

## 생쥐 난자를 이용한 Hypoxanthine의 독성효과의 원인에 관한 연구

한나여성의원 불임연구실, 건국대학교  
축산학과<sup>1</sup>

지희준 · 김동훈 · 김지연 · 구정진  
장상식 · 정길생<sup>1</sup>

Hypoxanthine은 사람 및 동물의 체액 특히 난포액 내에 높은 농도로 함유되어 있는 생리학적 물질로서 난포내 미성숙난자의 핵성숙 억제유지에 결정적 역할을 한다고 알려져있다. 또한 Hypoxanthine은 배아의 체외발달에도 해로운 영향을 미친다고 보고되고 있는데, 실제로 보조생식 시술시 사용되고 있는 복합배양액중 약 34 $\mu$ M 농도의 Hypoxanthine을 함유하고 있는 Ham's F-10 배양액에 생쥐수정란을 체외배양 하였을 때 다른 배양액들에 비해 매우 낮은 배발달율이 관찰된다. 이러한 Hypoxanthine의 독성효과는 Hypoxanthine의 대사과정 중에 발생하는 superoxide anion, hydrogen peroxide등의 oxygen derivatives에 의한 것으로 여겨진다. 이에 본 연구는 Hypoxanthine의 독성효과가 대사부산물인 superoxide anion 또는 hydrogen peroxide에 의한 것인지를 확인하고자 하였으며, 한편 이들의 독성효과가 Hypoxanthine의 핵성숙 억제작용에도 영향을 미치는지를 조사하고자 하였다.

PMSG 주사 후 48시간째에 적출한 난소로부터 회수한 생쥐난포난을 Hypoxanthine과 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 allopurinol등 Hypoxanthine의 oxygen derivatives들의 가수분해 및 생성억제에 관여하는 물질들이 각각 첨가된 배양액내에서 48시간 동안 배양하면서 Hypoxanthine의 독성효과를 비교조사함으로써 독성효과의 원인에 접근하고자 하였다. 독성효과는 24시간 마다 trypan blue 염색

을 이용한 난자의 생존성 검사를 통해 조사하였으며 배양 48시간 동안 정상적인 형태를 유지하며 착색되지 않은 난자를 Intact, 배양 24시간만에 착색된 난자를 Degenerated, 그리고 48시간째에 착색된 난자를 Damaged 난자로 각각 구분하였다. 한편 Hypoxanthine의 핵성숙억제작용과 독성효과와의 관련성을 확인하고자 하였으며, Hypoxanthine에 의해 억제된 핵막붕괴와 제 1극제 방출에 대한 SOD, catalase, allopurinol등의 첨가효과를 조사하였다.

Hypoxanthine의 독성효과를 배양된 전체 난자중 Intact 난자가 차지하는 비율로 나타내었을 때, 대조군인 Hypoxanthine첨가군의 35.8%에 비해 catalase 10, 50, 100U첨가군에서 각각 57.1(p<0.05), 67.8(p<0.001), 50%(p=0.06)의 유의한 비율의 증가를 나타내었다. 또한 allopurinol 0.5, 1mM을 첨가하였을때 Hypoxanthine첨가군의 28.1%에 비해 각각 56.5(p<0.01), 72%(p<10<sup>-6</sup>)라는 유의하게 증가된 비율을 나타내었다. 반면 100, 200, 300U의 SOD첨가군 모두 Hypoxanthine의 독성을 감소시키는데 유의한 효과를 나타내지 못하였다. 이러한 결과는 Hypoxanthine의 독성효과가 Hypoxanthine의 대사과정에서 발생하는 oxygen derivatives인 superoxide anion 보다는 hydrogen peroxide에 의해 발생한다는 것을 의미한다. 한편 Hypoxanthine의 독성효과가 이 물질의 핵성숙 억제작용과 관련이 있는지를 조사한 결과, 첨가된 catalase, allopurinol은 Hypoxanthine의 핵성숙억제작용에 영향을 나타내지 못하였으나, 반면 100, 200, 300U농도의 SOD첨가는 Hypoxanthine에 의해 억제되어있는 핵막붕괴율(58.1%)을 각각 76.6(p<0.05), 79.1(p<0.001), 74.6%(p<0.05)로 유의하게 증가시키는 결과를 나타냈다. 그러나 첨가된 SOD가 Hypoxanthine에 의해 억제된 제 1극제 방출율을 증가시키지는 못하였다. 따라서 Hypoxanthine의 독성효과의 주요 원인이 되었던 hydrogen peroxide는 Hypoxanthine의 핵성숙 억제작용에 영향을 미치지 않는 것으로 확인이 되었고, 반면 독성효과에는 영향을 나타내지 못했던 superoxide anion은 초기의 핵성숙 억제작용에 어느 정도 관여한다는 것이 확인되었다.