

abortion. We applied PGD to carriers at risk of transmitting Duchenne muscular dystrophy (DMD), ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency, epidermolysis bullosa (EB), lactic acidosis (LA) due to defect of pyruvate dehydrogenase α 1 gene, and osteogenesis imperfecta (OI).

Method: Ovarian stimulation, oocyte retrieval, and ICSI procedure were undertaken by conventional protocols. Diagnosis for single gene disorders was carried out after biopsy of one or two blastomeres from the embryos on day three. We performed the duplex nested PCR for the simultaneous amplification of the causative mutation loci as well as the SRY gene on Y chromosome in case of DMD, OTC deficiency, and lactic acidosis. Two different mutation loci of ITGB4 gene in EB case and one mutation loci of Coll1A1 gene in OI case were amplified by the same protocol. The PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis, restriction fragment length polymorphism analysis or direct sequencing. All diagnoses except EB were performed within 24 hours and embryos were transferred on day four.

Results: Six PGD cycles for six couples with five different single gene disorders were carried out. A total of 53 embryos were analyzed by duplex nested PCR. One or two blastomeres were biopsied, and successful diagnosis rate of PCR-PGD was 90.6% (48/53). There was no contamination in all PCR of negative controls (n=67). Thirteen embryos (27.1%) were diagnosed as normal embryos, which were transferred to the uterus in all cases. In DMD and OTC deficiency cases, singleton pregnancies were established, respectively. At 16 weeks of gestation, genetic normality of fetuses was confirmed by amniocentesis. Two healthy babies were successfully delivered at 38 and 36 weeks of gestation in DMD and OTC deficiency, respectively.

Conclusions: This is the first report in Korea that healthy babies were born after specific PGD for OTC deficiency and DMD by the PGD team of Samsung Cheil Hospital. This study shows that single cell duplex nested PCR is an efficient method in identifying the sex and single gene mutation or two different mutation loci, simultaneously. Our PGD procedure could provide normal healthy babies to couples with a high risk of transmitting genetic diseases.

O-4 염색체 이상과 단일 유전자 이상에 대한 착상전 유전진단의 효용성: 9년 동안의 임상 경험에 대한 분석

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실¹, 산부인과²

전진현 · 임천규¹ · 이형송¹ · 민동미¹ · 최혜원¹ · 변혜경¹
김진영² · 궁미경² · 강인수²

Background & Objectives: 인간의 보조생식술과 접목된 착상전 유전진단은 염색체 이상 또는 특정 유전자의 이상에서 기인한 습관성 유산과 유전병을 갖는 환아의 임신 및 출산을 예방할 수 있는 효과적인 방법으로, 1990년에 Handyside 등에 의해 성공적인 임상 사례가 발표된 이후 그 활용 범위가 확대되어 가고 있다. 본 연구에서는 9년 동안의 축적된 임상 경험을 통해 얻어진 진단 및 임상 결과를 분석하여 착상전 유전진단의 효용성을 검증하고자 한다.

Method: 삼성제일병원의 불임센터에서 1995년부터 2003년 6월 까지 수행되었던 총 289 주기의 착상전 유전진단을 대상으로 하였다. 체외수정을 통해 얻어진 착상전 배아에서 할구를 분리하여 그 이상 유무를 분석한 후, 정상으로 진단된 배아만을 선별하여 자궁에 이식하였다. 분리한 할구에서 형광 직접조합법 (FISH)으로 염색체의 전좌 (translocation)와 성 염색체의 이상에 대한 진단을 시행하였으며, PCR방법으로 성 염색체 관련 유전자 또는 특정 유전자의 이상이 확인된 부위에 대한 진단을 실시하였다. 분리한 할구에서의 유전진단 성공률, 정상 배아의 빈도, 염색체 이상으로 인한 유산율의 감소와 시술 횟수에 따른 누적분만율을 산출하여 실제적인 임상에서의 효용성을 확인하였다.

Results: FISH (n=280)를 이용한 착상전 유전진단은 총 149쌍의 부부에서 280주기를 시행하여, 진단이 가능했던 배아는 95.3% (2963/3110), 이식이 가능한 정상 배아율은 24.8% (734/2963)였으며, 정상 배아만을 선별하여 260주기 (92.9%)에서 배아이식을 시행하였다. 배아이식에 따른 임상적 임신율은 21.9% (57/260)였으며, 환자 당 분만율은 30.9% (46/149)를 나타내었다. 자연 유산율은 자연 임신의 93.6% (146/156)에서 PGD-FISH 후에 19.2% (11/57)로 현저하게 감소되었다 ($p < 0.01$). 또한, 시술 횟수의 증가에 따른 누적분만율은 전체적으로 5번째 주기까지 점차적으로 증가하여 41.4%를 나타냈다. PCR (n=10) 방법을 이용한 진단에서는 초기에는 성 염색체 관련 유전 질환에서의 단순한 성 결정 진단에서, 최근에는 RFLP 또는 염기서열분석 방법을 이용하여 특정 유전자 이상 부위에 대한 직접적인 진단으로 그 적용 범위가 확대되었으며, 진단이 가능한 배아는 85.2% (92/108), 정상 배아율은 38.0% (35/92), 임상적 임신율은 40% (4/10) 그리고 환자당 분만율은 40% (4/10)를 나타냈다.

Conclusions: 본 불임센터의 9년 동안의 임상 경험을 통해 얻어진 착상전 유전진단에서의 전체적인 진단 성공률은 90% 이상이였으며, 특히, FISH를 이용한 진단은 염색체 이상이 있는 부부에서 볼 수 있는 높은 유산율을 현저하게 감소시키는 장점이 있었다. 또한, 단일 유전자의 이상 부위가 확인된 유전 질환인 경우에는 그 이상 부위에 대한 착상전 유전진단이 가능하므로, 치료가 어려운 유전 질환을 갖는 환자의 임신과 출산을 예방할 수 있는 효과적인 방법으로 생각된다.

0-5 착상전 유전자진단시 시행한 배아의 할구생검은 hCG 분비에 영향을 주는가?

성균관대의대 삼성제일병원 산부인과¹, 생식생물학 및 불임연구실²

허길 · 임천규² · 김진영¹ · 이형송² · 전진현² · 궁미경¹ · 강인수¹

Background & Objectives: 착상전 유전자진단을 목적으로 시행한 배아의 할구생검 후 임신주기에서 착상초기 혈중 hCG 농도가 다소 낮다는 견해가 있으나, 아직 이에 대한 연구는 없는 실정이다. 본 연구에서는 할구생검 후 착상전 유전자진단의 임신주기와 일반전인 체외수정시술의 임신주기에서 혈중 hCG의 농도양상과 그 증가율을 비교하고자 한다.

Method: 2001년 1월에서 2003년 6월까지 부부의 염색체 이상 등의 원인으로 착상전 유전자진단 후 할구생검된 배아를 이식하여 임신된 주기중, 임신 초기 태낭이 1개이며 단태아 임신으로 확인된 31주기와 임신 초기 태낭이 2개이며 쌍태아 임신으로 확인된 7주기를 연구군으로 선정하였다. 대조군은 동일기간 연구군과 같은 방법으로 과배란유도 후 체외수정시술을 시행받고 임신 초기 태낭이 1개이며 단태아 임신으로 확인된 64주기와 임신 초기 태낭이 2개이며 쌍태아 임신으로 확인된 41주기를 대상