

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 해부학교실¹

송인옥 · 허영범¹ · 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 ± 0.8 , 61.9 ± 0.5 :

자궁내막 선상피세포, 기질세포)와 iNOS (68.2 ± 1.1 , 64.7 ± 1.1)의 발현정도는 정상여성과 비슷하였다. 그러나 자궁내막증 (75.6 ± 1.8)이나 난관수종 (67.3 ± 1.7)을 가진 불임환자에서 선상피세포 eNOS는 정상여성 (63.5 ± 0.9)과 비교하여 통계적으로 유의 있게 강하게 염색되었고 ($p < 0.01$), 자궁내막증 환자의 기질세포 eNOS (67.6 ± 1.5)에서도 정상여성 (61.9 ± 0.9)과 비교하여 통계적으로 유의 있게 강하게 염색되었다 ($p < 0.01$). 이와는 반대로 iNOS는 자궁내막증 (61.2 ± 1.0 , 55.2 ± 0.9 : 자궁내막 선상피세포, 기질세포)이나 난관수종을 가진 불임환자 (63.4 ± 0.5 , 59.7 ± 1.0)에서 정상여성 (68.2 ± 1.1 , 64.7 ± 1.1)과 비교하여 통계적으로 유의 있게 약하게 염색되었다 ($p < 0.01$). 또한 난관수종을 가진 불임환자의 eNOS mRNA는 정상여성에 비해 더 강하게 발현되었다.

결론: 자궁내막증이나 난관수종을 가진 불임환자의 착상기 자궁내막에서 eNOS와 iNOS는 정상여성과 비교하여 다르게 발현되며, 이러한 NOS에 의한 부적절한 NO 생성이 불임환자들의 착상 과정에 해로운 영향을 미칠 것으로 생각된다.

O-31 원인불명의 무정자증 환자에서 Y 염색체 Azoospermia Factor (AZF)의 지역별 미세결실 유형과 고환조직생검 소견의 상관관계

서울대학교 의과대학 비뇨기과학교실

김기동 · 김수웅 · 박선영 · 백재승

목적: Y 염색체 장완 (Yq)의 거대결실이 무정자증과 깊은 관련이 있음이 보고된 이래, 지금까지 Yq 원위부 (Yq11)의 interval 6 (Yq11.23)에 존재하는 RBM, DAZ, SPGY 등이 소위 AZF 후보유전자로 거론되고 있다. 최근 Vogt 등은 Yq11에 독립된 세 가지의 유전자 지역 즉, AZFa, AZFb, AZFc가 존재하며 각 지역별 유전자 결손은 Sertoli cell-only syndrome (SCOS)이나 spermatogenic arrest와 같은 특정 고환 표현형과 상관관계가 있다고 주장한 바 있다. 연구자들은 원인불명의 고환성 남성불임증 환자들을 대상으로 Yq11의 각 좌위별 미세결손을 PCR로 조사하여 그 결과를 고환조직생검 소견과 비교함으로써 이러한 가설을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법: 반복적 정액검사서 원인불명의 무정자증을 보이는 남성불임증 환자 40명을 대상으로 하였고, 가임력이 입증된 남자 14명과 정상 여성 4명을 대조군으로 삼았다. 혈청 FSH, LH, testosterone을 측정하였으며 전례에서 고환조직생검을 시행하였다. 말초 혈액에서 DNA를 추출하여 Y 염색체 37 STS (sequence-tagged sites)에 대한 multiplex PCR을 시행하였다. Multiplex PCR로 검사한 좌위들은 광범위한 AZF 지역들을 검사할 수 있도록 선택되었는데 8개의 STS는 interval 5에서, 28개의 좌위는 interval 6에서 선택하였고 SRY 유전자에 대한 STS는 대조군으로 이용하였다.

결과: Y 염색체상 미세결실은 8례 (20%)에서 확인되었다 (SCOS; 6/36례, spermatogenic arrest; 2/4례). 좌위별 결실빈도로 볼 때 가장 흔한 결실좌위는 DAZ 유전자였다 (7/8례). SCOS의 경우는 원위부 AZFb와 AZFc 지역의 미세결실을 보였고 spermatogenic arrest에서는 AZFc 지역에 국한된 미세결실을 확인할 수 있었다. 그러나 AZFa 지역내 결실을 보인 경우는 일례도 없었다.

결론: 본 연구 결과는 AZF 지역내 Yq11의 미세결실이 원인불명의 무정자증과 깊은 상