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 정자형성중지 된 arrest군, 그리고 Sertoli cell-only syndrome인 SCO군으로 나누었다. 각기 분류된 조직에 면역조직염색방법을 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 이루면 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 Vitrification of Human Oocytes at Various Stage of Maturation

이주희[1] · 정윤진[1] · 이성은[1] · 이재호[1] · 최균완[1] · 최윤경[2] · 이용복[2] · 이승재[2]

MDplus 생명과학연구소[1], 미래와희망산부인과[2]

Background & Objectives: 잉여배아의 동결보존은 이식배아수를 줄여 다태임신을 예방하고, 이식횟수를 늘여 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 시술을 받은 환자 중 난자의 수가 30개 이상인 환자를 대상으로 하였다. 배란유도는 모두 FSH/ hMG와 GnRH antagonist를 사용하였고, 난자채취

및 배양은 일반적 방법을 사용하였다. 난자채취 4~5시간 후 ICSI를 위하여 난구세포를 효소처리에 의해 제거하였고, MII 난자는 6~8시간 내에 ICSI를 하였고, 일부의 MII난자와 MI 및 GV를 초자화 동결방법에 의해 동결한 후 2~20시간 후에 해빙하였다. 초자화 동결은 15% dimethyl sulfoxide (DMSO) + 15% ethylene glycol (EG) + 0.5 M sucrose 동결액과 본원에서 고안한 modified straw를 이용하였다. 해빙은 1 M sucrose에서 1분, 0.5 M sucrose에서 3분, washing media에서 5분간 두 번 세척하였다. 동결-해빙 4시간 후 생존한 난자는 MII는 ICSI를 시행하고, MI과 GV 난자는 해빙 후 18~24시간 성숙배양 후 성숙한 난자는 ICSI를 시행하였다. ICSI 후 다음 날 수정확인하고, 이 후 24시간 배양한 후 초기 배발달을 관찰하였다. 난자채취, 배양 및 ICSI에 사용한 배양액은 모두 Quinn's Advantage Media (SAGE In Vitro Fertilization Inc)를 사용하였다.

Results: 1. 해빙 후 투명한 세포질과 분명한 세포막을 가진 난자를 생존 난자로 판정하였다. 생존율은 MII난자 90.9%, MI난자 100%, GV난자 89.5%로 세군에서 유의한 차이가 없었다. 2. MI과 GV난자의 해빙 후 성숙은 MI난자는 66.7%, GV난자는 23.5%였고, 동결하지 않고 배양한 대조군과 유의한 차이가 없었다. 3. 해빙 후 ICSI에 의한 수정율은 MII 77.8%, MI 83.3%, GV 50.0%로 GV난자에서 수정률이 감소했으며, 대조군과 유사한 결과를 얻었다. 4. 수정 후 초기배아 발생은 MII 85.7%, MI 60.0%, GV 50.0%로 난자의 성숙도에 따라 수정란의 발달율이 감소하였으며, 이는 대조군과 차이가 없었다.

Conclusions: 이상의 결과로부터 성숙 시기가 다른 난자에 있어 초자화 동결보존 후 생존, 성숙, 수정 및 배아 발달은 동결하지 않은 난자와 차이가 없는 것으로 보아 초자화 동결보존이 난자 세포질 등 난자의 질에 미치는 영향은 미미한 것으로 생각된다. 한편, 성숙 정도가 낮은 MI, GV난자의 해빙 후 발생율의 차이는 핵 성숙과 동반되는 세포질 성숙이 체내 성숙보다 체외 배양에서 떨어진 결과로 생각된다. 따라서 본 실험에서 사용한 동결액과 자체 고안된 modified straw system은 모든 성숙 시기의 난자의 초자화 동결에 적합한 것으로 사료된다.