

아교주와 목향의 투약이 생쥐의 난소반응과 임신에 미치는 영향

정형민[†] · 이경섭^{**} · 김종욱^{*} · 임정목 · 송병기^{**} · 장준복^{**} · 고정재 · 윤태기 · 박 찬 · 차광렬
포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

Effects of Administration of Agyoju and Mokhyang on Ovarian Function and Pregnancy Outcomes

H. M. Chung[†], K. S. Lee^{**}, J. U. Kim^{*}, J. M. Lim, B. K. Song^{**}, J. B. Chang^{**},
J. J. Ko, T. K. Yoon and K. Y. Cha

Infertility Medical Center of Cha General Hospital, Pochon CHA University, 135-081, Republic of Korea

SUMMARY

This experiment was undertaken to investigate the effect of administration of Agyoju or Mokhyang on the maintenance of pregnancy, delivery and sex ratio in the mice in different gestation periods. Adult female mice were administered orally at three different periods, from ovulation to implantation (Exp.1), from post-implantation to organogenesis (Exp.2), and from fetal growth to parturition (Exp.3). In Experiment 1, number of fetus implanted and mean body weight were not significantly different.

However, the delivery of male offspring was significantly increased in Agyoju and Mokhyang administrated groups than control group. In Experiment 2, the number of fetuses implanted, live offsprins and their body weight at delivery were significantly increased in the Agyoju administered group than Mokhyang and control groups. In Experiment 3, the number of live offspring and sex ratio were not different in both treatments and control group. However, mean body weight at delivery was significantly increased in both treatment groups than that of control group. These results suggest that 1) Agyoju and Mokhyang have beneficial effects in maintenance of pregnancy, and that 2) The action of unknown component(s) in Agyoju may be related to selection of male spermatozoa for fertilization *in vivo*, and that 3) the administration of Agyju of Mokhyang during mid- and late-pregnancy periods were shown the increment of body weight of live offspring without decrease of litter size.

(Key words : Agyoju, Mokhyang, pregnancy, sex ratio, body weight)

본 연구의 일부는 한방치료기술개발 연구지원사업 (과제명: 한약이 임신중 태아에 미치는 영향) 연구비 지원하에 수행되었음.

*포천중문의과대학교 구미차병원 산부인과(Department of Obstetrics and Gynecology, Gumi CHA General Hospital, Pochon CHA University)

**경희대학교 한의과대학(College of Oriental Medicine, Kyunghee University)

[†] Correspondence

서 론

한의학은 우리나라의 전통의학으로서 수세기에 걸쳐 오늘날까지 국민의 건강과 질병치료에 많은 공헌을 해왔다. 그러나 지금까지 한의학의 효능을 과학적으로 입증하려는 연구는 극히 미미하다고 하겠다. 최근 한의학에서 이용되고 있는 한약제의 정도관리와 표준화에 대한 작업이 이루어지고 있으며 일부의 한약제는 질병치료에 탁월한 효능이 있는 것으로 보고되고 있어 이 분야에 대한 구체적인 연구가 요청되고 있다 (이와 송, 1986; 이, 1997; 윤, 1998; 이, 1998; 백, 1999; 양 등, 1999; 김 등, 1999). 한약제는 천연물인 관계로 약제의 채취시기와 처리방법 및 보관상태에 따라 많은 차이가 존재하며 또한 투약방법과 용량에 따라서도 효능의 차이가 많다. 그러나 최근 몇 종의 한약제는 생식기능, 임신유지, 착상 및 분만에 유용한 작용을 갖는 것으로 보고되고 있다 (이, 1997; 윤, 1998; 이, 1998; 양 등, 1999; 김 등, 1999).

이에 본 연구에서는 한의학에서 생식기능을 촉진시킬 목적으로 이용되고 있는 한약제 중에서 공통적으로 함유되고 있는 한약단미제의 효능을 분석하기 위한 연구의 일환으로서 아교주와 목향을 이용하여 이를 생쥐에 투약함으로써 생쥐의 난소기능과 임신능력 등과 같은 생식능력에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

1. 한약제의 준비

본 연구에서 사용한 한약단미제로는 아교주와 목향을 이용하였다. 이들 한약단미제는 경희대학교 동서의학연구소로부터 제공받았으며 batch variation을 최소화하기 위해 한번 제공받은 한약제만을 이용하여 연구에 이용하였다. 아교주와 목향은 증류수 1,000 ml에 20 g의 한약제를 첨가한 다음 이를 증탕하였다. 증탕된 한약제액은 상온에 1시간동안 정치시킨 다음 상층액을 채취하고 이를 1,500 rpm하에서 20분간 원심분리한 다음 재차 상층액을 취하고 이를 멸균 거여즈를 사용하여 여과하여 사

용하였다.

2. 실험동물

실험동물로는 ICR 계통의 생쥐를 사용하였다. 이들의 연령은 6~8주령이었으며 평균 체중은 18~20 g이었다. 사료와 급수는 무제한으로 공급하였으며 사육조건은 23±2℃였고 점 등 12시간 그리고 소 등 12시간의 조명하에서 사육하였다.

3. 한약제의 투약

준비된 한약제는 실험목적에 따라 경구투여하였다. 먼저 실험동물을 무작위로 3군으로 나누어 배란기-착상완료기 (실험 1), 착상완료기-기관형성기 (실험 2) 및 태아기-분만 (실험 3)까지로 나누었으며 이들 생쥐에게는 각 실험기간동안 1일 1회 준비된 한약제 0.2 ml를 경구투여용 zonde needle을 사용하여 투약하였다. 대조군으로는 동일한 방법과 기간동안 물을 투여한 것으로 하였다. 임신의 유도는 생식능력이 확인된 동종의 음성생쥐와 1:1의 비율로 합사한 다음 익일 오전 질전의 유무로서 교미 여부를 확인하였으며 교미가 확인된 개체만을 본 연구에 이용하였다.

4. 조사항목

각각 실험기간동안 한약제가 투약된 생쥐의 일부는 임신 12일째에 착상부위를 특이적으로 염색하는 Chicargo blue 염색액 (Sigma Chem. Co., USA)을 혈관주입한 다음 도살하여 자궁에 착상된 태아의 수와 체중을 측정하였다. 나머지 생쥐는 분만까지 유도한 다음 출생산자의 수, 성비, 평균체중을 Hogan 등(1994)에 따라 비교 조사하였다.

5. 통계처리

본 연구는 10회 반복실험을 실시하였으며 이로부터 얻어진 결과는 SAS 통계프로그램을 이용한 ANOVA Test를 시행하였다. 통계학적 유의성의 검증기준은 P=0.05 이하로 하였다.

결 과

본 연구를 통하여 얻어진 결과를 요약하면 다음

과 같았다.

1. 배란기-착상기동안 한약제의 투약에 따른 임신율, 착상을 및 분만을

배란기부터 착상이 완료되는 시기동안 아교주와 목향 상충액을 투약한 생쥐의 임신 12일째와 분만시의 착상태아수, 유산태아수 및 평균태아 체중, 분만시 산자의 수 및 성비 등은 Table 1과 2에서와 같았다.

Table 1에서와 같이 아교주와 목향을 투약하고 임신된 생쥐의 임신 12일째의 착상된 태아수와 평균 태아의 체중은 대조구의 그것에 비해 유의적은 차이가 인정되지 않았다. 다만 목향 투약군에 있어 착상된 태아의 수와 평균체중에서 다소 감소하는 경향이 관찰되었다.

한편, 이들 생쥐를 분만까지 유도한 결과 출생산자의 수는 대조구의 경우 10.2수인데 비해 아교주와 목향은 각각 9.3수와 9.1수로서 대차가 없는 것으로 나타났으며 이들 산자의 평균체중에 있어서도 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 성비에 있어서는 아교주의 경우 1:0.44, 목향의 경우 1:0.66으로서 대조구에 비해 유의적으로 웅성 산자의 비율이 높게 나타났다.

2. 착상후-기관발생 완료기 동안 한약제의 투약에 따른 생식능력의 변화

착상후부터 배아의 기관발생이 완료되는 시기동안 전술한 아교주 혹은 목향을 투약하고 이들 생쥐의 착상, 분만, 출생산자수, 성비 및 평균체중을 조사한 결과는 Table 3과 4에서 보는 바와 같았다.

임신 12일째 도달한 생쥐의 자궁을 조사한 결과 착상이 이루어진 태아의 수는 대조구의 경우 평균 12.2수인데 반해 목향 투약군의 경우 13.8수로 유의성은 인정되지 않았으나 착상태아수의 증가가 관찰되었으며 아교주 투약군의 경우 평균 17.0수로서 유의적인 증가가 관찰되었다. 평균 체중에 있어서 대조구와 목향 투약군의 경우 각각 0.20 g과 0.22 g으로 차이가 없었으나 아교주 투약군의 경우 0.26 g으로서 유의적으로 체중의 증가가 관찰되었다.

이들 생쥐의 일부를 분만까지 유도한 결과 평균 분만산자수는 대조구와 목향 투약군의 경우 차이가 인정되지 않았으나 (11.3수, 11.2수) 아교주 투약군의 경우 16.1수로서 유의적으로 산자수의 증가가 관찰되었다. 또한 아교주 투약군의 경우 평균 생시체중에 있어서도 대조군이나 목향 투약군에 비해 유의적인 증가가 관찰되었다. 출생산자의 성비에 있어서는 차이가 없었다.

3. 태아성장기-분만기동안 한약제 투약시 생식능력의 변화

기관형성기 이후인 태아성장기부터 분만시까지

Table 1. Implantation, abortion and body weight (BW) at Day 12 of pregnancy in mice administrated Agyoju and Mokhyang from ovulation to implantation period

Groups	No. of pregnant mice	No. of fetuses implanted (Mean±SD)	No. of fetuses aborted (Mean)	Mean BW/fetus (Mean±SD, g)
Control	5	62 (12.4±1.5)	6 (1.2)	0.22±0.01
Agyoju	5	64 (12.8±0.8)	7 (1.4)	0.24±0.03
Mokhyang	5	59 (11.8±0.9)	8 (1.6)	0.23±0.01

Table 2. Number of offspring, B.W. and sex ratio of delivered mice administrated Agyoju and Mokhyang from ovulation to implantation period

Groups	No. of mice delivered	No. of offspring (Mean)	Sex ratio (♂:♀)	Mean BW/offspring (g)
Control	10	102 (10.2)	1 : 0.93 ^a	1.71
Agyoju	10	93 (9.3)	1 : 0.44 ^b	1.74
Mokhyang	10	91 (9.1)	1 : 0.66 ^b	1.77

^{a,b} : P<0.01

Table 3. Implantation, abortion and body weight (BW) at Day 12 of pregnancy in mice administrated Agyoju and Mokhyang from post-implantation to organogenesis period

Groups	No. of mice pregnant	No. of fetus implanted (Mean±SD)	No. of fetus aborted (Mean)	Mean BW/fetus (Mean±SD, g)
Control	5	61 (12.2±1.2) ^a	4	0.20±0.01 ^c
Agyoju	5	85 (17.0±1.0) ^b	5	0.26±0.01 ^d
Mokhyang	5	69 (13.8±1.3) ^a	6	0.22±0.05 ^c

^{a, b}; P<0.01, ^{c, d}; P<0.001

Table 4. Number of offspring, BW and sex ratio of delivered mice administrated Agyoju and Mokhyang from post-implantation to organogenesis period

Groups	No. of mice delivered	No. of offspring (Mean)	Sex ratio (♂:♀)	Mean BW/offspring (g)
Control	10	113 (11.3) ^a	1 : 0.95	1.81 ^c
Agyoju	10	161 (16.1) ^b	1 : 0.94	2.38 ^d
Mokhyang	10	112 (11.2) ^a	1 : 0.90	1.90 ^c

^{a, b} : P<0.01, ^{c, d}; P<0.0001

Table 5. Number of offspring, BW and sex ratio of delivered mice administrated Agyoju and Mokhyang from fetal to delivery period

Groups	No. of mice delivered	No. of offspring (Mean)	Sex ratio (♂:♀)	Mean BW/fetus (g)
Control	10	113 (11.3)	1 : 0.95	1.78 ^d
Agyoju	10	120 (12.0)	1 : 1.08	2.24 ^b
Mokhyang	10	116 (11.6)	1 : 0.93	2.02 ^b

^{a, b}; P<0.01

한약제를 투약한 다음 분만생쥐의 평균산자수와 성비 및 평균체중을 조사한 결과는 Table 5와 같았다.

태아성장기부터 분만시기 까지 한약제를 투약한 다음 이들 생쥐로부터 분만한 산자의 수는 대조구와 아교주 및 목향 처리군에서 차이가 인정되지 않았다. 또한 출생 산자의 성비에 있어서도 차이는 인정되지 않았다. 출생 산자의 평균체중은 대조구의 경우 1.78 g인데 비해 아교주와 목향 투약군에서는 각각 2.24 g과 2.02 g으로 유의적인 체중증가가 관찰되었다.

고 찰

본 연구는 생식기능의 향상을 위해 한의학에서 이용하는 한약제의 효능을 조사하기 위한 연구의

일환으로써 보편적으로 첨가되는 한약단미제 중의 하나인 아교주와 목향을 생쥐의 임신기간별로 나누어 투약하여 이들 약제의 효능을 알아보기 위해 실시하였다. 임신기간은 배란시기부터 수정과 착상이 이루어지는 시기 (임신 0일부터 6일), 착상후 기관형성이 이루어지는 시기 (임신 7일부터 12일)와 기관형성 후 태아성장 및 분만이 이루어지는 시기 (임신 13일부터 19일)로 나누어서 각 기간별로 아교주 또는 목향을 투약하고 이들 한약단미제를 투약받은 생쥐의 착상태아수, 유산태아수, 평균체중 등을 임신 12일째에 일부의 생쥐를 도살하여 조사하였으며 일부의 생쥐는 분만을 유도하여 산자수, 체중 및 성비의 변화를 비교하였다.

배란기부터 착상이 이루어지는 시기동안 한약단미제를 투약한 결과 임신 12일째의 착상태아의 수

는 대조군과 아교주 및 목향 투약군에서는 차이가 인정되지 않았으며 체중의 변화도 관찰되지 않았다. 그러나 이들 한약단미제를 투약한 생쥐를 분만까지 유도한 결과 산자수의 차이없이 성비가 음성산자수의 증가가 관찰되었으며 이러한 현상은 아교주 투약군에서 특히 높은 비율로 관찰되었다 (Table 1과 2). 한약단미제의 투약이 음성산자의 증가를 나타낸 점에 대해서는 다음과 같은 두가지로 추론할 수 있겠다. 첫째는 배란되어 수정이 이루어진 수정란중 자성수정란을 선택적으로 사멸시키거나 착상을 방해하는 물질이 한약제 성분 중에 함유되어 있을 것이라는 가설이다. 그러나 이러한 가설이 타당하다면 출산되는 산자의 수적 감소가 이루어져야 하는데 본 연구에서는 분만산자수의 감소는 관찰되지 않았다. 두번째 가설로는 투약된 한약제의 성분중 어느 것이 배란된 난자의 수정에 이용되는 정자중에서 음성정자만을 선택적으로 활성화시킬 수 있는 물질이 존재하거나 수정시 난관내의 미세환경조건을 음성정자의 활력과 수정능력에 도움이 되는 조건을 설정한다고 생각할 수 있다. 저자 등은 후자의 가설을 신뢰할 수 있는 가설로 사료되나 이 문제는 추후에 구체적인 검토가 있어야 할 것으로 사료된다. 만약 이러한 가설이 증명될 수 있다면 동물산업에 있어서 자연적으로 체내에서 성감별이 가능해진다는 점에서 산업적 응용 가능성은 매우 크다고 하겠다.

한편, 동일한 한약 단미제를 착상 이후부터 기관형성이 이루어지는 시기 (organogenesis period) 동안 투약한 다음 착상수와 분만태아수 등을 조사한 결과 대조군과 목향 투약군의 경우에서는 착상태아수와 분만태아수 및 체중 등의 차이가 인정되지 않았으나 아교주 투약군에서는 임신 12일째의 착상태아수와 평균체중 그리고 분만시 산자수와 평균체중에서 유의적인 증가가 관찰되었다 (Table 3과 4). 이러한 결과로 미루어 볼 때 아교주는 임신중기에 착상태아의 성장과 발달에 매우 유용한 작용을 나타내는 것으로 사료된다. 한편, 이들 한약단미제가 투약된 생쥐로부터 분만된 산자의 성비에 있어서는 차이가 인정되지 않았다. 이러한 결과는 배란기부터 착상이 이루어지는 시기동안 한약단미제를 투약하였을 때의 음성산자의 출산비율의 증가와는 다른

결과로서 전술한 바와 같이 이들 한약단미제가 수정당시에 음성정자의 수정능을 촉진시킨다는 가설을 뒷받침한다고 할 수 있겠다.

기관형성기 이후 태아성장이 이루어지는 시기부터 분만시까지 한약단미제를 투약한 경우 분만된 산자수는 대조군과 아교주 및 목향 투약군에서 공히 차이가 인정되지 않았으며 성비 역시 차이가 없었다. 그러나 생식체중에 있어서는 대조군에 비해 아교주와 목향 투약군이 의미있는 증가를 나타내었으며 이러한 현상은 아교주 투약군에서 더욱 두드러지게 관찰되었다. 이는 임신중기라 할 수 있는 착상후부터 기관발생기동안 한약제 투약시 체중의 증가와 일치되는 결과로서 한약제의 투약이 태아의 체중증가에 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 이러한 체중의 증가가 태아의 대사이상이나 유전적 이상을 동반하는 지는 확인할 수 없었다. 추후의 구체적인 연구가 필요한 사항이라고 하겠다.

이상의 연구결과에서 보는 바와 같이 한의학에서 사용하는 한약제는 생식기능에도 작용하는 것으로 확인할 수 있었다. 본 연구에서와 같이 한약단미제를 이용하여 생식능력에 대한 효능 등을 구체적으로 조사한 보고는 현재까지는 전무한 실정이다. 저자 등은 현재 한의학 특히 산부인과학에서 생식기능, 임신과 분만 및 폐경 등에 사용되는 한약당제 또는 단미제에 대한 생리학적 검증작업을 시행하고 있다. 현재까지 이루어진 연구결과를 미루어 볼 때 이러한 일련의 연구를 통해 한약제의 구체적인 효능을 객관화시킬 수 있을 뿐만 아니라 또한 이러한 연구결과는 동물산업 분야에도 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

본 연구는 한의학에서 임신과 분만 등과 같은 생식기능에 영향을 주는 것으로 알려진 아교주와 목향을 이용하여 이를 생쥐에 임신기간에 따라 투약한 다음 이들 생쥐의 생식능력의 변화를 알아보기 위해 실시하였다. 임신기간에 따라 한약단미제가 투약된 생쥐를 일부는 임신 12일째에 도살하여 착상과 평균체중 등을 조사하였으며 일부의 생쥐는

분만을 유도하여 출생 산자수, 평균체중 및 성비 등을 비교조사하였다. 배란시기부터 착상시기까지 한약단미제를 투약한 경우 임신 12일째와 분만시 착상태아수와 평균체중에는 차이가 인정되지 않았으나 분만산자의 성비에서 아교주와 목향투약군에서 여성산자의 비율이 유의적으로 증가되었다.

착상후부터 기관형성기까지 투약한 경우 아교주의 경우 착상태아수와 평균체중에서 의미있는 증가가 관찰되었으나 목향 투약군에서는 대조군과 차이가 인정되지 않았다. 태아성장기부터 분만시기 까지 투약한 경우 산자수의 차이는 인정되지 않았으나 평균체중에 있어서는 아교주와 목향 투약군에서 공히 유의적인 증가가 관찰되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 연구에서 사용된 한약단미제는 임신유지와 태아성장에 비교적 유용한 작용을 미치는 것으로 사료되며 특히 아교주의 경우 산자수의 증가와 여성산자의 출산비율이 증가시키는 것으로 확인되었다.

참고문헌

이은미, 송병기. 1986. 임신 및 분만에 미치는 달생산의 효과에 관한 연구. 경희대학교 논문집 15:137-145.

이경섭. 1997. 보옥탕이 생쥐의 배란과 수정란 생산을 및 발달율에 미치는 영향. 경희대학교 한의대 논문집 20(1):137-146.

윤희정. 1998. 파극이 생쥐의 체외수정 및 생식 호르몬에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문.

이진무. 1998. 은포산이 생쥐의 배란과 수정란 생산을 및 발달율에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문.

백승희. 1999. 칠계항부환이 자궁새포주의 성장과 배란 및 착상전배발생에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문.

김혜원, 정형민, 이경섭. 1999. 한방 가미보중익기탕이 투약된 생쥐의 생식능력의 변화. 대한불임학회 P-5. pp.74.

양성우, 정형민, 이경섭. 1999. 월국환 투약이 생쥐의 난소반응과 임신에 미치는 영향. 대한불임학회 P-6. pp.75.

Hogan B, Beddington R, Costantini F and Lacy E. 1994. Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual. (2nd eds.) CSHL Press. pp.19-188.

(접수일 : 2000. 2. 10 / 채택일자 : 2000. 4. 24)