

## 期間別人蔘投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響

경희대학교 한의과대학 부인과학교실  
김혜원, 조정훈, 장준복, 이경섭

### ABSTRACT

#### Administration Duration Dependent Effects of *Ginseng Radix Alba* Extract Solution on the Reproductive Capacities in the Mice

Hye-Won Kim, Jung-Hoon Cho, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee  
Dept. of Oriental Gynaecology, College of Oriental Medicine,  
Kyung Hee University

**Purpose** : This study was undertaken to evaluate the effects of the different administration duration of *Ginseng Radix Alba* extract solution on the spermatogenic abilities.

**Methods** : We used the 2-month-old mice and administered *Ginseng Radix Alba* extract solution 0.3mg/g/day for 30, 60, 90 and 120 days. The control group was administered the normal saline in the same way. We examined the number of total, motile and normal sperm from the cauda epididymis, the activities of sperm hyaluronidase. Also we observed changes of isolated testis before and after administration of *Ginseng Radix Alba* extract solutions in the mice. And we compared to the testicular tissue especially seminiferous tubules between control and treated group by histochemical methods.

**Results** : The significant differences were observed in the concentration of total sperm and normality of spermatozoa of the *Ginseng Radix Alba* extract solution administered groups compared to the control group in 60, 90 and 120days groups. The significant differences were observed the motility of the *Ginseng Radix Alba* extract solution administered groups compared to the control group in 90 days group respectively. In the histological analysis of the testicular tissues, the enlargement of testicular lobe diameter and apparent vasculogenesis between testicular lobes were observed in the *Ginseng Radix Alba* extract solution administered groups compared to the control group, respectively. but the activity of hyaluronidase was not significantly increased in the *Ginseng Radix Alba* extract solution administered groups

**Conclusion** : This study shows that *Ginseng Radix Alba* has the beneficial effect on the concentration, morphology and motility of sperm especially in 90 days administration group. We can suggest that *Ginseng Radix Alba* extract solution be useful for the treatment of male sexual dysfunctions and infertility.

**Key Words** : *Ginseng Radix Alba*, mice, sperm, reproductive capacity

## I. 緒 論

중금속, 방사선, 화학물질 등과 같은 환경오염<sup>1-3)</sup>과 음주, 흡연, 스트레스 및 비만 등으로<sup>4,7)</sup> 남성의 정자수, 운동성 및 정상 정자의 비율이 감소하고 있으며<sup>8)</sup> 이로 인한 남성불임이 증가 추세에 있다<sup>9)</sup>.

남성불임의 원인은 정자형성장애, 정자통과장애, 부성선기능장애 및 성기능장애 등으로 대별되나<sup>10)</sup> 정자수의 감소, 운동성의 저하, 정자의 비정상적 모양 등으로 나타나는 정자 형성 장애가 가장 많은 비율을 차지한다<sup>11)</sup>.

남성불임의 치료는 약물요법, 수술요법, 보조생식술 등이 있으며<sup>12)</sup> 미세정자주입법 등과 같은 보조 생식술이 도입되면서 남성 불임 치료에 획기적인 변화를 가져 왔다<sup>13)</sup>. 그러나 채취된 정자의 질에 의하여 불임 치료의 예후가 좌우된다는 것이 알려지면서 정자의 질을 개선하는 연구가 진행되고 있다<sup>14)</sup>.

한의학에서 남성불임은 五勞, 七傷, 虛羸 등의 虛勞病證과 陽痿, 遺精, 早泄, 白濁 등을 포괄하는 개념으로, 그 病理에 따라 氣衰不育, 精清不育, 早洩不育, 精寒不育 등으로 分類하고 氣衰不育은 補養補氣, 精清不育은 滋陰益水, 早洩不育은 澁精秘氣, 精寒不育은 溫腎補精의 治법을 사용한다<sup>15,16)</sup>.

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하는 補氣藥의 대표적인 약물이다<sup>17)</sup>. 人蔘의 약리 작용으로는 항노화작용<sup>18)</sup>, 항산화작용<sup>19)</sup>, 항알러지 작용<sup>20)</sup>, 항암 작용<sup>21)</sup>, 항균작용<sup>22)</sup>, 항고혈압작용<sup>23)</sup> 및 면역력 강화<sup>24)</sup> 등이 보고되었다.

남성 生殖능력에 대해서 崔 등<sup>25)</sup>은 人蔘 投藥이 흰쥐 精子的 運動性과 正常形態 精子的 比율을 증가시켰다고 보고하였고, 朴 등<sup>26)</sup>은 농도별로 人蔘을 投藥한 결과 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數가 농도의존적으로 증가함을 보고하였으나, 投藥 期間에 따른 人蔘의 效果에 대한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 著者는 期間別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보려고 정상 정자 생성 기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간 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 및 精子尖體 活性 등을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 藥材와 動物

#### 1) 藥材

五加科 (오가피나무과 *Araliaceae*)에 속한 多年生 草木인 人蔘 *Panax ginseng* C.A. Mey. 錦山産 4年根 (*Ginseng Radix Alba*)을 경희의료원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

#### 2) 動物

평균 체중  $31.38 \pm 1.78g$ 의 8주령 ICR 계통 수컷 생쥐를 사용하였고, 12시간 소등과 점등 및 23°C 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 시료는 -60℃에서 48시간 저온 냉각 (Temphold, Hanil, Korea)하고 동결 건조기 (CleanVac 8S, Hanil, Korea)에서 72시간동안 동결 건조하여 최종 抽出物 27.2g을 얻었다.

## 2) 檢液의 HPLC 分析

최종 抽出物의 有效成分을 확인하기 위하여 人蔘 抽出物 500mg에 50% 에탄올 50ml를 가하고 1시간 진탕 혼합하여 원심분리한 후 잔사에 다시 50% 에탄올 50ml를 가하여 15분간 초음파추출을 2회 반복하였다. 모든 액을 합하여 감압농축하여 얻은 乾固物에 50% 에탄올 50ml를 가하여 0.1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: CH<sub>3</sub>CN (72:28, v/v)을 이동상으로 Waters Spheisorb ODS1 column (40×250mm)을 이용하여 254nm에서 high performance liquid chromatography (Water 996 Photodiode Array Detector)를 시행하였다.

## 3) 實驗群 設定과 檢液 投與

실험군은 투여기간별로 30일간 (sample A), 60일간 (sample B, 생쥐 정상 정자 생성 기간), 90일간 (sample C) 및 120일간 (sample D) 투여군으로 설정하고, 생쥐 40마리를 각 군당 10마리씩 무작위 배정한 후, 人蔘 檢液을 1일 1회 0.3mg/g로 경구 투여하였다. 대조군은 20마리의 생쥐를 각 군당 5마리씩 무작위로 배정한 후, 상응하는 실험군과 동일한 양의 생리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

## 4) 精子塊 分離

투약 종료 후 1일에 경추분리법으로 생쥐를 도살하고, 외과적으로 精巢上體尾部를 적출하여 해부현미경 (Nikon, Japan)하에서 미세주사침을 이용하여 精巢上體尾部的 精子塊를 분리하였다.

## 5) 總 精子數와 活動 精子數 測定

채취한 精子塊 10μl를 M2 배양액에滴下하여 CO<sub>2</sub> 배양기 (Forma, USA)에서 1시간 동안 浮游한 후, 부유액 5μl를 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) 精子形態 觀察

정자 부유액 10μl를 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 정자의 형태를 관찰하였다. 총

400개 정자를 관찰하여 정자의 두부, 중편부 및 미부가 정상인 정자의 수를 측정하였다.

#### 7) 辜丸組織 觀察

도살한 생쥐의 고환을 10% formalin (Junsei, Japan)에 고정하고 水洗한 후 ethanol (Merck, USA)로 저농도에서 고농도 순으로 각 단계별 한 시간이 넘지 않도록 탈수하였다. 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

정자 부유액을 0.14M sodium chloride 용액으로 5배 희석하여, 희석액 1ml에 0.1ml acetate buffer (0.3mol/l, containing 0.45mol/l sodium chloride)와 0.1ml hyaluronic acid substrate (4mg hyaluronic acid was dissolved in 1l water)를 첨가하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60 $\mu$ l potassium tetraborate (0.8mol/l in water, pH10)를 첨가하고 100°C heating block (Fisher, USA)에서

5분간 반응시켰다. 이를 얼음으로 냉각시킨 후 p-dimethylaminobenzaldehyde 2ml를 첨가하여 37°C water bath에서 20분간 배양하였다.

배양 후 즉시 1500 $\times$ g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 582nm spectrophotometer (Beckman, Germany)에서 hyaluronidase의 흡광도를 측정하였다.

#### 9) 統計處理

통계는 SPSS ver 11.5를 이용하여 실험군과 대조군의 비교는 Mann-Whitney U test로, 실험군간 비교는 ANOVA test로 통계적 유의성을 검증하였으며 post-hoc test는 Tukey B method를 실시하였고 모든 결과는  $p < 0.05$ 인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

### III. 結果

#### 1. 總 精子數에 미치는 影響

Sample B의 總 精子數는  $22.5 \pm 4.1 \times 10^6$  개/ml로 대조군의  $15.5 \pm 5.5 \times 10^6$  개/ml에 비하여 유의한 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며, sample C와 D의 總 精子數는  $31.5 \pm 6.1 \times 10^6$  개/ml와  $26.4 \pm 7.1 \times 10^6$  개/ml로 각각 대조군의  $14.6 \pm 1.6 \times 10^6$  개/ml와  $15.6 \pm 1.5 \times 10^6$  개/ml에 비하여 유의한 증가 ( $p < 0.01$ )를 나타내었다. Sample간 비교에서는 sample C가 타 군에 비하여 현저한 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었다 (Table I).

Table I. Effect of *Ginseng Radix Alba* Extract Solution on the Total Sperm Count in the Mice ( $\times 10^6/\text{ml}$ )

Group	Control (n=5)	Sample (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	18.0 $\pm$ 2.0 <sup>2)</sup>	19.4 $\pm$ 4.4 <sup>a3)</sup>	ns
B	15.5 $\pm$ 5.5	22.5 $\pm$ 4.1 <sup>a,b</sup>	p<0.05
C	14.6 $\pm$ 1.6	31.5 $\pm$ 6.1 <sup>c</sup>	p<0.01
D	15.6 $\pm$ 1.5	26.4 $\pm$ 7.1 <sup>b,c</sup>	p<0.01

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and sample groups

2) Mean $\pm$ standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

Control: Mice administered normal saline

Sample: Mice administered 0.3mg/g/day *Ginseng Radix Alba* extract solution

2. 活動精子數에 미치는影響  
Sample C의 活動精子數는 16.2 $\pm$ 3.9 $\times 10^6$ 개/ml로 대조군의 7.8 $\pm$ 2.2 $\times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를

나타내었다. Sample간 비교에서는 sample C가 타 군에 비하여 현저한 증가 (p<0.05)를 나타내었다 (Table II).

Table II. Effect of *Ginseng Radix Alba* Extract Solution on the Motile Sperm Count in the Mice ( $\times 10^6/\text{ml}$ )

Group	Control (n=5)	Sample (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	9.6 $\pm$ 2.1 <sup>2)</sup>	11.3 $\pm$ 2.9 <sup>a3)</sup>	ns
B	9.6 $\pm$ 4.5	12.2 $\pm$ 3.2 <sup>a,b</sup>	ns
C	7.8 $\pm$ 2.2	16.2 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup>	p<0.05
D	8.6 $\pm$ 2.3	13.3 $\pm$ 4.9 <sup>a,b</sup>	ns

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and sample groups.

2) Mean $\pm$ standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

Control: Mice administered normal saline

Sample: Mice administered 0.3mg/g/day *Ginseng Radix Alba* extract solution

3. 正常形態精子數에 미치는影響  
Sample B의 正常形態精子數는 16.8 $\pm$ 3.7개로 대조군의 10.8 $\pm$ 4.7개에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었으며, sample C와 D의 正常形態精子數는 21.8 $\pm$ 5.2개와 18.5 $\pm$ 5.1개로 각각 대조군

의 9.0 $\pm$ 1.8개와 10.4 $\pm$ 1.9개에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었다. Sample간 비교에서는 sample C가 타 군에 비하여 현저한 증가 (p<0.05)를 나타내었다 (Table III).

Table III. Effect of *Ginseng Radix Alba* Extract Solution on the Normal Sperm Count in the Mice

Group	Control (n=5)	Sample (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	12.0±2.6 <sup>2)</sup>	13.1±4.7 <sup>a3)</sup>	ns
B	10.8±4.7	16.8±3.7 <sup>a,b</sup>	p<0.05
C	9.0±1.8	21.8±5.2 <sup>b</sup>	p<0.01
D	10.4±1.9	18.5±5.1 <sup>a,b</sup>	p<0.01

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and sample groups.

2) Mean±standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

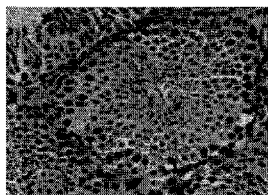
Control: Mice administered normal saline

Sample: Mice administered 0.3mg/g/day *Ginseng Radix Alba* extract solution

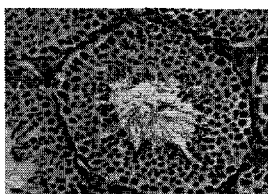
#### 4. 睪丸組織에 미치는 影響

고환조직을 해부현미경하에서 관찰한 결과 모든 人蔘 檢液 投與群에서 고환 조직내 정소엽 (testicular lobe)의 직경

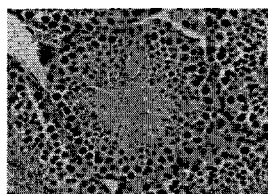
이 대체로 크게 관찰되었으며 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig. 1).



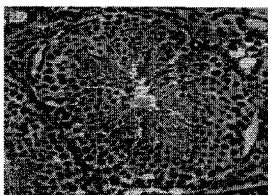
Control



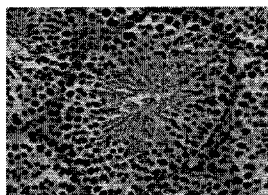
Sample A (for 30 days)



Sample B (for 60 days)



Sample C (for 90 days)



Sample D (for 120 days)

Fig. 1. Changes of tissue in the testis of mice administered *Ginseng Radix Alba* extract solution (×200)

5. 精子尖體 活性에 미치는 影響  
Hyaluronidase의 흡광도는 모든 sample에서 대조군에 비하여 각각 증가

하였으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. (Table IV)

Table IV. Effect of *Ginseng Radix Alba* Extract Solution on the Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Group	Control (n=5)	Sample (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	0.1096±0.0913 <sup>2)</sup>	0.1282±0.1925 <sup>a3)</sup>	ns
B	0.1050±0.0308	0.1430±0.5235 <sup>a</sup>	ns
C	0.1138±0.1657	0.1276±0.2279 <sup>a</sup>	ns
D	0.1060±0.0803	0.1294±0.2953 <sup>a</sup>	ns

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and sample groups.

2) Mean±standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

Control: Mice administered normal saline

Sample: Mice administered 0.3mg/g/day *Ginseng Radix Alba* extract solution

#### IV. 考 察

남성 정액 농도에 관한 연구들을 meta 분석한 결과 미국 남성의 정액 농도가 연간 약 15%씩 감소하고 있음이 보고되었는데<sup>8)</sup> 이러한 남성 정액 농도의 변화는 세계적인 추세로 정상적인 남성에게 있어서도 정자의 수, 운동성 및 정자 형태의 변화 등이 나타나고 있다<sup>27,28)</sup>.

결혼한 부부의 15%가 불임이고<sup>29)</sup>, 이 중 남성 불임은 40-60%로 나타난다<sup>9)</sup>. 남성불임의 원인으로는 내분비계의 장애, 사정 장애, 박테리아나 바이러스의 감염, 면역학적 요인, 정계정맥류, 정류고환, 합성 스테로이드에 의한 불임 등이 알려져 있으나<sup>30)</sup> 원인을 규명할 수 없는 특발성 불임도 약 5-6%를 차지하고 있다<sup>10)</sup>.

남성불임의 치료에는 정계정맥류나 정류고환과 같이 외과적 교정술이 필요한 경우 수술요법이, 폐쇄성 무정자증에는 보조생식술이 비교적 좋은 치료 효과를 보이고 있으나<sup>31)</sup>, 원인 미상의 남성 불임 환자에 대해서는 아미노산과 핵산 전구물질, 각종 효소, 비타민, 성호르몬, 성선 자극 호르몬, 부신피질 호르몬, 갑성선 호르몬 제제 및 clomiphene citrate 등이 경험적으로 사용되고 있으나 효과는 미미한 편이다<sup>32)</sup>.

보조생식술은 유전적인 결함이 그대로 전달될 수 있다는 우려와 과도한 비용, 정상 여성의 동반 치료가 불가피하다는 단점이 있어 남성의 가임 능력을 높이는 치료가 점점 중요시 되고 있다<sup>33,34)</sup>.

한의학에서 남성불임은 絶子<sup>35)</sup>, 無子<sup>36)</sup>, 無嗣<sup>36)</sup> 등으로 칭하였으며 그 병증은 <靈樞·經筋><sup>37)</sup>에서는 寒熱로 인한 陽

痿, 巢<sup>38)</sup>, 張<sup>39)</sup>, 王<sup>40)</sup>, 林<sup>41)</sup> 및 陳<sup>42)</sup> 등은 精液異常, 張<sup>43)</sup>과 葉<sup>44)</sup>은 腎虛, 孫<sup>45)</sup>과 陳<sup>46)</sup>은 五勞, 七傷 등의 虛勞로 보았으며, 그 治療는 전체적인 관점에서 陰陽의 均衡을 맞추어 주는 것을 원칙으로 삼았다<sup>36)</sup>. 陳<sup>42)</sup>은 精寒者는 溫其火하고 氣衰者는 補其氣하고 痰多者는 消其痰하고 火盛者는 補其水하고 精少者는 添其精하고 氣鬱者는 舒其氣하여야 한다고 治法을 제시하였는데 그 중 氣衰者에게 補氣하고 溫火하는 대표적인 한약재로 人蔘을 들 수 있다.

人蔘은 性味가 微溫無毒 甘微苦하고 肺, 脾, 腎經으로 들어가 大補元氣, 固脫生津, 安神 등의 효과가 있으며<sup>17)</sup> 남성 불임에 사용되는 固本健陽丹, 續嗣丹과 같은 처방에도 응용되고 있다.

人蔘의 남성 생식 능력에 대한 연구로는 紅蔘이 발기부전에 미치는 효과<sup>47)</sup>, 환경호르몬으로 유발된 고환 손상 치료와 정자 생존률과 질 향상 효과<sup>48-50)</sup>, 항암치료제와 방사선에 대한 고환 독성 보호 효과<sup>51,52)</sup>, 정액이상에 의한 남성불임에 대한 효과<sup>53)</sup>, 田七蔘의 정자 운동성 증가와 성장 촉진 효과<sup>54,55)</sup> 등이 보고된 바 있다. 또한 崔 등<sup>25)</sup>은 人蔘 投藥이 흰쥐 精子的 運動性과 正常形態 精子的 비율을 증가시켰다고 보고하였고, 朴 등<sup>26)</sup>은 농도별로 人蔘을 投藥한 결과 總精子數, 活動精子數 및 正常形態精子數가 농도의존적으로 증가함을 보고하였으나, 投藥 期間에 따른 人蔘의 效果에 대한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 著者는 期間別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자 정상 정자 생성 기간인 60

일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간 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, 辜丸組織의 變化 및 精子尖體 活性 등을 관찰하였다.

정액검사는 불임검사시 가장 기본적인 필수적인 검사로<sup>31)</sup> WHO에서는 pH 7.2~8.2, 정액량 2.0ml 이상, 정자농도  $20 \times 10^6 / \text{ml}$  이상, 운동성 50% 이상, 정상형태 30% 이상 및 총 정자수  $40 \times 10^6$  개 이상을 기준으로 제시하였다<sup>30)</sup>. 특히 정자의 운동성과 농도는 가임능력에 대한 중대한 지침이며 정상형태 정자의 비율도 남성불임의 평가에서 중요하다<sup>14)</sup>.

人蔘 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 總精子數를 관찰한 결과 60일간, 90일간 및 120일간 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였고 특히 90일간 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.

人蔘 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 活動精子數를 관찰한 결과 모든 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 증가하는 경향을 보였고 이 중 90일간 投與群에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

人蔘 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 正常形態精子數를 관찰한 결과 60일간, 90일간 및 120일간 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였고 특히 90일간 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.

투약기간에 따른 생쥐 생식 능력에 대한 실험 연구를 살펴보면 Carla 등<sup>56)</sup>은 rat의 성주기인 12.5일의 2주기이상 *Lepidium meyenii*를 투여해야 한다고 하였고, Silvia 등<sup>57)</sup>은 농약인 bentazon의



mice의 정자생성에 미치는 영향을 알아보고자 정자생성의 3주기인 100일 동안 투여하였고, Brooks 등<sup>58)</sup>은 피임제로 N'N-bis(dichloroacetyl)-1,8-octamethylene diamine (WIN18446)을 mice에 투여했을 때 42일이 지난 후부터 정자생성이 시작된다고 보고하였다.

이 실험 결과 90일간 人蔘 檢液 投與群에서 總 精子數, 活動 精子數, 正常形態 精子數가 유의하게 증가하였는데 이는 생쥐의 정상 정자 생성 기간의 1주기 반인 90일간 투여하였을 때 가장 유효함을 의미한다.

남성불임을 치료하는 약물 요법시 치료기간은 고환에서 정자형성에 소요되는 74일과 부고환에서의 성숙 및 정자수송에 소요되는 10-14일을 합하여 최소 3개월 이상 필요하다고 하였는데<sup>40)</sup> 향후 人蔘을 남성 불임 치료제로 사용하기 위한 임상 연구시에는 이러한 연구 결과를 기초로 적정한 치료기간을 설정하는 것이 필요하다고 보인다.

고환의 85%는 생식 세포가 만들어지는 정세관으로 채워져 있으며<sup>10)</sup> 정자의 생성에 있어서 고환의 간질세포인 leydig cell과 정세관의 지주세포인 sertoi cell이 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다<sup>59)</sup>. 고환 생검은 고환내 정상 정자 형성 여부를 판단할 수 있어<sup>30)</sup> 진단뿐 아니라 치료 목적으로도 시행되고 있다<sup>60)</sup>.

人蔘의 남성 생식기능 향상에 대한 효과를 조직학적으로 확인하기 위하여 人蔘 檢液 投與 종료 후 현미경 하에서 고환 조직내 정자 형성 변화를 관찰한 결과 人蔘 檢液 投與群이 대조군에 비하여 세정관 사이의 간격이 넓어졌다.

이러한 결과는 人蔘 檢液 投與가 정자형성 촉진에 필요한 영양분 및 호르몬을 분비하는 혈관, 림프관 및 Leydig cell의 형성을 촉진하였으며 고환 조직의 성숙과 발달을 가져와 고환내 정자형성이 증가되었음을 유추할 수 있다. 이는 巴戟<sup>61,62)</sup>, 淫羊藿<sup>63,64)</sup>, 紫河車<sup>65)</sup> 檢液 投與 후에도 동일하게 관찰되었던 소견이다.

정자의 침체반응은 정자가 난자의 투명대를 뚫고 통과하기 위해 침체에 저장된 효소들이 방출되는 과정을 말한다<sup>10)</sup>. 특히 hyaluronidase는 정자가 난자에도달할 있도록 과립세포들 사이에서 개구 통로를 만드는 역할을 담당하여 정자의 수정능에 중요하며<sup>10)</sup> 정자의 침체반응 정도는 정자의 수정능과 밀접한 관련이 있다고 보고되었다<sup>66)</sup>.

人蔘 檢液 投與후 hyaluronidase activity를 측정한 결과, 모든 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비해 각각 증가하였으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이는 人蔘 檢液 投與로 나타난 總 精子數, 活動 精子數, 正常形態 精子數의 증가와 睪丸組織의 成熟과 發達이 이와는 다른 생식능력 향상기전에 의한 것으로 보이므로 향후 보다 심도 있는 분자생물학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해 보면, 人蔘 檢液은 90일 投與群에서 수컷 생쥐의 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數를 현저하게 증가시켰고, 睪丸組織 세정관 사이의 간격과 혈관을 증식시켜 수컷 생쥐의 生殖能力을 향상시킴을 알 수 있었다. 이를 통해 남성 불임 치료에 韓藥을 통한 개선효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

## V. 結 論

期間別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자 정상 정자 생성 기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간 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 및 精子尖體 活性 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 總 精子數는 60일간, 90일간 및 120일간 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 각각 유의한 증가를 나타내었고, 특히 90일간 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.
2. 活動 精子數는 90일간 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.
3. 正常形態 精子數는 60일간, 90일간 및 120일간 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 각각 유의한 증가를 나타내었고, 특히 90일간 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.
4. 睪丸組織은 모든 人蔘 檢液 投與群에서 세정관 사이의 간격이 커졌고, 그 사이의 혈관 형성이 뚜렷하게 관찰되었다.
5. Hyaluronidase activity는 모든 人蔘 檢液 投與群에서 대조군에 비하여 증가하였으나 유의한 차이는 없었다.

□ 투 고 일 : 2006년 04월 26일

□ 심 사 일 : 2006년 05월 01일

□ 심사완료일 : 2006년 05월 09일

## 參考文獻

1. Pace BM *et al.* Neonatal lead exposure changes quality of sperm and number of macrophages in testes of B ALB/c mice. *Toxicology*. 2005;210:247-256
2. Gracla CR *et al.* Occupational exposures and male infertility. *Am J Epidemiol*. 2005;162(8):729-733
3. 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
4. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril*. 2005;84(4):919-924
5. Said TM, Ranga G, Agarwal A. Relationship between semen quality and tobacco chewing in men undergoing infertility evaluation. *Fertil Steril*. 2005;84(3):649-653
6. Hgollund NH *et al.* Reproductive effects of male psychologic stress. 2004;15(1):21-27
7. Magnusdottir EV *et al.* Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod* 2005;20(1):208-215
8. 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
9. 박남철 등. 남성불임: 최근 10년간의

- 임상통계학적 분석. 대한비뇨기과학회지. 1996;37(8):939-946
10. 대한 남성과학회. 남성과학. 서울: 군자출판사. 2003;103-136
  11. Guzick DS et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med*. 2001;345(19):1388-1393
  12. Isidori A, Latini M, Romanelli F. Treatment of male infertility. *Contraception*. 2005;72(4):314-318
  13. Ben-Chetrit A et al. In vitro fertilization outcome in the presence of severe male factor infertility. *Fertil Steril*. 1995;63(5):1032-1037
  14. Oehninger S, Gosden RG. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? No, not in light of the scientific data. *Hum Reprod*. 2002;17:2237-2242.
  15. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울:杏林出版. 1994;278-282
  16. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울:東洋醫學研究院. 1993;712-726
  17. 전국한의과대학 본초학 교실. 本草學. 서울:영림사. 1998;531-533
  18. Kim JH, Nah SY. Ginsenosides attenuate the 3-nitropropionic acid-induced rat striatal degeneration in an age-dependent manner. *J Ginseng Res*. 2005;29(2):100-106
  19. 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
  20. Bae EA et al. Antiallergic and antiprosoriotic effects of Korean red ginseng. *J Ginseng Res*. 2005;29(2):80-85
  21. 김성진 등. 산삼, 장뇌삼, 인삼의 항암 효과에 대한 비교연구. 대한본초학회지. 2004;19(2):41-50
  22. 류중열, 노영수, 김신규. 인삼 Tar의 항균작용에 관한 연구. 경희약대논문집. 1986;14:89-92
  23. Lim DY, Cha DS. Influence of ginseng saponins on the isolated aortic contractile response of the spontaneously hypertensive rat. *J Ginseng Res*. 2002;26(4):178-186
  24. 김대한, 송호준, 정종길. 인삼 saponin 장내 Glc-PPT 및 PPT가 면역계에 미치는 영향에 관한 연구. 대한본초학회지. 2004;19(4):105-115
  25. Choi GY et al. Effects of Panax ginseng on the sperm motility and spermatogenesis in the SD rat. *Kor J Orient Med*. 2004;25(4):90-94
  26. 박경희. 농도별 인삼투약이 슛컷 생쥐의 생식 능력에 미치는 영향. 慶熙大學校 大學院 博士學位論文. 2005
  27. Auger J et al. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med*. 1995;332(5):281-285
  28. 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
  29. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(제 3판). 서울: 칼빈서적 1997;598-647

30. 서주태. 수술적 교정이 불가능한 무정자증의 진단과 치료. 대한남성과학회지. 2004;22(1):1-10
31. 서주태. 남성 불임의 진단과 치료. 대한의사협회지. 2003;46(9):833-842
32. 서주태. 남성 불임의 약물치료. 대한의사협회지. 2004;47(12):1223-1228
33. Miharu N. Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: oligozoospermia. Cytogenet Genome Res. 2005;111(3-4):347-351
34. 이경호, 이정민, 이진수. 남성불임의 유전적 요인 및 불임유전자 연구 현황. 대한내분비학회지. 2001;16(6):550-561
35. 龔廷賢. 增補萬病回春(下). 서울: 一中社 1991;98
36. 박민호 등. 남성불육에 관한 문헌적 고찰. 경희한의대논문집. 1995;18(2):81-92
37. 楊維傑編. 黃帝內經靈樞. 서울: 成輔社. 1980;49,167,271
38. 丁光迪 主編. 諸病源候論校注. 北京: 人民衛生出版社. 1992;19
39. 張介賓. 張氏景岳全書. 서울: 翰成社 1983;731
40. 王肯堂. 六科準繩. 臺北: 新文豐出版社 1979;265
41. 林珮琴. 類證治裁. 台北: 旋風出版社. 1970;464-465
42. 陳士澤. 石室秘錄. 北京: 中國中醫藥出版社 1984;162
43. 張仲景. 金匱要略. 北京: 人民衛生出版社. 1989;158-159
44. 葉桂. 葉天士女科. 서울: 大星文化社 1995;395-410
45. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 一中社 1988;16-18
46. 陳自明. 婦人大全良方. 北京: 人民衛生出版社 1985;288,299
47. 최형기, 최영진, 김장환. 발기부전환자에서 홍삼 복용후의 음경혈류와 발기력 변화. J Ginseng Res. 2003;27(4):165-170
48. Kim W *et al.* Panax ginseng protects the testis against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced testicular damage in guinea pigs. BJU Int. 1999;83:842-849
49. 우승효 등. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin의 노출에 따른 기니피그의 생존, 정자의 질, 임신 및 2세에 미치는 독성에 대한 고려 인삼 추출물의 중화 효과 대한비뇨기과학회지 2002;43(2):161-166
50. 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
51. Kang J *et al.* Ginseng intestinal metabolite-I (GIM-I) reduces doxorubicin toxicity in the mouse testis. Reprod Toxicol. 2002;16(3):291-298
52. Kumar M *et al.* Radioprotective Effect of Panax ginseng on the phosphatases and lipid peroxidation level in testes of Swiss albino mice. Biol Pharm Bull. 2003;26(3):308-312
53. 김용태 등. 홍삼추출물의 남성불임 치료 효과. 대한남성과학회지. 2002;20(2):94-99
54. Chen JC *et al.* Effect of Panax notogi

- nseng extracts on inferior sperm motility in vitro. *Am J Chin Med.* 1999;27(1):123-128
55. 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
56. Gonzales C *et al.* Effects of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii*(MAC A) on spermatogenesis in rats. *J Ethnopharmacology.* 2005;1-7
57. Garagna S *et al.* Effects of a low dose of bentazon on spermatogenesis of mice exposed during foetal, postnatal and adult life. *Toxicology.* 2005;212(2-3):165-174.
58. Brooks NL, van der Horst G. Short-term effects of N'N-bis(dichloroacetyl)-1,8-octamethylenediamine(WIN 18446) on the testes, selected sperm parameters and fertility of male CBA mice. *Lab Anim.* 2003;37(4):363-373
59. 김정훈, 조윤경, 목정은. 원인불명의 남성불임 환자에서 pure follicle stimulating hormone과 human chorionic gonadotropin을 이용한 전신적 치료에 관한 연구. *대한산부회지.* 1996;39(7):1310-1319
60. Bettella A *et al.* Testicular fine needle aspiration as a diagnostic tool in non-obstructive azoospermia. *Asian J Androl.* 2005;7(3):289-294
61. 崔恩美. 巴戟이 白鼠의 精子 形成과 抗酸化酵素에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文. 2004
62. 許智源 등. 濃度別 巴戟 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(3):17-31
63. 金承賢 등. 淫羊藿이 흰쥐 精子의 運動性에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):52-63
64. 李昌勳 등. 濃度別 淫羊藿 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(1):142-155
65. 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
66. Cui YH *et al.* Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. *Asian J Androl.* 2000;2(3): 229-232