

哺乳動物에 있어서 性判別의 시도

—X, Y精자의 分離를 中心으로—

正木淳二 博士
(東北大學 農學部)

出生前에 있어서 性判別(pre-natal sexing)과 그에 기초한 性支配(sex control)의 시도는 오랜 세월에 걸쳐 生殖研究에 종사하는 사람들의 관심을 모아 왔다. 지금까지 사람이나 家畜의 材料를 中心으로 X精자와 Y精자의 分離에 대해서 여러 가지 방법이 많은 研究者들에 의해 시도되어 왔으나 거의 예외없이 成功例와 失敗例가 混在한 狀態로 今日에 이르렀다. 더우기 근년에는 胚(embryo)를 對象으로 한 性判別이 시도되어 方法도 한층 多樣化 되고 있다. 이 重要的 그러나 時間과 經費와 勞力을 要하는 일들이 불필요하게 반복되지 않도록 우리들은 歷史的인 경과와 현상을 옹계 認識할 필요가 있다.

여기에 最近에 있어서 性判別 研究의 動向과 日本에 있어서 研究의 現狀을 紹介하고 將來의 方向에 대한 展望에 대해서도 살펴 보기로 한다.

X, Y精자의 判別과 分離

哺乳動物의 性染色體는 公이 異型인 XY型으로 있기 때문에 X精자와 Y精자가 性決定의 열쇠를 쥐고 있다. 따라서 兩精자의 차이를 확실히 하고 더 나아가서 이것을 分別해내기 위해서 核型分析의에 DNA量, 精子頭部の 螢光物質의 有無, 精子의 運動性, 表面電荷, 抗原性, 性染色體關聯酵素의 動態 등이 조사되고 있다. 精子 DNA의 量的 差異나 特徵을 조사하기 위해 最近에는 flow cytometry나 Y染色體用의 DNA probe(Y chromosome specific DNA probe)가 導入되고 있다. 또, 螢光物質에 대해서는 quinacrine mustard 染色에 의해 精子頭部に 出現하는 F-body가 사람의 Y精子 識別에 利用되고 있다. 精子의 運動性 및 沈降速度에 대해서는 각각 알부민층 및 密度勾配層을 써서 조사하고 있고, 特히 後者에 대해서는 퍼-콜密度勾配遠心分離(percoll density gradient centrifugation)가 話題를 불러 일으키고 있다. 表面電荷의 差에 대해서는, 最近 無擔體電氣泳動(freeflow electrophoresis)을 쓴 報告가 발표되고 있다. 免疫學的 方法에는 H-Y抗原에 의한 分別이 實驗動物의 精子를 포함

하여 시도되고 있다.

胚의 性判別

X, Y 精자의 判別, 分離가 現在로는 많은 어려움이 뒤따르기 때문에 그 대신에 發生中에 있는 胚를 對象으로 한 性判別도 시도되고 있다. 方法으로서는 性 chromatin 分析, 核型分析, 抗原性, 發生速度, 性染色體關連酵素, Y染色體用의 DNA probe 등이 도입되고 있다. 이들 方法은 精자를 對象으로 한 判別法에 비해 確實性은 있으나 判別の 時期가 늦다는 것과 材料가 發生中의 胚이기 때문에 檢査가 制約받는 등의 缺點이 있다.

日本에 있어서 最近의 X, Y 精子分離에 관한 研究

1983年, 日本에서는 人에서 X, Y 精자의 分離에 成功했다고 하는 두 가지 報告가 나왔다(Kaneko et al., 1983a, 1983b). 하나는 無擔體電氣泳動, 다른 하나는 퍼-콜 密度勾配遠心分離에 의한 것이 그것이다. X, Y 精자의 分離의 判定에는 Y精자에 特異적으로 出現한다고 하는 F-body가 指標로 되고 있다. 또 percoll 法에 대해서는 少數例이긴 하지만 臨床試驗의 結果가 報告되어 分割精자에 의한 人工授精에서 적어도 女兒의 出産에 대해서는 거의 100%의 確率로 可能한 것이 제시되었다. 이들의 報告는 日本에서도 精子研究에서는 權威있는 機關의 研究者에 의해 실시되었다는 점과 매스컴에서 크게 취급되었다는 점 등으로 全國的인 話題가 되어 第5回 國際精子學심포지움(1986)에 있어서도 世界精子學者들에게 그 概要가 紹介되었다. 그후, 이들 方法에 대해서는 畜産學領域의 研究者에 의해 牛精子에서 追試되어 結果가 報告되고 있다.

無擔體電氣泳動裝置를 쓴 人精子의 分離報告(kaneko et al., 1983a)에 의하면 泳動의 結果 2峯性 像이 나타나 陽極에 향하여 易動度가 빠른 分割精자에는 F-body가 檢出되지 않았던 것으로 부터 X精자가 함유되어 있고, 늦은 分割에는 Y精자가 많이 함유된 것으로 判定되었다. 이것은 精子表面이 負에 荷電하고 그 程度가 X, Y 精子間에 差가 있기 때문으로 解釋되고 있다. 이 方法을 牛精子에 應用한 報告(柳田等, 1989)에서도 人精子에 있어서와 마찬가지로 2峯性의 泳動像이 인정되고 있다. 그러나 精子運動性에 대해서는 陽極側에 가까운 첫번째 피-크 부근의 것이 良好했던 것에 반해 둘째 피-크 부근의 것은 거의 死滅해 있는 것이 밝혀졌다. 牛精子에서는 일반적으로 F-body 檢出이 困難한 것으로 되어 있어서 分離效果判定에는 受精試驗이 必要하게 된다. 그래서 運動性의 良好한 첫째 피-크 分割부근의 精자를 모아서 人工授精한 結果 얻어진 産仔의 性比는 雌의 比率이 63.3%(50/79)로 對照牛群에서 조사한 性比와 큰 차이가 없었고 따라서 牛精子에서는 期待한 것과 같은 成績은 얻을 수 없었다.

한편 퍼-콜密度勾配에 의한 遠心分離는 지금까지 X, Y 精子的 分割에 써온 密度勾配法의 새로운 型으로 人精에서 報告되었다(Kaneko et al., 1983b). 이 方法은 電氣泳動法과 달리 特殊한 機器를 必要로 하지 않는다는 점으로부터 醫學領域에서는 研究機關로부터 臨床醫에 이르기까지 短期間에 普及하려는 움직임을 보였으나 倫理上的의 制約 등에 의해 大規模的인 成績의 集計가 되지 못한채 今日에 이르고 있다. 그 原理는 遠心管内에 10段階前後의 密度勾配를 만들고 上層에 精液을 層積해서 一定條件의 遠心分離를 실시하는 것이다. 遠心後 最下層의 分割을 採取해 精子的 F-body를 조사한 結果 出現率이 낮고 따라서 X精子가 모여 있는 것으로 判定되었다. 이 方法에서는 運動性を 維持한 精자를 충분히 回收할 수 있기 때문에 最下層의 精子群이 實際로 人工授精에 이용되어 아직 10例 以下의 少數例이긴 하나 出産兒는 거의 女兒라고 하는 成績이 報告되고 있다. 이 方法에 대해서는 無擔體電氣泳動法과 달리 畜産學領域에서도 廣範한 追試가 실시되어 지금까지 數機關의 研究者들에 의해 牛 및 實驗小動物精子에 대한 檢討結果가 報告되어 있다. 分別結果의 判定에는 F-body 檢査가 適用되지 않기 때문에 分割精자를 이용한 受精試驗이 必要하게 된다. 즉 人精자에 準한 方法으로 퍼-콜密度勾配遠心分離를 실시한 후 最下層의 X精子分割으로 想定되는 部分을 人工授精에 써서 産子の 性을 조사하는 方法(梶田 等, 1989; 鈴木, 1989), 過排卵시킨 供卵牛에 마찬가지로 人工授精後, 着床前의 複數의 胚를 回收하여 核型을 조사한다든지, 胚를 移植하여 産子の 性을 조사하는 方法(鈴木, 1989), 最下層의 精자를 體外受精에 이용하는 다음 體外培養한 胚의 核型을 조사하는 方法(梶田 等, 1988; Iwasaki et al., 1988), 마찬가지로 最下層의 精자를 透明帶除去 햄스터 卵子(zonafree hamster egg)에 侵入시켜서 核型을 조사하는 方法(浜野 等, 1989) 등, 性分別의 判定에 여러 가지 研究가 이뤄지고 있다. 이들의 實驗은 人精자의 實驗에 비해 훨씬 信賴될 수 있는 例數를 갖고 있다는 것이 特徵이지만 主要 結果를 보면 퍼-콜에 의한 分離가 아직 어느 것도 成功하지 못하고 있다. 이 方法은 mouse 精子에 應用하여 體外受精後 體外 培養한 胚의 核型分析을 한 結果도 牛의 成績과 같이 X, Y 精자의 分離에 대해서는 悲觀的이었다(吉澤 等, 1989).

앞으로의 展望

最近의 牛精자의 性判別 結果를 보면 이 課題의 宿命的인 困難性を 다시금 實感케 한다. 그러나 分別의 理論과 技術은 近年에 있어서 分子生物學의 進歩도 있고 하여 순조롭게 前進하고 있다. 今後 X, Y 精자의 分離에 의한 性支配가 早急히는 實現되지 않는다 해도 精子侵入卵이나 胚에 대해서 核型分析은 精度가 높은 判定法으로서 점점 많이 利用되어 갈 것으로 생각된다. 또 X, Y 精子間의 DNA量의 僅差를 判定할 수 있는 flow cytometry나 Y精자의 特徵을 分子生物學的으로 접근할 수 있는 DNA probe의 導入은 本課題의 研究에 없어서는

안될 것으로 여겨진다. 事實 海外로부터는 퍼-콜密度勾配로 分割한 牛精子의 判別로 flow cytometry를 이용한 報告가 나오기 시작하고 있다. 또 Y精子의 判定에 써온 F-body 檢査의 信賴性에 대해서도 再檢討의 時期가 올 것으로 생각된다.