

생쥐 정소실질내 Gossypol 투여가 혈액성상에 미치는 영향

황권식 · 장규태 · 오석두* · 성환후** · 정진관** · 이병오 · 윤창현

경상대학교 농과대학

Effects of Gossypol Injection into the Stroma of Testis on Blood Constituents in Mice

Hwang, K.S., K.T. Chang, S.D. Oh*, H.H. Seong**, J.K. Jung**, B.O. Lee and C.H. Yun

College of Agriculture, Gyeongsang National University

SUMMARY

We have previously shown that gossypol injection into the stroma of testis was found to effectively inhibit the process of spermatogenesis. In this study, properties and chemistry of blood were investigated weekly in ICR mouse after the injection of gossypol into the testicular stroma(5, 10 or 15mg per kg body weight). There were no significant differences in red blood cell(RBC), hematocrit, white blood cell(WBC), basophils, eosinophils and monocytes during first 4 weeks after injection of gossypol between treatments, but neutrophils increased and lymphocytes decreased, respectively($P < 0.05$). Total contents of protein, albumin and globulin were not different, compared with control. However, the concentration of glucose after injection of gossypol increased significantly($P < 0.05$).

In conclusion, the results of this study indicated that injection of gossypol into stroma of testis might affect both properties and chemistry of blood in mice.

(Key words: gossypol, neutrophils, lymphocytes)

I. 서 론

포유동물에 있어서 gossypol의 장기간 경구투여가 정소기능의 발육부진과 정자수, 기형정자율, 정소의 무게감소 및 혈중 스테로이드 호르몬농도에 많은 영향을 미쳐 불임이 유발된다는 보고가 다수 있다(Chinese team, 1980; Ridely와 Blasco, 1981; Perreaut 등, 1982; Shi와 Friend, 1983). Coutinho등(1984)은 gossypol 장기간 투여는 정자결핍증 및 무정자증을 유발시켰으며 Coutinho(1974) 및 Melo와 Coutinho(1977)은 성인남자에게 gossypol 경구투여시

뇌하수체의 gonadotropin의 분비억제 현상으로 정상적인 정자형성은 물론 기형정자율이 급증하였다고 하였다.

이와 유사한 보고로 gossypol 투여시 혈중 progesterone, testosterone 및 LH 농도가 급감하는 한편 Sertoli세포의 위축 현상으로 정상적인 정자형성이 어렵다는 Chang등(1980), Hadley등(1981) 및 Hoffer(1983)의 보고가 있다. 최근, rat와 개의 정소실질내 0.15 ml과 1.0 ml의 lactic acid를 각각 주사하여 검토한 결과, 주사후 24시간부터 정자형성을 억제하는 효과가 있었으며 성욕이 상실되는 현상에는 운동성과 사료섭취량, 체온 및 호흡 등에는 큰 변화가 없

* 진주산업대학교 (Jin Ju National University)

** 축산시험장 (Livestock Experiment Station)

었다고 보고하였다(Nishimura 등, 1992).

본 연구실에서는 생쥐 정소실질내 gossypol을 체중 kg당, 5, 10 및 15 mg을 투여하였을 때 대조구에 비해 정소상체 미부에서 정상적으로 회수되는 정자수와 정소중량이 급격히 감소되어 일시적으로 정자형성이 억제되는 효과가 확인되었으며 또한, 기형 정자들이 gossypol 투여구가 유의적으로 증가되는 현상 등으로, 지금까지 보고된 장기간 경구투여로 얻어진 거세유기 효과를 국소적으로 단일주사로서 간단하게 유기할 수 있었다(황 등, 1993).

그러나 gossypol의 경구투여가 혈중의 각종 hormone농도의 수준변화를 비롯하여 정자수, 기형정자를 및 무정자증을 유발하는 것으로 알려져 있는데 반해, 정소외의 체내 중요조직에 미치는 영향에 대해 검토할 필요성이 있으며 특히, 임상적인 척도가 되어지는 혈액상에 관한 보고는 현재로서는 거의 전무한 실정이다.

이에 본 연구는 생쥐 정소실질내 gossypol을 직접 투여하는 방법으로 일시적 또는 영구적 불임 유기시 투여량 및 투여 후 시간의 경과에 따라 혈액상에는 어떤 변화가 일어나는지를 검토함으로써, gossypol을 사용하여 실용적인 거세 유기효과를 검토하기 위한 기초 자료를 얻고자 본 실험을 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

본 실험에 사용된 공시동물은 10~12주령(체중 30~35g)의 ICR계 성숙 수컷 생쥐를 공시하였으며, 사육관리는 관행법(온도 : 21~24℃. 점등 : 14시간, 소등 : 10시간)에 따랐다.

2. Gossypol의 투여

Gossypol(Sigma Co., No. G-8761, USA)의 투여는 100%의 polyethylene glycol에 용해하여 완전 임의배치된 80마리의 생쥐에게 체중 kg당 5, 10 및 15 mg을, 45마리의 대조구로서 polyethylene glycol만 좌우측 정소실질내에 50 μ 씩 동량을 투여하였다.

3. 혈액의 채취

Gossypol의 투여후 2, 3 및 4주째 각각 단두하여 즉시 채혈하였다. 혈액치를 측정후 잔량으로 혈장을

분리하여 혈액화학치의 검사에 사용하였다.

4. 혈액 검사 항목 및 방법

적혈구수(RBC)와 백혈구수(WBC)는 Improved Neubauer's counting chamber를 사용하였고, Hematocrit치는 microhematocrit centrifuge(Hettich Co., Germany)에 의하였으며, 혈장 총단백량은 Binko(일본)의 protein refractometer를 사용하였다. 백혈구 종류별 백분비는 도말표본의 Giemsa 염색에 의하여 1,000 \times 의 현미경하에서 200개를 세어 산출하였다.

또한 혈액화학치인 albumin은 ET test ALB kit(일본)에 의하여 측정하였으며 혈청 globulin은 혈장 총단백량에서 albumin함량을 제외한 수치로 하였고, 혈당량(glucose)은 Hagedorn-Jensen법(E-CO2 1, 일본)으로 흡광도 500 nm에서 측정하였다.

5. 통계학적 분석

통계처리는 SPSS통계 package program에 의하여 각 반복간의 평균과 표준오차를 산출하였고, 각 반복간의 차이를 F검정에 의하여 유의성($P < 0.05$)을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

생쥐의 정소실질내에 gossypol을 체중 kg당 5, 10 및 15 mg을 주사한 후 혈액성상에 미치는 영향은 Table 1에서 나타난 바와 같다. 즉, 대조구의 적혈구수와 hematocrit치는 각각 $7.43 \pm 0.23(10^6 / \text{mm}^3)$ 개 및 $53.23 \pm 3.45(\text{ml} / 100 \text{ml})$ 로 검출되었는데 비해 gossypol 투여량 및 투여 후 시간경과에 따라 다소 증가하는 경향으로 나타났으나 유의차($P < 0.05$)는 인정되지 않았다.

Barron 등(1956), Dieterich(1972) 및 Finch와 Foster(1973)은 정상적인 생쥐의 경우 적혈구수와 hematocrit치는 각각 $6.90 \sim 11.7(10^6 / \text{mm}^3)$ 개 및 $31.1 \sim 54.60(\text{ml} / 100 \text{ml})$ 로서 그 범위가 넓고 또한 개체 및 품종간에서도 큰 차이가 난다고 보고하였다. 또한 Coutinho 등(1984)은 사람에게 체중 kg당 20 mg을 장기간 경구 투여한 결과 적혈구수는 대조구에 비하여 다소 증가되었다고 보고하여 gossypol의 경구 투여와 마찬가지로 정소실질내의 국소투여도 혈액내

Table 1. Changes in the number of RBC in blood picture according to the doses to injection in testicular stroma of mice

Dose (mg /kgBW)	Weeks after injection of gossypol	RBC(10^6 /mm ³)	hematocrit(ml /100ml)
Control		7.43±0.23	53.23±3.45
5	2	7.70±0.28	52.21±2.01
	3	8.18±0.25	52.06±4.67
	4	7.95±0.32	53.64±3.90
10	2	7.40±0.31	52.49±4.62
	3	7.42±0.32	54.02±3.16
	4	8.08±0.38	56.05±4.25
15	2	8.24±0.36	53.86±3.14
	3	7.60±0.48	55.22±2.62
	4	7.68±0.22	57.67±3.21

Table 2. Changes in the number of RBC in blood picture according to the doses to injection of gossypol in testicular stroma of mice

Dose (mg /kgBW)	Weeks after injection of gossypol	WBC(mm ³)	Basophils (%)	Eosinophils (%)	Neutrophils (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)
Control		3890.31±678.69	1.40±0.45	2.04±1.08	30.58±4.08 ^a	61.15±2.89 ^c	4.83±1.02
5	2	3140.40±237.9	1.32±0.70	2.77±0.43	25.02±1.01 ^{ab}	67.16±2.76 ^a	3.73±0.80
	3	3250.04±371.15	1.65±0.25	2.22±0.12	23.33±1.59 ^b	68.82±1.98 ^a	3.98±0.88
	4	3010.15±537.69	1.51±0.27	2.95±0.76	21.21±1.29 ^b	70.03±2.55 ^a	4.30±0.53
10	2	4070.07±317.26	1.73±0.51	2.64±1.21	24.56±1.88 ^{ab}	66.98±2.90 ^{ab}	4.09±1.12
	3	3770.60±367.40	1.91±0.76	2.42±0.46	22.16±1.86 ^b	69.04±2.29 ^a	4.47±0.87
	4	4300.18±802.05	1.43±0.31	2.41±0.55	23.32±0.96 ^b	68.86±1.70 ^a	3.98±0.78
15	2	4300.35±356.02	1.95±0.69	2.87±0.94	25.77±1.74 ^{ab}	65.57±2.29 ^{ab}	3.84±0.69
	3	3361.62±224.32	1.42±0.48	2.69±0.27	21.22±1.86 ^b	70.43±2.08 ^a	4.24±0.45
	4	3980.09±700.30	1.71±0.51	2.63±0.24	20.67±1.48 ^b	70.42±1.83 ^a	4.57±0.48

Values means±S.E.

Means within column with superscripts are different (P<0.05).

의 RBC 및 hematocrit치의 변화에는 큰 차이가 없는 것으로 사료된다.

한편, 백혈구에 관한 혈액치는 Table 2에서 보는 바와 같이 WBC는 대조구 3890.31±678.69mm³개로서 gossypol투여 후 2주째 다소 증가되는 경향이었으나

유의차는 인정되지 않았고, 시간이 경과할수록 대조구와 비슷한 수준으로 나타났다. 또한 과립백혈구인 basophils과 eosinophils은 대조구에 비하여 큰 차이가 없었으나 neutrophils의 백분비는 대조구 30.58±4.08%에 비하여 투여량 및 투여 후 시간의 경과에 따

Table 3. Changes in the concentration of plasma protein and blood glucose according to the doses to injection of gossypol in testicular stroma of mice

Dose (mg /kgBW)	Weeks after injection of gossypol	Protein (g /100ml)	Albumin (g /100 ml)	Globulin (g /100 ml)	Glucose (gm /100 ml)
Control		4.52±0.13	3.14±0.11	1.38±0.09	101.73±8.54 ^e
5	2	4.60±0.08	3.35±0.06	1.25±0.10	120.42±9.69 ^d
	3	4.90±0.06	3.56±0.37	1.34±0.03	150.18±8.52 ^{ab}
	4	4.40±0.09	3.04±0.21	1.36±0.04	139.45±6.06 ^a
10	2	5.32±0.15	3.55±0.07	1.77±0.04	130.87±7.10 ^c
	3	4.43±0.09	3.20±0.25	1.23±0.25	157.22±6.10 ^{ab}
	4	4.45±0.11	3.10±0.34	1.35±0.03	148.45±9.34 ^a
15	2	5.30±0.05	3.86±0.12	1.44±0.09	132.91±6.67 ^c
	3	4.56±0.06	3.06±0.24	1.50±0.28	164.20±8.48 ^{ab}
	4	4.22±0.12	3.21±0.24	1.21±0.05	160.39±9.36 ^a

Values means ±S.E.

Means within column with superscripts are different (P<0.05).

라 20.67~25.77%로 감소하여 유의차(P<0.05)가 인정되었다. 무과립백혈구의 monocytes는 큰 차이가 없었으나 lymphocytes는 대조구에 비하여 처리구에서 유의적(P<0.05)으로 증가하였다.

본 실험의 결과 neutrophil과 lymphocyte 백분비가 대조구에 비해 유의적으로 감소 및 증가되는 현상으로 나타났는데, neutrophil은 정소 조직의 괴사로 단백질 물질 응고 및 산화되어지는 물질의 혈액내 축적 등으로 인하여 외부로부터의 이물질에 대한 강한 phagocytosis를 가지는데 골수 및 비장 등에서 충분한 neutrophil의 합성이 지연 혹은 억제되어지는 것으로 생각되어지며, lymphocytes의 급격한 증가는 gossypol의 정소실질내 직접투여로 정소조직의 단백질 응고로 인한 정소조직의 괴사에 대한 면역적인 작용때문에 급격히 증가되는 것으로 생각된다.

혈장총단백량 및 혈당량의 변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 혈장총단백량, albumin 및 globulin은 대조구와 처리구에서 유의적인 차이가 없었으나 glucose 함량은 gossypol투여 후 3주째까지 유의적(P<0.05)으로 증가하다가 4주째부터는 감소하기 시작하였다. 이러한 결과는 Cautinho등(1984)이 gossypol을 사람에게 장기간 경구투여시 투여 초기에는 glu-

cose함량이 유의적(P<0.01)으로 증가하였으나, 투여 후 시간이 경과되면서 정상치로 회복되었다고 한 보고와 일치하는 경향이였다.

이상의 결과들로 미루어 볼 때 정소실질 내 gossypol투여가 대조구에 비하여 혈액성상의 neutrophil은 감소하였고, lymphocytes 및 glucose의 함량은 유의적(P<0.05)으로 증가하였다. 이것은 gossypol의 정소실질내 투여로 인해 면역계 혹은 대사계 기관의 기능장애로 인한 원인으로 생각된다.

IV. 요 약

본 연구는 ICR계 수컷 생쥐에게 gossypol을 투여량 및 투여 후 시간경과에 따라 혈액성상에 미치는 영향을 검토하였다. Gossypol의 정소실질내 투여로 red blood cell(RBC), hematocrit, white blood cell(WBC), basophils, eosinophils 및 monocytes는 투여량 및 투여후 시간의 경과에 큰 차이가 없었으나, neutrophils과 lymphocytes는 각각 감소 또는 증가하여 유의차(P<0.05)가 인정되었다. 혈장총단백량, albumin 및 globulin함량은 대조구에 비하여 큰 차이가 없었으나, glucose함량은 유의적(P<0.05)으로

증가하였다.

이상의 결과로서 gossypol의 정소실질내 일정량 투여로 인한 거세 유기시에 혈액상 및 혈액화학치에 다소 유의적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

V. 인용문헌

1. Barron, D.H., F.H. Bethell, J.S. Hart, B. Kisch, E.E. Osgood, E. Ponder, R.W. Root and I.M. Young. 1956. St. erythrocyte and platelet values; Vertebrates; In; Hand book of biological data. ed. by Spector. WADC Technical Report, 56-273.
2. Chang, M.C., G. Zhiping and S.K. Saksena. 1980. Effects of gossypol on the fertility of male rats, hamsters and rabbits. *Contraception*, 21 : 461-469.
3. Chinese team(anonymous). 1980. Gossypol-a new antifertility agent for male. *J. Chin. Med.*, 4 : 417-428.
4. Coutinho, E.M. 1974. Male contraception and the unisex pill. *International Planned Parenthood Medical Bulletin*. 8 : 3.
5. Coutinho, E.M., J.F. Melo, I. Barbosa and S.J. Segal. 1984. Antispermatic action of gossypol in men. *Fertil. Steril.*, 42(3) 424-430.
6. Dieterich, R.A. 1972. Hematologic values for five northern microtines. *Lab. Anim. Sci.*, 22 : 390.
7. Finch, C.E. and J.R. Foster. 1973. Hematologic and serum electrolyte values of the C₅₇BL/6J male mouse in maturity and senescence. *Lab. Anim. Sci.*, 23 : 339.
8. Hadley, M.A., Y.C. Lin and M. Dym. 1981. Effects of gossypol on the reproductive system of male rats. *J. Androl.*, 2 : 190-199.
9. Hoffer, A.P. 1983. Effects of gossypol on the seminiferous epithelium in the rat : a light and electron microscope study. *Biol. Reprod.*, 28 : 1007-1020.
10. Nishimura, N., N. Kawate, T. Sawada and J. Mori. 1992. Chemical castration by a single intratesticular injection of Lactic Acid in rats and dogs. *J. Repro. Dev.* 38 : 263-266.
11. Melo, J.F. and E.M. Coutinho. 1977. Inhibition of spermatogenesis in men with monthly injection of medroxy-progesterone acetate and testosterone enanthate. *Contraception*, 15 : 627.
12. Perreault, S.D., B.R. Zirkin and B.J. Rogers. 1982. Effect of trypsin inhibitors on acrosome reaction of guinea pig spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 26 : 343-351.
13. Ridley, A.J. and L. Blasco. 1981. Testosterone and gossypol effects on human sperm motility. *Fertil. Steril.* 36(5)638-642.
14. Shi, Q.X. and D.S. Friend. 1983. Gossypol-induced inhibition of guinea pig sperm capacitation *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 29 : 1027-1032.
15. 황권식, 장규태, 오석두, 성환후, 정진관, 이병오, 윤창현. 1993. 생쥐 정소실질내 gossypol투여가 조정기능에 미치는 영향. *한국가축번식학회지*. 17(1)pp.1~6.