

Gas-6, Diva의 단백질 발현의 특징을 immunohistochemistry를 이용하여 생쥐 난소에서 규명하였으며 이들 중 특히 Diva와 apoptosis와의 연관성을 위해 serial tissue section에서 TUNEL 분석을 시행하였다.

Results: mMCM2, Gas-6, Diva 유전자의 단백질 발현을 난소에서 localization하여 분석한 결과 DNA replication에 관여하는 mMCM2는 원시난포에서부터 모든 시기의 난포에서 발현하며 특히 난자의 핵에 특이적으로 발현하였고 Gas-6는 난자의 세포질에 발현하였다. Diva는 원시난포의 난자에서 핵과 세포질에 모두 존재하는데 핵에서 매우 높게 발현하다가 난포발달과 함께 난자가 자라는 동안 난자의 핵에서의 발현이 점점 줄면서 meiotic competence를 가지게 되는 시기가 되면서 핵에서는 존재하지 않고 세포질에서만 발현하였다. 그런데, 조직 중에서 난자의 세포질에 특이적으로 월등히 강하게 Diva가 발현하는 난포가 존재하였는데 혹시 이들이 난포의 atresia와는 관련이 있을까 하여, serial section에서의 Diva immunohistochemistry와 TUNEL 분석을 시행한 결과, 난자 내에 강한 Diva의 발현과 TUNEL positive한 난포는 일치하지 않는 것으로 보아 Diva 발현과 apoptosis와의 직접적인 상관관계는 없다고 사료된다.

Conclusions: 본 연구결과를 요약하면, 1) mMCM2, Gas-6, Diva의 유전자 발현을 난자에서 처음 보고하였으며, 2) 특히 이들 세 가지 유전자의 난소에서의 단백질 발현을 난포발달에 따라 분석한 결과도 최초의 보고이다. 비록 Diva와 난포의 atresia간의 직접적인 상관관계는 없는 것으로 보이나, 각 유전자의 난자 및 난구세포에서의 핵과 세포질에서의 발현이 난포발달에 따라 다르게 나타나므로 그 유형을 분석함으로써 이들이 난포발달과 나아가 난자성숙에 관여하는 조절기전을 연구하는데 기여할 것으로 사료된다.

이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2003-041-E00350).

P-33 인간 자궁내막 세포에서 rFSH와 uFSH에 의한 착상관련 유전자 발현 양상의 변화

최혜원¹ · 이형승¹ · 흥인선³ · 강경선³ · 궁미경² · 전진현¹

삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실¹,
성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과학교실²,
서울대 수의과대학 공중보건학교실³

Background & Objectives: 인간의 체외수정 및 배아이식술에서 많은 수의 난자를 획득하기 위해 FSH가 함유되어 있는 호르몬제제를 사용하고 있다. 이러한 FSH 제제는 LH 성분을 포함하고 있는 urinary FSH (uFSH)와 생명공학적 방법으로 제조한 recombinant FSH (rFSH)로 구분되어 진다. 과배란 유도에 사용되어지는 호르몬제제에 대한 수용체는 난소뿐만 아니라 자궁에서도 발현되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 과배란 유도가 착상과정에 어떠한 영향을 주는지를 확인하기 위하여, 체외배양 중인 자궁내막세포에 uFSH 또는 rFSH를 처리하고 착상관련 유전자 발현 양상의 변화를 비교하였다.

Method: 자궁내막 기질세포는 자궁적출술을 시행한 가임여성의 자궁조직으로부터 분리하여 배양하였으며, 기질세포의 비율을 확인하기 위하여 vimentin에 대한 면역세포염색을 실시하였다. 일차적으로 체외배양한 자궁내막 기질세포는 uFSH와 rFSH를 각각 0, 10, 100, 1000 mIU/ml 농도로 첨가한 배양액

으로 0, 24, 48, 72시간 동안 배양하였다. 이러한 세포들로부터 RNA를 추출하였으며, reverse transcriptase로 cDNA를 합성한 후 real-time PCR을 수행하였다. 착상관련 유전자들로는 progesterone receptor (PR), estrogen receptor- α/β (ER- α/β), cyclooxygenase-2 (Cox-2), leukemia inhibitory factor (LIF), homeobox A10-1 and -2 (HoxA10-1 and -2)를 선정하여 β -actin에 대한 상대정량방법으로 발현양상을 분석하였다.

Results: 자궁조직에서 분리, 배양한 기질세포의 모양은 다변형의 방추형이었으며, 면역세포염색에서 95% 이상의 세포들이 vimentin에 대한 양성반응을 나타내었다. 착상관련 유전자의 발현 양상에서 PR의 발현은 FSH의 종류와 농도에 따른 변화가 없었으나, ER- α 의 발현은 두 종류의 FSH 모두에서 처리시간이 증가함에 따라 6배 정도의 증가가 관찰되었다. 또한, 1,000 mIU/ml의 rFSH는 uFSH에 비해 5배의 ER- β 발현과 8배의 Cox-2 발현 증가를 유도하였다. LIF 유전자는 FSH를 처리하지 않은 군에 비해 두 종류의 FSH에 의해 3~4배 정도의 발현 증가가 관찰되었으며, HoxA10-1과 -2는 rFSH와 uFSH 처리에서 2배 정도 증가하였다.

Conclusions: 본 연구의 결과를 통해, LH 성분을 포함하고 있는 uFSH와 포함하지 않는 rFSH는 배양 중인 자궁내막 기질세포의 유전자 발현 양상에 상이한 효과를 미치는 것으로 확인되었다. 특히, rFSH는 착상관련 유전자들 중에서 ER- α/β 와 Cox-2의 발현 증가를 유도하는 것으로 관찰되었다. 이러한 차이는 기존의 uFSH에 비해 rFSH가 자궁의 착상능력에 나쁜 영향을 주지는 않음을 시사하는 것으로 생각된다. 보다 직접적인 rFSH의 영향을 분석하기 위한 자궁내막 조직의 생검 시료에 대한 분석이 필요할 것으로 사료된다.

P-34 미세조작술을 이용한 배아 해동 시 발생하는 손상된 할구 제거의 임상적 효과

최원운 · 손지은 · 최경희 · 이동률 · 이우식 · 김태형 · 정미경
정형민 · 곽인평 · 윤태기

차병원 여성의학 연구소, 포천중문 의과대학교

Background & Objectives: 최근의 불임치료 기술이 빠르게 발전해 감에 따라 냉동된 배아의 해동과 이식, 그리고 그에 따른 임상적 결과를 얻는 것은 직면 과제가 되었다. 이에 본 연구는 배아의 해동 시 발생하는 부분적으로 손상된 할구를 미세 조작술을 이용하여 제거하고 이것을 통한 임상적 결과를 알아 보고자 하였다.

Method: 2003년 1월에서 2004년 1월 동안에 해동 배아 이식술을 시행한 161례의 시술 중 해동 후 미세조작술로 손상된 할구를 제거한 군과 제거하지 않은 군으로 나누어 처리 후 각군의 배아를 이식하여 착상과 임신 그리고 유산의 비율을 비교해 보았다. 첫번째 군 (n=23)은 해동 후 할구의 부분 손상이 없는 배아만으로 구성하였고 나머지 부분적으로 손상된 할구를 지닌 배아를 무작위로 선택하여 다음과 같이 두 군으로 나누었다. 두 번째 군 (n=67)은 acid tyrode's를 이용하여 Assisted hatching (AH)을 시행한 군으로 하였고, 세 번째 군 (n=11)은 AH와 동시에 손상된 할구를 제거한 군으로 하였다.

Results: 세군 간에 임신율을 비교하였을 때, 26.1 (6/23) vs. 31.3 (21/67) vs. 35.2% (25/71) 그 차이가 없었고 착상율 또한 8.7% (8/90) vs. 7.3% (21/288) vs. 9.1% (26/287)로 차이가 없었다. 다만 유산율의 경우 세번째 군 (38.1% (8/21))이 첫번째 군 (20.0% (1/5))과 두번째 군 (17.6% (3/17))보다 조금 높게 나타났