

濃度別 人蔘 投藥이
수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響

경희대학교 한의과대학 부인과학교실
박경희, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

**Dose Dependent Effects of *Panax Ginseng*
on the Reproductive Functions in Mice**

Kyun-Hee Park, Jung-Hoon Cho, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee
Dept. of Oriental Gynecology, college of Oriental Medicine,
Kyung Hee University

Purpose : This study was conducted to investigate the dose dependent effects of *Panax Ginseng* on the reproductive functions in mice.

Methods : We used the 8-week-old mice, and administered 0.2ml extract solution of *Panax Ginseng* in the different concentration once a day for 60 days. The control group was administered 0.2ml normal saline in the same way and duration. We counted the total, motile and normal sperm number of the cauda epididymis and measured the activities of sperm hyaluronidase, peroxidase and catalase of the isolated testis tissues. And we observed histological changes of surgically isolated testis by histochemical methods.

Results : All *Panax Ginseng* extract solution groups showed significantly dose dependent differences in the total number, the motility and normality of sperms compared with the control group, respectively. In the histological analysis of the testicular tissues, all *Panax Ginseng* extract solution groups showed the enlargement of testicular lobe diameter and apparent angiogenesis between seminiferous tubules. And the activity of typical sperm enzyme, hyaluronidase, was significantly increased in the *Panax Ginseng* extract solution groups compared to the control group. In the antioxidant activity analysis, the activities of peroxidase and catalase were significantly increased in the *Panax Ginseng* extract solution groups compared to the control group.

Conclusion : This study shows that *Panax Ginseng* has the beneficial effects on the concentration, morphology and motility of sperm, the activities of sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and catalase. We can suggest that *Panax Ginseng* be useful for the treatment of male infertility.

Key Words : *Panax Ginseng*, mice, sperm parameters, sperm hyaluronidase, testicular peroxidase, testicular catalase, male infertili

I. 서론

불임이란 약 1년간 어떠한 장애없이 정상적인 부부관계를 하였음에도 불구하고 임신이 되지 않는 상태로, 전체 부부의 약 15%가 이에 해당된다¹⁾. 이 중 남성요인은 약 50%로, 그 원인의 대부분은 정자생성 장애이며 그 외에 정자이송장애, 발기장애, 사정장애, 정자기능장애 등이 있다²⁾.

출산율의 감소와 세계 각국의 남성 생식능력 저하로 다양한 사회적, 경제적 문제가 야기되고 있다³⁻⁸⁾. 남성 생식능력 저하의 원인으로서는 고령⁹⁾, 중금속^{10,11)}, 방사선^{11,12)}, 화학물질¹³⁾, 음주^{14,15)}, 흡연^{16,17)}, 스트레스¹⁸⁾, 비만¹⁹⁾ 및 낮은 사회계층²⁰⁾ 등이 제기되고 있다.

남성 불임에 대하여 약물요법 또는 수술요법이 시행되고 있으나 그 효과가 미미하여 주로 생식보조술이 응용되고 있으며²¹⁾, 鍼²²⁾, 單味材²³⁻²⁹⁾ 또는 複合處方^{30,31)}을 활용한 한의학적 연구도 다각적으로 진행되고 있다.

한의학에서 남성불임은 氣衰不育, 精清不育, 早洩不育 및 精寒不育 등으로 분류되며³²⁾, 腎陽虛가 주된 원인이므로 補腎壯陽과 養精하는 약물에 대한 연구는 다양하게 이루어졌으나²⁵⁻²⁹⁾ 氣衰不育에 대한 補氣藥의 연구는 드물다²³⁾.

補氣藥의 대표적 약재인 人蔘은 性味가 微溫無毒 甘微苦하여 大補元氣, 固脫生津, 安神하므로 滋養強壯의 要藥으로 사용되어 왔다³³⁾. 人蔘의 약리적 연구로는 항스트레스 작용³⁴⁾, 항노화작용³⁵⁾, 항산화작용³⁶⁾ 및 남성 생식능력에 대한 연구³⁷⁻⁴⁰⁾가 있었으나, 投藥濃度에 따른 효과는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 著者는 濃度別 人蔘 投藥이 수컷

생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 人蔘 檢液을 投與한 후 總精子數, 活動精子數, 正常形態精子數, 睪丸組織의 變化, 精子尖體酵素의 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 활성을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 대상 및 방법

1. 藥材와 動物

1) 藥材

五加科 (두릅나무과 : Araliaceae)에 속한 多年生 草木인 人蔘 *Panax ginseng* C.A. Mey. 錦山産 4年根을 경희의료원 약제과에서 구입 사용하였다.

2) 動物

평균체중 31.42±1.57g의 8주령 ICR 계통 수컷 생쥐를 사용하였고, 12시간 소등과 점등 및 23℃ 조건의 사육실에서 사육하면서 물과 사료는 충분히 공급하였다.

2. 方法

1) 檢液의 製造

人蔘 400g을 3차 증류수 (Ultrapure water systems, Milli-Q, USA) 1ℓ와 함께 용기 (Low density polyethylene)에 넣어 48시간 동안 60℃에서 전탕한 후 ultrasonic cleaners (Branson Model 5510, USA)로 60분간 물리적 자극을 가하여 용해를 촉진하였다. 추출한 시료는 여과지 (Whatman No. 5, USA)로 여과하여 1차 추출액을 얻었으며, 고상시료에는 추가적으로 3차 증류수 1ℓ를 가해 ultrasonic cleaners로 30분간 물리적 자극을 가하고 여과지로 여과하여 2차 추출액을 얻은 후 1차 추출액과 합하였다. 최종 추출액은 rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan)를 이용하여 감압

농축 (온도 60℃이하, 저압)하였다. 농축 시료를 -60℃에서 48시간 저온 냉각 (Temphold, Hanil, Korea)하고 72시간 동안 동결 건조 (CleanVac 8S, Hanil, Korea)하여 최종 추출물 33.4g을 얻었다.

2) HPLC 分析

최종 추출물의 품질 표준화를 위해 人蔘 추출물 1g에 메탄올 100ml를 가한 후 환류냉각기를 사용하여 65-70℃ 수욕상에서 환류추출하였다. 환류추출액을 실온에서 냉각하여 여과한 후, 여액을 감압농축한 다음 증류수 20ml를 가해 현탁시켰다.

현탁액에 석유에틸 100ml를 추가하여 석유에틸층을 버린 후 증류수층만을 수포화 n-부탄올 100ml에서 3회 추출하였다. 부탄올층을 모두 합하여 증류수 100ml로 세척한 다음 감압농축하고 잔사에 메탄올 10ml를 가하여 용해하였다. 이를 여과 (0.45 μm PVDF syringe filter)한 후, 30% CH₃CN을 이동상으로 Nucleosil C₁₈ column (4.0×250mm)을 이용하여 203nm에서 high performance liquid chromatography (Water 996, USA)를 시행하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다.

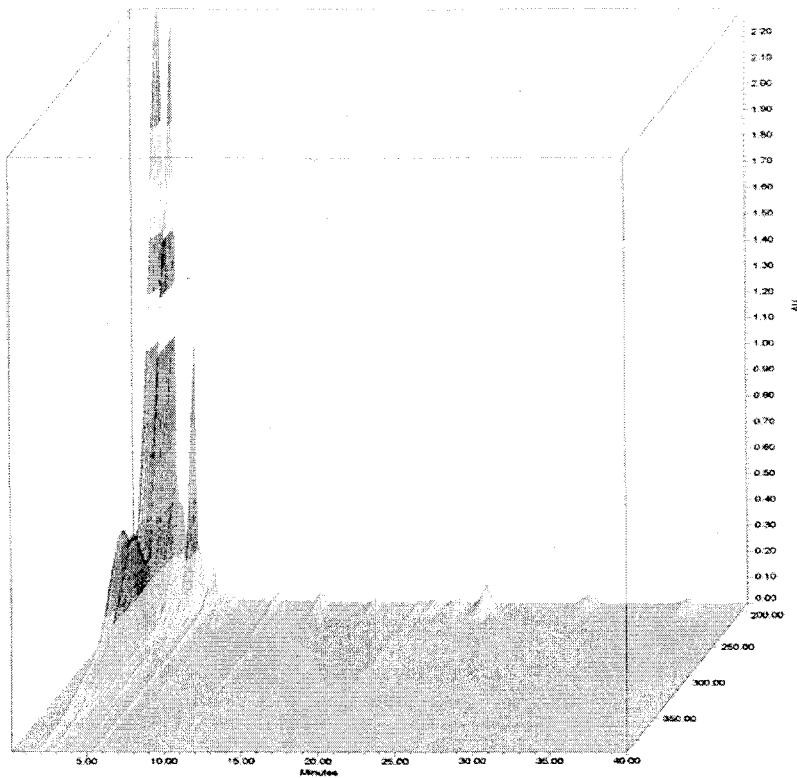


Fig. 1. High performance liquid chromatography of Ginseng extract

3) 實驗群 設定과 檢液 投與

생쥐 25마리를 각 군 당 5마리씩 5군으로 무작위 배정하였다. 實驗群은 농도에 따라 0.1mg/ml (이하 Sample A), 1mg/ml

(이하 Sample B), 10mg/ml (이하 Sample C), 100mg/ml (이하 Sample D)군으로 구분하여 각각의 人蔘 檢液을 1일 1회 60일간 (생쥐 正常 精子生成期間) 0.2ml씩 경구투

여하였고, 대조군은 동일한 양의 생리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

4) 精液 採取

檢液 投與 종료후 1일에 경추분리법으로 생쥐를 도살하고, 외과적으로 精巢上體 尾部를 적출하여 해부 현미경 (Nikon, Japan) 하에서 미세주사침을 이용하여 精子塊를 분리하였다.

5) 總 精子數와 活動 精子數 測定

채취한 精子塊 10 μ l를 M2 배양액에滴下하여 CO₂ 배양기 (Forma, USA)에서 1시간 동안 浮游한 후, 부유액 5 μ l를 Makler sperm counting chamber (Sofi, Israel)에滴下하여 200배 현미경 하에서 總 精子數와 活動 精子數를 측정하였다.

6) 精子의 形態 觀察

精子 부유액 10 μ l를 70% ethanol로 세척한 slide glass (Fisher, USA)에滴下한 후 cover slip (Fisher, USA)으로 도말하고, Diff-Quick Kit (國際試藥, 日本)의 fixative로 15초간 고정, Solution I에 10초, Solution II에 5초간 도말 후, 공기 건조시켜 200배 및 400배 현미경하에서 관찰하여 精子의 頭部, 中鞭部 및 尾部가 정상인 精子의 數를 측정하였다.

7) 睪丸組織 觀察

도살한 생쥐의 睪丸을 10% formalin (Junsei, Japan)에 고정하고 水洗한 후 ethanol (Merck, USA)로 저농도에서 고농도 순으로 각 단계별 한시간이 넘지 않도록 탈수를 시행하였다. 추가적으로 100% ethanol에서 1시간씩 2회 탈수 후 xylene (Junsei, Japan)으로 overnight cleaning하였다. 다음날 경질 paraffin wax (Oxford, USA)에 단계별로 2시간씩 mounting 후 회전 박절기 (Reichert-Jung Co., Germany)를 이용하여 0.1mm 두께로

절단하였다. 탈파라핀 작업을 거친 뒤 hematoxylin-eosin (Sigma, USA)으로 염색하고, canada balsam (Junsei, Japan)으로 봉입 후 광학 현미경 (Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

8) 精子尖體 活性 測定

精子 부유액을 0.14M sodium chloride 용액으로 5배 희석하고, 희석액 1ml에 0.1ml acetate buffer (0.3mol/l, containing 0.45mol/l sodium chloride)와 0.1ml hyaluronic acid substrate를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60 μ l potassium tetraborate (0.8mol/l in water, pH10)를 첨가하고 100 $^{\circ}$ C heating block (Fisher, USA)에서 5분간 반응시켰다. 이를 얼음으로 냉각시킨 후 p-dimethylaminobenzaldehyde 2ml를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C water bath에서 20분간 배양하였다.

배양후 즉시 1500 \times g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 582nm spectrophotometer (Beckman, Germany)에서 hyaluronidase의 optical density를 측정하였다.

9) 抗酸化酵素 分析

(1) Testicular peroxidase activity 分析

Cold buffer (50mM potassium phosphate containing 1mM EDTA, pH 7.0)에 적출 睪丸組織을 10mg/ml 농도로 넣고 homogenizer로 30초간 파쇄한 후 13,000rpm, 4 $^{\circ}$ C에서 15분간 원심분리 하였다.

Luminescent용 96-well white plate (Griner, USA)에 standard diluent를 넣고 sample buffer를 50 μ l 넣은 후 원심분리된 상층액 50 μ l와 substrate 50 μ l를 넣은 다음 10초간 tapping하였다. Hydrogen peroxide trigger buffer를 50 μ l 넣고 chemiluminescent

hydrogen peroxide detection kit (Assay Design Inc., USA)로 chemiluminometer (Tecan, USA)를 사용하여 5초간 peroxidase activity를 측정하였으며 모든 sample은 2회씩 측정하였다.

(2) Testicular catalase activity 分析

ELISA용 96-well plate (Nunc, Denmark)에 assay buffer 100 μ l, methanol 30 μ l, formaldehyde standard와 sample 20 μ l 및 hydrogen peroxide 20 μ l를 넣은 후 실온에서 20분간 shaking하였다. 이후 30 μ l potassium hydroxide와 chromagen 30 μ l를 넣고 실온에서 10분간 shaking한 후, 10 μ l의 potassium periodate를 넣고 실온에서 5분간 shaking하고 catalase assay kit (Cayman Chemical, USA)로 ELISA reader (Tecan, USA)를 사용하여 540nm 파장에서 catalase activity를 측정하였으며, 모든 sample은 2회씩 측정하였다.

10) 統計處理

통계는 SPSS ver 11.5를 이용하여 one-way ANOVA test로 분석하였고, 유의한 ($p < 0.05$) 것으로 판단될 경우 Tukey's B법으로 multiple comparison test를 실시하였다.

III. 結 果

1. 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數에 미치는 影響

總 精子數는 Sample A가 $48.8 \pm 10.8 \times 10^6$ 개/ml, Sample B가 $58.6 \pm 18.7 \times 10^6$ 개/ml, Sample C가 $73.0 \pm 10.5 \times 10^6$ 개/ml, Sample D가 $75.8 \pm 12.2 \times 10^6$ 개/ml로, 대조군의 $34.8 \pm 4.8 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 농도 의존적으로 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었으나 Sample C와 Sample D간의 차이는 없었다.

活動 精子數는 Sample A가 $43.6 \pm 7.9 \times 10^6$ 개/ml, Sample B가 $54.0 \pm 17.4 \times 10^6$ 개/ml, Sample C가 $67.6 \pm 9.6 \times 10^6$ 개/ml, Sample D가 $66.2 \pm 13.4 \times 10^6$ 개/ml로, 대조군의 $23.8 \pm 4.4 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 농도 의존적으로 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었으나 Sample C와 Sample D간의 차이는 없었다.

正常形態 精子數는 Sample A가 $44.6 \pm 9.2 \times 10^6$ 개/ml, Sample B가 $54.2 \pm 17.6 \times 10^6$ 개/ml, Sample C가 $66.6 \pm 10.4 \times 10^6$ 개/ml, Sample D가 $67.4 \pm 12.9 \times 10^6$ 개/ml로, 대조군의 $22.4 \pm 6.7 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 농도 의존적으로 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었으나 Sample C와 Sample D간의 차이는 없었다 (Table I, Fig. 2).

Table 1. Effect of Ginseng Extract Solution on Epididymal Sperm Parameters in the Mice

Groups	Sperm Parameters		
	Total Count ($\times 10^6$ /ml, Mean \pm SD)	Motile Sperm ($\times 10^6$ /ml, Mean \pm SD)	Normal Sperm ($\times 10^6$ /ml, Mean \pm SD)
Control(n=5)	$34.8 \pm 4.8^{a,2)}$	23.8 ± 4.4^a	22.4 ± 6.7^a
Sample A(n=5)	$48.8 \pm 10.8^{a,b}$	43.6 ± 7.9^b	44.6 ± 9.2^b
Sample B(n=5)	$58.6 \pm 18.7^{b,c}$	$54.0 \pm 17.4^{b,c}$	$54.2 \pm 17.6^{b,c}$
Sample C(n=5)	73.0 ± 10.5^c	67.6 ± 9.6^c	66.6 ± 10.4^c
Sample D(n=5)	75.8 ± 12.2^c	66.2 ± 13.4^c	67.4 ± 12.9^c
p-value ¹⁾	<0.01	<0.01	<0.01

1) Statistical significances were tested by ANOVA.

2) The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's B multiple comparison test.

SD: Standard deviation

Control: Mice administered normal saline

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml *Ginseng* extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml *Ginseng* extract solution

Sample C: Mice administered 10mg/ml *Ginseng* extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml *Ginseng* extract solution

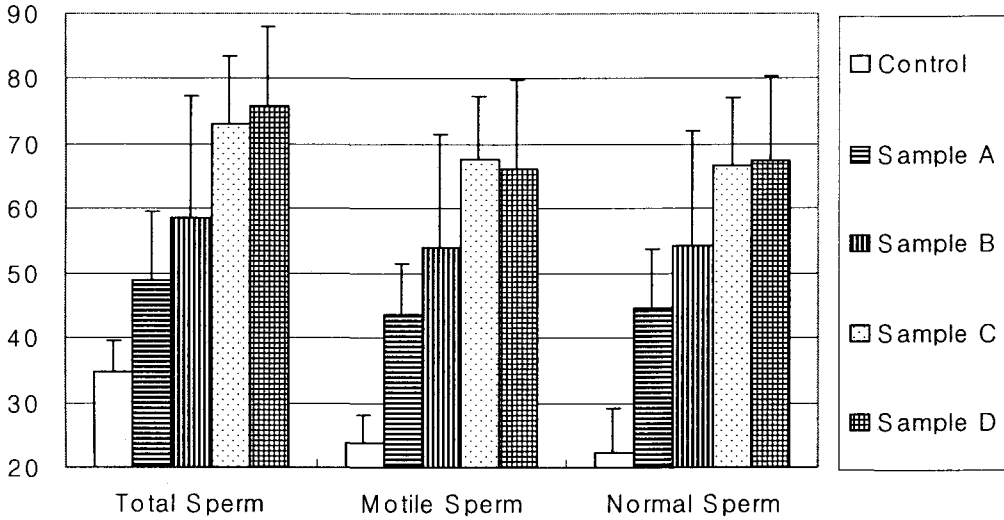
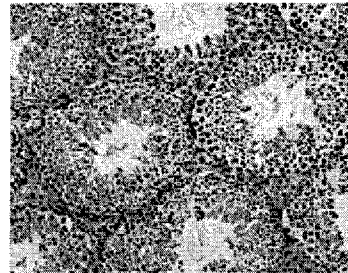


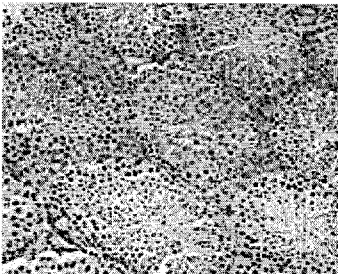
Fig. 2. Changes of the epididymal sperm parameters in the mice administered *Ginseng* extract solution

2. 辜丸組織에 미치는 影響

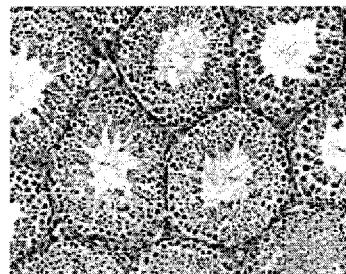
辜丸組織을 해부 현미경 (Nikon, Japan) 하에서 관찰한 결과 모든 농도의 人蔘 投藥群에서 辜丸組織 내 精小葉 (testicular lobe)의 직경이 대조군에 비하여 대체로 크게 관찰되었으며, 특히 精小葉 사이의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig. 3).



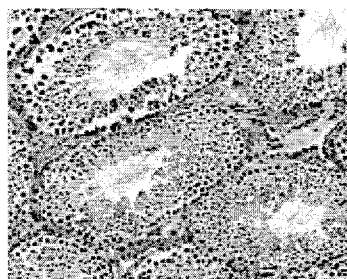
Sample A (0.1mg/ml)



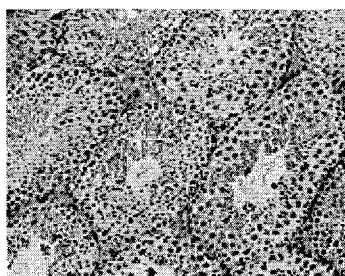
Control



Sample B (1mg/ml)



Sample C (10mg/ml)



Sample D (100mg/ml)

Fig. 3. Changes of tissue in the testis of mice administered *Ginseng* extract solution ($\times 200$)

3. 精子尖體 活性에 미치는 影響

Hyaluronidase activity는 Sample A가 $0.149 \pm 0.014 \mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$, Sample B가 $0.156 \pm 0.021 \mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$, Sample C가 $0.188 \pm 0.034 \mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$, Sample D가 $0.144 \pm 0.020 \mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$ 로, 대조군의 $0.037 \pm 0.013 \mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$ 에 비하여 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었다 (Table II).

Table II. Effect of *Ginseng* Extract Solution on Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Groups	Sperm Hyaluronidase Activity ($\mu\text{mol}/\text{NAG}/\text{min}/\ell$, Mean \pm SD)
Control (n=5)	$0.037 \pm 0.013^{a,2)}$
Sample A (n=5)	0.149 ± 0.014^b
Sample B (n=5)	0.156 ± 0.021^b
Sample C (n=5)	$0.188 \pm 0.034^{b,c}$
Sample D (n=5)	0.144 ± 0.020^c
p-value ¹⁾	<0.01

- 1) Statistical significances were tested by ANOVA.
- 2) The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's B multiple comparison test.

SD: Standard deviation

Control: Mice administered normal saline

Sample A: Mice administered $0.1\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample B: Mice administered $1\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample C: Mice administered $10\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample D: Mice administered $100\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

4. 抗酸化酵素에 미치는 影響

1) Testicular peroxidase activity

Testicular peroxidase 활성도는

Sample A가 $24.88 \pm 2.53 \text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$,

Sample B가 $23.59 \pm 2.18 \text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$,

Sample C가 $22.58 \pm 1.52 \text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$,

Sample D가 $22.38 \pm 4.38 \text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$ 로,

대조군의 $14.89 \pm 0.68 \text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$ 에 비하여

유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었다

(Table III).

Table III. Effect of *Ginseng* Extract Solution on the Testicular Peroxidase Activity in the Mice

Groups	Testicular Peroxidase Activity ($\text{nmol}/\text{min}/\text{ml}$, Mean \pm SD)
Control (n=3)	$14.89 \pm 0.68^{a,2)}$
Sample A (n=3)	24.88 ± 2.53^b
Sample B (n=3)	23.59 ± 2.18^b
Sample C (n=3)	22.58 ± 1.52^b
Sample D (n=3)	22.38 ± 4.38^b
p-value ¹⁾	<0.01

- 1) Statistical significances were tested by ANOVA.
- 2) The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's B multiple comparison test.

SD: Standard deviation

Control: Mice administered normal saline

Sample A: Mice administered $0.1\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample B: Mice administered $1\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample C: Mice administered $10\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

Sample D: Mice administered $100\text{mg}/\text{ml}$ *Ginseng* extract solution

2) Testicular catalase activity

Testicular catalase 활성도는 Sample A가 $0.474 \pm 0.024 \text{ nmol/min/ml}$, Sample B가 $0.556 \pm 0.094 \text{ nmol/min/ml}$, Sample C가 $0.502 \pm 0.014 \text{ nmol/min/ml}$, Sample D가 $0.441 \pm 0.055 \text{ nmol/min/ml}$ 로, 대조군의 $0.340 \pm 0.022 \text{ nmol/min/ml}$ 에 비하여 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었다 (Table IV).

Table IV. Effect of Ginseng Extract Solution on the Testicular Catalase Activity in the Mice

Groups	Testicular Catalase Activity (nmol/min/ml, Mean±SD)
Control (n=3)	$0.340 \pm 0.022^{a,2)}$
Sample A (n=3)	$0.474 \pm 0.024^{a,b}$
Sample B (n=3)	0.556 ± 0.094^b
Sample C (n=3)	0.502 ± 0.014^b
Sample D (n=3)	0.441 ± 0.055^b
p-value ¹⁾	<0.05

1) Statistical significances were tested by ANOVA.

2) The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's B multiple comparison test.

SD: Standard deviation

Control: Mice administered normal saline

Sample A: Mice administered 0.1 mg/ml Ginseng extract solution

Sample B: Mice administered 1 mg/ml Ginseng extract solution

Sample C: Mice administered 10 mg/ml Ginseng extract solution

Sample D: Mice administered 100 mg/ml Ginseng extract solution

IV. 고찰

Swan 등⁴¹⁾은 남성 정액 농도에 관한 연구들을 meta분석한 결과 미국 남성의 정액농도가 연간 약 1.5%씩 감소하고 있음을 보고하였다. 이러한 남성 정액 농도의 변화는 지역적인 차이는 있으나⁴²⁾ 세계적인 추세로^{3-8,43)}, 출산을 감소로

이어져 다양한 정치적, 사회적 및 경제적 문제를 야기 할 뿐만 아니라, 유전적인 결함이 자녀에게 전달되는 의학적인 문제와도 관련되고 있다⁴⁴⁾.

불임의 약 50%를 차지하는 남성불임의 원인은 정자생성과정의 장애, 정자이송 장애, 발기장애, 사정장애, 정자기능장애 등으로 분류되는데²⁾, 그 중 가장 흔한 원인은 정자생성과정의 장애에 의한 것이다.

정액이상이 원인인 남성 불임의 경우 정액검사를 통해 정액의 양, 정자의 수, 운동성, 형태, 산도 (pH) 및 백혈구수 등을 측정하여 생식능력을 파악하게 되며^{2,21)}, 해부학적 이상을 동반하지 않은 경우 이를 개선하기 위하여 성장호르몬⁴⁵⁾, progesterone⁴⁶⁾과 같은 호르몬제, bradykinin⁴⁷⁾, angiotensin II⁴⁸⁾ 및 vasoactive intestinal peptide⁴⁹⁾와 같은 생체 활성 물질, 난포액⁵⁰⁾ 및 pentoxifylline⁵¹⁾과 같은 약물을 이용한 연구가 진행된 바 있다.

韓藥材를 이용한 연구로는 黃芪²³⁾, 厚朴²⁴⁾, 山茱萸²⁵⁾, 菟絲子²⁶⁾, 鹿茸²⁷⁾, 紫河車²⁸⁾ 및 淫羊藿²⁹⁾과 같은 單味材의 남성 생식능력에 대한 연구와 少腹逐瘀湯³⁰⁾ 및 補中益氣湯³¹⁾과 같은 複合處方에 대한 연구가 국내·외에서 이루어지고 있다.

한의학에서 남성불임은 氣衰不育, 精清不育, 早洩不育 및 精寒不育으로 분류되며³²⁾, 腎陽虛를 근본적인 원인으로 보아 補腎壯陽하여 養精하는 補陽藥에 대한 연구가 활발하게 진행되었으나²⁵⁻²⁹⁾ 선천적 또는 후천적으로 氣力이 부족하여 勃起不全, 射精力 弱化, 性交不能 등 기능적 장애로 해석되는 氣衰不育을 치료

하는 補氣藥에 대한 연구는 드물다²³⁾.

人蔘은 補氣藥의 대표적인 약재로 微溫無毒 甘微苦하여 大補元氣, 固脫生津, 安神하는 작용을 가져 滋養強壯의 要藥으로 사용되어 왔으며³³⁾, 남성불임의 치료처방인 固本建陽丹, 續嗣丹과 같은 처방에도 사용된 바 있다.

人蔘의 남성 생식기능에 대한 효과에 관하여 Chen 등은 시험관 내에 첨가된 田七參 (notoginseng) 용액이 정자의 운동성을 증가시킴³⁷⁾과, 田七參의 ginsenoside 중 Rc 성분이 시험관 내에서 정자의 운동성과 성장에 유효함³⁸⁾을 보고하였으며, Tsai 등³⁹⁾은 ginsenoside-Rb1의 정맥내 투여가 뇌하수체전엽에 작용하여 황체화 호르몬의 분비를 증가시킨다고 하여, 人蔘이 남성 생식 능력 향상에 유효함을 알 수 있으나 투약농도에 따른 효과는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 著者는 濃度別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 人蔘 檢液을 投與한 후 總精子數, 活動精子數, 正常形態精子數, 睪丸組織의 變化, 精子尖體酵素의 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 활성을 관찰하였다.

60일간 相異한 濃度의 人蔘 檢液을 投與한 결과, 人蔘 投藥群 모두에서 總精子數, 活動精子數 및 正常形態精子數가 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의하게 증가되었다.

이것은 補腎陽하는 紫河車²⁸⁾와 淫羊藿²⁹⁾의 精子特性에 관한 효과와 유사한 결과로, 氣衰不育으로 분류되는 남성불임 치료에 補氣藥인 人蔘의 효과를 반영하

는 것으로 유추된다. 남성의 수태력을 결정하는 가장 중요한 단일 요소가 精子的 운동성이라는 점을 고려할 때⁵²⁾, 향후 생식능력 저하가 진단된 남성들에 대한 人蔘의 유효성 연구가 필요할 것으로 사료된다.

人蔘의 남성 생식기능 향상에 대한 효과를 조직학적으로 확인하기 위하여 人蔘 檢液 投與 종료 후 睪丸組織을 해부 현미경 하에서 관찰한 결과 人蔘 投藥群은 대조군에 비하여 睪丸組織 내 精小葉의 직경이 대체로 크게 관찰되었으며 특히 精小葉 사이의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다. 이는 紫河車²⁸⁾와 淫羊藿²⁹⁾ 투여 후에도 동일하게 관찰되었던 소견으로, 다양한 韓藥材가 남성 생식기능을 향상시키는 것은 특정 과정을 거쳐 精子 形成과 그 機能에 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있는 결과이다.

여성의 질 내에 사정된 精子는 약 7시간 동안 침체의 당단백질층과 정낭단백질이 제거되는 수정능력부여 (capacitation) 과정을 거친 후, 精자의 원형질막과 침단체 바깥막이 파괴되는 침단체반응 (acrosomal reaction)을 통해 난자와 수정을 이루게 된다. 이 과정에서 hyaluronidase, acrosin와 같은 효소들의 유리가 일어나게 되며⁵³⁾, 이러한 효소들의 작용을 통해 精자의 핵이 난자 주변의 부챗살관 (corona radiata)을 지나 난자의 원형질로 진입하게 된다⁵⁴⁾. 따라서 이들의 활성은 精자의 수정능력과 관련되므로, hyaluronidase와 정액 특성과의 관련성이 보고⁵⁵⁾되고 있다.

人蔘 檢液 投與 후 精子尖體의 hyaluronidase 활성도를 살펴 본 결과, 모든 농도에서 人蔘 投藥群이 대조군에 비

하여 유의한 증가를 나타내었다. 이 결과는 人蔘 檢液 投與 후 活動 精子數가 증가한 것과 관련된 것으로 사료된다.

인체 내 산소가 환원되는 과정에서 발생하는 활성산소 (reactive oxygen species)는 각 세포의 산화성 자극을 증가시켜 세포손상을 유발한다. 남성불임 환자에서 精子의 O_2 가 상승할 경우 精子機能이 저하되는 것은⁵⁶⁾ 단백질 산화와 세포막 투과도 변화에 의한 것으로⁵⁷⁾, 활성산소의 조절은 생식보조술 결과에 큰 영향을 미치므로⁵⁸⁾ 비타민 E⁵⁹⁾, catalase supplementation 등⁶⁰⁾을 이용한 생식세포 회복이 시도되어 왔다.

人蔘 檢液 投與 후 testicular peroxidase 활성도와 testicular catalase의 활성도를 살펴 본 결과 peroxidase 활성도와 catalase 활성도 모두 人蔘 投藥群이 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 人蔘 檢液 投與 후 總 精子數, 活動 精子數 및 正常 形態 精子數의 농도 의존적인 증가는 testicular peroxidase와 catalase activity의 향상으로 睪丸組織의 기능이 개선된 것이며, 그 결과 精子尖體의 hyaluronidase activity도 증가된 것으로 사료되므로, 향후 남성불임치료 및 보조생식술과 관련하여 人蔘의 임상 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

濃度別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 人蔘 檢液을 投與한 후 總 精子數, 活動 精子數, 正常 形態 精子數, 睪丸組織의 變化, 精子尖體酵素의 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase

와 testicular catalase의 활성을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 濃度別 人蔘 檢液 투여 후 總 精子數, 活動 精子數 및 正常 形態 精子數는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의한 증가를 나타내었다.
2. 濃度別 人蔘 檢液 투여 후 睪丸組織 내 精小葉의 직경과 精小葉 사이 혈관형성이 대조군에 비하여 뚜렷하게 관찰되었다.
3. 濃度別 人蔘 檢液 투여 후 hyaluronidase activity는 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다.
4. 濃度別 人蔘 檢液 투여 후 testicular peroxidase와 testicular catalase의 활성도는 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다.

□ 투 고 일 : 2006년 01월 23일

□ 심 사 일 : 2006년 01월 31일

□ 심사완료일 : 2006년 02월 06일

參考文獻

1. 구병삼. 임상 부인과 내분비학. 서울:고려의학 1997;268-269, 428-429
2. 대한산부인과학회. 부인과학. 서울:칼빈서적 1997;598
3. Chen Z *et al.* Temporal trends in human semen parameters in New England in the United States, 1989-2000. Arch Androl. 2003;49(5): 369-374
4. Ikechebelu JI *et al.* High prevalence of male infertility in

- southeastern Nigeria. *J Obstet Gynaecol.* 2003;23(6):657-659
5. Adeniji RA *et al.* Pattern of semen analysis of male partners of infertile couples at the University College Hospital, Ibadan. *West Afr J Med.* 2003;22(3):243-245
 6. Almagor M *et al.* Changes in semen quality in Jerusalem between 1990 and 2000: a cross-sectional and longitudinal study. *Arch Androl.* 2003;49(2):139-144
 7. Che Y, Cleland J. Infertility in Shanghai: prevalence, treatment seeking and impact. *J Obstet Gynaecol.* 2002;22(6):643-648
 8. Sanocka D, Kurpisz M. Infertility in Poland-present status, reasons and prognosis as a reflection of Central and Eastern Europe problems with reproduction. *Med Scin Monit.* 2003;9(3):16-20
 9. Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol.* 2004;103(1):51-56
 10. Li J *et al.* Effect of cadmium on apoptosis of spermatogenic cells of rat testis and the protection effect of zinc against it. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2000;29(3):135-137
 11. Osipov AN *et al.* The effect of chronic exposure to cadmium and gamma radiation at low doses on the genetic structures in mice. *Radiats Biol Radioecol.* 2000;40(4): 373-377
 12. Guitton N *et al.* Regulatory influence of germ cells on sertoli cell function in the pre-pubertal rat after acute irradiation of the testis. *Int J Androl.* 2000;23(6): 332-339
 13. Naccarati A *et al.* Sperm-FISH analysis and human monitoring: a study on workers occupationally exposed to styrene. *Mutat Res.* 2003;537(2):131-140
 14. Klonoff CH, Lan KP, Gonzalez C. Effects of maternal and paternal alcohol consumption on the success rates of in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril.* 2003;79(2):330-339
 15. Tsujimura A *et al.* Effect of lifestyle factors on infertility in men. *Arch Androl.* 2004;50(1):15-17
 16. Wong WY *et al.* Cigarette smoking and the risk of male factor subfertility: minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology. *Fertil Steril.* 2000;74(5):930-935
 17. Burguet A, Agnani G. Smoking, fertility and very preterm birth. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2003; 32(1):9-16
 18. Taymor ML, Bresnick E. Emotional stress and infertility. *Infertility.* 1979;2(1):39-47
 19. Mydlo JH. The impact of obesity in urology. *Urol Clin North Am.*
-

- 2004;31(2):275-287
20. Coughlin LB, McGuigan JR, Haddad NG. Social class and semen analysis. *J Obstet Gynaecol.* 2003;23(3):276-277
 21. 대한남성과학회. 남성과학. 서울:군자출판사 2003;53-90
 22. Siterman S *et al.* Does acupuncture treatment affect sperm density in males with very low sperm count? A pilot study. *Andrologia.* 2000; 32(1):31-39
 23. Hong CY, Ku J, Wu P. *Astragalus Membranaceus* stimulates human sperm motility *in vitro*. *Am J Chin Med.* 1992;20(3-4):289-294
 24. Lin MH, Chao HT, Hong CY. Magnolol protects human sperm motility against lipid peroxidation: a sperm head fixation method. *Arch Androl.* 1995;34(3):151-156
 25. Jeng H *et al.* A substance isolated from *Cornus officinalis* enhances the motility of human sperm. *Am J Chin Med.* 1997;25(3-4):301-306
 26. 韓知岫 등. 菟絲子가 수컷생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2003;16(1):136-142
 27. 吳在晟 등. 鹿茸이 수컷생쥐의 생식과 배발생에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(1):129-137
 28. 朴大淳 등. 紫河車가 수컷생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):1-10
 29. 金承賢 등. 淫羊藿이 흰쥐 精子的 運動性에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):52-63
 30. Yang CC *et al.* Effects of Shao-Fu-Zhu-Yu-Tang on motility of human sperm. *Am J Chin Med.* 2003;31(4):573-579
 31. Yoshida H *et al.* Clinical effects of Chinese herb medicine (hochu-ekki-to) on infertile men. *Hinyokika Kiyō.* 1986;32(2):297-302
 32. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울:杏林出版 1995;278-282
 33. 全國韓醫科大學 本草學 教授. 本草學. 서울:永林社 1998;531-533
 34. 김락두 등. 人蔘의 抗스트레스作用에 關한 研究. *Kor J Pharmacog.* 1979;10(2):61-67
 35. 최진호, 오성기. 高麗人蔘의 老化抑制作用에 關한 研究, *Korean J Food Sci Technol.* 1985;17(6):506-515
 36. Liu ZQ *et al.* In vitro study of the relationship between the structure of ginsenoside and its antioxidative or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes. *J Agric Food Chem.* 2003;51(9): 2555-2558
 37. Chen JC *et al.* Effect of panax notoginseng extracts on inferior sperm motility *in vitro*. *Am J Chin Med.* 1999;27(1):123-128
 38. Chen JC *et al.* Effects of ginsenoside Rb2 and Rc on inferior human sperm motility *in vitro*. *Am J Chin Med.* 2001;29(1): 155-160
 39. Tsai SC *et al.* Stimulation of the secretion of luteinizing hormone

- by ginsenoside-Rb1 in male rats. *Chin J Physiol.* 2003;46(1):1-7
40. Hwang SY *et al.* Panax ginseng improves survival and sperm quality in guinea pigs exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *BJU Int.* 2004;94(4):663-668
 41. Swan SH, Elkin EP, Fenster L. The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996. *Environ Health Perspect.* 2000;108(10):961-966
 42. Swan SH *et al.* Geographic differences in semen quality of fertile U.S. males. *Environ Health Perspect.* 2003;111(4):414-420
 43. Salgado Jacobo MI *et al.* Frequency of altered male factor in an infertility clinic. *Ginecol Obstet Mex.* 2003;71;233-237
 44. Iammarrone E *et al.* Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17(2):211-229
 45. Ovesen PG *et al.* Growth hormone treatment of men with reduced sperm quality. *Ugeskr Laeger.* 1998;160(2):176-80
 46. Bonaccorsi L *et al.* Progesterone-stimulated intracellular calcium increase in human spermatozoa is protein kinase C-independent. *Mol Hum Reprod.* 1998;4(3):259-268
 47. Miska W, Schill WB. Influence of bradykinin antagonists on the motility of human spermatozoa enhanced by bradykinin. *Arch Androl.* 1994;33(1):1-5
 48. Vinson GP *et al.* Angiotensin II stimulates sperm motility. *Regul Pept.* 1996;67(2):131-135
 49. Siow Y *et al.* Effects of vasoactive intestinal peptide on human sperm motility. *Arch Androl.* 1999;43(1):67-71
 50. Yao Y, Ho P, Yeung WS. Effects of human follicular fluid on the capacitation and motility of human spermatozoa. *Fertil Steril.* 2000;73(4):680-686
 51. Nassar A *et al.* Pentoxifylline stimulates various sperm motion parameters and cervical mucus penetrability in patients with asthenozoospermia. *Andrologia.* 1999;31(1):9-15
 52. Dahlberg B. Sperm motility in fertile men and males in infertile units: in vitro test. *Arch Androl.* 1988;20(1):31-34
 53. Breitbart H. Signaling pathways in sperm capacitation and acrosome reaction. *Cell Mol Biol.* 2003;49(3):321-327
 54. 고재승 등. 인체발생학. 서울:정문각 1996;47-48
 55. Tanyildizi S, Bozkurt T. The effects of lincomycin-spectinomycin and sulfamethoxazole-trimethoprim on hyaluronidase activities and sperm characteristics of rams. *J Vet Med Sci.* 2003;65(7):775-780
 56. Said TM *et al.* Human sperm superoxide anion generation and

- correlation with semen quality in patients with male infertility. *Fertil Steril.* 2004;82(4):871-877
57. Christova Y, James PS, Jones R. Lipid diffusion in sperm plasma membrane exposed to peroxidative injury from oxygen free radical. *Mol Reprod Dev.* 2004;68(3):365-372
58. Bedaiwy MA *et al.* Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. *Fertil Steril.* 2004;82(3):593-600
59. Aydilek N, Aksakal M, Karakilcik AZ. Effects of testosterone and vitamin E on the antioxidant system in rabbit testis. *Andrologia.* 2004;36(5):277-281
60. Rsi T *et al.* Improved human sperm recovery using superoxide dismutase and catalase supplementation in semen cryopreservation procedure. *Cell Tissue Bank.* 2001;2(1):9-13