P-35 The Ability of the Non-transferred, Surplus Embryos to Form Blastocysts Cannot Predict Pregnancy Success of Transferred Embryos

Byung Chul Jee, Chang Suk Suh, Seok Hyun Kim, Young Min Choi, Jung Gu Kim, Shin Yong Moon and Jin Yong Lee

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, KOREA

Objective: To assess the ability of the remaining embryos after routine embryo transfers at day 2 or 3 to form blastocysts could predict the successful IVF outcomes.

Materials and Methods: From May 1998 to June 1999, a total of 35 cycles with more than 6 fertilized oocytes was enrolled in this study. Ovarian stimulation was performed with highly purified FSH after pituitary desensitization by GnRH agonist. Embryos with good quality were transferred at day 2 or 3 (mean 5.2 per cycle), and the remaining embryos (mean 3.9 per cycle) were allowed to develop to the blastocyst stage using one of three culture media (S2, BL, or G2.2).

Results: The overall rate of blastocyst formation was $29.7 \pm 4.2\%$ (mean \pm SEM). Pregnancy rate in 24 cycles with producing at least one blastocyst was similar compared to 11 cycles with producing no blastocyst (29.2% vs. 27.3%). The blastulation rates were not different according to the numbers of the remaining embryos. A positive correlation existed between blastulation rates and cumulative embryo score (CES) assessed at day 3 (r^2 =0.504, p=0.003). CES > 50 could predict at least one blastocyst development with sensitivity 75.0%, specificity 90.9%.

Conclusion: Whether excess embryos reach to the blastocyst stage is not predictive of the pregnancy success of transferred embryos. Blastulation rate per se was affected by quality of the embryos, not the number.

P-36 생쥐난자의 체외성숙에 미치는 Nicotine의 영향

성신여자대학교 자연과학대학 생물학과

성 기 청 · 배 인 하

흡연 즉, 담배연기 속에는 4,000여종의 독성 화학물질이 들어 있는 것으로 추정되고 있으나 각 성분이 생체에 미치는 영향에 대한 보고는 거의 없다. 그러나, 이들 성분중 물에녹을 수 있는 nicotine과 tar 등이 혈액에 녹아 각 조직의 세포에 전달되어 여러 가지 대사작용에 이상을 초래하거나 해로운 영향을 미친다는 보고가 되어 있다.

현재까지 흡연이 포유동물에 미치는 영향에 대한 체내 (in vivo)실험은 많이 보고되어 왔지만 포유동물의 난자를 이용한 체외 (in vitro)실험에 대한 보고는 거의 전무하다. 따라서 체내 실험과 달리 모든 요인을 정확히 조절할 수 있는 체외에서의 요인 분석이 필수적이다. 본 연구에서는 담배연기의 주요 성분 중의 하나인 nicotine과 nicotine tartrate가 생쥐난 자의 체외 성숙에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법: Swiss albino계통인 ICR strain 생쥐의 3~4주된 암컷을 사용하여 5 IU의

PMSG (Sigma, St. Louis, U.S.A.)를 주사한 후 46시간 후에 경추골 파열로 도살하여 난소를 적출한 후 난자를 채취하였다. 기본 배양액으로는 Modified Hanks' Balanced Salt solution (MHBS; Bae & Channing, 1985)에서 인산 성분을 줄이고 완충작용을 강화하여 삼투압을 280mOsm로 조정한 New MHBS배양액을 사용하였고, 핵막 (germinal vesicle: GV)이 확인된 건강한 난자를 수집하여 nicotine, nicotine-tartrate 및 nicotinic acetylcholine receptor antagonist 인 mecamylamine을 농도별로 처리 한 기본 배양액에서 배양하여 배양시작 4시간 후에 일어나는 핵막붕괴 (GVBD)율과 배양 17시간 후 제1극체 형성율을 대조군과 비교하였다.

결 과: 1. Nicotine을 농도별 (300 μM, 500 μM, 1 mM, 5 mM)로 처리하였을 때 난자의 핵막붕괴율에는 별 영향이 없었으나, 제1극체 형성율은 nicotine의 농도가 증가 (300 μM~500 μM~1 mM~5 mM) 할수록 감소하였다.

- 2. Nicotine tartrate를 농도별 (50 μ M, 500 μ M, 5 mM)로 처리하였을 때 난자의 핵막붕괴율에는 별 영향이 없었으나, 제1극체 형성율은 nicotine tartrate의 농도가 증가 (50 μ M \sim 500 μ M \sim 5 mM) 할수록 감소하여 nicotine과 비슷한 양상을 보였다.
- 3. Nicotine과 nicotine tartrate를 동시에 처리 (300 μM + 50 μM, 300 μM + 500 μM, 1 mM + 50 μM, 1 mM + 500 μM)하였을 때에는 각각을 따로 처리하였을 때와 달리 두 물질의 상승작용으로 핵막붕괴율이 감소하였고, 제1극체 형성율 또한 감소하였다.
- 4. Nicotinic acetylcholine receptor의 antagonist인 mecamylamine ($10~\mu M$)과 nicotine ($300~\mu M$, $500~\mu M$, 1~mM, 5~mM)을 함께 처리하였을 때에는 nicotine ($300~\mu M$, $500~\mu M$, 1~mM, 5~mM) 만을 처리하였을 때보다 제1극체 형성율이 증가하였다.
- 5. Mecamylamine ($10~\mu M$)과 nicotine tartrate ($50~\mu M$, $500~\mu M$, 5~m M)를 함께 처리하였을 때에는 nicotine tartrate ($50~\mu M$, $500~\mu M$, 5~m M)만을 처리하였을 때보다 제1극체 형성율이 증가하였다.

결 론: 위의 결과에서 nicotine과 nicotine tartrate는 생쥐난자의 체외성숙 (제1극체 형성)을 억제하였고, mecamylamine은 nicotine과 nicotine tartrate가 생쥐난자의 성숙에 미치는 부정적 효과를 억제시켰다. 이에 nicotine과 nicotine tartrate가 생쥐난자의 성숙에 미치는 부정적 영향에 대한 분자생물학적인 수준에서의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

P-37 Fibronectin과 배양액 내 Ca²⁺의 상호작용이 생쥐 포배의 Outgrowth에 미치는 영향

성신여자대학교 자연과학대학 생물학과

박은미·배인하

Fibronectin은 중요한 세포 밖 기질 중의 하나로서 세포의 부착 및 outgrowth에 관여한다. 그런데 최근 fibronectin이 세포 밖 Ca^{2+} 을 세포 내로 유입시킴으로서 세포 내 Ca^{2+} 의 농도를 증가시킨다는 보고가 있었다. 또한 생쥐포배에서 세포 내 Ca^{2+} 의 농도가 증가하면 outgrowth의 속도나 면적이 증가한다는 보고도 있었다.

따라서 본 연구에서는 생쥐 포배에 soluble fibronectin을 처리했을 때 세포 내 Ca^{2+} 농도의 증가 유무를 outgrowth의 속도를 통해 간접적으로 알아보고자 하였다.

방 법: hCG 주사 후 97시간에 포배를 얻어 fibronectin을 농도별, 시간별로 처리하였다. 또 free Ca²⁺이 없는 M16 media나 3.4 2mM Ca²⁺의 M16 media에 fibronectin을 첨가시켜 배양