

tively. There was no significant difference in the basal FSH level, dosage of FSH treated and pregnancy rate among the COH-IVF patients with different genotypes. However, the proportion of good responder, which is higher estradiol level (> 2,000 pmol/L) at administraton of hCG and number of retrieved oocytes (> 10 oocytes), in AA/SS genotype (65.9% and 68.2%) was higher than those of TT/NN (51.1% and 57.3%) and TA/NS (50.2% and 59.2%).

Conclusions: The FSH receptor gene polymorphism (Thr307Ala and Asn680Ser) may be associated with outcome of controlled ovarian stimulation in patients undergoing ART program. Our finding is contrast to the reports with other ethnic populations that AA/SS genotypes highly responded to FSH treatment. Our data should be substantiated by the further studies of FSH receptor genotyping in the Korean population.

P-19 IGFs가 생쥐 수정란에서 발현되는 Apoptosis에 미치는 영향

윤 정¹ · 윤혜진¹ · 윤산현¹ · 고 용² · 이원돈¹ · 임진호¹

¹마리아병원, ²고려대학교

Background & Objectives: 체외에서 수정된 수정란은 체내에서 수정된 수정란에 비하여 apoptosis가 높게 나타나고, 발생하는 속도가 느리다. 이러한 양상은 수정란에 의해 생산되는 여러가지 성장인자들이 잘 발현되지 않는다는 것을 시사한다. 수정환경의 차이, 즉 체외와 체내에서의 수정은 포배기까지 발생하는 동안에 IGF-I과 -II 발현에서 apoptosis의 차이를 나타냈다. 이러한 결과는 내재적 성장인자의 높은 발현으로 인하여 autocrine pathway에 의하여 apoptosis의 억제를 유발한 것으로 사려되었다. 따라서 본 연구는, 체외수정과 배양시 첨가된 IGF-I과 -II가 수정란의 발생과 apoptosis의 억제에 어떠한 영향을 미치는 지를 체내수정과 비교하였다.

Method: 5주령의 BD F1 생쥐에게 7.5 IU의 PMSG를 주사하고, 48시간 후에 7.5 IU의 HCG를 주사하여 다배란을 유도하였다. 체내수정은 동종의 웅성생쥐와 합사하여 유도하였으며, 0.4% (w/v) BSA를 함유한 MTF배양액으로 포배기까지 배양하였다. 체외수정은 HCG를 주사한 14시간 후에 난자를 회수한 후, IGFs 비첨가군과 첨가군 (10 ng/ml)으로 나누어 각각의 그룹에 정자를 첨가함으로써 유도하였다. 수정확인은 2-세포기 배아로서 판정하였으며, 각 실험군은 0.4% (w/v) BSA를 함유한 MTF배양액에 수정시와 동일한 농도의 IGFs를 첨가하여 포배기까지 배양하였다. 두 군간에서 세포수의 차이는 포배기배아를 Hoechst로 염색한 후 관찰하였으며, apoptosis의 빈도는 TUNEL방법을 사용하여 형광현미경하에서 확인하였다.

Results: 수정율을 비교한 결과, IGFs 비첨가군 (64.0%)이 IGFs 첨가군에 비하여 낮게 나타났으나 ($p < 0.05$), IGFs 첨가군간 (IGF-I: 74.2; IGF-II: 71.2; IGF-I & II: 73.0)의 차이점은 없었다. 포배기배아의 발생율을 비교한 결과, 체내에서 수정한 군 (97.7%)에 비하여 체외에서 수정한 군이 낮게 나타났으며, 비첨가군 (78.2%)에 비하여 IGFs 첨가군 (IGF-I: 87.0; IGF-II: 88.2; IGF-I & II: 84.9)이 배아의 발생율이 높았으나, IGF-I 또는 -II를 각각 첨가하였을 때나 함께 첨가했을 때의 영향은 없는 것으로 나타났다. 포배기배아에서 총 세포수와 apoptosis의 비율을 비교한 결과, 체외수정군 중 IGFs를 첨가한 군 (IGF-I:

6.0; IGF-II: 6.5; IGF-I & II: 6.1%)에서 체내수정군 (5.9%)과 유사한 결과를 나타냈다.

Conclusions: 본 연구는 IGFs가 수정율과 포배기배아의 발생율을 증가시키며, apoptosis를 억제시킴을 제시하고 있으며, 이러한 영향은 체내수정군에서 나타난 것과 유사하였다. 따라서 수정환경으로 기인된 apoptosis발현의 차이를, 체외에서 수정과 배양할 때 IGFs를 첨가함으로써 극복할 수 있다고 사료된다.

P-20 유리화 동결/융해 시 기본 완충용액과 냉각속도가 생쥐 포배기 배아의 생존에 미치는 영향

김태형 · 이동률 · 나경아 · 정형민 · 차광열 · 윤태기

포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

Background & Objectives: 유리화 동결법은 난자와 수정란의 동결보존에 성공적으로 사용되어지고 있으며, 그 성공률을 증진시키기 위하여 각종 동결용기와 여러 종류의 동결보호제 및 그 농도를 조절하는 연구들이 진행되고 있다. 최근 완만동결과정에서 기존의 탈수 및 재수화 과정에서 사용되어지는 기본완충용액 (basic buffer solution)의 주요 성분인 sodium salt는 동결/해동 시 solution effect를 유발하여 해동 후 난자와 배아의 생존을 저해한다고 보고된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 포배기 배아의 유리화 동결의 성공률을 증진하기 위하여 탈수 및 재수화 과정에서 사용되는 기본완충용액을 변형하여 생존과 발달에 미치는 효과를 분석하고자 하였다. 또한 최근에 난자의 유리화 동결법에 도입되어 융해 후 난자의 생존과 이후 발달과정을 향상시키는 slush nitrogen (SN2)을 도입하여 포배기 배아의 생존에 미치는 영향을 조사해 보고자 하였다.

Method: 본 연구는 과배란을 유도한 생쥐에서 수획된 2-세포기 배아에서 체외배양을 통해 획득한 포배기 배아를 대상으로 실험하였다. 실험 1은 NaCl-based DPBS (group 1), ChCl-based DPBS (group 2), 그리고 Mops-buffered solution (group 3)을 기본완충용액으로 사용하여 탈수하였고, electron microscopy (EM)-grids을 이용하여 유리화 동결방법을 시행하였다. 실험 2는 EM-grid위에 고정시킨 포배기 배아를 두 군으로 나누어 slush nitrogen (SN2) (group 4) 또는 liquid nitrogen (LN2) (group 5)을 사용하여 유리화 동결시켰다. 배아의 유리화 동결과정은 1.5 M ethylene glycol (EG)에서 2분 30초 동안 전 처리과정 (pre-equilibrate)을 거친 뒤에 5.5 M EG와 1.0 M sucrose 용액에서 20초 처리하여 LN2 또는 SN2에 침지하였고, 융해 후 포배기 배아는 10% serum substitute supplement (SSS)가 첨가된 preimplantion-1 (P-1)을 사용하여 배양하였다. 생존 및 회복여부와 apoptosis를 현미경적 관찰과 TUNEL 분석방법을 사용하여 관찰하였고, 통계처리는 Chi-square와 Student's t-test로 수행하였다.

Results: 실험 1에서 유리화 동결융해 후의 생쥐 포배기 배아 생존률은 group 1 (61.4% (54/88)), group 3 (63.8% (60/94))에 비하여 group 2 (78.5% (73/93))가 유의차를 보이며 높게 나타났으며 ($p < 0.05$), apoptosis 발생빈도 또한 다른 군과 비교하여 수치가 적게 나타났다. 실험 2에서는 생존률과 apoptosis 발생빈도에서 SN2를 사용한 군 (group 4)과 기존의 LN2를 사용한 군 (group 5)간에 차이가 나타나지 않았다.

Conclusions: 고농도의 sodium의 사용은 생쥐 포배기 배아의 생존여부에 저해요소로 작용하므로, 기본 완충용액에서 sodium 농도의 감소 및 제거는 생쥐 포배기 배아의 유리화 동결/융해 후 생존과