

function, suggesting that GnRH secretion is appropriately and coordinately regulated (i.e., in a pulsatile fashion). To our knowledge, this is the first example of the correct targeting of a gene with its cognate promoter to neurons with resulting selective expression to direct synthesis of immunologically and biologically active peptide.

O-4 Roles of ADAM-8, 9, 10, 12, 15, 17 and ADAMTS-1 Genes in Mouse Uterus During Periimplantation Period

Kim J¹, Kim J¹, Kim H¹, Lee SJ², Kang SK³, Kim SK⁴, Cho DJ⁴

¹Department of Biotechnology, College of Natural Sciences, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea, ²Mirae & Heemang OB/GYN Clinic, Seoul 135-120, Korea, ³School of Biotechnology and Biomedical Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea, ⁴Department of OB/GYN, College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-752, Korea

Background & Objectives: ADAMs are a unique family of protein members consisting of a prodomain, metalloprotease, disintegrin-like and cysteine-rich domains, and, in most cases, epidermal growth factor-like, transmembrane, and cytoplasmic domain. The presence of a disintegrin domain implies their possible role in cell-cell and cell-matrix interactions, and the presence of a metalloprotease domain suggests their involvement in the proteolytic processing of the extracellular domain of transmembrane proteins and matrices. The role of ADAMs in tissue remodeling of mammalian uterus particularly around the time of implantation is poorly understood. In the present study, whether genes of ADAM-8, -9, -10, -12, -15, -17 and ADAMTS-1 might play a role during early pregnancy in mouse uterus has been investigated.

Method: Gene and protein expression of ADAMs were examined in mouse uterus during periimplantation period by RT-PCR, immunoblotting and immunohistochemistry techniques. To determine the potential role of ADAMs at the time of implantation of mice, effects of intrauterine antibody injection experiments were performed in vivo.

Results: RT-PCR analyses showed that mRNA expression of ADAM-8, -12 and -15 genes decreased from day 1 to day 5 of pregnancy while the expression of other ADAM genes did not undergo significant change during the same period. From day 6 to day 8 of pregnancy period, the mRNA level of all ADAM genes in uterine tissues was significantly higher at the implantation site than that at the interimplantation site. Western blot analyses demonstrated that proteins of all ADAM genes consistently appeared throughout day 1 to day 8 but with a distinct variation depending on the species of ADAM genes, the progression of pregnancy and the site of the uterus. Immunohistochemical analyses indicated that ADAM proteins were mostly localized in the luminal and/or glandular epithelial layers with a varying degree of intensity depending on the species of ADAM and the progression of pregnancy. The results also showed that ADAM proteins, particularly ADAM-8, -12 and -15, were predominantly located in the implantation site of the uterine tissues whereas little protein was observed in the interimplantation site. Finally, injection of anti-ADAM antibodies resulted in a significantly reduced number of embryonic implants when any antibody was injected into the

uterine horn of pregnant mice. Particularly, antibody against ADAM-8, -12 or -15 resulted in 29%, 38% or 26% of implantation rate compared to the control, respectively.

Conclusions: By using RT-PCR, immunoblotting and immunohistochemistry techniques, we have observed that these selected ADAM genes are involved in the remodeling events of the mouse uterus around the time of implantation. Results of the antibody injection experiments support our ideas that these ADAMs might play an important role in the remodeling of mouse uterine tissues during the periimplantation period.

0-5 시험관아기시술 시 배아의 세포질 파편제거술 (배아성형술)을 이용한 배아의 발달능력 및 임신율 향상

지희준 · 구정진 · 김강식 · 이주옥 · 이혜연 · 장상식

한나여성의원

Background & Objectives: 본 연구는 시험관아기시술 시 배아 세포질의 파편화 현상으로 이식하는 배아의 등급이 낮아 임신성공 가능성이 낮은 환자들의 임신성공율을 향상시키기 위하여 세포질 파편을 완전하게 제거할 수 있는 새로운 기술을 개발하고 이를 임상에 적용하여 그 효과를 확인하고자 하였다.

Method: 본 연구는 2004년 1월부터 10월까지 세포질 파편제거술을 수행한 임상자료를 종합하여 분석한 결과이다. 실험군은 파편화 현상으로 전체적인 배아의 등급이 낮아 이식할 모든 배아에게 파편제거술을 시술한 환자 24명을 대상으로 한 시험관아기시술 25예이며, 대조군은 파편제거술을 시행하지 않은 환자들 중에서 유사한 배아등급을 나타낸 28명의 환자를 무작위로 선발하여 이들을 대상으로 한 시험관아기시술 28예를 대조군으로 하였다. 파편제거술은 주로 난자 채취 후 3일째 수행하였으며 정상적인 할구의 손상을 최소화하기 위하여 Ca^{++} , Mg^{++} Free PBS내에서 수행하였다. 한편 이식 후 남은 일부 배아는 파편제거 후 체외에서 추가배양을 통해 파편제거술이 이들 배아의 발달에 미치는 영향을 조사하였다.

Results: 파편제거술을 통해 실험군 배아의 전체적인 평균등급이 2.64 ± 0.67 등급에서 파편 제거 후 1.57 ± 0.60 등급 ($p < 0.01$)으로 유의하게 향상되는 효과를 확인하였다. 세포질 파편을 제거한 후 배아를 이식한 실험군의 임신율 (32.0%)과 착상율 (13.2%)이 파편제거술을 하지않고 이식한 대조군의 임신율 (21.4%)과 착상율 (6.3%)에 비해 향상되는 효과를 나타냈다. 한편 파편제거 후 이식하고 남은 19개의 배아를 체외배양 시 10개 (52.6%)의 배아가 포배강을 형성하였고 이들 중 4개 (21.0%)의 배아가 정상적인 포배기단계로 발달하였다.

Conclusions: 본원에서 새로이 개발한 배아의 파편제거술은 배아의 외형적 성형은 물론 이들 배아의 발달능력을 향상시킴으로써 등급이 낮은 배아의 이식으로 높은 임신성공율을 기대할 수 없었던 환자들에게 보다 높은 임신가능성을 제공할 수 있게 되었다.