Association between Ultrasonography Findings and Abnormal Karyotypes in Early Pregnancy Loss

Jaeyoung Pae, MD,
Jaeyoung Park, MD,
Sinyoung Kim, MD,
Rayon Kim, MD, PhD,
Jeongha Wie, MD, PhD,
Hyun Sun Ko, MD, PhD,
In Yang Park, MD, PhD,
Jong Chul Shin, MD, PhD

Department of Obstetrics and
Gynecology, College of Medicine,
The Catholic University of Korea,
Seoul, Korea

Received: 26 April 2019

Revised: 25 June 2019

Accepted: 4 November 2019

Correspondence to

Hyun Sun Ko, MD, PhD
Department of Obstetrics and
Gynecology, College of Medicine,
The Catholic University of Korea,
222 Banpo-daero, Seocho-gu, Seoul
06591, Korea

Tel: +82-2-2258-3021

Fax: +82-2-595-1549

E-mail: mongkoko@catholic.ac.kr

Copyright© 2020 by The Korean Society
of Perinatology

This is an Open Access article distributed
under the terms of the Creative Commons
Attribution Non-Commercial
License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits
unrestricted non-commercial use,
distribution, and reproduction in any
medium, provided that the original work
is properly cited.

Objective: Chromosomal abnormality in the fetus is a major cause of early pregnancy loss (EPL). It is considered that maternal age is a risk factor of chromosomal abnormality in the fetus. The objective of this study was to evaluate the association between ultrasonography findings and abnormal karyotypes in EPL.

Methods: This retrospective analysis assessed 217 cases of EPL occurring between 2009 and 2018, which have the results of cytogenetic analysis following miscarriage, as well as the ultrasonography finding. The correlations between the ultrasonography findings and the karyotypes were evaluated.

Results: Of the 217 cases, after excluding cases with no mitotic cells, karyotypes analysis was performed in 190 cases. The overall rate of abnormal karyotypes was 32.1% (61/190). Mean maternal age was significantly higher in the abnormal karyotype group (35.66 ± 4.22 vs. 33.79 ± 4.02 years, respectively, $P=0.006$). The embryo/gestational sac ratios was significantly smaller in the abnormal karyotype group (0.3 ± 0.18 vs. 0.43 ± 0.3 , $P=0.022$). In the multivariate logistic regression analysis, smaller embryo/gestational sac ratios (≤ 0.4) was a significant risk factor of abnormal karyotype (adjusted odds ratio [OR] 2.43, 95% confidence interval [CI]: 1.086–5.437, $P=0.031$), after the adjustment with the number of previous abortion. The chromosomal abnormality rate was significantly higher in male miscarriage (adjusted OR 2.36, 95% CI: 1.003–5.443, $P=0.049$).

Conclusion: By identifying a predictive factor of chromosomal abnormalities in embryonic abortion, this study presented ultrasonography findings to consider cytogenetic analysis and an easy-to-use cut off value, small embryo/gestational sac ratio (≤ 0.4) at a patient's request of chromosomal study in the fetus.

Key Words: Abortion, Spontaneous, Chromosome aberrations, Ultrasonography

서론

유산은 임신 20주 전 임신의 종결 또는 태아의 출생 체중이 500 g 미만인 경우를 뜻한다. 착상 후 자연 유산되는 비율은 전체의 31%이며, 이 중 80%는 임신 12주 이내에 일어난다.¹ 초기 유산은 임신 12주 6일 이내에 초음파에서 자궁 내에 배아가 없는 빈 임신낭만 관찰되는 경우 또는 심박동이 관찰되지 않는 배아가 자궁강 내 임신낭 안에 관찰되는 경우로 정의한다.² 임상적으로 진단된 임신의 15%가 유산되며,³ 유산의 원인은 불분명한 경우가 가장 많고 그 외 태아 염색체 이상이나 감염, 모체의 해부학적 이상, 면역학적 요인, 내분비계 요인, 방사선 조사, 약물 등의 원인이 있다. 배아를 포함한 유산은 전체 유산의 50%이고, 이 중 약 50%에서 염색체 이상이 동반되는데 임신 1삼분기 이후 염색체 이상을 동반한 유산은 줄어드는 양상을 보인다.⁴⁻⁶

현재 초기 유산에 대한 미국산부인과학회(The American College of Obstetricians and Gynecologists) 권고안에서는 반복 유산이 아니라면 세포유전학적 분석을 권고하지 않는다.² 그러나 임신을 하는 산모의 나이가 전 세계적으로 점차 증가하고 있고, 대한민국 통계청 자료에 따르면 2016년 35세 이상의 고령 산모는 전체 산모의 26.3%에 달하고 있으며,^{7,8} 이

러한 산모의 나이 증가는 태아 염색체 수적 이상의 위험을 증가시키는 것으로 알려져 있다.⁹ 유산 또는 자궁의 임신과 같은 비정상 임신 이후 여성이 겪는 심리적 충격과 불안, 우울과의 연관성은 잘 알려져 있으며,¹⁰ 고령 임신에서의 유산은 정신적 충격과 후유증이 더 클 것으로 예상된다. 그러나 초기 유산이 반복되는 경우가 아닌 경우에도 세포유전학적 분석을 시행할 것 인지에 대해서는 논란의 여지가 있다. 자연 유산된 수태물에 대한 유전학적 분석을 시행하여 염색체 이상의 종류와 발생 빈도 및 재발 위험을 알아냄으로써 다음 임신에 대한 유전 상담에 도움을 줄 수 있겠으나 모든 유산의 수태물에 대하여 염색체 검사를 시행하는 것은 비용-효과적이지 않을 수 있으므로 염색체 이상을 동반한 자연 유산의 위험인자를 알아보는 것이 의미가 있을 것이다.

한편 초음파의 발달로 초기 유산에 대한 진단적 초음파 소견이 정립되었고 임신낭과 난황낭의 유무, 크기, 모양 및 배아의 크기 등 초음파 소견이 초기 임신에서 불량한 결과를 예측하는 가능성 있는 인자로 제시될 수 있다는 선행 연구들이 지속적으로 있었다.¹¹ 그러나 초기 유산의 초음파 소견 중 염색체 이상의 위험인자가 될 수 있는 소견에 대해서는 연구가 많이 진행되어 있지 않는 상태이다. 만약 초음파 소견을 통하여 염색체 이상의 위험도를 평가할 수 있다면 반복 유산이 아닌 경우에서 세포유전학적 분석의 시행 여부를 결정하는 데 도움을 줄 수 있을 것이다. 이에 본 연구에서는 초기 유산에서 초음파 소견과 비정상 핵형 사이의 관련성에 대하여 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2009년 1월부터 2018년 12월까지 임신 14주 미만에서 유산이 진단되어 자궁내막소파술이나 미소프로스톨(Cytotec®; Pfizer, Seoul, Korea) 질내 삽입 또는 두 가지 방법 모두로 치료한 산모들에서 초음파를 통하여 유산을 진단하고, 수태물 핵형 분석을 시행한 217예를 대상으로 후향적 분석을 시행하였다. 미소프로스톨 800 µg의 질내 삽입을 이용한 약물 치료는 과거 무작위 대조 임상 연구에서 효능 면에서 우수한 것으로 밝혀진 12시간 간격으로 질내 삽입, 3시간 간격으로 구강 또는 질내 삽입 중에서¹² 대한산부인과학회지에 발표된 '12시간 간격으로 질내 삽입' 프로토콜을 사용하였다.¹³

임신 주수는 최종 월경일을 기준으로 하고, 월경이 불규칙한 경우 초음파에 의한 임신 주수를 이용하였다. 시험관 시술 임신의 경우 난자 채취일을 기준으로 임신 2+0일로 계산하였다. 유

산의 진단기준은 질식 초음파에서 배아의 크기가 7 mm 이상이면 심음이 없는 경우, 임신낭의 크기가 25 mm 이상이나 배아가 관찰되지 않는 경우, 난황낭이 없는 임신낭이 관찰되고 난 후 2주 후에도 심음이 있는 배아가 관찰되지 않는 경우, 난황낭과 임신낭이 함께 관찰된 11일 이후에도 심음이 있는 배아가 관찰되지 않는 경우로 정의하였다.^{2,14} 3회 이상의 반복 유산의 경우 수태물 염색체 검사를 포함한 습관성 유산 관련 검사를 권고하였고, 2회 반복 유산의 경우 수태물 염색체 검사를 고려할 수 있음을 설명하고, 원하는 경우 초회 유산에서는 염색체 검사는 권고되지 않음을 설명하였지만 난임 시술 여부에 상관없이 수태물 염색체 검사를 본인이 원하는 경우에만 염색체 검사를 시행하였다. 임신낭, 난황, 배아의 크기는 질식 초음파로 측정하였는데, 임신낭과 난황의 크기는 낱을 x, y, z축으로 직각으로 3회 측정하여 그 평균 직경으로 크기를 측정하였고, 배아의 크기는 머리엉덩길이 또는 머리엉덩길이 불명확한 경우 가장 장축의 길이를 측정하였다.^{15,16} 배아/임신낭의 비율은 측정된 배아의 머리엉덩길이 또는 장축길이를 임신낭의 평균 직경으로 나눈 값으로 하였고, 임신낭과 난황의 비율은 난황낭의 평균 직경을 임신낭의 평균 직경으로 나눈 값으로 하였다. 무배아성 임신낭의 정의는 임신낭 내에 배아가 관찰되지 않는 경우로, 배아는 보이지 않으나 난황낭만 관찰되는 경우에는 무배아성 임신낭에 포함되었다. 산과적 특성으로는 산모의 나이, 남편의 나이, 불임 시술 여부, 임신력, 출산력, 유산력, 체질량 지수, 유산 당시 임신 주수, 유산 치료 방법을 확인하였다.

2. 연구 방법

1) 융모막 세포의 분리, 배양

배출된 수태물을 0.9% 생리식염수에 담아 실험실로 옮긴 후 Hank's Balanced Salt Solution (HBSS)이 들어 있는 배양접시에 넣어 해부현미경(stereo dissecting microscope) 하에서 자궁탈락막(decidua)으로부터 20-30 mg의 융모조직을 분리하였다. 분리한 융모조직은 HBSS로 수차례 씻은 후 배양액 3 mL를 넣어 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 모체세포 오염에 의한 오류를 방지하기 위하여 직접법(direct method)과 장기 배양법(long term culture method) 두 가지 방법으로 염색체 검사를 시행하였다.

(1) 직접법(direct method)

분리한 융모조직을 배양액으로 두 번 씻은 후 Trypsin-EDTA와 Colcemid를 넣고 30분간 처리하였다. 처리한 조직을 원심분리관에 옮겨 1,200 RPM에서 원심분리하고 저장액(0.075

M potassium chloride, 1% sodium citrate) 2 mL를 넣어 실온에서 20분간 처리하였다. 이를 원심분리하여 고정액(methanol:glacial acetic acid=3:1) 5 mL를 넣고 피펫팅(pipetting)하여 냉장 보관하였다. 같은 방법으로 2, 3차례 반복한 후 다시 원심분리하여 상층액을 버리고 고정액을 넣어 적정한 농도의 세포현탁액을 만들었다. 증류수에 담가두었던 슬라이드에 세포현탁액을 떨어뜨려 공기 중에서 건조한 후 슬라이드 보온기(slidewarmer)에서 12-15시간 동안 건조시켰다.

(2) 배양법(long term culture method)

분리한 용모조직에 Trypsin-EDTA를 넣고 해부용 칼로 잘게 잘라 30분에서 1시간 동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 여기에 배양액 3 mL를 넣고 원심분리관에 옮겨 원심분리한 후 상층액을 버리고 2, 3개의 플라스크에 나누어 넣은 다음 각각 배양액 4 mL를 첨가하여 배양하였다. 4-5일 동안 배양한 후 세포가 자라기 시작하면 도립현미경(inverted microscope)으로 세포배양 정도를 확인하면서 2-3일에 한 번씩 배양액을 갈아주었다. 세포 군집이 충분히 관찰되고 유사분열세포가 보이면 10 g/mL 농도의 Colcemid 용액 0.05 mL를 넣고 20분 동안 CO₂ 배양기에 배양한 후 배양액을 완전히 제거하였다. 이 플라스크에 0.25% Trypsin 용액 1 mL를 넣어 플라스크 바닥을 씻은 후 다시 Trypsin 용액을 넣고 37°C에서 5분간 배양하여 세포부유액을 얻었다. 이를 원심분리관에 옮겨 2,000 RPM에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 저장액(0.075 M potassium chloride) 5 mL를 넣어 실온에서 20분간 처리하였다. 다시 원심분리하여 고정액(methanol: glacial acetic acid=3:1) 5 mL를 넣어 고정시켰다. 같은 방법으로 두 차례 반복한 후 직접법과 동일한 방법으로 슬라이드 표본을 만들었다.

2) 슬라이드 염색, 핵형 분석

슬라이드 표본을 0.05% Trypsin 용액으로 40-50초 동안 처리한 후 10% Giemsa액으로 5-6분간 염색하고 증류수로 세척하고 건조한다. 20개 이상의 세포분열 중기세포를 현미경(Axioskop; Zeiss, Oberkochen, Germany)으로 관찰하여 염색체를 분석하였다. 이수체 세포가 관찰된 경우 50개 이상의 세포를 추가로 확인하여 모자이시즘(mosaicism) 여부를 판별하였다. 세포분열 중기세포 2개 이상의 핵형을 염색체 자동분석기(Chromosome Analyzer; Perceptive Scientific Instruments, Inc., League City, TX, USA)를 이용하여 분석하고 International System for Human Cytogenetics Nomenclature 1995의 표기 방식에 따라 기술하였다.

3. 통계학적 분석

통계학적 분석은 SPSS version 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였다. 정상 핵형군 및 비정상 핵형군의 비교를 위한 통계 방법으로 Student's *t*-test, Mann-Whitney *U*-test, χ^2 test 또는 Fisher's exact test를 사용하였다. 비정상 핵형과 관련이 있는 독립인자를 찾기 위하여 다변량 로지스틱 회귀분석(multivariate logistic regression analysis)을 시행하였다. 또한 독립인자의 cut-off 값을 구하기 위하여 receiver operating characteristic (ROC) curve를 사용하였다. 과거 3회 미만의 자연 유산력이 있는 여성들도 독립인자의 cut-off 값을 구하기 위하여 ROC curve를 사용하여 분석하였다. 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 로 하였다.

결과

1. 염색체 이상의 빈도 및 임상적 특징

Fig. 1은 각각의 핵형 결과에 따른 환자수를 나타낸 것으로, 총 190명 중 129명이 정상 또는 정상 범주 핵형이었으며, 61명에서 염색체 이상이 있었다. 상염색체 세염색체증이 전체 핵형 중 25%, 비정상 핵형의 77%로 가장 높은 빈도로 관찰되었으며, 16번 염색체 이상이 비정상 핵형 61명 중 21.3%로 가장 흔하게 관찰되었고, 22번, 21번 세염색체증 순으로 흔하게 나타났다. X 염색체 단일염색체증은 비정상 핵형 중 1.5%로 16번 세염색체증, 22번 세염색체증 다음으로 흔하였고 성염색체 수 이상 중에서는 가장 흔하게 관찰되었다.

Table 1은 정상 또는 정상 범주 핵형군과 비정상 핵형군 간의 인구통계학적 특성을 나타내는데, 평균 산모 연령이 정상군에서 33.79세, 비정상군에서 35.66세로 두 군 사이에 통계적으로

Fig. 1. Distribution of abnormal karyotypes.

Table 1. Demographic Characteristics

	Normal or normal variant chromosome group (n=129)	Abnormal chromosome group (n=61)	P-value
Maternal factor			
Maternal age (years)	33.79±4.02	35.66±4.22	0.006
Paternal age (years)	36.85±5.09	37.70±4.66	0.156
Gravidity	1.49±1.38	1.59±1.52	0.820
Parity	0.32±0.74	0.31±0.50	0.897
Maternal BMI (kg/m ²)	23.89±16.55	21.85±4.29	0.629
Number of spontaneous abortion	1.05±1.15	1.05±1.01	0.739
Number of artificial abortion	0.15±0.47	0.23±0.74	0.451
Gestational age at abortion (weeks)	8.53±1.95	9.02±2.10	0.254
Treatment of abortion			
D&C	64 (49.6)	28 (45.9)	0.886
Misoprostol vaginal insertion	60 (46.5)	30 (48.2)	
Both	5 (3.9)	3 (4.9)	
Method of conception			
Natural pregnancy	110 (85.3)	51 (83.6)	0.336
IUI	4 (3.1)	0 (0)	
IVF-ET	14 (10.9)	10 (16.4)	
IVF-ET with ICSI	1 (0.8)	0 (0)	
Infertility factor			
Male factor	1 (0.8)	1 (1.6)	0.880
Female factor	6 (4.7)	4 (6.6)	
Male and female factor	1 (0.8)	0 (0)	
Unknown	9 (7.0)	5 (8.2)	
No infertility	112 (86.8)	51 (83.6)	
Number of IVF-ET			
No IVF-ET	111 (86.0)	51 (83.6)	0.965
1	8 (6.2)	4 (6.6)	
2	7 (5.4)	4 (6.6)	
≥3	3 (2.3)	2 (3.3)	
Ultrasonography findings			
Anembryonic sac	37 (28.7)	11 (18.0)	0.115
Gestational sac size (mm)	32.45±18.10	33.39±18.83	0.588
Yolk sac size (mm)	4.79±2.45	5.51±2.64	0.081
Embryo size (mm)	17.20±17.32	11.80±15.10	0.055

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

Abbreviations: BMI, body mass index; D&C, dilatation and curettage; IUI, intrauterine sperm injection; IVF-ET, *in-vitro* fertilization and embryo transfer; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

Table 2. Univariate Analysis of Factors Associated with Chromosomal Abnormalities in Early Pregnancy Loss

	Normal or normal variant chromosome group	Abnormal chromosome group	P-value
Maternal age, ≥35 years	51 (39.5)	34 (55.7)	0.036
Number of spontaneous abortion, >2	14 (10.9)	5 (8.2)	0.569
Developmental stage			
GS only (empty sac)	24 (18.6)	5 (8.2)	0.191
YS only	13 (10.1)	6 (9.8)	
Embryo	92 (71.3)	50 (82.0)	
Embryo size (mm)			
<10	42 (45.7)	31 (62.0)	0.373
10-20	22 (23.9)	14 (28.0)	
>20	28 (30.4)	5 (10.0)	
Fetal heart rate			
No fetal heart rate ever	24 (26.1)	18 (36.0)	0.216
Fetal heart rate disappeared	68 (73.9)	32 (64.0)	
YS/GS ratio	0.18±0.17	0.2±0.12	0.110
Embryo/GS ratio	0.43±0.3	0.3±0.18	0.022
Fetal sex, male	19 (14.7)	20 (32.8)	0.004

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

Abbreviations: GS, gestational sac; YS, yolk sac.

유의한 차이가 있었다($P=0.006$). 하지만 아버지의 나이, 임신력, 출산력, 유산 횟수, 유산 당시 주수 및 치료 방법에서는 두 군 간의 유의한 차이는 없었다. 치료 방법 중 질내 미소프로스톨 단독 또는 병합 치료를 시행한 98명의 환자에서 나타난 부작용 분석 결과 복통 34.5%, 3시간 이내의 발열 또는 오한 27.4%, 경증 설사 3.5%, 오심 8.8%, 구토 3.5%, 두통 1.7%로 나타났고, 해열진통제 또는 항구토제 사용 후 증상이 호전되었으며, 유산 치료 종결 후 모든 증상이 소실되었다. 임신 방법이나 난임인 경우 난임의 원인, 시험관 임신 여부 및 횟수에 있어서도 두 군 간의 유의한 차이가 없었다. 초음파 소견에서는 난황낭, 임신낭의 평균 직경 및 배아의 크기는 두 군간 유의한 차이가 없었다.

2. 초기 유산에서 모체 특성 및 초음파 소견과 염색체 이상 여부의 연관성 분석

Table 2의 단변량 분석에서는 유산 횟수, 임신낭, 난황낭, 배아의 존재 여부, 심박 여부에 따른 두 군간 유의한 차이는 없었으나 산모의 나이의 경우 비정상 핵형군에서 35세 이상 고령 산모 비율이 유의하게 높았으며, 배아/임신낭 비는 정상군에서 0.43 ± 0.3 , 비정상군에서 0.3 ± 0.18 로 비정상군에서 통계적으로 유의하게 더 작은 것으로 나타났다($P=0.022$). 태아 성별은 비정

Table 3. Multivariate Logistic Regression Analysis of Factors Associated with Chromosomal Abnormalities in Early Pregnancy Loss

Parameters	Total		Subtotal	
	Adjusted OR (95% CI)	P-value	Adjusted OR (95% CI)	P-value
Embryo/gestational sac ratio				
>0.4	Reference	0.031	Reference	0.020
≤0.4	2.430 (1.086-5.437)		2.702 (1.166-6.265)	
Fetal sex				
Female	Reference	0.049	Reference	0.056
Male	2.336 (1.003-5.443)		2.369 (0.977-5.740)	
Maternal age (years)				
<35	Reference	0.247	Reference	0.403
≥35	1.552 (0.737-3.269)		1.394 (0.640-3.035)	

Adjusted by number of previous spontaneous abortion. Subtotal included the cases that had less than three previous spontaneous abortions.

Abbreviations: OR, odd ratio; CI, confidence interval.

상군에서 남성의 비율이 더 높게 나타났다($P=0.004$).

3. 염색체 이상과 관련된 요인의 다변량 로지스틱 회귀분석

ROC curve를 통한 cut off로 배아/임신낭 비를 ≤ 0.4 로 하였을 때 민감도 46.8%, 특이도 75%로 비정상 핵형의 유의한 cut off로 나타났다(area under the curve [AUC] 0.627, $P=0.013$). 다변량 로지스틱 회귀분석에서는 배아/임신낭 비가 유의한 독립인자로, 배아/임신낭 비가 0.4 이하일 때 비정상 핵형의 위험도는 높아졌다(adjusted odds ratio [OR] 2.43, 95% confidence interval [CI]: 1.086–5.437, $P=0.031$). 태아 성별이 남성인 경우 역시 비정상 염색체의 위험도가 증가하는 것으로 나타났다(adjusted OR 2.36, 95% CI: 1.003–5.443, $P=0.049$). 산모의 나이와 유산 횟수는 비정상 핵형의 위험도를 유의하게 증가시키지 않았다.

과거 3회 미만의 유산력이 있는 여성들만을 대상으로 한 분석에서도 ROC curve를 통한 cut off로 배아/임신낭 비를 ≤ 0.4 로 하였을 때 민감도 48.2%, 특이도 75.6%로 비정상 핵형의 유의한 cut off로 나타났다(AUC 0.627, $P=0.017$). 다변량 로지스틱 회귀분석에서는 배아/임신낭 비가 ≤ 0.4 일 때 비정상 핵형의 위험도는 높아졌다(adjusted OR 2.702, 95% CI: 1.166–6.265, $P=0.02$). 태아의 성별, 산모의 나이와 유산 횟수의 위험도는 유의하지 않았다.

고찰

임신 초기 유산의 진단기준은 질식 초음파에서 배아의 크기가 7 mm 이상이면서 심음이 없는 경우, 임신낭의 크기가 25 mm 이

상이나 배아가 관찰되지 않는 경우, 난황낭이 없는 임신낭이 관찰되고 2주 후에도 심음이 있는 배아가 관찰되지 않는 경우, 난황낭과 임신낭이 함께 관찰된 11일 이후에도 심음이 있는 배아가 관찰되지 않는 경우이다.² 임신의 불량한 예후와 관련된 초음파 소견들이 제시되고 있으나 아직까지 염색체 이상의 높은 위험도를 예측하는 초음파 소견은 명확하지 않은 실정이다.¹¹

최근 연구들은 무배아성 수태물 중 염색체 이상 빈도가 배아성 수태물의 염색체 이상 빈도보다 낮은 것으로 보고하고 있는데,^{16,17} 그 이유는 배아가 발달하기 직전까지는 모체 요인이 유산 위험에 영향을 미치고, 배아가 발달하면서 유전적 요인이 유산의 주된 원인으로 작용하기 때문인 것으로 제시하고 있다.¹⁸ 배아성 여부 이외의 초음파 소견으로 제시되었던 염색체 이상의 위험인자로 배아의 크기가 작은 경우, 배아와 임신낭이 균형적으로 작은 경우 등의 소견이 있다.^{11,17,18} 본 연구 결과에서 배아의 크기, 임신낭의 크기 자체는 염색체 이상과 관련이 없었지만 배아/임신낭의 비가 0.4 이하인 경우 비정상 염색체의 위험도가 2배 이상 증가하였는데, 앞선 연구들의 결과 및 가설과 유사하게 염색체 이상이 있는 경우 임신낭에 비하여 배아의 발달이 초기에 중단된 것으로 추정할 수 있다. 그러나 배아가 없는 임신낭에서 염색체 이상의 빈도가 높다는 연구 결과도 있으며, 유산에는 모체의 기저질환, 면역, 호르몬, 환경 등 다양한 요인이 복합적으로 작용하기 때문에 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.^{11,19}

이전의 보고들에 의하면 자연 유산아의 염색체 이상 중 염색체 수 이상이 대부분을 차지하고 그중 상염색체 세염색체증이가 가장 흔하게 관찰된다고 알려져 있다.²⁰ 본 연구에서도 상염색체 세염색체증이 전체 핵형 중 25%, 비정상 핵형의 77%로 가장 높은 빈도로 관찰되었다. 16번 세염색체증이 비정상 핵형 61명

중 21.3%로 가장 흔하게 관찰되었고, 22번, 21번 세염색체중 순으로 흔하게 나타났다. 이는 기존의 국내 보고들과 일치하는데, 1995년 Choi 등²¹이 자연 유산아 573예의 세포유전학적 연구에서 상염색체 세염색체중의 발생 빈도를 16번(25%), 22번(15%), 21번(9.3%) 순으로 보고하였고, 2011년 Han 등¹과 2014년 Choi 등²²도 16, 22, 21번 순으로 세염색체 발생 빈도를 보고하였다. X 염색체 단일염색체중은 비정상 핵형 중 13%로 성염색체 수 이상 중에서는 가장 흔하게 나타나 기존 보고와 일치하는 결과를 보였다.²³ 평균 산모 나이는 기존의 연구 결과와 마찬가지로 비정상 핵형군에서 유의하게 높았다.²⁴ 또한 남성 유산에서 여성 유산에 비하여 염색체 이상의 비율이 높은 것으로 나타났는데, 이는 비정상 핵형에서 태아 성별이 여성인 경우가 더 많았다는 기존 보고들과 상반되는 결과로 이는 인종, 지역, 환경에 따른 차이 그리고 표본 크기에 따른 영향으로 생각된다.^{1,25} 산모의 나이와 이전의 유산 횟수, 성별을 보정한 다변량 회귀분석에서 남성 성별 및 낮은 배아/임신낭 비(≤ 0.4)는 비정상 핵형의 유의한 위험인자이나 산모의 나이와 이전 유산 횟수는 비정상 핵형의 위험도를 유의하게 증가시키지 않았고, 유산의 과거력이 3회 미만인 경우에는 ‘ ≤ 0.4 의 낮은 배아/임신낭 비’만이 유의한 위험인자로 나왔다.

고전적인 염색체 분석에서는 세포분열이 활발하게 일어나는 세포분열 중기세포의 핵형을 분석하는데,²⁶ 이는 배양 실패 및 모체 세포에 의한 오염 위험이 있고, 약 20메가바이트의 제한된 해상도를 가지므로 염색체의 수적 이상은 쉽게 진단할 수 있지만 미세 결손 또는 그 이하 작은 단위의 유전자 이상은 진단하기 어렵다. 진단 기술의 발달로 배열기반 비교 게놈 혼합법(array-based comparative genomic hybridization), 차세대 염기서열 분석(next-generation sequencing) 등을 통하여 적은 수의 세포로도 염색체 분석이 가능하고 작은 단위의 유전자 이상도 발견할 수 있는데, 이를 통하여 기존 핵형 분석을 통하여 발견할 수 있는 염색체 이상에 추가적으로 약 3.8-13%의 이상을 발견할 수 있는 것으로 보고된다.²⁷⁻³⁰ 그러나 고가의 비용과 정상 변이와 비정상 돌연변이 해석의 어려움, 균형 전좌 진단 불가 및 배수성 이상 진단의 제한과 같은 단점이 있어 상용화에는 아직 어려움이 있다.³¹ Li 등¹⁸의 배열기반 비교 게놈 혼합법을 이용한 연구에서는 전체 염색체 이상의 비율은 44.9%이며, 비정상 염색체의 위험은 초기에 임신낭과 배아의 크기가 둘 다 균형적으로 작은 경우에 가장 높고, 무배아성 임신낭에서 가장 낮은 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 임신낭의 배아성 여부는 염색체 이상과 관련이 없는 인자로 나왔지만 임신낭에 비하여 배아의 크기가 작을수록 염색체 이상의 위험도가 증가하였고, 유의한 cut-off 값은 0.4 이하인 경우로 나왔다. 민감도는 50% 이

하로 낮았으나 특이도가 70% 이상으로, 배아/임신낭 비가 0.4를 초과하는 경우에는 염색체 이상의 위험도는 낮을 것으로 판단된다. 향후 보다 많은 수를 대상으로 검증이 이루어져야 하겠으나 임신낭, 난황낭, 배아 등의 크기가 임신 주수에 따른 정상 범위에 속하는 지를 계산하는 것 외에도 특정 항목의 cut-off 값보다 높은지, 낮은지를 비교하는 것이 임신에 적용하기에 더 실용적일 수 있을 것이다.

본 연구 결과에서 염색체 이상의 빈도는 약 32%로 기존 보고 빈도인 약 50%에 미치지 못하였는데, 향후 추가적인 진단법을 이용하여 염색체 이상을 보다 정확히 진단한다면 초음파 예측인자와 염색체 이상 위험도 간의 연관성을 파악하는 연구의 정확도도 높아질 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 아직까지 미국산 부인과학회에서는 초기 유산 수태물에서 마이크로어레이 또는 차세대 염기서열 분석 등의 최신 검사법을 이용한 염색체 검사의 상용화는 일반적으로 권장되지 않는다.³²

본 연구는 후향적 연구로 무배아 유산에서는 비정상 핵형을 예측할 만한 초음파 소견을 밝히지 못하였다는 한계가 있다. 그러나 배아를 포함한 유산에서 핵형 이상을 예측할 수 있는 인자를 밝혀냄으로써, 계류 유산 치료 시 수태물 염색체 검사를 원하는 경우 세포유전학적 분석을 고려할 수 있는 초음파 인자와 임상에서 활용이 간편한 cut off 값을 제시하였다는 점에서 의의가 있을 것이다.

Conflict of interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- 1) Han SH, An JW, Yang YH, Kim YJ, Cho HI, Lee KR. Incidence and spectrum of chromosomal abnormalities associated with spontaneous abortions in Korea: 470 products of conception over a period of 6 years (2005-2010). *J Genet Med* 2011;8:44-52.
- 2) ACOG practice bulletin no. 200: early pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 2018;132:e197-207.
- 3) Kline J, Stein Z. Very early pregnancy. In: Dixon RL, ed. *Reproductive toxicology*. New York: Raven Press, 1985:251-65.
- 4) Ljunger E, Cnattingius S, Lundin C, Annerén G. Chromosomal anomalies in first-trimester miscarriages. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005;84:1103-7.
- 5) Eiben B, Bartels I, Bähr-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.
- 6) Simpson JL. Causes of fetal wastage. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50:10-30.
 - 7) Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ* 2000;320:1708-12.
 - 8) Korea National Statistical Office, Korean Vital Statistics Birth Certificate Data. The Korean statistical information service data (2010.01-2016.12). [online] 2019 Jan 29 [cited 2019 Apr 1]. Available from: URL: <http://www.kosis.kr/>.
 - 9) Park IY, Kwon JY, Kim YH, Kim M, Shin JC. Maternal age-specific rates of fetal chromosomal abnormalities at 16-20 weeks' gestation in Korean pregnant women ≥ 35 years of age. *Fetal Diagn Ther* 2010;27:214-21.
 - 10) Attali L. Psychological aspects of abortion. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016;45:1552-67.
 - 11) Angiolucci M, Murru R, Melis G, Carcassi C, Mais V. Association between different morphological types and abnormal karyotypes in early pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:219-25.
 - 12) von Hertzen H, Piaggio G, Huong NT, Arustamyan K, Cabezas E, Gomez M, et al. Efficacy of two intervals and two routes of administration of misoprostol for termination of early pregnancy: a randomised controlled equivalence trial. *Lancet* 2007;369:1938-46.
 - 13) Kim JI, Park IY, Yim JM, Cheon JY, Yun HG, Kwon JY. Serum β -hCG concentration is a predictive factor for successful early medical abortion with vaginal misoprostol within 24 hours. *Obstet Gynecol Sci* 2017;60:427-32.
 - 14) Lindsay DJ, Lovett IS, Lyons EA, Levi CS, Zheng XH, Holt SC, et al. Yolk sac diameter and shape at endovaginal US: predictors of pregnancy outcome in the first trimester. *Radiology* 1992;183:115-8.
 - 15) Blaas HG, Eik-Nes SH, Bremnes JB. The growth of the human embryo. A longitudinal biometric assessment from 7 to 12 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:346-54.
 - 16) Cheng HH, Ou CY, Tsai CC, Chang SD, Hsiao PY, Lan KC, et al. Chromosome distribution of early miscarriages with present or absent embryos: female predominance. *J Assist Reprod Genet* 2014;31:1059-64.
 - 17) Ouyang Y, Tan Y, Yi Y, Gong F, Lin G, Li X, et al. Correlation between chromosomal distribution and embryonic findings on ultrasound in early pregnancy loss after IVF-embryo transfer. *Hum Reprod* 2016;31:2212-8.
 - 18) Li X, Ouyang Y, Yi Y, Tan Y, Lu G. Correlation analysis between ultrasound findings and abnormal karyotypes in the embryos from early pregnancy loss after in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2017;34:43-50.
 - 19) Goldstein SR, Kerenyi T, Scher J, Papp C. Correlation between karyotype and ultrasound findings in patients with failed early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996;8:314-7.
 - 20) Jacobs PA, Hassold TJ. Chromosome abnormalities: origin and etiology in abortions and livebirths. In: Vogel F, Sperling K, eds. *Human genetics*. Berlin: Springer, 1987:233-44.
 - 21) Choi SK, Park SY, Hwang JH, Ryu HM, Jun JY. Cytogenetic studies from chorionic villi of 573 spontaneous abortion. *Obstet Gynecol Sci* 1995;38:2271-7.
 - 22) Choi TY, Lee HM, Park WK, Jeong SY, Moon HS. Spontaneous abortion and recurrent miscarriage: a comparison of cytogenetic diagnosis in 250 cases. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57:518-25.
 - 23) Jenderny J. Chromosome aberrations in a large series of spontaneous miscarriages in the German population and review of the literature. *Mol Cytogenet* 2014;7:38.
 - 24) Hosil IM, Walter-Göbel I, Tercanli S, Holzgreve W. Spontaneous fetal loss rates in a non-selected population. *Am J Med Genet* 2001;100:106-9.
 - 25) Jamieson ME, Coutts JR, Connor JM. The chromosome constitution of human preimplantation embryos fertilized in vitro. *Hum Reprod* 1994;9:709-15.
 - 26) Blakemore KJ, Watson MS, Samuelson J, Breg WR, Mahoney MJ. A method of processing first-trimester chorionic villous biopsies for cytogenetic analysis. *Am J Hum Genet* 1984;36:1386-93.
 - 27) Dhillon RK, Hillman SC, Morris RK, McMullan D, Williams D, Coomarasamy A, et al. Additional information from chromosomal microarray analysis (CMA) over conventional karyotyping when diagnosing chromosomal abnormalities in miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2014;121:11-21.
 - 28) Shimokawa O, Harada N, Miyake N, Satoh K, Mizuguchi T, Niikawa N, et al. Array comparative genomic hybridization analysis in first-trimester spontaneous abortions with 'normal' karyotypes. *Am J Med Genet A* 2006;140:1931-5.
 - 29) Lin SB, Xie YJ, Chen Z, Zhou Y, Wu JZ, Zhang ZQ, et al. Improved assay performance of single nucleotide polymorphism array over conventional karyotyping in analyzing products of conception. *J Chin Med Assoc* 2015;78:408-13.
 - 30) Sahoo T, Dzidic N, Strecker MN, Commander S, Travis MK, Doherty C, et al. Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays: outcomes, benefits, and challenges. *Genet Med* 2017;19:83-9.
 - 31) Rajcan-Separovich E. Chromosome microarrays in human reproduction. *Hum Reprod Update* 2012;18:555-67.
 - 32) Committee on Genetics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee opinion no.682: microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol* 2016;128:e262-8.