

## Causes of Poor Response

김 탁

고려대학교 의과대학 산부인과

### Introduction

여성 난자의 수는 태어날 때 유전적으로 결정이 되며, 난소에 남아있는 난자의 양을 "ovarian reserve" 라고 부른다. 현재 IVF-ET나 ICSI-ET program을 시행할 때 pregnancy outcome을 향상시키기 위해서는 양적이나 질적으로 모두 좋은 양질의 난자를 얻는 것이 가장 중요하다. 이전의 IVF cycle에서 실패한 환자의 경우에 가장 중요한 문제 중의 하나가 poor ovarian response이며, 이는 현재까지 ART 영역에서 해결되어야 할 매우 흔하고 중요한 문제로 남아있다. Poor ovarian response는 poor ovarian function, poor ovarian reserve, occult ovarian failure 혹은 oopause라고도 불리며, IVF를 시행 받는 환자의 약 9~24% 정도에서 발생된다 (Keay et al., 1997). Poor ovarian response의 원인에 대한 여러 가지 가설이 제기되고 있지만 그 기전이 다양하고 환자마다 원인이 각각 다르기 때문에 이들의 pregnancy outcome을 향상시키는 데 있어 어려움이 많다. 또한 poor responder들의 주기 취소율을 낮추고 pregnancy outcome을 향상시키기 위한 다양한 protocol이 제시되고 있음에도 불구하고 pregnancy outcome에는 대부분 큰 차이가 없다 (Neal et al., 2002).

### Definition

Poor ovarian responder는 일반적으로 이전의 IVF cycle에 기반을 두어 후향적으로 정의되는데 (Hellburg et al., 2004) 현재까지 poor responder에 대한 정의는 연구자들마다 달라 다양하고 명확하지 않으며 일관된 정의는 없다. 1983년에 Garcia 등이 처음으로 poor responder의 정의에 대해 기술하였는데, hMG 자극 후 peak E2 level이 300 pg/ml 이하이며, follicular response의 감소 (fewer retrieved and fertilized oocytes and fewer transferred embryos)를 보이는 환자로 정의하였다. Poor response를 정의하는 가장 중요한 두 가지 criteria는 developed follicle과 standard dose로 난소 자극을 할 때 채취되는 난자의 개수로, hCG 주입하는 날의 recruited dominant follicle의 개수 혹은 채취된 난자의 개수가 3~5개 이하로 이 기준 역시 연구자들마다 다양하다 (Land et al., 1996, Fridstrom et al., 1997, Chong et al., 1986, Rombauts et al., 1998).

다른 criteria로는 peak E2 level이 있는데, peak E2 level이 300~500 pg/ml 이하 (Garcia et al., 1983, Brzyski et al., 1998), stimulation 5일 째 peak E2 level이 100 pg/ml 이하 (Schoolcraft et al., 1997), 혹은 hCG 주입 시 1000 pg/mL 이하 (Barri et al., 1993)로 다양하게 정의하였다. 또한 3일 째 FSH가 7~15 mIU/ml 이상 증가 (Faber et al., 1998)하는 것도 추가적인 criteria로 제안되었다. 다른 저자들은 생식샘자극호르몬의 용량이 많이 요구되거나, spontaneous LH surge로 인해 주기 취소율이 유발되는 경우, 혹은 40세 이상인

경우도 poor responder에 포함시켰다. 이처럼 poor responder에 대한 정의가 연구자들마다 다양하기 때문에 연구 성적 또한 비교가 어려운 단점이 있다.

## Prediction

불임 여성의 치료에서 IVF-ET와 같이 multiple follicular development가 치료의 성공에 중요한 역할을 하는 경우 치료의 시작 전에 ovarian reserve를 예측하는 것이 중요하다. Ovarian reserve를 예측할 수 있는 방법으로는 age, basal FSH, E2, day 3 FSH/LH ratio, day 10 progesterone, Inhibin A&B, Clomiphene citrate challenge test (CCCT), GnRH-agonist stimulation test, ovarian volume, basal antral follicle counts, ovarian stromal blood flow, serum anti-Müllerian hormone 등이 있다. 그러나 위의 모든 검사들은 ovarian reserve를 예측하는 간접적인 방법으로 pregnancy outcome을 정확히 예측할 수 는 없으며, 저자들마다 검사의 유용성에 대해 서로 다른 결론을 내리고 있다. 일부 환자들은 검사 상 ovarian response가 낮지 않을 것으로 보이지만 실제로는 난소 반응이 좋지 않을 수도 있다.

## Causes

Poor responder의 원인에 대한 여러 가지 가설이 제기되고는 있지만 그 기전이 다양하고 환자마다 원인이 각각 다르기 때문에 이에 대한 management가 쉽지 않다. 현재까지 알려진 원인들을 살펴보면 다음과 같다.

### 1. Diminished ovarian reserve

Poor response의 원인 중 감소된 ovarian reserve는 이미 잘 알려져 있는 가장 중요한 원인이다. 난소 자극에 대한 poor ovarian response는 보통 나이와 연관이 되나 이는 젊은 여성에서도 비교적 흔히 관찰할 수 있다. 감소된 ovarian reserve를 가진 여성에서 나이가 IVF outcome에 미치는 연구에 의하면, 젊은 여성과 나이는 여성의 pregnancy outcome에 있어 큰 차이가 없음을 보고하였다 (Toukhy et al., 2003). 또한 functional ovarian reserve는 chronological age와 비례하지 않으며, 남아있는 생식세포 능력의 감소는 chronological age에 비해 더 빨리 발생되기도 한다 (Kligman et al., 2001). 이런 결과로 인해 일부 연구자들은 chronological age보다는 biological age가 poor response에 더 중요한 영향을 준다고 생각하고 있다.

### 2. Old age

난소 난포의 감소는 태아 중기부터 시작되어 여성의 일생을 통해 꾸준히 지속되나, 특히 36~38세 사이에 급격한 감소가 발생된다. 일반적으로 난소의 기능과 예비력은 나이가 들어감에 따라 감소하게 된다. 이로 인해 poor response와 주기 취소율의 빈도는 증가하고, 이로 인해 주기 당 채취되는 난자의 수는 점진적으로 감소하며 핵과 세포질의 질도 떨어지게 된다. 나이의 증가로 인해 점진적으로 functional follicle의 pool이 감소하게 되면 inhibin이 감소하게 되며, 뇌하수체에서는 FSH 자극이 증가

하게 되어 basal estradiol이 상승하게 된다. 이 상황은 premature LH peak의 위험도를 높여 배란이나 조기 황체화를 유발한다. 이로 인해 난포 성장의 속도가 증가하게 되며, 주기에서 난포기가 감소하게 된다 (Thatcher et al., 1991).

나이와 난소 예비력의 상관관계에 대한 연구에 의하면, poor ovarian reserve를 가진 젊은 여성에서 주기 취소율이 증가하지만 난자의 질이 나이는 여성에 비해 더 좋기 때문에 pregnancy outcome이 좋을 수 있으며, 반대로 나이는 여성에서는 난소 예비력 검사가 정상이라도 난소의 질은 떨어지게 된다. 결론적으로, 난자질에 대한 예측에 있어 나이가 중요한 인자이며, 채취된 난자의 양보다는 난자의 질 더 중요한 인자로 생각되고 있다 (Toner, 2003).

### 3. Defective signal transduction after FSH-receptor binding (Hormone resistance associated with specific FSH receptor polymorphism)

뇌하수체 전엽에서는 약 15개 정도의 다양한 FSH isohormone을 분비하며 receptor binding affinity는 isoelectric point (pI)에 따라 달라진다. 이중 more acidic한 FSH isohormone은 receptor binding과 in-vitro bioactivity의 감소를 보여 FSH에 대한 길항작용을 보인다고 하였다 (Ulloa-Aguirre et al., 1992). 또한 FSH가 FSH receptor에 결합된 이후의 defective signal transduction은 "splice variants"라 불리는 다양한 형태의 transmembrane FSH receptor에 의해 영향을 받는다고 하였다 (Fauser et al., 1997).

Hypergonadotropic ovarian failure가 있는 핀란드 여성을 대상으로 한 FSH receptor gene에 대한 연구 결과, FSH receptor gene에 있는 exon 7의 mutation으로 인해 extracellular ligand-binding domain의 position 189에서 alanine이 valine으로 대체되어 있었다. 결론적으로 FSH receptor의 mutation은 ligand binding affinity에는 영향을 주지 않지만 binding capacity와 signal transduction에는 큰 감소를 유발한다는 것을 보여주었다 (Aittomaki et al., 1995). 그러나 최근 일차성 무월경이 있는 핀란드 여성을 대상으로 한 연구에서 새로운 FSH receptor mutation을 발견하였으나 ligand binding capacity나 affinity에 대한 영향은 미미하였으며, 따라서 FSH receptor mutation은 난소부전의 드문 원인이라고 보았다 (Doherty et al., 2002).

IVF/ICSI-ET를 시행 받는 환자에서 FSH receptor gene Ser680Asn polymorphism이 난소 반응에 미치는 영향을 보는 연구에서, good responder는 Asn/Ser genotype을 더 흔히 가지고 있었으며, Ser/SER genotype은 serum FSH가 더 높았다 (Loutradis et al., 2006).

### 4. The presence of a special FSH-receptor binding inhibitor (FSH-BI) and insulin-like growth factor-binding protein (IGF-BP) in the follicular fluid

과거에 일부 연구자들은 FSH-receptor binding을 방해하는 low-molecular-weight protein을 정제하였으며 (Reichert et al., 1979, Sanzo et al., 1982), 또한 high-molecular-weight FSH-receptor binding inhibitor를 인간의 난포액의 일부에서 정제하기도 하였다 (Lee et al., 1991). 이중 배양된 쥐의 Sertoli cell에서 hFSH-BI는 hFSH가 membrane receptor에 결합하는 것을 억제하는 역할도 하지만, estradiol 합성을 자극하는 FSH agonist activity도 보였다 (Lee et al., 1993). 이 단백질들은 아마도 ovarian granulosa cell이 기원으로 생각되며 FSH의 local regulation에 있어 잠재적인 중요성은 있다고 생각되고 있으나, 그 특성은 아직 완전히 이해되지 않고 있다 (Alouf et al., 1997).

Insulin-like growth factor (IGF)-I & II는 난포기에 난소에서 일부 생성되어 granulosa cell에 대한 자극 효과를 보인다. 최근 연구에 의하면 day 3 FSH가 상승된 여성의 luteinized granulosa cell에서는 IGF-I & II의 생산이 감소되었다. 또한 돼지의 난포액에서 FSH inhibitor를 정제하여 분석한 결과 IGF-BP가 검출되었으며, 이는 FSH에 의해 steroid가 생성되는 과정을 억제하는 역할을 보였다. 따라서 IGF-BI는 난포 성장의 조절에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다 (Ui et al., 1989).

#### 5. An appropriate local vascular network for the distribution of gonadotropins (Defective angiogenesis)

일부 연구자들은 follicular selection and dominance는 전적으로 순환하고 있는 생식샘자극호르몬의 분포에 필요한 적절한 vascular network를 형성할 수 있어야 가능하다고 보았다. Pellicer 등은 normal basal FSH를 가진 여성에서 assisted reproduction으로 자극 시 생식샘자극호르몬에 대하여 low response에 영향을 미치는 인자에 대한 연구를 시행하였다. 여성 난포를 둘러싸고 있는 혈관에 대해 경질 pulsed colour Doppler ultrasound를 시행하여 blood flow impedance analysis를 시행한 결과, 배란 전날과 당일에 control 군과 비교 시 low response 군에서 pulsatility and resistance indices (PI, RI)가 통계적으로 유의하게 높았다. 결론적으로 normal basal FSH를 가지면서 angiogenic factor의 분비력이 낮은 환자들은 abnormal follicular blood flow impedance로 인해 우성난포 주위에서 defective microcirculation을 야기하여 생식샘자극호르몬에 대한 low response를 유발한다고 보았다 (Pellicer et al., 1998).

다른 가설로는 ovarian microcirculation에 장애가 생기면 chromosome nondisjunction이 유발될 수 있다는 것이다. 이 가설은 유착이나 자궁내막증 등에 의해 ovarian reserve가 감소되어 있는 younger poor responder에서 aneuploidy의 빈도가 증가될 수 있다는 가능성에 대해 말해주고 있다. 이전에 심한 골반 유착이나 자궁내막증이 있던 환자에서 IVF program을 시행한 연구에 의하면, hCG 주입 전후로 peak E2 level이 낮고, 채취된 난자의 수가 적었다. 이는 난소에 혈류 흐름에 장애나 기계적인 요소가 좋은 난포 반응을 방해할 수 있는 가능성이 있음을 말해주고 있다 (Molloy et al., 1987).

#### 6. The presence of autoantibodies or antibodies against granulosa cells (Ovarian autoimmunity)

기저 FSH가 상승되어 있는 40세 이하의 젊은 원인 불명성 불임 환자에서의 다양한 immunological marker와의 연관성에 대한 연구에서, 다른 marker들은 유의하게 상승되지 않았으나 complement breakdown product C3는 유의한 상승이 있었다. 결론적으로 complement activation의 유의한 상승을 관찰할 수 있었으며, autoimmunity는 subclinical ovarian failure가 있는 환자의 원인의 일부로 작용하는 것으로 보인다 (Wheatcroft et al., 1997).

Anti-granulosa luteinized cells (GLCs) Ab의 역할을 보는 연구에서, IVF cycle을 시행 받는 불임 여성에서 control 군에 비해 GLCs Ab가 통계적으로 유의하게 높게 나왔다 (28.7% vs 9.1%). 이 결과는 면역학적 원인이 있는 일부 불임 여성에서 GLCs Ab가 관련되어 있음을 보여준다 (Vangelov et al., 2005).

### 7. Lowered circulating gonadotropin surge-attenuating factor (GnSAF) bioactivity

일부 poor responder는 estradiol, inhibin, GnSAF 등과 같은 intra-ovarian factor 의 변화가 연관되어 있다. 이 중 GnSAF는 LH나 FSH 분비에 영향을 미치지 않으면서 GnRH에 대한 뇌하수체의 반응을 줄여주는 특별한 생물학적 효과가 있다. GnSAF는 FSH에 의해 자극되어 난소에서 생산되는 물질로, 많은 연구에도 불구하고 아직 많은 것이 알려지지 않았다. 일반적으로 큰 난포에서 보다 작은 난포에 더 많은 농도의 GnSAF bioactivity를 포함하고 있으며, IVF program에서 작은 난포의 감소는 low ovarian response를 예상할 수 있다. 따라서 low ovarian reserve를 가진 환자에서 GnSAF 생산의 결여는 premature luteinization의 원인이 될 수 있다.

이전의 IVF cycle에서 poor response를 보인 환자에서 GnSAF의 bioactivity가 ovarian response에 미치는 영향에 대해 연구한 결과, 이전의 IVF cycle에서 poor response를 보인 군에서 normal response를 보인 군에 비해 GnSAF 생산의 의미 있는 감소를 보였다. 또한 이전에 IVF에 normal response를 보인 군에서 poor response를 보인 군에 비해 난포기에서 circulating GnSAF의 상승이 현저하게 높았다. 따라서 GnSAF는 ovarian reserve의 marker로서 연구되어야 한다고 제안하고 있다 (Martinez et al., 2002).

### 8. An excess of soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sVEGFR-1) in follicular fluid

최근 연구에 의하면 젊은 여성에 비해 나이가 든 여성에서 vascular endothelial growth factor (VEGF)의 생성에 차이가 있음을 보여주고 있다 (Friedman et al., 1997). Follicular development와 corpus luteum formation에 있어 angiogenesis는 중요한 과정이다. Granulosa cell과 follicular fluid에서 angiogenesis를 control 하는 과정은 완전히 이해되고 있지는 않으나, 여러 가지 angiogenic factor 중 VEGF가 이 과정에 가장 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각된다. s-VEGFR은 endothelial cell에서 생성되며 VEGF에 대한 negative modulator로 작용하는 것으로 생각된다. Follicular fluid와 granulosa cell은 sVEGFR-1의 down-regulation을 통해 VEGF를 증가시켜 ovary의 angiogenesis를 유발시킨다 (Ruth et al., 2005). Follicular fluid sVEGFR-1의 농도가 IVF를 시행 받는 여성에 미치는 연구에 의하면, follicular fluid sVEGFR-1 농도의 상승은 poor ovarian response and low pregnancy rate와 관련이 있었다 (Battaglia et al., 2000, Neulen et al., 2001).

### 9. Previous pelvic exposure to surgical or infectious stress

Chlamydia trachomatis infection과 poor ovarian response와의 관계에 대한 연구에 의하면, IVF를 시행받은 환자군에서 그렇지 않은 군에 비해 Chlamydia IgG Ab가 의미 있게 높았으며 (36% vs 12%), 또한 poor responder 군에서 good responder 군에 비해 Chlamydia IgG Ab가 의미 있게 높았다 (44.7% vs 30.4%). 이 연구는 Chlamydia trachomatis가 향후 ovarian function에 해로운 영향을 미칠 수 있는 가능성에 대해 제시하였다 (Keay et al., 1998).

## 10. Presence of endometrial cavity fluid (ECF) in patients with hydrosalpinx

난관요인의 불임을 가진 환자에서 ART cycle 시 ECF가 종종 관찰된다. 난관수종이 있는 난관요인의 불임환자에서 ECF가 ovarian response에 미치는 연구에 의하면, hCG 주입 전에 ECF가 관찰되는 군에서 관찰되지 않는 군에 비해 주기 취소율이 의미 있게 높았으며 (29.8% vs 16.9%), 임상적 임신율도 의미 있게 낮았다 (26.3% vs 42.4%). 기전은 정확하지 않으나 아마도 ECF가 배아착상을 방해하지 않나 생각된다 (Levi et al., 2001).

## 11. Reduced aromatase activity

Human menopausal gonadotropin (hMG)에 대한 poor response의 원인은 아직 설명이 되지 않고 있다. hMG therapy에 대해 low estradiol (<1000 pg/ml) response를 보이는 군과 high response를 보이는 군에 대한 비교 연구 결과, aromatase activity가 high responder에서는 FSH에 의해 많이 증가되지 않았으나, low responder에서는 FSH에 의해 유의한 증가를 보였다. 따라서 hMG에 대한 반응이 적어도 일부는 granulose cell aromatase activity의 quality에 영향을 받는다고 보았다 (Hurst et al., 1992).

## Conclusion

현재 IVF를 시행함에 있어 가장 큰 문제는 poor ovarian response이다. Poor responder는 heterogeneous group으로 이들의 대부분은 38세 이상의 나이가 많은 군이나, 나이 이외에도 다양한 원인들을 갖고 있다. 현재 poor responder에 대한 일관적인 정의가 없어 여러 연구를 비교하는데 어려움이 있으므로 이에 대한 정의를 표준화할 필요가 있다. 또한 지금까지 ovarian reserve를 예측하는 검사들은 모두 간접적인 방법으로 pregnancy outcome을 정확히 예측할 수 없으며 저자들마다 검사의 유용성에 대해 서로 다른 결론을 내리고 있다.

Poor responder의 pregnancy outcome을 향상시키기 위한 다양한 protocol이 제시되고는 있지만 현재로서는 감소된 oocyte cohort와 poor oocyte quality를 회복시킬 수 있는 방법은 없는 것으로 생각된다. 향후 poor responder에 어느 protocol이 가장 적절한 stimulation 방법인가 하는 것에 대해서는 잘 계획된 대규모의 전향적인 연구가 필요할 것으로 생각되며, 향후 poor responder들의 치료에 있어 난자공여 외에 aneuploidy screening, in-vitro oocyte maturation, cytoplasm/nuclear transfer 등의 방법에 기대를 해볼 수 있겠다.

## 참 고 문 헌

1. Ferraretti AP, Gianarili L, Magli MC, Bafaro G, Colacurci N. Female poor responders. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 161: 59-66.
2. Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systemic review. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 61-76.

3. Loutradis D, Drakakis P, Milingos S. Alternative approaches in the management of poor response in COH. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 997: 112-9.
4. Mahutte NG, Arici A. Poor responders: does the protocol make a difference? *Curr Opin in Obstet Gynecol* 2002; 14: 275-81.
5. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remihi J, Simon C. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of FSH using three dimensional ultrasonography. *Fertil Steril* 1998; 70: 671-5.
6. Martinez F, Barri PN, Coroleu B, Tur R. Women with poor response to IVF have lowered circulating GnSAF bioactivity during spontaneous and stimulated cycles. *Hum Reprod* 2002; 17: 634-40.
7. Pellicer A, Ballester MJ, Serrano MD, Mir A. Aetiologic factors involved in the low response to gonadotropins in infertile women with normal basal FSH levels. *Hum Reprod* 1994; 9(5): 806-11.
8. Lee DM, Lee TK, Song HB, Kim CH. The expression of MMP-9 in human follicular fluid is associated with IVF pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 2005; 112: 946-55.
9. Hellburg D. Defining a poor responder in IVF. *Fertil Steril* 2004; 82: 488-90.
10. Keay SD, Barlow R, Eley A, Masson GM. The relation between immunoglobulin G antibodies to Chlamydia trachomatis and poor response to gonadotropin stimulation before in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 70(2): 214-8.
11. Loutradis D, Patsoula E, Minas V, Koussidis GA. FSH receptor polymorphisms have a role for different ovarian response to stimulation in patients entering IVF/ICSI-ET programs. *J Assist Reprod Genet* 2006; 23(4): 177-84.
12. Vangelov I, Dineva J, Nikolov G, Lolov S, Ivanova M. Antibodies against granulosa luteinized cells and their targets in women attending IVF program. *Am J Reprod Immunol* 2005; 53(2): 106-12.
13. Lee DW, Grasso P, Dattatreymurty B, Deziel MR, Reichert LE. Purification of a high molecular weight FSH receptor binding inhibitor from human follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(1): 163-8.
14. Alouf CA, Reichert LE, Kellom TA, Lee DW. Cultured human granulosa cells secrete a FSH receptor-binding inhibitor. *Hum Reprod* 1997; 12(12): 2735-40.
15. Ui M, Shimonaka M, Shimasaki S, Ling N. An insulin-like growth factor-binding protein in ovarian follicular fluid blocks FSH stimulated steroid production by ovarian granulosa cells. *Endocrinol* 1989; 125(2): 912-6.
16. Molloy D, Martin M, Speirs A, Lopata A. Performance of patients with a "frozen pelvis" in an IVF program. *Fertil Steril* 1987; 47(3): 450-5.
17. Andrew J. Levi, James H, Segars, Bradley T. Endometrial cavity fluid is associated with poor ovarian response and increased cancellation rates in ART cycles. *Hum Reprod* 2001; 16: 2610-5.
18. Hurst BS, Zacur HA, Schlaff WD. Use of granulosa-luteal cell culture to evaluate low and high clinical responses to menotropin stimulation. *J Endocrinol Invest* 1992; 15(8): 567-72.
19. Battaglia C, Genazzani AD, Regnani G, Primavera MR. Perifollicular Doppler flow and follicular fluid vascular endothelial growth factor concentration in poor responders. *Fertil Steril* 2000; 74(4): 809-12.
20. Ruth G, Karin M, Daniekla B, Herbert A. regulation of sVEGFR expression and release in endothelial cells by human follicular fluid and granulosa cells. *Reprod Bio Endocrinol* 2005; 3: 57-62.

21. Fauser BC. Interference with FSH regulation of human ovarian function. *Mol Hum Reprod* 1996; 2(5): 327-34.
22. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Papanainen J, et al. Mutation in the FSH receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995; 82(6): 959-68.