

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 최소화시킬 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 h 마다 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.