

## 투명대하 미세수정(SUZI)시 정자의 상태 및 처리방법에 따른 수정률과 임신률

P L 산부인과 체외수정연구실

최규완 · 김수경 · 양현원 · 차영범 · 이승재 · 박종민

한양대학교 자연과학대학 생물학과

김 문 규\*

### Influence of Sperm Parameters and Capacitation Methods on the Outcome of Subzonal Insemination(SUZI)

Kyoo-Wan Choi, Soo Kyung Kim, Hyun Won Yang, Young Beom Cha,  
Seung Jae Lee and Jong Min Park

*IVF Research Laboratory, Park & Lee Infertility Clinic, Seoul 135-270, Korea*

Moon Kyoo Kim\*

*Department of Biology, College of Natural Sciences, Han-Yang University*

#### = Abstract =

Subzonal insemination(SUZI) has been proposed for patients with severe male factor and previous fertilization failure. However, very low fertilization rates still persisted. The aims of this study were firstly, to examine the relationships between the fertilization rate and sperm parameters, sperm incubation media and time, secondly, to evaluate the outcome of 119 cycles of SUZI applied the modified sperm preparation method. The fertilization rates were influenced more sensitively by sperm preincubation media and time than by sperm parameters. According to preincubation media and time, the fertilization rates were 43.3% in 50% follicular fluid (HFF), 36.6% in 10% fetal cord serum(FCS), and with the time, increased in FCS, but decreased in HFF. In regrd with sperm parameters, the fertilization rates were 42.9% in normal and 37.6% in subnormal group. The best results were obtained from SUZI by the spermatozoa incubated in 50% HFF for 6-8 hours. So we tried 119 cycles of SUZI(normal; 39 cycles, subnormal; 80 cycles) using the preparation method of 6-8 hour incubation in 50% HFF. There were no signigicant differences in the fertilization rates between normal(125/269, 46.4%) and subnormal sperm(264/635, 41.6%). Contrary to the fertilization rates, pregnancy outcomes were different between both groups. Better results obtained from the subnormal group than the normal in the number of transferred embryos, that of good embryos, and developmental rate of the fertilized eggs. The pregnancy rates per transfer were totally 13.3%(13/98), 20.0%(13/65) in subnormal group. In the normal group, 2 patients showed  $\beta$ -hCG positive, but resulted in chemical pregnancy. Of 13 clinical pregnancies, two aborted, 6 on-going, and 5 delivered. In conclusion, SUZI is an effective technique to overcome fertilization failure for male factor and unexplained. The fertilization rate is influenced by sperm parameters, sperm incubation media and time. Also the quality of oocytes might be important for pregnancy as same as that of sperm.

## 서 론

미세조작기술은 60년대부터 동물실험에서 축적된 미세수정기술을 바탕으로 80년대 중반부터 사람의 시험관 아기 기술에서 assisted reproductive technique(ART)로 연구 사용되어 왔다. 배우자 미세조작술(gamete micromanipulation)은 체외수정 시술시 심한 남성요인 또는 원인불명의 요인에 의한 수정의 실패를 극복하기 위한 수단으로 널리 사용되고 있다. 남성불임은 심한 정자감소증(oligozoospermia), 운동부전증(asthenozoospermia), 기형정자증(teratozoospermia)의 양적 이상과 정자의 침체 결손(acrosome defects) 및 침체 효소등의 기능적 이상으로 대부분 이들의 복합적 요인에 의해 유발된다(Jeulin et al., 1986). 이들 남성요인의 불임환자에서는 정상적인 체외수정방법으로는 수정률이 크게 떨어지거나 수정이 일어나지 않는다(Overstreet et al., 1980; Cohen, 1992). 또한 원인불명의 불임환자의 경우는 양적인 정자성상이 정상인데도 불구하고 수정이 일어나지 않는 경우로 정자의 기능적 이상 또는 난자의 세포질과 투명대막의 비정상적으로 정자의 부착 또는 통과가 방해되어 수정이 일어나지 않는다.

미세수정에 이용되는 방법으로는 기계적으로 투명대막의 일부를 절개해주는 부분적 투명대 절개법(partial zona dissection, PZD; Cohen et al., 1988), 강산성의 완충용액을 이용하여 투명대를 녹이는 투명대 천공법(zona drilling, ZD; Gordon et al., 1988), 정자를 위관강(perivitelline space, PVS)에 주입하는 투명대하 정자주입법(subzonal insemination, SUZI; Ng et al., 1988), 한마리의 정자를 세포질내에 주입하는 세포질내 정자주입법(intracytoplasmic sperm injection, ICSI; Palermo et al., 1993)등이 주로 이용되고 있다. Ng등(1988)의 임신에 성공을 보고한 이후 근래에는 투명대하 정자주입법(SUZI)이 가장 널리 이용되고 있으며, Palermo등(1993)이 ICSI에 성공하여 최근 활발한 연구가 진행되고 있다.

각 방법마다 장단점이 있으며, 이를 보완하여 보다 나은 성공률을 위한 노력이 활발히 진행되고 있다. SUZI는 PZD에 비해 투명대의 절개부위가 작기 때문에 위관강의 오염 및 조기 부화(hatching)에 대한 위험도 적은 편이

며, 정자수를 조절할 수 있는 장점이 있고(Cohen, 1992), ICSI에 비해 보다 난자에의 상해를 감소시키고, 수정란의 발생률을 높일 수 있다는 장점이 있다(Steirteghem et al., 1993). 그러나 SUZI의 의한 수정 및 임신의 결과는 보고자 마다 상이하다(Cohen, 1992). 이는 SUZI에 필수적인 정자의 침체반응 유발을 위한 처리방법과, 난자채취 후 미세수정을 시행하는 시기등이 상이하기 때문이다.

따라서 본 연구는 미세수정시 정자수와 운동성의 양적인 정자성상, 정자를 처리하는 배양액 및 처리시간, 난자의 체외배양시간등과 수정률과의 관계를 분석하여, 수정률과 임신했을 향상시키기 위한 정자의 처리방법을 알아보고자 하였다. 또한 개선된 방법에 의한 92년 11월부터 93년 12월까지의 미세수정(SUZI)에 의한 임신결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 환자의 선택

본연구는 1992년 6월부터 1993년 12월까지 피엘산부인과 불임클리닉에서 남성요인 및 원인불명의 요인으로 수정실패의 경험이 있는 환자에게 미세수정을 실시한 126명, 149주기를 대상으로 하였다. 92년 12월까지의 66례에서 임의로 선택한 환자에서 정자배양액으로 10% 제대혈청(fetal cord serum, FCS; 30례) 또는 50% 난포액(human follicular fluid, HFF; 36례)을 사용하였고, 93년 1월부터는 난포액 만을 사용하였다(36례를 포함하여 총 119례).

대상환자는 정자성상이 정상이나 2회이상 수정실패의 경력이 있는 환자(정상군, Normal), 정자성상이 약간 떨어지고 수정실패의 경험이 있는 환자와 아주 심한 정자 이상으로 정상적인 체외수정으로는 수정이 불가능할 것으로 기대되는 환자(비정상군, Subnormal)는 정상적 체외수정을 생략하고 미세수정을 실시하였다(표 1).

### 2. 정자 준비

미세수정을 위한 정자의 처리는 Percoll density gradient방법을 사용하였으며, 정자의 배양을 위한 배양액은 비활성화 시킨 사람의 제대혈청과 난포액을 사용하였고, 배양시간은 6-8시간군과 20시간 이상군으로 하였다.

Table 1. The Criteria for SUZI

	Concentration (× mil./ml)	Motility (%)	Previous Unfertilization
Normal	≥ 20	≥ 30	≥ 2 times
Subnormal	10-20 < 10	20-30 < 20	≥ 1 time none

난자채취 당일 아침에 채취된 정자는 상온에서 30분간 액화하였고, 액화된 정액은 현미경하에서 정자의 수, 운동성을 검사하였다. 등장 Percoll원액을 Ham's F-10으로 희석하여 만든 100%, 90%, 70%의 Percoll액을 15ml 원심분리관에 밑에서부터 1ml씩 층을 만든 후, 1-1.5ml의 정액을 위에 넣고 300g으로 20분간 원심분리 후 100%층에서 운동성 정자를 회수하였다. 회수된 운동성 정자는 10% 제대혈청이 든 Ham's F-10으로 2회 세정하고, 마지막 원침에 정자배양액으로 0.5ml의 10% 제대혈청 또는 50%의 난포액을 상층시킨 후 배양기에서 6시간동안 배양후 성숙난자에 미세수정을 시행하였다(6-8시간 배양군). 미성숙난자는 20시간 이상 배양한 후 성숙난자만에 실시하였으며, 정자는 최초 6시간을 배양기내에서 배양한 후 밀폐하여 미세수정까지 실온에서 보관하였다.

### 3. 난자 준비

과배란유도는 FSH-hMG 또는 FSH/hMG와 GnRHa를 병용하였으며, hCG주사후 34시간에 초음파기기를 사용하여 채취하였다. 난구세포에 싸인 난자를 도립현미경하에서 성숙정도를 판정하였고, 5시간 정도 추가배양한 후 0.1% hyaluronidase를 처리하여 난구세포를 제거하였다. 제1극체를 보인 MII 난자는 6-8시간 배양된 정자를 이용하여 즉시 미세수정을 시행하였고, 제1극체를 보이지 않는 난자는 이후 추가배양한 후 MII로 성숙한 난자에 전날 준비된 정자로 미세수정을 실시하였다.

### 4. 미세수정(micromanipulation) 과정

미세수정은 도립현미경(Diaphot TMD, Nikon, Japan)에 장착된 1쌍의 미세조작기(NT-88, Narishige, Japan)를 사용하였다.

micropipet의 제작은 pipet puller(KOPF, USA)와 microforge(Alcatel, France)를 사용하였다. 난자고정을 위한 holding pipet은 외경이 120 $\mu$ m, 내경이 15-20 $\mu$ m로 제작하였고, 정

자 주입을 위한 injection pipet은 microgrinder(Narishige, Japan)를 이용하여 외경이 10 $\mu$ m 이내, 각도는 35-40 $^{\circ}$ 로 갈아서 사용하였다.

미세수정은 60mm Petri dish(Falcon, USA)에 2개의 microdrop을 만들고, 각각에 정자와 난자를 넣고, 200배의 현미경 시야에서 시행하였다. 난자당 주입한 정자의 수는 3-5개였고, 1회 5개정도의 난자에 시행하였다. 주입이 끝난 난자는 10% FCS가 든 Ham's F-10에서 2회 세척한 후 동일한 배양액이 담긴 배양접시(organ culture dish, Falcon)에서 배양하였다.

### 5. 수정 및 이식

수정은 미세수정 후 16-20시간 이내에 확인하였으며, 2개의 전핵을 보인 난자는 성장배양액(10% FCS가 혼합된 Ham's F-10)으로 옮겨 24시간 이상 배양하여 세포분열을 관찰한 후 자궁내에 이식하였다. 임신여부는 이식 12-14일후 혈청내  $\beta$ -HCG의 양이 10 mIU/ml 이상인 경우를 임신으로 판정하였고, 태아의 심박동(fetal heart beat)을 보이는 경우를 clinical pregnancy로 정의하였다.

### 6. 분석 및 통계 방법

결과의 분석은 92년까지의 정자성상과 배양액 및 배양시간에 따른 수정률을 분석하였고, 93년 말까지의 난포액만을 사용한 미세수정 결과를 분석하였다. 결과에 대한 통계적 분석은 Student's *t* test를 이용하였고, 평균값은 mean $\pm$ 표준오차로 표시하였으며, p값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

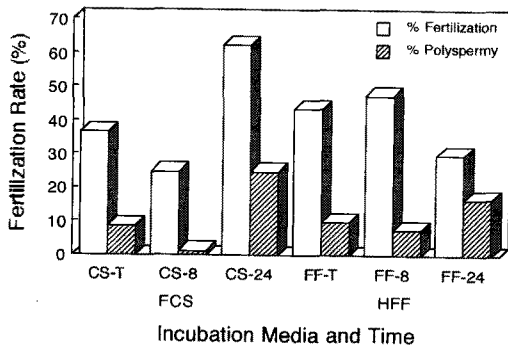
대상환자의 평균나이는 32.5 $\pm$ 3.3세 였다. 정액상태는 정상군보다 비정상군에서 정자수와 운동성 및 운동성 정자의 총수가 통계적으로 유의하게 떨어졌으며(<0.001), 특히 운

**Table 2.** The semen parameters

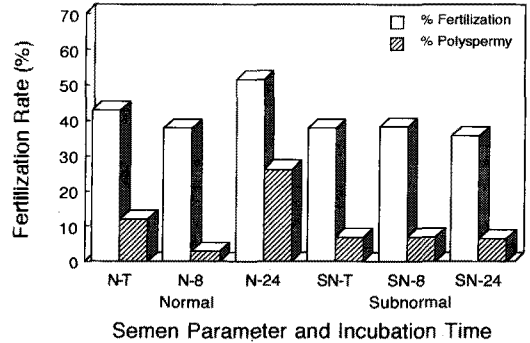
	Normal	Subnormal	P-value
#Cycles	39	80	
Concentration(× mil./ml)	65.8±40.8	21.9±29.8	p<0.001
Motility(%)	53.8±13.6	30.1±20.2	p<0.001
Total Count of Motile Sperm(× mil.)	99.8±93.5	9.0±9.6	p<0.001

**Table 3.** The comparisons of the fertilization rates after SUZI according to the sperm preincubation media and parameter

	Media		Parameter	
	FCS	HFF	Normal	Subnormal
#Cycles	30	36	32	34
#Oocytes	191	238	219	210
#Fertilized	70	103	94	79
Fert. Rate(%)	36.6	43.3	42.9	37.6
Polyspermy(%)	8.9	9.7	11.9	6.7



**Fig. 1.** The comparisons of fertilization rates according to the sperm preincubation media and time. CS; FCS treated, FF; HFF treated, T; total fertilization rate, 8; incubated less than 8 hours, 24; incubated more than 24 hours.



**Fig. 2.** The comparisons of fertilization rates according to the initial semen parameter and preincubation time. N; normal parameter, SN; subnormal, T; total fertilization rate, 8; incubated less than 8 hours, 24; incubated more than 24 hours.

동성정자의 총수는 현저히 감소하였다(표 2).

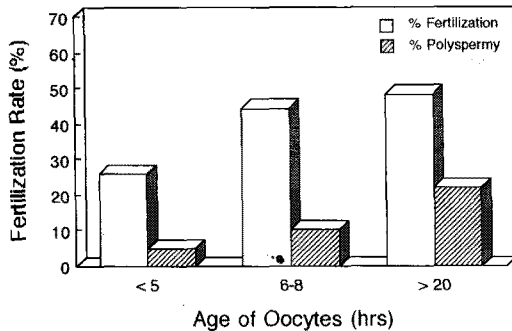
정자의 배양액에 따른 수정률은 난포액(43.3%)이 제대혈청(36.6%)보다 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다(표 3, 그림 1). 다수정률(% polyspermy)은 두 배양액간의 차이가 없었다. 정자의 성상에 따른 수정률과 다수정률은 정상군(42.9%)이 비정상군(37.6%)보다 높게 나타났지만 통계적 유의성은 없었다(표 1, 그림 2). 배양액과 배양시간에 따른 수정률의 변화는 제대혈청에서는 시간의 경과에 따라 수정률이 증가한 반면에 난포액내에서는 수정률이 감소하였다. 다수정률은 두 배

양액에서 모두 증가하였다(그림 1). 정자성상과 배양시간에 따른 수정률의 변화는 정상군에서는 증가한 반면에 비정상군에서는 큰 변화가 없었다(그림 2). 다수정률도 수정률의 양상과 비슷하였으나 정상군에서는 다수정의 비율이 크게 증가하였다.

남자의 나이에 따른 수정률은 채취후 시간의 경과에 따라 수정률은 증가하였으나 다수정률의 비율도 증가하였다. 두개의 전핵을 보이는 정상적 수정란의 비율은 채취후 6-8시간에 미세수정을 실시한 군에서 가장 높게 나타났다(그림 3).

**Table 4.** The results of fertilization after SUZI by HFF-treated sperm according to the initial semen parameters

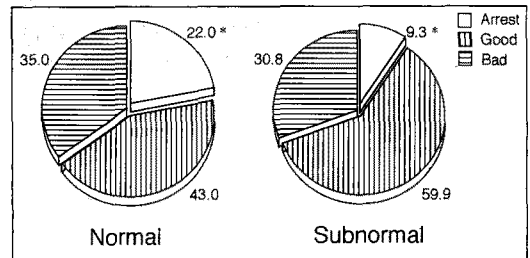
	Sperm Parameters		Total
	Normal	Subnormal	
#Cycles	39	80	119
#Total Oocytes	301	742	1043
Damaged (%)	3( 1.0)	22( 3.0)	25( 2.4)
Activated (%)	29( 9.6)	86(11.6)	115(11.0)
#Intact Oocytes	269	635	904
#Fertilized Oocytes	125	264	389
Fertilization Rate	46.5	41.6	43.0
Normal (%)	99(36.8)	207(32.6)	306(33.8)
Abnormal (%)	26( 9.6)	57( 8.9)	83( 9.2)



**Fig. 3.** The comparisons of fertilization rates according to the time after oocyte recovery.

따라서 92년 12월부터 119주기의 미세수정에서는 정자를 50% HFF가 혼합된 배양액에서 6시간 이상 배양하였고, 난자는 채취 6-8시간 후에 난구 세포를 제거한 후 미세수정을 실시하였다. 표 4는 이를 정리한 도표로, 전체 119 주기중 정상상태가 정상적 소견의 정상군이 39주기, 비정상군이 80주기였다. 미세수정시 난자의 상해율은 3% 미만이었으며, 미세수정 전에 활성화를 보이는 난자는 전체적으로 11.0% 정도이었다. 수정률은 전체적으로 43%로 나타났고 정상 상태에 따라서는 정상군이 46.5%, 비정상군이 41.6%로 정상군에서 높게 나타났지만 통계적 유의성은 없었다. 두개의 전핵을 보인 정상적 배아도 수정률과 같은 양상이었고, 다수정란의 비율은 두군 모두 9%정도였다.

그림 4는 수정 확인 24시간 후 배아의 발달을 나타낸 도식으로 세포질의 fragment가 없는 양질의 배아는 비정상군(59.9%)이 정상



**Fig. 4.** The comparisons of embryonic development after SUZI according to sperm parameter. Arrest: embryos arrested at the stage of pronucleus after the more than 24 hour of culture, Good; embryos without fragments or less than 10% of fragments, Bad; embryos with severe fragments. \* $p < 0.05$ .

군(43.0%)이 높게 나타났지만 통계적 유의성은 없었다( $p=0.1$ ). 전핵시기에 발달 정지한 수정란은 양질의 배아 비율과는 반대로 정상군이 22.0%로 9.3%의 비정상군 보다 통계적으로 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 질이 좋지 못한 배아의 비율은 양 군간에 큰 차이가 없었다.

배아 이식은 양 군에서 모두 80%이상 가능하였으며, 이식한 평균 배아수는 정상군( $2.9 \pm 1.9$ )이 비정상군( $3.5 \pm 2.7$ )보다 적었다.  $\beta$ -hCG 반응에서 전체적으로 17례가 양성을 보여 이식당 17.3%(17/98)이었고, 정상군에서 2례(6.1%), 비정상군에서 15례(23.1%)로 임신률은 비정상군이 훨씬 높았다. 17례중 4례는 화학적 임신이었고, 13례(13.3%)의 임신중 2례는 유산되었고, 11례(이식당 11.2%)가 임신유지되어 5례는 건강한 아이를 출산하였다.

## 고 찰

미세조작기(micromanipulator)를 이용한 투명대하 미세수정(SUZI)은 남성요인 및 이전의 수정 실패의 경험이 있는 환자 모두에서 효과적인 방법이었다. 시행 환자 119명중 98명이 이식하여 수정란 이식률은 전체적으로 82.3%였고, 정자의 성상에 따른 차이는 없었다. 미세수정을 시행한 904개의 난자중 389개의 수정란을 얻어 수정률은 43.0%였으며, 임신은 이식환자 98명중 13명(13.3%)였고, 이들중 2명은 유산, 11명이 진행되어 이중 5명은 정상아를 분만하였다.

정자의 배양액에 따른 수정률은 난포액이 체대혈청보다 높게 나타났다. 투명대하 미세수정에서 정자의 침체반응은 필수적인 조건이다. 또한 체외에서의 침체반응 유발 물질이 많이 보고되었다(Cross et al., 1988; Lacham et al., 1989; Palermo & Steirteghem, 1991; Palermo et al., 1992; Tesarik et al., 1993). 특히 난포액은 보다 생리적이고 효과적인 유도물질로 연구가 많이 되었다(Suarez et al., 1986; Mortimer & Camenzind, 1989; Palermo et al., 1992; Saarnanen et al., 1993). 최근에는 특히 난포액내의 steroid 호르몬인 progesterone이 정자의 막계의 신호전달체계를 자극하여 침체반응 유발하는 기작으로 설명되고 있다(Osman et al., 1989; Saarnanen et al., 1993). 따라서 체대혈청과 난포액과의 수정률의 차이는 난포액내의 높은 정도의 progesterone에 의한 침체반응률의 증가때문으로 생각된다.

일반적으로 사람의 정자는 다른 실험동물에 비해 체외에서의 인위적인 처리에 의한 침체반응 유발률이 낮은, 대체로 30% 이내로 보고하고 있다(Suarez et al., 1986; Mortimer & Camenzind, 1989; Palermo et al., 1992). 이러한 침체반응률은 난자의 위란강내 주입하는 정자의 적정한 수에 반영할 수 있다. Wolf등(1992)과 Cohen(1992)의 주입하는 정자수에 비례하여 다수정란만 증가시킬 뿐 두개의 전핵을 보이는 정상적 수정란은 증가하지 않는다는 보고와 Sakkas등(1992)도 적정한 정자수가 4개라는 보고에 따라서 본 연구에서는 3-5개의 정자를 주입하였다. 시행한 전체 난자에서 두개의 전핵을 보이는 정상수정란은 33.8%, 다수정란은 9.2%로, 이는 다른 보고자들

과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(Cohen, 1992). 그러나 가장 적당한 정자수를 결정하려면 환자마다의 주입하는 정자의 침체반응률을 측정하고, 정자의 형태와 운동양태에 따른 수정률을 분석할 필요가 있을 것으로 생각된다.

정자의 배양액 및 시간과 수정률과의 관계는 체대혈청에서는 시간의 경과에 비례하여 수정률이 증가한 반면에 난포액에서는 오히려 감소하였다. 이는 정자의 침체반응 속도와 관계있을 것으로 생각된다. 즉 체대혈청에서는 늦고 난포액에서는 빠르며, 침체반응이 일어난 후 시간의 경과에는 오히려 난자와 정자의 막융합 능력을 감소시킨다는 보고(Cummins & Yanagimachi, 1986)의 반영으로 생각된다. 정자의 성상과 배양시간에 따른 수정률은 정상군의 수정률이 심한 비정상의 정자보다 수정률이 높게 나타났으며, 정상군에서는 시간의 경과에 따라 수정률 및 다수정란의 비율이 크게 증가했다. 이는 정자의 침체 반응후 운동성 및 수정능력의 유지에 관련이 있을 것으로 생각된다.

난자의 수정률은 배양시간에 비례하여 증가했고 다수정란은 24시간 이상군에서 크게 증가했다. 이는 두가지 측면에서 분석할 수 있다. 첫째, 채취후 배양 시간이 짧은군에서 수정률이 낮은 것은 과배란 유도에 의해 얻은 난자는 핵성숙과 세포질 성숙이 일치하지 않는다는 Bomsel-Helmreich등(1987)의 논의를 반영하는 것으로 생각된다. 즉 난자가 성숙하는 동안 난자 또는 난구세포로부터 위란강내 분비 축적되는 위란강내 기질과 관계있을 것으로 생각된다. 위란강내의 기질인 glycosaminoglycan(GAG)의 일종인 heparan sulfate등은 정자와 난자의 원형질막과의 융합과 관련이 있을 것으로 생각된다. 난자 채취 후 2시간 이내에 미세수정한 Fishel등(1990)이 15%의 낮은 수정률을 얻은 것과 같이 시간이 짧은 경우 PVS내의 기질의 미성숙으로 수정률이 떨어질 것으로 사료된다. 둘째, 시간이 경과된 난자에서 다수정이 증가한 결과는 Malter등(1989)과 같은 결과로 늦은 난자에서 다정자 침입을 방지하는 능력이 떨어지는 이유때문으로 생각된다.

임신은 사람의 난포액을 6-8시간 처리한 군에서만 얻을 수 있었다. 또한 정자의 성상이 정상인 군과 비정상인 군에서 임신률은 수정률과 반대로 비정상군이 훨씬 높았다(표 5).

**Table 5.** The outcomes of SUZI by HFF-treated sperm according to the initial semen parameters

	Sperm Parameters		Total
	Normal	Subnormal	
#Cycles	39	80	119
#Transfers	33(84.6)	65(81.2)	98(82.3)
#Mean of Embryos transferred	2.9±1.9	3.5±2.7	3.3±2.5
#Pregnancies	2	15	17
Preg./Transfer(%)	6.1	23.1	17.3
Chemical	2	2	4
Clinical Preg.(%)	-	13(20.0)	13(13.3)
Abortion		2	2
On-going		6	6
Delivery		5	5

또한 정상군에서  $\beta$ -hCG 양성반응을 나타내었던 2례는 모두 화학적 임신였고, 비정상적인 정자군에서는 15례중 13례가 임상적 임신였고, 이중 11(84.6%)례는 임신이 잘 유지되어 이중 3명이 출산하였다. 이는 Wolf 등(1992)과 유사한 결과로 순수한 남성요인의 환자는 정자 이외의 문제점이 적은 이유이고, 정자가 정상임에도 수정이 안되는 경우는 난자의 질이 정상적이지 않다는 이유로 생각된다. 그림 4에서 수정란의 발생률은 정자가 정상군은 78%였고 비정산군은 91%로 비정상군이 높았다. 발생 배아중 양질의 배아도 비정상군(59.9%)이 정상군(43.0%)보다 높았고, 전핵에 정지한 배아는 반대로 나타났다. 또한 수정란 이식수도 수정률과 반대로 비정상군이 많았다(표 5). 이러한 결과는 비정상적 정자군이 정상군에 비해 높은 임신률을 보인 결과에 대한 증거로 생각되고, 난자의 상태가 이전의 수정실패 및 불임의 원인에 크게 기여한 것으로 생각된다.

결론적으로 투명대하 미세수정(SUZI)은 체외수정 실패 경험이 있는 환자에게서 수정란을 얻을 수 있는 효과적인 방법이며, 미세수정에서 수정률은 정자의 수와 운동성과 같은 정자성상보다는 처리하는 배양액 및 처리시간에 크게 영향을 받으며, 수정률을 높이기 위해서는 미세수정 전에 정자의 침체반응 상태를 측정하여 적절한 정자수를 결정하는 것은 중요할 것으로 생각된다. 또한 정자와 난자의 융합에 투명대와 위관강 기질의 역할을 밝히는 것은 중요한 것으로 사료된다. 미세수정에서의 임신은 정자 상태보다는 난자와 자궁내

막 상태등의 다른 조건에 의해 크게 영향을 받는 것으로 사료된다.

## 결 론

미세수정(SUZI)에서 수정률과 임신률을 높이기 위하여 정자의 처리 방법에 따른 수정률을 분석하고, 개선된 방법에 의해 시행한 119례의 SUZI 결과는 다음과 같았다.

1. 정자의 수정능력의 획득을 위한 배양액에서는 사람의 50% 난포액(HFF, 43.3%)이 10% 제대혈청(FCS, 36.6%)보다 높은 수정률을 보였으며, 배양시간이 24시간 이상인 경우 제대혈청에서는 증가한 반면에 난포액에서는 감소하였다.

2. 정자의 상태에 따른 수정률은 정상군(42.9%)이 비정상군(37.6%)에 비해 높았으나, 다수정의 증가로 정상적인 수정란은 양군간의 차이가 없게 나타났다. 시간에 따라서는 정상군에서는 증가하였으나, 비정상군에서는 수정률의 변화가 없었다.

3. 남자 채취 후 미세수정까지의 시간에 따른 수정률은 시간에 따라 수정률이 증가했으나, 다수정란도 증가하여 6-8시간군이 가장 높은 정상 수정률을 나타내었다.

4. 1.2.3에서 얻은 결과를 바탕으로 119(정상군; 39례, 비정상군; 80례)례는 정자를 난포액에 6-8시간 배양하였고, 남자채취 후 6-8시간에 미세수정을 실시하였다.

5. 수정률은 정상군이 46.5%, 비정상군이 41.6%, 전체적으로 43.0% 였다.

6. 배아의 발달은 수정률과 반대로 비정상

군이 높았으며, 이식 배아의 수 및 양질의 배아수도 비정상군이 높았다. 같은 결과로 임신률 또한 비정상군이 높았다(정상군; 6.1%, 비정상군; 20.0%).

7. 난포액에 6-8시간 처리한 심한 남성요인의 환자에서만 13례의 임신을 얻었고, 이중 6례는 진행중, 5례는 정상아를 분만하였다.

결론적으로, SUZI는 심한 남성요인의 불임 환자의 치료에 효과적인 방법이며, 수정률은 정상성상, 정자의 배양액 및 시간에 영향을 받으며, 정상군이 비정상군에 비해 높은 수정률을 보임에도 불구하고, 임신률이 낮은 점은 미세수정에서 임신의 요인은 정자상태보다 난자 및 자궁내막등의 상태에 보다 크게 영향을 받는 것으로 사료된다.

## 인 용 문 헌

- Bomsel-Helmreich O, Huyen LVN, Durand-Gasselin I, Salat-Baroux J, Antonie JM: Timing of nuclear maturation and cumulus dissociation in human oocytes stimulated with clomiphene citrate, human menopausal gonadotrophin, and human chorionic gonadotrophin. *Fertil Steril* 1987, 48, 568-595.
- Cohen J, Malter H, Fehilly C, Wright G, Elsner C, Kort H, Massey J, Mayer MP: Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet* 1988, 2, 162.
- Cohen J: A review of clinical microsurgical fertilization. In: Cohen J, Malter HE, Talansky BE, Grifo J, eds. *Micromanipulation of human gametes and embryos*. New York: Raven Press, 1992, 163-190.
- Cross NL, Morales P, Overstreet JW, Hanson FW: Induction of acrosome reactions by human zona pellucida. *Biol Reprod* 1988, 38, 235-244.
- Cummins JM, Yanagimachi R: Development of ability to penetrate the cumulus oophorus by hamster spermatozoa capacitated in vitro, in relation to the timing of the acrosome reaction. *Gamete Res* 1986, 15, 187-212.
- Fishel S, Antinori S, Jackson P, Johnson J, Rinaldi L: Presentation of six pregnancies established by sub-zonal insemination (SUZI). *Human Reprod* 1991, 6, 124-130.
- Gordon JW, Grunfeld L, Garrisi GJ, Talansky BE, Richards C, Laufer N: Fertilization of human oocytes by sperm from infertile males after zona drilling. *Fertil Steril* 1988, 50, 68-73.
- Jeulin C, Feneux D, Serres C, Jouannet P, Guillet-Rosso F, Belaish-Allart J, Frydman R, Testart J: Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization. *J Reprod Fertil* 1986, 76, 735-744.
- Lacham O, Trounson A, Holden C, Mann J, Sathanathan H: Fertilization and development of mouse eggs injected under the zona pellucida with single spermatozoa treated to induce the acrosome reaction. *Gamete Res* 1989, 23, 238-243.
- Malter H, Talansky BE, Gordon JW, Cohen J: Monospermy and polyspermy after partial zona dissection of reinseminated human oocytes. *Gamete Res* 1989, 23, 377-386.
- Mortimer D, Camenzind AR: The role of follicular fluid in inducing the acrosome reaction of human spermatozoa incubated in vitro. *Human Reprod* 1989, 4, 169-174.
- Ng SC, Bonso A, Ratnam SS, Sathanathan H, Chans LK, Wong PC, Hagglund L, Anandakumar C, Wong VC, Goh VHH: Pregnancy after transfer of multiple sperm under the zona. *Lancet* 1988, 11, 790.
- Osman RA, Andria ML, Jones AD, Meizel S: Steroid induced exocytosis: the human sperm acrosome reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 160, 823-833.
- Overstreet J, Yanagimachi R, Katz D: Penetration of human spermatozoa into human zona pellucida and the zona free hamster egg: a study of fertile donors and infertile patients. *Fertil Steril* 1980, 33, 534-542.
- Palermo G, Camus M, Joris H, Devroey P, Derde MP, Steirteghem AV: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insertion and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil*



- Steril* 1993, 59, 826-835.
- Palermo G, Van Steirteghem A: Enhancement of acrosome reaction and subzonal insemination of a single spermatozoon in mouse eggs. *Molecul Reprod Devel* 1991, 30, 339-345.
- Saaranen MJ, Calvo L, Dennison L, Banks S, Bustillo M, Dorfmann AD, Goldstein M, Thorsell L, Schulman JD, Sherins RJ: Acrosome reaction inducing activity in follicular fluid correlates with progesterone concentration but not with oocyte maturity or fertilizability. *Human Reprod* 1993, 8, 1448-1454.
- Sakkas D, Lacham O, Gianaroli L, Trounson A: Subzonal sperm microinjection in cases of severe male factor infertility and repeated in vitro fertilization failure. *Fert Steril* 1992, 57, 1279-1288.
- Suarez SS, Wolf DP, Meizel S: Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. *Gamete Res* 1986, 14, 107-121.
- Tesarik J, Mendoza C, Ramirez JP, Moos J: Solubilized human zona pellucida complexes with a fucosylated neoglycoprotein for binding sites on human sperm surface. *Fert Steril* 1993, 60, 344-349.
- Wolf J, Ducot B, Kunstmann JM, Frydman R, Jouannet P: Influence of sperm parameters on outcome of subzonal insemination in case of previous IVF failure. *Human Reprod* 1992, 10, 1407-1413.
-