

체외수정시술시 선택적 보조 부화술(selective assisted hatching: sAHA)이 임신율에 미치는 영향에 관한 연구

제일병원 체외수정연구실,
산부인과 불임클리닉¹

이호준 · 김정욱 · 변혜경 · 손일표¹
황정혜¹ · 강인수¹ · 궁미경¹ · 전종영¹

체외수정시술에서 배아의 발생과 상태는 임신율에 많은 영향을 미친다. 배아이식 후 배아의 착상과정은 아직 잘 밝혀져 있지 않지만, 체외에서 수정된 배아가 자궁에 착상되기 위해서는 부화(hatching)가 선행되어야 하므로 배아의 부화현상은 임신율과 깊은 관계가 있을 것으로 사료된다.

배아가 부화하지 못하는 이유는 여러가지가 있지만 그 중에서 체외에서 배양된 배아의 투명대 경화(zona hardening)현상에 의해 배아가 투명대를 뚫고 나오지 못하는 현상을 들 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 보조부화술(assisted hatching: AHA)을 이용하여 배아가 쉽게 부화할 수 있도록 하여 착상과 임신에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

본 연구는 1994년 1월 1일부터 7월 31일까지 제일병원 불임클리닉에 내원하여 체외수정시술을 받은 317명을 대상으로 하였다. sAHA는 체외수정시술을 받은 환자중에서 세포질내 정자주입술(intracytoplasmic sperm injection; ICSI)를 시행했거나, 나이가 35세 이상, 체외수정시술 3회 이상, 혈중 FSH 농도가 15mIU/ml 이상, 투명대의 두께가 17 μ m 이상인 65명을 대상으로 시행하였으며 난자채취 3일 후에 미세조작기를 사용하여 투명대의 일부분을 acid Tyrode's solution으로 녹여주었다.

결과는 다음과 같다.

1. 대조군과 sAHA군에서 임신율은 각각 27.2% (63/232), 37.8% (14/37)로 나타났다.
2. 나이에 따른 임신율을 살펴보면 29세 이하의 대조군에서는 33.9% (20/59)로 나타났으며, 30-34세에서 대조군은 26.1% (30/115), sAHA군은 46.2% (6/13)였고 35세 이상에서

대조군은 22.4% (13/58), sAHA군은 33.3% (8/24)로 나타났다.

3. ICSI를 시행한 군에서 임신율을 살펴보면 대조군은 20% (4/20), sAHA군은 35.7% (10/28)로 나타났다.

이상의 결과에서 선택적 보조부화술은 체외수정시술을 시행하는 환자 중 위의 예에 해당되는 경우에 실시함으로써 임신율을 높여줄 수 있으며, 특히 나이가 많거나 ICSI를 시행한 환자에게 좋은 방법이라고 사료된다.

Sperm Function Test의 일반적 체외수정법 및 ICSI에 의한 수정율과의 상관관계

차병원 여성의학연구소

엄기봉 · 전윤정 · 김영찬 · 한세열
박종영 · 윤태기 · 차광열

시험관아기 시술시 여러가지 원인에 의하여 정상적인 방법에 의한 체외수정에 실패하는 경우가 있다. 즉, 정자와 난자에 단독 혹은 양자에 항체가 존재하거나, 난자가 기형이거나 퇴행한 경우, 난자투명대가 경화된 경우, 정자의 수정능력이 저하되어 있는 경우 등을 들 수 있다. 이중 항체의 존재나 난자의 형태학적인 이상유무는 쉽게 판별할 수가 있으나 가장 중요하다고 보이는 정자의 수정능력의 판단은 용이한 일이 아니다. 현재까지 기본적인 정액검사외에 Acrosin Assay, Hamster Egg Penetration Test, ATP Assay, Human Hemi-zona Assay, Hypo-osmotic Swelling Test (HOS), Acrosome Reaction Test, Acridine Orange(AO) Test, Sperm Morphology Scoring 등의 여러방법을 통하여 수정능력 검정 및 예측을 시도한 연구가 있었다. 본 저자들은 이중 Sperm Morphology, Acridine Orange Test, Hypo-osmotic Swelling Test를 동일 semen에 실시하여 각 검사간의 효과를 비교함과 동시에 체외수정시 이러한 검사결과가 수정율과 상관관계가 있는지를 검토하였다. 또한 이러한 검사결과가 낮게 나왔고, 이로 인하여 수정이 낮은 정도로 일어날 것으로 예상되는 환자군에게 ICSI를 적용하여 같은 범주에 드는

군과 통상적인 수정방법과 ICSI의 수정효과를 비교 검토하였다.

연구결과로 HOS나 AO Test 결과가 낮게 나온 경우에는 수정이 되는 경우가 있었으며, 오히려 검사결과가 높게 나온 경우에 수정이 전혀 안되었던 경우도 있었다. 따라서 HOS나 AO 검사결과로 미루어 수정여부를 예측하기는 어렵다고 판단된다. 반면에 Sperm Morphology가 0-4%(Kruger's Strict Criteria)로 낮게 나온 경우에는 통상적 수정방법의 경우에 54개의 남자중 3개(5.6%)만이 수정되었고, 이에 반하여 5-14%의 Sperm Morphology의 경우에는 93개의 남자중 40개(43.0%)가 수정이 되었다($p < 0.001$). 따라서 통상방법에 의한 체외수정의 경우에 정자형태가 수정여부에 상당히 영향을 끼치며, 대체로 수정여부를 예측하는 지표로 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 ICSI를 시행했을 경우에는 Sperm Morphology가 0-4%인 경우에 42개의 남자중 27개(64.3%)가 수정되었고, 5-14%의 경우에는 70개의 남자중 49개(70.0%)가 수정되어 Sperm Morphology에 관계없이 양군간에는 유의성이 없었다. 따라서 Sperm Morphology가 좋지 않아서 낮은 수정결과가 예측될 때 ICSI를 적용하는 것이 수정효율을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

-6-

여러가지 정자처리법이 정자 첨체반응(Acrosome Reaction)에 미치는 영향에 관한 연구

차병원 여성의학연구소,
건국대학교 축산대학 축산학과*

엄기봉 · 신애자 · 오중훈 · 김은경
최동희 · 윤태기 · 차광열 · 정길생*

정자의 수정능력획득(Capacitation)과 첨체반응(Acrosome Reaction)은 수정에 있어서 필수적인 정자의 물리화학적 변화이다. 정자는 Capacitation과 Acrosome Reaction에 의해 Acrosome의 일부, 혹은 전부가 Vacuolization되면서 Acrosome 내부의 Enzyme들이 누출되며, 이러한 Enzyme들은 정자가 Cumulus Cell

을 뚫고 투명대로의 접근 및 부착을 용이하게 하여 수정이 일어나게 된다. 최근에는 이런 정자의 막상변화를 수정능력 예측의 지표로 삼으려고 하는 경향도 있다. 따라서 In Vivo도 물론, In Vitro에서 체외수정을 실시할 때 정자의 Acrosome Reaction을 높은 비율로 유지하는 것이 중요하다고 할 수 있다. 따라서 본 저자들은 현재 일반적으로 행해지는 정자 처리법에서 Acrosome Reaction이 어느정도로 유지되는지를 관찰하고, 다른 연구과제에서 Acrosome Reaction 여부에 따른 영향을 판단하는 기초지표로 삼고자 연구를 수행하였다.

정액은 4종류의 처리법(Group I, II, III, IV)으로 동일정액을 나누어 처리하여 Acrosome Reaction의 빈도를 관찰하였다. 즉, Group I은 통상적인 Swim-up method로서 이때 최종농도가 Serum 20%되게 조정된 Ham's F-10배양액을 사용하였으며 처리 24시간후 Acrosome Reaction을 측정하였고, Group II는 통상적인 Swim-up method로 정자를 준비한 뒤, Follicular Fluid를 최종농도 20% 또는 50%되게 조정한 후 역시 24시간 배양후 Acrosome Reaction을 측정하였고, Group III는 Swim-up 방법으로 정자를 준비하고 3시간 후 최종농도가 10 μ M되게 Ca Ionophore 23187을 첨가하고 1시간 후 Acrosome Reaction을 측정하였으며, Group IV는 Swim-up후 정자를 항동해제 없이 급속 동결-융해를 2회 반복하였다. Acrosome Reaction의 측정은 정자를 Hoechst로 1-2분간 1차로 염색한 뒤, slide에 정자를 smearing하고 건조시킨 후 Methanol로 Fix 한후, FITC-PSA로 형광염색을 하였다. Acrosome Reaction의 측정은 Leitz 형광현미경하에서 Hoechst는 A filter block으로, FITC-PSA는 13 filter block으로 검경하여 Acrosome Reaction 여부를 판단하였다.

연구결과로, 전체 10 test의 결과를 평균해 보면 Group I에서는 34.2%, Group II에서는 41.0%, Group III에서는 61.9%, Group IV에서는 97.7%의 Acrosome Reaction이 측정되었다. Group III와 IV는 Acrosome Reaction이 유의하게 높았으나 정자운동성이 유의하게 낮거나(Group III) 전혀 없는 상태(Group IV)라서 체외수정에의 적용은 어려울 것으로 판단되었다. 따라서 In Vitro에서 정자운동성에 영향을 주지 않는 범위내에서 Acrosome Reaction의 유기는 최대 30-40%정도로 유지할 수 있으