

체외수정시술을 위한 성선자극호르몬 과배란유도에 Limited Ovarian Reserve를 갖는 환자에서 성장호르몬의 사용

고려대학교 의과대학 산부인과학교실

김선행 · 장기훈 · 구병삼

Cotreatment with Growth Hormone in Controlled Ovarian Hyperstimulation for IVF in Women with Limited Ovarian Reserve

Sun-Haeng Kim, Ki-Hoon Chang and Pyoung-Sahm Ku

Department of Obstetrics and Gynecology, Medical College, Korea University

= Abstract =

Despite increasing success rate of IVF, poor response to ovarian stimulation remains a problem. So, attempts to improve ovarian responses, for example, by using combined gonadotropin-releasing hormone analogue(GnRH-a) and human menopausal gonadotropin(hMG) have shown limited success. It is reported that response of granulosa cells in vitro to FSH is stimulated by co-incubation with IGF-1, and IGF-1 production can be increased by growth hormone. This suggest that combination regimen of G.H. and hMG may augment follicle recruitment.

In fifteen patients who had previous history of poor ovarian response to gonadotropin stimulation after pituitary suppression with mid-luteal GnRH-a, the effectiveness of cotreatment with G.H. in IVF program was evaluated using a combination regimen of G.H. and hMG at Korea University Hospital IVF Clinic.

Ovarian responses to gonadotropin stimulation in control and GH-treated cycles assessed by total dose and duration of hMG treatment, follicular development and peak E_2 level, number of eggs retrieved, and fertilization rates were also assessed. In each group, serum and follicular fluid IGF-1 concentrations on day of egg collection were measured by RIA after acidification and extraction by reversed phase chromatography.

Patients receiving G.H. required fewer days and ampules of gonadotropins, developed more oocytes, and more embryos transferred. But, the differences were not statistically significant, except the duration of hMG treatment. Our data showed a significantly higher concentration of IGF-1 in the serum, not in the follicular fluid, of patients treated with G.H. compared with control group.

These data suggest that growth hormone treatment does not improve the ovarian response in women with limited ovarian reserve to gonadotropin stimulation for IVF.

서론

최근 체외수정시술(IVF)의 성공율이 증가하고 있음에도 불구하고, 난소과배란에 대한

poor response가 주된 문제점으로 남아있다. 따라서, 성선자극호르몬에 대한 난소의 반응을 향상시키려는 시도로써 human menopausal gonadotropin(hMG)의 용량을 증가시키거나, 혹은 gonadotropin releasing hormone analog

gues(GnRH-a)를 함께 사용하였으나 그 결과는 그다지 만족스럽지 못했다.

최근 성장호르몬(GH)이 insulin like growth factor-1(IGF-1)의 생산을 증가시키고, IGF-1이 in vitro에서 FSH에 대한 과립막 세포의 반응을 자극한다는 보고가 있는 후(Homburg et al., 1988), 체외수정시술을 위한 과배란유도시에 성선자극호르몬과 함께 성장호르몬을 사용함으로써 난포의 성장과 발달을 향상시키는 효과가 있을 것으로 기대되었다. 그러나, 이제까지의 임상결과들이 서로 일치하지 않고 있는 실정이다.

저자들은 과거에 과배란유도시 불량한 난소의 반응을 보인 환자들에서 성장호르몬을 사용하여 그 효과를 알기 위하여 본 연구를 시도하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

불임을 주소로 고려대학교 의과대학 산부인과 체외수정 클리닉에 내원한 환자중 체외수정시술의 적응이 되어 성선자극호르몬 과배란유도를 시행한 환자중, 난소의 반응이 불량하였거나, limited ovarian reserve를 갖을 것으로 기대되는 15명의 환자를 실험군으로 선택하였다. 이들에게 adjuvant GH regimen을 사용하여 난소의 반응과 그 이후의 IVF 전과정을 대조군과 비교하였다. 동일 여성들에서 GH 사용주기의 전후로 adjuvant GnRH-a와 gonadotropin만을 사용하여 과배란유도를 시행하여 대조군으로 삼았다.

Poor responder를 정하는 기준으로는 과배란유도에 사용된 hMG의 용량이 많았거나, 충분한 혈중 E₂ 농도의 상승이 없었던 경우, 성숙한 난포의 숫자가 적었던 경우, 그리고 치료전 FSH 농도의 minimal rise가 있었던 경우 등으로 결정했다.

환자들의 평균 연령은 35세였고, 평균 불임 기간은 8년이었으며, 불임의 원인은 모두 기계적 원인이었다. Day 3에 측정된 기초 FSH 및 E₂치는 각각 평균이 9.71 mIU/ml, 39.36 pg/ml였다.

2. 연구방법

과배란유도는 성선자극호르몬 치료 전주기의 분비기 중기(midluteal phase)에 GnRH-a

(Decapeptyl, Organon)를 근주하고, 월경과 관계없이 투여후 9일에서 14일 사이에 혈중 성선자극 호르몬 농도를 측정하여 뇌하수체가 완전히 억압된 것이 확인되고, 질식초음파 검사상 난소가 정상이면 hMG(Humenopin, 동아제약)를 근주하여 과배란을 시작하였고 투여용량은 난소의 반응에 따라 증감하였다. 난소의 반응은 질식초음파 검사와 혈중 E₂ 농도를 측정하여 관찰하였고, 충분한 혈중 E₂ 농도의 상승이 이루어지고 가장 큰 성숙 난포의 직경이 18mm에 이르르면 hCG(Puberogen, 동아제약) 10,000 IU를 근주하고, 그 후 34-36시간 후에 질식초음파를 이용하여 난자채취를 시행하였다.

실험군에게는 hGH(Utropin, 럭키의약품부) 16 IU를 hMG 투여일로 부터 시작하여 격일로 피하주사하였다.

일상적인 방법을 사용하여 수정, 배양, 자궁내 배아이식, 황체기 보조 등의 과정을 거쳐 실험군과 대조군의 난포성장, peak E₂ level, 수정률 등을 비교하였다. 그리고, 양군에서 모두 난자채취일에 난포액(follicular fluid)과 혈청에서의 IGF-1 농도를 측정하여 비교하였다. 순수한 난포액을 흡인하여, 원심분리 후, 상층액을 분석일까지 -20°C에 동결보존하였으며, 환자의 혈액에서 혈청을 분리하여 같은 온도로 동결보존한 후에 reversed phase chromatography에 의한 acidification과 extraction후에 specific RIA방법을 통하여 농도를 측정하였다. 이 분석의 intraassay coefficient of variation(CV)은 1.5%-3.4%였으며, interassay CV는 1.5%-8.2%였다.

본 연구에서는 통계학적 분석을 위하여 student's t-test를 사용하였고, 결과는 평균치 ± 표준편차로 표시하였다.

결 과

과배란을 위한 성선자극호르몬 치료기간과 투여용량은 실험군과 대조군에서 각각 평균 7.73일 및 10.07일, 그리고 33.87개 및 40.13개로써 실험군에서 모두 감소한 결과를 나타내고 있지만, 치료기간만이 통계적으로 유의한 차이를 보이고 있다(p<0.05). 의미있는 E₂ 농도의 상승이 있기까지 소요된 기간과 peak E₂농도치의 경우에도 실험군에서 각각 평균 4.5일, 1,498.21 pg/ml로 대조군의 평균치인 5.

Table 1. Ovarian response to gonadotropin stimulation in two groups

Parameter	Study group(n=15)	Control group(n=15)	P value
Duration of Tx(day)	7.73 ± 2.76	10.07 ± 1.22	0.006
No. of hMG ampules	33.87 ± 10.22	40.13 ± 8.11	0.074
Day of sig. E ₂ rise	4.50 ± 1.45	5.14 ± 0.95	0.178
Peak E ₂ levels(pg/ml)	1498.21 ± 522.24	1348.79 ± 583.46	0.482
No. of follicles(>14 mm)	7.57 ± 2.76	7.14 ± 3.34	0.715

Table 2. Results of gonadotropin stimulation in two groups

Parameter	Study group(n=15)	Control group(n=15)	P value
No. of eggs retrieved	6.57 ± 2.82	5.71 ± 3.04	0.447
Fertilization rates(%)	61.93 ± 26.56	55.21 ± 27.31	0.515
No. of ET	3.36 ± 2.06	2.50 ± 1.51	0.220
No. of pregnancy	2	0	

Table 3. Serum and FF IGF-1 concentrations in two groups

IGF-1 (ng/ml)	Study group(n=15)	Control group(n=15)	P value
Serum	461.95 ± 148.99	237.17 ± 63.64	0.007
FF	238.19 ± 94.66	192.27 ± 62.79	0.348

14일, 1,384.79 pg/ml과 다소의 차이를 보이고 있지만 통계적으로 유의한 수준은 아니었다. 직경이 14mm 이상인 난포의 숫자 역시 실험군과 대조군에서 각각 7.57개와 7.14개로 유의한 차이가 없었다(표 1).

성선자극호르몬 과배란유도에 대한 결과로서, 채취된 난자수, 수정율, 이식된 배아수 등은 실험군에서 모두 높았으나 유의한 수준은 아니었으며, 실험군에서만 두 예의 임신이 있었다(표 2).

IGF-1의 혈청 농도는 실험군에서 평균 461.95로 대조군의 평균치인 237.17과 비교하여 유의하게 증가되었으며, IGF-1의 난포액 농도는 실험군에서 다소 증가는 있었지만 유의한 수준은 아니었다(표 3).

고 찰

체외수정시술의 임신 성공을 위해서, 과배란유도는 매우 중요한 부분을 차지하고 있다. 성선자극호르몬을 이용한 과배란유도시에 여러 문제점들이 나타나고 있는데, 이 중에서 poor responder가 주된 문제점이 되고 있다.

체외수정시술을 위한 성선자극호르몬 과배란에 대한 poor responder를 정의하는 기준은

아직 정확히 확립되어 있지 않다. 비록 여러 가지 E₂ pattern에 기초를 둔 분류가 있지만, 대부분의 사람들이 보다 더 객관적인 hormonal criteria를 원하고 있다. Garcia등(1983)은 많은 양의 hMG를 사용함에도 불구하고 혈청 E₂치가 갑자기 떨어지거나, 하향곡선을 그리는 경우, plateau를 보이는 경우 등을 그 기준으로 삼았으며, Diamond등(1985)에 의하면 치료에 사용된 hMG 앰플 숫자가 성선자극호르몬에 대한 난소의 반응도를 반영한다고 하였으며, hMG와 함께 새로 사용되는 약제의 효과를 평가하는 기준으로 삼았다. 본 연구에서는 과배란에 사용된 hMG의 용량이 비교적 많았거나, 혈청 E₂ 농도의 상승이 충분치 못했던 경우, 성숙한 난포의 숫자가 적었던 경우 등을 poor responder에 포함시켰으며, 기초 FSH의 농도가 약간 증가되었던 경우만을 포함시켰다.

최근, Adashi등(1985)은 어떠한 성장 인자가 난포기능에 대한 성선자극호르몬의 역할을 조절하고 있고, 성장 호르몬이 난소의 FSH에 대한 반응을 촉진시키는 주된 역할을 한다고 보았으며, 이는 난포조직에 수용체를 가지고 있는 IGF-1을 매개체로 이루어진다고 보고하였다. 이를 뒷받침하는 증거로 쥐의 성숙 난

포에서 RNA 전사(transcript)에 의해 IGF-1이 합성되는 것이 확인되었고(Hernandez et al., 1989), 광범위 뇌하수체 기능저하증(panhypopituitarism) 환자의 난포자극에 대한 hMG의 효과를 성장호르몬이 촉진시킨다는 것이 확인되었다(Blumenfeld & Lunenfeld, 1989). Homburg 등(1988)은 IVF와 in vivo 치료 환자에서 성장호르몬이 외인성 성선자극호르몬에 대한 난소의 반응을 발달시킴을 증명하였으며, 그 후에 여러 임상적 실험들이 체외수정술을 위한 과배란유도에 있어서 성장호르몬이 난소의 과립막세포의 발달로 촉진시키는 것을 증명하였다.

이를 근거로 최근에, poor responder에 대한 성장호르몬의 효과를 증명하기 위한 많은 임상적 연구들이 활발히 진행되고 있다. Owen 등(1991)과 Ibrahim 등(1991)은 poor responder에게 pituitary suppression 후에 GH를 투여하여, 많은 난자를 획득하였으며 hMG의 용량을 의의있게 감소시켰다. 하지만, Shaker 등(1992)에 의하면 normal responder와 poor responder 양쪽 모두 GH의 투여가 난소의 반응을 향상시키는데 전혀 도움을 주지 못하고 있다. 따라서, poor responder에 대한 GH의 효과는 그 임상적 결과들이 아직 서로 일치하고 있지 않은 실정이다.

IGF-1의 난소에 대한 기전은 아직 정확히 알려져 있지 않다. IGF-1이 FSH와 함께 in vitro에서 쥐의 과립막세포 aromatase activity를 증가시키고(Adashi et al., 1985), in vivo에서 GH이 쥐의 난소내 IGF-1 농도를 증가시키는 것(Davoren & Hsueh, 1986)은 성장호르몬이 IGF-1의 간에서의 생산을 증가시켜 전신적으로, 또한 난소내에서의 IGF-1 분비를 증가시켜 국소적으로 난소에 영향을 미치는 것으로 믿어진다. 하지만, IGF-1의 전신적 영향과 국소적 영향 중에 어떠한 것이 지배적인 역할을 하는지에 대한 여러 임상적 결과들도 서로 일치하고 있지 않다.

본 연구 결과에서는 poor responder에 대한 과배란유도에 있어 성장호르몬을 투여받은 실험군의 난포성장 및 peak E₂ level이 대조군과 비교하여 증가가 있었으나 유의한 수준은 아니었으며, 수정률 및 preembryo의 quality에는 차이가 없었다. 그리고, 실험군에서만 두 경우의 임신이 있었는데, 이는 배아의 수나 질이 향상되어 나타난 결과로 보기 어렵다. 이와같

은 결과로, adjunctive GH regimen이 limited ovarian reserve를 갖는 여성들에서 gonadotropin에 대한 난소의 반응과 IVF의 여러 parameter들을 크게 향상시키지 못할 것으로 믿어진다. 그러나, FSH의 rise가 있는 환자들을 제외한 일부 선택적인 환자들에서는 hMG투여량 및 기간, 말초혈중 E₂치 및 성장난포의 수가 인상적으로 증가됨을 관찰할 수 있었다.

실험군에서 혈청내의 IGF-1농도의 증가는 유의한 수준이었고, 난포액내의 농도는 유의한 차이가 없었다. 이것은 GH이 간에서 IGF-1의 생산을 증가시키는 사실을 뒷받침하고 있으며, IGF-1의 난소내 국소적 역할에는 영향을 미치지 못함을 시사하고 있다.

결 론

과거에 성선자극호르몬을 이용한 과배란유도에 난소의 반응이 좋지 않았던 여성에서 Adjunctive GH를 사용하여 다음의 결론을 얻었다.

1. 성선자극호르몬의 치료기간이 감소되었다.
2. hMG사용량, 성숙난포수, 채취난자수, 난자의 성숙도, 수정율, 이식율 및 배아 이식수 등에서 유의한 차이가 없었다.
3. IGF-1 농도는 혈청내에서 증가되었고, 난포액에서는 차이가 없었다.

이상의 결과에서 보는 바와 같이 체외수정을 위한 성선자극호르몬에 좋지 않은 난소의 반응을 보였던 여성에서 GH의 사용이 난소의 반응을 향상시키지 못할 것으로 보고하는 바이다. 그러나, 아직도 이부분에 관한 dose response study가 거의 없고, GH의 folliculogenesis에 대한 작용도 정확히 알려져 있지 않으므로, 앞으로의 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

인 용 문 헌

- Adashi EY, Resnick CED, Ercole AJ, Svodoba ME, Van Wyck JJ: Insulin like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function. *Endocr Rev* 1985, 6, 400.
- Blumenfeld Z, Lunenfeld B: The potentiating effect of growth hormone on follicle stimulation with human menopausal gona-

- dotropin in a panhypopituitary patient. *Fertil Steril* 1989, 52, 328.
- Davoren JB, Hsueh AJW: Growth hormone increases ovarian levels of immunoreactive somatomedin C/Insulin-like growth factor-1 in vivo. *Endocrinology* 1986, 118, 888.
- Diamond MP, Wentz AC, Vaughn WK, Webster BW, Herbert CM, Osteen KG, Maxon WS: Outcome of successive of ovulation induction in the same individual. *Fertil Steril* 1985, 43, 369.
- Gracia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G: Human menopausal gonadotropin human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase II. *Fertil Steril* 1983, 39, 174.
- Hernandez ER, Roberts CT, LeRoith D, Adashi EY: Rat ovarian insulin-like growth factor I gene expression is granulosa cell-selective: 5, untranslated mRNA variant representation and hormonal regulation. *Endocrinology* 1989, 125, 572.
- Homburg R, Eshel A, Abdalla HI, Jacobs HS: Growth hormone facilitates ovulation induction by gonadotropins. *Clin Endocrinol* 1988, 29, 113.
- Hugues JN, Pont BM, Torresani T, Tamboise A, Herve F, Santarelli J: Interest of growth hormone-releasing hormone administration for improvement of ovarian responsiveness to gonadotropins in poor responder women. *Fertil Steril* 1991, 55, 945.
- Ibrahim ZHZ, Matson PL, Buck P, Lieberman BA: The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction with buserline acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor response. *Fertil Steril* 1990, 53, 254.
- Owen EJ, Shoham Z, Mason BA, Ostergaard H, Jacobs HS: Cotreatment with growth hormone, after pituitary suppression, for ovarian stimulation in vitro fertilisation: a randomized, double blind, placebo-control trial. *Fertil Steril* 1991, 56, 1104.
- Volpe A, Coukos G, Barreca A, Artini PG, Minuto F, Giordano G, Genazzani AR: Ovarian response to combined growth hormone-gonadotropin treatment in patients resistant to induction of superovulation. *Gynecol Endocrinol* 1989, 3, 125.