

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

0-9 경구용 항산화제 Rebamipide의 생식기관 및 정액내 분포

부산대병원 비뇨기과¹

신동길 · 박현준¹ · 박남철¹

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 Sprague-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.

0-10 Slush 액체 질소를 이용한 유리화 동결이 미세조작술을 통해 얻은 생쥐 배아의 생존율과 발생률에 미치는 영향

차병원 여성의학연구소 불임연구실¹, 한양대학교 생명과학과²

차수경 · 이동률¹ · 계명찬² · 양윤희¹ · 이우식¹
조정현¹ · 최동희¹ · 차광렬¹ · 정형민¹

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

자와 배아의 동결에 유리화 동결이 널리 적용되고 있다. 그러나 유리화 동결 과정 중 액체 질소에 노출될 때 액체 질소는 기화하고 이로 인한 가스 방울들로 인해 열전도 효율이 떨어지게 되어, 결국 유리화 동결 후 배아 발달율이 떨어지는 결과를 가져오게 된다. 진공을 통해 음압을 액체 질소에 적용할 경우, 액체 질소는 slush 상태로 전환된다. 이러한 slush형 액체 질소는 기화 작용 없이 -210℃까지 떨어지게 되고, 결국 높은 동결 속도 (분당 -135,000℃)를 가지게 되어 배아의 생존율과 발생에도 영향을 미칠 것이라 예상할 수 있다. 본 연구는 slush 액체 질소를 이용한 유리화 동결법이 투명대를 절개하거나 할구를 제거한 배아의 동결 용해 후 생존율에 미치는 영향을 알아보려고 하는 것이었다.

Method: 과배란시킨 암컷 ICR 생쥐에서 후기 2세포기의 배 아를 수확 한 후 4-세포기까지 체외 배양하였다. 4-세포기 배아는 미세조작기를 이용하여 투명대를 절개하거나 또는 절개 후 할구 1개를 파괴한 후 남겨두거나 제거하였다. 미세조작된 배아를 1.5 M ethylene glycol (EG)이 첨가된 DPBS에 2.5분간 전 처리하였고 5.5 M EG와 1.0 M sucrose가 첨가된 DPBS에 20초간 처리하였다. 배아를 전자현미경 Grid 또는 open pulled straw (OPS)를 이용하여 부착시킨 후 직접 액체 질소에 또는 slush-액체 질소 (Vit-Mater TM, MTG)에 침지하였다. 동결된 배아는 sucrose를 이용한 5단계 방법에 (1.0, 0.5, 0.25, 0.125, PBS) 의하여 용해하여 회수하였고 포배까지 발생률을 관찰하였다.

Results: 용해 후 투명대를 절개하거나 하지 않은 배아를 포배까지 배양하였을 경우, 발달율에 있어 OPS를 사용한 유리화 동결군이 완만 동결법을 이용한 대조군보다 높은 발달율을 보였다. 그러나 유리화 동결군 OPS와 Grid사용한 그룹 사이에 특이적 차이는 없었다. 투명대를 절개한 배아 또는 투명대 절개 후 할구를 제거한 배아를 유리화 동결 후 용해했을 경우, 대조군에 비해 배아의 생존율과 포배형성율은 모두 낮은 경향을 나타냈다. 그러나 유리화 동결 시 slush 액체를 적용했을 경우, 실험군의 생존율과 포배발생율은 증진되어 대조군과 유사한 결과를 나타내었다. 유리화 동결 전에 할구를 파괴한 후 배아를 제거한 경우, 그대로 남겨둔 배아와 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 할구를 파괴한 경우, 포배형성율에 있어 제거한 군이 제거하지 않고 남겨둔 군에 비하여 높게 나타났다. 또한 유리화 동결시 slush 액체 질소 방법을 적용할 경우 할구를 파괴한 배아의 포배형성율이 개선되었다.

Conclusions: Slush 액체 질소를 이용한 유리화 동결은 매우 간편하고 효율적일뿐 아니라 미세조작술로 인해 투명대가 절개된 배아의 동결에서 생존율과 발생율을 증진시켰다. 또한 유리화 동결 전에 할구를 파괴한 배아의 발달율도 개선시켰다. 이상의 결과들로 보아 slush 액체 질소 방법을 이용한 유리화 동결은 착상 전 유전자 진단, 그리고 핵 치환을 통해 재조합 된 배아의 동결에 유용한 방법으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

This work was supported by a grant from the INTERDISCIPLINARY RESEARCH PROGRAM of the KOSEF (1999-2-205-002-5).