

었으며 유산되었다. 그러나 10개 이상인 경우 임신율은 10/16 (62.5%), 다태임신은 6/10 (60.0%), 유산은 1/10 (10.0%) 이었다. 31~35세에서는 회수되는 난자의 수가 10개 미만인 경우 임신율은 8/16 (50.0%), 다태임신은 없었으며 유산은 1/8 (12.5%) 이었다. 그러나 10개 이상인 경우 임신율은 9/19 (47.4%), 다태임신은 4/9 (44.4%), 유산은 없었다. 36~40세에서는 회수되는 난자의 수가 10개 미만인 경우 임신율은 8/19 (42.1%), 다태임신은 1/8 (12.5%), 유산은 1/8 (12.5%) 이었다. 그러나 10개 이상의 경우 임신율은 5/8 (62.5%), 다태임신은 1/5 (20.0%), 유산은 없었다. 41세 이상에서는 10개 미만인 경우 임신율은 5/7 (71.4%)이었으나 대부분 유산되고 1명의 환자만이 임신 진행 중에 있다.

결 론: 환자의 연령과 회수되는 난자의 수에 따라 다태임신 및 유산을 살펴볼 때, 30세 이하이고 10개 미만의 난자를 가지는 군에서 임신 되었던 환자는 유산하였으며, 41세 이상인 환자에서는 5명의 임신 환자 중 4명이 유산하여 타군에 비해 유산율이 유의하게 높게 나타났다. 또한, 30세 이하이고 10개 이상의 환자에서 다태임신은 60%이었으며, 31~35세이고 10개 이상의 환자에서 44.4%로 나타나 타군에 비해 유의하게 높았다. 따라서 이러한 현상은 연령이 35세 이하이고 회수되는 난자의 수가 10개 이상인 경우 이식되는 난자의 수를 3~4개 이하로 제한하는 것이 바람직한 것으로 여겨진다.

P-19 생쥐 정소와 태반의 성장과 분화 과정 동안 CDK Inhibitor인 p27^{kip1}과 p57^{kip2}의 발현

¹건양대학교 병원 산부인과, ²경기대학교 자연과학대학 생물학과

김성태^{1,2} · 이성기¹ · 장병우¹ · 계명찬²

목 적: 세포주기의 조절은 생명체의 발생 과정 중이나 유지에 매우 중요하다. 이것은 세포 내, 외부로부터 전달된 복잡한 신호들이 CDK (cyclin-dependent kinase)와 상호작용 함으로써 조절된다. 정소는 출생 이후 사춘기에 이르기까지 세포의 증식과 멈춤 (arrest), 분화 과정이 반복되며, 태반은 포배기 배아의 영양세포층 (trophoblast)에서 유래된 조직으로, 태아와 모체 사이에 위치하여 가스의 교환, 영양분의 공급과 노폐물의 처리, 임신과 관련된 스테로이드 호르몬 (에스트로겐, 프로게스테론 등), 펩타이드 호르몬 (융모막성 생식소자극 호르몬; hCG, 융모막성 유전자극 호르몬; hPL 등)과 성장인자 (growth factor)들을 제공하는 원천이 되며, 특히 모체의 면역시스템으로부터 태아를 보호해 주는 중요한 기능을 하고 있다. 본 연구는 생쥐의 발생 과정 중에서 출생 후 정소의 발달 과정과 임신 중 태반의 성장과 분화 과정 동안에 세포주기 조절인자인 CDK inhibitor인 p27^{kip1}과 p57^{kip2}의 발현양상을 mRNA와 단백질 수준에서 조사하고자 하였다.

대상 및 방법: 생후 1주, 2주, 4주, 8주된 수컷 생쥐의 정소와 임신 12일, 14일, 16일, 18일된 암컷 생쥐의 태반을 대상으로 p27^{kip1}과 p57^{kip2}의 발현양상을 조사하였다. 상기 조직을 적출하여 total RNA와 단백질을 추출한 후 RT-PCR과 Western blot 방법으로 전사와 번역 수준에서의 발현양상을 비교하였다. 일부 조직은 고정하여 면역조직화학 (immunohistochemistry) 방법으로 단백질의 발현 위치를 확인하였다.

결 과: 생후 1주에서 8주의 정소에서 RT-PCR을 수행한 결과, p27^{kip1}은 생후 주령에 따라 발현 양의 차이가 없이 일정하게 발현되었으나, p57^{kip2}는 4주와 8주에 비해 1주와 2주에서 더 높은 발현양상을 나타내었다. 단백질의 발현양상도 유사하였고, 면역조직화학 염색 결과 Sertoli cell, Leydig cell과 같은 체세포 뿐 아니라 다양한 생식세포 (germ cell)에서도 발현됨을 확인하였다. 임신 12일에서 18일의 생쥐 태반에서 RT-PCR을 수행한 결과, p27^{kip1}은 임신 12일에서 16일까지는 비교적 적게 발현되다가

임신 18일에 발현이 증가하였다. 반대로 p57^{kip2}는 임신 12일과 14일에 많이 발현되다가 임신 16일과 18일로 갈수록 감소하는 양상을 나타내었다. Western blot과 면역조직화학 염색 결과도 동일하게 나타났다.

결론: 본 연구의 결과로 볼 때, 정소의 초기 발달 과정에 p57^{kip2}가 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 또한 체세포 뿐 아니라 생식세포에서의 발현도 확인하였다. 따라서 Sertoli cell only syndrome, growth arrest나 감소된 정자형성 등의 남성불임 환자와 정소암 환자에서 p27^{kip1}과 p57^{kip2} 발현양상을 연구함으로써 이러한 질병의 원인 규명은 물론 치료에 큰 도움을 줄 수 있으리라 사료된다. 그리고 태반 발달 초기에는 p57^{kip2}가, 후기에는 p27^{kip1}이 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 따라서 사람의 임신 초기에 태반 발달의 장애로 인해 유산이 초래된 경우, p57^{kip2}의 발현양상을 확인해 봄으로써 그 원인을 밝힐 수 있는 단서를 마련할 수 있으리라 사료되며 나아가 유산의 예방에 관한 연구에 도움을 주리라 사료된다.

P-20 배지미세환경이 소의 정자침입과 전핵형성에 미치는 영향

부산세화불임클리닉, *동의대학교

이채식 · 김병기* · 이상찬 · 류란숙 · 김종홍

소의 체외수정에 이용되는 배지의 미세환경 중 삼투압과 calcium이 정자침투와 전핵형성에 미치는 영향과 체외수정배지 내에서 정자의 수정능력획득시간과 난자의 세포질로 침투하는 시간 및 침투 후 전핵형성에 소요되는 시간을 조사하였다.

미성숙 난자는 TCM-199을 사용하여 22시간 동안 39℃, 5% CO₂ 배양기에서 체외성숙시켰고, mBO 배지에서 체외수정을 실시하였다.

정자가 난자 세포질 내로의 침입에 대한 삼투압의 영향은 수정배지의 삼투압이 200 mOsm과 240 mOsm에서 각각 41.6%와 56.7%의 정자침입률을 보였고, 280, 320, 360, 400, 440 mOsm에서는 69.6, 72.0, 70.0, 68.2, 68.5%로서 유의적인 증가가 있었다 (p<0.05). 정자가 침입한 난자의 전핵형성률은 280, 320, 360 mOsm에서 각각 64.1, 67.2, 60.3%였으나, 400 mOsm과 440 mOsm에서는 각각 30.0, 3.3%로서 유의적 (p<0.05)으로 전핵형성률이 감소하였다.

Calcium의 농도가 0, 0.5, 1.0 mM에서는 정자침입이 일어나지 않았고, 1.5, 2.0, 2.5 mM에서는 30.4, 67.1, 68.9%로 정자의 침입이 증가하였지만 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 mM로 농도가 증가하면서 64.0, 57.1, 33.3, 25.8, 21.7%로 감소하는 경향을 나타내었다. 전핵형성은 최초 1.5 mM에서 33.3%의 전핵형성률을 나타내었고, 2.0 mM과 2.5 mM에서 각각 61.7%와 62.7%로 최고의 전핵형성률을 나타냈으며, 3.0 mM 이상의 농도에서는 전핵형성률이 감소하였다.

정자가 체외에서 수정능력획득에 소요되는 시간과 난자 내로의 침입 및 침입 후 전핵형성에 소요되는 시간을 조사하기 위하여 정자를 각각 2, 4, 6, 8시간 동안 39℃, 5% CO₂ 배양기에서 수정능력획득 과정을 유기한 후 체외수정한 결과, 2시간 전처리구에서 수정 후 190분째에 최초 정자침입을 확인할 수 있었고 4시간 전처리구에서는 수정 후 70분째에 처음으로 정자침입을 확인하였다. 6시간과 8시간 전처리구에서는 수정 후 50분째에 정자침입을 확인할 수 있었다. 2시간 전처리구에서는 수정 후 250분까지 전핵이 관찰되지 않았으나, 4시간 전처리구에서는 수정 후 250분째 전핵을 확인할 수 있었고,