

(33.3%)의 임신이 확인되었고, 공여 정자를 이용한 9 주기의 배아이식에서 4 주기(44.4%)에서 임신이 확인되었다.

2. 정상적인 형태와 운동성을 나타내는 고환 정자를 주입하였을 때 수정률은 74.8%(1131/1512), 임신율은 39.0%(55/141)였으며, 비정상적인 형태와 운동성이 거의 없는 고환 정자를 주입하였을 때 수정률은 71.2%(333/468), 임신율은 31.3%(10/32)였다. 성숙 정자를 회수하지 못하여 미성숙 정자 세포를 주입하였을 때 수정률은 18.5%(38/205)였으나 임신된 주기는 없었다.

3. 고환 정자를 주입한 경우에서 임신율은 여자 환자의 연령이 30세 이하일 때 51.0%(26/51)로 31세에서 35세까지의 32.6%(29/89)와 36세 이상의 30.3%(10/33)에 비해 유의하게($p < 0.05$) 높았으며, 체취 난자의 수가 8개 이상 15 이하인 경우에 48.6%(35/72)로 7개 이하의 27.7%(10/36)와 16개 이상의 30.7%(20/65)에 비해 유의하게($p < 0.05$) 높은 임신율을 나타내었다.

4. 고환 정자를 이용하여 획득한 여분의 수정란을 동결보존하였다가 15 주기에서 용해 후 이식하여 5 주기(33.3%)에서 임신이 확인되었다.

이상의 결과에서, 폐쇄성 무정자증인 경우에는 TESE-ICSI의 효용성이 매우 크지만, 비폐쇄성 무정자증인 경우에는 성숙 정자 획득에 실패할 경우에 대한 대비책이 필요할 것으로 생각된다. 미성숙 정자 세포에 비해 성숙 정자를 이용한 경우에 그 수정률과 임신율이 현저히 높게 나타나므로 여러 부위의 조직을 채취해서라도 성숙 정자를 획득하는 것이 좋은 결과를 얻을 수 있는 가능성이 높을 것으로 생각되고, 이러한 고환 정자를 이용하여 얻어진 여분의 수정란을 동결보존 후 이식한다면 환자에게 보다 많은 임신의 기회를 제공할 수 있다. 또한, 환자의 나이가 임신율에 중요하게 작용하며, 높은 임신율을 얻기 위해서는 적정 수의 난자를 획득할 수 있는 적절한 배란유도 방법을 이용해야 할 것으로 사료된다.

P-27

인간 태아난소의 조직 배양시 recombinant human FSH (rhFSH)가 에스트로젠 합성에 미치는 영향

차병원 여성의학연구소

도병록, 조화정, 윤세진, 이경아, 고정재, 윤태기, 차광열

본 연구는 인간 태아 난소를 체외에서 조직배양 시 첨가한 rhFSH가 스테로이드 합성에 미치는 영향을 관찰하고자 실시하였다. 실험에 공여된 난소는 임신 18주와 19주령이었다. 공여된 난소는 600 μ m크기로 잘라서 배양하였다. 조직의 3차 구조를 유지시키기 위해 조직의 위,아래를 agar로 감싸는 Sandwich agar bed system을 Millicell insert 위에 만들어 배양에 사용하였다. 배양액으로는 TCM-199에 ITS와 0.6% BSA를 첨가하였고 rhFSH의 농도는 0, 0.01, 0.1, 1 μ g/ml로 달리하여 5% CO₂, 37°C의 배양기에서 21-23일간 배양하였다. 배양액은 3-4일마다 교체하였고, 교체된 배양액은 스테로이드 합성량을 측정하기 위하여 -70°C에서 보관하였다. 배양시간이 경과함에 따라 에스트라다이올 (E2)의 합성이 점차적으로 증가하였다. 대조군의 최대합성량은 조직당 30-100 pg/ml로 나타났으며, 첨가된 rhFSH는 E2의 합성을 월등히 증가시켰으며 최대합성량은 조직당 500-4000 pg/ml이었다. 본 연구는 인간의 태아난소를 체외에서 장기간 배양하여, 같은 기간동안 에스트로겐의 합성에 대한 첫 보고이다. 결론적으로 인간태아 난소는 에스트로젠을 생성할 수 있는 능력을 갖고 있으며, 18-19주의 경우 모두 rhFSH의 첨가가 E2합성을 크게 증가시킴으로서 이 시기의 난소에 FSH receptor가 존재할 것임을 추론할 수 있다.

P-28

난자 회수 후 2일째 된 IVF 환자의 자궁내막에의 Integrin $\alpha v \beta 3$ (vitronectin receptor)의 발현

차병원 여성의학연구소

조화정, 이경아, 고정재, 한세열, 최동희, 박인평, 윤태기, 차광열

Integrin $\alpha v \beta 3$ (vitronectin receptor, VTN)은 정상적인 생리주기를 갖는 여성에 있어서 implantation window (day20-24)에 발현되는 중요한 integrin으로 알려져 있다. 본 실험은 IVF 환자에 있어서의 implantation window의 변화를 VTN을 이용하여 관찰하고자 하였다. 실험에 공여된 자궁내막조직은 난자 회수 2일 후, 즉 배아 이식(embryo transfer) 당일, 수정 실패로 인해 배아 이식이 불가능한 환자 11명을 대상으로 조직 생검하여 획득하였다. 11명중 7명은 FSH/hMG/hCG 로 과배란을 유기한 IVF 환자였고, GnRHa/FSH/hMG/hCG를 사용한 IVF 환자가 4명이었다. 획득한 조직은 생리식염수로 세척한 후, 10% 포르말린 용액에서 고정하였고 파라핀 절편으로 제작되었다. 황체기 결정은 보고된 standard criteria에 따라 자궁내막 조직을 dating 하였으며, VTN의 면역조직화학적 분석은 파라핀 절편으로 제작된 조직에 상용되는 항체를 사용하였다. Vitronectin receptor의 positive control로는 생리주기 23-24일인 여성의 자궁내막 조직을 이용하였고, negative control로는 1차 항체 대신 1% BSA를 사용하여 실험하였다. 자궁내막의 이차원 구조는 헤마톡실린과 에오진 염색방법으로, vitronectin receptor의 발현은 면역조직 화학적 방법으로 확인하였다. 그 결과, 11명의 IVF 환자에서 획득한 자궁내막조직 모두에서 VTN의 발현이 확인되었으며, 선상피나 자궁내막 상피조직에 비해 기질 (stroma)에서 좀 더 많이 발현됨을 관찰하였다. 또한 H-E염색을 통한 dating에서는 IVF 환자의 자궁내막 조직이 정상조직의 발달정도에 비해 큰 차이는 없었으나 edema의 분포와 분비선 (gland)의 형태가 불안정함을 알 수 있었다. 결론적으로, IVF 환자에서의 VTN의 발현이 배아 이식 당일에 이미 발현되어 있음을 알 수 있었으며, 따라서 IVF 환자에서 implantation window 시기의 변화가 있는 것으로 사료된다.

P-29

Effect of Ethanol Stimulation Before *In Vitro* Fertilization on Polyspermy and Subsequent Early Development in Porcine Oocytes

Infertility Medical Center, CHA General
Hospital, Seoul, Korea

**Joon-Gyo Lim, Ri-Cheng Chain,
Hyung-Min Chung,
Jung-Jae Ko, Tae-Ki Yoon and
Kwang-Yul Cha**

Following gamete fusion or artificial activation, cortical granule (CG) fuse with the overlying oolemma and extrude their contents into the perivitelline space (PVS) in an exocytotic event termed the cortical reaction. CG contents released into the PVS are thought to be responsible for establishing a block to polyspermy at the ZP and may function in an oolemma and/or PVS block. The problems for porcine oocytes are polyspermy following *in vitro* maturation (IVM) and *in vitro* fertilization (IVF). It has been reported that a reason of polyspermy is due to the exocytosis of CG occurred slowly and incompletely during IVF. In the present study, we examined the effects of ethanol (EtOH) stimulation before IVF on polyspermy and subsequent early development. Porcine oocyte-cumulus cell complexes from ovaries were cultured in NCSU23 medium supplemented with 0.6 mM cysteine, 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FSH, and 10% porcine follicular fluid for 42 h of maturation. After maturation in culture, oocytes were co-cultured with spermatozoa in Tris-buffered medium supplemented with 5 mM caffeine and 0.4 % BSA. Oocytes were divided into three groups. 1) Oocytes were inseminated following EtOH (10%) stimulation for 3 min. 2) Oocytes were inseminated commonly. 3) Oocytes were stimulated with EtOH (10%) only. At 12 h after insemination, some oocytes were fixed for examining sperm penetration and formation of pronuclei. Another oocytes was further cultured in NCSU23 medium supplemented with 0.4 % BSA for 7days. The results indicated that although EtOH stimulation before IVF did not significantly decrease the percentage of polyspermy, there was a tendency to decrease the