

본 연구는 아주대학교 불임연구실과 미래와희망 산부인과 불임연구실에서 시행된 체외수정 시술 환자를 대상으로 하였으며, B3군이 37례, m-HTF군이 62례였다. 시술 대상 환자들은 나이와 불임기간 및 불임 요인은 차이가 없었다. 이들 환자들은 GnRH와 생식소 호르몬의 병합투여로 배란유도하였고, 난자채취 후 정상적인 체외수정 및 ICSI에 의해 수정을 시켰으며, 배아 이식은 난자 채취 3일째 5개 이하의 배아를 자궁강내에 이식하였다.

결과는 다음과 같았다.

채취된 난자의 평균수는 12~13개로 양군간의 차이가 없었고, 수정률은 mHTF군이 69.1%와 B3군이 76.8%로 B3가 높았지만 통계적 유의성은 없었다. 이식시의 배아의 평균 할구수는 HTF가 6.1개, B3가 8.9개로 B3의 발생속도가 빠른 것으로 나타났다. 양질의 배아는 HTF군이 80.6%, B3군이 91.5%로 B3군이 유의하게 많았다 ( $p < 0.01$ ). 3일째 배아의 분포는 HTF군에서는 8 cell 이상이 38.8%인데 비해, B3군에서는 66.7%로 높았고, 특히 10~16 cell (B3: 23.0%, HTF: 2.9%)과 morula stage (10.4% vs 0.3%)는 B3군에서 높게 관찰되었다. 배아의 평균 누적배아점수 (CES)는 B3군이  $30.5 \pm 14.0$ , HTF군이  $18.7 \pm 7.1$ 로 B3군이 유의하게 높게 나타났다 ( $p < 0.001$ ). 임신반응검사 결과 hCG 양성 반응은 B3가 59.5%, HTF가 38.7%로 유의한 차이가 있었으며, 임상적 임신은 48.6%, 33.9%로 B3가 높았지만 통계적 유의성은 없었다.

이상의 결과에서 배양액내의 조성은 체외수정 및 이식술에서 배아의 발달 및 임신결과에 영향을 미치는 중요한 요인이며, 항산화제 및 아미노산과 성장요인들의 복합제제를 성분으로하는 B3 배양액은 사람의 체외수정 및 이식술에 유용한 배양액으로 사료된다.

## O-29 미세수정으로 임신된 배양양수세포와 정상임신의 배양양수세포에서의 미토콘드리아 유전자 발현의 비교

포천중문의대 차병원 산부인과, 유전연구실

이숙환 · 한정희 · 조성원 · 김현희 · 이수만 · 박인평  
윤내영 · 조용선 · 차광열

**Objectives:** To examine the difference of mitochondrial gene expression between intracytoplasmic sperm injection (ICSI)- and normal-pregnancy. After ICSI, the injected sperm mitochondria (mtDNA) appear to be lost during the early cleavage stage, soon after fertilization between the two- and four-cell stages. It might be the simplest explanation for maternal inheritance, in other words this brings forth the concept that any impairment of the mitochondrial function in the mother would be transmitted to the offspring. ICSI, the most successful procedure to overcome infertility, may damage the oocyte's cytoplasm. It gives oocytes an impairment of oxidative phosphorylation which affects mitochondrial ATP generator that oocytes require for mitochondrial function to maintain their viability during a period that can last as long as 30 or 40 years. Because of this possibility, we present a comparison of mitochondrial gene expressions taken from ICSI cultured amniocytes and normal pregnancy amniocytes.

**Design:** Cultured amniocytes from ICSI- and normal-pregnancy were tested for mitochondrial expression in the different regions of the mitochondrial genome.

**Materials and Methods:** Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect and quantify mitochondrial genome mRNA in cultured amniocytes from ICSI and normal pregnancy with the same material and gestational age. Seven primer pairs from different regions of the mitochondrial genome, Complex I genes (NADH dehydrogenase 4; MTND4), Complex IV genes (Cytochrome c oxidase III; MTCOIII), Complex V genes (ATP synthase 6; MTATP 6, and 16s rRNA; MTRNR) were designed. Ten ICSI and ten normal amniocytes were tested with each primer set except NADH4 and cytochrome c oxidase gene. The PCR products from Complex I, IV, and V were analyzed for densitometric analysis relative to hypoxanthine phosphoribosyl transferase (HPRT) transcripts, as a control. RT-PCR was used to test ICSI and normal amniocytes for mRNA of Complex I, IV, and V genes. Two percent agarose gel was used for analyzing PCR products.

**Results:** Complex V genes was amplified to examine ATP synthase 6 which resulted with an ICSI amniocyte transcription of approximately 1.836 ratio to HPRT transcription and normal amniocyte of 1.877. In contrast, Complex I was amplified with NADH dehydrogenase 4 which showed lower expression in ICSI amniocyte (15.65) than normal-ICSI (19.89).

**Conclusions:** There was a uniformity in the expression of Complex V genes (ATP synthase 6) oth ICSI and normal pregnancy amniocytes. Although an insufficient sample size (n=3) was used to perform truly a quantitative PCR in NADH dehydrogenase 4, the ratio of NADH dehydrogenase 4 message of ICSI amniocyte relative to that of HPRT was lower than normal pregnancy amniocytes. These preliminary data suggest that the ICSI technique might be safe to Complex V gene, ATP synthase 6 which regulates ATP generation.

### O-30 불임환자의 착상기 자궁내막에서 일산화질소 생성효소 (Nitric Oxide Synthase; NOS)의 이상발현

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과, 경희대학교 의과대학 해부학교실<sup>1</sup>

송인옥 · 허영범<sup>1</sup> · 송지홍 · 유근재 · 백은찬 · 최범채  
궁미경 · 전종영 · 강인수

**목 적:** 착상기 동안에 불임환자의 자궁내막에서 endothelial NOS (eNOS)와 inducible NOS (iNOS)가 발현되는지를 보고 정상여성과 비교하여 NOS의 발현 정도가 차이가 있는지를 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** 정상여성 10예와 불임환자 14예 (원인불명: 3예, 자궁내막증: 6예, 난관수종이 있는 난관불임: 5예)를 대상으로 착상기에 자궁내막 생검을 하였다. 착상기는 초음파를 이용한 배란검사와 소변의 황체호르몬을 검사를 하여 양성반응이 나온 후 6~10일로 정하였다. 이 시기에 얻은 자궁내막 조직을 이용하여 eNOS와 iNOS의 발현을 알아보기 위해 면역조직화학 염색과 reverse transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR)을 시행하였다. 염색 정도는 영상분석기를 이용하여 평가하였는데 평균 광학농도 (average optical density)에 따라 염색이 안된 세포는 0, 검게 염색된 세포는 255로 판정하였다.

**결 과:** 불임환자나 정상여성의 자궁내막에서 eNOS와 iNOS의 발현은 선상피세포에서 기질세포 보다 강하게 발현되었다. 원인불명의 불임환자에서 eNOS ( $63.4 \pm 0.8$ ,  $61.9 \pm 0.5$ :