

## 무력정자증 환자에서 인간 난포액과 SpermGrad를 이용한 정자처리법의 비교

서울대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>1</sup>, 분당서울대학교병원 산부인과<sup>2</sup>,  
서울대학교 의학연구원 인구의학연구소<sup>3</sup>

정연경<sup>1</sup> · 이정렬<sup>1</sup> · 문정희<sup>2</sup> · 김현준<sup>2</sup> · 한상훈<sup>2</sup> · 지병철<sup>2</sup> · 구승엽<sup>1,3</sup>  
서창석<sup>1,2,3</sup> · 김석현<sup>1,3</sup> · 최영민<sup>1,3</sup> · 김정구<sup>1</sup> · 문신용<sup>1,3</sup>

### Comparison between Human Follicular Fluid and SpermGrad for Sperm Preparation in Asthenozoospermia

Youn Kyung Chung<sup>1</sup>, Jung Ryeol Lee<sup>1</sup>, Jeong-Hee Moon<sup>2</sup>, Hyun-Jun Kim<sup>2</sup>, Sang-Hoon Han<sup>2</sup>,  
Byung-Chul Jee<sup>2</sup>, Seung-Yup Ku<sup>1,3</sup>, Chang-Suk Suh<sup>1,2,3</sup>, Seok-Hyun Kim<sup>1,3</sup>,  
Young-Min Choi<sup>1,3</sup>, Jung-Gu Kim<sup>1</sup>, Shin-Yong Moon<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul,

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam,

<sup>3</sup>Institute of Reproductive Medicine and Population, Medical Research Center, Seoul National University, Seoul, Korea

**Objective:** We tested the usefulness of swim-down technique using human follicular fluid (hFF) in sperm preparation.

**Methods:** Semen samples were obtained from twelve male partners showing asthenozoospermia (sperm motility < 50%) at the time of routine andrologic evaluation in Seoul National University Bundang Hospital. After dividing into two aliquots, each samples were processed either by swim-down using 100% hFF or density gradient using SpermGrad. Sperm quality was assessed by computer-assisted semen analyzer (CASA).

**Results:** Motility, Rapid motility, VCL (curvilinear velocity), ALH (amplitude of lateral head displacement), and hyperactivated sperms were significantly increased, and LIN (mean linearity) was decreased significantly after sperm preparation in both groups. Motility was significantly higher after swim-down using 100% hFF when compared with density gradient using SpermGrad ( $81.2 \pm 4.7$  vs.  $67.6 \pm 2.3$ ,  $p=0.02$ ). The other parameters assessed by CASA were not different between the two methods.

**Conclusion:** Swim-down method with 100% hFF may be a useful method in preparation of sperm from asthenozoospermia.

**Key Words:** Asthenozoospermia, Density gradient, Human follicular fluid, SpermGrad, Swim-down

체외수정시술 (in vitro fertilization, IVF)이나 인공수정 (intrauterine insemination, IUI) 등의 보조생식술 (assisted reproductive technology, ART)을 실시하기 위해서는 정액에서 정장 (seminal plasma)을 신속히 제거하고 운동성이 있는 정자를 효과적으로 분리하

는 과정이 필수적이다. 이상적인 정자처리법은 정상 형태의 운동성 정자를 최대한 많이 회수할 수 있어야 하고, 첨체반응 (acrosome reaction)을 높여 수정률을 증가시킬 수 있어야 하며, 정장, 세균, 백혈구 등을 완전히 제거할 수 있어야 한다.<sup>1</sup>

주관책임자: 서창석, 우) 463-707 경기도 성남시 분당구 구미동 300번지, 분당서울대학교병원 산부인과  
Tel: (031) 787-7251, Fax: (031) 787-4054, e-mail: suhcs@snu.ac.kr

정자처리법은 현재까지 10여가지 이상이 개발되어 있으며 이중 가장 보편적으로 사용되는 방법은 swim-up 방법과 밀도차분리법 (density gradient separation technique)이다. Swim-up 방법은 비교적 정액 처리 과정이 간단하고 정액양, 정자수, 정자의 운동성이 정상인 경우에는 효율적이어서 많이 사용되고 있으나, 정자감소증 (oligozoospermia), 정자무력증 (asthenozoospermia)과 같은 비정상 정액인 경우에는 그 효용성이 낮은 것으로 보고되고 있다.<sup>2</sup> 한편, 밀도차분리법은 비정상 정액상을 보이는 정액군에서도 정자처리 효과가 높은 것으로 알려져 있으며,<sup>3</sup> 현재 여러 불임 센터에서 남성인자가 있는 불임 환자의 정액을 처리할 때는 밀도차분리법을 주로 사용하고 있다.

밀도차분리법 중에서 Percoll (Pharmacia, Sweden) 용액을 이용한 결과와 효용성에 대한 보고도 많았으나 현재는 사용되지 않고 있다. Percoll은 polyvinylpyrrolidone (PVP)으로 코팅된 silica particle로서 PVP 자체에 다소 독성이 있고 NaCl이 첨가된 배양액 내에서 silica로부터 결합이 느슨해지는 경향이 있어 결국에는 silica gel이 정자 두부의 DNA나 운동성에 악영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다. 이후 Percoll의 장점을 가지면서 독성이 약한 대체재로 개발된 SpermGrad (VitroLife, Sweden)와 Puresperm (Nidaccon, South Africa) 등이 현재 많이 사용되고 있다.

정자의 운동성은 특히 인공수정에서 성공적인 임신에 가장 중요한 요소 중 하나이므로 정자무력증을 가진 환자의 정액을 처리하는 방법에 대한 연구가 이전부터 다양하게 이루어져 왔다. 인간의 난포액 (human follicular fluid, hFF)을 정자처리에 사용하여 정자의 수정 능력을 높이려는 연구는 대부분 hFF를 배양액에 첨가하여 그 결과를 살펴본 것이며, 직접적인 정자분리법에 적용한 것은 hFF를 이용한 swim-up법과 밀도차분리법을 비교한 것이고, swim-down법을 이용한 정자분리법에 대한 연구는 미비한 실정이다.<sup>4-6</sup>

이에 저자들은 정자무력증을 보이는 정액을 대상으로 hFF를 이용한 swim-down법과 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법을 적용하였을 때 정자의 운동성에 미치는 영향을 비교 분석함으로써 정자처리법에서 hFF의 효용성에 대한 검토와 각 검사법 간의

상호보완성 여부를 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

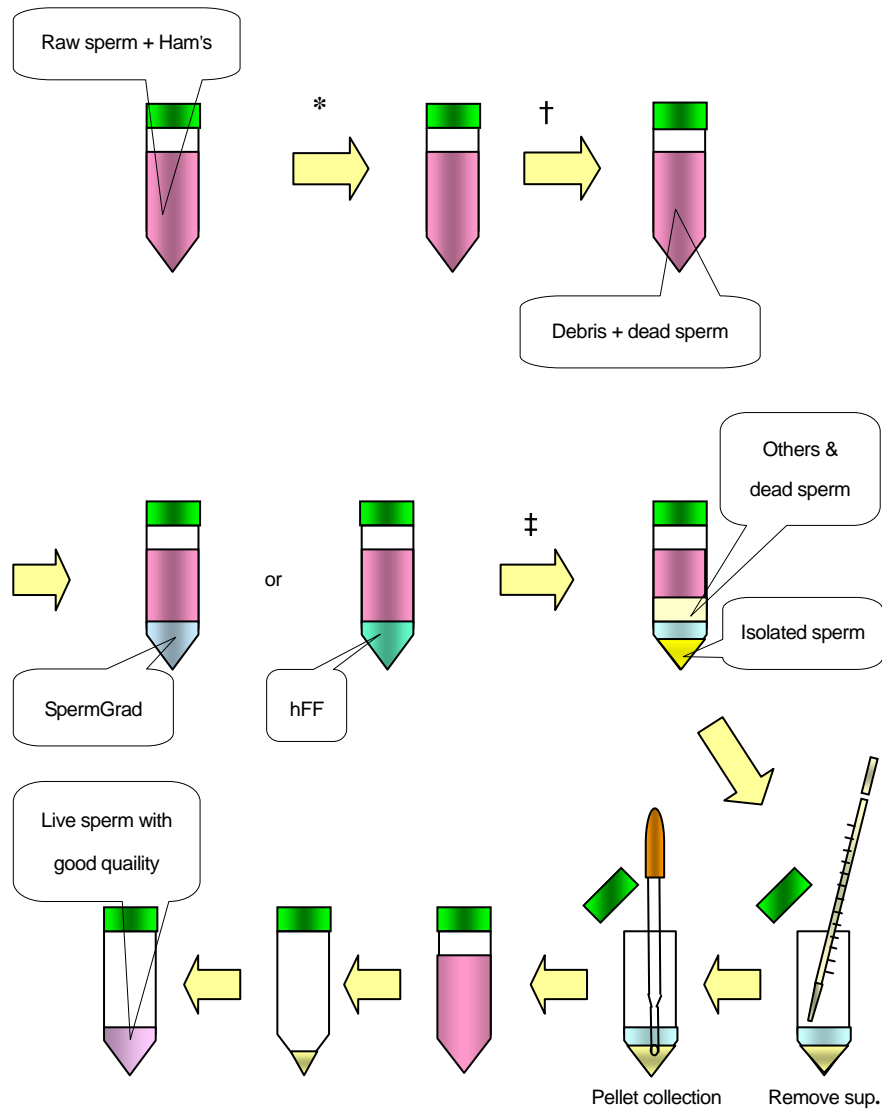
2004년 3월부터 7월까지 분당서울대학병원 산부인과를 방문하여 기본적 불임검사로서 정액검사를 시행한 환자 중 정자의 운동성이 50% 미만으로 세계보건기구 (World Health Organization, WHO)의 정의상 정자무력증의 소견을 보인 12명을 연구대상으로 하였다.<sup>7</sup> 12명의 남성의 평균 연령은 33.3±2.9세이었으며 처리 전 정자의 평균 운동성은 41.8±4.6% (범위: 30~46%), 평균 농도는 6.4±3.0×10<sup>8</sup>/ml이었다.

### 2. 연구방법

#### 1) 정액검사와 정자처리

48시간의 금욕 후에 수음을 통해 얻어진 정액을 최소 30분간 액화시킨 후 기본적인 정액 성상을 확인하기 위해 10 μl를 취하여 컴퓨터 정액분석기 (computer-assisted semen analyzer, SAIS, Semen Analysis Image System version 10.1, Medical Supply, Korea)를 이용한 정액분석을 시행하여 농도, 운동성, 빠른 운동성 정자의 비율, straight-line velocity (VSL), curvilinear velocity (VCL), average path velocity (VAP), amplitude of lateral head displacement (ALH), beat/cross frequency (BCF), straightness [STR, (VSL/VAP)×100], mean linearity [LIN, (VSL/VCL)×100] 및 과활동성 정자 (hyperactivated sperm)의 비율에 관한 자료를 얻었다. 컴퓨터 정액분석기의 설정은 다음과 같았다: Image acquisition rate 30 frame/sec, tract sampling time 1 sec, minimum sampling for motility 5 frames, minimum sampling for velocity 10 frames, minimum sampling for ALH 12 frames, maximum velocity 250 μm/s, minimum velocity 10 μm/s, cell size range 10~250 pixels. 과활동성 정자의 기준은 VCL > 80 μm/s, LIN < 65%, ALH > 6.5 μm/s으로 정하였다.<sup>8</sup>

이후 정액은 modified Ham's F-10 (Gibco, Grand Island, USA) 배양액으로 2회 세척하였다. 즉, 3 ml의 modified Ham's F-10으로 희석한 후 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 정자괴



**Figure 1.** Procedures of sperm preparation.

\*: Rinse and resuspension, †: Centrifuge for 30 seconds (\* 2), ‡: Centrifuge for 15 minutes or incubation for 1 hours

(sperm pellet)를 다시 3 ml의 modified Ham's F-10으로 희석한 후 3,000 rpm으로 30초 spin down하였다. 이후 운동성 정자가 풍부한 상층액을 2 등분하여 100% hFF 1.0 ml이 담긴 튜브와 100% 등장성 SpermGrad (Vitalife, Sweden) 1.0 ml이 담긴 튜브에 각각 조심스럽게 넣었다 (Figure 1).

100% hFF를 이용한 swim-down법에서는 5% CO<sub>2</sub> 배양기 안에서 37°C의 온도로 60분간 배양한 후 상층액은 제거하고 정자괴만을 얻어 10% Synthetic

Serum Substitute (SSS, Irvine Scientific, Santa Ana, USA)를 포함한 modified Ham's F-10으로 2회 세척한 후 상층액을 제거하고 정자괴를 취하여 컴퓨터 정액분석을 시행하였다. SpermGrad를 이용한 밀도차 분리법에서는 3,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후 상층액은 제거하고 남은 정자괴를 10% SSS를 포함한 modified Ham's F-10으로 2회 세척 후 상층액은 제거하고 남은 정자괴를 취하여 컴퓨터 정액분석을 시행하였다.

**Table 1.** Parameters of human sperms after preparation with swim-down using 100% hFF and density gradient using SpermGrad

	Fresh ejaculate	Swim-down using 100% hFF	Density gradient using SpermGrad
Total concentration ( $\times 10^8$ )	19.8 $\pm$ 2.2	5.7 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	7.8 $\pm$ 1.8
Motility (%)	41.8 $\pm$ 1.3	81.2 $\pm$ 4.7 <sup>a,†</sup>	67.6 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>
Motility, rapid (%)	28.4 $\pm$ 4.8	46.9 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>	47.4 $\pm$ 7.0 <sup>a</sup>
VCL ( $\mu$ m/s)	82.5 $\pm$ 4.9	106.6 $\pm$ 7.7 <sup>a</sup>	108.4 $\pm$ 7.7 <sup>a</sup>
VSL ( $\mu$ m/s)	29.5 $\pm$ 1.2	34.6 $\pm$ 2.0	35.5 $\pm$ 2.0
VAP ( $\mu$ m/s)	41.0 $\pm$ 2.1	49.6 $\pm$ 3.5	50.4 $\pm$ 3.5
ALH ( $\mu$ m)	3.7 $\pm$ 0.2	4.9 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	4.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>
BCF (Hz)	16.1 $\pm$ 0.4	16.6 $\pm$ 0.7	17.1 $\pm$ 0.8
STR (%)	72.4 $\pm$ 1.0	70.9 $\pm$ 1.4	71.1 $\pm$ 1.4
LIN (%)	37.1 $\pm$ 1.1	34.5 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>	34.8 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>
Hyperactivated sperm (%) <sup>‡</sup>	1.4 $\pm$ 1.4	5.1 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	5.3 $\pm$ 5.5 <sup>a</sup>

n = 12.

Data present: mean  $\pm$  SEM except, ‡: mean  $\pm$  SD.

a: p<0.05 when compared with fresh ejaculate (Mann-Whitney U test).

†: p<0.05 when compared with density gradient using SpermGrad (Mann-Whitney U test).

hFF: human follicular fluid, VCL: curvilinear velocity, VSL: straight-line velocity, VAP: average path velocity, ALH: amplitude of lateral head displacement, BCF: beat/cross frequency, STR: straightness, LIN: mean linearity

### 2) 난포액의 수집

분당서울대학교병원 산부인과에서 채취수정시술을 시행하는 여성에서 난자채취 시 얻은 흡인액 중 난자를 선별하고 이때 난포액을 수집하였다. 수집한 hFF는 세포 파편 등을 제거하기 위해 5.0  $\mu$ m, 0.8  $\mu$ m, 0.2  $\mu$ m pore size의 필터로 연속적으로 여과 처리한 후 56°C water bath에서 30분간 처리하여 비활성화 (inactivation) 시켰다. 이후 정자처리 사용 전까지 -70°C에서 보관하였으며 사용 전 37°C에서 해동한 후 0.22  $\mu$ m filter에 여과하여 사용하였다.

### 3) 통계분석

연구 결과에 대한 통계학적인 분석은 SPSS for Windows (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA) 프로그램을 이용하였다. 두 가지 정자처리 방법에 따른 변수들의 차이에 대해서는 Mann-Whitney U test를 사용하였으며 양측검정에서 p<0.05인 경우 통계학적인 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

처리 전 정액과 비교할 때 100% hFF를 이용한

swim-down법과 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법 모두에서 운동성과 빠른 운동성 정자의 비율, VCL, ALH 치 및 과활동성 정자의 비율이 통계적으로 유의하게 상승하였고, LIN 치는 유의하게 감소하였다. 그러나 VSL, VAP, BCF, STR 치는 처리 후에도 변화가 없었다 (Table 1).

100% hFF를 이용한 swim-down법과 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법을 상호 비교 시 운동성만이 100% hFF를 이용한 swim-down에서 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법에 비하여 통계적으로 유의하게 높게 나타났다 (81.2 $\pm$ 16.3 vs. 67.6 $\pm$ 7.9 p=0.02). 빠른 운동성 정자의 비율, VCL, VSL, VAP, ALH, BCF, STR, LIN 치 및 과활동성 정자의 비율에는 모두 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

## 고 찰

본 연구 결과 100% hFF를 사용하여 swim-down법으로 정자를 처리하였을 때 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법과 마찬가지로 정자처리를 시행하지 않은 상태의 정액에서보다 운동성과 빠른 운동성

정자의 비율, VCL, ALH 치 및 과활동성 정자의 비율이 유의하게 상승하였으며, SpermGrad를 이용한 밀도차분리법에 비해서 운동성이 유의하게 증가하여 양질의 정자를 회수하는데 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법을 대체할 수 있는 우수한 방법으로 생각된다.

컴퓨터 정액분석의 지표와 임신 결과와의 관계에 대한 기존의 연구 결과들을 살펴보면, Hirano 등<sup>9</sup>은 농도, 운동성, 모양, ALH, VCL, VSL 치, 빠른 운동성 정자의 비율 등이 정자의 수정 능력과 관계가 있다고 하였고, Donnelly 등<sup>10</sup>은 운동성, VAP, VSL, VCL, LIN 치와 과활동성 정자의 비율이 수정율과 관계가 있다고 하였다. 또한 Geyter 등<sup>11</sup>은 VCL, ALH, VAP, VSL 치가 수정률과 유의한 관계가 있으며 그 중에서도 VCL이 가장 뚜렷한 관계가 있다고 하였고, 과활동성 정자의 비율 또한 수정과 유의한 관계가 있다고 하였다.

Fabbri 등<sup>12</sup>은 hFF를 포함한 배양액에서 정자를 배양하였을 때 정자의 운동성, VCL, ALH 치가 증가하였다고 하였으며, Bajamonte 등<sup>4</sup>도 심한 정자 이상을 동반하는 환자의 정액을 Percoll과 50% hFF를 혼합하여 swim-up 방법으로 처리하였을 때 수정능과 환자당 배아이식 비율 및 임신율의 증가를 보고하여 체외수정술 시 심한 정자 이상이 있는 경우 hFF의 이용이 매우 유용하다고 보고하였다.

보조생식술에서 정액처리나 수정 시 배양액에 hFF를 포함하는 것이 임신 결과에 어떤 영향을 주는지에 대해서는 아직 논란이 있는 실정이다. hFF를 포함한 배양액을 사용하여 체외수정술 시 그 결과가 향상되었다는 보고도 있으며,<sup>4,21</sup> Hong 등<sup>22</sup>도 hFF가 정자의 운동성을 증가시키고 침체반응을 증대시키며 난자 쪽으로 이동하여 투명대에 부착하여 이를 용해하여 난자 내로 진입하는 과정을 촉진 시킴으로 보조생식술의 결과를 향상시킨다고 하였다. 그러나 배양액에 hFF를 포함하였을 때 정자가 난자와 반응하는 능력을 감소시켰다고 다른 보고들도 있으므로<sup>23-25</sup> 이에 대해서는 좀 더 연구가 필요하리라 생각된다.

한편, 본 연구의 결과를 보조생식술 시행 시 정자 처리에 곧바로 적용하기에는 몇 가지 제한점이 있다. 첫째, 연구에 포함된 대상군의 수가 12명으로 전체

군을 반영하기에는 어려움이 있다. 따라서 향후 대상군의 집단을 더욱 크게 하여 본 연구의 결과에 대한 확증이 필요할 것으로 사료된다. 둘째, 본 연구 결과 100% hFF를 사용하여 swim-down법으로 정자를 처리하였을 때 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법과 마찬가지로 운동성을 증가시킬 수 있었으며 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법에 비해서도 운동성이 유의하게 증가하였으나 SpermGrad 군이 hFF 군보다 총 정자의 수가 많으므로 운동성을 가지는 정자의 총 수는 두 군 간에 유의한 차이는 보이지 않았다. 수음을 통해 얻어진 정액을 전처리 후 같은 양으로 나누어 SpermGrad와 hFF로 정자처리를 하였을 때 각각의 정자처리 후 두 군간에 총 정자수의 차이를 보이는 것에 대해서 (통계적으로 유의하지는 않았다.) hFF 군에서 배양 시간에 따른 영향 여부 등에 대한 비교 분석이 추가로 필요할 것으로 사료된다 (Table 1). 셋째, 본 연구는 두 군간에 보조생식술에서 정자처리에 대한 결과를 비교한 것으로 그 비교 분석 대상이 정액검사에 제한되어 있다. 두 군에서 다른 방법으로 처리한 정액을 이용하여 시행한 보조생식술의 결과, 즉 수정률, 배아의 발달, 임신율 등의 변화에 대한 자료가 없어 실제 임상에서의 유용성 등에 대한 자료가 없다. 향후 대상군 집단을 크게 하고 이를 보조생식술에 이용하여 그 결과, 즉 수정율, 임신율 등에 주는 영향에 대한 연구가 필요 하겠다.

본 연구에서는 hFF를 배양액으로 이용하여 swim-down법을 적용하였다. 현재 개발된 정액처리법 중 가장 보편적으로 사용되고 있는 방법은 swim-up 방법과 밀도차분리법인데 이중 swim-up법은 비교적 정액처리 과정이 간단하고 운동성이 있으며 정상적인 형태를 가진 정자의 회수에 효율적이어서 많이 사용되고 있으나, 회소정자증, 무력정자증과 같은 남성 불임에서 얻어진 정액인 경우에는 그 효율성이 낮은 것으로 보고되고 있다.<sup>2</sup> 그러므로 남성 불임이 있는 환자의 정액을 처리할 경우에는 정자의 회수율을 높이기 위해 밀도차분리법이 많이 이용되고 있다. 본 연구에서는 정자감소증에서 많이 사용되고 있는 밀도차분리법과 hFF를 이용한 swim-down 방법을 비교하였는데 대부분의 논문에서는 밀도차분리법과 swim-up 방법을 서로 비교 분석하였다. 이에 hFF를

배양액으로 이용하는 정자처리법의 선택에 있어서 swim-down과 다른 방법, 예를 들어 swim-up, swim-cross법 등을 비교하여 각각의 방법에 대한 분석이 필요하겠다.

본 연구 결과 정자무력증을 보이는 정액에서는 100% hFF를 사용하여 swim-down법으로 정자를 처리하였을 때 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법과 마찬가지로 운동성을 증가시킬 수 있었으며 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법에 비해서도 운동성이 더욱 유의하게 증가하였다. 따라서 100% hFF를 사용한 swim-down법을 양질의 정자를 회수하는데 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법의 대체 방법으로 제시할 수 있다고 사료된다. 경제성과 배양액에 의한 정자의 손상, 독성 여부 등을 고려할 때 인간 난포액이 SpermGrad 등의 대체 물질로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 인간 난포액의 감염 여부와 다른 개체에서의 추출 등에 따른 항원-항체 반응 등에 대한 고려가 필요하며, 향후 실제 임상에서의 유용성에 대한 추가 연구가 수행되어야 한다.

## 참 고 문 헌

1. Berger RE, Karp LE, Williamson RA, Koehler J, Moor DE, Holmes LK. The relationship of pyrospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assay. *Fertil Steril* 1982; 37: 557-64.
2. Ohashi K, Saji F, Wakimoto A, Kato M, Tsutsui T, Tanizawa O. Preparation of oligozoospermic and/or asthenozoospermic semen for intrauterine insemination using the SpermPrep semen filtration column. *Fertil Steril* 1992; 57: 866-70.
3. Jaroudi KA, Carver-Ward JA, Hamilton CJ, Sieck UV, Sheth KV. Percoll semen preparation enhances human oocyte fertilization in male-factor infertility as shown by a randomized cross-over study. *Hum Reprod* 1993; 8: 1438-42.
4. Bajamonte M, Ruvolo G, Cimino C, Cittadini E. Advantages of treatment with human follicular fluid in the management of severely dyspermic patients in human in vitro fertilization programs. *Acta Eur Fertil* 1994; 25: 87-92.
5. Ruvolo G, Cassara G, Di Bella MA, Parrinello D, Manno M, Cimino C, et al. Activation of the acrosome reaction after treatment with human follicular fluid. A morphofunctional evaluation useful for in vitro fertilization. *Acta Eur Fertil* 1995; 26: 125-30.
6. Chao HT, Ng HT, Kao SH, Wei YH, Hong CY. Human follicular fluid stimulates the motility of washed human sperm. *Arch Androl* 1991; 26: 61-5.
7. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
8. Murad C, De Lamirande E, Gagnon C. Hyperactivated motility is coupled with interdependent modifications at axonemal and cytosolic levels in human spermatozoa. *J Androl* 1992; 13: 323-31.
9. 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 Genet* 2001; 18: 213-8.
10. Donnelly ET, Lewis SE, McNally JA, Thompson W. In vitro fertilization and pregnancy rates: the influence of sperm motility and morphology on IVF outcome. *Fertil Steril* 1998; 70: 305-14.
11. De Geyter C, De Geyter M, Koppers B, Nieschlag E. Diagnostic accuracy of computer-assisted sperm motion analysis. *Hum Reprod* 1998; 13: 2512-20.
12. Fabbri R, Porcu E, Lenzi A, Gandini L, Marsella T, Flamigni C. Follicular fluid and human granulosa cell cultures: influence on sperm kinetic parameters, hyperactivation, and acrosome reaction. *Fertil Steril* 1998; 69: 112-7.
13. Bongso A, Ng SC, Fong CY, Ratnam S. Cocultures: a new lead in embryo quality improvement for assisted reproduction. *Fertil Steril* 1991; 56: 179-91.
14. de Lamirande E, Leclerc P, Gagnon C. Capacitation as a regulatory event that primes spermatozoa for the acrosome reaction and fertilization. *Mol Hum Reprod*

- 1997; 3: 175-94.
15. Coddington CC, Franken DR, Burkman LJ, Oosthuizen WT, Kruger T, Hodgen GD. Functional aspects of human sperm binding to the zona pellucida using the hemizona assay. *J Androl* 1991; 12: 1-8.
  16. Yao Y, Ho P, Yeung WS. Effects of human follicular fluid on the capacitation and motility of human spermatozoa. *Fertil Steril* 2000; 73: 680-6.
  17. Hamamah S, Lanson M, Barthelemy C, Garrigue MA, Muh JP, Royere D, et al. Analysis of the lipid content and the motility of human sperm after follicular fluid treatment. *Andrologia* 1995; 27: 91-7.
  18. Meizel S, Pillai MC, Diaz-Perez E, Thomas P. Initiation of the human sperm acrosome reaction by components of human follicular fluid and cumulus secretions including steroids. In: Bavister BD, Cummins J, Roldan ERS, eds. *Fertilization in mammals*. Norwell, MA, USA: Serono Symposia, 1990: 205-22.
  19. Morales P, Llanos M, Gutierrez G, Kohen P, Vigil P, Vantman D. The acrosome reaction-inducing activity of individual human follicular fluid samples is highly variable and is related to the steroid content. *Hum Reprod* 1992; 7: 646-51.
  20. Burrello N, Vicari E, D'Amico L, Satta A, D'Agata R, Calogero AE. Human follicular fluid stimulates the sperm acrosome reaction by interacting with the gamma-aminobutyric acid receptors. *Fertil Steril* 2004; 82: 1086-90.
  21. Giorgetti C, Hans E, Spach JL, Auquier P, Roulier R. In-vitro fertilization in cases with severe sperm defect: use of a swim-across technique and medium supplemented with follicular fluid. *Hum Reprod* 1992; 7: 1121-5.
  22. Hong CY, Chao HT, Lee SL, Wei YH. Modification of human sperm function by human follicular fluid: a review. *Int J Androl* 1993; 16: 93-6.
  23. Yao YQ, Chiu CN, Ip SM, Ho PC, Yeung WS. Glycoproteins present in human follicular fluid that inhibit the zona-binding capacity of spermatozoa. *Hum Reprod* 1998; 13: 2541-7.
  24. Qiao J, Yeung WS, Yao YQ, Ho PC. The effects of follicular fluid from patients with different indications for IVF treatment on the binding of human spermatozoa to the zona pellucida. *Hum Reprod* 1998; 13: 128-31.
  25. Munque MJ, Caille AM, Botti G, Berta CL. Modulation of human sperm function by follicular fluid. *Andrologia* 2004; 36: 395-401.

= 국문초록 =

**목적:** 보조생식술에서의 정자처리법으로서 인간 난포액을 이용한 swim-down 방법의 유용성을 확인해 보고자 하였다.

**연구방법:** 분당서울대학교병원 산부인과에서 불임평가 목적으로 정액검사를 시행할 때 정자무력증 (asthenozoospermia, sperm motility < 50%)을 보이는 12명의 남성을 대상으로 하였다. 이들에서 검사 후 남은 정액을 100% 인간 난포액을 이용한 swim-down법과 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법을 적용하여 각각 처리하고 컴퓨터 정액분석기를 이용하여 정액검사를 시행하였다.

**결과:** 두 군 모두에서 운동성과 빠른 운동성 정자의 비율, VCL (curvilinear velocity), ALH (amplitude of lateral head displacement)치 및 과활동성 정자의 비율이 통계적으로 유의하게 상승하였고 LIN (mean linearity)치는 유의하게 감소하였다. 100% 인간 난포액을 이용한 swim-down법에서 정자의 운동성이 SpermGrad를 이용한 밀도차분리법에 비하여 유의하게 높게 나타났으며 ( $81.2 \pm 4.7$  vs.  $67.6 \pm 2.3$ ,  $p=0.02$ ), 다른 변수들은 두 군에서 차이를 보이지 않았다.

**결론:** 100% 인간 난포액을 이용한 swim-down법은 정자무력증을 보이는 경우 유용한 정자처리법으로 사료된다.

**중심단어:** 정자무력증, 밀도차분리법, 인간 난포액, SpermGrad, Swim-down