

돼지 정자의 운동역학 변수와 산자수 간의 상관 관계

권우성¹ · 류제선² · 박주완³ · 김인철⁴ · 김진¹ · Md Saidur Rahman¹ · 윤성재¹ · 박유진¹ · 유영아¹ · 방명걸^{1,†}

¹중앙대학교 생명자원공학부 동물생명공학전공, ²(주)선진 한마을 단양 GGP,

³(주)선진, ⁴농촌진흥청 국립축산과학원 양돈과

Correlation of Motion Kinematics of Spermatozoa and Litter Size in Porcine

Woo-Sung Kwon¹, Je-Sun Ryu², Joo Wan Park³, In Cheul Kim⁴, Jin Kim¹ and Md Saidur Rahman¹,
Sung-Jae Yoon¹, Yoo-Jin Park¹, Young Ah You¹ and Myung-Geol Pang^{1,†}

¹Department of Animal Science and Technology, School of Bioresource & Bioscience,
Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

²Sunjin Hanmaeul Danyang GGP, Chungcheongbuk-do 395-843, Korea

³Sunjin, Icheon 467-739, Korea

⁴National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Cheonan331-801, Korea

ABSTRACT

Male factor infertility or sub-fertility contributed half of all cases of infertility while the semen abnormality is the current topic of argument. Conventional analysis of semen showed poor correlation with fertility. Therefore, evaluation of current semen analysis method is necessary to improve standards of semen assessment. The goal of this study was to investigate that correlation between motion kinematic before and after capacitation and litter size in porcine. Sperm motility and kinematics were measure by computer-assisted sperm analysis (CASA). The motility of spermatozoa was positively correlated with curvilinear velocity (VCL), average path velocity (VAP), and mean amplitude of head lateral displacement (ALH) ($p < 0.05$). Where as VCL positively correlated with VSL, VAP and ALH ($p < 0.01$). Straight-line velocity (VSL) was positively correlated with VAP and ALH ($p < 0.01$). VAP was significantly positively correlated with ALH ($p < 0.01$). Also, we found significant positive correlation among variation of VSL, VAP and ALH ($p < 0.05$). No motility and kinematic parameter are correlated with litter size. However, litter size was significantly correlated with breed ($p < 0.05$). Our results suggested that analysis of sperm motility and kinematics using CASA is questionable for prediction of litter size. However, it has some practical importance to evaluate semen commercially.

(Key words : Porcine, Sperm kinematics, CASA, Litter size, Correlation)

서 론

대부분의 양돈농가는 돈육의 생산을 위하여 인공수정을 이용하고 있다. 그러므로 이러한 생산 체계에서 수태 능력이 불량한 개체를 이용한다면 엄청난 경제 손실을 초래하게 된다. 따라서 씨수태지의 수태 능력을 예측 혹은 진단하고자 하는 많은 연구가 진행되어 왔다. 정액의 성상에 따라 정자의 수정능력을 예측하기 위하여 많은 학자들이 정자의 운동성, 형태학적 검사 및 생존성 검사 등의 양적 변수를 이용한 정액의 특성과 임신율, 분만율, 산자수를 이용한 수정능력 혹은 가임 능력간의 관계를

연구하였다. 그러나 이러한 정액의 양적 특성은 수정능력 혹은 가임 능력과 낮은 상관 관계를 보이고 있어 수태 능력을 반영하지 못하고 있는 실정이다(Gadea와 Matas, 2000; Gadea 등, 2004; Johnson 등, 2000; Rodriguez-Martinez, 2003; Aitken, 2006; Oh 등, 2010a,b).

1980년 후반에 개발되어 현재까지 널리 사용되고 있는 computer-assisted sperm analysis(CASA)는 정액검사를 객관적으로 시행할 수 있도록 하여 수정능력을 간접적으로 평가하는 방법으로 널리 사용되고 있다(Holt 등, 1995). 인공수정 산업 분야에서 CASA의 이용은 채취직후 혹은 희석액 희석 후 정액, 혹은 보존 기간에 따라 운동성(%) 및 운동역학(motion kinematics)을 측정하고 있다.

* 본 연구는 농촌진흥청 15대 아젠다 과제(과제번호: PJ907170)의 지원에 의해 이루어짐.

† Corresponding author : Phone: +82-31-670-4841, E-mail: mgpang@cau.ac.kr

정자는 자성생식기를 이동하면서 수정을 위해 일련의 형태적, 기능적 변화를 겪게 되는데, 이를 '수정능력획득'이라 한다(Austin, 1951; Chang, 1951). 이는 수정을 위해 반드시 정자가 겪어야 하는 과정으로 이때 정자의 운동 속도는 빠르게 증가하며, 특정 운동양상 역시 변화하게 된다(Suarez, 2008). 따라서 정자의 수정능력획득 전후의 정자의 운동성 및 운동역학 변수의 비교는 수정능력을 평가하기 위한 필요 요소로 간주되었다.

본 연구에서는 종돈장에서 채취한 정액을 CASA를 이용하여 수정능력획득 전후 정자의 운동성과 운동역학 변수를 측정 후 산자수의 상관 관계를 확인하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

정액 및 산자수 결과의 수집

종모돈 Landrace 20두 및 Yorkshire 16두의 공시와 모돈의 산자수 결과는 (주)선진 한마을 단양 GGP에서 제공받았다.

수정능력획득

수정능력획득을 위해 Oh 등(2010a)의 방법을 이용하여 10 µg/ml heparin과 10% fetal bovine serum이 포함되어 있는 modified tissue cultured media 199 배양액을 사용하여 39°C CO₂ 인큐베이터에서 30분간 배양하였다.

운동성과 운동역학 측정

정자 10 µl를 39°C로 예열된 Makler counting chamber에 올린 후 CCD 카메라(JVC, Japan)가 부착된 광학현미경(Nikon Plus Japan)에 연결된 CASA system (SAIS Plus version 10.1, Medical Supply, 서울, 한국)을 이용하여 정자의 운동성 및 운동역학 변수를 수정능력 획득 전후 측정하였다. 정자의 운동 역학 변수 측정에 대한 각 항목의 정의는 표 1과 같다.

통계 분석

통계 분석은 통계 프로그램(SPSS Version 12.0, USA)을 이용하였으며, 수정능력 획득 전 또는 후의 운동성, 운동역학, 수정능력획득 전후의 변화량과 산자수와의 상관 관계를 분석하였다. $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결 과

Landrace 종모돈은 20두가 공시되었고, 총 임신두수는 577두이며, 평균 산자수는 11.78 ± 0.18 두였다. Yorkshire 종모돈은 16두가 공시되었고, 총 임신두수는 532두이며, 평균 산자수는 12.47 ± 0.42 두였다. 운동성 및 운동역학 변수는 Yorkshire가 Landrace보다 높은 수치를 나타내었으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다(표 2). 상관 관계 분석 결과, 운동성은 곡선 운동 속도 (VCL), 평균 경로 속도 (VAP), 측두 이동거리(ALH)과 정의 상관 관계를 보였고 ($p < 0.05$), VCL은 운동성과 직선 운동 속도(VSL), VAP, ALH과 유의적인 정의 상관 관계를 보였다($p < 0.01$). VSL은 VAP와 ALH 그리고 VAP는 ALH와 유의적인 정의

Table 2. *In vivo* fertility outcomes and semen parameters

	Landrace	Yorkshire
Number of boars	20	16
Number of sows	577	532
Litter size	11.78 ± 0.18	12.47 ± 0.42
Before capacitation		
MOT	69.68 ± 4.27	73.75 ± 3.56
VCL	100.15 ± 6.51	108.59 ± 5.17
VSL	41.75 ± 1.55	44.47 ± 2.12
VAP	57.84 ± 2.06	60.57 ± 2.67
ALH	4.77 ± 0.17	4.91 ± 0.21
After capacitation		
MOT	62.67 ± 4.73	68.16 ± 3.82
VCL	113.52 ± 3.66	112.12 ± 4.45
VSL	62.56 ± 2.93	63.62 ± 3.99
VAP	68.86 ± 2.47	70.36 ± 3.23
ALH	5.28 ± 0.16	5.30 ± 0.20

Table 1. Definition of chosen motility kinematic descriptions

Name	Units	Description
Curvilinear velocity (VCL)	µ m/s	Time-average velocity of sperm head along its actual curvilinear trajectory as perceived in two dimensions under the microscope
Straight-line velocity (VSL)	µ m/s	Time-average of a sperm head along the straight line between its first detected position and its last position
Average path velocity (VAP)	µ m/s	Time-average velocity of a sperm head along its spatial average trajectory
Mean amplitude of head lateral displacement (ALH)	µ m	Mean head displacement along its curvilinear trajectory around the mean trajectory

Table 3. Correlations between sperm kinematics and litter size

	MOT	VCL	VSL	VAP	ALH
Litter size	0.02	-0.032	0.038	0.038	-0.015
Δ	-0.18	0.21	0.665**	0.440**	0.291*
MOT		0.307**	0.081	0.234*	0.394**
VCL			0.462**	0.629**	0.789**
VSL				0.901**	0.721**
VAP					0.895**

* $p < 0.05$. ** $p < 0.01$.

상관 관계를 보였다($p < 0.01$). VSL, VAP 및 ALH의 수정능 획득 전후의 차이값(Δ)에서 정의 상관 관계가 나타났다($p < 0.05$). 산자수와 정자의 운동성 및 운동역학 간의 상관 관계가 없는 것으로 나타났다(표 3).

고 찰

정액의 성상과 수정능력을 평가하는 방법으로 생존성, 운동성, 형태, 정자의 대사, 세포막의 상태, 침체막 검사 등이 현재까지 사용되고 있다(Zavos 등, 1995; Larsson과 Rodriguez Martinez, 2000). 이 중 객관적인 운동성을 측정하는 방법인 CASA는 포유류를 대상으로 정자의 운동성 측정과 돼지 정자의 수태 능력 예측을 위해 이용될 수 있다고 보고되었다(Holt 등, 1997; Vizcarra와 Ford, 2006). 또한, CASA를 이용하여 측정된 정자의 특정 운동역학 변수와 수정능력 간에 밀접한 관련이 있음이 보고되었고(Hirai 등, 2001). 자궁 점막 내 침투성과도 밀접한 관련이 있음이 보고되었다(Aitken 등, 1982, 1985, 1986; Jeulin 등, 1986; Mortimer 등, 1986). 하지만 운동성과 수정능력 간의 상관 관계는 아직도 논쟁이 되고 있다(Galli와 Bosisio, 1988; Selles 등, 2003).

따라서 본 연구에서는 CASA를 이용하여 수정능력 획득 전후의 운동성과 운동역학 변수 (VCL, VSL, VAP, ALH)를 측정하고, 각각의 운동성과 운동역학 변수들의 차이가 산자수에 미치는 영향을 조사하기 위해 상관 관계를 분석하였다.

운동성과 대부분의 운동역학 변수들 간에는 정의 상관 관계를 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 또한, 운동성 및 운동역학 변수의 수정능 획득 전후 변화값 간의 상관 관계 분석 결과, 요인들 간의 정의 상관 관계가 있음도 확인하였다($p < 0.05$). 이 결과는 King 등(2000)과 Hirai 등(2001)이 보고한 CASA를 사용하여 얻어진 정자의 운동성 및 VCL, VSL, VAP 간에 유의적인 양의 상관 관계가 있다는 내용과 부합된다. 이러한 결과는 운동성의 비율이 높은 개체가 낮은 개체보다 상대적으로 빠른 움직임이 있다고 평가할 수 있고, 특히 정자의 운동성(%)이 높을수록 빠른 직선 속도를 갖는 것으로 설명할 수 있다.

그러나 수정능력 전후의 정자의 운동성과 운동역학 변수, 그리고 요인들의 차이값과 산자수 간의 상관 관계는

나타나지 않았다. 이러한 결과는 정자의 성상을 평가하기 위해 운동성 및 운동역학 변수만을 이용하여 산자수를 예측하기 어렵다는 것을 의미한다. 정액의 성상에 따라 정자의 수정능력을 예측하기 위하여 많은 학자들이 정자의 운동성, 형태학적 검사 및 생존성 검사 등의 양적 변수를 이용한 정액의 특성과 임신율, 분만율, 산자수를 이용한 수정능력 혹은 가임 능력 간의 관계를 연구하였지만, 정액의 양적 특성은 수정능력 혹은 가임 능력과 낮은 상관 관계를 보이고 있어 수태 능력을 반영하지 못하고 있다(Gadea와 Matas, 2000; Gadea 등, 2004; Johnson 등, 2000; Rodriguez-Martinez, 2003; Aitken, 2006; Oh 등, 2010a,b). 최근 Oh 등(2010a)은 Chrolotetracycline 염색법을 이용한 침체 반응 검사와 산자수 간의 상관 관계를 분석하여 수태 능력을 예측하는 새로운 방법을 개발하였다. 그러나 이들의 연구에서 역시 CASA를 이용하여 측정된 운동성과 운동역학 변수는 산자수와 상관 관계가 없음이 보고되었고, 이는 본 연구의 결과와 부합한다.

정액을 채취한 후 정자가 수정능력을 획득하기 전후에 측정된 운동성 및 운동역학 변수들은 산자수를 예측하여 수태 능력을 평가하는 자료로 이용하기 어렵지만, 인공수정 산업 분야에서 기본적인 정액의 성상 평가 등, 양적 분석을 위한 기초 자료로 활용할 수 있다고 사료된다.

인용문헌

1. Aitken RJ, Best FS, Richardson DW, Djahanbakhch O, Mortimer D, Templeton AA, Lees MM (1982): An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility: conventional criteria, movement characteristics, and fertilizing capacity. *Fertil Steril* 38:212-221.
2. Aitken RJ, Sutton M, Warner P, Richardson DW (1985): Relationship between the movement characteristics of human spermatozoa and their ability to penetrate cervical mucus and zona-free hamster oocytes. *J Reprod Fertil* 73:441-449.
3. Aitken RJ, Warner PE, Reid C (1986): Factors influencing the success of sperm-cervical mucus interaction in patients exhibiting unexplained infertility. *J Androl* 7:3-10.
4. Aitken RJ (2006): Sperm function tests and fertility. *Int J Androl* 29:69-75.
5. Austin (1951): Observations on the penetration of the sperm into the mammalian egg. *Aust J Sci Res B* 4:581-596.
6. Chang MC (1951): Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature* 168:697-698.
7. Gadea J, Matas C (2000): Sperm factors related to *in vitro* penetration of porcine oocytes. *Theriogenology* 54:1343-1357.
8. Gadea J, Selles E, Marco MA (2004): The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. *Reprod Domest Anim* 39:303-308.

9. Galli A, Bosisio M (1988): Quality of semen stored at +15/16°C as related to fertility of artificially inseminated swine. *Theriogenology* 30:1185-1190.
10. Hirai M, Boersma A, Hoeflich A, Wolf E, Foll J, Aumulle TR, Braun J (2001): Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (*Sus scrofa*): relation to fertility and seminal plasma growth factors. *J Androl* 22:104-110.
11. Holt WV (1995): Can we predict fertility rates? Making sense of sperm motility. *Reprod Domest Anim* 31:17-24.
12. Holt C, Holt WV, Moore HD, Reed HC, Curnock RM (1997): Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: results of two fertility trials. *J Androl* 18:312-323.
13. Jeulin C, Feneux D, Serres C, Jouannet P, Guillet-Rosso F, Belaisch-Allart J, Frydman R, Testart J (1986): Sperm factors related to failure of human *in-vitro* fertilization. *J Reprod Fertil* 76:735-744.
14. Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WM (2000): Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci* 62:143-172
15. King LM, Holsberger DR, Donoghue AM (2000): Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm mobility phenotype in turkeys. *J Androl* 21:65-71.
16. Larsson B, Rodríguez-Martínez H (2000): Can we use *in vitro* fertilization tests to predict semen fertility? *Anim Reprod Sci* 60:327-336.
17. Mortimer D, Pandya IJ, Sawers RS (1986): Relationship between human sperm motility characteristics and sperm penetration into human cervical mucus *in-vitro*. *J Reprod Fertil* 78:93-102.
18. Oh SA, Park YJ, You YA, Mohamed EA, Pang MG (2010a): Capacitation status of stored boar spermatozoa is related to litter size of sows. *Anim Reprod Sci* 121:131-138
19. Oh SA, You YA, Park YJ, Pang MG (2010b): The sperm penetration assay predicts the litter size in pigs. *Int J Androl* 33:604-612.
20. Rodríguez-Martínez H (2003): Laboratory semen assessment and prediction of fertility: still utopia? *Reprod Domest Anim* 38:312-318.
21. Sellés E, Gadea J, Romar R, Matás C, Ruiz S (2003): Analysis of *in vitro* fertilizing capacity to evaluate the freezing procedures of boar semen and to predict the subsequent fertility. *Reprod Domest Anim* 38:66-72.
22. Suarez SS (2008): Control of hyperactivation in sperm. *Hum Reprod Update* 14:647-657.
23. Vizcarra JA, Ford JJ (2006): Validation of the sperm mobility assay in boars and stallions. *Theriogenology* 66:1091-1097.
24. Zavos PM, Correa JR, Sofikitis N, Kofinas GD, Zarmakoupis PN (1995): A method of short-term cryo-storage and selection of viable sperm for use in the various assisted reproductive techniques. *Tohoku J Exp Med* 176:75-81.

(접수일자: 2012. 9. 6 / 채택일자: 2012. 9. 17)