

산화스트레스에 노출된 정자의 생존성 및 운동성에 있어서 커큐민의 이중효과

화정석^{1,4}, 김은진^{2,4}, 류지현², Adrian S. Siregar², 박창윤³, 최창용⁵, 강다원^{2,3,4*}

¹경상대학교 의과대학 비뇨기과학교실 ²경상대학교 의과대학 생리학교실
³경상대학교 의과대학 의예과 ⁴건강과학연구원 ⁵농촌진흥청 국립축산과학원

Dual effect of curcumin on viability and motility of bovine sperm exposed to oxidative stress

Jeong Seok Hwa^{1,4}, Eun-Jin Kim^{2,4}, Ji Hyeon Ryu², Adrian S. Siregar², Chang Yoon Park³, Changyong Choe⁵, Dawon Kang^{2,3,4*}

¹Department of Urology, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52727, South Korea

²Department of Physiology, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52727, South Korea

³Department of Premedicine, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52727, South Korea

⁴Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 52727, South Korea

⁵National Institute of Animal Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, South Korea

ABSTRACT

Although cryopreservation of sperm is routinely used for clinical requirement, it has some problems, such as high generation of reactive oxygen species (ROS) and cold-shock. To reduce the detrimental damage in sperm, anti-oxidants were added to cryoprotectant for sperm. Curcumin is one of anti-oxidants, which are added in cryoprotectants. However, recent studies have demonstrated that curcumin decreases sperm viability and motility. This study was performed to identify the effect of curcumin on hydrogen peroxide (H₂O₂)-exposed bovine sperm, which were cryopreserved-thawed. In H₂O₂-exposed bovine sperm, reactive oxygen species (ROS) were significantly reduced by treatment with curcumin in a dose-dependent manner ($p < 0.05$). Among tested concentrations of curcumin (1 to 50 μ M), 30 and 50 μ M curcumin showed anti-oxidant effect on H₂O₂-induced ROS generation. On the other hand, combination of 30 or 50 μ M curcumin with anti-oxidant H₂O₂ increased the percentage of apoptotic sperm compared to only H₂O₂ treatment. Sperm viability was also decreased in the combination of 30 or 50 μ M curcumin with H₂O₂ as judged by FDA/PI staining. H₂O₂ - induced decrease in sperm progressive motility was recovered by treatment with 1 μ M curcumin. These results show that high concentration of curcumin has anti-oxidant effect, but it has also cytotoxic effect on bovine sperm. Sperm viability and motility might be more affected by cytotoxic signals of curcumin compared to antioxidant signals.

(Key word: Curcumin, Korean cattle, Reactive oxygen species, Sperm motility, Sperm viability)

서 론

세포 동결기술의 발달로 포유동물 생식세포의 인공수정 및 수정란 이식이 보편화 되었다. 특히, 동결정액의 사용은 손쉽게 정액을 이용할 수 있으므로 반복해서 시술할 수 있는 면에서 매우 효과적이다. 이러한 기술은 소, 돼지 등 가축을 개량하는 방법으로 지속적으로 활용해오고 있다. 그러나 동결보존 기술의 높은 효율성에도 불구하고 급격한 온도변화에 의한

활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 생성이 정자의 생존성 및 운동성을 감소시켜 그 사용에 제한이 있다. 기준치 이상의 활성산소 생성은 산화스트레스에 의해 정자의 유전적 기능적 보존성에 영향을 준다(Sapanidou 등, 2015).

정액을 동결-융해할 경우 정자 내에 과도한 활성산소가 생성된다는 것은 오래전부터 잘 알려져 왔는데(Gadea 등, 2004; Mazzilli 등, 1995), 고농도의 활성산소가 존재할 경우 불포화 지방산에 지질 과산화가 일어나 원형질막이 손상되며 정자의

* Corresponding author: Dawon Kang

Tel: +82-55-772-8044

E-mail: dawon@gnu.ac.kr

운동성 및 생존율이 저하되고 철허의 손상 및 난자와의 융합이 억제된다. 그 결과, 신선정자에 비해 동결정자는 수정 및 수정의 감소를 초래하게 된다 체내에 활성산소 방어시스템이 존재할지라도 동결-융해로 인해 발생하는 고농도의 활성산소를 제거하는데에는 한계가 있다 따라서 이러한 활성산소의 생성에 의한 정자의 생존성 및 운동성 감소를 줄이고자 항산화제가 포함된 동결보존액을 이용한 동결방법이 개발되어 왔다(Amidi 등, 2016).

커큐민(curcumin)은 생강과 식물인 울금이나 강황에서 추출한 성분으로 특이한 맛과 향을 가지고 있으며 항산화, 항염증 및 항암 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Joe 등, 2004; Duvoix 등, 2005; Menon and Sudheer, 2007; Wiken 등, 2011). 그리고 커큐민이 돼지정자의 동결-융해 동안 발생하는 산화스트레스로부터 정자를 보호하는 역할이 보고되었으며(전과김, 2013), 산화스트레스에 노출된 소정자 역시 커큐민이 항산화 효과를 나타내어 정자를 보호한다고 한다(Tvrda 등, 2016). 그러나 최근 인간정자를 대상으로 한 연구에서 커큐민이 정자의 전진성 운동을 감소시킨다는 결과가 보고되었다(Naz, 2014). 정자의 전진성 운동 감소는 커큐민의 농도에 의존적으로 나타났다 이러한 상반되는 연구결과에 근거하여 그리고 커큐민이 암세포 사멸을 유도하는 효과를 바탕으로 커큐민이 항산화효과 뿐만 아니라 세포에 독성을 유발할 수도 있다는 가설을 세웠다

본 연구에서는 동결-융해된 한우 정자에 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)를 처리하여 과잉 산화스트레스를 유발시킨 후 커큐민 처리 농도에 따라 정자의 생존성 및 운동성을 비교분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에서는 농협중앙회 한우개량사업소에서 판매하는 KPN 동결정액을 사용하였으며 구입한 동결정액은 1일 동안 액체질소에 보존한 후 융해하였다 동결 스트로는 37°C 항온수조에서 30초간 융해 후 정액을 Ham's F-10 배양액으로 희석하여 실험에 사용하였다 DMSO만을 용매로 사용한 커큐민이 배양액에 첨가될 경우 침전물이 발생하는 것을 감소시키기 위해 DMSO와 NaOH(0.2 N)를 1:1로 혼합한 용매를 사용하였다 최종 커큐민 0.1 M을 만든 후 Ham's F-10 배양액을 이용하여 실험에 필요한 농도로 희석하고 pH를 7.4로 조정하였다 본 연구에 사용된 시약 및 배양액은 다른 표시가 없는 경우 Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

2. 활성산소 측정

커큐민 처리군과 대조군의 정자에서 활성산소 발생은 5 μ M dichlorodihydrofluorescein (H₂DCFDA, Calbiochem, San Diego, CA, USA)을 암실에서 30분 동안 배양한 후 측정하였다 활성산소는 산화스트레스 유도제의 하나인 내인성 활성산소과산화수소를 처리하여 유도하였다(Gough와 Cotter, 2011), 커큐민의 항산화효과는 커큐민과 과산화수소를 1시간 동안 병합 처리하여 분석하였다 H₂DCFDA로 염색한 세포는 PBS로 세 번 수세한 후 공초점현미경(Olympus IX70 Fluoview, Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 형광의 강도를 분석하였다 녹색형광은 488 nm와 518 nm 레이저 광대대에서 측정되었다 Fluoview software 프로그램(version 2.0, Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 분석하였다

3. 정자생존율

생존율 검사는 fluorescein diacetate (FDA)와 propidium iodide (PI)를 이용하여 실시하였다 세포가 FDA를 흡수할 경우는 비형광 물질이었던 FDA가 세포 내에 존재하는 에스테라아제(esterase)에 의존적으로 반응하여 녹색의 형광 대사산물인 플루오레세인(fluorescein)으로 전환된다 대조 염색으로 propidium iodide (PI)의 핵염색을 실시하는데 PI는 살아있는 세포의 세포막을 통과할 수 없다 따라서 녹색을 보이는 세포는 살아있는 세포로, 빨간색으로 염색된 세포는 죽은 세포로 계산한다. 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)이 들어있지 않은 배양액(5 mL)에 FDA(5 mg/mL) 8 μ L와 PI(2 mg/mL) 50 μ L를 넣어 염색시약을 만들었다 2시간 또는 20시간 동안 과산화수소(100 μ M 또는 300 μ M)와 여러 가지 농도의 커큐민에 노출되었던 정자로부터 배양액을 제거하고 염색시약을 넣어 실온에서 5분간 빛을 차단한 상태로 배양하였다 배양 후 염색시약을 제거하고 완충용액(phosphate buffered saline, PBS)으로 세 번 수세하였다 수세 후 정자에 FBS가 들어있지 않는 배양액을 넣고 공초점현미경(Olympus, Tokyo, Japan)으로 생존성을 분석하였다 정확한 실험결과를 얻기 위하여 또 다른 생존성 분석방법인 MTT (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide) 분석을 병행하였다

4. 세포사멸사 분석

세포사멸사를 확인하기 위하여 DeadEnd™ Fluorometric TUNEL system (Promega, Madison, WI, USA)을 이용하여 염색을 실시하였다 정자는 유리슬라이드에 도말되었고, 4% paraformaldehyde로 4°C에서 25분 동안 고정하였다 고정된 세포를 PBS로 3번 수세한 후 5분 동안 0.2% Triton X-100으로 배양하여 세포의 투과도를 높였다 평형 완충용액에 10분 동안 실온에서 평형을 유도하였다 세포에 TdT 반응 혼합물

을 처리하여 37°C에서 60분간 배양하였으며 반응을 정지시키기 위해 2X SSC 용액에 15분 동안 침수시켰다. PBS용액으로 각 5분씩 3번 수세한 후 wet mounting하여 공초점현미경(Olympus)으로 세포자멸사를 관찰하였다 핵 염색을 위해 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 염색을 수행하였다 세포자멸사를 보이는 정자는 녹색형광으로 나타나고 핵염색은 파란색으로 보인다

5. 정자 운동성 평가

정자의 전진성 운동과 같이 한 가지 인자만 분석을 할 경우에는 실험실 고전적 방식이 효율적임을 고려하여 동결용해된 정액 10 µL를 혈구계산관위에 올려놓고 400배율의 현미경에서 운동성을 평가하였다. 4개의 영역을 계산하여 운동성 있는 정자와 움직이지 않는 정자로 분류하였는데 지속적으로 움직이면서 전진하는 정자를 전진성 운동성이 있는 정자로 판단하였다. 연속적인 세 번의 계산으로 평균값을 구하였다

6. 통계학적 분석 및 실험 성적의 처리

실험 결과의 통계처리는 분산분석과 Student's *t*-test를 이용하여 처리구간의 유의성을 검정하였고 ($p < 0.05$), 결과들은 평균±표준편차로 표시하였다

결 과

1. 커큐민의 항산화 효과

과산화수소에 의해 유도된 정자 내 활성산소를 커큐민이 감소시키는지 확인하고자 여러 농도(1-50 µM)의 커큐민을 과산화수소와 병합처리하였다. 처리된 정자에서 활성산소 발생 정도는 H₂DCFDA 형광 정도로 분석하였다. 커큐민 1 µM과 10 µM의 병합처리는 과산화수소 단독 처리군의 활성산소 발생률과 유의한 차이를 보이지 않았으나 커큐민의 농도가 30 µM, 50 µM로 높아지면서 과산화수소에 의해 유도된 활성산소를 유의적으로 감소시켰다 ($p < 0.05$). 커큐민 50 µM 처리는 대조군과 유사한 수준으로 활성산소 생성을 감소시켰다 (Fig. 1). 한우 정자에서 커큐민의 항산화효과는 농도 의존적으로 나타났다.

2. 정자의 세포자멸사에 있어서 커큐민의 효과

동결정자의 용해 후 과산화수소 100 µM 또는 300 µM을 16시간 처리하여 정자의 사멸을 유도하였다. 커큐민 1, 10, 30, 50 µM을 병합처리한 후 DeadEnd™ Fluorometric TUNEL system을 이용하여 세포자멸사를 확인하였다. 과산화수소 100, 300 µM을 처리한 그룹 모두에서 커큐민 1 µM은 세포

의 자멸사를 감소시키는 반면 30, 50 µM의 고농도 커큐민은 과산화수소에 의해 유도된 그룹보다 유의적으로 세포자멸사가 증가하였다 ($p < 0.05$, Fig. 2). 과산화수소 처리군에 있어서는 300 µM 처리군이 100 µM 처리군에 비해 유의적으로 세포자멸사를 보이는 세포가 많았다 ($p < 0.05$).

3. 정자의 생존율에 있어서 커큐민의 효과

커큐민의 세포사멸 감소 효과를 시간에 따른 변화로 관찰하였다. 과산화수소 100 µM과 여러 농도의 커큐민(1, 10, 30, 50 µM)을 2시간 또는 20시간 병합 처리하여 FDA, MTT, typan blue 등으로 염색하였다. 커큐민 1 µM은 정자의 생존율을 증가시킨 반면 10, 30, 50 µM의 커큐민 처리는 정자의 생존성을 감소시켰다 (Fig. 3A). 커큐민 10 µM은 2시간 처리에서는 정자의 생존성을 증가시키는 경향을 보이거나 20시간 처리에서는 정자의 생존성을 유의적으로 감소시켰다 ($p < 0.05$). Fig. 3B는 FDA/PI 염색을 실시하여 정자의 생존성을 확인한 결과인데, 20시간 동안 정자에 50 µM 커큐민을 단독 처리하였을 때 대조군에 비해 유의적으로 세포사멸이 증가되었다. 세 가지 방법으로 분석한 결과 동일하게 1 µM의 커큐민은 정자의 생존성을 증가시키고, 나머지 처리한 농도의 커큐민은 정자의 생존성을 감소시켰다.

4. 정자의 전진성 운동에 있어서 커큐민의 효과

여러 농도의 커큐민(1-50 µM)을 과산화수소가 처리된 회색 정자 100 µL (1×10^5)와 배양하여 시간 별(1-4h)로 전진성 운동을 보이는 정자의 수를 분석하였다. 커큐민 처리 후 1시간째 분석된 결과에서 100 µM 과산화수소에 의해 감소된 정자의 전진성 운동이 1 µM 커큐민 처리에 의해 유의적으로 증가하여 대조군과 유사한 수준으로 회복시켰다. 커큐민 10 µM 처리는 정자의 전진성 운동에 영향을 주지 않았고 30, 50 µM의 커큐민은 정자의 전진성 운동을 과산화수소 단독 처리군보다 감소시켰다 (Fig. 4).

고 찰

본 연구에서는 정자 생존성과 운동성에 있어서 커큐민의 효과를 분석하였다. 커큐민의 항산화효과는 신경세포, 암세포, 피부세포 등 다양한 종류의 세포에서 확인되어왔다 (Kumar와 Singh, 2015; Kumar 등, 2016; Tejada 등, 2016). 그러나 다른 종류의 세포에 비해 생식세포에 대한 연구 보고는 상대적으로 그 수가 적다. 암세포에서 커큐민은 세포사멸에 의한 항암효과를 나타내는 것 또한 잘 알려져 있다 (Lim 등, 2016; Park 등, 2016). 다시 말하면, 커큐민이 세포독성을 가

질 수도 있다는 것으로 해석할 수 있다 대부분의 연구에서 커큐민의 세포독성 효과에 대한 설명은 제한적이다 그러나 생식세포에서 커큐민의 세포독성 효과가 증명되고 있는데 커큐민은 생쥐난자의 성숙, 수정 및 태아발달에 저해 효과를 보

이며(Chen과 Chan, 2012), 감수분열 및 유사분열을 억제한다 (Bielak-Zmijewska 등, 2010)는 보고가 있다. 그리고 커큐민은 인간 정자의 전진성 운동을 감소시키기도 한다(Naz, 2014). 그러나 현재까지 보고된 연구결과들을 분석해보면 커큐민이

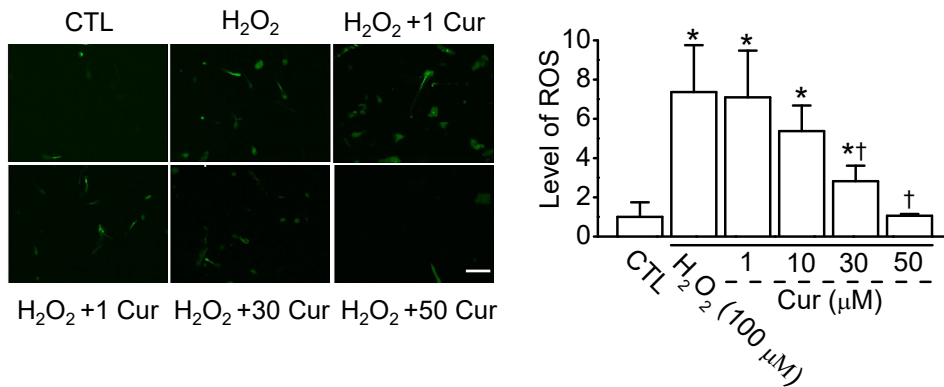


Fig. 1. Anti-oxidant effect of high concentration of curcumin on H₂O₂-induced ROS generation in bovine sperm. Sperm were treated with 100 μM H₂O₂ and/or 1 to 50 μM curcumin and then stained with H₂DCFDA to evaluate ROS generation. The ROS levels in the cells were quantified using fluorescence microscopy after 1 h of treatment with the curcumin. White scale bar represents 20 μm. **p* < 0.05 compared with the control (CTL). A solution containing an equivalent concentration of DMSO and 0.2 N NaOH in treatment with 50 μM curcumin was used as a control. †*p* < 0.05 compared with the H₂O₂ treatment. Each bar represents mean ± SD of three experiments. Cur represents curcumin.

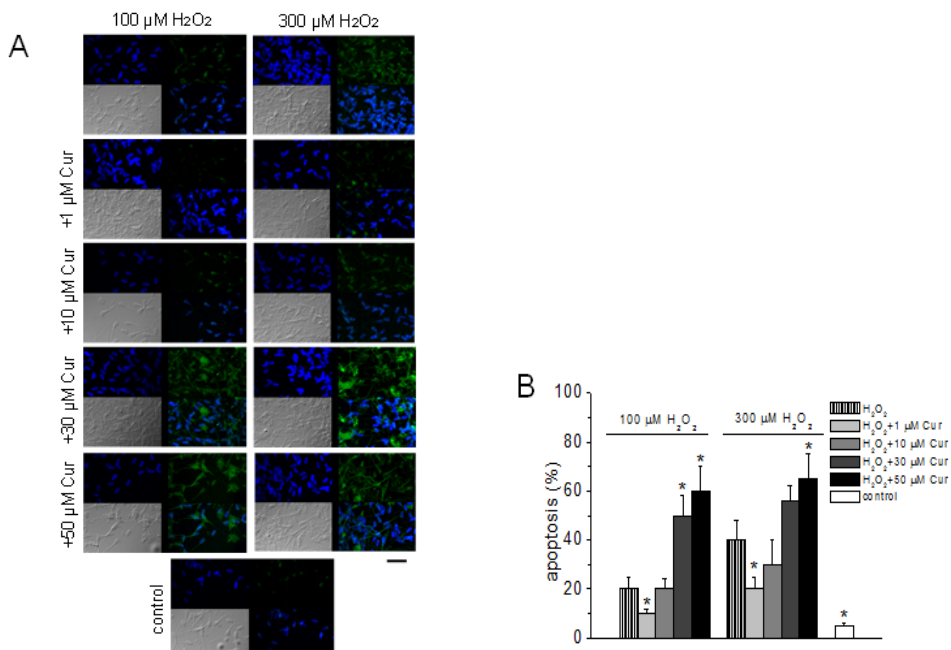


Fig. 2. Anti-apoptotic effect of low concentration of curcumin on H₂O₂-induced apoptosis of bovine sperm. (A) Sperm were treated with 100 μM or 300 μM H₂O₂ and/or 1 to 50 μM curcumin and then stained using DeadEnd™ Fluorometric TUNEL system. The apoptotic sperm were quantified using fluorescence microscopy after 16 h of treatment with the curcumin. Black scale bar represents 20 μm. The plus sign (+) represents conditions co-treated with H₂O₂. (B) Summary of effect of curcumin on H₂O₂-induced apoptosis of bovine sperm. **p* < 0.05 compared with the corresponding H₂O₂ treatment. Each bar represents mean ± SD of three experiments.

생식세포에 독성효과를 나타낸다는 결과 보다는 항산화효과를 나타내어 세포사멸로부터 보호효과를 나타낸다는 결과가 더욱 많다.

정자가 동결·융해 과정동안 발생하는 활성산소에 의해 손상된다는 것은 잘 알려져 있으나(Amidi 등, 2016; Gadea 등, 2004; Mazzilli 등, 1995), 동결·융해는 다양한 분야에서 세포의 효과적인 활용을 위해 필요한 방법으로 산화스트레스 문제점을 개선하기 위해 동결보호제에 항산화제를 첨가하여 동

결을 시행하고 있다. 안전성을 생각하여 항산화제 첨가물질로 천연 항산화제에 더욱 관심을 가지게 되었고 정자의 동결과정에서 다양한 종류의 항산화제를 분석해왔다 커큐민 역시 천연항산화제로써 연구자들의 관심을 받고 있다 그러나 최근 커큐민의 항산화 효과에 있어서 상반되는 연구결과들이 발표되고 있다. 이러한 결과를 재확인하고자 본 연구는 수행되었다. 흰쥐 정자를 동결할 때 동결보호제에 2.5 mM의 커큐민이 첨가된 동결보호제를 사용할 경우 융해 후 대조군에 비해 유

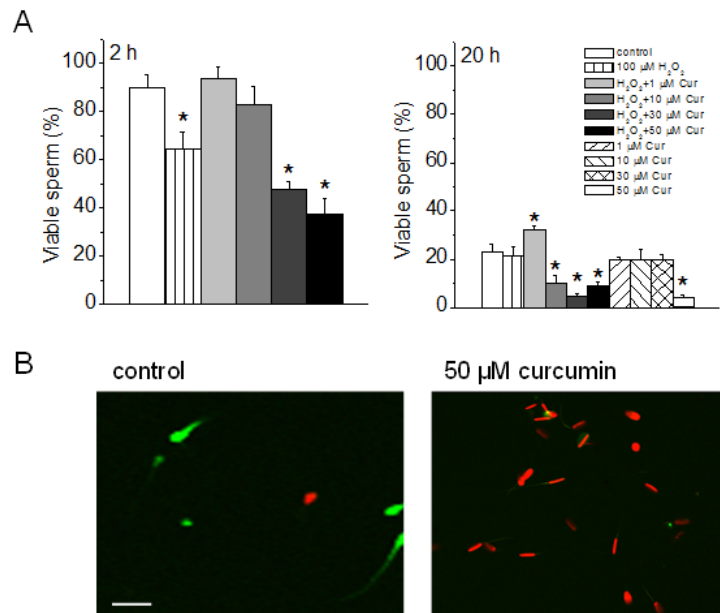


Fig. 3. Effect of curcumin on sperm viability. Different concentrations of curcumin (1, 10, 30, and 50 μM) were treated to the sperm for 2 h or 20 h with 100 μM H₂O₂. Live and dead staining of bovine sperm with FDA and PI. (A) Summary of sperm viability. Each bar represents mean ± SD of three experiments. White scale bar represents 20 μm. **p* < 0.05 compared with the control. (B) Confocal laser scanning microscopy images of bovine sperm. Green (FDA-signal) and red (PI-signal) show live and dead sperm, respectively. White scale bar represents 20 μm.

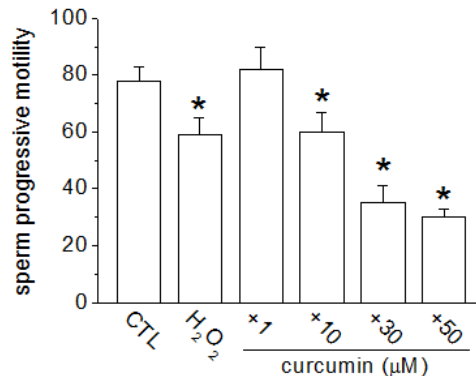


Fig. 4. Effect of curcumin on sperm progressive motility. Different concentrations of curcumin (1, 10, 30, and 50 μM) were treated to the sperm for 1 to 4 h with 100 μM H₂O₂. The number of sperm was counted using hemocytometer. Each bar represents mean ± SD of three experiments. **p* < 0.05 compared with the control. The plus sign (+) represents conditions co-treated with H₂O₂.

의적으로 정자 운동성, 생존성 및 DNA 온전성이 높게 나타났다(Soleimanzadeh와 Saberivand, 2013). 본 연구결과와 비교해보면 고농도의 커큐민은 항산화효과를 나타내지만 세포독성이 있어 정자의 생존성 및 운동성을 저하시켰다. 커큐민 2.5 mM은 매우 고농도로, 동결보호제에 첨가될 경우 삼투압 변화를 유발하여 물의 배출에 효과적으로 기여하였을 것으로 생각된다. 본 연구에서 수행한 연구 방법과는 다르게 정자에 직접 처리한 것이 아니고 동결보호제에 첨가되었기 때문에 독성효과가 적게 나타날 수 있다고 판단된다. Bucak 등(2012)의 연구에서는 0.5 mM의 커큐민을 첨가하였을 경우 총글루타치온의 농도를 일정하게 유지하는 반면 다른 지질과산화 및 항산화지표에는 영향을 주지 않았다. 그러나 2 mM의 커큐민 첨가에서는 총글루타치온의 농도까지도 영향을 주지 않았다(Bucak 등, 2012). 이는 커큐민이 농도에 따른 다른 효과가 있다는 것을 보여준다. 산화스트레스를 준 정자에서 커큐민의 항산화효과를 분석한 연구 또한 농도에 따른 다른 효과가 확인되었다. 소 정자에 철아스코르브산염(ferrous ascorbate, FeAA)으로 산화스트레스를 유발 시킨 후 5-50 μM 커큐민의 효과를 분석한 결과 25-50 μM 의 농도범위에서 정자의 생존성이 가장 높게 유지되었다(Tvrđá 등, 2016).

본 연구 결과 역시 커큐민은 농도에 따른 다른 효과를 보여주었는데 낮은 농도(1 μM)의 커큐민에서는 정자의 운동성 및 생존성이 산화스트레스로부터 보호되었고, 고농도(10 μM , 30 μM , 50 μM)의 커큐민은 세포사멸을 유도하였으며 정자의 운동성을 감소시켰다. 낮은 농도의 커큐민은 동결-융해된 정자의 배양에서 항산화효과보다는 세포사멸사를 감소시킬 수 있는 다른 신호에 의해 정자를 보호하는 것으로 보인다. 정자의 생존성 및 운동성에 있어서 농도에 따른 효과를 보이는 커큐민의 작용기전은 추가 연구에서 규명될 필요가 있다. 특히, 본 연구에서는 과산화수소를 활성산소에 의한 정자의 사멸 및 운동성 저하에 초점을 맞추어 실험하였다. 추후 연구에서는 과산화수소가 활성산소뿐만 아니라 신호전달체계의 교란에 따른 정자의 운동성 및 사멸에 있어서 커큐민의 효과를 확인할 필요가 있다. 항산화제 물질로 활용되고 있는 천연물질들을 첨가제로 사용하기 위해서는 생식세포에서 그 효과를 상세하게 분석한 후 동결보호제 및 배양액에 첨가하는 것이 필요하다고 생각된다.

결 론

정자동결은 임상적 유용성으로 많이 사용되고 있으나 지나친 활성산소의 생성 및 급격한 온도변화와 같은 문제점 또한 가지고 있다. 동결에 의한 정자의 손상을 막기 위하여 동

결보호제에 항산화제를 첨가하는 방법이 개발되어왔고 커큐민은 동결보호제에 첨가제로 사용되는 항산화제들 중 하나이다. 그러나 최근 연구결과에서 커큐민이 정자의 생존성과 운동성을 감소시킨다는 보고가 있었다. 본 연구는 과산화수소에 노출된 동결-융해된 한우 정자의 생존성 및 운동성에 있어서 커큐민의 효과를 확인하고자 수행되었다. 과산화수소에 노출된 한우정자에서, 커큐민은 활성산소를 농도 의존적으로 감소시켰다. 조사된 커큐민 농도(1 - 50 μM) 중 30, 50 μM 커큐민은 항산화효과를 보였다. 한편, 과산화수소와 커큐민(30, 50 μM)의 병합처리는 세포사멸사 비율을 과산화수소 단독 처리군 보다 증가시켰다. 정자의 생존성 역시 과산화수소와 30, 50 μM 의 커큐민 병합처리에 의해 감소되었다. 전진성 운동을 보이는 정자 수는 1 μM 커큐민 처리에 의해 증가되었다. 이러한 결과는 고농도의 커큐민은 항산화효과 뿐만 아니라 한우정자에 있어 세포독성이 있음을 보여준다. 정자의 생존성 및 운동성은 커큐민의 항산화효과를 보이는 신호체계보다는 세포사멸사를 조절하는 신호체계에 보다 더 영향을 받는 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 한국연구재단 선도연구센터 지원 사업(파이오항노화의과학연구센터, NRF-2015R1A-5A2-008833)에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Amidi F, Pazhohan A, Shabani Nashtaei M, Khodarahmian M, Nekoonam S. 2016. The role of antioxidants in sperm freezing: a review. *Cell and Tissue Banking*.
- Bielak-Zmijewska A, Sikora-Polaczek M, Nieznanski K, Mosieniak G, Kolano A, Maleszewski M, Styrna J, Sikora E. 2010. Curcumin disrupts meiotic and mitotic divisions via spindle impairment and inhibition of CDK1 activity. *Cell Prolif.* 43:354-364.
- Bucak MN, Başpar N, Tuncer PB, Cayan K, Sarözkan S, Akalın PP, Büyükleblebici S, Küçükğünay S. 2012. Effects of curcumin and dithioerythritol on frozen-thawed bovine semen. *Andrologia* 44:102-109.
- Chen CC, Chan WH. 2012. Injurious effects of curcumin on maturation of mouse oocytes, fertilization and fetal development via apoptosis. *Int J Mol Sci.* 3:4655-4672.

- Gadea J, Sellés E, Marco MA, Coy P, Matás C, Romar R, Ruiz S. 2004. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology* 62:690-701.
- Gough DR, Cotter TG. 2011. Hydrogen peroxide: a Jekyll and Hyde signalling molecule. *Cell Death and Disease* 2:e213.
- Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E., Dicato, M., and Diederich, M. 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* 223:181-190.
- Joe B., Vijaykumar, M., and Lokesh, B.R. 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44:97-111.
- Kumar A, Singh A. 2015. A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions. *Front Pharmacol.* 6:206
- Kumar G, Mittal S, Sak K, Tuli HS. 2016. Molecular mechanisms underlying chemopreventive potential of curcumin: Current challenges and future perspectives. *Life Sci.* 148:313-328.
- Lim W, Jeong M, Bazer FW, Song G. 2016. Curcumin Suppresses Proliferation and Migration and Induces Apoptosis on Human Placental Choriocarcinoma Cells via ERK1/2 and SAPK/JNK MAPK Signaling Pathways. *Biol Reprod.*
- Mazzilli F1, Rossi T, Sabatini L, Pulcinelli FM, Rapone S, Dondero F, Gazzaniga PP. 1995. Human sperm cryopreservation and reactive oxygen species (ROS) production. *Acta Eur Fertil.* 26:145-148.
- Menon VP1, Sudheer AR. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 595:105-125.
- Naz RK. 2014. The Effect of Curcumin on Intracellular pH (pHi), Membrane Hyperpolarization and Sperm Motility. *J Reprod Infertil.* 15:62-70.
- Park BH, Lim JE, Jeon HG, Seo SI, Lee HM, Choi HY, Jeon SS, Jeong BC. 2016. Curcumin potentiates antitumor activity of cisplatin in bladder cancer cell lines via ROS-mediated activation of ERK1/2. *Oncotarget.*
- Sapanidou V, Taitzoglou I, Tsakmakidis I, Kourtzelis I, Fletouris D, Theodoridis A, Zervos I, Tsantarliotou M. 2015. Antioxidant effect of crocin on bovine sperm quality and in vitro fertilization. *Theriogenology* 84:1273-1282.
- Soleimanzadeh A, Saberivand A. 2013. Effect of curcumin on rat sperm morphology after the freeze-thawing process. *Vet Res Forum.* 4:185-189.
- Tejada S, Manayi A, Daglia M, Nabavi SF, Sureda A, Hajheydari Z, Gortzi O, Pazoki-Toroudi H, Nabavi SM. 2016. Wound Healing Effect of Curcumin: A Review. *Curr Pharm Biotechnol.*
- Tvrda E, Tušimová E, Kováčik A, Paál D, Greifová H, Abdramanov A, Lukáč N. 2016. Curcumin has protective and antioxidant properties on bull spermatozoa subjected to induced oxidative stress. *Anim Reprod Sci.* 172:10-20.
- Wilken R, Veena MS, Wang MB, Srivatsan ES. 2011. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Cancer.* 10:12.
- 전예진·김대영. 2013. 미니돼지 정자의 동결보존에 미치는 Curcumin의 항산화 효과. *J. Chitin Chitosan.* 18:190-197

Received September 14, 2016, Revised September 26, 2016, Accepted September 29, 2016