

한국에서 반복자연유산을 하는 535쌍의 부부에 있어서의 세포 유전학적 연구

연세대학교 의과대학 산부인과학교실¹, 임상의학 연구 센터 유전학 검사실²

황한성¹ · 양은석¹ · 홍원기¹ · 김미순² · 양영호^{1,2}

Cytogenetic Study in 535 Couples with Recurrent Spontaneous Abortions in Korea

Han Sung Hwang¹, Eun Suk Yang¹, Won Ki Hong¹, Mi Soon Kim², Young Ho Yang^{1,2}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, ²The Genetic Laboratory of the
Medical Research Center, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Objective: The purposes of this study were to investigate the types and the incidences of chromosomal abnormalities, and to provide an explanation for the genetic causations of recurrent spontaneous abortions in Korean population.

Methods: Cytogenetic studies were carried out in 535 couples with at least two spontaneous first trimester abortions from January 1981 to December 2003. For karyotype analysis, we used modified Moorhead method by Giemsa staining and Giemsa-Trypsin-Giemsa banding

Results: The overall incidence of chromosome abnormality was 32 out of 535 cases (5.98%). There were 25 cases (4.67%) of translocation and 7 cases (1.31%) of inversion. In translocation, 5 cases (0.93%) of Robertsonian translocation and 20 cases (3.74%) of reciprocal translocation were observed. In inversion, 6 cases (1.12%) of inversion of chromosome 9 and one case (0.19%) of inversion of chromosome 18 were found.

Conclusion: In this study, overall chromosomal abnormality rate in couples with recurrent spontaneous abortions is much higher than that in the general population. So, chromosomal analysis should be offered for the prognostic information in genetic counseling such as prenatal diagnosis in couples with repetitive reproductive failure.

Key Words: Recurrent spontaneous abortion, Chromosomal abnormality, Translocation, Inversion

일반적으로 전체 임신한 산모 중 약 15~20%가 자연유산으로 임신이 종결 된다고 보고 되고 있다.^{1,2} 그리고, 이런 자연유산된 태아의 약 50% 이상에서 염색체 이상이 나타난다고 알려져 있다.³

기존의 반복자연유산의 정의는 일반적으로 임신 제 20주 이내에 자연유산이 3회 이상 연속되는 경우로 알려져 있으나, 최근에는 2회 이상의 연속 자

연유산이 있는 경우나, 연속성과 관련 없는 3회 이상의 자연유산도 임상적으로 의미를 부여해 가는 추세이다.^{4,5}

반복자연유산의 원인이 아직 완전히 규명된 것은 아니지만, 그 원인으로 부모나 태아의 염색체 이상, 자궁의 해부학적 이상, 내분비학적 호르몬 이상, 면역학적 이상, 전염성 질환 등이 알려져 있다.⁶ 이중

가장 많은 부분을 차지하고 있는 염색체 이상에 의한 것으로, 특히 양친의 염색체 이상으로 인한 반복유산의 가능성이 Penrose 등에 의하여 처음으로 제기되었으며,⁷ 이후로 이에 대한 많은 세포 유전학적 연구가 이루어 졌다.

반복자연유산을 하는 부부의 염색체 이상 중에서 전좌가 가장 많으나, 그 빈도는 저자에 따라 많은 차이를 보이고 있으며,^{8,9} 이런 차이는 연구 대상의 지역 및 인종, 환경의 차이, 세포 유전학적 검사방법의 차이 그리고 연구 대상자 수 등에 기인 한다고 볼 수 있다.¹⁰

본 연구의 목적은 반복자연유산을 경험한 부부에 대하여 단일 기관에서 광범위한 염색체 분석을 실시함으로써, 빈도의 차이를 보일 수 있는 여러 요

인들을 가능한 제거한 후, 염색체 이상의 유형 및 빈도를 조사하여, 이를 바탕으로 보다 신뢰할 만한 우리나라만의 결과를 산출함으로써 한국인에 있어서 반복자연유산의 유전적 원인을 이해하고, 또한 이들에 대해 적절한 유전학적 상담을 하는데 도움이 되고자 함이다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

임신 20주 이내에 2회 이상의 연속적인 자연유산을 경험한 부부를 대상으로 1981년 1월 1일부터 2003년 12월 31일까지 23년간 총 535쌍의 부부를 대상으로 말초혈액 임파구에 대한 염색체 분석을

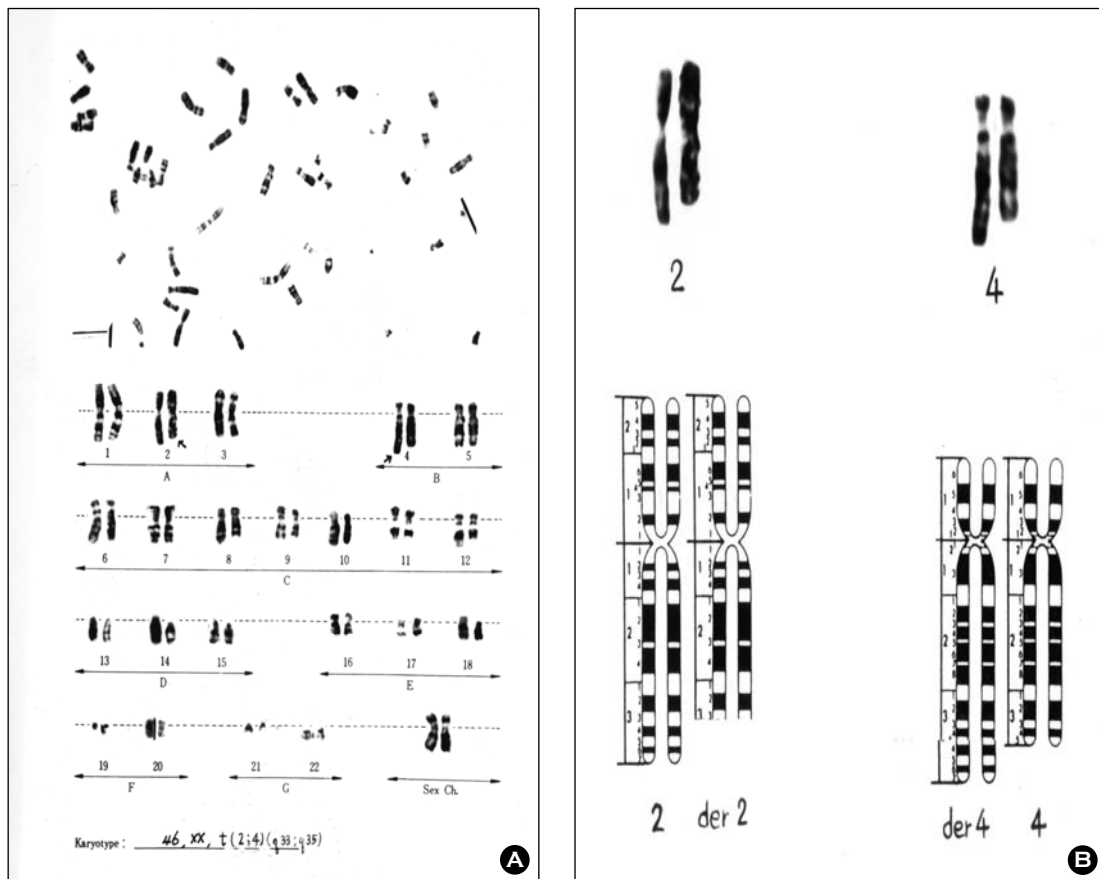


Figure 1. A. Karyotyping of a female with a reciprocal translocation between the long arm of a chromosome 2 and the long arm of a chromosome 4: 46,XX,t(2;4)(q33;q35). **B.** Diagram for reciprocal translocation between the long arm of a chromosome 2 and the long arm of a chromosome 4: 46,XX,t(2;4)(q33;q35).

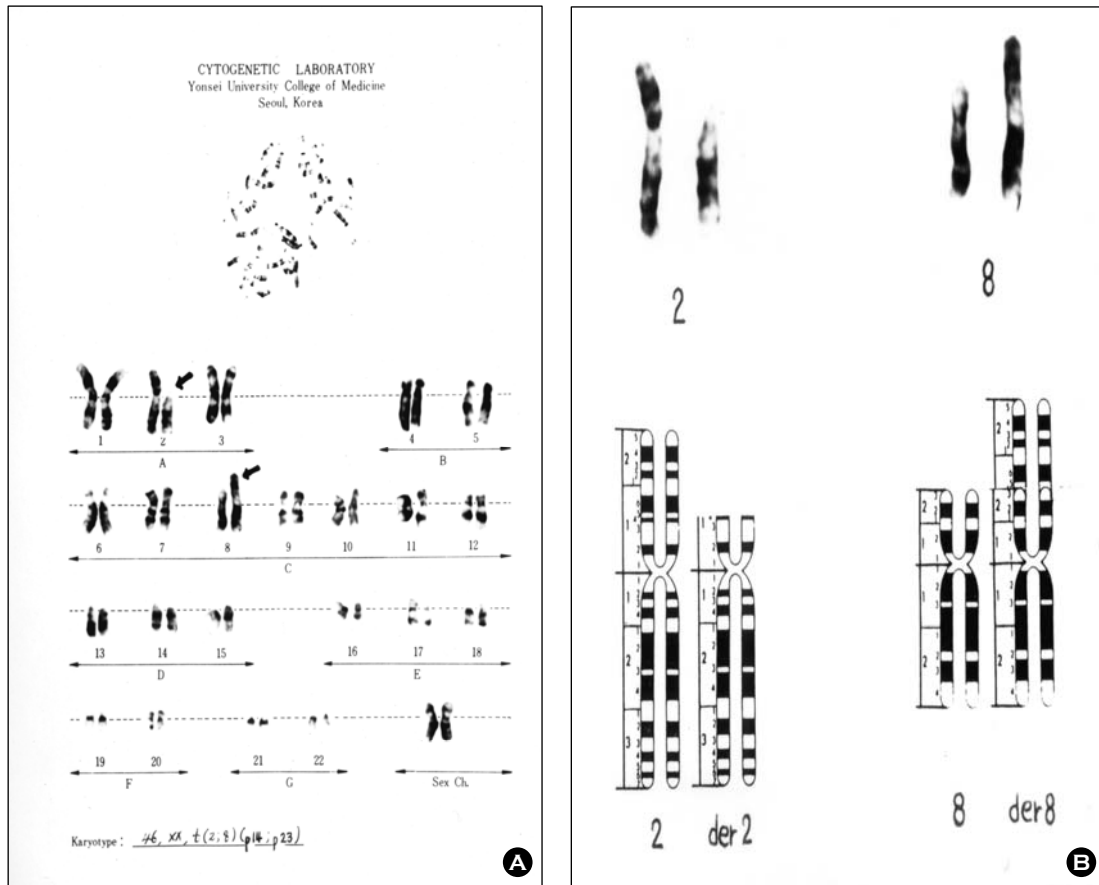


Figure 2. A. Karyotyping of a female with a reciprocal translocation between the short arm of a chromosome 2 and the short arm of a chromosome 8: 46,XX,t(2;8)(p14;p23). **B.** Diagram for reciprocal translocation between the short arm of a chromosome 2 and the short arm of a chromosome 8: 46,XX,t(2;8)(p14;p23).

실시하여 핵형의 이상 유무를 확인하였다.

2. 연구 방법

대상 부부의 염색체 분석을 위하여 해파린 처리된 말초혈액 0.5 ml를 채취하여 배양액에 넣어서 37°C에서 72시간 배양하였다. 중기의 염색체 수확을 위하여 colcemid를 최종농도 0.1 µg/ml로 1시간 30분 처리한 후, 세포수확을 위해 800 rpm으로 12분간 원심분리 하였다. 0.075 M KCl로 저장액 처리를 하고 Carney 고정액 (methanol; acetic acid=3:1)을 3회 이상 사용하여 고정한 후 공기건조법 (air drying method)으로 표본을 작성, Giemsa염색 및 G-banding하여 현미경 하에서 중기상 염색체를 관찰하여 핵형 분석을 실시 하였고, 이상 염색체의 변

곡점 (Breakpoint)은 다이어그램을 사용하여 관찰하였다 (Figure 1, 2).

결 과

2회 이상의 연속된 반복자연유산을 경험한 535예의 부부를 대상으로 세포유전자 검사를 시행한 결과 총 32예의 염색체 이상 소견이 나타나서 5.98%를 보였다. 이중 전좌가 25예(4.67%), 역위 7예(1.31%)였으며, 이들은 전체 32예의 염색체 이상 소견 중 각각 78.1%, 21.9%를 차지 하였다 (Table 1).

염색체 이상 소견을 보인 32예 중 부부 모두 염색체 이상을 보인 예는 단 1예도 나타나지 않았고, 이상 소견을 보인 남녀의 성비를 보면, 로버트슨 전

Table 1. Frequency of chromosomal abnormalities in couples with recurrent spontaneous abortions

Karyotype	No	Percent (%)
Normal couples	503	94.02
Abnormal couples	32	5.98
Translocation	25	4.67
Inversion	7	1.31
Total patients	535	100.00

Table 2. Sex ratio by chromosomal abnormalities in couples with recurrent spontaneous abortions

Chromosomal abnormality types	No of cases	Male carrier	Female carrier	Sex ratio
Robertsonian translocation	5	0	5	0
Reciprocal translocation	20	8	12	0.67
Inversion	7	5	2	2.5

Table 3. Karyotypes in 25 couples with translocation

Karyotype	No	Percent (%)
Robertsonian translocation	5	0.93
45,XX,t(13;14)(p11;q11)	45,XX,t(13;14)(p11;q11)	
45,XX,t(13;15)(p11;q11)	45,XX,t(13;21)(p11;q11)	
45,XX,t(21;22)(p11;q11)		
Reciprocal translocation	20	3.74
46,XX,t(1;2)(p36;q35)	46,XX,t(13;14)(q12;p23)	
46,XX,t(13;14)(q14;q13)	46,XX,t(15;21)(q13;q21)	
46,XY,t(2;11)(p23;q13)	46,XX,t(2;4)(q33;q35)	
46,XX,t(2;8)(p14;p23)	46,XY,t(3;11)(p13;q23)	
46,XY,t(3;14)(q11;q32)	46,XX,t(3;16)(q27;p13)	
46,XY,t(4;13)(p14;q34)	46,XY,t(4;6)(p14;p25)	
46,XX,t(5;10)(p15;p12)	46,XX,t(5;12)(p15;q15)	
46,XY,t(5;15)(p15;q13)	46,XX,t(5;18)(p13;p11)	
46,XY,t(6;7)(q23;p22)	46,XX,t(7;9)(p12;q22)	
46,XY,t(8;13)(q24;q14)	46,XX,t(9;10)(q32;q26)	
Total translocation cases	25	4.67
Total patients	535	100.00

좌 (Robertsonian translocation)의 경우 5예 모두 부인에게만 나타났고, 상호 전좌 (Reciprocal translocation)의 경우 여자 1명당 남자 0.67명의 비를 보여 여성에서 높았고, 역위 (Inversion)의 경우는 여자 1명당 남자 2.5명의 비를 보여 남성에서 높았다 (Table 2).

전좌를 보인 부부 25예 중에서 로버트슨 전좌는 5예로 이중 t(13;14)가 2예 나타났고, 나머지는 t(13;15), t(13;21), t(21;22)가 각각 1예씩 나타났다. 그

리고 상호 전좌의 경우 총 20예로 중복됨 없이 모두 다른 유전자형을 보였다 (Table 3).

염색체 이상 중 역위는 7예 모두 Pericentric inversion 소견을 보였고, 이들 중 9번 염색체의 역위가 6예, 18번 염색체의 역위가 1예로 나타났다. 그리고 9번 염색체의 역위 중에서 inv(9)(p11;q13)이 4예를 보였고, 나머지는 inv(9)(p11;q12), inv(9)(p13;q21)가 각각 1예씩 나타났다. 또한 1예의 18번 염색체 역위는 inv(18)(p11;q21)를 나타냈다 (Table 4).

Table 4. Karyotypes in 7 couples with inversion

Karyotype	No	Percent (%)
46,XX,inv(9)(p11;p12)	46,XY,inv(9)(p11;q13)	
46,XY,inv(9)(p11;q13)	46,XY,inv(9)(p11;q13)	
46,XY,inv(9)(p11;q13)	46,XY,inv(9)(p13;q21)	
46,XY,inv(18)(p11;q21)		
Total inversion cases	7	1.31
Total patients	535	100.00

Table 5. Frequency of chromosomal abnormalities in couples with recurrent spontaneous abortions

Author	Total couples	Chromosomal abnormalities		Translocation		Inversion	
		No	%	No	%	No	%
Portnoi et al. ¹¹	1442	54	4.7	41	3.6	13	1.1
Makino et al. ¹²	639	54	8.5	28	4.4	1	0.16
Jean et al. ¹³	3286	192	5.8	155	4.7	20	0.6
M. Azim et al. ¹⁴	300	16	5.3	7	2.3	5	1.6
Current study	535	32	5.9	25	4.7	7	1.3

고 찰

임상적으로 임신이 확인된 산모 중 약 15~20%는 자연유산으로 임신이 종결 된다고 보고 되고 있으며,^{1,2} 이런 자연유산된 태아의 약 50% 이상에서 염색체 이상이 나타난다고 알려져 있다.³ 이런 이유로 그 동안 반복자연유산을 하는 부부에 있어서 유전자 이상에 대한 많은 연구들이 이루어져 왔다.

반복자연유산을 하는 부부의 유전자 이상은 대부분 구조적 이상이라고 알려져 있다. 기존의 보고들에 의하면 반복 자연유산을 하는 부부에 있어서 전체 구조적인 염색체 이상의 빈도는 4.7~8.5%를 보였고, 이들 중에서 전좌가 차지하는 빈도는 2.3~4.7%를 보였으며, 역위가 차지하는 빈도는 0.2~1.6%를 보였다.¹¹⁻¹⁴ 본 연구에서는 각각 5.98%, 4.67%, 1.31%를 보여 비슷한 결과를 보였다 (Table 5).

전좌 중 로버트슨 전좌는 신생아들 1000명당 1~1.34명의 빈도로 발생하며,^{15,16} 유전자 이상이 의심

되어 검사를 받는 일반 성인 1000명당 2.15명의 빈도로 나타나는 염색체의 구조적인 이상으로,¹⁷ 본 연구의 반복자연유산 부부에서 0.93%는 각각 약 9배와 약 4.5배로 매우 높은 빈도라고 할 수 있다. 또한, 상호 전좌는 일반인 1000명당 1~1.25명의 빈도를 보이고,^{18,19} 유전자 이상이 의심되어 검사한 성인 1000명당 3.2명의 빈도를 보이는 것으로,¹⁹ 본 연구에서 나타난 3.74%는 각각 약 37배와 약 12배로 일반인에 비해 매우 높은 빈도로 나타났다.

반복자연유산을 하는 부부에 있어서 전좌의 경우에 부인이 보인자일 가능성이 더 높다는 기존 연구들과 같이,²⁰ 본 연구에서도 로버트슨 전좌는 5례 모두 부인에게서 나타났고, 상호 전좌의 경우도 부인이 12례, 남편이 8례를 보였다 (Table 2).

로버트슨 전좌 보인자의 경우 정상의 배우자 (gamete)와 결혼시에 자식은 1/3은 표현형은 정상으로 나오고 (그 중 받은 유전적 정상, 나머지 받은 로버트슨 전좌 보인자임), 1/3은 trisomy, 1/3은 monosomy를 보이게 되는데, 특히, 본 연구에서 나타난

로버트슨 전좌의 경우 중에서 45,XX,t(13;21)(p11;q11)의 경우는 자손의 경우에 trisomy 21 (Down syndrome)과 trisomy 13 (Patau syndrome)이 모두 생존 출생 가능한 경우로, 이들이 모두 생존 출생한다면 이론적으로 유산의 확률은 monosomy로 1/3이 되고, 생존 출생아는 2/3이 된다. 이중 1/4은 trisomy 13, 1/4은 trisomy 21이 되어서 생존 출생아의 반은 trisomy로 태어나게 된다. 본 연구에서는 나타나지 않았지만, 만일 동일한 상염색체 사이의 로버트슨 전좌가 있을 경우 자손은 항상 trisomy 또는 monosomy 이어서 정상아를 출산할 수 없으므로, 그 보인자는 공여 정자나 난자로 인공 수정을 하는 등의 유전 상담이 필요할 것이다.

상호 전좌 보인자의 경우는 이론적으로 감수분열 시에 생식 세포가 2:2로 분리가 된다면 자손의 2/3에서 unbalanced translocation이 나타나 특정 유전자의 중복 내지는 소실이 일어 나므로, 이들은 유산된다. 그리고 생식세포의 분리가 3:1로 이루어 진다면, 100% unbalanced translocation이 일어나서 자손 모두를 유산을 하게 된다.

최근에는 착상전 유전진단 (Pre-implantation Genetic Diagnosis: PGD)으로 정상배아를 선별하여 이식함으로써 자연유산을 감소시킬 수 있는 방법이 보고 되고 있다.²¹ 따라서, 반복 자연유산을 하는 부부에 있어서 염색체 검사상 전좌가 나온 경우, 그 종류가 어떤 것인지에 따라서 적절하게 유전상담 후 적절하게 착상전 유전진단을 하거나, 임신시 양수검사나 융모막 융모 생검술을 시행할 수 있고, 부부 이외의 다른 남자나 여자에게서 정자나 난자를 얻어서 임신을 하는 방법 등을 추천해 주어야 할 것이다.

역위는 크게 pericentric inversion과 paracentric inversion으로 분류하는데, 이중 paracentric inversion은 매우 드물어서 일반인 1000명 당 0.03~0.05명의 발생률을 보고하고 있고,²² pericentric inversion은 일반인 1000명당 0.13명,²³ 유전자 이상이 의심되어 검사한 사람 1000명당 0.46명의 발생률을 보고하고 있다.²⁴ 본 연구에서는 paracentric inversion은 나타나지 않았고, pericentric inversion만이 1.31%의 발생률을 나타내어 일반군의 28배에서 100배의 높은 발생률을 보였다. 일반인에서 역위는 남녀 발생비가

비슷하다고 보고되고 있으나,²⁵ 본 연구에서는 남자가 5명, 여자가 2명으로 나타났다.

본 연구에서 역위 중 6례를 차지한 9번 염색체의 pericentric inversion은 normal variants 중의 하나로, 표현형 또한 어떤 비정상적인 소견도 보이지 않는다고 알려져 있으며, 다만 감수분열 과정에서 crossing-over가 일어나면서 unbalanced 생식세포가 만들어지면 임상적으로 문제가 된다고 알려져 있다.^{25,26} 그러나 최근 연구들에 따르면 이것이 불임 (infertility)이나 subfertility와 관련성이 있으며, 그 정도는 역위된 염색체의 길이에 비례한다고 보고 되기도 한다.^{25,27} 본 연구에서 일반인에 비해 높은 역위의 발생 빈도는 이를 뒷받침 한다고 볼 수 있다. 본 연구에서 1례만이 나타난 18번 염색체의 역위는 자식의 반수에서 18번 염색체의 역위를 물려 받게 되며, 이 역위를 가진 사람은 약간의 학습능력의 장애, 성격장애, 사회적 행동의 장애와 같은 특징을 가지게 된다고 보고 하고 있다.²⁸

따라서, 역위의 경우도 어떤 염색체의 역위인가, pericentric 또는 paracentric inversion인가의 여부, 역위의 크기 정도 등을 감안하여 대상 환자에게 유전 상담을 하여야 할 것이다.

결론적으로 국내에서도 2회 이상의 반복자연유산을 하는 부부에 있어서 세포 유전학적 검사를 시행하는 것이 바람직하며, 또한 그 유전적인 결과에 따라서 정확한 환자의 상태를 분석하여 적절한 유전상담과 산전유전진단 또는 착상전 유전진단 등이 필요하다고 할 것이다.

참 고 문 헌

1. French FE, Bierman JM. Probabilities of fetal mortality. *Publ Hlth Rep* 1967; 77: 835-47.
2. Dejmek J, Vojtassak J, Malova J. Cytogenetic analysis of 1508 spontaneous abortions originating from south Slovakia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992; 46: 129-36.
3. Boue A, Boue J, Gropp A. Cytogenetics in pregnancy wastage. In: Harris H, Hirschhorn K, editors. *Advances in human genetics*. New York: Plenum Press; 1985. p.1-57.

4. Carp HJA, Toder V, Maschiach S, Nebel L, Serr DM. Recurrent miscarriage: A review of current concepts, immune mechanisms and result of treatment. *Obstet Gynecol Survey* 1990; 45: 657-69.
5. Daya S, Clark DA. Alloimmunity. In; Gleicher N. Principles and practice of medical therapy in pregnancy. Norwalk, Connecticut: Appleton & Lange; 1992. p.407-13.
6. Glass RH, Globus MS. Habitual abortion. *Fertil Steril* 1978; 29: 257-65.
7. Penrose LS, Delhanty JD. Triploid cell cultures from a macerated foetus. *Lancet* 1961; 1: 1261-2.
8. Ward BE, Henry GP, Robinson A. Cytogenetic studies in 100 couples with recurrent spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 1980; 32: 549-54.
9. Stenchever MA, Park KJ, Daines TL, Allen MA, Stenchever MR. Cytogenetics of habitual abortion and other reproductive wastage. *Am J Obstet Gynecol* 1977; 127: 143-50.
10. 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.
11. Portnoi MF, Joye N, Van den Akker J, Morlier G, Taillemite JL. Karyotypes of 1142 couples with recurrent abortion. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 31-4.
12. Makino S, Tabuchi T, Nakada K, Iwasaki K, Tamura S, Iizuka R. Chromosomal analysis in Japanese couples with repeated spontaneous abortions. *Int J Fertil* 1990; 35: 266-70.
13. Fryns JP, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 81: 171-6.
14. Azim M, Khan AH, Khilji ZL, Pal JA, Khurshid M. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions: a hospital experience. *J Pak Med Assoc* 2003; 53: 117-9.
15. Evans JA, Canning N, Hunter AGW, Martsof JT, Ray M, Hamerton JL, et al. A cytogenetic survey of 14069 newborn infants: An analysis of the significance and cytologic behavior of the Robertsonian and reciprocal translocations. *Cytogenet Cell Genet* 1978; 20: 96-123.
16. Nielsen J, Hansen KB, Sillesen I, Videbech P. Chromosome abnormalities in newborn children. Physical aspects. *Hum Genet* 1981; 59: 194-200.
17. Court Brown WM. Human population cytogenetics. Amsterdam: North-Holland; 1967. p.25.
18. Nielsen J, Rasmussen K. Autosomal reciprocal translocations and 13/14 translocations: a populations study. *Clin Genet* 1976; 10: 161-77.
19. Fryns JP, Kleczkowska A, Kubien E, Van den Berghe H. Structural chromosome rearrangements in couples with repeated miscarriages. Experience in Leuven. *J Genet Hum*. 1988; 36: 59-61.
20. Davis JR, Weinstein L, Veomett IC, Shenker L, Giles HR, Hauck L. Balanced translocation karyotypes in patients with repetitive abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 144: 229-33.
21. Antonio P, Carmen R, Francesca V, Yolanda M, Carles G, Jose E, et al. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Steril* 1999; 71: 1033-9.
22. Fryns JP, Kleczkowska A, Van den Berghe H. Paracentric inversions in man. *Hum Genet* 1986; 73: 205-13.
23. Nielsen J, Sillesen I. Incidence of chromosome aberrations among 11148 newborn children. *Hum Genet* 1975; 30: 1-12.
24. Fryns JP, Kleczkowska A, Van den Berghe H. Pericentric inversion in man. *Hum Genet* 1987; 75: 333-8.
25. Teo SH, Tan M, Knight L, Yeo SH, Ng I. Pericentric inversion 9: incidence and clinical significance. *Ann Acad Med Singapore* 1995; 24: 302-4.
26. Turleau C, Chavin CF, de Grouchy J. Cytogenetic investigation in 413 couples with spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1979; 9: 65-74.

27. Davalos IP, Rivas F, Ramos AL, Galaviz C, Sandoval L, Rivera H. Inv(9)(p24q13) in three sterile brothers. *Ann Genet* 2000; 43: 51-4.
28. Vermeulen SJ, Speleman F, Vanransbeeck L, Verspeet J, Menten B, Verschraegen-Spae MR, et al. Familial pericentric inversion of chromosome 18: behavioral abnormalities in patients heterozygous for either the dup(18p)/del(18q) or dup(18q)/del(18p) recombinant chromosome. *Eur J Hum Genet*. 2005; 13: 52-8.
-