

Group 1, discussion : 13:30~14:00

P-1

컴퓨터를 이용한 정자 형태 분석에
관한 연구

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
의공학교실

전성수, 이원진, 박광석, 백재승

남성불임의 진단에 있어서 정액검사는 가장 기본적이고 필수적 검사이다. 본 교실에서는 개인용 컴퓨터를 이용한 국산 컴퓨터 정액 분석 기기를 개발한 바 있다. 종합적인 정액분석 시스템을 구현하기 위하여 객관적이고 자동화된 정자의 형태 분석 기기를 개발하고 이의 신뢰성을 입증하고자 한다.

새로이 개발된 정자의 형태 분석 시스템은 광학 기기, 개인용 컴퓨터, 영상 디지털화 기기 및 분석 방법으로 구성된다. 정자를 포함하는 영상 부분에 대해 국소적 영역분할을 한 후 히스토그램 방법이나 Bayes 결정법칙에 근거한 방법을 이용하여 최적 역치값을 구하고, 정자의 경계를 smoothing을 통하여 구하였다. 이를 이용하여 정자의 형태학적 특성의 parameter인 길이, 너비, 면적, 길이와 너비의 비율 및 아크로솜 비율을 구하였다. 정자 형태의 기준은 체외 수정에서 가임력의 지표로 유용성이 입증된 strict criteria를 이용하였고 정자의 염색 방법으로는 Papanicolaou 염색법과 Diff-Quik 염색법을 사용하였다.

컴퓨터 정자 형태 분석 기기의 신뢰성을 확인하기 위하여 30개의 정액 검체를 이용하여 검사자 대 검사자, 검사자 대 정자 형태 분석 기기의 검사 결과 비교 및 같은 정자 세포에 대한 정자 형태 분석 기기의 재현성에 대하여 평가하였다.

실험 결과를 보면 두 명의 숙련된 수작업 검사자간에 높은 상관관계(Pearson correlation coefficient = 0.7861)를 보였으며 Bland and Altman plot에서

두 검사자간에는 유의한 차이는 없었다. 숙련된 수작업 검사자와 정자 형태 분석 기기를 비교하였을 때 Papanicolaou 염색법과 Diff-Quik 염색법 모두에서 서로 높은 상관관계(0.7620, 0.9115)를 보였으며 Bland and Altman plot에서 두 검사간에는 유의한 차이는 없었다. 정자 형태 분석 기기의 재현성에 대한 실험에서는 먼저 Papanicolaou 염색된 검체에서 쌍을 이룬 검사치들의 k 값은 각각 0.76, 0.81, 0.86으로 모두 일치성이 매우 좋은 범주인 >0.75에 속하였으며 쌍을 이룬 검사치들의 일치도에 대한 예측도(predictive probability)는 0.95, 0.80으로 매우 높았다. Diff-Quik 염색된 검체에서도 k 값은 각각 0.75, 0.88, 0.88로 모두 일치성이 매우 좋았으며 예측도도 0.93, 0.89로 매우 높았다.

결론적으로 새로이 개발된 정자 형태특성 분석 기기는 숙련된 검사자와의 비교에서 높은 상관관계를 보였으며, 통계학적으로도 유의한 차이가 없었고, 반복된 검사에서 높은 재현성을 보여, 정자의 형태특성 분석에서 기존의 검사자에 의한 육안적 검사방법을 대체할 수 있게 되었다. 또한 이의 활용으로 경제적, 시간적 이득과 함께 더욱 객관적인 검사결과를 얻을 수 있게 되었다.

P-2

Polymerase Chain Reaction
(PCR)에 의한 무정자증환자의
Y 염색체 장완 (Yq) 유전자
미세결손의 분석

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실

백재승, 김기동, 김청미, 윤종민, 변석수,
전성수, 박혜란

정자형성기능의 장애는 중요한 남성불임의 원인으로 알려져 있다. 여러 후천적 요인에 의한 정자 생산능력의 저하는 그 원인규명이 어렵지 않으나, 현재 정자형성과정을 조절하는 유전적 기구에 대

한 연구자료는 부족한 실정이다. 최근 Y 염색체 장완(Yq)의 결손이 무정자증과 깊은 관련이 있을 것이라는 보고에 이어 YRRM 및 DAZ 등 azoospermia factor (AZF)의 후부유전자들의 동정과 염기서열이 밝혀졌다. 이들 유전자 산물들이 정자형성 과정에 매우 중요한 역할을 할 것으로 추정되고 있으나, 조직소견이나 그밖의 Yq상 좌위 결손도 보고 등에 미루어 단독적으로 정자형성 과정을 조절하는 유전자의 존재는 의문시된다. 본 연구는 정자형성 기능과 관련이 있을 것으로 추정되는 Yq상의 여러 좌위를 분석하여 정자형성 기능 장애에 대한 유전적 요인의 광범위한 구명을 위하여 실시하였다.

평균 연령이 33.1 ± 3.4 세인 후대를 생산하지 못한 불임 환자를 대상으로 정액 분석을 통하여 무정자증을 나타내는 환자를 다시 조직 검사에 의한 정자형성 기능 부전을 확인 후 혈액으로 부터 DNA를 분리하여 분석에 이용하였다. 분석에 이용된 환자는 정상 2례와 oligospermia 4례를 포함하여 모두 41 명으로, 이중 15례는 Sertoli cell only syndrome, 17례는 spermatogenic arrest 및 3례는 47XXY를 나타냈다. YRRM 및 DAZ의 증폭은 각각 1조의 primer를 사용하였으나 기타 25 좌위에 대한 PCR은 이미 보고된 염기서열을 토대로 증폭 산물 간 크기의 차이가 agarose gel 상에서 구별이 용이하도록 primer들을 조합하여 다수의 산물이 동시에 합성될 수 있도록 하였다. 결손이 나타난 경우는 PCR의 반복 수행에 의하여 결과를 확인 하였다.

조직학적으로 다양한 무정자증을 나타내는 환자에서 Yq상 결손이 관찰되었다. DAZ의 결손은 9례로 가장 많이 나타났으며 DYS237상의 결손은 2례로 나타났다. DAZ의 결손은 Sertoli cell only syndrome의 경우 2례, spermatogenic arrest의 경우 6례 및 47XXY에서 1례가 관찰되었다. DYS237의 경우 2례 모두 spermatogenic arrest에서 관찰되었다.

본 연구의 결과에 의하면 비록 DAZ상의 결손이 가장 높은 빈도로 나타났지만 DYS237의 결손도 관찰되어 정자형성 과정에는 단일 유전자에 의하여 조절되기 보다는 여러 유전자의 참여에 의하여 이루어 지는 것으로 사료된다. 이는 조직 검사 소견상 무정자증이 다양한 형태로 존재한다는 사실에 비추어 그 추정이 가능하다. 한편 본 연구에서 사용한 방법으로 염색체 일부의 유전자 거대단위 손실의 검색을 신속하게 수행할 수 있음을 제시하였다.

P-3

Reactive Oxygen Radical(ROS)이 사람 정자의 Hyperactivation(HA)과 Sperm Penetration Assay (SPA)에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실

백재승, 전성수, 김청미, 주명수

저자들은 사람 정자의 capacitation과 acrosome reaction(AR)에 있어서 ROS에 대한 연구를 수행한 결과 superoxide anion(SA)은 사람 정자의 capacitation과 AR을 촉진시키고 hydrogen peroxide(HP)는 이를 억제하는 역할을 할 것으로 추정하였다. 저자들은 이를 정자-난자 상호작용에서 확인하고자 본 연구를 계획하였다.

가임 능력이 있는 15명의 정상 정자 공여자로 부터 3일간의 금욕 기간을 거친 후 수음법에 의하여 정자를 제공받아 실험하였다. 공여자 한 명분의 정자로는 모든 군의 SPA를 수행할 수 없어 3명의 공여자 정자를 혼합하여 실시하였다.

(*): P value < 0.05 (paired T-test)

Parameter	control	X-XO	X-XO-CAT	X-XO-SOD	X-XO-CAT-SOD
motility(%)	66.6 ± 7.3	9.5 ± 6.3 (*)	69.2 ± 18.4	19.0 ± 12.7 (*)	57.1 ± 14.4
HA(%)	7.5 ± 4.2	0 ± 0.0 (*)	14.6 ± 3.2 (*)	1.9 ± 1.8 (*)	9.0 ± 2.2
PR(%)	4.6 ± 2.6	5.5 ± 1.7 (*)	34.8 ± 19.0	3.6 ± 3.1	4.0 ± 1.6
PI	1.0 ± 0.7	0.1 ± 0.1 (*)	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.7	0.7 ± 0.4

X: xanthine, XO: xanthine oxidase,
 CAT: catalase, PR: penetration rate,
 PI: penetration index

본 연구 결과와 저자들이 수행한 capacitation과 AR에 있어서 ROS에 대한 연구 결과를 비교할 때 X+XO+CAT군과 X+XO+SOD군에서 서로 일치하지 않았다. 가능한 결론은 SA에 의해 정자의 HA과 AR을 보인 정자수도 증가하나 SPA가 진행되는 동안에 SA에 의한 막지질 과산화 등의 부정적 영향이 HA에 의해 긍정적으로 기대되는 SPA 결과를 상쇄 내지 증가하는 것으로 사료된다. 또한 HP에 의해 정자의 HA과 AR 반응 정자수는 감소