

의 효과를 관찰하였다.

수정율은 M16 69.5%, MT1 62.0%, MT2 70.0%, CZ1 67.0%, CZ2 46.8%였으며, 수정 후 3일에 상실배 형성에서는 MT2가, 4일에 배반포 형성에서는 M16배양액이 양호한 결과를 나타내었다.

이와같은 결과로 난관환경을 가장 유사하게 조성한 MT2 배양액이 생쥐 초기배의 발생초기에 유익한 것으로 사료되며, 배반포 형성을 기준으로 배아의 대사형태 및 미세환경이 변화하는 것을 고려할 때 이 시기에 적절한 새로운 조성의 배양액이 필요할 것으로 사료된다.

- 14 -

Effects of 1, 2-Propanediol (PROH) and Freezing-Thawing on the *in Vitro* Developmental Capacity of Human Immature Oocytes

**Weon-Young Son, Sung-Eun Park,
Jung-Jae Ko, Woo-Sik Lee,
Jong-Young Park, Tae-Ki Yoon,
Kwang-Yul Cha**

*Infertility Medical Center, CHA General
Hospital, Seoul 135-081, Korea*

Use of human immature oocytes in *in vitro* fertilization(IVF) program is a prospective area in Assisted Reproductive Technologies(ART). Successful cryopreservation of human immature oocytes would be essential to establish ovum bank for the ovum donation program in ART. Aims of the present study were as follows: 1) To find effects of a cryoprotectant, PROH, and freezing-thawing treatment on the maturation of human immature oocytes; 2) To determine the capacity of immature oocytes to fertilize and cleave after freezing-thawing treatment.

Cumulus enclosed human immature oocytes(n=250) were collected from unstimulated ovaries obtained from fifty seven consented patients undergoing tuboplasty or

caesarean section. Collected oocytes were divided into three groups. Group 1(n=82): no treatment as control; Group 2(n=70): PROH treatment in a identical manner to that used for freezing in the next group; and Group 3(n=98): cryopreserved. Oocytes were cryopreserved using one-step freezing method in modified Dulbecco's phosphate buffered saline(PBS) supplemented with 20% fetal bovine serum(FBS). Oocytes in Group 1, 2, and survived oocytes(n=54) from Group 3 were cultured in DMEM supplemented with 20% FBS, 10IU/ml PMSG, and 10 IU/ml hCG for 48 hrs. Maturation of oocyte was assessed by examining the first polar body(PB) under the microscope after 48 hrs. Part of matured oocytes(Group 1: n=21; Group 2; n=21; and Group 3; n=14) were inseminated with normal donor sperm. Fertilization was assessed by the presence of pronuclei at 19 hrs post insemination and cleavage was recorded after 24 hrs then.

Survival rate after freezing-thawing in Group 3 was 55.1%(54/98). Maturation rates were 6.8%(63/82), 67.1%(47/70), and 59.3%(32/54) fro the Group 1, 2, and 3, respectively. Maturation rate in Group 3 was significantly lower than that of Group 1($p<0.05$).

Fertilization rates were 90.0%(19/21), and 42.8%(6/14) for the Group 1, 2, and 3, respectively. Cleavage rates were 94.7%(18/19), 88.2%(15/17), and 16.7%(1/6) for the Group 1, 2, and 3, respectively. Therefore, rates of fertilization and cleavage in survived oocytes in Group 3 was significantly lower than those of Group 1 and Group 2($p<0.01$).

These results suggest that the pretreatment with 1.5M PROH before the freezing itself has no inhibitory effects on the maturation, fertilization and cleavage of

human immature oocytes *in vitro*. However, freezing-thawing procedure may have detrimental effects on the maturation and developmental capacity. Further studies should be addressed to find out the optimal cryopreservation method of human immature oocytes to improve rates of survival, fertilization, and development after thawing. Simultaneously, it should be attempted to elucidate cellular change occurring in survived oocytes during the freezing and thawing procedure which results in the lower fertilization and developmental capacity.

- 15 -

인간정자의 생식력 평가에 있어 침체반응율과 햄스터 난자 침투 분석법의 비교연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

류범용 · 문신용 · 오선경 · 서창석
김석현 · 최영민 · 신창재 · 김정구
이진용 · 장윤석

남성불임증의 진단과 치료에 있어서 인간정자의 수정능력을 충실히 반영할 수 있는 임상검사의 개발은 특히 불임 원인 인자의 규명 및 향후 처치의 방향 설정에 절대적으로 필요하지만 아직은 만족스럽지 못한 수준에 있다.

인간정자의 기능적 활성도를 평가하는 검사 방법으로 human sperm zona-free hamster ova penetration assay(SPA)가 개발되어 위음성(false-negative) 결과 및 음성결과의 낮은 예측도를 개선하는 방법으로 정상수정의 선결조건인 정자의 침체반응을 극대화시키는 처리법들이 연구됨에 따라 검사의 신뢰도를 높이고 있다. 그러나 SPA는 시행상 시간과 경비 소요가 많으며 햄스터 난자에 침투된 소수의 정자만으로 기능이 평가되는 단점을 지니고 있다.

인간정자는 수정전 수정능 획득(capacitation) 및 침체반응(acrosome reaction)이란 변화과정을 거쳐야만 난자와의 수정능력을 부여받게 된다. 정자의 침체반응율은 일반적인 체외배양조건 하에서는 낮은 비율로 나타나지만

(Byrd and Wolf, 1986) oocyte-cumulus complex나 난포액과 같은 침체반응 유발인자와 접촉하므로 증가된다. 그러나 원인불명의 남성불임증 환자의 정자는 생리적인 침체반응 유발인자에 대한 반응 정도가 낮으며, 이런 현상은 정자 기능상의 특별한 병변으로 예측된다(Calvo et al. 1989).

본 연구는 최근 2년내에 생식력이 입증된 남성군과 체외수정 시술시 수정실패자와 난자요인에 기인되지 않은 50% 이하의 수정율이 저조했던 남성군으로 나누어 정자 침체반응 유발인자인 calcium ionophore에 대한 정자의 침체반응(acrosome reaction following ionophore challenge: ARIC) 정도를 조사하여 SPA와의 상관관계 및 인간정자의 생식력 판정에 유용성을 알아보았다.

1. 본 연구에서 SPA의 난자침투지수에 있어 정상 가임력을 3.0 이상으로 설정하여 SPA의 양성예측도, 음성예측도, 민감도 및 특이도는 각각 93.3%, 94.1%, 93.3%, 94.1%로 나타났다.

2. 자발적인 침체반응율과 Ionophore에 의해 야기된 침체반응율간의 차이를 나타내는 ARIC value를 기준으로 정상 가임력을 8.5% 이상으로 설정하여 양성예측도, 음성예측도, 민감도 및 특이도는 각각 8.5%, 93.75%, 93.3%, 88.2%로 나타났다.

3. SPA와 비교시 ARIC value의 SPA에 대한 양성예측도, 음성예측도, 민감도 및 특이도는 각각 81.25%, 87.5%, 86.6%, 82.25%로 나타났다.

4. 남성 생식력 평가에 있어 ARIC test는 SPA와 비교시 양성예측도와 특이도에서는 낮은 결과를 보였으나 음성예측도와 민감도에 있어서는 유사한 결과를 나타냈으며 SPA와 높은 상관관계를 나타냈다.

이상의 결과로 ARIC test는 남성 생식력 평가에 유용한 검사로 판단되며 향후 남성불임의 평가에 비교적 객관적이고 간편하게 이용할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 ARIC test와 SPA를 동시에 시행하게 될 때에는 상호 보완적인 성과를 거둘 수 있으므로 정자의 수정능 분석 및 체외수정시 수정상태의 예측에 있어 더욱 정확도를 기할 수 있으리라 사료된다.