

**김수경, 김지수, 권윤정, 강희규, 양현원,
최규완, 차영범, 이승재, 박종민**

체의 수정 및 배아 이식 시술에서 남성 요인 (oligoasthenoteratozoospermia, OATS) 또는 면역학적 요인으로 인한 수정 장애는 ICSI의 도입으로 대부분 극복되었다. 특히 최근에는 무정자증 환자에서의 정소 정자 및 정자 이전의 원형 정모세포의 주입에 의한 수정과 임신이 성공되고 있다. 한편, ICSI에 의해 얻어진 배아들 중에서 ICSI 과정에 의한 물리적 상해로 배발생과 염색체 이상의 유발 가능성에 대해서는 의견이 다분하다. 하지만 ICSI에 의해 얻어진 배아의 착상에 대한 효율성의 연구는 아직 미진하다. 따라서 본 연구는 ICSI의 임상적 결과에 미치는 난자수, 이식된 배아수와 임신율, 착상률 및 다태율과의 상관성을 조사하였다.

본 연구는 95년 1월부터 96년 9월까지 본원에서 ICSI 시술을 받은 환자 282 주기를 대상으로 하였다. 대상환자는 심한 남성요인으로 사정정자에 의한 ICSI 181례, 정소정자에 의한 TESE-ICSI가 30례, 기타요인에 의한 71례를 포함한다. 정자의 채취는 남자 채취후 3시간 이내에 하였고, ICSI는 남자채취후 6-8시간에 시행하였다. 수정란의 이식은 난자채취후 2-3일 후에 자궁경부를 통한 자궁강내에 이식하였다. ICSI의 결과는 다음과 같았다.

1. ICSI를 시행한 전체 282주기에서 수정율은 69.6%(1756/2511)을 얻었고, 277주기(98.2%)에서 이식이 가능하였다. 이식주기중 104례(37.5%)가 hCG 양성반응을 나타냈고, 89례(32.1%)가 임상적 임신였으며, 31.5%인 28례에서 다태임을 보였다.

2. ICSI에 사용한 난자의 수에 따른 임신율은 5개 이하의 경우 임신율이 12.8%로 그 이상의 군(37.5%-43.8%)보다 유의하게 낮았고, 착상율도 4.5%로 다른군의 절반수준였다.

3. 이식한 배아수의 경우 1-2개를 이식한 경우는 10%정도였고, 3-4개의 경우는 25%정도였고, 그 이상을 이식한 경우는 30% 이상(28.9-56.5%)을 보였다. 한편 5개 이상 이식한 경우 40.6%의 다태임신율을 보였다.

4. 양질의 배아수의 경우는 2개 이하에서는 16.3%, 3-4개는 31.6%, 5개 이상에서는 45.9%로 배아수에 비례적으로 증가하였으나, 다태율은 각각 13.3%, 12.5%, 46.0%로 5개 이상군에서 급증하였다.

5. 환자의 나이에 따른 임신율 및 다태율은 36세

이상에서 나이에 민감하게 감소하였다. 환자의 나이를 반영한 이식 배아수와 다태율과의 관계를 보면, 30세 이하에서 5개 이상에서 임신율 증가에 비하여 다태율은 50%이상 이었고, 31-35세에서는 임신율과 비슷한 양상으로 다태율도 증가하였다. 36-40세에서는 8개 이상에서 유의하게 임신율이 증가한 반면에 다태율은 30%이하로 다른 나이군에 비해 그리 높지 않았다. 41세 이상군에서는 1례만이 임신되었다.

이상의 결과에서 ICSI에서의 임신 및 착상은 환자의 나이와 이식된 배아수에 영향을 받는 것으로 나타났다. 성숙난자 및 배아의 수는 배란유도 과정 자체 및 착상을 위한 자궁내막의 상태에 대한 간접적 반영이다. 따라서 이식배아의 수를 환자의 나이에 따라 조절함으로써 다태율은 낮고 높은 임신율을 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 결론적으로 적절한 이식 배아수는 환자의 나이가 35세 이전에는 3-4개, 36세 이후에는 5개 이상이 적절한 것으로 사료된다.

- 18 -

**Analysis of Microdeletions in Y
Chromosome
from Korean Male Infertility
Patients**

Infertility Research Center, Youngdong Jeil Women's Hospital; Department of Urology, Samsung Cheil General Hospital¹; Department of Biology, Hanyang University College of Natural Sciences²; Department of Urology, Yonsei University College of Medicine³

Hyun Soo Yoon, Jeong Hen Lee, Ju Tae Seo¹, Hae Jung Kim, Dong Ryul Lee, Jong Sik Jeon, Jung Hyun Cho, Moon Kyoo Kim², Moo Sang Lee³, Sung Il Roh.

Genes on the long arm of Y chromosome,

particularly interval 6, are believed to play a critical role in human spermatogenesis. The objective of this study was to validate a sequenced-tagged site(STS)-mapping strategy for the detection of Yq microdeletion and to use this method to determine the proportion of men with Yq microdeletions in idiopathic, obstructive, nonobstructive azoospermia, severe OATS and in normal males. We analyzed three STS markers mapped to interval 6 within long arm of the Y chromosome from 106 nonobstructive, 30 obstructive azoospermia, 15 severe OATS patients, and normal 42 males in Korean men. By PCR, we tested leukocyte DNA, for the presences of STS markers(DAZ, sY129 and sY134) and SRY gene as internal control. And PCR results were confirmed by southern hybridization, and were investigated by SSCP analysis for DAZ gene mutation. None of 42 normal males and 30 obstructive azoospermia had microdeletions. Of the 15 severe OATS typed with DAZ, sY129 and sY134, 3(20.0%) patients failed to amplify 1 or more STS markers, and of the 106 nonobstructive azoospermia typed with DAZ, sY129 and sY134, 12(11.3%) patients failed to amplify 1 or more STS markers. From these results, high prevalence(12.4%) of Yq deletion(DAZ, sY129, sY134) in men with nonobstructive idiopathic azoospermia and severe OATS were observed in Korean infertility patients. To avoid the infertile offspring by assisted reproductive technique using ICSI or ROSI, preimplantation genetic diagnosis will be needed in IVF-ET program.

- 19 -

IVF시술시 회수한 과립세포에서의 Apoptosis

차병원 여성의학연구소

손원영, 박은희, 이경아, 고정재, 최동희,
이숙환, 윤태기, 차광열

본 실험의 목적은 IVF시술시 과배란을 유도한 환자로부터 난자를 회수할 때 함께 얻어지는 인간

과립세포에서 일어나는 apoptosis와 여러 임상적인 관련성을 연구하는 데 있다. IVF환자들은 FSH/hMG/hCG (CB) 또는 GnRHa/FSH/hMG/hCG (LA) 에 의해 과배란을 유도 하였다. 51명의 IVF환자에서 난자 회수시 나온 과립세포를 PBS로 세척하고 즉시 액체 질소에서 동결 후 DNA를 추출할 때까지 -70℃ 에서 냉동보존하였다. 저장한 과립세포에서 DNA를 추출하여 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후 EtBr로 염색하여 DNA laddering을 분석하여 apoptosis 여부를 결정하였다. Apoptosis의 여부를 더욱 확인하기 위해서 3'-end labeling방법을 사용하였다. Apoptosis의 positive control로는 bovine의 atretic follicles에서 회수한 과립세포를 사용하였다. 51명 중 17명 (33%)의 환자의 과립세포에서 apoptosis가 관찰되었다. 그 중 7명은 CB에 의해 10명의 환자는 LA에 의해 과배란이 유도된 환자였다. Apoptosis가 관찰된 양성인 군과 일어나지 않은 음성인 군의 환자에서의 평균 연령에서는 차이가 없었다 (32.6± 0.8과 33.6 ±0.7). 과배란후 과립세포에서 일어나는 apoptosis와 환자의 나이와는 관계가 없었다. 이때에 사용한 FSH와 hMG의 양은 차이가 없었다. 그러나, 양성인 군에서 과배란 후 더 많은 난포들 (>15 mm)이 발달하였고 또한 더 많은 난자들을 회수하였다. 그러나 결론적으로 인간의 IVF시술시 사용하는 과배란 약제들에 의해서 apoptosis가 유도되지는 않으며 난자가 많이 회수된 경우 apoptosis가 유의성있게 높게 일어나는 결과로 보아 정상적인 생리환경에서 atresia로 빠질 난포가 과배란 유도로 인하여 같이 회수되기 때문이라고 생각된다.

- 20 -

Detection of Reactive Oxygen Species(ROS) and Apoptosis in Human Fragmented Embryos

피엘 산부인과, 아주의대 산부인과¹

양현원, 황경주¹, 박지영¹, 최규완,
권혁찬¹, 이승재, 박종민, 오기석¹

사람의 체외 수정 및 배아 이식에 있어서 수정된 난자는 일반적으로 배양 조건과 채취된 난자 또는 정자의 질에 따라 일부만이 양질의 배아로