

2개 대비 1개의 난할기 선발배아 이식에 따른 임상 결과

대구마리아 의원¹, 서울마리아 병원²

강상민¹ · 이상원¹ · 정학준¹ · 채수진² · 윤산현² · 임진호² · 이성구^{1*}

Clinical Outcome of Elective Single Embryo Transfer Compared to Elective Double Embryo Transfer Performed at the Cleavage Stage

Sang Min Kang¹, Sang Won Lee¹, Hak Jun Jeong¹, Soo Jin Chae², San Hyun Yoon²,
Jin Ho Lim², Seong Goo Lee^{1*}

¹Daegu Maria Fertility Clinic, Daegu,

²Seoul Maria Fertility Hospital, Seoul, Korea

Objective: This study was performed to compare the clinical outcome of elective single embryo transfer (eSET) performed at the cleavage stage to that of elective double embryo transfer (eDET).

Methods: Of the women less than 36 years old who visited Daegu Maria from January 2008 to April 2009, the only women (n=330) with more than 8 mm of endometrial thickness and at least one good quality embryo, who were treated with GnRH agonist long protocol, were included in this study. After information about complications that can arise by multiple embryo transfer, either eSET or eDET was conducted by their request (167 and 163, respectively).

Results: The implantation rate of eSET group was significantly higher than that of eDET group (53.9% vs. 40.2%, $p<0.01$). The twin pregnancy rate of eSET group was significantly lower than that of eDET group (1.1% vs. 32.3%, $p<0.001$). However, there were no significant differences between two groups in the clinical pregnancy (53.3% vs. 60.7%, $p=0.172$), ongoing pregnancy (47.3% vs. 54.6%, $p=0.185$) and live birth rates (44.9% vs. 50.9%, $p=0.275$). The number of the surplus embryos which developed to the blastocyst stage and cryopreserved at that stage was significantly higher in eSET group than that of eDET group (3.2 ± 2.6 vs. 2.1 ± 2.4 , $p<0.001$).

Conclusion: These results suggest that eSET should reduce significantly the multiple baby pregnancy without decreasing the whole pregnancy rate in women with less than 36 years old. [Korean. J. Reprod. Med. 2010; 37(4): 349-359.]

Key Words: Elective single embryo transfer, Elective double embryo transfer, Twin pregnancy

최근 보조생식술의 발달로 불임부부의 임신율은 점차 높아지고 있으나 대다수 센터에서 그 수단의 하나로 여러 개의 배아를 이식하고 있기에 다태아의 임신이 증가하고 있는 것도 사실이다. 다태아의

임신은 체외수정기술 (*In vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)에 있어서 심각한 부작용 중 하나로 볼 수 있다. 2002년 European Society of Human Reproduction and Embryology consensus meeting에서 IVF-ET의 정상적인 결과는 1명의 아이를 출산하는 것으로 정의하였고, 쌍태아의 임신은 합병증으로 간주하였다.¹ 다태아의 임신은 조산, 저체중아의 분만, 자궁 내의 성장지연, 태아의 사망 및 뇌성마비

접 수 일: 2010년 8월 13일, 수정일: 2010년 10월 19일

게재확정일: 2010년 10월 19일

주관책임자: 이성구, 우) 706-743 대구시 수성구 범어3동 2-1,

마리아의료재단

Tel: (053) 943-6555, Fax: (053) 743-5519

e-mail: koo9406@unitel.co.kr

등과 같은 합병증이 발생할 위험이 크고,^{2~4} 합병증이 발생하면 그 치료를 위한 비용이 만만치 않다.^{5,6} 한국은 2008년 보고된 2005년도 한국 보조생식술 현황의 보고에 따르면 쌍태아의 임신이 34.9%였고, 삼태아의 임신이 0.5%를 차지하였으며,⁷ 2000년 보고된 유럽 IVF-ET의 결과에 따르면 쌍태아의 임신율이 21.7%나 된다고 하였다.² 이는 자연임신에서 나타난 약 1.6%의 다태아의 임신율에 비교하면 매우 높은 빈도이다.

다태아의 임신과 관련된 합병증의 위험성에도 불구하고 대다수의 환자들이 임신 가능성을 높이기 위해 여러 개의 배아를 이식해 주기를 원하는 경우가 많다.⁸ 그러나 Templeton과 Morris⁹의 보고에 의하면 젊은 여성에서 2개 이상의 배아를 이식한 경우 임신율은 증가하지 않는 반면 다태아의 임신율만 증가하였으며, Jain 등¹⁰의 보고에 의하면 임신할 가능성이 높은 젊은 여성들에게는 배아를 적게 이식했을 때가 많이 이식했을 때보다 임신율이 더 양호하였다. 2008년 대한민국 통계를 보면 1개에서 3개까지는 이식 배아의 수를 증가시킴에 따라 임상적 임신율이 통계적으로 유의하게 증가하였으나 4개 이상으로 이식 배아의 수를 증가시켰을 때 임신율과의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다.⁷

한 개의 선발배아의 이식 (elective single embryo transfer, eSET)은 IVF-ET에 있어서 다태아의 임신빈도를 줄일 수 있는 가장 효과적인 방법이다.¹¹ 현재 eSET는 핀란드, 스웨덴, 벨기에 등에서 일상적으로 시행되고 있으며,¹² 그 결과로 다태아의 출산율이 급격하게 감소하고 있다.^{13~15} 몇몇 연구에 의하여 eSET에 적합한 환자들을 선택하는데 있어서 나이와 배아의 질이 중요하다는 것이 확인되고 있다.^{16,17} 무작위 추출법을 이용한 연구들에 의하면 eSET에 적합한 환자의 나이는 34~36세 미만이고, 우수한 배아는 환자당 1개에서 4개 이상을 가지고 있어야 한다. 이러한 조건의 환자들에게 eSET를 시행했을 때 그 결과를 보면 두 개의 선발배아의 이식 (elective double embryo transfer, eDET)에 비하여 임신율과 출산율이 유의하게 낮아짐과 동시에 다태아

의 임신율과 출산율도 유의하게 감소하였다.^{5,18~20} 그러나 eSET군은 eDET군보다 동결 보존한 배아들이 유의하게 많았기 때문에, 임신에 실패한 경우 해동하여 배아를 이식하거나 1회의 신선주기를 더 시행하였을 때, 두 그룹간 누적임신율 및 출산율은 비슷하였지만 다태아의 임신율 및 출산율은 eSET군에서 유의하게 감소하였다.^{5,20}

한편, 환자의 나이와 우수한 배아의 존재를 고려하지 않고 무작위로 시행했을 경우에서도 eSET는 eDET에 비하여 주기당 낮은 임신율을 나타낸다는 것이 보고된 바 있지만,²¹ 난소의 호르몬 반응이 좋고, 우수한 배아를 얻었던 환자군에서는 eSET와 eDET의 임신율이 비슷하다고 보고된 바도 있다.^{22~24}

이에 본 연구는 대한민국 여성들 가운데 IVF-ET에서 양호한 조건이라고 판단되는 환자들을 eSET군과 eDET군으로 나누어 그 임상 결과를 비교하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 2008년 1월부터 2009년 4월까지 대구 마리아에서 첫 번째나 두 번째 IVF-ET를 시행하는 36세 미만인 환자 가운데 hCG를 투여한 당일 자궁 내막의 두께가 8 mm 이상이고 정상적인 수정란이 3개 이상이면서 적어도 1개의 우수한 배아를 지닌 환자들을 대상으로 하였다. 환자들에게 임신율을 높이기 위하여 여러 개의 배아를 이식할 수도 있지만 다태아의 임신이 발생할 경우 그 합병증과 위험성이 크다는 것을 충분히 고지해서 환자들로 하여금 자발적으로 이식받을 배아의 수를 1개 또는 2개로 선택하게 하고 그에 따라 수정을 유도한 3일째에 배아를 이식하였다. 난자공여 주기는 본 연구에 포함시키지 않았다.

2. 과배란 유도 및 난자 채취

과배란 유도는 gonadotropin-releasing hormone

agonist (GnRH- α)와 recombinant FSH (Gonal-F, Merck Serono, Darmstadt, Germany)를 사용한 장기요법으로 시행하였다. 초음파 상에서 직경이 17~18 mm 이상인 난포가 2개 이상 확인될 경우에 10,000 IU의 hCG (IVF-C, LG life sciences, Daejon, Korea)를 투여하였으며, 36시간 후에 질식 초음파를 이용하여 난자 채취를 실시하였다. 채취된 난자는 난구세포들의 특징을 기준으로 그 성숙여부를 판단하였으며, 성숙, 중간성숙 및 미성숙 군 별로 세척한 다음, 수정용 배양액에 옮겨 각각 수정능력을 획득할 때까지 배양하였다.

3. 배양액

난자의 수정능력을 획득시키고 정자를 주입하여 수정을 유도하기 위한 수정용 배양액은 MRC#D01 (Biosupply Co., Seoul, Korea)을 사용하였고, 수정란의 체외배양을 위한 성장용 배양액은 환자의 자가난포액 (autologous follicular fluid, AFF)을 첨가한 YS 배양액²⁵ (MRC#D16, Biosupply Co.)를 사용하였다. AFF는 난자를 채취할 때 극명한 방사관의 형태를 지닌 난자-난구세포 복합체 (oocyte-cumulus complex, OCC)가 들어있는 난포액을 회수하여 원심분리로 정제하고 56°C에서 30분간 불활성화한 다음 0.22 μ m filter를 통과시켜 준비하였다. 배아를 확보한 처음 48시간 동안은 10% AFF를 MRC#D16에 첨가하여 배양하였고, 3일째에 eSET 혹은 eDET를 실시한 후 잉여배아의 추가배양은 20% AFF를 MRC#D16에 첨가하여 실시하였다.

4. 체외수정, 수정확인 및 공동배양

체외수정은 일반적인 수정법 (conventional insemination)과 세포질 내 정자주입술 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI)을 이용하여 유도하였다. 수정을 유도한 16~18시간 후에 2개의 극체와 자·웅 전핵이 각각 관찰되면 정상적인 수정으로 간주하였다. 정상적으로 수정된 배아를 극명한 방사관의 형태를 지닌 OCC로부터 회수하여 미리 미세소적 (micro-droplet)에서 배양되고 있는 자가난구세포들

(autologous cumulus cells, ACC)과 함께 3일째 eSET 혹은 eDET를 실시할 때까지 배양하였다. 비슷하게 잉여배아들도 포배기의 발생이나 그 보존을 위하여 ACC와 함께 배양하였다.

5. 배아의 판정, 이식 및 황체기 보강

수정을 유도한 3일째 아침에 배양하고 있는 배아들 중에 할구의 수가 7개 이상 존재하고 그 크기가 균일하며 20% 미만의 fragment를 포함하는 배아를 우수한 배아 (good quality embryo)로 판정하였다. 환자가 eSET와 eDET 중에 양자택일한 대로 가장 우수한 3일째 배아를 선발하여 자궁강 내에 이식하였다. 난자를 채취한 날부터 14일 동안 90 mg의 프 로게스테론 질정 (Crinone gel 8%, Merck Serono)을 하루에 1회 질 내에 삽입하게 하고, 100 mg의 유티 로게스탄 (Utrogestan, Besins International, Montrouge, France)을 매일 3회 복용하게 함으로서 황체기 보강을 유도하였다.

6. 포배기 배아의 유리화 보존 및 해동

eSET 혹은 eDET를 실시한 후, 잉여배아들을 20% AFF가 첨가된 20 μ L의 MRC#D16에서 ACC와 함께 5일이나 6일째까지 배양하여 포배기 배아의 발생을 유도하였다. 포배기 배아가 발생하면 영양 배엽세포 (trophectoderm cell)의 건강도 및 내부세포괴 (inner cell mass)의 정상여부를 확인하고 정상적인 포배기 배아들은 모두 유리화하여 액체질소 내에 보관하였다. 유리화 및 해동의 기초용액은 20% serum substitute supplement (Irvine scientific, Irvine, CA, USA)가 첨가된 phosphate buffered saline으로 하였고 유리화할 포배기 배아는 두 개의 30 gauge 주사바늘을 이용하여 인위적인 배반포강의 탈수를 유도하였다. 유리화는 순차적으로 기초배양액으로 5분, 20% ethylene glycol (Sigma, St. Louis, MO, USA)이 첨가된 평형용액으로 1분 30초, 40% ethylene glycol, 18% ficoll (Sigma) 및 0.3 M sucrose (Sigma)가 혼합된 유리화 용액으로 30초를 처리함으로써 유도되었고 그 직후 액체질소에 유리화된

포배기 배아를 침지하여 보관하였다. eSET군에서 임신에 실패한 환자들 중에 유리화 보존된 포배기 배아가 있는 59주기에서 이식하기 전날에 그들을 해동하였다. 유리화 보존된 배아를 순차적으로 0.5 M sucrose 용액으로 5분, 0.25 M sucrose 용액으로 5분, 그리고 기초배양액으로 5분 동안 노출함으로써 해동하고, 해동된 포배기 배아는 MRC#D46 배양액 (Biosupply Co.)에서 이식할 때까지 배양하였다. 다음 날 오전에 single embryo transfer (SET), double embryo transfer (DET) 혹은 triple embryo transfer (TET)를 실시하였다.

7. 임신 및 진행임신의 판정

난자를 채취한 14일 후에 혈중 β -hCG의 농도가 양성이고 그 1주 후의 추적검사에서 혈중 β -hCG의 농도가 지속적인 상승을 보이며 임신 6~7주째에 실시한 질식 초음파 검사에서 태낭 (gestational sac, G-sac)이 관찰되었을 때, 임상적으로 임신 (clinical pregnancy)이 되었다고 판정하였다. 진행임

신 (ongoing pregnancy)은 10주 이상 임신이 지속된 경우로 정의하였다. 착상율 (implantation rate)은 이식된 배아의 수에 대한 자궁 내에 착상한 태낭의 수를 백분율로 나타냈다.

8. 통계학적 분석

통계는 SPSS ver. 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하였고, 평균값은 평균±표준편차 (mean±standard deviation)로 표현하였다. 연속형 변수의 비교를 위해 Student's *t*-test를 이용하였고 비연속성 변수의 비교를 위해 Chi-square test를 이용하였으며, $p < 0.05$ 인 경우에 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

2008년 1월부터 2009년 4월까지 대구마리아로 내원한 첫 번째나 두 번째 IVF-ET 환자들 가운데 36세 미만이고 HCG를 투여한 당일 자궁내막의 두

Table 1. Characteristics in eSET group compared to those of eDET group

	eDET (n=163)	eSET (n=167)	<i>p</i> -value
Age (yr)*	31.9±2.3	31.6±2.5	NS
No. of previous IVF cycles*	0.3±0.5	0.3±0.4	NS
Endometrial thickness at hCG (mm)*	10.7±1.3	10.9±1.5	NS
Etiology of infertility (n [%])			
tubal	34 (20.9)	23 (13.8)	NS
endometriosis	6 (3.7)	12 (7.2)	NS
anovulation	2 (1.2)	2 (1.2)	NS
male factor	53 (32.5)	61 (36.5)	NS
mixed	38 (23.3)	37 (22.2)	NS
other	30 (18.4)	32 (19.2)	NS

eSET, elective single embryo transfer; eDET, elective double embryo transfer; NS, not significant; IVF, *in vitro* fertilization; hCG, human chorionic gonadotropin.

*The continuous variables are expressed as mean±standard deviation.

Table 2. *In vitro* fertilization and embryo preservation in eSET group compared to those of eDET group

	eDET (n=163)	eSET (n=167)	p-value
No. of ICSI attempts (%)	85 (52.2)	86 (51.5)	NS
No. of retrieved oocytes *	12.0±5.7	11.8±5.8	NS
No. of matured oocytes *	9.5±5.2	9.5±5.1	NS
No. of fertilized oocytes *	8.1±4.1	8.3±4.3	NS
No. of good quality embryos on day 3*	3.9±2.7	4.2±2.9	NS
No. of vitrified blastocysts *	2.1±2.4	3.2±2.6	<0.001
No. of cycles with embryos cryopreserved (%)	112 (68.7)	149 (89.2)	<0.001

eSET, elective single embryo transfer; eDET, elective double embryo transfer; NS, not significant; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

*The continuous variables are expressed as mean±standard deviation.

Sang Min Kang. Clinical Outcome of Elective Single Embryo Transfer Compared to Elective Double Embryo Transfer Performed at the Cleavage Stage. Korean J Reprod Med 2010.

께가 8 mm 이상이며 정상적인 수정란이 3개 이상 이면서 적어도 1개의 우수한 배아를 지니고 있어 3일째 배아이식을 받았던 환자의 주기는 330예였다. 그들 가운데 2개의 선발배아를 이식했던 주기는 163예였고 (eDET), 1개의 선발배아를 이식했던 주기는 167예였다 (eSET). eDET군과 eSET군 사이에 해당 주기의 특성은 Table 1에서 보는 바와 같았고, 채란, 체외수정 및 체외발생을 조사했던 결과는 Table 2에서 보는 바와 같았다. 환자의 나이, 사전에 IVF-ET를 실시했던 시술횟수 및 HCG를 투여한 당일 자궁내막의 두께는 두 군 사이에 전혀 차이가 없었다 (Table 1). 각종의 불임원인에서도 두 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table 1). 또한, 채란수, 채취한 직후 성숙된 난자의 수, ICSI를 시도했던 예, 수정된 난자의 수 및 3일째에 양호한 배아의 수에 있어서도 두 군 사이에 유의한 차이를 발견할 수 없었다 (Table 2). 그러나 3일째에 선발배아를 이식한 후, 각각의 잉여배아를 5일이나 6일째까지 배양하면서 유리화 보존이 가능한 포배기 배아를 조사하였을 때, eSET군에서 eDET군보다 통계적으로 유의하게 많았으며 (각각 3.2±2.6와 2.1±2.4, $p<0.001$), 포배기 배아를 유리화

보존했던 예의 비율도 eSET군에서 eDET군보다 통계적으로 유의하게 높았다 (각각 89.2%와 68.7%, $p<0.001$) (Table 2).

eDET군과 eSET군 사이에 나타난 임상적 결과들은 Table 3에서 보는 바와 같았다. eSET군의 임상적인 임신율 및 10주까지 진행되고 있는 임신율은 각각 53.3%와 47.3%로 eDET군의 각각 60.7%와 54.6% 보다 낮게 나타났으나 각각 두 군 사이에 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 이식된 배아들 중에 정상적으로 자궁 내에 착상해서 G-sac이 된 비율은 eSET군이 eDET군에 비하여 유의하게 높게 나타났다 (각각 53.9%와 40.2%, $p<0.01$). 그러나 이식된 배아가 자궁 외에 착상하여 임신이 된 환자의 비율은 유의성은 인정되지 않았지만 eSET군 (1.2%)이 eDET군 (3.7%)보다 낮게 나타났다. 정상적으로 임신이 된 환자들의 자궁 내에 1개의 G-sac이 들어 있는 비율은 eSET군이 eDET군에 비하여 유의하게 높게 나타났던 (각각 98.9%와 67.7%, $p<0.01$) 반면, 2개의 G-sac이 들어있는 비율은 eSET군이 eDET군에 비하여 유의하게 낮게 나타났던 (각각 1.1%와 32.3%, $p<0.001$). 임신된 환자들 중에 임신 10주 이후에 자연적으로 유산된 비율

Table 3. Clinical outcomes in eSET group compared to those of eDET group

	eDET (n=163)	eSET (n=167)	p-value
Clinical pregnancies	99 (60.7)	89 (53.3)	NS
Extrauterine pregnancies	6 (3.7)	2 (1.2)	NS
Gestational sacs	131 (40.2)	90 (53.9)	<0.01
Twin pregnancies	32 (32.3)	1 (1.1)	<0.001
Ongoing pregnancies	89 (54.6)	79 (47.3)	NS
Miscarriage > 10 weeks	5 (5.6)	4 (5.1)	NS
Lost to follow-up	1 (1.1)	0 (0.0)	NS
Live birth	83 (50.9)	75 (44.9)	NS
singleton	62 (74.7)	74 (98.7)	<0.001
twin	21 (25.3)	1 (1.3)	<0.001
Preterm birth<37 weeks	13 (15.7)	2 (2.7)	<0.01
Low birth weight infants<2,500 g	28 (26.9)	6 (7.9)	<0.01

Each item is expressed as number (rate).

eSET, elective single embryo transfer; eDET, elective double embryo transfer; NS, not significant; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

Sang Min Kang. Clinical Outcome of Elective Single Embryo Transfer Compared to Elective Double Embryo Transfer Performed at the Cleavage Stage. Korean J Reprod Med 2010.

은 eDET군과 eSET군 사이에 각각 5.6%와 5.1%로 전혀 차이가 없었으나 37주 이전에 분만된 비율은 eSET군이 2.7%로 eDET군의 15.7%에 비하여 유의하게 낮게 나타났다 ($p<0.01$). 2,500 g 미만의 아기를 출산한 비율도 eSET군이 7.9%로 eDET군의 26.9%에 비하여 유의하게 낮게 나타났다 ($p<0.01$). 또한, eSET군의 정상적인 아기의 출산율은 eDET군보다 낮게 나타났으나 두 군 사이에 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다 (각각 44.9와 50.9%). 그러나 출산에 성공한 환자들 가운데 단태아의 출산율은 eSET군이 eDET군에 비하여 유의하게 높게 나타났던 (각각 98.7%와 74.7%, $p<0.001$) 반면, 쌍태아 출산율은 eSET군이 eDET군에 비하여 유의하게 낮게 나타났다 (1.3%와 25.3%, $p<0.001$).

eSET군에서 임신에 실패한 환자들 중에 유리화 보존된 포배기 배아가 있는 59주기에서 그들을 해동하고 각 주기에 이식한 임상결과는 Table 4에서

보는 바와 같았다. 유리화 보존된 포배기 배아들을 해동하여 SET, DET 및 TET를 각각 46, 11 및 2주기에서 실시하였던 바 전체적으로 임상적인 임신율 및 10주까지 진행되고 있는 임신율이 각각 28.8%로 나타났다. 1개의 해동배아를 이식한 SET군의 10주까지 진행되고 있는 임신율 및 이식된 배아들이 G-sac이 된 비율은 각각 30.4 및 32.6%로 나타났다. 또한 1개의 해동배아를 이식한 SET군에서 쌍태아가 관찰되었다.

고 찰

eSET를 실시하기 위해서는 우수한 배아의 선택이 중요하다. Van Royen 등²⁶은 착상된 배아들의 관찰을 토대로 배양 2~3일째의 착상능력이 가장 우수한 배아들에 대해 언급한 바 있다. 우수한 배아들의 형태학적 특징은 배양 3일째에 7개 이상의 활

Table 4. Transfer outcome after thawing the embryos cryopreserved in eSET group

	No. of transferred embryos		
	SET	DET	TET
Cycles	46	11	2
Clinical pregnancies	14 (30.4)	2 (18.2)	1 (50.0)
Extrauterine pregnancies	1 (2.2)	-	-
Gestational sacs	15 (32.6)	2 (9.1)	1 (16.7)
Twin pregnancies	1 (7.1)	-	-
Ongoing pregnancies	14 (30.4)	2 (18.2)	1 (50.0)

Each item is expressed as number (rate).

eSET, elective single embryo transfer; SET, single embryo transfer; DET, double embryo transfer; TET, triple embryo transfer.

Sang Min Kang. Clinical Outcome of Elective Single Embryo Transfer Compared to Elective Double Embryo Transfer Performed at the Cleavage Stage. Korean J Reprod Med 2010.

구를 지녀야 하고, 각 할구 내에 여러 개의 핵이 존재하지 않아야 하며, fragment는 20% 미만이어야 한다고 하였다. 그들은 eDET를 실시한 후 49%의 착상률을 얻었으며 착상과정에서 자궁 내의 별 다른 장애가 없다면 eSET군에서도 비슷한 착상률과 임신율을 얻을 수 있다고 제안하였다. 이후 이러한 기준의 배아들을 이용한 eSET의 연구들에서 39.8~45%의 높은 착상률을 보고한 바가 있다.^{27,28} 따라서, 이상의 연구들을 토대로 실시한 본 연구의 eSET군에서도 53.9%의 높은 착상률을 얻을 수 있었다 (Table 3).

본 연구에서 eSET는 167주기에서 실시하였고 eDET는 163주기에서 실시하였던 바, 임상적인 임신율이나 정상적인 아기의 출산율에서 eSET군과 eDET군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 발견되지 않았지만, 쌍태아의 임신율과 출산율에서는 eSET군이 eDET군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 결과를 보였다 (Table 3). 게다가 eSET군의 37주 이전의 조산과 2,500 g 이하의 저체중아 출산율도 eDET군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 결과를 보여주었다 (Table 3). 이식된 배아들 가운데 정상적인 착상률은 eSET군이 eDET군보다 유의하게 높게 나타났다 (각각 53.9와 40.2%, $p < 0.01$). 그러나 eSET

군과 eDET군 사이에서 10주 이전의 유산율 (각각 11.2와 10.1%)과 10주 이후의 유산율 (각각 5.1과 5.6%)은 어떠한 차이도 없었다. 특히 10주 이전에 유산된 환자들은 eSET군과 eDET군에서 모두 1개의 G-sac을 지녔던 경우였으며, eDET군에서 2개의 G-sac을 지녔던 환자 중에 1개의 G-sac을 소실한 경우는 있었으나 2개 모두 유산된 경우는 없었다. 이상의 결과들은 eDET가 eSET에 비하여 임신된 환자의 유산율에는 다소 상보적이지만 2개 이상의 배아를 이식하였을 때 정상적인 임신이나 착상률에 나쁜 영향을 제공할 수 있으며 다태아의 임신으로 기인한 조산이나 저체중아 출산 등과 같은 부작용이 크다는 것을 제시하고 있다.

본 연구의 eSET군에서 75예의 분만이 있었는데 쌍태아는 1예 뿐이었다. 이에 비하여 eDET군에서는 83예의 분만 가운데 21예의 쌍태아가 있었다 (각각 1.3과 25.3%). 이는 통계적으로 유의한 차이를 나타낸 것이다 ($p < 0.001$). 이 결과는 이미 보고되었던 연구들의 eSET의 쌍태아 출산율 (1.1~4.2%)과 eDET의 쌍태아 출산율 (27.6~33.1%)에 의해 입증되고 있다.^{20,23} Conde-Agudelo 등²⁹은 쌍태아의 임신은 조산이나 저체중아를 분만할 가능성이 단태아의 임신에 비하여 4배 정도 높은 것으로 보고한

바 있다. 본 연구의 eDET군에서 단태아를 출산했던 62예 가운데 37주 이전에 조산한 경우는 3예 (4.8%)였고 2,500 g 미만의 저체중아를 출산한 경우는 8예 (12.9%)였으나, 쌍태아를 출산했던 21예 가운데 37주 이전에 조산한 경우는 10예 (47.6%)였고 2,500 g 미만의 저체중아를 출산한 경우는 20예 (45.5%)였다. 같은 eDET의 조건에서 쌍태아의 임신은 단태아의 임신에 비하여 조산율이 약 10배가 높았고 저체중아의 출산율이 약 4배로 높게 나타났다. 이러한 결과는 다태아의 임신을 줄이기 위해선 eDET보다 eSET를 실시하기 위한 노력과 연구가 더욱 필요하다고 생각된다.

또한 eSET의 장점 중 하나는 eDET에 비하여 보다 많은 수의 잉여배아를 보관하였다가 임신에 실패하였을 경우 보다 여러 번 해동하여 이식할 수 있다는 것이다. 난자들을 1회 채취하여 수회에 걸쳐 배아를 이식하는 프로그램은 과배란의 유도에서 기인한 난소의 빈번한 자극이나 난자를 채취하는데 따른 스트레스를 최소화 시킬 수 있다는 장점도 있다. eSET의 중요성은 이미 다른 저자들에 의해서 강조되었고 채취당 누적임신율도 한층 높일 수 있다고 보고된 바 있다.^{20,27} 본 연구에서 잉여배아들이 있어 유리화하여 보관된 환자의 비율은 eDET군에서 68.7%였던 반면 eSET군에서는 89.2%로 유의하게 높았고 ($p < 0.001$) (Table 2), 환자당 유리화하여 보관한 잉여배아의 수는 eSET군에서 eDET군에 비하여 유의하게 높게 나타났다 (각각 3.2 ± 2.6 과 2.1 ± 2.4 , $p < 0.001$). 그러나 본 연구에서 eSET나 eDET를 실시한 후 잉여배아들을 각각 1개의 단위로 보관하지 않았고 임신에 실패한 환자들이 SET보다는 DET나 TET를 해 주기를 원했던 경우가 많았기 때문에 정확히 eSET군과 eDET군을 각각 산출하여 비교하기에는 적당하지 않았다. 하지만 임신에 실패한 eSET군의 78주기 가운데 68주기에서 유리화하여 보관된 잉여배아들을 지니고 있었기에 그들 가운데 2010년 5월까지 59주기에서 첫 번째로 잉여배아를 해동하여 환자가 원하는 대로 SET (46예), DET (11예)나 TET (2예)를 실시한 바

있다. 이때 이식된 잉여배아의 수는 평균 1.3개였다. 모두 17주기에서 임신이 되어 28.8%의 임상적 임신율을 나타냈는데 SET군에서 일란성 쌍태아가 관찰되었을 뿐 DET와 TET군에서 쌍태아는 없었다 (Table 4). 따라서 eSET군의 기본 임신 ($n=89/167$)과 1회의 잉여배아를 이식했을 때의 임신 ($n=17$)을 합계하면 그 누적임신율은 167주기로부터 난자를 채취했기에 63.5%에 이른다. 물론 eSET군에서 잉여배아를 유리화하여 보관하는데 드는 비용이 더 있긴 하겠지만 eDET군에서 쌍태아의 임신으로 인한 합병증과 조산 및 미숙아의 치료비용 등을 감안하면 이는 비교가 되지 않을 것이다.^{5,6}

한편, 본 연구에서는 IVF-ET의 결과에 영향을 미치는 중요한 요인들 가운데 하나가 환자의 나이라고 판단하여 eSET와 eDET를 비교하는데 그 편차를 줄이기 위하여 36세 미만인 환자들로 제한하였다. 2005년도 대한민국 보조생식술 현황의 보고에 따르면 35~39세의 환자군에서 임상적으로 임신된 비율은 24.9%로서 25세 미만의 환자군에서 32.6%, 25~29세의 환자군에서 37.8% 및 30~34세의 환자군에서 31.9% 보다 유의하게 낮았다.⁷ 35세 이상의 환자군에서 IVF-ET를 실시하였을 경우, 그 임신율은 35세 미만의 환자군보다 낮았지만 다태아의 임신율은 위험은 오히려 증가하였다는 보고도 있었다.³⁰ 임신성 당뇨나 임신 중독증 등과 같은 합병증의 빈도는 나이가 많으면서 다태아를 임신하였을 경우에 그렇지 않은 경우보다 더욱 높았다는 보고가 있으므로,^{31,32} 35세 이상의 환자군에서도 가능한 다태아의 임신이 되지 않도록 노력을 기울려야 할 것이다. De Neubourg 등³³이 우수한 배아들을 지니고 있는 환자들의 임신율은 나이와 별다른 관련성이 없다고 보고한 바가 있고, Veleva 등²⁴도 우수한 배아를 지닌 36~39세의 환자군에서 eSET를 실행한 후, 33.1%의 임상적 임신 및 26.0%의 출산율을 얻었다고 보고한 바가 있다. 이러한 결과들은 36세 미만의 환자들을 대상으로 eSET를 실시했던 이전의 연구들과^{19,20,23,34} 비슷한 결과로서 우수한 배아들만 지닌다면 환자의 나이가 39세까지는 다

태아의 임신율을 줄이기 위하여 eSET를 실시해도 그 임신율에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 암시하고 있다. 대구마리아에서도 이러한 결과들을 바탕으로 36세 이상의 환자군에서 임신율 및 다태아의 임신율 등 그 임상 결과들을 조사하고 있기에 그 결과들이 크게 문제가 없다면 eSET를 39세까지 확대할 방침이다.

결론적으로 eSET나 eDET를 실시한 후 임신율과 출산율은 서로 비슷하였고 쌍태아의 출산율은 eSET군이 eDET군보다 유의하게 낮은 반면 잉여배아를 지닌 환자의 비율이나 환자당 유리화하여 보존한 잉여배아의 수가 eDET군보다 eSET군에서 유의하게 많으므로, 채취당 임신율을 높이고 다태아의 임신에서 기인한 합병증 등을 줄이기 위해서는 내원한 IVF-ET 환자들 가운데 36세 미만이고 HCG를 투여한 당일 자궁내막의 두께가 8 mm 이상이며 3일째에 우수한 배아가 하나만 있더라도 eSET를 실시함이 바람직하다고 생각된다. 더불어 환자의 나이는 39세까지 확대하여 다태아의 방지를 위한 노력이 더 있어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Land JA, Evers JL. Risks and complications in assisted reproduction techniques: Report of an ESHRE consensus meeting. *Hum Reprod* 2003; 18: 455-7.
- Multiple gestation pregnancy. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* 2000; 15: 1856-64.
- Gardner MO, Goldenberg RL, Cliver SP, Tucker JM, Nelson KG, Copper RL. The origin and outcome of preterm twin pregnancies. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 553-7.
- Spellacy WN, Handler A, Ferre CD. A case-control study of 1253 twin pregnancies from a 1982-1987 perinatal data base. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 168-71.
- Lukassen HG, Braat DD, Wetzels AM, Zielhuis GA, Adang EM, Scheenjes E, et al. Two cycles with single embryo transfer versus one cycle with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005; 20: 702-8.
- Wolner-Hanssen P, Rydhstroem H. Cost-effectiveness analysis of in-vitro fertilization: estimated costs per successful pregnancy after transfer of one or two embryos. *Hum Reprod* 1998; 13: 88-94.
- Committee A. Current status of assisted reproductive technology in Korea, 2005. *Korean J Obstet Gynecol* 2008; 51: 1421-47.
- Blennborn M, Nilsson S, Hillervik C, Hellberg D. The couple's decision-making in IVF: one or two embryos at transfer? *Hum Reprod* 2005; 20: 1292-7.
- Templeton A, Morris JK. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Engl J Med* 1998; 339: 573-7.
- Jain T, Missmer SA, Hornstein MD. Trends in embryo-transfer practice and in outcomes of the use of assisted reproductive technology in the United States. *N Engl J Med* 2004; 350: 1639-45.
- Bergh C. Single embryo transfer: a mini-review. *Hum Reprod* 2005; 20: 323-7.
- Andersen AN, Goossens V, Gianaroli L, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2003. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2007; 22: 1513-25.
- Gordts S, Campo R, Puttemans P, Brosens I, Valkenburg M, Norre J, et al. Belgian legislation and the effect of elective single embryo transfer on IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 436-41.
- Karlstrom PO, Bergh C. Reducing the number of embryos transferred in Sweden-impact on delivery and multiple birth rates. *Hum Reprod* 2007; 22: 2202-7.
- Tiitinen A, Hyden-Granskog C, Gissler M. What is the most relevant standard of success in assisted reproduction?: The value of cryopreservation on cumulative pregnancy rates per single oocyte retrieval should not be forgotten. *Hum Reprod* 2004; 19: 2439-41.
- Coetsier T, Dhont M. Avoiding multiple pregnancies in in-vitro fertilization: who's afraid of single embryo transfer? *Hum Reprod* 1998; 13: 2663-4.
- Strandell A, Bergh C, Lundin K. Selection of patients suitable for one-embryo transfer may reduce the rate of multiple births by half without impairment of overall birth rates. *Hum Reprod* 2000; 15: 2520-5.
- Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Van de Meerssche M, Valkenburg M. Prevention of twin pregnancy

- after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum Reprod* 1999; 14: 2581-7.
19. Martikainen H, Tiitinen A, Tomas C, Tapanainen J, Orava M, Tuomivaara L, et al. One versus two embryo transfer after IVF and ICSI: a randomized study. *Hum Reprod* 2001; 16: 1900-3.
 20. Thurin A, Hausken J, Hillensjo T, Jablonowska B, Pinborg A, Strandell A, et al. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2004; 351: 2392-402.
 21. van Montfoort AP, Fiddelers AA, Janssen JM, Derhaag JG, Dirksen CD, Dunselman GA, et al. In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2006; 21: 338-43.
 22. Gerris J, De Sutter P, De Neubourg D, Van Royen E, Vander Elst J, Mangelschots K, et al. A real-life prospective health economic study of elective single embryo transfer versus two-embryo transfer in first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod* 2004; 19: 917-23.
 23. Tiitinen A, Unkila-Kallio L, Halttunen M, Hyden-Granskog C. Impact of elective single embryo transfer on the twin pregnancy rate. *Hum Reprod* 2003; 18: 1449-53.
 24. Veleva Z, Vilksa S, Hyden-Granskog C, Tiitinen A, Tapanainen JS, Martikainen H. Elective single embryo transfer in women aged 36-39 years. *Hum Reprod* 2006; 21: 2098-102.
 25. Yoon HG, Yoon SH, Son WY, Kim JG, Im KS, Lim JH. Alternative embryo transfer on day 3 or day 5 for reducing the risk of multiple gestations. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 262-7.
 26. Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod* 1999; 14: 2345-9.
 27. Tiitinen A, Halttunen M, Harkki P, Vuoristo P, Hyden-Granskog C. Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Hum Reprod* 2001; 16: 1140-4.
 28. Vilksa S, Tiitinen A, Hyden-Granskog C, Hovatta O. Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum Reprod* 1999; 14: 2392-5.
 29. Conde-Agudelo A, Belizan JM, Lindmark G. Maternal morbidity and mortality associated with multiple gestations. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 899-904.
 30. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. *Lancet* 1996; 348: 1402-6.
 31. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 460-5.
 32. Xiong X, Saunders LD, Wang FL, Demianczuk NN. Gestational diabetes mellitus: prevalence, risk factors, maternal and infant outcomes. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 75: 221-8.
 33. De Neubourg D, Gerris J, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Elseviers M. Single top quality embryo transfer as a model for prediction of early pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2004; 19: 1476-9.
 34. Martikainen H, Orava M, Lakkakorpi J, Tuomivaara L. Day 2 elective single embryo transfer in clinical practice: better outcome in ICSI cycles. *Hum Reprod* 2004; 19: 1364-6.

= 국문초록 =

목적: 시험관아기 기술에서 3일째의 배아들 가운데 우수한 배아를 선발하여 1개의 배아를 이식 (elective single embryo transfer, eSET)한 주기와 2개의 배아를 이식 (elective double embryo transfer, eDET)한 주기의 임상적 결과들을 비교, 분석하고자 하였다.

연구방법: 본 연구는 2008년 1월부터 2009년 4월까지 대구마리아에서 첫 번째나 두 번째 *In vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET)를 시행한 36세 미만인 환자들 가운데 hCG를 투여한 당일 자궁내막의 두께가 8 mm 이상이고 정상적인 수정란이 3개 이상이면서 적어도 1개의 우수한 배아를 지닌 환자들을 대상으로 실시하였다. eSET는 167주기에 실시하였고 eDET는 163주기에서 실시하였다.

결과: eSET군의 임상적 임신율, 진행 임신율 및 출산율 (각각 53.3%, 47.3% 및 44.9%)은 eDET군의 것들 (각각 60.7%, 54.6% 및 50.9%)보다 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 착상률은 eSET군이 eDET군보다 통계적으로 유의하게 높았고 (각각 53.9%와 40.2%, $p<0.001$), 쌍태아의 임신율은 eSET군이 eDET군보다 유의하게 낮게 나타났다 (각각 1.1%와 32.3%, $p<0.001$). 또한, 잉여배아들을 유리화하여 보관하게 된 환자의 비율은 eDET군보다 eSET군에서 유의하게 높았을 뿐만 아니라 (각각 68.7%와 89.2%, $p<0.001$), 환자당 보관된 잉여배아의 수도 eSET군에서 eDET군에 비하여 유의하게 높게 나타났다 (각각 3.2 ± 2.6 과 2.1 ± 2.4 , $p<0.001$).

결론: 채취당 임신율을 높이고 다태아의 임신에서 기인한 합병증 등을 줄이기 위해서는 내원한 첫 번째나 두 번째 IVF-ET 환자들 가운데 36세 미만이고 HCG를 투여한 당일 자궁내막의 두께가 8 mm 이상이며 3일째에 우수한 배아가 하나만 있더라도 eDET보다 eSET를 실시함이 바람직하다고 생각된다.

중심단어: 1개의 선발배아 이식, 2개의 선발배아 이식, 쌍태아 임신