

鎖陽의 濃度別 投藥이 수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 影響

경희대학교 한의과대학 부인과학교실
한지영, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Effects of Cynomorii Herba Extract Solution on Reproductive Capacities in Mice

Ji-Young Han, Chang-Hoon Lee, Jung-Hoon Cho,
Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee

Dept. of Oriental Gynecology, College of Oriental Medicine,
Kyung Hee University

Purpose : These studies were undertaken to evaluate the effects of the Cynomorii Herba (CH) on the spermatogenic abilities such as the concentration, motility and morphological normality of sperm from the testis, and the activities of sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and testicular catalase.

Materials and Methods : We used the 2-month-old mice and administered 0.2ml extract solution of CH in the 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml and 100mg/ml once a day for 60 days. The control group was administered the distilled water in the same way. After the administration of extract solution, we examined the number of total, motile and normal sperm from the cauda epididymis, the activities of sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and testicular catalase. We observed the histological changes of isolated testis and compared to the testicular tissue especially seminiferous tubules between control and CH groups by histochemical method.

Results : The concentration of total sperm and the motility of spermatozoa were significantly increased in the 1mg/ml, 10mg/ml and 100mg/ml CH groups, especially in 10mg/ml group, compared to the control group. The significant differences were observed in the normality of spermatozoa of the CH groups compared to the control group. In the histological analysis of the testicular tissues, the enlargement of testicular lobe diameter and apparent vasculogenesis between testicular lobes were observed in the CH groups compared to the control group. Also, the activity of hyaluronidase was significantly increased in the CH groups compared to the control group. In the antioxidant activity analysis, the activities of testicular peroxidase and testicular catalase were significantly increased in the CH groups compared to the control group, respectively.

Conclusion : This study shows that CH has the beneficial effect on the concentration, morphology and motility of sperm, the activities of sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and testicular catalase. We can suggest that CH extract solution be useful for the treatment of male sexual dysfunctions and infertility.

Key Words : Cynomorii Herba, mice, sperm parameters, sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and catalase

I. 緒 論

최근 한국 사회에서 결혼연령의 상승, 여성교육수준의 향상, 피임실천 및 인공유산의 만연 등으로, 1960년대 6.0이던 출산율이 1990년대 1.59명 수준에 달하다가 2002년 1.17명으로 감소하여 세계 평균은 물론 출산율이 낮은 유럽보다 낮은 수준을 보이고 있어 사회적인 문제로 대두되고 있다^{1,2)}. 또한 임신여성의 고령화와 남성 정자상태의 변화 등으로 불임 환자수가 증가하였다³⁾.

불임은 정상적인 부부생활에도 불구하고 1년 이내에 임신을 못하는 것으로⁴⁾, 그 중 약 50%를 차지하는 남성불임은 증가추세에 있다^{5,6)}. 한의학에서는 남성불임을 氣衰, 精清, 早泄 및 精寒 등으로 분류하고⁷⁾, 腎陽虛, 腎陰虛, 肝氣鬱結, 痰濕內蘊, 氣血虛, 氣滯血瘀 및 脾腎兩虛 등의 病因을 제시하고 있다⁸⁾. 특히 腎陽不足은 정자 성숙 장애와 관련되므로 補腎陽하는 治法이 남성불임에 적극 활용되어 왔으며⁹⁾, 최근 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다¹⁰⁻¹³⁾.

鎖陽은 性味가 溫無毒甘하여 補腎陽하는 효능 외에 益精血, 潤腸通便하여 腰膝痠軟, 陽痿滑精 및 腸燥便秘 등을 치료한다¹⁴⁾. 또한 鎖陽은 실험적으로 정액의 형성에 영향을 미칠 뿐 아니라¹⁵⁾ 항산화 과정을 통한 노화방지 효과가 보고되었다^{16,17)}.

남성불임의 요인은 고환장애, 정계정맥류, 정류고환, 내분비장애, 면역학적 이상, 핵성 이상, 정액 자체와 그 성분의 이상, 정로폐쇄 및 원인불명 등이며, 남성불임을 진단하기 위한 정액검사는 불임의 진단 및 치료 방향을 결정하는

중요한 인자다¹⁸⁾.

이에 著者는 鎖陽의 濃度別 投藥이 수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 鎖陽 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 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 activity를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 藥材와 動物

1) 藥材

鎖陽科 (Cynomoraceae)에 속한 多年生 肉質寄生 草本인 Cynomorium songaricum RUPR.의 肉質莖을 건조한 鎖陽 (Cynomorii Herba)을 경희의료원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

2) 動物

평균 체중 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

鎖陽 100g을 3차 증류수 (Ultrapure water systems, Milli-Q, USA) 1ℓ와 함께 low density polyethylene에 넣어 48시간 동안 60℃에서 전탕한 후 ultrasonic cleaner (Branson Model 5510, USA)로 60분간 물리적 자극을 가하여 용해를 촉진하였다. 추출한 시료는 여과지 (Whatman No. 5, USA)로 여과하여 1차 추출액을 얻었으며, 고상시료

에는 추가적으로 3차 증류수 1ℓ를 가해 ultrasonic cleaner로 30분간 물리적 자극을 가하고 여과지로 여과하여 2차 추출액을 얻은 후 1차 추출액과 합하였다. 최종 추출액은 rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan)를 이용하여 60℃이하 저압에서 감압 농축하였다. 농축 시료는 -60℃에서 48시간 저온 냉각 (Temphold, Hanil, Korea)하고 동결건조기 (CleanVac 8S, Hanil, Korea)에서 72시간 동안 동결 건조하여 최종 抽出物 65.66g을 얻었다.

2) 檢液의 HPLC 分析

최종 抽出物의 有效成分을 확인하기 위하여 鎖陽 抽出物 500mg에 50% 에탄올을 50ml를 가하여 1시간 진탕 혼합하여 원심분리하고, 잔사에 다시 50% 에탄올 50ml를 가하여 15분간 초음파추출을 2회 반복하였다. 모든 액을 합하여 감압 농축하여 얻은 乾固物에 50% 에탄올 50ml를 가하여 0.1M H3PO4:CH3CN (72:28, v/v)을 이동상으로 Waters Spheisorb ODS1 column (40×250mm)을 이용하여 254nm에서 high performance liquid chromatography (Water 996 Photodiode Array Detector, USA)를 시행하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같았다.

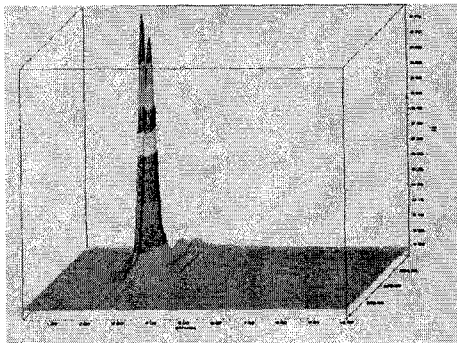


Fig. 1. HPLC result of *Cynomorii*

Herba

3) 實驗群 設定과 檢液 投與

생쥐 25마리를 각 군 당 5마리씩 5군으로 무작위 배정하였다. 실험군은 증류수에 용해한 鎖陽 抽出物의 농도에 따라 0.1mg/ml군 (sample A), 1mg/ml군 (sample B), 10mg/ml군 (sample C) 및 100mg/ml군 (sample D)로 구분하여 상이한 농도의 鎖陽 檢液을 생쥐 정상 정자생성기간인 60일 동안 1일 1회 0.2ml씩 경구 투여하였고, 대조군은 동일한 양의 증류수를 동일한 방법으로 투여하였다.

4) 精子塊 分離

투약 종료후 1일에 경추분리법으로 생쥐를 도살하고, 외과적으로 精巢上體 尾部를 적출하여 해부현미경 (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 10μl를 M2 배양액에 滴下하여 CO2 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의 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, 공기건조시켜 200배 및 400배 현미경하에서 정자의 형태를 관찰하였다. 총 400개의 정자를 관찰하여 정자의 頭部, 中片部 및 尾部가 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 1시간이 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 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 substrate를 첨가하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60µl 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×g에서 10분간 원심 분리한 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 고환조직을 10mg/ml 농도로 넣고 homogenizer로 30초간 파쇄한 후 13,000rpm, 4°C에서 15분간 원심분리하였다.

Luminescent용 96-well white plate (Griner, USA)에 standard diluent를 넣고 sample buffer를 50µl 넣은 후 원심 분리된 상층액 50µl와 substrate 50µl를 넣은 다음 10초간 tapping하였다. Hydrogen peroxide trigger buffer를 50µl 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 100µl, methanol 30µl, formaldehyde standard와 sample 20µl 및 hydrogen peroxide 20µl를 넣은 후 실온에서 20분간 shaking하였다. 이후 30µl potassium hydroxide와 chromagen 30µl를 넣고 실온에서 10분간 shaking한 후, 10µl의 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 12.0을 이용하여 ANOVA test로 통계적 유의성을 검증하

였으며, $p < 0.05$ 인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였고, Tukey B multiple comparison test를 실시하였다.

Ⅲ. 結果

1. 總 精子數와 活動 精子數에 미치는 影響

總 精子數는 sample A에서 $57.2 \pm 22.0 \times 10^6$ 개/ml로 대조군의 $35.8 \pm 5.0 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 차이가 없었으나, sample B, C 및 D는 각각 $72.4 \pm 16.1 \times 10^6$ 개/ml, $91.2 \pm 18.8 \times 10^6$ 개/ml 및 $69.2 \pm 12.8 \times 10^6$ 개/ml로 대조군에

비하여 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었으며, 檢液群 간 비교 결과 sample C에서 가장 높은 결과를 나타내었다.

活動 精子數는 sample A에서 $48.6 \pm 23.1 \times 10^6$ 개/ml로 대조군의 $23.4 \pm 5.5 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 차이가 없었으나, sample B, C 및 D는 각각 $67.8 \pm 16.1 \times 10^6$ 개/ml, $83.4 \pm 17.5 \times 10^6$ 개/ml 및 $64.0 \pm 15.2 \times 10^6$ 개/ml로 대조군에 비하여 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었으며 檢液群 간 비교 결과 sample C에서 가장 높은 결과를 나타내었다 (Table I, Fig. 2).

Table I. Effect of Cynomorii Herba Extract Solution on the Epididymal Sperm Parameters in the Mice

Groups	Sperm Parameters	
	Total Count ($\times 10^6$ /ml)	Motile Sperm ($\times 10^6$ /ml)
Control(n=5)	$32.0 \pm 3.5^{1)a2)}$	23.4 ± 5.5^a
Sample A(n=5)	$57.2 \pm 22.0^{a,b}$	$48.6 \pm 23.1^{a,b}$
Sample B(n=5)	74.4 ± 16.1^b	$67.8 \pm 16.1^{b,c}$
Sample C(n=5)	91.2 ± 18.8^c	83.4 ± 17.5^c
Sample D(n=5)	69.2 ± 12.8^b	$64.0 \pm 15.2^{b,c}$

1) Mean±standard deviation

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

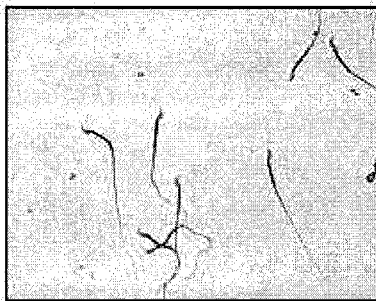
Control: Mice administered distilled water

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample C: Mice administered 10mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml Cynomorii Herba extract solution



Control

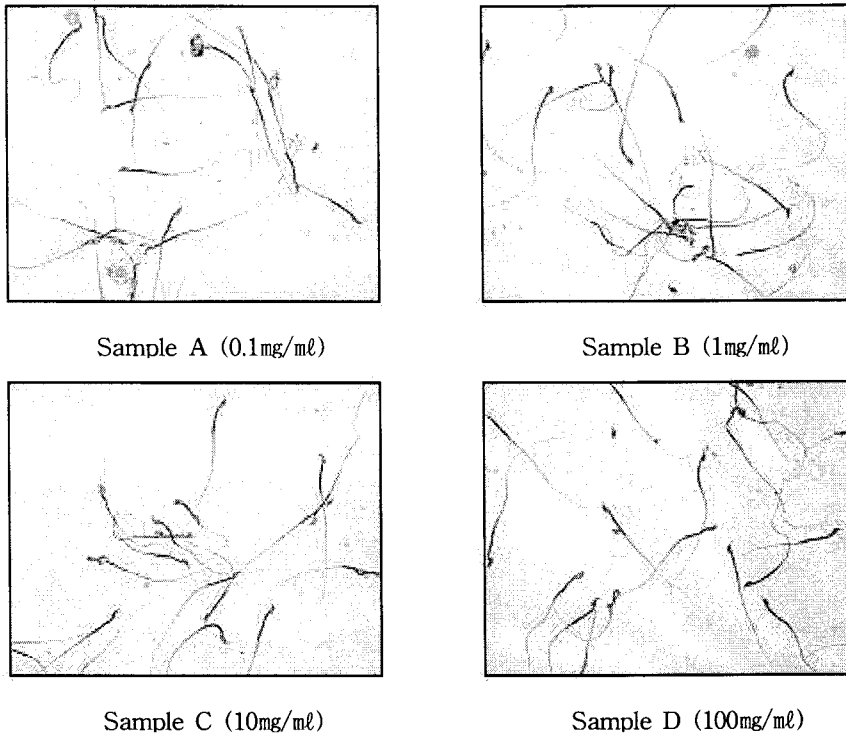


Fig. 2. Changes of the sperm count and morphology in the testis of mice administered Cynomorii Herba extract solution

2. 正常形態 精子數에 미치는 影響
 正常形態 精子數는 대조군에서 20.6±6.2개로 나타났다. Sample A, B, C 및 D는 각각 48.0±22.7개, 68.4±12.8개, 85.6±18.4개 및 61.2±15.5개로 대조군에

비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었으며, 檢液群 간 비교 결과 sample C에서 가장 높은 결과를 나타내었다 (Table II).

Table II. Effect of Cynomorii Herba Extract Solution on the Morphological Normality of Sperm in the Mice

Groups	Normal Sperm
Control(n=5)	20.6±6.2 ^a
Sample A(n=5)	48.0±22.7 ^b
Sample B(n=5)	68.4±12.8 ^{b,c}
Sample C(n=5)	85.6±18.4 ^c
Sample D(n=5)	61.2±15.5 ^{b,c}

1) Mean±standard deviation

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

Control: Mice administered distilled water

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

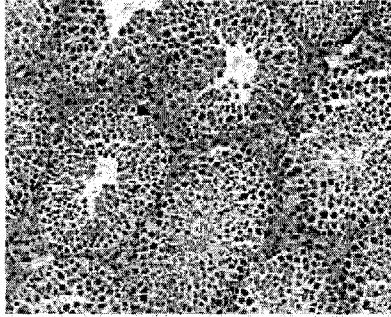
Sample C: Mice administered 10mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml Cynomorii Herba extract solution

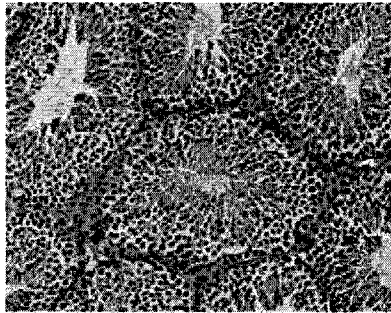
3. 辜丸組織에 미치는 影響

고환조직을 해부현미경 (Nikon, Japan) 하에서 관찰한 결과 모든 鎖陽 檢液群의 고환조직내 정소엽 (testicular

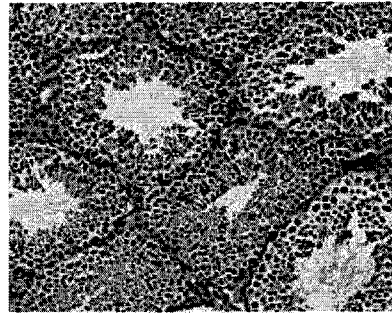
lobe) 직경이 대체로 크게 관찰되었으며 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig. 3, 4).



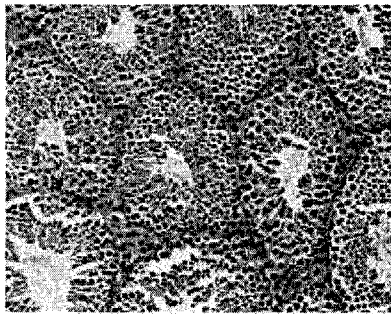
Control



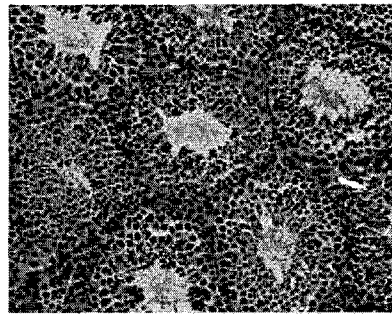
Sample A (0.1mg/ml)



Sample B (1mg/ml)

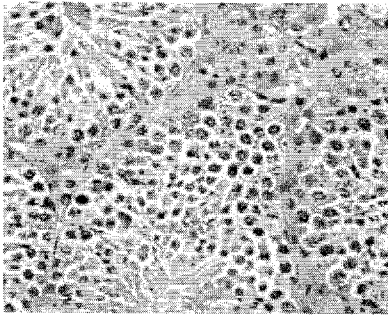


Sample C (10mg/ml)

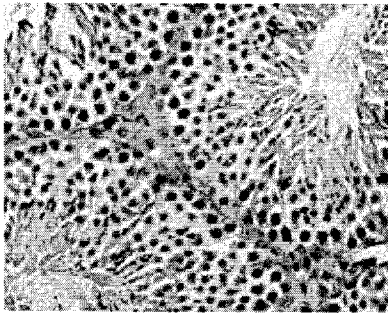


Sample D (100mg/ml)

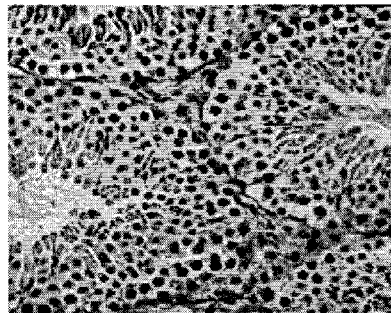
Fig. 3. Changes of tissue in the testis of mice administered Cynomorii Herba extract solution ($\times 200$)



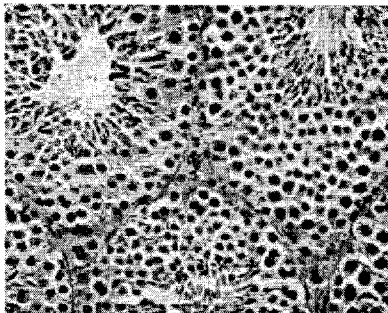
Control



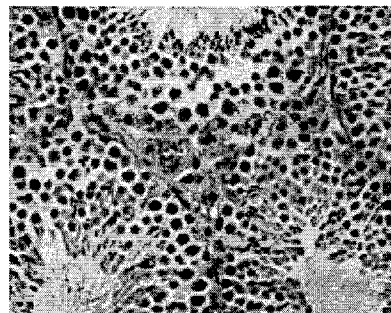
Sample A (0.1mg/ml)



Sample B (1mg/ml)



Sample C (10mg/ml)



Sample D (100mg/ml)

Fig. 4. Changes of tissue in the testis of mice administered Cynomorii Herba extract solution ($\times 400$)

4. 精子尖體 活性에 미치는 影響

Hyaluronidase의 흡광도는 대조군에서 0.0314 ± 0.0045 로 나타났다. Sample A, B, C 및 D는 각각 0.3150 ± 0.0036 , 0.2730 ± 0.0014 , 0.2880 ± 0.0015 및

0.2397 ± 0.0014 로 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 보였으며, 檢液群 간 비교 결과 sample A에서 가장 높은 결과를 나타내었다 (Table III).

Table III. Effect of Cynomorii Herba Extract Solution on the Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Groups	Sperm hyaluronidase activity
Control(n=5)	0.0314±0.0045 ^{1)a2)}
Sample A(n=5)	0.3150±0.0036 ^c
Sample B(n=5)	0.2730±0.0014 ^{b,c}
Sample C(n=5)	0.2880±0.0015 ^{b,c}
Sample D(n=5)	0.2397±0.0014 ^b

1) Mean±standard deviation

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

Control: Mice administered distilled water

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample C: Mice administered 10mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml Cynomorii Herba extract solution

5. 抗酸化酵素에 미치는 影響

1) Testicular peroxidase activity

Testicular peroxidase activity는 대조군에서 14.47±0.56nmol/min/ml로 나타났다. Sample A, B, C 및 D는 각각 18.58±0.68nmol/min/ml, 20.11±1.43nmol

/min/ml, 17.69±1.96nmol/min/ml 및 20.17±1.07nmol/min/ml로 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었으나, 鎖陽 檢液群 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table IV).

Table IV. Effect of Cynomorii Herba Extract Solution on the Activity of Testicular Peroxidase in the Testis of the Mice

Groups	Testicular peroxidase activity (nmol/min/ml)
Control(n=5)	14.47±0.56 ^{1)a2)}
Sample A(n=5)	18.58±0.68 ^b
Sample B(n=5)	20.11±1.43 ^b
Sample C(n=5)	17.69±1.96 ^b
Sample D(n=5)	20.17±1.07 ^b

1) Mean±standard deviation

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

Control: Mice administered distilled water

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample C: Mice administered 10mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml Cynomorii Herba extract solution

2) Testicular catalase activity

Testicular catalase activity는 대조군에서 0.3322±0.0251nmol/min/ml로 나타났다. Sample A, B, C 및 D는 각각 0.5

234±0.0323nmol/min/ml, 0.5619±0.0629nmol/min/ml, 0.5469±0.0302nmol/min/ml 및 0.4934±0.0136nmol/min/ml로 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 (p<0.01)를

나타내었으나, 鎭陽 檢液群 간의 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Table V).

Table V. Effect of Cynomorii Herba Extract Solution on the Activity of Testicular Catalase in the Testis of the Mice

Groups	Testicular catalase activity (nmol/min/ml)
Control(n=5)	0.3322±0.0251 ^{1)a2)}
Sample A(n=5)	0.5234±0.0323 ^b
Sample B(n=5)	0.5619±0.0629 ^b
Sample C(n=5)	0.5469±0.0302 ^b
Sample D(n=5)	0.4934±0.0136 ^b

1) Mean±standard deviation

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

Control: Mice administered distilled water

Sample A: Mice administered 0.1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample B: Mice administered 1mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample C: Mice administered 10mg/ml Cynomorii Herba extract solution

Sample D: Mice administered 100mg/ml Cynomorii Herba extract solution

IV. 考 察

불임의 원인은 크게 남성불임, 여성불임, 남성과 여성의 복합불임 및 기타 원인불명으로 구분할 수 있으며, 남성과 여성불임의 비율은 1:1로 볼 수 있다¹⁸⁾. 불임의 치료방법은 남녀 각각의 외과적 치료, 내과적 치료, 보조생식술로 대별되며⁵⁾, 최근에는 불임과 유전자 및 염색체 이상의 관련성을 증명하는 연구들이 이루어지고 있다¹⁹⁻²¹⁾.

이러한 불임 치료기술의 발달에도 불구하고 불임환자는 계속 증가 추세에 있으며³⁾, 정상 남성에게도 정자의 운동성, 정자의 농도, 정상형태의 정자수가 감소하고 있다²²⁾.

정액의 상태는 남성의 생식능력과 깊이 관련되며²³⁾, 보조생식술 중 체외수정의 경우 정자의 형태²⁴⁾ 및 운동성²⁵⁾에 따라 수정율이 영향을 받는 것으로 판명되고 있다. 이에 따라 불임치료에서

정액분석을 통한 접근이 보편화되어 있으며¹⁸⁾, 각종 불임치료 효과판정의 척도로 정액검사를 시행하고 있다^{26,27,28)}. 정액 및 정자의 질을 높일 수 있는 효과적인 내과적 치료방법은 현재까지 제시되고 있지 못하며⁴⁾, 홍삼²⁹⁾, 인삼^{30,31)} 및 기타 생약³²⁾을 이용한 불임치료에 대한 연구가 진행되고 있다.

한의학에서 남성 불임은 絶子³³⁾, 無子³⁴⁾, 無嗣³⁵⁾ 등으로 불리며, 原因 病證으로 陽痿, 強中, 早泄, 遺精, 不射精, 精冷 및 精少 등이 있다^{33,36,37,38)}. 남성 불임의 病因은 腎陽虛, 腎陰虛, 肝氣鬱結, 痰濕內蘊, 氣血虛, 氣滯血瘀 및 脾腎兩虛 등이며, 이에 따라 여러 治法이 제시되어 왔다⁸⁾.

특히 腎精의 병리적 상태와 남성 불임의 관련성이 증시되어⁹⁾ 回陽補精이 남성 불임의 기본 치료방법으로 여겨졌다³⁷⁻³⁹⁾. 이에 따라 근래에도 補腎陽하는 효능을 가진 紫河車⁴⁰⁾, 菟絲子¹⁰⁾, 淫羊藿^{12,13)} 및 鹿茸¹¹⁾ 등에 대한 연구가 이루어

어지고 있다.

補陽藥 중 鎖陽은 補腎陽, 益精血, 潤腸通便하여 남성불임의 치료제로 사용되어 왔는데¹⁴⁾, free radical인 DPPH에 대한 소거활성과 생식세포의 일종인 GC-1 spg cell의 생존을 증가 작용이 밝혀져 불임 치료 효과가 일부 증명되었으며¹⁶⁾, 간의 superoxide dismutase 및 catalase activity에 영향을 미쳐 노화방지에도 기여하는 것으로 밝혀졌다¹⁷⁾. 鎖陽이 精子의 數, 運動性 및 形成과 고환조직의 抗酸化酵素에 미치는 영향에 대한 연구도 보고되었으나¹⁵⁾ 濃度別 投藥에 대한 비교 연구는 아직까지 보고된 바 없었다.

이에 著者는 鎖陽의 濃度別 投藥이 수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度の 鎖陽 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 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 activity를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

정상 생식능력을 가진 8주령 ICR 계통 수컷 생쥐에게 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml 및 100mg/ml 농도의 鎖陽 檢液을 1일 1회 0.2ml씩 60일간 경구 투여한 결과 總 精子數와 活動 精子數는 1mg/ml 이상의 鎖陽 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였으며, 특히 10mg/ml 檢液群에서 가장 높은 결과를 나타내었다. 正常形態 精子數는 모든 鎖陽 檢液群에서 대조군보다 유의한 증가를 보였으며, 역시 10mg/ml 檢液群에서 가장 높은 결과를 나타내었다.

鄭¹⁵⁾은 鎖陽이 總 精子數, 活動 精子

數, 正常形態 精子數를 유의하게 증가시키는 것으로 보고하였는데, 투여 농도별로 효과차이를 살펴본 결과 특히 10mg/ml 檢液群에서 가장 높은 결과를 나타내었으므로, 임상에서 적정효과를 기대할 수 있는 투여 농도를 찾기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

鎖陽 檢液 投與후 고환조직을 관찰한 결과 고환조직 내 정소엽의 직경이 대체로 크게 관찰되었으며, 특히 정소엽간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었는데, 이는 鎖陽 檢液 投與로 고환조직의 성숙과 발달이 촉진되었음을 의미한다. 정세관 발생의 부족 또는 정세관 크기의 퇴화 시에 고환용적이 감소되며⁴¹⁾, 정자농도가 낮을수록 고환용적도 작아지는 경향을 보인다⁴²⁾. 따라서 檢液 投與후 고환 내 정자 형성이 증가된 것으로 유추할 수 있다.

정자가 수정이 되기 위해서 尖體化 반응을 거치는데⁴⁾, 精子尖體 활성도는 남성의 생식능력을 평가하는 지표가 되며 活動 精子數 및 正常形態 精子數와도 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있다⁴³⁾. 精子尖體 活性을 보기 위해 정자두부에서 분비되는 효소로⁴⁾, 고분자 다당류인 hyaluronic acid를 분해하는³²⁾ hyaluronidase의 흡광도를 측정된 결과 모든 鎖陽 檢液群에서 대조군보다 유의하게 높은 결과를 보였으며, 특히 0.1mg/ml 鎖陽 檢液群에서 가장 높게 나타났다.

활성산소는 정자의 기능적 이상을 초래하여 남성 불임을 유발하는 것으로 알려져 있으며^{44,45)}, 활성산소를 저지하는 항산화효소의 활성을 촉진하는 약물이 남성 불임 치료제로 사용되고 있다^{46,47)}.

鄭¹⁵⁾은 1mg/ml 농도의 鎖陽 檢液을 1 mg/kg/day로 1일 1회 28일간 8주령 수컷 白鼠에게 투여하여 testicular peroxidase activity 및 testicular catalase activity의 유의한 증가를 확인하지 못하였으나, 본 실험에서는 정상 생식능력을 가진 8주령 ICR계 수컷 생쥐에게 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml 및 100mg/ml 농도의 鎖陽 檢液을 1일 1회 0.2ml씩 60일간 경구투여한 결과 鎖陽 檢液群 모두 대조군보다 유의하게 높은 결과를 보였으나, 鎖陽 檢液群 간의 농도별 차이는 없었다. 이는 檢液 제조방법, 투여 농도 및 투여 기간의 차이에 의하거나, 實驗 動物인 SD rat와 ICR계 mouse의 특성 차이에 의한 것으로 추정된다.

Testicular catalase는 백혈구에서 발생한 O₂를 제거하며 생식기의 염증 시에 정자를 보호하는 역할을 하여 정자의 기능을 높이는데⁴⁵⁾, 남성 불임에 효과가 있는 것으로 밝혀진 韭子⁴⁸⁾와 巴戟^{46,49)}은 testicular catalase activity에는 유의한 효과를 발휘하지 못하는 것으로 나타나, 간 및 혈액에서도 항산화작용을 하는 것으로 밝혀진¹⁷⁾ 鎖陽과 차이를 보였다.

다만 활성산소가 생리적인 상황에서 정자의 과운동성과 침체반응을 유도하므로⁴⁵⁾, 정상 고환에서 testicular catalase activity 상승의 유의성 여부만으로 불임 치료의 효과 유무를 단정할 수는 없을 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과를 종합해 보면, 總精子數, 活動精子數, 正常形態精子數, 精子尖體 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular

catalase의 activity는 1mg/ml 이상의 鎖陽 檢液群에서 모두 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 특히 總精子數, 活動精子數 및 正常形態精子數는 10 mg/ml 檢液群에서 가장 높게 나타났으며, 精子尖體 活性은 0.1mg/ml 檢液群에서 가장 높게 나타났다. 또한 鎖陽 檢液은 睪丸組織 정소엽 간의 혈관을 증식시키고, 정소엽의 크기를 증가시킴으로써 수컷 생쥐의 생식능력 개선에 유효함을 확인할 수 있었다.

V. 結 論

鎖陽의 濃度別 投藥이 수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度の 鎖陽 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 活性 및 抗酸化酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 activity를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 總精子數 및 活動精子數는 1mg/ml, 10mg/ml 및 100mg/ml 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며, 특히 10mg/ml 檢液群에서 가장 높게 나타났다.
2. 正常形態精子數는 모든 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며, 특히 10mg/ml 檢液群에서 가장 높게 나타났다.
3. 睪丸組織은 鎖陽 投藥 후 정소엽의 직경이 크게 증가하였고, 정소엽 간의 혈관 형성이 뚜렷하게 관찰되었다.
4. 精子尖體 活性은 모든 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며, 특히 0.1mg/ml 檢液群에서 가장

높게 나타났다.

5. Testicular peroxidase activity와 catalase activity는 모든 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다.

□ 투 고 일 : 2006년 04월 28일

□ 심 사 일 : 2006년 05월 01일

□ 심사완료일 : 2006년 05월 09일

參考文獻

1. 이영석. 아동 출산·양육에 대한 사회적 문제와 대책. 생활과학. 2004;7:151-163.
2. 한유미, 곽혜경. 현대 한국사회의 출산률저하와 여성사회참여. 한국생활과학회지. 2004;13(1):29-40.
3. 이우식. 불임치료의 최신지견. 대한산부인과학회지. 2005;48(5):1106-1129.
4. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(제3판). 서울: 칼빈서적. 1997; 598-647.
5. 서울대학교 의과대학. 생식의학 및 가족계획. 서울: 서울대학교 출판부. 1998;125-134.
6. 김하영, 이희영. 남자불임증: IX. 남자 불임증의 임상적 고찰. 대한비뇨기과학회지. 1980;21(3):221-229.
7. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울: 杏林出版. 1994;278-282.
8. 金吉燮, 徐雲教, 鄭智天. 男性不妊症의 治療에 對한 文獻的 考察. 韓醫學研究所 論文集. 1994;3:151-162.
9. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울: 東洋醫學研究院. 1993;712-726.
10. Han JY et al. Effects of Cuscutae Semen on the reproductive competence of male mice. J Oriental OB & GY.

- 2003;16(1):136-142.
11. 吳在晟 외. 鹿茸이 수컷생쥐의 生殖과 胚發生에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(1):129-137.
12. 金承賢 외. 淫羊藿이 흰쥐 정자의 운동성에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):52-63.
13. 李昌勳 외. 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.
14. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울: 永林社. 1998;571-572.
15. 鄭嬪馨 외. 鎖陽이 白鼠 精子의 數, 運動性 및 形成에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(4):24-35.
16. 梁雄模. 鎖陽의 GC-1 spg Cell에 대한 항산화 효과. 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文. 2005.
17. 金首將. 鎖陽藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究. 大田大學校 大學院 碩士學位論文. 2001.
18. 서창석. 불임의 진단과 치료. 가정의학회지. 1999;20(11):1466-1476.
19. 이경호, 이정민, 이권수. 남성불임의 유전적 요인 및 불임유전자 연구 현황. 대한내분비학회지. 2001;16(6):550-561.
20. 이화진 외. 신체적, 정신적 발달 지연 및 불임인 환자에 있어서 성염색체 이상. 인구의학연구논집. 2002;15:32-38.
21. 김정연 외. 불임 환자에 있어서 황체 형성호르몬에 관한 유전자 분석. 대한산부인과학회지. 2000;43(8):1389-1393.
22. 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.
23. Jouannet P et al. Semen quality and male reproductive health: the controversy about human sperm concentration decline. *APMIS*. 2001; 109(3): 333-344.
 24. 엄기봉 외. 정자수정능력검사와 일반적인 체외수정과 정자직접주입법에서의 수정률과의 상관관계에 관한 연구. *대한산부인과학회지*. 1998;41(3):730-737.
 25. Ben-Chetrit A et al. In vitro fertilization outcome in the presence of severe male factor infertility. *Fertil Steril*. 1995;63(5):1032-1037.
 26. 한형장 외. 정자배양시 모체혈정이 정자 운동성에 미치는 영향. *대한산부인과학회지*. 1987;30(7):988-993.
 27. 남상석, 선우섭. 장기간 중강도의 저항성 및 지구성 트레이닝이 정자운동성과 형태에 미치는 영향. *한국체육학회지*. 2001;40(4):841-851.
 28. 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.
 29. 김용태 외. 홍삼추출물의 남성불임 치료 효과. *대한남성과학회지*. 2002;20(2):94-99.
 30. 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.
 31. 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(7):842-849.
 32. 차배천, 이은희, 조재용. 생약의 glutathione S-transferase 활성과 hyaluronidase 저해효과. *생약학회지*. 2004;35(3):184-188.
 33. 丁光迪 主編. 諸病源候論校注. 北京: 人民衛生出版社. 1992;19.
 34. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 一中社. 1988;16-18.
 35. 龔廷賢. 增補萬病回春(下). 서울: 醫聖堂. 1991;98.
 36. 傅山. 國譯傳青主男女科. 서울: 大星文化社 1995;395-410.
 37. 許俊. 東醫寶鑑. 서울: 法仁文化史. 1999; 1584.
 38. 金定濟. 東洋의학診療要鑑(上). 서울: 成輔社. 1997;660.
 39. 張景岳. 景岳全書(上·下). 서울: 圖書出版 鼎談. 1999;767.
 40. 朴大淳 외. 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.
 41. 민현기. 임상 내분비학. 서울: 고려의학. 1990;457-474.
 42. 박남철 외. 남성불임: 최근 10년간의 임상통계학적 분석. *대한비뇨기과학회지*. 1996;37(8):939-946.
 43. Cui YH et al. Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. *Asian J Androl*. 2000; 2(3):229-232.
 44. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*. 1996;48(6):835-850.
 45. 백재승. 남성불임과 활성산소. *대한남성과학회지*. 2003;21(1):1-11.
 46. Choi EM et al. Effects of Morindae

- officialis Radix on the Spermatogenesis and Antioxident Activities in the SD Rat. J Kor Oriental Med Soc. 2005;26(4):31-38.
47. 박남철 외. Rebamipide의 사람 정액 내 항산화효과. 대한비뇨기과학회지. 2002;43(4):332-338.
48. 박창진, 백승희. 韭子가 음성 백서의 정소기능 및 catalase와 peroxidase의 활성화에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(3):72-81.
49. 許智源 외. 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.