

0-10 근이영양증 (DMD)의 착상전 유전진단에서 Fluorescent PCR을 이용한 보인자의 구분

이형승¹ · 최혜원¹ · 임천규¹ · 박소연² · 김진영³ · 류현미³
궁미경³ · 강인수³ · 전진현¹

¹성균관과의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실, ²유전학연구실, ³산부인과학교실

Background & Objectives: Duchenne형 근이영양증 (Duchenne type muscular dystrophy: DMD)은 X-염색체의 p21 부위에 존재하는 dystrophin 단백질 유전자의 이상으로 인해 발생되며, 발병률은 출생 남아의 3,500명당 1명으로 그 발생 빈도가 가장 높은 유전 질환 중의 하나이다. 현재 분자유전학적 방법을 이용하여 이에 대한 진단이 가능하며, 특히 체외수정 및 배아이식술에서의 착상전 유전진단 (preimplantation genetic diagnosis: PGD)을 통해 정상적인 배아만을 선별, 이식하여 정상아의 출생을 유도할 수 있다. 본 연구에서는 근이영양증 (DMD) 가계를 대상으로 시행한 착상전 유전진단에서 일반적인 PCR 방법과 polymorphic marker에 대한 fluorescent PCR 방법에서의 진단 성공률과 보인자의 구분 여부 등에 대하여 비교 분석하였다.

Method: 체외수정에서 얻어진 배아로부터 하나 또는 두개의 할구를 분리하여 착상전 유전진단을 시행하였다. 방법-A는 triplex nested PCR 방법과 일반적인 전기영동법을 사용하였고, 방법-B에서는 polymorphic marker에 대한 triplex fluorescent PCR 방법과 capillary 전기영동법을 적용하였다.

Results: 방법-A의 경우, 진단 성공률은 95.5% (21/22)로 비교적 높은 비율이었으나, 여성으로 진단된 총 11개의 배아에서 정상과 보인자간의 구별이 불가능하여 보인자를 원하지 않는 부부에게는 이식할 수 없었다. 그러나 방법-B의 경우 100% (27/27)의 진단 성공률을 나타내었으며, 여성으로 확인된 총 17개의 배아 중 10개의 배아는 정상으로, 7개의 배아는 보인자로 진단되었다. 이러한 착상전 유전진단 후에 정상으로 확인되어 이식이 가능한 배아는 방법-A에서는 27.3% (6/22), 방법-B에서는 59.2% (16/27)로 나타났다. 방법-A의 1례에서 임신이 되어 정상적인 남아를 출산하였으며, 방법-B의 1례에서 chemical pregnancy, 나머지 1례에서는 남녀 쌍둥이를 출산하였으며 이들 모두 양수검사와 산후검사를 통해 정상 genotype을 가진 것을 확인하였다.

Conclusions: 착상전 유전진단 시 polymorphic marker에 대한 fluorescent PCR 방법을 이용하여 일반적인 PCR 방법으로는 구분할 수 없었던 여성 배아의 정상 또는 보인자 여부를 성공적으로 구별할 수 있었으며, 이를 통해 보다 많은 수의 이식가능한 배아를 확보할 수 있었다. 결론적으로 효율적인 착상전 유전진단 방법의 지속적인 개발 및 적용을 통해 착상전 유전진단의 효율을 높이고 정확도를 향상시킬 수 있었다.

0-11 수정 3일째 배아의 유리화동결법의 효용성

이주희¹ · 정운진¹ · 이성은¹ · 이재호¹ · 최규완¹ · 이용복² · 이승재²

¹MDplus LSI IVF Lab, ²미래와희망산부인과 불임클리닉

Background & Objectives: 체외수정 시술에서 배란유도방법 및 배양기술의 향상으로 잉여배아의 동

결보존은 필수적인 조건이 되고 있다. 과거 배아의 동결보존은 자동세포동결기를 이용한 완만동결법을 주로 사용하였으나, 근래에는 난자 및 배아를 유리화 동결방법을 이용하여 시행하고자 하는 노력이 경주되고 있다. 이에 본 실험은 체외수정 기술 중 얻은 발생중인 배아의 동결보존에서의 유리화 동결법의 효용성을 알아보고자 기존의 완만동결법과 비교하여 보았다.

Method: 본 연구의 대상은 기존의 완만동결방법을 적용한 전핵시기동결군 (S-PN) 122례, 발생배아 동결군 (S-EM) 59례와 발생배아의 유리화동결군 (V-EM) 64례를 대상으로 하였다. S-PN군은 수정 후 20여 시간 후의 전핵시기에 자동세포동결기를 이용한 통상적인 완만동결을 시행하였고, S-EM군은 수정 후 2~3일 후 전핵시기와 동일한 방법으로 완만동결을 시행하였다. V-EM군은 수정 후 3일째에 유리화동결법으로 동결하였다. 유리화동결은 변형된 0.25 ml straw를 이용하는 MDplus 방법을 사용하여 동결하였다. 이식은 S-PN군은 해빙 후 2일, S-EM군은 3~20시간 추가 배양 후 내막이 준비된 환자에 이식하였고, V-EM군도 해빙 3~20시간에 이식하였다. 이 후 추적관찰 결과 태아 심박동을 임신으로 하여 임신율과 착상율을 계산하였다.

Results: 1. 환자의 나이는 완만동결군은 34.2 ± 5.3 세, 유리화군은 36.2 ± 4.0 세로 유리화군에서 유의하게 많았으나 ($p < 0.05$), 불임기간은 반대로 유리화군에서 높았다 ($p < 0.05$). 불임요인의 분포는 각군간 유의한 차이가 없었다. 2. 해빙 후 배아의 생존율은 S-PN군이 82.8%, S-EM군이 80.3%, V-EM군이 94.6%로 완만동결군들보다 유리화군이 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 3. 해빙 전후 배아의 질은 S-PN은 해빙 후 2일 배양에서 양질의 배아는 52.1%를 얻었고, S-EM군에서는 동결시 71.4%에서 해빙 후 51.2%로 유의하게 감소하였으나, V-EM군은 동결시 72.4%에서 해빙 후 71.6%로 거의 감소하지 않았다. 4. 임신율은 각군에서 23.8%, 13.6%, 34.4%로 유리화군이 가장 높았고, S-EM군이 가장 낮았다. 착상율은 13.6%, 8.2%, 13.5%로, V-EM군은 S-PN군과 비슷하였고, 두 군이 S-EM군보다 높았다.

Conclusions: 이상의 결과에서 발생중인 배아의 동결에서 생존율, 양질의 배아 보존율, 임신율 및 착상율은 완만동결법에 비해 유리화동결법이 나은 결과를 얻었고, 임신과 착상은 배아요인과 함께 환자의 나이 등에 영향을 받는 것으로 나타났다. 결론적으로 잉여배아의 동결은 방법이 간단하고 안전하며, 고가 장비가 필요 없을 뿐만 아니라 재료비도 저렴한 MDplus 유리화동결법이 유용한 것으로 사료된다.

0-12 사람의 미수정란 (Unfertilized Oocytes)과 난할단계 (Cleavage-Stage Embryo) 배아에서 미토콘드리아 ATPase6 유전자의 발현

한지은^{2,3} · 이숙환^{1,2,3} · 조성원^{1,3} · 정혜진^{1,3} · 안소연^{1,3}
조정현² · 곽인평² · 권 황² · 윤태기^{2,3}

¹포천중문의과대학교 산부인과, 보건복지부지정 생식의학 및 불임유전체 연구센터,

CHA Research Institute, ²포천중문의과대학교 산부인과,

³보건복지부지정 생식의학 및 불임유전체 연구센터

Background & Objectives: 미수정 난자는 aneuploidy와 관련된 염색체상의 비정상으로 인해 생기는 것으로 설명되어질 수 있다. 이러한 non-disjunctional error는 염색체 분열시 낮은 에너지 량으로 인해