

21.6%(13/60)이었으며, 손상되지 않은 온전한 난자 중 53.2%(25/47)에서 두부의 팽창 혹은 전핵이 관찰됐다.

2. 비정상형태의 정자를 주입한 결과, 햄스터 난자의 퇴행율은 28.2%(31/110)이었으며, 손상되지 않은 온전한 난자 중 62%(49/79)에서 두부의 팽창 혹은 전핵이 관찰됐다.

이상의 결과로서 남성불임 환자에 있어서 ICSI시행시 수정가능성 여부에 있어서는 정자형태에 따른 차이가 없는 것으로 사료되며, 체외 수정시술시 ICSI의 성공 여부를 예견하는데 있어서 햄스터 난자를 이용한 ICSI가 유용한 방법으로 사료된다.

P-20

동결방법, 해빙온도 및 해빙 후 희석/세척이 인간정자의 운동성과 형태변화에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실

백재승 · 이진행

건강한 20대 남성 10명으로 부터 제공받은 정상소견의 정액을 대상으로 하여 급속동결법과 자동세포동결기(FREEZE CONTROL™ CL863; Biogenics Co., Napa, CA)를 이용한 저속동결법, 급속해빙법과 저속해빙법 및 해빙 후 희석/세척 여부가 정자소생력에 미치는 영향에 대하여 CASA를 이용한 정자의 운동성측정과 stricter criteria에 의한 형태분석을 통하여 비교 분석하였다. 정액의 동결보존과 해빙과정은 정자의 운동성과 형태학적 측면에 전반적인 악영향을 미쳤으며 특히 정자의 운동성에 있어서 심한 장애를 보였다. 정자의 운동성과 형태학적 변화에 있어서 동결방법이나 해빙방법의 차이에 따른 변화는 관찰되지 않았고 저속동결법이 정상모양의 정자회복률에 있어서 급속동결법보다 우수하였다. 정액의 해빙 후 희석/세척은 비세척군에 비하여 정자의 운동성을 30%-40% 감소시켰으며 특히 소형머리모양(small head)의 비

율을 상대적으로 증가시켜서 정자의 형태학적인 측면에도 악영향을 나타내었다. 각각의 동결방법과 해빙방법이 정자의 운동성과 형태학적 변화에 미치는 상호연관관계는 뚜렷하지 않으나 정자운동의 선형도에 영향을 미쳤다. 이에 저자들은 다음의 결론을 얻게 되었다. 정상소견의 건강한 정액을 동결보존 및 해빙할 때는 동결방법 및 해빙방법에 따른 결과의 차이가 거의 없으므로 시간, 비용 및 임상적 효용성 측면에서 급속동결법을 사용함이 바람직하며 아울러 급속해빙법이 권장된다 하겠다.

냉해방지액의 제거를 위한 희석/세척방법에 변화를 주거나 냉해방지액 제거를 위한 새로운 방법이 모색되어야 하겠다. 한편 불임 환자나 고환암 환자등으로부터 제공되는 비정상 정액에서의 동결방법, 해빙방법 및 희석/세척 여부가 정자의 운동성 및 형태변화에 미치는 영향에 대해서는 추후 실험적 연구를 시행할 예정이다.

P-21

동결·융해 햄스터 난자에서의 동종 및 이종 정자 침입능력

서울의대 비뇨기과학교실

손환철 · 김청미 · 백재승

햄스터 투명대 제거 난자를 이용한 정자 수정능력 검정(sperm penetration assay, SPA)은 정자의 수정능력을 비교적 근사하게 파악할 수 있는 생물학적인 검사의 하나로 인정받고 있다. 본 실험에서는 SPA를 편리하게 수행하기 위해 동결·융해한 햄스터 난자의 이용가능성을 검토하고자 하였다. 6-8주령된 자성 햄스터를 PMSG와 hCG로 과배란을 유도하여 난자를 회수한 후, 난구세포를 제거하기 위하여 hyaluronidase를 처리하였으며 곧이어 자동동결기를 이용하여 동결 보존하였다. 모든 난자의 융해는 급속융해방법을 적용하였다. 신선 및 동결·융해 난자는 acid Tyrode용액 처리 방법으로 투명대를 제거한 후 체외수정에 이용하였다. 동종 및 이종 정

자 침입 능력을 검사하기 위하여 12주령 음성 햄스터 및 가임군의 인간 정자를 사용하였다. 동종 정자의 침입은 3.5시간 동안 mTALP에 배양하여 수정능 획득 배양한 정자와 신선 또는 동결·용해시킨 난자를 체외수정시켜 각각 1, 2, 3 및 6시간후에 급속 염색법으로 정자침입율과 정자두부팽화단계를 관찰하였다. 그 결과를 보면 동결·용해 난자의 경우 신선난자에 비하여 약 1-1.5시간 정자 침입이 지연되었다. 그러나 그 이후의 정자침입율 및 정자팽화는 신선 난자와 동결·용해 난자사이에 차이가 없었다. 같은 조건에서 22-24시간 수정능획득을 유지시킨 인간 정자의 경우 4시간 경과후 침투지수(PI : Penetration Index)는 신선 난자 및 동결·용해 난자가 2.78 ± 2.6 , 2.82 ± 2.7 이며 침투율(PR : Penetration Rate)은 $79.5 \pm 10\%$, $73.9 \pm 16\%$ 였다. 이와 같은 결과로부터 햄스터 난자는 동결·용해 과정중 정자-난자의 초기 상호작용 능력에 영향을 받지만, 일정시간 수정후 인간 정자의 수정능력 여부를 예비 평가하는데 편리하게 사용할 수 있음을 확인하였다.

P-22

생쥐수정란의 체외발생에 있어서 인간난포액의 효과

한나여성의원 불임클리닉, 건국대학교
동물자원연구소*

김동훈 · 지희준 · 김지연 · 구정진
장상식 · 정길생*

포유동물 수정란의 체외배양에 있어 수정란의 체외발달 및 생존력의 향상을 위해 첨가하는 단백질원으로서 소태아혈청 등이 널리 이용되고 있으며, 시험관아기 시술시 인간수정란 체외배양에도 태아제대혈청 및 모체혈청 등의 이용이 일반화 되어 있다. 그러나 에너지원이나 성장촉진인자의 공급원으로서 이용되고 있는 혈청이 초기배의 발달에 유해한 영향을 미친다는 문제점이 제기됨에 따라 혈청의 대체물질로서 복강액, 양수 및 난포액 등의 이용에 대한 연구가

활발히 진행되고 있다. 특히 난포액은 높은 수준의 steroids, polypeptide hormones 및 growth factors를 함유하고 있으며, 생체내에서 난자의 성장 및 성숙에 이상적인 환경을 제공하기 때문에 난자의 체외배양에도 유의한 효과를 나타낼 가능성이 높다. 이에 본원의 시험관아기시술시 단백질원으로 이용하는 태아제대혈청의 대체물질로서 인간난포액의 적합성을 조사하기 위하여 생쥐수정란을 실험모델로 이용하여 본 연구를 수행하였다.

2세포기 생쥐수정란(ICR)은 hCG를 주사한 후 48시간째에 회수하였으며, 기본배양액으로는 과정에서 회수하였으며, 난자의 상태(mature, immature, atretic)에 따라 난포액을 분류하였다. 생쥐수정란의 체외발달에 미치는 난포액의 효과를 조사하기 위하여 1) 난포액의 첨가농도를 10, 20, 30, 50 및 100%로 달리하여 체외배양을 실시함으로써 적정첨가농도를 확인하였으며, 2) 난포액을 비롯한 단백질원의 종류와 내포된 난자의 상태에 분류된 난포액이 배발달율, 부착율, 신장율에 미치는 효과를 비교 조사하였으며, 3) 또한 난포액내 거대분자량(>30000 Da) 및 미소분자량(<30000 Da)물질이 배발달에 미치는 영향을 조사하였다.

그 결과는 다음과 같다.

1) 생쥐수정란의 체외발달율은 20%의 난포액 첨가군에서 가장 높았으며, 그 이상의 농도가 되면 오히려 발달율이 저하되었다. 2) 내포된 난자상태에 따라 난포액에서의 배발달율, 부착율, 신장율은 Mature 난자를 내포한 난포액(92.3, 59.3, 35.2%) 첨가군이 Immature난자(64.0, 47.2, 20.2%)나 Atretic난자(72.2, 45.6, 25.6%)를 내포한 난포액 첨가군보다 유의하게 높았다. 3) 단백질원에 따른 배발달율은 난포액 첨가군(93.7%)이 태아제대혈청(81.5%), 모체혈청(83.7%) 및 혈청단백질(81.7%) 첨가군보다 유의하게 높았으며, 또한 부착율, 신장율도 난포액(82.1, 70.5%) 첨가군이 태아제대혈청(58.7, 42.4%), 모체혈청(71.7, 51.1%) 및 혈청단백질(55.9, 0%) 첨가군보다 높게 나타났다. 4) 난포액의 분자량에 따른 배발달율 및 부착율은 거대분자량 난포액(75.6, 57.3%)이 미소분자량 난포액(48.7, 21.8