

activation methods on activation rate and following in vitro development to blastocysts. Porcine oocyte-cumulus complexes from ovaries were cultured in BSA free NCSU23 containing 10% porcine follicular fluid, 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  FSH and 0.6 mM cysteine for 44 h. Cumulus cells were removed by repeated pipetting and oocytes were assigned to following treatments: A) exposed three times to 25  $\mu\text{M}$  calcium ionophore A23187 in NCSU23 for 2 min at 5 min intervals, B) exposed to 7% ethanol for 5 min, and C) stimulated a DC pulse of 1.2 KVcm for 30  $\mu\text{s}$  using a BTX Electro Cell Manipulator. The activated oocytes were cultured in NCSU23 with or without cycloheximide for 5 h. After additional 12 h culture, the oocytes were fixed at least 48 hr in aceto-ethanol and then stained with 1% orcein for pronuclear formation. The incidence of activation was higher in electrically stimulated oocytes (85%, 76/89) than that in either  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (35%, 35/101) or ethanol (55%, 59/107) treated oocytes. When oocytes were cultured in vitro for 7 days after activation, the percentage (5%, 5/95) of oocytes that developed to blastocysts was higher ( $P < 0.05$ ) in electrically activated oocytes than that in ethanol (3% 2/71) or  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (1%, 1/82) treated oocytes. The combined treatment with cycloheximide following ethanol (69%, 72/104) or  $\text{Ca}^{++}$  ionophore (56%, 59/105) treatment increased activation rate. The incidence of development to blastocysts (14%, 12/85) was higher in the combined cycloheximide and electrical shock treatment than electrical stimulation alone. These results suggest that inhibition of protein synthesis following parthenogenetic stimulation increases incidence of activation rates and enhances in vitro developments to blastocysts in the porcine oocyte.

## P-19

### 햄스터 난자를 이용한 인간 정자의 미세주입법에 관한연구

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

오선경 · 문신용 · 류범용 · 김희선 · 김석현  
최영민 · 신창재 · 김정구 · 장윤석 · 이진용

일반적인 체외수정이 불가능한 극심한 남성 불임 환자에 있어서 세포질내 정자 주입법 (intracytoplasmic sperm injection:ICSI)을 이용하여 정상적인 수정과 임신이 성공됨에 따라 남성 불임 치료에 있어서 획기적인 발전을 이루게 되었다. 최근에는 기형정자뿐 아니라 무정자증 환자에 있어서 부고환에서 회수된 정자나 고환에서 직접 채취된 정자세포(spermatid)를 이용한 ICSI 후 정상적인 수정과 임신이 보고되면서 ICSI는 남성불임에 있어 유일한 치료법으로 자리잡게 됐다. 현재 ICSI는 미세조작술을 사용하는 모든 연구실에서 남성불임의 치료법으로서 임상적인 적용 뿐 아니라 수정과정의 연구를 위한 방법으로 폭 넓게 이용되고 있다. 그러나 기술상의 큰 진전에도 불구하고 아직까지 ICSI를 통해 모든 사람이 수정에 성공하는 것은 아니며 현재까지 ICSI를 사용한 체외수정시술전 수정의 가능성 여부를 알아보는 유용한 방법이 없는 실정이다.

본 연구는 복합적인 원인의 남성불임 환자를 대상으로 형태학적으로 정상인 정자와 비정상형태의 정자를 구분하여 햄스터난자에 미세주입한 후 정자두부의 팽창이나 남성전핵 형성을 관찰하여 주입된 정자의 형태에 따른 수정 가능성 여부 및 ICSI를 이용한 체외수정시술에 있어서 수정가능성을 예견하는 방법으로서 햄스터 난자에 인간정자의 주입법이 유용성이 있는가를 알아보기 위하여 실시하였다.

1. 본 연구에서 정상형태의 정자를 주입한 결과, 햄스터 난자의 퇴행율(degeration rates)은

21.6%(13/60)이었으며, 손상되지 않은 온전한 난자 중 53.2%(25/47)에서 두부의 팽창 혹은 전핵이 관찰됐다.

2. 비정상형태의 정자를 주입한 결과, 햄스터 난자의 퇴행율은 28.2%(31/110)이었으며, 손상되지 않은 온전한 난자 중 62%(49/79)에서 두부의 팽창 혹은 전핵이 관찰됐다.

이상의 결과로서 남성불임 환자에 있어서 ICSI시행시 수정가능성 여부에 있어서는 정자형태에 따른 차이가 없는 것으로 사료되며, 체외 수정시술시 ICSI의 성공 여부를 예견하는데 있어서 햄스터 난자를 이용한 ICSI가 유용한 방법으로 사료된다.

## P-20

### 동결방법, 해빙온도 및 해빙 후 희석/세척이 인간정자의 운동성과 형태변화에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실

백재승 · 이진행

건강한 20대 남성 10명으로 부터 제공받은 정상소견의 정액을 대상으로 하여 급속동결법과 자동세포동결기(FREEZE CONTROL™ CL863; Biogenics Co., Napa, CA)를 이용한 저속동결법, 급속해빙법과 저속해빙법 및 해빙 후 희석/세척 여부가 정자소생력에 미치는 영향에 대하여 CASA를 이용한 정자의 운동성측정과 stricter criteria에 의한 형태분석을 통하여 비교 분석하였다. 정액의 동결보존과 해빙과정은 정자의 운동성과 형태학적 측면에 전반적인 악영향을 미쳤으며 특히 정자의 운동성에 있어서 심한 장애를 보였다. 정자의 운동성과 형태학적 변화에 있어서 동결방법이나 해빙방법의 차이에 따른 변화는 관찰되지 않았고 저속동결법이 정상모양의 정자회복률에 있어서 급속동결법보다 우수하였다. 정액의 해빙 후 희석/세척은 비세척군에 비하여 정자의 운동성을 30%-40% 감소시켰으며 특히 소형머리모양(small head)의 비

율을 상대적으로 증가시켜서 정자의 형태학적인 측면에도 악영향을 나타내었다. 각각의 동결방법과 해빙방법이 정자의 운동성과 형태학적 변화에 미치는 상호연관관계는 뚜렷하지 않으나 정자운동의 선형도에 영향을 미쳤다. 이에 저자들은 다음의 결론을 얻게 되었다. 정상소견의 건강한 정액을 동결보존 및 해빙할 때는 동결방법 및 해빙방법에 따른 결과의 차이가 거의 없으므로 시간, 비용 및 임상적 효용성 측면에서 급속동결법을 사용함이 바람직하며 아울러 급속해빙법이 권장된다 하겠다.

냉해방지액의 제거를 위한 희석/세척방법에 변화를 주거나 냉해방지액 제거를 위한 새로운 방법이 모색되어야 하겠다. 한편 불임 환자나 고환암 환자등으로부터 제공되는 비정상 정액에서의 동결방법, 해빙방법 및 희석/세척 여부가 정자의 운동성 및 형태변화에 미치는 영향에 대해서는 추후 실험적 연구를 시행할 예정이다.

## P-21

### 동결·융해 햄스터 난자에서의 동종 및 이종 정자 침입능력

서울의대 비뇨기과학교실

손환철 · 김청미 · 백재승

햄스터 투명대 제거 난자를 이용한 정자 수정능력 검정(sperm penetration assay, SPA)은 정자의 수정능력을 비교적 근사하게 파악할 수 있는 생물학적인 검사의 하나로 인정받고 있다. 본 실험에서는 SPA를 편리하게 수행하기 위해 동결·융해한 햄스터 난자의 이용가능성을 검토하고자 하였다. 6-8주령된 자성 햄스터를 PMSG와 hCG로 과배란을 유도하여 난자를 회수한 후, 난구세포를 제거하기 위하여 hyaluronidase를 처리하였으며 곧이어 자동동결기를 이용하여 동결 보존하였다. 모든 난자의 융해는 급속융해방법을 적용하였다. 신선 및 동결·융해 난자는 acid Tyrode용액 처리 방법으로 투명대를 제거한 후 체외수정에 이용하였다. 동종 및 이종 정