色体断裂位置与精子密度、精子活力的相关性采用列联系数(coefficient of contingency)分析。

2 结 果

染色体分析结果见表1,本研究统计分析了来院就诊的29例1号染色体易位携带者。染色体易位涉及1号染色体1p34-1q44,其中长臂16例,短臂13例;临床表现主要为原发性不育患者15例,继发性不育患者5例,无精症4例,少弱精患者4例,隐匿性精子症1例。

精液分析结果表2,显示1号染色体易位区域共涉及14个断裂点;其中在长臂的有16例,精子的密度和活力均正常2例,密度和活力均异常1例,密度或活力异常共计13例;在短臂的有13例,精子的密度

表1 1号染色体相互易位患者的核型分析及临床诊断

病例	染色体核型	临床诊断
1	t(1; 17)(p34; p13)	原发性不育
2	t(1; 6)(p32; q27)	原发性不育
3	t(1; 9)(p32; p22)	原发性不育
4	t(1; 3)(p31; q21)	继发性不育
5	t(1; 6)(p31; q21)	原发性不育
6	t(1; 2)(p22; p21)	继发性不育
7	t(1; 4)(p22; q12)	原发性不育
8	t(1; 4)(p22; q12)	原发性不育
9	t(1; 7)(p22; q32)	隐性精子症
10	t(1; 9)(p22; q13)	原发性不育
11	t(1; 6)(p13; q27)	无精症
12	t(1; 9)(p13; q22)	原发性不育
13	t(1; 10)(p13; q26)	原发性不育
14	t(1; 19)(p12; q13.1)	少精弱精
15	t(1; 15)(p11; q11.1)	少精弱精
16	t(1; 21)(p11; q22)	原发性不育
17	t(1; 12)(q12; q13.1)	无精症
18	t(1; 19)(q12; q24.3)	原发性不育
19	t(1; 15)(q21; q11.2)	少精弱精
20	t(1; 16)(q21; q12)	少精弱精
21	t(1; 19)(q21; q13.3)	无精症
22	t(1; 11)(q22; q14)	原发性不育
23	t(1; 3)(q25; q27)	无精症
24	t(1; 7)(q31; p22)	原发性不育
25	t(1; 14)(q31; p10)	原发性不育
26	t(1; 4)(q32; q35)	继发性不育
27	t(1; 12)(q32.2; p11.2)	原发性不育
28	t(1; 16)(q32; q13)	继发性不育
29	t(1; 2)(q44; q31)	继发性不育

和活力均正常2例，密度和活力均异常3例，密度或活力异常共计8例；1p22、p13、p12、q12、q21、q22区域发生断裂的精液样本精子的密度与活力均明显下降，尤其是p13-q25区域断裂的染色体易位患者不仅少精而且严重弱精。统计学分析显示断裂位置与精子密度、精子活力的列联系数分别为0.821、0.803，提示断裂位置与精子密度与活力均有较高的相关度，但因样本量较少，尚无统计学意义，提示我们后续需增加样本量以进一步确认此相关关系。

3 讨 论

平衡易位是常见的染色体结构异常。它通常与胚胎反复停育、胚胎种植失败和流产密切相关^[6]。本研究应用WHO颁布的标准,对涉及1号染色体平衡易位患者的精液质量进行了分析,结果总结如下:①29例患者的1号染色体上共有14个断裂点,分布在1p34-1q44,短臂上16个,长臂上13个。②易位断裂点在染色体上位置不同,患者精液质量异常的程度不同。同一断裂点(1p34、1q21)的所有患者精子密度和活力均异常者4例;同一断裂点(1p31、1q22和1q44)的所

表2 患者1号染色体断裂位置与精子密度、活力的关系

断裂位置	病例数	精子密度					精子活力					病例精液质量
		正常	轻度少精子症	中度少精子症	严重少精子症	极度少精子症	正常	轻度弱精子症	中度弱精子症	严重弱精子症	极度弱精子症	
p34	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	密度和活力均异常
p32	2	1	1	0	0	0	0	0	2	0	0	密度或活力异常
p31	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	密度和活力均正常
p22	5	4	0	0	0	1	3	1	0	0	1	密度或活力异常
p13	3	1	0	0	1	1	0	0	0	2	1	密度或活力异常
p12	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	密度或活力异常
p11	2	1	0	1	0	0	2	0	0	0	0	密度或活力异常
q12	2	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	密度或活力异常
q21	3	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	密度和活力均异常
q22	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	密度和活力均正常
q25	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	密度或活力异常
q31	2	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	密度或活力异常
q32	3	3	0	0	0	0	2	0	1	0	0	密度或活力异常
q44	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	密度和活力均正常
合计	29	16	2	3	3	5	14	1	5	4	5	

有患者精子密度和活力均正常者4例，其他断裂点的患者精子密度或精子活力异常，共21例。精子密度与活力异常的程度从轻度、中度、严重到极度均有发生，断裂点发生在1p22、1p13、1q12、1q21和1q25的患者中出现极度少精子症和极度弱精子症。③精子密度和精子活力异常的患者比例高。除4例患者精子密度与活力均正常外，其余25例患者的精液质量均出现不同程度的异常，占所分析病例的86%(25/29)，表明精液质量与发生在1号染色体上的易位密切相关。

人类配子的形成需通过减数分裂来完成。从第一次减数分裂偶线期开始，同源染色体中的父源与母源染色体发生配对、联会、分离和重组，其中任一环节发生错误将使减数分裂阻断，导致配子形成障碍，最终引起生育能力下降甚至不育。相互易位携带者在其配子发生过程中的减数分裂后期，染色体走向两极时呈现2：2、3：1、4：0三种分离方式，其中2：2分离又包括交互分离、邻近Ⅰ分离和邻近Ⅱ分离。除了交互分离外，其他各型分离方式的结果是产生染色体不平衡配子，其染色体构成具有不同程度的缺失和重复，因而造成相应片段上的基因缺失和重复。本研究中患者为男性相互易位携带者，其不平衡配子由于基因缺失和重复不能形成正常精子，或凋亡导致精子密度减少，或发育异常导致精子活力降低^[7-8]。随着易位类型、断裂点位置不同^[9-11]，染色体不平衡配子发生率在19%~91%间变异^[9, 12-14]，其染色体缺失和重复的程度不相同，位于相应片段基因的缺失和重复也不相同。这就解释了为什么本研究中，易位断裂点位置不同，患者精液质量异常的程度不同。交互分离指来自两个同源对中的两条正常染色体与两条

易位染色体分别进入两个子细胞。由此形成两种配子，前者为正常配子，后者为平衡配子。在上述的分离方式中，随着重组的发生，可以产生32种配子^[15]；其中仅有交互分离能产生染色体正常和染色体平衡两种配子，这可能是本研究中，少数患者精子密度和活力均正常的原因。

然而，染色体易位导致精子质量下降的原因比较复杂，不仅与减数分裂过程中由于同源染色体配对、分离和重组异常造成配子染色体缺失和重复(相应片段上的基因也缺失和重复)密切相关，也可能由于断裂位置处调控精子细胞生成的基因结构被破坏或者基因表达降低而致精子生成受阻^[11, 16]。1号染色体可能含有对男性生育力必不可少的关键结构域^[17-18]，在男性不育患者中，位于1q21的断点报道甚多^[17, 19-20]。本研究29例患者中，断裂点位于1q21的3例，他们的精子密度和精子活力均异常，而且异常程度均在中度以上。据报道，1q21处有17个在睾丸表达的基因^[19]，在1号染色体其他断裂位置还有哪些基因与人类生育力相关？这些基因的缺失和重复、结构被破坏或表达异常是如何影响人类生育力的？这些问题的阐明将进一步揭开人类不育不孕的内在机制。

目前染色体易位患者可以通过选择胚胎植入前遗传学诊断技术，利用高通量测序等方法选择核型正常或染色体平衡易位的胚胎植入以获得健康或表型正常的胎儿，还可以通过断点及其连锁SNP位点分析区分完全正常胚胎和携带者胚胎，彻底阻断平衡易位染色体向下一代传递。因此对患者进行有效的遗传咨询，能够降低不孕不育和出生有缺陷、智力障碍等染色体异常患儿的风险，达到优生优育的目的。



参考文献

- [1] SCHILIT S L P, MENON S, FRIEDRICH C, et al. SYCP₂ translocation-mediated dysregulation and frameshift variants cause human male infertility[J]. bioRxiv, 2019. DOI: 10.1101/641928.
- [2] KRAUSZ C, RIERA-ESCAMILLA A. Genetics of male infertility[J]. Nat Rev Urol, 2018, 15(6): 369-384.
- [3] FLANNIGAN R, SCHLEGEL P N. Genetic diagnostics of male infertility in clinical practice[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 44: 26-37.
- [4] BACHE I, ASSCHE E V, CINGOZ S, et al. An excess of chromosome 1 breakpoints in male infertility[J]. Eur J Hum Genet, 2004, 12(12): 993-1000.
- [5] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen[M]. 5th ed. Geneva: WHO Press, 2010: 7-113.
- [6] HARTON G L, TEMPEST H G. Chromosomal disorders and male infertility[J]. Asian J Androl, 2012, 14(1): 32-39.
- [7] PIZZOL D, FERLIN A, GAROLLA A, et al. Genetic and molecular diagnostics of male infertility in the clinical practice [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2014, 19: 291-303.
- [8] FLANNIGAN R, SCHLEGEL P N. Genetic diagnostics of male infertility in clinical practice[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 44: 26-37.
- [9] YE Y, QIAN Y, XU C, et al. Meiotic segregation analysis of embryos from reciprocal translocation carriers in PGD cycles [J]. Reprod Biomed Online, 2012, 24(1): 83-90.
- [10] ANTON E, VIDAL F, BLANCO J. Reciprocal translocations: tracing their meiotic behavior[J]. Genet Med, 2008, 10(10): 730-738.
- [11] ZHANG Y, ZHU S, WU J, et al. Quadrivalent asymmetry in reciprocal translocation carriers predicts meiotic segregation patterns in cleavage stage embryos[J]. Reprod Biomed Online, 2014, 29(4): 490-498.
- [12] KO D S, CHO J W, PARK S Y, et al. Clinical outcomes of preimplantation genetic diagnosis (PGD) and analysis of meiotic segregation modes in reciprocal translocation carriers [J]. Am J Med Genet A, 2010, 152A(6): 1428-1433.
- [13] MARTIN R H. Cytogenetic determinants of male fertility[J]. Hum Reprod Update, 2008, 14(4): 379-390.
- [14] LIM C K, CHO J W, SONG I O, et al. Estimation of chromosomal imbalances in preimplantation embryos from preimplantation genetic diagnosis cycles of reciprocal translocations with or without acrocentric chromosomes[J]. Fertil Steril, 2008, 90(6): 2144-2151.
- [15] SCRIVEN P N, HANDYSIDE A H, OGILVIE C M. Chromosome translocations: segregation modes and strategies for preimplantation genetic diagnosis[J]. Prenat Diagn, 1998, 18 (13): 1437-1449.
- [16] LI G, IQBAL F, WANG L, et al. Meiotic defects and decreased expression of genes located around the chromosomal breakpoint in the testis of a patient with a novel 46, X, t(Y; 1)(p11.3; p31) translocation[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(2): 367-377.
- [17] BACHE I, ASSCHE E V, CINGOZ S, et al. An excess of chromosome 1 breakpoints in male infertility[J]. Eur J Hum Genet, 2004, 12(12): 993-1000.
- [18] PALIWAL P, SHARMA A, SAHOO J, et al. An unusual association of hypospadias with partial deletion of chromosome 1q[J]. Fertil Steril, 2010, 93(7): 2413.e11-2413.e13.
- [19] LI R, WANG X, FENG S, et al. Chromosome 1q21 translocation and spermatogenesis failure: Two case reports and review of the literature[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(52): e18588.
- [20] WANG R X, ZHANG H G, PAN Y, et al. Chromosome 7 translocation breakpoints in male carriers: clinical features and implications for genetic counseling[J]. Genet Mol Res, 2016. DOI: 10.4238/gmr15048948.

(上接第390页)

- PI3K/Akt signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2018, 39(2): 667-678.
- [6] SANG M, HULSURKAR M, ZHANG X, et al. GRK3 is a direct target of CREB activation and regulates neuroendocrine differentiation of prostate cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7 (29): 45171-45185.
- [7] CHEN Z, LI J L, LIN S, et al. cAMP/CREB-regulated LINC00473 marks LKB1-inactivated lung cancer and mediates tumor growth[J]. J Clin Invest, 2016, 126(6): 2267-2279.
- [8] ZHANG Y, ZHENG D, ZHOU T, et al. Androgen deprivation promotes neuroendocrine differentiation and angiogenesis through CREB-EZH2-TSP1 pathway in prostate cancers[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4080.
- [9] GLOUSHANKOVA N A. Changes in regulation of cell-cell adhesion during tumor transformation[J]. Biochemistry (Mosc), 2008, 73(7): 742-750.
- [10] VOROPAIEV H, GIMMELSHEIN VATKIN M, SHNEOR D, et al. Infectious knockdown of CREB and HIF-1 for the treatment of metastatic uveal melanoma[J]. Cancers, 2019, 11(8): 1056.
- [11] CHEN P, LI M M, HAO Q Y, et al. Targeting the overexpressed CREB inhibits esophageal squamous cell carcinoma cell growth [J]. Oncol Rep, 2017, 39(3): 1369-1377.