

사람 정자에 대한 유인능과 운동성에 미치는 난포액의 영향

곽대오[†] · 전병균¹ · 문진수¹ · 김광철¹

경상대학교 과학교육학부, ¹진주 가야자모병원 불임·유전연구소

Effect of Follicular Fluid on Attraction and Motility of Human Spermatozoa

Dea Oh Kwack[†], Byeong Gyun Jeon¹, Jin Soo Moon¹ and Kwang Cheol Kim¹

Division of Science Education, Gyeongsang National University,

¹Institute of Human Infertility and Cytogenetics, Chinju Kaya Mother-Child's Hospital, Chinju, Gyeongnam 660-701, Korea

요 약 : 사람 정자에 대한 유인능과 운동성에 미치는 난포액의 영향을 밝히기 위하여 난관 폐색으로 내원한 환자에서 채취한 난포액 sample A, 남성 배우자의 불임으로 내원한 환자에서 채취한 난포액 sample B, Sample A를 가열처리한 난포액 그리고 modified human tubal fluid(m-HTF) 중 어느 하나를 함유한 각각의 모세관을 1, 2 및 4시간 동안 배양하여 유인된 정자의 수와 운동성을 가진 정자의 비율을 조사하였다. 유인된 정자 및 운동성을 가진 정자의 비율은 난포액 sample A에서 m-HTF, 난포액 sample B 및 가열 처리한 난포액보다 유의적으로($P<0.05$) 높게 나타났다. 불활성화 난포액보다 신선 난포액에서 유인능 및 운동성이 높게 나타나는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

ABSTRACT : Follicular fluid has pivotal effects on attraction and motility of spermatozoa for successful fertilization. The effect of samples of human follicular fluid(hFF) on attraction and motility of spermatozoa was investigated. Capillary tubes loaded with one of these samples, hFF sample A collected from patients with tubal factor, hFF sample B collected from patients with male factor, m-HTF and heated hFF sample were used for assessment of attraction and motility of spermatozoa following culture of 1, 2, and 4 hrs. Number and motile rate of spermatozoa in the tubes loaded with hFF sample A were significantly($P<0.05$) higher than those of m-HTF, hFF sample B and heated hFF. Although the fresh hFF tended to increase the attraction of spermatozoa as compared to inactivated hFF, there was no significant difference between treatments.

Key words : Attraction, Follicular fluid, Human, Motility, Spermatozoa.

서 론

시험관 아기 혹은 체외수정 프로그램에서 정상적인 수정과 수정란의 발생을 유도하기 위해서는 운동성 및 수정 능력을 가진 정자가 필요하며, 수정능 획득 및 침체반응은 정상적인 수정을 위해 필수적이다.

수정에 참여할 정자와 난자 사이의 상호 작용은 어떤 특이한 물질에 의해 화학적으로 유도된다고 알려졌다(Hernandez Alvarado et al., 1995). 실제로 정자는 특이한 화학물질에 접근 혹은 이탈하려고 하는 운동적인 성질을 가지고 있어, 배란시 난자와 더불어 난포내에 존재하던 난포액은 수정부위인 난관 팽대부로 전이되는데, 배란시 난자와 함께 난관내로

유입되는 난포액은 수정 과정에 참여하는 정자에 영향을 준다. 배란시 난자와 함께 방출되는 난포액을 사용하여, Villanueva-Diaz et al.(1992)은 정자의 70%가 난포액이 들어있는 chamber로 이동하여 난포액이 정자의 주화성을 유도한다고 하였고, Hong et al.(1993)은 난포액이 정자의 운동성 및 수정능 획득을 향상시킬 뿐만 아니라, 수정 부위에 정자를 유인하는 능력을 가지고 있다고 보고하였다. Gnessi et al. (1985)은 난포액에 존재하는 펩티드인 N-formyl-Met-Leu-Phe 같은 물질이, 그리고 Sliwa(1995)와 Villanueva-Diaz et al. (1995)은 progesterone만이 정자를 유인하는 양성 주화성을 나타낸다고 보고하였다. 그리고 난포액 내의 다양한 생리활성물질들이 정자의 운동성을 향상시키고, 과활성(hyperactivation)을 자극한다고 보고하였다(Mbizvo et al., 1990; Ralt et al., 1991; Siegel & Graczykowski, 1991; Kulin et al., 1994; Fabbri et al., 1998). 난포액내에 존재하는 정자의 운동성을 자극하는 물질들은 저분자량의 소수성 물질(Ralt et al., 1994), 난포액에 존

[†]교신저자: 경남 진주시 가좌동 900, 경상대학교 과학교육학부. (우) 660-701, (전) 055-751-5657, (팩) 055-752-8726, E-mail: dohkwack@non-gae.gsnu.ac.kr

재하는 progesterone(Sliwa, 1995; Villanueva-Diaz et al., 1995), platelet activating factor(PAF, Ricker et al., 1989; Krausz et al., 1994) 또는 단백질 성분(Ravnik et al., 1990) 등을 보고하고 있다. 그러나 Makler et al.(1995)은 난포액이 정자를 유인하는 효과가 없다고 하였으며, 또한 Ralt et al.(1991)은 난포액에 의한 정자의 주화성은 progesterone에 의해 유기되는 것이 아니라고 하였다. 최근 Jeon et al.(2001)은 난포액이 정자에 대한 유인능 및 운동성에 영향을 미치는데 progesterone은 정자에 대한 유인능은 있으나, 운동성에는 영향을 미치지 않는다고 보고하고 있어, 정자의 유인능 및 운동성에 영향을 미치는 난포액의 성분은 대하여 의견을 달리하고 있다.

그런데 지금까지 사람 정자에 대한 난포액의 유인능 및 운동성에 미치는 영향을 조사한 방법들은 정자를 난포액 혹은 다른 농도의 난포액을 포함하고 있는 배양액에서 swim-up의 방법으로 일정시간 동안 배양하여 정자의 유인능 및 운동성을 조사하였거나(Ralt et al., 1991, 1994; Eisenbach and Turkaspa 1994), 난포액이 들어있는 chamber를 이용하였다(Villanueva-Diaz et al., 1995; Jaiswal et al., 1999). 또한 체외 수정을 위한 정자의 처리에 있어서 신선 난포액과 비활성화된 난포액을 이용하는 문제와 채취된 난포액 모두가 정자의 유인능 및 운동성에 같은 영향을 미치는지는 아직 밝혀지지 않았다. 이에 본 연구에서는 모세관을 이용함으로써 정자들이 난관내로 이동하는 것을 모방하여 기존 연구들과는 다른 방법으로 난포액 sample 및 처리 방법 사이에 사람 정자에 대한 유인능과 운동성에 난포액의 영향 및 난포액의 처리 방법에 의한 정자의 유인능 및 운동성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

정액검사를 위하여 병원에 내원한 환자로 부터 채취한 정액을 37°C warm plate에서 액화한 다음, 현미경하에서 Makler counting chamber(Sefi Medical Instruments, Israel)로써 정자의 수와 운동성을 계산하였다. WHO(1999)의 규정에 의거하여 정상 소견을 보이는 환자의 정액을 10 ml의 hepes-buffered human tubal fluid에서 500 xg로 10분 동안 원심분리하여 세척한 다음, 분리된 정자괴를 실험에 사용하였다.

2. 난포액의 준비

시험관 아기 시술을 위한 과배란 유도는 follicle stimulating hormone(FSH)/human menopausal gonadotrophin(hMG)과 gonadotrophin-releasing hormone(GnRH, Superfact, Serono, USA)

agonist를 병용하여 사용한 환자들을 대상으로 난포의 크기가 18 mm이상의 난포가 적어도 2개 이상이 자란 환자에서 human chorionic gonadotrophin(hCG, Profaci, Serono, USA) 투여 36시간 후 질식 초음파 유도하에 난자와 함께 채취된 난포액 중에서 육안적으로 혈액이 포함되어 있지 않은 두 sample을 골랐다. 27세의 여성의 난관 장애(tubal factor)로 내원한 환자에서 채취한 sample A 및 29세의 남성 측의 불임요인(male factor)으로 내원한 환자에서 채취한 sample B의 난포액을 각각 2000 xg에서 30분간 원심분리하여 부유물질을 제거하였다. 이들 sample을 각각 두 부분으로 나누어 절반은 56°C에서 30분 동안 불활성화 처리를 하였는데 신선 난포액과 불활성화 처리 난포액 모두 0.8 µm filter(Millipore, USA)로써 여과한 다음, 0.2 µm filter(Millipore, USA)로써 다시 여과하여 사용할 때까지 -20°C로 냉동 보관하였다. 그리고 난포액 sample A의 일부는 100°C에서 3분간 가열한 다음 실험에 사용하였다.

3. 실험 방법

1) 난포액내 호르몬의 농도, 단백질의 분석

난포액 내 leteinizing hormone(LH), FSH 농도는 ACS:180 (Ciba coming, USA)를 이용하여 분석하였고, estradiol-17β 및 progesterone은 radioimmunoassay(RIA) 방법을 사용하여 분석하였다. 또한 총단백질량은 DADE(Dimension, USA)를 이용하여 측정하였으며 Table 1에 나타난 바와 같다. 그리고 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)는 Laemmli(1970)의 방법에 의해 수행하였다. Separating gel은 7.7% acrylamide(Bio-rad, USA), 그리고 stacking gel은 4% acrylamide로써 제조하여 사용하였다. Sample lysis buffer는 0.125M Tris-HCl에 4% SDS, 10% mercaptoethanol (Bio-rad, USA), 20% glycerol, 0.004% bromophenol blue가 첨가된 것을 전기영동 직전에 sample과 1:1로 섞어 사용하였다. 전기영동은 well 당 10 µl의 시료를 loading하여 Mighty Small Kit(Hoefer, USA)로써 200 V에서 1시간 동안 전개하였다. Running buffer로는 0.25M Tris, 1.92M glycine, 1% SDS(pH 8.3)가 혼합된 용액을 사용하여 Fig. 1과 같이 분석하였다.

2) 정자에 대한 유인능 및 운동성 조사

본 실험의 방법은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 우선 내경 1.1~1.2 mm, 외경 1.5~1.6 mm의 헤파린 미처리 모세관(Chase, U.S.A.)을 길이 4.5 cm로 균일하게 잘랐다. 이것의 한 쪽 부분을 wax로 봉한 다음 반대편 끝에서 m-HTF 혹은 hFF를 wax

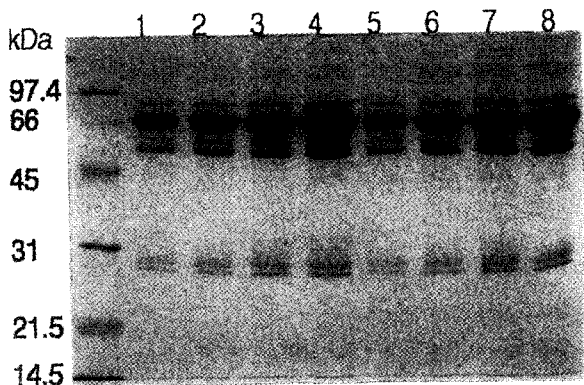


Fig. 1. SDS-PAGE of hFF samples. Lane 1,2,3, and 4, sample A; lane 5, 6, 7, and 8, sample B.

로 봉한 지점으로부터 2 cm 지점까지 미세유리관을 사용하여 조심스럽게 주입하였다. 이어 모든 모세관의 나머지 부분을 m-HTF로써 입구까지 채웠다. 이렇게 준비된 모세관을 60 mm 배양접시(Corning, USA)에 놓은 후, 10 ml의 m-HTF를 채운 다음 세척된 정자피를 wax로 봉해진 모세관에 가까운 배양접시의 가장자리에 조심스럽게 주입하였다. 이 배양접시를 1, 2 및 4시간 동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양한 다음 tube 속에 있는 각각의 sample을 10 µl씩 gel loading pipette으로 채취하여 Markler counting chamber에서 정자의 수와 운동성을 조사하였다. 활발한 직진 혹은 곡선 운동성을 보이는 정자를 운동성을 가진 정자로 분류하였는데, 각각의 처리군들은 5명의 환자 정액을 사용하여 적어도 5번 이상 반복하였다.

4. 통계학적 분석

실험 결과의 통계학적 분석은 Microsta computer statistical program package를 사용하여 운동성을 가진 정자의 비율은 Chi-square test로, 유인된 정자의 수는 Student's t-test를 실시하여 처리군 간의 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 난포액 sample의 영향

정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 난포액 sample의 영향을 조사하고자 난포액 sample A, B, 가열 처리된 난포액 및 m-HTF를 함유하고 있는 모세관을 정자와 함께 배양접시에서 1, 2 및 4 시간 동안 각각 배양한 결과 유인된 정자의 수는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 유인된 정자의 증가 비율 기

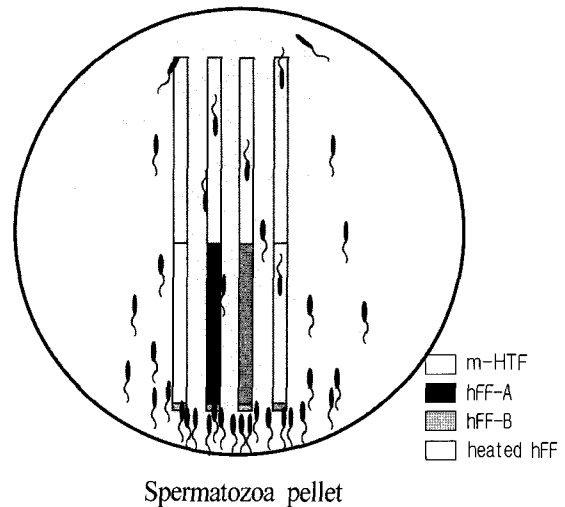


Fig. 2. Schematic diagram of tubes injected with hFF sample A, hFF sample B, m-HTF and heated hFF were incubated in the 60 mm culture dish containing 10 ml m-HTF with spermatozoa pellet for 1, 2, and 4h, respectively.

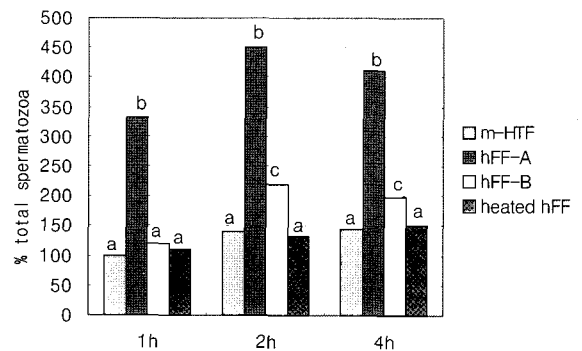


Fig. 3. The percentage of total human spermatozoa attracted into tubes containing m-HTF or hFF after incubation for 1, 2, and 4h. The percentage of total spermatozoa after 1h incubation in tubes containing m-HTF was considered as 100%. The same letters on the bars represent no significance by Chi-square test(P<0.05).

준은 m-HTF를 함유하고 있는 모세관을 1시간 동안 배양하였을 때 모세관내 정자수를 기준(100%)으로 계산하였다. m-HTF가 함유된 모세관에서 2 및 4시간 동안 정자의 증가된 비율은 각각 100, 140 및 144%를 나타내었다. 난포액 sample A에서는 배양 1, 2 및 4시간 후 유인된 정자 비율은 각각 332, 450 및 412%로 증가된 반면, 난포액 sample B에서는 120, 220 및 196%, 가열 처리된 난포액에서는 108, 133 및 150%의 증가율을 보여 m-HTF, 난포액 sample B 및 가열 처리된 난포액 A보다 난포액 sample A에서 유인된 정자 비율이 유의적으로(P<0.05) 높았다.

또한 시간별로 모세관내로 유인된 정자 중에서 운동성을

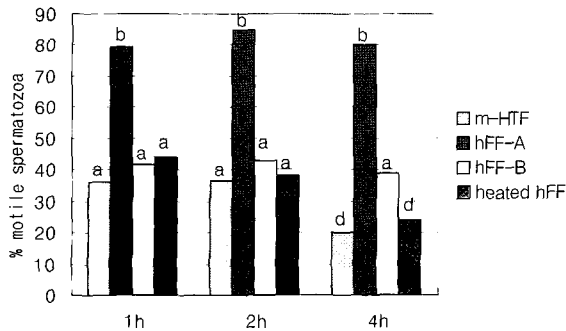


Fig. 4. The percentage of motile spermatozoa into tubes containing m-HTF or hFF for 1, 2, and 4h. Percentages were calculated by a ratio of motile/total spermatozoa. The same letters on the bars represent no significance by student's t-test ($P < 0.05$).

가진 정자의 비율을 조사한 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같다. m-HTF를 함유하고 있는 모세관에서는 1, 2 및 4시간 후 유인된 정자 중에서 운동성을 가진 정자의 비율은 각각 36, 36.5 및 20%를 나타냈다. 난포액 sample A에서는 79.3, 84.2 및 80.1%의 정자가 운동성을 가지고 있는 반면에, 난포액 sample B에서는 41.5, 42.8, 39.1%, 가열처리된 난포액에서는 44.1, 38.1 및 24.0%의 정자가 운동성을 가지고 있어, m-HTF 배양액, 난포액 sample B 혹은 가열 처리한 난포액 A보다 난포액 sample A에서 운동성을 가진 정자의 비율이 유의적으로 ($P < 0.05$) 높게 나타났으며, 1시간 동안 배양한 것 보다 2시간 및 4시간에서 운동성 정자의 비율이 유의적으로 ($P < 0.05$) 높게 나타났다.

2. 난포액의 처리 방법이 정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 영향

난포액 처리 방법이 정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 영향을 조사하고자 신선 및 불활성화 난포액 hFF sample A를 0.22 혹은 0.8 μm filter로써 여과한 다음 이들을 함유한 모세관을 20 $\times 10^6$ cells의 정자가 포함된 10 ml의 m-HTF가 들어있는 60 mm 배양접시에서 2시간 동안 배양한 결과는

Table 2. Total and motile human spermatozoa attracted into tubes containing fresh or inactivated hFF after incubation for 2h

Treatment	Filter size (μm)	No. of spermatozoa $\times 10^5$ (mean \pm SEM)	
		Total	Motile (%)
Fresh	0.22	16.3 \pm 9.8 ^a	14.1 \pm 9.4 (86.5) ^a
	0.8	12.4 \pm 6.3 ^a	11.4 \pm 5.7 (91.9) ^a
Inactivated	0.22	15.1 \pm 7.7 ^a	13.0 \pm 8.8 (86.0) ^a
	0.8	11.6 \pm 5.9 ^a	10.5 \pm 4.3 (90.6) ^a

* hFF was filtered with 0.22 or 0.8 μm syringe filter.

Table 2에 나타난 바와 같다. 0.22 또는 0.8 μm filter로써 여과한 신선 난포액에 유인된 정자의 수는 각각 16.3 \pm 9.85 또는 12.3 \pm 9.85 $\times 10^5$ cells/ml이었고, 이중 운동성을 가진 정자의 비율은 86.5 및 91.9%이었다. 또한 0.22 또는 0.8 μm filter로써 여과된 불활성화 처리 난포액에 유인된 정자의 수는 각각 15.1 \pm 7.72 또는 9.6 \pm 5.92 $\times 10^5$ cells/ml이었으며, 이중 운동성을 가진 정자의 비율은 86.0 및 90.6%이었다. 신선 또는 불활성화 처리 난포액 그리고 0.22 또는 0.8 μm 의 filter 크기에 따른 난포액 처리간에 정자에 대한 유인능 및 운동성에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

고찰

이러한 실험 결과로 미루어 볼 때 난포액 sample A에는 정자를 유인하는 물질뿐만 아니라 정자의 운동성을 자극하거나 그 운동성을 유지시켜 주는 성분들이 포함되어 있다고 사료되는데 이는 사람 난포액이 정자를 활성화하고 유인하는 능력을 가지고 있다고 보고한 Ralt 등(1991) 및 Villanueva-Diaz 등(1992)의 보고와 일치한다. Mendoza와 Tesarik(1990), Mbizvo 등(1990)은 배양액에 첨가되는 난포액의 농도를 20% 정도로 하였을 경우, 운동성을 가진 정자 및 과활성화된 정

Table 1. Hormones and total protein contents of samples of follicular fluid

hFF	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	Estradiol-17 β (ng/ml)	Progesterone (ng/ml)	Progesterone /E2	Total protein (pg/dl)
Sample A	1.6 ^a	14.8 ^a	444.5 ^a	6500 ^a	14.63 ^a	5.7 ^a
Sample B	1.2 ^a	13.7 ^a	815.5 ^b	9700 ^b	11.90 ^b	4.9 ^a

* Sample A, tubal factor; sample B, male factor

** The same letters on the bar represent no significance by Chi-square test ($P < 0.05$).

자의 수가 증가하였다고 하였다.

난포액에는 호르몬뿐만 아니라, insulin-like growth factor (IGF), epidermal growth factor(EGF), transforming growth factor (TGF) 및 cytokine 등 많은 종류의 단백질이 포함되어 있는데, 난포의 크기에 따라 스테로이드 호르몬이나 단백질의 조성이 변할 수 있으며(Spitzer et al., 1996), 사람의 성숙 난포와 미성숙 난포에서 채취한 난포액의 단백질 구성 성분과 농도 등에는 차이가 있음을 보고하고 있다(Dardik et al., 1993). 시험관 아기 수술에서 임신, 비임신 환자로부터 채취한 난포액이 생쥐 수정란의 체외 발달을 촉진 혹은 저해할 수 있다고 하는데(Abusa-Musa, 1994), 환자에 따라 또는 과배란 처리 등의 방법에 따라 호르몬 및 단백질의 농도가 달라질 수 있다고 생각된다. 난포액 sample A와 B 간에는 정자에 대한 유인능과 운동성에 미치는 영향에 유의적인 차이가 있었는데 이들 두 sample의 몇 가지 호르몬 농도 및 총 단백질량은 Table 1과 같으며 단백질 양상은 Fig. 1에 나타난 바와 같다. LH, FSH 및 총단백질은 여성의 난관 장애(tubal factor)로 내원한 환자에서 채취한 sample A에서 높게 나타났으나 유의적인 ($P < 0.05$) 차이가 없었으며, estradiol-17 β 및 progesterone은 남성 측의 불임요인(male factor)으로 내원한 환자에서 채취한 sample B에서 유의적으로($P < 0.05$) 높게 나타났다. 또한 estradiol-17 β 에 대한 progesterone의 비율은 sample A 및 sample B에서 각각 14.63 및 11.90이었으며, sample A에서 유의적으로 ($P < 0.05$) 높게 나타났다. 한편 Fig. 3에서 보는 바와 같이 두 난포액 sample의 단백질 양상은 서로 다른 특이한 차이점이 없었으며, 분자량 66 kDa인 albumin 성분이 가장 많이 포함되어 있었다.

불임 남성의 정자들은 progesterone에 대해 미약한 주화성 및 과활성을 보여 준다는 보고들이 있다(Tesarik & Mendosa 1992; Oehninger et al., 1994; Baldi et al., 1995). 또한 Sliwa (1995)와 Villanueva-Diaz et al.(1995)은 난포액에 존재하는 progesterone이 정자를 유인하는 양성 주화성을 나타낸다고 보고하고 있지만, 한편으로 Ralt et al.(1991)은 난포액에 의한 정자의 주화성은 단지 progesterone에 의해서만 유지되는 것이 아니라고 하였고, Jeon et al.(2001)도 progesterone이 정자의 주화성에는 영향을 미치나 운동성에는 영향을 미치지 않는다고 하였다. 정자의 주화성 혹은 운동성의 분석에 사용하는 progesterone의 농도는 200 $\mu\text{g/ml}$ 이다(Jeon et al., 2001). 그러나 본 실험에서 사용한 두 sample의 progesterone 농도는 sample A에서 6.5 $\mu\text{g/ml}$, sample B에서 9.7 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, progesterone의 농도가 더 많지 않은 sample A에서 더 좋은 결과를 나타냈다.

난포액의 비활성화 처리 또는 filter 크기에 따라 정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 영향을 비교한 선행 연구가 없어 직접적인 비교는 할 수 없으나, Chao et al.(1991)은 난포액 내의 사람 정자의 운동성을 자극하는 성분이 있으며 이러한 성분은 열에 불안정하다고 하였다. Ijaz et al.(1994)도 소의 난관상피세포, 과립막세포 그리고 난포액에는 정자의 운동성을 향상시키는 열에 불안정하며 정자의 원형질막을 투과하지 않는 성분이 있다고 하였다. 이러한 성분은 8 kDa 정도의 분자량을 가지고 있으며, 55 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안의 가열처리는 변성을 유발하지 않았으나, 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 동안의 가열처리는 이러한 성분의 변성을 일으켜 정자의 운동성에 영향을 미쳤다고 한다. 돼지 난포액내 52 kDa의 당단백질 성분이 돼지 정자의 운동성을 증가시킨다고 하였고, 소에 있어서는 난포액내 67 kDa의 단백질 성분이 소 정자의 운동성을 향상시킨다는 보고가 있다(Ijaz et al., 1994; 박, 1997). 또한 Ravnik et al.(1990)은 사람 난포액 내 존재하는 60~70 kDa의 단백질이 정자의 운동성을 자극한다고 보고하였다. 본 실험에서도 100에서 5분 동안 가열처리된 난포액 sample A에서 정자의 유인능 및 운동성이 현저히 감소함을 보여주고 있다. 이 역시 가열 처리로 인한 난포액 성분 중 정자를 유인 및 운동성에 영향을 주는 성분의 변성이 일어난 것으로 사료된다. 그러나 신선 난포액과 56 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 가열처리에 의한 불활성화 처리 간에 정자에 대한 유인능 및 운동성에 있어 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나 난포액에 대한 이러한 불활성화 처리 방법은 정자에 대한 유인능 및 운동성에 영향을 미치는 성분의 변성은 유발하지 않을 것으로 생각된다. 0.22 혹은 0.8 μm filter로써 여과된 난포액은 정자에 대한 유인능 및 운동성에 영향을 주지 않았다. 이는 0.8 μm filter로 여과한 후 0.22 μm filter는 여과하는 과정에서 난포액내의 단백질 농도가 감소하였을 가능성이 있으나, filter의 크기에 따른 정자의 유인능 및 운동성에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

이상의 결과에서 난포액이 정자를 유인하는 주화성 물질뿐만 아니라 정자의 운동성에 영향을 미치는 성분이 포함되어 있다고 사료되며 난포액 sample 간에 정자에 대한 유인능 및 운동성에 미치는 영향은 차이가 있었다. 난포액내 progesterone의 농도보다는 어떤 다른 성분이 정자의 유인능 및 운동성에 영향을 주는 것으로 판단되나, 난포액내에 어떤 성분이 이러한 특성에 영향을 미치는지는 더욱 연구되어야 할 부분이며, 난포액의 불활성화 처리는 정자의 유인능 및 운동성에 영향을 주지 않았다. 그리고 체외 수정시 정자의 처리로 사용하는 난포액은 사전에 그 영향들을 조사한 후 사용하는 것이 바람직하다고 사료된다.

인용문헌

- Abusa-Musa A, Takahashi K, Okada S, Sakoda R, Kaito M (1994) Serum from patients with threatened abortion: Effect of *in vitro* development of mouse embryos. *J Reprod Med* 39:10-12.
- Baldi E, Kruaz C, Forti G (1995) Nongenomic actions of progesterone on human spermatozoa. *Trends Endocrinol Metab* 6:198-205.
- Chao HT, Ng HT, Kao SH, Wei YH, Hong CY (1991) Follicular fluid stimulates the motility of washed human sperm. *Arch Androl* 1991 26:61-65.
- Dardik A, Doherty AS, Schultz RM (1993) Protein secretion by the mouse blastocyst: Stimulatory effect on secretion into the blastocoel by transforming growth factor. *Reprod Dev* 34:396-401.
- Eisenbach M, Tur-Kaspa I (1994) Human sperm chemotaxis is not enigmatic anymore. *Fertil Steril* 62:233-235.
- Fabbri R, Porcu E, Lenzi A, Gandini L, Marsella T, Flamigni C (1998) Follicular fluid and human granulosa cell cultures: influence on sperm kinetics parameters, hyperactivation and acrosome reaction. *Fertil Steril* 69:112-117.
- Gnessi L, Ruff MR, Fraioli F, Pert CB (1985) Demonstration of receptor-mediated chemotaxis by human spermatozoa. A novel quantitative bioassay. *Exp Cell Res* 161:219-230.
- Hernandez Alvarado SR, Guzman-Grenfell AM, Hicks Gomez JJ (1995) Communication of gamete at distance: Chemotaxis and chemokinesis in spermatozoa in mammals. *Gynecol Obstet Mex* 63:323-329.
- Hong CY, Chao HT, Lee SL, Wei YH (1993) Modification of human sperm function by human follicular fluid : a review. *Int J Androl* 16:92-96.
- Ijaz A, Lambert RD, Sirard M (1994) In vitro cultured bovine granulosa and oviductal cells secrete sperm motility-maintaining factor(s). *Mol Reprod Dev* 37:54-60.
- Jaiswal BS, Tur-Kaspa I, Dor J, Mashiach S, Eisenbach M (1999) Human sperm chemotaxis: is progesterone a chemo-attractant? *Biol Reprod* 60:1314-1319
- Jeon BG, Moon JS, Kim KC, Lee HJ, Choe SY, Rho GJ (2001) Follicular fluid enhances sperm attraction and its motility in Human. *J Ass Rep Gen* 18:407-421.
- Krausz CS, Gervasi G, Forti G, Baldi E (1994) Effect of platelet-activating factor on motility and acrosome reaction of human spermatozoa. *Hum Reprod* 9:471-477.
- Kulin S, Bastians BA, Hollanders HMG, Janssen HJG, Goverde HJM (1994) Human serum and follicular fluid stimulate hyperactivation of human spermatozoa after preincubation. *Fertil Steril* 62:1234-1237.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.
- Makler A, Blumenfeld Z, Stoller J, Yoffe N, Reicheler A (1995) Inability of human sperm to change their orientation in response to external chemical stimuli. *Fertil Steril* 63:1077-1080.
- Mbizvo MT, Burkman LJ, Alexander NJ (1990) Human follicular fluid stimulates hyperactivated motility in human sperm. *Fertil Steril* 54:708-712.
- Mendoza C, Tesarik J (1990) Effect of follicular fluid on sperm movement characteristics. *Fertil Steril* 54:1135-1139.
- Oehninger S, Blackmore PF, Morshedi M, Sueldo C, Acosta AA, Alexander NJ (1994) Defective calcium influx and acrosome reaction (spontaneous and progesterone induced) in spermatozoa of infertile men with severe teratozoospermia. *Fertil Steril* 61:349-354.
- Ralt D, Goldenberg M, Fetterolf P, Thomson D, Dor J, Mashiach S, Garbers DL, Eisenbach M (1991) Sperm attraction to a follicular factor(s) correlates with human egg fertilizability. *Proc Natl Acad Sci* 88:2840-2844.
- Ralt D, Manor M, Cohen-Dayag A, Tur-Kaspa I, Ben-Shlomo I, Makler A, Yuli I, Dor J, Blumberg S, Mashiach S (1994) Chemotaxis and chemokinesis of human spermatozoa to follicular factors. *Biol Reprod* 50:774-785.
- Ravnik SE, Zarutskie PW, Muller CH (1990) Lipid transfer activity in human follicular fluid relation to human capacitation. *J Androl* 11:216-226.
- Ricker DD, Minhas BS, Krumar R, Robertson JL, Dodson MG (1989) The effects of platelet activating factor on the motility of human spermatozoa. *Fertil Steril* 52:655-658.
- Siegel MS, Graczykowski JW (1991) Influence of porcine follicular fluid on the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Fertil Steril* 55:1204-1206.
- Sliwa L (1995) Effect of some sex steroid hormones on human

- spermatozoa migration *in vitro*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio 58:173-175.
- Spitzer D, Murach KF, Lottspeich F, Staudach A, Illmensee K (1996) Different protein patterns derived from follicular fluid of mature and immature human follicles. Hum Reprod 11: 798-807.
- Tesarik J, Mendoza C (1992) Defective function of a nongenomic progesterone receptor as a sole sperm anomaly in infertile patients. Fertil Steril 58:793-797.
- Villanueva-Diaz C, Arias-Martinez J, Bermejo-Martinez L, Vadillo-Ortega F (1995) Progesterone induces human sperm chemotaxis. Fertil Steril 64:1183-1188.
- World Health Organization (1999) Laboratory for the examination of human serum and semen-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press, New York. pp 4-25.
- 박영식 (1997) 소 정자의 운동성에 영향을 미치는 난포액 성분에 관한 연구. 한국수정란이식학회지 12:219-226.