

P-4

Comparison of the Motility of Testicular Sperm Cultured at Different Culture Conditions; Human Follicular Fluid (hFF), Temperatures

¹Shin JS(신지수), ¹Sohn JO, ¹Chung MK, ¹Jun SH, ^{1,2}Lee WS,
^{1,2}Kwak IP, ^{1,2}Chung TK, ^{1,2}Yoon TK

¹*Infertility Medical Center of CHA General Hospital,*

²*College of Medicine, Pochon CHA University, Seoul, Korea*

Objectives: The aim of this study was to evaluate the testicular sperm motility following different culture conditions such as human follicular fluid (hFF) and temperature.

Materials and Methods: Testis biopsy (n=21) from beneath the tunica albuginea was dissected into small fragments. Testicular tissues were minced into small pieces by blade and recovered sperm were cultured in Ham's F-10 medium with or without 40% FF at different temperatures. The same samples were allocated to four groups following culture temperature and w/o FF (Group I; 37°C/with FF, Group II; 32°C/with FF, Group III; 37°C/without FF, Group IV; 32°C/without FF). The atmosphere of incubator set at 32 and 37°C, 5% carbon dioxide for culture. The samples which were retrieved were cultured during 48 hrs and the sperm motility was evaluated at 24 and 48 hrs. Also, the viability was observed at 48 hrs. When observing, 100 sperm were counted for scoring.

Results: After 24 hrs culture, Sperm motility was $23.5 \pm 2.1\%$ (Group I), $8.1 \pm 1.1\%$ (Group II), $10.4 \pm 1.4\%$ (Group III) and $4.0 \pm 0.8\%$ (Group IV) respectively. After 48 hrs, the motility was changed as $32.0 \pm 2.3\%$ (Group I), $14.3 \pm 1.7\%$ (Group II), $5.3 \pm 1.4\%$ (Group III) and $4.3 \pm 0.9\%$ (Group IV). In FF group (I and II) presented statistical significance between groups. In the group III, IV presented no statistical significance. The motility was significantly higher in group I compared with group II and control (Group III, IV) statistically during culture. But, the results of the viability were reversed. The viability is $54.4 \pm 4.1\%$ at 37°C and $59.4 \pm 3.7\%$ at 32°C after 48 hrs.

Conclusion: From these results, it can be suggested that culture condition of testicular sperm was optimal at 37°C in medium including FF. It might be applied in the clinical setting to obtain male gametes in human ART program.

P-5

수컷 흰쥐 저정낭과 정관에서 세로토닌 수용체 아형들의 유전자 발현 조절

상명대학교 생명과학전공

이종화 · 홍경아 · 이성호

목 적: 세로토닌 (serotonin, 5-HT)은 카테콜아민과 더불어 포유동물의 다양한 성적 행동을 조절하는

주요 신경전달물질이며, 특히 사정현상의 억제성 조절에 있어 핵심적인 역할을 담당하는 것으로 알려졌다. 카테콜아민계 수용체와 유사하게 5-HT 수용체 역시 다양한 아형들이 존재함이 보고되었는데, 이중 1A, 1B, 2C 아형이 생식현상의 조절에 관여함이 다수의 약리학적인 연구들을 통해 주장되었다. 본 연구에서는 수컷 흰쥐의 생식기관인 저장낭 (seminal vesicle)과 정관 (vas deferens)에서의 상기 5-HT 수용체 아형들의 발현 여부와 sex steroid에 의한 조절 양상을 조사하고자 수행되었다.

대상 및 방법: 성숙한 SD (250~350 g) 수컷 흰쥐를 사용하였으며, sex steroid 효과는 정소제거 (orchidectomy) 후 testosterone (Sigma)이 든 silastic capsule (길이 15 mm, 내경 1.55 mm, 외경 3.125 mm)을 이식하고 48시간 후 희생시켰다. 적출한 뇌 (대조군), 저장낭, 정관에서 추출한 total RNA를 시료로 5-HT 수용체 아형들 (5HT_{1A}, 1B, 2C)에 대한 primer를 이용한 RT-PCR을 반복 시행하였다. 증폭된 cDNA의 진위는 Southern blot으로 확인하였다.

결 과: 사용된 생식기관 모두에서 각 5-HT 수용체 아형들의 mRNA로부터 예상된 크기의 cDNA가 증폭되었다 (1A type, 595 bp; 1B type 629 bp; 2C type, 351 bp). 각 장기별, 각 수용체 아형별로 mRNA 발현 정도는 차이를 보여 주었는데, 세 아형 모두 뇌>저장낭>정관 순이었으며, testosterone 처리에 의해 유의한 변화가 관찰되었다.

결 론: 본 연구 결과는 사정과 관련된 흰쥐 생식기관들에서 5-HT 수용체 아형들이 발현됨을 확인하는 것이며, 사정반응에 있어서 잘 알려진 연수의 nucleus paragigantocellularis (nPGi) 5-HT neuron에 의한 증추적인 효과 외에도 사정기관 수준에서의 말초성 효과가 존재할 가능성을 시사한다.

P-6 성체 백서의 부고환, 정낭, 정낭액에 존재하는 LH-like Activities

서울대학교 의과대학 비뇨기과, 상명대*

박관진 · 손환철 · 김수웅 · 이성호* · 백재승

목 적: 인간을 포함한 포유동물의 생식 현상은 시상하부-뇌하수체-성선축의 호르몬에 의해 정교하게 조절된다. 흥미롭게도 gonadotropin 중 luteinizing hormone (LH)이 백서의 고환과 전립선에서 발현됨이 밝혀졌다. 이는 LH가 기존의 성호르몬 분비 조절 기능 외에도 별개의 기능을 나타낼 가능성을 시사하는 것이다. 본 연구자들은 백서의 부고환, 정낭, 정낭액, 그리고 부고환에서 추출한 정자에서 LH의 존재 여부를 검증하였다.

대상 및 방법: 사용된 백서는 SD계열로 생후 4~5개월에 희생시켰다. LH 유전자 발현과 조직특이성 발현 여부를 조사하기 위해 α -subunit, 뇌하수체형 및 고환형 LH β -subunit에 대한 RT-PCR을 시행하였다. LH-like molecule의 존재를 확인하기 위해서는 rat LH 방사면역측정법, 조직내 분포를 조사하기 위해 rat LH 면역조직화학법을 사용하였고, 인간의 정액과 정자에서의 LH-like molecule의 존재는 human LH 방사면역측정법을 사용하였다.

결 과: (1) RT-PCR 실험에서 백서의 부고환과 정낭 공히 α -subunit와 뇌하수체형 LH β -subunit 유전자가 발현됨이 검출되었으며, 고환형 LH β -subunit 유전자는 검출되지 않았다. (2) 백서 부고환과 LH-like molecule의 존재는 방사면역측정법과 면역조직화학법으로 확인되었으며, 두부 (23.2±3.3 ng/g)와 미부 (27.3±2.4 ng/g) 부위보다 체부 (41.5±3.8 ng/g)에서 높게 나타났으며 상피세포에서 주로 검출되