

체외수정과 배이식에 의한 임신성공예에 관한 연구

고려대학교 의과대학 산부인과학교실

구병삼 · 유동화 · 이규완 · 나중열 · 홍성봉

성신여사대 생물학과

배 인 하

—Abstract—

Pregnancies by In Vitro Fertilization and Embryo Transfer

Ku, Pyong Sahn, M.D., Yoo, Dong Wha, M.D., Lee, Kyu Won, M.D., Rha, Joong Yul, M.D.
and Hong, Sung Bong, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Coffefe of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

We have reviewed 59 cases of patients amoung 65 cases who underwent IVF and ET with reasonable indications irom 1984 and the results as follows.

1. Major indications for IVF and ET were tubal factor (40.7%), unexplained infertility (25.4%), endometriosis (15.3%), failed AID and AIH (10.1%), and sperm abnormality (8.5%).
2. For superovulation of human oocytes, 100mg of clomiphene citrate and 75 IU of HMG used. The monitoring of oocyte maturation was bone by ultrasound examination and serum 17-β estradiol, LH values. The peak E₂ value was 956.36 ± 702.13 pg/ml.
3. The oocytes were obtained by laparoscopy 24–36 hours after the injection of HCG.
4. The mean numbers of follicles at laparoscopy was 3.06 and the successful rate of laparoscopy was 79.7%.
5. And 165 follicles were aspirated from which 98 oocytes were recovered, 59.4% of all follicles had at least one oocyte aspirated. 21.4% of the eggs were mature, 52.0% were moderate, 26.5% were immature.
6. 67.3% of oocytes were cleaved and were transferred at 4–6 cell stages.
7. Four pregnancies including one chemical pregnancy and one spontaneous abortion were established by β-subunit, u-hCG and ultrasound examinations.

서 론

불임여성의 임신을 위한 각종 검사와 치료의 시도는 산부인과영역에서 오랜 역사를 두고 지속되어 왔으나 아직도 미해결의 어려운점이 남아있으므로 이를 해결하기 위한 최후의 방법으로 최근 체외수정(In Vitro Fertilization: IVF)과 수정란(胚芽) 이식(Embryo Transfer: ET)의 방법에 의하여 임신한 예가 선진국에서 보고되고 있다.

*본 논문의 요지는 1986년 제57차 대한산부인과 학회 춘계학술대회에 1차 발표하였음.

인간에서는 1965년 Edwards 등¹⁾에 의해 처음으로 체외수정이 시도되었고, 1978년 Edwards and Steptoe 등²⁾에 의하여 최초로 시험관아기가 탄생되었음이 보고되었다.

그후 1980년 Lopata 등^{3,4)}에 의해, 1981년 Tro- unson 등⁵⁾에 의해, 1982년 Jones and Jones 등⁶⁾, Feichtinger 등⁷⁾, Testart and Frydman⁸⁾ 등에 의해 그 성공예가 계속 발표되어 많은 불임여성에게 희망을 안겨주었다.

저자들은 최근 1984년부터 본 대학병원 산부인과에 내원한 불임증환자중에서 체외수정의 적응증에 해당하는 65예중 선택된 59예를 대상으로 하여 cl-

omiphene citrate와 human menopausal gonadotropin (이하 MGH로 약함) 및 human chorionic gonadotropin (이하 HCG로 약함)으로 과비란을 유도한 뒤 radioimmunoassay (이하 RIA로 약함)로 혈중 estradiol (이하 E₂로 약함)과 LH치의 상승변화치를 측정하였고, 자궁경부점액의 변화와 누출어 초음파에 의한 난포성숙을 관찰한 뒤 복강경에 의하여 난자를 채취하여 배양시킨 뒤 체외수정을 하여 그 수정란(胚芽)을 자궁내 이식하였다.

본 연구는 체외수정의 대상 및 그 시행과정, 수정 성공율과 임신성공율을 비교 분석하기 위하여 이연구를 시도하였으며 각음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

연구대상 및 방법

1. 연구 대상

1984년 부터 본 대학병원 산부인과에 내원한 불임증환자중에서 체외수정과 수정란이식의 치료법에 해당되는 적응증을 가진 65명에서 선택된 59명에서 시도하였다. 그 적응증을 Table 1에서 보면 난관 자체에 의한 불임 즉 난관요인이 24명(40.7%)로 가장 많았고, 그 다음이 원인불명의 불임 15명(25.4%), 자궁내막증이 9명(15.3%)의 순으로 나타났다.

2. 연구방법

1) 과배란 유도

환자의 월경주기 제 3일째 부터 clomiphene citrate를 하루에 100mg씩 5일간 경구로 투여하며, HMG 75u(FSH 75u, LM 75u)을 같이 5일간 근육주사하였다. 월경주기 제 7일 즉 clomiphene citrate의 경구투여가 끝나는 날부터 혈중 E₂와 LH를 매일 RIA로 측정하여 혈중 E₂치가 300pg/ml 이하로 낮은 경우와 매일 측정에서 증가폭이 낮은 경우는 추가로 HMG를 하루에 75u에서 150u씩 2~4일간 근육주사하였다. 혈중 E₂와 LH치를 매일 측정하고 자궁경부점액, 기초체온표의 변화를

이 관찰하여 적절한 시기에 HCG 10,000u를 근육주사하였고 HCG 주사후 24~36시간후에 복강경을 시술하였다.

2) 혈중 E₂와 LH의 측정

월경주기 제 7일, 즉 clomiphene citrate의 복용 마지막 날에 E₂치를 측정한 뒤 복강경 시술전까지 매일 측정하였다. E₂의 측정은 매일 오전 8시 30분 말초혈액 4ml를 채취하여 3,000rpm에서 15~20분간 원심분리한 뒤 RIA 방법으로 Coat-A-Count Kit((Diagnostic Products Corporation)을 사용하였다. 이 Kit의 민감도는 20~3,000pg/ml이었다.

LH의 측정도 E₂와 같은 방법으로 혈청을 얻어서 pharmacia LH RIA 100(pharmacia AB, Uppsala, Sweden)을 사용하였고, 민감도는 희석되지 않은 표본에서 5~250IU/L이고 희석하는 경우는 더 높은 치로 증가될 수 있다.

3) 초음파 단층촬영법

초음파 단층촬영은 월경주기 제 10일째부터 실시하여 복강경 시술전날까지 매일 시행하였으며 방광이 팽만한 상태에서 시행하였다. 초음파진단기는 SSD-202 Real time Aloka Echo-Camera를 이용하여 난소난포의 직경과 수를 측정하였다.

4) 복강경 시술

복강경은 HCG 10,000u를 근육주사후 24~36시간후에 시행하였고, 환자는 복강경 시술전 10시간 정도 금식을 한 뒤 demerol 50mg과 Valium 10mg 혼합하여 정맥주사한 뒤 Second Puncture 방법으로 난자를 흡인 하였다(필요한 경우는 추가로 DeUerol 50mg을 정맥주사 하였다).

2nd puncture는 3.6×90mm의 trocar와 cannula로 puncture한뒤 2.2×2.5×175mm의 double lumen needle과 PTFE lined Suction tube로 넣고 한구멍은 Falcon Flask에 한구멍은 10ml irrigation tube에 그리고 흡입은 craft suction unit R 4145에 연결하여 foot control로 흡인하여 난자를 채취하였다.

난자흡입은 Earle's Balanced Salt Solution (이하 EBSS로 약함)가 포함된 50cc falcon flask는 즉시

Table 1. Indication of IVF and ET

Indication	No. of pt.	Percentage (%)
IFC due to damage fallopian tubes (tubal disease)	24	40.7
Endometriosis	9	15.3
Sperm abnormality	5	8.5
Failed AID and AIH	6	10.1
Unexplained IFC	16	25.4
Total	59	100.0

배양실로 옮겨서 Fetal Cord Serum 20%가 포함된 EBSS, 즉 culture media에 옮긴 뒤 역반사 현미경 하에서 난자의 유무와 상태를 관찰하였다.

5) 배양 및 수정

난자는 그 상태에 따라 성숙된 난자(mature ovum) 중간상태의 난자(moderate ovum) 미성숙 난자(im-mature ovum)로 분류하였다.

성숙된 난자는 6시간, 중간상태의 난자는 6~12시간, 미성숙 난자는 12~24시간 배양시킨 뒤 체외 수정을 하였는데 체외수정 직전에 20% culture media에서 10% media로 옮겼다.

정액(semen)은 복강경시술전에 정액검사를 실시하여 정자의 수, 운동성, 상태등을 미리 관찰한뒤 냉동보관된 정액을 이용하였거나 또는 수정전 2~3시간전에 다시 수음으로 정액을 얻어서 3차례 Washing한뒤 정자의 농도가 $0.5 \sim 2 \times 10^4$ /ml가 되도록 수정시켰다. 수정시킨뒤 탄산가스 37°C 배양기에서 배양시킨 뒤 24시간 후에 10% culture media에서 20% culture media로 옮기면서 역반사 현미경을 통해 난자의 상태를 관찰하고 수정시킨 뒤 48시간에서 72시간내에 난자의 난할이 4~6세포가 되면 수정란을 이식하였다.

6) 수정란 이식

수정후 48시간에서 72시간후 수정란이 4~6세포가 되면 수정란을 자궁내 이식하였다. 수정란이식에 적합한 자궁내막의 전처치를 위해 복강경시술후

매일 progesrevone 12.5mg씩 근육주사 하였다.

환자가 과배란유도를 위해 월경중 내원시 내진과 sound로 자궁의 위치를 확인하고 수정란 이식이식관이 쉽게 들어가게 하기 위하여 5번까지 hegar dilatation을 시행하였다.

환자는 자궁의 위치에 따라 배천위(lithotomy position)이나 슬흉위(knee-chest position)의 자세로 하여 자궁경부를 allis cramp로 노출시키고 이식관에 내재된 관을 자궁경관에 삽입시킨 뒤 이식관을 자궁내강에 집어 넣고 여기에 연결된 1cc주사기를 사용하여 수정란을 이식시켰다. 수정란이 이식된 후 현미경으로 이식난을 관찰하여 수정란의 유무를 확인한 후 그 자세에서 약 4~5시간 안정을 시켰다.

연구 성적

1. 혈중 E₂치와 난소난포의 성장

혈중 E₂치는 월경주기 제 7일부터 매일 측정하였으며 복강경 당일날부터는 측정을 하지 않았다.

평균 E₂치는 956.36 ± 702.13 pg/ml(Standard Error : 90.64)로 최하 106 pg/ml에서 최고 3440.23 pg/ml의 범위로 개인간의 차이가 많았으며 초음파상에서 관찰한 난소난포의 수는 2~8난포의 범위로 평균 3.01이었다.

2. 복강경시술 및 난자의 성숙도

Table 2. Pregnancies related to IVF and ET

No. of cases	Age	Indication	Peak E (pg/ml) ²	No. of follicle	No. of oocyte	No. of embryo
1	27	Unexplained	570	5	5	4
2	32	Tubal disease (prev. ectopy two times)	698	2	2	1
3	33	Sperm Abnormality	521	7	6	2
4	33	Tubal disease (bilateral salpingectomy)	1940	3	2	1

Cell stage of embsyo	B-subunit (mIU/ml)	U-hCG	Sone	Outcome
8 cell×1 4 cell×2 2 cell×1	Not check	MCD 44 (+) FHB and FM		active 1986. 6. EDC
4 cell×1	Not check	MCD 41 (+) FHB and FM		active Clinical abortion at pregn 13Wks
4 cell×2	Not check	MCD 42 (+) FHB and FM		active 1986. 8. EDC.
4 cell×1	MCD 27 : 17.6	(-)	(-)	Menstrual abortion

FHB : Fetal Heart Beat FM : Fetal movement

복강경에 의한 난자의 흡입은 59예에서 시행하였는데 이중 5예에서는 시행할 수가 없었다. 즉 2예에서는 난소주위의 유착이 심해서 불가능하였고 1명은 streak overy였고, 2명은 이미 배란된 상태였다. 복강경시 난소난포수는 54예에서 165개였고 평균 난포수는 3.06(165/54)이었다. 복강경시술이 가능한 54예중 7예에서 난포를 흡입하였으나 난자를 발견할 수가 없었다. 시행된 복강경의 성공율은 79.7%이었다.

165개의 난포에서 98개의 난자를 채취하여 난포당 난자 획득율은 59.4%였다.

확인된 난자를 분류한 결과 성숙된 난자가 21개(21.4%), 중간상태의 난자가 51개(52.0%), 미성숙 난자는 26개(26.5%)로 중간상태의 난자가 약반을 차지하였다.

3. 난자의 수정율

54명의 환자에서 채취한 98개의 난자중 66개에서 난할이 있어 67.3%의 난할율을 보였다.

수정란을 체외수정 직전에 관찰한 결과 13개는 2세포기, 38개는 4세포기, 15개는 6~8세포기에 달하였다.

4. 수정란의 자궁내이식 및 임신

난포흡입을 시행한 54명중 35명에서 수정란을 얻어 자궁내 수정란 이식을 시행하였다(64.8%).

화학임신과 자연유산 각 1예를 포함하여 4명에서 임신이 확인되었다.

Table 2에서 보면 첫번째 경우는 8세포기 1개, 4세포기 2개와 2세포기 1개등 모두 4배아를 자궁내 이식한 뒤 월경제(MCD) 44일에 u-hCG가 양성으로 나왔고 그 뒤 초음파검사에 의해 태아의 심박과 운동성을 확인하였다. 그 뒤 정상적인 임신과정을 거쳐 1986년 6월 분만예정에 있다.

두번째 2회의 자궁외 임신으로 양측난관 제거된 예로서 4세포기 1개를 이식한 뒤 MCD 41에 u-hCG상 양성으로 나왔고, 그 뒤 초음파로 태아심박과 운동성이 확인되었으나 임신 13주에 자연유산되었다.

3번째 경우는 33세로 6년간 인공수정을 시도하였으나 실패한 예로서 4세포기 2개의 수정란을 이식한 뒤 MCD 42에 u-hCG상 양성으로 나왔고, 그 뒤 초음파로 태아의 심박과 운동성을 확인 하였고 정상적인 과정을 거쳐 1986년 8월 분만예정에 있다.

4번째 경우는 4세포기 1개를 이식한 뒤 MCD 27에 β -subunit가 17.6mIU/ml로 화학임신이 확인

된 후 월경유산(menstrual abortion)이 되었다.

고 안

체외수정과 수정란이식은 오래전부터 생리학자와 산부인과 의사의 관심의 대상이었고 생식생리와 인간생식세포의 배양기술및 발생공학의 발전이 산부인과 영역의 불임증치료에 적지않은 공헌을 하게되었다. 본 병원 산부인과에서는 1983년부터 체외수정의 예비실험 즉 동물실험 및 인간생식세포의 연구를 통하여 1984년부터 외래에 내원한 불임여성중 체외수정과 수정란이식의 치료법이 해당되는 환자에게 그 시도를 하였다.

시험관아기의 적응증의 경우를 보면 Wood and Trounson¹⁰⁾에 의하면 난관요인이 50~79%로 가장 많았고 자궁내막증이 7~15%, 정충의 이상이 5~30%, 원인불명의 불임이 3~18%, 정자에 대한 항체의 경우가 1~5%, 인공수정에 실패한 경우가 1~5%를 차지하였다. 최근의 보고¹¹⁾에서도 난관요인외에도 원인불명의 불임, 자궁내막증, 정액자체의 이상등이 시험관아기의 적응대상이 된다고 한다. 본 연구의 경우에서도 난관요인이 40.7%로 가장 많은 부분을 차지하였고 원인불명의 불임이 25.4%, 자궁내막증이 15.3%, 인공수정에 실패한 경우가 10.1%, 정자에 대한 항체형성이 8.5%의 순으로 나타났다.

과배란을 유도하는 방법을 보면 1978년 Edwards and Steptae⁸⁾는 정상월경주기에서 난자를 채취하여 시험관 체외에서 수정을 시켜 최초의 시험관아기 탄생을 보고하였고, Trounson등⁹⁾은 clomiphene citrate를 사용하여 과배란을 유도하였고, 그뒤 HMG를 사용하여 과배란을 유도하는 방법^{8, 12, 13)}과 clomiphene citrate를 사용하거나¹⁴⁾ 여기에다 HMG를 추가하여 과배란을 유도하는 방법^{8, 15)}등이 소개되었다. 본 병원의 경우는 대부분에서 Clomiphene Citrate와 HMG로 과배란을 유도하였고 매일 측정된 혈중 E₂와 LH치의 변화 자궁경부점액의 변화, 기초체온표, 초음파에 의한 난소난포의 직경등을 근거로 하여 E₂치가 plateau를 형성하거나 LH 치가 상승하기 시작하면 HCG를 10,000u 근육주사 한 뒤 24~36시간후에 복강경에 의해 난자를 채취하였다. 과배란으로 자극으로 인하여 난자를 많이 얻을 수록 또한 많은 수정란을 얻을수록 체외수정의 성공율을 높인데 1개의 수정란을 이식할 경우는 9%이지만 3개의 수정란을 이식할 경우는 27%라는 높은 성공율을 보여준다고 한다¹⁰⁾. 과배란을 많이 시킬수록 그 성공율이 높아짐을 본 연구의 성공예에서 보아

도 알수 있다. 본 연구에서는 대부분의 경우 에서 Clomiphene citrate와 HMG를 사용하여 과배란을 유도하는데 최근의 보고에 의하면¹⁰⁾ Clomiphene Citrate을 사용하는 경우 과배란의 성적은 비교적 좋으나 자궁내막에 변화를 초래하여 수정란이 착상하는데 좋지않은 영향을 주어서 유산이 잘된다고 한다.

과배란 유도시 Robert 등¹⁴⁾에 의하면 E₂값의 수치가 4일간 계속 상승되고, 초음파상난포의 직경이 13mm이상 되는 것이 2개 이상이며, 자궁경부 점액이 반응하는 경우 마지막 HMG투여후 52시간이 지난뒤 HCG 10,000u를 근육주사한 뒤 36시간후에 난자를 채취하였다.

외국의 보고¹⁷⁾에서는 대부분 전신마취하에서 복강경을 시술하고 난자를 채취하였으나 본 병원에서는 국소마취하에 petidine 50~100mg과 Valium 10mg을 정맥주사하여 시행하였고, 발판흡입기가 있는 double-lumen aspiration needle을 사용하여 난자를 채취하였다. 외국의 경우는 골반유착이 심하여 복강경에 의해 난자채취가 불가능한 경우 초음파기에 의해 난소난포를 확인하고 방광을 통하여 난자를 채취하는 방법¹⁸⁾이 보고되었으나 본 병원에서는 과배란후 개복수술을 통해 유착을 박리한 뒤 난자를 채취하는 방법을 사용하였다.

난자의 배양액은 Ham's F-10을 가장 많이 사용하고 있고^{14, 16, 19)} 연구팀에 따라 사용하는 배양액에서 차이가 있으나 본 예의 경우는 EBSS에 20% cord serum을 혼합하여 사용하였다. fetal cord serum은 연구팀에 따라 7.5%, 10%, 20%을 혼합해서 사용하기도 하나⁹⁾ 그 배양액에 따른 그 결과는 특별한 차이가 없다고 한다²⁰⁾.

성숙된 난자의 경우 4~5시간 정도 배양시킨다고 하듯이²¹⁾ 본 저자들의 경우에서도 성숙된 난자는 6시간, 중간상태의 난자는 6~12시간, 미성숙 난자는 12~24시간 동안 배양시킨 뒤 정충의 농도가 0.5~2×10⁶/ml가 되도록 수정시켰다. 정충의 수가 작으면 수정이 불가능하다고 하나, 연구팀에 따라 차이가 있지만 대체로 0.5~1×10⁶/ml가 되도록 수정을 시키고 있다^{16, 21)}. 수정시킨 뒤 성숙된 난자의 경우 40시간이 지나면 수정난이 4~8세포기가 된다고 보고되었듯이¹⁴⁾ 본 연구에서도 수정후 48~72시간후 4~6세포기가 되면 자궁내 수정란을 이식시켰다. 수정난의 자궁내 이식이 언제 시행하며 수정후 몇시간내에 시행하는 것이 가장 성공율이 높은지는 확실치는 않으나 Edwards²²⁾ 등은 8~16세포기에 수정란을 이식하여 임신을 성공시켰고 Jones⁶⁾는 수정후 42~72시간후 이식을 한다고 하였고 Robert 등¹⁴⁾

은 4~8세포기에 이식을 한다고 보고하였다. 최근의 보고에 의하면 48시간 이내에 수정란 이식을 하는 것이 좋다고 한다. 수정란 이식시 환자의 위치는 본 연구에서는 자궁의 위치에 따라 배천위나 슬흉위 자세에서 시행하였고 이식후 그 자세에서 4~5 시간 안정을 하였다.

황체호르몬의 투여에 대해 아직 논문이 많은데 Alan¹⁵⁾ 등은 복강경시기와 황체기에 황체호르몬인 progesterone이 체외수정의 성공율에 크게 관여를 안한다고 하고, 한편 Garcia²³⁾ 등은 황체기의 결손이 생기므로 황체호르몬의 보강이 필요하다고 한다. 본예에서는 복강경시술을 하는 날부터 매일 progesterone 12.5mg씩 매일 근육주사 하였다.

수정성공율은 연구팀에 따라 75~97%²³⁾, 75~83.3%²⁰⁾로 보고되고 있지만 본 연구에서는 67.3%에서 수정난의 난황이 관찰되었고 64.8%에서 체외수정을 시행하였다.

체외수정의 적응증과 나이에 따라 그 성공율에 차이가 있다고 보고되고 있는데²⁴⁾ 자궁내막증과 정상 불임여성에서는 비교적 좋은 결과를 나타내고 있고, 난관요인과 남성불임의 경우에는 그 성공율이 낮게 나타났다. 연령별에서 보면 Edwards and Steptoe와 C. Wood 등¹⁰⁾에서와 같이 환자의 나이가 40세 이상이면 그 대상으로 제외시켰고 Norfolk 팀에 의한 그 결과를 보면²⁵⁾ 31~35세군 보다는 20~30세군에서 그 성공율이 높게 나타났다. 본 연구에서는 비교적 나이가 30세 이상의 군이 많았고 난포흡인을 시행한 54명중 47명에서 난소채취를 하였으며 35명에서 수정란을 얻어 체외수정을 한 결과 화학임신을 포함하여 4명에서 임신이 되었다.

본 연구에서 보면 국내의 보고²⁶⁾와 외국의 보고²⁷⁾를 비교해 볼때 수정성공율이 67.3%로 약간 낮게 나타났지만 앞으로 과배란의 유도방법, 난자채취의 방법과 수정시키는 과정 및 수정란이식등의 과정에서 여러가지 조건의 개선과 능률화가 이룩된다면 체외수정 및 수정란이식의 성공율은 높은 것으로 사료된다.

결 론

1984년부터 본 병원 산부인과에 내원한 불임증환자중 체외수정과 수정란이식의 치료법에 해당되는 65명중 선택된 59명에서 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 그 적응증을 보면 난관요인이 24명(40.7%)로 가장 많았고 그 다음이 원인불명의 불임 15명(25.4%), 자궁내막증 9명(15.3%), 인공수정에 실패

한 경우 6예(10.1%), 정자의 이상이 5예(8.5%)의 순으로 나타났다.

2. 과배란 유도를 위해 Clomiphene Citrate 100 mg과 HMG(75 IU), HCG를 사용하였고, 난소난포의 성숙은 초음파촬영과 혈중 E₂치, 와 LH수치를 보았다. 평균 E₂치는 956.36±702.13pg/ml이었다.

3. 난자채취를 위한 복강경시술 시기는 초음파에 의한 난포의 직경과 수, E₂와 LH치와 자궁경부점액의 변화 및 기초체온표에 근거를 두고 HCG 10,000 u 근육주사뒤 24~36시간후에 시행하였다.

4. 복강경에 의한 난소의 난포수는 3.06 이었고 시행된 복강경의 성공율은 79.4%이었다.

5. 난포당 난자 획득율은 59.4%였고 역반사 현미경을 통해 난자를 분류한 결과 성숙된 난자가 21.4%, 중간상태의 난자가 52.0%, 미성숙 난자가 26.5%를 차지하였다.

6. 수정란이 4~6세포기에 체외수정을 하였고 수정율이 67.3%였다.

7. 임신성공율은 화학임신과 자연유산 각 1예를 포함하여 4예에서 호르몬치와 소변검사, 초음파를 통해 임신을 관찰하였다.

REFERENCES

- 1) Edwards, R.G.: *Maturation in vitro of human ovarian oocytes*. *Lancet* 9:926, 1965.
- 2) Edwards, R.G., Steptoe, P.C., and Purdy, J.M.: *Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro*. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 87:737, 1980.
- 3) Lopata, A., Johnston, I.W.H., Hoult, I.J., Speirs, A.I.: *Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by in vitro fertilization of a preovulatory egg*. *Fertil. Steril.* 33:117, 1980.
- 4) Lopata, A.: *Conceptions in human in vitro fertilization and embryo transfer*. *Fertil. Steril.* 40:289, 1983.
- 5) Trounson, A.O., Mohr, L.R., Woo, D.C. and Leeton, J.F.: *Effect of delayed insemination on in vitro fertilization, culture*. *J. Reprod. Fertil.* 64:285, 1982.
- 6) Jones, H.W., Jr., Jones, G.S., Andrews, M.C., Acosta, A., Bundren, C., Garcia, J., Sandow, B., Veeck, L., Wilkes, C., Witmyer, J.M. Wortham, J.E., and Wright, G.L.: *The program for in vitro fertilization at Norfolk*. *Fertil. Steril.* 38:14, 1982.
- 7) Feichtinger, W., Szalay, S., Kemeter, P., Beck, A., Janisch, H.: *Zwillingssch wangerschaft nach laparoskopischer Eizellgewinnung, in vitro Fertilisierung und Embryo transfer*. *Geburtschilfe Frauenheilkd* 42:197, 1982.
- 8) Testart, J., Frydman, R., de Mouzo, J., Lassalle, B., and Belaisch, J.C.: *A study of factors affecting the success of human fertilization in vitro. Influence of ovarian stimulation upon the number and condition of oocytes collected*. *Biol. Reprod.* 28:415, 1983.
- 9) Trounson, A.Q., and Wood, C.: *In vitro fertilization results 1979-1982, at Monash University, Queen Victoria, and Epworth Medical centers*. *J. In Vitro Fertilization and Embryo Transfer.* 1:42, 1984.
- 10) C. Wood and A. Trounson: *Current state and future of in vitro fertilization*. *Clinic in Obstet. Gynecol.* 756, Dec. 1985.
- 11) Greenfeld and Haseltine: *Consideration of in vitro fertilization procedures*. *Clinical Obstet. Gynecol.* 29:120, 1986.
- 12) Garcia, J.E., Jones, G.S., Acosta, A.A., and Wright, G. Jr.: *Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration; Phase II 1981*. *Fertil. Steril.* 39:174, 1983.
- 13) Jones, G.S.: *Update on in vitro fertilization*. *Endocrine Reviews* 5:62, 1984.
- 14) Marrs, R.P., Vargyas, J.M., Gibbons, W.E., Saito, H., and Misheli, D.R. Jr.: *A modified technique of human in vitro fertilization and embryo transfer*. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141:318, 1983.
- 15) Alan, T., Donna, H., Peter, R., Hans-Otto, H.: *The effect of progesterone supplementation around the time of oocyte recovery in patient superovulated for IVF*. *Fertil. Steril.* 45:532, 1986.
- 16) Robert, D.V., Harold, A.M., Mary Hager, R.W.: *In vitro fertilization in community hospital*. *Fertil. Steril.* 44:822, 1985.
- 17) John, M.L.: *Laparoscopy in female infertility. CPO in Obstet. Gynecol and Infert.* 9:185, 1986.
- 18) Wikland, M., Nilsson, L., Hasson, R., Hamberger, L., and Janson. P.O.: *Collection of human oocytes by the use of sonography*. *Fertil. Steril.* 39:603, 1983.
- 19) Mark, I.E., Anil, B.M., and Joseph, D.S.: *Human In Vitro Fertilization*. *Obstet. Gynecol. Survey.* 35:71, 1980.
- 20) 문신용·윤보현·오선경·김정규·이진경·장윤석: HMG로 과배란 유도된 인간난자의 체외수정 및 난할에 관한 연구. 대한 산부인과학회

지. 29:362, 1986.

- 21) Lauritsen, J.G., Lindbergs, Lenz, S.: *Instruments for human In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. Dan. Med. Bull.* 30:176, 1983.
- 22) Garcia, J., Jones, G.S., Acosta, A.A., and Wright, G.L.: *Corpus luteum function after follicle aspiration for oocyte retrieval. Fertil. Steril.* 36:565, 1981.

- 23) Lauritsen, J.G. and Therkelsen, A.J.: *Result of in vitro fertilization and culture of human ova. Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 63:67, 1984.
- 24) Charles, A.W., Zev, R.M., Debra, L.J. and Howard, W., Jones, Jr.: *Pregnancy related to infertility diagnosis, Number of attempts and Age in a program of in vitro fertilization. Obstet. Gynecol.* 66:350, 1985.
-