韓國受精卵移植學會誌(1998) 第 13 卷 第 2 號
Korean J. Emb. Trans. (1998) Vol. 13, No. 2 pp. 89~96

항인지질 자가항체 및 각종 인지질의 처리가 Mouse 난자의 체외수정 및 초기 배발생에 미치는 영향[1]

고정재 · 정형민 · 심상우 · 김남근 · 임정묵 · 이혜경 · 박 찬 · 김시영 · 차광열
포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

Effect of Anti-Phospholipid Antibodies and Phospholipids on *In Vitro* Fertilization and *In Vitro* Development of Mouse Oocytes

J.J. Ko, H.M. Chung, S.W. Shim, N.K. Kim, J.M. Lim, H.K. Lee, C. Park, S.Y. Kim and K.Y. Cha

College of Medicine, Pochon CHA University,
Infertility Medical Center of CHA General Hospital

SUMMARY

Anti-phospholipid antibodies (aPL) have important roles in various pregnancy complications such as recurrent miscarrige, growth retardation, placental abruption and stillbirth. However, their biological actions on preimplantation development of oocytes are still unclear. In this study, we investigated whether either aPL containing sera or phospholipids could affect *in vitro* fertilization and development of mouse oocytes. Sera used in this study were collected from three patients and the presence of aPL in the sera was confirmed by enzymatic-linked immunosorbent assay. When mouse oocytes were cultured in a serum-free, Chatot, Ziomek and Bavister (CZB) medium (Experiment 1), addition of aPL-containing sera (10%) to CZB medium did not significantly ($P>0.05$) influence sperm penetration of oocytes. However, development to the blastocyst stage was significantly ($P<0.05$) inhibited by serum addition, and formation of morulae (16~23% vs. 58%) and blastocysts (0~4% vs. 21%) was markedly reduced compared with no addition (Experiment 2). In Experiment 3, pronuclear stage embryos were cultured for 96 h in CZB medium supplemented with 1 μg/ml phosphatidyl ethanolamine, 1 μg/ml phosphatidyl inositol or 1 μg/ml phosphatidyl choline. No increase in embryo development was found after addition of the phospholipids to CZB medium. These results suggest that 1) aPL have an inhibitory role in preimplantation development of mouse embryos, and that 2) the action of aPL may be related to a specific phospholid (s) rather than the tested phospholipids in the present study.

(Kay words : anti-phospholipid antibodies, phospholipid, mouse oocystes, CZB medium)

---

[1]본 연구는 1997년도 학술진흥재단 자유공모과제 "임신에 미치는 항 인지질 항체의 영향에 관한 연구" 연구비에 의하여 수행되었음.

서 론

항인지질항체 (anti-phospholipid antibodies; a-PL)는 자가면역항체의 일종으로서 습관성 유산 (recurrent miscarridge), 자궁내태아의 성장지연 (intrauterine growth retardation), placental abruption, 임신중독증 (preeclampsia) 및 사산 (stillbirth) 등과 같은 임신의 여러 complication 들과 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Lockshin 등, 1985; Unander 등, 1987; Harris 등, 1987; Branch 등, 1989; Birdsall 등, 1992). 그러나 이러한 aPL의 작용기전에 대하여서는 아직까지 명확하게 알려진 내용이 없으며, 다만 자궁-태반순환 (uteroplacental circulation) 장애를 초래하여 상기의 문제점을 야기하는 것으로 추정되어지고 있다 (Cosgriff 등, 1981; Tsakiris 등, 1989). 일반적으로 가임연령 여성의 약 1~2% 정도에서 aPL을 갖는 것으로 알려져 있으며 불임환자에 있어서는 보유빈도가 다소 높은 것으로 보고되었다 (Lockwood 등, 1989; Pattison 등, 1993). 특히 시험관아기 시술과정에서 수정란이식에 실패하는 환자들 중에서는 aPL이 존재하는 비율이 높은 것으로 알려져 있어 상기물질이 수정 및 수정란의 초기발생에 관여하고 있을 개연성이 높다고 사려된다 (Fisch 등, 1991; Birenfeld 등, 1994). 지금까지 알려진 aPL로는 7종이 존재하며 이중 antiphophoserine, anti-phosphoethanolamine, anti-phosphocholine, anti-phosphatidylinositol 및 anti-cardiolipin antibodies의 발현빈도가 비교적 높은 것으로 인식되고 있다 (Lockwood and Rand, 1994).

본 연구에서는 불임환자로부터 채취된 혈액 중 aPL을 포함하고 있는 혈청을 분리동정하여, aPL 포함혈청과 aPL에 대한 항원으로 작용할 수 있는 phospholipid 중 phosphatidyl ethanolamine (PE), phosphatidyl choline (PC) 및 phosphatidyl inositol (PI) 의 mouse 난자의 체외수정 및 발생능에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. aPL 의 준비

포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소에 내원하는 불임환자중 최근 수년 이내에 습관성 유산으로 내원한 환자로부터 말초혈액을 채혈한 다음 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청을 56℃ 에서 30 분간 비동화 처리한 다음 0.2 μm 의 filter (Millipore, USA)를 이용하여 여과하고 0.2 ml 씩 분주하여 −70 ℃ 의 냉동기에서 사용전까지 보관하였다.

2. aPL 의 확인

채취된 혈청내에 함유되어 있는 aPL 의 존재를 확인하기 위하여 enzymatic-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Incstar, USA) 를 사용하였다. 먼저 불임환자의 혈청과 대조구로서 최근 1년이내에 분만하였던 여성의 혈청을 4 종류의 인지질, cardiolipin (CL), phosphatidyl serine (PS), PE 및 PC가 coating 되어져 있는 96-well plate 에 넣어 반응시킨 다음 non-specific binding 을 줄이기 위해 fetal bovine serum (FBS)가 함유된 phosphate-buffered saline (PBS) 으로 처리하였다. 이어 FBS 무첨가의 PBS 로 세척한 다음 AP-linked anti-human antibody 2 차 항체와 반응시키고 기질인 p-nitrophenyl phosphate 로 처리한 후 405 nm 에서 optical density (OD) value 를 측정하여 aPL 의 존재를 검증하였다 (Johns 등, 1994).

3. aPL 및 phospholipid가 mouse 난자의 체외수정과 배발생에 미치는 영향 (실험 1)

ELISA를 통하여 aPL 이 존재하는 것으로 판정된 혈청, aPL 이 없는 것으로 판정된 혈청 및 항체의 분류에 이용하였던 3가지의 phospholipid가 함유된 배양액을 사용하여 이들 aPL 또는 phospholipid가 mouse 난자의 체외수정 및 배발생에 미치는 영향을 조사하였다.

1) 실험동물의 준비와 과배란 유도

본 실험을 위해 3~4주령의 BCF1 hybrid mouse 를 이용하였다. 이들의 사육조건은 21℃±2℃였으며 12 시간 점 등과 소 등을, 그리고 물과 사료는 무제한 급식을 실시하였다. 한편 난자의 채취를 위해 7.5 IU 의 PMSG (Pregnant mare's serum gon

adotropin; Sigma, USA)와 hCG (human chorionic gonadotropin; Sigma, USA) 를 48 시간 간격으로 복강내 주사하여 과배란을 유도하였다.

2) 정자의 채취 및 수정능획득 유도

hCG 투여 12시간후에 생식능력이 확인된 BCF1 hybird 웅성 mouse 를 경추탈골에 의하여 도살한 다음 외과적으로 정소상체를 적출하였다. 적출된 정소상체를 해부현미경(Leica, Swiss) 하에서 채취하여, 미부의 정자괴를 전 배양된 Chatot, Ziomek 과 Bavister (CZB) 배양액을 이용하여 1 시간 동안 부유시킴으로서 수정능 획득을 유도하였다.

3) 체외수정 및 체외배양

과배란이 유도된 mouse 를 hCG 투여 12 시간째에 경추탈골에 의하여 도살한 다음 외과적으로 난관을 적출하여 해부 현미경하에서 난구세포부착난자를 채취하였다. 채취된 난자는 미리 준비된 aPL 함유 혈청 (처리구) 과 3 mg/ml bovine serum albumin (BSA, Sigma, USA) 가 함유된 배양액(대조구)에 넣어 1 시간 동안 전 배양하였다. 1 시간 동안 전배양된 난자에 수정능획득을 유도한 정소상체 정자를 1×10^6/ml의 농도로 첨가하므로서 체외수정을 유도하였다. 정자주입후 4 시간째에 난자를 회수하여 이를 신선배양액으로 수회 세척한 다음 3 mg/ml BSA 가 함유된 CZB 배양액으로 옮겨 추가배양하면서 수정율 (전핵형성율)과 배발생율을 조사하였다.

4. 항인지질항체 및 인지질이 생쥐 수정란의 체외발생에 미치는 영향 (실험 2 및 3)

한편, aPL 및 phospholipids가 mouse 수정란의 발생에 미치는 영향을 알아보기 위해 이들 물질이 함유된 배양액에 과배란 유도 및 교미후 채취한 전핵기 mouse 수정란을 96시간동안 체외배양하면서 이들 물질이 수정란의 체외발생에 미치는 영향을 조사하였다.

5. 통계처리

본 연구는 4회 반복 실험을 실시하였으며 이로부터 얻어진 결과의 분석은 chi square test를 이용하여 통계처리하였다. 통계학적 유의성의 검증기준은 $P=0.05$ 이하로 하였다.

결 과

본 연구를 통하여 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같았다.

1. aPL 의 첨가가 mouse 난자의 체외수정율에 미치는 영향 (실험 1)

포천중문의대 차병원 여성의학연구소에 내원하는 불임여성중 이전에 반복유산 및 원인불명 불임증으로 판명된 환자의 혈청을 채취하여 ELISA방법으로 aPL 이 있는 것으로 판정된 2 명의 혈청을 이용하여 mouse 난자의 체외수정을 실시한 결과를 Fig. 1 에 나타내었다. 대조군의 경우 총 113개의 난자중 정상적인 수정을 보이는 난자의 비율은 50% 인 57 개였다. 그리고 aPL 함유 혈청을 첨가한 배양액의 경우 수정율은 각각 47%와 46%로서 대조구와의 통계학적인 유의차는 인정되지 않았다.

2. 항인지질 자가항체가 생쥐 수정란의 초기발생에 미치는 영향

ELISA법에 의해서 분류된 aPL 이 함유된 배양액에 생쥐 전핵기 수정란을 채취하여 96시간동안 배양한 결과를 Table 1에 나타내었다. aPL 이 첨

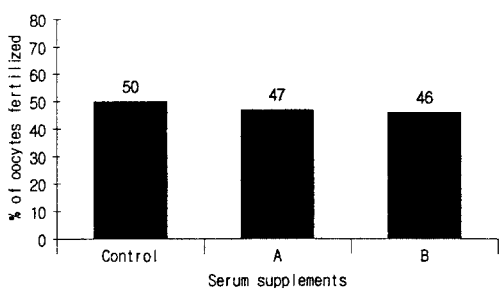

Fig. 1. *In vitro* penetration of mouse oocytes treated with aPL-containing sera.

Control : CZB + 3mg/ml BSA

A & B : CZB + 10% anti-phospholipid antibody positive serum

Table 1. *In vitro* development of mouse pronuclear stage embryos in CZB medium suplemented with 10% aPL positive serum

Sample	No. of zygotes cultured	2-Cell (%)	4-Cell (%)	Morula (%)	Blastocyst (%)
Control	24	23 (96)	20 (83)	14 (58)[a]	5 (21)[c]
A	26	21 (81)	13 (50)	6 (23)[b]	0 (0)[e]
B	25	25 (100)	15 (60)	6 (24)[b]	1 (4)[e]
C	25	24 (96)	15 (60)	4 (16)[b]	0 (0)[e]

Control : CZB + 3mg/ml BSA

A, B & C : CZB + 10% anti-phospholipid antibody positive serum

a,b : $P<0.05$, c,e; $P<0.02$

Table 2. *In vitro* development of mouse pronuclear stage embryos in CZB medium supplemented with 1 phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl choline or phosphatidyl inositol

Sample	No. of zygotes examined	2 Cell (%)	4 Cell (%)	Morula (%)	Blastocyst (%)
Control	41	37 (90)	36 (88)[a]	21 (51)	9 (22)[a]
Phosphatidylethanolamine	48	44 (92)	40 (83)[a]	23 (48)	9 (19)[a]
Phosphatidyl choline	46	42 (91)	40 (95)[a]	27 (64)	12 (26)[a]
Phosphatidyl inositol	46	40 (87)	32 (70)[b]	17 (37)	3 (7)[b]

a,b ; $P<0.05$

가된 혈청은 실험 1 에서 사용된 두 종 이외에 1 종을 추가로 사용하였다. 실험 2 에서 추가로 사용한 혈청의 mouse 난자의 체외수정에 미치는 효과를 추가실험에서 검토한 결과, 대조군과의 유의적인 차를 발견할 수 없었다. 대조군인 CZB + 3 mg/ml BSA의 경우 2-세포기, 4-세포기, 상실배기 및 배반포기까지의 발생율은 각각 96%, 83%, 58% 및 21%로 나타났다. 반면 항인지질 항체가 함유된 매양액에서의 발생율은 각각 81~100%, 50~60%, 16~24% 및 0~4%로서 대조군의 결과에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타내었으며, 특히 혈청 A 및 C를 첨가한 경우 배반포까지의 발생이 불가능하였다. 이는 aPL이 착상후의 수정란과 태아뿐만 아니라 초기배의 발생에 현저한 영향을 미치고 있음을 증명하고 있다.

3. 각종 항인질의 첨가가 생쥐 초기배의 발생에 미치는 영향 (실험 3)

본 실험에서 검토된 aPL 의 항원 중 3 가지 phospholipid, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl choline 및 phosphatidyl inositol 을 CZB 배양액 각각 1 g/ml 의 농도로 첨가하여 mouse 전핵기 수정란을 배양한 결과를 Table 2 에 나타내었다. Phosphatidyl ethanolamine 의 경우 2-세포기, 4-세포기, 상실배기 및 배반포기로의 발육율은 각각 92%, 83%,48% 및 19% 였으며 phosphatidyl choline 과 phosphatidyl inositol 이 첨가된 배양액의 경우 각각 91과 87%, 95와 70%, 64와 37% 및 26과 7%로서 대조구와의 유의적인 차를 발견할 수 없었다 (90, 88, 51 및 22%). 이는 상기 phospholipid 들이 mouse 초기배의 발생능을 증진시키지 않는 사실을 의미한다.

고 찰

생식보조기법(assisted reproductive technologies; ART)은 그동안 많은 불임환자의 치료수단으로 이용되고 있지만 현재 생식보조기법을 통하여 얻을 수 있는 임신과 분만율은 수정란 이식당 30%를 넘지 못하고 있다. 이러한 이유로 우선 고려되어

지는 사항은 채취되는 난자나 이식하는 수정란의 질적 저하이다 (Anomynous, 1991). 그러나 많은 경우에서 양질의 난자 혹은 수정란을 이식해도 임신과 착상에 실패하는 경우가 적지 않은 것이 사실이다. 이러한 이유에 대해서는 과배란을 위하여 투여되는 다량의 호르몬제가 난소에 생리적 수준 이상의 호르몬 분비를 유도하고 이들 호르몬들이 자궁내막의 수용성을 변화시켜 이식된 수정란의 착상을 방해하기 때문인 것으로 사려되어지고 있다 (Unander 등, 1987; Reece 등, 1990; Out 등, 1992; Carp 등, 1993). 그러나 이러한 이유만으로는 이식하는 수정란의 착상율과 임신율의 저하를 설명하기에 부족하다. 또 다른 이유로서 제시된 것이 자가면역항체라 하겠다.

자가면역질환 (autoimmune disease) 이란 특정 항체가 자신에서 유래한 세포 혹은 물질에 대하여 내성을 보이지 않고 오히려 이에 대해 항원으로 인식하여 항체를 생산하는 질환으로서 그 발생기전에 대하여서는 아직까지 명확하게 규명되어 있지 않다. 지금까지 알려진 자가면역질환 중에서 임신과 출산에 영향을 미치는 것으로 aPL 이 보고되었다 (Garenstein 등, 1962; Fraga 등, 1974). aPL 과 관련된 여러 임상적인 문제들을 antiphospholipid syndrome (APS) 라 불리며, 이는 습관성 유산, 자궁내 태아의 성장지연, 태반 붕괴, 임신중독증 및 사산 등과 같은 임신과 출산에 유해한 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 임신과 관련된 aPL 에 대한 빈도는 외국의 경우 반복유산을 경험한 환자의 10% 에서 70% 로 다양하게 보고되어지고 있다 (Harris 등, 1985; Mints 등, 1986). 성공적으로 임신을 한 경우라 하더라도 임신중독증의 하나인 자가전증, 자궁내 태아성장 저해, 비정상적인 태아 심장박동, 미숙아 분만 등의 산과적인 질환이 발생한다. 인지질 (phospholipid)은 생체막을 구성하는 주요 성분으로서 모든 세포막에서 검출되며 약 7종류가 존재하는 것으로 알려져 있다. 이중 CL, PS, PE 및 PC, 4종류에 대한 자가항체가 임신과 출산에 영향을 주는 물질로 알려져 있다 (Derue 등, 1985; Branch 등, 1990; Paraazzini 등, 1991).

본 연구에서는 phospholipid 에 대하여 양성반응을 보이는 환자의 혈청을 이용하여 aPL 함유 혈청 혹은 phospholipids 가 첨가된 배양액에서 mouse 난자의 체외수정과 착상전 배발생에 미치는 효과를 조사하기 위하여 실시하였다. 우선 포천중문의대 차병원 여성의학연구소에 내원하는 불임환자 중에서 이전에 반복유산의 경험이 있거나 원인불명의 불임증으로 판명된 환자로부터 혈청을 채취하여 간접면역효소분석법 (ELISA) 을 통해 aPL 이 존재하는 것으로 판명된 혈청을 공시하였다. Mouse 난자를 이용하여 체외수정을 실시한 결과 (실험 1), 2 종류의 aPL 군에서의 수정율은 46%와 47%로서 대조구의 수정율 50% 와 유의적인 차가 없는 결과를 보였다 (Fig. 1). 이러한 결과는 aPL 이 mouse 난자의 체외수정에는 영향을 미치지 않는다는 것을 시사한다. 그러나 본 연구에 이용한 aPL 의 종류를 2 가지 (예비실험의 결과 포함 3 종류) 로 한정하였고 또한 배양액에 첨가한 농도를 10% 로 한정하여 실험하였기 때문에 이 부분에 대한 구체적인 실험이 추가되어야 할 것으로 사료된다.

aPL 이 mouse 전핵기 수정란의 초기발생에 미치는 효과를 알아보기 위해 aPL을 함유한 배양액에서 배양한 결과 2-세포기까지의 발생율에서는 대조군 (96%)과 aPL 함유혈청 첨가구 (81~100%) 의 결과에 차이를 보이지 않았으나 4-세포기 이후의 발생율에서는 대조구의 결과에 비해 유의적으로 낮은 결과를 나타냈다 (실험 2). 특히 상실배기와 배반포기로의 발생율이 급격히 저하되는 것이 관찰되었는데 이는 aPL 이 지금까지 보고되어진 착상수정란의 발생억제작용 및 태아의 성장저해작용 이외에도 수정란의 초기발생 억제작용 또한 갖고 있는 사실을 시사하는 결과라 하겠다.

본 연구에서는 aPL 이외에도 동정된 aPL 의 항원으로서 작용하는 4 가지 phospholipids 중 PE 및 PC, 그리고 생식작용에 중요한 영향을 미친다고 사려되어지는 phospholipid 중 PI을 1 g/ml의 농도로 배양액에 첨가하여 mouse 전핵기 수정란의 체외발생을 유도하였다 (실험 3). 본 실험은 aPL 의 항원으로 작용하는 상기 물질의 첨가를 통하여 발생능이 증진을 확인할 수 있다면, aPL의 작용과 직접적으로 관련된 phospholipid 의 종류 및 이에 따르는 부가적인 연구를 도모할 수 있다는 가설 및 이점에 근거하고 있다. 그 결과 본 연구에 공시된 phos-

pholipid 들이 초기발생을 증진시키지 못할 뿐만 아니라, 오히려 PI 의 경우 mouse 수정란의 4-세포기 이후의 초기발생을 억제한다는 사실을 확인할 수 있었다. 이는 CL 및 PS 등 실험 3에서 공시되어지지 않은 phospholipids 가 aPL 의 수정란의 발생에 미치는 작용에 주로 연관되어져 있음을 강하게 시사하고 있다. 한편, 실험 3 의 결과는 그동안 phospholipid 가 착상시 자궁내막에 배반포기 난자의 착상을 도와주기 위한 adhesion molecule 로서 작용한다는 것과는 다소 차이가 나는 결과로 생각된다.

이상의 결과를 미루어 볼 때 aPL 의 수정과정에는 억제 또는 촉진작용을 나타내지 않는 것으로 사료되나 초기배의 발생에는 유의한 억제작용을 보이며 특히 상실배기 및 배반포기로의 발생에 그 효과가 뚜렷한 것으로 생각된다. 또한 항원인 phospholipids 첨가실험의 결과, PE, PC 및 PI 이외의 phospholipid (s) 가 aPL 의 작용에 관련되어져 있다고 사려된다. 이러한 aPL 및 phospholipid 가 초기발생에 관여하는 기전이나 효과에 대하여서는 보다 구체적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 반복유산 및 원인불명 불임증 환자로부터 채취한 혈청을 이용하여 간접면역효소분석법으로 항인지질 자가항체 (aPL) 를 동정하고 이들 aPL 포함혈청과 이들 aPL 의 항원중 2 가지의 상이한 phospholipids-phosphatidyl ethanolamine (PE) 및 phosphatidyl choline (PC), 그리고 주요 phospholipid 인 phosphatidyl inositiol (PI) 을 배양액에 첨가하여 mouse 난자 및 전핵기 수정란의 수정 및 초기배발생에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시하였다. 본 연구에서 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같았다.

1. 2명의 항인질 자가항체가 첨가된 배양액에서 생쥐 난자에 대한 체외수정을 실시한 결과 수정율은 46%와 47%로서 대조구의 수정율 50%와 차이가 없었다.
2. 전핵기 mouse 수정란을 이용하여 상이한 3명의 자가항체가 함유된 배양액에서 96시간 동안 배양한 결과, 2-세포기로의 난할율은 81~100%로 대조구와 차이를 나타내지 않았으나 4-세포기 이후의 발생율은 대조구의 성적와 비교해볼 때 유의하게 낮은 초기발생율을 나타내었다 ($P<0.05$). 특히 3군의 자가항체군중에서 2군에서는 배반포로의 발생이 불가능하여 aPL 이 생쥐 초기배의 발생을 억제하는 것으로 확인되었다.
3. aPL의 항원으로 인식되는 2종류의 인지질 (PE 및 PC) 및 생물학적으로 중요한 phospholipid 인 PI 를 첨가한 배양액에서 mouse 전핵기 수정란을 체외배양한 결과 발생능의 증진을 관찰할 수 없었다.

이상의 결과를 미루어 볼 때 aPL 은 수정란의 착상전 초기발생에 유해한 작용을 나타내는 것으로 생각되며, PE, PC 및 PI 이외의 phospholipid (s) 가 aPL 의 작용에 관련되어져 있다고 사려된다.

참고문헌

Anomynous, 1993. Assisted reproductive technology in the United States and Canada; 1991 results from the Society for Assisted Reproductive Technology generated from the American Fertility Society Registery. Society for Assisted Reproductive Technology; The American Fertility Society. Fertil. Steril., 59;956-962.

Birdsall MA, Pattison NS, and Chamley LW. 1992. Antiphospholipid antibodies in pregnancy. Aust. N.Z. J. Obstet. Gynecol., 32; 328-330.

Birkenfeld A, Mukaida T, and Minichiello M. 1994. Incidence of autoimmune antibodies in failed embryo transfer cycles. Am. J. Reprod. Immunol., 73;65-68.

Branch DW, Andres R, Digre KB, Rote NS, and Scott JR. 1990. The association of antiphospholipid antibodies with with severe preeclampsia. Obstet. Gynecol., 73:541-5.

Branch DW, Silver RM, Blackwell JL, Reading JC, and Scott JR. 1992. Outcome of treated

pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: An update of the Utah experience. Obstet. Gynecol., 80:614-20.

Carp HA, Menashe Y, Frenkel Y, Many A, Nebel L, Toder V, and Mashiach S. 1993. Lupus anticoagulant, significance in habitual first trimester abortion. J. Reprod. Med., 38: 549-552.

Cosgriff PM, and Martin BA. 1981. Low fumctional and high antigenic anti-thrombin Ⅲ level in a patient with the lupus anticoagulant and recurrent thrombosis. Arthritis Rheum., 24:94-6.

Derue GJ, Englert HJ, Harris EN, Gharavi AE, Morgan SH, and Hull RG. 1985. Fetal loss in systemic luppus erythematosus: Association with anticardiolipin antibodies. J. Obstet. Gynecol., 5:207-9.

Fisch B, Rikover Y, and Shohat L. 1991. The relationship between *in vitro* fertilization and natually occuring antibodies: evidence for increased production of antiphospholipid antibodies. Fertil. Steril., 56;718-724.

Fraga A, Mints G, and Orozco J. 1974. Sterility and fertility rates, fetal wastage and maternal morbidity in systemic lupus erythematosus. J. Rheumatol., 1:293-8.

Garenstein M, Pollach VE, and Kark RM. 1962. Systemic lupus erythematosus and pregnancy. N. Eng. J. Med., 267:165-9.

Harris EN, Gharavi AE, and Hughes GRV. 1985. Anti-phospholipid antibodies. Clin. Rheum. Dis., 11:591-609.

Harris EN, Chan JK, and Asherson RA. 1986. Thrombosis, recurrent fetal loss and thrombocytopenia. Predictive value of the anticardiolipin antibody test. Arch. Intern. Med., 146:2153-6.

Johns AS, Chamley LW, and Ockelford PA. 1994. Comparison of tests for the lupus anticoagulant and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematous. Clin. Exp. Rheumatol., 12;523-526.

Lockshin MD, Druzin ML, and Goei S. 1985 Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. N. Engl. J. Med., 313:152-6.

Lockwood CJ, Romero R, and Feinberg RF. 1989. The prevalance and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in an general obstetric population. Am. J. Obtet. Gynecol., 161;369-373.

Lockwood CJ and Rand JH. 1994. The immunobiology and obstetrical consequences of antiphospholipid antibodies. Obstet. Gynecol. Survey, 49;432-441.

Mints R, Niz J Guitierrez G, Garcia Alonso A, and Karchmer S. 1986. Prospective study of pregnancy in systemic lupus erythematosus. Result of a multidisciplinary approach. J. Rheumatol., 13:732-9.

Out JH, Bruinse HW, Christiansen G, Vilet MV, Groot PG, Nieuwenguis KH, and Derksen R. 1992. A prospective controlled multicentric study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. Am. J. Obstet. Gynecol., 167;26-32.

Parazzini F, Acaia B, Faden D, Lovotti M, Marelli G, and Cortelazzo S. 1991. Antiphospholipid antibodies and recurrent abortion. Obstet. Gynecol., 77:854-7.

Pattision NS, Chamley LW, and McKay EJ. 1993. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical association. Br. J. Obstet. Gynecolo., 100;909-913.

Reee EA, Gabrielli S, Cullen MT, Zheung, XZ, Hobbins, JC, and Harris EN. 1990. Recurrent adverse pregnancy outcome and antiphospholipid antibodies. Am. J. Obtet. Gynecol., 163;162-169.

Tsakiris DA, Marbet GA, and Makris PE. 1989.

Impaired fibrinolysis as an essential contribution to thrombosis in patients with lupus anticoagulant. Thrombosis and Haemostasis, 61:175-7.

Unander AM, Norbert R., Hahn L, and Arfor L. 1987. Anticardiolipin antibodies and complement in ninety nine women with habitual abortion. Am. J. Obstet. Gynecol., 156:114-119.
(접수일:1998. 5. 16 / 채택일:1998. 7. 1)