

the outgrowth of trophoblasts using mouse embryos. The HSF was collected from eight patients with hydrosalpinx undergoing salpingoneostomy. The fluid was centrifuged and supernatant was stored at -20 °C before use. The mouse blastocysts were obtained from in-vitro cultured 2-cell embryos of superovulated ICR mouse. All blastocysts were treated with 0.5% pronase E to remove zona pellucida, which was for elimination of its affect on implantation process. The five different kinds of culture media were used: Ham's F-10 only (group I), Ham's F-10 media with 0.5% fetal bovine serum (FBS) (group II), 50% HSF with 0.5% FBS-Ham's F-10 (group III), 100% HSF with 0.5% FBS (group IV), and 100% HSF (group V). The blastocysts were randomly allocated to these five media and cultured for 48 hours. The outgrowth of trophoblasts was identified when primary giant trophoblasts were visible around the attachment site following observation under phase-contrast microscope and the surface area of outgrowth was calculated by image analysing system. The outgrowth rates of blastocysts in group I, II, III, IV and V were 0%, 98.9%, 77.5%, 40.4% and 10.0%, respectively. The outgrowth areas of trophoblasts in the media containing HSF (group III, IV, V) were significantly smaller than group II ($p < 0.01$). According to the results of this study, the HSF has an inhibitory effect on the outgrowth of trophoblasts. Therefore, we suggest that the HSF may affect the implantation process and the correction of hydrosalpinx before IVF-ET program may be needed to increase the pregnancy rate.

P-28 정자 형성 이상을 보이는 남성 불임 환자에서 정상과 달리 발현되는 새로운 유전자 검색

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실¹, 비뇨기과², 산부인과 불임클리닉³

송건지¹ · 박용석¹ · 이형송¹ · 김정욱¹ · 이유식² · 서주태² · 김종현² · 강인수³

서 론: 최근 난자내 정자 직접 주입법 (ISCI)와 고환 정자 추출법 (TESE)의 개발 및 이용으로 남성 불임 환자도 아기를 갖을 수 있게 되었으나 아직까지 불임의 원인 규명에 대한 연구는 미비한 실정이다.

정자형성과정은 여러 호르몬의 영향을 받으며 많은 유전자들에 의해 조절된다고 알려져 있다. 그러므로 정자형성에 이상이 있는 환자는 정상과 다른 유전자 발현 양상을 보일 것으로 예상된다. 본 연구는 differential display RT-PCR 방법을 이용하여 비정상적인 정자 형성 과정에서 다르게 발현되는 새로운 유전자들을 검색하고자 한다.

대상 및 방법: Sertoli cell only syndrom (SCO), maturation arrest와 normal spermatogenesis로 진단 받은 무정자증환자군 각 2 명에서 고환 조직을 얻었다. 조직내 total RNA를 추출하여 정량하였다. Diffrenetial display RT-PCR 방법을 이용하여 각 군에서 다르게 발현되는 유전자 band를 분리해 내어 염기서열 분석을 실시하였다.

결 과: 각 환자군에서 다르게 발현되는 유전자 17개를 확인하였으므로 이중 8개는 SCO환자군에서만 특이적으로 관찰되는 유전자 (Sco 1 - Sco 8)였으며, 9개는 Normal spermatogenesis군에서만 관찰되는 유전자 (Nor 1 - Nor 9)였다. 17개의 유전자 절편중 현재까지 7개의 유전자 절편이 성공적으로 cloning되어 염기서열 분석을 실시하였다. Sco 1, Sco 2 그리고 Nor 8 유전자 조각은 지금까지 보고된 바 없는 새로운 염기서열임을 알수 있었다. Nor 1은

X-linked apoptosis inhibitory protein과 70% 상동성이 있는 유전자며, Nor 3는 translation initiation factor 2-a와 같은 유전자이다 (98% 상동성).

결 론: 본 연구는 differential display RT-PCR을 이용하여 정자형성에 관여하는 새로운 유전자들을 얻을 수 있었으며 남성 불임의 원인을 유전자수준에서 밝힐 수 있다는 가능성을 제시하여 주었다. 앞으로 본 연구에서 찾아낸 유전자들의 정확한 기능을 밝히는 실험들이 수행되어야 할 것이다.

P-29 세정관 동결-융해 후 회수된 고환 정자의 효용성

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및
불임연구실¹, 비뇨기과², 산부인과 불임클리닉³

박용석¹ · 이형송¹ · 전진현¹ · 김정욱¹ · 김종현² · 이유식²
서주태² · 전종영² · 강인수³

목 적: 본 연구는 남성불임 환자에서 고환조직 정자채취술 (TESE) 시행 후 여분의 고환 조직을 동결보존하여, 임신에 실패하였을 경우 반복적인 고환조직 정자채취술을 시행하지 않고 고환조직을 융해 후 ICSI를 이용하여 성공적인 수정과 임신에 이를 수 있는지를 알아보기 위하여 시행하였다.

대상 및 방법: 1997년 7월부터 1999년 9월까지 삼성제일병원 비뇨기과에 내원한 총 82명의 무정자증 환자에서 TESE 실시 후 90례에서 고환조직 동결-융해를 실시하였다. 총 90례 중 폐쇄성 무정자증 환자가 73례였으며, 비 폐쇄성 무정자증 환자가 17례였다. 고환조직 정자채취술은 국소 마취하에 세정관을 회수하였다. 회수된 세정관을 해부현미경하에서 조심스럽게 미세검자로 짜내어 추출물을 얻은 후 현미경하에서 정자의 존재 여부를 확인하였다. 정자가 확인된 경우 다음 주기에 사용하기 위하여 세정관을 몇 부분으로 나누어 동결 보존하였다. 임신에 실패하였을 경우 다음 배란 주기에 세정관을 융해하여 다시 정자 추출과정을 시행하고, 융해 후 회수된 정자는 ICSI를 위해 처리를 하였다.

결 과: 총 90례에서 고환조직 동결-융해 후 정자를 회수하여 ICSI를 시행하였다. 회수된 1164개의 난자 중 917개의 난자에 ICSI를 시행하여 (78.8%) 2-PN이 확인된 난자는 584개 (63.7%)였다. 수정률은 폐쇄성 무정자증과 비폐쇄성 무정자증에서 각각 63.9%와 62.5%였으며, 총 29례에서 임상적 임신이 확인되어 (32.2%), 폐쇄성 무정자증 24례 (32.9%)와 비폐쇄성 무정자증 5례 (29.4%)로 두 군간에 수정률과 임신율의 차이는 없었다. 폐쇄성 무정자증 환자에서 활력 정자를 이용하여 ICSI를 시행한 결과 수정률과 임신율은 각각 68.4%와 45%였으나, 비활력 정자를 이용하여 ICSI를 시행한 결과 수정률과 임신율은 각각 42.9%와 15.4%로 두 군간에 유의한 차이를 나타냈으며, 비폐쇄성 무정자증 환자에서의 활력 정자를 이용한 수정률과 임신율은 각각 70.2%와 33.3%였으나, 비활력 정자를 이용하여 ICSI를 시행한 결과 수정률과 임신율은 각각 39.5%와 20%로 두 군간에 유의한 차이를 나타냈다.

결 론: 이상의 결과에서 고환 정자의 동결-융해는 TESE-ICSI를 시행 후 세정관을 몇 부분으로 나누어 동결하면 임신에 실패하였을 경우 다음 주기에 다시 TESE를 시행하지 않고 융해 후 ICSI를 이용, 수정과 임신에 도달할 수 있으므로 효율적인 방법이라 하겠다.