

◆ 심포지움 ◆

# 체외수정시술의 현황과 미래

## 이 진 용

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

### The Present and Future of In Vitro Fertilization

Jin Yong Lee, M.D.

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

#### 서 론

체외수정(in vitro fertilization, IVF) 및 배아의 자궁내이식(embryo transfer, ET)(이하 체외수정시술이라 함)은 오래전부터 생식생리학자들의 관심의 대상이었으며, 인간에서는 1965년 Edwards에 의해 최초로 체외수정이 시도되었다. 그후 Steptoe & Edwards가 1976년에 체외수정된 배아를 자궁내이식하여 자궁외임신이 성립되었다고 보고하였으며, 1978년에 자연배란 주기에서 흡인된 난자로 체외수정시술을 시행하여 Louise Joy Brown양이 탄생되었다(Steptoe & Edwards, 1978; Edwards et al., 1980). 1980년에는 Lopata등이 clomiphene citrate(CC)는 사용하여 과배란을 유도하여 체외수정에 의한 임신에 성공하였다.

그후 체외수정시술은 불임증 치료의 한 방법으로 인정되어 전세계적으로 시술되고 있으며, 지난 몇년동안 이 분야에서 획기적인 진보와 발전이 이루어져 국내에서도 1985년에 체외수정시술에 의한 쌍태아가 서울대학교병원에서 탄생(장 등, 1986; 장, 1987)된 이래 여러병원에서 이에 관한 광범위한 연구 및 시술이 시행되고 있다.

저자는 체외수정시술의 대상환자, 과배란유도 및 감시, 난자의 채취, 체외수정, 배아의 이식 등 체외수정시술의 제반 단계 및 체외수정시술 분야의 근래 현황과 향후 연구방향에 관하여 서울대학교병원의 경험과 그 연구성적을 종합하여 약술하고자 한다.

#### I. 체외수정 및 배아의 자궁내이식(IVF-ET)

##### 1. 대상 환자

불임증의 치료는 불임의 원인에 대한 검사를 상세히 시행한 후에 그 원인에 따라 치료방법을 결정하여야 한다. 체외수정시술은 본 시술 이외에는 불임증을 치료할 다른 방법이 없다고 여겨지는 환자가 대상이 된다(표).

주요 적응증은 양쪽 난관이 모두 없거나 복원이 불가능하다고 판단된 경우, 남편이 pinpoint sperm이 있는 환자로 활동성이 있는 정자가 어느 정도 있는 경우, 자궁경관의 점액상태가 불량한 경우(hostile cervical mucus), 불임의 원인이 밝혀지지 않는 경우(unexplained infertility), 자궁내막증 치료 후에도 불임의 상태가 계속되는 경우 등이다.

초기에는 대상환자의 연령을 35세 이하인 경우로 제한하였으나, 최근에는 여러 과배란유도제의 효과적인 사용으로 35세 이상의 환자에게도 체외수정시술이 시행되고 있다. 그러나 연령이 많을수록 배란장애, 선천성기형 및 자연 유산의 빈도가 증가된다는 것을 고려하여야 한다. 서울대학교병원 체외수정시술 프로그램에서 대상환자의 연령이 30세 이하에서는 난자채취 시술당 임신율이 15.7%, 배아이식당 임신율이 22.0%, 31-35세에서는 각각 12.9%, 17.8%, 36세 이상에서는 각각 7.1%, 11.2%이었다.

체외수정시술 대상환자로 선정되면 이들 불임환자와 계속적인 면담을 하여 체외수정시술의 전과정을 설명하고, 이에 부수되는 위험 및 합병증의 가능성을 상세히 알려주어야 한다.

\*본 논문은 1989년 추계 대한불임학회 학술대회에서 발표한 내용임.

특히 정신적인 스트레스, 배아의 자궁내이식 후의 실패율 등을 반드시 설명하여야 한다.

체외수정기술에 의한 임신이 성립되기 위해서는 여러 단계가 순차적으로 그리고 성공적으로 진행되어야만 한다. 즉 대상환자의 임신, 과배란유도, 난자의 채취, 정자의 준비, 채취된 난자의 추가배양, 시험관내 수정 및 배아의 분열, 배아의 자궁내이식, 초기 임신의 정밀한 관찰 등 일련의 과정(그림 1)이 성공적으로 이루어져야만 한다.

## 2. 배란유도 및 감시

체외수정기술에 있어서는 배란직전의 충분히

**Table 1.** Indications for IVF-ET

- |  |
|--|
| A. Generally healthy wife and husband                          |
| B. Accessible/Inaccessible ovaries                             |
| C. Normally functioning uterus                                 |
| D. Normal or correctable menstrual function                    |
| E. Age; under 40 years   |
| F. Uncorrected problems  |
| 1. Tubal obstruction   |
| 2. Inadequate sperm for normal reproduction but not azospermia |
| 3. Endometriosis   |
| 4. Cervical hostility  |
| 5. Immunologic infertility                                     |
| 6. Unexplained infertility                                     |
| 7. Anovulation   |
| 8. Others  |
| Significant fimbrial disease                                   |

성숙된 난자를 획득하는 것이 우선적으로 중요 한데 그 방법은 크게 두가지로 첫째, 정상적인 자연배란 주기에서, 둘째, 과배란을 유도하여 배란직전의 시기에 다수의 난자를 채취하는 방법이다.

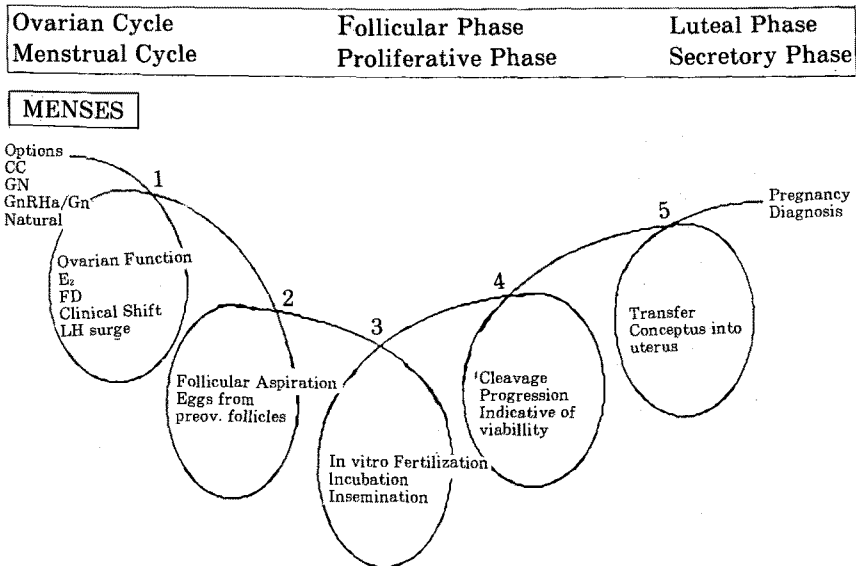
### A. 과배란유도(controlled ovarian hyperstimulation, COH)

최근 체외수정기술에 의한 임신율의 증가에는 과배란유도 방법의 향상이 기여한 바가 크다. 정상 월경주기에 clomiphene citrate(CC), human menopausal gonadotropin(hMG), follicle stimulating hormone(FSH), human chorionic gonadotropin(hCG) 등을 단독 혹은 복합 사용한 여러 종류의 과배란유도 방법이 체외수정기술에 사용되고 있다.

#### 1) Clomiphene citrate

CC/hCG를 사용한 과배란유도는 1978년 Lopata 등에 의해 처음으로 시도되었으며, 1982년 Trounson 등이 이 방법에 의한 임신 성공예를 보고한 이래 여러 center에서 사용되어 왔다. 가장 흔히 사용되는 방법은 월경주기 제 5일부터 제 9일까지 매일 CC 50-150mg씩을 경구 투여하는 방법이다. 난포의 성장은 난포의 초음파단층촬영에 의하여 측정되어진다.

그러나 CC만을 사용하는 경우에는 채취되는 난자의 숫자가 다른 과배란유도제를 사용한 경우에 비해 적으며, 자연적인 LH surge가 예상치 않게 조기에 일어나는 경우가 있을 뿐만 아니라 CC의 antiestrogenic 특성에 의하여 자궁



**Fig. 1.** In Vitro Fertilization : principal steps.

내막의 cytosol estrogen 수용체(receptor)의 농도가 감소됨으로써(Kokko et al., 1981) 배아의 자궁내이식 후 착상이 잘 되지 않을 가능성이 있으며, 쥐의 경우 CC는 난자와 배아의 성숙 및 발육을 억제하는 것으로 밝혀져(Laufer et al., 1983), 현재 CC만을 사용하여 과배란유도를 시행하는 체외수정시술 center는 거의 없다.

### 2) CC/hMG/hCG

1976년 Kistner가 CC와 hMG를 병용하여 배란유도에 성공한 이래 이와 유사한 여러 종류의 regimen들이 체외수정시술에서 많이 사용되고 있다. 보고자에 따라 차이는 있으나 흡인되는 난자의 숫자, 난자의 성숙도, 이식되어지는 배아의 숫자, 임신율 등에 있어서 전체적으로 좋은 성적을 보이는 것으로 보고되고 있다(Lopata, 1983; Vargyas et al., 1984 & 1985; Quigley et al., 1985).

### 3) hMG/hCG

Norfolk의 Jones 등은 1980년 자연배란 주기 환자 41예에서 체외수정시술을 시행하였으나 모두 실패하고 1981년 hMG/hCG를 사용하기 시작하였다(Garcia et al., 1983). hMG를 사용하는 경우 3가지의 혈중 E2의 양상이 있음이 밝혀졌으며(Ferraretti et al., 1983), E2의 반응이 좋은 환자일수록 임신율이 높음이 확인되었다. hMG/hCG방법은 hMG 2앰플을 월경주기 제 3일 또는 제 5일부터 근주하기 시작한다. 월경주기 제 6일부터는 estrogen의 반응 결과로 나타나는 임상적 전이(clinical shift)의 발현 여부를 매일 자궁경부 점액검사를 실시하여 추적하고, 또한 매일 혈중 E2치를 측정함과 동시에 초음파단층촬영에 의한 난포의 직경을 측정하여 hMG의 투여 중지 시기를 결정한다. 마지막 hMG를 투여한 26-50시간 후에 hCG 10,000IU를 근주하고, 34-36시간 후에 난자를 채취한다.

### 4) FSH/hMG/hCG

FSH/hMG/hCG 방법은 FSH 2앰플을 각각 월경주기 제 3일과 제 4일에 투여하고 hMG투여는 hMG/hCG방법과 같다. hMG의 투여를 중지하는 기준은 hMG/hCG방법에 비하여 혈중 E2치의 기준이 300pg/ml 및 600pg/ml에서 400pg/ml 및 900pg/ml로 바뀐 것 이외에는 동일하다. 서울대학교병원의 경험에 의하면 한국 여성에 있어서 특히 FSH에 대한 E2의 반응은 매우 급격하여 가장 큰 난포의 직경이 10mm 이하인 경우에도 이미 혈중 E2치가 900pg/ml 이상인 경우가 많았다. 이러한 경우에는 가장 큰 난포의 직경이 12mm에 도달할 때까지 hMG를 1앰플로 감량하여 투여하였다.

### 5) FSH/hMG

FSH/hMG/hCG 방법에 의한 난소의 과배란 유도 반응이 좋지 않은 경우 혹은 대상환자의 연령이 높거나 월경주기 제 3일에 실시한 기초 혈중 FSH치가 LH치에 비하여 상대적으로 높은 경우에는 FSH만을 단독으로 사용하여 과배란을 유도한다. FSH/hMG 투여 방법은 hMG/hCG 방법과 같으며, FSH의 투여를 중지하는 기준은 FSH/hMG/hCG 방법과 동일하다.

Scoccia 등(1987)은 난소의 과배란 유도 중 hMG에 함유되어 있는 LH의 약리학적 용량이 난포내 androgen 생성을 과도히 증가시킴으로써 난자의 성숙을 저해할 수 있으며, FSH만을 사용한 경우 난포 성장이 더 균일하고 steroid 생성이 더 효과적이었다고 보고하였다. Lavy 등(1988)은 난포기 초기에는 상대적으로 LH 요구량이 적으므로 FSH regimen이 더욱 생리적이고, hMG 사용시에는 FSH 사용 경우에 비하여 성숙한 난자-난구-관상세포 복합체내 aromatase 활성도가 조속히 감소되어 난포액내 testosterone농도가 상승되고 E2/testosterone비가 감소되므로 이러한 변수가 난자의 질 저하와 관련성이 있다고 보고하였다. 또한 Bentic

Table 2. Outcomes by type of controlled ovarian hyperstimulation(COH), SNUH

Type of Hyperstimulation	No. of Aspirations	Transfers		No. of Pregnancies	Pregnancy/Aspiration(%)	Pregnancy/Transfer(%)
		No.	%			
Clomid/hCG	6	5	83.3	1	16.7	20.0
Clomid/hMG/hCG	100	62	62.0	8	8.0	12.9
hMG/hCG	38	25	65.8	2	5.3	8.0
FSH/hMG/hCG	616	444	72.1	87	14.1	19.6
FSH/hCG	33	22	66.7	2	9.1	6.1
Total	793	558	70.4	100	12.6	17.9

**Table 3.** The comparison of the outcome of COH between the previous FSH/hMG cycles and the pure FSH cycles(Mean  $\pm$  S.D.), SNUH

	FSH	Previous FSH/hMG
No. of patients	39	17
No. of total cycles	42	20
No. of cycles cancelled	9	13
Cancellation rate (%)	21.4 <sup>a</sup>	65.0 <sup>a</sup>
No. of cycles aspirated	33	7
Serum E2 level(pg/ml)		
Day 0	911.6 $\pm$ 505.5	995.7 $\pm$ 426.4
Day + 1	1115.9 $\pm$ 779.5	1234.2 $\pm$ 694.3
No. of follicles on Day 0		
FD 12-14 mm	2.18 $\pm$ 1.59	2.57 $\pm$ 1.40
FD $\geq$ 15 mm	1.27 $\pm$ 1.05	1.14 $\pm$ 0.64
Total No.	3.45 $\pm$ 2.09	3.71 $\pm$ 1.16
No. of oocytes retrieved	2.58 $\pm$ 2.09	2.43 $\pm$ 1.84
Retrieval rate per follicle (%)	74.6	65.4
No. of oocytes fertilized	1.58 $\pm$ 1.52	1.14 $\pm$ 0.99
Fertilization rate (%)	61.2	47.1
No. of oocytes cleaved	1.27 $\pm$ 1.26	1.00 $\pm$ 1.07
Cleavage rate (%)	80.8	87.7

a: p < 0.05

등(1988)도 pulsatile한 LH 분비가 난포 성장에는 필수불가결하지 않으며, 과배란유도 중 LH의 상대적 저농도 상태에서도 과립막세포(granulosa cell)에서의 estrogen 생성을 위한 난포막세포(theca cell)에서의 androstenedione 등과 같은 androgen 기질(substrate) 생성은 충분하다고 하였다.

이러한 FSH단독 사용법은 혈중 LH치가 상대적으로 상승되어 있는 PCO 환자의 배란유도에도 매우 효과적인 것으로 알려져 있다.

본 시험관아기 클리닉에서는 1984년 이래 여러 종류의 난소 과배란유도제를 사용하여 왔는데 이러한 과배란유도 regimens의 유용성에 관한 비교 연구결과 FSH/hMG/hCG를 사용하였을 때 가장 높은 난자채취율과 임신율을 얻었다(표 2). 현재 서울대학교 병원에서는 FSH와 hMG의 복합투여에 의한 과배란유도를 주로 사용하고 있다.

FSH만을 단독으로 사용하여 과배란유도를 시행받은 환자 39명(42 주기)을 대상으로 동일한 환자 중 과거에 FSH/hMG를 사용한 17명(20 주기)을 대조군으로 설정하여 과배란유도 중 난소 반응과 채취된 난자를 상호 비교 분석한 결과는 표 3과 같다. Pure FSH를 사용한 과배란유도는 환자의 연령이 많은 경우, 기초 혈

중 FSH치가 높은 경우, 과거의 FSH/hMG 과배란유도시 난포의 성장과 발달이 불량하였던 경우 등에서 매우 유용할 것으로 사료된다.

과배란유도 중 배란전 혈중 E2치의 반응에 따라 체외수정술 대상환자를 고반응군(high responder, >900pg/ml), 중등도반응군(intermediate responder, 400-900pg/ml), 저반응군(low responder, <400pg/ml)의 3군으로 분류할 수 있는데 환자당 채취된 난자의 수는 고반응군에서 제일 많았다. Norfolk group에 의하여 기술된 혈중 E2치의 terminal pattern에 따라 분석한 결과 임신율은 A pattern에서 제일 높았으며(16.6%), 다음으로 B pattern(13.3%), G pattern(8.1%)의 순이었다(표 4).

**Table 4.** Outcomes of hyperstimulation by pattern of E<sub>2</sub> response, SNUH

Pattern of E <sub>2</sub> response	Oocyte retrieved (mean $\pm$ S.D.)	Pregnancy/aspiration (%)
A (n=42)	3.8 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	16.6
G (n=37)	2.9 $\pm$ 2.3	8.1
B (n=15)	3.7 $\pm$ 2.2	13.3
C (n=10)	2.2 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	-

a: p < 0.05

## B. 자연배란 주기

Stephoe & Edwards(1970)도 초기에는 hMG를 이용하여 과배란유도를 시행하여 체외수정을 시도하였으나 성공하지 못하였고, 자연배란 주기에서 시술하여 임신에 성공하였는데 소변에서 LH surge를 측정하여 배란시기를 예측하였다(Edwards et al., 1980).

자연배란 주기에서의 체외수정시술은 아래와 같은 이유로 거의 사용되지 않고 있었다. 첫째, 월경주기가 규칙적 이었던 환자들이 스트레스로 인하여 종종 배란이 지연되거나 배란이 되지 않는다. 둘째, 난자채취시에 난포의 과립막 세포(granulosa cell)가 많이 흡입된 경우에는 황체에 progesterone의 분비가 감소할 수 있다(Garcia et al., 1983). 셋째, 정상 월경주기에는 채취가 가능한 성숙난포가 1개이므로 성숙된 난자를 얻을 기회가 감소한다. 넷째, 환자의 월경주기에 대한 기본적인 정보를 얻기 위하여 시술을 하기 전에 두번 이상의 월경주기를 감시(monitoring)하여 불필요가 있다. 다섯째, LH surge가 시작되고 배란 전에 난자채취를 실시하여야 하므로 낮과 밤, 요일에 관계없이 언제든지 시술을 할 준비가 되어 있어야 한다.

그러나 과배란유도를 위하여 투여된 여러 과배란유도제에 의한 자궁내막의 이상 발달과 배아 수용능력의 저하 등의 악영향을 배제하고 자연배란 주기에서의 난자채취와 배아이식(natural cycle IVF)이 최근 다시 시도되고 있다. 이러한 자연배란 주기에서의 체외수정시술은 질식 초음파단층촬영(transvaginal ultrasonography)을 이용한 질식 난자채취술의 높은 난자채취율과 그 동안 축적된 *in vitro* 배양의 지식과 경험 등으로 가능하게 되었으며, 과배란유도를 시행하지 않음으로써 체외수정시술 대상환자의 정신적, 육체적, 경제적 부담을 대폭 경감할 수 있다.

자연배란 주기에서의 체외수정시술에 관한 연구 중 가장 근래의 Lenton 등(1989)의 보고에 의하면 성숙난포당 난자채취율은 90%, 시술환자당 배아이식율은 50% 정도 이었고, 채취된 난자의 체외수정율은 난관인자의 경우 85%, 원인불명의 경우 50%, 임신율은 각각 22%로서 과배란유도 후의 체외수정시술 결과와 비교할 때 그 결과가 유사하였다.

서울대학교병원에서도 1988년 12월 이후 이 프로그램을 실시하고 있다(표 5).

## 3. 난자채취

과배란유도된 난자의 채취 방법으로는 첫째, 개복술을 시행하는 방법, 둘째, 복강경 시술법, 셋째, 초음파를 이용한 방법 등이 있다. 개복술에 의한 난자채취 방법은 현재 거의 사용되지 않고 있으며, 드물게 난관 성형술을 병행하여 난자흡인을 시행하는 경우 사용되고 있다. 1970년 Steptoe와 Edwards가 복강경에 의한 난자채취를 시도한 이후 대부분의 체외수정시술은 이 방법을 사용하여 왔으며, 서울대학교병원에서도 최근까지 Jones 등(1982)의 방법을 사용하였다.

초음파를 이용한 난자 흡인 방법은 1981년 Lenz 등이 최초로 시도하였으며, 복식(Lenz et al., 1981), 요도식(Parson et al., 1985), 질식(Feichtinger & Kemeter, 1986; Dellenbach et al., 1985) 방법 등이 개발되었다. 이러한 초음파를 이용한 난자채취의 장점으로서는 시술 환자에게 국부마취하에서 입원할 필요없이 외래 단위로 행할 수 있고, 합병증 및 이환율이 적으며, 시간 및 경비가 절약되고, 기술상 용이하며, 복강경 시술시 골반내 유착 등으로 접근이 불가능한 난포에서의 난자채취가 가능하다는 점 등 여러가지를 들 수 있다(Seifer et al., 1988).

최근 이러한 이유로 기존의 복강경식 난자채취 방법은 질식 초음파식 난자채취 방법으로 대체되게 되었다. 국내에는 1987년 최초로 도입되었으며, 서울대학교병원에서도 현재는 거의 모든 경우에 질식 초음파식 난자채취술을 사용하고 있다.

서울대학교병원에서 복강경을 이용한 난자채취시 평균  $3.9 \pm 2.1$ 개의 난자가 채취되어 난자

Table 5. Results of natural cycle IVF, SNUH

	No.	%A	%B	%C	%D	%E
A. Patients	17					
B. Oocytes retrieved	25	-				
C. Oocytes fertilizable	22	-	88.0			
D. Oocytes fertilized(ET)	20	-	80.0	90.9		
E. Clinical pregnancies	3	17.6	12.0	13.6	15.0	
F. Ongoing pregnancies	2	11.8	8.0	9.1	10.0	66.7

채취 시술당 임신율이 10.5%, 배아이식당 임신율이 15.6%인 것에 비하여 질식 초음파식 난자 채취의 경우에는 각각  $4.3 \pm 3.1$ 개, 14.7%, 19.5%로서 난자채취에 있어서 질식 초음파식 방법의 임상적 유용성을 뒷받침하고 있다(표 6).

#### 4. 흡인된 난포액과 난자의 특성

난자흡인 직후 해부현미경이나 역반사현미경을 사용하여 채취된 난자를 확인하고 분류하는데 이때 가능하면 대기중에 노출되는 시간을 단축시키기 위하여 최단시간내에 난자의 존재를 확인한 후 이미 완성된 수정배양액(insemination medium, IM)으로 옮긴다.

여러 종류의 난자의 분류방법이 고안되었으나(Sandow, 1983; Marrs et al., 1984), 서울대학교병원의 경우는 Sandow(1983)의 방법을 이용하여 배란직전의 난자(preovulatory oocyte), 미성숙난자(immature oocyte), 퇴화된 난자(atretic oocyte) 및 과성숙난자(postmature oocyte)로 분류한다. 일반적으로 과립막세포의 특징이 난자의 성숙도와 잘 비례한다.

서울대학교병원에서 FSH와 hMG를 사용하여 과배란을 유도한 후, 질식 난자채취법으로 흡인된 난자를 대상으로 하여 기존의 난자 성숙도 판정 방법보다 더욱 정확한 난자 성숙도 판정을 가능하게 하고 배란직전 난자의 성숙도와 난구-관상세포 복합체(cumulus-corona cell complex, CCC)의 형태학적 성숙도 사이의 상관관계를 평가하고자 hyaluronidase로 처리하여 CCC를 난자로부터 분리 분산 시킨 후 난자의 성숙도를 관찰한 바 있다. 연구결과 FSH와 hMG를 사용한 과배란유도 주기에서 채취된 난자의 CCC의 형태학적 성숙도와 난자 핵의 성숙도 사이에는 비동시성(asynchrony)이 존재하고 있으며, 따라서 난자채취시 hyaluronidase 처리로 CCC를 분리 분산시킨 후 난자 핵의 성숙도를 판정하는 것이 더욱 정확한 난자 성숙도 판정

방법일 것이라는 결과를 얻었다. 또한 인간 난자의 경우 hyaluronidase 처리로 난자에서 CCC를 제거하여도 난자의 체외수정과 난할에 별다른 영향을 미치지 않으며, 수정시 난자내 극체(polar body)의 존재 여부가 난자의 수정 여부를 예측하는데 있어서 매우 중요하다고 사료되었다.

#### 5. 체외수정

초기에는 난자채취 후 즉시 수정하였으나 그 후의 경험 축적으로 시험관내에서 추가배양(preincubation)을 하면 수정이 잘 일어난다는 것이 알려졌으며, 추가배양 기간은 난자의 성숙도에 의하여 결정이 된다(Trounson et al., 1982; Testart et al., 1983). 미성숙난자를 22-36시간 추가배양하여 성숙시킨 후 수정시켜 임신된 예가 Veeck 등(1983)에 의하여 보고되었다. 난자를 정액에 12-18시간동안 노출시킨 후 수정된 난자는 성장배양액(growth medium, GM)으로 옮긴다.

수정상태는 2개의 전핵(pronucleus)의 존재와 제 2극체(polar body)의 추출로 확인된다(Veeck, 1983). 수정 후 빠르면 22시간 후에 2세포기의 배아를 관찰할 수 있으나 보통 24시간 후에 분열이 일어나며, 36-48시간 후에 4-8세포기의 배아, 48-72시간 후에 10-16세포기의 배아가 관찰된다. 배아의 분열상태가 균등하지 않더라도 임신이 되었다는 보고가 있으므로 모든 배아를 자궁내이식한다.

#### 6. 배아의 자궁내이식

배아를 2전핵(2PN) 또는 1세포기에 이식을 시켜서 임신이 되었다는 보고도 있지만 일반적으로 수정 후 42-72시간 후에 이식한다(Jones et al., 1982; Jones, 1983). 서울대학교병원에서는 수정 40-44시간 후에 배아의 난할상태를 재확인하여 수정 44-48시간 후에 Jones 등(1983)의 방법을 사용하여 배아를 자궁내이식한다. 즉 환

Table 6. Outcomes by type of aspiration of ovarian follicles, SNUH

Type of Aspiration	No. of Aspirations	Transfers		No. of Pregnancies	Pregnancy/Aspiration (%)	Pregnancy/Transfer (%)
		No.	%			
Operation	108	62	57.4	9	8.3	14.5
Laparoscopy	219	147	67.1	23	10.5	15.6
USG-Transurethral	11	5	45.5	1	9.1	20.0
USG-Transvaginal	455	344	75.6	67	14.7	19.5
Total	793	558	70.4	100	12.6	17.9

자는 자궁의 굴절 정도에 따라 슬흉위(knee-chest position) 또는 복와위(prone position)의 자세를 하여 자궁경관을 통하여 이식한다. 배아를 이식할 때까지 항생제를 복용시켜 자궁경관의 점액상태를 좋게 한다.

배아이식후 최소한 4시간 정도 안정을 시키고 progesterone 12.5mg을 매일 근주한다. 배아이식후 제 11일에 혈중  $\beta$ -hCG치를 측정하여 임신 여부를 판정하고 임신이 확인되면 progesterone을 매일 임신 14주까지 근주한다.

서울대학교병원에서 체외수정시술시 자궁내강으로 이식된 배아의 수에 따른 배아이식당 임신율은 이식된 배아의 수가 많을수록 유의하게 높아서 3개인 경우 20.8%, 4개인 경우, 22.1%, 5개 이상인 경우 29.1%이었으며, 다태임신율도 함께 증가하는 경향을 나타내었다(표 7).

## 7. 체외수정시술 연구 성적

### A. 난포액내 호르몬 및 cyclic AMP (Follicular fluid hormones and cAMP)

과배란유도 후 난자채취를 위한 난포 천자로 얻어진 난포액을 이용하여 estradiol( $E_2$ ), progesterone, androstenedione, testosterone, prolactin 등 여러 호르몬의 난포액내 농도를 측정하였다. 이러한 호르몬의 난포액내 농도는 배란직전의 성숙난자와 미성숙난자, 수정 난자와 미

수정 난자, 배아이식 후 임신 예와 비임신 예 사이에 각각 유의한 차이가 없었다. 따라서 난포액내 호르몬 농도는 해당 난포내의 난자 성숙도를 반영하지 않으며, 난자의 향후 운명을 나타내는 지표(predictor)로는 사용될 수 없을 것으로 사료되었다.

난포액내 cyclic AMP의 농도는 배란직전의 성숙난자와 미성숙난자 사이에 유의한 차이가 없었지만 임신 예의 경우 비임신 예에 비하여 유의하게 낮았다. 난포액내 cyclic AMP의 상대적 저농도는 체외수정시술시 성공적인 임신과 연관이 있을 것으로 사료되었다.

### B. 항정자 항체(Antisperm antibody)

체외수정시술의 대상환자에서도 항정자 항체가 발견될 수 있는데 본원의 경우 난자의 수정율, 수정란의 난할율, 임신율에 있어서 항정자 항체 보유군과 비보유군 사이에 유의한 차이가 없었다(표 8). 항정자 항체를 가진 불임환자에서 체외수정시술이 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되었다.

### C. 체외수정시술 후 임신 결과의 지표로서의 혈중 $\beta$ -hCG치

정상 단태임신에 비하여 preclinical abortion과 clinical abortion의 경우 배아이식 후 제 11일과 제 18일에 측정한 혈중  $\beta$ -hCG치가 각각 유의하게 낮았다(그림 2). 서울대학교병원 체외

Table 7. Outcomes by number of embryos transferred, SNUH

No. of Embryos Transferred	No. of Transfers	No. of Pregnancies	Pregnancy/Transfer (%*)	Multiple Pregnancies	
				No.	%**
1	156	17	10.9	0	0
2	149	23	15.4	2	8.7
3	106	22	20.8	2	9.1
4	68	15	22.1	4	26.7
≥5	79	23	29.1	3	13.0
Total	558	100	17.9	11	11.0

\*:  $X^2=13.96$ ,  $p<0.01$ , \*\*: No. of multiple pregnancies/No. of total pregnancies

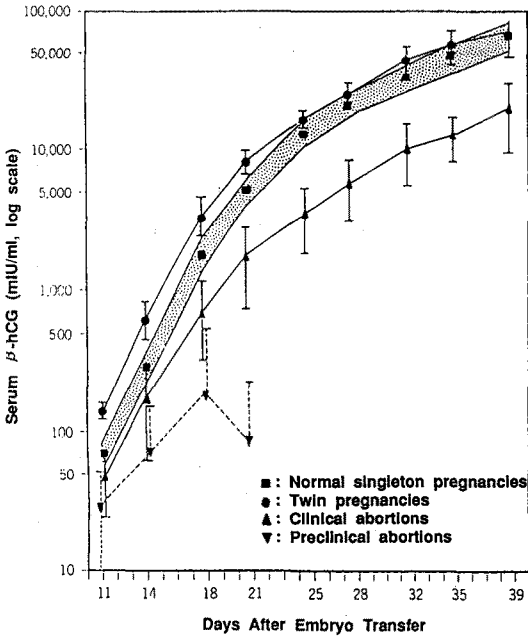
Table 8. Final outcomes in ASA-positive and ASA-negative IVF patients, SNUH

	ASA-positive* (n=7)				ASA-negative (n=18)			
	No.	%A	%B	%C	No.	%A	%B	%C
A. Patients	7				18			
B. Mature oocytes	7	100			17	94.4		
C. Eggs cleavaged	6	85.7	85.7		16	88.9	94.1	
D. Pregnancy	1	14.3	14.3	16.7	4	22.2	23.5	25.0

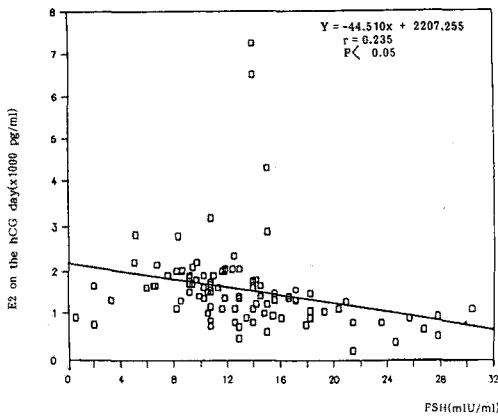
\*: ASA(anti-sperm antibody) detected in seum by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with Behring ELISA Processor II, Behring

수정시술 프로그램에서 얻어진 자료를 분석한 결과 배아이식 후 제 11일 과 제 18일에 혈중  $\beta$ -hCG치를 측정함으로써 preclinical abortion과 impending clinical abortion을 정상 임신의 경우와 구별할 수 있었으며, 제 18일에 혈중  $\beta$ -hCG치를 1회 측정하여도 체외수정시술 임신 예의 초기 임신 진행과정을 예측할 수 있었다.

**D. 기초 혈중 FSH치와 FSH/LH 비(Basal serum FSH and FSH/LH)**



**Fig. 2.** Serum  $\beta$ -hCG levels in IVF pregnancies (Mean  $\pm$  95% CI): The hatched area represents the 95% confidence interval of the mean of the normal singleton pregnancies.



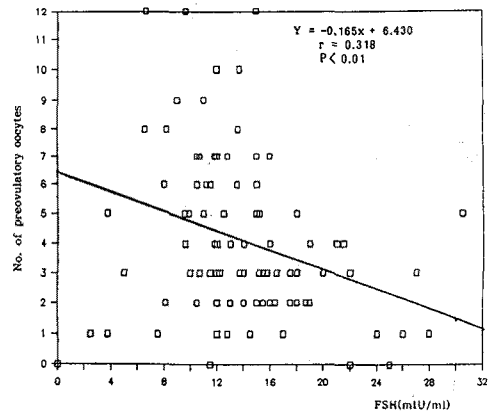
**Fig. 3.** Serum E2 levels on the day of hCG administration relative to serum FSH levels on the third day of the menstrual cycle.

최근 월경주기 제 3일에 측정된 기초 혈중 FSH치와 FSH/LH비에 대한 중요성이 대두되고 있는데 기초 혈중 FSH치가 체외수정시술시 과배란유도에 대한 난소 반응과 그 결과인 임신율을 예측할 수 있는 지표로 사용될 수 있으며, 따라서 대상환자를 과배란유도 전 미리 co-unselling하는 데도 매우 유용한 것으로 인식되고 있다. Norfolk group의 Scott 등(1988)은 기초 혈중 FSH치가 15mIU/ml이하인 경우 15 mIU/ml이상인 경우에 비하여 혈중  $E_2$  최고치, 흡인된 난포의 수, 채취된 성숙난자의 수와 주기당 임신율이 유의하게 높았고 임신예에서의 유산율도 낮았다고 보고하였다. 또한 Muasher 등(1988)도 기초 혈중 FSH/LH비에 따라 대상환자군을 분류할 때 과배란유도시 혈중  $E_2$ 반응, 채취된 성숙난자의 수와 자궁내이식된 배아의 수가 FSH/LH < 1군이 가장 양호하였고 FSH/LH = 1군이 중등도, FSH/LH > 1군이 가장 불량하였으며, FSH/LH비가 높을수록 임신율이 낮았다고 보고하였다.

본 시험관아기 크리닉의 경우에도 월경주기 제 3일에 측정된 혈중 FSH치가 높을수록 hCG 투여일 혈중  $E_2$ 치, 천자된 난포의 수, 채취된 난자의 수가 유의하게 낮았으며, 혈중 FSH/LH비가 낮을수록 천자된 난포의 수가 많았다(그림 3, 4).

**E. 내인성 LH surge(Endogenous premature LH surge)**

과거에는 hMG로 과배란을 유도하는 경우 내인성 LH surge가 억압되는 것으로 생각되어 왔지만 최근 과배란유도 중 발생하는 내인성



**Fig. 4.** Preovulatory oocytes relative to serum FSH levels on the third day of the menstrual cycle.



LH surge에 대한 많은 연구가 발표되고 있으며, 이를 조기에 발견하고 방지하려는 노력이 계속되고 있다.

서울대학교병원의 경우 FSH/hMG로 과배란유도시 내인성 LH surge의 발생율은 34.7%(78/225)이었다. 과배란유도시 내인성 LH surge 발생군이 비발생군에 비하여 과배란유도 시행 전의 기초 혈중 LH농도와 LH/FSH비, Day 0 전후의 혈중 E<sub>2</sub> 농도, Day 0 및 Day+1 혈중 progesterone(이하 P4라 함) 농도, Day 0 혈중 P4 농도 증가율이 유의하게 높았으며, 채취된 난자의 난할율과 시술환자당 난할이 일어난 난자의 수는 유의하게 적었다. 특히 혈중 P4 농도 및 혈중 P4 농도 증가율은 LH surge발생과 유의한 상관관계가 있었으며, 따라서 과배란유도 중 혈중 P4 농도 측정은 내인성 LH surge의 발생 가능성을 조기에 예측할 수 있는 지표(predictor)로서 사용 가능하다고 사료되었다(표 9, 10).

**F. Gonadotropin-releasing hormone agonist(GnRH agonist) 복합 투여**

난소의 과배란유도 중 내인성 LH surge가 반복되는 체외수정시술 환자에서는 GnRH ago-

**Table 9.** Occurrence of LH surge by serum progesterone level on Day 0, SNUH

Serum P4 (ng/ml)	No. of cases	No. of LH surge(%)*
P4<0.1	68	14(20.6) <sup>a,b,c</sup>
0.1≤P4<0.5	123	42(34.1) <sup>a,d,e</sup>
0.5≤P4<1.0	22	18(81.8) <sup>b,d,f</sup>
P4≥1.0	5	3(60.0) <sup>c,e,f</sup>
Total	218	77(35.3)

\*:X<sup>2</sup>=28.69, p<0.005, a,c:p<0.05, b,d:p<0.005, e,f:NS(not significant)

nist와 hMG 혹은 pure FSH를 복합 투여하여 "medical hypophysectomy"상태를 유발함으로써 뇌하수체에서의 성선자극호르몬의 분비를 억제하여 조기의 내인성 LH surge를 방지할 수 있다.

GnRH agonist의 과배란유도 중의 유용성은 내인성 LH가 존재하지 않으므로 난포 동원(recruitment)과 성숙이 용이하고, 난포 및 난자 성숙이 장기간에 걸쳐서 일어날 수 있으므로 난자와 배아의 질이 향상되며, 혈중 E<sub>2</sub>/P4비가 양호하여지거나 혹은 GnRH agonist 자체의 자궁내막에 대한 직접적인 효과로서 자궁내막이 더욱 생리적으로 자연배란 주기시와 유사하게 발달되어 이식된 배아에 대한 내막 수용성(endometrial receptivity)의 증가 등에서 기인하는 것으로 밝혀져 있다.

본원에서는 GnRH agonist로서 short-acting인 Buserelin, Lupron, Decapeptyl을 long-term protocol로 사용하고 있다.

Buserelin과 FSH/hMG의 복합투여로 과배란유도를 시행받은 체외수정시술 환자 20명(20

**Table 10.** Occurrence of LH surge by both serum progesterone level on Day 0 and the rising rate of serum progesterone level on Day 0, SNUH

Group (Serum P4, ratio)	No. of cases	No. of LH surge(%)*
I (P4<0.5, <2)	119	27(22.7) <sup>a,b,c</sup>
II (P4<0.5, ≥2)	61	25(41.0) <sup>a,d,e</sup>
III (P4≥0.5, <2)	6	4(66.7) <sup>b,d,f</sup>
IV (P4≥0.5, ≥2)	19	16(84.2) <sup>c,e,f</sup>
Total	205	72(35.1)

\*:X<sup>2</sup>=31.71, p<0.005, a,b:p<0.05, c,e:p<0.005, d,f:NS

**Table 11.** Serum hormone levels during suppression phase with Buserelin(Mean±S.D.), SNUH

MCD*	#3	Day 1 #21	Day 2 #22	Day 3 #23	Day 7 #27	Day 11	Day 14	Day 15 (Day +1)
E2(pg/ml)	38.9 ±21.2	116.9 <sup>a,b</sup> ±41.9	204.5 <sup>a</sup> ±71.4	106.4 ±45.7	97.3 ±41.6	54.8 <sup>b</sup> ±43.7	31.1 ±19.6	19.1 ±18.0
P4(ng/ml)	—	16.78 <sup>c,d,e</sup> ±7.53	22.64 <sup>c</sup> ±9.45	20.96 <sup>d</sup> ±6.60	11.37 <sup>e</sup> ±6.42	2.90 ±1.07	0.20 ±0.25	0.17 ±0.15
LH(mIU/ml)	13.84 ±3.75	14.19 <sup>f</sup> ±5.03	174.40 ±57.95	57.32 ±18.67	31.73 ±12.72	24.33 ±11.03	18.17 ±6.28	17.47 <sup>f</sup> ±5.69
FSH(mIU/ml)	16.10 ±3.80	9.65 <sup>g,h</sup> ±4.51	25.28 <sup>g</sup> ±11.33	13.03 <sup>h</sup> ±6.21	9.94 ±4.16	11.75 ±5.02	10.54 ±3.31	10.22 ±3.04

\*:Menstrual cycle date, a, b, g:p<0.005, c, d, e, h:p<0.05, f:NS

주기)을 대상으로 혈중 호르몬 농도의 변화를 관찰하고, 동일한 환자의 과거 FSH/hMG 과배란유도 주기(23 주기)를 대조군으로 설정하여 과배란유도에 대한 난소 반응 결과를 상호 비교 분석한 결과는 표 11, 12 & 13과 같다. Lu-pron과 FSH/hMG의 복합투여 결과는 표 14 & 15와 같다.

GnRH agonist와 성선자극호르몬을 복합투여한 과배란유도는 뇌하수체에서의 내인성 LH 분비를 고도로 억제하여 과배란유도시 조기의 내인성 LH surge의 발생을 방지하고, 보다 많은 양질의 난자 획득을 가능하게 하므로 특히 과거의 과배란유도시 난포의 성장과 발달이 불량하였거나 내인성 LH surge가 발생하였던 체외수정시술 환자들에게 효과적일 것으로 사료

**Table 12.** The comparison of the outcome of COH between the previous FSH/hMG cycles and the Buserelin/FSH/hMG cycles: I, SNUH

	Previous cycles	Buserelin cycles	p value
No. of patients	20	20	
No. of cycles stimulated	23	20	
cancelled	17(73.9%)	2(10.0%)	p<0.005
aspirated	6(26.1%)	18(90.0%)	p<0.005
aspiration failure	1(16.7%)	1( 5.6%)	NS

**Table 13.** The comparison of the outcome of COH between the previous FSH/hMG cycles and the Buserelin/FSH/hMG cycles: II (Mean±S.D.), SNUH

No.	Previous cycles	Buserelin cycles	p value
Follicles on D 0			
FD 12-14 mm	3.83±3.25	3.88±2.35	NS
FD ≥ 15 mm	1.67±1.51	3.29±2.11	NS
Total	5.50±4.09	7.18±4.12	NS
Oocytes retrieved	3.17±2.32	5.76±4.89	NS
Retrieval rate/Follicle(%)	57.6	80.3	p<0.05
GIFT patients	2	6	
Oocytes transferred in GIFT	2.50±0.71	4.33±1.51	NS
Oocytes cleaved	1.33±1.15	3.20±2.99	NS
Cleavage rate/Oocyte(%)	28.6	44.4	NS
Embryos/ET	2.00±0.00	3.91±3.02	NS
Pregnancies	0	4	
P.R.*/Patient(%)	0(0/20)	20.0(4/20)	p<0.05
P.R./Aspiration(%)	0(0/ 5)	23.5(4/17)	NS
P.R./ET & GIFT(%)	0(0/ 4)	26.7(4/15)	NS
P.R./ET(%)	0(0/ 2)	22.2(2/ 9)	NS
P.R./GIFT(%)	0(0/ 2)	33.3(2/ 6)	NS

\*:Pregnancy rate

되며, 체외수정시술의 성적을 전반적으로 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다.

**G. 과배란유도 중 난포 성장과 발달 감시의 간편화**

체외수정시술 분야에 질식 초음파단층촬영이 도입되어 난포 성장의 감시와 난자채취에 이용됨에 따라 과거의 복식 초음파단층촬영에 비하여 더 정확한 난포 직경의 측정 등 난포 감시(follicle monitoring)가 가능하고, 복강경식 난자채취에 비하여 난자채취율이 향상되어 질식 초음파단층촬영은 체외수정시술의 성적 향상에 크게 기여하였다.

한편 체외수정시술시 대상환자의 주 경제적 부담 요인은 과배란유도를 위한 여러 외인성 성선자극호르몬제 투여와 난포 감시를 위한 혈중 호르몬치의 측정에서 주로 기인한다고 할 수 있다.

이러한 경제적 부담 뿐만아니라 매일 채혈로 인한 환자의 불편 등을 줄이려는 노력의 한 방편으로서 과배란유도 중 난포 성장과 발달의 감시에서 혈중 E<sub>2</sub>치 측정을 제외하려는 노력이 시도되고 있다. Foster 등(1989)은 CC와 hMG로 과배란유도를 시행받은 263주기 중 혈중 E<sub>2</sub>치를 측정한 138주기와 측정하지 않은 125주기 사이에 과배란유도 중 탈락율과 체외수정시술 후 임신율에 있어서 각각 유의한 차이가 없었

다고 하였다.

서울대학교병원에서는 최근 과배란유도 중 난포 감시에 있어서 자궁경부 점액검사를 이용한 임상적 전이(cinical shift) 여부를 고려하지 않고 있으며, 혈중 E2치 보다는 혈중 LH 및 P4치에 더 큰 비중을 두고 있다.

## II. 생식세포 난관내이식(Gamete Intrafallopian Transfer, GIFT)

1984년 Asch 등은 원인불명의 불임부부에게 과배란유도를 한 후 흡인된 난자를 수정능력(capacitation)을 부여한 정자와 함께 난관내로 이식하는 GIFT에 의한 첫 성공적인 임신을 보고하였다.

GIFT시술은 불임환자에서 최소한 한쪽 난관은 정상인 경우 매우 유용한 불임증 치료 방법으로서 원인불명의 불임, 경증의 자궁내막증, 자궁경부 점액 이상, 남성 인자로 인한 불임 등이 그 적응증이 된다.

GIFT시술에 의한 임신율은 첫째, 체외에서의 난자 및 배아에 대한 처치 조작의 감소, 둘째, 생리적인 난관내 환경의 적합성, 셋째, 생리적인 난관 운동에 의한 적절한 시기에서의 자궁

강내 이동 등으로 체외수정시술에 의한 임신율보다 상대적으로 높은 것으로 인지되고 있다(이 등, 1988).

서울대학교병원의 경우 GIFT시술 주기당 임신율은 24.5%이며, 평균  $4.8 \pm 2.7$ 개의 난자를 난관내이식하였다(Table 16). 임신율은 5개의 난자를 난관내이식 하였을 경우 42.3%로서 제일 높았으며, 또한 5개 이상의 난자를 난관내이식 하였을 경우 35.6%로서 4개 이하 경우의 16.7%에 비하여 유의하게 높았다(표 17).

GIET시술은 체외수정시술 보다는 비교적 간단한 시술이나 체외수정시술을 시행할 수 있는 여건하에서 시행하는 것이 바람직하다. 예상하지 못하였던 난관 이상이 발견되는 경우 체외수정시술을 시행할 수 있어야 하며, GIFT시술 후 여분의 난자를 체외수정시킨 후 냉동보존하여 필요시 후에 이식함으로써 성공율을 더욱 높일 수 있기 때문이다. 또한 GIFT시술은 난자의 수정 여부를 직접 확인할 수 없는 단점이 있는데, GIFT시술과 일부 난자에 대한 체외수정시술을 동시에 시행함으로써 난자의 수정 여부에 대한 귀중한 정보를 얻을 수 있는 것이다(Quigley et al., 1987; Matson et al., 1987).

### 1. PROST

1986년 Blackledge 등은 과배란유도 후 난자를 채취하여 체외수정한 후 다음날 아침 난자의 수정 여부를 판정하고 수정이 확인되면 전핵시기(pronuclear stage)의 수정란을 난관내로 이식하는 PROST(pronuclear stage tubal transfer)를 개발하였다. PROST는 체외수정시술과 GIFT의 단점을 각기 극복하려는 시술로서 난자와 정자의 수정과정을 체외에서 관찰 가능하게 하여 특히 남성인자를 지니거나 원인불명의 불임환자에서 중요한 진단적 정보를 제공하며, 체외수정시술에 비하여 조기에 전핵시기의 배

**Table 14.** The comparison of the outcome of COH between the previous FSH/hMG cycles and the Lupron/FSH/hMG cycles, SNUH

	Previous cycles	Lupron cycles	p value
No. of patients	32	32	
No. of cycles stimulated	34	32	
cancelled	14(41.2%)	3( 9.4%)	p<0.005
aspirated	20(58.8%)	29(90.6%)	p<0.005
aspiration failure	2(10.0%)	1( 3.4%)	NS

**Table 15.** The comparison of the final outcome of COH between the previous FSH/hMG cycles and the Lupron/FSH/hMG cycles, SNUH

No. of cycles	Previous cycles				Lupron cycles			
	% A	% B	% C	% D	% A	% B	% C	% D
A. COH started	34				32			
B. Aspirated	20	58.8 <sup>a</sup>			29	90.6 <sup>a</sup>		
C. Oocytes retrieved	18	52.9 <sup>b</sup>	90.0		28	87.5 <sup>b</sup>	96.6	
D. ET	17	50.0	85.0	94.4	23	71.9	79.3	82.1
E. Pregnancy	0	0	0	0	2	6.3	6.9	7.1 8.7

a, b<0.005

아를 난관내로 이식하여 생리적인 환경하에서 배아의 성장과 발달이 진행되도록 한다.

본원에서 1988년 3월 이후 30예의 PROST를 시술하여 만족스러운 결과를 얻은 바 있다.

## 2. TEST

Wong 등(1989)은 2세포기 이상의 배아를 난관내로 이식하는 TEST(tubal embryo stage transfer)를 시술하여 정자희소 및 무력증(oligoasthenospermia)을 지닌 50명의 불임환자 중 12명(24%)에서 임신이 성립되었고 이중 9명(75%)에서 정상적으로 임신이 진행되었다고 보고하면서 TEST의 임신율이 GIFT에 못지 않다고 주장한 바 있다.

Balmaceda 등(1989a)은 정자희소 및 무력증 환자 31명에서 119개의 배아와 과거 GIFT시술에 실패한 환자 11명에서 38개의 배아를 TEST로 난관내이식한 결과 각각 19명에서 24개의 임신낭, 3명에서 4개의 임신낭이 진단되어 TEST시술당 임신율이 각각 61.3%, 27.3%, 이식된 배아당 착상율이 각각 20.2%, 10.5%이었

다고 보고하였다. Balmaceda 등(1989b)이 체외 수정시술, TEST, GIFT를 각각 시행받은 환자에서 이식된 배아당 착상율을 비교 분석한 결과는 표 18과 같다.

## 3. 자궁경부식 생식세포 난관내이식(Transcervical GIFT)

1987년 Jansen & Anderson은 자신들이 개발한 Jansen Anderson intratubal transfer set (Cook, Australia)를 사용하여 질식 초음파단층촬영 유도하에 도뇨관(catheter)을 질내로 삽입한 후 자궁경부, 내강을 거쳐서 정상적으로 체내에서 난자와 정자의 수정이 일어나는 부위인 난관내 ampullary-isthmic junction(AIJ)까지 삽입하는데 성공하였다(그림 5). 이러한 자궁경부식 난관 도뇨법(transcervical catheterization of fallopian tube)을 이용하여 정자, 난자, 발생 초기의 배아 등을 직접 난관내 AIJ으로 이식 가능한데 기존의 복강경식 GIFT에 비하여 전신마취, 수술 및 입원 등이 불필요하고, 채취된 난자의 성숙이 불충분한 경우 체외에서 난자를

Table 16. Pregnancy rate by etiology factor in GIFT, SNUH

Etiologic factors	No. of Cycles	No. of Oocytes Transferred	Pregnancy			
			Total		Clinical	
			No.	%	No.	%
Unexplained infertility	57	4.7	13	22.8	12	21.1
Endometriosis	53	3.7	18	34.0	16	30.2
Cervical factor	11	4.6	3	27.3	2	18.2
Peritubal adhesion	10	3.4	1	10.0	1	10.0
Male factor	12	4.5	0	0	0	0
Total	143	4.2	35	24.5	31	21.7

Table 17. Pregnancy rate by number of oocytes transferred in GIFT, SNUH

Transferred	No. of Cycles	Pregnancy					
		Total		Clinical		Multiple	
		No.	%	No.	%	Twin	Sextuplet
1	17	1	5.9	1	5.9		
2	20	3	15.0	3	15.0		
3	23	6	26.1	5	21.7	1	
4	24	4	16.7	3	12.5	1	
5	26	11	42.3	10	38.5	2	
6	21	7	33.3	6	28.6	2	
≥7	12	3	25.0	3	25.0		1
Total	143	35	24.5	31	21.7	7	22.6*

\*:No. of Multiple Pregnancies/No. of Clinical Pregnancies

**Table 18.** The comparison of embryo implantation rates, Balmaceda et al.(1989)

No.	IVF-ET	TEST	GIFT	GIFT*
Aspirations	138	85	254	254
Transfers	127	55	254	254
Embryos or Oocytes transferred(A)	333	185	610	427
Pregnancies	23	29	85	85
Gestational sacs(B)	29	36	116	116
Implantation rate(B/A)	8.7% <sup>a,b,c</sup>	19.5% <sup>a,d</sup>	19.0% <sup>b</sup>	27.2% <sup>c,d</sup>

\*:GIFT results corrected by using a fertilization rate(70%) equal to that obtained in UCI  
 a:p<0.01, b,c:p<0.001, d:p<0.05

추가배양하거나 수정시킨 후 시기적으로 나중에 필요할 때 외래 단위로 난관내이식을 시술할 수 있는 등의 장점이 있다.

Hughes 등(1988)은 자궁경부식 난관도뇨를 실시한 16예 중 12예(75%)에서 난관도뇨에 성공하였는데 시술시 평균 7.2±4.2분이 소요되었다고 보고하였다.

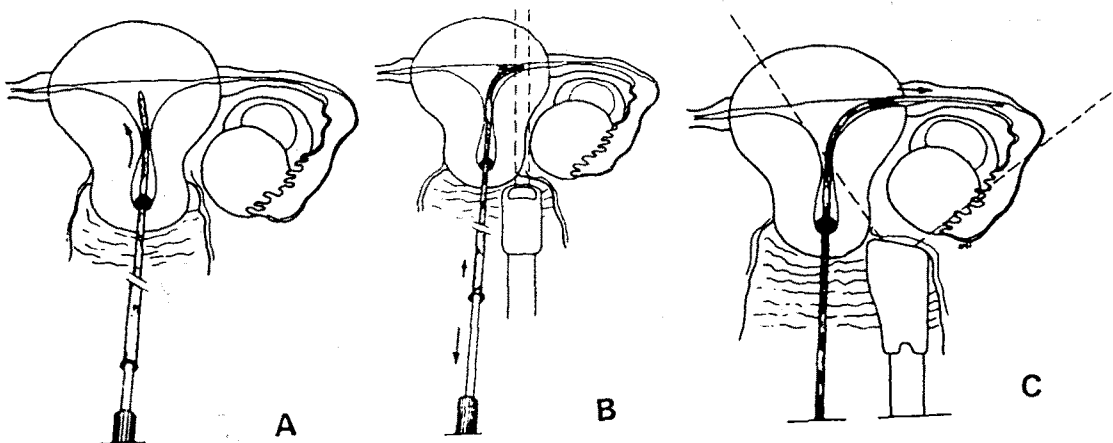
Anderson & Jansen(1988)은 자궁경부식 난관도뇨로 정자를 난관내이식한 137예 중 13예(9.5%), 난자와 정자 혹은 전핵시기의 배아를 이식한 33예 중 3예(9.1%)에서 임신이 성립되었다고 보고하였으며, Lucena 등(1989)은 남성 인자를 가진 불임환자에서 정자를 체외에서 migration-sedimentation technique으로 처리한 후 자궁경부식 난관내 인공수정(intratubal insemination, ITI)으로 40명(63 주기) 중 15명(37.5%), 자궁경부식 난자와 정자의 난관내이식

(transcervical GIFT)으로 7명 중 3명(42.9%)에서 임신에 성공하였다고 보고하였다.

앞으로 자궁경부식 난관도뇨에 대한 경험과 지식이 더욱 축적되면 기존의 인공수정, GIFT 시술을 상당수에서 대체 가능할 것으로 추측되며, 환자와 시술자 모두에게 많은 이점을 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

### Ⅲ. 남자 공여(Oocytes Donation)

서울대학교병원에서는 1988년 7월부터 남자 공여 프로그램(oocytes donation program)을 시작하였는데 주 대상은 조기 난소부전증(premature ovarian failure)환자와 3회 이상 체외수정 시술을 위한 과배란유도 중 난소내 난포의 발달이 나쁜 경우 즉 난소의 반응이 불량하여 탈락하였던 환자이다. 남자 공여자는 대상 환자의



**Fig. 5.** System for catheterization of the fallopian tubes.

- A. A metal obturator is used to guide the cannula through the curve of the cervix into the uterus.
- B. As the obturator is withdrawn, the cannula regains its lateral curve and is advanced to the uterotubal junction.
- C. The catheter is passed down the cannula and through the isthmus of the fallopian tube.

자매간으로 제한하고 있다.

본 프로그램에서는 1987년 Serhal & Craft가 제시한 정상월경 주기를 가진 환자와 난소부전증 환자 모두에게 사용할 수 있으며, 실제적으로 사용하기에 매우 용이하고, 난자 수혜자와 공여자 사이의 LH synchronization이 필요없어

**Table 19.** Oocytes donation protocol - simplified approach, SNUH

1. Recipient
A. Pretreatment cycle
1) E <sub>2</sub> valerate(Proginova): 2mg(2T) × 3/D, PO, MCD #1-28
2) Progesterone in ethyl oleate: 100mg/D, IM, MCD #15-28
3) D/C/B(for Dating):MCD #21
B. Treatment cycle
1) E <sub>2</sub> valerate(Proginova): 2mg(2T) × 3/D, PO, MCD #3-
2) Progesterone in ethyl oleate: 100mg/D, IM, from the day preceding oocytes retrieval from Donor
3) S-hCG:11 days after ET
4) If pregnant, the same E-P therapy till 20 week
2. Donor
Controlled ovarian hyperstimulation(COH) as usual

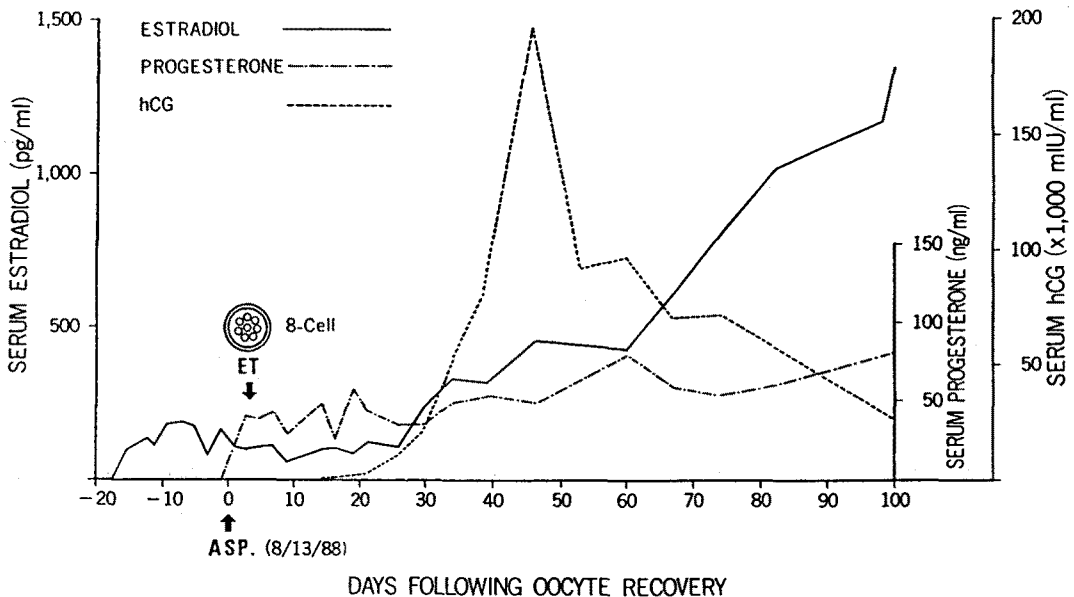
탄력성이 있는 estradiol valerate(6mg/Day)와 progesterone in ethyl oleate(100mg/Day)를 이용한 simple hormonal replacement therapy인 simplified approach를 난자 수혜자에게 사용하여 현재까지 8명의 환자에서 9주기의 체외수정시술을 시행한 결과 4명의 환자에서 임신이 성립되었다(표 19, 그림 6).

난자 공여 프로그램은 임상적으로 불임증 및 유전질환의 치료에 널리 사용될 수 있으며, 인간 수정란의 자궁내막 착상에 있어서의 생리학적 기전과 임신 초기의 내분비학적 변화에 관하여 여러 중요한 지식과 정보를 제공하여 줄 수 있다.

#### IV. 냉동보존(Cryopreservation)

##### 1. 배아의 냉동보존(Cryopreservation of embryos)

서울대학교병원에서는 1987년 이후 배아 냉동보존 프로그램이 점차 확립됨에 따라 체외수정시술을 위한 과배란유도 주기 중의 배아이식시 이식 배아의 수를 5개 이하로 제한하고 있다. 나머지 건강한 배아는 냉동보존한 후 과배란유도로 유발될 수 있는 내분비적 변화(endocrine aberrations)와 자궁내막의 배아 수용능력(endometrial receptivity) 감소가 존재하지 않는



**Fig. 6.** Changes in serum estradiol, progesterone and hCG levels in the recipient No. 1 who had delivered a healthy baby (F/3.04 kg).

**Table 20.** The future of IVF

IVF makes possible research on human oocytes, human fertilization, and the early stages of human development in vitro.

Possible Objectives

1. Alleviation of Infertility
  - Improvement of the success rate and efficacy of IVF as a therapeutic procedure
2. Regulation of Fertility
  - New contraceptive approaches
  - Immunological contraception
3. Diagnosis of Genetic and Chromosomal Defects(during preimplantation period)
  - A. Karyotyping studies
  - B. Gene activity during cleavage
    - a) In situ hybridization to mRNA
    - b) Noninvasive metabolic studies
    - c) Enzyme microassays

자연배란 주기에서 배란 여부를 확인한 후 냉동보존 배아를 thawing하여 자궁강내로 이식함으로써 임신율 기대한다.

현재 전세계적으로 사용되고 있는 배아 냉동보존 프로그램은 Trounson & Mohr(1983)의 4-10세포기 배아에서 DMSO(dimethylsulfoxide)를 냉동보호제(cryoprotectant)로 사용한 slow-freezing, slow-thawing 방법, Cohen 등(1985)의 포배기(blastocyst) 배아에서 glycerol을 사용한 rapid-freezing, rapid-thawing 방법, Renard 등(1984)과 Lassalle 등(1985)의 1-4세포기 배아에서 propanediol을 사용한 rapid-freezing, rapid-thawing 방법의 3가지로 대별할 수 있다.

1987년 보고된 바에 의하면 전세계적으로 24개의 체외수정시술실에서 3577개의 배아를 냉동보존한 후 thawing하여 1219개의 배아를 자궁내이식한 결과 163명의 임신이 성립되어 배아이식당 임신율은 13.4%이었으며, 이중 유산율은 26.4% , 자궁외임신율은 6.0%이었다. Testart 등(1987)과 Cohen 등(1988)은 냉동보존한 배아 1개를 자궁내이식 하였을 때 임신율은 25% 정도라고 보고하였다.

**2. 난자의 냉동보존(Cryopreservation of oocytes)**

난자의 냉동보존은 배아의 냉동보존에 비하여 아직 초기 연구단계로서 Trounson 등(1985)이 최초로 DMSO를 사용하여 난자를 냉동보존한 후 체외에서 수정하여 포배기 배아까지 배양에 성공한 바 있으며, Chen 등(1986)은 3개

의 난자를 6시간 동안 냉동 보존한 후 체외수정하여 동일 월경주기에 자궁내이식하여 쌍태아 임신이 성립되었다고 보고하였다.

**V. 향후 연구방향**

**1. 미세조작(Micromanipulation)**

최근 난자와 정자의 성공적인 수정을 유발하고자 체외에서 현미경하 여러 미세조작(micromanipulation)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데 이러한 미세조작을 이용한 체외수정은 특히 남성인자, 원인불명의 불임환자의 체외수정시술에 있어서 그 의의가 매우 크다.

미세조작 분야에서는 holding 및 injection micropipet을 사용하여 정자를 직접 성숙난자의 세포질내로 주입하는 정자 미세주입(sperm microinjection), 정자를 난자의 세포막과 투명대 사이의 난황주위 공간(perivitelline space)에 넣어주는 투명대하 정자 삽입(subzonal sperm insertion), chymotrypsin 등을 사용하여 투명대를 연화시킨 후 microneedle로 투명대의 일부를 뚫어 운동성 정자의 난자내 이동을 용이하게 하는 투명대 천공(zona drilling) 등이 연구되고 있다.

**2. 배아의 유전학적 분석(Genetic analysis of embryos)**

체외수정 후 자궁내이식 전의 배아를 대상으로 여러 유전학적 방법론을 사용하여 유전학적 분석 및 연구를 시행할 수 있다. 인간 배아의 경우 아직 초보적 단계이지만 축산학과 수의학의 생식번식학 분야에서는 현재 상당한 단계의 연구가 진행되고 있다.

**A. 성 감별(Sex determination)**

핵형 분석(karyotyping studies) 등을 이용하여 배아의 성을 미리 감별함으로써 염색체 X와 연관된 유전질환의 전파를 예방하는 등 치료적 목적으로 사용할 수 있다.

**B. 유전질환의 진단(Diagnosis of genetic disease)**

배아내 1개의 할구(blastomere)에서 생검(biopsy), 생화학적 미세분석(microassay) 등을 이용하여 특정 효소의 활성도를 측정하여 효소 결핍증 등과 같은 유전질환을 배아이식 전에 조기 진단할 수 있다.

**C. 핵 이식(Nuclear transfer)**

발달이 진행된 배아에서 핵을 추출하여 미리 핵을 제거한(enucleated) 난자 혹은 수정란에 이

식한 후 배양하여 분지제(cloning)를 생성할 수 있다. 이러한 핵 이식은 배아의 성장과 발달 과정 연구에 도움이 되며, 우량한 동일 분지제의 자손(identical cloned offspring)을 제공할 수 있는 등 우생학 분야에서 특히 중요한 의미가 있다.

## 결 론

생체내(*in vivo*)에서 일어나는 자연적인 수정 과정을 생체외(*in vitro*)에서 인위적으로 재현시키는 것이 체외수정이다. 체외수정시술은 인간 난자, 난자와 정자의 수정, 배아 발달의 초기 단계 등에 관하여 많은 연구를 가능하게 하였으며, 앞으로도 더욱 중요한 지식을 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 특히 불임증 치료의 한 방편으로서만 아니라 면역학적 피임 등과 같은 새로운 피임법의 개발 등으로 수태능력의 조절에 이용될 수 있고, 염색체 및 유전학적 질환의 조기 진단 등에도 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

체외수정시술이 발전함에 따라 배아를 다른 여성의 자궁에 이식하는 등 여러 법적, 윤리적인 문제가 발생한다. 국내에서도 최근 다음과 같은 윤리요강이 제정된 바 있다. 즉 체외수정시술은 첫째, 시험관아기 프로그램 이외의 방법으로서는 임신이 불가능한 경우에만 시행한다. 둘째, 법률적 부부 사이에만 시행한다. 셋째, 유전자조작을 시행하지 않는다. 넷째, 최고의 시설 및 기술로 배아를 신중히 취급한다. 다섯째, 환자의 개인의 비밀을 보장한다.

정상 여성의 경우에도 한번의 월경주기에 약 25%에서만 임신이 되어 만삭에 이르는 등 인간의 생식력은 불충분하다고 여겨진다(Obel, 1980). 체외수정시술은 채취된 난자의 수와 질, 수정되어 적절히 분열된 난자의 수, 이식된 배아의 수 등에 의하여 그 효율이 측정된다고 할 수 있는데 현재 임신성공율은 25-30%를 넘지 못하고 있지만 향후 생식내분비학적 지식과 체외수정시술 분야의 경험과 기술이 급속히 발전함에 따라 조속한 시일내에 크게 향상될 것으로 기대된다.

## 인 용 문 헌

Anderson JC, Jansen RPS: Ultrasound-guided catheterisation of the fallopian tube for the nonoperative transfer of gametes and em-

bryos. Presented at VI World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989.

Asch RH, Ellsworth LR, Balmaceda JP, Wong PC: Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet* 1984, 2, 1034.

Balmaceda JP, Remohi J, Ord T, Patrizio P, Asch RH: Tubal embryo transfer(TET): Results in cases of oligoasthenospermia and failed GIFT. Presented at VI World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989a.

Balmaceda JP, Remohi J, Gerli S, Ord T, Asch RH: Embryo implantation rate: Comparison of tubal versus embryo or oocyte transfers. Presented at VI World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989b.

Bentick B, Burford G, Shaw RW, Bernard A, Iffland CA: A randomized comparative study of purified follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotropin after pituitary desensitization with Buserelin for superovulation and in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988, 50, 79.

Blackledge DG, Matson PL, Wilcox DL, Yovich JM, Turner SR, Richardson PA, Yovich JL: Pronuclear stage transfer and modified gamete intrafallopian transfer techniques for oligospermic cases. *Med J Aust* 1986, 145, 173.

장운석, 이진용, 문신용, 김정구: 인간 난자의 체외수정 및 배아의 자궁내이식에 의한 임신 및 분만-한국 최초 시험관아기 분만 1례. *대한산부회지*, 1986, 29, 354.

장운석: 체외수정에 관한 연구. *대한산부회지*, 1987, 30(2), 1.

Chen C: Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986, 1, 884.

Cohen J, DeVane GW, elsnor CW, Fehilly CB, Kort HI, Massey JB, Turner TG: Cryopreservation of zygotes and cleaved embryos. *Fertil Steril* 1988, 49, 283.

Cohen J, Simons RF, Edwards RG, Fehilly CB, Fishel SB: Pregnancies following the frozen



- storgae of expanding human blastocysts. *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 1985, 2, 59.
- Dellenbach P, Nisano I, Moreau L, Feger B, Plumere C, Gerlinger P: Transvaginal sonographically controlled foliole puncture for oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1985, 44, 656.
- Edwards RG: Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965, 2, 926.
- Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM: Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynecol* 1980, 87, 737.
- Feichtinger W, Kemeter P: Transvaginal sector scan sonography for needle guided transvaginal follicle aspiration and other applications in gynecologic routine and research. *Fertil Steril* 1986, 45, 722.
- Ferraretti PA, Garcia JE, Acosta AA, Jones GS: Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization in normally menstruating women. *Fertil Steril* 1983, 40, 742.
- Foster PA, Pantos K, McKenna KM, Tedja C, McBain JC: A randomised trial of oestrogen monitoring for IVF-ET. Presented at VI World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989.
- Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G Jr: Human menopause gonadotropin/human chorionic follicular maturation for oocyte aspiration: Phase I, 1981. *Fertil Steril* 1983, 39, 167.
- Hughes EG, Shekelton P, Leonie M, Leeton J: Ultrasound-guided fallopian tube catheterization per vaginum: a feasibility study with the use of laparoscopic control. *Fertil Steril* 1988, 50, 986.
- Jansen RPS, Anderson JC: Catheterisation of the fallopian tubes from the vagina. *Lancet* 1987, 2, 309.
- Jones HW Jr: Transfer. *Infertility* 1983, 6, 183.
- Jones HW Jr, Acosta AA, Garcia JE: n the transfer of conception from oocytes fertilized in vitro. *Fertil Steril* 1983, 39, 241.
- Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, Acosta A, Bundren C, Garcia J, Sandow B, Veeck L, Wilkes C, Witmyer J, Wortham JE, Wright GL: The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril* 1982, 38, 14.
- Kistner RW: Sequential use of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril* 1976, 26, 72.
- Kokko E, Janne O, Kauppila A, Vihko L: Cyclic clomiphene citrate treatment lowers cytosol estrogen and progesterin receptor concentration in the endometrium of postmenopausal women on estrogen replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1981, 52, 345.
- Lenton EA, Cooke ID, Hooper MAK, King H, Kumar A, Mellows HJ, Monks NJ, Osborn JC: Natural cycle IVF: Results obtained during more than 200 treatment cycles. Presented at VI World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989.
- Lassalle B, Testart J, Renard JP: Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1, 2-propanediol. *Fertil Steril* 1985, 44, 645.
- Laufer N, Pratt BM, DeCherney AH, Naftolin F, Merino M, Markert CL: The in vivo and in vitro effects of clomiphene citrate in ovulation, fertilization and development of cultured mouse embryos. *Am J Obstet Gynecol* 1983, 147, 633.
- Lavy G, Pellicer A, Diamond MP, DeCherney AH: Ovarian stimulation for in vitro fertilization and embryo transfer, human menopausal gonadotropin versus pure human follicle stimulating hormone: a randomized prospective study. *Fertil Steril* 1988, 50, 74.
- 이진용, 최영민, 김학순, 이상훈, 손영수, 신창재, 김정구, 문신용, 장윤석: 생식세포 난관 내이식에 의한 임신에 관한 연구. 대한산부회지, 1988, 31, 498.
- Lenz S, Lauritsen JG, Kjellow M: Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided follicular puncture.

- Lancet* 1981, 1, 1163.
- Lenz S, Lauritsen JG: Ultrasonically guided per-cutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia; a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1982, 38, 673.
- Lopata A: Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983, 40, 289.
- Lepata A, Brown JB, Leeton JF, McTalbot J, Wood C: In vitro fertilization of pre-ovulatory oocytes and embryo transfer in infertile patients treated with clomiphene and human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril* 1978, 30, 27.
- Lopata A, Johnston IWH, Hault JJ, Speirs AI: Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by in vitro fertilization of a preovulatory egg. *Fertil Steril* 1980, 33, 117.
- Lucena E, Ruiz JA, Mendoza JC, Ortiz JA, Lucena C, Gomez M, Arango A: Vaginal intratubal insemination(VITI) and vaginal GIFT, endosonographic technique: early experience. *Human Reprod* 1989, 4, 658.
- Marrs RP, Saito H, Yee B, Sato F, Brown J: Effect of variation of in vitro culture techniques upon oocyte fertilization and embryo development in human in vitro fertilization procedures. *Fertil Steril* 1984, 41, 519.
- Marrs RP, Vargyas JM, Gibbons WE, Breger L, Mishell DR Jr: Clinical applications of techniques used in human in vitro fertilization research. *Am J Obstet Gynecol* 1983, 146, 477.
- Matson PL, Yovich JM, Bootsma BD, Spittle JW, Yovich JL: The in vitro fertilization of supernumerary oocytes in a gamete intrafallopian transfer program. *Fertil Steril* 1987, 47, 802.
- Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC: The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. AFS, 21st annual postgraduated course VI:97. Atlanta, USA, 1988.
- Obel EB: Long-term sequelae following legally induced abortion. *Dan Med Bull* 1980, 27, 61.
- Parson J, Booker M, Goswaym R, Akkermans J, Riddle A, Sharma V, Wilson L, Whitehead M, Cambell S: Oocyte retrieval for in vitro fertilization by ultrasonically guided needle aspiration in the urethra. *Lancet* 1985, 1, 1076.
- Quigley MM, Schmidt CL, Beauchamp PJ, Maklad NF, Berkowitz AS, Wolf DP: Preliminary experience with a combination of clomiphene and variable dosages of menopausal gonadotropins for enhanced follicular recruitment *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 1985, 2, 11.
- Quigley MM, Sokoloski JF, Withers DM, Richards SI, Reis JM: Simultaneous in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer (GIFT). *Fertil Steril* 1987, 47, 797.
- Renard JP, Bui-Xuan-Nguyen, Garnier V: Twostep freezing of two-cell rabbit embryos after partial dehydration at room temperature. *J Reprod Fertil* 1984, 71, 573.
- Sandow BA: Characteristics of human oocytes aspirated for in vitro fertilization. *Infertility* 1983, 6, 143.
- Scoccia B, Prins G, Blumenthal P, Scommegna A, Wagner C, Marut EL: Comparison of urinary human follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropins for ovarian stimulation in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1987, 48, 446.
- Scott RT, Flood JT, Toner JP, Muasher SJ, Liu HC, Rosenwaks Z: Cycle day 3 follicle stimulating hormone(FSH) levels are predictive of outcome in in vitro fertilization and embryo transfer(IVF/ET). AFS, 44th annual meeting Abstract P-107. Atlanta, USA, 1988.
- Seifer DB, George CR, Colline RL, Quigely MM, Paushter DM: Follicular aspiration: a comparison of an ultrasonic endovaginal transducer with fixed needle guide and other retrieval methods. *Fertil Steril* 1988, 49, 462.

- Serhal PF, Craft IL: Ovum donation—a simplified approach. *Fertil Steril* 1987, 48, 265.
- Stephoe PC, Edwards RG: Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming the ovaries with gonadotrophins. *Lancet* 1970, 1, 683.
- Stephoe PC, Edwards RG: Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976, 1, 880.
- Stephoe PC, Edwards RG: Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978, 2, 336.
- Testart J, Frydman E, DeMouzon J: A study of factors affecting the success of human oocyte fertilization in vitro. I. Influence of ovarian stimulation upon the number and conditions of oocytes collected. *Biology of Reproduction* 1983, 28, 45.
- Testart J, Lassalle B, Belaisch-Allart J, Hazout A, Forman R, Rainhorn JD, Frydman R: High pregnancy rate after early human embryo freezing. *Fertil Steril* 1986, 46, 268.
- Trounson A O: Clinical progress and new research developments in human embryo and egg cryopreservation. Proceedings of the Fourth World Conference on In Vitro Fertilization. Abstract #217A. Melbourne, Australia, 1985.
- Trounson A, Mohr L: Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983, 305, 707.
- Trounson A O, Mohr LH, Wood C, Leeton JF: Effect of delayed insemination on in vitro fertilization and transfer of human embryos. *Reprod Fertil* 1982, 64, 85.
- Vargyas JM, Marrs RP, Hoffman D, Yee B: Use of various ovarian stimulation methods to improve oocyte and embryo production for human in vitro fertilization: in vitro fertilization and embryo transfer. *Ann N. Y. Acad Sci* 1985, 442, 112.
- Vargyas JM, Morente C, Shangold G, Marrs RP: The effect of different methods of ovarian stimulation for human in vitro fertilization and embryo replacement. *Fertil Steril* 1984, 42, 1.
- Veeck L: Fertilization and development. *Infertility* 1983, 6, 155.
- Veeck L, Wortham JWE, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS, Jones HW Jr: Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983, 39, 594.
- Wong PC, Hagglund LA, Chan CLK, Wong YC, Anandakumar C, Goh VHH, HgSC, Bongso A, Ratnam SS: Tubal embryo transfer (TET) for the treatment of couples with oligoasthenospermia. Presented at VI World Congress In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Jerusalem, Israel, 1989.