

O-1(기초) 인간 배아의 동결보존을 위한 Choline Chloride를 기초로 한 PBS와 Cryo-loop를 이용한 유리화동결방법의 개발 및 효율성 연구

지희준^{1,2} · 이주옥¹ · 이혜현¹ · 류정순² · 서윤주²
김명희² · 천은경² · 정현정² · 구정진¹

¹한나산부인과, ²성삼의료재단 강서미즈메디병원

Background & Objectives: 시험관아기시술 시 이식하고 남은 임여의 배아를 보다 효율적인 방법으로 냉동보관하여 시험관아기시술 당 누적임신율의 향상을 목적으로 개발된 유리화동결방법의 효율성 연구.

Method: 시험관아기시술 환자 중 3일, 4일 또는 5일째 이식하고 남은 임여 배아를 대상으로 유리화동결방법을 이용해 동결한 다음 적정시기에 융해 후 이식하여 임신을 유도하였다. Sodium chloride 대신에 Choline chloride를 기초로 한 PBS에 7.5, 15%의 DMSO와, EG 그리고 0.5 M sucrose를 첨가하여 배아를 동결하였으며 Straw 대신에 Cryo-loop를 이용하여 동결시 열전도율을 극대화시켰다.

Results: 한나산부인과와 강서미즈메디병원에서 동일한 유리화동결방법을 이용하여 총 43명의 환자를 대상으로 1등급에서 3등급의 배아 259개를 동결시켰다. 이들 배아를 융해하였을 때 배아의 할구가 전혀 손상 받지 않고 완전한 상태로 생존한 배아는 199개 (완전생존율, 76.8%), 50% 이하의 손상을 나타낸 배아는 45개 (17.3%)로 전체 배아의 생존율은 94.2% (244/259)를 나타내었다. 융해된 배아 중 손상 받지 않은 배아 199개를 배아를 43명의 환자에게 이식하여 이들 중 17명이 임상적 임신에 성공하여 39.5%의 임신율과 16.0%의 착상율을 나타내었다. 배아의 발달시기에 따른 융해 후 완전생존율은 3일째 배아인 8세포기 배아가 (81.5%, 97/119) 10세포기 (64.0%, 16/25) 그리고 상실배 (73.6%, 14/19)에 비해 높았으며, 4일째 배아인 12세포기 (38.4%, 5/13, p<0.05) 배아의 생존율은 유의하게 낮았다. 3일째 동결한 배아를 이식한 경우 임신율과 (56.5%, 13/23 cycles, p<0.05) 착상율 (23.8%, 26/109, p<0.05) 역시 4일째 동결한 배아를 이식한 경우 임신율 (17.6%, 3/17 cycles)과 착상율 (5.0%, 4/79) 보다 유의하게 높았다. 5일째 배반포의 동결 시 안정적인 완전생존율 (83.3%, 5/6), 임신율 (33.3%, 1/3) 그리고 착상율 (18.1%, 2/11)을 나타내었으나 8세포기 배아에 비해 동결효율성이 낮게 나타났다.

Conclusions: Choline chloride를 기초로 한 PBS의 사용으로 배아 동결과정 시 Sodium 이온으로부터의 손상을 방지하고 Cryo-loop를 이용하여 유리화동결 시 열전도율을 향상시켜 융해 후 배아의 유의하게 높은 생존율과 임신성공율을 확보함으로써 시험관아기시술 당 누적임신율의 향상에 크게 기여하는 결과를 얻었다.