

## 정자 세정후 Swim-up 처치가 정자의 운동성에 미치는 영향

전남대학교 의과대학 산부인과학교실

이 여 일

### Percentage Motility before and after Processing by a Sperm Washing and Swim-up Method : Relationship to Outcome of Intrauterine Insemination

Yu-Il Lee, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Chonnam University Medical School, Kwang-ju, Korea

#### = Abstract =

Thirty five couples were treated by intrauterine insemination with sperm prepared by a washing and swim-up method. Fifteen women conceived(42.9%).

Sperm washing and swim-up was found to significantly improve sperm motility for men of infertile couples and the increment of percent sperm motility after sperm preparation allowed significant differentiation of pregnant and nonpregnant patients in asthenozoospermia(submotile) group ( $p < 0.01$ ).

The author suggest that the increment of percent sperm motility after sperm washing and swim-up could be a useful screening tool for in vitro procedure proposed to improve fertility in the intrauterine insemination of asthenozoospermia.

#### 서 론

정자세정후 자궁강내 인공수정술은 현재 새로운 불임치료의 한가지 방법으로 시도되고 있을 뿐만 아니라 정자세정후 swim-up 처치방법은 체외수정 및 자궁내 배아이식술에서의 정자준비를 위해서도 널리 이용되어지고 있으나, 희소정자증(Oligozoospermia), 정자무력증(asthenozoospermia), 형태이상정자증(teratozoospermia) 등의 전반적인 남성 불임에 대한 치료효과에 있어서는 그다지 좋은 성적을 기대하고 있지 못하고 있는 실정이다(Thomas et al, 1986; Hull et al, 1986; Ho et al, 1989), 그러나 정자의 운동성이 수정장소에 정자를 성공적으로 이동시키는데 가장 중요한 영향을 주며(Mortimer et al, 1982; Mortimer et al, 1982), 정자세정과 swim up 처치후 주로 운동성의 향상이 기대되므로 정자세정후 swim-up 처치방법이 정자의 운동성이 저하된 정자무력증 뿐만 아니라, 운동성

이 정상인 경우들에서도 유용한가의 여부를 규명하고자, 저자는 본 대학 병원에서 정자세정후 swim up 처치에 의한 자궁강내 인공수정술을 시술받은 불임환자를 대상으로 정자 처치(sperm preparation) 전후의 정자 운동성 변화와 임신 성공 여부에 따른 정자운동성의 변화도 등을 조사하여 그 결과를 분석 고찰하였다.

#### 연구대상 및 방법

##### 1. 연구대상

1988년 9월부터 1990년 3월까지 만 1년 6개월 동안 전남대학교병원 불임진찰실에 내원하여 제반 불임기본검사로 원인적인자를 추적받고 무정자증을 제외한 남성인자 또는 자궁경부인자 부전 및 원인불명성 불임으로 분류된 후 최소한 3회 이상의 월경주기에서 정자세정과 swim up 처치후 자궁강내 인공수정을 시술받았던 총 35쌍의 불임 부부를 대상으로 하였고, 두번 이상의 정액검사에 의한 판정후, 정상운동성군(mo-

tile group)과 정자무력증으로 진단된 운동성 저하군(sumotile group)으로 대별하였다.

대상환자는 자궁난관 조영술이나 진단적 복강경 검사 소견상 적어도 한쪽 난관은 소통되어 있는 경우와 최소한의 운동성 정자 및 자연적 또는 배란약제 유도에 의한 배란이 확인된 경우로 한정하였다. 남성인자 부전증 최소 정자증은 단위용적당 평균 정자수가 2천만/ml미만, 정자무력증은 평균 운동성정자 점유율이 50%미만, 그리고 세균정자증은 평균 백혈구수가 5개 이상인 경우로 하였고, 자궁경부인자 부전은 배란직전으로 예상되는 시기에 성교후 6-8시간후 조사한 성교후 검사상 고배율 현미경 시야하에서 5개미만의 직진운동성 정자가 존재하였던 예로 하였다.

## 2. 정자세척액 및 배양액의 제조

배양액은 초순수 정제수(Burdick and Jackson) 1000ml에 Ham's F-10 분말(Gibco) 9.8g을 용해시키고 Penicillin G 75mg, streptomycin sulfate 75mg Sodium bicarbonate 2100mg(all from Sigma Chemical Co.), Calcium lactate(Calbiochem) 245.2mg을 첨가 혼합한 후 수소이온 농도를 7.4-7.6 그리고 삼투압은 280-290 mOsm/Kg으로 조절하여 제조하였으며, 이를 가압여과 소독한 후 4°C냉장고에 보관하고 2주 이내에 사용하였다. 그리고 매번 사용하기 전 인간혈청 알부민(human serum albumin(HSA), Sigma)을 정자세척을 위해서는 0.3%, 또는 배양을 위해서는 1%농도로 첨가하고 탄산가스 배양기에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 20시간동안 평형시켰다.

## 3. 정자세정 및 swim-up 처리방법

수음에 의해 채취된 정액을 실온에서 30-40분간 방치하여 액화시킨후 처치전 정자의 농도와 운동성을 Makler counting chamber(Sefimedical)로 검정하고(Makler, 1978) 0.3% HSA를 첨가한 정액 2-3배의 Ham's F-10 세척배양액으로 희석 혼합시킨 다음, 8-10분동안 300×g로 원심분리시키고 상층액을 제거한 후 남아있는 원침(pellet)에 다시 세척배양액 2ml를 넣고 동일한 방법으로 원심분리를 반복하여 얻은 원침에 또다시 세척배양액 2ml를 혼합 용해하고 200×g로 원심분리하여 세척하였다.

3회에 걸친 원심분리에 의한 정자세척 후 마지막으로 취득한 원침이 함유된 시험관에 1%

HSA를 첨가한 Ham's F-10 배양액 0.5ml를 흘러 넣고, 탄산가스 배양기에서 30-90분간 배양하여 swim up시킨후 상층액을 취하여, 처치후 정자의 농도와 운동성을 검사하고 정자의 농도가  $10 \times 10^6$  되도록 조정하였다.

## 4. 운동성 정자 백분율(percent motility)과 정자 운동성 변화도의 산정 방법

정자 처치 전후에 측정된 운동성 정자가 비운동성 정자를 포함한 전체 정자수에 대해 차지하는 점유율을 백분율로 취하여 운동성 정자 백분율을 구하였고, 처치 전후의 운동성 정자 백분율의 증가폭을 산출하여 정자 운동성 변화도를 산정하였다.

## 5. 자궁강내 인공수정 방법

월경주기 제 2-3일에 자궁강 소식자술과 자궁경관 확장술을 시행하여 시술전 자궁강의 방향성을 파악하고 수정시의 자궁경관 협부를 통한 자궁강내 이식관 삽입이 용이하도록 준비하였으며, 기초 체온표상 평균 월경주기를 감안하여 추산한 배란 예정일의 3-4일 전부터 1-2일 간격으로 경관점액 검사와 경질초음파 검사를 하면서 기초체온표와 대조하여 배란 직전이라고 예상되는 날짜로부터 배란이 확인된 날까지 매일 자궁강내 인공 수정술을 시행하였으며, 상기 방법으로는 배란예측이 어렵다고 판단된 경우에는 노중 황체화 호르몬 효소면역 측정검사(Ovu-Quick)를 하루에 오전 9시와 오후 6시로 두번 시행하여 강한 양성의 최고치를 보인 다음날 시술하였다.

수정 방법은 환자가 쇠석위로 자세를 취하게 하고 실험실 작업을 거쳐 세정된 정자를 소독된 Tomcat 이식관을 통하여 자궁경관협부를 조심스럽게 천천히 통과하여 0.3cc 자궁강내에 주입한 후 20-30분동안 시술대에 안정시켰다.

## 6. 통계 처리

정상 운동성 정자군과 운동성 저하군 그리고 정자 처치 전후의 운동성 정자 백분율 및 양군에서의 임신 성공예와 비임신예간의 정자운동성 상승폭의 차이는 nonpaired Student t-test를 이용하여 통계적 유의성 여부를 결정하였고, p값이 0.05이하인 경우를 유의하다고 판정하였다.

## 성 적

### 1. 대상 부부의 불임력(표 1)

연구대상 불임여성의 평균연령은 30.7세로서 24세로부터 44세까지 분포하였고, 배우자의 연령은 28세부터 48세까지 분포하여 평균 34.2세이었다. 총 35명의 대상환자중 원발성 불임이 23예, 속발성 불임이 12예 이었고, 불임기간은 최소 1년 2개월부터 최장 17년까지로 평균 5년 2개월이었다.

### 2. 정자 처치 전후의 정자운동성의 변화(표 2)

총 35명의 대상 불임환자 중 정자무력증을 보인 운동성 저하군은 10명이었고 정자무력증이 아닌 다른 원인적 인자에 기인하여 자궁강내 인공수정술을 시행했던 정상운동성 정자군은 25명이었다.

정상운동성 정자군의 평균 운동성 정자 백분

율이 정자 처치전에는  $68.1 \pm 12.8\%$ 이었던 것이 처치후  $82.5 \pm 10.1\%$ 로  $14.4 \pm 5.2\%$  전예에서 상승하였고 ( $p < 0.01$ ), 운동성 저하군에서도 처치전  $39.4 \pm 12.5\%$ 에서 처치후  $67.3 \pm 16.5\%$ 로 평균  $27.9 \pm 9.0\%$ 로 모든 예에서 상승하였다 ( $p < 0.01$ ). 또한 정자무력증을 보인 운동성 저하군이 정상 운동성군보다 정자 처치후 훨씬 큰 상승 폭을 나타내었다 ( $p < 0.01$ ).

### 3. 임신 성공률

총 35쌍의 대상 부부중 15쌍이 임신되어 전체적으로 42.9%의 임신율을 나타내었고 정상운동성 정자군은 25쌍중 11쌍이 임신되어 44%의 임신율을, 그리고 운동성 저하군은 10쌍중 4쌍이 임신되어 40%의 임신율을 보였다. 운동성 저하군중 임신된 경우는 4예 전예가 순수하게 정자무력증만을 가진 경우이었지만, 임신에 실패한 6예중 5예는 다른 남성불임 요인인 회소정자증, 형태이상정자증, 또는 세균정자증과 동반하였다.

### 4. 임신 성공 여부에 따른 정자 운동성의 변화도(표 3)

정상 운동성군에서 정자 처치로 인한 운동성 정자 백분율의 평균 상승 폭이 임신된 예가  $13.7 \pm 5.8$ 이었고, 비임신 예에서  $15.0 \pm 4.8$ 로 임신 성공여부에 따라 별다른 차이를 보이지 않은 반면, 운동성 저하군에서는 임신 예에서  $35.8 \pm 5.5$  그리고 임신되지 않은 예에서  $22.7 \pm 6.8$  상승되어 임신 성공예에서 정자 처치후 훨씬 의 있게 높은 증가 폭을 나타내었다 ( $p < 0.01$ ).

**Table 1.** Demographic Characteristics of Patients

Total patients	35
Parity	
Primary infertility	23
Secondary infertility	12
Age of wife(yrs)	
Range	24-44
Mean $\pm$ SD*	$30.7 \pm 3.7$
Median	31
Age of husband(yrs)	
Range	28-48
Mean $\pm$ SD*	$34.3 \pm 3.9$
Median	34
Duration of infertility(yrs)	
Range	1.2-17
Mean $\pm$ SD*	$5.2 \pm 3.5$
Median	4.9

\*Standard deviation

**Table 3.** Increment of sperm percentage motility from conception and nonconception patients

	Increment ( $\Delta$ )		P
	Conception (Mean $\pm$ SE)	Nonconception (Mean $\pm$ SE)	
Motile	$13.7 \pm 5.8$	$15.0 \pm 4.8$	NS
Submotile	$35.8 \pm 5.5$	$22.7 \pm 6.8$	$< 0.01$

**Table 2.** Effect of sperm washing and swim up on percentage motility of sperm from motile or submotile men

	No. of patients	% Motility		Increment ( $\Delta$ )		P
		Before preparation (Mean $\pm$ SE)	After preparation (Mean $\pm$ SE)	Mean	Range	
Motile	25	$68.1 \pm 12.8$	$82.5 \pm 10.1$	$14.4 \pm 5.2$	5.7-22.0	$< 0.01$
Submotile	10	$39.4 \pm 12.5$	$67.3 \pm 16.5$	$27.9 \pm 9.0$	15.0-39.0	$< 0.01$

## 5. 처치전 정자운동성 및 처치후 운동성정자 상승폭에 따른 임신 성공예견

운동성 저하군에서, 처치전 운동성 정자 백분율이 임신된 군에서는 4예 모두가 37.5% 이상이었고 그 이하에서는 한예도 임신되지 못하였지만(예민도 100%) 임신에 실패한 6예중 3예에서도 37.5%이상의 처치전 운동성 정자를 측정할 수 있어 그다지 높은 특이성은 보이지 않았다(특이도 50%).

또한, 운동성저하군에서 정자처치후 운동성 정자 백분율의 상승폭이 임신된 전예가 27.6% 이상이었고 그 이하이었던 예는 모두 임신에 실패하였는데(예민도 100%), 비임신 예중 한예만이 32%로 27.6%이상의 상승폭을 보여 상당히 높은 특이성을 나타내었다(특이도 83.3%).

## 고 찰

포유동물의 성공적인 수정은 난자의 성숙도 뿐만 아니라 적절한 정자 수와 운동성에 의하여 크게 영향을 받는 것으로 알려져 왔고(Mahadevan and Trounson, 1984; Gerris and Kahn, 1987), 실제로 자궁강내 인공수정, 생식세포 난관내 이식, 체외수정등의 생식보조기술(assisted reproductive technology)시 양질의 운동성 정자를 획득하는 것이 매우 중요시 되어 왔다. 1951년 Chang와 Austine에 의해 정자세포 표면에서 당단백의 소실에 기인한 capacitation 현상이 처음 보고된 후, 이러한 capacitation이 정자의 운동성과 산소 섭취력을 증진시키며, 정액내에 함유된 정장액(seminal plasma)에 의해 정자의 운동성과 함께 억제되어진다는 사실(Kanwar et al, 1979; Van der Ven et al, 1982)이 밝혀진 이래 정액내 정장액 세척을 이용한 자궁강내 인공 수정술이 시도되어 최근 많이 보고되고 있다(Allen et al, 1985; 이 등, in press). 사실상 본 연구에서도 정상 운동성 정자군과 운동성 저하군 모두에서 정자세정 및 swin-up 처치후 의의 있는, 운동성 정자 백분율로 관찰한, 정자 운동성의 향상을 보여 자궁강내 인공수정후 전체적으로 42.9%의 괄목할만한 임신율을 나타내었다. 또한 정자운동성의 증가는 정상 운동성군보다 운동성 저하군에서 현저하였으며, 이는 경관점액 통과(cervical mucus penetration) 정도로 관찰한 정자운동성을 남성불임군과 정상군에서 비교한 Stumpf와 Lloyd

(1985)의 성적과 유사하였다.

임신에 성공한 군과 실패한 군의 비교에서도 정상 운동성군은 임신군과 비임신군의 정자 처치후 정자운동성 증가가 근사한 차이만을 보였지만 운동성 저하군에서는 의의있는 차이를 나타내어( $p < 0.01$ ), 정자무력증으로 인한 남성불임의 경우에 정자운동성의 향상이 자궁강내 인공수정시 임신 예후에 중대한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

임신 성공 여부에 따른 불임 원인인자에 대한 분석 결과, 정자운동성 저하군에서 임신에 성공한 예는 모두 정자무력증만이 원인이었던 반면, 임신에 실패한 6예중 5예가 다른 남성불임인자인 희소정자증(3예), 형태이상정자증(1예), 또는 세균정자증(1예)과 동반된 경우이었는데, 이러한 소견은 Hughes(1987)등의 성적과 유사하였고, 전체 운동성 저하군의 임신율은 40%이었다. 또한 정상 운동성 정자군에서는 정자세정후 자궁강내 인공수정에 가장 좋은 임신 성공을 초래케하는 대상으로 보고되고 있는(Hull et al, 1986; 이 등, in press) 자궁경부인자 부전으로 인한 불임에는 18명중 9명이 임신되어 50%의 임신율을 증하였고, 전체 정상 운동성군의 임신율은 44%이었다. 이와 같은 성적들은 희소 정자증과 형태이상정자증이 원인인 경우 전 예가 임신에 실패하였던 본 연구 결과를 감안하여 보면, 다른 남성 원인인자에 기인된 경우보다 정자무력증에 의한 불임시, 자궁경부인자 부전과 아울러, 적극적으로 정자세정후 자궁강내 인공수정술을 시행해보는 것이 바람직할 것으로 사료 된다.

Smith등(1977)과 Jauannet등(1981)은 심한 희소 정자증이나 무정자증을 제외하고는 고식적인 정액 검사만으로는 임신 성공여부를 예측할 수 없다고 주장하였는데, 본 연구에서도 처치전 정액 검사상의 운동성 정자 백분율로는 양군에서 모두 임신 성공을 예측할 수 없었다. 그러나 정자운동성 저하군에서 정자 처치후 운동성 정자 백분율의 상승폭이 27.6%이상인 경우에는 모두 임신되고 한예(32%)만을 제외하고 그 이하이었던 경우는 전예가 임신에 실패하여 최소한 27.6% 내지 32%이상의 상승폭이 정자무력증에 대한 정자 세정후 자궁강내 인공수정술의 임신 성공 예후를 예견하는데 도움이 될 수 있는 지표로 사용될 가능성을 시사하였다. 그러나 이와 같은 소견은 정상운동성 정자군에서는 찾아 볼 수 없었다.

## 결 론

1988년 9월부터 1990년 3월까지 만 1년 6개월 동안 전남대학교병원 불임 클리닉에서 정자 세정 및 swim-up 처치 후 자궁강내 인공수정을 시술받은 총 35쌍의 불임부부를 대상으로 정자처치전 정액 검사소견에 의해 정상 운동성 정자군과 운동성 저하군으로 대별하고 정자 처치 후 운동성정자 백분율의 변화를 측정하여 분석하고 임신 성공예후와 비교하였다.

1. 전체 임신율은 42.9%(15/32)이었고, 정상 운동성 정자군은 44%(11/25), 운동성 저하군은 40%(4/10)의 임신율을 보였다.

2. 정자 처치전후 평균 운동성정자 백분율이 정상운동성 정자군은  $14.4 \pm 5.2\%$ , 운동성 저하군은  $27.9 \pm 9.0\%$ 로 각각 통계적으로 유의있게 상승하고 양군간에 유의한 차이를 나타내었다 ( $p < 0.01$ ).

3. 정자 처치 전후 운동성정자 백분율의 상승폭이 정상 운동성군에서는 임신 예외( $13.7 \pm 5.8$ ) 비임신 예( $15.0 \pm 4.8$ )의 격차가 거의 없는 반면, 운동성 저하군에서는 임신 예( $35.8 \pm 5.5$ )가 비임신예( $22.7 \pm 6.8$ )보다 유의한 증가를 나타내었다( $p < 0.01$ ).

4. 운동성 저하군에서 임신된 예는 모두 정자처치 후 운동성 정자 백분율의 상승폭이 27.6%이상인 경우이었다(예민도 100%, 특이도 83.3%).

## 인 용 문 헌

Allen NC, Herbert CM III, Maxon WS, Roger BJ, Diamond MP, Wentz AC : Intrauterine insemination : a critical review. *Fertil Steril* 1985, 44, 569.

Austin C : The capacitation of the mammalian sperm. *Nature* 1952, 170, 326.

Chang M : Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature* 1951, 168, 697.

Gerris J, Kahn I : Correlation between in vitro fertilization and human sperm density and motility. *J Androl* 1987, 8, 48.

Ho PC, Poon I, Chan S, Wang C : Intrauterine insemination is not useful in oligoasthenospermia. *Fertil Steril* 1989, 51, 682.

Huges EG, Collins JP, Garner PR : Homologous artificial insemination for oligoasthenospermia : a randomized controlled study comparing intracervical and intrauterine techniques. *Fertil Steril* 1987, 48, 278.

Hull ME, Magyar DM, Vasquez JM, Hayes MF, Moghissi KS : Experience with intrauterine insemination for cervical factor and oligospermia. *Am J Obstet Gynecol* 1986, 154, 1333.

Jauannet P, Czyglik F, David G : Study of a group of 484 fertile men. Part I : Distribution of semen characteristic. *Int J Androl* 1981, 4, 440.

Kanwar KC, Yanagimachi R, Lopata A : Effects of human seminal plasma on fertilizing capacity of human spermatozoa. *Fertil Steril* 1979, 31, 321.

이여일, 임영경 : 자궁강내 인공수정에 관한 임상적연구. 대한산부회지, 인쇄중.

Mahadevan MM, Trounson AO : The influence of seminal characteristics on the success rate of human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1984, 42, 400.

Makler A : A new chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertil Steril* 1978, 30, 313.

Mortimer D, Leslie EE, Kelly RW, Templeton AA : Morphologic selection of human spermatozoa in vivo and in vitro. *J Reprod Fertil* 1982, 64, 391.

Mortimer D, Templeton AA : Sperm transport in the human female reproductive tract in relation to semen analysis characteristics and time of ovulation. *J Reprod Fertil* 1982, 64, 401.

Smith KD, Rodriguez-Rigau LJ, Steinberger E : Relation between indices of semen analysis and pregnancy rate in fertile couples. *Fertil Steril* 1977, 28, 1314.

Stumpf PG, Lloyd T : In vitro penetration of human sperm into bovine cervical mucus : Effects of sperm washing and exposure to low temperature. *Obstet Gynecol* 1985, 65, 42.

Thomas EJ, McTighe L, King H, Lenton EA, Harper R, Cooke ID : Failure of high intra-

terine insemination for cervical factor and oligospermia. *Lancet* 1986, 2, 693.

Van der Ven H, Bhattacharyya AK, Binor Z, Leto S, Zaneveld LJD: Inhibition of human

sperm capacitation by a high-molecular-weight factor from human seminal plasma.

*Fertil Steril* 1982, 38, 753.

---