

과배란 유도 월경주기중 난포액내 Androstendione 및 Testosterone 농도에 관한 연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

이진용 · 윤보현 · 김정구 · 문신용 · 장윤석

—Abstract—

Androstendione and Testosterone Concentrations in Follicular Fluid in Hyperstimulated Menstrual Cycles

Jin Yong Lee, M.D., Bo Hyun Yoon, M.D., Jung Goo Kim, M.D., Shin Yong Moon, M.D.
and Yoon Seok Chang, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University,
Seoul, Korea

Follicular fluid (FF) and their matched oocytes were obtained from 58 follicles of 27 women who underwent an in vitro fertilization (IVF) procedure with ovarian hyperstimulation by clomiphene citrate (n=8), hMG(n=9), FSH/hMG(n=10). Follicular aspiration was performed 36 hours after human chorionic gonadotropin administration.

The concentration of androstendione (ADD), testosterone (T) was correlated with hyperstimulation regimens, the morphology of the oocyte-corona-cumulus complex (OCCC), oocyte fertilization, and the incidence of pregnancy after embryo transfer. The results were as follows.

1. According to hyperstimulation regimens, there was no significant difference in FF ADD and T concentrations of the similar morphology of OCCC.
2. In clomiphene-treated and FSH/hMG-treated cycles, FF ADD concentrations of preovulatory oocytes were 43.09 ± 9.53 ng/ml and 59.46 ± 9.09 ng/ml, those of immature oocytes were 96.98 ± 16.55 ng/ml and 116.13 ± 36.81 ng/ml, those of atretic oocytes were 246.5 ± 53.50 ng/ml and 634.25 ± 9.25 ng/ml respectively, reflecting the significant relationship between FF ADD level and morphologic maturity of OCCC ($p < 0.05$). But in hMG-treated cycles, such relationship was not found ($p > 0.1$).

In clomiphene-treated and FSH/hMG-treated cycles, FF T concentrations of preovulatory oocytes were 11.37 ± 2.38 ng/ml and 11.68 ± 1.73 ng/ml respectively which were significantly lower than those of atretic oocytes (25.1 ± 7.50 ng/ml and 23.25 ± 0.95 ng/ml respectively) ($p < 0.05$). But in all cycles, FF T concentrations of immature oocytes were not significantly different from those of preovulatory oocytes, atretic oocytes ($p > 0.1$).

3. In hMG-treated and FSH/hMG-treated cycles, FF ADD concentrations of fertilized oocytes were 32.43 ± 4.09 ng/ml and 42.61 ± 4.82 ng/ml respectively which were significantly lower than those of non-fertilized oocytes (72.18 ± 17.31 ng/ml and 108.09 ± 17.32 ng/ml respectively) ($p < 0.05$), but in clomiphene-treated cycles there was no significant difference ($p > 0.1$).

In FSH/hMG-treated cycles, FF T concentration of fertilized oocytes was 7.33 ± 1.06 ng/ml which was significantly lower than that of non-fertilized oocytes (20.3 ± 6.21 ng/ml) ($p > 0.02$), but in clomiphene-treated and hMG-treated cycles there was no significant difference ($p > 0.1$).

4. In all cycles FF ADD and T concentrations did not correlated with the success of pregnancy af-

* 본 연구는 1985년도 서울대학교병원 임상연구비 보조로 이루어진 것임.

ter embryo transfer.

Above results suggested that FF ADD and T may play an important role in oocyte maturation and fertilization, but their relationship with the success of psegnancy was not found.

서 론

인간난자의 체외수정 및 배아의 자궁내이식 (in vitro fertilization and embryo transfer)에 의한 임신 및 분만이 성공한 이래 (Edwards 등, 1980), 생식생리학의 많은 진보가 이루어 졌으며, 가능한 한 많은 수의 성숙된 배란직전의 난자를 흡인하는 것이 체외수정의 성공에 있어서 가장 중요한 요건으로 보고되고 있다 (Edwards 등, 1984; Laufer 등, 1983).

난자의 상태를 간접적으로 측정하기 위해 많은 연구가 행하여 졌으며, 난소의 난포에서 월경주기에 따라 다양하게 합성이 되는 각종 steroid 홀몬의 농도가 중요한 지표로 생각된다. 난포액내 steroid 홀몬 합성의 양상은 혈청의 steroid 홀몬 농도를 측정함으로써 간접적으로 연구되어 졌으나 (Ross, 1976). 정상월경주기에서는 1~2개의 난포를 제외한 대부분의 난포는 퇴화가 되며 퇴화되는 과정에 있는 난포의 내분비적인 기능은 성숙된 난포의 그것과 다르므로 (Younglai, 1971; Bjersing 등, 1972), 혈청에서 간접적으로 측정한 steroid 홀몬 농도의 양상은 개개의 난포의 상태를 정확히 반영할 수는 없었다 (McNatty 등, 1975). 1987년 MacNatty 등은 난포액의 호르몬 농도가 난포의 성장 및 난자의 성숙도등을 파악하는데 중요한 지표가 된다고 보고하였다.

정상월경주기에서 난포액내의 steroid 홀몬의 농도와 난포의 성장 및 난자의 성숙도 사이에는 밀접한 관계가 있다고 여러 저자들 (Sanyal 등, 1974; McNatty 등, 1979; Bomsel-Helmreich 등, 1979)에 의해서 보고되었다. 체외수정 및 배아의 자궁내이식 시술의 성공률을 증가시키기 위해서는 다수의 성숙된 난자를 획득하여야 하므로 (Edwards 등, 1984). 각종 배란유도제를 사용하여 과배란유도를 시행하는데, 이런 경우에는 불균형하게 난포가 성숙되어 난포액내의 각종 단백질 및 호르몬의 농도도 광범위한 변화를 보인다 (Dizerega 등, 1983; Marrs 등, 1984; Fowler 등, 1978). 또한 현미경하에서 성숙된 모양을 보이는 난자도 체외수정에 성공하지 못하는 경우가 흔하므로 체외수정 및 임신의 성공을 예견할 수 있는 정확한 지표가 필요하다.

저자들은 clomiphene citrate, human menopausal gonadotropin (이하 hMG로 약함), follicular stim-

ulating hormone (이하 FSH로 약함)등을 이용하여 과배란유도를 시행한 후 난포액을 흡인하여 체외수정이 시술된 난포의 난포액내에서 androtendione (이하 ADD로 약함), testosterone (이하 T로 약함)의 농도를 측정하여 각각의 과배란유도제에 따른 ADD 및 T 농도의 차이와 난자의 성숙도 및 수정율, 임신의 성공등과의 관련성을 비교·검토하고자 본 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1985년 4월 부터 12월까지 서울대학교병원 산부인과 시험관애기 프로그램에 등록이 되어 시술을 받은 27명을 대상으로 연구를 시행하였다. 대상환자의 연령은 모두 37세 이하이었으며, 혈청 prolactin, 갑상선자극 호르몬치가 정상이었으며, 자궁내막검사 및 혈청 progesterone 농도의 측정등에 의하여 정상 배란성 월경주기가 확인되었다.

제1군 (n=8)은 clomiphene citrate를 사용하여, 제2군 (n=9)은 hMG를 사용하여, 제3군 (n=10)은 FSH와 hMG를 병용하여 과배란유도를 시행하였다. 난자 배아가 시행된 92개의 난포액 가운데 56개는 난포액이 혈액에 의하여 오염이 되었거나, 난자를 발견하지 못하였거나, 2개 이상의 난자가 한 난포액에서 발견된 경우등을 제외한 58개의 난포액에서 흡인된 난포액을 연구대상으로 하였다.

2. 연구방법

1) 과배란유도와 난자 및 난포액의 흡인

제1군 (n=8)은 월경주기 제 5일 부터 제 9일까지 clomiphene citrate 100mg/일을 투여하고 월경주기 제 9일부터 매일 측정된 혈청 estradiol 농도의 양상이 plateau를 이루거나, 초음파단층촬영 (realtime sector scanner, SSD-710, ALOKA)에 의하여 매일 측정된 가장 큰 난소난포의 직경이 18mm에 도달한 경우에 human chorionic gonadotropin (이하 hCG로 약함) 10,000 \bar{u} 를 근육주사하였다.

제2군 (n=9)은 Jones 등 (1982)이 사용한 방법을 약간 변형시킨 방법에 의하여 hMG를 투여하였다. 즉 환자의 월경주기 제 3일부터 hMG 300 \bar{u} 를 근육주사하였다. 월경주기 제 6일 부터 매일 측정된 혈청 estradiol치가 400pg/ml 이하이어도, 자궁경부점

액의 변화가 3일 이상 지속되면 hMG의 투여를 중단하였다. 혈청 estradiol치가 400~800 pg/ml 이고 자궁경부점액의 변화가 있으면 hMG의 투여를 중단하였다. 그러나 estradiol치가 400 pg/ml 이상이지만 자궁경부점액의 변화가 없는 경우에는 hMG를 150u로 감량하여 근무하였다. 혈청 estradiol치가 800 pg/ml 이상이 되면 자궁경부점액의 변화에 관계없이 hMG의 투여를 중단하였다. 마지막 hMG를 주사하고 26~50 시간 후에 hCG 10,000 u를 근육주사하였다.

제 3군 (n=10)은 Muasher 등 (1985)이 사용한 방법을 약간 변형시킨 방법에 의하여 순수한 FSH와 hMG를 병용하였다. 즉 월경주기 제 3일째 제 4일의 오전에 FSH 75u 또는 150u를 근무하였고 월경주기 제 3일 오후부터 hMG 300u를 근무하였다. hMG를 중단하는 경우는 전술한 제 2군의 경우에 준하였으나, 초음파단층촬영에 의해서 매일 측정된 가장 큰 난소난포의 직경이 12mm 이하인 경우에는 그 직경이 12mm에 도달할 때까지 hMG의 투여를 중단하는 경우는 전술한 제 2군의 경우에 준하였으나, 초음파단층촬영에 의해서 매일 측정된 가장 큰 난소난포의 직경이 12mm 이하인 경우에는 그 직경이 12mm에 도달할 때까지 hMG의 투여를 중단하지 않고 150u로 감량하여 근무하였다. 마지막 hMG를 주사하고 26~50 시간 후에 hCG 10,000u를 근육주사하였다.

모든 배란환자는 hCG를 투여하고 36 시간 후에 Jones 등(1982)이 고안한 방법을 이용하여 난자 및 난포를 흡입하여 수정 흡입된 난자는 Sandow(1983)의 방법을 이용하여 성숙된 배란직전의 난자 (pre-ovulatory oocyte), 미성숙난자 (immature oocyte), 퇴화된 난자 (atretic oocyte) 및 과성숙난자 (post-mature oocyte)로 분류되었으며, 난포액은 4°C에서 1000×g로 원심분리되어 상층액은 호르몬의 농도를 측정할 때까지 -20°C에 보관하였다.

2) 체외수정 및 배아의 자궁내 이식

Jones 등의 방법을 이용하여 배란직전의 성숙된 난자는 7.5% 신생아 제대혈청이 포함된 Ham's F-10 배양액내에서 6~8시간 추가배양을 하였으며, 미성숙난자는 Veeck 등(1983)의 방법을 이용하여 동일한 배양액내에서 26~24시간 추가배양후에 수정을 실시하였다. 수정후 16~18시간 후에 15%의 신생아 제대혈청이 포함된 Ham's F-10 성장배양액으로 옮겼으며 이때 역반사현미경으로 난자의 수정 여부를 관찰하였다. 수정후 40~44 시간 후에 난할을 관찰하였으며 수정이 확인된 배아는 모두 Jones 등(1983)이 사용한 방법에 의하여 자궁내 이식하였다.

3) 난포액의 호르몬 농도의 측정

ADD의 농도는 ¹²⁵I-Androsterdione Kit (Radioassay Systems Laboratories)를, T의 농도는 Coat-A-Count Testosterone Kit (Diagnostic Products Corporation)를 사용한 방사면역측정법에 의하여 측정하였다. 각 측정의 intraassay variance는 ADD가 8.0%, T이 5.2%이었다.

4) 통계처리

각 연구대상간의 비교는 student's t-test를 이용하였다.

연구성적

1. 과배란유도 방법에 따른 ADD, T의 농도

Clomiphene citrate를 사용한 제 1군 및 hMG를 사용한 제 2군, FSH와 hMG를 병용한 제 3군 사이에 난자의 성숙도가 같은 경우에 난포액내의 ADD 및 T의 농도는 유의한 차이가 없었다 (Table 1 참조).

2. 난자의 성숙도에 따른 난포액의 ADD, T의 농도

Clomiphene citrate를 사용한 제 1군의 배란직전의 성숙된 난자가 채취된 난포액의 ADD의 농도는 43.09±9.53 mg/ml로 미성숙난자의 96.08±16.55 ng/ml에 비해 유의한 차이가 있었으며 (p<0.02), 퇴화된 난자의 246.5±53.50 ng/ml에 비해서도 유의한 차이가 있었다 (p<0.01). 또한 미성숙난자와 퇴화된 난자의 난포액의 ADD농도도 유의한 차이를 보여 (p<0.02), 제 1군은 난자가 성숙함에 따라 난포액내의 ADD의 농도가 감소하였다. 그러나 제 1군의 T의 농도는 성숙된 배란직전의 난자의 경우 11.37±2.38 ng/ml로 미성숙난자의 14.0±2.33 ng/ml에 비해 유의한 차이를 볼 수 없었으나 퇴화된 난자의 25.1±7.50 ng/ml 보다는 유의하게 낮은 농도를 보였다 (p<0.05).

hMG를 사용한 제 2군의 경우 성숙된 배란직전의 난자의 ADD 및 T의 농도는 각각 60.61±12.44 ng/ml, 13.18±2.34 ng/ml로 미성숙난자의 124 ng/ml, 16.8 ng/ml에 비해 약간 낮았으나 통계학적인 유의성은 확인할 수 없었다 (p>0.1).

FSH와 hMG를 병용한 제 3군의 ADD의 농도는 성숙된 배란직전의 난자의 경우에 59.46±9.09 ng/ml로 미성숙난자의 116.13±36.81 ng/ml에 비해 유의한 차이를 보였으며 (p<0.05), 퇴화된 난자의 경우 634.25±9.25 ng/ml로 성숙 및 미성숙난자의 농도에 비해 현저히 증가된 농도를 보여 (p<0.01), 난자가

Table 1. Relationship between follicular fluid levels of ADD, T and maturation of oocyte-corona-cumulus complex after different methods of ovarian hyperstimulation (Mean ± S.E.)

| Hyperstimulation method | Maturation stage | ADD(ng/ml) | T (ng/ml) |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Group I (clomid/hCG) | Preovulatory(n=7) | 43.09 ± 9.53 ^{a,c} | 11.37 ± 2.38 ^f |
| | Immature (n=5) | 96.98 ± 16.55 ^{a,b} | 14.0 ± 2.33 |
| | Atretic (n=2) | 246.5 ± 53.50 ^{a,c} | 25.1 ± 7.50 ^f |
| Group II (hMG/hCG) | Preovulatory(n=20) | 60.61 ± 12.44 | 13.18 ± 2.34 |
| | Immature (n=1) | 124 | 16.8 |
| Group III (FSH/hMG/hCG) | Preovulatory(n=18) | 59.46 ± 9.09 ^{a,e} | 11.68 ± 1.73 ^e |
| | Immature (n=3) | 116.13 ± 36.81 ^{a,h} | 15.8 ± 4.21 |
| | Atretic (n=2) | 634.25 ± 9.25 ^{a,h} | 23.25 ± 0.95 ^e |

Groups with identical letters differed significantly
a, b p<0.02, c,e,h p<0.01, d,f,g p<0.05.

Table 2. Relationship between FF levels of ADD, T and success of fertilization of human oocytes (Mean ± S.E.)

| Hyperstimulation method | Oocyte fertilization | ADD (ng/ml) | T(ng/ml) |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Group I (clomid/hCG) | Fertilized (n=9) | 62.58 ± 14.81 | 11.83 ± 2.02 |
| | Not fertilized(n=3) | 64.43 ± 16.64 | 14.40 ± 3.18 |
| Group II (hMG/hCG) | Fertilized (n=11) | 32.43 ± 4.09 ^a | 12.51 ± 3.36 |
| | Not fertilized(n=10) | 72.18 ± 17.31 ^a | 14.27 ± 3.04 |
| Group III (FSH/hMG/hCG) | Fertilized (n=13) | 42.61 ± 4.82 ^b | 7.33 ± 1.06 ^c |
| | Not fertilized(n=8) | 108.09 ± 17.32 ^b | 20.3 ± 6.21 ^c |

Groups with identical letters differed significantly
a p<0.05, b p<0.001, c p<0.02.

Table 3. Relationship between FF levels of ADD, T and success of pregnancy after embryo transfer (Mean ± S.E.)

| Hyperstimulation method | Status | ADD(ng/ml) | T(ng/ml) |
|-------------------------|-------------------|----------------|---------------|
| Group I (hMG/hCG) | Pregnant (n=2) | 107.45 ± 78.55 | 22.15 ± 11.45 |
| | Non-pregnant(n=9) | 37.64 ± 4.74 | 10.37 ± 3.23 |
| Group III (FSH/hMG/hCG) | Pregnant (n=5) | 39.8 ± 8.40 | 6.70 ± 1.08 |
| | Non-pregnant(n=8) | 44.36 ± 66.19 | 7.73 ± 1.63 |

성숙함에 따라 난포액내의 ADD의 농도가 감소함을 확인할 수 있었다. 제3군의 T의 농도는 성숙된 배란직전의 난자의 경우에 11.68 ± 1.83 ng/ml로 미성숙난자의 15.8 ± 4.21 ng/ml에 비해 약간 낮은 농도를 보였으나 통계학적인 유의성은 확인할 수 없었으나(p>0.1), 퇴화된 난자의 23.25 ± 0.95 ng/ml와는 유의한 차이를 보였다(p<0.05) (Table 1 참조).

3) 난자의 수정여부에 따른 난포액의 ADD, T의 농도

Clomiphone crtrate를 사용한 제1군의 수정된 난자가 채취된 난포액의 ADD, T의 농도는 각각 62.58 ± 14.81 ng/ml, 11.83 ± 2.02 ng/ml로 수정이 안된 경우의 74.43 ± 16.64 ng/ml, 14.40 ± 3.18 ng/ml에 비해 약간 낮은 농도를 보였으나 통계학적인 유의성은 없었다(p>0.1).

HMG를 사용한 제2군은 수정된 난자가 채취된 난포액의 ADD의 농도는 32.43 ± 4.09 ng/ml로 수정이 안된 난자의 72.18 ± 17.31에 비해 유의한 농도차이가 있었으나(p<0.05), T의 농도는 각각 12.51 ± 3.36 ng/ml, 14.27 ± 3.04 ng/ml로 통계학적인 유의성을 찾을 수 없었다(p>0.1).

FSH와 hMG를 병용한 제3군의 수정이된 난자가 채취된 난포액의 ADD, T의 농도는 각각 42.61 ± 4.82 ng/ml, 7.33 ± 1.06 ng/ml로 수정이 안된 난자의 108.09 ± 17.32 ng/ml, 20.3 ± 6.21 ng/ml에 비해 현저하게 낮은 농도를 보였다 (ADD; p<0.001, T; p<0.02) (Table 2 참조).

4) 배아이식후 임신여부에 따른 난포액의 ADD, T의 농도

임신된 환자는 제 2군에서 1명, 제 3군에서 3명이었으며 나태임신이 된 경우는 없었다.

HMG를 사용한 제 2군은 임신이 된 경우에 ADD의 농도가 107.45 ± 78.55 ng/ml, T의 농도가 22.15 ± 11.45 ng/ml로 수정이 확인되어 배아를 자궁내이식하였으나 임신이 되지 않은 경우의 37.64 ± 4.74 ng/ml, 10.37 ± 3.23 ng/ml에 비해 높은 농도를 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다 ($p > 0.1$).

FSH와 hMG를 병용한 제 3군에서 임신이 된 경우에 ADD 및 T의 농도는 각각 39.8 ± 8.40 ng/ml, 6.70 ± 10.8 ng/ml로 임신이 되지 않은 경우의 44.36 ± 6.19 ng/ml, 7.73 ± 1.63 ng/ml에 비해 약간 낮은 농도를 보였으나 통계학적인 유의성은 확인할 수 없었다 (Table 3 참조) ($p > 0.1$).

고 안

정상배란성 월경주기와 무배란증 여성에서 hMG를 이용하여 배란을 유도한 경우에는 혈청 ADD와 T의 농도변화의 확실한 양상을 발견할 수 없었으나 (Judd 등, 1973; Wu, 1977), 무배란증 여성에서 clomiphene citrate를 사용하여 배란을 유도한 경우에는 혈청 ADD와 T의 농도가 배란직전에 상승하여 난포의 성숙을 저하시키며, clomiphene citrate를 이용하여 배란유도를 시행한 경우의 낮은 임신율의 한 원인이 될 수 있다고 보고되었다 (Dupon 등, 1973; Dawood와 Saxena, 1978; Chang와 Abraham, 1976).

그러나 본 연구에서 clomiphene citrate를 사용한 제 1군의 난포액내의 ADD와 T의 농도가 hMG를 사용한 제 2군 및 FSH와 hMG를 병용한 제 3군에 비하여 의미있는 차이가 없어 clomiphene citrate가 난소난포에 작용하여 ADD와 T의 분비를 증가시키는 작용을 확인할 수 없었다.

정상배란성 월경주기에서 난자가 성숙함에 따라 난포액의 estrogen의 농도가 증가하며 androgen의 농도가 감소하는 반면에, 퇴화되어 가는 난포는 androgen의 농도가 증가한다 (McNatty 등, 1975, 1979). 원시난포 (primordial follicle)가 성장하기 시작하면 과립막세포 (granulosa cell)가 증식을 하며 난포막세포 (theca cell)층이 형성되기 시작한다. Preantral 난포의 과립막세포는 estrogen, progestin, androgen 등을 합성할 수 있으며 뇌하수체에서 분비되는 FSH의 작용에 의하여 방향화 (aromatization)가 유도되면 aromatase에 의하여 androgen이 estrogens로 변환된다 (Moon 등, 1975). 난포의 성장과 기능에 관여하는 androgen의 정확한 기능은 아직 확실하지 않

으나 과립막세포의 세포질내에 androgen에 특이한 수용기 (receptor)가 있음이 밝혀졌다 (schreiber와 Ross, 1976). 또한 FSH를 투여받은 쥐에서 androgen과 과립막세포의 aromatase 기능사이에 dose-response 관계가 있음이 밝혀져 (Zeleznik 등, 1979), androgen은 FSH에 의해 유도된 방향화의 수매질 (substrate)로 작용할 뿐 아니라 androgen 자체가 aromatase의 기능을 성숙시킬 수 있다고 보고되었다 (Daniel과 Armstrong, 1980; Hillier와 DeZwart, 1981).

그러나 과립막세포가 androgen이 풍부한 상태에 노출이 되면 androgen보다는 더 강력한 androgen인 androstendine, dihydrotestosterone 등으로 변환하게 되어 aromatase의 기능을 억제하여 난포내의 androgen의 농도는 증가한다 (McNatty 등, 1979; Hillier 등, 1980). Androgen의 농도가 증가된 상태는 estrogen에 의하여 유도되는 과립막세포의 증식을 억제하고 난자에 퇴화를 유발한다 (Carson 등, 1981; Moor 등, 1978).

체외수정 및 배아의 자궁내이식의 시술에 있어서는 다수의 난자를 획득하기 위하여 각종 배란유도제를 사용하여 과배란유도를 시행하는데, 이런 경우에는 난포가 불균형하게 성숙되어 난포액내의 각종 단백질 및 호르몬의 농도도 광범위한 변화를 보이는 것으로 보고되었다 (diZerega 등, 1983; Marrs 등, 1984; Fowler 등, 1978). Testart 등 (1983)은 clomiphene citrate 또는 hMG를 사용하여 과배란유도된 경우에 정상월경주기에 비해 난포액내의 ADD 및 T의 농도가 증가하는 빈도가 높다고 하였다. 그러나 대부분의 연구자들 (Bohnet와 Baukloh, 1985; Lobo 등, 1985; Botero-Ruiz 등, 1984; Carson 등, 1982; Uehara 등, 1985)은 과배란유도를 시행한 경우에 정상월경주기에 비추는 난포액내의 androgen의 농도를 보고하였다.

본 연구의 경우 ADD의 농도는 다른 연구자들 (diZerega 등, 1983; Marrs 등, 1984; Lobo 등, 1985; Carson 등, 1982; Brailly 등, 1981; Edwards 등, 1980)의 보고와 비슷한 수치를 보였다. T의 농도는 다른 연구자들 (diZerega 등, 1983; Marrs 등, 1984; Lobo 등, 1985; Botero-Ruiz 등, 1984; Uehara 등, 1985)의 보고에 비해 높은 농도를 보였으나 Bohnet와 Baukloh (1985)의 보고와는 비슷한 농도를 나타내었다. Clomiphene Citrate와 hMG를 병용하여 과배란유도를 시행한 Lobo 등 (1985)은 난포액내의 androgen의 농도는 난자의 성숙도와 상관관계가 없다고 하였다. 그러나 hMG를 사용한 Botero (1984)은 성숙된 난자와 미성숙난자의 중간단계인 intermedi-

ate 난자가 채취된 난포액의 T의 농도가 성숙 및 미성숙난자의 난포액의 농도에 비해 의미있게 높아 과배란유도시에 난포의 불균형한 성숙을 반영한다고 하였다.

본 연구의 경우는 제 1, 2, 3군 모두에서 난자가 성숙함에 따라 난포액내의 ADD의 농도가 의미있게 감소함을 알 수 있었으며, T의 농도 또한 성숙된 난자의 경우에 퇴화된 난자에 비해 의미있게 낮은 농도를 보여 과배란유도된 경우에 난포액내의 androgen의 농도와 난자의 성숙도간에 상관관계가 있었다.

Clomiphene citrate로 과배란유도를 시행한 Uehara 등(1985)은 난포액내의 T의 농도가 낮은 경우에 난자의 수정이 잘된다고 하였으나 다른 보고자들(Bohnet와 Baukloh, 1985; Botero-Ruiz 등, 1984; Carson 등, 1982)은 ADD 또는 T의 농도와 난자의 수정여부와는 상관관계를 볼 수 없다고 하였다.

저자들의 경우는 제 2군과 제 3군의 수정된 난자가 채취된 난포액의 ADD의 농도가 비수정군에 비해 의미있게 낮았으며, 제 3군은 T의 농도도 수정된 난자가 채취된 난포액의 농도가 의미있게 낮았다. FSH를 사용하여 과배란유도를 한 경우에 난포액의 androgen의 농도와 난자의 수정여부를 비교한 연구보고를 찾을 수 없었으나, 본 연구에서 월경주기 제 3, 4일에 FSH를 투여한 제 3군은 ADD, T의 농도와 난자의 수정여부의 상관관계가 명확하여 여기에 관한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다. 난포액의 고농도의 androgen이 난자의 수정에 영향을 주는 기전은 불확실하다. 그러나 Mc-Natty 등(1979)은 난포액내의 androgen의 농도가 증가한 경우에 제 1감수분열(first meiotic division)의 재개가 방해됨을 보고하였다.

본 연구대상에서 임신이 된 환자 가운데 1명은 난포액의 ADD농도가 186 ng/ml, T농도가 33.6 ng/ml로 매우 높았던 배아와 비교적 ADD, T의 농도가 낮았던 배아를 함께 이식하여 그 가운데 어느 배아가 임신이 되어 계속 자랐는지는 알 수 없으나 임신이 성립되었다.

이상의 결과로 미루어 볼때 난포액의 androgen이 난자의 성숙, 난자의 수정등에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되나, 배아이식후 임신의 성공과 난포액의 ADD, T의 농도와는 상관관계를 확인할 수 없어 androgen 이외의 다른 지표에 관해서도 광범위한 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

저자들은 1985년 4월부터 12월까지 서울대학교 병원 산부인과 시험관애기 프로그램에 등록이 되어 시술을 받은 환자가운데 27명에서 임신된 58 개의 난포액을 연구대상으로 하여 본 연구를 시행하였다. 제 1군 8명은 clomiphene citrate로, 제 2군 9명은 hMG로, 제 3군 10명은 FSH와 hMG를 병용하여 과배란유도를 시행하였다. 채취된 난포액의 ADD 및 T의 농도를 측정하여 각각의 과배란유도제에 따른 농도의 차이여부와 난자의 성숙도 및 수정, 임신의 성공등과의 관련성등을 규명하기 위하여 시행하였다.

1. 제 1, 2, 3군 사이에 난자의 성숙도가 같은 경우에 난포액내의 ADD 및 T의 농도차이를 확인할 수 없어 과배란유도제에 따른 난포액의 ADD, T의 농도 차이는 없었다.

2. 난포액의 ADD농도는 제 1과 제 3군은 각각 성숙된 난자의 경우 43.09 ± 9.52 ng/ml 및 59.46 ± 9.09 ng/ml, 미성숙난자의 경우 96.98 ± 16.55 ng/ml 및 116.13 ± 36.81 ng/ml, 퇴화된 난자의 경우 246.5 ± 53.50 ng/ml, 634.25 ± 9.25 ng/ml로 난자의 성숙에 따라 ADD의 농도감소가 통계학적으로 유의하였다 ($p < 0.05$). 제 2군에서는 유의한 차이를 확인할 수 없었다 ($p > 0.1$).

T의 농도는 제 1군과 제 3군이 각각 성숙된 난자의 경우 11.37 ± 2.38 ng/ml 및 11.68 ± 1.73 ng/ml로 퇴화된 난자의 25.1 ± 7.50 ng/ml 및 23.25 ± 0.95 ng/ml에 비해 유의한 농도 차이가 있었으나 ($p < 0.05$), 미성숙난자의 농도 차이는 유의한 차이를 확인할 수 없었다 ($p > 0.1$). 제 2군의 경우도 T의 농도가 성숙된 난자와 미성숙난자 사이에 유의한 차이가 없었다 ($p > 0.1$).

3. ADD의 농도는 제 2군과 제 3군에서 수정된 난자가 채취된 경우에 각각 32.43 ± 4.09 ng/ml 및 42.61 ± 4.82 ng/ml로 수정이 안된 경우의 72.18 ± 17.31 ng/ml 및 108.09 ± 17.32 ng/ml에 비해 유의하게 낮은 농도를 보였으며 ($p < 0.05$), 제 1군의 경우는 유의한 농도차이가 없었다 ($p > 0.1$).

T의 농도는 제 3군의 경우 수정군이 7.33 ± 1.06 ng/ml로 미수정군의 20.3 ± 6.21 ng/ml에 비해 유의하게 낮은 농도를 보였으나 ($p < 0.02$), 제 1군 및 제 2군은 유의한 농도차이가 없었다 ($p > 0.1$).

4. 배아이식후 임신된 경우와 임신이 안된 경우 간에 난포액의 ADD, T의 농도는 유의한 차이가 없었다 ($p > 0.1$).

결 론

REFERENCES

- Bjersing, L., M.F. Hay, G. Kann, R.M. Moor, F. Naftolin, R.J. Scaramuzzi, R.V. Short, and E. V. Younglai: *Changes in gonadotrophins, ovarian steroids and follicular morphology in sheep at oestrus. J. Endocrinol.* 52:405, 1972.
- Bohnet, H.G., and Baukloh, V.: *Prolactin and sex steroid concentrations in follicular fluid following different ovarian stimulation methods for in vitro fertilization. In: MacLeod, Thorne, Scapagnini (eds), Prolactin. Basic and clinical correlates. Liviana Press, Padova, p. 721, 1985.*
- Bomsel-Helmreich, O., Gougeon, A., Thebault, A., Saltarelli, D., Milgrom, E., Frydman, R., and Papiernik, E.: *Healthy and atretic human follicles in the preovulatory phases: differences in evolution of follicular morphology and steroid content of follicular fluid. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:686, 1979.
- Botero-Ruiz, W., Laufer, N., DeCherney, A.H., Polan, M.L., Haseltine, F.P., and Behrman, H. R.: *The relationship between follicular fluid steroid concentration and successful fertilization of human oocytes in vitro. Fertil. Steril.* 41:820, 1984.
- Brailly, S., Gougeon, A., Milgrom, E., Bomsel-helmreich, O., and Papiernik, E.: *Androgens and progesterins in the human ovarian follicle: differences in the evolution of preovulatory, healthy nonovulatory, and atretic follicles. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 53:128, 1981.
- Carson, R.S., Findlay, J.K., Clarke, J.I., and Burger, H.G.: *Estradiol, testosterone and androstenedione in ovine follicular fluid during growth and atresia of ovarian follicles. Biol. Reprod.* 24:105, 1981.
- Carson, R.S., Trounson, A.O., and Findlay, J.K.: *Successful fertilization of human oocytes in vitro: concentration of estradiol-17, progesterone and androstenedione in the antral fluid of donor follicles. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55:798, 1982.
- Chang, J., and Abraham, G.E.: *Effect of dexamethasone and clomiphene citrate on peripheral steroid levels and ovarian function in a hirsute amenorrhic patient Fertil. Steril.* 27:650, 1976.
- Daniel, S.A.J., and Armstrong, D.T.: *Enhancement of follicle-stimulating hormone-induced aromatase activity by androgens in cultured rat granulosa cells. Endocrinology.* 107:1027, 1980.
- Dawood, M.Y., and Saxena, B.B.: *Circulating pituitary gonadal hormones in clomiphene-induced cycles. Obstet. Gynecol.* 52:445, 1978.
- diZerega, G.S., Campeau, J.D., Lobo, R.A., Nakamura, R.M., Ujita, E.L., and Marrs, R.P.: *Activity of a human follicular fluid protein(s) during normal and stimulated ovarian cycles. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57:839, 1983.
- diZerega, G.S., Campeau, J.D., Ujita, E.L., Kling, O.R., Marrs, R.P., Lobo, R.A., and Nakamura, R.M.: *The possible role for a follicular protein in the intraovarian regulation of folliculogenesis. Sem. Reprod. Endocrinol.* 1:109, 1983.
- Dupon, C., Rosenfield, R.L., and Cleary, R.E.: *Sequential changes in total and free testosterone and androstenedione in plasma during spontaneous and clomid-induced ovulatory cycles. Am. J. Obstet. Gynecol.* 115:478, 1973.
- Edwards, R.G., Fishel, S.B., Cohen, J., Fehilly, C. B., Purdy, J.M., Slater, J.M., Steptoe, P.C. and Webster, J.M.: *Factors influencing the success of in vitro fertilization of alleviating human infertility. J. In Vitro Fertil. Embryo. Trans.* 1:3, 1984.
- Edwards, R.G., Steptoe, P.C., Fowler, R.E., and Baillie, J.: *Observations on preovulatory human ovarian follicles and their aspirates. Br. J. Obstet. Gynecol.* 87:769, 1980.
- Edwards, R.G., Steptoe, P.C., and Purdy, J.M.: *Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. Br. J. Obstet. Gynecol.* 87:737, 1980.
- Fowler, R.E., Edwards, R.G., Walters, D.E., Chan, S.T.H., and Steptoe, P.C.: *Steroidogenesis in preovulatory follicles of patients given human menopausal and chorionic gonadotropins as judged by the radioimmunoassay of steroids in follicular fluid. J. Endocrinol.* 77:161, 1978.
- Hilliier, S.G., and DeZwart, F.A.: *Evidence that granulosa cell aromatase induction/activation by follicle-stimulating hormone is an androgen receptor-regulated process in vitro. Endocrinology.* 109:1303, 1981.
- Hilliier, S.G., van den Boogaard, A.M.J., Reichert, L.E., van Hall, E.V.: *Intraovarian sex steroid*

- hormone interactions and regulation of follicular maturation: aromatization of androgens by human granulosa cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50:640, 1980.
- Jones, H.W., Jr., Acosta, A.A., Garcia, J.E., Sandow, B.A., and Veeck, L.: On the transfer of conceptuses from oocytes fertilized in vitro. *Fertil. Steril.* 39:241, 1983.
- Jones, H.W.Jr., Jones, G.S., Andrews, M.C., Acosta, A., Bundren, C., Garcia, J., Sandow, B., Veeck, L., Wilkes, C., Witmyer, J., Wortham, J.E., and Wright, G.L.: The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil. Steril.* 38:14, 1982.
- Judd, H.L., and Yen, S.S.C.: Serum androstenedione and testosterone levels during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:475, 1973.
- Laufer, N., DeCherney, A.H., Haseltine, E.P., Polan, M.L., Mezer, H.C., Dlugi, A.M., Sweeney, D., Nero, F., and Naftolin, F.: The use of high-dose human menopausal gonadotropin in vitro fertilization program. *Fertil. Steril.* 40:734, 1983.
- Lobo, R.A., diZerega, G.S., and Marrs, R.P.: Follicular fluid steroid levels in dysmature and mature follicles from spontaneous and hyperstimulated cycles in normal and anovulatory women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60:81, 1985.
- Marrs, R.P., Lobo, R.A., Campeau, J.D., Ujita, E.L., Nakamura, R.M., and diZerega, G.S.: Correlation of human follicular fluid inhibin activity with spontaneous and stimulated follicular development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58:704, 1984.
- McNatty, K.P., and Baird, D.T.: Relationship between follicle stimulating hormone, androstenedione and oestradiol in human follicular fluid. *J. Endocrinol.* 76:527, 1978.
- McNatty, K.P., Hunter, W.M., McNeilly, A.S. et al: Changes in the concentration of pituitary and steroid hormones in the follicular-fluid of human graafian follicles throughout the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* 64:555, 1975.
- McNatty, K.P., Markis, A., Reinhold, V.N., DeGrazia, C., Osathanondh, R., and Ryan, K.J.: Metabolism of androstenedione by human ovarian tissues in vitro with particular reference to reductase and aromatase activity. *Steroids* 34:429, 1979.
- McNatty, K.P., Smith, D.M., and Makris, A. et al: The environment of the human antral follicle: Interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte in vivo and in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:851, 1979.
- McNatty, K.P., Smith, D.M., Makris, A., Osathanondh, R., and Ryan, K.J.: The microenvironment of the human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells and the status of the oocyte in vivo and in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:851, 1979.
- McNatty, K.P., and Sawers, R.S.: Relationship between the endocrine environment within the Graafian follicle and the subsequent rate of progesterone secretion by human granulosa cells in vitro. *J. Endocrinol.* 66:391, 1975.
- Moon, Y.S., Dorrington, J.H., and Armstrong, S.: Stimulatory action of follicle-hormone on estradiol-17 secretion by hypophysectomized rat ovaries in organ culture. *Endocrinology* 97:244, 1975.
- Moor, R.M., Hay, M.F., Dott, H.M., and Cran, D.G.: Macroscopic identification and steroidogenic function of atretic follicles in sheep. *J. Endocrinol.* 77:309, 1978.
- Muasher, S.J., Garcia, J.E., and Rosenwaks, Z.: The combination of follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin for the induction of multiple follicular maturation for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 44:62, 1985.
- Ross, G.T.: On intraovarian control of ovogenesis in the human. In Crosignani, P.G., and D. R. Mishell, (eds), *Ovulation in the Human*, Academic Press, New York, 1976, pp. 127-140.
- Sandow, B.A.: Characteristics of human oocytes aspirated for in vitro fertilization. *Infertility* 6:143, 1983.
- Sanyal, M.K., Gerger, J.J., Thompson, I.E., Taimor, M.L., and Horne, H.W.: Development of Graafian follicles in adult human ovary. I. Correlation of estrogen and progesterone concentration in antral fluid with growth of follicles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:828, 1974.

- Schreiber, J.R., and Ross, G.T.: *Further characterization of a rat ovarian testosterone receptor with evidence for nuclear translocation. Endocrinology* 99:590, 1976.
- Testart, J., Frydman, R., Castanier, M., Lasalle, B., and Belaisch, J.: *Influence of ovarian stimulation on follicular fluid steroid levels and fertilization of the oocyte. In: Beier, Lindner(eds), Fertilization of the human egg in vitro. Springer-Verlag, Berlin, p. 73, 1983.*
- Uehara, S., Naganuma, T., Tsuiki, A., Kyono, K., Hoshiai, H., and Suzuki, M.: *Relationship between follicular fluid steroid concentrations and in vitro fertilization (Obstet Gynecol 66) 19, 1985.*
- Veeck, L.L., Wortham, J.W.E., Jr., Witmyer, J., Sandow, B.A., Acosta, A.A., Garcia, J.E., Jones, G.A., and Jones, H.W., Jr.: *Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. Fertil. Steril. 39:594, 1983.*
- Wu, C.H.: *Plasma hormones in human gonadotropin induced ovulation. Obstet. Gynecol. 49:308, 1977.*
- Younglai, E.V.: *Steroid content of the equine ovary during the reproductive cycle. J. Endocrinol 50:589, 1971.*
- Zelevnik, A.J., Hillier, S.G., and Ross, G.T.: *Follicle stimulating hormone-induced follicular development: an examination of the role of androgens. Biol. Reprod. 21:67*
-