

P-43 성숙난포액내의 Glucose 농도에 따른 임상적 연구

미래여성병원, 충남대학교병원 산부인과¹, 민병렬산부인과²

변홍무 · 김주환¹ · 전은숙² · 민병렬² · 최영배 · 이기환¹

Background & Objectives: 본 연구는 성숙난포액내의 Glucose 농도를 측정하여 이를 이용한 임상적연구결과의 예측 지표로 사용하기 위해 수행되었다.

Method: 불임치료를 위해 내원한 54명 중 40명에서 채취된 성숙난포액중 혈액이 거의 섞이지 않은 난포액만을 선별하여 Glucose 농도를 측정하였다. Glucose 농도의 측정은 혈당측정기를 사용하여 측정하였고, 측정 단위는 mg/dl로 나타내었다. 난포액내 Glucose 농도의 측정은 생리학적인 변화를 고려하여 회수 후 1시간 내에 실시하였다. 실험군은 난포액내의 Glucose 농도에 따라 임신군 (18명, 42.8%)을 PA (41~60 mg/dl), PB (61~80 mg/dl), PC (81≤mg/dl)로 분류하고, 비임신군 (22명, 52.3%)은 NPA (41~60 mg/dl), NPB (61~80 mg/dl), NPC (81≤mg/dl)로 분류하였다.

Results: 임신군의 평균 Glucose 농도는 59.1 ± 13.9 (SD), 비임신군은 68.9 ± 14.8 였으며, 두 군 간에는 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.05$). 임신군 내에서 PA (66.7%)는 PB (22.2%)와 PC (11.1%)보다 유의한 차이를 보였고 ($p < 0.05$), 비임신군에서는 NPA (36.4%), NPB (31.8%) 그리고 NPC (31.8%) 간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

Conclusions: 본 연구에서 난포액 내의 Glucose 농도가 41~60 mg/dl인 PA가 임신 여부를 예측할 수 있는 많은 지표 중 하나의 방법으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

P-44 인간배아줄기세포와 배아체의 전자현미경적 연구

서울의대 의학연구원 인구의학연구소 줄기세포연구실¹,

서울대학병원 어린이병원 전자현미경실², 산부인과³

김희선 · 윤철종² · 안희진¹ · 하성운¹ · 김윤영¹ · 성기창³

설혜원¹ · 오선경^{1,3} · 김석현^{1,3} · 문신용^{1,3}

Background & Objectives: 인간배아줄기세포 (Human embryonic stem cells)는 포배기의 내세포괴에서 유래한 세포로써 세가지의 삼배엽성 세포 (외배엽, 중배엽, 내배엽)로 분화할 수 있는 능력이 있는 세포로 알려져 있다. 미분화된 세포들은 영양세포층 (feeder layer)과 함께 자라며 세포들이 모여서 한층으로 피지며 자라는 군 (colony)의 형태로 자란다. 각 세포들은 세포질 내에서 핵이 대부분을 차지하고 있는 모습을 보인다. 미분화된 인간배아줄기세포는 분화를 유도하기 위해 배아체 (embryoid bodies)를 형성하여 이용하게 된다. 배아체는 영양세포층 없이 부유배양법 (suspension culture)으로 배양하였을 때 미분화상태와는 달리 세포들이 뭉쳐져 있는 모습을 보인다. 본 연구는 인간배아줄기세포를 미분화된 상태의 세포와 배아체의 세포를 SEM과 TEM을 이용하여 분석하여 보고자 하였다.

Method: 본 연구소에서 확립된 인간배아줄기세포주 SNUhES3 (P42)와 SNUhES4 (P22)를 이용하였다. SNUhES4를 STO 영양세포층에서 7일간 미분화상태로 배양한 후 유리 피펫을 이용하여 영양세포층에서 분리하여 2.5% glutaraldehyde에 담아 고정하였다. SNUhES3는 배아체를 형성하여 60일간 부유

배양한 후 2.5% glutaraldehyde에 고정하였다. 전자현미경실에 의뢰하여 SNUhES4는 SEM과 TEM을 진행하였고 SNUhES3는 TEM을 찍은 후 분석하였다.

Results: 미분화된 인간배아줄기세포는 SEM을 통해 관찰하였을 때 세포표면이 대사가 왕성한 세포에서 보이는 microvilli가 많이 존재하였고 bleb도 관찰되었다. TEM을 통해 관찰하였을 때 각각의 줄기세포들 대부분은 핵이 차지하였고 상대적으로 세포질의 양은 매우 적어 다른 소기관들은 관찰할 수 없었다. 그러나 세포군의 바깥쪽에 존재하는 세포의 경우는 핵이 길게 늘어져 있고 세포들간에 desmosome이 발달한 상피세포와 비슷한 모양을 보였다. 이 세포들에서도 소기관은 또한 보이지 않았다. 세포군의 전체에서 때로는 세포분열중인 세포가 관찰되었고 phagocytosis나 apoptosis가 일어나는 세포도 관찰할 수 있었다. 한편 분화가 진행중인 배아체의 경우 미분화된 줄기세포에서는 볼 수 없었던 mitochondria, SER과 RER 같은 세포질내 소기관이 발달하였다. 세포들 사이에는 fiber가 많이 발달하여 존재하였으나 세포들이 서로 모여 판이나 막을 형성한 모습도 관찰되었다.

Conclusions: 미분화된 인간배아줄기세포는 TEM사진하에서 세포의 대부분을 핵이 차지하고 다른 소기관이 발달하지 않은 것으로 보아 세포분화의 정도가 상당히 낮음을 알 수 있었으며 분화가 진행됨에 따라 세포질내 소기관이 발달되는 것을 알 수 있었다. 따라서 이러한 세포 각각의 변화를 체계적으로 관찰 한다면 삼배엽으로의 분화유도에 있어서 기초자료로 제공될 것으로 사료된다.

위 연구는 21세기 프론티어연구개발사업단인 세포융용연구사업단의 연구비 지원 (SC11011)으로 수행되었습니다.

P-45 Human Amniotic Fluid Cells Prolonged Expansion Culture of Human Embryonic Stem Cell

SK Oh, HW Seol², HJ Ahn², YY Kim², MJ Kang^{1,2}, HS Kim^{1,2},
SY Gu^{1,2}, SH Kim^{1,2}, YM Choi^{1,2}, SY Moon^{1,2}

*Deptment of Ob & Gyn. College of Medicine¹, Lab. of Stem Cell, Institute of Reproductive
Medicine and Population, Medical Research Center², Seoul National University, Seoul, Korea*

Background & Objectives: This study was performed to evaluate the possibility of prolonged culture of SNUhES2 cells on human amniotic fluid (HAF) cells (9 passages), which is stored after karyotyping, with treatment (2.5 hrs) and non-treatment of mitomycin C, respectively.

Method: HAF feeder layer was prepared in the presence of Chang medium (Irvine Scientific) or STO medium (90% DMEM, 10% FBS) at 37°C in a 5% CO₂ in air atmosphere. SNUhES2 on HAF were passaged mechanically every seven days with ES culture medium (80% DMEM-F12, 20% SR, bFGF).

Results: Both HAF feeders with treatment and non-treatment of mitomycin C support the growth of undifferentiated state of SNUhES2 for at least 24 passages thus far. SNUhES2 colonies on each of HAF feeders appeared slightly angular and flatter shape as compared with circular and thicker colonies observed with STO feeder layer and showed higher level with complete undifferentiation in seven days. Like HES cells cultured on STO feeders, SNUhES2 grown on HAF cells had normal karyotype, tested positive for