

was less than 0.05.

Result: After 24 hrs, the developmental rate into \geq 3-cell was significantly higher ($p < 0.05$) in group I (97.0%) than in group II (88.8%) and III (86.6%). The developmental rate into \geq 8-cell in group I (44.0%) was significantly ($p < 0.05$) higher than in group III (26.8%), however, group I was no significant differences compared with control (32.2%) or group II (31.6%). At 48 hrs, the developmental rate into \geq morula was significantly higher in group I (89.0%) than in control (74.7%) and group III (71.1%). However, in developmental rate into blastocyst, control (14.9%) was shown to the significant differences compare with group III (4.1%). At 72 hrs, the developmental rate into \geq expanded blastocyst was significantly higher in group III (15.5%) than in control (5.7%), and developmental rate in total blastocyst was no significant differences between all experimental groups, but group I (55.0%) was highest, and group II was lowest (42.9%). At 96 hrs, the developmental rate into \geq hatching blastocyst was significantly higher in group II (30.6%) and III (33.0%) than in control (17.2%), but the developmental rate in total blastocyst was no significant differences between all experimental groups involved control.

Conclusions: Development of early preimplantation mouse embryos during 48 hrs in culture was effective in group I, however, development into \geq expanded blastocyst at 72 hrs and into \geq hatching blastocyst at 96 hrs were more effective in group III. These results were likely that it was caused by consumption on glucose and pyruvate of vero cells in culture media. Therefore, energy sources have to be supported in culture media by culture time or cleavage stages not only in conventional culture systems, but also in co-culture systems.

P-41 Insulin, Insulin-like Growth Factor-I과 Tumor Necrosis Factor Alpha 상호작용에 의한 생쥐 초기배아에서 발생과 사멸 조절 및 신호전달

한양대학교 생명과학과, 울산의대 산부인과¹

한현주 · 강병문¹ · 계명찬

Background & Objectives: 당뇨병 모체의 자궁환경은 배아의 발달 저해 및 손상을 유발하며 tumor necrosis factor alpha (TNF- α)는 배아의 손상과 밀접히 관련되어 있다. 수정으로부터 착상까지 초기 배아 발달과정은 배아자체적인 발생 프로그램에 의해 지배되지만 배아 주변의 다양한 peptide 호르몬, 성장인자 및 사이토카인들은 배아 발생 프로그램의 정교한 조절을 담당한다. 특히 당뇨병 모체환경 하에서 배아의 손상 기작을 이해하기 위해서는 이들에 의한 배아 내 신호전달 수준의 조절 기작을 이해하는 것이 중요하다. 본 연구는 insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), TNF- α 에 의한 초기 배아 형태적 발생 및 사멸의 조절기작을 규명하고자 이들 ligand 수용체 하위에서 mitogen activated protein kinase (MAPK) cascade 수준의 신호 교류 및 MAPK 활성의 변화를 조사하였다.

Method: Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), TNF- α 에 의한 초기 배아 형태적 발생 및 사멸의 변화를 확인하고 그 조절기작을 규명하고자 이들 ligand 수용체 하위에서 mitogen activated protein kinase (MAPK) cascade 수준의 신호 교류 및 MAPK 활성의 변화를 조사하였다. 생쥐의 상실패 및 포배

를 대상으로 insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I), TNF- α 이 첨가된 배양액에서 형태발생, 세포증식을 추적하였다. 배아의 사멸은 TUNEL과 caspase-3 활성을 통해 조사하였다. 포배에서 MAPK (ERK1/2)의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 ERK1/2 항체를 이용한 면역침강체에서 myelin basic protein (MBP)의 in vitro phosphorylation의 정도를 scintillation counting하였다.

Results: Insulin과 IGF-I은 상실배의 생존율과 체외발생과 포배의 할구 수를 대조군에 비해 유의하게 증가시킨 반면 TNF- α 는 생존율과 발생율, 할구수를 유의하게 감소시켰다. Insulin과 IGF-I은 TNF- α 에 의한 배아 생존율과 발생율, 할구 수 저해 작용을 억제하였다. 포배의 TUNEL-positive 할구의 비율과 apoptosis의 effector인 caspase-3의 활성은 TNF- α 처리군에서 유의하게 높았으나 insulin 또는 IGF-I을 함께 처리한 경우 TNF- α 비처리군과 유의한 차이를 보이지 않았다. Insulin과 IGF-I은 포배에서 MAPK의 활성을 유의하게 증가시킨 반면 TNF- α 는 처리농도에 의존적으로 MAPK 활성을 감소시켰다. TNF- α 는 농도에 의존적으로 MAPK 활성을 감소시켰으며, TNF- α 를 전처리한 포배에서는 insulin에 의한 MAPK 활성의 증가가 저해되었다.

Conclusions: 이러한 결과로부터 생쥐의 착상 전 초기 배아발생과 사멸조절에 insulin, IGF-I과 TNF- α 사이에 MAPK 활성 수준의 cross talk이 존재함을 확인하였고 insulin과 IGF-I은 TNF- α 에 의한 배아의 손상을 억제하는 것을 확인하였다. 당뇨병 배아손상의 주요원인인 TNF- α 에 의한 배아세포의 사멸기작으로 MAPK cascade 활성의 부조절이 관여하며 insulin 및 IGF-I 처리를 통해 배아손상을 최소화 시킬 수 있을 것으로 사료된다.

P-42 생쥐배아의 체외발달에 대한 3차원 공배양 체계의 연구

미래여성병원, 충남대학교병원 산부인과¹

변흥무 · 김주환¹ · 윤인석 · 홍영수 · 김영범 · 유병대 · 최영배

Background & Objective: 본 연구는 생쥐 2세포기 배아의 체외발달에 3차원 (3-D) 공배양체계가 미치는 효과를 알아보기 위해 시행되었다.

Methods: 생쥐는 4~6주령의 ICR계통을 사용하였으며, 배아의 회수는 난관관류법에 의해 시행하였다. 3-D 공배양은 Cytodex 3에 vero cell을 부착하여 세포증식이 왕성한 시기에 배아를 옮겨 배양을 실시 하였다. 실험군은 Group I (n=76): feeder cell free, Group II (n=94): monolayer, Group III (n=127): 3-Dimension으로 나누었으며, 기본배양액은 10% FBS가 함유된 TCM-199을 사용하였다. 생쥐배아의 체외배양은 30 μ l oil drop에서 hCG주사 후 120 h에 배반포기배 발생율을 관찰하였다. 배양액은 매 24 h마다 100%를 교체하였다.

Result: 배반포율은 각 실험군에서 Group I: 35.5% (27/76), Group II: 46.1% (35/76), Group III: 67.8% (61/90)로 나타났다. Group III는 Group I과 II에 비해 현저 ($p < 0.05$)하게 높은 발달율을 나타내었다. 그러나 Group I과 II사이에는 유의한 차이를 보이지 않았다.

Conclusions: 본 연구에서 3차원 공배양방법은 비교실험한 두가지 배양방법과 비교할때 생쥐배아의 체외발달에 더 효과적인 것으로 사료된다.