

Method: 삼성제일병원의 불임센터에서 1995년부터 2003년 6월 까지 수행되었던 총 289 주기의 착상전 유전진단을 대상으로 하였다. 체외수정을 통해 얻어진 착상전 배아에서 할구를 분리하여 그 이상 유무를 분석한 후, 정상으로 진단된 배아만을 선별하여 자궁에 이식하였다. 분리한 할구에서 형광 직접조합법 (FISH)으로 염색체의 전좌 (translocation)와 성 염색체의 이상에 대한 진단을 시행하였으며, PCR방법으로 성 염색체 관련 유전자 또는 특정 유전자의 이상이 확인된 부위에 대한 진단을 실시하였다. 분리한 할구에서의 유전진단 성공률, 정상 배아의 빈도, 염색체 이상으로 인한 유산율의 감소와 시술 횟수에 따른 누적분만율을 산출하여 실제적인 임상에서의 효용성을 확인하였다.

Results: FISH (n=280)를 이용한 착상전 유전진단은 총 149쌍의 부부에서 280주기를 시행하여, 진단이 가능했던 배아는 95.3% (2963/3110), 이식이 가능한 정상 배아율은 24.8% (734/2963)였으며, 정상 배아만을 선별하여 260주기 (92.9%)에서 배아이식을 시행하였다. 배아이식에 따른 임상적 임신율은 21.9% (57/260)였으며, 환자 당 분만율은 30.9% (46/149)를 나타내었다. 자연 유산율은 자연 임신의 93.6% (146/156)에서 PGD-FISH 후에 19.2% (11/57)로 현저하게 감소되었다 (p<0.01). 또한, 시술 횟수의 증가에 따른 누적분만율은 전체적으로 5번째 주기까지 점차적으로 증가하여 41.4%를 나타냈다. PCR (n=10) 방법을 이용한 진단에서는 초기에는 성 염색체 관련 유전 질환에서의 단순한 성 결정 진단에서, 최근에는 RFLP 또는 염기서열분석 방법을 이용하여 특정 유전자 이상 부위에 대한 직접적인 진단으로 그 적용 범위가 확대되었으며, 진단이 가능한 배아는 85.2% (92/108), 정상 배아율은 38.0% (35/92), 임상적 임신율은 40% (4/10) 그리고 환자당 분만율은 40% (4/10)를 나타냈다.

Conclusions: 본 불임센터의 9년 동안의 임상 경험을 통해 얻어진 착상전 유전진단에서의 전체적인 진단 성공률은 90% 이상이였으며, 특히, FISH를 이용한 진단은 염색체 이상이 있는 부부에서 볼 수 있는 높은 유산율을 현저하게 감소시키는 장점이 있었다. 또한, 단일 유전자의 이상 부위가 확인된 유전 질환인 경우에는 그 이상 부위에 대한 착상전 유전진단이 가능하므로, 치료가 어려운 유전 질환을 갖는 환자의 임신과 출산을 예방할 수 있는 효과적인 방법으로 생각된다.

0-5 착상전 유전자진단시 시행한 배아의 할구생검은 hCG 분비에 영향을 주는가?

성균관대의대 삼성제일병원 산부인과¹, 생식생물학 및 불임연구실²

허길 · 임천규² · 김진영¹ · 이형송² · 전진현² · 궁미경¹ · 강인수¹

Background & Objectives: 착상전 유전자진단을 목적으로 시행한 배아의 할구생검 후 임신주기에서 착상초기 혈중 hCG 농도가 다소 낮다는 견해가 있으나, 아직 이에 대한 연구는 없는 실정이다. 본 연구에서는 할구생검 후 착상전 유전자진단의 임신주기와 일반전인 체외수정시술의 임신주기에서 혈중 hCG의 농도양상과 그 증가율을 비교하고자 한다.

Method: 2001년 1월에서 2003년 6월까지 부부의 염색체 이상 등의 원인으로 착상전 유전자진단 후 할구생검된 배아를 이식하여 임신된 주기중, 임신 초기 태반이 1개이며 단태아 임신으로 확인된 31주기와 임신 초기 태반이 2개이며 쌍태아 임신으로 확인된 7주기를 연구군으로 선정하였다. 대조군은 동일기간 연구군과 같은 방법으로 과배란유도 후 체외수정시술을 시행받고 임신 초기 태반이 1개이며 단태아 임신으로 확인된 64주기와 임신 초기 태반이 2개이며 쌍태아 임신으로 확인된 41주기를 대상

으로 하였다. 연구군에서 ICSI로 수정된 배아는 배양 3일째인 6~8 세포기 때 할구생검을 시행하였으며 배양 4일 혹은 5일째의 상실배나 포배를 이식하였다. 혈중 hCG의 측정은 난자채취 후 12, 14, 16, 21, 28일째에 각각 측정하였고, 난자채취 후 12일째의 hCG의 혈중농도에 대한 난자채취 후 14일째의 hCG의 혈중농도 비율을 조사하였다. 통계방법은 Kruskal-wallis test와 logarithmic transformation 후 student t-test를 사용하였다.

Results: 연구군의 평균 나이는 30.7 ± 0.5 세 (mean \pm SEM)이고 대조군의 평균 나이는 32.7 ± 0.3 세이다. 연구군의 평균 이식배아수는 2.8 ± 0.2 개이고 대조군은 3.9 ± 0.2 개이다. 단태아에서의 연구군과 대조군의 난자채취 후 12, 14, 16, 21, 28일째 각각의 혈중 평균 hCG 농도는 44.0 ± 4.6 vs. 46.5 ± 3.7 mIU/ml, 131.8 ± 14.4 vs. 115.0 ± 11.0 mIU/ml, 170.2 ± 36.3 vs. 261.7 ± 83.8 mIU/ml, 3187.3 ± 486.2 vs. 3514.5 ± 438.5 mIU/ml, 17805.7 ± 2774.2 vs. 22422.9 ± 4880.2 mIU/ml이고 48시간 동안의 hCG 증가율은 3.1 ± 0.1 vs. 3.1 ± 0.2 로 의미 있는 차이가 없었다. 쌍태아에서도 비슷한 연구결과로, 연구군과 대조군의 난자채취 후 12, 14, 21, 28일째 각각의 혈중 hCG 평균 농도는 115.1 ± 19.1 vs. 117.3 ± 9.6 mIU/ml, 335.9 ± 47.3 vs. 361.0 ± 29.6 mIU/ml, 9700.0 ± 1970.2 vs. 6712.5 ± 880.5 mIU/ml, 49500.0 ± 13500.0 vs. 37020.0 ± 10526.5 mIU/ml이고 48시간 동안의 hCG 증가율은 3.0 ± 0.1 vs. 3.2 ± 0.1 으로 의미 있는 차이가 없었다.

Conclusions: 배아의 할구생검을 시행한 착상전 유전진단 시술 후 임신주기에서 영양배엽의 hCG의 분비와 혈중 hCG의 상승율은 일반적인 체외수정 주기에 비해 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과로 6~8 세포기의 배아에서 시행한 할구생검은 영양배엽의 생리적 기능에 영향을 미치지 않는다고 생각된다.

O-6 EM-grid를 사용한 사람 배반포의 Vitrification 시 적용할 수 있는 효과적인 용해방법에 관한 연구

마리아병원

이소영 · 제병석 · 이석윤 · 윤산현 · 임진호 · 이원돈

Background & Objectives: 우리는 artificial shrinkage와 6-단계 용해법을 사용하여 사람 배반포의 동결보존 및 용해 프로그램에서 높은 생존율과 성공적인 임신율을 보고한 바 있다 (Cho et al., 2002; Son et al., 2003). 본 연구에서는 artificial shrinkage 후 vitrification한 사람 배반포에 보다 적합한 용해방법을 확립하고, 이 용해방법을 사용한 용해 이식 프로그램의 결과에 관한 보고를 하고자 한다.

Method: 용해방법 결정 실험을 위해서 IVF 시술 후 남은 배아 중 동결보존하기 부적당한 배반포 (>160 mm) 279개를 환자의 동의를 얻어 사용하였다. 동결하기 전에 배반포는 29-G needle을 사용하여 배반포강을 수축시키는 artificial shrinkage를 실시하였다. 동결 및 용해에 사용된 기본 용액으로는 난포액이 20% (v/v) 포함된 DPBS를 사용하였다. 동결은 배반포를 20% (v/v) ethylene glycol (EG)에 1.5분간 전처리한 후, 40% (v/v) EG, 18% (w/v) Ficoll, 0.3 M sucrose (EFS) 용액에 노출시켜 EM-grid를 사용하여 vitrification하였다. 용해는 0.5 M sucrose와 0 M sucrose에 차례로 노출시켜 시행하였다. 0.5 M sucrose에 노출시간은 3, 4, 5, 6분을 실시하여, 각 실험군간에 생존율을 비교하였다. 여기서 가장 좋은 결과를 보인 군을 기존에 본원에서 사용하던 6-단계 용해법 (0.5 M sucrose에 3분 후, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0 M sucrose에 각각 1.5분씩 노출)과 비교하였다. 이로부터 결정된 2-단계 용해법을 2001년 5월부터 2003년