

## 체외수정시술시 유전자 재조합 난포자극호르몬제의 효용성

성균관대학교 의과대학, 삼성제일병원 산부인과, 생식내분비학 불임분과  
한국선 · 이흥복 · 송인옥 · 박용석 · 변혜경 · 전진현 · 궁미경

### The Efficacy of Recombinant Human Follicle Stimulating Hormone (rhFSH) in Human IVF-ET Program

Kuk Sun Han, Hong Bok Lee, In Ok Song, Yong Seog Park, Hye Kyung Byun,  
Jin Hyun Jun, Mi Kyoung Koong

*Division of Reproductive Endocrinology & Infertility Department of Obstetrics and Gynecology,  
Samsung Cheil Hospital Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea*

**Objectives:** Recently, recombinant FSH (rFSH) has been manufactured using a Chinese hamster ovary cell line transfected with the gene encoding human FSH. Both rFSH and urinary gonadotropin (uFSH) could be used for controlled ovarian hyperstimulation (COH). However, uFSH implies a number of disadvantages, such as batch-to-batch inconsistency, no absolute source control, dependence on large amounts of urine, low specific activity, and low purity. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of rFSH in human IVF-ET program.

**Materials and Methods:** A total of 508 infertile women was enrolled in this study. They are classified into rFSH group (n=177) or uFSH group (n=331), and all of them were matched by age and cause of infertility in same period. The Puregon® (Organon, Holland) was used as rFSH, and the Metrodin-HP® (Serono, Switzerland) and Humegon® (Organon, Holland) was used as uFSH. We subdivided the patients into three age groups. The outcomes of IVF-ET program were analyzed using the statistical package for social sciences (SPSS).

**Results:** There was no significant differences in the level of estradiol on hCG injection day, the numbers of retrieved oocytes, matured oocytes, fertilized oocytes, transferred embryos, frozen embryos between the two groups. The total dose (IU) of gonadotropin for COH was significantly lower in the rFSH group compared to uFSH group ( $1339 \pm 5491.1$  vs  $2527.8 \pm 1075.2$  IU,  $p < 0.001$ ). Clinical pregnancy rate per embryo transfer in the rFSH group showed increasing tendency, compared to the uFSH group, but there was no statistical significance (35.2% vs 29.3%). Our results demonstrated that the relative efficiency of rFSH compared with uFSH is higher in older patients.

**Conclusions:** The ovarian stimulatory effect and clinical outcome of recombinant FSH was similar to that of the urinary gonadotropin. The IVF-ET cycles with significantly lower dose of gonadotropin in rFSH group showed comparable results. Therefore, we suggest that recombinant FSH is more potent and effective than urinary gonadotropin.

**Key Words:** Recombinant human follicle stimulating hormone (rFSH), Urinary gonadotropin (uFSH), IVF-ET, Total dose of gonadotropin, Pregnancy rate

체외수정 (in vitro fertilization, IVF) 시술 동안 수정된 난자의 수는 성공적인 임신 및 출산과 연관되어 왔다.<sup>1-4</sup> 그러므로 더 많은 수의 난포 성장을 유도하기 위해서는 외인성 성선자극호르몬 특히 난포자극호르몬 (follicle stimulating hormone, FSH)을 사용하여 난소를 자극하는 것은 체외수정시술에 필수적인 과정이다. 난포자극호르몬은 뇌하수체에서 분비되는 복잡한 이성질체로 구성된 당단백 (glycoprotein)이다. 초기 체외수정시술시 난포자극호르몬의 원천으로 폐경기 여성의 소변으로부터 추출된 human menopausal gonadotropin (이하 HMG, menotropin)을 사용하였는데 이 제제는 난포자극호르몬의 특이적 활성도가 낮고 난포자극호르몬 이외의 황체화호르몬 (luteinizing hormone, LH)과 소변 내 단백질 등을 포함하고 있어서 채취된 난자의 질 저하와 낮은 수정률, 낮은 배아 활성도 및 초기 임신 소실을 유발한다고 보고되어 왔다.<sup>5-8</sup>

지난 수십 년간 monoclonal 항체를 사용한 정제화 과정의 발달로 폐경기 여성의 소변으로부터 난포자극호르몬을 보다 효율적으로 추출한 순수난포자극호르몬제 (urinary human FSH, 이하 uhFSH, urofollitropin)가 개발 생산되었고, 그 이후 아주 극소량의 황체화호르몬 활성도를 포함하고 소변 내의 단백질과 바이러스 등의 불순물을 극소량만 함유하고 있는 제제인 고순도난포자극호르몬제 (highly purified uhFSH, highly purified urofollitropin) 개발은 초기 HMG 제제보다 더 높은 임신율을 보고하였다.<sup>8-10</sup> 그럼에도 불구하고 폐경기 여성의 소변에서 추출한 난포자극호르몬제제는 많은 수의 소변 공여자로부터 많은 양의 소변을 모아야 하는 단점이 있고, 공급에 있어서도 안정성을 보이지 않으며, 배치 간의 불일치성 등이 문제점으로 대두되었다. 생명공학 기술의 발달로 1960년도에 최초로 성선자극호르몬의 구조가 밝혀졌으며 1988년도에는 유전자 재조합 기술의 발달로 처음으로 Chinese hamster ovary (CHO) cell line을 사용하여 인간의 난포자극호르몬  $\alpha$ 와  $\beta$  subunit을 encoding하는 유전자를 expression vector 속으로 주입해 넣음으로써 황체화호르몬의 활성이 전혀 없고 소변 내의 단백질 불순물을 포함하지 않은 두 가지 종류의 유전자 재조합 인간난포자극호르몬 (recombinant human FSH, 이하 rhFSH, follitropin alpha and

follitropin beta) 제제를 합성하였다.<sup>11-14</sup>

rhFSH 제제는 uhFSH 제제에 비해 여러 가지 장점이 있다. 먼저 난포자극호르몬 생산에 있어서 대량의 소변을 수집하여 공급하여야 하는 소변양 의존성 없이, 일정하면서도 계속적인 난포자극호르몬을 공급할 수 있는 대량 생산이 가능하게 되었고, 배치 간의 일치성이 높다는 우수한 장점을 가지고 있다. 또한 그 효능이 매우 효율적이고 정제화 과정을 거치기 때문에 소변 내 단백질과 인간의 몸속에 존재하는 바이러스 오염을 피할 수 있다는 장점이 있다. 난포자극호르몬의 특이적 활성도가 1 mg의 단백질당 10,000 IU 이상으로 높은 이런 recombinant 제제는 임상적으로 현재 사용되는 제제 중에 가장 순수한 제제이다.<sup>15,16</sup> 또한 rhFSH 제제는 사람 체내 난포자극호르몬과 약물역동학적인 특성이 유사하다고 보고되어 왔다.<sup>17</sup> 이런 높은 순도는 안정성과 순응도 면에서 여러 가지 장점이 있는데 예를 들면 uhFSH 제제를 주사 시에 국소적, 전신적 부작용의 발생으로 고생하는 여성이 있는 반면에 rhFSH 제제는 피하 주사가 가능하여 주사 투여부위에 통증과 면역 반응이 uhFSH 제제보다 훨씬 적다고 알려져 왔다.<sup>18,19</sup>

최근 몇 년 동안 성선자극호르몬치가 정상인 여성에 있어서 난소자극 동안에 황체호르몬의 억제에 체외수정시술의 결과와 관련하여 유익한가, 무해한가, 아니면 유해한가에 관해 많은 논쟁들이 있어 왔다.<sup>20,21</sup> 이러한 많은 논쟁들에도 불구하고 난포기에 황체화호르몬의 혈중농도가 상대적으로 높은 경우 난자의 수정, 난할, 배아의 질 및 임신성립에 유해하다고 알려져 왔으며 불임환자의 정상적인 난포의 성장에 반드시 난포자극호르몬이 필수적이다.

이에 본 연구의 목적은 체외수정시술시 과배란 유도를 위한 성선자극호르몬으로 rhFSH 제제를 사용한 환자를 대상으로 rhFSH 제제의 효과 및 임상적 유용성을 알아보고자 하였고 또한 모든 대상 환자를 나이에 따라 세분하여 연령에 따른 효능을 알아보고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1999년 5월부터 2001년 5월까지 성균관대학교 의

과대학 삼성제일병원 산부인과 불임클리닉에서 난관인자, 남성불임인자, 자궁내막증, 면역요인, 복막인자, 원인불명의 불임 등의 이유로 체외수정시술을 시행 받았던 불임환자 508명을 대상으로 하였다. 이들 대상 환자군은 최근 두 달 이내에 호르몬 치료를 받은 적이 없으며 또한 환자들은 임신에 영향을 줄 수 있는 갑상선기능항진증 및 저하증, 당뇨병 등과 같은 내분비 질환이 동반된 경우는 본 연구 대상에서 제외되었다.

rhFSH (Puregon®, Organon, Netherlands) 제제를 사용하여 과배란 유도를 시행한 환자 177명을 실험군으로 하였고, rhFSH 대신 uhFSH (Metrodin-HP®, Serono, Switzerland) 제제와 HMG (Humegon®, Organon, Hollandor, Menogon®, Ferring, Germany, Pergonal®, Serono, Switzerland) 제제를 병용하여 과배란 유도를 시행한 환자 331명을 대조군으로 하였다. 각각의 대상 환자들은 대조군과 실험군에 있어서 환자의 나이와 각각의 불임 원인인자에 대해서 2:1의 비율로 matching시켜 통계적 유의성을 도모하였다.

또한 이들 환자들을 나이에 따라 34세 이하, 35세에서 39세까지, 40세 이상의 세군으로 나누어 대조군과 실험군의 체외수정시술 결과를 분석하였다.

## 2. 연구 방법

본 연구는 과배란 유도를 시행한 508명의 불임환자를 대상으로 후향적, 무작위로 이루어졌다. 모든 환자는 과배란 유도를 시행하기 전 월경 주기 제 2일째 또는 제 3일째에 혈중 기저치 난포자극호르몬, 황체호르몬과 난포호르몬을 측정하였다.

모든 대상 환자들은 기저치호르몬을 측정하는 날 질식 초음파 검사를 시행하여 10 mm 이상의 난포나 난소 낭종이 없는 것을 확인하고 그날부터 성선자극호르몬유리호르몬 동종체 (gonadotropin releasing hormone agonist, GnRH-a)인 nafarelin acetate (Synarel®, 한국Searl, Korea)를 1회 500 µg씩 하루에 한번 비강내 분무하거나, buserelin (suprefact®, Hoechst AG, Germany) 0.5 mg/ml을 하루에 한번 피하 주사하여 초기 flare up 효과를 이용한 단기 요법으로 월경 주기 3일째부터 과배란 유도제를 투여하였다.

과배란 유도에 사용된 외인성 난포자극호르몬의 투여 방법은 기본적으로 나이에 따라 초기 용량을

결정하였는데 30세 이하인 경우는 150 IU uhFSH와 150 IU HMG을 투여하였고 30~35세인 경우는 225 IU uhFSH와 150 IU HMG을 투여하였고 35세 이상인 경우는 225 IU uhFSH와 225 IU HMG을 투여하였으며 rhFSH 제제도 이와 유사하게 투여하였다.

과배란 유도제인 외인성 성선자극호르몬 투여 시작 5일째부터 질식 초음파를 이용하여 난포의 성장을 감시하면서 혈중 난포호르몬을 측정하여 난포의 성장 정도에 따라 외인성 성선자극호르몬의 용량을 조절하였다. 질식 초음파와 혈중 난포호르몬 측정은 2~4일 간격으로 시행하였고 용량을 증량시켜도 초음파상 난포의 성장이 없으면서 혈중 난포호르몬의 증가가 없는 저반응군에서는 경우에 따라 그 주기를 취소하였다.

과배란 유도를 시행 받은 환자는 우성 난포의 평균 직경이 18 mm 이상일 때와 적어도 3개의 다른 난포의 직경이 16 mm 이상이면 혈중 난포호르몬 농도를 측정하고 인간 융모성 성선자극호르몬 (human chorionic gonadotropin, hCG, Pregnyl®, Organon, Netherlands) 10,000 IU를 근육 주사한 후 36시간 후 난자 채취를 위한 난포흡인을 시행하였다.

체외에서 수정되기 전에 채취된 난자는 극체 (polar body)와 cumulus mass가 퍼진 정도와 난자를 둘러싸고 있는 corona radiata의 두께에 따라 성숙 정도를 판정하여 등급을 나누었다. 등급 I은 제 일 극체 (first polar body)가 방출되고 corona cell이 sun-burst 모양을 나타내며 cumulus mass가 충분히 퍼진 상태의 난자를 말하고, 등급 II은 배포의 손상 (geminal vesicle break down)이 일어났으나 제 일 극체가 방출되지 않은 난자이고, 등급 III은 corona cell과 cumulus cell이 잘 퍼지지 않은 난자를 말한다. 등급 IV은 미성숙 난자로 아직 배포의 손상이 진행되지 않아 배포를 볼 수 있는 경우이며, 등급 V은 cumulus cell과 corona cell이 변성된 상태의 난자를 말하며, 성숙된 난자가 퇴화하는 상태이고 등급 V인 난자와 비슷하게 보이지만 제 일 극체가 있는 난자는 성숙 후기로 따로 분류하였다. 따라서 본인의 난자 성숙 정도의 지표에 따라 실험군과 대조군 간의 난자 성숙 정도를 비교하였다. 난자 채취 직후 정액을 채취하였으며 정자의 수와 운동성, 양과 질 등을 평가한 후 채취된 난자와 정자는 공동 배양시키거나 경우에 따

라 세포질내정자주입술을 시행하였다. 난자 채취 후 약 48~72시간 후에 배아의 난할 여부 및 상태를 관찰하고 배아등급을 평가한 후 평균 3~4개의 배아를 자궁 내로 이식하였다.

황체기 보강 (luteal phase support)을 위해 난포 채취 다음날부터 기름에 유제화된 황체호르몬 (progesterone in oil, Progest<sup>®</sup>, Samil Phar, Korea)을 매일 50 mg씩 근육 주사하거나 질식 황체호르몬제 (Utrogestan<sup>®</sup>, Hanwha Phar, Korea)를 매일 300 mg씩 질경으로 사용하였다. 남은 배아는 동결시켜 보관하였다.

임신의 확인은 난자 채취 후 제 12일째 혈중  $\beta$ -hCG 농도를 측정하고 이때 3 mIU/ml 이상이면 이를 후에 다시 한번 혈중  $\beta$ -hCG 농도를 측정하여 임신 여부를 확인한 후 매 일주일 간격으로 질식 초음파를 시행하여 태낭 (gestational sac) 및 태아와 태아의 심장 박동이 관찰되면 임상적 임신으로 판정하였다.

통계적 분석은 SPSS (statistical package for social science) 10.0 프로그램을 사용하였는데 평균값의 비교에는 Student's t-test, 분율의 비교에는 chi-square test 및 Fisher's Exact test를 시행하였으며, 효능의 범주 (efficacy criteria)는 기술적 통계인 평균, 표준편차로 기술하였으며, p 값은 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

총 508명의 환자가 본 연구에 포함되었다. 환자들의 평균 나이와 불임의 원인인자에 있어서 2:1의 비

율로 matching을 시행하여 실험군에는 rhFSH 제제를 사용한 177명이 포함되었고 대조군에는 uhFSH 제제와 HMG 제제를 병용한 331명이 포함되었다.

이들 중 실험군에서 2명 (16.7%), 대조군에서 11명 (26.8%) 총 13명은 약제에 대한 반응이 없어서 난자 흡인술을 시행받지 못하고 그 주기를 취소하였으며, 배아 이식을 시행 받지 못해 그 주기를 취소한 경우는 인공 수정을 시행하였거나, 수정된 난자를 얻지 못하였거나, 분화된 배아를 얻지 못하였거나, 여러 가지 이유로 모든 배아를 동결 보전시킨 경우이었다. 따라서 주기 취소율은 실험군에서 12명 (6.8%) 대조군에서 41명 (12.4%)으로 대조군이 높은 경향을 보였다.

모든 환자에 대한 임상적 특징을 보면 두 군 간의 환자의 평균 나이와 남편의 평균 나이, 불임 기간에 있어서 두 군 간의 유의한 차이가 없었다. 또한 혈중 기저 난포자극호르몬, 황체호르몬, 에스트라디올의 농도에 있어서 유의한 차이가 없었다 (Table 1).

본 연구에서 일차성 불임은 실험군, 대조군 각각 93명 (52.5%), 194명 (59.3%)이고 이차성 불임은 84명 (47.5%), 133명 (40.7%)로 유의한 차이가 없었다. 체외수정시술의 가장 흔한 요인은 난관인자로 실험군에서 35.6%, 대조군에서 29%를 차지하였고 남성요인, 자궁내막증, 기타 (면역인자, 복막인자 등)의 순으로 두 군 간의 차이가 없었다 (Table 2).

과배란 유도를 위해 투여된 성선자극호르몬 평균 투여 기간은 대조군과 실험군 간의 유의한 차이가 없었다 ( $9.1 \pm 1.9$  vs  $9.3 \pm 1.7$ ). 하지만 과배란 유도에 사용된 총 투여 용량은 실험군에서  $1339.5 \pm 491.1$

Table 1. Characteristics of patients

	rhFSH (n=177)	HMG+uhFSH-HP (n=331)	p value
Age of patients (yrs)	32.7 $\pm$ 3.8	33.0 $\pm$ 4.3	NS
Age of husbands (yrs)	35.2 $\pm$ 4.9	35.9 $\pm$ 5.0	NS
Duration of infertility (months)	50.7 $\pm$ 39.5	52.4 $\pm$ 38.8	NS
Endocrine profile			
Basal FSH (mIU/ml)	7.7 $\pm$ 2.6	8.4 $\pm$ 5.0	NS
Basal LH (mIU/ml)	3.5 $\pm$ 2.1	3.4 $\pm$ 1.9	NS
Basal E2 (mIU/ml)	18.4 $\pm$ 8.0	19.6 $\pm$ 9.3	NS

Values are mean $\pm$ SD, NS : not significant

(IU)로 대조군의 2527.8±1075.2 (IU)에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다 ( $p<0.001$ ). 채취된 난자 하나당 사용된 성선자극호르몬의 투여 용량 또한 실험군에서 유의하게 낮았다 ( $p<0.001$ ). 평균 수정율에 있어서도 실험군에서 71.9%, 대조군에서 65.6%로 통계

적으로 유의하게 실험군에서 높았다 ( $p<0.005$ ). 인간 융모 성선자극호르몬 투여 당일 날 측정된 에스트라디올의 농도는 양 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았고, hCG 양성율, 주기당 임신율은 실험군이 대조군에 비해 통계적 유의성은 없었으나 더 높은 경향

**Table 2.** Indication of infertility

	rhFSH (n=177)	HMG+uhFSH-HP (n=331)	p value
Tubal factor	63 (35.6%)	96 (29%)	NS
Male factor	56 (31.6%)	94 (28.4%)	NS
Endometriosis	24 (13.6%)	54 (16.3%)	NS
Immune factor	2 ( 1.1%)	4 ( 1.2%)	NS
Peritoneal factor	10 ( 5.6%)	20 ( 6.0%)	NS
Old age	3 ( 1.7%)	14 ( 4.2%)	NS
Uterine factor	3 ( 1.7%)	5 ( 1.5%)	NS

NS: not significant

**Table 3.** Results of controlled ovarian hyperstimulation, and in vitro fertilization

	rhFSH (n=177)	HMG+uhFSH-HP (n=331)	p value
E2 on hCG injection day (pg/ml)	2105.3±1377.1	2536.9±3061.2	NS
Days of stimulation	9.1±1.9	9.3±1.7	NS
Total dose used (IU)	1339.5±491.1	2527.8±1075.2	$p<0.001$
Gonadotropin units per oocyte (IU)	217.7±295.6	435.8±716.9	$p<0.001$
Mean fertilization rate per cycle (%)	71.9	65.6	$p<0.005$
Cancellation rate (%)	6.8	12.4	$p<0.05$
hCG positive rate (%)	40	34.1	NS
Clinical pregnancy rate (%)	35.2	29.3	NS

Values are mean±SD, NS: not significant

**Table 4.** Results of retrieved oocytes and embryo parameters

	rhFSH (n=177)	HMG+uhFSH-HP (n=331)	p value
Mean number of retrieved oocytes	12.2±8.8	11.9±8.1	NS
Mean number of mature oocytes	10.2±6.0	9.1±5.1	NS
Mean number of fertilized oocytes	8.7±6.2	7.9±5.2	NS
Mean number of high quality embryo	1.7±1.4	1.6±1.3	NS
Mean number of embryos transferred	3.6±1.4	3.4±1.7	NS
Mean number of embryos frozen	8.4±6.3	8.1±4.5	NS

Values are mean±SD, NS: not significant

을 보였다 (Table 3).

채취된 난자의 개수는 실험군, 대조군에서 각각 12.2±8.8개, 11.9±8.1개로 두 군 간의 유의한 차이가 없었다. 채취된 난자들은 성숙 정도의 따라 그 등급을 나누어 first polar body를 가지고 있는 등급 I 난

자와 배포가 손상된 등급 II인 난자를 성숙 난자로 분류한 후 그 수를 비교하였는데 실험군에서 10.2±6.0개, 대조군에서 9.1±5.1개로 성숙 난자 수는 두 군 간의 유의한 차이가 없었다. 수정된 난자의 개수, 우량 배아의 개수, 이식 배아의 개수, 냉동 배아의

**Table 5.** Comparison of oocyte parameters

	rhFSH (n=177)	HMG+uhFSH-HP (n=331)	p value
Total No of retrieved oocytes	2167	3950	
Total No of mature oocytes	1515	2470	
Maturation rate (%)	69.9	62.5	<i>p</i> <0.001
Total No of fertilized oocytes	1469	2299	
Fertilization rate (%)	67.8	58.2	<i>p</i> <0.001

**Table 6.** Treatment parameters and outcome in the rhFSH and HMG+uhFSH groups when patients were subdivided according to age

	Less than 35 years		35 to 39 years		More than 40 years	
	rhFSH (n=131)	HMG+uhFSH-HP (n=224)	rhFSH (n=35)	HMG+uhFSH-HP (n=78)	rhFSH (n=11)	HMG+uhFSH-HP (n=29)
Mean age (yrs)	30.9±2.3	30.7±2.4	36.7±1.4	36.4±1.3	41.3±1.0	42.0±2.0
Basal FSH (mIU/ml)	7.4±2.2	8.0±4.6	8.7±3.8	8.8±5.3	8.8±1.6	10.3±7.2
Day of stimulation	9.0±1.8	9.3±1.7	9.5±2.5	9.4±1.8	9.2±1.8	9.3±1.7
E2 on hCG injection day	2211.7±1405.7	2800.9±3552.4	1918.3±1387.3	2203.0±1636.6	1425.5±615.6	1444.9±1082.9
Total dose used (IU)	1273.8±462.2*	2348.8±1063.4	1535.7±580.6*	2835.6±1032.2	1490.9±321.6*	3082.8±921.5
Gonadotropin units per oocyte (IU)	203.8±315.5*	369.7±685.1	248.5±239.0*	469.7±553.9	283.4±203.3*	861.4±1129.9
Mean number of oocytes	13.2±9.0	13.1±8.4	10.1±8.3	10.3±6.8	7.4±3.8	7.8±6.9
Mean number of oocytes fertilized	9.5±6.7	8.5±5.4	6.5±3.2	6.5±4.8	5.9±3.7	6.0±4.0
Mean number of embryos transferred	3.6±1.4	3.4±1.7	3.6±1.4	3.5±1.6	4.0±1.5	3.0±1.2
Mean number of high quality embryos	2.4±1.6	2.3±1.5	2.4±1.7	2.2±1.4	3.0±1.5	2.0±1.8
Fertilization rate per cycle (%)	70.5	66.3	74.4*	62.7	80.3*	68.7
Cancellation rate (%)	7.6	12.5	5.7	9.0	0	20.7
β-hCG positive rate (%)	39.7	36.7	42.4	31	36.4	21.7
Clinical pregnancy rate (%)	35.5	30.1	36.4	29.6	27.3	21.7

\**p*<0.05

개수 등에는 양 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 4).

Table 5는 성숙 난자와 수정된 난자의 총 개수를 측정하여 성숙 난자의 총 개수를 채취된 난자의 총 개수로 나눈 비율을 성숙률 (maturation rate)로 정의하였고 실험군에서는 69.9%, 대조군은 62.5%로 통계적으로 유의하게 실험군에서 높았다 ( $p < 0.001$ ). 또한 수정된 난자의 총 개수를 채취된 난자의 총 개수로 나눈 비율을 비교해 보면 실험군에서 통계적으로 유의하게 높았다 ( $p < 0.001$ ).

실험군과 대조군을 나이에 따른 세부군 즉 34세 이하, 35세에서 39세까지, 40세 이상으로 나누어 그 체외수정시술 결과를 비교해 보면 실험군이나 대조군에서 각 세부군은 나이가 증가함에 따라 과배란 유도에 사용된 총 투여 용량이 증가됨을 보여주었고 채취된 난자 수는 유의하게 적었다. 나이에 따라 나눈 모든 세부군에서도 두 군 간의 총 투여 용량은 통계적으로 유의하게 실험군에서 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 또한 각 세부군의 주기당 수정율을 보면 35세 이상의 군에서 실험군이 대조군보다 수정률이 유의하게 높았고, 각각의 세부군의 임신율에 있어서 실험군이 대조군에 비해 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 6).

## 고 찰

본 연구는 체외수정시술시 배란 유도제로 rhFSH 제제를 사용한 군과 uhFSH 제제와 HMG 제제를 병용 투여한 군에 있어서 그 효능성을 비교하였다.

배란 유도제의 일차적 효능의 결과를 알아보는 근거는 채취된 난자 수와 사용된 성선자극호르몬의 용량인데 이전의 여러 연구에 따르면 uFSH 제제에 비해서 rhFSH 제제가 많은 수의 난포 발달 유도에 더 유용하다고 보고되어 왔다.<sup>22-24</sup> Lenton 등<sup>25</sup>의 연구에서는 초기 투여 용량을 각각 150 (IU)로 정하여 uFSH 제제와 rhFSH 제제로 사용했을 때 난포의 수나 채취된 난자의 수는 두 제제 간에 차이가 없었으나 단지 사용된 앰플 수가 uFSH 제제 사용군에서 좀 더 높았다고 보고하였다. 본 연구 결과에서도 마찬가지로 rhFSH 제제를 사용한 실험군이나 uhFSH 제제와 HMG 제제를 병용 투여한 대조군 모두에서

난포 수나 채취된 난자 수는 유의한 차이가 없었으며, 총 사용한 성선자극호르몬의 용량과 각각의 채취된 난자 수당 사용된 성선자극호르몬의 용량은 실험군에서 훨씬 더 적게 사용되어 Lenton 등의 연구 결과와 유사하였다. 이런 결과는 rhFSH 제제의 더 나은 효능과 더 높은 생물학적 활성성을 제시하고 있으며, 더 적은 성선자극호르몬의 사용은 전체 치료비용을 낮추는 측면에서 경제적이라 할 수 있다.<sup>26-29</sup>

두 군 간의 배란 유도의 이차적 효능성의 결과로는 인간 용모 성선자극호르몬 투여 당일 날 측정된 에스트라디올의 농도, 성선자극호르몬 투여 기간, 성숙 난포의 수, 우량 배아의 개수, 이식된 배아의 개수와 질, 냉동 배아의 개수, 주기당 임신율, 주기 취소율 등이 포함된다. 인간 용모 성선자극호르몬 투여 당일 날 측정된 에스트라디올의 농도는 양 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았고 성선자극호르몬 투여 기간도 본 연구에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 많은 연구 보고에서 rhFSH 제제를 사용하였을 때 성선자극호르몬의 투여 기간이 통계적으로 유의하게 낮은 경향을 보였다.<sup>17,30-33</sup> 이런 연구 결과와 본 연구의 차이점은 두 군 모두에게 개개 환자들의 난소 반응 즉 에스트라디올의 농도, 자라는 난포 개수에 따라 적당한 난소 반응을 유도하였으므로 결과적으로 대조군에서 투여된 성선자극호르몬의 총 용량이 유의하게 더 많았으나 투여 기간이나 인간 용모 성선자극호르몬 투여 당일 날 측정된 에스트라디올의 농도에서는 두 군 간에 유의한 차이가 없었던 것으로 사료된다.

Out 등<sup>17</sup>의 무작위 전향적 연구를 통한 rhFSH와 uhFSH의 비교에서 rhFSH 제제의 경우 성숙 난포의 개수와 우량 배아의 개수가 유의하게 높았다고 보고하였으나 Bennink 등<sup>31</sup>은 두 제제의 효능의 무작위 전향적 연구를 통하여 두 군 간에 성숙 난포의 수는 차이가 없다고 보고하였다. 본 연구에서는 평균 성숙 난포의 수나 평균 우량 배아의 수는 유의한 차이가 없었으나 rhFSH 제제를 사용한 실험군에서 회수된 난자의 총 수에 대한 성숙 난포의 총 수의 비인 난자 성숙률과 주기당 평균 수정률 및 수정된 배아의 총 수에 대한 수정률이 더 우수한 결과를 보였다.

과배란 유도와 체외수정시술의 이차적 효능성의 중요한 결과인 hCG 양성율, 주기당 임신율은 본 연

구에서는 비록 통계적 유의성은 없었으나 rhFSH 제제를 사용한 실험군에서 더 높은 경향을 보였다. 현재까지 국외 여러 연구에서 rhFSH 제제와 uFSH 제제를 사용시 임상적 임신율을 비교하는 연구들이 진행되고 있는데 일부 연구에서 냉동 배아의 이식을 포함할 경우 임상적 임신율 역시 유의하게 증가하는 것으로 보고하고 있으나 대부분의 연구에서는 임신율에 있어서 임상적으로 의미 있는 차이를 보일 만큼 통계적으로 충분한 힘을 가지고 있지 않았다.<sup>32-35</sup> 이에 Daya 등<sup>8</sup>은 pub-med을 이용하여 rhFSH 제제와 uhFSH 제제를 비교 연구한 논문의 meta-analysis의 결과로 두 제제 사이에 임신율에 있어서는 임상적으로 유용한 차이를 발견할 만큼의 충분한 통계적 차이는 발견할 수 없었으나 체외수정시술에 있어서 uhFSH 제제보다 rhFSH 제제가 더 유용함을 보고하였다.

본 연구에서 주기 취소율을 비교해 보면 대조군에서 통계적으로 유의하게 높았는데 이는 실험군에서 2명 (16.7%), 대조군에서 11명 (26.8%)으로 대조군에서 난소 저반응으로 난자 채취조차 시행하지 않고 그 주기를 취소한 경우가 많았기 때문이다. 또한 모든 환자들은 과배란 유도 약제에 잘 견디었고 성선자극호르몬과 연관된 중요한 부작용중 하나인 난소과자극 증후군은 본 연구 결과에서는 보여주지 않았지만 대부분 경한 형태로 나타났다. 일반적으로 난소과자극 증후군은 채취된 난자의 수와 진행중인 임신율과 연관이 있다는 보고처럼 세심한 관찰이 항상 강조되어야 한다.<sup>36</sup>

Out 등<sup>37</sup>의 연구에서 비교적 젊은 나이인 30세에서 33세 사이의 환자군에서 더 높은 용량의 rhFSH 제제 (250 IU vs 150 IU, 일일용량)를 사용시 더 많은 난자를 얻을 수 있었지만 더 나이 많은 환자군에서는 높은 용량에도 더 적은 난자를 채취함을 보고하면서 사용된 rhFSH 제제와 채취 난자 수와의 상관관계는 환자의 연령과 더 관련되어 있다고 보고하였다. 그러나 같은 저자들의 다른 연구에 따르면 사용된 rhFSH 제제의 용량이 많을수록 (200 IU vs 100 IU, 일일용량) 더 많은 수의 난자를 얻을 수 있다고 보고하였다.<sup>38</sup> 본 연구에서도 35세 이하의 환자군에서 35세 이상의 환자군 보다 더 적은 성선자극호르몬으로 더 많은 난자를 채취할 수 있었고 채취된 난자의

수는 연령의 증가에 따라 통계적으로 유의하게 적음을 알 수 있었다. 그러나 40세 이상의 연령군에서 35세 이상에서 39세 이하의 연령군에 비해 평균 사용된 rhFSH 제제의 용량이 더 적었으나 (1490.9 IU vs 1535.7 IU) 통계적 유의한 차이는 보이지 않았다. 또한 본 연구에서는 채취된 난자 하나당 uhFSH 제제의 사용 용량을 rhFSH 제제의 사용된 용량으로 나눈 비가 40세 이상의 고연령군에서는 다른 저연령군에 비해 훨씬 더 높아 비록 적은 수의 난자를 채취했지만 rhFSH 제제가 고연령군의 과배란 유도에 더 유용하며 이런 흥미있는 결과는 환자의 나이가 많을수록 uhFSH 제제보다 rhFSH 제제의 상대적 인 효능성을 보여주는 것으로 사료된다. 본 연구 결과와 몇몇 연관된 보고로 최근에 Raga 등<sup>39</sup>과 De Placido 등<sup>40</sup>의 연구에서 저반응군에서 uFSH 제제보다 rFSH 제제가 난소의 반응이나 임신 결과가 더 우수함을 보고하였다.

본 연구에서는 세포질내정자주입술 (ICSI)와 일반적인 체외수정시술을 따로 나누어 결과를 제시하지 못했으나 Ravhon 등<sup>30</sup>의 연구에서는 과배란 유도도 uFSH 제제 사용군과 rFSH 제제를 사용한 두 군에서 특히 젊은 나이의 환자군에서 수정 방법으로 체외수정시술과 세포질내정자주입술을 비교시 사용된 제제에 상관없이 일반적인 체외수정시술에 비해 세포질내정자주입술이 착상율과 임신율에 있어서 더 우수함을 보고하고 있다. 그러나 다른 연구에서는 남성인자가 정상이고 난관인자로 인한 불임환자를 대상으로 세포질내정자주입술과 일반적인 체외수정시술을 비교했을 때 세포질내 정자주입술을 시행한 군에서 과배란 유도 및 체외수정시술에 더 나은 결과를 보고하지 못했다.<sup>41-43</sup> 본 연구에서는 세포질내정자주입술을 시행한 군과 그렇지 않은 군에 따른 결과를 비교하지 않았지만 양군에서 각각의 세포질내정자주입술을 시행한 비율은 두 군 간에 일치하였다.

유전자 재조합 기술로 만든 rhFSH 제제는 follitropin alpha (Gonal-F<sup>®</sup>)나 follitropin beta (Puregon<sup>®</sup>)로 두 가지인데 본 연구에서는 follitropin beta 제제를 사용하여 uFSH 제제를 사용한 군과 비교하였으나 follitropin alpha 제제를 사용하였을 때 유사한 결과를 얻을 수 있었을 것으로 추측할 수 있다. 왜냐



하면 최근 연구에서 follitropin alpha나 follitropin beta 은 immunopotency, in vitro potency, 내부의 carbohydrate complexity 면에서 두 유전자 제조합 제제가 유사하며 그 효능과 효과 면에서도 차이가 없음을 여러 연구에서 보고하고 있기 때문이다.<sup>44,45</sup>

rhFSH 제제와 uhFSH 제제 사이에 무작위, 전향적인 비교한 많은 연구 보고들이 있으나 본 연구는 단일 임상센터에서 총 508명의 많은 수의 불임환자를 대상으로 시행하여 그 임상적 결과가 통계적 힘이 높아 rhFSH 제제와 uhFSH 제제 사이의 임상적 결과 비교에 관한 가치 있는 결과일 것으로 사료된다.

현재까지 과배란 유도제로 uhFSH 제제에 비해 rhFSH 제제의 더 나은 효능을 많은 기전으로 설명할 수 있는데 첫째 유전자 제조합 제제와 소변에서 추출한 제제 사이에는 isoform 혹은 glycosylation profiles 등의 차이를 들 수 있다. 둘째로 탄수화물 정도의 미묘한 차이와, 셋째 소변 내의 단백질 불순물과 isohormone 구성의 차이를 들 수 있고 마지막으로 rhFSH 제제의 배치 간의 일치성은 과배란 유도제로서의 큰 효능으로 설명할 수 있다.

결론적으로 rhFSH 제제는 uhFSH 제제와 HMG 제제의 병용 투여에 비하여 배란 유도 및 과배란 유도시 더 적은 용량으로 더욱 우수한 난소 반응을 유도할 수 있었고, 임신률에 있어서도 유의한 차이는 아니지만 높은 경향을 보였으므로 효과적인 과배란 유도의 한 방법으로 사용되어 질 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Templeton A, Morris JK. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Engl J Med* 1998; 339: 573-7.
2. Waterstone J, Parsons J, Bolton V. Elective transfer of two embryos. *Lancet* 1991; 337: 975-6.
3. Nijs M, Geerts L, van Roosendaal E, Segal-Bertin G, Vanderzwalmen P, Schoysman R. Prevention of multiple pregnancies in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1993; 59: 1245-50.
4. Staessen C, Janssenswillen C, Van den Abbeel E, Devroey P, Van Steirteghem AC. Avoidance of tri-

- plet pregnancies by elective transfer of two good quality embryos. *Hum Reprod* 1993; 8: 1650-3.
5. Stanger JD, Yovich JL. Reduced in-vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during the follicular phase. *Br J Obstet Gynaecol* 1985; 92: 385-93.
6. Homburg R, Armar NA, Eshel A, Adams J, Jacobs HS. Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception and early pregnancy loss in polycystic ovarian syndrome. *Br Med J* 1988; 297: 1024-6.
7. Punnonen R, Ashorn R, Vilja P, Heinonen PK, Kujansuu E, Tuohimaa P. Spontaneous luteinizing hormone surge and cleavage of in vitro fertilized embryos. *Fertil Steril* 1988; 49: 479-82.
8. Daya S, Gunby J, Hughes EG, Collins JA, Sagle MA. Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1995; 64: 347-54.
9. Howles CM, Loumaye E, Giroud D, Luyet G. Multiple follicular development and ovarian steroidogenesis following subcutaneous administration of a highly purified urinary FSH preparation in pituitary desensitized women undergoing IVF: a multicentre European phase III study. *Hum Reprod* 1994; 9: 424-30.
10. Wikland M, Borg J, Hamberger L, Svalander P. Simplification of IVF: minimal monitoring and the use of subcutaneous highly purified FSH administration for ovulation induction. *Hum Reprod* 1994; 9: 1430-6.
11. Chappel S, Kelton, C, Nugent N. Expression of human gonadotropins by recombinant DNA methods. In Genazzani, A.R. and Petraaglia, F. (eds), *Proceedings of the 3rd World Congress on Gynecological Endocrinology* Parthenon Publishing Group, Carnforth, UK, 1992. p.179-184.
12. Olijve W, de Boer W, Mulders JW, van Wezenbeek PM. Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon).

- Mol Hum Reprod 1996; 2: 371-82.
13. Balen AH, Hayden CJ, Rutherford AJ. What are the clinical benefits of recombinant gonadotropins? Clinical efficacy of recombinant gonadotropins. Hum Reprod 1999; 14: 1411-7.
  14. Howles CM. Genetic engineering of human FSH (Gonal-F). Hum Reprod Update 1996; 2: 172-91.
  15. Loumaye E. The control of endogenous secretion of LH by gonadotropin-releasing hormone agonists during ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization and embryo transfer. Hum Reprod 1990; 5: 357-76.
  16. Recombinant Human FSH Product Development Group. Recombinant follicle stimulating hormone: development of the first biotechnology product for the treatment of infertility. Hum Reprod Update 1998; 4: 862-81.
  17. Out HJ, Mannaerts BM, Driessen SG, Bennink HJ. A prospective, randomized, assessor-blind, multicentre study comparing recombinant and urinary follicle stimulating hormone (Puregon versus Metrodin) in in-vitro fertilization. Hum Reprod 1995; 10: 2534-40.
  18. Redfeam A, Hughes EG, O'Connor M, Dolovich J. Delayed-type hypersensitivity to human gonadotropin: case report. Fertil Steril 1995; 64: 855-6.
  19. Albano C, Smits J, Camus M, Bennink HC, Van Steirteghem AC, Devroey P. Pregnancy and birth in an in-vitro fertilization cycle after controlled ovarian stimulation in a woman with a history of allergic reaction to human menopausal gonadotropin. Hum Reprod 1996; 11: 1632-4.
  20. Howles CM. Role of LH and FSH in ovarian function. Mol Cell Endocrinol 2000; 161: 25-30.
  21. Levy DP, Navarro JM, Schattman GL, Davis OK, Rosenwaks Z. The role of LH in ovarian stimulation: exogenous LH: let's design the future. Hum Reprod 2000; 15: 2258-65.
  22. Bergh C, Howles CM, Borg K, Hamberger L, Josefsson B, Nilsson L, et al. Recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH; Gonal-F) versus highly purified urinary FSH (Metrodin HP): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. Hum Reprod 1997; 12: 2133-9.
  23. Hoomans EH, Andersen AN, Loft A, Leentveld RA, van Kamp AA, Zech H. A prospective, randomized clinical trial comparing 150 IU recombinant follicle stimulating hormone (Puregon<sup>®</sup>) and 225 IU highly purified urinary follicle stimulating hormone (Metrodin-HP<sup>®</sup>) in a fixed-dose regimen in women undergoing ovarian stimulation. Hum Reprod 1999; 14: 2442-7.
  24. Frydman R, Howles CM, Truong F. A double-blind, randomized study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH; Gonal-F) with highly purified urinary FSH (Metrodin-HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. The French Multicentre Trialists. Hum Reprod 2000; 15: 520-5.
  25. Lenton E, Soltan A, Hewitt J, Thomson A, Davies W, Ashraf N, et al. Induction of ovulation in women undergoing assisted reproductive techniques: recombinant human FSH (follitropin alpha) versus highly purified urinary FSH (urofollitropin HP). Hum Reprod 2000; 15: 1021-7.
  26. Camier B, Avril C, Cohen J. A multicentre, prospective, randomised study to compare a low dose protocol versus conventional administration of recombinant human follicle stimulating hormone (Gonal-F<sup>®</sup>) in normo-responder women undergoing IVF/ICSI (abstract) *14th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology Gothenburg, Sweden, 1998 June*. Hum Reprod 13 (Abstract BK.1), P-058.
  27. Brinsden P, Akagbosu F, Gibbons LM, Lancaster S, Gourdon D, Engrand P, et al. A comparison of the efficacy and tolerability of two recombinant human follicle-stimulating hormone preparations in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 2000; 73: 114-6.

28. Khalaf Y, Taylor A, Pettigrew R. The relative clinical efficacy of recombinant follicle stimulating hormone to the highly purified urinary preparation. *Assist Reprod Rev* In press 2000.
29. Mannaerts BM, Rombout F, Out HJ, Coelingh Bennink H. Clinical profiling of recombinant follicle stimulating hormone (rFSH; Puregon): relationship between serum FSH and efficacy. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 153-61.
30. Ravhon A, Lavery S, Aurell R, Trew G, Margara R, Winston R. Clinical experience with recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and urinary FSH: a retrospective case- controlled analysis. *Fertil Steril* 2001; 75: 920-5.
31. Bennink HJTC, Fauser BCJM, Out HJ. Recombinant follicle-stimulating hormone (FSH; Puregon) is more efficient than urinary FSH (Metrodin) in women with clomiphene citrate-resistant, normogonadotropic, chronic anovulation: a prospective, multicenter, assessor-blind, randomized, clinical trial. *Fertil Steril* 1998; 69: 19-25.
32. Recombinant Human FSH Study Group. Clinical assessment of recombinant human follicle-stimulating hormone in stimulating ovarian follicular development before in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 63: 77-86.
33. Jansen CA, van Os HC, Out HJ, Coelingh Bennink HJ. A prospective randomized clinical trial comparing recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and human menopausal gonadotropins (Humegeon) in non-down-regulated in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod* 1998; 13: 2995-9.
34. Hedon B, Out HJ, Hugues JN, Camier B, Cohen J, Lopes P, et al. Efficacy and safety of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) in infertile women pituitary-suppressed with triptorelin undergoing in-vitro fertilization: a prospective, randomized, assessor-blind, multicentre trial. *Hum Reprod* 1995; 10: 3102-6.
35. Yarali H, Bukulmez O, Gurgan T. Urinary follicle-stimulating hormone (FSH) versus recombinant FSH in clomiphene citrate-resistant, normogonadotropic, chronic anovulation: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 1999; 72: 276-81.
36. Delvigne A, Dubois M, Battheu B, Bassil S, Meuleman C, De Sutter P, et al. The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 1993; 8: 1361-6.
37. Out HJ, Braat DD, Lintsen BM, Gurgan T, Bukulmez O, Gokmen O, et al. Increasing the daily dose of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) does not compensate for the age-related decline in retrievable oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2000; 15: 29-35.
38. Out HJ, Lindenberg S, Mikkelsen AL, Eldar-Geva T, Healy DL, Leader A, et al. A prospective, randomized, double-blind clinical trial to study the efficacy and efficiency of a fixed dose of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1999; 14: 622-7.
39. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 1999; 14: 1431-4.
40. De Placido G, Alviggi C, Mollo A, Strina I, Varrichio MT, Molis M. Recombinant follicle stimulating hormone is effective in poor responders to highly purified follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 2000; 15: 17-20.
41. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Amin YM, Kamal A. Prospective controlled randomized study of in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in the treatment of tubal factor infertility with normal semen parameters. *Fertil Steril* 1996; 66: 753-6.
42. Staessen C, Camus M, Clasen K, De Vos A, Van Steirteghem A. Conventional in-vitro fertilization

versus intracytoplasmic sperm injection in sibling oocytes from couples with tubal infertility and normozoospermic semen. *Hum Reprod* 1999; 14: 2474-9.

43. Bukulmez O, Yarali H, Yucel A, Sari T, Gurgan T. Intracytoplasmic sperm injection versus in vitro fertilization for patients with a tubal factor as their sole cause of infertility: a prospective, randomized trial. *Fertil Steril* 2000; 73: 38-42.

44. Horsman G, Talbot JA, McLoughlin JD, Lambert A,

Robertson WR. A biological, immunological and physico-chemical comparison of the current clinical batches of the recombinant FSH preparations Gonal-F and Puregon. *Hum Reprod* 2000; 15: 1898-902.

45. Tulppala M, Aho M, Tuuri T, Vilska S, Foudila T, Hakala-Ala-Pietila T, et al. Comparison of two recombinant follicle-stimulating hormone preparations in in-vitro fertilization: a randomized clinical study. *Hum Reprod* 1999; 14: 2709-15.