: 30 2 2003
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 30, No. 2, 2003, 6

Cell Soft System-3000과 Sperm Quality Analyzer-V를 이용한 정자 운동성 비교 분석

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

박용석[1] · 이선희[1] · 한상철[1] · 궁미경[2] · 김종우[3] · 서주태[3]

Comparative Analysis of Sperm Motility Using Cell Soft System-3000 and Sperm Quality Analyzer-V

Yong-Seog Park[1], Sun Hee Lee[1], Sang Chul Han[1], Mi Kyoung Koong[2], Jong Woo Kim[3], Ju Tae Seo[3]

[1]Laboratory of Reproductive Biology and Infertility, [2]Department of Obstetrics and Gynecology, [3]Department of Urology, Samsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Objective: To evaluate the results of CASA systems and to compare its results.

Methods: Fifty semen sampales were analysed. Concentration, motility and forward progression were evaluated simultaneously on the same semen samples using Cell Soft System-3000 (CS system) and Sperm Quality Analyzer-V (SQA system).

Results: Mean semen volume was 2.8±1.2 ml. Mean value of sperm concentration, motility, forward progression using CS system were 83.4±45.7×10^6/ml, 52.3±16.4% and 48.6±13.4%, respectively. And mean value of sperm concentration, motility, forward progression using SQA system were 78.2±42.9×10^6/ml, 57.0±24.0% and 50.6±21.9%, respectively. There were no statistical significancy of sperm concentration, motility, forward progression between the two devices.

Conclusion: SQA system variables well correlated with the CS system. As a screening test for semen quality, CS system and SQA system is considered as useful in the management of male infertility.

Key Words: Semen analysis, Motility, Forward progression, CASA, SQA

정액검사는 남성불임을 진단하는데 있어서 가장 먼저 시행하는 기본이 되는 중요한 검사이다. 정액 내 정자 운동성의 표준적이며 정확하고 정밀한 검사는 남성불임 진단 예후와 결과를 향상시킬 수 있다.[1] 그 중에서도 정자의 운동성은 정자의 수정능력을 예측할 수 있는 중요한 인자 중 하나인데 이러한 정자의 운동성을 측정하는 방법은 현미경을 이용한 육안관찰법과 컴퓨터를 이용한 측정 방법 두 가지가 있다. 그러나 육안관찰법은 정자의 운동성을 정확하고 구체적으로 분석할 수 없으므로 이러한 문제점을 보완하기 위하여 컴퓨터를 이용한 정자분석기 (CASA; Computer Assisted Sperm Analyser, 이하 CASA)를 통해 정자의 운동성 등을 분석한다. 특히, 컴퓨터 정자분석기는 육안관찰법으로 측정이

연락저자: 박용석, 우) 100-380 서울특별시 중구 묵정동 1-19, 성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실
Tel: (02) 2000-7592, Fax: (02) 2265-5621, e-mail: arkangel@daum.net
주관책임자: 서주태, 우) 100-380 서울특별시 중구 묵정동 1-19, 성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 비뇨기과
Tel: (02) 2000-7585, Fax: (02) 2265-5621, e-mail: jtandro@samsung.co.kr

불가능한 정자의 운동 속도와 운동 형태를 분석할 수 있다.

CASA system의 대표적 장점은 높은 정확도와 정자 운동성의 다양한 형태에 대한 양적 자료 제공이라 할 수 있다.[2] 그러나 이러한 CASA system은 임상진단의 수단으로 사용될 수 있으나 절대적인 결과를 나타낼 수 없으므로 불임 환자의 진단을 위해서는 숙련된 검사자가 CASA system의 단점을 보완해야 한다.[1] 현재 이용되고 있는 CASA system은 각 제조사별로 분석하는 제한범위 (parameter)와 각각의 허용범위가 다르므로 보다 구체적이고 정확한 결과를 얻기 위해서는 이들에 대한 비교, 검색을 시행하여 각 실험실별로 기준을 만드는 것이 필요하다 하겠다.

이에 본 연구에서는 현재 사용되고 있는 2종류의 CASA system을 이용하여 각각의 분석 결과를 비교조사, CASA system의 효용성을 확인하고자 한다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

삼성제일병원 불임클리닉에 내원한 불임이 의심되는 환자 50명을 대상으로 정액을 채취한 후 2종류의 CASA system을 이용하여 정액검사를 시행하였으며 정액검사 결과 기준은 WHO 기준을 따랐다.

2. 연구 방법

환자별로 채취된 정액을 실온에서 30분간 정치시켜 액화 (liquefaction)시킨 후 Cell Soft System-3000 (Cryo Resources Inc., NY, USA, 이하 CS-3000) system과 Sperm Quality Analyzer-V (Medical Electronic Systems, Ltd., Caesarea, Israel, 이하 SQA) system를 각각 이용하여 운동성 분석 결과를 비교하였다. 비교 분석한 항목은 농도 (concentration), 운동성 (motility), 직진운동성 (forward progression)을 관찰하였으나, 각 분석 장비마다 제한범위 (parameter)에 대한 허용범위가 다르므로 단순 비교는 어려운 형편이다.

1) Cell Soft System - 3000 (CS - 3000) system을 이용한 운동성 측정

액화된 정액 5 μl를 Makler Chamber에 떨어뜨린 뒤 CS-3000 system을 이용하여 정자의 농도, 운동성 및 직진운동성을 관찰하였다. 그러나 CS-3000 system의 경우, 일반적으로 CASA system에서 측정하는 curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL), average path velocity (VAP) 등의 운동성 측정변수는 표시되지 않으며, 직진운동성을 0에서 4까지 4단계로 나누어 분석하여 나타냈다. 그리고 얻어진 결과를 백분율 (%)로 환산하여 검산하였다.

2) Sperm Quality Analyzer - Ⅴ (SQA) system을 이용한 운동성 측정

액화된 정액을 SQA system의 사용자 지침에 따라 정자의 농도, 운동성 및 직진운동성을 관찰하였다. SQA system은 장비에 포함된 1회용 capillary로 정액을 흡인한 후 본체 화면에 나오는 순서에 따라 분석하였다. 이 장비는 정자 농도와 운동성을 가진 정자의 전체 수를 환산하여 나타내고 있으며, 정상형태 분석 결과도 나타낸다. 그러나 이 장비 역시 일반적으로 CASA system에서 측정되는 것으로 알려진 curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL), average path velocity (VAP) 등의 운동성 측정변수는 표시되지 않는다.

분석된 결과의 통계처리는 Student T-test 방법을 사용하였으며, $p<0.05$일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

총 50명의 환자들로부터 정액을 채취하여 Cell Soft System-3000 (CS-3000) system과 Sperm Quality Analyzer-V (SQA) system를 이용하여 정액검사를 실시하였다. 정액의 평균 양은 2.8±1.2 ml였으며, CS-3000 system을 이용하여 측정한 결과 정자의 농도, 운동성 및 직진운동성은 각각 83.4±45.7×10^6/ml, 52.3±16.4% 그리고 1.9로 백분율로 환산시 48.6±13.4%였다. SQA system을 이용하여 측정한 결과 정자의 농도, 운동성 및 직진운동성은 각각 78.2±42.9×10^6/ml, 57.0±24.0% 그리고 50.6±21.9%를 나타내었다.

전체 정자의 농도를 비교 분석한 결과 CS-3000 system과 SQA system는 각각 83.4±45.7×10^6/ml과 78.2±42.9×10^6/ml를 나타내 CS-3000 system에서 분석한 전체 정자의 농도가 높은 것으로 나타났으나

Table 1. Comparison between CS-3000 system and SQA system

	CS-3000	SQA	P-value
Total count (10^6/ml)	83.4±45.7	78.2±42.9	NS
Motility (%)	52.3±16.4	57.0±24.0	NS
Forward progression (%)	48.6±13.4	50.6±21.9	NS

NS: not significant

통계적으로 유의한 차이는 없었다 (p>0.05). 이러한 차이는 분석 장비에 따라 필요한 정액의 양이 다르고 현미경의 빛에 노출되는 상태에 따라 다른 것으로 판단된다.

운동성 측정 결과, CS-3000 system과 SQA system는 각각 52.3±16.4%와 57.0±24.0%를 나타내어 SQA system에서 운동성이 약간 높은 것으로 나타났으나, 전체 운동성 정자의 숫자는 WHO의 기준 (>50%)을 넘는 것으로 확인되어 두 장비간에 운동성 분석 결과에는 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 확인되었다.

직진운동성의 경우, CS-3000 system은 0에서 4까지 4단계로 나누어 분석하여 나타냈다. 이 장비에서 직진운동성은 평균 1.9를 나타냈는데 이를 백분율(%)로 환산하여 확인한 결과 48.6±13.4%을 나타냈으며, SQA system에서 직진운동성은 50.6±21.9%를 나타내었다. 두 장비간에 직진운동성을 분석한 결과 WHO의 정상 기준인 25% 이상을 초과하고 두 군간의 결과에 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 확인되었다.

고 찰

최근 인간 정자의 운동성 특성을 객관적으로 판단하기 위한 다양한 기술들이 도입되었다. 정자의 운동성은 정자의 수정능력을 예측할 수 있는 주요한 인자로 정자의 운동성을 측정하는 방법은 육안으로 직접 관찰하는 방법과 컴퓨터를 이용한 측정 방법 두 가지가 있다.

육안으로 관찰하는 방법은 크게 두 가지가 있는데 하나는 고배율 현미경 하에서 무작위로 선택한 10개의 시야에서 활동성 있는 정자를 세어 백분율(%)로 계산하는 방법과 운동성을 0에서 4등급으로 나누어 정자 운동성의 질적 운동성과 직진성을 평가하는 방법이다. 후자의 경우, 현미경 하에서 체계적으로 탐색하여 각 정자의 운동성을 a) 빠른 항진 운동, b) 느리거나 완만한 항진 운동, c) 비항진 운동, d) 비운동성 등으로 나눈다.

그러나 이러한 육안관찰법은 관찰자의 숙련도에 따라 주관적이고 정확한 판독을 내릴 수 없을 뿐만 아니라 정자의 운동성을 정확하고 구체적으로 분석할 수 없으므로 이러한 문제점을 보완하기 위하여 컴퓨터를 이용한 정자분석기 (CASA; Computer Assisted Sperm Analyser, 이하 CASA)를 이용하여 정자의 운동성 등을 분석한다. 특히, 기존 육안관찰법으로 측정이 불가능한 정자의 운동 속도와 운동 형태를 분석할 수 있다.

CASA system은 정자 농도, 운동성 정자의 비율 그리고 매개변수를 특정 짓는 형태, 운동궤도를 따르는 정자 두부 움직임의 활력 측정 등을 나타낸다. IVF 시술에서 수정률을 분석한 결과, CASA를 이용한 정자의 수정능 평가가 신뢰할만한 결과라는 보고가 있으며,[3] 많은 연구자들에 의해 CASA를 이용한 정자의 운동성과 IVF 시술 결과가 상관관계가 있다는 것이 보고되었다.[4-7] 그러나 이러한 장점에도 불구하고 CASA system을 전적으로 사용하기에는 몇 가지 문제점이 있다. 첫째, 가격이 매우 비싸다는 점이고, 둘째, 분석 결과에 대한 숙련자의 평가가 병행되어야 한다는 점이다.[2] CASA system을 이용한 정자 농도 측정의 정확도는 정액내에 존재하는 세포물질과 미립물질에 의한 영향도 받으므로 CASA system을 이용한 정자 농도 측정 결과를 절대적으로 이용하는 것은 피해야 할 사항이다. CASA system을 이용한 활력 정자의 비율 측정은 정액내 비정자 물질도 처리하기 때문에 이런 물질로부터 정자를 정확히 구별하기에는 어려움이 있다. 그리고,

CASA system은 정자 운동성의 변수가 온도에 민감하기 때문에 37℃ 온도 유지가 필요하다.[1] 또한 육안을 통한 활력 정자의 관찰은 종종 정자가 전진 이동하지 않더라도 편모운동의 존재를 관찰할 수 있다. 이러한 이유로 CASA system을 이용한 분석 결과와 육안관찰법을 이용한 정자의 운동성 비율은 다를 수 있으므로 전체 운동성 비율은 육안관찰법으로 직접 평가를 하고, CASA system 분석으로 얻어진 결과를 첨가하는 것이 필요하다.

따라서 현재 사용되고 있는 CASA system들의 각각 특성을 확인하고 각 제조사별로 분석하는 제한범위 (parameter)와 그 각각에 대한 허용범위가 다른 CASA system의 이용 효율을 높이고, 보다 구체적이고 정확한 결과를 얻기 위해 두 종류의 CASA system을 분석하였다. 본 연구에 사용된 장비 중 하나인 SQA system은 일체형 분석기로 전체 정자 수 (total sperm concentration (TSC)), 운동성 비율 (% of motility), 직진운동성 비율 (% of progressive motility), 정상 형태 비율 (% of normal morphology), 운동성 정자 수 (motile sperm concentration (MSC)) 그리고 직진운동 정자 수 (progressively motile sperm concentration (PMSC)) 등을 분석하여 나타내고 있다.

두 장비를 비교 분석한 결과, 전체 정자의 농도에서 약간의 차이가 확인되었는데 이는 각 장비에 따라 분석에 필요로 하는 정액 양이 틀리므로 이에 따른 영향과 현미경 하에서 오래 노출될 경우 정자의 수와 운동성의 결과 판독에 차이가 발생하는 등의 원인 때문인 것으로 사료된다. 운동성 측정 결과, CS-3000 system과 SQA system에서 측정한 전체 운동성 정자의 숫자는 WHO의 기준 (>50%)을 넘는 것으로 확인되어 두 장비간에 운동성 분석 결과에는 차이가 없는 것으로 확인되었으며 CASA system에서 측정되는 것으로 알려진 curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL), average path velocity (VAP) 등의 운동성 측정변수는 CS-3000 system의 경우 측정되지 않았으나 SQA system에서 이들을 분석하고 여러 연구자들에 의해 계속적으로 개발되어 왔다.[8,9] 직진운동성에서도 두 장비간에는 분석 결과에서 차이가 없는 것으로 확인되었다.

이상의 결과에서 육안적 관찰과 병행하여 CASA system을 이용한 정자의 농도, 운동성, 직진운동성을 비교한 결과, 두 장비간의 결과에는 큰 차이가 없었으며, 이들을 이용한 남성불임 진단에서 적절한 결과를 기대할 수 있다.

감사의 글

본 연구를 위해 많은 도움을 아끼지 않은 연구실의 김경월, 이현정님께 감사의 말씀을 드립니다.

참 고 문 헌

1. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge. 1999.
2. Suzuki T, Shibahara H, Tsunoda H, Hirano Y, Taneichi A, Obara H, et al. Comparison of the Sperm Quality Analyzer IIC variables with the computer-aided sperm analysis estimates. Int J Androl 2002; 25: 49-54.
3. Hirano Y, Shibahara H, Obara H, Suzuki T, Takamizawa S, Yamaguchi C, et al. Relationships between sperm motility characteristics assessed by the computer aided sperm analysis (CASA) and fertilization rates in vitro. J Assist Reprod Fertil 2001; 18: 213-8.
4. Liu DY, Clark GN, Baker HGW. Relationship between motility assessed with the Hamilton-Thorn Motility Analyzer and fertilization rates in vitro. J Androl 1988; 12: 231-9.
5. Liu DY, Lopate A, Johnson WI, Baker HWG. A human sperm zona pellucida binding test using oocytes that failed to fertilize in vitro. Fertil Steril 198; 50: 782-8.
6. Fetterolf PM, Rogers BJ. Prediction of human sperm penetrating ability using computerized motion parameters. Mol Reprod Dev 2001; 18: 213-8.
7. Parinaud J, Richoilley G, Moutaffian H, Vieites G, Miensset R. Are the characteristics of spermatozoa in the insemination medium useful for the predicting in vitro fertilization results? Int J Androl 1996; 19: 103-8.

8. Makler A, Shiran E, Geva H, Mashiah T. Evaluation of the SQA IIB: a new version of a sperm quality analyzer. Fertil Steril 1999; 71: 761-4.
9. Martinez C, Mar C, Azcarate M, Pascual P, Aritzeta JM, Lopez-Urrutia A. Sperm motility index: a quick screening parameter from sperm quality analyzer-IIB to rule out oligo- and asthenozoospermia in male fertility study. Hum Reprod 2000; 15: 1727-33.