

항정자항체가 일반적 체외수정 방법 및 정자직접 주입법 (ICSI)에 미치는 영향에 관한 연구

차병원 여성의학 연구소¹, 포천중문의과대학교², 건국대학교 동물자원 연구센터³
오중훈^{1,3} · 엄기봉^{1,2} · 최동희^{1,2} · 정미경¹ · 한세열^{1,2} · 차광열^{1,2} · 정길생³

The Effect of Anti-Sperm Antibodies on Conventional IVF and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

Jong-Hoon Oh^{1,3}, Ki-Boong Oum^{1,2}, Dong-Hee Choi^{1,2}, Mi-Kyung Chung¹, Sei-Yul Han^{1,2}, Kwang-Yul Cha^{1,2} and Kil-Saeng Chung³

Infertility Medical Center/Cha General Hospital of Seoul¹, College of Medicine, Pochon Cha University², Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University³

= Abstract =

The purpose of this study was to examine the effects of anti-sperm antibody (ASA) on the fertilization processes using conventional IVF and ICSI procedure in human and hamster oocytes. In human IVF, we have observed restricted fertilization with sperm testing positive for ASA. (23~90% IgA, 60-97 % IgG). However, if ICSI was perform in the next IVF cycle with the same patients, we could successfully fertilize the oocytes (37%; $p < 0.001$), thus achieving pregnancy and delivery.

When the sperm were cocultured in medium containing ASA, there were binding of ASA to sperm surface. In addition, the mean rate of the acrosomal reaction in an in vitro acrosome reaction test was lower for Ab-bound sperm (43.5%) than for Ab-free sperm group (51.3%, $p < 0.05$).

We used human sperm and hamster oocytes to confirm the negative effects of the ASA on fertilization. The sperm and/or oocytes have been expose to medium containing ASA before IVF and ICSI. In this experiment, the ASA was bound to the oocyte and sperm surface. The following results were obtain by using various combinations of ASA free or ASA bound sperm with ASA free or ASA bound oocytes for IVF. When ASA free sperm were inseminate with ASA free and ASA bound hamster oocytes, the fertilization rates are 89.6% and 74.3% respectively. However, when ASA bound human sperm were use the results were 62.5% and 55.6% respectively. These shows the fertilization rate was significantly decreased in both ASA bound and ASA free oocytes when using ASA bound sperm. No difference found when ASA are present on the oocyte surface.

When the hamster oocytes was treated by ICSI with ASA free or ASA bound human spermatozoa, no significant difference was found. These results showed that ICSI is the most promising method for couples who fertilization was not possible by conventional IVF because of ASA.

Key Words: Anti-sperm antibody, IVF, ICSI, Acrosome reaction test

사람에 있어서 항정자항체 (anti-sperm antibody)가 임신을 저해한다고 많은 연구자들이 보고하고 있다. 이러한 원인들을 살펴보면, 먼저 여성 생식기도 내에서 정자의 이동이 방해받기 때문에 수정이 일어나는 난관팽대부까지 정자가 이동하지 못하는 것이 불임의 원인이 된다고 보고하고 있다 (Menge *et al.*, 1982). 그러나 이러한 생식기내의 정자 이동 과정은 체외수정기술에서는 생략되기 때문에 문제가 되지 않고 있다. 또한 체외수정에 있어서도 Dor 등 (1981)과 Bronson 등 (1982)의 연구에 따르면, 투명대를 제거한 hamster 난자와 사람의 투명대를 이용하여 수정을 유도하였을 때 그 부착율 및 침입율이 현저히 저하됨을 확인함으로써 항정자항체가 수정시 난자와 정자의 상호작용을 방해한다고 보고하였다. 이후 Bronson 등 (1989)의 또 다른 연구에 의하면, 수정율이 저하되는 이유를 항정자항체가 침체반응을 방해하기 때문이라고 하였다.

이러한 현상을 극복하기 위하여 Almeida 등 (1989)은 정자를 회수할 당시에 고농도의 혈청을 함유한 배양액에서 정자를 채취하여 정장 내의 항정자항체의 활성을 약화시킴으로서 수정율을 다소나마 향상시킬 수 있었다고 보고하였다. 그러나 이러한 방법을 체외수정기술에 적용하였을 경우 높은 수정율이나 임신율을 기대한다는 것은 어려운 실정이라서 다른 방법의 연구가 요구되고 있다. 최근 남성불임의 획기적 치료 방법으로 개발된 정자직접주입법 (ICSI)이 이러한 문제를 해결할 수 있는 방법이라 생각되나 아직까지 이 기술을 이용한 연구보고는 많이 되지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 사람의 체외수정기술시 항정자항체가 수정율에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보았으며, 또한 hamster 난자를 이용하여 human sperm penetration assay (SPA)를 실시하였을 때, 이러한 항정자항체가 정자의 침입율에 영향을 미치는지를 조사하였다. 이와 함께 항정자항체가 확인된 환자에 있어서 ICSI를 사용하였을 경우 이러한 항정자항체로 인한 수정율 및 임신율의 저하를 극복할 수 있는지를 조사하고자 본 연구를 수행하였다.

1. 과배란의 유도

1) Human

난자의 회수를 위한 과배란 유도는 FSH/hMG, GnRH-a (Lupron; TAP/abott)를 병용하여 사용하였으며, hCG 투여 후 36시간째에 질식 초음파를 이용하여 난자를 채취하였다. 회수된 난자는 즉시 실험현미경하에서 성숙도를 판정한 다음 체외수정 혹은 미세 수정에 사용하였다.

2) Hamster

Hamster 난자의 회수를 위하여 PMSG 30 IU를 복강 내에 투여한 후 60시간째에 hCG 30 IU를 주사하였다. 난자는 hCG 투여 후 18시간째에 CO₂ 질식 법으로 도살된 hamster의 난관을 관류하여 난자를 회수하였다. 회수된 난자는 ICSI의 목적에 사용된 경우에는 0.1% (v/w) hyaluronidase와 100 μm 크기의 pipette을 이용하여 반복된 pipetting을 함으로서 난구세포군을 제거하였고, sperm penetration assay (SPA)에 사용된 경우에는 난구세포군을 제거한 다음 0.1% trypsin (Sigma)을 이용하여 투명대를 제거한 후 사용하였다.

2. 정자의 준비

Immuno-bead Binding Test (IBT)를 통하여 항정자항체가 확인된 환자의 정자를 회수할 경우 정자 회수 용기에 20%의 human cord serum이 첨가된 배양액을 첨가하여 정자를 회수한 다음 swim-up방법으로 정자를 획득하였고, 체외수정을 위한 정자의 농도는 1×10^5 마리/ml로 조정하였다. Hamster 난자를 이용한 SPA에 사용된 정자는 항정자항체가 전혀 검출되지 않은 동결 보존된 human donor sperm을 이용하였다. 대조군을 위해서는 2~3층의 discontinuous Percoll gradient법으로 정자피를 회수한 다음 체외수정 시와 동일하게 사용하였으나, 실험군은 고농도의 항정자항체가 확인된 serum과 1시간 동안 공동 배양함으로써 항정자항체를 인위적으로 부착한 다음 그 확인을 위하여 IBT를 실시한 이후 실험에 사용하였다.

3. 난자에 부착시킨 항정자항체의 확인

Hamster 난자를 이용한 SPA를 실시하기 이전에, 난자의 세포질 막에 항정자항체가 부착되었을 경우의 효과를 확인하기 위하여 고농도의 항

정자항체가 확인된 혈청과 1시간 동안 공동 배양하여 인위적으로 항체를 zona-free hamster 난자에 부착시켰다. 그 후 항체의 부착 유무를 확인하기 위하여 FITC가 conjugate된 anti-Ig classes (IgA, F-9637; IgG, F-9512; IgM, F-5384, Sigma)와 난자를 공동배양한 다음 형광 현미경하에서 확인하였다.

4. 항정자항체의 확인을 위한 Immuno-bead Binding Test

Rabbit anti-human IgA (170-5114, Bio-Rad)와 rabbit anti-human IgG (170-5100, Bio-Rad) Immuno-bead를 3% BSA가 첨가된 PBS에 1 mg/ml의 농도로 조정된 다음 미리 swim-up 방법으로 준비된 정자와 약 30분 동안 공동 배양하였고 그 후 200배의 현미경하에서 관찰하였다. 200개의 정자를 세어 그 중에서 immuno-bead가 부착된 활동성 정자의 수를 %로 나타내었다.

5. 정자의 침체반응 검사

정자의 침체반응은 이중 형광 염색법 (Double fluorescent staining)을 실시하여 조사하였다. 침체반응이 유기된 정자를 Hoechst 33258 (1 µg/ml)이 함유된 배양액에서 2~3분 동안 배양하였다. 그 후 protein-free PBS를 이용하여 2회 이상 세척하였다. 이렇게 회수된 정자를 slide glass에 도말하여 풍건한 후 30초 동안 순수 methanol에 침지하였다가 다시 풍건하였다. 그리고 FITC-labelled Lectin (*Pisum Sativum*) 50 µg/ml이 함유된 배양액을 slide에 도포한 후 습도가 충분히 유지된 용기 내에서 30분 동안 상온에서 배양하였다. 이후 미부착된 probe를 제거하기 위하여 증류수로 slide를 세척한 다음 풍건 후 즉시 형광 현미경하에서 최소한 200마리 이상의 정자를 세어 관찰하였다.

6. ICSI의 과정

ICSI에 사용된 pipette (Drummond, Sigma)의 크

Table 1. Results of ASA test and semen characteristics in the patients

Case	IgA (%)	IgG (%)	Semen
1	23	97	Normal
2	60	60	Oligo
3	90	90	Normal
4	80	80	Normal

기는, holding pipette의 경우 외경은 80~100 µm, 내경은 10~15 µm였으며, sperm injection pipette의 경우 외경은 7~8 µm, 내경은 5~6 µm였다. 0.3%의 BSA가 첨가된 T6 배양액과 T6 배양액에 5% PVP (PVP-360, Sigma)가 첨가된 배양액을 5 µl의 소적으로 만든 다음 mineral oil (M-8410, Sigma)을 덮어서 사용하였다. 준비된 난자는 T6 소적에, 준비된 정자는 PVP 소적에 침지한 다음, 먼저 injection pipette으로 정자의 미부를 물리적으로 손상을 주어 운동성을 없게 한 후 난자에 주입하였다. 주입이 끝난 난자는 2~3회 세척한 다음 수정용 배양액으로 옮겨 배양하면서 수정율을 조사하였다.

7. 통계방법

본 연구에서 얻은 결과에 대한 통계분석은 X²-test와 Student's t-test를 이용하였다.

결 과

먼저 고농도의 항정자항체가 확인된 환자에 대하여 항정자항체가 수정에 미치는 영향을 conventional IVF와 ICSI를 통하여 확인하였다. 4례의 환자에 있어서 IBT를 실시하였던 결과 Table 1에서 보는바와 같이 IgA의 경우 23~90%였고, IgG의 경우 60~97%로서 고농도의 항정자항체를 확인하였다. IgG의 수준이 다소 높게 나타났으나, 정액 자체의 성상은 1례에서 약한 Oligospermia일 뿐 거의 정상이었다. 이러한 환자들에 있어서 일 반적인 체외수정을 실시하였던 결과 Table 2에서 보는바와 같이 30개의 난자에서 전혀 수정이 일어나지 않았다. 그러나 그 다음 주기에 동일한 환자에서 ICSI를 실시하였던 결과, 27개의 난자 중

Table 2. Results of fertilization rate on the patients

Case	No of oocytes		No of oocytes	
	Inseminated	Fertilized	ICSI	2 PN
1	4	0	3	1
2	10	0	15	5
3	13	0	6	3
4	3	0	3	1
Total	30	0 ^a	27	10 ^b (37.0%)

a,b: p<0.001.

Table 3. Characteristics of ASA positive serum for artificially coating to the human sperm

Ab-serum	IgA Positive (%)	IgG Positive (%)
1	26	71
2	19	46
3	56	9
4	16	86

Table 4. Results of immunobead test after co-incubation of anti-serum and sperm

Case	IgA (%)	IgG (%)
1	36	75
2	40	69
3	33	68
4	45	70
Mean	38.5	70.5

에서 10개가 수정이 됨으로서 4례 모두 수정란 이식을 할 수 있어서 IVF에 비하여 유의하게 좋은 결과를 얻었다 ($p < 0.001$). 또한 그중 1례에서 임신이 성립되어 건강한 아기를 분만하였다. 이러한 결과는 항정자항체가 체외수정을 실시할 때 수정을 저해하지만 ICSI를 통하여 극복될 수 있음을 확인하였다.

이러한 항정자항체의 영향을 보다 더 분석하기 위하여 hamster oocyte를 이용한 SPA를 실시하였다. 먼저 Table 3은 본 연구에서 항정자항체를 인위적으로 부착하고자 사용하였던 혈청의 분석 치로서 IgA의 경우 16~56%, IgG의 경우 9~86%였다. 이러한 혈청은 실험의 오차를 줄이고자 혼합하여 사용하였는데 4회에 걸쳐 human donor sperm에 인위적으로 항정자항체를 부착시켰던 결과 IgA는 33~45%, IgG는 68~75%였다 (Table 4). Table 5에서 보는 바와 같이 항정자항체를 피복 시킨 후 침체반응을 조사하였을 때, 항정자항체가 없는 대조군에서는 평균 51.3%인 반면, 항체가 피복된 실험군에서는 43.5%로서 유의하게 낮은 침체반응을 나타내었다 ($p < 0.05$). 또한 난자에 피복 시킨 후 항정자항체의 유무를 확인한 결과, IgA와 IgG를 동시에 염색했을 때 가장 강한 발색을 보였으며 그 다음으로는 IgA, IgG 순이었고, IgM의 경우 아주 미약하게 발색함으로써 항정자항체가 hamster oocyte의 세포질 막에 부착되었음을 확인할 수 있었다.

한편, 이렇게 얻어진 정자를 이용하여 SPA를

Table 5. Results of acrosome reaction challenge test of normal and antibody coated human sperm

Case	Control	Antibody coated sperm
1	45	38
2	66	55
3	42	35
4	52	46
Mean	51.3	43.5*

*: $p < 0.05$

Table 6. Results of SPA in the normal or Ab-coated sperm and oocytes

	Normal sperm (%)		Ab-sperm (%)	
	Normal oocyte	Ab-oocyte	Normal oocyte	Ab-oocyte
No of oocytes penetrated	42/48 ^a (89.6)	26/35 ^a (74.3)	35/56 ^b (62.5)	20/36 ^c (55.6)
No of sperm penetrated (per oocyte)	75/48 (1.6)	58/35 (1.7)	57/56 (1.0)	33/36 (0.9)

a,b: $p < 0.01$, a,c: $p < 0.001$

b,c: not significant.

실시하였던 결과, 항정자항체가 없는 정자를 사용하였을 때 항체가 없는 난자와 항체가 피복된 난자에서 정자가 침입된 난자의 비율이 89.6%와 74.3%였으며 난자당 침입된 정자의 수는 각각 1.6, 1.7개였다. 항체가 피복된 정자의 경우 수정율은 각각 62.5%와 55.6%, 그리고 난자당 침입된 정자 수는 각각 1.0, 0.9개로서 항정자항체가 피복된 경우 대조군에 비해 저조한 성적을 나타내어 항정자항체가 수정을 방해한다는 사실을 재확인할 수 있었다 ($p < 0.01$). 그러나 난자에 항체를 피복 하였을 경우에는 대조군과 실험군 모두에서 차이가 없었다 (Table 6). 이러한 결과는 항정자항체가 정자의 침체반응을 방해함으로써 수정율을 저하시키는 것으로 생각되었다.

이와 같이 SPA를 통하여 항정자항체가 존재할 경우 수정이 다소 저해됨을 확인하였으므로 위의 방법과 동일하게 획득된 정자를 이용하여 ICSI를 함으로서 그 효과를 확인하였다. Table 7에서 보는바와 같이 항정자항체가 없는 정자를 사용하여 35개의 난자에 ICSI를 한 후 3.5시간째에 Hoechst 염색으로 정자를 확인한 결과 ICSI로 인하여 물리

Table 7. Results of ICSI in hamster oocytes using Ab-coated human sperm

Type	No of ICSI oocytes	No of oocytes damaged	No of oocytes with decondensed sperm
Normal Sperm	35	9	26 (74.3%)
Ab-coated Sperm	39	9	30 (76.9%)

There was no difference in these columns.

적 손상을 입은 9개의 난자를 제외한 26개 (74.3%)의 난자에서 정자두부의 팽화를 확인하였고, 항정자항체가 피복된 정자를 이용하였을 경우에도 역시 39개의 난자중 손상을 입은 9개를 제외한 30개 (76.9%)의 난자에서 정도의 차이는 있으나 정자 두부의 팽화를 확인함으로써 항정자항체가 있을 경우라도 일단 세포질내로 정자가 침입되었을 경우에는 수정이 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.

고 찰

Rumke 등 (1954)이 항정자항체의 존재를 보고한 이후로 이에 대한 연구들이 상당히 많이 이루어져 왔으며, 근래에는 원인불명의 환자 중에서 항정자항체가 원인이라고 하는 연구도 다수 보고되고 있다 (Ayvaliotis 등, 1985; Clarke 등, 1986; Liu 등, 1991). 이러한 항정자항체에 대한 초기의 연구에서는 항정자항체가 여성의 생식 기관을 통과하는 것을 저해함으로써 수정이 이루어지지 못한다고 하였으나, 이러한 여성의 생식 기관에 의한 저해 효과는 체외수정이 이루어지면서 제거되었다 (Menge and Beitner, 1989). 그러나 체외수정의 과정에서도 항정자항체가 있을 경우 수정율이 현저히 낮아지며, 특히 항체의 농도가 70% 이상일 때 수정에 실패하는 경우가 30%~40% 정도에 이른다고 보고되었다 (Almeida 등, 1989). 따라서 이렇게 수정에 실패하는 원인을 규명하고자 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직까지도 그 정확한 원인은 불분명한 상태에 있다.

Clarke 등 (1985)은 고농도의 항체가 피복된 정자를 가진 난관에 있어 체외수정 동안 수정율이 현저히 떨어짐을 보였다. 전체적으로 보면, 수정율, 난할율 및 임신율의 경우 항체가 없는 환자와 비교하였을 때 50%와 61%, 42%와 53%, 24%와 22%로서 별 차이가 없었으나, IgA가 80% 이상일 때 80% 이하인 경우와 비교하면 수정율과

난할율이 현저히 떨어진다 (27%와 72%, 24%와 60%). 그러나 IgG의 농도에 따른 수정율의 차이는 발견하지 못했다. 이후 연속된 연구에서 Clarke 등 (1986)은 항체가 검출되지 않은 대조군의 경우 수정율이 69%인 반면, IgA와 IgG의 농도가 10% 이상인 경우에 수정율이 15%로 현저히 감소됨을 보고했다. 그러나 IgG가 10%이상이고, IgA가 10%이하인 경우에는 수정율의 감소는 없었다. 따라서 이러한 항체의 효과는 IgA 단독, 혹은 IgA와 IgG의 상승 효과로 인하여 수정을 저해하는 것으로 보인다.

Ayvaliotis 등 (1985)은 항체에 의한 불임일 경우에 50%이상의 정자가 항체로 피복된 경우, 50%이하일 때 보다 현저하게 임신율이 낮았으나 (15%와 67%), 항체의 위치 (두부와 미부)에 의한 차이는 없었다고 보고하였다. 그러나 Clarke 등 (1985)의 연구에서는, 정자 두부에 항체가 있을 경우 수정율이 현저히 감소하였으며, 또한 Zouari 등 (1993)도 수정에 실패한 군과 성공적으로 수정된 군간에 항체의 농도에 있어 차이가 없었으나, 미부에 항체가 있을 경우 높은 수정율 (85%)을 보인 반면 두부에 항체가 피복된 경우에는 현저히 낮은 57%의 수정율을 보였다. 또한 정상 정자에 항체를 피복 시킨 후 Ca-ionophore를 이용하여 침체반응을 보면 정상 정자보다 항체가 피복된 정자군에서 침체반응율이 낮았다고 하였는데, Tsukui 등 (1986)과 Bronson 등 (1989)도 이와 유사한 결과를 보고한 바 있다. Liu 등 (1991)은 IgG와 IgM 항체가 침체반응을 저해하는 것으로 보이며, 정자의 두부에 부착하는 IgG와 IgM은 정자와 난자의 상호작용에 영향을 주어 결국 정자와 난자의 fusion능력을 저해한다고 했으며, 또한 항정자항체가 존재하는 정자와 항체가 없는 정상 정자와 비교하였을 때, 항체가 있는 정자일 경우 투명대를 제거한 사람 난자의 세포질에 침투하는 능력은 떨어지지 않지만, 투명대에 부착하는 능력이 현저하게 떨어짐으로서 수정이 이루어지

지 않는다고 하였다. 이러한 보고는 본 연구와는 다소 차이가 있는 결과로서, 항체가 침체반응을 저해할 뿐만 아니라 hamster 난자를 이용한 SPA 결과에서도 항정자항체가 있는 정자일 경우 난세포 질에 침투하는 능력도 떨어지는 것으로 보인다. 따라서 정자 표면에 대한 항정자항체가 있을 경우에는 수정능 획득으로 익히 알고 있는 정자 두부의 막의 변화나 대사 변화를 항체가 방해하여 침체반응이 일어나지 않음으로서 결국 수정에 실패하는 것으로 생각할 수 있다. 이러한 항정자항체에 대한 저해 효과를 극복하고자 Bronson 등 (1987)은 IgA1 protease를 이용하였고, Almeida 등 (1993)은 정자 회수용 배양액에 혈청의 농도를 증가하여 항체의 활성을 약화시킴으로서 다소 양호한 수정율을 얻을 수 있었다. 그러나 이러한 처리를 이용하였을 때 그 결과를 확신할 수 없을 뿐만 아니라 항정자항체의 복합적인 요소를 완전히 제거할 수가 없다. 본 연구에서 얻은 결과를 보면, ICSI를 이용하여 항체가 있거나 없는 정자를 난자 내로 주입하였을 때 침체반응은 정자가 난자 내로 침입하기 위한 과정일 뿐이었고 그 이후의 전핵 형성에는 문제가 없는 것으로 판단되었다. 따라서 항정자항체로 인한 수정 실패나 이전 주기에서 수정에 실패했을 경우에는 ICSI를 이용하는 것이 바람직한 방법인 것으로 판단되며, 앞으로 Ig class에 따른 ICSI나 여성의 혈청 내에 항정자항체가 검출될 경우에 ICSI의 효과에 대한 연구가 더 수행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 체외수정기술에서 conventional IVF와 ICSI를 비교하고, 항정자항체가 있을 경우 수정에 있어 어떠한 영향을 미치는지를 hamster 난자를 이용하여 확인하고자 실시하였는 바 그 결과는 아래와 같다.

1. 항정자항체의 농도가 IgA의 경우 23%~90%, IgG의 경우 60%~97%를 보인 4례의 환자에서 conventional IVF를 실시했을 때 수정이 전혀 일어나지 않았으나, 그 다음 주기에서 ICSI를 실시한 결과 27개의 난자중 10개 (37.0%)가 수정이 되어 수정란 이식을 할 수 있었으며 이중 1례에서 임신 및 분만에 성공하였다.

2. 항정자항체를 human donor sperm에 인위적

으로 부착시킨 결과 침체반응율은 대조군의 경우 51.3%인 반면, 실험군에서는 43.5%로 항정자항체가 존재할 경우 침체반응은 다소 낮게 나타났다 ($p<0.05$).

3. 항정자항체가 없는 사람 정자를 이용하여 항체가 없는 투명대를 제거한 hamster 난자와 항체를 피복 시킨 난자에 SPA를 실시한 결과, 수정율은 각각 89.6%와 74.3%였고, 항체를 부착시킨 사람 정자의 경우 각각 62.5%와 55.6%로서 항정자항체가 있을 경우 대조군에 비해 수정율이 현저히 떨어졌다 ($p<0.01$). 그러나 난자에 항체를 피복시켰을 때에는 수정율의 차이가 없었다.

4. Hamster 난자에 항정자항체가 없는 정자를 이용하여 ICSI를 실시하였을 때 35개의 난자중 26개의 난자에서 정자 두부의 팽화가 관찰되었고, 항체가 피복된 정자를 ICSI하였을 경우에는 39개의 난자중 30개의 난자에서 정자 두부의 팽화를 확인하였다.

인 용 문 헌

- Ayvaliotis B, Bronson R, Rosenfeld D, Cooper G: Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected. *Fertil Steril* 1985, 43, 739-742.
- Bronson RA, Cooper GW, Rosenfeld DL, Gilbert JV, Plaut AG: The effect of an IgA1 protease on immunoglobulins bound to the sperm surface and sperm cervical mucus penetrating ability. *Fertil Steril* 1987, 47, 985-991.
- Bronson RA, Cooper GW, Rosenfeld DL: Sperm-specific isoantibodies and autoantibodies inhibit the binding of human sperm to the human zona pellucida. *Fertil Steril* 1982, 38, 724-732.
- Bronson RA, Cooper GW, Phillips DM: Effects of antisperm antibodies on human sperm ultrastructure and function. *Hum Reprod* 1989, 4, 653-657.
- Clarke GN, Lopata A, McBain JC, Johnston WIH: Effect of sperm antibodies in males on human in vitro (IVF). *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985, 8, 62-66.
- Clarke GN, Lopata A, Johnston WIH: Effect of sperm antibodies in females on human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1986, 46, 435-441.

- Clarke GN, Hyne RV, du Plessis Y, Johnston WIH: Sperm antibodies and human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988, 49, 1018-1025.
- De almeida M, Gazagne I, Jeulin C, Herry M, Allart B, Frydman R: In vitro processing of sperm with autoantibodies and in vitro fertilization results. *Hum Reprod* 1989, 4, 49-53.
- Dor J, Rudak E, Aitken RJ: Antisperm antibody-bound human sperm to penetrate zona-free hamster ova in vitro. *Fertil Steril* 1981, 36, 778-784.
- Geva E, Yaron Y, Lessing JB, Yovel I, Vardinon N, Burke M, Amit A: Circulating autoimmune antibodies may be responsible for implantation failure in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994, 64, 802-805.
- Liu DY, Clarke GN, Lopata A, Johnston WIH, Baker HWG: A sperm-Zona pellucida binding test and in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1989, 52, 281-287.
- Liu DY, Clarke GN, Baker HWG: Inhibition of human sperm zona pellucida and sperm oolemma binding by antisperm antibodies. *Fertil Steril* 1991, 55, 440-442.
- Menge AC, Beitner O: Interrelationships among semen characteristics, antisperm antibodies, and cervical mucus penetration assays in infertile human couples. *Fertil Steril* 1989, 51, 486-492.
- Primakoff P, Hyatt H: An antisperm monoclonal antibody inhibits sperm fusion with zona-free hamster eggs but not homologous eggs. *Fertil Steril* 1986, 46, 489-493.
- Pagidas K, Robert H, Tommaso F, Pierre M: The effect of antisperm auto-antibodies in male or female partners undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1994, 62, 363-369.
- Rajah SV, Parslow JM, Howell RJ, Hendry WF: The effects on in vitro fertilization of autoantibodies to spermatozoa in subfertile men. *Hum Reprod* 1993, 8, 1079-1082.
- Tsukui S, Noda Y, Yano J, Fukuda J, Mori T: Inhibition of sperm penetration through human zona pellucida by antisperm antibodies. *Fertil Steril* 1986, 46, 92-96.
- Zouari R, Almeida De m, Rodrigues D, Jouannet P: Localization of antibodies on spermatozoa and sperm movement characteristics and good predictors of in vitro fertilization success in cases of male autoimmune infertility. *Fertil Steril* 1993, 59, 606-612.