

자연 유산 수태산물의 세포유전학적 분석

서울대학교 의학연구원 인구의학연구소¹, (주)젠딕스 연구개발부², 대전보건대학 임상병리과³

황시목^{1,2} · 권경훈² · 윤경아³ · 오선경¹

A Cytogenetic Analysis of Abortus with Spontaneous Abortion

Si-Mok Hwang^{1,2}, Kyung-Hun Kwon², Kyung-Ah Yoon³, and Sun-Kyung Oh¹

¹Institute of Reproductive Medicine and Population, Medical Research Center, Seoul National University, Seoul, Korea

²Division of Research and Development, GenDix, Inc., Seoul, Korea

³Department of Clinical Pathology, Daejeon Health Sciences College, Daejeon, Korea

Purpose: Chromosomal abnormalities of abortuses have been used to investigate common etiologies of spontaneous abortion, but the frequencies and types of spontaneous abortions have demonstrated considerable variation among different countries and races.

Materials and Methods: A cytogenetic analysis of 75 abortuses was performed at GenDix, Inc. from January 2006 to December 2007.

Results: The frequency of chromosome abnormalities in abortuses was 32.0% (24/75 cases). Among the chromosomal abnormalities, trisomy was present in 62.5% (15/24 cases) of cases and the most frequent trisomy was trisomy 21 with an occurrence rate of 26.6% (4/15 cases). The following was trisomy 22 (3/15 cases) and trisomy 20 (2/15 cases). The average maternal age for abnormal karyotypes was 34.3±3.3.

Conclusion: Cytogenetic analysis of abortus is important for diagnosis and genetic counseling of patients with spontaneous abortion.

Key Words: Chromosome, Abortus, Karyotype

서 론

유산이란 태아가 생존 가능한 시기 이전인 20주 이전에 임신이 종결되는 것으로 임상적으로 진단된 임신의 약 15-

20%에 달하며 가장 유산되기 쉬운 시기는 임신 2-3개월 경으로서 전체의 60-80%가 이 시기에 일어난다고 보고되고 있다¹⁾. 즉, 임신 초기일수록 일어나기 쉽고, 태반이 완성되는 임신 5개월 이후에는 잘 일어나지 않는다. 자연 유산의 원인은 불분명한 경우가 많고 태아 감염이나 면역학적 요인, 약물이나 환경 오염 등 여러 요인들이 있으나 그 중 약 50%가 염색체 이상에 기인한 것으로 보고되면서, 자연 유산을 초래하는 가장 흔한 원인으로 알려져 있다^{2, 3)}.

자연 유산이 3회 이상 반복되는 습관성 반복 유산의 경우에는 부모의 염색체 이상도 자연 유산의 원인이 될 수 있다⁴⁾. 이러한 부모의 염색체 이상들은 자연 유산을 유도할 뿐 아니라

접 수: 2009년 5월 27일

수정본접수: 2009년 6월 17일

게재승인일: 2009년 6월 23일

게재일: 2009년 6월 30일

책임저자: 오선경

우 110-510 서울 종로구 동숭동 199-1
서울대의과대학 분관(의학연구원 인구의학연구소) 506호
Tel: 02)3673-1994, Fax: 02)3673-1993
E-mail: gcenter@snu.ac.kr

태아의 기형이나 정신지체 등과도 관련이 있기 때문에 반복적으로 자연 유산이 되는 부부는 염색체 검사가 필수적이라 할 수 있다⁵⁾. 자연 유산 수태산물의 세포유전학적 연구는 염색체 이상의 빈도와 유형을 관찰함으로써 태아의 손실에 미치는 영향과 차기 임신의 상담에 유용한 정보를 제공할 수 있기 때문에 임상적으로 매우 중요하다고 할 수 있다^{6, 7)}.

이에 본 연구는 산모의 동의를 받은 자연 유산 수태산물에 대한 염색체 분석을 실시하여 염색체 이상의 발생 빈도와 유형을 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2006년 1월부터 2007년 12월까지 2년 동안 수도권 지역의 산부인과에서 (주)젠디스 세포유전학 연구실로 염색체 검사를 목적으로 수탁한 자연 유산 수태산물 75례의 염색체 분석을 시행하여 핵형의 이상 유무를 관찰하였다. 염색체 검사에 이용된 검체는 유전자 동의서에 환자 본인의 동의 서명을 받은 후 시행하였다.

2. 방법

자연 유산 수태산물 조직을 0.9% 생리식염수로 세척한 후 2 mL의 BIOAMF-2 (Biological, Inc., Kibbutz Beit Haemek, Israel) 배양액에 넣고 멸균된 해부용 칼로 잘게 잘라 세포 부유액을 만들어 2개의 조직 배양 플라스크(25 cm²)에 나누어 넣고 5 mL의 배양액을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 약 5-7일 후 세포의 부착 여부를 확인하고 세포가 충분히 배양될 때까지 배양액을 교환해주며 계속 배양하였다. 배양 종료 2시간 전에 각 배양 용기에 0.2 mL colcemid 용액(10 µg/mL, GibcoBRL, Grand Island, NY, U.S.)을 첨가하고 37°C 배양기에 두었다. 배양액을 제거하고

0.075M KCl 저장액(Hypotonic solution)을 첨가한 후 cell scraper로 세포를 회수하여 15mL conical tube로 옮겨 조심스럽게 섞어주고 37°C 배양기에 20분간 두었다. 고정액(Methanol:Acetic acid=3:1) 1 mL을 넣어 섞어준 후 원심 분리하여 상층액을 제거하였다. 고정액 3 mL을 넣고 4°C에서 20분 동안 냉장 보관하였다. 고정 과정을 한번 더 반복하고 원심 분리하여 슬라이드를 제작하였다. 만들어진 슬라이드는 1시간 고온 건조 시킨 후 50% 과산화수소 용액에 3분 처리하고 다시 1시간 동안 고온 건조하였다. 건조된 슬라이드는 0.025% Trypsin (GibcoBRL, Grand Island, NY, U.S.)과 10% Giemsa (Sigma-Aldrich, Strinheim, Germany) 용액으로 염색(GTG banding)하여 현미경으로 중기상 세포를 관찰하였다. 한 샘플당 광학 현미경하에서 25개 정도의 중기 핵형을 관찰하고 모자이시즘이 의심되는 경우는 100개의 세포를 관찰하였다.

염색체 핵형 분석은 ChIPS-Karyo (GenDix, Inc., Seoul, Korea)를 사용하였다. 염색체의 이상 표기법 및 명명법은 ISCN 2005 (International System of Human Cytogenetic Nomenclature)의 규정을 따랐다.

결 과

대상 환자의 연령 분포는 26-44세였으며, 염색체의 정상군 34.1±3.9세와 이상군 34.3±3.3세로 평균나이에는 거의 차이가 없었다. 자연 유산 수태산물의 임신 주수 분포는 6-21주였고 8-11주 사이가 46.7%로 가장 많았으며, 염색체 이상의 빈도 역시 54.2% (13/24례)로 가장 높았다(Table 1).

시행된 80례 검체 중 배양 실패된 5례를 제외한 총 75례의 자연 유산 수태산물의 염색체 핵형 분석 결과 염색체 이상 빈도는 32.0% (24/75례)였다. 염색체 이상을 유형별로 보면 수적 이상인 삼염색체성(trisomy)이 15례로 염색체 이상 중 62.5% (15/24례)를 차지했고 45,X가 3례로 그 다음을 차지

Table 1. Clinical Characteristics of Spontaneous Abortion Patients

Gestational week	Maternal age				No. of Abnormal (%)	Total (%)
	25-29	30-34	35-39	40 ≤		
< 8	0	4	4	1	2 (8.3)	9 (12.0)
8-11	5	17	11	2	13 (54.2)	35 (46.7)
12-15	2	15	6	4	8 (33.3)	27 (36.0)
16-20	0	3	1	0	1 (4.2)	4 (5.3)
Total (%)	7 (9.3)	39 (52.0)	22 (29.4)	7 (9.3)	24 (32.0)	75 (100.0)

했다. 이 외에 47,XXX,inv(9)가 1례, 47,XXY가 1례, 45,XY,-13가 1례, 46,XX,t(13;17)가 1례, 45,X/46,XX 모자이시즘(mosaicism)이 1례, 46,XX,inv(9)가 1례 있었다 (Table 2). 9번 염색체 역위의 경우 부모 검사에서 47,XXX,inv(9) (p12q13)은 부계유전이었고 46,XX,inv(9) (p12q13)은 모계유전으로 확인되어 정상 다양성 (normal variant)로 간주하였다. 상호 전좌(reciprocal translocation)인 46,XX,t(13;17)에서는 부모 핵형검사결과 정상으로 de novo임을 확인하였다.

삼염색체성 이상 중에서 각각의 염색체 별로 분류를 해보면

Table 2. Cytogenetic Karyotyping Results of Abortuses

Karyotype	No. of Abortuses		Total (%)
	Male	Female	
Normal	10	41	51 (68.0)
Abnormal	10	14	24 (32.0)
Chromosomal aneuploidy			
Trisomy	9	6	15
Monosomy 13		1	1
45,X		3	3
47,XXX		1*	1
47,XXY	1		1
Reciprocal translocation			
46,XX,t(13;17)		1	1
Mosaicism			
45,X/46,XX		1	1
Inversion		1**	1
Total	20	55	75 (100.0)

*47,XXX,inv(9) (p12q13)

**46,XX,inv(9) (p12q13)

Table 3. Classification According to the Number of Chromosome in 15 Cases with Trisomy

Chromosome	No. of Abortuses		Total (%)
	Male	Female	
2		1	1 (6.7)
4	1		1 (6.7)
5	1		1 (6.7)
13		1	1 (6.7)
16		1	1 (6.7)
20	2		2 (13.3)
21	3	1	4 (26.6)
22	1	2	3 (20.0)
Double trisomy*	1		1 (6.7)
Total	9	6	15 (100.0)

*Simultaneous detection of trisomy 6 and trisomy 21.

21번 삼염색체성인 다운증후군(Down syndrome)이 26.6% (4/15례), 22번 삼염색체가 20.0% (3/15례), 20번 삼염색체가 13.3% (2/15례)였으며, 나머지 염색체(2, 4, 5, 13, 16)들에서 각 1례씩 있었고, 6번과 21번의 이중 삼염색체성도 1례가 있었다(Table 3).

고찰

전체 자연 유산의 약 50%가 태아의 염색체 이상에 기인하여 발생하지만 염색체 이상이 있는 경우는 대부분 자연 유산되고, 0.5%만이 신생아에서 염색체 이상으로 발현된다고 알려져 있다^{2, 3}. 습관성 자연 유산에 대한 염색체 분석은 염색체 이상으로 인한 가능성이 제기되면서 습관성 유산이 된 산모 또는 남편의 염색체에 이상이 있다고 보고 되고 있으며^{8, 9}, 초기 자연 유산된 태아 조직의 세포유전학적 검사 결과 태아의 염색체 이상 및 기형을 초래하는 염색체 이상의 빈도가 높게 나타나고 있다¹⁰.

자연 유산의 염색체 이상 유형으로는 정상 세포의 이배수(diploid)보다 수가 많거나 적은 수적 이상(numerical abnormality)과 염색체의 결실(deletion), 전좌(translocation)나 역위(inversion)로 유래되는 구조적 이상 등이 있다. 대부분의 경우 수적 이상으로 이들의 빈도는 문헌마다 참고한 자료 분석의 한계성 때문에 각기 차이가 있다^{11, 14}.

본 연구에서는 자연 유산 수태산물의 염색체 이상 중 가장 많은 빈도를 차지한 것은 삼염색체의 삼염색체성 질환으로 62.5%였다. 이러한 결과는 외국의 보고와 대동소이한 결과이나 외국의 보고¹¹⁻¹⁶에 의하면 일반적으로 16번 삼염색체성이 높는데¹³ 비해 본 연구에서는 연구에 사용된 증례수가 적은 관계로 21번 삼염색체성인 다운증후군이 전체 염색체 이상 중 16.7% (4/24례)인 것으로 분석되었다. 그 다음으로 22번 염색체의 삼염색체성 질환이 높은 빈도를 보였는데 이러한 결과는 외국의 결과 보고와 거의 비슷하였다².

자연 유산 수태산물의 염색체 이상은 부모 염색체에 기인되는 경우도 있으나 그보다는 난자나 정자의 유사분열 및 감수분열 과정의 이상으로 초래되는 경우가 많이 있다. 염색체 분열 과정에서 염색체 이상을 일으킬 수 있는 환경에 노출되어 발생되기도 하며 부모 염색체는 정상이지만 유전인자의 불균형에 기인되는 경우도 있게 된다. 자연 유산 환자 중에는 유산 수태산물의 염색체 이상 시 임신 주수와 산모의 연령도 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 산모의 나이가 많을수록 염색체 이

상의 빈도가 높다고 보고되고 있는데 이는 난소에서 감수분열의 빈도가 증가되기 때문이라고 추정되고 있다¹⁷⁾. 하지만 본 연구의 결과에서는 산모의 나이와 염색체 이상의 통계학적 유의성은 없었다.

습관성 반복 유산은 임신 20주 미만에서 3번 이상 연속되는 자연 유산으로 정의되며⁴⁾ 습관성 유산을 유발하는 원인으로 알려진 것은 내분비적 원인, 면역학적 원인, 해부학적 원인, 유전적인 원인으로 구분되지만 정확한 병태 생리학적인 기전은 아직 규명되지 않은 상태이다¹⁸⁾. 따라서 자연 유산 수태산물의 핵형을 파악하는 것은 유산의 염색체 이상이 아닌 다른 원인에 대한 검사 등 예후적 또는 치료적 면을 결정하는 관점에서 유산의 원인 기전을 밝히기 위한 중요한 과정으로 인식되고 있다¹⁹⁻²²⁾.

염색체 이상과 산과력의 관계를 보면 다수의 임신 손실이 있는 경우 염색체 이상 빈도가 높음을 알 수 있는데, 본 연구의 결과를 보면 습관성 반복 유산을 의뢰 사유로 시행된 경우 41례 중 17례가 염색체 이상으로 41.5%를 차지하였다. 시행된 전체 염색체 이상 결과에서는 70.8%(17/24례)가 습관성 반복 유산의 수태산물이었다. 하지만 유산된 태아의 염색체 이상은 원인 보다는 결과적인 빈도로서, 대부분 유산 수태산물 조직의 염색체 이상에서 부모의 염색체는 정상이었다. 이러한 결과 도출은 본 연구에 사용된 증례수가 그다지 많지 않았기 때문이라 사료된다. 그러나 일반적으로 태아 염색체 이상 유무와 관계없이 반복적인 자연 유산의 원인을 알 수 없는 습관성 반복 유산의 원인을 규명하기 위해서는 유산한 산모만의 염색체 분석을 시행하는 것보다는 유산 수태산물과 그 부모의 염색체 검사를 통한 세포유전학적 분석이 필요하다고 하겠다.

유산이 되는 원인은 아주 다양하여 아직 정확하게 규명된 것은 없지만 본 연구에 의하면 삼염색체성의 빈도가 높았고 그 중에서도 21번 염색체의 삼염색체 빈도가 높았으므로 향후 고령 임신에서도 많이 나타나는 다운증후군의 많은 연구가 필요할 것이라 사료된다. 또한 자연 유산 및 계류 유산을 포함하여 치료 목적으로만 시행하는 모든 유산 수태산물에 대해서 연구 목적의 조직 염색체 검사는 불가능하기 때문에 비교할 수 있는 많은 자료가 수집되어야만 세포유전학적 분석으로 그 정확한 빈도와 유형을 알 수 있을 것이다.

국문초록

목적: 자연 유산의 가장 흔한 원인은 수태산물의 염색체 이

상으로 알려져 왔다. 따라서 환자들의 상담 및 치료에 유용한 정보를 얻기 위해 염색체 이상의 빈도와 유형을 조사하였다.

대상 및 방법: 2006년 1월부터 2007년 12월까지 수탁된 75례의 자연유산 수태산물에서 세포유전학적 분석을 수행하였다.

결과: 수태산물의 염색체 이상 빈도는 32.0% (24/75례)였다. 염색체 이상들 중 삼염색체는 62.5% (15/24례)였고, 대부분의 삼염색체로는 21번 염색체의 삼염색체가 26.6% (4/15례), 다음으로 흔한 이상으로는 22번 삼염색체가 3례, 20번 삼염색체가 2례였다. 비정상 핵형의 모성 나이의 평균은 34.3 ± 3.3 세였다.

결론: 유산 수태산물의 세포유전학적 분석은 자연 유산 환자들을 위한 진단과 유전상담에 중요하다고 할 수 있다.

참고문헌

- 1) Pezeshki K, Feldman J, Stein DE, Lobel SM, Grazi RV. Bleeding and spontaneous abortion after therapy for infertility. *Fertil Steril* 2000;74:504-8.
- 2) Eiben B, Bartels I, B hr-Porsch S, Borgmann S, Gatz G, Gellert G, et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet* 1990;47:656-63.
- 3) Jacobs PA, Hassold TJ. The origin of numerical chromosome abnormalities. *Adv Genet* 1995;33:101-33.
- 4) Bricker L, Farquharson RG. Types of pregnancy loss in recurrent miscarriage: implications for research and clinical practice. *Hum Reprod* 2002;17:1345-50.
- 5) Sato K, Kojima T, Izuta M, Miyakawa T, Takahashi K, Tametika S, et al. Clinical course of early fetal loss and its chromosomal characteristics. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1992;18:131-8.
- 6) Qumsiyeh MB, Kim KR, Ahmed MN, Bradford W. Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi. *Cytogenet Cell Genet* 2000;88:230-5.
- 7) Jun JK, Choe J, Choi YM, Hwang DY, Oh SK, Moon SY, et al. Multicenter Trial of Aberrations of Chromosomes in Abortuses, Chorionic villi, Amniocytes, and Fetal Blood Cells. *Korean J Obstet Gynecol* 2000; 43:1200-6.
- 8) Shelton AJ, Harger JH, Dorman JS, Kuller LH, LaPorte RE, Gill TJ 3rd. Association between familial auto-

- immune diseases and recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol* 1994;32:82-7.
- 9) Griebel CP, Halvorsen J, Golemon TB, Day AA. Management of spontaneous abortion. *Am Fam Physician* 2005;72:1243-50.
- 10) Ford JH, Wilkin HZ, Thomas P, McCarthy C. A 13-year cytogenetic study of spontaneous abortion: clinical applications of testing. *N Z J Obstet Gynaecol* 1996;36:314-8.
- 11) Kajii T, Ferrier A, Niikawa N, Takahara H, Ohama K, Avirachan S. Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet* 1980;55:87-98.
- 12) Andrews T, Dunlop W, Roberts DF. Cytogenetic studies in spontaneous abortuses. *Hum Genet* 1984;66:77-84.
- 13) Warburton D, Kline J, Stein Z. Monosomy X: A chromosomal anomaly associated with young maternal age. *Lancet* 1980;1:167-9.
- 14) Be C, Velasquez P, Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. *Rev Med Chil* 1997;125:317-22.
- 15) Ohno M, Maeda T, Matsunobu A. A cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. *Obstet Gynecol* 1991;77:394-8.
- 16) Zhou CR. Cytogenetic studies of spontaneous abortions in humans. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1990;25:89-91.
- 17) Mameli M, Cardia S, Milia A, Aste A, Santucci S, Genazzani AR. Cytogenetic study in 50 couples with recurrent abortions. *Gynecol Obstet Invest* 1984;17:84-8.
- 18) Stirrat GM. Recurrent miscarriage; definition and epidemiology. *Lancet* 1990;348:1402-6.
- 19) Byrne J, Warburton D, Kline J, Blanc W, Stein Z. Morphology of early fetal deaths and their chromosomal characteristics. *Teratology* 1985;32:297-315.
- 20) Adinolfi M. Recurrent habitual abortion, HLA sharing and deliberate immunization with partner's cells: a controversial topic. *Hum Reprod* 1986;1:45-8.
- 21) Ohama K. Embryonic growth and prenatal natural selection of karyotypically abnormal fetuses. *World of Obstet and Gynecol* 1983;35:23-9.
- 22) Hessho T, Sakamoto H, Shiotani T, Komori S, Koyama K. Fetal loss in the first trimester after demonstration of cardiac activity. *Hum Reprod* 1995; 10:2696-9.