

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·융해시킨 난자를 체외수정시켜 각각 1, 2, 3 및 6시간후에 급속 염색법으로 정자침입율과 정자두부팽화단계를 관찰하였다. 그 결과를 보면 동결·융해 난자의 경우 신선난자에 비하여 약 1-1.5시간 정자 침입이 지연되었다. 그러나 그 이후의 정자침입율 및 정자팽화는 신선 난자와 동결·융해 난자사이에 차이가 없었다. 같은 조건에서 22-24시간 수정능획득을 유지시킨 인간 정자의 경우 4시간 경과후 침투지수(PI : Penetration Index)는 신선 난자 및 동결·융해 난자가  $2.78 \pm 2.6$ ,  $2.82 \pm 2.7$ 이며 침투율(PR : Penetration Rate)은  $79.5 \pm 10\%$ ,  $73.9 \pm 16\%$ 였다. 이와 같은 결과로부터 햄스터 난자는 동결·융해 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  
동물자원연구센터\*

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

%)보다 유의하게 높게 나타났다.

이러한 결과들을 종합하여 볼때, 난포액은 생쥐수정란의 체외배양에 있어서 태아계대혈청, 모체혈청 및 혈청단백질보다 유용한 단백질원인 것으로 판단되며, 이상의 결과를 근거로 하여 인간을 비롯한 포유동물 난자의 체외배양에 있어서도 선별된 난포액을 적절하게 이용할 수 있으리라 사료된다.

## P-23

### 과배란 유도 성숙 난포액 내의 Insulin-like growth factor- I (IGF- I), Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-3), Growth Hormone (GH) 및 steroid hormone 과의 관계

연세대 의대

이용주 · 조동재 · 정창진 · 민혜원  
박기현 · 유경자 · 송찬호

최근 난소는 여러 축분비적 조절인자의 생성 및 작용기관으로 밝혀져 있다. granulosa cell과 theca cell은 모두 IGF-I(Insulin-lik growth factor-I)과 IGF-II(Insulin-lik growth factor-II)를 생산하는 한편, 난소에서 생성된 IGFBP(Insulin-like growth factor binding protein)는 IGF와 결합하여 free IGF의 농도를 결정, 난포의 성장과 퇴화에 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. IGF의 주요 농도 결정 인자인 GH는 ovarian response를 호전시키는 것으로 기대되어 과배란 유도에 이용되기도 한다.

이에 본 연구는 배란유도한 난포액에서 성숙한 양질의 난자 생성에 관여하는 것으로 알려져 있는 GH, IGF- I, IGFBP-3 및 steroid hormone의 농도를 비교하고, 각각의 상관관계를 확인해보고자 하였다.

1992년 3월 1일부터 1995년 7월 30일까지 연세대학교 의과대학 세브란스 병원 산부인과 불임 클리닉에 불임을 주소로 내원하여 과배란 유

도 프로그램 시행 후 체외 수정을 시도하였던 37명의 환자를 대상으로 하였다. 불임의 원인 중 난소요인에 의한 것은 제외하였고 난포액은 각각의 환자에서 16mm이상되는 성숙한 난포들을 절식 초음파 유도하에 난포를 흡입 채취하였으며 즉시 해부 현미경 하에 난자를 분리하였고 이중 혈액이 섞이지 않은 난포액은 2000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액만을 모아 검사 시기까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 로 냉동보관 후 해동시켜 growth hormone, IGF-I, IGFBP-3, estradiol(E2), progesterone을 RIA 및 IRMA 방법을 이용하여 측정하였다.

실험 결과는 다음과 같다.

1. 난포액내 GH 농도와 난포액내 IGF-I 농도와는 유의한 상관관계가 있었으나, ( $R_s=0.3794$ ,  $p=0.021$ ) 난포액내 IGFBP-3 농도와는 상관관계를 찾아볼 수 없었다.

2. 난포액내 IGF-I 농도와 난포액내 IGFBP-3농도와는 유의한 상관관계가 있었다 ( $R_s=0.4003$ ,  $p=0.014$ ) 난포액내 IGF-I농도와 혈중 estradiol는 상관관계가 없었다.

결론적으로, 난포액내 GH는 IGF-I을 증가시키는 것으로 사료되나 IGFBP-3는 GH에 직접적인 영향을 받지 않는 것으로 생각된다. 한편, IGFBP-3는 IGF-I에 의하여 생성이 촉진되는 것으로 생각된다.

## P-24

### 난구세포층을 이용한 공동배양이 인간배아의 질, 배아 발달 및 임신율에 미치는 영향

고려대학교 산부인과 교실

김현숙 · 이정재 · 김영호 · 김선행 · 구병삼

체외수정시술시 체외배양의 적합한 조건에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있으나 아직은 미비한 실정이다. 최근 인간의 생식기관 및 기타 동물의 기관으로 부터 얻은 세포를 이용한