

체 외 수정

김 윤 미
(서울대병원 수간호사)

생체내에서 일어나는 자연적인 수정을 생체외에서 인위적으로 재현시키는 것을 체외수정(In vitro fertilization)이라 한다.

이를 기본적으로 이용한 체외수정 및 배아의 자궁내 이식(eubryo transfer)을 오래 전부터 생리학자들의 관심의 대상이 되었는데 인간에서는 1965년 Edwards 등에 의해 최초로 체외수정이 시도되어 1978년 Steptoe와 Edwards는 자연배란주기에서 흡입된 난자의 체외수정 및 배아의 자궁내 이식에 의하여 Louise Joy Brown양이 탄생하였다고 보고하였다. 그 후 불임증 치료의 새로운 방법으로 인정되어 전 세계적으로 시술되고 있다. 국내에서도 1985년 최초로 체외수정에 의한 쌍생아가 장윤석박사팀에 의해 탄생하였다. 인간난자의 체외수정 및 배아의 자궁내이식술에 의해서 임신이 성립된다는 것은 개념적으로는 간단하지만 실제로 임신이 성립되기는 어렵다. 이를 이론적으로는 성숙된 난자를 인위적으로 난소난포로부터 흡인하여 인위적으로 받은 정액과 배양액이 들어있는 배양접시에서 수정시키고 수정 후 난할을 일으키고 있는 배아를 인위적으로 질을 통하여 모체의 자궁내로 이식하면 된다. 시험관아기에서 난자채취를 위해서는 배란유도법을 많이 사용한다. 먼저 배란유도법에 대해 살펴보기로 한다.

I. 배란유도법

불임환자의 약 15~25%가 배란장애에 의한 것이며 적절한 배란유도법으로 많은 도움이 될 수 있을 것이다. 배란장애성 불임환자에서 임신을

을 극대화시키고 합병증을 극소화시키기 위하여 정확한 진단과 이에 따른 적절한 치료방법의 선택이 중요하다. 무배란의 효과적인 치료는 무배란의 원인에 달려있다. 즉, 어떤 특이한 요인이 진단되면 그에 상응한 치료를 할 수 있다. 예를 들어 식이요법이나 갑상선제제, 부신피질호르몬, 고프로락틴혈증인 경우 bromocriptine (parlodel) 등의 사용이다. 중추신경계 기인의 무배란성 불임을 치료하는데 가장 유용한 약제는 항난포호르몬제제인 클로미펜(clomiphencitrate)이며 이 약제는 정상뇌하수체와 난소를 가진 환자에서 되먹이기 기전의 부전을 교정할 수 있다. 클로미펜이 HCG(Human Chorionic Gonadotropin)을 첨가하면 성공적인 배란유도의 가능성이 95%로 증가한다.

1) 클로미펜(clomiphen citrate)

클로미펜은 경구로 흡수되는 비스테로이드성 약물이며 구조적으로는 난포호르몬제제와 유사하다. 생물학적으로 단지 아주 약한 난포호르몬 효과를 나타내지만 구조적으로 유사하기 때문에 난포호르몬 수용체에 충분히 결합될 수 있다. 이러한 난포호르몬 수용체에 대한 난포호르몬 수용체보충의 억제에 의하여 그 작용을 나타내는 것으로 생각된다. 이에 의하여 시상하부-뇌하수체축이 순환중인 체내생산된 난포호르몬의 높이를 감지하거나 반응하지 못하게 되어 순환중인 난포호르몬의 농도가 낮게 느껴지게 되므로 신경내분비기전이 활성화된다. 그러므로 클로미펜 투여기간 동안에 말초혈액의 난포자극호르몬과 황체형성호르몬이 상승한다. 그 후 난포가 성장

하면서 형성된 호르몬과 난포의 형태적 결과로 배란이 되는 것이다. 즉 클로미펜은 정상주기에 일어나는 생리적 현상들을 보조하는 것이지 직접 배란을 자극하는 것은 아니다. 클로미펜의 주된 적응증은 무배란 또는 희발배란으로서 시상하부성 저성선증에 의한 불임증의 경우가 전통적 적응증이다. 대개 다음과 같은 적응증 기준이 있다. 첫째 뇌하수체-난소의 활동이 어느정도 있어야 한다.

자연적 생리나 황체호르몬소퇴성 출혈(rogesterone withdrawal bleeding)이 있으면 충분하다. 둘째 유루증이나 고프로락틴혈증이 없어야 하며, 있는 경우 먼저 bromocriptine으로 치료해야 한다. 셋째 갑상선과 부신의 기능이 정상이어야 하며 영양상태도 이상이 없어야 한다. 갑상선기능저하증, 선천성부신증식증 때는 먼저 호르몬요법을 시행하여 기능을 정상화시켜야 한다. 넷째 뇌하수체등 두개골내종양의 증거가 없어야 한다. 이는 시야검사나 sella turcica의 방사선 검사등으로 알 수 있다. 클로미펜의 사용은 여러가지 방법이 있으나 보통 50~250mg을 월경주기 제5일부터 5일간 투여한다. 클로미펜의 첫 투여시에는 월경주기 제5일부터 제9일까지 5일간 50mg씩을 경구복용시킨다. 클로미펜 복용후 배란일을 대개 월경주기 제14~19일 이므로 이시기에 점액검사 및 성교후 검사를 실시할 수 있으며 격일로 성교를 하도록 권한다. 월경주기 제28일경 환자의 기초체온이 이상적인가, 경관정액에 황체호르몬효과가 있는가 등을 판별하여 무배란이면 합병증이 없는 것을 확인하고 프로세스테론 50~200mg을 근주하여 월경을 유도한다. 무배란인 경우 다음주기에 있어 클로미펜 용량을 증가시키거나 HCG를 투여한다. 황체호르몬 소퇴성출혈을 보인 환자에서 클로미펜으로 배란유도한 경우 70~90%에서 배란이 되고 40~60%에서 임신이 된다. 다태임신의 확률은 높은 편이며 약 50%로 높은 편이며 대부분 쌍태아이다.

2) HMG (Human Menopausal Gonadotropin)

HMG는 폐경 후 여성의 요에서 추출된 것으로 상품으로 나오는 Pergonal은 1 Ampule당 난포자

극호르몬과 황체호르몬을 각각 75IU씩 포함하고 있다. 적응증은 일반적으로 클로미펜의 경우와 같다. 그러나 HMG는 클로미펜치료에 실패한 경우에만 투여해야 한다. 이는 HMG치료가 돈이 많이 들며 매일 주사를 하여야 하고 세심한 관찰을 요하며 심한 부작용의 가능성을 갖고있기 때문이다. 투여방법은 무월경인 경우 황체호르몬을 투여하여 소퇴성출혈을 일으킨다. 출혈 제3~5일 부터 HMG투여를 시작한다. 일일 HMG 1~2ampule씩 근주하며 기초체온표를 기록하게하고 혈중 Estradiol 측정정을 최소한 2일에 한번씩 시행하여 환자의 반응을 주의깊게 살핀다. 반응이 있는 경우 자궁경관점액이 맑고 양이 많아지게 되며 혈중 Estradiol치가 상승하게된다. 혈중 Estradiol치 측정과 초음파촬영을 통해 난포성장을 탐지평가하며 이에 따라 HMG의 투여기간을 결정한다. 자궁경관점액이 맑고 풍부하며 혈중 Estradiol치가 1000~2000pg/ml에 이르고 초음파검사상 난포의 성장이 적절하면 마지막 HMG투여 24~48시간후 HCG 10,000IU를 투여하여 배란을 유발시킨다.

난소과자극증후군(Ovarian Hyperstimulation Syndrome : OHSS)이 HMG요법시 가장 주의해야 될 합병증이다. OHSS는 HMG투여중지후 일어나게 되며 배란 후 7~10일경 최고에 이르게 된다. OHSS는 경한경우 난소크기증대, 복부팽만, 복통이 발생하는데 대부분 안정을 취함으로써 소실된다. 심한 경우 난소가 매우 커져서 복강을 차지하게 되고 압통이 있으며 복수와 흉강삼출액(Pleurisy)이 발생한다.

심한 난소과자극증후군의 경우 입원치료를 하여야 하며 절대안정과 세심한 관찰을 요한다. 필요시 보조요법을 요한다. HMG요법에서 적절한 환자선택이 이루어진 경우 약90%에서 배란이 있게되며 이중 50~70%가 임신하게 된다. 다태임신의 확률이 높다.

3) Bromocriptine (Parlodel)

고프로락틴혈증에 의한 무배란 및 황체기결함인 경우 사용된다. 무배란인 여성의 10~15%가 고프로락틴혈증이다. 이런 경우 우선 그 원인을

찾아야 하며 뇌하수체선종이 없는 불임증인 경우 bromocriptine으로 배란유도를 시행한다. 고프로락틴혈증에 의한 무배란인 경우 거의 대부분에서 배란이 유도되며 배란이 일어난 경우 임신율은 다른 불임인자가 없는 한 정상여성과 비슷하다.

4) GnRH (Gonadotropin releasing Hormone)

Knobil (1980)은 뇌하수체 병변의 원숭이에서 GnRH를 파동성(Pulsatile)으로 투여하였을 때 난소의 기능이 회복된다는 사실을 밝혀 GnRH의 파동성 분비를 발견하였으며 많은 연구자들에 의해서 파동성 GnRH Pump를 이용한 배란유도법에 관한 연구가 진행되어 왔다. 투여방법도 황체호르몬 소퇴성출혈 제5일부터 투여한다. 일반적으로 전산화된 자동 infusion pump를 사용하여 60~120분 간격으로 1회 5~40mg의 용량으로 정액 내 혹은 피하에 주사한다. 투여 중에는 혈중 Estradiol치 및 난포의 초음파촬영을 주기적으로 시행한다. 배란이 확인되면 기초체온상승 제3일에 GnRH투여를 중단하고 황체기를 유지시키는 목적으로 HCG 1,000~3,000IU를 3~4일 간격으로 3~4회 근육주사한다. HMG요법에서 같이 난소과 자극 증후군이 발생할 수 있으나 빈도가 매우 낮고 정도가 약한 것이 GnRH 요법의 장점이다.

II. 체외수정 및 배아의 자궁내이식 프로그램

1. 배란조절 및 탐지

체외수정기술에 있어서 배란되기 직전의 충분히 성숙된 난자를 채취하는 것이 중요하다. 그 방법은 크게 두가지로 나눌 수 있는데 첫째는 정상월경주기에서 둘째는 과배란을 유도하여 배란 직전에 난자를 채취하는 방법이다. 현재 시험관 아기기술에서는 과배란유도법을 보편적으로 사용하고 있다. 과배란유도란 정상월경주기에서 클로미펜, HMG, FSH (Follicular Stimulating Hormone)등을 단독 혹은 병용해서 사용하여 여러개의 난소난포의 성장을 유도하는 것이다. 상기약제들을 주로 사용하지만 최근들어 GnRH agonist 병합요법으로 높은 임신율을 얻고 있어 GnRH agonist를 병합한 과배란유도법의 사용이 점차 증

가하고 있다.

배란시기는 혈중 Estradiol치의 증가양상, 초음파난출영으로 측정된 난소난포의 직경등을 종합하여 탐지하며 적절한 시기에 HCG 10,000IU를 근육주사하고 34-36시간 후에 난자를 채취한다. 임상적인 이동(clinical shift)은 질벽의 성숙지수검사상 핵농축세포(pyknotic cell)가 30%이상이고 경관정액검사에서 다음 5가지중 4가지이상의 변화가 일어난 경우를 일컫는다. 5가지 변화는

- ①정액의 양이 0.2ml이상
- ②견사성(Spinnbarkeit)이 10cm이상
- ③양치상 형성(Ferning)이 4+
- ④점액이 맑고
- ⑤자궁경관이 개대된 경우등이다.

현재는 질식초음파가 사용되면서 임상적인 이동은 거의 사용하지 않고, 혈중 E2농도와 초음파촬영을 주된 과배란유도감시체제를 사용하고 있다.

2. 난자의 채취

난자의 획득방법은 첫째 개복술을 시행하는 방법, 둘째 복강경시술, 셋째 초음파를 이용하는 방법등이다.

개복술에 의한 난자의 흡인방법은 현재 거의 사용되지 않고 있으며 복강경 시술방법으로 대부분의 병원에서 시행해왔다. 최근에 초음파에 의한 난자흡인방법이 발전하면서 질식초음파를 이용한 난자채취(Trans Vaginal Ovum Aspiration)를 시행하고 있다. 질식 초음파를 사용하여 국소마취하에 난자를 채취하므로 체외수정기술은 외래에서도 치치가 가능하게 되었다.

3. 배양액의 준비 및 점도관리

인간의 체외수정에 여러 종류의 배양액 즉 Ham's F-10, Earies 배양액등이 사용되고 있다. 체외수정의 성공여부에 배양액의 상태가 미치는 비중은 매우 크므로 배양액의 점도관리검사가 매우 중요하여 여러 종류의 검사방법이 고안되었는데 배양액을 준비할 때마다 생취를 사용하여 배양액의 점도 (quality)를 검사하는 방법이 많이 이용된다. 즉 생취를 체내에서 수정시켜 2세

포기의 배아를 생쥐의 난관에서 추출 배양하여 60%이상이 상실배(morula) 또는 포배(blastocyst)이 된 경우에만 그 배양액을 인간의 체외수정에 사용한다.

4. 난자의 추가배양

난자흡인 직후 해부현미경이나 역반사현미경을 사용하여 난자를 확인하고 분류하여야 한다. 이 때에 가능하면 대기중에 노출되는 시간을 단축하기 위하여 최대한 내에 난자의 존재를 확인한 후 수정배양액으로 옮겨야 한다. 난자는 배란직전의 난자(preovulatory oocyte), 미성숙난자(immature oocyte), 퇴화된 난자(atretic oocyte) 및 과성숙난자(postmature oocyte)로 분류한다. 난자 채취후 추가배양을 얼마동안 할 것인가는 난자의 성숙도에 따라 결정하는데 일반적으로 성숙난자의 경우 6~8시간, 미성숙난자의 경우 26~34시간 정도 추가 배양한다.

5. 정자의 준비 및 수정

여러 종류의 방법이 고안되었으나, 가장 많이 쓰여지는 방법은 정액을 회석하여 원심분리한 후 여기서 얻은 원침(pellet)에 배양액을 넣어 상층액에 부유한 운동성이 있는 정자를 선택하는 swim up 방법이다. 수정(insemination)하기 3-4시간 전에 정액을 채취하여 정액검사를 실시하여 정자의 수, 운동성등을 관찰한다. 정자에 수정능력을 형성시키고 운동성이 양호한 정자를 모은다. 난자가 들어있는 수정배양액 내에 정자의 농도가 50,000/ml가 되도록 수정시킨후 12~18시간 후에 성장배양액으로 옮긴다.

6. 배아의 분열

수정후 빠르면 22시간 후에 2세포기의 배아를 관찰할 수 있으나, 보통 24시간 후에 분열이 일어나며 36~48시간 후에 4~8세포기의 배아가,

48~72시간 후에는 10~16세포기의 배아가 관찰된다. 배아의 상태가 나쁘더라도 임신이 될 수 있으므로 여러개의 배아를 자궁내강으로 이식시킨다. 유럽에서는 대개 3개까지의 배아를, 미국에서는 곳에 따라 3~6개까지의 배아를 한국에서는 6개까지의 배아를 이식시킨다.

7. 배아의 자궁내이식

배아의 자궁내이식을 언제 시행하면 가장 임신의 가능성이 높은지는 아직 불확실하나 보통 수정 후 48~72시간 후에 이식한다. 환자 자궁의 굴절여부에 따라 슬흉위나 앙와위의 자세를 하여 자궁경관을 통해 이식한다. 배아를 이식할 때까지 항생제를 복용하여 자궁경관의 점액상태를 좋게 하는 것이 바람직하다. 배아이식후 최소한 4시간정도 안정을 시키고 프로제스테론을 2.5mg씩 매일 근주한다.

8. 임신의 관찰

임신의 성공여부는 배아의 자궁내이식후 제 11일에 혈중 β -HCG를 측정하여 임신여부를 검사하고 임신이 확인되면 프로제스테론 2.5mg을 하루에 한번씩 배아이식후 10주까지 근주한다. 또한 임신 6~8주에 초음파검사를 시행하여 태아의 생존여부 및 임신태아의 수를 관찰한다. 임신중 일반적인 주의사항은 보통 임신의 경우와 동일하다. 분만방법으로 제왕절개술이 많이 선택되는데 그것은 대부분이 35세 이상의 노령초산모이거나 다태임신이나 둔위같은 산과적 합병증 문제로 복식분만이 많아진다고 생각할 수도 있다. 그러나 주된 이유는 어렵게 얻은 아기의 산과적 손상을 피하기 위하여 제왕절개술을 더욱 선호하는 경향이 있다. 신생아 관리는 일반 신생아와 동일하게 취급된다.■