

데 hCG주사후 60시간군에서 포배까지의 배발생률은 포배까지 계속 공배양을 한 군과 유의한 차이가 없는 반면 (58.3% versus 64.0%), 공배양의 효과를 hCG주사후 60시간 이전에 제거한 나머지 3개군은 포배기배아 발생률이 유의하게 감소하였다 ($p<0.05$).

3. 1-세포기 배아를 단순배양액으로 배양한 후 hCG주사후 36, 44, 52, 60시간제 공배양으로 전환하였을때 2-세포기로 발생한 배아는 4개군 모두에서 95% 이상 진행되었으나 4~8 세포기로 발달한 배아는 각각 55.7%, 53.3%, 48.3%와 41.4%, 상실배로는 각각 52.9%, 46.7%, 45.0%와 37.1%, 포배로는 각각 52.9%, 46.7%, 43.3%와 37.1%로서 4-세포기 이후의 배발생률은 공배양을 초기부터 시작할수록 높았으며, hCG주사후 52시간부터 공배양 했을때 4-세포기 이후 포배까지의 배발생률은 지속적으로 공배양을 한 군에 비해 유의하게 감소하였다 ($p<0.05$).

본 실험의 결과 배아의 발달을 높이기 위해서는 초기부터 공배양을 시작하는 것이 좋으며, 특히 배아의 2차 핵분열이 일어나는 기간동안 공배양 환경을 지속시켜 주어야 하며 그 결과 공배양에 의한 배양조건으로 인해 초기 배아의 유전자가 활성화되어 2-cell block을 극복하여 포배이후까지의 정상적인 배발생이 이루어진다. 그러나 이러한 효과가 공배양의 보조세포로부터 분비되는 성장인자들에 의한 것인지에 대한 기전과 그 외 여러 요인들과 배아의 유전자 활성화의 상관관계에 대한 연구가 더욱 필요하리라 사료된다.

P-20 공배양이 초기 배아발달에 미치는 효과에 있어 Leukemia Inhibitory Factor의 역할 규명에 관한 연구

부산대학교 산부인과, 부산대학교 불임클리닉*

이영아 · 김미경* · 이재익* · 이규섭

초기배아의 발달 및 분화에 영향을 미치는 여러 인자들 중 인간의 난관에서 분비되는 LIF가 착상 전 초기배아의 발달에 중요한 역할을 할 것이라는 가설이 제기되었고, 체외수정시술시 사용되는 배양액상에서 LIF의 영향을 확인하기 위한 여러 연구들이 보고되고 있다. 이에 본 저자들은 인간 난관상피세포를 이용한 공배양시 LIF에 대한 항체를 첨가하여 LIF가 생쥐배아의 체외발달에 미치는 영향을 확인하고, 2-cell block이 있는 ICR계통의 생쥐 배아를 이용하여 LIF투여로 난할 억제가 극복되는 정도를 알아보기 위해 본 연구를 수행하였다.

1. 배양액 단독 (0.4% BSA가 첨가된 HTF)으로 배양한 경우보다 인간 난관상피세포를 이용한 공배양의 경우 배아의 난할정도가 의미있게 높았다 ($p<0.05$).

2. LIF에 대한 항체를 난관상피세포와의 공배양에 첨가한 경우 첨가한 항체의 농도가 높을수록 4-세포기 이후로의 난할률이 낮아지는 것을 볼 수 있었으며 ($p<0.05$), 첨가한 항체의 농도가 1 ng 이상인 경우에는 2-세포기 이후로는 난할이 관찰되지 않았다.

3. 2-세포기 정지가 일어난 ICR계통의 생쥐 배아 배양시 LIF를 첨가한 경우와 배양액 단독으로 배양한 결과를 비교하여 보았을 때 양군 모두 4-세포기까지는 난할이 일어나는 것을 볼 수 있었으나, 그 이상의 분화는 일어나지 않았고, LIF를 첨가한 군에서 분화정도가 의미있게 높았다 ($p<0.05$).

이상의 결과로 볼 때 공배양시 인간 난관상피세포에서 분비되는 LIF는 착상전 초기배아의 발달에 중요한 영향을 미치는 인자로 작용하나, 체외배양시에 재조합 LIF의 첨가만으

로는 정상적인 배발생이 진행되지 않는 것으로 보아 공배양의 효과는 LIF와 다른 인자와의 상호작용에 의해 나타나는 것으로 사료된다. 향후 LIF에 대한 더 많은 연구가 체외수정시술시 배아의 배양을 향상과 체내 이식, 궁극적으로는 임신율의 향상에 도움을 줄 것으로 생각된다.

P-21 동결전 단계적 노출처리방법이 유리화동결과 초급속동결-융해후 생쥐 성숙난자의 생존력에 미치는 영향에 관한 연구

부산의대 산부인과, 부산대학교병원 불임클리닉*

김상우 · 김미경* · 이재익* · 이규섭 · 윤만수

인간에서는 보조생식술 (artificial reproductive technology, ART)중 과배란유도법 (controlled ovarian hyperstimulation, COH)의 발달로 많은 수의 성숙난자 (mature oocyte)를 얻을 수 있게 됨에 따라 이식하고 남은 잉여난자의 처리문제가 대두되었다. 난자의 동결보존은 난소암으로 인한 난소기능의 상실과 항암 치료와 같은 잠재적으로 생식력을 잃을 수 있는 여성들에게 생식력을 연장시켜 줄 수 있으며, 이식하고 남은 잉여난자를 동결보존 함으로써 시술주기마다 과배란 유도과 난자채취를 위한 수술을 피할 수 있어 불임여성에게 시간적, 경제적인 부담을 줄일 수 있는 장점 때문에 난자 동결보존의 필요성이 더욱 강조되고 있다. 동물 연구에서 수정란 (embryo)과 난자 (oocyte)의 동결보존은 주로 멸종 위기종의 보존, 우량가축의 형질보존, 수송 및 생산을 위한 한 방법으로 많은 연구가 진행되어 완만동결법 (slow freezing)에 이어 급속동결 (rapid freezing)과 유리화동결 (vitrification) 방법이 개발되어 높은 생존율이 보고되고 있다.

본 연구는 유리화동결과 초급속동결을 이용한 생쥐 성숙난자의 동결에서 동결전 노출처리가 융해후 정상형태율과 수정율, 포배기로의 발달율에 미치는 영향을 비교하여 인간난자의 동결보존을 위한 기초자료로 활용하기 위하여 실행되었다.

1. 세가지 방법 (1단계, 3단계, 5단계)의 단계별 노출처리후 유리화동결-융해된 생쥐 성숙난자의 정상형태율은 75%, 85%, 88%이었으며 수정율은 58%, 61%, 54%로써 단계별 처리간에 유의차가 없었다 ($p>0.05$). 대조군의 정상형태율과 수정율은 각각, 92%와 65%로써 대조군과 처리군간에도 유의한 차이가 나타나지 않았다 ($p>0.05$).

2. 세가지 방법 (1단계, 3단계, 5단계)의 단계별 노출처리후 유리화동결-융해된 생쥐 성숙난자의 정상형태율은 83%, 83%, 84%이었으며 수정율은 55%, 63%, 56%로써 단계별 처리간에 유의한 차이가 없었다 ($p>0.05$). 대조군의 정상형태율과 수정율은 각각 95%와 67%로써 대조군과 처리군간에도 유의한 차이가 나타나지 않았다 ($p>0.05$).

3. 3단계 노출처리후 유리화동결과 초급속동결후 융해한 생쥐 성숙난자의 정상형태율과 수정율은 각각, 69%와 75%, 59%와 54%이었으며, 포배기 형성율은 60%와 57%로써 두 동결방법간에 유의한 차이가 없었다 ($p>0.05$).

이상의 결과에서 알 수 있듯이 생쥐 성숙난자의 유리화 동결과 초급속동결-융해후 수정율과 포배기 형성율에서 단계별 노출처리간에 유의한 차이가 없었으며, 대조군과 처리군간에도 유의한 차이가 나타나지 않아 유리화동결과 초급속동결이 생쥐 성숙난자의 동결보존에 효율적임을 시사하였다.