

원인불명의 불임환자에서 림파구 정맥주입에 의한 면역 치료의 효능에 관한 연구

중앙대학교 의과대학 산부인과학교실

정병준 · 이상훈 · 허 민

The Efficacy on the Immunotherapy with Paternal Lymphocytes in Unexplained Infertility

Byeong Jun Jung, Sang Hoon Lee and Min Hur

*Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine, Chung-Ang University,
Seoul, Korea*

= Abstract =

The aim of present study was to determine the efficacy of immunotherapy with paternal lymphocytes for unexplained infertility. It has been apparent that reproductive success may be affected by the presence of abnormal autoantibodies. Unexplained infertility and repeated pregnancy wastage has been reported in the presence of abnormal autoantibodies. These data suggest that abnormal immune function may be an important pathologic entity contributing subfertility in patients with unexplained infertility. Therefore, immunotherapy may be a possible treatment modality for patients with unexplained infertility.

Some investigators have reported that a proportion of infertile couples with repeatedly unsuccessful ET showed close histocompatibility similar to those of spontaneous recurrent abortion. Recently, it has been noted that immunotherapy with paternal lymphocytes achieves a high efficacy in preventing subsequent abortion in women with primary recurrent abortion of unknown cause, which was mediated by immune reaction including blocking antibody.

To substantiate the hypothesis, we applied immunotherapy preceding Peritoneal Oocyte and Sperme transfer (POST) to 43 patients, 47 cycles of 82 patients, 89 cycles with at least three previous IUI failure from April, 1993 to February, 1995. There were no significant differences between treatment and control group in clinical response and hormonal response to controlled hyperstimulation. there was no significant difference between treatment and control group in pregnant rates per cycles (42.6% versus 28.6%), but a significantly lower abortion rate per pregnancy in treatment group, with 10.0% (2/20) compared with 50.03% (6/12) in control group. This study may suggest that immune therapy for patients with unexplained infertility with paternal lymphocytes might be beneficial.

Key Words: Immunotherapy, Paternal lymphocytes, Unexplained infertility

서 론

불임증증 면역학적인 요인으로 생각되는 자궁 내막증이나 원인불명의 불임증환자들은 자가항체의 출현이 임신에 장애를 일으키는 것으로 보고되고 있다 (El-Roeity *et al.*, 1988; Gleicher *N et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 1989; 김정훈 등., 1996).

자가항체로는 항인지질항체 (anti-phospholipid antibody), antinuclear antibody 등이 보고되고 있으며 (Gleicher *N et al.*, 1987; Taylor *et al.*, 1991; Wild *et al.*, 1991) 항인지질항체로는 lupus anticoagulant (LAC), anticardiolipin antibody 등이 있다. 실제로 El-Roeity 등 (1987)은 자궁내막증환자에서 체외수정시술을 시행받는 환자중 자가항체 양성인 환자들에서 자가항체 음성인 환자들에 비하여 임신율이 감소하였음을 보고한 바 있다. Sher 등 (1994)은 체외수정시술을 받는 환자에서 항인지질항체 양성율은 45%라고 보고한 반면, 정상 산모들에서 다른 저자들의 보고를 종합하면 약 5.3%에서 항인지질항체 양성율을 보였다. 또한 비정상적인 자가항체의 출현은 착상과정에 장애를 일으켜 초기에 유산이 되므로 많은 연구가 착상과정에서 초점을 맞추어 이루어져 왔다.

최근 보조생식술 (ART)의 발달로 인하여 배아의 착상과정은 시술의 성공여부를 결정하는 중요한 단계이며, 반복적인 배아이식의 실패는 착상과정시 면역반응 이상으로 인한 것으로 여겨지고 있으며, 이러한 불임환자에서 면역조절을 통하여 임신성공률을 높이려는 시도들이 진행되고 있다 (Mowbray *et al.*, 1985; Cohen *et al.*, 1990; Hasegawa *et al.*, 1992; Polak de Fried *et al.*, 1993).

인간에서 동종이식체 (allograft)라 생각되는 태아가 성공적인 착상을 하여 출생에까지 이르게 되는 것은 착상단계에서 여러 종류의 면역억제를 수행하는 물질들이 관여하며, 이는 배아에서 Estrogen (Sengupta *et al.*, 1981) Histamine (Dey and Johnson., 1980), Early Pregnancy Factor (EPF) (Athanasas-Platsis, 1991), Embryo-derived platelet activating factor (EDPAF) (O'Neill *et al.*, 1989), Chorionic gonadotropin (Dimitriadou *et al.*, 1992)을 분비해서 모체의 임신감지와 배아의 착상 등에 관여하는 Embryonic signal과 여러 종류의 면역세포와 cytokine을 통한 모체의 면역학적 반응으로 성공적인 착상을 할 수 있다고 생각하고 있다.

Komlos 등 (1977)은 반복적인 유산의 원인으로 HLA (human leukocyte antigen)항원의 공유성이 증가되었다고 보고한 이래 이에 대한 논란의 여지는 있으나 (Unander *et al.*, 1985; Unander and Lindholm., 1986; Eroglu *et al.*, 1992; 신종철 등., 1994) 부부사이에 조직적합성이 너무 유사하면 부적절한 차단항체 (blocking antibody)의 생성으로 인하여 태아를 보호하는 면역기능에 방해를 받아 결국태아가 손실이 된다고 가정하고 있다. 따라서 착상전 단계나 착상단계에서 면역상태를 조절함으로써 배아의 착상을 향상시킬 수도 있으리라는 추정이 가능하며 이에 대한 임상적 연구가 진행되고 있으며 그중에서도 최근에는 배우자의 림파구를 이용한 면역치료를 통하여 원인불명의, 즉 차단항체를 통한 면역반응으로 인한 반복유산을 경험한 여성에서 더 이상의 유산을 방지하는데 큰 효과를 보고하고 있다 (Unander *et al.*, 1985; Unander and Lindholm., 1986; Mowbray *et al.*, 1989).

또한 보조생식술의 발달로 인하여 배아의 착상과정의 일련의 현상을 응용하여 보조생식술에서도 배우자의 림파구를 이용한 면역치료가 제시되었다 (Hasegawa *et al.*, 1992). 이는 TA2 항원으로 하여금 B-cell를 자극하게 하여 blocking IgG를 생산하여 감작된 모체의 임파구공격을 피한다는 이론적 근거하에 시도되는 방법이다. 특히 원인불명의 불임환자들은 다른 불임원인들에 비하여 면역학적 인자의 관여도가 높기 때문에 면역치료의 효용성이 더욱 높을 것이라고 가정할 수 있다.

이에 중앙대학교 의과대학 산부인과학교실에서는 1993년 4월부터 1995년 2월까지 불임클리닉을 방문한 원인불명의 불임환자중 과거에 인공수정을 3회이상 실시하여 임신에 실패한 경력이 있는 82명, 89주기를 대상으로 하여 그 다음 단계인 생식세포 복강내이식술 (Peritoneal oocyte and sperm transfer, POST) 시술전 1개월내 일주일 간격으로 배우자의 임파구를 사용하여 림프치료를 2~3회 실시한 43명, 47주기와 림프치료를 시행하지 않은 39명, 42주기를 대상으로 하여 임신율과 유산율을 비교분석함으로써 원인불명의 불임환자에게 차단항체의 유무와 상관없이 배우자의 림파구치료의 효용성을 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 재료

1. 연구대상

중앙대학교 부속병원 산부인과에서는 1993년 4월부터 1995년 2월까지 원인불명의 불임환자증 과거에 인공수정을 3회이상 실시하여 임신에 실패한 82명, 89주기를 대상으로 하여 생식세포 복강내이식술(이하, POST라 명함)을 실시하기 1개월전에 일주일 간격으로 2~3회 배우자의 입과구를 피하주사한 43명, 47주기와 림프치료를 하지 않은 39명, 42주기를 대상으로 하였다.

기초불임검사상 정상소견을 보였음에도 불구하고 2년이상 임신이 되지 않은 경우에 원인불명의 불임으로 정의하였다. 기초불임검사상 정상이라 함은 첫째, 월경주기가 규칙적이고 기초체온표상 biphasic pattern을 보이며, 둘째, 호르몬검사상(유즙분비호르몬, 갑상선자극호르몬, 황체형성호르몬, 난포자극호르몬, 황체중기의 황체호르몬 등) 정상범위이고, 셋째, 성교후검사와 정액검사, 자궁난관조영술 및 진단 복강경검사에서 정상소견을 보인 경우로 정의하였다.

2. 연구방법

1) 과배란유도 방법 생식세포 복강내이식술

GnRH-agonist를 혼용한 short protocol을 이용하였다. 월경주기 2일째부터 오전 10시 30분에 GnRH-a인 Decapeptyl (Ferring, Kiel, FRG) 0.1mg을 hCG (Profasi, Serono, Switzerland) 주사일 까지 매일 피하주사하며, 생리 2일째부터 hMG (Pergonal, Serono, Switzerland) 10,000IU을 오후 6시 30분에 근주하였다. 월경주기 7일째부터 시행한 질식초음파에서 난포직경이 18.0mm이상인 우성 난포가 1개이상 관찰되거나 혹은 직경 14.0mm이상의 난포가 2개이상 관찰되면 hMG투여를 중단하고 hCG 10,000IU를 근주하여 배란을 유도하였다. hCG주사 후 38시간 후에 남자 흡입술을 시행한 다음 이 등 (1991)의 방법으로 POST를 시행하였다. 즉 생식세포는 복강내 이식하기전에 Sharma 등 (1991)의 방법으로 복강내 DPB용액 20ml~40ml로 더글라스와의 피인 피를 제거하기 위해 2~3회 희석하였다. 이 용액으로 세척하므로써 더글라스와의 위치를 확인할 수 있었다. 질식초음파에 남자흡입술에 이용했던 주사침을 사용하여 더글라스와에 삽입한 후 난자와 정자를 흡

입한 TDT관 (Laboratoire CCD, Paris)을 이 내경을 통해 더글라스와에 진입할 수 있다. 이때 남자 흡입용 주사침을 미리 길이를 측정하여 잘라야 하는데 TDT관보다 5~7mm 정도 짧게 하므로써 충분히 TDT관이 내경 끝부분을 지나 복강내로 들어 갈 수 있게 하였다. 이관에 흡입되어 있는 정자와 난자를 복강내에 확실히 주입시키면 초음파를 통해 용액이 복강내로 확산됨을 볼 수 있다. 주입 후 천자침과 관을 동시에 빼냄으로써 난자가 밖으로 나오는 것을 방지하였다. 이때 TDT관에 흡입하는 정자수는 $30\sim 50 \times 10^5$ motile sperm/ml로 하였으며 채취한 난자 4~5개를 흡입하여 준비된 정자와 함께 초음파하에서 복강내 이식하였다.

2) 정자의 준비

정자의 준비 및 수정과정은 남편의 정액을 수정 3~4시간전에 수음으로 채취하여 실온에서 30~40분간 방치하여 액화시킨후 기본적인 정액검사를 실시하여 정자의 수, 운동성 등을 관찰하여 기록했다.

정자에 수정능력을 부여하기 위하여 정액정량을 6ml의 80% 등장 퍼콜용액 상층부에 옮기고 피펫을 사용하여 균등한 밀도차를 형성시킨 후 1000rpm으로 30분간 원심분리 시켰다. 상층액을 제거하고, 여기에 2ml 가량의 신선 Ham's F-10 배양액을 추가한 후 원심분리 (1000rpm, 10분)를 되풀이 하고 정자의 원침을 만들었다. 여기에 0.5ml의 신선배양액을 정자의 원침이 흔들리지 않도록 서서히 추가한 후 5% CO₂ 30℃ 배양기내에 2시간동안 방치하여 운동성 정자가 상층액에 부여된 것을 확인한 후 상층액만 모아서 정자의 수와 운동성을 검사 하였다.

3) 임신의 확인

혈중 β-hCG의 측정은 외인성 hCG의 영향력이 혈중에서 완전히 없어지는 시기인 시술 후 12일째 시행하였다. 생식세포 복강내 이식시술 및 배아이식후 및 인공수정시술후 12일째 혈중 β-hCG가 10mIU/ml 이상을 임신으로 간주하였다.

황체기보충은 매일 progesteron in oil (®Progest) 50mg을 배아이식시술 및 생식세포복강내이식술 후 및 인공수정시술후 부터 근육주사하였으며 임신이 지속될때는 임신 12주까지 근주하였다.

4) 림파구 분리방법

환자의 남편에게서 혈액 25cc를 채취한 다음 소독된 클립이 들어있는 삼각플라스크에 혈액을

넣고 피전체가 응고되기전에 즉시 천천히 돌리면서 fibrin이 클럼에 부착되어 작은 clot덩어리가 형성되도록 한다. 10cc 주사기를 이용하여 4개의 vacutainer에 Ficoll를 4cc씩 각각 분주한다. 이때, tube벽에 Ficoll이 묻지 않도록 조심한다.

동량의 혈액을 각 tube에 조금씩 넣은 후 층이 완전히 분리되면 다량을 1:1로 분주한 후 400g (1900rpm)에서 30분간 원심분리 시킨 후 4개의 tube에서 lymphocyte 층만 분리하여 한 개의 tube에 모은다 (Fig. 1).

새 tube에 회수된 lymphocyte에 RPMI 3ml를 넣고 조심스럽게 천천히 섞어준 다음 100g (950rpm)으로 10분간 원심분리시킨 다음 침전된 lymphocyte만 남기고 상층액을 제거한다.

이방법을 2번 반복한 다음 3회의 washing이 끝난 후 marlerchamber에서 count하는데 $2\sim3\times 10^8$ /ml이 되도록 RPMI로 희석한 후 1cc syringe에 $2\sim3\times 10^8$ loading시킨다. 그후 환자에게 정맥 주사할때까지 실온 보관한다.

이와 같이 하여 얻은 lymphocyte를 임신전이나 임신초기에 환자에게 한달에 한번씩 3회 정맥 주사한다.

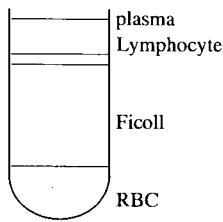


Fig. 1. Lymphocyte layer after centrifugation.

5) 결과분석

student t-test 및 χ^2 -test로 비교 분석하였으며 통계학적 유의성은 $p<0.05$ 로 하였다.

결 과

치료군과 대조군 간의 평균연령, hCG투여날수, 난포채취수 간의 비교에서는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1).

치료군과 대조군의 호르몬 양태를 보면 치료군의 기저 혈중 E_2 , LH, FSH농도는 각각 42.2 ± 12.9 pg/ml, 12.5 ± 5.6 mIU/ml, 15.3 ± 7.3 mIU/ml로 대조군의 39.6 ± 16.3 pg/ml, 11.9 ± 4.9 mIU/ml, $14.3\pm$

Table 1. Comparison of clinical response between treatment and control groups

	Treatment group (n=43)	Control groups (n=39)
No. of cycles	47	42
Age	32.2 ± 6.3	34.3 ± 8.3
Day of hCG	9.4 ± 2.8	10.2 ± 3.7
No of Retrieved oocyte	9.3 ± 2.5	13.3 ± 5.3

NS.

Table 2. Comparison of hormone profile between treatment and control groups

	Treatment group	Control group
Baseline*		
E_2 (pg/ml)	42.2 ± 12.9	39.6 ± 16.3
LH (mIU/ml)	12.5 ± 5.6	11.9 ± 4.9
FSH (mIU/ml)	15.3 ± 7.3	14.3 ± 3.9
hCG day*		
E_2 (pg/ml)	1367.9 ± 240.7	1523.6 ± 187.2
LH (mIU/ml)	38.4 ± 12.3	26.5 ± 12.7
FSH (mIU/ml)	20.4 ± 18.3	22.5 ± 15.3

*NS.

3.9mIU/ml과 통계학적으로 유의한 차이점을 보이지 않았으며, hCG투여 당일날의 E_2 , LH, FSH농도는 치료군에서 각각 1367.9 ± 240.7 pg/ml, 28.4 ± 12.3 mIU/ml, 20.4 ± 18.3 mIU/ml으로 대조군의 1523.6 ± 187.2 pg/ml, 26.5 ± 12.7 mIU/ml, 22.5 ± 15.3 mIU/ml과 비교시 통계학적인 유의성은 없었다 (Table 2).

두군간의 임신성공율을 보면 치료군에서는 47주기당 18명이 임신되어 45.6%의 임신율을 보이고 있고, 대조군에서는 42주기에서 12명이 임신이 되어 28.6%의 임신성공율을 보여 치료군에서 약간 높은 임신율을 보였으나 통계학적인 유의성은 없었다 ($p=0.25$). 또한 두군간에 유산율을 보면 치료군에서는 20명 임신당 2명이 유산되어 10.0%의 유산율을 보였으나 대조군에서는 12명 임신중 6명이 유산되어 50.0%의 유산율을 보여 통계학적으로 유의한 차이가 있었다 (Table 3, $p=0.037$).

고 찰

원인불명의 불임은 불임증에 대한 체계적인 검

Table 3. Comparison of pregnancy outcome between treatment and control groups

	Treatment group (n=43)	Control group (n=39)
No. of cycles	47	42
PR (% per cycles) ^a	20 (42.6%)	12 (28.6%)
SRv(% per Preg.) ^b	2 (10.0%)	6 (50.0%)

a: NS, b: p<0.05.

사를 시행한 후에도 명백한 원인이 발견되지 않으면서 또는 불임증의 원인이라고 생각되는 인자를 교정한 후에도 임신이 되지않는 경우 원인 불명의 불임증이라고 정의한다. 불임부부의 10~15%가 임상적인 진단에 도달하지만 실제 복강경으로 자궁내막증과 같은 질병을 제외하면 약 10% 이하로 보고되고 있다 (Crosignani *et al.*, 1993). 가능성있는 원인적인 요소로서 해부학적 인자, 난포발육, 배란 및 수정의 이상, 자궁경관점액의 이상 및 면역학적인 요소를 들 수 있다. 이러한 원인중 최근에는 면역학적인 요인에 대한 관심이 집중되고 있다.

원인 불명의 불임증 면역학적인 요인은 14~40%로 보고되고 있고 (Wallach & Moghissi, 1986) 이런 환자에서 비정상적인 자가항체의 존재를 비롯한 면역기능의 이상은 보조생식기술의 결과에 좋지 않은 영향을 미칠 수 있다고 추정할 수 있다.

반복적인 유산과 관련된 비정상적인 자가항체의 발현은 Lubbe 등 (1984)에 의하여 처음으로 보고 되었다. 이 연구에서는 lupus anticoagulant가 질병의 표식자 (marker)로 생각하였으며, Lupus anticoagulant 양성은 자가항체 양성 특히 phospholipid에 대한 자가항체와 관련이 있는 것으로 알려져 왔고 습관성유산과도 관계가 있다고 보고하고 있다. Gleicher 등 (1989)도 원인불명의 불임 및 반복적인 유산환자에서 polyclonal B세포의 활성화가 증가되었음을 보고하였다. Taylor 등 (1989)도 자가항체는 원인불명의 불임과 체외수정시술시 실패의 요인중의 하나라고 하였다. Geva 등 (1994)은 자가항체는 체외수정시술에서 착상 실패에 중요한 역할을 하므로 화학적임신으로 끝난 환자는 자가항체의 선별검사가 선행되어야 한다고 하였다.

자가항체의 존재여부에 대한 여러연구자들의 결과를 비교하는 것은 무리가 있다. 즉 환자의 선

택 및 연구 설계가 다르며, assay 방법이 표준화가 되어 있지 않기 때문이다. 그러나 대체로 불임환자에서 항인지질항체의 양성율은 약 26%, 반복적 유산환자들에서는 약 20%인 반면, 정상산모에서는 5.3%로 정리해 볼 수 있다. 그러나 각군에서의 차이가 다양하다.

본 연구에서는 원인불명의 불임환자중 과거에 인공수정을 3회이상 실시하여 임신에 실패한 원인 불명의 불임환자들로 이들 환자는 2년이상 임신이 되지 않은 환자들로서 자가항체의 존재여부는 검사하지 않고, 이런 환자들에서 자가항체가 증가되었다는 가정하에 면역치료를 시행하여 대조군과의 임신을 및 유산율의 차이를 비교하여 만약 차이가 있다면 원인불명의 환자에서 적어도 자가항체의 존재를 간접적으로 평가할 수 있다고 하겠다. 만일 면역치료를 한군에서 유산율이 낮았다면 자가항체의 존재가 착상 과정에 중요한 역할을 할 것이라는 가정을 할 수 있다. 또한 본 연구에서는 원인불명의 불임환자중 과거에 인공수정을 3회이상 실시하여 임신이 실패한 경력이 있는 환자를 바로 체외수정시술로 들어가지 않고 생식세포 복강내이식술을 시행하여 평가한 것이 다른 연구자들과 다르다고 하겠다. 물론 반복적으로 임신에 실패한 경우에 순환 자가항체이외에도 zona pellucida에 대한 항체도 보고되고 있다 (Hovav *et al.*, 1994). 본 연구에서는 면역치료를 한 군에서 임신율이 증가하는 경향은 있으나 통계학적인 유의성은 보이지 않았으나, 유산율은 면역치료를 하지 않은 군보다 면역치료를 받은 군에서 유의성 있게 감소하였으므로 착상과정에 관한 기전을 중심으로 고찰을 하고자 한다.

착상의 과정은 자궁과 배아사이의 잘 조정된 일련의 반응을 통해 일어나며 각각은 착상에 주요한 작용을 한다. 착상과정에 배아는 자기의 운명을 엮어나가는 장대한 오케스트라를 지휘하는 역동적 주체인 것은 분명하지만 자궁으로부터 맞아준다는 정보가 없이는 착상할 수 없다. 이러한 일련의 숙련된 과정에도 불구하고 착상실패에 의하여 많은 배아가 소실된다는 사실을 생각할 때 이 착상과정이 얼마나 어려운 일인가를 알 수 있다. 태아는 모체에 비해 반이형형질 (semiallogenic)한 상태임에도 불구하고 모체에서 거부되지 않고 성공적인 출산을 하게 되는 것은 에스트로젠 폭발 (estrogen surge)과 같은 embryonic sig-

nal을 통한 모체의 임신감지와 착상 능력을 촉진시켜 이때에 염증반응 및 면역작용을 하는 세포와 배아동종 이식체와 직접 접촉하게 되는데 이때 동종이식체가 어떠한 방법을 통하여 모체의 면역학적 공격을 피하게 하는 작용이 일어난다. 즉 trophoblast cell은 모체의 effector cell (NK, LAK) 등의 cytolytic action을 억제하는 TGF- β 와 같은 물질을 분비하고 자궁내막에서의 CD8⁺과 같은 suppressor cell을 유도한다. 또한 배아의 class I-G 항원은 모체로 하여금 차단항체를 만들게 하여 모체림파구의 표면항원수용체와 결합하거나 trophoblast 표면항원과 결합하여 감작된 모체의 림파구공격을 피하게 하고, trophoblast 성장을 촉진시키는 cytokines을 유발하며, 자궁내막조직에 suppressor cell을 유도하여 배아를 보호하는 역할을 한다 (Cunningham *et al.*, 1993; Coulam., 1994).

최근에는 보조생식술의 발달로 인해 배아의 착상과정이 시술의 성공여부를 결정하는 중요한 요인의 하나로 생각하고 있으며, 반복적인 배아이식의 실패는 착상과정시 면역반응 이상으로 인한 것으로 여겨 이러한 환자에서 면역반응의 조절을 통하여 임신성공율을 높이려는 시도들이 진행되고 있으나 일치되는 결론은 없는 실정이다. 지금까지 시도되고 있는 면역치료의 방법들은 첫째, 면역글로블린을 주사하는 방법으로 Christiansen 등 (1988)은 원인불명의 습관성유산환자에서 면역글로블린의 치료로 82%에서 정상분만하였다고 보고하였다. 또한 국내의 김정훈 등 (1994)도 원발성 습관성유산환자에서 면역글로블린치료가 임신유지에 효과가 있다는 것을 제시하였다. 둘째, 방법으로 착상시 인위적으로 면역을 억제시키는 방법인데 여러 연구자들은 체외수정시술에서 methylprednisolone을 투여하여 임신율을 향상시킨다는 보고가 있는가 하면, (Cohen *et al.*, 1990; Polak de Fried *et al.*, 1992; 김정훈 등., 1994) 국내의 Lee 등 (1994)은 면역억제요법은 임신율에 별 영향을 못 미친다고 보고하였다. 셋째로 배우자나 제 3자의 림파구를 투여하는 방법인데, 이론적 근거로 배우자간의 조직적합성이 증가하면 모체와 태아사이에도 유사한 조직적합성을 나타내어 부적절하게 차단항체를 만들어 태아손실을 일으킨다는 것이다 (Faulk *et al.*, 1978). 또한 Faulk 등 (1978)은 trophoblast 항원 (TA)에는 두종류가 있는데 TA₁은 trophoblast에 존재하여 cytotoxic T-cell 반응을 야기시키고, TA₂는 trophoblast, 임파

구, 내피세포, villous fibroblast 등에 존재하고 B-cell을 자극하여 blocking IgG항체를 생산한다는 가설을 주장하였다. 이런 차단항체는 모체임파구의 차단항체와 결합하거나 혹은 trophoblast 표면항원과 결합하여 감작된 모체의 림파구 공격을 피하거나, 모체 탈락막에서 CD8⁺ Suppressor 세포를 유도하는데 CD8⁺은 trophoblast HLAG을 인식하고 유산을 막는 cytokine을 분비한다. 또한 trophoblast 성장을 촉진시키는 여러종류의 성장을 촉진시키는 cytokine을 분비하여 배아를 보호하는 작용을 한다고 생각된다. 그러나 조직적합성항원의 적합성과 태아의 손실과 관계에 있어서는 논란의 여지가 많다 (Unander *et al.*, 1985; Unander and Lindholm., 1986; Eroglu *et al.*, 1992; 신종철 등., 1994). 이러한 림파구면역요법은 Taylor 등 (1981)과 Beer 등 (1981)이 처음으로 보고한 이래로 Hasegawa 등 (1992)은 반복적인 배아이식이 실패한 체외수정시술에서 혼합림파구배양법을 통한 차단항체검출을 통해서 차단항체가 없는 3명의 환자에서 림파구를 주입하여 차단항체가 생성된 1명의 환자에서 성공적인 출산을 보고하였다. 그러나 Unander 등 (1985)은 강한 차단항체 반응을 보이는 습관성유산환자는 자가면역질환을 갖고 있을 수 있으므로 림파구를 투여시 오히려 악화될 수 있으므로 면역학적 조사를 시행하지 않고 림파구를 주는것은 바람직하지 않다고 하였다. 네째, 방법으로는 최근 trophoblast의 접촉, 침투 및 면역억제작용을 하는것으로 알려진 TGF- β 를 함유한 정장액 (seminal plasma)이 담긴 질정제 등이 있다 (Speroff *et al.*, 1994). 그외에 3번이상의 반복유산을 겪은 항인지질항체가 양성인 환자에서 헤파린단독치료에서 44%의 출산율을 보인 반면, 헤파린과 저용량의 아스피린을 병행하여 사용한 군에서는 78%의 출산율을 보고하고 있다 (Kuttech *et al.*, 1996).

본 연구는 원인불명의 불임환자나 자궁내막증환자들에서 처럼 면역학적 인자의 관여도가 높을 것으로 생각되는 불임환자에서 면역치료의 효용성이 높을 것이라는 가정하에 차단항체의 존재 유무에 상관없이 적어도 자가면역질환이 아닌, 3번 이상의 인공수정에 실패한 원인불명의 불임환자에서 시도된 것이다. 기대와는 다르게 임신성공율에서 치료군에서 42.6% (20/47주기)로 대조군의 28.6% (12/42주기)에 비해 약간 높은 임신율을 보였으나 통계학적인 유의성이 없었다. 그

러나 유산율의 경우는 면역치료군에서 10.0% (2/20)로 대조군의 50.0% (6/12)보다 낮아 배우자의 림파구 치료시 유산율에 영향을 줄 수 있다고 생각되지만 대상군이 적고 면역학적요인 이외에 염색체이상에 의한 유산의 원인들을 다 고려하지 않았고, 또한 여러종류의 자가항체유무를 증명하지 않은 상태에서 시행했기 때문에 추후 이에 대한 세분화된 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

결 론

중앙대학교 의과대학 산부인과학교실에서는 1993년 4월부터 1995년 2월까지 원인불명의 불임환자중 과거에 인공수정을 3회이상 실시하여 임신에 실패한 경력이 있는 82명, 89주기를 대상으로 하여 POST시술전 1개월내 일주일 간격으로 배우자의 림파구를 이용하여 림프치료를 2~3회 시행한 43명, 47주기와 림프치료를 시행하지 않은 39명, 42주기를 대조군으로 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 원인불명의 환자에서 치료군과 대조군간의 과배란유도에 대한 임상적 반응 비교에 있어 hCG투여일, 회수된 난자의 수 및 기저혈중 및 hCG투여 당일의 E₂, LH, FSH농도에는 두군간에 통계학적 유의성이 없었다.

2. 원인불명의 불임환자에서 치료군의 경우 시술주기당 임신율은 42.6% (20/47)였으며, 대조군의 경우 시술주기당 임신율은 28.6% (12/42)로서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다 (p=0.26).

3. 임신주기당 자연유산율은 치료군의 경우 10.0% (2/20)였으며, 대조군의 경우 자연유산율은 50.0% (6/12)로 치료군의 경우에서 통계학적으로 유의하게 낮았다 (p=0.037).

결론적으로 원인불명의 불임환자에서 배우자의 림파구를 이용한 림파구 치료는 임상적 임신율에는 차이가 없으나 자연유산율이 유의하게 감소하므로 림프치료가 반복적 배아이식치료 및 초기유산의 경력이 있는 원인불명의 불임환자에서 효과가 있다는 것을 제시하는 소견이라 할 수 있으나, 향후 많은 임상자료 및 면역학적 기본 연구가 있어야 된다고 사료된다.

REFERENCES

김정구, 고창원, 신창재, 문신용, 이진용, 장윤석:

- 습관성유산환자에서의 면역글로블린의 치료 효과. *대한산부회지* 1994, 37, 1954.
- 김정훈, 조운경, 목정은: 과배란유도주기에서의 자궁강내 인공수정시 면역억제요법의 효용성에 관한 연구. *대한산부회지* 1995, 38, 831.
- 김정훈, 조운경, 목정은: 자궁내막증을 가진 불임환자에서의 자가면역 기능이상에 관한 연구. *대한산부회지*. 1996, 39, 1087.
- 신종철, 김진홍, 이종승, 나덕진, 김창이, 김수평, 김승조, 이현영: 반복적 태아손실이 있는 부부에서의 조직 적합성. *대한산부회지* 1994, 37, 873.
- 이상훈, 정병준, 장현정, 배도환: 생식세포 복강내 이식에 의한 임신성공에 관한 연구. *대한산부회지* 1991, 34, 1535.
- Athanasas-Platis S, Morton H, Dunggilson GF, et al: Antibodies to early pregnancy factor retard embryo development in mice in vivo. *J Reprod Fertil* 1991, 92, 443.
- Beer AE, Quebbeman JF, Ayers JWT, et al: Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune response and chronic habitual abortion in human. *Am J Obstet Gynecol* 1981, 141, 987.
- Bose RB, Cheng H, Sabbadini E, et al: Purified human early pregnancy factor from preimplantation embryo possesses immunosuppressive properties. *Am J Obstet Gynecol* 1989, 160, 954.
- Cohen J, Malter H, Elsner C, et al: Immunosuppression supports implantation of zona pellucida dissected human embryos. *Fertil Steril* 1990, 53, 662.
- Cristianchen OB, Mathiesen O, Lauritsen JG, et al: Intravenous immunoglobulin treatment of women with multiple miscarriage. *Hum Reprod* 1992, 7, 718.
- Crosingnai PG, Collins J, Cooke ID, et al: Unexplained infertility. *Hum Reprod* 1993, 8, 977.
- Cunningham FG, Macdonald PC, Gant NF, et al: *Williams Obstetrics*. 19th ed. 1993.
- Dimitriadou F, Sarandakou A, Phocas I, et al: Discordant secretion of pregnancy specific β 1-glycoprotein and human chorionic gonadotropin by pre-embryos cultured in vitro. *Fertil Steril* 1992, 57, 631.

- El-Roeity A, Gleicher N, Friberg J, et al: Correlation between peripheral blood and follicular fluid autoantibodies and impact on in vitro fertilization. *Obstet Gynecol* 1987, 70, 163.
- El-Roeity A, Dmowski WP, Gleicher N, et al: Danazol but not gonadotropin-releasing hormone agonists suppresses autoantibodies in endometriosis. *Fertil Steril* 1988, 50, 864.
- Eroglu G, Betz G, Torregano C: Impact of histocompatibility antigens on pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1992, 166, 1364.
- Gleicher N, El-Roeity A, Confino E, et al: Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet Gynecol* 1987, 70, 115.
- Gleicher N, El-Roeity A, Confino E, et al: Reproductive failure because of autoantibodies; Unexplained infertility and pregnancy wastage. *Am J Obstet Gynecol* 1989, 160, 1376.
- Geva E, Yaron Y, Lessing JB, et al: Circulating autoimmune antibodies may be responsible for implantation failure in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994, 62, 802.
- Hasegawa I, Tani H, Takakuwa K, et al: Immunotherapy with paternal lymphocytes preceding in vitro fertilization-embryo transfer for patients with repeated failure of embryo transfer. *Fertil Steril* 1992, 57, 445.
- Hovav Y, Almagor M, Benbenishti D, et al: Immunity to zona pellucida in women with low response to ovarian stimulation, in unexplained infertility and after multiple IVF attempts. *Hum Reprod* 1994, 9, 643.
- Komlos L, Zamir R, Joshua H, et al: Common HLA antigens in couples with repeated abortions. *Clin Immunol Immunopathol* 1977, 7, 330.
- Kutteh WH: Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol* 1996, 174, 1584.
- Lee KA, Koo JJ, Yoon TK, et al: Immunosuppression by corticosteroid has no effect on the pregnancy rate in routine in vitro fertilization/embryo transfer patients. *Hum Reprod* 1994, 9, 1832.
- Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ, et al: Lupus anticoagulant in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1984, 91, 357.
- Mowbray JF, Liddel H, Underwood J, et al: Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal cells. *Lancet* 1985, 1, 941.
- O'Neill C, Ryan JP, Collier M, et al: Supplementation of IVF culture media with platelet activating factor (PAF) increased in pregnancy rate following embryo transfer. *Lancet* 1989, ii, 769.
- Polak de Fried E, Balnco L, Lancuba S, et al: Improvement of clinical pregnancy rate and implantation rate of in-vitro fertilization-embryo transfer patients by using methyprednisolone. *Hum Reprod* 1993, 8, 393.
- Sengupta J, Roy SK, Manchanda SK: Effect of an antiestrogen on implantation of mouse blastocysts. *J Reprod Fertil* 1981, 62, 433.
- Sher G, Feinman M, Zouves C, et al: High fecundity rates following in-vitro fertilization and embryo transfer in antiphospholipid antibody seropositive women treated with heparin and aspirin. *Hum Reprod* 1994, 9, 2278.
- Speroff L, Glass RH, Kase NG: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* 5th ed, Williams & Wilkins, 1944.
- Taylor C and Faulk WP: Prevention of recurrent abortion with leukocyte transfusion. *Lancet* 1981, ii, 68.
- Taylor PV, Campbell JH, Scott J: Presence of autoantibodies in women with unexplained infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1987, 161, 377.
- Unander AM, Lindholm A, Olding LB: Blood transfusion generate/increase previously absent/weak blocking antibody in women with habitual abortion. *Fertil Steril* 1985, 44, 766.
- Unande AM and Lindholm A: Transfusion of leukocyte-rich erythrocyte concentrates: A successful treatment in selected cases of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1986, 154, 516.
- Wild R, Hirisave V, Podczaski E, et al: Autoantibodies associated with endometriosis: Can their detection predict presence of the disease? *Obstet Gynecol* 1991, 77, 927.