

6.0; IGF-II: 6.5; IGF-I & II: 6.1%)에서 체내수정군 (5.9%)과 유사한 결과를 나타냈다.

Conclusions: 본 연구는 IGFs가 수정율과 포배기배아의 발생율을 증가시키며, apoptosis를 억제시킴을 제시하고 있으며, 이러한 영향은 체내수정군에서 나타난 것과 유사하였다. 따라서 수정환경으로 기인된 apoptosis발현의 차이를, 체외에서 수정과 배양할 때 IGFs를 첨가함으로써 극복할 수 있다고 사료된다.

P-20 유리화 동결/융해 시 기본 완충용액과 냉각속도가 생쥐 포배기 배아의 생존에 미치는 영향

김태형 · 이동률 · 나경아 · 정형민 · 차광열 · 윤태기

포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

Background & Objectives: 유리화 동결법은 난자와 수정란의 동결보존에 성공적으로 사용되어지고 있으며, 그 성공률을 증진시키기 위하여 각종 동결용기와 여러 종류의 동결보호제 및 그 농도를 조절하는 연구들이 진행되고 있다. 최근 완만동결과정에서 기존의 탈수 및 재수화 과정에서 사용되어지는 기본완충용액 (basic buffer solution)의 주요 성분인 sodium salt는 동결/해동 시 solution effect를 유발하여 해동 후 난자와 배아의 생존을 저해한다고 보고된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 포배기 배아의 유리화 동결의 성공률을 증진하기 위하여 탈수 및 재수화 과정에서 사용되는 기본완충용액을 변형하여 생존과 발달에 미치는 효과를 분석하고자 하였다. 또한 최근에 난자의 유리화 동결법에 도입되어 융해 후 난자의 생존과 이후 발달과정을 향상시키는 slush nitrogen (SN2)을 도입하여 포배기 배아의 생존에 미치는 영향을 조사해 보고자 하였다.

Method: 본 연구는 과배란을 유도한 생쥐에서 수획된 2-세포기 배아에서 체외배양을 통해 획득한 포배기 배아를 대상으로 실험하였다. 실험 1은 NaCl-based DPBS (group 1), ChCl-based DPBS (group 2), 그리고 Mops-buffered solution (group 3)을 기본완충용액으로 사용하여 탈수하였고, electron microscopy (EM)-grids을 이용하여 유리화 동결방법을 시행하였다. 실험 2는 EM-grid위에 고정시킨 포배기 배아를 두 군으로 나누어 slush nitrogen (SN2) (group 4) 또는 liquid nitrogen (LN2) (group 5)을 사용하여 유리화 동결시켰다. 배아의 유리화 동결과정은 1.5 M ethylene glycol (EG)에서 2분 30초 동안 전 처리과정 (pre-equilibrate)을 거친 뒤에 5.5 M EG와 1.0 M sucrose 용액에서 20초 처리하여 LN2 또는 SN2에 침지하였고, 융해 후 포배기 배아는 10% serum substitute supplement (SSS)가 첨가된 preimplantion-1 (P-1)을 사용하여 배양하였다. 생존 및 회복여부와 apoptosis를 현미경적 관찰과 TUNEL 분석방법을 사용하여 관찰하였고, 통계처리는 Chi-square와 Student's t-test로 수행하였다.

Results: 실험 1에서 유리화 동결융해 후의 생쥐 포배기 배아 생존률은 group 1 (61.4% (54/88)), group 3 (63.8% (60/94))에 비하여 group 2 (78.5% (73/93))가 유의차를 보이며 높게 나타났으며 ($p < 0.05$), apoptosis 발생빈도 또한 다른 군과 비교하여 수치가 적게 나타났다. 실험 2에서는 생존률과 apoptosis 발생빈도에서 SN2를 사용한 군 (group 4)과 기존의 LN2를 사용한 군 (group 5)간에 차이가 나타나지 않았다.

Conclusions: 고농도의 sodium의 사용은 생쥐 포배기 배아의 생존여부에 저해요소로 작용하므로, 기본 완충용액에서 sodium 농도의 감소 및 제거는 생쥐 포배기 배아의 유리화 동결/융해 후 생존과

발생을 증진에 좀더 효과적인 것으로 사료된다.

본 연구는 교육인적자원부의 특성화 대학 지원사업에 의해 지원 받았음.

P-21 폐쇄성 및 비폐쇄성 무정자증 환자에서 신선 고환조직 정자와 동결-융해 고환조직 정자가 배발달에 미치는 영향

박용석¹ · 이선희¹ · 한상철¹ · 최수진¹ · 전진현¹ · 이중식² · 서주태² · 궁미경³

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 ¹생식생물학 및 불임연구실, ²비뇨기과, ³산부인과

Background & Objectives: 고환조직의 정자를 이용한 ICSI로 무정자증 환자에서도 수정과 임신이 가능하게 되었다. 이에 본 연구에서는 신선 고환조직 정자와 동결-융해된 고환조직 정자를 이용하여 수정된 배아의 체외 배발달율 및 임신율에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

Method: 총 553례의 폐쇄성 및 비폐쇄성 무정자증 환자에서 신선 고환조직 정자와 동결-융해 고환조직 정자를 이용하여 ICSI를 시행하였다. 폐쇄성 무정자증 환자는 413례 (74.7%)를 시행하였고, 비폐쇄성 무정자증 환자는 140례 (25.3%)를 시행하였다. 세정관은 programmed cell freezer (Cryomagic I, MiraeBiotech, Seoul, Korea)로 동결 보관하였고, 융해는 동결된 표본을 실온과 37°C 각각 10분간 정치시킨 후에 두고, 정자를 추출하였다. 배아는 6등급으로 구분하였고, 그 중 I부터 II까지를 우수 배아로 분류하였다. 수정은 ICSI 후 18~20시간 후에 확인하였고, 배아는 2일이나 3일 후에 형태학적 정도를 평가하였다.

Results: 총 수정률은 78.6%였고, 우수 배아율은 60.3%, 임신율은 34.9% (193/553)였다. 그 중 폐쇄성 무정자증 환자의 임신율은 81.4%, 우수 배아율은 60.2%, 임신율은 36.3% (150/413)였다. 우수 배아와 임신율은 신선정자군과 융해정자군에서 각각 60.4%와 40.5% (51/126), 60.1%와 34.5% (99/287)로 관찰되었다. 비폐쇄성 무정자증 환자의 수정률은 71.8%, 우수 배아율은 60.6%, 임신율은 30.7% (43/140)로 관찰되었다. 폐쇄성 무정자증 환자와 비폐쇄성 무정자증 환자에 있어서 우수 배아율은 통계학적인 유의차가 관찰되지 않았다 ($p < 0.05$). Hypospermatogenesis ($n=85$)군에서 우수 배아율은 58.6%, 임신율은 35.3% (30/85)였다. 신선정자군과 융해정자군의 임신율은 각각 30.4% (17/56)와 44.8% (13/29)였다. Maturation arrest ($n=17$)군에서는 우수 배아율이 67.4%, 임신율은 17.7% (3/17)였다. 임신율은 신선정자군과 융해정자군에서 각각 13.3% (2/15)와 50% (1/2)로 나타났다. Sertoli cell only syndrome ($n=27$)군에서 우수 배아율은 59.7%, 임신율은 18.5% (5/27)였다. Klinefelter's syndrome ($n=11$)군에서는 우수 배아로 69.4%가 발달했고, 임신율은 27.3% (3/11)를 보였다.

Conclusions: 본 연구에서는 폐쇄성 및 비폐쇄성 무정자증 환자의 신선 고환조직 정자와 동결-융해 고환조직 정자를 이용하였을 시 수정률, 배발달율에는 차이가 없었다. 따라서 폐쇄성 및 비폐쇄성 무정자증 환자에 있어서 ICSI를 이용한 신선 및 동결-융해 고환조직 정자는 정상적인 수정률, 배발달율 및 임신율을 얻는데 차이가 없음을 확인할 수 있었다.