

세포질내 정자주입술 시행시 정자의 첨체반응이 수정란의 초기 발생과 임신율에 미치는 영향

영동제일병원 불임의학연구소

임유진 · 이동률 · 이정은 · 김해정 · 백혜란 · 윤현수 · 심현남 · 조정현 · 노성일

Acceleration of Early Embryonic Development by Induction of Acrosome Reaction in Intracytoplasmic Sperm Injection

Y.J. Lim, D.R. Lee, J.E. Lee, H.J. Kim, H.R. Paik, H.S. Yoon,
H.N. Shim, J.H. Cho and S.I. Roh

Infertility Research Center, Jeil Women's Hospital, Seoul, Korea

= Abstract =

Bypassing acrosome reaction and fusion process in intracytoplasmic sperm injection(ICSI), most of injected spermatozoa still contain intact acrosome contents and plasma membrane. It is not known yet what acrosome contents and plasma membrane of spermatozoa have effect on the development of embryo. For further understanding of fertilization process after ICSI, we studied the time of pronucleus formation, disappearance and first cleavage in human zygote, and pregnancy rate in relation to acrosome reaction rate of spermatozoa after ICSI. Seventy cycles undergoing ICSI program were randomly selected. Sperm suspension from 38 cycles were treated 50% human follicular fluid(hFF) for 3 hours in order to induce acrosome reaction, others were not treated as control. Acrosome reaction in hFF treated and non-treated group was assessed by fluorescein isothiocyanate(FITC)-conjugated *Arachis hypogea*(PNA) and *Pisum sativum* agglutinin(PSA). Oocytes were classified into 'good' and 'poor' according to their morphology. After ICSI, fertilization of oocytes were assessed by detection of two pronuclei at 16 hours. The pronuclei disappearance and first cleavage of zygotes were observed at 24 hours, and then embryos were transferred to uterus after culture for 72 hours. The rate of acrosome reaction of spermatozoa in hFF treated group was significantly higher than that in control($p<0.01$). Fertilization rates of good oocytes were not different both control and hFF treated group(81.3% (174/206) vs. 72.1%(102/130)). But, in poor oocytes, the fertilization rates in hFF treated group (72.1%(149/183)) were increased compared than those of control group (63.6%(98/140), $p<0.01$). In either good or poor oocytes, the rates of pronuclei disappearance in hFF treated-spermatozoa injected oocytes were higher than control (59.1%(103/174), 56.4%(84/149) vs. 32.4%(33/102), 37.8%(37/98), $p<0.01$). Also, the rates of first cleavage were increased in hFF treated group (31% (54/174), 24.1%(36/149)) compared than those of control group (10.8%(11/102), 13.2%(13/98), $p<0.01$). The pregnancy rates of hFF treated group (42.1%(16/38)) were slightly higher than control group (28.1%(9/32), $p>0.05$). But, the pregnancy rate of group which possessed more than one cleaved zygote at 24 hours was higher than group which did not (45.2%(19/42) vs. 21.4%(6/28), $p<0.05$). From these results, the development of zygotes were faster in higher

acrosome reacted sperm group than lower acrosome reacted sperm group after ICSI. Our results may be explained that acrosomal membrane and plasma membrane are easily detached from spermatozoa in acrosome reacted spermatozoa compared with acrosome intact sperm in the cytoplasm of oocyte during pronuclear formation. We conclude that the injection of acrosome reacted spermatozoa will increase the pregnancy rate as they can induce fast embryonic development in ICSI.

서 론

정소에서 형성되어 부정소를 거치면서 성숙된 정자는 여성의 생식수관내에 사출되어 통과하는 동안, 원형질막의 생리적인 변화에 의해 수정능력을 획득(capacitation)하게 되고(Fraser *et al.*, 1990), 나팔관의 팽대부에서 배란된 난자에 접근하게 된다. 정자의 침체반응은 난자의 난구복합체(cumulus complex)를 통과하며 progesterone에 노출되어 유발되고, 투명대와 상호작용에 의해 완성된다(Roldan *et al.*, 1994). 침체반응이 완성된 정자의 원형질막은 난자의 원형질막과 융합을 일으키게 되어 수정과정이 시작된다. 난자의 세포질 내로 들어간 정자의 핵은 탈응축과정을 거쳐 응성전핵을 형성하게 되고, 난자는 2차감수분열을 완료하면서 자성전핵을 형성하게 된다. 수정란은 두 전핵이 합쳐져(syngamy) 배아의 핵물질을 이루며, 유사분열을 통해 초기 발생과정을 진행한다.

인간의 체외 수정 및 배아 이식 시술(IVF-ET program)에서 남성요인 불임환자를 치료하기 위해 도입된 세포질내 정자주입술(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)은 다른 미세보조수정술에 비해 높은 수정률을 얻을 수 있어, 이들 환자에서 임신의 기회를 높여 주고 있다(Van Steirteghem *et al.*, 1993a, b). 또한 저조한 수정률을 보여주는 면역요인과 여성요인 불임환자에서도 수정률을 증가시켜 ICSI의 적용범위는 점점 넓어지고 있다(Jun *et al.*, 1997; 이동률 등, 1996).

ICSI는 미세관을 이용하여 정자를 난자의 세포질 내에 직접 주입하는 방법으로 투명대 통과 시 일어나는 정자의 침체반응과 난자의 원형질막과의 융합과정이 생략된다. 이러한 이유로 ICSI에 의한 수정은 일반적인 수정과 비교하여 그 과정 및 기작이 다를 것으로 예상되고 있다. ICSI에 의한 수정에서 높은 수정률을 얻고자 정자에 pentoxifylline을 처리하거나 electroporation을

통해 침체반응을 유발하여 난자 내에 주입하는 방법과(Palermo *et al.*, 1993), 정자와 함께 주입되는 배양액 내에 Ca^{++} 의 농도를 높여 난자를 활성화시키는 방법이 보고된 바 있다(Edwards & Steirteghem, 1993). 그러나 이러한 정자처리 과정이 ICSI 후 난자의 수정률에는 영향을 주지 않으며(Liu *et al.*, 1994), 난자의 활성화는 정자와 난자의 융합과정에 의한 것이 아니라 정자 내에 존재하는 osillin에 의해 유발된다고 보고되었다(Tesarik *et al.*, 1994; Dozortsev *et al.*, 1995; Parrington *et al.*, 1996).

ICSI에 의한 수정시, 난자 내에 주입되는 정자의 침체반응이 수정률에는 영향을 미치지 않는 것으로 보고된 바 있지만, 수정 이후 배아의 초기 발생 과정에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 미진하다. 최근, 난포액이나 pentoxifylline을 처리해 침체반응을 유발한 인간의 정자를 헵스터의 난자 내에 주입하였을 때 수정률에는 영향을 미치지 않았으나, 수정란의 전핵형성이 빨라졌다는 연구결과가 보고되었다(Lee *et al.*, 1997). 따라서 본 연구는 인간의 체외 수정 및 배아 이식 시술시 ICSI에 의한 수정 과정에서 정자의 침체반응이 수정률과 배아발생, 임신율에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 1995년 10월부터 1996년 1월까지 본원에 내원한 남성요인이나 원인 미상의 불임 환자에서 ICSI를 시행한 70례를 대상으로 하였다. 남성요인 중 폐쇄성 또는 비폐쇄성 무정자증 환자들은 본 연구에서 제외하였다.

2. 정자의 준비

난자 채취 당일 환자로부터 채취한 정액을 30분간 액화한 후 Hamilton Thorn-Motility Analyzer (HTM-C, Danvers, MA, USA)를 이용하여 분석하

였다. 정자의 상태에 따라 swim-up, percoll, mini-percoll 분리 방법을 이용하여 운동성이 양호한 정자를 회수한 후, 0.5% bovine serum albumin (BSA, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)이 포함된 human tubal fluid medium (HTF, Quinn *et al.*, 1985)으로 2번 세척하였다. 70례중 38례의 정자는 첨체반응 유발을 위해 50% 인간의 난포액을 3시간동안 처리하였으며, 난포액을 처리하지 않은 32례를 대조군으로 하였다.

3. 첨체반응의 확인

정자의 첨체반응은 fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated *Pisum sativum* agglutinin (PSA, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)과 *Ara-chis hypogea* agglutinin (PNA, Vector Laboratories)에 의한 염색방법으로 확인하였다 (Mortimer *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1997). 난포액을 처리한 실험군의 정자와 처리하지 않은 대조군의 정자 현탁액을 phosphate-buffered saline (PBS, Gibco BRL)으로 세척한 후 슬라이드 위에 도말하였고, 건조시킨 후 상온에서 1분간 100% methanol (Merck, Germany)로 고정하였다. 50µg/ml의 FITC-PSA, PNA 용액 내에서 30분간 염색한 후, 증류수로 세척하고 형광 현미경 (Optiphot-2, Nikon, Tokyo, Japan)하에서 관찰하였다. 각 슬라이드에서 200개 이상의 정자를 관찰하였고, 첨체반응 상태에 따라 acrosome intact와 partial acrosome reacted, complete acrosome reacted로 분류하였다.

4. 세포질내 정자주입 (Intracytoplasmic sperm injection, ICSI)

정자의 미세주입은 도립현미경 (Diaphot 300, Nikon, Japan)에 장착된 미세조작기 (NT-88, Narishige, Japan)를 이용하였다. ICSI에 사용된 holding pipette은 microforge (MF-9, Narishige)를 이용하여 내경 15~20µm, 외경 100~120µm로 만들었으며, injection pipette은 microgrinder (EG-6, Narishige)로 내경을 5~7µm로 갈고, microforge로 'spike'를 만들어 사용하였다.

난자채취 후 4~6시간에 난자-난구 복합체를 0.1% hyaluronidase (H-3884, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)가 포함된 HTF에 3분간 처리하여 난구세포를 제거한 후 제1극체가 관찰되는 성숙한 난자를 ICSI에 사용하였다.

실험군과 대조군의 정자 현탁액은 배양접시내

배양액 drop으로 옮겨 운동성 정자를 회수하여 10% polyvinylpyrrolidone (PVP-360, Sigma, PVP) drop으로 옮겨 운동성을 감소시키고 injection pipette으로 운동성 정자에 물리적 힘을 가하여 운동성을 없앤 후, 성숙된 난자에 주입하였다. ICSI를 시행한 난자는 mineral oil (Squibb oil, E.R. Squibb & Sons Inc., USA)이 덮인 20µl의 10% patients serum 혹은 synthetic serum substitute (SSS, Irvine Scientific, Santa Ana, CA USA)가 포함된 HTF 배양액으로 옮겨 37°C, 5% CO₂가 유지되는 배양기 (BB-6220, Haeraus, Germany)내에서 배양하였다.

5. 수정확인 및 배아이식

수정확인을 위하여 ICSI를 시행한 후 16시간에 도립 현미경을 이용하여 실험군과 대조군의 난자에서 전핵의 형성 여부를 관찰하였다. 두개의 전핵이 형성된 경우를 정상적인 수정으로 판정하였다. 정상적으로 수정된 배아에서 ICSI 후 24시간에 전핵의 소실과 배아의 1차 난할 (cleavage)을 관찰하였으며, 48, 72시간에 배아의 발생 상태를 관찰한 후 자궁 내로 이식하였다.

6. 임신확인

임신 여부는 배아이식 10~12일에 혈청내 β-hCG 양이 20mIU/ml 이상일 때 양성으로 판정하였고, 태아의 심장박동 (fetal heart beat)이 확인된 경우를 임상적 임신 (clinical pregnancy)으로 정의하였다.

7. 분석 및 통계 방법

난포액을 처리한 군과 처리하지 않은 군에서 정자의 첨체반응을 조사한 후 ICSI를 시행하여 두 군간의 초기발생과 임신율을 비교하였다. 또한 24시간째 첫 번째 난할이 1개이상 일어난 군과 일어나지 않은 군의 임신율을 비교하였다. 결과에 대한 통계 분석은 student *t*-test와 χ^2 -test를 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

정자 현탁액에 50% 난포액을 3시간 처리한 실험군과 처리하지 않은 대조군에서 정자의 첨체반응 여부를 FITC-PSA와 PNA에 의한 염색방법

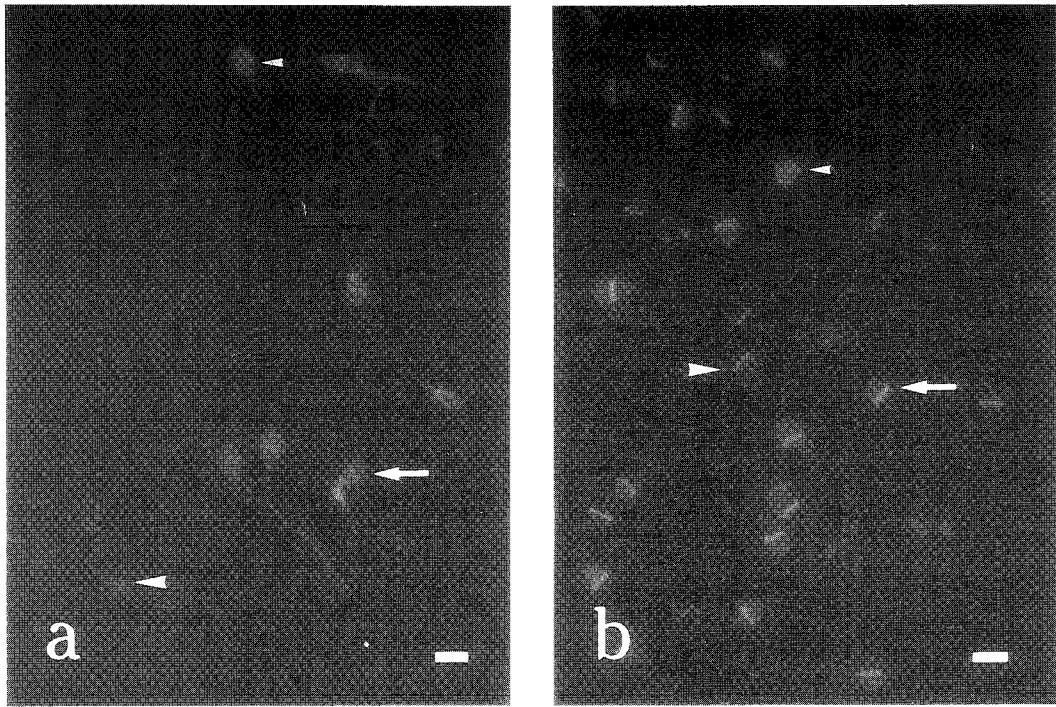


Figure 1. Human spermatozoa stained with fluorescein isothiocyanate conjugated *Pisum sativum* agglutinin (FITC-PSA; a) or *Arachis hypogea* agglutinin (FITC-PNA; b). Arrows indicate partial acrosome reaction, large arrowheads indicate complete acrosome reaction, and small arrowheads indicate intact acrosome. Bar indicates 5µm.

Table 1. Partial or complete acrosome reaction rate in washed control and hFF treated group assessed by fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated *Pisum sativum* (PSA) and *Arachis hypogea* (PNA) lectin staining

Groups (n=9)	FITC-PSA		FITC-PNA	
	Complete AR ^b	Partial AR	Complete AR	Partial AR
	%	%	%	%
Washed Control	11.4±1.8 [#]	16.0±4.2	16.2±3.0	19.9±3.9
hFF ^a	31.5±5.9*	39.7±6.9*	32.2±5.1*	40.3±4.2*

^a hFF: human follicular fluid

* Significantly different from washed control group, p<0.01

[#] Values are means±SE

^b AR: acrosome reacted.

으로 이용하여 확인하였다. 침체반응 상태에 따라 acrosome intact, partial acrosome reacted와 complete acrosome reacted로 구분하여 계수하였다 (Figure 1). FITC-PSA와 FITC-PNA 염색 방법으로 분석한 결과, 정자에 난포액을 처리한 실험군이

Table 2. Cycle characteristics in ICSI programs using washed control and hFF-treated sperm

	Washed control	hFF ^a -treated
No. of cycles	32	38
Age (yrs) of patients	33.4±4.2 [#]	32.1±3.9
No. of retrieved oocytes	383 (11.9±5.9)	530 (13.9±6.9)
No. of injected oocytes	318 (9.9±3.6)	428 (11.1±3.9)

^a hFF: human follicular fluid

[#] Values are means±SE.

대조군보다 complete acrosome reacted rate(31.5±5.9, 32.2±5.1 vs. 11.4±1.8, 16.2±3.0)와 partial acrosome reacted rate(39.7±6.9, 40.3±4.2 vs. 16.0±4.2, 19.9±3.9)에서 모두 유의하게 높았다 (p<0.01, Table 1).

남자는 난구 세포를 제거한 후, 현미경으로 관찰한 형태로 난자 내 세포질의 분포와 색소 침착 정도에 따라 'good'과 'poor'로 구분하여 ICSI를 시행하였다. Good oocyte는 실험군과 대조군에서

Table 3. Comparison of fertilization, pronucleus disappear and cleavage rate between washed control and hFF-treated sperm in ICSI programs

	Washed control		hFF-treated	
	Good ^a	Poor ^b	Good ^a	Poor ^b
No. of injected oocytes	130	140	206	183
No. of fertilized eggs ¹ (%)	102 (72.1)	98 (63.6)	174 (81.3)	149 (72.1)*
No. of PN disappeared eggs ² (%)	33 (32.4)	37 (37.8)	103 (59.1)*	84 (56.4)*
No. of cleaved eggs ² (%)	11 (10.8)	13 (13.2)	54 (31.0)*	36 (24.1)*

^a Oocytes which exhibits good morphology, ^b Oocytes which exhibits poor morphology, ¹ At 16 hours after ICSI, ² At 24 hours after ICSI, * p<0.01

Table 4. Comparison of clinical pregnancy rate between washed control and hFF-treated group in ICSI programs

	Washed control	hFF-treated
No. of ET	32	38
No. of transferred eggs [#]	3.2±1.5	3.4±1.3
No. of clinical pregnancy (%)	9 (28.1)	16 (42.1)

[#] Values are means ± SE.

수정률은 차이가 없었으나(81.3% vs. 72.1%), poor oocyte에서는 실험군이 대조군에 비해 유의하게 높았다(72.1% vs. 63.6%, p<0.01, Table 3).

ICSI 시행 24시간 후 PN이 사라지는 비율은 난포액을 처리한 정자를 이용한 ICSI 시행군에서 유의하게 높았으며(59.1%, 56.4% vs. 32.4%, 37.8%; p<0.01), 24시간 후 수정란의 1차 난할률도 난포액을 처리한 군에서 더 높았다(31.0%, 24.1% vs. 10.8%, 13.2%; p<0.01, Table 3).

난포액이 처리된 정자를 이용한 ICSI를 시행한 실험군의 전체 임신율은 난포액을 처리하지 않은 정자를 사용한 대조군에 비해 높았으나 유의한 차이는 없었다(42.1%(16/38) vs. 28.1%(9/32), p>0.05, Table 4). 그러나, ICSI 후 24시간에 난할이 일어난 배아가 한 개 이상 있는 군의 임신율이 난할이 일어나지 않은 군에 비해 유의하게 높았다(45.2%(19/42) vs. 21.4%(6/28), p<0.05, Table 5).

고 찰

심각한 남성불임을 치료하기 위해 도입된 ICSI는 미세수술적 부고환 정자흡입술(microepididymal sperm aspiration)과 고환조직 정자채취술(testicular sperm extraction)의 도입으로 일부의 무

Table 5. Comparison of clinical pregnancy rate between one group which had more than one cleavage embryos and the other group which had not cleavage at 24 hours after ICSI

	No cleavage	Cleavage
No. of ET	28	42
Age (yrs) [#]	33.3±3.8	32.3±4.2
No. of transferred embryos [#]	3.1±1.4	3.4±1.4
No. of clinical pregnancy (%)	6 (21.4)	19 (45.2)*

[#] Values are means ± SE.

* p<0.05

정자증 환자에서도 불임의 치료가 가능해졌다(Silber *et al.*, 1994; Devroey *et al.*, 1995). 또한 면역요인과 여성요인으로 저조한 수정률을 보이는 환자에도 적용증이 넓어지고 있다(Jun *et al.*, 1997; 이동률 등, 1996).

수란관 내에서 수정 능력을 획득한 정자의 침체반응은 난자의 난구세포에서 분비되는 progesterone에 노출되어 유발되고 투명대에 의해 완료되며, 수정 과정은 투명대 통과과정 그리고 난자의 원형질막과의 융합과정을 거쳐 이루어진다. 침체반응은 수정과정에서는 필수적이며, 미세보조수정술에서 인위적인 침체반응의 유발은 수정률 증진에 필수적인 과정으로(Fishel *et al.*, 1990; Palermo *et al.*, 1992), zona glycoprotein 3 (ZP3)(Wassarman, 1988), Ca⁺⁺ ionophore(Babcock *et al.*, 1976; Fraser, 1984), 난포액(Suarez *et al.*, 1986; 계명찬 등, 1997; Lee *et al.*, 1997) 등의 물질을 정자에 처리함으로써 가능하다. 또한 침체반응은 정자의 원형질막을 융합에 적합한 상태로 변화시켜 난자 원형질막과의 융합을 용이하게 한다. 그러나 난자 세포질내 정자의 직접주입을 통해 수정이 이루어지는 ICSI는 기존의 체외 수정

과 달리 침체반응과 투명대 통과, 원형질막과의 융합과정이 생략된 다른 수정기작을 가지고 있으나, 이들의 생략이 배아 발생과정에서 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구는 미진하다.

ICSI 과정에서 난포액이나 electroporation으로 정자의 전 처리, ICSI 시행시 난자내로 주입되는 배양액내에 존재하는 고농도의 Ca^{2+} 이 ICSI 후 수정률을 높여 줄 것이라고 제안되었으나(Palermo *et al.*, 1993; Edwards & Van Steirteghem, 1993), Liu 등(1994)은 배양액 내에 첨가된 대사 조절 물질(metabolic stimulants)인 pentoxifylline나 2-deoxyadenosine을 처리하여 정자의 침체반응을 증가시키는 것이 ICSI 후 높은 수정률과는 관계가 없다고 보고하였다. 그러나 최근 햄스터 난자의 세포질내 인간의 정자를 주입한 연구에서 침체반응을 유발한 정자의 주입이 수정률에는 영향을 미치지 않으나 전핵 형성 시간을 촉진한다고 보고되었다(Lee *et al.*, 1997).

인간의 정자와 난자를 사용한 본 연구에서, 50% 난포액을 처리한 정자를 주입한 good oocytes에서는 난포액을 처리하지 않은 대조군에 비해 수정률의 차이가 없었으나 poor oocytes에서는 수정률의 증진을 관찰할 수 있었다. 이는 난포액에 의한 정자의 수정능력 증진이 poor quality의 난자를 도와 수정률을 높여 주었을 것으로 여겨진다. 실제로 수정에 실패한 난자의 세포질내에 intact한 정자가 관찰되며, 이는 난자의 불완전한 성숙이나 정자의 기능적인 장애에 의해 일어난다(Dozortsev *et al.*, 1994). 정자의 세포질 인자(cytosolic factor)를 난자 내에 주입하였을 경우 난자의 활성이 이루어지고(Dozortsev *et al.*, 1995), 수정 후 난자를 활성화시키는 과정에서 난자의 세포질내 Ca^{2+} 의 방출을 유발하는 단백질로 보고된 osillin이 정자 내에서 분리, cloning되어(Parrington *et al.*, 1996), 수정시 정자의 세포내 요소들의 기능에 대한 중요성이 강조되었다. 또한 시험관 아기 기술 과정에서 pentoxifylline이나 2-deoxyadenosine의 처리에 의한 정자 기능의 증진이 수정률과 임신율의 증진에 기여한다고 일부 연구자들에 의해 보고되고 있다(Tourmaye *et al.*, 1994).

인간 난자는 ICSI에 의한 수정 과정에서 전핵은 8시간에서 12시간 사이에 형성되어(Nagy *et al.*, 1994), 24시간 전후에 소실되고, 수정란은 난할을 일으켜 2-세포기로 발생한다. 따라서 전핵

이 소실되는 시기와 1차 난할이 이루어지는 시기를 관찰함으로써 배아발생의 촉진여부를 판단할 수 있다. 본 연구에서 난포액을 처리한 정자를 주입한 난자에서 전핵의 소실시기와 1차 난할이 빨라지고, 초기 배아발생이 촉진되는 것을 알 수 있었다. ICSI에 의해 주입된 정자가 수정과정을 완료하기 위해 난자를 활성화시키고 핵은 탈응축되어 전핵을 형성하게 된다. 이 과정에서 정자의 침체막과 원형질막이 제거되고 세포질내 난자 활성화물질이 난자 내로 배출되어야 하며, 침체반응이 유발된 정자는 침체반응이 유발되지 않은 정자에 비해 이 과정이 촉진되므로써 전핵형성과 난할과정이 촉진되는 것으로 볼 수 있다.

체외에서 배양되는 배아는 불완전한 배양조건으로 체내에서 발생하는 배아에 비해 발생속도가 느려진다. 또한 인간의 체외 수정 및 배아 이식 기술에서 많은 난자를 획득하기 위해 사용되는 과배란유도는 자연주기에 비해 자궁내막의 착상 시기가 빨리 형성되어, 배아의 발생단계와 불일치를 보임으로써 저조한 착상률을 나타내는 것으로 알려지고 있다. 따라서 발생이 빠른 배아를 이식했을 경우에는 발생이 느린 배아를 이식했을 때 보다 높은 임신율을 얻을 수 있는 것으로 보고되었고(Edwards *et al.*, 1984), 배아의 발생을 촉진하기 위해 많은 연구가 시행되어 왔다. 배양조건을 향상시키기 위해, 체세포를 이용한 공배양 기술과 배양액의 개선 등이 이루어지고 있다. 본 연구에서 난포액을 처리한 정자를 주입한 군에서 배아 발생이 촉진되었고 자궁 내에 이식하였을 때 임신율은 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나 ICSI 후 24시간 내에 한 개 이상이라도 난할을 일으킨 배아가 있는 군의 임신율은 난할이 일어나지 않은 군의 임신율에 비해 높았다. 따라서 ICSI를 이용한 체외 수정 및 배아 이식 기술에서 침체반응이 유발된 정자에 의한 배아발생의 촉진은 임신율을 증가시키는데 도움이 될 것으로 여겨진다.

결 론

ICSI 과정에서는 기존의 IVF와는 달리 침체반응과 투명대 통과, 원형질막의 융합과정이 생략되어진다. 따라서 이들에 의한 전핵형성이나 배아발생에 미치는 영향에 관한 연구는 ICSI에 의한 수정기작을 밝히는데 도움을 줄 것이다. 본

연구에서는 첨체반응과 ICSI의 결과를 비교하였다.

1. 50% 난포액을 처리하여 첨체반응을 유발한 정자를 주입한 경우 good oocytes에서는 수정률에 차이가 없었으나, poor oocytes에서는 수정률이 증가하였다.

2. ICSI시행 후 24시간째, 전핵의 사라짐과 첫 번째 난할율은 첨체반응을 유발한 정자를 주입한 군에서 유의하게 증가하여 발생이 촉진됨을 알 수 있었다.

3. 첨체반응을 유발한 정자를 주입한 군의 임신율이 대조군에 비해 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나 배아 발생이 빠른 군의 임신율은 느린 군에 비해 임신율이 유의하게 증가함을 알 수 있었다.

이상의 결과로 보아 ICSI 시행시 정자의 첨체반응 유발은 poor quality 난자의 수정률을 증진시키고, 또한 난자 내에서 첨체막과 원형질막의 제거를 쉽게 하여 전핵형성과 배아의 발생과정을 촉진하여, 임신을 증진에 도움을 주는 것으로 사료된다.

인 용 문 헌

- Babcock DF, First NL, Lardy HA: Action of ionophore A23187 at the cellular level. *J Biol Chem* 1976, 251, 3881-3886.
- Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A, Silber S: Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995, 10, 1457-1460.
- Dozortsev D, De Sutter P, Dhont M: Behaviour of spermatozoa in human oocytes displaying no or one pronucleus after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1994, 9, 2139-2144.
- Dozortsev D, Rybouchkin A, De Sutter P, Qian C, Dhont M: Human oocyte activation following intracytoplasmic injection: the role of the sperm cell. *Hum Reprod* 1995, 10, 404-407.
- Edwards RG, Fishel S, Cohen J, Fehilly CB, Purdy JM, Steptoe PC, Webster JM: Factors influencing the success of IVF for alleviation of human infertility. *J In Vitro Fert Embryo Trans-*
- fer* 1984, 1, 3-23.
- Edwards RG, Van Steirteghem AC: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and human fertilization: does calcium hold the key to success? *Hum Reprod* 1993, 8, 988-989.
- Fishel S, Jackson P, Antinori S, Johnson J, Grossi S, Versaci C: Sub-zonal insemination for the alleviation of infertility. *Fertil Steril* 1990, 54, 828-835.
- Fraser LR: Mouse sperm capacitation in vitro involves loss of surface-associated inhibitory component. *J Reprod Fert* 1984, 72, 373-384.
- Fraser LR, Harrison RAP, Herod JE: Characterization of a decapacitation factor associated with epididymal mouse spermatozoa. *J Reprod Fert* 1990, 89, 135-148.
- 계명찬, 김성례, 김문규: 저정낭액이 생쥐 부정소 정자의 첨체반응에 미치는 영향. *대한불임학회잡지* 1997, 24, 27-34.
- Jun JH, Lim CK, Park YS, Lee YS, Seo JT, Son IP, Lee HJ, Kang IS: Efficacy of Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) treatment in the immunological infertile patients. *Am J Reprod Immunol* 1997, 37, 310-314.
- 이동률, 윤현수, 백혜란, 심현남, 전종식, 이승현, 조정현, 노성일: Polycystic Ovarian Syndrome 및 Severe Endometriosis를 가진 불임환자에서 세포질내 정자주입술에 의한 수정률과 임신을 증진. *대한불임학회잡지* 1996, 23, 137-143.
- Lee DR, Lee JE, Yoon HS, Roh SI: Induction of acrosome reaction in human spermatozoa accelerates the time of pronucleus formation of hamster oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1997, 67, 315-320.
- Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Intracytoplasmic sperm injection does not require special treatment of the spermatozoa. *Hum Reprod* 1994, 9, 1127-1130.
- Montimer D, Curtis EF, Miller RG: Specific labelling by peanut agglutinin of the outer acrosomal membrane of the human spermatozoon. *J Reprod Fert* 1987, 81, 127-135.
- Nagy ZP, Liu J, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Time-course of oocyte activation

- pronucleus formation and cleavage in human oocyte fertilized by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1994, 9, 1743-1748.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992, 340, 17-18.
- Palermo G, Joris H, Derde M-P, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem AC: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1993, 59, 826-835.
- Parrington J, Swann K, Shevchenko VI, Sesay AK, Lai FA: Calcium oscillation in mammalian eggs triggered by a soluble sperm protein. *Nature* 1996, 379, 364-368.
- Quinn P, Kerin JF, Warnes GM: Improved pregnancy rate in human in vitro fertilization with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertil Steril* 1985, 44, 493-498.
- Roldan RES, Murase T, Shi Q-X: Exocytosis in spermatozoa in response to progesterone and zona pellucida. *Science* 1994, 266, 1578-1581.
- Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod* 1994, 9, 1705-1709.
- Suarez SS, Wolf D, Meizel S: Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. *Gamete Res* 1986, 14, 107-121.
- Tesarik J, Sousa M, Testart J: Human oocyte activation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1994, 9, 511-518.
- Tournaye H, Wieme P, Janssens R, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A: Incubation of spermatozoa samples with pentoxifylline and 2-deoxyadenosine: variability in hyperactivation and acrosome reaction rates. *Hum Reprod* 1994, 9, 2038-2043.
- Van Steirteghem AC, Liu J, Joris H, Nagy Z, Janssenswillen C, Tournaye H, Derde M-P, Van Assche E, Devroey P: Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 1993a, 8, 1055-1060.
- Van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J, Wisanto A, Devroey P: High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993b, 8, 1061-1066.
- Wassarman PM: Zona pellucida glycoproteins. *Ann Rev Biochem* 1988, 57, 415-442.