

P-17 Relationships between the Concentrations of Tumor Necrosis Factor- α and Nitric Oxide in Follicular Fluid and Oocyte Quality

Kyu Sup Lee, Bo Sun Joo*, Yong Jin Na and Won Whe Kim

*Department of Obstetrics and Gynecology, Pusan National University,
College of Medicine Department of Molecular Biology,
Pusan National University, College of Natural Science**

Abstract

Purpose: Our objective was to elucidate a correlation between concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and nitric oxide (NO) in a human follicular fluid and oocyte quality and outcomes of IVF-ET.

Methods: The concentrations of TNF- α and NO were measured in 92 follicular fluid samples collected from 23 patients undergoing IVF-ET program, due to tubal obstruction, some with endometriosis (4 cases) or hydrosalpinx (2 cases). Correlation of these levels with the oocyte quality, the oocyte maturity and infertility-associated diseases was analyzed.

Results: No correlation was found between the concentrations of NO and TNF- α in follicular fluid. NO concentrations in follicular fluid were significantly higher in patients with endometriosis ($p < 0.001$) or hydrosalpinx ($p < 0.01$) compared to the patients with just tubal obstruction and follicular NO concentrations' differences according to the oocyte maturity and the oocyte quality were not found. On the other hand, TNF- α concentrations in follicular fluid were significantly higher in poor quality oocytes ($p < 0.05$) and were not associated with infertility-associated diseases, like hydrosalpinx or endometriosis and the oocyte maturity. However, no significant differences in follicular levels of NO and TNF- α as well as IVF-ET parameters of pregnant and non-pregnant groups were revealed.

Conclusions: There is no significant correlation between the concentrations of NO and TNF- α in follicular fluid. NO levels in follicular fluid are altered in infertility-associated diseases. However, TNF- α levels, but not NO, influence oocyte quality. These results suggest that the production of NO and TNF- α in follicular fluid may be regulated via different pathways and can be tempered with infertility-associated diseases, thereby influencing oocyte quality locally.

Key Words: Follicular fluid, Nitric oxide, Tumor necrosis factor- α , Oocyte quality

P-18 공배양의 작용기전에 관한 연구

부산대학교병원 불임클리닉¹, 문화병원 불임클리닉², 부산대학교 자연대학³

김미경^{1,3} · 이재익¹ · 주보선^{2,3} · 문화숙² · 이규섭¹ · 김한도³

체외배양조건을 개선하려는 많은 시도가 지난 10여 년에 걸쳐 진행되어 왔다. 그러한 시도들 중의 하나가 보조 체세포를 이용한 배아의 공배양이며, 많은 연구들에 의해 배아의 질 향상 및 배아 발생률의 증가와 같은 공배양의 체외 배발생에 대한 이로운 효과가 입증

되면서 공배양은 사람의 체외수정시술에도 널리 이용되고 있다. 그러나 이러한 공배양의 작용에 대한 기전은 아직 명확하지 않다. 그러므로 본 연구는 공배양의 작용기전을 규명하기 위해 ICR 계통의 생쥐 1-세포기 배아를 사람의 난관상피세포와 공배양하여 공배양이 배발생에 미치는 효과를 확인한 다음, 보조세포의 배양으로부터 얻은 조건배양액 (CM)과 배아와 보조세포와의 접촉을 방지하기 위한 배양 삽입물 (cell culture insert) 이용에 따른 배발생률을 조사하였다. 또한 공배양 후 배발생의 유해물질의 하나로 알려진 superoxide anion 치의 변화를 조사하였다. 조건배양액은 준비과정에 따라 난관상피세포만을 2일 동안 배양하여 회수한 배양액을 -20℃에 보관 후 사용한 경우를 CM-1, 배양액으로 사용하기 바로 전에 회수한 경우를 CM-2, 난관상피세포와 배아를 함께 배양한 후 사용전에 바로 회수한 경우 CM-3, CM-2와 CM-3를 Microcon-10 (10 KDa cut-off)으로 농축시킨 후 단순배양액에 첨가하여 이용한 경우를 각각 CM-4와 CM-5로 구분하여 이용하였다. 모든 실험은 3회 이상 반복하였으며, 결과는 Mann-Whitney test를 이용하여 $p < 0.05$ 면 유의하다고 판정하였다. 공배양 결과 포배까지의 배발생률은 69.6%로 단순배양액에서 배양한 대조군의 2.7%보다는 현저히 높았다 ($p < 0.05$). 조건배양액 가운데 CM-1에서는 2-세포기 이후로 전혀 배발생이 진행되지 않았으며, CM-2,3,4,5를 이용한 경우에는 4세포기까지의 배발생률은 30% 이상으로 대조군 (18%)에 비해 유의하게 증가하였으나 포배형성률은 대조군과 비슷하였다. 배양 삽입물을 첨가하여 배양한 경우에도 공배양의 효과가 없었으며 공배양을 실시한 배양액에서 superoxide anion의 값이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). 상기 결과들은 저자들이 사용한 공배양 조건이 생쥐 초기배아의 체외배양시 cell-block 극복과 배발생을 향상시키는데 매우 효과적이며, 이러한 공배양의 이로인한 효과는 배아영양조절인자에 의해서보다는 배양액내 유해물질의 제거와 배아와 보조세포사이의 직접적인 접촉에 기인하고 있음을 시사한다.

P-19 인간 난관상피세포의 공배양이 초기 생쥐배아의 유전자 활성화에 미치는 영향

부산대학교 의과대학 산부인과학교실

고형권 · 이규섭 · 최욱환 · 김원희

본 연구는 인간 난관상피세포를 ICR계통의 생쥐 1-세포기 배아와의 공배양에 이용하여 첫째, 공배양술이 생쥐 초기 배아의 발생에 미치는 효과를 조사하고 둘째, 공배양을 초기 배아의 유전자 활성화 시기인 1-세포기 배아 전후에 적용하여 공배양이 배아의 유전자 활성화에 미치는 역할을 이해함으로써 공배양을 인간배아의 체외배양 조건 개선에 이용하고자 수행하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 2-세포기로 발생한 경우는 공배양군에서 97.3%, 대조군에서 98.7%로서 두 방법간에 유의한 차이는 없었다 ($p < 0.05$). 그렇지만 4~8 세포기로는 각각 72.0%와 20.0%, 상실배로는 각각 69.3%와 4.0%, 포배로는 각각 64.0%와 2.7%로서 4-세포기 이후의 발달율은 공배양군에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다 ($p < 0.05$).

2. 1-세포기 배아를 공배양한 후 hCG주사후 36, 44, 52, 60시간째 단순배양액으로 옮겨 공배양의 효과를 제거하였을 때 2-세포기까지의 배아발생은 4개군 모두에서 95% 이상 진행되었으나 4-세포기 이후의 배발생률은 공배양의 처리시기에 따라 유의한 차이를 보였다.