

P-17

**FOLLICLE STIMULATING  
HORMONE 이 사람의  
난소표면조직의 체외배양동안  
NON-GROWING FOLLICLE 의  
형태유지에 미치는 영향.**

차병원 여성의학연구소

**도병록 · 정미경 · 조화정 · 이경아  
고정재 · 윤태기 · 차광열**

Follicle stimulating hormone (FSH) 은 난소 내 난포의 발달에 중요한 역할을 한다. 그러나 생후부터 폐경기 까지 난소내에서 발달이 정지된 채로 남아있다고 알려진 non-growing follicles (primordial - primary follicles) 에 대한 FSH 의 역할에 대해서는 아직 명확히 알려진 바가 없다. 따라서 본 실험에서는 사람 난소조직의 체외배양시 배양액내 FSH 가 non-growing follicle 의 형태적 변화에 미치는 영향을 보고자 실시하였다.

난소적출수술시 폐기되는 난소 (n=5, 나이 :  $43.8 \pm 5.5$  세) 를 공여받아 표면조직 일부를 2x2x5 mm 이하로 각각 잘라서 (n=34) Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) 으로 세척하였다. 세척후 조직들을 각각 실험군 별로 Millicell 위의 0.6 % agar 속에 넣은후 4-well dish 에 넣어 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 조건에서 14일간 배양하였다. 배양액으로는 TCM-199 배양액에 10 % 사람의 제대혈청을 첨가하여 사용하였으며, 배양액은 매일 절반씩 교체하였다. 제대혈청내의 FSH 의 농도는 1 mIU 이하였다. 체외배양시 실험군에서는 p-FSH 를 5 µg/ml 첨가하였으며, 대조군으로는 FSH 를 첨가하지 않은 배양액을 사용하였다. 14일간 배양후 파라인 포매법을 이용하여 조직을 절편하여 hematoxyline-eosin 으로 염색하여 관찰하였다. 난포의 판정은 정상적인 난포의 구조를 보이며 난자및 난포세포가 정상적으로 보이는 경우를 건강한 난포로, 난자가 수축되었거나 난포세포의 배열이 불규칙한 경우를 폐쇄(atresia)되는

난포로 판정하였다.

실험결과 FSH 를 첨가하여 배양한 실험군의 경우 50.9 % (28/55) 의 난포가 건강한 경우로 판정되었으며, FSH 를 첨가하지 않은 대조군의 경우는 38.1 % (8/21) 가 건강한 난포로 판정되었다. 본 실험에서 사용한 5 µg/ml 의 p-FSH 는 non-growing follicle 의 정상적인 형태유지와 연관이 있는 것으로 보여지나 유의성은 나타나지 않았다. 그러나 early preantral follicle 에 대한 최근의 보고에서 FSH 의 첨가가 체외배양시 early preantral follicle 의 성장에 중요한 역할을 한다고 보고되었고, 또한 폐경기이후까지 남아있는 non-growing follicle 의 폐쇄는 폐경기이후에 생기는 고농도의 FSH 에 노출된 결과로 설명되고 있어, 결론적으로 적정 농도의 FSH 는 non-growing follicle 의 유지에 직접적인 연관이 있으리라 사료된다.

P-18

**Inhibition of protein synthesis  
following parthenogenetic  
stimulation enhances activation  
rate and in vitro development to  
blastocysts in porcine oocytes**

Animal Resources Research Center,  
Kon-Kuk University

**Soo-Kyung Cha · Sang-Min Lee ·  
Nam-Hyung Kim · Hoon-Taek Lee  
and Kil-Saeng Chung**

Study of parthenogenesis has contributed considerably to the understanding of many aspects of early embryonic development. However, in porcine oocytes, the developmental rate to morulae following parthenogenetic activation is very low. Further, in vitro development to blastocysts has not been yet reported. The objective of this study was to investigate the synergistic effect of a protein synthesis inhibitor, cycloheximide and various

activation methods on activation rate and following in vitro development to blastocysts. Porcine oocyte-cumulus complexes from ovaries were cultured in BSA free NCSU23 containing 10% porcine follicular fluid, 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  FSH and 0.6 mM cysteine for 44 h. Cumulus cells were removed by repeated pipetting and oocytes were assigned to following treatments: A) exposed three times to 25  $\mu\text{M}$  calcium ionophore A23187 in NCSU23 for 2 min at 5 min intervals, B) exposed to 7% ethanol for 5 min, and C) stimulated a DC pulse of 1.2 KVcm for 30  $\mu\text{s}$  using a BTX Electro Cell Manipulator. The activated oocytes were cultured in NCSU23 with or without cycloheximide for 5 h. After additional 12 h culture, the oocytes were fixed at least 48 hr in aceto-ethanol and then stained with 1% orcein for pronuclear formation. The incidence of activation was higher in electrically stimulated oocytes (85%, 76/89) than that in either  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (35%, 35/101) or ethanol (55%, 59/107) treated oocytes. When oocytes were cultured in vitro for 7 days after activation, the percentage (5%, 5/95) of oocytes that developed to blastocysts was higher ( $P < 0.05$ ) in electrically activated oocytes than that in ethanol (3% 2/71) or  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (1%, 1/82) treated oocytes. The combined treatment with cycloheximide following ethanol (69%, 72/104) or  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (56%, 59/105) treatment increased activation rate. The incidence of development to blastocysts (14%, 12/85) was higher in the combined cycloheximide and electrical shock treatment than electrical stimulation alone. These results suggest that inhibition of protein synthesis following parthenogenetic stimulation increases incidence of activation rates and enhances in vitro developments to blastocysts in the porcine oocyte.

## P-19

### 햄스터 난자를 이용한 인간 정자의 미세주입법에 관한연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

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

일반적인 체외수정이 불가능한 극심한 남성 불임 환자에 있어서 세포질내 정자 주입법 (intracytoplasmic sperm injection:ICSI)을 이용하여 정상적인 수정과 임신이 성공됨에 따라 남성 불임 치료에 있어서 획기적인 발전을 이루게 되었다. 최근에는 기형정자뿐 아니라 무정자증 환자에 있어서 부고환에서 회수된 정자나 고환에서 직접 채취된 정자세포(spermatid)를 이용한 ICSI 후 정상적인 수정과 임신이 보고되면서 ICSI는 남성불임에 있어 유일한 치료법으로 자리잡게 됐다. 현재 ICSI는 미세조작술을 사용하는 모든 연구실에서 남성불임의 치료법으로서 임상적인 적용 뿐 아니라 수정과정의 연구를 위한 방법으로 폭 넓게 이용되고 있다. 그러나 기술상의 큰 진전에도 불구하고 아직까지 ICSI를 통해 모든 사람이 수정에 성공하는 것은 아니며 현재까지 ICSI를 사용한 체외수정시술전 수정의 가능성 여부를 알아보는 유용한 방법이 없는 실정이다.

본 연구는 복합적인 원인의 남성불임 환자를 대상으로 형태학적으로 정상인 정자와 비정상형태의 정자를 구분하여 햄스터난자에 미세주입한 후 정자두부의 팽창이나 남성전핵 형성을 관찰하여 주입된 정자의 형태에 따른 수정 가능성 여부 및 ICSI를 이용한 체외수정시술에 있어서 수정가능성을 예견하는 방법으로서 햄스터 난자에 인간정자의 주입법이 유용성이 있는가를 알아보기 위하여 실시하였다.

1. 본 연구에서 정상형태의 정자를 주입한 결과, 햄스터 난자의 퇴행율(degeration rates)은