: 30 3 2003
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 30, No. 3, 2003, 9

동결보존 배아이식에서 분비기 자궁내막 유도시 프로게스테론 투여 방법에 따른 착상율과 임신율의 비교

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과[1], 생식내분비 및 불임 연구실[2]

박찬우[1] · 허 걸[1] · 김문영[1] · 송현정[1] · 김혜옥[1] · 양광문[1] · 김진영[1]
송인옥[1] · 유근재[1] · 천강우[2] · 변혜경[2] · 궁미경[1] · 강인수[1]

Implantation Rate and Clinical Pregnancy Rate According to Dosage and Timing of Progesterone Administration for Secretory Endometrial Preparation in Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycles

Chan Woo Park[1], Kuol Hur[1], Moon Young Kim[1], Hyun Jung Song[1], Hye Ok Kim[1], Kwang Moon Yang[1], Jin Yeong Kim[1], In Ok Song[1], Keun Jae Yoo[1], Kang Woo Cheon[2], Hye Kyung Byun[2], Mi Kyoung Koong[1], Inn Soo Kang[1]

[1]Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, [2]Laboratory of Reproductive Biology and Infertility, Samsung Cheil Hospital and Women's Healthcare Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Objective: To evaluate the difference of implantation rate (IR) and clinical pregnancy rate (CPR) between two protocols of endometrial preperation in women undergoing frozen-thawed embryo transfer (FET) cycles.

Methods: This study was performed during the different time periods: A retrospective study from January 2000 to June 2001 (phase I) and a prospective study from July 2001 to March 2002 (phase II). All the patients received estradiol valerate (6 mg p.o. daily) starting from day 1 or 2 of the menstrual cycle without pituitary down regulation. Progesterone was administered around day 14 after sonographic confirmation of endometrial thickness ≥7 mm and no growing follicle. In Group A (n=88, 99 cycles) of phase I, progesterone was administered i.m. at a dose of 50 mg daily from one day prior to thawing of pronuclear (PN) stage frozen embryo or three days prior to thawing of 6-8 cell stage frozen embryo and then each stage embryos were trasnsferred 2 days or 1 day later after thawing. In Group B (n=246, 299 cycles) of phase I, patients recieved progesterone 100 mg i.m. from one day earlier than group A; two days prior to PN embryo thawing, four days prior to of 6-8 cell embryo thawing.

During the phase II, to exclude any differences in embryo transfer procedures, in Group 1 (n=23, 28 cycles) of phase II embryo was transfered by one who have used the progesterone protocol since the phase I. In Group 2 (n=122, 139 cycles) of phase II embryo was transfered by one who use the progesterone protocol from the phase II.

Results: When compared across the phase and group, there were no significant differences in the

책임저자: 박찬우
주관책임자: 강인수, 우) 100-380 서울특별시 중구 묵정동 1-19, 성균관대학교 삼성제일병원 산부인과
Tel: (02) 2000- 7177, Fax: (02) 2000-7793, e-mail: novak21c@yahoo.co.kr

characteristics. During the phase I, there were significant increase in IR (14.4% vs 5.9%, p=0.001) and CPR (28.3% vs 14.5%, p=0.000) in group A. During the phases II, IR (11.8% vs 10.6%) and CPR (27.6% vs 27.3%) show no differences between two groups.

Conclusions: In FET cycles, IR and CPR are increased significantly by the change of dosage and timing of progesterone administraton. And the timing is considered to be more important factor because the dosage of progesterone did not affect implantation window in previous studies. Therefore, we suggest that progesterone administration in FET cycle should begin from one day prior to PN stage embryo thawing and three days prior to 6-8 cell stage embryo thawing.

Key Words: Progesterone, Frozen-thawed embryo transfer, Implantation rate, Clinical pregnancy rate

체외수정시술시 과배란유도에 의해 다수의 난포가 성장하게 되며 다태아 임신의 위험과 배양조건의 발달로 과거에 비해 적은 수의 배아를 이식함으로서 잉여의 배아를 동결보존하게 되어 체외수정시술의 60%에서 이식 후 잉여 배아가 발생하는 것으로 알려져 있다.[1] 또한 난소 과자극증후군의 위험이 있거나 자궁내막의 병변을 발견한 경우, 뜻하지 않은 질 출혈 등으로 배아이식을 취소하는 경우에도 난자채취 후 수정된 배아를 동결보존하고 다음 주기에 융해 (frozen-thawed embryo) 후 배아를 이식함으로써 과배란유도주기당 누적임신율 (cumulative pregnancy rate)의 향상을 기대할 수 있게 되었다.

동결보존 배아는 자연배란주기 (natural cycle)나 성숙된 자궁내막을 유도하기 위해 호르몬을 투여하는 주기 (hormonal replacement cycle)에서 이식될 수 있으며, 내인성 성선자극 호르몬의 조기상승을 억제하기 위해 gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRH-a)을 사용하여 뇌하수체를 down regulation하거나 고용량의 에스트로겐을 생리주기 1일 혹은 2일째부터 투여하는 방법들이 도입되었다. 그러나 융해시 80%에 이르는 높은 생존율에도 불구하고 임신율은 15~25%에 불과하며[2,3] 이는 동결보존 배아이식시 6-8세포기 배아를 이식하여 자연배란주기에서 보다 조기에 자궁강내에 도달하여 자궁내막의 수용성이 감소되고, 자궁내막과 배아간 불일치 (endometrial-embryo asynchrony)가 초래되어 임신율이 저하하는 것으로 사료된다.[4,5]

동결보존 배아이식을 위한 호르몬 투여시 증식기 자궁내막 (proliferative phase)을 유도하기 위해 에스트로겐을 투여하고 분비기 자궁내막 (secretory phase)으로의 전환을 위해 프로게스테론을 투여하지만 수용성 있는 자궁내막과 배아와 일치된 자궁내막을 유도하기 위한 프로게스테론의 적정 용량과 투여 시기에 대해 아직 정립된 바가 없는 실정이다.

이에 저자들은 두 시기로 나누어 Phase I에서는 후향적 연구를 통하여 배아이식을 위한 동결보존 배아 융해시 프로게스테론 투여일과 투여 용량을 달리하여 착상율 (implantation rate)과 임신율 (clinical pregnancy rate)을 비교하였으며, Phase II에서는 phase I의 결과가 배아이식시 시술자간 이식술기의 차이에 의한 것인지를 알아보기 위해 Phase I과 동일한 시술자에 의한 전향적 연구를 시행하여 시술자간 착상율과 임신율을 비교하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2000년 1월부터 2002년 3월까지 삼성제일병원 불임클리닉에 내원하여 동결보존된 배아로 자궁강내 이식을 시행한 환자들을 대상으로 동결 배아이식시 성숙된 자궁내막을 유도하기 (endometrial preperation) 위해 호르몬 대체 치료 (hormonal replacement therapy)를 시행한 환자를 대상으로 하였다. 증식기 자궁내막을 유도하기 위해 생리 시작 1일이나 2일째부터 고용량의 에스트로겐을 투여한 후 분비기 자궁내막으로 전환하기 위해 프로게스테론을 투여하였다.

1) Phase I

2000년 1월부터 2001년 6월까지 분비기 자궁내막을 위해 프로게스테론 투여시 투여 용량 및 동결보존 배아 융해시 프로게스테론 투여일을 달리하여 착상율과 임신율을 비교하였다. 체외수정시술시 난

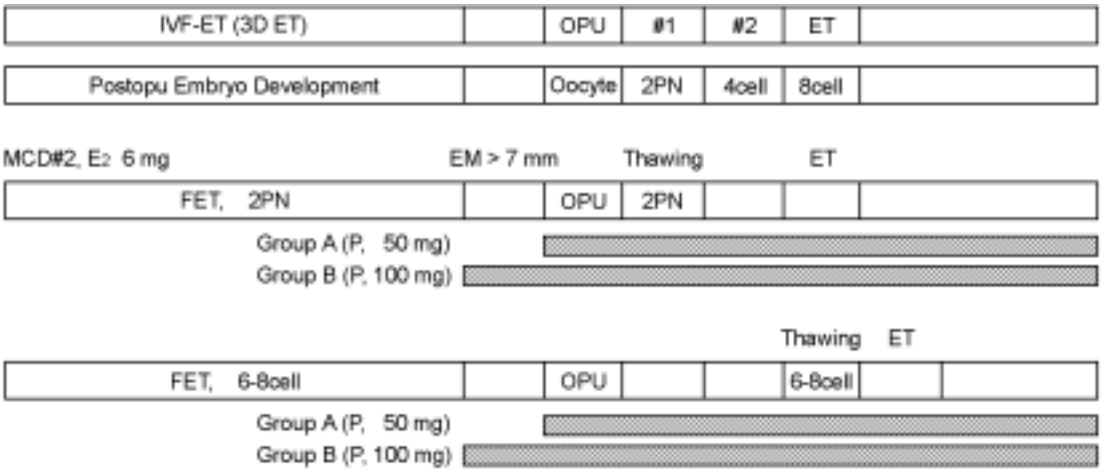

Figure 1. Scheme of protocols for secretory phase preparation during the Phase I.
E_2: estradiol valerate 6 mg p.o. / P: progesterone in oil i.m. ▩ administration of progesterone

자채취일을 기준으로 난자채취 후 1일째 전핵단계 (pronucleus, PN), 2일째 4세포기, 3일째 6-8세포기 배아로 발달하므로, 동결보존 배아이식시 난자채취일을 가상하여 동결보존 당시 전핵단계의 배아는 융해 1일 전, 6-8세포기 배아는 융해 3일 전을 난자채취일로 간주하였다.

Group A에서는 분비기 자궁내막을 위해 progesterone in oil (Progest®, 삼일제약) 50 mg을 근주하였다. 체외수정시술시 전핵단계의 배아는 난자채취 후 1일에 해당하므로 전핵단계의 배아 융해시 융해 1일 전부터 프로게스테론을 투여하였으며 6-8세포기의 배아로 성숙시킨 뒤 융해 후 2일째 이식하였다. 6-8세포기 배아는 난자채취 후 3일에 해당하므로 6-8세포기 배아 융해시에는 융해 3일 전부터 프로게스테론을 투여하였으며 생존을 확인하고 융해 후 1일째 이식하였다 (Figure 1).

Group B에서는 progesterone in oil 100 mg을 근주하였으며, group A 보다 1일 먼저 즉, 가상의 난자채취일 보다 1일 먼저 프로게스테론을 투여하여 전핵단계의 배아는 융해 2일 전, 6-8세포기 배아는 융해 4일 전부터 프로게스테론을 투여하였다 (Figure 1).

2) Phase Ⅱ

2001년 7월부터 2002년 3월까지 phase I의 연구결과 착상율과 임신율의 차이가 배아이식시 시술자간 이식술기 차이에 의한 것인지 알아보기 위해 전향적 연구를 시행하여 시술자간 착상율과 임신율을 비교하였다. 분비기 자궁내막 유도시 phase I의 연구 결과에 따라 group A의 프로게스테론 투여 용법을 사용하였다.

Group 1 (n=23, 28 cycle)에서는 group A의 프로게스테론 투여 용법을 phase I부터 사용한 시술자에 의해 배아가 이식되었으며, group B (n=122, 139 cycle)에서는 phase I의 연구 결과에 따라 phase II부터 group A의 프로게스테론 용법을 사용한 시술자에 의해 이식되었다.

2. 연구 방법

1) 과배란유도주기

Gonadotorpin releasing hormone-agonist (GnRH-a)의 장기투여법 (long protocol)과 단기투여법 (short protocol)을 이용하여 과배란유도를 시행하였다. Human chorionic gonadotropin (hCG)은 최대 우성난포의 평균 직경이 16 mm 이상인 난포가 3개 이상 있는 경우에 투여하였고, hCG 투여 34시간 후에 질식초음파를 이용하여 난자를 흡입하였다. 획득된 난자는 준비된 정자와 수정시켰고 수정된 배아는 4세포기나 8세포기에 자궁강내에 이식하였다.

2) 동결보존시 배아의 질 판정

배아의 할구의 크기가 균등하고 세포질 조각이나 공포가 없는 배아를 Grade I, 할구의 크기가 균등

하고 20% 이하 소량의 세포질 공포나 파편이 있는 배아를 Grade I-1, 할구의 크기가 균등하지 않고 20% 이하 소량의 세포질 공포나 파편이 있는 배아를 Grade II, 할구의 크기가 균등하지 않고 20% 이상의 소량의 세포질 공포나 파편이 있는 배아를 Grade II-1, 할구의 크기가 균등하지 않고 50% 이상의 심한 세포질 파편이 있는 경우를 Grade III로 판정하였다. Grade I-1 이상의 배아를 양질의 배아 (good embryo)로 간주하였다.

3) 배아의 동결보존

전핵단계의 배아와 6-8세포기 배아를 20% SSS (serum substitute supplement)가 포함된 dPBS (phosphate buffered saline)에 넣어 37℃ (warm plate 사용)에서 5분간 방한 후 1.5 M PROH (propanediol), 20% SSS가 포함된 dPBS 용액에 넣어 상온에서 10분간 방치한다. 이후 배아를 1.5 M PROH, 0.1 M sucrose, 20% SSS가 포함된 dPBS 용액에 넣어 상온에서 10분간 방치하고 이때 0.25 ml straw에 본 동결용액 약 50 ul와 함께 배아를 두개씩 넣고 straw의 양끝을 sealing powder로 봉합한다. 세포동결기 (Kryo-10, Planer or Cryo-Magic, 세영상사)를 이용하여 상온에서 7℃까지는 -2℃/min의 속도로 냉각하고, straw의 온도가 -7℃에 도달하면 미리 액체질소로 냉각시킨 forcep을 이용하여 식빙 (seading)을 시행한다. -7℃부터 -30℃까지는 0.3℃/min의 속도로 냉각하고, 이후 -30℃에서 -196℃까지는 -30℃/min의 속도로 냉각한다. 그 후 straw를 액체질소통에 넣어 보관한다.

4) 동결보존 배아의 융해

배아의 융해는 급속융해 방법 (500℃/min)을 이용하여 예정된 배아이식일 2일 전에 실시하였다. 배아가 들어있는 straw를 액체질소에서 꺼내 상온에서 40초간 방치한 후, 37℃ 항온수조 혹은 손바닥의 체온을 이용해서 1분 동안 완전히 녹인다. 융해된 배아는 1.0 M PROH, 0.2 M sucrose, 20% SSS가 포함된 dPBS 용액에 넣어, 상온에서 5분간 방치한다. 0.5 M PROH, 0.2 M sucrose, 20% SSS가 포함된 dPBS 용액에 넣어, 상온에서 5분간 방치하고 0.2 M sucrose, 20% SSS가 포함된 dPBS 용액으로 배아를 옮겨 37℃ (warm plate 사용)에서 10분간 방치한다. 마지막으로 20% SSS가 포함된 dPBS로 배아를 옮겨 37℃ (warm plate 사용)에서 10분간 방치한 후, 배양액으로 옮겨 37℃, 5% CO2 incubator에서 배아이식 직전까지 배양한다.

5) 자궁내막 유도 (endometrial preparation)

생리 시작 1일이나 2일째부터 estradiol valerate (Progynova®, Schering AG)를 일일 용량 6 mg으로 경구 투여하였으며, 혈중 농도가 100 pg/ml 미만이거나 자궁내막 두께가 7 mm 미만인 경우 용량을 8 mg로 증량하였다. 자궁내막의 두께가 7 mm 이상으로 두꺼워진 경우 분비기 자궁내막을 유도하기 위해 프로게스테론을 투여하여 배아이식 후 12일간 임신 여부가 확인될 때까지 에스트로겐과 함께 투여하였다.

6) 임신의 확인

임신 여부는 동결보존 배아이식 후 12일째 혈청 β-hCG를 측정하여 5 mIU/ml 이상이면 임신으로 판정하였으며 질식초음파를 이용하여 임신낭이 확인된 경우를 임상적 임신 (clinical pregnancy)으로 판정하였다. 임신이 성립되지 않은 경우에는 투여하던 에스트로겐과 프로게스테론을 중단하여 소퇴성 출혈을 유도하였으며, 임신이 성립된 경우에는 luteo-placental shift가 일어나는 임신 제10주까지 계속하여 투여하였다.

7) 통계 분석

통계적인 분석은 Sudent's t-test와 chi-square test 등을 이용하였으며, $p<0.05$인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. Phase I

동결 배아이식시 두 group간 환자들의 평균 연령, 불임기간, 자궁내막의 두께, 이식된 배아의 수 및 이식된 배아 가운데 양질의 배아 수에는 차이가 없었다 (Table 1).

동결보존 배아이식 후 12일째 측정한 혈청 β-hCG 결과 5 mIU/ml 이상으로 임신으로 판정한 경우는 group A와 group B에서 각각 38례와 53례였으나 생화학적 임신 (biochemical pregnancy)이 각각 9례와 10례 있었으며 group B에서는 기형을 동반한 염색체 이상으로 치료적 유산을 시행한 1례가 있었으며, 각각 이식주기당 23.2% (23/99)와 11.7% (35/299)의

Table 1. Cycle chracteristics in two groups during the Phase I

Phase I	Group A	Group B	p-value
Patients	88	246	
Cycles	99	299	
Age (yrs)	33.7±3.9	32.2±3.6	NS
Infertility duration (mon)	47.7±42.5	39.7±32.4	NS
No. of embryo transferred	3.4±1.3	3.8±1.1	NS
No. of good embryo transferred	1.7±1.3	1.8±1.3	NS
Endometrial thickness (mm)	8.8±2.3	8.9±2.1	NS

Values: mean±SD, NS: not significant

Table 2. Pregnancy outcomes in two groups during the Phase I

Phase I	Group A	Group B	p-value
hCG > 5 mIU/ml	38	53	
Biochemical pregnacy	9	10	
Clinical abortion	5	6	
Therapeutic abortion	0	1	
2nd trimester loss	1	1	
Delivery	23	35	
Implantation rate	14.5% (49/338)	5.9% (66/1123)	0.000
Clinical pregnancy rate	28.3% (28/99)	14.4% (43/299)	0.001
Delivery rate	23.2% (23/99)	11.7% (35/299)	0.003

분만율을 보여 유의한 차이가 있었다. 이식주기당 착상율과 임신율은 group A에서 14.5%와 28.3%였으며 group B에서는 5.9%와 14.4%로 유의한 차이가 있었다 (Table 2).

Phase I의 후향적 연구 결과 group A에서 착상율, 임신율과 분만율이 유의하게 높았으며 배아이식시 시술자간 이식술기의 차이에 의한 것인지를 알아보기 위해 phase II에서 후향적 연구를 진행하였다.

2. Phase Ⅱ

두 group간 환자들의 평균 연령, 불임기간, 자궁내막의 두께, 이식된 배아의 수 및 이식된 배아 가운데 양질의 배아 수에는 차이가 없었다 (Table 3).

혈청 β-hCG 결과 양성으로 나온 경우는 group 1와 group 2에서 각각 9례와 49례 있었으며 생화학적 임신은 각각 1례와 11례이었다. 질초음파에서 임신낭을 보인 경우는 각각 8례와 38례로 이식주기당 28.6% (8/28)와 27.3% (38/139)의 임신율을 보였다. 이식주기당 착상율도 11.9%와 10.6%로 두 군간에 차이가 없어 시술자간 이식술기에 따른 차이는 없었다. Group 2에서 이소성 임신 (heterotopic pregnancy)이 1례 있었으며, 각각 21.4% (5/28)와 23.0% (26/139)의 분만율을 보였다 (Table 4).

한편 phase II의 결과가 phase I과 비교하여 연구 대상군의 차이에 의한 것인지를 알아보기 위해 각 군에서 phase I과 phase II의 대상군의 일반적 특징을 비교하였다. 각 군에서 phase I과 phase II간 환자의 평균 연령, 불임기간, 자궁내막의 두께, 이식된 배아 수 및 이식된 배아 가운데 양질의 배아 수에 차이가 없어 대상군의 차이가 없음을 알 수 있

Table 3. Cycle chracteristics in two groups during the Phase II

Phase II	Group 1	Group 2	p-value
Patients	23	122	
Cycles	28	139	
Mean age	32.2±3.0	31.9±4.7	NS
Infertility duration (mon)	46.4±31.9	46.3±35.1	NS
No. of embryo transferred	3.6±0.9	3.6±1.2	NS
No. of good embryo transferred	2.2±1.5	2.1±1.3	NS
Endometrial thickness (mm)	8.5±2.1	8.9±2.6	NS

Values: mean±SD, NS: not significant

Table 4. Pregnancy outcomes in two groups during the Phase II

Phase II	Group 1	Group 2	p-value
hCG > 5 mIU/ml	9	49	
Biochemical preg.	1	11	
Clinical abortion	2	5	
Heterotopic preg.	0	1	
Delivery	6	32	
Implantation rate	11.9% (12/102)	10.8% (53/499)	NS
Clinical pregnancy rate	28.6% (8/28)	27.3% (38/139)	NS
Delivery rate	21.4% (6/28)	23.0% (32/139)	NS

NS: not significant

었다.

따라서 분비기 자궁내막을 위해 프로게스테론 투여시 난자채취일을 가상하여 전핵단계의 배아는 융해 1일 전, 6-8세포기 배아는 융해 3일 전부터 프로게스테론을 투여하여 착상율과 임신율을 증가시킬 수 있었다.

고 찰

체외수정시술시 다태아 임신을 줄이기 위해 2~3개의 배아를 이식한 후 잉여의 배아를 동결보존하며, 과배란유도시 난소 과자극증후군의 위험이 있는 경우 난자채취 후 체외수정된 배아를 동결보존하여 다음 주기에 융해 후 이식함으로서 체외수정시술주기의 취소를 방지하고 난소 과자극증후군을 최소화할 수 있게 되었다.

동결보존 배아이식시 신선배아를 이용한 체외수정시술에 비해 상대적으로 낮은 배아이식주기당 임신율 (29.1% vs. 19.3%)과 분만율 (23.4% vs. 15.6%)을 보고하고 있으나[3] 난자채취당 임신율을 증가시킬 수 있는 유용한 시술로 자리잡고 있다.

동결보존 배아는 자연배란주기나 호르몬 투여주기 (hormonal replacement cycle)에서 이식될 수 있으며, 내인성 성선자극 호르몬의 상승을 억제하기 위해 고용량의 호르몬을 투여하거나 gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRH-a)을 사용하는 방법들이 도입되었다.

자연배란주기에서의 동결 배아이식은 호르몬 투여가 필요없는 장점이 있으나 배아이식의 기준이 되는 배란 시기를 알기 위해 초음파 및 호르몬 검사를 자주 시행하는 불편함이 있으며 황체화 호르몬의 조기상승 (premature LH surge)에 따른 취소율

이 6%에 달하여[6] 성공적인 배아이식에도 불구하고 사용이 매우 제한적이다.[7~9]

성숙된 자궁내막을 유도하기 위해 호르몬을 투여하는 주기는 난자공여 프로그램에서의 연구를 바탕으로 하고 있으며, 초기에는 자연배란주기와 유사한 호르몬 변화를 유도하기 위해 에스트로겐을 2 mg부터 4 mg, 6 mg으로 단계적으로 증량하고 프로게스테론을 투여하는 sequential and incremental 방법이 제안되었다.[6~8] 이후 Serhal과 Craft는 자연배란주기와 유사한 호르몬 변화가 배아의 착상에 필수적인 것은 아니라고 주장하였으며, 호르몬 투여를 단순화하여 생리주기 제1일부터 에스트로겐 6 mg을 투여하고 생리주기 제15일부터 프로게스테론을 투여하는 simple hormonal regimen을 제안하여 난소부전 환자에서 뿐만 아니라 정상 생리주기를 지닌 환자의 난자공여주기에서도 매우 효과적임을 보고하였다.[10]

동결보존 배아이식을 위한 호르몬 투여시 정상 난소기능을 지닌 환자에서는 LH 조기상승이 유발될 수 있으며 이를 방지하기 위해 GnRH-a를 사용하여 뇌하수체를 down regulation시킨 후 호르몬을 투여하여, 자연배란주기에서의 배아이식과 유사한 임신율을 보이고 있다.[6,11~14] GnRH-a를 사용할 경우 뇌하수체 기능을 down regulation시킨 후 외부에서 호르몬을 투여함으로서 자연배란주기에서 이식 시기를 맞추기 위해 시행하는 초음파, 호르몬 검사를 줄일 수 있으며, LH 조기상승으로 인한 주기의 취소를 방지하고, 불규칙한 생리주기를 지닌 환자에서 유용하게 사용될 수 있으며, 에스트로겐 투여시 유연성이 있어 12일에서 길게는 20일간 투여할 수 있으나[15] 치료주기가 연장되고 뇌하수체의 down regulation으로 폐경 후 증상을 경험할 수 있으며, 때로는 난소자극에 의해 난소 낭종이 발생할 수 있는 단점이 있다.

뇌하수체의 down regulation 없이 호르몬을 투여한 주기에서 에스트로겐 투여시 생리주기 3일째부터 투여한 경우 LH가 높게 상승되며,[16] 1일째 투여시에는 뇌하수체가 억제되어 LH 조기상승을 방지할 수 있었다는 보고가 있다.[17~19] 에스트로겐 용량과 관련하여 micronized 17β-oestradiol을 하루 2 mg 생리주기 2일째부터 3일간 투여한 경우 취소율이 7.4%에 달했으며,[2] Queenan 등은 고용량으로 하루 6 mg을 생리주기 1일째부터 투여하여 취소율이 2%로 감소되었다고 보고하였다.[20] LH 조기상승으로 인한 주기 취소를 방지하기 위하여 GnRH-a 대신 고용량의 에스트로겐을 투여함으로써 보다 단순화시키고 비용을 절감하고 GnRH-a를 사용한 경우와 유사한 이식주기당 임신율 (26.4% vs 21.1%)과 착상율 (9.5% vs 9%)을 보고하여[20] 본 연구에서는 LH 조기상승을 방지하고 증식기 자궁내막을 유도하기 위해 가급적 생리 1일이나 2일째부터 고용량의 에스트로겐 (estradiol valerate, 6 mg)을 투여하였다.

자연배란주기에서 배란 후 황체에서 1일 25 mg의 프로게스테론이 분비되어 3~25 ng/ml의 혈청 농도를 나타내며, progesterone in oil 25 mg 근주시 황체기에 해당하는 프로게스테론 농도를 얻을 수 있으며, 100 mg 근주시에는 임신시에 해당하는 프로게스테론 농도를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다. 프로게스테론은 근주, 경구, 질정의 방법으로 투여할 수 있으며, 근주시 효과가 24~48시간 동안 오래 지속되는 것으로 알려져 있으며 질정을 투여할 경우 근주 용량의 4배를 투여하여야 근주시와 같은 혈청 농도를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있으나 분비기 자궁내막을 유도하는데 있어 가장 효과적인 투여 방법 및 용량에 대해 일치된 견해가 없는 실정이다. 저자들은 분비기 자궁내막을 유도하기 위해 progesterone in oil을 근주하였으며 용량을 50 mg과 100 mg으로 달리하였다.

배아이식과 관련된 자궁내막의 발달은 난자공여주기에서의 연구를 바탕으로 하고 있으며, 난자공여주기에서 배아이식을 위한 분비기 자궁내막을 유도하기 위해 프로게스테론 투여 용량과 투여 시기를 달리하여 여러 방법들이 제안되었다.[21~24] Serhal과 Craft[24]는 프로게스테론 100 mg을 공여자 (donor)의 난자채취일 1일 전부터 투여하였으며, Asch 등[24]은 프로게스테론 50 mg을 공여자의 난자채취일부터 투여하여 각각 성공적인 임신을 보고하였다. 이에 저자들은 난자공여주기에서의 연구를 참고로 동결보존 배아이식시 난자채취일을 가상하여 난자채취일부터 프로게스테론 50 mg을 투여한 군 (Group A)과 난자채취일 하루 전부터 프로게스테론 100 mg을 투여한 군 (Group B)간 배아이식 후 착상율과 임

신율을 비교하였으며, Group A에서 유의하게 높은 착상율과 임신율을 보였다.

난자공여주기에서 프로게스테론 투여 후 배아이식 시기와 관련한 연구에서 Navot 등은 프로게스테론 분비 (initiation) 후 2~4일을 배아이식의 최적기라 하였으며 프로게스테론 분비 후 2일 전이나 4일 후에는 임신에 성공하지 못하였음을 보고하였다.[25] Prapas 등도 정상의 28일 생리주기에서 프로게스테론이 분비되는 생리주기 제15일을 기준으로 18과 19일이 4-8세포기 배아이식에 가장 적합한 시기라 하여 Navot 등의 주장을 뒷받침하였으며,[26] Rosenwaks는 생리 제17에서 19일까지를 이식에 적합한 시기라 보고하였다.[27] 본 연구에서 Group A는 프로게스테론 투여 후 전핵단계의 배아는 4일째, 6-8세포기 배아는 5일째 이식되었으며, Group B는 각각 5일째, 6일째 이식되었다. 본 연구는 동결보존 배아의 이식주기를 대상으로 한 연구로서 난자공여주기에서의 연구와는 차이가 있을 수 있지만 이식되는 배아에 차이가 있을 뿐 착상을 위한 분비기 자궁내막을 유도함에 있어 차이가 없으므로 Group A에서의 유의한 착상율과 임신율의 증가는 프로게스테론 투여 후 배아의 이식되는 시기와 관련된다고 본다.

배아의 착상 기전은 아직까지 확실하게 알려져 있지 않으나 자궁내막의 성숙정도가 중요한 요소 중의 하나로 알려져 있으며, 혈중 프로게스테론 농도는 자궁내막의 성숙과 밀접한 관계있어 혈중 프로게스테론 농도가 높은 경우 더 성숙된 조직학적 소견을 보인다는 보고가 있다.[28] 자궁내막의 성숙은 프로게스테론 농도에 비례하며, 배란 전후 고용량의 프로게스테론을 근주하여 착상율과 임신율이 증가하였다는 보고가 있어[29] Group B에서는 프로게스테론 용량을 증량하여 100 mg 투여하였으나 50 mg을 투여한 group A에서 높은 착상율과 임신율을 나타냈다. 투여 용량 뿐만 아니라 프로게스테론 투여일을 달리하였으므로 배아이식시까지 투여된 프로게스테론 용량의 차이에 의한 것인지는 확실지는 않으나, 기존의 연구들에서 배아이식을 위한 분비기 자궁내막 유도시 25 mg에서 100 mg에 이르는 다양한 농도의 progesterone in oil i.m.을 사용하고 있음을 고려할 때 투여 용량의 차이에 의한 것이라고 보기는 어렵다.

Elder와 Dale는 동결보존 배아 융해시 80%의 생존율과 배아이식 후 28%의 임신율을 보고하여 저자들의 Group A에서 28.3%의 임신율과 유사하였으며, 이들은 동결배아 융해시 높은 생존율에도 불구하고 임신율이 낮은 것은 배아에 대한 자궁내막 수용성의 감소에 기인한 것으로 추측하였다.[1] 28일의 자연배란주기에서 배란 후 96~120시간, 즉 생리주기 제18일이나 제19일에 상실배 (morula) 혹은 포배기 (blastocyst) 배아가 자궁내막에 도달하는 반면, 체외수정시술시에는 난자채취 후 1일째 전핵단계, 2일째 4세포기, 3일째 6-8세포기 배아로 발달하며 난자채취 후 3일째 배아를 이식하는 경우에는 자연배란주기에서 보다 조기에 자궁강내에 도달하여 자궁내막의 수용성이 감소하고, 자궁내막과 배아간 불일치 (endometrial-embryo asynchrony)가 초래되어 임신율이 저하하는 것으로 추정하였으며,[22,28] 본 연구에서 체외수정시술시 난자채취 후 3일째 배아이식을 한 경우와 같이 융해 후 전핵단계의 배아는 성숙과정을 거쳐 6-8세포기 배아로, 6-8세포기 배아는 융해 후 다음날 이식하여 자궁내막 수용성이 감소되어 융해 후 높은 생존율에 비해 낮은 임신율을 보인 것으로 보인다.

성공적인 착상을 위해서는 양질의 배아와 수련된 배아이식 기술, 성숙된 자궁내막이 중요한 인자로 알려져 있다. Phase I의 연구에서 이식된 양질의 배아가 두 군간 차이가 없는 가운데 Group A에서의 유의한 착상율의 증가가 배아이식시 시술자간 이식술기에 따른 차이에 의한 것인지를 phase II에서 알아본 결과 시술자간 이식술기에 의한 차이는 없었다. 따라서 유의한 착상율의 증가는 자궁내막에 기인한 것으로 사료되며 배아이식을 위한 분비기 자궁내막 유도시 프로게스테론의 투여 용량 보다는 투여 시기가 중요하며, 프로게스테론 투여 후 배아가 이식되기까지의 기간이 중요한 것으로 사료된다. 또한 이식되는 배아와 자궁내막간 일치 (endometrial-embryo synchrony)를 위해 포배기 배아단계에서 동결보존을 시행하거나 융해 후 포배기 배아로 성숙시킨 후 이식하는 것을 고려할 수 있으리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Elder K, Dale B. In vitro fertilization. In: Cryopreservation. 2nd ed. Cambridge University Press; 2002. p.192-227.
2. Pattinson AH, Greene CA, Fleetham J, Anderson-Sykes SJ. Exogenous control of the cycle simplifies thawed embryo transfer and results in pregnancy rate similar to that of natural cycles. Fertil Steril 1992; 58: 627-9.
3. Society for Assisted Reproductive Technology American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1994 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. Fertil Steril 1996; 66: 697-705.
4. Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmoush L, Sauer MV. Pharmacokinetics and endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a comparative study. Fertil Steril 1994; 62: 485-90.
5. Rosenwaks Z, Veeck LL, Liu HC. Pregnancy following transfer of in vitro fertilized donated oocytes. Fertil Steril 1986; 45: 417-20.
6. Sathanandan M, Macnamee MC, Rainsbury P, Wick K, Brinsden P, Edwards RG. Replacement of frozen-thawed embryos in artificial and natural cycles: a prospective semi-randomized study. Hum Reprod 1991; 6: 685-7.
7. Cohen J, Decane GW, Elsner CW, Kort HI, Massey JB, Norbury SE. Cryopreserved zygotes and embryos and endocrinologic factors in the replacement cycle. Fertil Steril 1988; 50: 61-7.
8. Testart J, Lasslle B, Belaisch-Allart J, Forman R, Hazout A, Fries N, Frydman R. Human embryo freezing. Ann N Y Acad Sci 1988; 541: 532-40.
9. Muasher SJ, Kruithoff C, Simonetti S, Oehninger S, Acosta AA, Jones GS. Controlled preparation of the endometrium with exogenous steroids for the transfer of frozen-thawed pre-embryos in patients with anovulatory or irregular cycle. Hum Reprod 1991; 6: 443-5.
10. Serhal PF, Craft IL. Ovum donation - a simplified approach. Fertil Steril 1987; 48: 265-9.
11. Schmidt CL, de Ziegler D, Galiardi CL, Mellon RW, Taney FH, Kuhar MJ, Colon JM, Weiss G. Transfer of cryopreserved-thawed embryo: the natural cycle versus controlled preparation of the endometrium with gonadotropin-releasing hormone agonist and exogenous estradiol and progesterone (GEEP). Fertil Steril 1989; 52: 609-16.
12. Muasher SJ, Kruithoff C, Simonetti S, Oehninger S, Acosta AA, Jones GS. Controlled preparation of the endometrium with exogenous steroids for the transfer of frozen-thawed pre-embryos in patients with anovulatory or irregular cycle. Hum Reprod 1991; 6: 443-5.
13. Al-Shawaf T, Yang D, Al-Magid Y, Seaton A, Iketubosin F, Craft I. Ultrasonic monitoring during replacement of frozen/thawed embryo in natural and hormone replacement cycle. Hum Reprod 1993; 8: 2067-70.
14. Queenan J, Veeck LL, Seltman H, Muasher S. Transfer of cryopreserved-thawed pre-embryos in a natual cycle or a programmed cycle with exogenous hormonal replacement yields similar pregnancy results. Fertil Steril 1994; 62: 545-50.
15. Younis JS, Mordel N, Lewin A. Artificial endometrial preperation for oocyte donation: the effect of estrogen stimulation on clinical outcome. J Assist Reprod Genet 1992; 9: 222-7.
16. Remohi J, Vidal A, Pellicer A. Oocyte donation in low reponders to conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril 1993; 59: 1208-15.
17. Nezhat C, Kapas AE, Greenblatt RB, Mahesh VB. Estradiol implants for conception control. Am J Obstet Gynecol 1980; 138: 1151-6.
18. Godman RL, Bittman EL, Foster DL, Karsch FJ. The endocrine basis of the synergistic suppression

of luteinizing hormone by estradiol and progesterone. Endocrinology 1981; 109: 1414-7.
19. Yaron Y, Amit A, Mani A, Yovel I, Kogosowski A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. Uterine preparation with estrogen for oocyte donation: assessing the effect of treatment duration on pregnancy rates. Fertil Steril 1995; 63: 1284-6.
20. Queenan JT Jr, Ramey JW, Seltman HJ, Eure L, Veeck LL, Muasher SJ. Transfer of cryopreseved-thawed pre-embryos in cycle using exogenous steroids without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression yields favourable pregnancy results. Hum Reprod 1997; 12: 1176-80.
21. Navot D, Laufer N, Koplovic J, Rabinowitz R, Birkenfeld A, Lewin A, Granat M, Margalioth EJ, Schenker JG. Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of the ovaries. N Engl J Med 1986; 314: 806-11.
22. Rosenwaks Z, Veeck LL, Liu HC. Pregnancy following transfer of in vitro fertilized donated oocytes. Fertil Steril 1986; 45: 417-20.
23. Serhal PF, Craft IL. Ovum donation - a simplified approach. Fertil Steril 1987; 48: 265-9.
24. Asch R, Balmaceda J, Ord T. Oocyte donation and gamate intrafallopian transfer as treatment for premature ovarian failure. Lancet 1987; I: 687-8.
25. Navot D, Scott RT, Droesch K, Veek LL, Liu HC, Rosenwaks Z. The window of embryo transfer and the effuciency of human conception in vitro. Fertil Steril 1991; 55: 114-8.
26. Prapas Y, Prapas N, Jones EE. The window for embryo transfer in oocyte donation cycles depends on the duration of progesterone therapy. Hum Rerod 1998; 13: 1720-3.
27. Rosenwaks Z. Donor eggs:their application in morden reproductive technologies. Fertil Steril 1987; 47: 895-909.
28. Graf MJ, Reyniak JV, Battle-Mutter P, Laufer N. Histologic evaluation of the luteal phase in women following folicle aspiration for oocyte retrieval. Fertil Steril 1988; 49: 616-9.
29. Ben-Nun I, Siegal A, Ghetler Y, Kneti H, Jaffe R, Fejgin R. Effect of preovulatory progesterone administration on the endometrial maturation and implantation rate after in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil Steril 1990; 53: 276-81.