most of in vivo matured oocytes (63.8%) changed their spindle locations from beneath the first polar body to at 0~90 degree after further incubation for 24 h.

Conclusions: Different spindle locations may reflect the chronological change of the oocytes. In vitro matured mouse MII oocytes have their spindle locations one-day faster compared with in vivo matured oocytes. This finding suggests that lower developmental competency in in vitro matured oocytes may be related with their more accelerated changes in cytoskeletal structure.

O-8 인간성숙 난자의 유리화 동결 후, 세포골격계와 관련된 MAP Kinase 인산화

포천중문의대 차병원 유전학연구실[1], 여성의학연구소 불임의학연구소[2],
보건복지부 지정 생식의학 및 불임 유전체 연구센터[3],
세포유전자치료연구소[4], 기초의학연구소[5]

정혜진 · 이숙환[1,2,3] · 박성은[3,5] · 박상희[1,3] · 진미욱[1]
정형민[4,5] · 고정재[2] · 윤내영[1,2] · 윤태기[2]

Background & Objectives: 유리화 동결법은 동결 중 ice crystal의 형성이 이루어지지 않으므로 난자의 세포질의 손상을 줄일 수 있는 장점이 있다고 많은 포유동물의 실험 결과에서 보고되었다. 그러나 여러 연구자들은 성숙난자의 유리화 동결 보존시 염색체와 방추사의 이상성이 증가됨을 보고하였다. 이전의 우리의 연구에서도 유리화 동결 융해시킨 난자가 대조군의 난자보다 방추사와 염색체의 이상성이 증가되었다. 이 결과는 유리화 동결이 난자 세포계의 중요한 손상을 일으키는 요인으로 동결 동안 세포골격계를 안정화시키는 것이 동결 융해 후의 난자의 생존률과 발달률을 증진시키는 것으로 관찰되었다. 최근의 연구에서 MAP kinase가 염색체와 미세소관을 조절하는 중요한 기능을 가지고 있는 것이 보고되었다. 따라서 세포골격계의 변화가 동결 융해된 인간난자의 MAP kinase와 관련되어 있는지 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

Method: IVF 환자로부터 수정에 실패한 난자를 회수하여 난자를 두군으로 분류하였다. 1군: 대조군, 2군: 유리화 동결시킨 난자들, 이들중 대조군 (n=10)과 2군에서 생존한 난자들 (n=10)을 MAP kinase 인산화 분석에 이용하였다. MAP kinase 인산화는 western blotting 방법을 사용하여 분석하였다. 동결군의 난자들은 유리화 동결법을 사용하였으며 난자들은 D-PBS에 1.5 M ethylene glycol이 첨가된 항동해제에 2분 30초간 노출시켰으며 그 후 5.5 M ethylene glycol에 1.0 M sucrose가 첨가된 항동해제에 20초간 노출시킨 후 grid에 난자를 부착시켰다. 핀셋을 사용하여 난자가 부착된 grid를 직접 액체질소에 침지시킨 후 분석을 위해 5단계의 sucrose 용액에서 각 단계마다 2분 30초 간격으로 서서히 용해시켰다. 대조군의 난자와 생존한 2군의 난자를 인산화된 MAP kinase 항체를 이용하여 western blotting에 이용하였다.

Results: 두 군의 성숙한 인간 난자들은 인산화된 형태를 나타내었고, 반면에 동결 융해된 난자들은 MAP kinase 인산화된 정도가 대조군에 비해 감소하였다.

Conclusions: 성숙한 인간 난자의 유리화 동결은 방추사의 형태를 변화시키고 MAP kinase의 인산화 정도의 변화를 유도하였다.

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.
과제고유번호: 01-PJ10PG6-01GN13-0002.

O-9 경구용 항산화제 Rebamipide의 생식기관 및 정액내 분포

부산대병원 비뇨기과[1]

신동길 · 박현준[1] · 박남철[1]

Background & Objectives: 정자배양과 동결시 superoxide 생성억제와 hydroxyl radical 소거작용에 의한 항산화작용을 가진 것으로 확인된 프로피온산화합물인 rebamipide의 생식기관내 분포를 관찰하고, 정액내 활성산소증가가 확인된 남성불임 환자를 대상으로 rebamipide 투여 후 정액내 배설농도를 조사하여 남성불임 환자에서 항불임제로서의 유용성을 검토하였다.

Method: Rebamipide의 체내 분포는 생후 6~7주경의 Spraque-Dawley (158~263 gm) 흰쥐 수컷 10마리에 탄소 표식 rebamipide인 14C-OPC-12759를 경구 투여 후 0.5, 1, 2, 4, 8 및 24시간에 채취된 혈장, 간, 신, 위, 십이지장, 소장, 대장, 방광, 정낭, 부고환 및 고환 조직내 농도를, 불임환자 50례에서는 rebamipide 하루 900 mg을 3개월간, 대조군에서는 rebamipide 투여없이 채취된 정액내 농도를 각각 형광 HPLC (high-performance liquid chromatography)법으로 측정하였다.

Results: 흰쥐에서 14C-OPC-12759 체내 농도는 위, 소장, 십이지장 등의 위장관 다음으로 정낭 및 고환의 생식기관에서 높았다. 부고환내 농도는 정낭이나 고환 보다 1/7~1/8 수준으로 낮았지만, 강제 복용 2시간에 혈장농도 보다 높은 최고치에 도달한 뒤 정낭이나 고환과 같이 24시간 후에는 검출되지 않았다. 불임환자의 정액내 rebamipide 농도는 220.77±327.84 ng/mL (SD)으로 높은 편차를 나타내었지만 혈장 126±76 ng/mL (SD) 보다 높았다.

Conclusions: 이상의 결과로 rebamipide는 비교적 높은 생식기관내 흡수배설되는 성향을 나타내었으며, 정액내 활성산소가 증가된 불임남성에서도 정액내에서 혈장보다 높은 rebamipide 농도를 확인하였다. 그러나 정로에서 보다 높은 농도를 유지하기 위한 연구, 개발이 이루어져야 할 것이다.

O-10 Slush 액체 질소를 이용한 유리화 동결이 미세조작술을 통해 얻은 생쥐 배아의 생존율과 발생률에 미치는 영향

차병원 여성의학연구소 불임연구실[1], 한양대학교 생명과학과[2]

차수경 · 이동률[1] · 계명찬[2] · 양윤희[1] · 이우식[1]
조정현[1] · 최동희[1] · 차광렬[1] · 정형민[1]

Background & Objectives: 최근 생식보조술의 발전으로 조작술 (미세정자주입술, 보조 부화술 또한 착상전유전자진단)을 통해 투명대가 절개된 배아의 동결 보존이 요구되고 있다. 한편 포유동물의 난