

溫土六麟湯이 생쥐 배란에 미치는 영향

具恩貞·張峻福·李京燮·宋炳基*

ABSTRACT

A Study on the effects of Ontoyuklin-Tang for the ovulation in mice.

Eun-Jeoung Koo, Jun-bock Jang, Kyung-sub Lee, Byoung-key, Song*,

* Department of Gynecology, College of Oriental Medicine,

KyungHee Univesity, Seoul, Korea

In order to study the effect of Ontoyuklin-Tang (溫土毓麟湯), applied to cold of deficiency type sterility (虛寒 不妊) in women a series of experiments were conducted on the mouse regarding the in vitro developmental effect of 1-cell embryos of the medium of Ontoyuklin-Tang, the ovulationin once a day of two-days, once a day for four-days, once every two-days irregularly for six-days after administered the drug orally, the change of weight, the in vitro developmental effect of 1-cell embryos and the level of serum of LH, FSH, Estradiol 17- β , Progesterone in mouse. The results were following.

1. The culture medium of the drug was not significantly increased in the number of zygotes and in vitro development of embryos.

2. The ovum of the mouse during ovulation, was increased by the administered drug, when treated once a day for two-days in comparison to once a day for four-days & once every two-days for six-days.

3. The level of weight of the mouse was not significantly increased after administering the drug in comparison to administering water.

4. The production of zygotes in the mouse was significantly increased after the drug was administered, but the effect of in vitro developmental effect on embryos has a tendency to decrease.

* 慶熙大學校 韓醫科大學 附屬 韓方病院 婦人科

5. The levels of serum LH and FSH in the mouse were not significantly increased after the drug administered, and the level of serum. Estradiol 17-β of mice was few increased in a very small amount, but the level of the serum Progesterone of mice was significantly increased.

I. 緒論

溫土毓麟湯은 傅의 傅靑主男女科³⁸⁾에 痞滿·少食 不妊症에 應用된 處方이다. 傅^{2,38,41, 57,78)}等은 心腎虛寒으로 인해 脾土가 溫照를 失調하여 胞胎를 滋養할수 없는 상태를 不妊의 原因으로 보고 溫補脾土하고 아울러 命門 心包二火를 補하여 養胎生子하였다.

黃帝內經 <素問 上古天眞論>⁵³⁾에 '女子七歲而天癸至 任脈通 太衝脈盛 月事而時下 故有子……七七任脈虛 太衝脈衰少 天癸竭 地道不通 故形壞而無子也'라 하여 女性의 妊娠은 腎氣, 天癸, 任脈, 衝脈의 기능과 밀접한 관계가 있다라고 하였다. 韓醫學 原因에서 巢⁴⁴⁾는 子宮冷, 王⁵⁶⁾은 小腹冷, 氣虛, 血虛, 張⁵⁸⁾은 子宮虛冷, 許⁷⁾는 血少不能滋精, 陰血衰弱, 瘦怯者 子宮乾澁, 沈⁶⁷⁾은 胞宮冷, 脾胃寒, 腎氣虧, 氣血虛, 陳⁶³⁾은 胞冷, 脾胃寒, 氣血虛, 武³⁷⁾는 傷衝任, 子宮虛冷, 脾胃虛寒, 周⁶⁰⁾는 衝任虛寒, 張⁵⁹⁾은 虛寒, 血海虛寒, 葉⁴³⁾은 脾胃寒, 蕭⁴⁹⁾은 衝任不足, 최근 문헌^{32,33,36,42,45,54,55,66,76,79)}에서는 腎虛, 虛寒, 宮冷 등을 언급하고 있다. 또한 柳¹⁶⁾, 梁²²⁾ 등은 不妊의 가장 많은 原因이 子宮虛寒이고, 虛寒 不妊의 범주에 心腎虛寒, 子宮虛寒, 子宮乾澁, 氣血不足 등의 의미를 포괄한다하였다²²⁾.

현대 의학에서는 과배란 유도법을 불임치료에 활용하고 있다^{1,13,17,18,26)}. 그러나 문^{17,18)} 등은 다태임신의 산모의 위험과 선택적 유산술에 대한 윤리적인 논란을 제기하였고, 金¹⁰⁾은 배란유도에

따른 난소암의 상관관계를 보고하였다. 徐⁶⁹⁾는 배란유도제인 클로미펜(Clomiphene citrate)투여군과 한약치료군의 비교실험에서 별 차이가 없었으며 클로미펜이 부작용이 있는 반면, 韓藥은 인체 조절 기능을 개선하여 부작용없이 효과가 우수하다고 보고하였다.

여성 不妊에 대한 韓醫學의 治療는 辨證論治가 주가 된다^{2,32,33,45,66,76,79)}. 대체로 腎虛 不妊에 溫腎養血 溫補衝任, 宮寒 不妊에 溫補散寒 調經, 血虛 不妊에 滋陰養血 調補肝腎, 濕痰 不妊에 健脾燥濕化痰, 肝鬱 不妊에 疏肝利鬱 養血利氣 한다^{33,36)}. 文獻의 求嗣에 관한 처방 중에서 最近에는 調經散⁸⁾, 調經種玉湯^{19,23)}, 通經湯²⁷⁾, 勝金丹⁹⁾, 暖宮蠡斯丸¹²⁾, 四劑香附丸¹²⁾, 玉鑰啓榮丸²¹⁾, 調經養精元²¹⁾, 蠡斯丸²⁸⁾, 東樞艾附湯²⁸⁾, 溫胞散²⁴⁾, 養精種玉湯²⁰⁾ 등의 실험연구가 있었다.

이에 著者는 女性 不妊治療에 활용하고 있는 溫補脾土·益腎陽하는 溫土毓麟湯의 효능을 실험적으로 규명하기 위하여 湯液배지에서의 수정란의 체외배양과 煎湯液을 추출하여 생쥐에 투여한 후 배란율과 체중변화, 생쥐 수정란의 생산을 및 체외 발달률과 혈청에서 FSH, LH, Estradiol- 17β, Proges- terone 측정을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 동물 및 약재

(1) 동물

실험동물은 4週齡에 도달한 평균 체중 14g의 F1 hybrid (C57BL/6 × DBA; BCF1 hybrid)雌性 생쥐와 생식 능력이 확인된 雄性 생쥐였으며 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 2주간 순응시킨 후 사용하였다. 실험은 특별히 암시하지 않은 한 24±2℃에서 실시하였다.

(2) 약재

약재는 경희대학교 분당 한방병원 藥劑科에서 嚴選하여 文獻에 명시한 대로 修治한 것을 사용하였다. 處方은 傳靑主男女科³⁸⁾에 수록된 溫土毓麟湯으로 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

溫土毓麟湯 (Ontoyuklin-Tang)

藥名	生藥名	學名	量(g)
巴戟(酒浸)	Moridae Radix	<i>Morinda officinalis</i> How	40
山藥(炒)	Dioscoreae Radix	<i>Dioscorea batatas</i> Decarisne	20
覆盆子(酒浸)	Fructus Rubi	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	40
白朮(炒)	Atractylodes	<i>Atractylodes</i> Rhinozoma alba	20
人蔘	Ginseng Radix	<i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	12
神麩	Massa Medicata	<i>Triticum aestivum L.</i>	4
Total amount			136

2. 방법

(1) 검액의 조제

溫土毓麟湯 처방의 1貼와 물 1200cc를 약탕기에 넣고 2시간동안 끓여 검액을 제작한 다음 멸균 거어즈로 1차 여과하였다. 4℃ 냉장고에 定置한 다음 상층액 500cc를 채취하였다.

(2) 溫土毓麟湯 배지에서 수정란의 배양

1) 배양액의 준비

기초 배양액으로 실험군은 T6 배양액 (실험실 자체제작)을 사용하여, 각각 준비된 검액을 0.001%, 0.01%, 0.1% 및 1% 용액으로 제작하고, 대조군은 T6 배양액에 3mg/ml Bovin serum albumin (이하 BSA)을 합한 용액을 사용하였다.

2) 수정란의 준비

① 배란 유도

4週齡 (평균체중 14g) F1 hybrid 雌性 생쥐에 Pregnant Mare's Serum Gonadotropine (이하 PMSG, Sigma, CG-4877, USA)과 Humen Chorionic Gonadotropine (이하 HCG, Sigma, CG-5, USA)을 각각 5 IU씩 48시간 간격으로 복강내에 주사하고, 생식능력이 확인된 雌性 생쥐와 합사하여 교미를 유도하였다. 다음 날 아침 교미가 확인된 개체만을 골라 사용하였다.

② 수정란의 채취

교미가 확인된 생쥐를 頸椎分離法(cervical dislocation)으로 도살한 다음 외과적으로 난관을 적출하여 petri dish에 옮기고 0.1% hyaluronidase (Sigma, H-3757, USA)용액에서 난관 팽대부의 수정란을 채취하였다. 채취된 수정란중 정상적인 형태를 갖춘 전핵기 수정란(pronuclear stage embryo)만을 골라 사용하였다.

3) 수정란의 체외 배양

각각 상이한 농도의 검액이 함유된 배양액을 4-well dish에 준비하고, 37°C, 5% CO₂가 포함된 incubator에서 2시간 방치하였다. 채취한 수정란을 각 well-dish당 15개씩 넣고 96시간 배양한 다음 blastocyst 및 hatched blastocyst로 발달된 수정란 수를 계산하여 발달율을 조사하였다. 이 실험은 10회 반복하였고 모든 통계처리는 ANOVA Student T-test, λ^2 -test를 병행하여 실시하였다.

(3) 검액이 생쥐 배란에 미치는 영향

1) 검액의 경구투여

생쥐를 고정시킨 다음 1cc 주사기가 부착된 종대를 생쥐의 식도관내에 삽입하고 검액을 각각 0.3ml씩 투여하였다.

2) 실험군의 설정

검액의 투여는 3개의 실험군으로 나누었다. 실험 제1군은 검액을 1일 1회 2일간, 실험 제2군은 검액을 1일 1회 4일간, 실험 제3군은 검액을 2일 1회 6일간 3회 투여하였다. 대조군은 동량의 물을 투여한 생쥐를 대상으로 같은 방법으로 시행하였다. 실험 제1군은 검액군, 대조군 각각 생쥐 10마리, 5마리, 실험 제2군은 각각 10마리, 실험 제3군은 각각 8마리를 대상으로 실시하였다.

3) 배란 유도

검액 또는 물을 투여하고 4일간 (생쥐의 1 menstrual cycle)휴식후 PMSG와 HCG를 각각 5 IU씩 48시간 간격으로 복강내에 주사하여 배란을 유도하였다.

4) 배란율 조사

배란율은 HCG 투여후 14시간제에 頸椎分離法에 의해 도살한 다음 외과적으로 난관을 적출하여 실체 현미경하에서 배란된 총 난자수와 정상적인 형태를 갖는 난자수를 조사하였다.

(4) 검액 투여후 생쥐 체중변화

(3)과 동일한 방법으로 각각 0.3ml씩 1일 1회 4일간 연속 투여후 12일째 체중의 변화를 살폈다. 실험군과 대조군은 각각 평균 체중 14g 인 생쥐 5마리, 8마리를 대상으로 하였다.

(5) 검액이 생쥐 수정란 생산율과 발달율에 미치는 영향

1) 검액의 투여

(3)과 동일한 방법으로 각각 0.3ml씩 1일 1회 4일간 경구투여하였다. 실험군과 대조군은 각각 생쥐 3마리를 대상으로 10회 반복실행하였다.

2) 배란 유도 및 수정란의 채취

검액 또는 물을 투여하고 4일간 휴식후 PMSG 및 HCG를 각각 5 IU씩 복강내에 48시간 간격으로 투여후 생식능력이 확인된 雄性 생쥐와 1:1로 합사하여 교미를 유도하였다. 12시간후에 교미여부를 확인하여 腔栓이 형성된 개체만을 골라 頸椎分離法에 의하여 도살한 다음 외과적 방법에 의해 난관을 적출하여 petri dish에 옮기고 실체 현미경하에서 난구-난자복합체를 채취하였다. 0.1% hyaluronidase 용액에 3분간 담구어 난구 세포를 제거한 다음 신선한 배양액으로 세척하여 수정란만을 채취하였다.

Table I. The effect of the medium of *Ontoyuklin-Tang* in vitro development of 1-cell embryos.

Group	percent of added in mouse	No. of 1-cell embryos examined	No. of embryos developed to blastocyst	No. of hatched blastocyst
Control	0.3% BSA	150	102(68.0%)	81(54.0%)
Sample	1 %	100	0	0
	0.1 %	100	0	0
	0.01 %	100	0	0
	0.001%	100	0	0

Control Group : Treated by T6 medium & 3mg/ml BSA.

Sample Group : Treated by *Ontoyuklin-Tang* medium.

3) 수정란의 체외배양

T6 배양액에 3mg/ml BSA를 첨가하여 96시간 배양후 수정란의 발달을 관찰하였다.

(6) 검액이 생쥐 혈중 Hormone에 미치는 영향

1) 검액 투여

(3)과 동일한 방법으로 각각 0.3ml씩 1일 1회 4일간 경구 투여하였다. 실험군과 대조군은 각각 생쥐 9마리, 8마리를 대상으로 실시하였다.

2) 배란 유도 및 혈청 분리

검액 또는 물을 투여하고 4일간 휴식후 PMSG와 HCG를 이용하여 다배란을 유도한 후 雄性 생쥐와 교미를 시도하였다. 투여후 18시간째 도살하면서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 1500 rpm에서 10분간 원심분리를 실시하여 상층의 혈청부분을 분리하였다. 분리된 혈청은 hormone 측정까지 -20°C의 냉동고에 보관하였다.

3) Hormone 측정

Follicle Stimulating Hormone (이하 FSH), Luteinizing Hormone (이하 LH), Estradiol 17-

β 와 Progesterone의 농도를 조사하였다. 이때 사용된 분석은 Ebert사에서 제작된 RIA (Radio immunoassay) kit를 사용하였다. FSH (Serenio IRMA kit, USA) 와 LH (Serenio IRMA kit, USA)는 Monoclonal Antibody kit를, Estradiol 17- β (Serenio IRMA kit, USA)와 Progesterone (Serenio IRMA kit, USA)은 Polyclonal rabbit Antibody kit를 사용하여 조사하였다. 먼저 항체가 처리된 분석관에 혈청 100 μ 를 첨가하여 1시간 배양한 다음 washing buffer로 세척하였다. 이어 Goat anti-human IgG에 isotope가 부착된 2차 항체를 첨가한 다음 30분간 배양하고 이를 γ -counter (Beckman Co, USA)를 이용하여 혈청 중의 hormone 농도를 조사하였다. hormone 결과 분석은 10회 반복 실시하여 이 결과치의 평균값을 혈청의 농도로 정하였다.

III. 成績

1. 溫土毓麟湯 배지에서 생쥐 수정란 배양에 미치는 결과

Table IV. The effect of Ontoyuklin-Tang in the ovulation of the mouse once every two-days irregularly for six days .

Group	No. of mouse used	No. of mouse ovulated	No. of oocyt recovered	No. of Normal oocyte (%)	Mean No. of oocyte (normal oocyte)	Mean No.of oocyte / ovalated mouse
Control	8	6	156	92(59.0)a	19.5(11.5)a	26.0(15.3)
Sample	8	4	76	70(92.1)b	9.5(8.8)b	19.0(17.5)

Control Group : Administration of Water

Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang

a, b : Significant (P < 0.05)

1-cell embryos 수는 1%, 0.1%, 0.01% 및 0.001%의 실험군 용액에서 각각 100개였으며, blastocyst 및 hatched blastocyst로 발달한 수정란의 수는 조사되지 않았다. 대조군의 경우에는 기초 배양액에 0.3% BSA를 첨가하여 1-cell embryos의 수는 150개로 조사되었으며, blasto- cyst로 발달된 수정란의 수는 102개였고, hatched blastocyst로 발달한 수정란의 수는 81개로 조사되었다(Table I).

2. 검액이 생쥐 배란에 미치는 결과

(1) 검액 1일 1회 2일간 투여후 배란

실험군은 검액을 10마리의 생쥐에 투여한 결과 채취된 난자의 수는 320개이고 정상적인 난자의 수는 285개로 89.1%를 보였으며 각 마리당 난자의 수는 32.0개였으며 각 마리당 정상 난자의 수는 28.5개로 나타났다. 대조군에서는 5마리의 생쥐에 채취된 난자의 수는 90개였고, 이 중 정상 난자의 수는 80개, 88.9%를 보였으며 각 마리당 채취된 난자의 수는 18.0개, 각 마리당 정상 난자의 수는 16.0개로 나타났다(Table II).

Table II. The effect of Ontoyuklin-Tang in the ovulation in mouse once a day for a series of two days.

Group	No. of mouse used	No. of oocyte recovered	No. of normal oocyte	Mean No. of oocyte (normal oocyte)
Control	5	90	80 (88.9%)a	18.0 (16.0)a
Sample	10	320	285 (89.1%)b	32.0 (28.5)b

Control Group : Administration of Water

Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang

a, b : Significant (P < 0.05)

Table III. The effect of Ontoyuklin-Tang in the ovulation of the mouse once a day a series of four days.

Group	No. of mouse used	No. of mouse ovulated	No. of oocyt recovered	No. of Normal oocyte (%)	Mean No. of of oocyte (normal oocyte)	Mean No. of oocyte / ovalated mouse
Control	10	9	304	250(82.2)	30.4(25.0)a	33.8(27.8)
Sample	10	10	312	268(85.8)	31.2(26.8)b	31.2(26.8)

Control Group : Administration of Water

Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang

a, b : Significant (P < 0.05)

2) 검액 1일 1회 4일 연속 투여후 배란

실험군은 검액을 10마리의 생쥐에 투여한 결과 모두 배란되었으며 채취된 난자의 수는 312개 중 정상적인 난자의 수는 268개로 각 마리당 평균 31.2개로 나타났고, 각 마리당 정상 난자의 수는 평균 26.8개로 나타났다. 대조군의 경우는 생쥐 10마리 중 9마리가 배란되었으며, 채취된 난자의 수는 304개이고, 이 중 정상 난자의 수는 250개, 평균 25.0개였다(Table III).

3) 검액 2일 1회 6일간 3회 투여후 배란

실험군은 생쥐 8마리에 투여한 결과 4마리에 배란되었으며 채취된 난자 76개 중에서 정상 난자의 수는 70개, 92.1%로 나타났으며, 각 마리당 평균 9.5개였다. 대조군은 8마리의 생쥐 중 6마리에서 배란 되었으며 채취된 난자는 156개 중 정상 난자의 수는 92개, 59.0%로, 각 마리당 평균 11.5개였다(Table IV).

3. 검액 투여후 생쥐의 체중변화

평균 체중 14g 인 생쥐의 체중의 변화에서 실험군은 평균 1.0g 증가가 있었으며 대조군은 1.5g 증가가 있었다(Table V).

Table V. The effect of Ontoyuklin-Tang on the change of weight in the mouse.

Group	No. of mouse	Mean Weight of mouse
Control	5	15.5 g
Sample	8	15.0g

Control Group : Administration of Water

Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang

4. 검액이 생쥐 수정란 생산율과 발달율에 미치는 결과

실험군의 채취된 집합체의 수는 100개로, 대

Table VI. The effect of Ontoyuklin-Tang on the production of zygotes, and on the in vitro development of 1-cell embryos.

Group	No. of mouse used	No. of zygote recovered	No. of blastocyst developed (%)	No. of hatched blastocyst (%)	Total developed embryos (%)
Control	3	54(18.0)a	16(29.6)	8(14.8)c	24(44.4)e
Sample	3	100(33.3)b	32(32.0)	16(16.0)d	48(48.0)f

Control Group : Administration of Water
 Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang
 a, b : significant (P < 0.01)
 c, d. e, f : No difference

Table VII. The effect of Ontoyuklin-Tang on the serum LH, FSH, Estradiol 17-β, Progesterone levels in the mouse.

Group	No. of mouse used	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)	Estradiol-17β (pg/ml)	Progesterone (pg/ml)
Control	8	< 1.0	< 1.0	3206.5	(7.94)a
Sample	9	< 1.0	< 1.0	3669.6	(18.1)b

Control Group : Administration of Water
 Sample Group : Administration of 0.3ml of Ontoyuklin-Tang
 a, b : Significant (P < 0.01)

조군의 채취된 54개에 비해 높은 수정란의 생산율을 보였다. 체외 배양후 실험군에서는 blasto- cyst 수정란이 32개, hatched blastocyst stage 수정란이 16개, 총 수정란의 발달수는 48개, 48%였고, 대조군에서는 각각 16개, 8개로, 수정란의 총 체외발달은 24개, 44.4%를 나타내었다 (Table VI).

대조군과 실험군에서의 성선자극 hormone인 FSH, LH의 통계적 차이는 인정되지 않았다. 그러나 난소 hormone인 Estradiol-17β는 통계적인 차이는 나타나지 않았지만 실험군에서 다소 증가되는 양상을 보였으며 Progesterone은 실험군에서 18.1 pg/ml로 대조군의 7.94 pg/ml 보다 높게 나타났다(Table VII).

5. 검액이 생쥐 혈중 Hormone 에 미치는 결과

IV. 考 察

不妊은 정상적인 부부생활을 통해 妊娠을 원

함에도, 1년~1년 6개월 이내에 妊娠을 하지 못하는 경우를 말한다^{1,2,84,86,87,88)}.

黃帝內經⁵³⁾의 <上古天真論> <骨空論>에서 月經과 妊娠의 생리적인 관계를 腎氣, 天癸, 任脈, 太衝脈, 督脈의 기능으로, 淸의 陳⁶³⁾은 임신의 생리 주축을 腎氣, 天癸, 衝任, 胞宮으로 설명하고 있다.

不妊 原因으로는 女性, 男性, 男女 모두, 혹은 男女 부적합이 있으며 이 중 女性 不妊이 50% 정도를 차지하고 女性 不妊의 原因으로는 性交不能, 生殖不能, 着床不能, 精子侵入不能, 內分泌異常 등이 있다^{2,25)}.

Kistner⁸⁷⁾는 男性 因子, 卵管 因子, 子宮頸管 因子, hormone 因子빈도로, Speroff⁸⁵⁾ 등은 40%는 男性 因子이며, 女性 因子는 排卵 障礙, 卵管 因子, 子宮頸管 因子 등의 빈도로 보고하였고, 우리나라의 張²⁹⁾ 등은 卵管 因子, 排卵 障礙 외 原因 不明으로 보고하였다. 원인 중에서 排卵 障礙를 Speroff⁸⁵⁾ 등은 40%, Dor⁸²⁾ 등은 35.1%의 높은 빈도로 보고하였다. 이외에 金¹⁴⁾은 營養失調로 續發性 無月經, 稀發 排卵, 無排卵 等과 有關하며 不妊과 卵巢의 損傷도 보고하였다. 이를 종합하면 西醫學에서는 女性 不妊에서 排卵障礙, 卵管異常, hormone관계, 營養狀態 등의 여러 因子가 關係함을 설명하고 있다^{83,84,86,88,89)}.

이는 韓醫學에서 先天之本인 腎과 先天的 物質인 天癸는 특히 臟腑 中에서 後天의 本이며, 生化의 源인 脾臟과 상호지지하는 關係라는 것과 상통한다⁷¹⁾. 즉 정상적인 月經과 妊娠는 衝任脈의 직접적 關係외에도 脾臟의 작용 또한 영향력이 있다고 사료된다.

韓醫學의 女性 不妊의 原因은 子宮虛冷, 體肥,

腎衰, 濕痰, 體瘦, 血虛, 肝鬱 等の 順이었고, 類概念으로 子宮虛寒, 氣血虛, 陰虛, 七情傷, 血熱, 瘀血, 經不調 等이다¹⁶⁾. 韓醫學에서 妊娠이 成立되도록 治療하는 것을 種子^{31,37,46,47,56,68)}, 求嗣^{31,34,43,48,53,57,65)}, 救子^{30,37,46,47, 56,68)}, 救育^{2,15,22,62)}, 種子術^{2,15,22,62)}, 求嗣術^{2,22,62)}, 嗣育術^{2,15,22)} 이라 한다.

不妊의 治法을 살펴보면 李⁷⁵⁾는 補天癸, 朱⁷⁰⁾는 養精血, 補肝腎, 沈⁷⁷⁾은 補腎氣, 王⁷⁴⁾은 無排卵性 不妊에서, 腎精을 滋養하고, 衝任脈의 氣血을 和養하고, 腎陰腎陽의 調節하라 하였고, 楊⁷²⁾은 經後期에는 補腎에 補脾하는 藥을 加해 後天으로 先天을 促進하는 方法을 하고, 經前期에는 溫腎煖宮을 사용하라 하였다. 黃⁸⁰⁾은 調經, 補脾하여 養胎하고, 補腎 益精氣하여 在胎함으로 妊娠을 持續시킨다 하였다. 王⁷³⁾은 調肝和脾, 補腎益氣를 주장하였다.

全般的으로 살펴보면 不妊의 治療에서 補腎助陽하는 것외에도 脾를 중심으로 治療하는 것이 關鍵이라고 설명하고 있다⁷¹⁾.

傅^{2,38,41,57,78)}는 心腎二火가 胞胎를 主하고 脾胃虛寒 또한 心腎火에 化生하므로 溫脾補土 益腎陽 益精氣하여 氣血旺盛 補衝任하여 胞胎를 補한다라고 설명하고 있다. 溫土毓麟湯은 中氣가 虛寒하여 不妊이 되는 것을 溫中補脾로 治療하였다.

處方 중 巴戟天, 覆盆子^{3,4,39,40,52)}는 補腎陽, 益精氣, 育宮하고 腎經의 血分에 주로 入하여 女性의 生殖機能의 減退 및 命門無火로 因한 諸般의 症狀에 良好하다³⁾. 山藥, 白朮, 人蔘^{3,4,39,40,52)}은 健脾益氣하여 脾胃의 功能을 돕고 胃分泌促進, 強壯 作用 등이 있다⁵⁰⁾. 특히 人蔘은 卵巢 및 子宮의 重量을 增加한다는 報告도 있다⁵²⁾. 神麴^{3,4,39,40,52)}은 開胃進食 調中下氣 消宿食 祛積

滯하고 消化不良으로 因한 脹滿 및 食慾改善을 하여 氣血을 補充하여 衝任을 補하여 胞胎를 充養한다^{3,4)}. 전체적으로 補腎精, 益精氣, 滋腎健脾로, 排卵促進, 着床維持, 卵巢機能 및 子宮發育促進 등의 效果가 있으리라 기대된다⁷⁸⁾.

溫中補脾, 益腎陽하는 溫土毓麟湯이 女性 不妊에 미치는 영향을 효능적으로 규명하고자 溫土毓麟湯 배지에서 생쥐 수정란의 체외배양과 1일 1회 2일간, 1일1회 4일간, 2일1회 6일간 경구 투여후 배란율과 경구 투여후 체중변화, 수정란의 체외 발달을 및 혈청에서 Hormone 측정을 관찰하였다.

PMSG와 HCG는 혈중의 FSH, LH의 농도를 증가시켜 난포의 성숙과 발달 및 배란, 황체화를 촉진시키는 것으로 알려져 있어 이 실험에서 PMSG와 HCG를 사용하여 배란을 촉진하였다 (1,5681).

온토육린탕이 함유된 배지에서 생쥐 수정란을 체외 배양한 결과 1-세포기의 수정란의 수는 대조군이 높게 나타났고, blastocyst 수정란 및 hatched blastocyst 수정란은 실험군에서는 조사되지 않았으며, 대조군은 blastocyst 수정란 및 hatched blastocyst 수정란이 각각 102개, 81개 나타났다. 이로 보아 溫土毓麟湯이 함유된 배양에서는 생쥐 수정란의 체외발달에서는 유의성이 없는 것으로 나타났다.

실험을 3군으로 나누어 경구 투여후 생쥐의 배란을 관찰하였다. 1일 1회 2일간 투여한 후 배란을 유도한 실험 제1군은 실험군에서 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 배란 난자수 및 정상 난자의 배란 증가를 보였다. 1일 1회 4일 연속 투여후 배란을 유도한 실험 제2군은 배란 난자의 정상율은 실험군에서 약간 증가하였으나 통계적으로

는 유의성이 인정되지 않았으며 $P < 0.05$ 의 유의한 정상 난자의 배란 증가 효과를 보였다. 또한 2일 1회 6일간 총 3회 투여후 배란을 유도한 실험 제3군은 배란 난자의 정상율에서는 검액군이 $P < 0.05$ 의 유의한 증가가 있었으며, $P < 0.05$ 의 유의한 정상 난자의 배란 감소를 보였다.

以上에서 溫土毓麟湯의 경구투여가 생쥐의 배란에 미치는 영향을 관찰한 결과, 위의 3개의 실험군에서 투약기간의 연장에 따라 마리당 배란되는 난자의 평균 수가 점차 감소되는 경향을 보이고 있으며 실험 제3군의 경우에는 前 실험군에서 배란수와 정상 난자수의 차이는 나타나지 않았으나 실험 제1군과 실험 제2군의 결과에 비해 현저히 낮은 배란수와 정상 난자수를 보였다. 따라서 溫土毓麟湯은 단기간 투약시 배란율의 증가효과는 있었으나 검액을 4일이상 혹은 비정기적으로 투약시에는 배란율의 증가효과는 나타나지 않는 것으로 사료된다.

검액 투약후 생쥐의 체중변화에서 실험군은 1.0g, 대조군은 1.5g으로, 검액을 투여한 생쥐의 경우 동량의 물을 투여한 군에 비해 체중의 증가는 없는 것으로 나타났다. 이상에서 溫土毓麟湯은 단기간의 연속적인 투여시 생쥐의 增體 증상은 없으며 생쥐의 난포의 성숙 및 배란을 촉진하여 求嗣의 역할을 하는 것으로 사료된다.

생쥐의 수정란 생산율 및 수정란의 체외 발생율에 미치는 실험에서는 평균 수정란 생산율은 실험군이 채취한 수정란의 수가 $P < 0.01$ 의 유의한 수정란 생산을 나타냈으며 수정란의 체외 배양의 경우 blastocyst 및 그 중 hatched blastocyst까지의 발달율에 있어서 두 군의 통계적인 차이는 인정되지 않았으나 다소 증가를 보였다. 溫土毓麟湯은 전 실험의 검액 배양에서

의 체외 배양에서 유의성이 없었으나 경구투여 후 수정란의 발생을 및 체외 발생율의 경우 유의한 효과가 인정되었다. 생쥐 혈청에서 측정된 hormone인 LH는 FSH와 함께 난포를 성숙시키고 estrogen의 생성분비를 촉진하며 황체형성을 자극하여 progesterone의 생성과 분비를 촉진한다^{1,5,6,81}. FSH는 난포 hormone과 함께 작용하여 FSH의 수용체를 증가시키고 난포의 성장을 촉진시키며 LH와 함께 Estradiol의 분비를 더욱 높여 준다^{1,5,6}. Estradiol은 Estrogen의 일종으로 卵巢에서 분비되고, LH, FSH의 분비 자극을 받는 동시에 feedback의 기구로 자극 hormone의 분비 조절에 관여한다^{1,5,6,81}. 난소기능 특히 난포의 발육상태 파악과 임신중의 태반기능을 반영한다^{1,5,6,81}. Progesterone은 임신의 성립과 유지에 필요하고 착상과 자궁의 수축방지 및 초기 임신황체 및 태반의 기능을 판단할 수 있다^{1,5,6,81}.

경구 투여후 생쥐의 혈중 hormone 측정결과 FSH, LH의 차이는 유의성이 없었고, Estradiol-17 β 는 다소 증가하였고, Progesterone은 P<0.01의 유의성 있는 증가를 보였다. 이로 보아 溫土毓麟湯의 경구 투여후 혈중 hormone 측정결과 성선자극 hormone의 농도보다는 난소 hormone인 특히 Progesterone의 경우 유의성 있는 높은 수준을 보여 임신의 성립후의 유지 및 지속에도 효과가 있을 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과를 종합해보면 溫土毓麟湯이 虛寒 不妊 영역에서 특히 月經前期의 단기간의 연속적인 투여시 특별한 增體없이 배란의 증가와 수정란 및 정상 난자의 생산과 수정란의 발달뿐 아니라 임신의 유지 및 지속 효과가 기대되고 또한 난소 기능의 장애 및 자궁의 기능 부

전에 의한 不妊의 개선과 치료에도 유효할 것으로 사료된다.

V. 結 論

여성의 虛寒 不妊에 사용되는 溫土毓麟湯의 효능을 규명하기 위하여 溫土毓麟湯배지에서 생쥐 수정란의 체외배양과 1일 1회 2일간, 1일1회 4일간, 2일1회 6일간 경구투여후 배란율과 경구투여후 체중변화, 수정란의 체외 발달을 및 혈청에서 FSH, LH, Estradiol-17 β , Progesterone 측정을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 溫土毓麟湯배지에서 생쥐 수정란의 배양에서는 수정란 수가 낮게 나타났으며 체외발달에서는 유의성이 없었다.
2. 배란율 조사에서 1일 1회 2일간 투여한 경우가 1일1회 4일 연속 및 2일 1회 6일간 3회 투여에 비해 정상적인 난자의 배란수가 증가하였다.
3. 생쥐의 체중변화에서는 평균체중은 대조군과 비교하여 현저한 체중 증가는 없었다.
4. 수정란 생산을 및 발달에 미치는 영향에서는 평균 수정란의 생산율은 유의성 (P<0.01) 있는 결과를 보였으나 체외발달율에서는 현저한 증가는 없었다.
5. 생쥐 혈중 hormone에서 LH, FSH는 유의성이 없었고, Estradiol-17 β 는 다소 증가하였고, Progesterone의 경우 유의성 (P<0.01)있는 증가가 있었다.

참고문헌

1. 大韓産婦人科學會 : 産婦科學, 서울, 도서출판 칼빈서적, pp. 64~68, 389~391, 421~425, 1991.
2. 宋炳基 : 韓方婦人科學, 서울,杏林出版, pp. 282~285, 1990.
3. 申佶求 : 申氏 本草學, 서울, 壽文社, pp. 1~8, 13~16, 40~41, 101~104, 108~109, 501~503, 1973.
4. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp. 166~167, 171~173, 193~194, 208~209, 424~425, 1976.
5. 이귀녕, 이종순 : 임상병리파일, 서울, 도서출판의학문화사, pp. 477, pp. 482~485, 1993.
6. 이우주 : 약리학 강의, 서울, 선일문화사, pp. 473~474, p. 476, 1990.
7. 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 603, 1972.
8. 姜明孜, 李尙仁, 具本泓 : 調經散 抽出方法이 白鼠의 性 周期에 미치는 영향에 관한 研究, 서울, 慶熙大學校 論文集, 1 ; 69, 1978.
9. 姜明孜, 宋炳基 : 勝金丹이 卵巢機能에 미치는 영향, 서울, 慶熙大學校 論文集, 14 ; 305~320, 1985.
10. 김선행 : Ovulation Induction, 不妊症治療의 最新動向, 서울대학교병원 산부인과, pp. 63~78, 1995.
11. 金性銓, 具本泓 : 調經種玉湯 抽出 方法에 따른 家兔의 卵巢變化에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 論文集, 1; 69, 1978.
12. 金性銓, 康舜洙 : 暖宮蠶斯丸과 四製香附丸이 家兔 卵巢 機能에 미치는 影響, 圓光大學校 博士學位論文, 1982.
13. 김정훈, 조운경, 목정은 : 자궁내막증을 가진 불임환자에서 과배란유도주기에서의 자궁강내 인공수정시 면역요법의 효용성에 관한 연구, 大韓産婦人科會誌, 제38권 제7호, pp. 1228~1236, 1995.
14. 金知和 : 營養과 生殖, 大韓不妊學會誌 12 ; 2, pp. 41~46, 1975.
15. 金亨俊, 李京燮, 宋炳基 : 不妊症에 관한 臨床的 考察, 大韓韓醫學會誌, 15 ; 1, pp. 476~482, 1994.
16. 柳深根, 柳同烈, 尹鎮杓 의 1人 : 女性 不妊 原因의 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 6 ; 1 pp. 60~67, 1985.
17. 문신용, 서창석 : Controlled Ovarian Hypers-timulation for ART, pp. 79~115, 不妊症治療의 최신 동향, 서울대학교병원 산부인과, 1995.
18. 문신용, 서창석, 서대식 : 과배란유도에 의한 다태임신에서의 선택적 유산술에 관한 연구, 대한산부내시경회지, 제4권 제2호, 1992.
19. 裴種國, 金吉萱 : 調經種玉湯 投與가 女性의 性腺刺戟 hormone 및 性 hormone의 動態에 미치는 影響, 大韓東醫生理學會, 東醫生理學會誌, 5(1) ; 1~29, 1990.
20. 白承禧, 李京燮 : 養精種玉湯이 卵巢機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集, 19(2) ; 119~128, 1996.
21. 卞廷煥, 宋炳基 : 玉鑰啓榮丸과 調經養精元이 雌性 Rat의 hormone 및 Catecholamine 함량에 미치는 영향, 慶熙大學校 論文集, 9 ; 107, 1986.
22. 梁秀烈, 李京燮, 宋炳基 : 不妊症의 臨床的 考察, 大韓韓醫學會誌, 5 ; 1 pp. 102~105, 1985.
23. 李京燮, 宋炳基 : 調經種玉湯이 卵巢機能에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大 論文集, 6 ; 139~152, 1983.
24. 李明珍, 李京燮, 宋炳基 : 溫胞散이 卵巢機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集, 18(2) ; 13~23, 1995.
25. 임훈, 윤만수, 김원희 : 女性 不妊症의 臨床

- 的 考察, 大韓産婦會誌, 24; 771, 1981.
26. 정병준, 이은숙, 이상훈外 1人 : 체외수정 시술시 성공적인 과배란 유도 의 지표로서 Clomiphen Citrate Challenge Test의 효용성에 관한 연구, 大韓産婦會誌, 제38권 제8호, pp. 1439~1445, 1995.
27. 鄭奉天, 具本泓 : 通經湯이 排卵 및 妊娠維持에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大 論文集, 6; 65~79, 1983.
28. 鄭鎮倬, 姜孝信 : 益斯丸과 東樞艾附湯이 卵巢機能 및 子宮筋에 미치는 影響, 慶山大學校 博士學位論文, 1988.
29. 張潤錫, 李珍鏞, 文信容외 3人 : 不妊症 患者의 統計的 考察- 서울대학교 병원 不妊相談室 1872例의 分析-, 大韓不妊學會誌, 12; 1 pp. 47~70, 1985.
30. 江 瓚 : 名醫類案, 臺北, 廣業書局有限公司, p.325, 1969.
31. 龔延賢 : 增補萬病回春, 서울, 행림서원, pp. 97, 1972.
32. 國 軫 : 實用中西醫結合産婦科証治, 山西, 山西中醫研究所, pp. 384~390 1984.
33. 羅元愷, 曾敬光, 劉敏如 : 中醫産婦科學, 北京, 人民衛生出版社, pp. 391~397, 1988.
34. 大方畧판사 : 葉天士女科診治秘方, 台北, 大方出版社, 中華民國 71年, p. 89.
35. 萬全 : 萬氏婦人科, 湖北, 湖北人民出版社, pp. 15~17, 1983.
36. 孟 云, 李秀珍 : 婦女病의 中醫治療, 北京, 人民軍醫出版社, pp. 137~141, 1983.
37. 武之望 : 濟陰綱目, 臺北, 旋風出版社, pp. 189~190, 1972.
38. 傅青主 : 傅青主男女科, 서울, 대성문화사, pp. 102~109, 1989.
39. 北京中醫學院中藥教研室篇 : 藥性歌括四白味白話解, 北京, 人民衛生出版社出版, pp. 1, 3~4, 142~143, 180~181, 184~185, 1986.
40. 北京中醫醫院 : 劉奉五婦科經驗, 北京, 人民衛生出版社, pp. 313~314, 316, 1982.
41. 謝孟志 : 傅青主女科發揮, 北京, 北京中醫學院出版社, p. 60~80, 1994.
42. 史宇廣, 單書健 : 當代名醫臨証精華, 北京, 中醫古籍出版社, p. 31, 49~51, 1992.
43. 葉天士 : 葉天士女科, 서울, 大星文化社, p. 348, 1989.
44. 巢元方 : 巢氏 諸病源候論, 臺中, 超人出版社, pp. 663~667.
45. 孫久齡 : 婦科證治, 서울, 의성당, pp. 143~147, 1994.
46. 孫思邈 : 備急千金要方, 서울, 大星文化社, p. 16, 1984.
47. 孫思邈 : 千金翼方, 臺北, 大方出版社, p. 65, 1968.
48. 宋林阜 : 四明宋氏女科秘書, 臺北, 文光圖書有限公司, pp. 48~54, 1981.
49. 蕭 埏 : 女科經論, 江蘇城, 江蘇科學技術出版社, pp. 53, 55, 62, 1986.
50. 安正和 : 中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp. 430~431, 721~728, 742~749, 784~785, 893, 1991.
51. 楊家駱 : 珍本醫書集成, 臺北, 世界書局, pp. 29~36, 1951.
52. 楊恒茂, 張文閣 : 實用中醫婦科方藥學, 陝西科學技術出版社, 西安北大街, pp. 116~117, 119~122, 185, 1988.
53. 楊維傑 : 黃帝內經素問譯書, 臺北, 臺聯國風出版社, pp. 4~6. p. 443, 1971.
54. 楊醫亞 : 婦科, 河北, 河北科學技術出版社, pp. 356~361, 1987.
55. 吳大眞, 喬 模 : 現代名中醫婦科絕技, 北京, 科學技術文獻出版社, pp. 210~213, 214~217, 1993.
56. 王肯堂 : 六科准繩, 臺聯, 新大豐出版公社, 卷4, 胎前門, 求嗣篇, 1974.
57. 陸 平, 唐仲偉 : 古今不育症驗方精選, 上海, 上海中醫學院出版社, pp. 193, 1991.

58. 張介賓：景岳全書，臺北，國風出版社，p. 685, 1972.
59. 張璐玉：張氏醫通，中國金藏書局，pp. 401~402.
60. 周命新：醫門寶鑑，서울，행림서원，p. 326, 1971.
61. 陳念祖：女科雜症，台北，文光圖書公社，p. 1362, 1978.
62. 陳夢雷等編：婦科，古今圖書籍性醫部全錄，第9卷，p. 93, 1991.
63. 陳士澤：石室秘錄，서울，행림서원，pp. 162~163, 1982.
64. 陳修園：女科要旨，福建省，福建科技出版社，pp. 162~163, 1982.
65. 陳自明：婦人良方大全，臺北，集文書局，卷9，求嗣門，1970.
66. 叢春雨：中醫婦科臨床經驗選，北京，中醫中醫藥出版社，pp. 211~213, 1994.
67. 沈金鷺：婦科玉尺，서울，自由出版社，p. 7, 1969.
68. 沈堯封：沈氏女科輯要，臺北，旋風出版社，pp. 90~91, 1967.
69. 梅振翼：中藥人工周期療法治療不孕症研究發展，吉林中醫藥，第5期，p. 39, 1991.
70. 尙云：朱南孫治療不孕症的經驗，中醫雜誌，29(6)；417, 1988.
71. 索延昌：新脾胃論，山東，山東科學教育出版社，p. 22, 25, 1986.
72. 楊文蘭 梅振翼：中藥人工周期治療原發性不孕132例 臨床觀察，上海，上海中醫藥雜誌，(6);18, 1987.
73. 王光輝：劑洪祥治療排卵功能障礙性不孕症的經驗，山東中醫雜誌，12(4)；43-44, 1993.
74. 王玉英，林義仕：中西結合治療不孕症 58例的 臨床體會，福建中醫學，19 ;2 p. 47~48, 1988.
75. 李超英：調整月經周期治療不孕症198例，挾西中醫，12；12 p. 531.,1991.
76. 張立菅，劉淑云外 2人：辨証分型治療不孕症 150例 臨床 觀察，新中醫，pp. 40~42, 1993.
77. 沈健平：不妊症診治經驗粹談，遙寧中醫雜誌，p. 30, 1992.
78. 沈連態：傅青主治療不妊十法初探，河北，四川中醫，1期，p. 11~12, 1992.
79. 胡雯：毓麟珠治療不孕症24例臨床觀察，江蘇省，江蘇中醫，12期，pp. 13~14, 1990.
80. 黃秀賢：中藥人工周期爲主治療不孕症 32例 小結，新中醫，6；37~39, 1991.
81. Arthur C. Guyton, M. D. : Textbook of medical physiology, west washington square philadelphia, W.B. Saunder Company, p. 987, 1986.
82. Dor, J., Homburg, R., and RabauE.: An evaluation of etiologic factor and therapy in 665 infertile couples. Fertile. Steril., 28 ; 718, 1977.
83. Drake, T., tredway, D., Buchanan, G., Takaki, N., and Daane, T. : Unexplained Infertility. A Reappraisal. Obstet. Gynecol. 50 ; 644, 1977.
84. F. Gary Cunningham M.D., Paul C. Mac Donald M.D et al. : Williams Obstetrics, Printice-Hall international Inc. , 1993.
85. Leon Speroff M.D., Joe Leigh Simpson M. D. et al. : Diagnosis and management of infertility, Gynecology and Obstetrics Volum 5, Harper and Row Publishers, Philadelphia, pp. 1~18, 1984.
86. Roy M. Pitkin, M.D. et al. : The year book of Obstetrics and Gynecology, Year book medical pub. inc, Chicago, pp. 385~409, 1983.
87. Robert W. Kistner M.D. : Gynecology principles and practice, Year book medical pub. inc, Chicago, pp. 415~421, 1986.
88. Robert W. Show et al. : Gynecology,

Churchill Livingstone, London, pp. 219~
229, 1992.

Clinical Gynecologic Endocrinology &
Infertility. 3rd ed., Williams & Wilkins Co.,
Baltimore, 1983.

89. Speroff L., Glass, R.H., and Kase, N.G. :