

# Hyaluronidase의 作用과 受精

## 幾能에 미치는 影響

서울大學校 獸醫科大學 講師

獸醫學博士 金 善 煥

國內 獸醫學界는 勿論 醫學界에서도 Hyaluronidase 에 關한 研究가 尙히 行해 되지 않거나 不振한 狀態라 고 해서 過言이 아닐만큼 周知되어 있지 않는 것이 事實이다. 勿論 Hyaluronidase에 關한 研究는 1928年 舉丸에서 抽出된 物質中에 生體組織을 透過시키는 酵素가 있다고 發表한 Duran-reynals의 研究를 始初로 하고 있기때문에 아직 近來에 屬하는 研究分野라고 하겠다. Duran-reynals는 이物質을 擴散原 또는 擴散因子(Spreading agent or spreading factor)라고 命名 하였다.

그러나 Hyaluronidase라고 命名한것은 Duran-reynals가 아니라 1936年 Meyer가 命名한 것으로써 그는 Pneumococcus group(肺炎菌)에서 Hyaluronic acid를 分解하는 物質을 發見하여 이 物質을 Hyaluronidase라고 命名한 것이다. 이보다 6年앞서서 Pincus (1930)는 精液속에 分明히 卵子の 濾胞細胞를 擴散시키는 作用이 있는데 이 物質이 Duran-reynals가 舉丸抽出液中的 物質과 類似한 것으로 發表하였으며 Yamane(1930)도 Pincus와 같은 研究發表를 하였다. 그는 특히 濾胞細胞의 分散作用을 主張하였다.

이러한 學者間의 研究로써 精液中에는 生體를 透過하는 擴散原이나 擴散因子와 濾胞細胞의 分散作用을 營爲하는 物質이있는데 이것을 Hyaluronidase라고 認定하게 되었다.

Hyaluronidase는 一種의 酵素라고 하는데 亦是 酵素(Enzyme)라고만 斷定할수는 없는것 같다. 왜냐하면 Hyaluronidase가 舉丸에서 抽出된것과 細菌이나 蛇毒이나 寄生虫等에서 抽出된 Hyaluronidase의 各性狀이 相異하기 때문이다. Hyaluronidase는 舉丸中에서나 精液 特別히 精子頭部에서 抽出되고 病原菌에서는 Pneumococcus group와 Cl. perfringens, streptococcus bovis 腫瘍組織中에서도 發見되고 Levine(1948)의 報告에 의하면 寄生虫中에서도 Manson氏住血吸虫(Schisto-soma mansoni)의 仔虫이 亦是 Hyalur-

onidase를 分泌하고 있다는 事實로서 病原性 寄生虫에도 含有되고 있다고 본다. 其外 蛇毒中이나 蜂毒中에서도 發見되며 蛙頭部나 動物體를 穿孔吸血하는 昆蟲類의 穿孔器中에도 含有되어 있는것이 事實이다. 卽 Hyaluronidase는 生體組織을 侵攻하는 微生物이나 病毒 細菌의 武器라고 해서 過言이 아닌데 이와같은 生化學的作用을 Hyaluronidase의 作用이라고 한다. 卽 Hyaluronidase는 生體의 結合 組織이나 支持組織의 細胞間을 메우고 있는 粘液樣(Mucoid)物質의 主成分인 Hyaluronic acid를 分解하여 病菌이나 毒物等の 侵攻을 補助하는 唯一한 浸透手段의 武器라고 보던 된다.

Hyaluronic acid를 命名한것은 Meyer(1934)인데 그는 牛의 眼球硝子體에서 Hyaluronic acid를 分離하였는데 이 物質을 粘質多糖體라고 하였으며 이 多糖體는 glucuronic acid와 N-acetyl-glucosamine가 glucuronide結合으로써 二糖體를 이루고 이것이 糖原質(glucoside)結合으로 重複合體된 것이 Hyaluronic acid라고 하였다. 그는 前述한바와 같이 이와 같은 Hyaluronic acid의 糖原質結合을 加水分解하는 酵素를 Hyaluronidase라고 命名하였으며 其後 長足の 研究發展으로써 現今에는 繁殖領域은 勿論 細菌學 病理學에서도 生體組織의 透過作用의 利用等으로써 精子의 受精現象이나 臨床治療分野에서도 尿管石(Calculus Urinarius)의 豫防을 中心하여 關節炎의 病因研究等 多方面으로 應用되고 있다.

### Hyaluronidase의 生産과 量;

本稿는 受精機能과 關聯하여 記述하기로 하였음으로 病菌이나 蛇, 蜂毒物이나 寄生虫等에서 生産되는 Hyaluronidase에 關해서는 言及하지 않고 生産器中에서 生産되는 Hyaluronidase만을 略述하기로 한다.

現今까지의 研究結果로써 人體나 高等動物에 있어서는 舉丸組織外에는 Hyaluronidase가 生産되었다든가 또는 生體組織의 어떤 一部分에서 同物質을 抽出하였

다는 報告는 없으므로 哺乳動物中에서 云々되는 Hyaluronidase는 睪丸組織內에서 生産되는 것을 意味한다, 勿論 哺乳動物中에서도 그 生産量은 相異한데 兎가 最多量이고 牛羊의 順이며 豚馬는 牛羊에 比해 半量程度이며 特히 家禽類에서는 生産되지 않는다고 Yasda (1952) 등은 報告하고 있다.

Leonard & Perlman & Kurzrock (1948)과 Risfeldt (1949) 등의 報告에 의하면 睪丸組織에서 生産되는 Hyaluronidase는 造精過程의 末期 卽 精液細胞(Spermatid)가 精子形成(Spermiogenesis)을 하는 時期에 精細管中에서 微量이 生産되며 精子로써 精造過程이 끝날 무렵에는 增量되는 것이라 한다. 이와 같이 造精過程과 함께 生産된 Hyaluronidase는 Semen中에 多量 含有되어 있는 것으로 學者間에 共認되어 있으며 Hyaluronidase量과 精子數는 E比例하는데 實例로서는 小量精자를 含有하는 Semen中에는 Hyaluronidase量이 減少되어 있고 無精子Semen中에는 Hyaluronidase가 含有되지 않는다는데 實相 Hyaluronidase가 Semen中에 있느냐 혹은 精子頭部에 含有되어 있느냐 하는 質問에는 아직 明確한 說明이 報告되어 있지 않다. 그러나 精子頭에 含有되어 있다는 主張은 筆者의 持論인데 그것은 精子數와 Hyaluronidase量이 比例에도 基因하지만 Dallam & Thomas (1953) 등의 報告에서와 같이 精子頭部는 DNA蛋白質으로 되어 있으며 이 Albumen部分은 Histon(Protein, protamin, propepton)의 中間인 鹽基性蛋白質樣의 鹽基性蛋白質으로 組織되어 있고 Wislocki(1949)는 이것이 glycogen이 아니라 Mucopolysaccharide(粘液多糖體)라고 하였다. 그리고 Hancock(1952)가 報告한대로 精子頭部의 前半을 둘러싼 膜은 Acrosome인데 이것이 受精時의 穿孔器라고 認定되듯이 Acrosome은 Hyaluronidase의 含有量이 絕對적으로 크다는 것이 筆者의 所見이다. 그리고 精子가 死滅하면 Galea capitis(頭巾)을 精子頭半部에 形成하는데 이것은 Acrosome이 Hyaluronidase의 消失로써 膨脹된 部分이라고 보는데 勿論 Hancock의 報告와는 多少 意見에 差位가 있다. 그리고 精液中에 含有되어 있는 Hyaluronidase(略語 H-dase)는 精子頭部에서 分離된 것이 分明하며 長期保存이나 凍結의 反復이나 혹은 高溫下에 뒤서 精子의 狂化運動의 反復과 凍結로 부터의 反復融解에 의해서 精子로 부터 H-dase는 精液中에 遊離되기도 하기때문에 實相 H-dase는 精子頭部에 生産含有되어 있는 것이지 精液內 生産含有되어 있는 것은 아니다. 왜냐 하면 精液內에 H-dase劑를 添加해서 受胎率을 向上시켜 보려던

Chang & Rowland(1944. 47)의 試圖는 別無效果로써 實相 精液內의 H-dase有無는 何等의 意義 없는 것이다. 그럼으로 H-dase는 精子頭部에 存在함으로써만 受精過程에 意義와 作用을 갖는 것이며 精液內의 H-dase는 頭管精液을 溶解하는데 어느 程度의 効果가 있는 酵素作用을 認定하고 있는데 Miller & Kurzrock (1932)의 精液中の 頭管精液溶解酵素說에도 類似한 意見を 보여 주고 있다.

#### H-dase의 擴散作用;

Tsiper의 報告에 의하면 Rat에 있어서 H-dase量 實驗結果는 受精後 子宮腔內에서 約 15分間은 全無하고 4-5時間에 達해야 漸次增加하게 되어 約 30時間後에는 消失된다고 한다. 卽 精子가 上昇하여 卵管膨大部까지 到達하는 時間은 5時間程度로 認定한다면 生理的인 現象으로써 精子는 H-dase量의 絶大량을 갖게 되어 Capacitation을 所有하게 되어 卵子周圍에 群集하여 卵子의 濾胞細胞를 擴散하기 始作하는 것이다. 그리고 精子는 H-dase가 消失되는 時間 卽 30時間程度의 Capacitation을 갖고 있음으로 卵管膨大部에서 時間限度內까지 卵子가 排卵되어 下降하는 것을 待機하고 있을수도 있는 것이다. 그럼으로 精子의 年齡5分을 人工受精講座 生殖受精生理欄에서 言及한바와 같이 射精된 精子가 幼年時代라고 하면 腔에서 子宮頸을 通過하여 子宮體까지 進入할때는 少年時代라고 하겠고 子宮體에서 보다 成長을 營爲하면서 卵管으로 上走하는데 이때는 벌써 春花期이며 卵管膨大部까지 到達할때는 青年期라고 한다. 그때 이미 排卵된 卵子가 待機하고 있으면 上走到達한 精子는 H-dase의 絶大量이라는 青年期를 利用하여 卵子를 攻撃하기 始作하는 것이다. 勿論 그 當時 卵子가 排卵되어 있지 않으면 卵管膨大部에서 待機하는데 H-dase의 壽命이라고 할수 있는 30時間程度는 Capacitation을 維持하는데 이때까지를 壯年期라고 하며 H-dase量이 消失되려는 精子는 곧 老衰期로 들어가서 곧 死滅하며 吸收되는 것으로 生覺된다. Tsiper는 H-dase의 代謝作用을 報告하고 있는데 아직 首肯할만한 實驗이 없으며 特히 實驗小動物를 除外한 牛같은 大動物에 있어서의 H-dase代謝作用에 關係서는 不分明한 點이 許多하기때문에 糾明해야 할 分野라고 본다. 그리고 精子가 卵管膨大部에서 上走運動을 中止하는 理由와 卵巢에서 卵管膨大部까지의 部分이 어떻게 作用에 의해 卵子만 下降시키고 精子의 上走를 防止하는 것인지 分明한 生化學的 論據는 아직 없으며 受精場所가 卵管膨大部인 만큼 그곳에서 精子는 上走運動을 停止하고 待機한다는 그들의

生理라고만 認定하기에는 學問을 위해서 無責任한 決斷인것 같다. 如何든 H-dase와 上走運動과는 相當한 關係가 있다고 보는데 Hyaluronic acid의 主成分인 粘質多糖體로 된 Cervix mucos의 通過性이나 其他 上走運動에 있어서의 妨害物質을 H-dase의 擴散作用과 透過作用으로 上走運動을 補助하는 것이라고 보며 卵管膨大部上位에 上走運動을 繼續하지 못하는 것은 H-dase 抑制物質(hyaluronidaseinhibitor; 略語H.I)이 存在하여 上走運動을 制止하는 것이 아닌가 生覺된다. 勿論 卵管膨大部에서 卵巢까지의 分泌液이 H-dase 抑制物質인 Heparin(Antiprothrombin)이다 Hyaluronic acid 誘導體 또는 Hemoglobin 誘導體 또는 Steroid hormone 誘導體, Vitamin E, DOCA(Desoxycorticosterone acid) Hexylresorcinol, diamylphenol等等的의 中 어떤것인지에 關한 報告는 없으며 또한 研究되지 않았는데 筆者의 所見으로는 Steroid hormone 誘導體의 存在로 精子의 卵管膨大部에서 卵巢까지의 上走運動은 停止되고 있지 않나 生覺된다. 現在 이와같이 H-dase의 抑制物質을 應用하며 人體의 避妊分野에서 相當히 論議되고 있으며 筆者等도 이分野에 注力을 하고 있으나 아직 報告할만한 成績을 내지 못하고 있다. 勿論 H-dase 抑制物質로 된 避妊藥이 Martine & Sieve에 의해 製劑되어 있으나 効力에 있어서 아직 認定되어 있지 않으며 Chang等은 反對의 報告를 하고 있는 形便임으로 H-dase 抑制物質의 應用面은 未開拓分野에 屬한다고 보겠다.

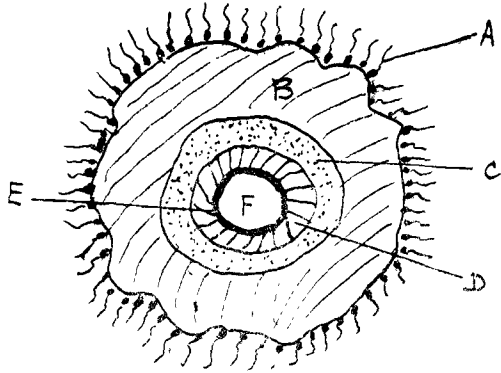
H-dase의 擴散作用은 Pincus를 爲始하여 Yamane, Meyer等을 거쳐서 McClean & Rowlands(1942)에 의해서 理論的인 體系를 갖추었는데 McClean等은 濾胞細胞分散作用을 다음과 같이 說明하고 있다. 即 受精時는 卵子周圍에 相當히 多數의 精子가 必要로 하는데 그 理由는 個個의 精子가 갖고 있는 H-dase의 作用에 의하여 濾胞細胞를 分散시키, 受精을 成功시킨다는 것이며 生殖器疾病에 의하지 않는 不妊症은 精子의 H-dase量의 缺乏이거나 不足에 基因한다고 한다.

그러나 Austin(1948)이나 Leonard & Perlman & Ruzrok(1947)等에 의해서 McClean의 濾胞細胞 擴散作用을 否定하는 報告를 하였는데 即 Rat나 Mouse 猫같은 小動物의 受精現象을 觀察한 結果 濾胞細胞의 分散作用前에 이미 受精되었다는 說을 發表하고있으며 其後 이와 같은 反對論은 學者들에 의해서 首肯되지 못하였다.

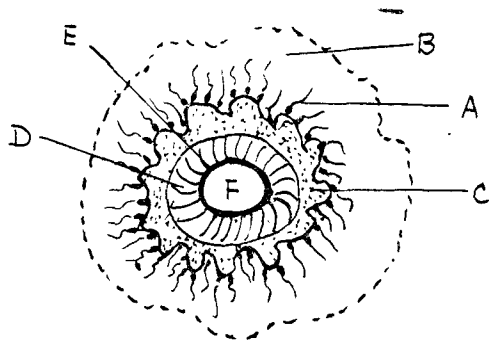
Duryee(1954)의 報告를 Katow等이 引用한 것을 보면 濾胞細胞에서 分化된 Corona radiata (Zonagran-

ulosa)의 數는 3000個가 人體卵子에 있는 것으로 引證하였는데 Corona radiata의 數는 榮養과 身體의 條件에 따라서 相異하다는 것이다. 그럼으로 Duryee의 報告에서와 같이 一個卵子의 周圍에는 3000個의 濾胞細胞에서 分化된 Zonagranulosa가 있는데 이것을 擴散시키는데 必要한 精子數를 筆者는 1個 Zonagranulosa에 最少限 100~500이 必要한 것으로 推測하고 있다.

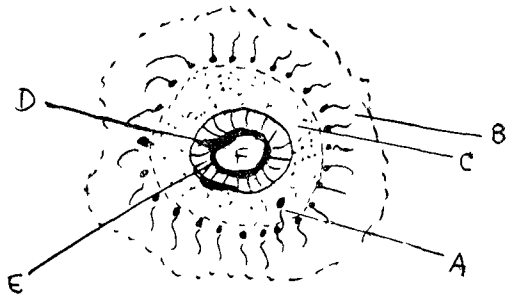
H-dase의 濾胞細胞 擴散作用을 圖示하면 第 1, 2, 3圖와 如하다.



第 1圖;



第 2圖;



第 3圖;

- A. 精子(Spermatozoa)
- B. 放線冠(Corona radiata zonagranulosa)
- C. 透明帶(Zona pellucida)
- D. 放線帶(Zona radiata)
- E. 卵黃膜(Vitelline membrane)
- F. 卵核(Ovum)

第1圖에서는 數多한 Spermatozoa가 Zonagranulosa (Corona radiata)周圍에 群集하여 Zonagranulosa를 擴散시키는 模圖이며 第2圖에서는 殆半의 Zonagr-anulosa를 分散시키고 Zona pellucida周圍에 群集하고 있는 模圖이며 第3圖는 其中 1個 Spermatozoa가 Zona pellucida를 貫通하여 Zona radiata와 Vitellin<sup>c</sup> membrane를 向해 進入하려는 模圖이다. 그러나 牛, 馬, 綿羊, 豚等은 Corona radiata가 排卵후 곧 消失하기 때문에 各動物이나 人體와 其他 生物間에 있어서 多少의 分散作用에 의한 方法에 差位가 있다는 것은 事實이다. 故로 實相 H-dase의 分散作用을 否定하는 學者들도 있으나 이와 같은 受精作用을 反對할만 한 明確한 實驗成績이 아직 報告되지는 못 하였다.

H-dase製劑로는 Wydase와 Alidase splase等이 있는데 皮下注入(hypodermoclysis)이나 局部麻酔時 또는 無痛注射 및 泌尿器寫眞(Urography)에도 應用되며 頸管粘液의 精子容力增進 및 受精率向上을 위해 精液中에나 頸管內에 注入되기도 하는데 用量은 4,000~60,000單位까지 使用되고 있다.

Hahn(1945) 60,000 molecular weight를 推薦하고 있으며 Janloz & Dorchialli(1950)은 200,000~500,000 molecular weight를 使用하고 있다. Tronnberge(1954)는 筋注時 無痛效果로써 Heparin(Antiprothrombin, 抗纖維酵素) 150mg에 0.1mg의 H-dase를 添加하여 使用하고 있다. 其外 Marks(1954) Levag(1950) Schwartzman(1950)等 H-dase劑의 使用效果를 報告하고 있다.

#### 結 論

H-dase의 作用이 生體에 미치는 影響에 關하여 現在까지 明確하게 認定된 것은 生體의 組織體를 侵透 貫通하는데 有力한 因子라는 것인데 受精領域에 있어서는 精子가 卵子內에 侵透貫通하는 所謂 滲胞細胞의 擴散作用을 精子가 所有하는 H-dase作用으로 認定하는 것이다. 勿論 이와 같은 H-dase作用이 受精時에

미치는 分明한 實驗成績이 觀察追試되어 報告되기도 하며 또한 學者間에는 肯定하지 않는 部分도 있기때문에 本欄이 主張하듯이 學界의 公認을 받기에는 相當한 實驗과 觀察이 必要한것으로 生覺되지만 다만 同僚들의 參考에 寄與된다는 多幸으로 여기는 바이다.

#### 文 獻

1. Austin, C.R.(1948): Nature, 162, 63
2. Chang, M.C.(1947): Ibid., 66, 51
3. Dallam, R.D., & Thomas, L.E., (1953): Biochemical et Biophysica Acta, 11, 79
4. Dura-Reynals, F.,(1928): Compt. Rend.Soc., Biology., 99, 6
5. Hahn(1945): Pharmacologie principles of medica practice, pp. 1247
6. Hancock, i.L(1952): Jour. Exp. Biol., 29, 445
7. Leonard, S., Perlman, P., & Kurzrok, R., (1947): Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 66, 517
8. Levine, M., Kuntz, R., & Killough, J. (1948) Jour. Parasitology. 34, 158
9. Mc Clean, D., & Rowlands, I.(1942): Nature, 150: 627
10. Meyer K., & Smith, E.(1936): Proc. Soc. Exp. Biol., 34, 816
11. Meyer, K.& Palmer, J.(1934): Jour. Chem., 107, 629
12. Miller, E.G., & Kurzrok, R. (1932): Am. Jour. Obst. & Gynec. 24, 19
13. Pincus, G.(1930): Proc. Roy. Soc. Biol., 107, 132
14. Risfeldt, O.(1949): Nature, 163, 874
15. Rowlands, I.w.(1944): idid., 154, 332
16. Tronnberg(1954): Pharmacologic principles of Medica practice pp. 1248
17. Tsiper, S.M.(1953): Dokla. Akap. SSSR., 91, 351 by Isykawa
18. Wislock, G.B.(1949): Endocrinol., 44, 167
19. Yamane(1930): Cytologia., I. 394