

공동배양(co-culture)에 의하여 배아의 질을 향상시킴으로 궁극적으로 임신율을 높이고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 공동배양을 통해 인간 배아의 체외배양시 체내조건과 유사한 환경을 만들어줌으로 배아의 질을 향상시킴, 지금 실시하고 있는 2-4세포기의 배아이식보다 더욱 적당한 시기인 상실배, 배반포에서 이식을 실시함으로 임신율을 향상시킬 것으로 생각된다. 그러나 여러가지 형태의 공동배양시 몇가지 문제점이 지적되고 있는데 우선 사용하는 세포를 monolayer을 만들어 정도관리를 해야하는 불편함이 있으며, virus, fungi, mycoplasma등과 같은 오염원에 오염되었는지를 반드시 조사하여야 한다는 점이다.

이에 본 연구에서는 이러한 문제점을 극복할 수 있는 방법으로 체외수정 시술환자의 난자채취시 난자를 싸고 있는 난구세포층(cumulus cells)을 이용하여 공동배양을 실시하여 배아의 질과 배발달을 및 임신율을 알아보았다.

본 연구대상으로 tubal factor가 있는 환자만을 선택해서 통상의 배양을 실시한 대조군과 난구세포층을 이용한 공동배양군으로 무작위로 나누었다. hCG주사후 36시간에 난자 채취를 실시하여 난자의 성숙도를 관찰하고 전배양시켰다. 수정(insemination)전에 성숙한 난자(MII) 만을 골라 내어 난자를 둘러 싸고 있는 난구세포층을 30G 주사기로 난자에 손상을 입히지 않도록 주의하여 난구세포층과 난자를 이분하였다. 난구세포층은 몇번의 세척을 한 후 20% serum이 들어 있는 growth medium(GM)에 옮겨 배양기에서 배양하였다. 난자를 수정시킨 후 16-17시간후 수정 여부를 확인하고 수정란을 전배양된 난구세포층이 있는 GM 으로 옮겼다. 다음날 배아의 질을 확인후 환자에게 이식하였다. 배아의 질은 G1(fragmentation 이 전혀 안일어남), G2(30%미만이 fragmentation), G3(30%이상 fragmentation)로 정의하였다.

공동배양군과 대조군에서 배아의 질을 비교한 결과 G1의 배아는 대조군에 비해 공동배양군에서 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.01$ ). G2의 배아는 두군사이의 유의한 차이는 없었으며, G3의 경우에는 대조군에 비해 공동배양군에서 유의하게 감소하였다( $p < 0.01$ ). 즉 공동배양결과

fragmentation이 없는 보다 좋은 상태의 배아를 더 많이 얻을수 있었다.

이식전 배발달 단계를 비교하였을때 4세포기 이상의 발달율은 대조군에 비해 공동배양군에서 다소 높았으나 유의성은 없었다. 또한 임신율에 있어서도 두 군사이의 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과로 난구세포층의 공동배양은 사용하는 세포의 정도관리가 필요하지않아 간편하고, 난구세포층을 분리시 주의만 한다면 외부 오염원으로부터 오염되는것을 방지할수 있고, 환자 자신의 세포를 이용하므로 오염원을 반드시 조사하지않아도 될 것으로 생각된다. 또한 배아의 질적 향상을 위해 좋은 것으로 사료되며, 아울러 상실배나 배반포기에 이식시 체외배양에 난구세포층을 공동배양에 이용한다면 임신율 향상에도 좋을 것으로 사료된다. 이러한 난구세포층의 공동배양은 미성숙난자의 성숙, 보조 부화술및 ICSI등의 미세조작기법과 더불어 보조생식술에 보다 많은 적용이 가능하리라 생각된다.

## P-25

### 체외수정시 GnRH-agonist/HMG와 Clomiphene/FSH를 이용한 배란 유도시 배아 착상률의 비교

제일병원 산부인과

백은찬 · 송인옥 · 강인수 · 전종영

**서론** : 체외수정시 배아의 착상여부에 관계되는 중요한 요인은 배아의 질(quality)과 자궁내막의 수용성(receptivity)으로 알려져 있다. 이 두요인은 난소와 정자의 상태 및 배양조건, 배란유도방법등에 따라 차이가 있을 수 있다. 본 연구는 나이와 적응증이 비슷한 두 환자 집단에서 GnRH-a/hMG와 LH가 적은 Cloimphene/FSH의 두가지 배란 유도 방법을 사용하여 체외수정 및 배아이식을 시행한 후 배아의 착상률이 다른지의 여부를 보고자 분석하였다.

**방법** : 조사군으로서 Clomiphene/FSH 군은 1995년 1월부터 동년 8월까지 체외수정 및 배아 이식을 시행한 환자 25명의 35 주기를 대상으로 하였으며, 배란유도 방법은 생리 시작 2 일째 혈액 검사 및 경질초음파를 시행한 후 clomiphene citrate을 3 일째부터 하루 100 mg씩 5일간 복용하였다. 생리 시작 8일째 내원하여 경질초음파를 시행하였고 FSH (Metrodin, Serono)를 개인별 난소 반응에 따라 매일 75-375 I.U.을 근육 주사하였다. 최대 난포 직경이 17-18 mm 일 때 hCG 10,000 IU를 근육 주사하고 34시간 후에 난자를 채취하였고 3일후 배아 이식을 시행하였다. 대조군으로서 GnRH-a/HMG 군은 유사한 시기에 flare-up protocol을 시행한 환자중 비슷한 적응증, 연령, 이식된 배아수를 가진 43 주기를 무작위 선택하였다. 착상율은 이식한 전체 배아수 당 임신낭의 수로 정의하였다.

**결과** : Clomiphene/FSH군에서 premature LH surge의 빈도는 25.7% (9/35)이었고, 이중 5 주기에서 난자 채취를 시도하였다. 난자채취를 시행한 31 주기 중에서 난자획득(n=3)이나 수정(n=4)에 실패한 주기를 제외한 24 주기에서 배아이식을 시행하였다. 배아이식 당 clinical pregnancy rate는 조사군과 대조군에서 각각 41.7% (10/24), 25.6%(11/43) 이었고 ( $p>0.05$ ) 착상률은 조사군과 대조군에서 각각 22.2%(16/72), 8.5%(17/199)이었다. ( $p<0.001$ ) 임신초기 유산률은 조사군과 대조군에서 각각 10%(1/10), 27.3%(3/11)이었다. 자궁외 임신은 조사군에서 4.2% (1/24)이었고 23 주에 자궁내 태아사망이 된 쌍태아임신이 1예 있었다. 나이 평균은 조사군과 대조군에서 각각  $31.7\pm 0.8$  SEM 과  $30.7\pm 0.6$  이었고 배아이식수는 각각 평균  $3.0\pm 0.3$  SEM,  $4.46\pm 0.3$  이었다.

**결론** : 본 연구에서는 Clomiphene/FSH군이 GnRH-a/HMG군보다 높은 착상률을 보였는데 그 이유로서 HMG를 사용한 flare-up protocol 보다는 LH의 과도한 상승이 적으므로 배아의 질을 향상시킬 수 있다는 점과 GnRH-a가 야기 할지 모르는 나쁜영향을 배제했기 때문일 가능성이 있다고 생각된다. 그러나 protocol에 따른

착상률의 차이를 규명하기 위해서는 앞으로 더 많은 cycle을 이용한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## P-26

### 미수정란의 동결·융해에 따른 초기 정자-난자상호작용의 지연

<sup>1</sup>고려대학교 응용동물학과, <sup>2</sup>서울대학병원 비뇨기과

김청미<sup>1,2</sup> · 백재승<sup>2</sup> · 이상호<sup>1</sup>

미수정란의 동결보존은 생쥐, 햄스터, 인간 및 소를 포함한 소수의 포유동물종에서 이용되고 있다. 미수정란의 동결보존에 따른 일부 연구에 따르면 염색체 및 배수성에 이상이 보고되고 있지만 체외수정에 이용할 경우 일어날 수 있는 세포의 표면변화로 인한 정자에 대한 수용능력 변화에 대한 연구보고는 없는 실정이다. 본 연구는 햄스터 미수정란의 동결·융해중에 일어나는 난자세포 및 주위막의 생물학적변화를 탐지하기 위하여 잘 확립된 체외수정과 세포화학적방법을 이용하였다. 신선 또는 동결·융해한 투명대 제거 또는 온전 난자를 3.5~5 시간 수정능획득시킨 햄스터 정자로 수정시켜 급속염색법 및 표층립탐지방법에 의해 비교분석하였다. 수정후 1, 2, 3 및 6 시간에 분석한 결과 투명대 제거 난자의 경우 동결·융해난자는 정자침입이 약 1 시간 지연되었다. 그후 정자침입에 따른 정자두부팽화는 정상적으로 일어났다. 투명대 온전 난자의 경우 수정후 2, 4, 6 시간에 걸쳐 극히 높은 다정자침입율을 보였다. 이같은 다정자침입은 투명대의 침입은 일어나지만 난자세포막의 변화에 의한 정자침입이 지연된다는 것을 보여준 것이다. 더우기 신선한 투명대 온전난자의 경우, 수정 1 시간에 표층립반응을 보였으나 동결·융해난자의 경우, 비록 융합된 난자는 위란강내에 존재하지만 표층립반응은 보이지 않았다. 이같은 결과는 난자세포막의 동결·융해중 변화로 인하여 초기의 정자-난자 상호작용이 지연됨으로써 일어났다는 것을 명확히 보여준 것이다.