

체외수정시술을 위한 과배란 유도결과와 혈중 Inhibin의 상관관계

연세대학교 의과대학 산부인과학교실

배상욱 · 정창진 · 장경환 · 이병석 · 박기현 · 조동제 · 송찬호

Correlatin of Serum Inhibin Concentrations with Results in an Ovarian Hyperstimulation for IVF-ET

Sang Wook Bai, Chang Jin Jung, Kyung Hwan Chang, Byung Suk Lee,
Ki Hyun Park, Dong Jae Cho and Chan Ho Song

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

= Abstract =

Serum inhibin concentrations, determined by radioimmunoassay, were measured in women undergoing pituitary suppression with Decapeptyl and subsequently ovarian stimulation with Highly Purified-Metrodin(HP-FSH) to appraise follicular development. Early follicular basal serum inhibin level correlated with the number of oocytes retrieved($r=0.89$, $n=8$, $p<0.05$). The number of oocytes retrieved showed a significant correlation with serum inhibin level on the day of hCG administration($r=0.73$, $n=8$, $p<0.05$). The number of mature oocytes showed a significant correlation with serum inhibin level on the day of hCG administration($r=0.73$, $n=8$, $p<0.05$). These data suggest that : (1) In the early follicular phase, basal serum inhibin may be a valid index to predict ensuing follicular growth : (2) In the preovulatory phase, maximum serum inhibin may be one of the applicable indexes of follicular development during hyperstimulation cycles.

Key Word: Inhibin, E2, IVF-ET outcome

서 론

체외수정 시술의 성공율은 채취한 난자수와 이식한 배아수와 밀접한 관련이 있는것으로 알려져 있다(Quigly 등,1982). 체외수정 시술에서 임신율을 향상 시키기 위해서는 가능한 많은수의 성숙난자를 채취해야 하며 이를 위해 난포 성장, 발달을 정확히 관찰 하는 것이 필요하다. 더 나아가서는 체외수정 시술을 위한 과배란유도 시작전에 체외수정 시술의 결과를 예측할수 있는 지표가 필요하며 현재까지는 기저혈중 Estradiol(E2), FSH, LH 등이 사용되고 있다. In-

hibin은 남성 및 여성의 고환및 난소에서 분비되는 glycoprotein으로 뇌하수체에서 FSH분비를 조절 하는것으로 알려져 있다(Ying, 1988). Urbancsek(1992)등에 의하면 체외수정 시술을 위하여 외부에서 gonadotropin 투여시 혈중 inhibin이 증가하는 것으로 보고 하고 있으며 혈중 inhibin이 난소 과립막 세포 기능(granulosa cell fuention) 평가의 유용한 지표이며 이를 이용하여 난포성장 및 성숙을 감시하는데 유용하게 사용될수 있다는 보고가 있었다(McLachlan 등, 1986). 따라서 저자들은 기존에 사용된 혈중E2 와 혈중 inhibin을 비교하여 과배란 유도시 난포성장 및 성숙과 임신 가능성을 예측할수 있는 지표로서 inhibin의

가능성을 알아보기 위하여 본 연구를 시작 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1995년 7월부터 1996년 6월까지 연세 의대 세브란스 병원 불임 클리닉을 방문하여 체외 수정 수술을 받은 105명의 환자중 8명의 지원자 8주기를 대상으로 하였다. 환자의 평균 연령은 31.5 ± 5.6 세, 불임기간은 5.4 ± 3.2 년 이었으며 체외 수정의 대상 원인은 난관요인 5명, 원인 불명 2명, 남성 요인 1명 이었다.

2. 연구 방법

월경주기 제3일 오전에 방사면역 측정법(RIA, Radioimmunoassay)으로 혈중 E2, FSH, LH, Inhibin 농도를 측정 하였으며 질식 초음파를 이용하여 골반강내의 이상 유무를 확인 하였다. 혈중 E2, LH, FSH, Inhibin 농도 측정은 각각 Estradiol-Kit(Serono Diagnostics, Switzerland), Amerlex LH, FSH Kit(American International Plc, U.K.), Fertgenix Inhibin enzyme immunoassay(Medgenix Diagnostics Brussels, Belgium)를 이용하였다. LH, FSH, Inhibin의 측정간 오차는 3.4%, 1.6%, 10.6% 측정내 오차는 3.3%, 4.7%, 11.0% 이었다. 혈중 E2 측정시 Estrone(E1) 및 Estriol(E3)과의 교차 반응율은 1.3%, 0.4% 이었다. 과배란 유도 방법은 황체기 장기요법을 사용 하였다. 시술전 월경주기 제21일 부터 Decapeptyl(D-Trp-6-LH, Ferring, Sweden) 0.1mg을 피하주사 하는 long protocol을 사용하여 뇌하수체 탈감작을 유도한 후 방사면역 측정법(RIA)을 이용하여 생리3일째 기저 혈중 Inhibin, Estradiol(E2), FSH, LH를 측정 하였으며 $FSH \leq 20mIU/ml$, $E2 < 50pg/ml$, $LH < 15mIU/ml$ 인 경우에만 뇌하수체 탈감작이 충분히 된 경우로 간주하여 과배란 유도를 시작 하였다. 과배란 유도는 생리3일째 Highly Purified-FSH(HP-Metrodin : Laboratories Serono S.A., Switzerland) 225IU를 5일간 피하주사후 난소의 반응에 따라서 용량을 조정 하였다. 배란 유도 3일째부터 혈중 Inhibin, E2를 측정 하였고 질식 초음파상 적어도 2개이상의 난포가 평균지름 16mm에 도달하면 HCG(Profasi, Serono) 10000IU를 근주 하였고 34-36시간후 질식 초음파를 이용하여 난자채취를 시행 하였다. 난자 채취후 5-8시간의 전배양

(preincubation)시간을 거친후 미리 준비된 정자로 수정(insemination)을 시도 하였고, 수정후 15-18시간에 두개의 전핵을 관찰 함으로써 정상적인 수정(fertilization)이 일어났는지 확인하고 다음날 세포분열이 일어난 배아는 자궁내 이식(embryo transfer)을 시행 하였다. 배아의 이식일로부터 HCG 2000IU를 3일 간격으로 근주 하였다. 대상 환자에 미세 조작술을 시행하지 않았으며 난자 채취후 17일째에 혈중 β -HCG를 측정하여 10mIU 이상이면 임신으로 판정하고 배아 이식후 3주후에 질식 초음파를 시행하여 확인 하였다. Clinical pregnancy는 질식 초음파를 통하여 태낭(gestational sac)이 존재하는 경우로 정의 하였다. 생리주기 3일째 측정한 기저혈중 Inhibin, E2 과 HCG 투여후 채취한 난자수와의 상관관계, HCG 투여직전에 측정된 최고혈중 Inhibin, E2 와 채취한 난자수와의 상관관계 및 HCG투여 직전에 측정된 최고혈중 Inhibin, E2 와 성숙 난자수와의 각각의 상관관계를 알아보았다. 상관관계는 Pearson correlation coefficient를 사용하였으며 유의수준은 5%하여 $p < 0.05$ 인 경우 유의한 관련성이 있는 것으로 판정 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특성

대상 환자 8명의 평균 연령은 31.5 ± 5.6 세, 불임 기간은 5.4 ± 3.2 년 이었으며 체외수정 대상 원인은 난관요인 5명, 원인 불명 2명, 남성 요인 1명 이었다(Table 1).

2. 기저 혈중 Inhibin, E2 와 난자수와의 상관관계

기저 혈중 Inhibin 과 난자수는 밀접한 상관관계($r=0.89$, $p < 0.05$)를 갖고 있었으나 기저 혈중 E2와 난자수는 상관관계($r=-0.14$, $p > 0.05$)가 없었

Table 1. The baseline characteristics of patients

| | |
|-----------------------------|----------------|
| Age (Y) | 31.5 ± 5.6 |
| Indication | |
| Tubal factor | 5 |
| Unexplained | 2 |
| Male factor | 1 |
| Duration of infertility (Y) | 5.4 ± 3.2 |

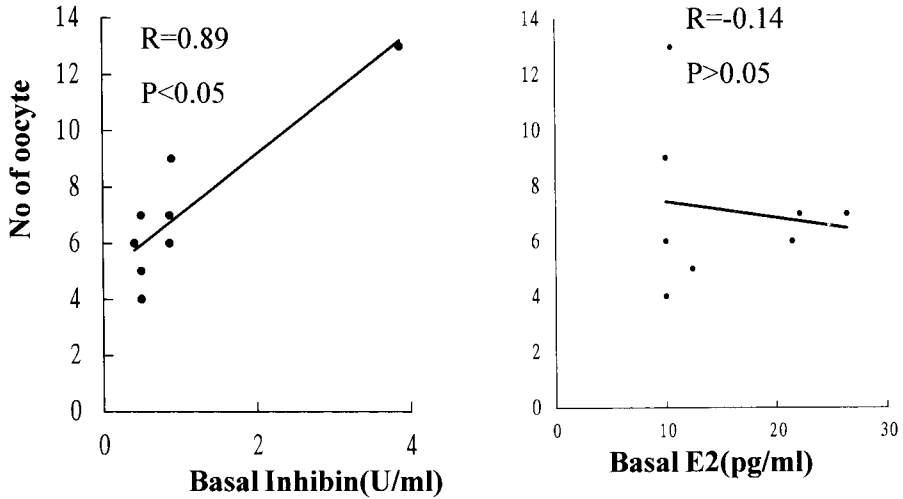


Fig. 1. Correlation between basal serum inhibin, E2 and the number of oocytes.

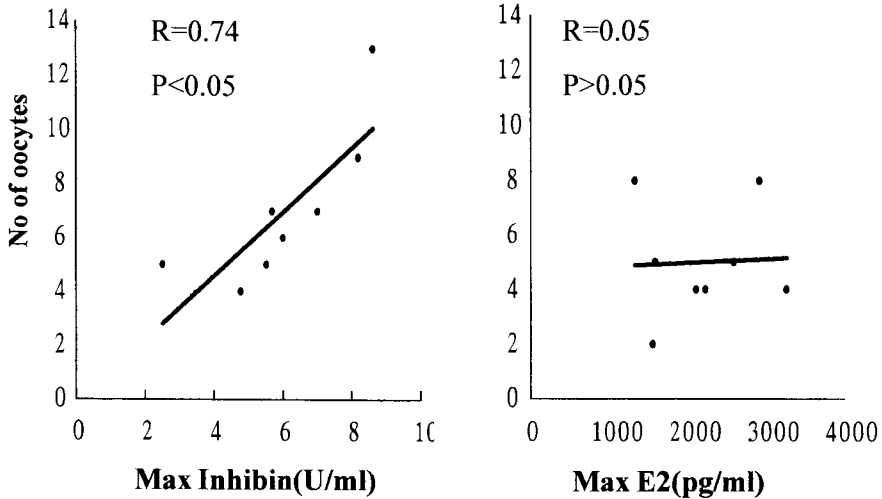


Fig. 2. Correlation between maximum serum inhibin, E2 and the number of oocytes.

다(Fig.1).

3. 최고 혈중 Inhibin, E2 와 난자수와의 상관관계

최고 혈중 Inhibin 과 난자수는 밀접한 상관관계($r=0.74$, $p<0.05$)를 갖고 있었으나 최고 혈중 E2와 난자수는 상관관계($r=0.05$, $p>0.05$)가 없었다(Fig.2).

4. 최고 혈중 Inhibin, E2와 성숙 난자수와의 상관관계

최고 혈중 Inhibin과 성숙 난자수와는 밀접한 상관관계($r=0.73$, $p<0.05$)를 갖고 있었으나 최고

혈중 E2 와 성숙 난자수는 상관관계($r=0.05$, $p>0.05$)가 없었다(Fig.3).

고 찰

McCullagh(1932)에 의해 고안된 방사선 조사(irradiation)후 뇌하수체내 "거세세포(castration cell)"의 출현을 막는 소의 고환 추출물내의 활성 물질이 inhibin으로 명명된 이래, inhibin은 고환이나 난소에서 분비되어 뇌하수체의 FSH호르몬의 합성, 분비를 선택적으로 억제함으로써 간접적으로 난소기능을 조절 하는 것으로 밝혀졌다(McCullagh, 1932; Bakerel *et al.*, 1976; Vake,

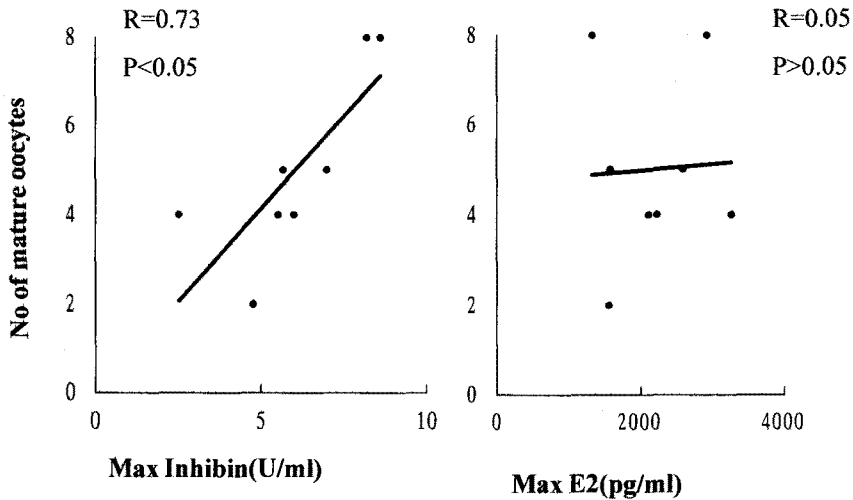


Fig. 3. Correlation between maximum serum inhibin, E2 and the number of mature oocytes.

1988). Inhibin은 난소내 과립막세포에서 생성되는 32KDa의 Peptide로서, α -subunit와 β -subunit중 어느한개(βA and βB)로 구성(inhibin-A($\alpha\beta A$), inhibin-B($\alpha\beta B$))되어 있으며, 난소의 난포액내에는 $\beta\beta$ -dimer 보다는 $\alpha\beta$ -dimer가 상대적으로 더 많으므로 결국 FSH 분비에 억제작용을 나타낸다. Inhibin은 난포기를 통해 서서히 증가하여 중기에 성선 자극 호르몬 폭발(surge)과 동시에 최고로 증가하고 그후 약간 감소후 다시 증가하여 황체기 중기에 난포기 중기에 비해 2배까지 증가한다. 한편 inhibin을 난소내 난포형성 과정의 조절인자로서 "난포선택 신호전달(follicular selection signal)" 역할을 하는것으로 추정되고있다. 난포형성 과정에서 recruitment가 일어나면 난포내의 환경은 estrogen이 우세하게 되며 이후 월경 제5-7일 사이에 우성난포가 결정되는 selection이 일어난다. 이때에는 FSH의 증가로 혈중 estrogen의 농도가 증가하고 음성피드백기 이전에 의하여 뇌하수체에서 FSH분비가 감소한다. 한편 FSH의 증가는 과립막세포에서 autocrine/paracrine regulator로서 inhibin의 분비를 증가시킨다. 그러나 inhibin은 FSH의 분비를 억제하므로 FSH수용체가 충분히 활성화 되지 않은 난포는 aromatase의 활성화가 감소하여 쇠퇴에 빠진다. 그러나 우성난포의 경우에는 다른 Cohort들에 비해 이미 FSH수용체가 증가되어 있어서 혈중 FSH 농도가 감소되어도 영향을 받지 않고 계속된 aromatase 활성화를 유도할 수 있게 된다. 그러므로 inhibin의 증가 및 FSH의 감소는 우성난포에게만 유리

한 작용을 하여 우성난포가 독주할수 있는 일종의 안정장치가 된다(Hiller *et al.*, 1991; Brannian *et al.*, 1992; Miro *et al.*, 1992). 따라서 위와 같은 inhibin의 생성 및 난포기의 난포형성 과정중의 역할은 과배란 유도시 초기 난포기와 배란전에 난포발달을 예측할수 있는 가능성을 제시하였다. 본 연구의 결과에서 나타난것과 같이 난포기 초기의 기저 혈중 inhibin은 채취한 난자수와 밀접한 상관관계가 있었다. 일단 난포의 recruitment가 시작되면 일부난포는 이미 많은 양의 inhibin을 분비할 수 있는 충분한 능력을 지닌 많은 과립막세포를 갖고 있다(Henderson *et al.*, 1984). 즉 기저혈중 inhibin은 과립막세포의 수와 상관관계를 갖고 있다고 할수 있다.

임신하지 않은 여성에서 inhibin은 난소내 과립막세포에서만 형성 분비되나 E2는 과립막세포 및 포막세포(theca cell)에서 분비된다(Lee *et al.*, 1982; Rokukawa S., 1986). 이와 같은 사실로 볼때 난포기 기저혈중 inhibin은 E2에 비하여 난자의 과립막세포의 기능을 예측할 수 있는 유용한 지표라 할수 있겠다. 본 연구에서는 기저 혈중 E2는 채취한 난자수와 밀접한 상관관계가 없었으며 이는 Tsuchiya등(1989)의 보고 와는 다른 결과였으며 이는 아마도 연구 대상이 적어서 일어난 현상으로 생각된다.

한편 체외수정 시술시 임신율이 채취한 난자수와 이식한 배아수와 관련이 있기 때문에 기저 혈중 inhibin이 높은 환자에서는 더 많은 난자를 채취할 수 있고 따라서 임신율의 향상을 기대할

수 있을 것이다. Pellices등(1994)에 의하면 32세 이하 여성의 과립막세포와 40세이상 여성의 과립막세포를 각각 따로 배양하여 *a-inhibin*의 생성량을 측정 결과 40세이상 여성의 과립막세포에서의 *inhibin*생성이 크게 감소하였다. 이 결과는 *inhibin*생성이 난포수의 감소보다는 각각의 과립막세포 기능의 감소로 인한것을 의미하며 이는 과배란유도 시작전 기저혈중 *inhibin*을 측정하여 감소시 난소의 과립막세포 기능저하로 임신율의 감소를 예측할수 있는 지표가 될것이다. 난자채취를 위하여 HCG를 주입전 측정한 *inhibin*은 채취한 난자수와 밀접한 상관관계를 갖고 있었으며 E2는 난자수와 상관관계가 없었다. 이 사실은 E2의 형성이 앞에서 밝힌 바와 같이 *inhibin*에 비하여 좀더 복잡한 여러 단계를 거쳐서 형성된다는 사실로 설명할 수 있을것이다. E2의 생성은 2-cell, 2-gonadotropin 이론에 의해 난소 포막세포가 LH의 영향하에서 androgen을 형성하여 이를 난소 과립막세포로 이동시켜 aromatase의 영향하에서 Estrogen으로 되며 이때 여러 종류의 요인에 영향을 받는것으로 알려져 있다(Faick, 1959; Short, 1962; Ryan, 1968). Suzuki등(1987)은 과립막세포 배양시 *inhibin* 생성의 과정은 E2 생성과는 전혀 다른 과정을 거치며 따라서 배란전의 최고 *inhibin*은 과립막세포의 생존능력(viability)와 난자의 성숙 예측을 가능하게 한다고 하였다.

본 연구의 결과와 같이 최고 혈중 E2와 채취한 난자수와의 관계가 적은것도 위와 같은 E2의 생성과정이 난소의 포막 및 과립막세포 각각에서 영향을 받고 그 외에 여러 요인에 영향을 받기 때문에 생긴 결과라 할수 있겠다. Buckler 등(1992)은 다낭성 난소 증후군 환자와 난소요인이 없는 난관요인의 불임 환자에서 배란유도시 최고 혈중 E2 및 난포당 E2는 다낭성 난소 증후군 환자에서 크게 증가하였으나 최고 *inhibin*은 양군에서 차이가 없었고 난포당 *inhibin*은 오히려 난관요인군에서 크게 증가하였으며 채취한 성숙난자수 역시 난관요인군에서 많았다. 이는 E2는 배란전 생성된 모든 난포에서 형성되나 *inhibin*은 우성난포속의 성숙한 난자에서만 생성됨을 의미하며 E2보다 더 정확하게 배란전의 난포 성숙도를 대변한다고 하였다. Buckler등(1992)의 결과는 본 연구의 결과와도 어느정도 일치한다고 할수 있겠다. Mizunuma 등(1992)은 HMG로 배란유도시 *inhibin*은 HMG 투여가 중단 직후에 급격히 감

소하나 E2는 HMG투여가 중단 되고도 2일정도까지는 계속 증가하는 사실 보고와 함께 E2가 배란유도시 난소의 반응을 정확하게 대변하지 못한다고 하였다. 따라서 본 연구의 결과인 최고 혈중 *inhibin*이 E2 보다더 채취한 난자수, 성숙난자수와 상관관계를 갖는다는 사실은 위의 다른 저자들의 결과와 일치한다고 할수 있겠다. 최고 혈중 *inhibin*이 높은 환자에서 성숙난자 채취율이 높으며 따라서 수정후 양질의 태아를 얻어 임신율 향상을 예측할수 있다. 이와 같은 예상은 Hughes등(1990)의 연구결과인 최고 혈중 *inhibin*이 높은 군에서 양질의 배아를 얻을수 있다는 사실로 증명되었다.

이상의 결과로 미루어 볼때 체외수정을 위한 과배란유도시 기저혈중 *inhibin*과 최고 혈중 *inhibin*은 난자성장 및 성숙을 예측할수 있는 지표의 가능성을 제시하였으나 현재까지 국내에 혈중 *inhibin*을 매일 측정할수 있는 장치가 되어있지 않아 이것이 *inhibin*을 난포성장의 관찰지표로 사용시 시급히 해결해야 할 문제로 사료된다.

결 론

본 연구는 GnRH-analogue로 뇌하수체를 탈감작시킨후 과배란유도 시행시 혈중 *inhibin*이 난포 발달, 성숙 더 나아가서 임신가능성을 예측할수 있는 지표로서의 가능성을 알아보고자 시행하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째 초기 난포기 기저 혈중 *inhibin*은 난포성장을 예측할수 있는 지표의 가능성을 제시하였다. 둘째 배란전 최고혈중 *inhibin*은 난자성숙을 예측할수 있는 지표 가능성을 제시하였다.

따라서 이와 같은 사실로 볼때 배란유도시 혈중 *inhibin*은 난소기능을 평가할수 있는 유용한 지표라 할수 있겠다.

인 용 문 헌

- Baker HWG, Bremmer WJ, Busger HG: Testicular control of follicle-stimulating hormone secretion. *Recent Progr Hormone Res* 1976, 36, 429.
- Brannian JD, Stouffer RL, Molsknen TA, Dahl KD: Inhibin Production by Macaque granulosa cells from pre-and periovulatory follicles: regulation

- by gonadotropins and prostaglandin E2. *Biol Reprod* 1992, 64, 451.
- Buckler HM, Moris ID, Burger HG, Anderson DC: Inhibin as a marker of granulosa cell function. In: O. Rodriguez-Armas, eds. *Fertility and Sterility*. London: *The parthenon Publishing Group*, 1992,1,315.
- Faik B: Site of production of estrogen in rat ovary as studied in micro-transplants. *Acta Physiologica Scand* 1959, 47, 163.
- Hiller sg, Wickings EJ, Illingworth PI: Control of immunoreactive inhibin Production by human granulosa cells. *Clin Endocrinol* 1991, 35, 71.
- Lee VWK, McMaster L, Quigg H, Leverska L: Ovarian and circulation inhibin levels in immature female rats treated with gonadotropin and after castration. *Endocrinology* 1982, 111(1), 849.
- Mccullagh DR: Dual endocrine activity of testis. *Science* 1932, 76, 19.
- Mclachlan R, Robertson D, Healy D, Krestler D: Plasma inhibin level during gonadotropin induced ovarian hyperstimulation for IVF: A new index of follicular function? *Lancet* 1986, May 31, 1233.
- Miro F, Hillier SG, Yong EL, Hess DL: Relative effects of activin and inhibin on steroid hormone synthesis in primate granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 75, 1556.
- Mizunuma H, Hasegawa Y, Andob K, Yamaguchi H: Changes in serum in Pathophysiological conditions in female reproduction. In: O. Rodriguez-Armas, eds. *Fertility and Sterility*. London: *The parthenon Publishing Group*, 1992,1, 329.
- Pellices A, Simon C, Mari M, Remohi J: Effects of aging on the human ovary: the secretion of immunoreactive α -inhibin and progesterone. *Fertil Steril* 1994, 61, 663.
- Quingly MM, Wolf DP, Haklad HF, Dandekar PV: Follicular size and number in human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1982,47,289.
- Rokukawa S, Inoue K, Miyamoto K, Kurosumi K: Immunohistochemical localization of inhibin in porcine and bovine ovaries. *Arch Histol Jpn* 1986, 49, 603.
- Ryan KJ: Steroid formation by isolated and recombined ovarian granulosa and theca cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1968, 28, 355.
- Short RV: Steroids in the follicular fluid and the corpus luteum of the mare: a two-cell type theory of ovarian steroids synthesis. *J Endocrinol* 1962, 24, 59.
- Suzuki T, Miyamoto K, Hasegawa Y, Abe Y: Regulation of inhibin production by rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 1987, 54, 185.
- Tsuchiya K, Hasegawa Y, Seki M, Miyamoto K: Correlation of inhibin with IVF. *Fertil Steril* 1989, 52, 88.
- Urbancsek J, Thomas R, Klaus G, Ludwig K, Klaus K, Zoltan P: Serum inhibin levels in gonadotropin stimulated in-vitro fertilization/gamete intra-fallopian transfer cycles. *Human Reprod* 1992, 7(9), 1195.
- Vake W, Ribier C, Hsueh A, Camper C: Inhibin and activin locally regulate rat ovarian folliculogenesis. *Endocrinology* 1990, 127, 3196.
- Ying S: Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev* 1988, 9, 267.