

국내 자연유산에 의한 수태산물 핵형분석에서 관찰된 염색체 이상의 발생율과 유형: 6년(2005-2010)간 수태산물 470예 분석

서울의과학연구소 세포유전학팀

한성희 · 안정욱 · 양영호 · 김영진 · 조한익 · 이경률

Incidence and Spectrum of Chromosomal Abnormalities associated with Spontaneous Abortions in Korea: 470 Products of Conception over a Period of 6 Years (2005-2010)

Sung-Hee Han, Jeong-Wook An, Young-Ho Yang, Young-Jin Kim, Han-Ik Cho and Kyoung-Ryul Lee

Division of Cytogenetics, Department of Laboratory Medicine, Seoul Clinical Laboratories, Seoul, Korea

Purpose: Cytogenetic analysis of spontaneous abortions (SABs) provides valuable information to establish the causes of fetal loss, information that is essential to provide accurate reproductive and genetic counseling couples. Such analysis also provides information on the frequencies and types of chromosomal abnormalities and associated risks of recurrence. However, there have only been a few reports of chromosomal abnormalities in small samples of SABs in the Korean population. Here, we report the incidence and spectrum of chromosomal abnormalities for cases of 470 SAB in Korea.

Material and Methods: Between 2005 and 2010, a total of 470 products of conception (POC) resulting from SABs were submitted to our laboratory for cytogenetic analysis from various medical sites in Korea. The incidences and types of specific chromosomal abnormalities were determined. The abnormalities were distinguished by gestational age at the time of SAB and by maternal age.

Results: The frequency of chromosomal abnormalities in POCs was 54.3% (255/470), including 228 (89.3%) numerical and 27 (10.7%: 3 balanced and 24 unbalanced) structural abnormalities. Among the numerical abnormalities, trisomy was predominant (67.0%), followed by monosomy X (12.5%), polyploidy (8.2%), triple X (0.8%), and autosomal monosomy (0.8%). The overall sex ratio (male: female) among the 470 POCs with normal and abnormal karyotypes were 0.58 and 0.65, respectively. Trisomies were identified for each autosome, with the exceptions of 1, 3, and 19. Among the 171 autosomal trisomies, trisomy 16 was the most common (19.9%), followed by trisomy 22 (13.5%), trisomy 21 (12.3%), trisomy 15 (9.9%), and trisomies 18 and 13 (5.3%). The frequency of chromosomal abnormalities decreased with gestational age and increased with maternal age, but only because of increases in trisomies and complex abnormalities.

Conclusions: We have presented a large collection of cytogenetic data for SABs collected during the past 6 years and provided a database for prenatal genetic counseling of parents who have experienced SABs in Korea.

Key Words: Spontaneous abortions, Products of conception, Karyotype, Chromosome abnormalities

접 수: 2011년 5월 19일

수정본접수: 2011년 6월 3일

게재승인일: 2011년 6월 10일

게재일: 2011년 6월 30일

책임저자: 이경률

우140-809 서울특별시 용산구 동빙고동 7-14 서울의과학연구소

Tel: 02)330-2013, Fax: 02)790-6509, E-mail: dkrlee@scclab.co.kr

서 론

자연 유산이란 임신 20주 이전에 자연적으로 임신이 소실 되는 것을 말하며 자연 유산의 80% 이상이 임신 첫 12주 이내에 일어나고 이후 그 빈도가 급격히 떨어진다¹⁾. 임상적으로 진단되는 임신의 약 15-20%는 자연유산으로 끝나며²⁾, 그 대부분이 임신 1기 동안에 일어난다. 자연 유산의 원인은 불분명한 경우가 가장 많고 그 외에 면역학적 요인, 내분비계의 이상, 정신적 요인, 방사선 조사, 약물, 환경오염, 태아감염, 해부학적 이상 등의 여러 가지 요인을 들 수 있으나, 12주 이내의 자연 유산의 50% 이상이 태아의 염색체 이상에 기인한 것으로 알려져 있다^{3, 4)}. 자연 유산에 의한 수태산물에 대한 세포유전학적 연구는 염색체 이상의 종류와 발생 빈도 및 재발 위험을 등을 관찰함으로써 다음 임신에 대한 유전상담에 유용한 정보를 제공할 수 있어 중요하다⁵⁻⁹⁾. 염색체 이상의 종류와 발생 빈도는 대상 인종, 임신 주수, 산모의 나이 및 세포유전학적 방법에 따라 다양하게 관찰될 수 있는데, 지금까지 국내에 자연 유산에 대한 세포유전학적 보고는 1979년부터 10편 미만으로 염색체 이상의 발생율과 유형, 적용한 세포유전학적 방법에 있어서 그 결과에 차이를 보이고 있다(Table 1). 이에 저자들은 2005년에서 2010년까지 6년간 서울의과학연구소 세포유전학팀에 의뢰된 자연유산에 의한 수태산물 470예에 대해 핵형 분석하여 관찰된 염색체 이상의 종류와 발생빈도를 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2005년 1월부터 2010년 12월까지 6년 동안 국내 병원 혹은 개인 산부인과에서 서울의과학연구소 세포유전학팀에 의뢰된 자연유산에 의한 수태산물 470예를 대상으로 하였다. 자연 유산의 정의는 임신 20주 이전에 자연적으로 임신이 소실된 경우로 하였다. 대상군의 유산 당시 평균 임신 주수는 8.8 ± 3.3 주(4-18주)였고, 평균 나이는 32.7 ± 4.5 세(20-46세)였다.

2. 방법

수태산물은 배양용 배지가 포함된 운송용기에 담아서 건조되거나 오염되지 않게 처리하고 신속하게 실험실로 옮긴 후 자연 수태산물을 BIOAMF-2 (Biological, Inc., Kibbutz Beit Haemek, Israel) 배양액이 담긴 분리용 접시에 옮겼다. 그리고 배양액으로 수태산물을 2-3회 세척한 후 멸균된 칼로 조직을 잘게 잘라 세포 부유액을 만들었다. 이후 2개의 배양용기(in-situ dish)에 나누어 접종하고, 1개의 조직 배양 플라스크에 대비(back-up)용으로 함께 배양하였다. 염색체 검사는 모체세포 오염에 의한 오류를 방지하기 위해 직접법(direct method)과 배양법(long term culture method)을 동시에 시행하여 결과를 비교하였다.

Table 1. Literature Review of Cytogenetic Studies of Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions in Korea

Authors	Year of publication	Cytogenetic technique	No. of cases	Detection rate of chromosome abnormality	Most common abnormality
Kim et al. ¹⁶⁾	1979	long-term	62	19.4%	triploidy, 45,X
Lee et al. ¹⁷⁾	1988	long-term	30	50%	triploidy
Jin et al. ¹⁸⁾	1994	long-term (flask)	103	43.7%	trisomy 16
Choi et al. ¹⁵⁾	1995	direct+long-term (flask)	573	66%	trisomy 16
Yoo et al. ¹⁹⁾	1997	direct	57	46.1%	trisomy 16
Choi et al. ²⁰⁾	1998	long-term (flask)	20	30%	trisomy 16
Kim et al. ²¹⁾	1999	direct+long-term (flask)	70	40%	trisomy 21
Ko et al. ²²⁾	2005	long-term (flask)	76	43.4%	trisomy 18
Hwang et al. ²³⁾	2009	long-term (flask)	75	32%	trisomy 21
Present study	-	direct+long-term (in-situ+flask)	470	54.3%	trisomy 16

1) 직접법

배양용기에 배양액을 넣고 수태산물의 villi부분을 선택하여 24시간 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양한 후 colcemid 100 µL를 넣고 1시간 배양기내에서 방치하였다. 배양액을 버리고 저장액(hypotonic solution, 0.1% sodium citrate)을 넣고 20분 방치 후에 고정액(methanol : acetic acid=2 : 1)을 동량중첩(prefix)하고 7분간 방치한 후 배지를 모두 버리고 고정액을 넣고 15분 방치하는데 이것을 2번 반복하였다. 함수 과정으로 methanol (100%-70%-50%-20%-DW, 각 단계별로 2분 시행) 처리한 후에 60% acetic acid에 5-10초 노출시켰다. 다음 슬라이드에 2-3방울 떨어뜨리고 잘 말린 후에 염색을 시행하였다.

2) 배양법

배양액은 5 mL의 BIOAMF-2를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 약 1-2주간 배양을 시작하였다. 배양 후 약 5-7일째 세포의 부착 여부를 도립현미경(inverted microscope)으로 확인하고 배양액을 교환해 주고, 세포성장을 촉진시키기 위해 배양액을 계속 교환해 주며 배양을 진행하였다. 도립현미경으로 관찰했을 때 섬유아세포의 집락수가 5-6개 보이고 증기상 세포(round cell)가 전체세포의 20-30% 관찰되면 세포를 수확하였다. 도립현미경으로 배양 집락을 확인하고 수확 시기가 결정되면 배양 용기에 분열정지제인colcemid (10 µL/mL, GibcoBRL, Grand Island, NY, U.S.) 용액을 50 µL 첨가하고 37°C 배양기에서 1시간 더 배양하였다. 배양액을 제거하고 저장액(hypotonic solution, 0.1% sodium citrate) 2 mL을 첨가한 후 수확 상자(온도 20-25°C, 습도 60-75% 유지)에서 20분간 저장처리 하였다.

고정액(methanol : acetic acid=2 : 1) 1 mL을 넣어 7분간 고정을 시키고 같은 방법으로 2-3차례 반복하여 세포를 고정하였다. 고정 단계가 끝나면 배양용기에서 덮개유리(coverglass)를 분리하고 옮겨 붙일 슬라이드에 봉입제(Canada balsam)를 1방울 떨어뜨리고 그 위에 조심스럽게 덮개유리를 붙인 후 40분 동안 86°C 배양기에 방치하였다(aging). 건조된 슬라이드는 0.5% Trypsin-EDTA (Gibco BRL, Grand Island, NY, U.S.)으로 10초 동안 처리하고 Giemsa (Sigma-Aldrich, Strinheim, Germany) 용액으로 3-4분간 염색(G banding)한 후 증류수로 세척하고 자연건조시켰다.

3) 핵형 분석

염색체 분석은 광학 현미경(Olympus, BX41)을 이용하여 한 검체당 세포분열 증기세포 20개를 관찰하고, 모자이시즘(mosaicism)이 의심되는 경우는 해당되는 염색체 번호만 추가적으로 30개까지 관찰하였다. 그리고 세포분열 증기세포 중 가장 양호한 염색체 2개를 선택하여 자동 핵형 분석기(Auto Image Analyzer; PowerGene 810, Applied Imaging, USA)를 이용하여 이미지를 찍고, 핵형 결정은 ISCN(International System for Human Cytogenetics Nomenclature, 2009)의 표기방식에 따라 결정하였다.

결 과

1. 염색체 이상의 발생빈도

정상 여자 핵형은 46,XX이고 정상 남자 핵형은 46,XY를 기준으로 수적인 이상과 구조적인 이상으로 분류하였다. 총 470예의 수태산물의 염색체 핵형 분석결과 염색체 이상 빈도는 54.3% (255/470예)였다. 비정상 핵형 255예 중 남아는 39.2% (100예), 여아는 60.8% (155예)로 남녀 성 비율은 0.65이었고, 정상 핵형215예 중 남아는 36.7% (79예), 여아는 63.3% (136예)로 남녀 성 비율은 0.58을 보여 정상 핵형과 비정상 핵형에서 모두 여아가 높았다. 염색체 이상이 관찰된 255예 중, 수적 이상이 89.3% (228예)로 대부분을 차지하였는데 수적 이상 중에는 상염색체의 삼염색체(autosomal trisomy)가 67.0% (171/255예)로 가장 빈도가 높았고, 단일염색체 X (12.5%), 다배수성(polyploidy)이 8.2% 순이었다. 그 외에 삼염색체 X, 상염색체의 단일염색체(autosomal monosomy)가 각각 0.8%를 차지하였다. 염색체의 구조적 이상은 10.7%(27예)로 관찰되었다(Table 2).

2. 수태산물에서 보인 염색체 이상의 종류

1) 수적 이상과 임신주수

상염색체의 삼염색체 171예 중 16번 염색체가 19.9%(34예)로 가장 많았으며, 22번 (13.5%, 23예), 21번(12.3%, 21예), 15번(9.9%, 17예), 18번과 13번(각각 5.3%, 9예), 9번(4.7%, 8예) 등의 염색체 순으로 관찰되었다. 그리고 상염색체의 단일염색체 2예로는 21번과 22번 염색체가 1건씩

Table 2. Frequencies of Numerical and Structural Chromosomal Abnormalities in Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions

		Male	Female	No.	%	
Abnormal karyotype	Numerical abnormalities	Autosomal trisomy	92	171	67.0	
		Autosomal monosomy	2	2	0.8	
		45,X		32	12.5	
		47,XXX		2	0.8	
		Polyploidy	9	12	8.2	
		Total	90	138	228	89.3
	Structural abnormalities	Reciprocal translocation		1	1	0.4
		Robertsonian translocation		2	2	0.8
		Deletion		5	5	2.0
		Derivative	2	3	5	2.0
Addition		4	1	5	2.0	
Isochromosome		1		1	0.4	
Others		3	5	8	3.1	
Total	10	17	27	10.7		
Total		100	155	255	54.3	
Normal karyotype		79	136	215	45.7	
Total		179	291	470	100	

Table 3. Autosomal Trisomies Identified in Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions

Trisomy	No. of cases	Maternal age (years)	Gestational weeks
16	34	22-41	4-13
22	23	29-41	7-13
21	21	24-38	7-25
15	17	31-40	6-10
18	9	30-43	11-18
13	9	31-41	6-19
9	8	23-42	8-12
2	7	30-39	8-11
17	6	31-43	6-12
6	5	38-43	7-12
20	5	31-40	7-14
7	5	24-38	8-9
10	4	27-38	8-11
14	4	39	12
8	4	35	8
5	3	29	12
11	3	35	9
12	2	31-41	9-10
4	2	33	11

관찰되었다. 본 연구에서 1번, 3번, 19번 염색체의 삼염색체는 관찰되지 않았다(Table 3). 각각의 삼염색체에서 관찰된 유산 시 임신 주수를 보면 염색체 이상 중 흔하게 관찰된 16, 22, 15번 삼염색체는 임신 1기에서만 관찰되었고, 우리가 신생아에서 볼 수 있는 단일염색체X, 21, 13, 18번 삼염색체는 임신 2기까지 관찰되었다(Table 3).

2) 구조적 이상

염색체의 구조적 이상은 비정상핵형 255에 중 27예(10.7%)가 관찰되었는데, 균형 전좌(balanced translocation)와 불균형 전좌(unbalanced translocation)로 나누었을 때 균형 전좌가 3예, 불균형 전좌가 24예가 관찰되었다(Table 2). 총 27예의 구조적 이상 가운데 6예에서 부모 염색체검사를 시행하였는데 그 중 2예는 태아에서 처음 발생되었고(*de novo*), 4예에서 부모에서 균형전좌가 확인되었다. 그 중 로버트소니안 전좌(45,XX,der(13;14)(q10;q10))가 1예 있었는데 이는 모에서 유래 되었음을 알 수 있었다. 또한 der(1)t(1;9)은 모로부터 유래 되었음을 확인할 수 있었고, der(4)t(4;6), der(6)t(6;8)은 각각 부와 모에서 유래 되었음을 확인하였다. 그 외에 5예의 부가형(15q+:3예, 7p+, 21q+), 1예의 등완 염색체(i(Y)), 그리고 8예에서 수적 이상과 구조적 이상을 동반한 염색체 재배열(complex chromosomal rearrangements)이 관찰되었다(Table 4).

3. 산모 나이와 비정상 핵형

검사 대상 산모의 나이분포는 20-46세였으며, 그 중 30-34세(42.9%)가 가장 많았으며, 염색체의 정상군 32.2±4.1세와 이상군의 33.2±4.8세로 평균 나이에는 유의한 차이가 없었다. 산모 나이에 따른 비정상 핵형의 빈도를 분석한 결과, 29세 미만에서 46.7%, 30-34세에서 51.7%, 35-39세

Table 4. Structural Chromosomal Abnormalities in Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions

Type	Karyotype
Balanced translocation	
Reciprocal	46,XX,t(8;11)(p22;q21)
Robertsonian	45,XX,der(13;14)(q10;q10)mat
Unbalanced translocation	
Deletion	46,XX,del(10)(q11.2)[10]/46,XX[43]
	46,XX,del(4)(p14)
	46,XX,del(5)(p15.1)
	46,XX,del(7)(q32)[32]/46,XX[18]
	46,X,del(X)(q21.2)[12]/45,X[8]
Derivative	46,X,der(X)t(X;2)(p22.1;p21),der(2)add(2)(p11.2) del(2)(q14.?q24)
	46,XX,der(1)t(1;9)(q44;q22.3)mat
	46,XX,der(4)t(4;6)(p12p25)pat
	46,XY,der(6)t(6;8)(q25.1;q24.3)mat
	46,XY,der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)
Addition	46,XX,add(15)(q24)
	46,XY,add(7)(p11.2)
	46,XY,add(21)(q22.3)
Isochromosome	46,X,i(Y)(q10)
Others	46,XY,+13,der(13;13)(q10;q10)
	47,XX,t(11;22)(q23.3;q11.2),+22[10]/46,XX,t(11;22)[10]
	47,XX,t(2;13)(p21;q32),+13
	46,X,+15[10]/47,X,i(X)(q10),+15[2]/46,XX[8]
	46,XX,der(13;14)(q10;q10),+18
	46,XY,add(14)(q32.1)[12]/46,XY,-14,+r[4]/46,XY[4]
	45,XX,der(14;15)(q10;q10)[9]/45,XX,der(14;22)(q10;q10)[9]/45,XX,der(14;21)(q10;q10)[7] /45,XX,+1,der(1;14)(q10;q10),-15[2]/46,XX[3]
	47,XY,+mar

Table 5. Probability of Abnormal Karyotype according to Maternal Age in Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions

Maternal age (years)	Total	%	Abnormal karyotype	
			No.	%
<29	109	23.3	51	46.7
30-34	201	42.9	104	51.7
35-39	120	25.2	71	59.1
40-	40	8.6	29	72.5
Total	470	100	255	54.3

에서 59.1%, 40세 이상에서 72.5%로 연령이 증가함에 따라 비정상 핵형의 빈도가 높았다(Table 5). 산모나이에 따른 염색체 이상 빈도의 증가에 대해 각각 염색체 이상별로 상대적인 빈도를 보면, 단일염색체, 다배수성, 구조적 이상은 산모 나이에 따른 큰 변화가 관찰되지 않았으나 삼염색체와 수적

이상과 구조적 이상이 동반된 염색체 재배열은 산모 나이가 증가함에 따라 그 빈도가 증가하였다(Fig. 1).

염색체 이상별 산모나이의 상관성을 보면 삼염색체와 수적이상과 구조적 이상을 동반한 염색체 이상에서 정상핵형을 보인 대상군의 평균나이에 비해 유의하게 대상군의 나이가 많은 반면 다른 염색체 이상에서는 유의한 차이가 없음을 확인할 수 있었다(Table 6).

4. 임신 주수

자연유산에 의한 수태산물의 대상 산모 임신 주수 분포는 4-18주였고, 그 중 7-9주가 56.5% (265/470예)로 가장 많았으며, 4-6주(18.9%, 89예), 10-12주(13.3%, 63예), 그리고 13주 이상(11.3%, 53예)의 순이었다. 임신 주수에 따른 비정상 핵형의 빈도를 분석한 결과 임신 주수가 낮을수록 높은 빈도를 보였다(Table 7).

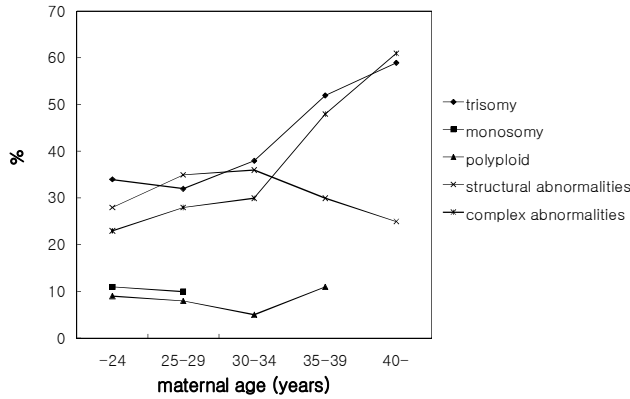


Fig. 1. Relative frequencies of trisomy, monosomy X, polyploidy and complex abnormalities according to maternal age in products of conception resulting from spontaneous abortions.

고찰

1960년대부터 자연유산 수태산물에 대한 세포유전학적 보고들이 이루어져 왔는데 수태산물에서 관찰된 염색체 이상의 빈도는 32-54%로 다양하게 관찰되었다¹⁰⁾. 이는 검체 대상의 수, 임신 주수, 산모나이에 영향을 받을 수 있으며, 염색체 검사시행에 있어 수태산물의 배양실패율이 양수나 말초혈액과 같은 다른 염색체 검사 대상 검체들에 비해 높기 때문에 적용한 세포유전학적 기법에 따라 염색체 이상빈도가 달라질 수 있다^{11, 12)}. 수태산물에 대한 염색체 분석방법에는 직접법과 배양법이 있는데 직접법은 배양법에 비해 1-3일 내로 신속한 결과를 얻을 수 있고, 모체세포의 오염 없이 순수한 태아 세포를 관찰 할 수 있다는 장점이 있으나, 많은 세포를 관찰, 분석할 수 없으므로 정확도가 떨어지며 불안정하고 효소처리가 잘 안되므로 구조적 이상을 잘 관찰할 수 없는 단점이 있다^{13, 14)}. 따라서 수태산물의 핵형 분석을 위한 세포유전학적 방법은 직접법과 배양법을 병행하여 결과를 분석하는 것이 바람직한데, 국내 보고에서 사용된 세포유전학적 방법들을 보면 대부분이 배양법만을 단독으로 사용하고 있었다(Table 1). 본 연구에서는 직접법과 배양법을 병행하였고, 배양법에서 배양 용기는 플라스크와 in situ dish를 같이 사용하였다.

본 연구 대상 중 5예에서 46,XX와 46,XY가 혼재 되어 보였는데 이는 배양법에서 한 개의 용기에서만 46,XX/46,XY가 관찰되었고, 직접법에서는 46,XY 만 관찰되어 모체세포의 오염을 배제하였다. 그리고 세균오염으로 인한 부적합 검체 10예와 세포 미부착으로 인한 배양실패 3예는 통계에서 제외시켰다.

Table 6. Correlations of Karyotype Results and Maternal Age

Karyotype	Maternal age (mean)	SD	P value*
Normal	35.1	5.4	
Abnormal	37.4	4.9	<0.05
Polyploid	34.3	5.5	0.2
Monosomy	35.3	5	0.8
Trisomy	38.1	4.2	<0.05
Structural abnormalities	35.6	4.1	0.3
Complex abnormalities	40.3	4.9	<0.05

*Mean age in relation to maternal mean age of normal karyotypes. Independent t tests were used to determine whether maternal age was correlated with specific karyotype results. A significance level of 0.05 was used in this study. Data were analyzed using SPSS software version 13.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Table 7. Probability of Abnormal Karyotype according to Gestational Age in Products of Conception Resulting from Spontaneous Abortions

Gestational weeks	Total	%	Abnormal karyotype	
			No.	%
4-6	89	18.9	52	58.4
7-9	265	56.5	146	55.0
10-12	63	13.3	34	53.9
13-	53	11.3	23	43.3
Total	470		255	54.3

국내에서의 자연유산 수태산물에서 관찰된 염색체 이상 빈도를 보면 Choi 등¹⁵⁾의 보고에서 염색체 이상 빈도가 66%로 월등히 높게 관찰되었고 그 외 보고¹⁶⁻²³⁾에서는 32-50%로 외국의 보고와 비슷한 정도였다(Table 1). 본 연구에서는 자연유산 수태산물에서 관찰된 염색체 이상의 빈도는 54.3% (255/470)로 Choi 등¹⁵⁾의 66%보다 낮았으나 다른 국내 보고에 비해 높게 관찰되었다¹⁶⁻²³⁾. 세포유전학적 기법의 발달로 모체세포나 미생물 오염을 그리고 배양실패율이 낮아지면서 자연유산에 의한 수태산물에서 관찰되는 염색체 이상 빈도는 앞으로 증가될 것으로 생각된다. Menasha 등¹¹⁾은 세포유전학적 기술발달과 관련하여 자연유산 수태산물에서 관찰되는 염색체 이상에 대한 검출율의 차이를 비교하였는데, 일반 고형조직 배양기법을 사용한 1990-1997년에는 42.8% 이었고, 태어나 태반조직에서 용모막 세포를 분리하여 효소처리 후 배양하는 방법을 적용한 1998-2002년에는 65.8%로 염색체 이상 검출율의 확연한 증가가 관찰되었다.

본 연구에서 비정상핵형과 정상핵형으로 관찰된 예의 남녀 성비를 보면 모두 여아가 높았는데(Table 2) 이는 대상군의 나이, 임신 주수, 세포유전 검사법과는 무관하게 지금까지 국

내외 보고에서 동일하게 관찰되는 결과로, 이러한 결과는 수정관에서의 염색체 이상을 남·여별로 비교한 Jamieson 등²⁴⁾의 보고에서도 비정상 핵형 남·여 비율이 0.48로 여아가 높은 것을 알 수 있다. 또한 정자와 난자의 염색체 이상을 관찰하였을 때 난자에서 염색체 이상의 평균 빈도는 약 18-19%이고 정자의 염색체 이상의 평균 빈도는 3-4%로 나타나 난자에서 염색체 이상이 많이 일어나며, 특히 염색체의 수적 이상에서 난자의 이상 빈도가 높음이 보고된 바 있다.

염색체 이상 중에서는 상염색체의 삼염색체가 본 연구에서 관찰된 비정상 핵형 중 67.0%로 가장 높은 빈도로 관찰되었는데, 이는 국내에서 지금까지 가장 높게 보고된 Choi 등¹⁵⁾의 63.8%보다 높은 빈도이며, Sanchez 등²⁵⁾의 62.3%, Masaji 등²⁶⁾의 61.2%로 본 연구에서 더 높은 빈도로 관찰되었다.

본 연구에서 상염색체의 삼염색체 중에서는 16번 삼염색체(19.9%, 34/171)가 전체 비정상핵형 255예 중 13.3%, 삼염색체 171예 중 19.9%로 가장 흔하게 관찰되었고 22번, 21번, 15번 삼염색체의 순이었는데, 이는 이전의 보고들과 유사하였다^{12, 27-29)}. 지금까지 국내 몇몇 보고²⁰⁻²²⁾에서는 21번 삼염색체 혹은 18번 삼염색체가 가장 흔한 염색체 이상으로 보고하였는데(Table 1), 이는 대상군의 임신 주수나 나이도 영향이 있겠지만 검사실 세포유전학적 기법의 차이에 의한 모체세포나 박테리아 오염 혹은 배양실패로 인해 16번 삼염색체에 대한 검출율이 낮아진 것이 영향을 끼친 것으로 생각된다. 세포유전학적 기술발달과 관련하여 자연유산 수태산물에서 관찰되는 염색체 이상에 대한 검출율의 차이를 비교한 Menasha 등¹¹⁾에 의한 보고에 의하면 일반 고형조직 배양기법을 사용한 1990-1997년에 가장 흔한 염색체 이상은 21번 삼염색체이었고, 태어나 태반조직으로 용모막 세포를 분리하여 효소처리 후 배양하는 방법을 적용한 1998-2002년에는 16번 삼염색체가 가장 흔한 염색체 이상이었다. 삼염색체가 모든 염색체에서 비슷한 빈도로 일어나지 않는 것은 각 염색체의 길이, 중심체의 위치, 그리고 재조합 빈도 등이 삼염색체를 일으키는 주된 기전인 염색체의 비분리 현상에 영향을 미치기 때문으로 보고 있다³⁰⁾. 또한 본 연구에서 1번, 3번, 19번 염색체에서는 삼염색체가 관찰되지 않았는데, 이는 이들 염색체들이 특히 유전자가 풍부하게 존재하는 염색체로 삼염색체일 경우 정상적인 태아성장이 이루어지지 않아 임신에 대한 인지도 되기 전에 유산되기 때문에 자연 수태산물 핵형 분석에서는 관찰이 어려운 것으로 판단된다.

자연유산 시 임신 주수를 보면 흔하게 관찰된 16, 22, 15

번 삼염색체 등은 임신 1기에서만 관찰되었고, 신생아에서 볼 수 있는 21, 13, 18번 삼염색체 등은 임신 2기까지 관찰되어 꽤 오랫동안 생존이 가능하다는 것을 알 수 있었다. 특히 임신 2기에서 관찰된 염색체 이상 중 단일염색체X는 전체 비정상 핵형 255예 중 32예(12.5%)로 삼염색체 16 다음으로 흔하였고 임신 2기에서는 가장 흔한 염색체 이상으로 관찰되어 Craver과 Kalousek에 의한 보고³¹⁾와 일치하였다.

본 연구에서 구조적 이상은 비정상핵형 중 10.7% (27예)에서 관찰되었는데, Choi 등¹⁵⁾의 7.4%, Ko 등²²⁾의 9.1%, Nagashi 등²⁶⁾의 6.1%, Eiben 등¹²⁾의 4.7% 등 이전의 국내외 보고들과 비교하면 높은 빈도로 관찰되었다. Kajii 등²⁷⁾은 유산 회수와 염색체 이상과의 연관성에서 유산 회수가 높을수록 구조적 이상의 빈도가 높음을 보고하였는데, 본 연구에서는 구조적 이상을 보인 27예에서 이전 유산 과거력과의 연관성은 발견되지 않았다. 염색체 이상 중 불균형 전좌가 자연유산의 원인인 경우, 이러한 불균형 전좌가 태아에서 처음으로 형성(de novo)되었는지, 부모 중 한쪽이 균형 보인자로 감수분열 과정 중 비대칭적 분리(asymmetric segregation)에 의해 형성되었는지에 따라 재발 위험도 등 추후 임신을 위한 유전상담이 중요하기 때문에 부모에 대한 염색체 검사가 필요하다³²⁾. 구조적 이상 중 로버트소니안 전좌(Robertsonian translocation)의 경우 두 개의 차단부(acrocentric) 염색체가 동원체에서 융합되어 하나의 염색체를 구성함으로써 발생되며, 불균형 전좌의 발생 위험율은 전좌되는 염색체의 형태에 따라 달라진다²¹⁾. 또한 상호 전좌(reciprocal translocation)는 전좌되는 염색체의 조각(segment)에 따라 감수분열시 분리 형태(segregation mode)가 달라지게 되므로 자연유산 혹은 염색체 이상이 있는 신생아(viable abnormal offspring) 분만에 대한 위험도가 결정된다³²⁾. 따라서 부모 염색체 검사를 통해 그 결과 균형전좌의 보인자의 경우 그 전좌의 형태에 따라서 유전상담을 하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 구조적 이상 27예 중 6예에서 부모 염색체 검사를 시행하였는데 그 중 4예에서 부모 중 한쪽이 균형전좌를 갖는 보인자이었다. 이런 경우는 추후 임신 시 감수분열에서 염색체의 불균형 재배열을 가진 태아가 발생할 가능성이 높기 때문에 태아의 용모막 또는 양수를 이용한 산전 염색체검사가 반드시 시행되어야 한다.

비정상 핵형의 빈도를 유산 시 산모 나이에 따라 분석한 결과 나이가 증가함에 따라 비정상 핵형의 빈도가 높았는데, 염색체 이상별 산모 평균나이와의 상관성을 보면(Table 6) 삼염색체와 수적이상과 구조적 이상이 같이 있는 염색체 이

상의 경우에서 유의하게 산모 평균나이가 높은 반면 다른 이상에서는 유의한 차이가 없었다. 따라서 유산 시 산모 나이가 증가함에 따라 비정상 핵형의 빈도가 높아지는 것은 삼염색체와 수적이상과 구조적 이상이 같이 있는 염색체 이상의 빈도가 높아지기 때문이라는 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 국내외 보고^{15-23, 25, 26)}와 비교하였을 때 상염색체 삼염색체 빈도가 높게 관찰된 것은 고령산모의 원인이 크게 작용한 것으로 판단된다. 삼염색체 발생은 난자의 감수 분열 시 염색체 교차 현상 감소로 인한 염색체의 비분리 현상이 주된 기전으로 받아들여지며 최근 문헌에 의하면 산모 나이가 증가함에 따라 재조합(recombination) 빈도가 감소하면서 비정상적인 재조합이 증가하는 경향이 있어 염색체의 비분리 빈도가 높아지는 것과 관련이 있는 것으로 보고하고 있다^{30, 33-35)}. 본 연구에서 수적이상과 구조적 이상이 같이 존재하는 염색체 이상의 경우에는 그 예가 적기 때문에 산모나이와의 관련성을 규명하기 위해서는 추후 보다 많은 예의 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다. 또한 임신 주수에 따라 비정상 핵형의 발생 빈도를 분석한 결과 임신 주수가 낮을수록 높은 빈도를 보였는데, 이는 자연 유산 시 임신 주수는 염색체 이상과 밀접한 관계가 있으며 임신초기 자연 유산일수록 염색체 이상의 가능성이 높은 것으로 알려져 있어¹²⁾ 이에 일치하는 결과를 보였다. 따라서 임신 초 자연 유산 시 수태산물에 대한 염색체 분석이 더욱 의미가 크다.

이상과 같이 본 연구에서 최근 6년 동안 자연유산에 의한 수태산물 470예를 대상으로 분석한 염색체 이상의 발생 빈도와 유형에 대한 정보는 보다 많은 대상군을 포함하면서 향상된 현재의 세포유전학 기법이 반영된 결과로 한국인에서 산전 유전상담을 위한 기초자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.

국문초록

목적: 자연 유산에 대한 세포유전학적 분석은 유산의 원인을 규명하여 부모에게 정확한 유전상담을 위한 귀중한 정보를 제공한다. 또한 그 분석결과를 통해 염색체 이상의 빈도와 유형을 알 수 있으며 그에 따른 재발 위험도를 산정할 수 있다. 하지만 아직까지 한국인에서는 자연유산에서 관찰되는 염색체 이상에 대해 몇몇의 보고들이 있으나 그 대상군의 수가 적다. 이에 저자들은 자연유산에 의한 수태산물 470예에서 관찰되는 염색체 이상의 발생 빈도와 종류에 대해 보고하고자 한다.

대상 및 방법: 2005년부터 2010년까지 국내 병원이나 개인 산부인과에서 서울의과학연구소에 염색체 분석이 의뢰된 자연유산에 의한 수태산물 470예를 대상으로 염색체 핵형 결과와 함께 유산시 임신 주수와 산모나이에 따른 염색체 이상의 종류와 발생빈도를 분석하였다.

결과: 총 470예의 자연 유산에 의한 수태산물의 염색체 핵형을 분석한 결과 염색체 이상 빈도는 54.3% (255/470)였다. 그 중 수적 이상이 89.3% (228/470)로 대부분을 차지하였는데, 수적 이상 중에는 상염색체의 삼염색체가 67.0%였고, 단일염색체 X가 12.5%, 다배수성은 8.2%, 삼염색체 X가 0.8%, 상염색체의 단일염색체가 0.8%였다. 구조적 이상은 10.7% (27/470)으로 균형전좌가 3예, 불균형전좌는 24예이었다. 남녀 성비는 정상핵형과 비정상핵형 모두 0.58과 0.65으로 여아에서 높게 나타났다. 상염색체의 삼염색체는 1번, 3번, 19번 염색체를 제외하고 모두 관찰되었는데, 16번 삼염색체가 19.9%로 가장 많았으며, 22번 염색체가 13.5%, 21번 염색체가 12.3%, 15번 염색체가 9.9%, 13번과 18번 염색체가 각각 5.3% 순으로 관찰되었다. 염색체 이상의 빈도는 임신 주수가 낮을수록, 산모나이가 많을수록 높았는데, 산모나이가 많을수록 삼염색체와 수적이상과 구조적 이상이 같이 있는 염색체 이상의 빈도가 높았다.

결론: 본 연구는 최근 6년간의 자연유산에 의한 수태산물 470예에 대해 세포유전학적 결과를 분석하였고, 이는 국내 자연유산 환자에게 적절한 산전유전상담을 위한 기초자료로서 유용할 것으로 생각된다.

References

- 1) Harlap S, Shiono PH. Alcohol, smoking, and incidence of spontaneous abortions in the first and second trimester. *Lancet* 1980;2:173-6.
- 2) Pezeshki K, Feldman J, Stein DE, Lobel SM, Grazi RV. Bleeding and spontaneous abortion after therapy for infertility. *Fertil Steril* 2000;74:504-8.
- 3) Rock JA, Zacur HA. The clinical management of repeated early pregnancy wastage. *Fertil Steril* 1983;39:123-40.
- 4) Simpson JL. Genes, chromosomes, and reproductive failure. *Fertil Steril* 1980;33:107-16.
- 5) De la Chapelle A, Schröder J, Kokkonen J. Cytogenetics of recurrent abortion or unsuccessful pregnancy. *Int J Fertil* 1973;18:215-9.
- 6) Hassold TJ, Jacobs PA. Trisomy in man. *Annu Rev*

- Genet 1984;18:69-97.
- 7) Morton NE, Chiu D, Holland C, Jacobs PA, Pettay D. Chromosome anomalies as predictors of recurrence risk for spontaneous abortion. *Am J Med Genet* 1987; 28:353-60.
 - 8) Warburton D. Genetic factors influencing aneuploidy frequency. *Basic Life Sci* 1985;36:133-48.
 - 9) Yamamoto M, Ito T, Watanabe M, Watanabe G. Causes of chromosome anomalies suggested by cytogenetic epidemiology of induced abortions. *Hum Genet* 1982; 60:360-4.
 - 10) Bowen P, Lee CS. Spontaneous abortion. Chromosome studies on 41 cases and an analysis of maternal age and duration of pregnancy in relation to karyotype. *Am J Obstet Gynecol* 1969;104:973-83.
 - 11) Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. *Genet Med* 2005;7:251-63.
 - 12) Eiben B, Bartels I, Bahr-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.
 - 13) Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rossella F, Terzoli GL, Ferrari M, et al. Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet* 1983;63:349-57.
 - 14) Yang YH, Park YW, Lee MS, Park CK. Chromosome analysis of chorionic villi biopsy in the first trimester prenatal diagnosis. *Kor J Obstet Gynecol* 1985;28:460-7.
 - 15) Choi SK, Park SY, Hwang JH, Ryu HM, Jun JY. Cytogenetic studies from chorionic villi of 573 spontaneous abortion. *Kor J Obstet Gynecol* 1995;38:2271-7.
 - 16) Kim KY, Yun DJ, Yang JS, Hahn S. Cytogenetic analysis of conceptus material of Korean women at first trimester. *Yonsei Med J* 1979;20:113-26.
 - 17) Lee YB, Kang KI, An KJ, Lee SJ, Jeon JS. Chromosome analyses from chorionic villi samples in early pregnancy wastages. *Kor J Perinatol* 1988;31:879-88.
 - 18) Jin SJ, Seo SS, Kim KS, Kim NK, Kim JD. A cytogenetic study of abortuses with recurrent spontaneous abortion. *Kor J Perinatol* 1994;37:2328-34.
 - 19) Yoo TW, Hwang JH, Park MI, Chung SR, Hwang YY, Shin SH, et al. Chromosome analysis from chorionic villi samples in recurrent spontaneous abortion. *Kor J Perinatol* 1997;18:408-13.
 - 20) Choi YY, Kim HM, Son YS, Kim JI. Chromosomal analysis of abortus chorionic villi in missed abortion. *Kor J Obstet Gynecol* 1998;41:2097-101.
 - 21) Kim JS, Choung TB, Park JW, Kim JR, Kang JB, Kim HB, et al. Cytogenetic study of abortuses with spontaneous abortion. *Kor J Obstet Gynecol* 1999;42:1408-15.
 - 22) Ko HS, Kim YH, Ahn HY, Park IY, Lee Y, Kim SJ, et al. Cytogenetic analysis in spontaneous abortion. *Kor J Perinatol* 2005;8-14.
 - 23) Hwang SM, Kwon KH, Yoon KA, Oh SK. A cytogenetic analysis of abortus with spontaneous abortion. *J Genet Med* 2009;6:62-6.
 - 24) Jamieson ME, Coutts JRT, Connor JM. The chromosome constitution of human preimplantation embryos fertilized in vitro. *Hum Reprod* 1994;9:709-15.
 - 25) Sanchez JM, Franzi L, Colli F, De Diaz SL, Panal M, Dubner M. Cytogenetic study of spontaneous abortions by transabdominal villus sampling and direct analysis of villi. *Prenat Diagn* 1999;19:601-3.
 - 26) Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res* 2004;30:237-41.
 - 27) 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.
 - 28) Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, et al. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 1980;44:151-78.
 - 29) Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, Griffin D, Merrill M, Millie E, et al. Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Environ Mol Mutagen* 1996;28:167-75.
 - 30) Warburton D, Kinney A. Chromosomal differences in susceptibility to meiotic aneuploidy. *Environ Mol Mutagen* 1996;28:237-47.
 - 31) Kalousek DK, Bamforth S. Amnion rupture sequence in previable fetuses. *Am J Med Genet* 1988;31:63-73.
 - 32) Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 2004:59-97.
 - 33) Robinson WP, McFadden DE, Stephenson MD. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. *Am J Hum Genet* 2001;69:1245-54.
 - 34) Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2001; 2:280-91.
 - 35) Wells D, Levy B. Cytogenetics in reproductive medicine: the contribution of comparative genomic hybridization (CGH). *Bioessays* 2003;25:289-300.