

occludin, claudin 등의 integral membrane protein과 ZO-1, JAM 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질 골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성하므로 다양한 조직에서 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 자궁내막은 생식주기와 착상을 위한 준비과정에서 주로 난소 스테로이드의 영향 하에 구조 및 기능적 분화를 진행한다. 자궁내막에 존재하는 상피와 혈관내피세포에서 발현되는 밀착결합은 특히 착상의 준비와 진행에 필요한 환경 조성에 중요한 역할이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 조절은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 생쥐 자궁내막의 분화과정에서 밀착결합 유전자인 claudin 계열의 유전자 3종의 발현과 난소 스테로이드에 의한 유전자의 발현조절을 조사하였다.

Method: 생후 8주령의 성숙한 암컷 생쥐의 발정 주기를 질상피도말법으로 검색하여 주기별로 자궁 조직을 획득하였다. 한편 암컷 생쥐에서 난소를 절제한 후 estrogen과 progesterone을 투여한 후 자궁 조직을 획득하였다. 조사대상 밀착결합 유전자로는 상피에서 주로 발현되는 claudin-1 및 -11, 혈관내피세포에서 발현되는 claudin-5을 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로젠에 의한 영향의 확인을 위해 lactoferrin의 발현을 확인하였다. 유전자발현은 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

Results: Claudin-1 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 이후 점진적으로 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 metestrous stage에는 약간 증가 하였다. Claudin-11 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 proestrous stage에 급격히 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 metestrous stage에는 다시 증가 하였다. Claudin-5 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 이후부터 약간 감소한 상태를 유지하였다. 17 beta estradiol (E2) 또는 progesterone (P4)의 투여한 난소절제 생쥐의 자궁에서 claudin-1, 5, 11의 mRNA 발현이 비투여 대조군보다 감소하였으며 E2 투여 후 P4를 투여한 경우 (E2+P4) E2 단독 처리군보다 발현이 증가하였다.

Conclusions: 생쥐의 자궁에서 claudin-1, -5, -11 발현은 자궁 내막상피와 혈관내피 세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽의 형성과 기능발휘에 중요한 요인으로 사료된다. 황체기 (분비기) 및 난소절제 E2+P4 처리군에서 claudins 발현이 증가하며, 난포기 (증식기) 및 난소절제 E2 처리군에서는 claudins 발현이 감소하므로 progesterone에 의한 자궁내막의 분화에 따라 상피조직 및 혈관내피 세포 간 확산장벽이 증가하는 것으로 사료된다.

P-45 Altered Expression of Beta-catenin in Testes of Male Infertile Patients

이재호¹ · 이성은¹ · 이주희¹ · 정운진¹ · 이용복² · 이승재²

MDplus 생명과학연구소¹, 미래와희망산부인과²

Background & Objectives: 정자생성은 정모세포와 주변세포간의 상호작용 의해 이루어지고 이를 위해 정모세포와 주변세포들은 세포간 물질에 의해 결합되어 있는 것으로 알려져 있다. 이런 세포간 결합물질로서 정소의 sertoli cell간에 혹은 Sertoli cell과 germ cell간의 adherens junction (AJs)에는 cadherin/catenin complex가 존재한다. beta-catenin은 intercellular adhesion과 signal transduction에 관여하며 sertoli cell 혹은 sertoli cell과 germ cell 간에 나타나는 AJs 부분에서 발현한다. 하지만 현재까지 인간 정소내 beta-catenin 발현에 관하여 아직 알려진 바가 없다. 이에 본 저자들은 인간의 정자생성과정에 문제가

있는 불임환자를 대상으로 beta-catenin의 발현의 변화 있는지 알아보고 beta-catenin의 발현과 불임의 연관성을 연구해 보고자 한다.

Method: 본원에 남성불임의 소견으로 내원한 환자 중 무정자증인 환자의 정소조직검사를 위해 생검한 조직을 사용하였다. 정소조직은 bouin's 용액으로 고정하여 일반조직검사를 실시하였고, 나머지는 액체질소에 보관한 뒤 차후 beta-catenin 발현을 분석하였다. 고정된 정소조직은 H/E staining를 통해 조직의 상태를 진단하였다. 환자군은 정상적인 정자형성과정이 이뤄지는 normal군과 정자형성중지된 arrest군, 그리고 Sertoli cell-only syndrome인 SCO군으로 나누었다. 각기 분류된 조직에 면역조직염색 방법을 통하여 beta-catenin의 발현위치를 확인하였다. 아울러 각 군별 조직에서 beta-catenin의 단백질 발현을 정량적으로 분석하기 위해 western blot를 시행하였다.

Results: 정상조직의 경우에 beta-catenin의 발현은 inter-Sertoli와 Sertoli-germ cell (primarily spermatocytes)가 접한 부위에서 발현되고 정자생성이 완성단계에 이르면 정세포 내부에서 주로 발현된다. beta-catenin의 정량적인 발현을 분석한 western blotting 결과 normal군 조직에서 가장 많이 발현되었고 arrest군이 그 다음으로 적게 발현되었고 SCO군의 경우에 거의 발현되지 않았다.

Conclusions: beta-catenin에 대한 일반적인 기전은 세포간의 연결물질과 외부의 분화자극 신호를 세포내의 전달하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구결과에서는 정소조직에서 감수분열단계의 정모세포와 Sertoli cell 경계면에서 많이 발현되었고 성숙된 정세포의 경우 내부에서 나타났다. 이것으로 보아 beta-catenin은 감수분열시기의 정모세포와 sertoli cell간의 결합과 정세포의 분열 및 분화에 관여하는 것으로 추정된다. 이후에는 정세포의 내부에서 주로 발견되는 것으로 보아 외부신호를 전달하거나 세포내부의 대사와 연관되어 있는 것으로 추정된다. 그리고 정상군에 비해 arrest군과 SCO군에서 그 발현이 현저히 감소함을 볼 때 beta-catenin이 정모세포, 정세포와 주변 체세포간의 상호작용과 세포내의 신호전달 기전들이 인간의 정소내에서 정자세포 분열 및 성장에 중요한 역할을 하는 것으로 추정할 수 있을 것이다.

P-46 Vitriification of Human Oocytes at Various Stage of Maturation

이주희¹ · 정윤진¹ · 이성은¹ · 이재호¹ · 최근원¹ · 최윤경² · 이용복² · 이승재²

MDplus 생명과학연구소¹, 미래와희망산부인과²

Background & Objectives: 잉여배아의 동결보존은 이식배아수를 줄여 다태임신을 예방하고, 이식횟수를 늘려 누적임신율을 향상시키는 장점을 가지고 있으나, 환자가 원하는 아기를 얻은 후 잉여의 동결배아 처리는 윤리적 문제를 내포한다. 한편 난자의 동결은 이러한 윤리적 문제를 해결해 주고, 필요로 하는 환자에 난자를 공여해 줄 수 있는 중요한 대안이다. 난자의 동결은 완만동결 혹은 초자화 동결방법을 적용하는, 전핵시기 수정란의 동결보존에 준하는 방법으로 행하여 왔다. 보다 근본적 동결방법에 대한 연구가 필요한 상황에서 본 연구는 초자화 동결이 성숙시기가 다른 난자의 동결보존 후 생존, 성숙, 수정 및 초기 배 발달에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보고자 행하였다.

Method: 본 실험에 사용된 난자는 본원에서 IVF-ET 기술을 받은 환자 중 난자의 수가 30개 이상인 환자를 대상으로 하였다. 배란유도는 모두 FSH/ hMG와 GnRH antagonist를 사용하였고, 난자채취