으나 통계적으로 유의하지 않았다.

Conclusions: 이상의 결과로 동결된 난자의 해동 시 부분적으로 발생하는 할구의 손상된 부분을 제거한 배아의 이식은 임상적으로 유의한 효과를 보이지 않는 것으로 사료된다.

이 연구는 Interdisciplinary Research Program of the KOSEF (1999-2-205-002-5)에서 지원되었다.

P-35 비폐색성 무정자증 환자에서 생식줄기세포의 분리와 증식에 관한 연구

이동률 · 김계성 · 양윤희 · 오화순 · 정미경 · 정형민 · 정태규
김현주 · 조정현 · 윤태기 · 차광열

차병원여성의학연구소, 세포 유전자 치료연구소, 포천 중문의과대학교

Background & Objectives: 정자형성과정은 고환의 세정관내에서 생식줄기세포 (GSCs; type A spermatogonia)의 분열과 분화를 통하여 성숙된 정자를 생산하는 일련의 과정이다. 생식줄기 세포의 체외배양을 통한 증식과 분화는 남성불임의 원인을 찾고 남성생식능력의 생물학적 기초를 제공하는데 매우 효율적인 접근방법이라고 할 수 있다. 본 연구의 목적은 비폐색성 무정자증 환자의 분리된 고환조직의 동정과 증식을 한 생식줄기세포의 배양조건을 확립하는데 있다.

Method: 비폐색성 무정자증 환자 (2명: maturation arrest, 7명 Sertoli cell only syndrome)의 고환조직 분리 후 2회에 걸쳐 enzyme을 처리하여 세정관을 완전히 풀어준다. 분리된 세포들은 gelatin 코팅이 된 dish에 15% fetal bovine serum, 10 μM 2-mercaptoethanol, 1% non-essential amino acids, 4 ng/ml bFGF, 10 μM forskolin, 1,500 U/ml human leukemia inhibitory factor이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에서 2~4주 배양하여, large multi-cellular colonies를 형성시키고 3~5회에 걸쳐 계대배양을 하였다. 이후 large multi-cellular colonies의 일부는 고정하여 alkaline phosphatase activity를 확인하고 integrin β1 and α6에 대한, immunocytochemistry를 실시하였으며, oct-4, integrin β1에 대한 역전사 중합효소반응을 실시하였다.

Results: 2~4주간 배양 후 모든 Maturation arrest (100%) 환자와 4명의 sertoli cell only syndrome (36.3%) 환자에서 large multi-cellular colonies가 형성되었고 계대배양 후에도 성공적으로 증식되었다. 다른 세 명의 sertoli cell only syndrome 환자는 colony-like structures가 형성 되었지만 계대배양 후 사라졌다. 계대배양을 한 후 colonies에서 alkaline phosphatase 활성화 반응과 면역학적 표지인자인 integrin β1과 α6 1의 발현을 보였으며, Oct-4와 integrin β1의 mRNA의 발현이 높게 나타남을 확인할 수 있었다.

Conclusions: 비폐색성 무정자증 환자의 생식줄기세포는 우리의 체외배양조건 하에서 증식, 유지됨을 알 수 있다. 그러므로, 이 체외배양 조건은 germ cell 확인을 위해 유용한 방법이며, 비폐색성 무정자증 환자의 치료를 위한 가능성을 제시할 수 있으리라 생각된다.