

## 생식세포 난관내 이식술에 관한 연구\* - 대구 최초 나팔관 아기 임신 및 분만 성공 1례 -

계명대학교 의과대학 산부인과학교실

### 이 두 풍·차 순 도

#### 서 론

1984년 Asch 등은 원인불명의 불임부부에게 과배란유도를 한 후 난자를 수정능력(capacitation)을 부여한 정자와 함께 난관내로 이식하는 생식세포 난관내 이식술(Gamete Intrafallopian Transfer, GIFT)에 의한 첫 성공적인 임신을 보고 하였다. GIFT 시술은 불임환자에서 최소한 한쪽 난관은 정상인 경우 매우 유용한 불임증 치료 방법으로서 원인불명의 불임, 경증의 자궁내막증, 자궁경부 점액 이상, 남성 인자로 인한 불임등이 그 적용증이 된다.

GIFT 시술에 의한 임신율은 첫째, 체외에서의 난자 및 배아에 대한 처치 조작의 감소, 둘째, 생리적인 난관내 환경의 적합성, 세째, 생리적인 난관운동에 의한 적절한 시기에서의 자궁강내 이동으로 채외 수정에 의한 임신율보다 상대적으로 높은 것으로 인지되고 있다<sup>1)</sup>. GIFT 시술은 채외수정시술 보다는 비교적 간단한 시술이나 채외수정시술을 시행할 수 있는 여건하에서 시행하는 것이 바람직하다. 예상하지 못하였던 난관이상이 발견되는 경우 채외수정시술을 시행할 수 있어야 하며, GIFT 시술 후 여분의 난자를 채외수정시킨 후 냉동보존하여 필요시 후에 이식함으로써 성공율을 더욱 높일 수 있기 때문이다. 또한 GIFT 시술은 난자의 수정 여부를 직접 확인할 수 없는 단점이 있는데, GIFT 시술과 일부 난자에 대한 체외수정 시술을 동시에 시행함으로써 난자의 수정 여부에 대한 귀중한 정보를 얻을 수 있는 것이다<sup>2,3)</sup>. 저자들은 결혼 6년이 지나도록 온갖 불임에 관한 검사에 모두 정상인 원인불명의 여성(32세)에서 생식

세포 난관내 이식술을 시행하여 임신 및 쌍태아 분만에 성공한례를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

#### 재료 및 방법

환자는 32세된 부인으로 1985년 결혼한 이후로 한번도 임신을 경험하지 못한 불임을 주소로, 1990년 11월 22일 본원 산부인과 외래를 처음 방문하였다. 남편의 정액검사, 기초체온표, 자궁난관조영술등에서 정상이었고, 복강경 검사상에서 우측 난관채 주위의 약한정도의 유착을 볼 수 있었으나 불임의 원인이 될정도는 아니었고, 좌측 난관, 자궁, 우측난소는 정상이었고, 좌측 난소는 볼 수 없었다.

이상의 검사결과로 원인불명의 불임증으로 보고, 생식세포 난관내 이식술을 권하였으며 환자는 이를 허락하여 시행하기로 하였다.

#### 과배란 유도

1991년 2월 12일 월경이 시작되어, 월경주기 21일 째날인 3월 4일부터 Gonadotropin Releasing Hormone Agonist(GNRH-a)인 Lucrin 1mg씩 매일 피하로 10일간 주사하였고, 주사 11일째부터는 0.5mg씩 Human Chorionic Gonadotropin(HCG) 주사 때 까지 Long term protocol에 의하여 주사하였다. 1991년 3월 15일 월경이 다시 시작되어 초음파 촬영을 실시하여 양측 난소 및 골반강내를 평가하였다. 월경주기 3일 째인 3월 17일부터 2일간 Combo에 의하여, 오전에 Follicle Stimulating Hormone(FSH, Metrodin) 2 엠플(1 엠플=75IU), 오후에 Human Menopausal Gonadotropin(HMG, Pergonal) 2 엠플(1 엠플=75IU)

\* 이 논문은 1991년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비에 의하여 이루어 졌음.

을 근육주사 하였고, 월경주기 5일째 부터 11일째 까지 오후에 Pergonal 2 엠플씩 근육주사하였다. 질초음파촬영(Kretz 310)은 월경주기 7일째 부터 11일째까지 매일 시행하여 난포크기를 측정하였고, 혈중 Esradiol(E<sub>2</sub>), Luteinizing Hormone(LH)를 매일 방사 면역측정법(Radioimmunoassay)에 의하여 측정해서 LH surge 여부를 관찰하였다. 월경주기 11일째에 오른쪽 난소의 가장큰 난포의 직경이 17.3mm, 17.1mm, 16.3mm 이어서, 다음날 새벽 2시에 HCG (Profassi) 10,000IU를 근육주사한후 34시간 30분후인, 1991년 3월 27일 낮 12시 30분에 질초음파에 의한 난자흡인을 시행하여, 좌측난소에서 2개의 성숙난자를 우측난소에서 3개의 중등도 성숙난자, 11개의 성숙난자를 얻었다.

난자를 포함하고 있는 난포액은 즉시 무균 배양 실안의 배양접시에(Falcon #3002)에 옮긴후 난포액의 양, 색깔을 기록하고 해부현미경(Dissecting microscope)에서 난자의 존재유무를 확인하였다.

#### 난자성숙도의 판정

우측난소에서 2개의 난자, 좌측난소에서 14개의 난자가 해부현미경하에서 확인되어 역반사현미경(Invetered microscope)으로 Sandow<sup>4)</sup>의 방법에 의해 난자난구세포복합체(oocyte-cumulus complex)와 난포액내의 과립세포(granulosa cell)의 특징을 관찰한 결과, 3개의 중등도 성숙된, 13개의 배란직전의 성숙난자(Preovulatory oocyte)로 확인하였다.

#### 배양액

Ham's F-10 with glutamate 9.81g(Gibco #430-1200)을 이용하여 250ml의 HPLC(Highly Purified Liquid Chromatograph)에 Penicillin G(Sigma) 75mg, Streptomycin sulfate(Hoechst) 75mg을 첨가한후 monthly stock medesa를 만들고, 충분히 용해하도록 철저히 혼든후 0.2 micron Nalgene filter를 통하여 여과시킨후 4°C 냉장고에 보관하였다. 이와같이 만들어진 monthly stock medea 25ml에 HPLC 75ml을 혼합하고, lactic acid calcium salt(Hoechst) 27.87 mg과 NaHCO<sub>3</sub> (Mallincrodt) 210.6mg, phenol red (Grand Island Biological Company) 25micro liter를 첨가한후, 수소이온 농도(PH)는 7.4에 맞추고, 삼투압 280-284mosm가 되도록 하며, CO<sub>2</sub> Incubator안에 보관해 두었다가, 신생아 제대혈청의 농도가 수정배양액은 10%, 성장배양액은 20%, 이식배양액은 50%가 되도록 혈청을 첨가한후 사용하였다. 매사용 직전 가압여과 시킨후 사용하였다.

#### 정자의 준비및 수정

남편의 정액을 난관내 이식 4~5시간전에 수음(masterbation)으로 50ml 멀균 소독된 용기에 무균적으로 채취하여 액화되도록 실온에서 30~40분간 방치하였다. 액화후 기본적인 정책검사를 실시하여 정자의 수, 운동성, 형태등을 관찰한후 과거에 시행한 정액검사와 비교검토하였다. 정자에 수정능력(capacitation)을 부여하기 위하여 액화된 정액을 동량의 Ham's F-10 배양액으로 회석하여 원심분리기에서 800 x g로 10분간 원심분리를 시행하였다. 상층액을 제거하고 다시 2.5ml의 배양액을 추가하여 원심분리를 되풀이한후 이와같은 과정을 1회 더 반복한후 정자의 원침(pellet)을 만들었다. 여기에 0.5ml의 배양액을 정자의 원침이 흔들리지 않도록 추가한후 CO<sub>2</sub> 배양기내에서 2시간 동안 방치하였다.

#### 난자의 흡인채취및 생식세포 난관내 이식

월경주기 11일째에 과배란유도한 결과 질초음파에서 좌측난소에서 17.3mm, 17.1mm, 17mm, 15.3 mm의 난포가 보여 1991년 3월 26일 새벽 2시에 Profassi 10,000IU를 근육주사 하였다. Profassi 주사후 34시간 30분후인 3월 27일 낮 12시 30분에 demerol 50mg, valium 10mg을 정맥주사한후 질식초음파를 이용하여 질벽을 통하여 난자의 흡인을 시행하였다. 우측 난소에성 2개의 배란직전의 성숙난자를 좌측 난소에서 3개의 중등도 성숙난자, 배란직전의 성숙난자 11개를 흡인하였다. 흡인후 가능한한 대기에서의 노출을 적게하여 수정배양액에 넣어 CO<sub>2</sub> 배양기내에서 보관하였다. 이 동안 복강경에 의하여 난관 특히 난관채부를 정밀하게 관찰한후, CO<sub>2</sub> 배양기내에서 방치해둔 정액중 운동성 정자가 상층액에 부유된것을 확인한후, 상층액만 모아 정자의 수와 운동성을 관찰하였다. 운동성이 활발한 정자의 수는 30 x 10<sup>6</sup>/ml, 운동성 100% 이었다.

Petri 접시에 16개의 난자를 함유하고 있는 수정배양액을 Pipette으로 옮겨놓고, 역시 같은 Petri 접시에 운동성이 활발한 정자를 함유하고 있는 수정배양액을 옮겨놓고, 또한 역시 같은 Petri 접시에 50% 이식배양액을 준비하였다. GIFT 카테터(LABORATORIRE CCD, B1-SET pour GIFT de FRYDMAN, BELAISCH ALLART, Paris France)안으로 50% 배양액 10 micro liter, 공기(air) 10 micro liter, 정액 10 micro liter, 16개의 난자를 함유하고 있는 배양액 20 micro liter, 정액 10 micro liter, 공기 10 micro liter, 50% 배양액 10 micro liter의 순으로 우측 난

관채부를 통하여 4cm 이상 깊게 이식하였다. 이식후 카테터안의 남아있는 난자유무를 해부현미경하에서 확인한 결과 한개의 난자가 발견되었지만 나머지 15개는 우측난관안으로 완벽하게 이식되었다. GIFT 카테터는 트로카를 먼저 제와(umbilicus)와 치골구(mons pubis) 가운데로 삽입한후 카테터끝이 우측 난관채부안으로 들어갔음을 복강경을 통하여 보면서 시행하였다. 이식후 약 6시간의 안정후 귀가하였다. 이식을 시행한 날로부터 매일 progesterone 75mg씩 임신 3개월동안 근육 주사 하였다.

## 결 과

이식후 12일째인 1991년 4월 8일 혈청중의 Beta-hcg 66.59mu/ml, 15일째 503.54mu/ml, 19일째 3,968 mu/ml, 23일째 15,618mu/ml, 26일째 25,090mu/ml로서 임신을 확인하였다. 1991년 4월 25일 질초음파에 의하여 임신낭 및 태아의 심장박동을 확인하였다(임신 6주). 1991년 5월 20일 초음파에 의하여 쌍태아임을 확인하였다(임신 7주 5일)Fig. 1. 이후 매월 산전진찰을 받았으며, 1991년 11월 30일 임신 37주에 약한 진통이 시작되어 제왕절개술에 의하여 딸 1,960g, 딸 2,660g을 본원 수술실에서 무사히 분만하였다. 1,960g 아기는 인큐베이터에서 자라다 나와서 지금 현재 두 아기 모두 건강하게 잘 자라고 있다(Fig 2).

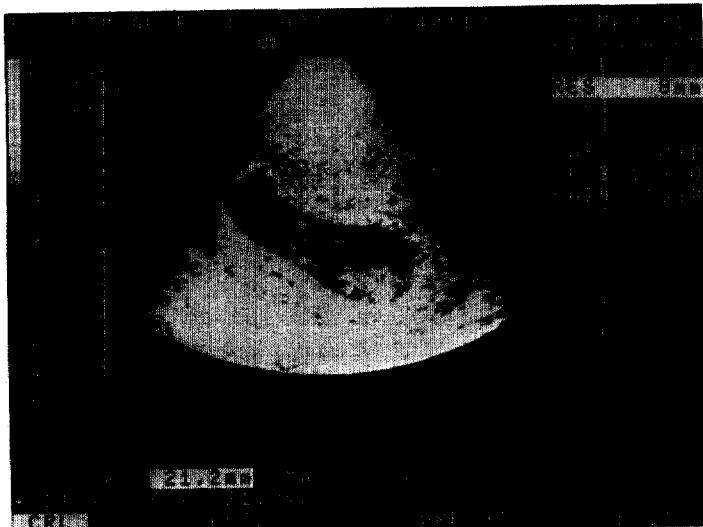


Fig 1. Photograph of two gestational sacs with two fetal heart beat at pregnancy 7 weeks.

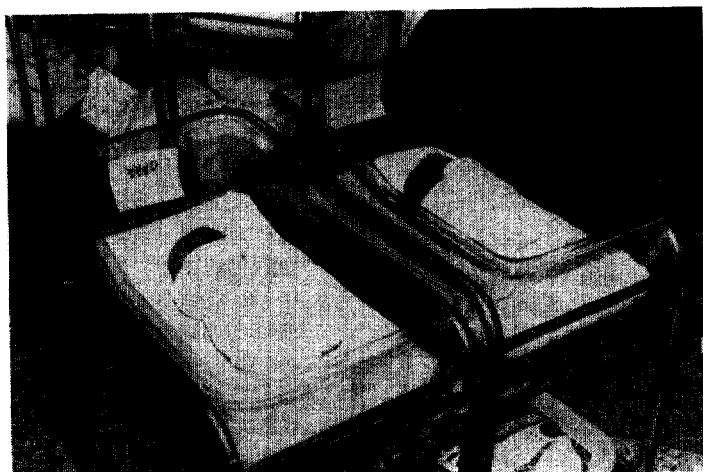


Fig 2. Photograph of two new born babies at nursery.

## 고 칠

1984년 Ricardo H. Asch<sup>5)</sup>에 의하여 개발된 "GIFT"는 가장 중요한 인체 생식기법(technology of assisted human reproduction) 가운데 하나이다. 적어도 둘중 하나의 난관이 정상인 경우 "GIFT"가 IVF(In Vitro Fertilization)보다 임신성고율이 높다. 왜냐하면 채외에서 보다 난관내에서 더욱 생리적이기 때문이다.

"GIFT" 시술 2시간전에 정액을 준비하여야 하는데 어떤 경우에는 심리적인 스트레스때문에 정액채취가 어려운 경우가 있다. 이와같은 경우에는 냉동 보존된 정액을 이용하여야만 한다.

그러나 펩정자증(Oligospermia)이나 "GIFT" 시술하기전 정액을 스트레스등으로 얻을수 없는 경우에는 "GIFT" 시술하기전날 미리 정액을 받아서 Earles 배양액으로 swim-up technique으로 처리한 후 실온에서 보관하였다가 그이튿날 채취한 난자와 함께 난관내로 이식하여 성공적인 임신을 보고하였다. 난관내로 이식하기 전 30분간 준비된 운동성이 활발한 정자를 CO<sub>2</sub> 배양기내에서 warming 시킨후 시행하였다고 보고하였다. 뿐만 아니라, 이처럼 prolonged incubation spermatozoa를 사용한 경우는 이식당 50%의 임신율을 보고한 반면, "GIFT" 시술 2시간전에 준비된 정액을 이용한 경우 임신율이 41.8%로 타나났다고 보고하였다<sup>6)</sup>.

IVF 혹은 "GIFT" 후 임신율을 높이기 위하여는 배란직전의 난자를 많이 얻어야 함과 동시에 Luteinizing Hormone(LH) surge에의 노출을 최소화 하여야 한다. spontaneous LH surge는 환자 cycle의 약 40%에서 배란주위의 시기에서 나타난다고 보고하였다<sup>7)</sup>. 만약 LH surge의 시작이 증명되어지면 난자의 흡인이 계획되어 져야 한다. LH surge의 triggering mechanism은 불분명하지만 난포의 발달, Inhibin의 분비, 혈청중의 Estradiol(E<sub>2</sub>) 증가와 밀접하게 연관되어 나타난다. LH surge는 과배란 유도에서 Gonadotropin Releasing Hormone Agonist(GnRH-a)의 사용에 의하여 피할수 있다. 그외의 GnRH-a의 장점은 조기 황체화의 예방, 전통적인 과배란 regimen에 잘 반응 하지 않는 환자에서의 folliculogenesis의 개선 등이다. 이는 folliculogenesis에서 GnRH-a의 직접 억제 효과, 혹은 Gonadotropin receptor의 down regulation으로 제안된다.

몇몇 연구에서는 GnRH-a/HMG(Human Meno-

pausal Gonadotropin)으로 과배란 유도때 황체기 결합의 보고가 있다. 그래서 과배란 유도때 황체홀몬을 함께 투여하는 보고가 있다. Carolyn<sup>8)</sup>은 GnRH-a를 포함하지 않는 그룹과, 포함한 그룹을 비교하여, 포함한 그룹에서 난자의 수, 혈청 E<sub>2</sub> 농도, 난자채취당 임신율의 증가를 보고하면서, 과배란 유도때 처음부터 GNRH-a의 사용을 주장하였다.

Carolyn 등<sup>9)</sup>의 보고에 의하면 난자와 정자를 난관을 통하여 이식하는 대신 자궁경관을 통하여 이식한 결과 임신을 보고하였다. 또한 P. J. Isherwood<sup>10)</sup>은 GIFT 시술을 시행하기전에 반드시 난관에 accessory tubal ostia가 있는지 여부를 확인하여야 한다고 강조하였다. 왜냐하면 accessory tubal ostia가 있으면 그쪽으로 카테터가 빠져나갈수 있기 때문이라고 하였다. 만약 accessory tubal ostia가 있으면 ostia를 지났음을 확인한후 이식을 하여야 한다고 하였다. accessory tubal ostia 유무는 자궁난관조영술이나 복강경검사에서 쉽게 놓칠수 있다.

## 요 약

저자들은 최근 온갖 불임에 관한 검사에도 불임의 원인이 밝혀지지 않은 결혼 6년이 지나도록 임신이 되지 않았든 원인불명의 부인에 GNRH-a인 Lucrin, FSH, HMG에 의하여 과배란 유도를 시행하고, 3개의 중등도 성숙난자, 13개의 배란직전의 성숙난자를 질초음파에 의하여 채취하여, 미리 준비한 정액과 함께, 복강경을 통하여 관찰하면서 우측 난관으로 이식하여, 임신에 성공하였고, 팔쌍둥이를 임신 37주에 제왕절개술에 의하여 대구 최초로 성공적인 분만을 경험하였기에 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

## 참 고 문 헌

1. 이진용, 최영민, 김학순, 이상훈, 손영수, 신창재, 김정구, 문신용, 장윤석 : 생식세포 난관내 이식에 의한 임신에 관한 연구. 대학산부인과 학회지, 1988; 31: 498.
2. Quigley MM, Sokoloski JF, Withers DM, Richards SI, Reis JM: Simultaneous in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer(GIFT). *Fertil Steril* 1987; 47: 797-801.
3. Matson PL, Ydvich JM, Bootsma BD, Spittle JW, Yovich JL: The in vitro fertilization of supernumerary oocytes in a gamete intrafallopian transfer

- program. *Fertil Steril* 1987; 47: 802-806.
4. Sandow BA: Characteristics of human oocytes aspirated for in vitro fertilization. *Infertil* 1983; 6: 143-144.
  5. Sylvia Pace-Owens: Gamate Intrafallopian Transfer(GIFT). *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 1989; 18: 93.
  6. Chan Yuen Mun, Chan Sieven Y W, Tucker Michael J et al: Successful pregnancies resulting from the use of prolonged-incubation human spermatozoa in gamate intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 1990; 54: 730-732.
  7. Alan Ferrier, John J Rasweiler IV, Alan S Berkeley: Evaluation of leuprolide acetate and gonadotropins versus clomiphene citrate and gonadotropins for in vitro fertilization or gamate intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 1990; 54: 90-95.
  8. Kubik Carolyn J, Guzick David S, Berga Sarah L, et al: Randomized, prospective trial of leuprolide acetate and conventional superovulation in first cycles of in vitro fertilization and gamate intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 1990; 54: 836-841.
  9. Kubik Carolyn J, Guzick David S, Berga Sarah L, et al: Establishment of pregnancies in human after transcervical transfer of gamates immediately after oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1990; 54: 1174-1176.
  10. P J Isherwood: Gamate intrafallopian transfer in women with accessory tubal ostia. *Br J Obstet Gynecol* 1990; 97: 542-543.

=Abstract=

**Pregnancy by Gamete Intrafallopian Transfer(GIFT)  
-A Report of the First Successful GIFT Baby in Taegu-**

Du Ryong Lee, MD, PhD; Soon Do Cha, MD, PhD

*Department of Obstetrics and Gynecology, Keimyung University,  
School of Medicine, Taegu, Korea*

Details are given of a successful pregnancy and twin delivery by GiFT. The oocytes were aspirated transvaginally 34 hours and 30 minutes after injection of HCG. Patient's hyperstimulation was done with Lucrin, FSH, HMG. Twin delivery(female 1960 g, female 2660 g) was done successfully by Cessarean section in pregnancy 37 weeks.

**Key Words:** GIFT, Pregnancy and delivery