

Table 1. Effect of 50 nM FPP treatment on the intact acrosome of cryopreserved human sperm (r=5)

	Control	FPP treatment*					
		A		B			
		(-)	(+)	(-)/(-)	(-)/(+)	(+)(-)	(+)/(+)
Coomassiblue staining (%)	89	74	86	42	48	59	68
FITC-PSA staining (%)	88	71	87	50	61	64	72

* A: Non-freezing, Incubation with/without 50 nM/ml FPP for 3 h, B: Freezing, Absence (-) and/or presence (+) of 50 nM/ml FPP at freezing and after thawing (incubation for 3 h), respectively.

P-14 착상전 생쥐 배 발생에 미치는 Nicotine의 영향

성신여자대학교

오 지 현 · 배 인 하

목적: 담배 연기 속에는 약 4000여 개 이상의 화학 물질이 복잡하게 섞여 있으나, 그 성분들이 생체에 미치는 영향은 분석되지 않고 있는 상태이다. 그 중 담배의 주요 성분인 nicotine은 혈액에 녹아 각 조직에 전달되어 특히 세포에 해로운 영향을 미칠 수 있다고 추정할 수 있다. 또한 지금까지는 흡연에 대한 체내 (in vivo) 실험이 주로 이루어져 왔기 때문에 모든 조건이 통제되는 체외 (in vitro) 실험이 필요하리라 사료된다.

본 연구에서는 이러한 nicotine이 체외에서 착상 전 (preimplantation) 생쥐 배 발생에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사 시기를 8세포기 밀집화 현상 (8-cell compaction), 포배 (blastocyst)의 형성 그리고 부화 (hatching)로 나누어 실험하였다.

대상 및 방법: Swiss albino인 ICR 계통의 5~8주된 암컷과 12주 이상 되어 생식력이 있는 수컷을 사용하였다. hCG 주사 후 48시간째에 후기 2세포기 배와 62~63시간째에 4~8세포기 배를 얻어 0~1 mM의 nicotine이 포함된 배양액에서 체외배양 하였고, 이로부터 발생한 상실배와 포배는 Hoechst 33342 로 형광 염색하여 세포 수를 측정하였다.

결 과: 실험 결과 상실배 (morula) 형성율은 0.05, 0.1, 0.5, 1 mM 농도의 nicotine을 처리한 실험군에서 0.5 mM은 유의한 차이가 없었으나, 다른 실험군의 경우, 25.0, 18.9, 17.5%로 대조군 보다 유의하게 낮았다 ($p < 0.01$). 또한, 포배의 형성에서도 지연되는 현상이 나타났는데, 우선 실험군의 포배 형성 정도는 0.05 mM의 농도로 처리한 실험군을 제외하고 nicotine을 처리한 다른 실험군의 경우는 대조군 58.3%에 비해 54.3, 53.9, 51.5%로 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$). 한편, 포배강 (cavitation) 형성 정도를 알아보기 위해 포배 중에서 포배강이 expand 되어 있고 내세포괴가 뚜렷이 발달되어 있는 후기 포배 (late blastocyst)를 조사한 결과, 후기 2세포기 배를 48시간 배양한 경우와 72시간 배양한 경우 모두 nicotine의 농도가 높아질수록 각각 실험군의 포배 중에서 후기 포배의 비율이 현저하게 감소되는 것을 알 수 있었다. 또한, nicotine 농도가 높아짐에 따라 부화 중 (hatching blastocyst)이거나 부화된 (hatched blastocyst) 포배는 38.5, 37.5, 30.1, 6.4%로 대조군의 70.0%에 비해 유의하게 낮아졌다 ($p < 0.001$). 또한 1 mM의 nicotine을 처리한 경우 퇴화율이 35.5%로 높아 nicotine이 매우 toxic한 효과를 나타내는 것을 알 수

있었다.

각각 배아의 할구 수를 Hoechst 33342로 염색하여 측정해 본 결과 초기 상실배의 경우 대조군과 실험군 간의 유의한 차이가 없었으나, 포배기의 세포 수를 측정한 경우에는 nicotine의 농도가 0.05, 0.1, 0.5, 1 mM로 높아질수록 세포의 수는 86.2, 75.9, 62.5, 56.8%로 유의하게 낮아졌다 ($p < 0.01$).

결론: 본 실험에서는 모든 조건을 통제한 체외 실험을 통해 nicotine이 8세포기 밀집화 현상, 포배 형성, 부화 과정 및 할구 형성 등 착상 전 배 발달에 있어 치명적인 저해 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 이 저해 작용은 배 발달 과정이 초기에서 후기로 넘어감에 따라 nicotine에 의해 더욱 더 커지는 것을 알 수 있었다.

P-15 미세수정시 낮은 수정률을 나타내었던 정상소견 정자의 미세수정 및 난자활성화에 따른 수정률 향상 및 임신성공 사례보고

한나여성의원

지희준 · 주진영 · 박수진 · 김지연 · 구정진 · 장상식

목적: 기형정자 중 Roun-headed spermatozoa (Globozoospermia)인 경우는 미세수정을 하여도 극히 낮은 수정률을 나타내며 이는 이들 정자의 난자활성화능력의 결함에 기인한 것으로 보고되고 있다. 이러한 Globozoospermia 환자의 경우 Ca^{++} ionophore을 이용하여 인위적인 난자활성화를 유도함으로써 수정률을 향상시킨 연구 결과들이 여러 차례 보고된 바 있다. 본 연구는 정액검사상 수, 운동성 그리고 형태에 있어서도 정상의 소견을 나타내는 정자임에도 불구하고 Conventional IVF 방법으로는 전혀 수정이 이루어지지 않았고 미세수정시에도 극히 저조한 수정률을 나타내었던 환자에게 미세수정과 Ca^{++} ionophore의 처리에 의한 인위적인 난자활성화 방법을 사용함으로써 유의한 수정률의 향상과 임신에 성공한 사례가 있어 보고한다.

대상 및 방법: 본 연구에 참가한 불임부부는 부인나이 30세 남편나이 33세로서 결혼 4년차 부부였으며 불임검사를 통해 불임의 원인은 부인은 경증의 Endometriosis가 확인되었으나 남편은 정액검사상 정상이었다. 그러나 문진을 통해 타병원에서 1차 시험관아기시술시 Conventional IVF 방법으로 하였으나 전혀 수정이 이루어지지 않았고 2차 시술시 미세수정을 실시 하였음에도 15% 정도의 극히 저조한 수정률을 나타내는 수정장애요인이 있다는 것을 인지하였다. 이후 본원에서 시험관아기시술을 2차례 시술하였으며 1차 시술은 강한 세포질흡입 방법의 미세수정만을 이용하였으나 2차 시술에는 이러한 미세수정과 ionophore를 이용한 난자활성화 방법을 함께 사용하였다. 난자의 활성화는 미세수정 후 30분경 준비된 $8 \mu M$ Ca^{++} ionophore 333422에 정자가 주입된 난자를 약 8분간 노출시켰다.

결과: 1차 시술에서는 미세수정시킨 15개의 난자 중 4개만이 수정되는 저조한 수정률 (26.7%)을 나타내었으나 난자활성화를 이용한 2차 시술에는 미세수정시킨 14개 난자 중 10개가 수정되는 유의한 수정률 (71.4%)의 향상을 나타내었다. 수정된 10개의 수정란 중 9개가 정상적으로 난할이 이루어져 4개의 수정란을 이식하고 나머지 5개의 잉여 수정란은 냉동보존시켰다. 이식 후 13일째에 β -hCG 검사를 통해 임신이 확인되었으며 이후 초음파상으로 쌍태아 임신이 확인되었다.

결론: 이상의 결과를 통하여 비록 정상형태의 정자이라도 미세수정시 낮은 수정률을 나타내는 경