

## 성선 자극호르몬의 비율이 인간난자의 체외수정에 미치는 영향에 관한 연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

문 신 용

=Abstract=

### The Significance of Gonadotropin Ratio in In Vitro Fertilization of Human Oocytes

Shin Yong Moon, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine  
Seoul National University*

To compare the stimulation effect of the ratio in follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in induction of multiple follicular growth, the serum  $E_2$  level, the diameter of follicle, number of aspirated follicles and cleavage rate of in vitro fertilized preovulatory oocytes as well as the pregnancy rate were evaluated.

Forty one patients with irreparable tubal disease were stimulated by hMG(n=24) or FSH/hMG(n=17) for the purpose of in vitro fertilization and embryo transfer.

The following results were obtained.

1. Serum estradiol( $E_2$ ) levels on the day of hCG administration were  $921.0 \pm 353.3$  pg/ml in hMG group and  $1272.9 \pm 1060.6$  pg/ml in FSH/hMG group. The serum  $E_2$  value of hMG group was significantly lower than that of FSH/hMG group.
2. The diameter of leading follicle by ultrasonogram on the day of hCG administration were  $16.2 \pm 2.0$  mm in hMG group and  $16.2 \pm 2.6$  mm in FSH/hMG group. No significant difference of follicle diameter between two groups was demonstrated.
3. The number of follicles with diameter above 10 mm by sonogram on the day of hCG injection were  $3.91 \pm 2.32$  in hMG group and  $6.52 \pm 3.86$  in FSH/hMG group. There was significant difference of number of follicles between two groups. ( $p < 0.01$ ).
4. The number of oocytes found per patient at aspiration were  $259 \pm 1.00$  in hMG group and  $376 \pm 2.31$  in FSH/hMG group. There was significant difference of number of aspirated oocytes between two groups. ( $p < 0.05$ ).
5. The detection rate of pre-ovulatory oocyte at aspiration were 68.4%(39/57) in hMG group (n=22) and 77.6%(38/49) in FSH/hMG group (n=13).
6. The cleavage rate of pre-ovulatory oocyte at 44 hours after insemination were 74.4%(29/39) in hMG group(n=22) and 81.6%(31/38) in FSH/hMG group (n=13).

When only hMG was used, one pregnancy was established in 15 patients to whom 29 zygotes were transferred. And a full term normal female baby was delivered by elective cesarean section.

In the FSH/hMG group, five pregnancies out of 9 transferred patients were confirmed by se-

rum  $\beta$ -hCG. Two pregnancies were spontaneously aborted before the 6th week of pregnancy. One patient aborted her baby at the 18th week of pregnancy because of incompetent internal os of the cervix. Two patients delivered two full term babies by elective cesarean section.

From the above findings, parallel with the increase in the ratio of exogenous follicle stimulating hormone to luteinizing hormone, an increase in oocyte recovery was observed as well as an improvements in pregnancy rate.

It was concluded that FSH enrichment early in the follicular phase had a beneficial effect in the controlled ovarian hyperstimulation.

## I. 서 론

수정 가능한 성숙된 난자를 가능한한 많이 흡인하기 위해서, 난자의 체외수정 및 배아의 자궁내 이식(in vitro fertilization and embryo transfer)을 시술할 때는 과배란유도(controlled ovarian hyperstimulation)를 시행한다. 많은난자가 흡인되어야 수정의 가능성이 증가되고, 다수의 배아를 자궁내 이식함으로써 임신 성공율을 증가시킬수 있기 때문이다.

자연 배란 주기를 이용한 경우에는 50%이하의 환자에서만 난자의 흡인이 가능하였으나(Edwards et al., 1980), Lopata(1983)와 Marrs등(1983)은 colmiphene citrate(이하 CC로 약함)만 사용하거나, CC에 human menopausal gonadotropin(이하 hMG로 약함)을 추가하여 과배란 유도를 시행한 후 80-90%의 환자에서 난자의 흡인이 가능하였다고 보고하였다.

과배란 유도를 시행하는 경우 배란 유도제에 따른 개인의 반응 정도는 아직까지 규명되지 아니한 여러가지 요인, 즉 stress, 체질, 환경에 대한 적응성 및 감정의 변화등에 의해서 영향을 받는 것으로 생각된다(Edwards et al., 1984).

hMG를 이용한 과배란 유도 방법은 Garcia등(1983)에 의해 개발되어 Jones등(1983)에 의해 시험관 아기 프로그램의 과배란 유도 방법으로 사용되고 있으나, 이러한 과배란 유도 방법에 적절한 반응을 보이지않는 환자가 많이 있다(Bernadus et al., 1985). Schoemaker등(1978)은 무배란 환자에서의 follicle stimulating hormone(이하 FSH로 약함)을 이용한 배란 유도에 관해서 보고하고 있으며, Venturoli등(1984)은 polycystic ovary환자에서 FSH를 이용한 배란 유도에 관해서 보고하였다.

이에 저자는 FSH와 luteinizing hormone(이하 LH로 약함)의 비율이 난소 난포의 성장 및

발달, 난포액 흡인시에 발견되는 난자의 성숙도, 수정후 관찰되는 배아의 난할율 및 배아의 자궁내 이식후 임신 성공율 등에 미치는 영향을 비교, 분석하고자 본 연구를 시도하였다.

## II. 연구목적

정상 월경 배란 주기에서 황체(corpus luteum)는 월경이 시작되기 하루전에 소멸되면서 FSH의 혈중 치가 증가한다. FSH의 혈중 치가 증가함에 따라서 난포의 발달이 월경 제1일에서 제4일 사이에 시작되며, 월경 제5일부터 거의 동일한 상태로 발달된 난포로부터 배란될 난포의 선택(selection)이 일어나고, 월경 제8일에서 제12일 사이에 우성 난포가 성숙되어 경도 제13일에서 제15일 사이에 자연 배란이 일어난다.

인간 난자의 체외수정시에 사용한 과배란 유도 방법은 무배란 환자에서 배란을 유도하는 방법을 도입하여 현재까지 사용하여 왔다. 그러나 체외수정 및 배아의 자궁내 이식이 시행될 부인들은 정상 월경 주기를 가지고 있으며 정상적으로 배란이 일어나고 있는 부인들에서 과배란을 유도하는 점에서 근본적인 차이가 있다.

이에 저자는 정상 월경 배란 주기와 비슷한 내분비학적 환경을 제공하기 위해서 초기에 FSH의 양을 증가시켜 이에 따르는 난소 난포의 성장 및 발달, 난자의 수정율 등에 미치는 영향을 관찰, 분석 하였다.

## III. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

서울대학교 병원 산부인과 불임증 클리닉에 등록된 환자중 모든 불임 검사가 끝나고, 난관의 원인으로 임신이 되지않은 정상 월경 주기를 가지고 있는 41명 환자를 대상으로 1985년 1월부터 1985년 12월까지 본 연구를 실시하였다.

Table 1. Drug regimens used

Drug regimen	Cycle days					Daily ratio of FSH to LH on cycle days 3 and 4
	3	4	5	6	7	
<b>*hMG</b>						
A. M.	-	-	-	-	-	150/150
P. M.	2 hMG	2 hMG	2 hMG	2 hMG	Etc	
<b>**FSH/hMG</b>						
A. M.	2 FSH	2 FSH	-	-	-	300/150
P. M.	2 hMG	2 hMG	2 hMG	2 hMG	Etc	

\* Human Menopausal Gonadotropin (I Ampule : FSH 75 I. U. & LH 75 I. U.)

\*\* Follicle stimulating hormone (I Ampule : FSH 75 I. U.)  
(Serono Diagnostics, Switzerland and International)

환자의 선정이 완료되면 대기조를 편성하고, 지속적인 면담을 시행하여 복강경 난자 흡인술의 예후, 배란 유도 방법, 체외수정 및 배아의 자궁내 이식에 따른 모든 과정을 설명하고 여기에 부수되는 위험 및 합병증 등의 가능성을 부부에게 상세히 알려주었다.

## 2. 연구방법

### 1) 과배란 유도(Controlled Ovarian Hyperstimulation)

Jones 등(1983)의 방법을 사용하여 hMG만 투여한 제1군(n=24)에는 환자의 월경 주기 제3일째부터 hMG(FSH 150 u : LH 150 u)를 근육 주사하였다.

FSH와 hMG를 함께 투여한 제2군(n=17)에는 월경 주기 제3일과 제4일 아침 10시에 FSH(FSH 150u)를 주사하고 hMG는 제1군과 동일한 방법으로 투여하였다 (Table 1 참조).

환자가 normal estrogen responder인 경우에는 혈중 E<sub>2</sub>농도가 500pg/ml이하이어도 자궁경부 점액의 변화가 3일째 계속되면 hMG주사를 시행하지 아니하였다.

환자가 normal estrogen responder인 경우에는 혈중 E<sub>2</sub>농도가 500-900 pg/ml에 도달하고 자궁경부 점액의 변화가 있으면 hMG주사를 시행하지 아니하였다. 그러나 E<sub>2</sub>농도가 500pg/ml이상이나 자궁경부 점액의 변화가 없는 경우에는 hMG(FSH 75u : LH 75u)를 감량하여 주사하였다.

환자가 high estrogen responder인 경우에는 자궁경부 점액의 변화에 관계없이 혈중 E<sub>2</sub>농도가 900pg/ml 이상이 되면 hMG주사를 시행하지 아니하였다.

과배란을 유도한 모든 환자에게 마지막 hMG를 주사한 50시간후에 human chorionic gonadotropin(이하 hCG로 약함) 10,000u 를 근육 주사하였다.

### 2) 초음파 단층 촬영법(Ultrasonographic Follicle Monitoring)

초음파 단층 촬영은 오전 8시부터 9시사이 에 방광이 충만된 상태에서 실시하였다. 월경 주기 제3일째에 처음 실시하여 골반강내 기관에 대한 평가를 실시한 후, 월경 주기 제9일부터 매일 실시하여 난자 흡인 전날까지 계속하여 난소 난포의 직경을 측정하였다. 초음파 진단기는 3.5 MHz의 real time sector scanner(SSD-710, ALOKA)를 이용하였다.

### 3) 혈중 에스트라디올 측정(Assay of Estradiol)

월경 주기 제3일에 기본 E<sub>2</sub>치를 측정 한 후 매일 측정하였다. Estradiol-17β의 측정은 매일 오전 8시부터 9시사이에 말초 혈액 10ml를 채취하여 혈청을 원심분리한 후에 rabbit antiserum-17β-E<sub>2</sub>-(O-Carboxy-Methyl) oxime-bovine serum albumin을 이용한 radioimmunoassay 방법으로 estradiol-ter kit (Serono Diagnostics, Switzerland & International)를 사용하였다.

측정의 민감도는 20-2000 pg/ml이고, estrone와의 교차반응도는 1.3%, estriol과는 0.4%였다. E<sub>2</sub>측정의 interassay variance는 4.2%이고 intra-assay variance는 5.5%이었다.

### 4) 난자의 흡인 (Aspiration of Oocytes)

난자의 흡인은 Jones 등(1983)의 방법으로 hCG 주사 후 36-38시간에 시행하였다.

난자를 포함하고 있는 난포액을 2ml의 Dulbecco's phosphate buffered saline(이하 D-PBS로

약함)을 포함하고 있는 난포액 수집 통내로 흡인하고 흡인직후 다시 2ml의 D-PBS 용액을 사용하여 난자 흡인 주사침의 내부를 세척하여 주사침 내에 붙어 있는 난자가 없도록 재확인하였다.

난포액과 D-PBS용액이 들은 혼합액은 즉시 배양실에 옮겨서, 혼합액의 양, 색을 기록하고 배양접시(Falcon # 3002)에 옮긴 후 해부현미경 아래에서 난자의 존재 여부를 확인하였고 난자의 존재가 확인되면 역반사현미경으로 난자의 형태를 관찰하였다.

### 5) 난자 성숙도의 판정

흡인된 난자의 분류는 Sandow(1983)의 방법에 의해서 성숙된 배란 직전의 난자(pre-ovulatory oocyte), 미성숙 난자(immature oocyte), 과성숙 난자(post-mature oocyte) 및 퇴화된 난자(degenerative oocyte)로 분류하였다. 모든 난자의 성숙도는 난자-난구 세포 복합체(oocyte-cumulus complex)와 난포액 내의 과립 세포의 특징을 관찰하여 결정하였다.

### 6) 배양액

Ham's F-10(Gibco # 430-1200)을 이용하여 250ml의 5차 증류수로 배양액(4X)을 만들고, penicillin G 75mg, streptomycin sulfate 75mg을 추가한 후 가압 여과 소독을 시행하여 4°C 냉장고에 보관하였다. 이와 같이 제조된 배양액(4X) 25cc에 5차 증류수 75cc를 첨가하고, calcium lactate 24.52mg과 NaHCO<sub>3</sub> 210.6mg을 추가한 후, pH를 7.4에 맞추고, 삼투압은 280-285mOsm이 되도록 하여 매 실험직전 가압 여과 소독한 후, 신생아 제대 혈청의 농도가 수정 배양액에서는 7.5%, 성장 배양액에서는 15%가 되도록 혈청을 첨가한 후 실험에 사용하였다.

### 7) 추가 배양

Jones 등(1982)의 방법에 의하여 배란 직전의 성숙된 난자는 7.5% 신생아 제대 혈청을 함유한

Ham's F-10 배양액 내에서 6-8시간 추가 배양을 시행하였다.

### 8) 정자의 준비 및 수정

남편의 정액을 수정 3-4시간 전에 무균적으로 채취하여 액화된 후, 기본적인 정액 검사를 실시하여 정자의 수와 운동성을 관찰하고 과거에 시행한 정액 검사와 비교 검토하였다.

정자에 수정능력(capacitation)을 부여한 후 추가 배양이 끝난 난자를 함유하고 있는 수정 배양액 내의 정자의 농도가 0.5×10<sup>6</sup>/ml가 되도록 수정시켰다. 수정 16-18시간 후에 15%의 신생아 제대 혈청을 포함한 Ham's F-10 성장 배양액으로 옮겼다.

### 9) 배아의 관찰

성장 배양액으로 옮긴 직후 난자의 수정 여부를 역반사 현미경으로 관찰하였고, 수정 40-44시간 후에 난할(cleavage of oocyte)을 관찰하였다. 난할이 확인된 난자는 Jones 등(1983) 이 고안한 transfer catheter를 사용하여 배아의 자궁내 이식을 시행하였다.

양군간의 혈중 E<sub>2</sub> 치와 난포의 직경, 난포의 분포 및 흡인된 난포와 난자수는 student's t test로 흡인된 난포액의 양에 따른 난자의 수, 난할율 및 자궁내 이식된 배아의 수는 chi square test와 Z test로 비교 분석 하였다.

## IV. 연구성적

### 1) 난소 난포의 성장

연구 결과 얻어진 난소 난포 직경 및 혈중 E<sub>2</sub> 치는 hCG주사일을 제0일로 기산하여 비교, 분석하였다.

hMG로 과배란을 유도한 제1군(n=24)에서는 난소 난포의 직경이 -3일에 9.8±1.9mm이던 것이 하루에 평균 1-2mm씩 성장하여 hCG주사일에는 16.2±2.0mm에 도달하였고, 다음날 18.1±

Table 2. The diameter(mm) of leading follicles measured by ultrasonogram relative to the day of hCG injection

Day	-3	-2	-1	0	+1
hMG(n=24)	9.8±1.9	11.7±2.5	14.0±2.2	16.2±2.0	18.1±1.9
FSH/hMG(n=17)	9.9±1.9	11.9±2.0	14.4±2.4	16.2±2.6	16.2±3.7
Differences between groups	NS	NS	NS	NS	P<0.05

NS : Not significant, Mean±S.D.

1.9mm로 성장하였다 (Table 2. Fig. 1참조).

혈중 E<sub>2</sub>치는 -3일에 317.1±11.9 pg/ml이었으며 hCG주사당일(제0일)에는 921.0±353.3 pg/ml이었고, 다음날(+1일)에는 1034.5±579.4 pg/ml로 증가하는 경향을 나타냈다 (Table 3. Fig. 2 참조).

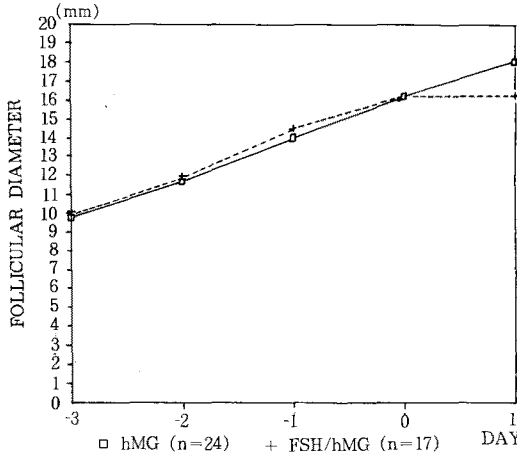


Fig. 1. The diameter of leading follicles by ultrasonogram relative to the day of hCG injection.

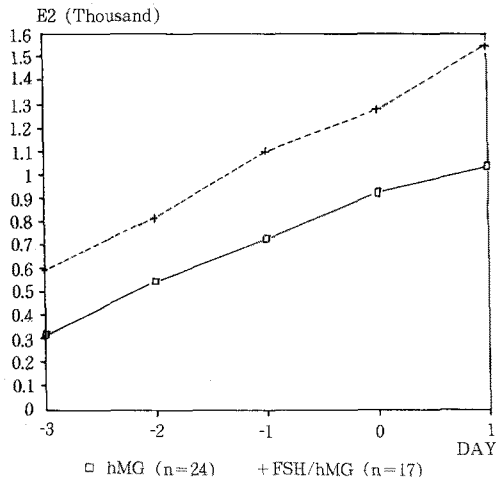


Fig. 2. Plasma E<sub>2</sub> levels relative to the day of hCG injection.

Table 3. Plasma E<sub>2</sub>\* levels (pg/ml) relative to the day of hCG injection

Day	-3	-2	-1	0	+1
hMG (n=24)	317.1±119.5	543.8±244.1	724.8±291.3	921.0±353.3	1,034.5±579.4
FSH/hMG (n=17)	595.2±319.5	811.8±399.9	1,097.6±734.3	1,272.9±1,060.6	1,552.6±1,391.4
Differences between groups	P<0.01	P<0.01	P<0.1	P<0.1	P<0.1
Mean±S.D.					

hCG주사당일 난소 난포의 직경이 10mm-14mm에 도달한 것이 2.87±2.11개, 15-19mm에 도달한 것이 0.83±0.81개, 20mm이상되는 것이 0.20±0.41개로 관찰되었으며, 환자당 3.91±2.32개의 난포를 관찰할 수 있었다 (Table 4).

FSH/hMG를 사용한 제2군(n=17)에서의 난소 난포 성장은 -3일에 9.9±1.9mm이었으며, 주사당일(제0일) 16.2±2.6mm로 성장하였고, 다음날에는 1,552.6±1,391.4 pg/ml로 증가하였다 (Table 3. Fig 2. 참조).

hCG주사당일 10mm이상의 난포는 환자당 평균 6.52±3.86개가 관찰되었으며 10-14mm 3.66±2.05개, 15-19mm에 1.23±0.83개, 20mm이상되는 것이 0.11±0.33개 관찰 되었다.

즉 혈중 E<sub>2</sub>치는 제1군과 제2군을 비교할 때 FSH/hMG군이 유의하게 수치가 높게 나타났다 (P<0.01) (Table 3 참조).

난소 난포 직경 측정 결과에서는 hMG를 사용한 제1군과 FSH/hMG를 사용한 제2군 사이에서 hCG투여 다음날(P<0.05)을 제외하고는 유의한 차이점을 발견할 수 없었다 (Table 2 참조).

난포의 수에서는 hMG군에 비해서 FSH/hMG군이 환자당 성장하는 난포의 수가 유의하게 증가되어 있으나 (P<0.01), 난포 크기별 분포에서는 분포 양상에 유의한 차이점을 발견할 수 없었다.

난소 난포의 최대 직경과 혈중 E<sub>2</sub>농도 사이의 상관 관계를 구하여 본 결과 hMG를 사용한 제1군의 회귀 곡선 방정식은  $y = -490.2907 + 85.855x$  ( $r = 0.995, P < 0.001$ )이었고, FSH/hMG를 사용한 제2군은  $y = -724.572 + 130.510x$  ( $r = 0.960, P < 0.001$ )로 양군에서 모두 난소 난포의 최대 직경과 혈중 E<sub>2</sub>농도 사이에는 통계적으로 유의한 상관관계가 있음을 알 수 있었다 (Fig. 3 참조).

난소 난포의 직경이 10mm이상이 되는 난포의 수와 혈중 E<sub>2</sub> 농도사이의 상관 관계를 구하여 본 결과 hMG를 사용한 제1군의 회귀곡선

Table 4. Ultrasonographic follicular numbers at the time of hCG injection

Diameter of follicles	10-14mm	15-19mm	20mm	Follicle/patient
hMG (n=24)	2.87±2.11	0.83±0.81	0.20±0.41	3.91±2.32
FSH/hMG (n=17)	3.66±2.05	1.23±0.83	0.11±0.33	6.52±3.86
Differences between groups	NS	P<0.1	NS	P<0.01

Mean±S.D.

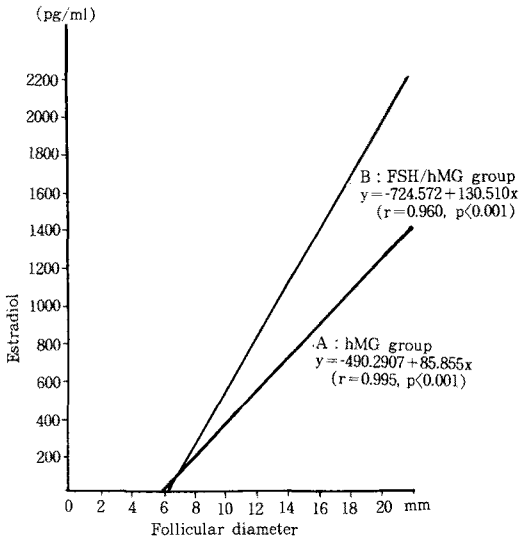


Fig. 3. Linear regression graph between mean follicular diameters and mean plasma E2 levels.

방정식은  $y = -928.849 + 500.123x$  ( $r = 0.344$ ,  $P < 0.1$ ) 이었고, FSH/hMG를 사용한 제2군은  $y = -2,303.083 + 833.333x$  ( $r = 0.754$ ,  $P < 0.01$ )로 양군에서 모두 난포의 수와 혈중 E<sub>2</sub>농도 사이에는 통계적으로 유의한 상관관계가 있음을 알 수 있었다 (Fig. 4 참조).

혈중 E<sub>2</sub>농도의 회귀방정식을 Wilson과 같이  $E(t) = Ae^{kt}$ 로 표시해 상관 계수를 구한 결과 양군 모두에서 0.8 이상으로 상관관계가 존재 하였다.

## 2) 난포 흡인 및 난자의 성숙도

hMG를 사용한 제1군 (n=24)에서는 난소 주위의 심한 유착으로 2명의 환자에서 난포액 흡인이 불가능하였다.

22명의 환자에서 117개의 난포를 확인하였으며, 환자당 평균 5.31±1.17개의 난포를 흡인하였

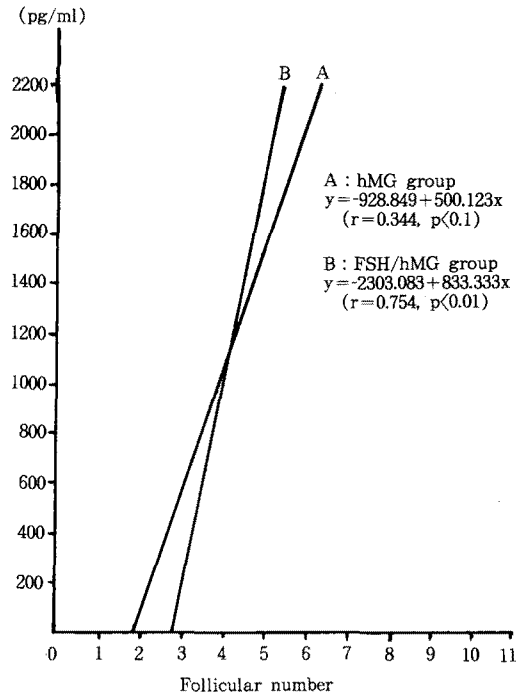


Fig. 4. Linear regression graph between follicular number (≥10mm) and plasma E2 levels.

다. 흡인된 117개의 난포중 57개(48.7%)의 난포액에서 난자를 확인하였으며, 환자당 평균 2.59±1.00개의 난자를 확인할 수 있었다 (Table 5 참조).

확인된 57개의 난자를 분류한 결과 39개(68.4%)는 배란 직전의 성숙된 난자였으며, 11개(19.3%)는 미성숙 난자였고, 3개는 과성숙 난자(5.3%), 4개(7.0%)는 퇴화된 난자였다.

난자의 흡인이 가능 하였던 22명의 환자를 대상으로 분류한 바 환자당 배란직전의 성숙된 난자는 1.77±0.92개 이었으며, 미성숙 난자는 0.50±0.67개, 과성숙 난자는 0.13±0.46개, 퇴화된 난

Table 5. Findings and ourcome at oocyte aspiration

Aspiration of follicles	Total number of aspirated follicles	Follicles aspirated patient	Total Number of aspirated oocytes	Oocytes recovered parient
hMG (n=22)	117	5.31±1.17	57(48.7%)	2.59±1.00
FSH/hMG (n=13)	79	6.07±2.46	49(62.0%)	3.76±2.31
Differences between groups		NS		p<0.05
Mean ± S.D.				

Table 6. Classification of oocyte at aspiration

Oocytes	Pre-ovulatory	Immature	Post-matruue	Degenerative	Oocytes/parient
hMG(n=22)	1.77±0.92	0.50±0.67	0.13±0.46	0.18±0.50	2.59±1.00
FSH/hMG (n=13)	2.92±2.43	0.61±0.86	0	0.23±0.59	3.76±2.31
Differences Between groups	p<0.1	NS		NS	p<0.05
Mean ± S.D.					

Table 7. Aspirated follicular fluid volume and oocytes

Volume of follicular fluid		<2ml	2-4ml	4-6ml	6-8ml	8ml)
hMG (n=22)	Preovulatory	4	18	12	3	2
	Immature	5	6	0	0	0
	Postmature	0	0	0	3	0
	Degenerative	3	1	0	0	0
FSH/hMG (n=13)	Preovulatory	2	22	11	2	1
	Immature	3	5	0	0	0
	Postmature	0	0	0	0	0
	Degenerative	2	1	0	0	0
		NS	NS	NS	NS	NS

Z test

자는 0.18±0.50개로 확인 되었다(Table 6 참조).

39개의 배란 직전의 성숙된 난자중 30개(76.9%)는 2-6ml에서 발견되었으며, 미성숙 난자와 퇴화된 난자는 4ml이하에서만 발견되었다(Table 7 참조).

FSH/hMG를 사용한 제2군(n=17)에서는 4명의 환자에서 난포액을 흡인할 수 없었다. 79개의 난포를 흡인하여 환자당 평균 6.07±2.46개의 난포가 흡인 가능 하였으며, 79개의 난포액중 49개(62.0%)에서 난자를 확인할 수 있었다 (Table 5 참조).

확인된 49개의 난자를 분류한 결과 38개(77.6%)는 배란 직전의 성숙된 난자이었으며 8개(16.3%)는 미성숙 난자이었고, 3개(6.12%)는 퇴화된 난자이었다.

난자의 흡인이 가능하였던 13명이 환자를 대상으로 분류한 바 환자당 배란직전의 성숙된 난자는 2.92±2.43개 미성숙 난자는 0.61±0.86개, 과성숙 난자는 흡인되지 아니하였으며 퇴화된 난자는 0.23±0.59개로 확인 되었다(Table 6 참조).

38개의 배란 직전의 성숙된 난자 중 33개(86.8%)가 2-6ml의 난포액이 흡인된 혼합액에서 발견되었다(Table 7 참조).

양군간의 성적을 비교하여 보면 hMG를 사용한 제1군과 FSH/hMG를 사용한 제2군간에 흡입된 난포의 수에서는 유의한 차이가 없으나 흡인된 난자의 수에 있어서는 유의한 차이가 있었다 (Table 5. Table 6 참조).

Table 8. Cleavage rate of pre-ovulatory oocyte at 44hours after insemination

Cleavage	Cleavage No. of preovulatory oocytes	Remarks
hMG (n=22)	29/39 (74.4%)	4-cell stage 21 4-8 cell stage 8
FSH/hMG (n=13)	31/38 (81.6%)	4-cell stage 24 4-8 cell stage 7
	NS	NS
Z-test		

Table 9. Number of patients to whom embryo were transferred

No. of embryo transferred	1	2	3	4	4<
hMG (n=15)	7(46.7%)	4(26.7%)	2(13.3%)	2(13.3%)	0(0%)
FSF/hMG (n=9)	3(33.3%)	2(22.2%)	3(33.3%)	0(0%)	1(11.1%)
	NS	NS	NS	NS	NS
Z-test					

### 3) 배란 직전의 성숙된 난자의 난할율

hMG를 사용한 제1군(n=22)에서 얻은 39개의 배란 직전의 성숙된 난자를 수정시킨 후 44시간 후에 난할 여부를 관찰 하였다.

39개의 난자중 29개가 난할이 되어 난할율은 74.4%이었다. 29개의 수정란중 21개는 4-세포기(4 cell stage)에 도달하였으며, 8개는 4-8세포기(4-8 cell stage)로 난할이 이루어져 있었다(Table 8 참조).

FSH/hMG를 사용한 제2군(n=13)에서는 38개의 배란 직전의 성숙된 난자중 31개에서 난할이 있어 81.6%의 난할율을 나타냈다. 31개의 수정란중 24개는 4-세포기에 도달하였으며, 7개는 4-8세포기에 도달하였다(Table 8 참조).

흡인된 미성숙 난자는 hMG군이 11개, FSH/hMG군이 8개 이었으나, 24시간 추가 배양후 수정을 시켜 난할이 일어난 배아와 함께 자궁내 이식을 시행하여 난할 여부는 확인할 수 없었다.

### 4) 수정란의 자궁내 이식

hMG를 사용한 제1군에서 난할이 확인된 환자는 15명으로 1개의 수정란을 이식한 환자가 7명(46.7%), 2개의 수정란을 이식한 환자가 4명(26.7%), 3개의 수정란을 이식한 환자가 2명(13.3%), 4개의 수정란을 이식한 환자가 2명(13.3%)으로 난자의 흡인이 가능하였던 22명의 환자중 15명(68.2%)에게 수정된 배아를 자궁 내로 이식하였다.(Table 9 참조).

FSH/hMG를 사용한 제2군에서 난자의 흡인이 가능하였던 13명의 환자중 9명(69.2%)에서 수정된 배아를 자궁내 이식하였다. 9명의 환자중 1개의 수정란을 이식받는 환자가 3명(33.3%), 2개의 수정란을 이식받는 환자가 2명(22.2%), 3개의 수정란을 이식받는 환자가 3명(33.3%)이었으며, 1명(11.1%)의 환자는 8개의 수정란을 이식하였다(Table 9 참조).

### 5) 임신 및 분만

hMG를 사용한 제1군에서는 24명의 환자를 대상으로 과배란을 유도하여 22명(91.7%)의 환자에서 수정 가능한 배란 직전의 성숙된 난자를 흡인하였으며, 이중 15명(68.2%)에서 수정된 수정란을 확인한 후 배아의 자궁내 이식을 시행하여 4개의 수정란을 이식한 2명의 환자중 1명에서 임신이 성립되어 1986년 3월 3.1kg의 여아를 제왕절개술로 분만하였다.

FSH/hMG를 사용한 제2군에서는 17명의 환자를 대상으로 과배란을 유도하여 13명(76.5%)에서 수정 가능한 배란 직전의 성숙된 난자를 흡인하여, 수정시킨 후 9명(69.2%)에게 배아의 자궁내 이식을 시행하여 5명(29.4%)에서 화학적 임신(chemical pregnancy)을  $\beta$ -hCG로 확인할 수 있었다. 5명중 2명은 자연유산(pre-clinical abortion)이 되었으며, 1명은 임신 18주에 자궁 경부무력증으로 유산이 되었다. 2명(11.8)은 임신이 지속되어 1986년 8월에 각각 2.86kg의 남아와 3.3kg의 여아를 분만하였다. hMG군



과FSH/hMG군 41명을 대상으로 시험관 아기 프로그램을 진행하여 3명(7.3%)에서 만삭 임신 분만이 가능하였다.

## V. 고 안

Stephoe와 Edwards(1978)는 자연 배란 주기에서 난자를 흡인하여, 난자를 체외수정시킨후 배아를 자궁내 이식하여 세계 최초로 시험관 아기가 출생하였다고 보고하였다. 그러나 자연 배란 주기를 이용할 경우에는 50%이하의 환자에서만 난자의 흡인이 가능하여, 현재 시험관 아기 프로그램에서는 과배란을 유도하는 방법이 보편적으로 사용되고 있다(Edwards et al, 1980).

Lopata(1983), Trounson등(1982), Marrs등(1983)은 CC에 hMG를 추가하여 사용하는 과배란 유도 방법을 보고하였다.

hMG로 과배란을 유도한 후 hCG를 투여하고 난자를 체외에서 수정시키는 방법은 Edwards등(1975)과 Talbot등(1976)에 의해서 시도되었으나 임신을 성공시키지는 못하였다.

Jones등(1983)이 hMG로 과배란을 유도하여 2명의 환자에서 처음으로 임신이 성공하였다고 보고한 이래 hMG를 사용한 과배란 유도법은 시험관 아기 프로그램에서 중요한 과배란 방법으로 이용되기 시작하였다.

정상 월경 주기를 가진 부인에서 hMG를 사용하면 CC를 사용한 경우와 비교할 때 내분비학적 반응의 신뢰도가 높으며 혈중 E<sub>2</sub>치가 높지 않을 경우에는 자연 발생적인 LH surge가 없어 성숙된 난자를 흡인할 수 있는 기회가 증가된다.

Jones등(1983)은 초기 연구에서 hMG로 정상 월경 주기를 가진 부인에서 과배란을 유도할 때 자연 발생적 LH surge 없다고 보고 하였으나, Fowler등(1978)은 자연 발생적 LH surge가 있을 수 있다고 보고하였었다.

저자(1985)는 hMG로 과배란을 유도할 때 1000-2000 pg/ml에서 자연 발생적 LH surge를 경험하였으며 Jones등(1983)도 E<sub>2</sub>치가 높은 경우에는 LH surge가 온다고 보고하였다.

정상 월경 주기 및 과배란 유도시에 초음파를 이용하여 난포의 성장을 관찰할 수 있다는 것은 여러 학자들에 의해서 보고되었다 (Kratochwil et al, 1972 ; Hackeloer et al, 1979 ; Ronnberge et al, 1978 ; Renaud et al, 1980).

hMG를 사용하여 과배란을 유도한 경우 Sal-lam등(1982)과 Cabau와 Bessis(1981)는 배란 직전의 난포의 최대 직경은 20-25mm에 도달한다고 보고하였으며 Ylostalo등(1979)은 15-20mm라고 보고하였다.

Mantzavinous등(1983)은 정상 월경 주기를 가지고 있는 부인을 hMG로 과배란을 유도하면 배란 직전의 난포는 16.3-18.5mm에 도달한다고 보고하였다.

이는 저자의 경우 hMG만 사용한 제1군은 18.1±1.9mm, FSH/hMG를 사용한 제2군은 16.2±3.7mm에 도달한 난포의 직경과 거의 동일한 크기를 보여주고 있다.

Kerin등(1981)의 보고에 의하면 난포의 성장은 상승하는 혈중 E<sub>2</sub>치와 가장 관계가 깊게 나타난다고 하였다.

본 연구에서는 난소 난포의 최대 직경과 혈중 E<sub>2</sub>치 사이에는 통계적으로 유의한 상관 관계(P < 0.001)가 있었으며, 난포수와 혈중 E<sub>2</sub>치 사이에서도 상관 관계(P < 0.01)가 있는 것으로 밝혀져, 난소 난포의 최대 직경과 발달하는 난포수에 따라서 혈중 E<sub>2</sub>치가 증가함을 관찰할 수 있었다. hMG로 과배란을 유도한 제1군과 FSH/hMG로 과배란을 유도한 제2군의 혈중 E<sub>2</sub>치는 난포의 수가 많은 FSH/hMG군에서 혈중 E<sub>2</sub>치가 높게 나타났다.

최근 Bernardus등(1985)은 정상 월경 주기를 가진 부인에서 과배란 유도시 초기의 follicular phase에 FSH의 양을 증가시켜 FSH/LH의 비율이 증가되면 난포의 성장 및 발달이 증가한다고 보고 하였다.

이는 저자의 경우 hMG만 사용한 제1군과 FSH/hMG를 사용한 제2군 의 난포의 수와 흡인된 난자의 수를 비교할 때 제2군에서 통계적으로 유의하게 증가되어 있음과 일치한다.

FSH를 추가할 경우 수정율이 증가되고, 배아의 자궁내 이식이 증가되어 임신율이 증가된다면 이러한 사실은 과배란 유도를 시행하여 많은 수의 난포를 흡인한다 하더라도 난자의 질(quality of oocyte)과 황체(corpus luteum)의 기능에는 영향을 미치지 아니한다는 것을 간접적으로 증명하는 것이다.

Bernadus등(1985)은 FSH/LH의 비율이 증가할수록 퇴화된 난자의 수는 감소되고, 미성숙 난자는 증가된다고 보고하였다. 저자의 경우에는 배란 직전의 성숙된 난자와 미성숙 난자의

흡인은 의미있게 증가되었으나 퇴화된 난자는 FSH/hMG군에서 감소되지는 아니하였다.

양군간의 난할율을 비교하면 hMG군이 74.4% (29/39), FSH/hMG군이 81.6% (31/38)로 통계적으로 유의한 차이를 보이고 있지는 아니하다.

그러나 hMG를 사용한 제1군과 FSH/hMG를 사용한 제2군과 동일한 연구 방법을 사용하였으므로 FSH/hMG군에서 임신율이 증가 되었다면 배란 유도 방법이 뛰어난 것으로 사료된다.

즉 FSH가 추가되었을 때 임신율이 증가되는 것은 환자당 흡인된 난자의 수와 자궁내 이식된 배아의 수가 증가되었기 때문으로 생각된다.

현재까지 연구 결과 1개 이상의 배아를 자궁내 이식하면 임신 성공율이 증가한다는 것은 여러 저자들에 의해 보고되고 있다(Edwards et al, 1983; Hiller et al, 1985).

이상과 같은 저자의 연구 결과로 FSH를 초기의 follicular phase에 추가함으로써 난포 직경 및 크기에 따른 분포에 있어서는 양군사이에 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없으나, 혈중 E<sub>2</sub>치와 발달되는 난포의 수, 흡인된 난자의 수 및 임신율에 있어서는 유의한 차이가 관찰되어 FSH/hMG를 이용한 과배란 유도 방법이 hMG를 단독으로 사용하여 과배란 유도 시키는 경우보다 더 유용할 것으로 사료되었다.

현재까지의 연구 결과 정상 월경 배란 주기를 가지고 있는 한국 부인에 있어서 과배란 유도의 적절한 방법을 확립하여 가능한 한 많은 수의 성숙된 난자를 얻는 것이 시험관 아기 프로그램 성공의 지름길이 될 것으로 사료된다.

## VI. 결 론

난관의 원인으로 불임증이 확인된 정상 월경 주기를 가진 41명의 환자를 대상으로 24명은 human menopausal gonadotropin으로, 17명은 follicle stimulating hormone과 human menopausal gonadotropin으로 과배란을 유도하였다.

과배란 유도 후 각 군별로 혈중 estradiol치와 난포 직경을 측정하고, 복강경으로 난자를 흡인한 후 난자의 성숙도를 판정하고, 체외수정 시켜서 난할율 및 임신율을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈중 E<sub>2</sub>의 치는 hCG주사 당일 hMG를 사용한 제1군은  $921.0 \pm 353.3$  pg/ml, FSH/hMG를 사용한 제2군은  $1272.9 \pm 1060.6$  pg/ml로 유의하

게 제1군이 제2군보다 낮은 수치를 보여주었다.  
2. hCG주사당일 최대 난포의 직경은 제1군은  $16.2 \pm 2.0$ mm이었고, 제2군은  $16.2 \pm 2.6$ mm이었으며, 양군간에는 유의한 차이점을 발견할 수 없었고 난포의 직경이 10mm 이상에 도달한 난포수는 제1군이  $3.91 \pm 2.32$ 개, 제2군이  $6.52 \pm 3.86$ 개 이었다. 양군 사이에서 난포의 크기별 분포에 의미있는 차이가 없었으나 난포수에 있어서는 유의한 차이를 인정할 수 있었다.

3. 환자당 흡인된 난포 수는 제1군은  $5.31 \pm 1.17$ , 제2군은  $6.07 \pm 2.46$ 개 이었고, 흡인된 난자수는 1군은  $2.59 \pm 1.00$ 개, 제2군은  $3.76 \pm 2.31$ 개 이었다. 흡인된 난포수는 양군사이에 차이는 없으나 흡인된 난자수는 양군사이에서 유의한 차이를 관찰할 수 있었다.

4. 혈중 E<sub>2</sub>치는 난소 난포의 최대 직경 및 난포수에 따라서 유의하게 증가하는것을 관찰할 수 있었다.

5. 난포액 흡인후 관찰한 난자중 성숙된 난자의 획득율은 제1군은 57개의 난자중 39개로 68.4%, 제2군은 49개의 난자중 38개로 77.6%이었다. 양군간에 유의한 차이는 없었다.

6. 수정후 44시간의 난할율은 제1군은 39개의 난자중 29개가 난할되어 74.4%, 제2군은 38개의 난자중 31개가 난할되어 81.6%의 난할율을 확인하였다. 양군간에 난할율은 유의한 차이는 없었다.

hMG만을 사용하여 배란을 유도한 제1군과 FSH/hMG를 사용한 제2군간을 비교한 바 FSH/LH의 비율을 초기의 follicular phase에서 증가시킴으로써 혈중 E<sub>2</sub>치와 흡인된 난자의 수 및 임신율에 있어서 유의한 차이가 관찰되어 FSH/hMG 투여가 hMG단독 투여보다 더 유용한 과배란 유도방법으로 사료되었다.

## REFERENCES

- 1) Bernadus RE, Jones GS and Acosta AA et al : *The significance of the ratio in follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in induction of multiple follicular growth. Fertil. Steril.* 43 : 373, 1985.
- 2) Cabau A and Bessis R : *Monitoring of ovulation induction with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin by ultrasound. Fertil. Steril.* 36 : 178, 1981.

- 3) de Crespingny LJ CH, O'Herlihy C, Hoult LJ and Robinson HP : *Ultrasound in an in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 35 : 25, 1981.
- 4) Edwards RG : *Meiosis in ovarian oocytes of adult mammal. Nature* 196 : 446, 1962.
- 5) Edwards RG and Steptoe PC : *Induction of follicular development, ovulation and luteinization in the human ovary. J. Reprod Fertil. Supplement* 22 : 121, 1975.
- 6) Edwards RG, Steptoe PC and Purdy JM : *Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. Br. J. Obstet. Gynecol.* 87 : 737, 1980.
- 7) Edwards RG, Fishel SB and Purdy JM : *In vitro fertilization of human eggs; analysis of follicular growth, ovulation and fertilization. In Fertilization of the human Egg in Vitro, Edited by HM Beier, HR Lindner, Berlin, Springer-Verlag, 1983, p. 169.*
- 8) Edwards RG, Fishel SB, Cohen J, Fehilly CB, Purdy JM, Slater JM, Steptoe PC and Webster JM : *Factors influencing the success of in vitro fertilization of alleviating human infertility. J. In Vitro Fertil. Embryo. Traan.* 1 : 3, 1984.
- 9) Fowler RE, Edwards RG, Walters DE, Chan STH and Steptoe PC : *Steroidogenesis in preovulatory follicles of patients given human menopausal and chorionic gonadotropin. Communication as judged by the radioimmunoassay of steroids in follicular fluid. Endocrinol.* 77 : 161, 1978.
- 10) Garcia JE, Jones GS, Acosta AA and Wright G Jr. : *Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration : Phase II, 1981. Fertil. Steril.* 39 : 74, 1983.
- 11) Hackeloer BJ, Fleming R, Robinson HP, Adam AH and Coutts JRT : *Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicular development. Am. J. Obstet. Gynecol.* 135 : 122, 1979.
- 12) Hiller SG, Dawson KJ, Afnan M, Wickings EJ and Winston RML : *Embryo culture : quality control in clinical in vitro fertilization. In Thompson W. Joyce DN & Newton Jr(eds). In Vitro Fertilization and Donor Insemination.* 125 : 137, 1985.
- 13) Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, Acosta AA, Bundren C, Garcia J, Sandow B, Veeck L, Wilkes C, Witmyer J, Wortham JE and Wright G : *The program for in vitro fertilization at Norfolk. Fertil. Steril.* 38 : 14, 1983.
- 14) Jones HW and Rock JA : *Reparative and constructive surgery of the female generative tract. Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1983, p. 305.*
- 15) Kerin JF, Edmonds DK, Warnes GN, Cox LW, Seamark RF, Matthews CD, Young GB and Baird DT : *Morphological and functional relations of graffian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. Br. J. Obstet. Gynecol.* 88 : 81, 1981.
- 16) Kratochwil A, Urban G and Friedrich E : *Ultrasonic tomography of the ovaries. Ann. Chir. Gynaecol. Fenn.* 61 : 211, 1972.
- 17) Laufer N, Decherney AH, Haseltine EP, Polan ML, Mezer HC, Dlugi AM, Sweeney D, Nero F and Naftolin F : *The use of highdose human menopausal gonadotropin in an in vitro fertilization program. Fertil. Steril.* 4 : 734, 1983
- 18) Leung PCS, Lopata A, Kellow GN, Johnston WIH and Gronow MJ : *A histochemical study of cumulus cells for assessing the quality of preovulatory oocytes. Fertil. Steril.* 39 : 853, 1983.
- 19) Lopata A : *Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil. Steril.* 40 : 289, 1983.
- 20) Mantzavinos T, Garcia JE and Jones HW Jr. : *Ultrasound measurement of ovarian follicles stimulated by human gonadotropins for oocyte recovery and in vitro fertilization. Fertil. Steril.* 40 : 461, 1983.
- 21) Marrs RP, Vargyas JM, Gibbons WE, Saito H and Misheli DR Jr. : *A modified technique of human in vitro fertilization.*

- and embryo transfer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141 : 318, 1983.
- 22) Moon SY, Yoon BH, Oh SK, Kim JK, Lee JY and Chang YS : *In vitro fertilization and embryo transfer of superovulated human oocytes using hMG.* *Kor. J. Obstet. Gynecol.* 29 : 325, 1985.
  - 23) O'Herilhy C, de Crespigny LJ and Robinson HP : *Monitoring ovarian follicular development with real-time ultrasound.* *Br. J. Obstet. Gynecol.* 87 : 613, 1980
  - 24) Pincus G and Enzman EV : *The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. I. The activation of ovarian eggs.* *J. Exp. Med.* 62 : 665, 1935.
  - 25) Queenan JT, O'Brien GD, Bains LM, Simpson J, Collins WP and Compbel S : *Ultrasound scanning of ovaries to detect ovulation in women.* *Fertil. Steril.* 34 : 99, 1980.
  - 26) Renaud RL, Maclear J, Dervain I, Ehret MC, Aron C, Plasroser S, Spira A and Pollack H. : *Echographic study of follicular maturation and ovulation during the normal menstrual cycle.* *Fertil. Steril.* 33 : 272, 1980.
  - 27) Robertson RD, Picker RH, Wilson PC and Saunders DM : *Assessment of ovulation by ultrasound and plasma estradiol determinations.* *Obstet. Gynecol.* 54 : 686, 1979.
  - 28) Ronnberg L, Ylostalo P and Jouppila P : *Ultrasound to time inawminrion.* *Lancet.* 1 : 669, 1978.
  - 29) Sallam HN, Marinho AO, Collins WP, Rodeck CH and Campbell C : *Monitoring gonadotropin therapy by real time ultrasonic scanning of ovarian follicles.* *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 89 : 155, 1982.
  - 30) Sandow BA : *Characteristics of human oocytes aspirated for in vitro fertilization.* *Infertility* 6 : 143, 1983.
  - 31) Schoemaker J, Wentz AC, Jones GS, Dubin NH and Snapp KC : *Stimulation of follicular growth with "pure" FSH in patients with anovulation and elevated LH levels.* *Obstet. Gynecol.* 51 : 270, 1978.
  - 32) Smith DH, Picker RH, Sinosich M and Saunders DM : *Assessment of ovulation by ultrasound and estradiol levels during spontaneous and induced cycles.* *Fertil. Steril.* 33 : 387, 1980.
  - 33) Steptoe PC and Edwards RG : *Birth after the implantation of a human embryo.* *Lancet.* 2 : 336, 1978.
  - 34) Talbot JM, Dorley M and Leeton J et al : *Gonadotrophin stimulation for oocyte recovery in in vitro fertilization in infertile women.* *Australian and New Zealand J. Obstet. Gynecol.* 16 : 111, 1976.
  - 35) Testart J, Frydman R, de Mouzon J, Lassalle B and Belaisch JC : *A sstudy of factors affecting the success of human fertilization in vitro. I. Influence of ovarian stimulation upon the number and condition of oocytes collected.* *Biol. Reprod.* 28 : 415, 1983.
  - 36) Trounson AO, Mohr LR, Wood C and Leeton JF : *Effect of delayed insemination on in vitro fertilization, culture and transfer of human embryos.* *J. Reprod. Fertil.* 64 : 285, 1982.
  - 37) Vargyas JM, Marrs RP, Keltzky OK and Mishell DR : *Correlation of ultrasonic measurement of ovarian follicle size and serum estradiol levels in ovulatory patients following clomiphene citrate for in vitro fertilizations.* *Am. J. Obstet. Gynecol.* 144 : 549, 1982.
  - 38) Veeck LL, Wortham JWE Jr, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GA and Jones HW Jr. : *Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization.* *Fertil. Steril.* 39 : 594, 1983.
  - 39) Venturoli S, Paradisi R, Fabbri R, Magrini O, Porch E and Flamigni C : *Comparison between human urinary follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotropin treatment in polycystic ovary.* *Obstet. Gynecol.* 63 : 6, 1984.
  - 40) Ylostalo P, Ronnberg L and Jouppila P :

*Measurement of the ovarian follicle by  
ultrasound in ovulation induction. Fertil.*

*Steril. 31 : 651, 1979.*

