

O-9

Aberrant Apoptosis in Chorionic Villi is Involved in Recurrent Miscarriage

¹Kim JW, ¹Lee J, ¹Choi BC, ^{2,3}Baek KH, ^{2,3}Choi HK, ^{2,3}Lee SH,
^{2,3}Ko JJ, ^{2,3}Cha KY

¹Center for Recurrent Miscarriage and Infertility, Creation and Love Womens Hospital, Gwangju, Korea, ²College of Medicine, Pochon CHA University, ³Infertility of Medical Center, CHA General Hospital, Seoul, Korea

Introduction: Apoptosis, programmed cell death, is a cellular process in development and tissue homeostasis. Abnormalities in cell death control can lead to various diseases, including cancer, autoimmunity, and degenerative disorders. Apoptosis is a rare event in several reproductive tissues including human placenta. The causes of unexplained recurrent miscarriage is not fully understood. However, most of researches have been focused on immune mechanisms of maternal-fetal interface. In these studies, we investigated whether apoptosis in chorionic villi is associated with recurrent pregnancy loss.

Materials and Methods: We previously performed cDNA subtractive hybridization analysis in fetal chorionic villi from normal patients and RPL patients, showing different expression level of apoptosis-related genes. Therefore, we investigated whether apoptosis is aberrant in chorionic villi from recurrent pregnancy loss (RPL) patients. Expression level of genes including Fas, FasL, Bax, Bid, Bad, caspase 3, caspase 6, caspase 7, caspase 8, caspase 9, caspase 10, and caspase 12 was analyzed by the intensity of the EtBr staining by Gel-Doc and reverse northern blot analysis.

Results: In these results, we demonstrated the different expression level of 12 apoptosis-related genes. Expression levels for apoptosis-related genes showed higher in chorionic villi from RPL patient than those from normal control. In addition, expression pattern by reverse northern blot analysis will be analyzed.

Conclusions: RT-PCR analysis revealed that apoptosis-related genes expressed more in the chorionic villi with RPL patients than normal controls, suggesting that aberrant apoptosis could be one of reasons that may lead to recurrent spontaneous abortion during early human development. The molecular mechanisms for this phenomenon have to be elucidated for finding their therapeutic methods.

O-10

미성숙난자-시험관아기 Program에서 채취된 미성숙난자의 배양 및 포배기배아의 발생에 관한 연구

마리아 병원

손원영 · 윤산현 · 박성진 · 이석원 · 이원돈 · 임진호

목 적: 본 연구의 목적은 미성숙난자-시험관아기 program의 포배기배아 이식을 실시한 예에서 1) 채취된 난자의 주변에 쌓여 있는 난구 세포들의 양상에 따른 난자의 성숙시간 및 포배기배아 발생율을

비교하고, 2) 성숙에 소요되는 시간에 따른 포배기배아 발생율을 비교해 보고자 시행하였다.

대상 및 방법: 본 연구는 2000년 11월부터 2002년 3월까지 시행한 미성숙난자-시험관아기 시술 293례 중에서 포배기배아 이식을 실시한 61례 (51명)를 분석한 것이다. 본 시술에 임한 환자들은 과배란증후군을 경험하였거나 그 위험성이 있는 경우였다. 난자채취는 환자에 따라 배란주기 7일과 15일 사이에 실시하였다. 모든 환자에게 난자를 채취하기 36시간 전에 10000 IU의 HCG를 투여하였다. 난자를 채취한 즉시 난자주변에 쌓여 있는 난구 세포의 양상에 따라 'dispersed-cumuli', 'compacted-cumuli' 및 'sparse cumuli' 난자로 나누어 배양하였다. 미성숙난자는 30% hFF (인간 난포액), 1 IU/ml rFSH, 10 IU/ml HCG 및 10 ng/ml rhEGF를 첨가한 YS배양액으로 성숙을 유도하였다. 성숙된 난자는 ICSI 방법으로 수정을 유도하였고 정상적으로 수정된 2PN난자는 10% hFF를 첨가한 YS배양액 (10 μ l)내에서 난구 세포와 공동배양을 실시하였다. 배아 이식은 난자를 채취한 6일 후에 포배기로 발생한 배아들 중에서 2~3개를 선발하여 실시하였으며 잉여배아는 -196 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 채취된 모든 난자들은 한편으로 채취한 당시 난구 세포들의 퍼짐 양상에 따라, 한편으로 성숙에 소요되는 시간 (day 0, day 1, day 2)에 따라 포배기배아 발생율을 비교 조사하였다.

결 과: 미성숙난자-시험관아기 program의 포배기배아 이식을 실시한 61례에서 채취된 평균 난자의 수는 25.9 ± 9.9 개였다. 'dispersed-cumuli' 난자들의 성숙율과 포배기 발생율은 각각 93.5%와 64.0%로써 'compacted-cumuli'나 'sparse-cumuli' 난자들 (각각 64.5%와 39.6%; 각각 73.5%와 46.8%)보다 유의하게 높았다. 또한 성숙을 유도하기 위한 배양기간을 3군으로 분류하여 포배기배아의 발생율을 조사하였을 때 성숙되는 시간이 빠르면 빠를수록 그 발생율이 높았다 (각각 69.4% in day 0 군, 50.7% in day 1 군, 20.0% in day 2 군).

결 론: 이상의 결과로 미루어 보아 미성숙난자-시험관아기 program에서 채취된 미성숙난자의 성숙은 주변에 쌓여있는 난구 세포들의 퍼짐 양상과 밀접한 관계가 있으며, 또한 난구 세포의 퍼짐 양상과 성숙에 소요되는 시간이 포배기배아의 발생율에 상당한 영향을 주는 것으로 사료된다.

O-11 Artificial Shrinkage (AS)에 의한 포배기배아의 동결보존과 생존율에 관한 연구

마리아 병원

이석원 · 조현진 · 윤혜진 · 손원영 · 윤산현 · 임진호

목 적: 포배기배아 (포배) 이식프로그램의 보편화에 따라 잉여 포배를 동결보존하기 위한 다양한 방법이 개발되어 사용되고 있다. 그러나 포배는 발달단계에 따라 다양한 크기의 포배강을 지니므로 한 가지 방법을 모든 단계의 포배의 동결에 획일적으로 적용하기는 어렵다. 이때 효과적으로 제거되지 못한 포배강액이 냉동할 때 결정을 형성하여 해동 후 생존율에 큰 영향을 줄 수 있다. 따라서 본 연구는 동결하기 직전에 포배강액을 물리적으로 제거하고 완만동결법과 초자화동결법을 적용할 경우 해동 후의 생존율에 어떠한 영향이 있는지를 알아보고자 실시하였다.

대상 및 방법: 2001년 4월부터 2001년 12월까지 본원에서 포배를 이식한 후 잉여 포배가 있어 동결보존이 필요한 환자를 대상으로 본 연구를 실시하였으며, 2001년 5월부터 12월까지 동결 포배를 해동하여 이식한 188주기에서 분석을 실시하였다. 대상환자 및 포배는 무작위로 네 군으로 분류하였다. A