

불임증 427례에 대한 세포유전학적 분석: 단일 기관 연구

계명대학교 의과대학 진단검사의학교실

김도훈 · 하정숙

Cytogenetic Study for 427 Patients with Reproductive Failure: Single Center Study

Do Hoon Kim, M.D., Jung Sook Ha, M.D.

*Department of Laboratory Medicine, Keimyung University school of Medicine,
Daegu, Korea*

Abstract

Our study was performed to investigate the prevalence and diversity of chromosomal abnormalities in 427 patients with reproductive failure in our institution. Chromosomal aberrations were found in 5.2% of patients (6.8% in men and 3.1% in women). The most common aberration was sex chromosomal aneuploidy/mosaicism including 47,XXY in men and the reciprocal translocations in women. In 266 patients with repeated pregnancy loss, the chromosomal aberration was found in 2.7% of patients (3.0% in men and 2.2% in women). The reciprocal translocation was the most common aberration in repeated pregnancy loss. The normal variant chromosomal changes were found in 3.3% of all patients. The prevalence of chromosomal abnormalities found in our institution was similar with those of previous studies. However, the incidence of sex chromosomal mosaicism in female patients was relatively low, which might be due to small patient number, the difference of inclusion criteria or failure in detection of low-grade mosaicism.

Key Words : Chromosomal abnormality, cytogenetic study, infertility, repeated pregnancy loss

서 론

전 세계적으로 결혼한 부부의 약 15%에서 불임을 경험하며, 불임의 원인에 따른 기여도는 남녀에서 비슷하다[1]. 일반인에서 염색체 이상이 발견될 확률이 1% 내외인 것에 비해, 불임을 가진 환자에서는 더 높은 확률로 이상이 관찰되며, 이러한 염색체 이상이 남성에 있어 무정자증이나 희소정자증과 관련이 있음이 밝혀지고, 여성에 있어 원발성 난소 이상(primary ovarian failure)의 원인일 수 있다는 사실이 알려짐에 따라 세포유전학적 검사는 불임 환자들에게 중요한 검사로 자리잡게 되었다[2].

따라서 저자들은 최근 10년 간 본 기관에서 이루어진 불임 환자들에 대한 세포유전학적 검사에서 염색체 이상의 유병율이 얼마인지 알아보고, 관찰되는 이상들의 빈도를 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

대상 : 2000년부터 2009년까지 10년 간 본원에서 불임 및 반복 유산을 주소로 내원하여 세포유전학 검사가 의뢰된 427명을 대상으로 그 결과를 분석하였다. 남성 236명, 여성 191명이었고, 그 중 반복 유산을 주소로 내원한 환자는 남녀 각각 132명과 134명이었다. 그 외 불임을 주소로 내원한 환자는 남녀 각각 104명과 57명이었고, 그 중 남성 환자 22명은 정액 검사를 통해 무정자증으로, 9명은 희소정자증으로 진단받았다(Table 1).

방법 : 통상적인 염색체 검사방법을 이용하였다. 요약하자면, 헤파린으로 항응고처리된 말초혈액 1.5 mL를 fetal calf serum 1.5 mL을 섞은 RPMI 1640 배지 10 mL에 넣어 36.5°C, 5% CO₂ 환경의 배양기에서 72시간을 배양하였다. 그 후 10 µg/mL colcemide 0.01 mL로 15분 처리하여 세포분열을 중지시킨 다음, 배양한 세포만을 모아 0.075 M KCL 저장액에 넣어 15분 처리 후 methanol과 acetic acid를 3:1로 섞은 고정액에 담가 세포를 고정시켰다. 깨끗한 빈 슬라이드에 고정된 세포를 떨어뜨려 세포질과 염색체를 분리시켜

슬라이드를 만들었고, 슬라이드 염색은 Trypsin 처리를 하지 않은 Wright 염색액으로 G-분염법을 사용하였고, 클론의 인정과 명명법은 ISCN (An international system for human cytogenetic nomenclature) 2009[3]를 따랐다.

성 적

전체 427명의 환자에서 보면, 총 22명(5.2%)에서 염색체 이상이 관찰되었고, 남성은 16명(6.8%), 여성은 6명(3.1%)에서 이상이 관찰되었다. 염색체 이상의 종류로는 47,XXY를 포함한 성염색체 수적 이상 및 모자이시즘(sex chromosomal aneuploidy/mosaicism)이 13명(72.7%)으로 가장 흔한 이상이었으며, 다음은 균형전좌(reciprocal translocation)로 모두 6명(27.3%)에서 관찰되었다. 그 외의 이상으로는 역위(inversion), 구조적 이상(structural abnormality)이 각각 2명(9.1%), 1명(4.5%)이었다(Table 2). 남성에서는 성염색체 수적 이상이, 여성에서는 균형전좌가 가장 흔한 이상이었다.

반복 유산을 보인 환자 266명 중 7명(2.7%)에서 염색체 이상이 관찰되었고, 이 중 남성은 3명(4/132명)에서 여성은 2.2%(3/134명)에서 이상이 관찰되었다. 그 외 불임 환자 161명 중 11명(6.8%)에서 염색체 이상이 관찰되었고, 남성 7.7%(8/104명), 여성 5.3%(3/57명)에서 각각 염색체 이상이 관찰되었다. 남성에서는 47,XXY 5례를 포함한 성염색체 수적 이상이 가장 많은 빈도를 차지하였고, 여성에서는 상염색체 전좌가 좀더 많이 관찰되었다.

정상변이형으로 생각되어지는 염색체 이상은 전체 427명 중 14명(3.3%)에서 관찰되었다(Table 3). 무정자증으로 진단된 22명 중 5명에서 47,XXY를 가지고 있었고, 희소정자증으로 진단받은 9명의 환자에서는 염색체 이상이 관찰되지 않았다.

Table 1. Clinical data of 236 male and 191 female with reproductive failure

Clinical Diagnosis	Male	Female	Total
Recurrent abortion	132	134	266
Infertility	104	57	161
(Azoospermia)	(22)		(22)
(Oligozoospermia)	(9)		(9)
Total	236	191	427

Table 2. Prevalence of chromosomal aberrations

Abnormalities	Male n=236	Female n=191	Total (%) n=427
Sex chromosome aneuploidy/mosaicism	12	1	13 (72.7)
Reciprocal translocation	1	5	6 (27.3)
Structural abnormality	1	0	1 (4.5)
Inversion	2	0	2 (9.1)
Total	16	6	22 (100.0)

고 찰

불임 환자에서 염색체 이상의 빈도는 환자군의 선택 기준, 환자수에 따라 조금씩 다르나 일반적으로 5% 내외이다[1-2,4-6]. 특히 남성에서 무정자증이나 희소정자증 환자만을 대상으로 할 경우 그 빈도는 더 증가하여 15% 정도로 보고되고 있다[7-9]. 남자 불임 환자에서 관찰되는 염색체 이상은 클라인펠터 증후군에서 관찰되는 47,XXY가 가장 흔하며, 다음으로는 로버트소니안 전좌(Robertsonian translocation), 성염색체모자이시즘, 균형전좌, 47,XYY 등이다. 여성에서는 45,X 세포군을 포함한 성염색체모자이시즘이 가장 흔하게 관찰되는 이상이며, 그 외 균형전좌, 역위 등이 관찰된다[2,4]. 본 기관에서는 염색체 이상 빈도가 전체 불임 남녀에서 각각 6.8%, 3.1%로, 남성에서 좀 더 높은 빈도로 염색체 이상이 관찰되었다. 47,XXY가 남성에서 가장 흔한 이상으로 기존 보고와 동일하였고, 여성에서는 균형전좌가 가장 흔한 이상이었다.

47,XXY는 남성에 있어 무정자증의 가장 흔한 원인으로 본 기관에서도 모자이시즘을 제외한 47,XXY를 가진 5명의 환자 모두에서 무정자증이 관찰되었고, 이는 무정자증을 가진 22명의 환자에서 22.8%에 해당한다. 기존 보고에 의하면 무정자증 환자의 염색체 이상 중 47,XXY가 67%를 차지하였고, 그 외 성염색체모자이시즘, 성염색체구조적이상 등 주로 성염색체 이상이 많은 비중을 차지하고 있었다. 반면, 희소정자증은 좀 다른 양상을 보였는데, 본 기관에서는 희소정자증 환자수가 적어서 염색체 이상을 가진 환자가 관찰되지 않았고 기존 보고들의 가장 흔한 염색체 이상은 로버트소니안전좌였으며, 다음으로 상호균형전좌, 성염색체구조적이상, 역위 순서였다[4].

여성 불임 환자에서 알려진 가장 흔한 이상은 주로 45,X를 포함한 성염색체모자이시즘으로, 이러한 45,X 세포군이 불임에 미치는 영향에 대해서 아직 논란이 있으나, 잦은 유산이나 조기 난소 이상의 원인인 것으로 추측되고 있다[9]. 본 기관에선 성염색체모자이시즘이 기존 보고에 비해 적게 관찰

Table 3. Chromosome aberrations and polymorphic variants in 427 patients with reproductive failure

Clinical presentation	Abnormal Karyotype (%)	No. of patients (%)	Chromosomal Variant (%)	No. of patients (%)
Recurrent abortion (n=266)	Male 47,XXX	1	46,XY,inv(9)(p11q21.1)	3
	(n=132) 46,XY,Yqh-	1	46,XY,inv(9)(p21q21.1),	1
	46,XY,inv(Y)(p11.2q12)	1	14pstk+	
	Female 46,XX,inv(2)(p23q32)	1	46,XX,1qh(+)	2
	(n=134) 46,XX,t(1;6)(q41;qter),t(3;10)	1	46,XX,9qh(+)	1
	(pter;p12.3),t(7;12)(q33;qter)		46,XX,inv(9)(p12q21.1)	2
	46,XX,t(9;13)(q22.3;q12.3)	1	46,XX,15ps+	1
	46,XX,t(Y;14)(q12;q32)	1		
	Total 266	7 (2.6)		10 (3.8)
Infertility (n=161)	Male 47,XXY	5	46,XY,1qh+	1
	(n=104) 46,XY[98]/47,XXY[2]	1	46,XY,inv(9)(p12q21.1)	1
	47,XXY	1		
	46,XY,t(7;11)(q22;q23)	1		
	46,XX[97]/45,X[3]	1		
	Female 46,XX,t(4;5)(q22;q34)	1	46,XX,16qh(+)	2
	(n=57) 46,XX,t(4;16)(q24;q12.2)	1		
	Total 161	11 (6.8)		4 (2.5)
Total	427	22 (5.2)		14 (3.3)

되고, 상호균형전좌가 가장 흔하게 관찰되었는데, 환자수가 적은 원인이거나 원발성 또는 이차성 무월경 환자를 여성 불임환자에서 제외하여 분석하였기 때문으로 생각된다. 균형재배열은 본인에게서는 어떠한 표현형의 이상도 일으키지 않으나 다음 세대에서 불균형재배열을 가진 태아를 가질 확률이 높아져 불임의 원인이 될 수 있다.

반복유산은 수태 후 24주 이전에 3번 이상의 임신 소실이 일어나는 경우를 일컬으며, 결혼한 부부의 약 2%에서 관찰되고, 불임의 중요한 원인의 하나이다[10]. 그 원인은 매우 다양하며, 그 중 한 배우자에서 염색체 이상이 관찰되는 확률은 2-8%로 알려져 있으며, 일반적으로 여성이 남성보다 2배 정도 더 이상을 가지는 것으로 알려져 있다[11-12] 본 기관의 불임 환자 중 반복유산을 보인 환자

266명만을 대상으로 염색체 이상을 살펴보면 7명(2.7%)에서 이상이 관찰되었고, 남성은 3%, 여성은 2.2%로 비슷한 빈도를 보였다. 염색체 이상의 종류를 보면, 남성에서는 역위를 비롯한 다양한 이상이 관찰되었고, 특히 여성에서 균형전좌가 주된 이상이였다. 기존 보고에 따르면, 남성의 균형전좌는 정자형성(spermatogenesis)에서 meiotic blocking 현상으로 정자형성에 영향을 받게 되는데 반해, 여성의 경우 상호균형전좌를 가지더라도 난자형성(oogenesis)을 유지하여 상대적으로 불균형전좌를 가진 태아를 가질 확률이 높게 되어, 불임의 경우보다 유산의 경우에서 여성의 상호균형전좌가 더 높은 확률로 관찰될 수 있다고 보고하고 있다[13-14]. 또 흥미로운 점은 불임에서는 일반적으로 로버트소니안 전좌보다 상호균형전좌가 많이 관

찰되는데, 이는 상호균형전좌에서 불균형 생식자를 생성할 확률이 로버트소니안 전좌보다 높기 때문으로 해석하고 있다[15-16].

본 기관에서는 9번 염색체 역위나 다양한 이형 염색질의 크기 변이가 3.3%에서 관찰되었고, 이는 일반인의 1%에 비해 다소 높은 비율이다. 그러나, 현재 이들 변이는 대부분 정상변이의 하나로 인정되어 임상적 의의를 두고 있지 않으나, 1번 염색체 역위 변이를 가진 환자에서 정자형성시 수적 이상을 가진 정자형성 빈도가 높아진다는 보고도 있어, 아직까지 이런 정상변이형이 불임이나 임신 상실에 미치는 영향에 대해서는 좀 더 연구가 필요한 상태이다[17].

본 연구에서 관찰된 염색체 이상들은 전반적인 빈도에서 기존 보고들과 크게 다르지 않았고, 성염색체수적이상 및 균형전좌가 주된 이상으로 관찰된 점 또한 기존 보고와 비슷하였다. 다만, 여성에서의 성염색체수적이상 및 모자이시즘이 상대적으로 적게 관찰된 점은 상대적으로 검체수가 적었거나, 연구 대상에 포함시키는 기준의 차이 혹은 낮은 비율의 모자이시즘 검출이 누락되었을 가능성을 생각해 볼 수 있을 것이다.

요 약

본 연구는 2000년부터 2009년까지 본 기관에서 불임 및 반복유산을 주소로 내원하여 세포유전학적 검사가 의뢰된 남녀 환자를 대상으로 염색체 이상의 빈도와 종류를 분석하고자 하였다. 의뢰된 환자 427명 중 22명(5.2%)에서 염색체 이상이 관찰되었고, 남성은 16명(6.8%), 여성은 6명(3.1%)에서 이상이 관찰되었다. 염색체 이상의 종류로는, 남성에서는 47,XXY를 포함한 성염색체 수적이상 및 모자이시즘이, 여성에서는 상호균형전좌가 가장 흔한 이상이었다. 반복유산을 보인 환자 266명 중 7명(2.7%)에서 염색체 이상이 관찰되었고, 이 중 남성은 4명(3%), 여성은 3명(2.2%)에서 이상이 관찰되었으며, 상호균형전좌가 가장 흔한 이상으로 관찰되었다. 정상으로 생각되어지는 변이형은 전체

14명(3.3%)에서 관찰되었다. 기존 연구들에 비해 전체적인 이상 빈도는 비슷한 수준이었으나 여성 불임 및 반복유산에서의 성염색체 모자이시즘의 빈도가 상대적으로 낮게 관찰되었다. 이는 본 연구의 분석 대상수가 기존 연구들에 비해 적고, 연구마다 다양한 분석 대상 기준 혹은 낮은 비율의 모자이시즘 검출 누락에서 비롯된 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. D_zcan F, Atmaca M, Cetin GO, Bagci H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003;**82**:53-6.
2. Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Briault S, *et al.* Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001;**16**:82-90.
3. Shaffer LG, ed.: *ISCN(2009), An international system for human cytogenetic nomenclature*. Basel: S Karger; 2009.
4. Mau-Holzmann UA. Somatic chromosomal abnormalities in infertile men and women. *Cytogenet Genome Res* 2005;**111**:317-6.
5. Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2005;**20**:437-42.
6. Meza-Espinoza JP, Anguiano LO, Rivera H. Chromosomal abnormalities in couples with reproductive disorders. *Gynecol Obstet Invest* 2008;**66**:237-40.
7. Yatsenko AN, Yatsenko SA, Weedon JW, Lawrence AE, Patel A, Peacock S, *et al.* Comprehensive 5-Year Study of Cytogenetic Aberrations in 668 Infertile Men. *J Urol* 2010;**183**:1636-42.
8. O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: a review.

- Fertil Steril* 2010;**93**:1-12.
9. Elghezal H, Hidar S, Braham R, Denguezli W, Ajina M, Sa_d A. Chromosome abnormalities in one thousand infertile males with nonobstructive sperm disorders. *Fertil Steril* 2006;**86**:1792-5.
 10. Elghezal H, Hidar S, Mougou S, Khairi H, Sa_d A. Prevalence of chromosomal abnormalities in couples with recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2007;**88**:721-3.
 11. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples *Fertil Steril* 1996;**66**:24-9.
 12. Goddijn M, Joosten JH, Knecht AC, van derVeen F, Franssen MT, Bonsel GJ, *et al.* Clinical relevance of diagnosing structural chromosome abnormalities in couples with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 2004;**19**:1013-7.
 13. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod* 1990;**5**:519-28.
 14. Elghezal H, Hidar S, Braham R, Denguezli W, Ajina M, Sa_d A. Chromosome abnormalities in one thousand infertile males with nonobstructive sperm disorders. *Fertil Steril* 2006;**86**:1792-5.
 15. Honda H, Mihar N, Samura O, He H, Ohama K. Meiotic segregation analysis of a 14;21 Robertsonian translocation carrier by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet* 2000;**106**:188-93.
 16. Martin RH, Spriggs EL. Sperm chromosome complements in a man heterozygous for a reciprocal translocation 46,XY,t(9;13)(q21.1;q21.2) and a review of the literature. *Clin Genet* 1995;**47**:42-6.
 17. Amiel A, Sardos-Albertini F, Fejgin MD, Sharony R, Diukman R, Bartoov B. Interchromosomal effect leading to an increase in aneuploidy in sperm nuclei in a man heterozygous for pericentric inversion (inv 9) and C-heterochromatin. *J Hum Genet* 2001;**46**:245-50.