

# 羊水内の Testosteron 對 Follicle Stimulating Hormone 比率에 關한 研究

한양대학병원 동위원소실

趙 石 臣

= Abstract =

## The Ratio of Testosterone and Follicle Stimulating Hormone in the Amniotic Fluid

Sukshin Cho, M.D.

*Department of Nuclear Medicine, College of Medicine, Hanyang University*

To evaluate fetal sex-hormonal status before delivery, testosterone and follicle stimulating hormone(FSH) levels were measured in 64 amniotic fluid samples at midgestation by radioimmunoassay method. The mean concentration of testosterone in amniotic fluid of 37 cases carrying male fetus was 90.7 pg/ml and 27 cases carrying female fetus was 62.3 pg/ml. The mean amniotic fluid FSH concentration of male fetus was 1.15 mIU/ml and of female fetus was 11.98 mIU/ml. The amniotic fluid testosterone and FSH concentrations had statistical difference between male and female fetuses.

The ratio of testosterone over FSH in the amniotic fluid was 231.2 in male, 9.8 in female respectively and very significant difference was noticed.

The levels of testosterone/FSH greater than 25 were found over 92% of male fetus and lesser than 25 were found over 92% female fetus. Measurement of testosterone and FSH especially testosterone/FSH ratio in amniotic fluid in midgestation may be an adjunct to other method of fetal sex determination.

### 서 론

근래 염색체의 이상을 유발시킬 수 있는 여러가지 돌연변이 유발물질이 차차 밝혀지게 되었다.

이들 돌연변이 유발물질은 대부분 유전자의 수준에서 돌연변이를 일으켜서 생식세포에서 발생하는 염색체의 이상은 최기형성(teratogenicity)을, 체세포에서 발생하는 염색체의 이상은 암유발성(oncogenicity)을 지닐 수가 있다.

그러나 이들 염색체의 변이를 측정하는 방법이 최근 세포유전학적 방법에 의하여 그 정량분석이 가능하게 되었으나 고도의 기술과 시간, 비용이 필요한 상태이다. 더욱이 생식세포를 직접 검사하는데는 아직 기술

적인 난관이 많으므로 그 제이세의 체세포염색체를 검사함으로써 돌연변이 유발성을 간접적으로나마 추정할 수 밖에 없는 실정이다.

문명의 발달에 따라서 최근 문제가 되고 있고 특히 발생원인으로서 유전적 소인론까지 대두되고 있는 암을 위시하여 각종 유전적인 질병들, 예를 들면 고령의 산모에서 빈발하는 Down's syndrome, X-linked disorder carrier에서의 genetic disorder, intersex, congenital adrenal hyperplasia 등등의 산전진단(prenatal diagnosis)을 위하여서는 무엇보다도 genetic amniocentesis가 필요하게 되었다<sup>1)</sup>.

현재 이용되고 있는 방법인 양수내의 세포를 배양하여 chromosome analysis를 함에는 비용도 많이 들뿐만 아니라 배양기간도 일주일 이상 걸리며 또 모체세포의

오염으로 태아세포 대신에 모체세포가 배양되는 경우도 드물게는 생기는 수가 있으며 또 특히 근래에 문제가 되고있는 sex-linked disorder 중에서 enzyme defect는 발견하기가 어려운 점등의 여러가지 문제점이 있다. 그럼으로 처자들은 태아가 생활하고 있으며 또 태아의 신진대사와 밀접한 관계에 있는 양수내에서 각종 호르몬을 측정하여 태아의 상태를 출산전에 판정하기 위한 기초작업으로 일함으로써 우선 양수내의 testosterone과 Follicle Stimulating Hormone(이하 FSH로 약함)은 측정하여 이들 호르몬치와 태아 성별과의 상호관계를 규명하고자 시도하였다.

### 실험대상 및 측정방법

조사대상 환자는 종합병원 산부인과 의뢰에 산전검사를 받으러 내원한 환자중에서 특히 정밀한 태아의 건강상태를 조사할 필요가 있다고 인정되는 예를 대상으로 하였다.

대상 임신부는 임신중기인 임신 제12주~27주 사이의 환자로서 임신경과가 정상이며 최종 월경일을 비롯한 각종 산과적 과거력과 산과적 진찰상 모두 정상인 예들이었다.

양수는 복벽을 통하여 무균적으로 침자하여 채취하였으며 채취한 양수는 즉시 영하 20°C에서 검사시까지 냉동 보관하였다.

실험에 앞서서 냉동된 양수를 4°C의 항온실에서 서서히 녹인후 원심 분리하여 저혈구가 발견되는 시료는 모두 제외하였으며 또 출산후 태아의 성별이 확인된 예들만을 대상으로 하였다.

양수내의 호르몬 측정은 방사면역법(radioimmunoassay, RIA)을 이용하였다. Testosterone의 농도 측정은 Furuyama<sup>2)</sup>와 Dufan<sup>3)</sup>의 방법을 이용하여 불란서 CEA사에서 제조한 testosterone radioimmunoassay kit를 사용하였다

이 kit는 charcoal dextran absorption 분리법을 이용하였음이 특징적이라 하겠다.

우선 testosterone 표준용액(0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 ng/ml) 0.1 ml에 0.2 ml의 phosphate buffer와 0.1 ml의 <sup>3</sup>H-testosterone과 0.1 ml의 antiserum 0.1 ml를 첨가하였다. 또 일정량의 건조된 시료에는 buffer 용액 0.3 ml와 <sup>3</sup>H-testosterone 0.1 ml, antiserum 0.1 ml를 첨가하였고 zero standard에는 시료를 넣지않고 준비하였다.

이들 용액을 vortex mixer로 잘 흔들어서 37°C에

서 30분간 부치(incubate)한후 ice bath에 넣었다가 다시 4°C에서 1시간 부치시켜서 호르몬이 항체와 결합반응이 일어나도록 하였다.

부치후 ice bath속에서 0.5 ml의 dextran-coated charcoal suspension을 가한후 다시 10분간 잘 흔들어서 유리형을 흡착시킨 다음 2,000 g로 10분간 원심분리하여 결합형과 흡착형을 분리시켰다.

Total activity 측정용 standard는 buffer 0.9 ml에 <sup>3</sup>H-testosterone 0.1 ml만을 넣은 tube를 이용하였다. 이렇게하여 얻은 <sup>3</sup>H-testosterone-testosterone이 존재하는 상층액중 일정량을 liquid scintillation counting vial에 옮겨 counting cocktail을 첨가한 후 미국 Packard 회사제의 Auto Gamma Spectrometer에 계측하였다.

Zero standard의 평균치를 100%로 삼고 각 표준용액의 평균치를 zero standard의 백분율로 나타내어 bound%를 중측으로 hormone의 농도를 횡측으로 제도하여 표준곡선을 그렸다.

각 시료의 bound%를 구하여 표준곡선에서 그 농도를 읽음으로서 시료내의 호르몬치를 구할 수 있었다.

한편 FSH치의 측정도 역시 불란서 CEA사 제품인 follicle stimulating hormone radioimmunoassay kit를 사용하였으며 이 kit는 이중항체법(double antibody technic)을 이용한 점이 testosterone과 다르다.

FSH 표준용액(0.5, 1, 2, 5, 10, 20 및 50 mIU/ml)과 0.1ml의 시료를 각각 0.1 ml phosphate buffer 용액이 들은 시험관에 각각 넣고 200 μCi/ml의 <sup>125</sup>I-FSH 0.1 ml를 첨가하였다. 다시 0.1 ml의 토끼에서 얻은 제일 항체용액을 가하여 잘 흔들어서 호르몬이 항체와 결합반응을 일으키도록 실온에서 20시간동안 부치시켰다. 부치후 cellulose에 고정시킨 제이항체(antigammaglobulin antibody)용액 0.5 ml를 가하여 rotary agitator에서 5시간동안 중결합 반응을 진행시켰다. 2,500 g에서 10분간 원심한후 상층액을 제거하여 남아있는 비결합호르몬을 모두 제거하였다.

이때 zero standard는 위와 똑같은 과정을 거치도록 하였으며 다만 표준용액이나 시료를 넣지 않은것을 이용하였고 total activity 측정용 standard는 0.1 ml의 labelled hormone만을 넣은 tube를 이용하였다.

이상에서 얻은 각 tube의 방사능을 미국 Packard 회사제의 Auto Gamma Spectrometer로 계측하였다. 계측치는 testosterone에서와 마찬가지로 방법으로 계산하여 시료중의 FSH치를 측정하였다.

모든 시료는 duplication analysis를 하여 오차를 줄

이도록 노력하였다.

### 실험 성적

본 실험의 대상은 총 64예의 임신 제12주에서 27주 사이에 있는 정상임신증기의 임신부로서 그중 임신 제20주가 16명으로 가장 많고 제19주가 14명으로 다음을 차지하였다. 이들중 남아를 분만한 예는 37예, 여아 분만에는 27예로서 분만된 신생아의 성별로 구분하여 본 양수내의 호르몬치의 측정성적은 다음과 같다.

#### 가. 양수내의 testosterone 치

양수내의 testosterone 치를 태아성별과 임신 주수별로 측정된 결과는 표 1, 그림 1과 같다.

전체적으로 볼때 남아 임신시의 양수내 testosterone 치는 21.50-138.70 pg/ml의 범위에 있어서 평균 90.749±32.233 pg/ml 이었으며 여아 임신시에는 12.91-129.45 pg/ml 로서 평균 62.327±29.974 pg/ml 를 나타내어서 남, 여 태아사이에는 유의한 차이를 인정할 수 있었다(t=3.45, ∴p<0.05).

임신 제19주에서 보면 남태아 임신시의 testosterone

치는 101.35±38.58 pg/ml 이고 여태아 임신시는 61.66±20.18 pg/ml 이며(t=2.233, ∴p<0.05), 임신 제20주에서는 남태아시에는 94.22±29.61 pg/ml, 여태아에서는 53.90±23.32 pg/ml 로서(t=2.82, ∴p<0.05) 역시 남여 태아간에는 그 차이를 인정할 수 있었다.

남태아 임신예를 더욱 세분하여 보면 양수내 testosterone 치가 50 pg/ml 이하를 나타낸 예는 단 2예이며 50 pg/ml 이상의 양수내 testosterone 치를 나타낸 예가 전 남태아의 95% 이상을 차지하였다.

여태아에서 보면 남태아 보다는 변동이 심하여 120 pg/ml 이상이 2예로서 전체의 6%를 차지하였고 100 pg/ml 이하의 예가 전체 여태아의 90%를 차지하였다.

남여 태아간의 95% 신뢰도 범위내의 평균치 차이는 최저 19.75 pg/ml 최고 37.05 pg/ml 사이에 존재하고 있다.

#### 나. 양수내의 FSH 치

태아 성별로 측정된 양수내의 FSH 치는 표 2와 같고 그 분포도는 그림 2와 같다.

남태아 37예 임신시의 양수내 FSH 치는 0.05~3.90

Table 1. Testosterone concentrations in amniotic fluid of patients with male and female fetuses

Duration of Pregnancy (Wks)	Male Fetus			Female Fetus		
	No. Cases	Mean(pg/ml)	S.D.	No. Cases	Mean(pg/ml)	S.D.
12	1	107.10	—	—	—	—
13	2	62.00	0.50	1	13.0	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
16	2	73.08	4.70	3	42.18	11.60
17	3	100.25	25.41	2	112.75	69.94
18	4	96.96	39.82	—	—	—
19	7	101.35	38.58	7	61.66	20.18
20	8	94.22	29.61	8	53.90	23.32
21	1	99.80	—	2	80.05	46.45
22	3	82.00	29.99	1	98.15	—
23	2	55.83	34.32	—	—	—
24	1	101.00	—	3	65.57	13.29
25	—	—	—	—	—	—
26	1	108.00	—	—	—	—
27	2	80.95	16.55	—	—	—
Total	37	90.749	32,233	27	62,327	29,974

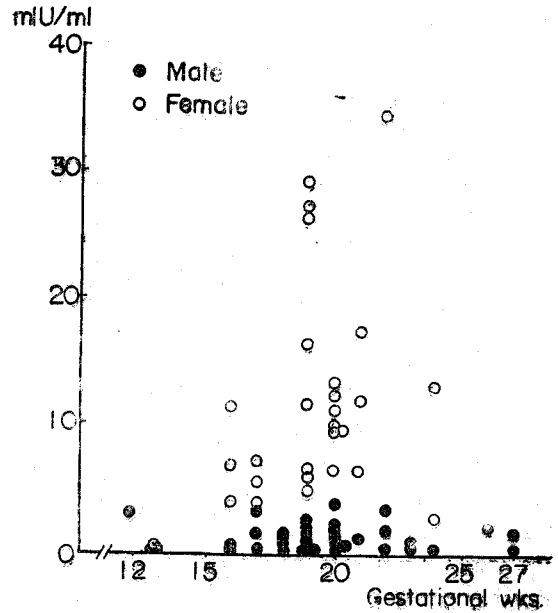
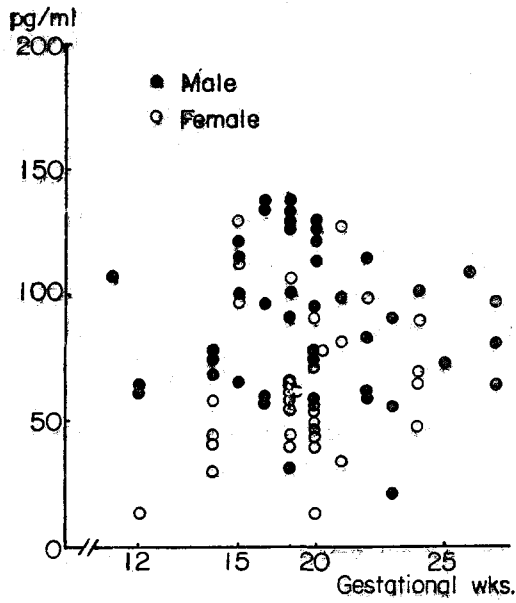


그림 1. Testosterone concentrations in amniotic fluid of patients with male and female fetuses.

그림 2. FSH concentrations in amniotic fluid of patients with male and female fetuses.

Table 2. FSH concentrations in amniotic fluid of patients with male and female fetuses

Duration of Pregnancy (Wks)	Male Fetus			Female Fetus		
	No. Case	Mean(mIU/ml)	S.D.	No. Cases	Mean(mIU/ml)	S.D.
12	1	3.04	—	—	—	—
13	2	0.06	0.01	1	0.28	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
16	2	0.17	0.06	3	7.46	3.05
17	3	1.74	1.14	2	5.62	1.64
18	4	0.77	0.48	—	—	—
19	7	1.13	0.83	7	16.20	10.31
20	8	1.31	1.19	8	12.28	5.36
21	1	1.16	—	2	11.92	5.60
22	3	1.94	1.44	1	34.57	—
23	2	0.51	0.27	—	—	—
24	1	0.41	—	3	6.55	4.75
25	—	—	—	—	—	—
26	1	2.09	—	—	—	—
27	2	1.04	0.68	—	—	—
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>1.156</b>	<b>1.062</b>	<b>27</b>	<b>11.985</b>	<b>8.907</b>

Table 3. Amniotic fluid T/FSH ratio of patients with male and female fetuses expressed as picograms per milliliter over milli-International Units per milliliter

Duration of Pregnancy (Wks)	Male Fetus			Female Fetus		
	No. Cases	Mean	S.D.	No. Cases	Mean	S.D.
12	1	35.23	—	—	—	—
13	2	1,061.43	168.54	1	46.43	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
16	2	479.69	141.22	3	8.13	2.23
17	3	121.15	107.12	2	22.88	9.63
18	4	195.51	121.68	—	—	—
19	7	181.72	168.64	7	5.92	3.71
20	8	227.58	329.41	8	4.67	2.22
21	1	86.03	—	2	10.98	9.06
22	3	88.36	66.25	1	2.84	—
23	2	209.76	182.19	—	—	—
24	1	246.34	—	3	14.77	7.06
25	—	—	—	—	—	—
26	1	51.72	—	—	—	—
27	2	158.01	120.56	—	—	—
Total	37	231.224	286.02	27	9.809	10.141

mIU/ml 의 분포로서 평균  $1.156 \pm 1.062$  mIU/ml 이고 여태아 27예 임신시의 양수내 FSH 치는 5.28~98.15 mIU/ml 로서 평균  $11.985 \pm 8.907$  mIU/ml 로서 남 여 태아의 FSH 평균치 사이에는 유의성을 인정할 수 있었다 ( $t=7.346, \therefore p < 0.05$ ).

또 예수가 가장 많았던 임신 제19주, 제20주에서의 양수내 FSH 치를 보면 제19주시 남태아 임신시에는  $1.13 \pm 0.83$  mIU/ml 여태아 임신시는  $16.20 \pm 10.31$  mIU/ml 이며 ( $t=3.85, \therefore p < 0.01$ ) 제20주의 남태아는  $1.31 \pm 1.19$  mIU/ml 여태아는  $12.28 \pm 5.36$  mIU/ml 로서 남 여태아 양자간에는 역시 차이가 인정되었다.

남태아와 여태아의 전예를 비교하여 볼때 남태아 양수의 FSH 치는 통계학상  $0.815 \sim 1.497$  mIU/ml 의 범위내에 전 예의 95%가 존재하게 되며 여태아에서는  $9.116 \sim 14.854$  mIU/ml 에 95%가 존재한다.

남 여 태아의 평균치간에는 최저 8.799 mIU/ml, 최고 12.859 mIU/ml 사이에서 95% 신뢰한계를 갖는다.

개별적으로 볼때는 남태아는 모두 4.0 mIU/ml 이하의 양수내 FSH 치를 나타내고 있으며 3.0 mIU/ml 이상의 치를 갖는에는 단 4예로서 전체의 10%미만을

차지하고 있다. 그러나 여태아에서는 남태아보다 모두 높은치를 나타내어서 3.0 mIU/ml 이하는 단 2예로서 전체의 7.4%에 불과하였다.

다. 태아 성별로 본 양수내 testosterone 치 대 FSH 치의 비

양수내의 testosterone 치에 대한 FSH 치의 비를 임신경과와 태아성별에 따라서 분류하여 정리한 결과는 표 3, 그림 3과 같다.

남태아 임신시의 양수내 testosterone/FSH 치는 16.44~620.91의 넓은 범위내에 있어서 평균  $231.224 \pm 286.02$ 를 나타내었고 여태아시의 양수내의 비율은 1.43~46.43의 범위내에 분포하고 있어 평균  $9.809 \pm 10.141$ 를 나타내어 그 범위내에 비교적 넓지만 두 평균치간에 유의한 차이를 인정할 수가 있었고 ( $t=4.06, p < 0.05$ ) 남 여 태아에서 신뢰한계 95%일때의 평균치의 차이는 최저 142.78 최고 310.05였다.

또 임신 제19주의 남태아는  $181.72 \pm 168.64$ , 여태아는  $5.92 \pm 3.71$ 이고 ( $t=2.56, p < 0.005$ ), 임신 제20주의 남태아는  $227.58 \pm 329.41$  여태아는  $4.67 \pm 2.22$ 로서 ( $t=2.79, p < 0.005$ ) 역시 남 여 태아간의 차이를 인

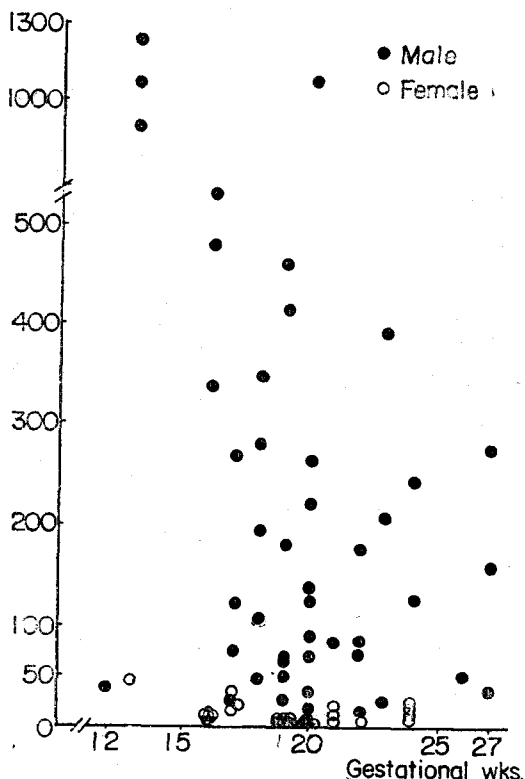


그림 3. Amniotic fluid T/FSH ratio of patients with male and female fetuses expressed as pico-grams per milliliter over milli International Units per milliliter.

정할 수가 있었다.

개별적인 비를 볼때 남태아 양수내의 testosterone/FSH치가 25 이하는 단 3예로서 전 남태아의 8%에 불과한 반면 여태아에서는 25이상이 단 2예로서 전체의 7.4%를 차지하고 있을 뿐이다.

즉 양수내 testosterone/FSH의 비가 25인 점이 남아와 여아를 판가름하는 분계점으로서 중요한 의의를 갖고 있다고 하겠다.

그밖의 임신경과에 따른 양수내의 testosterone 치, FSH 치의 변동양상, testosterone 치와 FSH 치와의 상관관계등을 조사하여 보았으나 특별한 결론을 얻지 못하였다.

### 고 안

지금까지 임신중의 태아의 성관별을 포함한 내분비학적 규명에 관한 노력이 각 방향으로 시도되어 왔다. 현재까지의 여러 방법중 가장 인정된 방법은 양수내

의 태아세포를 배양하여 karyotype를 분석하는 방법<sup>4)</sup>이지만 기술적으로 어렵고 비용이 많이들며 배양시간이 2주이상 걸리며 모체세포가 배양될 가능성이 있는 단점이 있다.

한편 양수내의 세포를 배양하지 않은 상태에서 Barr body count와 Y-chromosome fluorescence를 측정하여 태아의 성별을 감별할 수도 있으나 이 방법은 시간적으로 빠른대신 세포배양법보다 부정확한 단점이<sup>5-9)</sup> 있어서 현재는 이상 두가지의 방법을 동시에 이용하여 태아의 성을 산전에 판별하고 있는 실정<sup>10)</sup>이다.

그러므로 양수내에서 태아에서 배설되는 호르몬을 정성, 정량 분석함으로써 태아의 성 판별에 이용하려는 노력이 시도되었다. 태생학적으로 태아의 중요한 내분비 기관인 fetal testis를 관찰하여 보면 태령 (fetal age) 6주에 해당되는 체장 14 mm의 male embryo의 genital ridge 실질조직에서 testosterone을 포함한 각종 androgen이 생산<sup>11)</sup>되며 Leydig cell은 태령 8주에서부터 증명되기 시작하여 14~16주에 이미 가장 많이 발달된다<sup>12)</sup>고 하여 내분비기관인 fetal testis의 분화가 외성기의 남성화보다 선행된다<sup>13)</sup>고 하였다. Fetal testis는 외성기의 남성화는 물론 testosterone을 합성하여 태령 9주부터 그 합성이 시작되어 15주까지 계속적으로 증가된다<sup>14-17)</sup>.

Acevedo<sup>14)</sup>와 Bloch<sup>15)</sup>등은 임신중기에 있는 태아의 testis는 progesterone을 testosterone으로 전환시킬 수 있는 능력이 있다고 보고하였고 그후 Siiteri<sup>16)</sup>등은 아주 미숙한 상태인 체장 10~30 mm의 태아 testis에서 C-21 precursor인 pregnenolone과 progesterone으로부터 testosterone이 생성됨을 발견하고 체장 7~9 cm 일때 가장 왕성하게 testosterone이 생성되나 난소에서는 불가능하다고 보고하였다.

Fetal ovary는 testis보다 발육이 늦어져서 태령 5개월의 여태아 난소에서 비로서 최초의 follicle이 발견된다. 그 기능 또한 매우 늦게 나타나서 Jungmann<sup>19)</sup>등의 조사에 의하면 human fetal ovary는 steroidogenesis에 심한 제한을 받고 있음이 밝혀졌다.

성선 자극 호르몬인 FSH는 이미 fetal age 3개월의 태아 뇌하수체에서 FSH 분비 과립이 전자 현미경으로 관찰되었으며 또 RIA로도 확인되었다<sup>20)</sup>.

Grumbach<sup>21)</sup>등은 임신 중기의 태아 순환혈액중의 FSH치는 여태아가 남태아보다 높다고 하였고 Reyes 등<sup>22)</sup>은 태령 18주의 여태아의 치가 남태어나 모체보다도 높다고 하였다. 吉田<sup>23)</sup>등도 태령 17주의 여태아가 가장 높은 혈중 FSH치를 나타내며 32주까지

여태아가 남태아보다 높다가 그 후에 저하된다고 하였고 그 이유는 태아와 태반에서 다량의 estrogen이 생산되어 negative feedback 기전이 이때 성립되기 때문이라고 풀이하였다. 또 남태아에서도 18주 이후에 FSH의 혈중치가 낮은점도 역시 testosterone의 negative feedback 때문인듯 하다.

양수내의 각종 steroid hormone의 정확한 source에 관하여서는 아직 규명되지 못한점이 많다. 이들 steroid hormone은 태아와 모체의 부신, 성선과 태반에서 생성되나 이들 steroid가 양수내로 들어가는 기전에 대하여서는 확실한 증거가 아직 없다. 그러나 태아의 신장은 태생 초기부터 신진대사가 왕성하다는점<sup>24,25</sup>, 성인에서는 각종 steroid가 소변으로 배설된다는 점 등을 고려하여 볼때 양수내의 steroid는 태아로부터 생산되어 양수내로 배출된 것으로 생각된다.

실제로 양수내의 pregnantriol과 17-ketosteroid가 높은치를 나타낸 예의 태아에서 congenital adrenal hyperplasia가 발견된 보고<sup>27~29</sup>가 있다.

성선자극 호르몬인 LH, FSH, HCG에 대하여 Clements<sup>30</sup>등이 태아 뇌하수체, 혈청, 양수내에서의 상호관계를 조사하여본 결과 임신 제12~20주 사이에는 서로 밀접한 관계가 있어서 양수내의 이들 성선자극 호르몬치가 바로 태아의 호르몬치를 정확히 반영하고 있다고 하였고 양수내의 이들 성선자극 호르몬은 모두 fetal origin으로서 fetal urin을 통하여 양수내로 배설된 것으로 추측하였다.

결국 양수내의 testosterone과 FSH치는 태아의 testosterone과 FSH치를 정확히 반영할 것으로 사료된다.

양수내의 testosterone을 측정하여 태아의 성을 출산전에 감별하려는 노력은 여러 사람들에 의하여 시도되었다.

1968년 최초로 Mizuno<sup>31</sup>등은 남태아를 임신한 임신부의 혈중 testosterone치가 여태아를 임신한 산모의 혈중치가 높다고 보고하였으나 Rivarola<sup>32</sup>등의 추시에서는 확증을 얻지 못하였다. Abramovich<sup>33</sup>와 Reyes<sup>22</sup>등은 남태아의 혈중 testosterone치는 여태아에 비하여 fetal age 11~18주 사이에서 높은치를 나타낸다고 하였고 Saez<sup>34</sup>등은 양수를 태아성별로 pooling하여 testosterone을 측정된 결과 남녀간에 차이가 있었음을 보고하였으나 Younglai<sup>35,36</sup>는 임신 12~20주 사이의 양수내 testosterone치는 그 범위가 넓어서 전체의 70%에서만 성판별이 가능하다고 하였다. 그러나 Judd<sup>37</sup>등은 임신중기인 임신 제12~25주 사이에서 양수내

의 testosterone을 측정한 결과 남태아 임신시에는  $223 \pm 10$  pg/ml, 여태아시에는 2 pg/ml로서 두치사이에는 현저한 차이가 있다고 하여 Giles<sup>38</sup>등의 주장을 뒷받침하였다.

Belisle<sup>39</sup>등에 의하면 임신중기의 양수내 testosterone치가 90 pg/ml 이상일때는 96%가 남태아였고 90 pg/ml 이하일때 94%가 여태아였으며, 115 pg/ml 이상에서는 98%가 남태아이고 70 pg/ml 이하에서는 98%가 여태아라고 하여 남녀 태아를 구별하기 곤란한 gray zone을 70~125 pg/ml으로 보았다.

이 결과는 Young<sup>40</sup>등의 결과와는 일치하였지만 Lox<sup>41</sup>, Giles<sup>38</sup>등의 치보다는 높았다. 본 조사에서는 gray zone이 50~100 pg/ml이므로 역시 Belisle<sup>39</sup>등의 치가 높았다.

이러한 양수내의 testosterone치가 overlap으로 나타나는 gray zone은 역시 남녀 태아 혈청의 testosterone치의 overlap과도 일치한다<sup>22,42</sup>.

Zondek<sup>43</sup>등은 남태아 양수내의 testosterone치는  $168.7 \pm 95.4$  pg/ml 여태아에서는  $44.8 \pm 26.3$  pg/ml로서 남녀 태아 사이에는 차이가 있다고 하였으나 본 조사보다는 역시 높은 치를 보고하였다.

Dawood<sup>44</sup>등은 임신 초기의 남태아 양수내 testosterone치는  $165.2 \pm 15.4$  pg/ml (M $\pm$ S.E., range 30.7 - 592.0 pg/ml)로서 양자간에 차이는 인정되지만 중첩되는 부분이 있다고 하였다.

Pirani<sup>45</sup>등은 양수내의 testosterone치를 남태아에서는  $27.6 \pm 8.9$  pg/ml, 여태아는  $9.6 \pm 25$  pg/ml로 보고하여 본 조사보다 오히려 낮은 결과를 나타내었으나 역시 두치사이의 유의성은 인정되었지만 potential overlap area가 12~18 pg/ml로서 16%정도의 error를 인정하였다. 그러나 Robinson<sup>46</sup>등도 양수내의 testosterone치를 남태아에서는  $224 \pm 11$  pg/ml 여태아는  $39 \pm 2$  pg/ml라고 보고하고 overlap되는 부분이 없었다.

양수내의 FSH치에 대한 보고는 별로 많지가 않다.

Clement<sup>30</sup>등에 의하면 태령 10~20주 사이의 태아 혈중 FSH치를 측정된 결과 남태아에서는 측정이 불가능할 정도로 낮은치를 나타내는 반면 여태아에서는 난소를 적출한 성인의 혈중치를 능가할 정도로 높은치를 나타낸다고 보고하였다. 한편 이 시기의 양수내의 FSH치는 본 조사가 마칠가치로 여태아시는  $0.6 \pm 0.1$  ng/ml, 남태아시는  $0.1 \pm 0.02$  ng/ml로서 여태아의 양수에서 높은치를 보였으나 임신 8개월 이후에는 남녀 태아의 양수간에는 차이가 없어진다고 하였

으며 태아의 혈중치와는 밀접한 상관관계에 있다고 하였다.

Belisle<sup>39)</sup> 등은 태령 14~20주의 남태아 양수에서는 FSH치가 0.5~8.6 mIU/ml의 분포로 평균 0.7 mIU/ml이고 여태아에서는 2~32 mIU/ml로서 평균 7.5 mIU/ml를 보고하였고 본 조사와 마찬가지로 두치 사이에는 통계적으로 현저한 차이가 있었다. 이러한 결론은 Reyes<sup>22)</sup> 등, Grumbach<sup>47)</sup> 등, Levina<sup>48)</sup> 등의 보고와도 일치된다.

태아의 성별에 따라서 태아 혈중 gonadotropin치의 차이가 심한 이유에 대하여서는 아직 잘 모른다. 그러나 태아의 뇌하수체가 in vitro에서 LH-RH에 반응을 하며<sup>49)</sup> 또 태령 8주의 태아 hypothalamus에서 LH-RH의 존재를 증명할 수 있는 점으로 미루어 보아서 일단 hypothalamus의 gonadotropin 분비 조절기능의 차이에 의한 것으로 생각된다. 이 조절기능은 임신 중기까지 태아의 hypothalamo-hypophyseal portal vascular system이 없는것<sup>52)</sup>으로 보아서 LH-RH는 C.S.F. circulation을 통하여 뇌하수체에 작용하는 것 같다.

이와는 반대로 gonadotropin의 태아 성별 차이는 gonadotropin inhibitory principle-예를 들면 fetal pineal extracts<sup>54)</sup> 등의 생성의 차이의 결과일 수도 있다.

현재까지 임신중기 태아의 뇌하수체 gonadotropin 분비의 차이가 hypothalamic regulation의 차이인지는 명확하지 않다. 그러나 이러한 성별의 차이는 이시기 태아의 gonadal steroid production의 현저한 차이의 결과로서 hypothalamus나 pituitary 또는 양쪽의 level에서 조절될 수 있다고 생각함이 타당할 듯하다. 태령 11~17주의 남태아에서 높은 혈중 testosterone<sup>22)</sup>치는 gonadotropin 분비에 negative feedback으로 작용한다. 그러나 이때의 여태아에서는 혈중 estradiole이 어느정도 있음에도 불구하고 gonadotropin suppression이 일어나지 않는것<sup>22)</sup>은 estrogen feedback에 대한 hypothalamic and/or pituitary receptor가 이시기까지 발달되지 못한 때문으로 추측되며 그후 부터 gonadotropin이 남 여 태아에서 모두 낮은치가 되는 것은 feedback mechanism의 성숙을 의미한다.

임신 중기의 모체의 혈중 gonadotropin은 측정이 곤란할 정도로<sup>22, 55, 56)</sup> 적고 또 태아의 성에 따라서도 차이가 없으며 태반은 LH, FSH 또는 이 비슷한 물질도 생산하지 못하는 점으로 미루어 보아서 양수내의 gonadotropin은 모두 fetal origin으로서 fetal urin을 통하여 양수내로 배설되어 들어간다고 생각된다.

이상의 양수내의 testosterone과 FSH의 특성을 이용하여 양수내의 testosterone/FSH의 비를 구함으로써 태아의 성별을 산전에보다 정확히 구별하려는 노력을 시도하였다. Belisle<sup>39)</sup> 등의 조사에 의하면 남태아의 양수내 testosterone/FSH의 비는 286으로서 여태아 임신시의 4.9에 비하여 무려 57배나 높아서 본 조사의 24배 보다도 두배 이상 높으나 임신 20주의 치인 48배와는 비슷한 성적을 나타내었다. 또 이 testosterone/FSH의 비율이 40이상이면 틀림없이 남아이고 5이하일때는 여아라고까지 주장하여 testosterone 또는 FSH를 단독으로 측정하였을때 보다도 더욱 신뢰도가 높다고 하여 본 조사의 결론과 일치하고 있다.

## 결 론

최근 신생아의 상태를 출생이전의 태아의 상태에서 미리 알고자 하는 노력이 각 방향으로 시도되고 있다. 현재까지는 주로 임신중기에 채취할 수 있는 양수를 이용한 세포학적 검사가 관심의 대상이 되어왔으나 아직 보충하여야 할 문제점이 많다. 그러므로 양수내의 호르몬을 방사면역적 방법으로 측정하여 태아의 상태를 산전에 파악하려는 노력의 일환으로 저자는 양수내에 존재하는 testosterone과 FSH를 측정하여 그 성적과 태아의 성별과의 상호관계를 조사한 결과 다음과 같다 는 결론을 얻었다.

1) 대상은 임신 제12~27주 사이의 정상 임신부로서 남아분만 예가 37예, 여아 27예 총 64예의 양수를 채취하여 측정하였다.

2) 남아 임신시의 양수내 testosterone치는 평균 90.7 pg/ml, 여아에서는 평균 62.3 pg/ml로서 양자간에는 차이가 있었다.

3) 양수내 FSH치는 남태아에서는 1.15 mIU/ml, 여태아에서는 11.98 mIU/ml로서 역시 유의성이 인정되었다.

4) 양수내의 testosterone/FSH의 비는 남태아 임신 시에는 236.2, 여태아에서는 9.8로서 남태아는 여태아에 비하여 24배나 높은치를 나타내었고 이 비율이 25 이상일 경우가 남태아의 92% 이상이며 25이하인 경우가 여태아의 92% 이상을 나타내고 있다.

5) 양수내의 testosterone과 FSH를 측정하여 태아의 성별을 구별하는 법은 세포학적 검사와 함께 중요한 보조방법의 하나이다.



REFERENCES

- 1) R., Malone, T.A., Doran and R.J., Benzie: *Genetic amniocentesis...Advantages of a team approach. (In preparation, Cited from Ref.45)*
- 2) S., Furuyama: *A radioimmunoassay for plasma testosterone. Steroids, 16:415, 1970.*
- 3) M.L., Dufau: *Radioimmunoassay of plasma testosterone. Clin. Chim. Acta., 37:109, 1972.*
- 4) F., Fuchs and L.L., Cederquist: *Antenatal diagnosis of sex and congenital diseases. Clin. Obstet. Gynecol., 16:159, 1970.*
- 5) A., Rook, L.Y., Hsu, M., Gertner and K., Hirschhorn: *Identification of Y and X in amniotic fluid cells. Nature, 230:53, 1971.*
- 6) H.A., Nadler: *Indications for amniocentesis in the early prenatal detection of genetic disorder. Birth Defects, 7(5):5, 1971.*
- 7) C., Valenti, C.C., Lin A., Baum, M., Massobro and A., Carbonara: *Prenatal sex determination. Am. J. Obstet. Gynecol., 112:890, 1972.*
- 8) K.S., Ju, I.J., Park, H.W.Jr., Jones and K.J., Winn: *Prenatal sex determination by observation of the X-chromatin of exfoliated amniotic fluid cells. Obstet. Gynecol., 47:287, 1976.*
- 9) M.M., Nelson and A.E.H., Emery: *Amniotic fluid cells: Prenatal sex prediction and culture. Br. Med. J., 1:523, 1970.*
- 10) B.K., Burton, B.A., Gerbie and H.L., Nadler: *Present status of intrauterine diagnosis of genetic defects. Am. J. Obstet. Gynecol., 118:718, 1974.*
- 11) A.H., Baillie, M.M., Ferguson and D.M.K., Hart: *Histochemical evidence of steroid metabolism in human genital ridge. J. Clin. Endocrinol. Metab., 26:738 1966.*
- 12) M., Niemi, M., Ikonen and A., Hervenén: *Histochemistry and fine structure of interstitial tissue in human fetal testis. p. 31.*
- 13) J.E., Jirasek: *Relationship between structure of testis and differentiation of external genitalia and phenotype in man. In Ciba Foundation, Endocrinology of the testis: Edited by GEW. Wolstenholme and M. O'connor. London: Churchill, 1967. Vol. 16, Colloquia on Endocrinology. p. 3.*
- 14) H.F., Acevedo, L.R., Axelrod, E., Ishikawa and F., Takaki: *Studies of fetal metabolism. (II) Metabolism of progesterone-4-<sup>14</sup>C and pregnenolon-7-<sup>3</sup>H in human testis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 23:885, 1965.*
- 15) E. Bloch: *Metabolism of 4-<sup>14</sup>C-progesterone by human fetal testis and ovaries. Endocrinology, 74:833, 1964.*
- 16) M., Ikonen, M., Niemi: *Metabolism of progesterone and 17-OH-progesterone by human fetal testis in vitro. Nature(London) 212:716, 1966.*
- 17) J.E., Jirasek: *Progress in Endocrin., ICS 184, Excerpta Med. Amst. p. 1100, 1969.*
- 18) P.K., Siiteri and J.D., Wilson: *Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. J. Clin. Endocrinol. Metab., 38:113, 1974.*
- 19) R.A., Jungmann and J.S., Schweppe: *Biosynthesis of sterols and steroids from acetate-<sup>14</sup>C by human fetal ovaries. J. Clin. Endocrinol., 28:1599, 1968.*
- 20) 高木繁夫：母兒相關に見左 hormone 生成代謝とすの臨床的意義に關るり研究 日産婦誌, 24:365, 1972.
- 21) M.M., Grumbach and S.L., Kaplan: *Advances in fetal and neonatal physiology. Cambridge University Press, Cambridge, 462:487, 1973.*
- 22) E.I., Reyes, R.S., Boroditsky, J.S.D., Winters and C., Faiman: *Studies in human sexual development. II. Fetal and maternal serum gonadotropin and sex steroid concentration. J. Clin. Endocrinol. Metab., 38:612, 1974.*
- 23) 吉田裕：胎中 FSH 濃度の胎齡に伴り變動と性差 日産婦誌 26:1361, 1974.
- 24) P., Saunders, and P., Rhodes: *Amniotic fluid: Research and clinical application. Excerpta Medica, Amsterdam, 1973. p. 1.*
- 25) D.R., Abramovich: *The volume of amniotic fluid in early pregnancy. J. Obstet. Gynecol. Br. Commonw., 75:728, 1968.*
- 26) T.N.A., Jeffcoate, J.R.H., Fleigner, S.H., Russell,

- J.C., Davis and A.P., Wade: *Diagnosis of the adrenogenital syndrome before birth. Lancet*, 2:553, 1965.
- 27) I.R., Merkatz, M.I., New, R.E., Paterson and M.P., Seaman: *Prenatal diagnosis of adrenogenital syndrome by amniocentesis. J. Pediatr.*, 75:977, 1967.
- 28) J., Nichols: *Antenatal diagnosis and treatment of the adrenogenital syndrome. Lancet*, 1:83, 1970.
- 29) J., Nichols and G.G., Bibson: *Antenatal diagnosis of the adrenogenital syndrome. Lancet*, 2: 1068, 1969.
- 30) J.A., Clements, F.I., Reyes, J.S.D., Winter and C., Faiman: *Studies on human sexual development. III. Fetal pituitary and serum, and amniotic fluid concentrations of LH, CG, and FSH. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42:9, 1976.
- 31) M., Mixuno, J., Lobotsky, C.W., Lleyd and T., Kobayashi: *Plasma androstenedione and testosterone during pregnancy and in the newborn. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28:1133, 1968.
- 32) M.A., Rivarola, M.G., Forest and C.J., Migeon: *Testosterone, androstenedione and dehydroepiandrosterone in plasma during pregnancy and at delivery; concentration and protein binding. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28:34, 1968.
- 33) D.R., Abramovich: *Human sexual differentiations in utero influences. Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 81:488, 1974.
- 34) J.M., Saez and J Bertrand: *Androgen studies in the foetoplacental unit. Excerpta Medica. Int. Congr. Series.*, 183:132, 1969.
- 35) E.V., Younglai and C.C., Lin: *Fetal androgen and human chorionic gonadotropin excretion in relation to genetic sex. Am. J. Obstet. Gynecol.*, 117:291, 1973.
- 36) E.V., Younglai: *Androgens in human amniotic fluid: Relationship to sex of the newborn. J. Endocrinol.*, 54:514, 1972.
- 37) H.L., Judd, J.D., Robinson, P.E., Young and D.W., Jones: *Amniotic fluid testosterone levels in midpregnancy. Obstet. & Gynecol.*, 48:690, 1976
- 38) H.R., Giles, G.D., Lox, H., Wayne and G.D., Christian: *Intrauterine fetal sex determination by radioimmunoassay of amniotic fluid testosterone. Gynecol. Invest.*, 5:317, 1974.
- 39) S., Belisle, M., Fencil and D., Tulchinsky: *Amniotic fluid testosterone and follicle-stimulating hormone in determination of fetal sex. Am. J. Obstet. Gynecol.*, 128:514, 1977.
- 40) P.E., Young, H.L., Judd, J.D., Robinson, O.W., Jones and S.C., Yen: *Sex differences of amniotic fluid androgens and estrogens at midgestation. Presented at the Society for Gynecologic Investigation, Twenty-third Annual Meeting, March, 1976, Philadelphia, Pennsylvania.*
- 41) G.D., Lox, H.R., Giles, M.W., and G.D., Christian: *The relationship between amniotic fluid androgens and fetal sex. Presented at the Fifty-eight Annual Meeting of the Endocrinol. Society, San Francisco, 1976 (Abst. No. 112)*
- 42) D.R., Abramovich and P., Rown: *Foetal plasma testosterone levels at mid-pregnancy and at term. J. Endocrinol.*, 56:621, 1973.
- 43) T., Zondek, M.D., Mansfield and L.H., Zondek: *Amniotic fluid testosterone and fetal sex determination in the first half of pregnancy. Brit. J. of Obstet. Gynaecol.*, 84:714, 1977.
- 44) M.Y., Dawood and B.B., Saxena: *Testosterone and dehydrotestosterone in maternal and cord blood and in amniotic fluid. Am. J. Obstet. Gynecol.*, 129:37, 1977.
- 45) B.B.K., Pirani, N., Pairaudeau, T.A., Doran, P.Y., Wong and H.A., Gardner: *Amniotic fluid testosterone in the prenatal determination of fetal sex. Am. J. Obstet. Gynecol.*, 129:518, 1977.
- 46) J.D., Robinsen, H.L., Judd, P.E., Young, O.W., Jones and S.S.C., Yen: *Amniotic fluid androgens and estrogen in midgestation. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45:755, 1977.
- 47) M.M., Grumbach and S.N., Kaplan: *In foetal and neonatal physiology. Proc. of Sir Joseph Bancroft Centenary Symposium, Cambridge, England, Cambridge University Press, 1972, p. 462.*

- 48) S.E., Levina: *Gen. Comp. Endocrinol.*, 19:242, 1972. (Cited from Ref. 30)
- 49) G.V. Groom and A.R., Boyns: *Effect of hypothalamic releasing factors and steroids on release of gonadotrophins by organ cultures of human foetal pituitaries. J. Endocrinol.*, 59: 511, 1973.
- 50) S.E., Levina: *Hormones in Development. Appleton-Century-Crofts, New York, 1971. p.547.*
- 51) A.J., Winters, R.L., Eskay and J.C., Porter: *Concentration and distribution of TRH and LRH in the human fetal brain. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39:960. 1974.
- 52) K., Niemineva: *Observations on development of hypophyseal portal system. Acta. Paediat.*, 39: 366, 1950.
- 53) J.G., Ondo, R.L., Eskay, R.S., Mical and J.C., Porter: *Release of LH by LRF injected into the CSF: A transport role for the Medium Eminence. Endocrinology*, 93:231, 1973.
- 54) S., Pavel. I., Dumitru, I., Klepsh and M., Dorcenscu: *A gonadotropin inhibiting principle in the pineal of human fetuses. Evidence for its identity with arginine vasotocin. Neuroendocrinology*, 13:41, 1973-74.
- 55) R.B., Jaffe, P.A., and A.R. Jr., Midgley: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29:1281, 1969. (Cited from Ref. 30)
- 56) A.F., Parlow, T.A., Danne and W.J., Dignam: *On the concentration of radioimmunoassayable FSH circulating in blood throughout human pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 31: 213, 1970.
-