

that SPRR2a mRNA expression was predominantly up-regulated in luminal epithelial cells of E2-induced uterus using laser capture microdissection (LCM). In this study, we localized the SPRR2a protein by immunohistochemical analysis in OVX mice uterus and during the estrous cycle or early pregnancy period.

Method: Uterine cryosections (thickness, 6 μ m) were mounted on poly-L-lysine coated slides, fixed in 4% paraformaldehyde, and incubated in 0.3% H₂O₂ methanol for 30 min. The sections were then blocked in normal goat serum for 1 h, followed by incubation for overnight 4 °C in humidified chamber with rabbit peptide antibody against SPRR2a. The sections were incubated for 1 h at room temperature in a biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody. The slides were covered with avidin-biotin-complex for 1 h and washed again three times for 5 min in PBS. After oxidation with DAB for 2 min and brief washing in tap water, counterstaining was performed with Mayer's hematoxylin.

Results: Immunohistochemical localization of SPRR2a protein showed that intense immunoreactivity was detected in uterine sections of OVX mice collected after 6 and 12 h following E2 treatment, mice collected from pregnancy day 1, and mice collected from proestrus to estrus stage. In addition, E2-induced immunoreactivity of SPRR2a protein was strongly blocked by pure anti-estrogen ICI 182,780 pretreatment. These localizations of SPRR2a were dominantly restricted to luminal epithelial cells and glandular epithelial cells but no immunoreactivity was present in stromal cells.

Conclusions: SPRR2 family gene are known to serve as precursor proteins for stratified squamous epithelia to construct the cornified cell envelope, a unique protective shield of squamous epithelia that acts against environmental factors such as trauma, wear-and-tear and UV. Another known function of SPRR2 is loss of body water. Interestingly, the SPRR2a protein signal was mainly localized at outer cell apical region in both luminal epithelial cells and glandular epithelial cells at proestrus and estrus stage or on pregnancy day 1. Main uterine morphological aspect of these periods is the swelling of uterus caused by water imbibition and this mechanism is mediated by aquaporin family gene. Therefore, it is possible for SPRR2a gene to regulate the water transport or loss of uterine fluid during the estrus cycle and early pregnancy period. These results may enable better understanding of SPRR2 gene functions underlying the morphological changes of uterus during the estrous cycle and early pregnancy period.

P-32 Cell Cycle에 관여하는 유전자의 난소에서 특이적 발현에 관한 연구

윤세진¹ · 김경화^{1,2} · 이우식^{1,2} · 윤태기¹ · 차광렬^{1,2} · 이경아^{1,2}

차병원 여성의학연구소¹, 포천중문의대 생명과학전문대학원²

Background & Objectives: 본 연구진은 이전의 연구결과 ACP (Annealing Control Primer; Seegene, Inc., Seoul, Korea) System을 이용하여 생쥐의 GV 난자와 MII 난자에서 차이 나게 발현하는 유전자의 목록을 얻은 바 있다 (Yoon 등, 2004). 이들 유전자 중에서 세포주기 및 apoptosis에 관여하는 세 가지 유전자, mMcm2, Gas-6, Diva의 발현양상을 생쥐 난소에서 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

Method: 난자가 아닌 다른 세포에서 세포주기 및 apoptosis에 관여한다고 알려져 있는 mMcm2,

Gas-6, Diva의 단백질 발현의 특징을 immunohistochemistry를 이용하여 생쥐 난소에서 규명하였으며 이들 중 특히 Diva와 apoptosis와의 연관성을 위해 serial tissue section에서 TUNEL 분석을 시행하였다.

Results: mMCM2, Gas-6, Diva 유전자의 단백질 발현을 난소에서 localization하여 분석한 결과 DNA replication에 관여하는 mMCM2는 원시난포에서부터 모든 시기의 난포에서 발현하며 특히 난자의 핵에 특이적으로 발현하였고 Gas-6는 난자의 세포질에 발현하였다. Diva는 원시난포의 난자에서 핵과 세포질에 모두 존재하는데 핵에서 매우 높게 발현하다가 난포발달과 함께 난자가 자라는 동안 난자의 핵에서의 발현이 점점 줄면서 meiotic competence를 가지게 되는 시기가 되면서 핵에서는 존재하지 않고 세포질에서만 발현하였다. 그런데, 조직 중에서 난자의 세포질에 특이적으로 월등히 강하게 Diva가 발현하는 난포가 존재하였는데 혹시 이들이 난포의 atresia와는 관련이 있을까 하여, serial section에서의 Diva immunohistochemistry와 TUNEL 분석을 시행한 결과, 난자 내에 강한 Diva의 발현과 TUNEL positive한 난포는 일치하지 않는 것으로 보아 Diva 발현과 apoptosis와의 직접적인 상관관계는 없다고 사료된다.

Conclusions: 본 연구결과를 요약하면, 1) mMCM2, Gas-6, Diva의 유전자 발현을 난자에서 처음 보고하였으며, 2) 특히 이들 세 가지 유전자의 난소에서의 단백질 발현을 난포발달에 따라 분석한 결과도 최초의 보고이다. 비록 Diva와 난포의 atresia간의 직접적인 상관관계는 없는 것으로 보이나, 각 유전자의 난자 및 난구세포에서의 핵과 세포질에서의 발현이 난포발달에 따라 다르게 나타나므로 그 유형을 분석함으로써 이들이 난포발달과 나아가 난자성숙에 관여하는 조절기전을 연구하는데 기여할 것으로 사료된다.

이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2003-041-E00350).

P-33 인간 자궁내막 세포에서 rFSH와 uFSH에 의한 착상관련 유전자 발현 양상의 변화

최혜원¹ · 이형승¹ · 홍인선³ · 강경선³ · 궁미경² · 전진현¹

삼성제일병원 생식생물학 및 불임연구실¹,
성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 산부인과학교실²,
서울대 수의과대학 공중보건학교실³

Background & Objectives: 인간의 체외수정 및 배아이식술에서 많은 수의 난자를 획득하기 위해 FSH가 함유되어 있는 호르몬제제를 사용하고 있다. 이러한 FSH 제제는 LH 성분을 포함하고 있는 urinary FSH (uFSH)와 생명공학적 방법으로 제조한 recombinant FSH (rFSH)로 구분되어 진다. 과배란 유도에 사용되어지는 호르몬제제에 대한 수용체는 난소뿐만 아니라 자궁에서도 발현되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 과배란 유도가 착상과정에 어떠한 영향을 주는지를 확인하기 위하여, 체외배양 중인 자궁내막세포에 uFSH 또는 rFSH를 처리하고 착상관련 유전자 발현 양상의 변화를 비교하였다.

Method: 자궁내막 기질세포는 자궁적출술을 시행한 가임여성의 자궁조직으로부터 분리하여 배양하였으며, 기질세포의 비율을 확인하기 위하여 vimentin에 대한 면역세포염색을 실시하였다. 일차적으로 체외배양한 자궁내막 기질세포는 uFSH와 rFSH를 각각 0, 10, 100, 1000 mIU/ml 농도로 첨가한 배양액