

효모가수분해물 SCP-20의 첨가가 웅성 마우스의 생식 기능에 미치는 영향

- 연구노트 -

홍종욱¹ · 김인호^{1*} · 유승환² · 이현숙¹ · 권오석¹ · 민병준¹ · 이원백¹ · 손경승¹ · 김진만³

¹단국대학교 동물자원학과
²광제산부인과병원 불임연구센터
³(주)뉴로타이드

The Effects of Yeast Hydrolysate SCP-20 on Reproductive Function in Male Mice

Jong-Wook Hong¹, In-Ho Kim^{1*}, Seung-Hwan Yoo², Hyun-Sook Lee¹, Oh-Suk Kwon¹,
Byoung-Joon Min¹, Won-Baek Lee¹, Kyoung-Seung Shon¹ and Jin-Man Kim³

¹Dept. of Animal Resource and Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

²Sterility Research Center, Kwang Je Obstetrics and Gynecology, Cheonan 330-170, Korea

³Neurotide, Inc., Chuncheon 200-957, Korea

Abstract

A total of forty male mice (32~33 g average initial body weight) were used in a 10-d growth study to evaluate the effects of dietary yeast hydrolysate SCP-20 on reproductive function in male mice. Dietary treatments included 1) CON (basal diet) and 2) TRT (CON diet + 1.5% yeast hydrolysate SCP-20). Testis weight of male mice fed TRT diets was higher than that of male mice fed CON diet ($p < 0.05$). Also, VSL was significantly ($p < 0.05$) increased in male mice fed TRT diet compared to that in male mice fed CON diet. Male mice fed TRT diet showed significant ($p < 0.05$) improvement in VAP (average-path velocity) and LIN (linearity) compared to male mice fed CON diet. Also, velocity of epididymal sperm of male mice fed TRT diets was higher than that of male mice fed CON diet ($p < 0.05$). In conclusion, the results obtained from this trial suggests that the dietary yeast hydrolysate SCP-20 was an effective means of improving sperm velocity in male mice.

Key words: yeast hydrolysate SCP-20, sperm velocity, mice

서 론

사람이나 동물이 스트레스를 받으면 자율신경계 중 교감신경의 흥분으로 아드레날린과 같은 호르몬 분비가 촉진된다. 그러나 체내에 이러한 계속적인 교감신경의 흥분을 저지하기 위하여 부교감 신경을 흥분시켜 전체적인 자율신경계의 균형을 유지하려 하지만, 계속적으로 스트레스를 받으면 스트레스 에너지가 축적되고, 이로 인해서 세포 및 체액 면역체계에 영향을 미쳐 질환이 발생하게 된다. 이렇게 발생하는 질환에는 소화기 및 순환기계 질환과 생식기계 질환 등이 있다.

생식기계 질환중에는 불임이 있으며, 남성 불임 발생에 영향을 주는 요인 중에는 스트레스와 함께 음주, 흡연, 식습관과 같은 요인이 있다(1). 세계적으로 불임 환자 발생율은 결혼한 부부중 약 10~15% 정도가 불임이고, 이 중에서 남성 불임이 50%를 차지하는 것으로 보고되었다(2). 또한, 최근

남성의 정자수가 감소하는 경향을 나타낸다는 연구결과가 지속적으로 발표되고 있다(3). 남성 불임 발생 원인 중에 하나인 스트레스 요인을 제거하기 위하여 항스트레스성 물질 급여가 제안되고 있으며, *Saccharomyces cerevisiae*를 단백질 분해효소로 처리하여 얻은 가수분해물 SCP-20은 월경전증 후군과 같은 질환을 효과적으로 개선시킬 수 있는 것으로 보고되었다(4).

본 실험의 목적은 *Saccharomyces cerevisiae*를 단백질 분해효소로 처리하여 얻은 가수분해물 SCP-20의 첨가가 웅성 마우스의 생식 기능에 미치는 영향을 평가하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

웅성 마우스에게 효모가수분해물 SCP-20의 급여가 정소상체 미부의 정자수 및 정자활력도에 미치는 영향을 평가하

*Corresponding author. E-mail: inhokim@dankook.ac.kr
Phone: 82-41-550-3652, Fax: 82-41-553-1618

기 위하여 실시하였다.

효모가수분해물 SCP-20의 준비

효모가수분해물 SCP-20은 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2346을 2% 포도당, 0.6%(NH₄)₂SO₄, 0.1% MgSO₄ · 7H₂O, 0.2% KH₂PO₄, 0.03% K₂HPO₄, 0.1% NaCl로 구성된 배지를 이용하여 30°C에서 48시간 동안 배양한 후, 3,000×g에서 원심분리하여 균체를 회수하였다. 회수한 균체에 50 mM 인산 완충용액 (pH 7.0)을 균체량의 10배량 가하고, pronase(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo)를 균체량의 0.5%가 되게 가하여 30°C에서 6시간동안 가수분해를 실시하였다. 6시간 후 효소를 불활성화시키기 위해 100°C 수욕에서 10분간 방치한 후, 8,000×g에서 원심분리하여 얻은 상정액을 분무건조하여 SCP-20을 생산하였다. SCP-20의 조성분은 조단백질 57.3%, 조지방 6.4%, 탄수화물 28.1%, 조회분 4.7%를 함유하였다.

실험동물

대한바이오링크에서 구입한 7주령, 체중 32~33 g의 ICR 웅성 마우스를 사용하였다. 사육실 온도는 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 5회/hr, 조도 200 Lux 조건하에서 유지하였다. 총 점등시간은 일일 14시간이 되도록 조절하였다. 실험기간중 마우스 식이(삼양유지사료)를 분쇄하여 가루형태로 급여하였다.

실험설계 및 사육관리

개시시 체중 32~33 g의 웅성 마우스 40수를 공시하여 10일간 실험을 실시하였다. 실험설계는 분쇄한 가루형태의 일반 마우스 식이를 급여한 대조군(CON)과 대조군 식이에 SCP-20을 1.5% 첨가한 처리군(TRT)으로 하여 처리당 5회, 회당 4마리씩 완전임의배치하였다.

실험식은 가루 형태로 자유섭취토록 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 하였다. 체중은 실험 개시시와 실험 종료시에 측정하여 체중 증가량을 계산하였다.

체중 및 정소무게 측정

실험종료 후, 웅성 마우스를 5시간 절식시킨 후, 체중을 측정하였다. 경추를 탈구하여 복부를 절개한 후 양쪽 정소와 정소상체를 분리하였다. 실체 현미경을 이용하여 지방조직을 제거한 후 좌우 정소의 무게를 측정하였다.

정소상체 미부 정자의 운동성

정소상체미부 정자의 운동성을 측정하기 위해서 24시간 전에 Ham's F10(Gibco, USA) 배양액을 4-well dish(Nunclon™, NUNC Brand Products, Denmark)에 넣어 전배양한 후, 정소상체미부를 배양액에 넣은 상태에서 주사기 바늘을 이용하여 정소상체미부를 punching 하였다. 정소상체미부 정자가 함유된 배양액을 37°C, 5% CO₂ 배양기(Forma Scientific, USA)에서 3시간동안 배양한 후 정자의 운동성을 분석하였다.

정자의 운동 특성은 위상차 현미경(Olympus BX-50, Japan)과 CCD 카메라(Toshiba, Japan)를 통해 연결된 SAIA(Medical Supply, Ltd., Korea)를 이용하여 정자의 운동성(motility), 단위시간당 시점에서 종점까지의 속도를 나타내는 직선운동속도(straight-line velocity; VSL), 정자의 실제 이동경로에 따른 이동속도인 곡선운동속도(curvilinear velocity; VCL), 곡선이동경로에 대한 평균 이동을 나타내는 평균경로속도(average-path velocity; VAP), 평균이동경로와 실제이동경로와의 측방거리차인 측두거리(amplitude of lateral head displacement; ALH), 곡선경로선형도(linearity; LIN), 평균경로 선형도(straightness; STR), 고활력 정자(hyperactivated sperm percent; HYP) 그리고 정자 이동속도 분석을 rapid, medium, slow로 분류하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 SAIS의 초기 설정치는 Table 1과 같다. 분석시 영상처리는 초당 30 frame이었고, 정자의 속도는 두부가 1초에 최소한 10 μm 이상을 움직인 경우 운동성이 있는 것으로 정의하였다. 또한, 정자의 최대속도는 250 μm/sec로 정의하였다. 한 시야에서 최대 측정가능한 정자의 수는 400개였으며, 한 시료를 10개의 시야까지 분석할 수 있었다. 분석시 Makler Counting Chamber(Sefi Medical, Israel)에 분석할 시료 5 μL를 넣은 후, 분석하였다.

통계분석

모든 자료는 SAS(5)를 이용하여 SCP-20의 급여에 따른 정소무게 및 정자 운동 특성에 대한 유의성 검정은 Student t-test에 의하여 실시하였다.

결과 및 고찰

웅성 마우스 식이내 SCP-20의 첨가가 체중 증가량 및 정소무게 변화에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. 체중 증가량에 있어서는 대조군과 비교하여 처리군의 마우스 체중 증가량이 낮게 평가되었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 정소무게에 있어서는 대조군과 비교하여 처리군의 정소무게가 29%(1834 vs 2374 mg) 더 높게 평가되었다($p < 0.05$).

웅성 마우스 식이내 SCP-20의 첨가가 정소상체 미부의 정자 운동특성에 미치는 영향을 Table 3에 나타내었다. 정소상체 미부의 정자 운동성에 있어서는 대조군과 비교하여 처리군의 운동성이 13%(16.16 vs 18.21%) 향상되었으나, 표준

Table 1. Parameter settings used with semen analysis imaging system

System parameter	Value
Image sampling frequency (frame/s)	30
Duration of image capture (s)	1
Minimum motile speed (μm)	VSL ¹⁾ 10
Maximum motile speed (μm)	VSL 250
Maximum countable number (sperm)	400
Maximum countable frame	10

¹⁾VSL: straight-line velocity.

Table 2. Effects of dietary yeast hydrolysate on body weight gain and testis weight in male mice¹⁾

Item	Control	Treatment ²⁾
Body weight gain (g)	2.75±0.33	2.31±0.33
Testis weight (mg)	1834±63*	2374±63*

¹⁾Forty male mice with an average initial body weight of 32 ~ 33 g.

²⁾Abbreviated TRT, CON diet+1.5% yeast hydrolysate.

*Means in the same row with different superscripts are different at p<0.05.

Table 3. Effects of dietary yeast hydrolysate on sperm kinematic characteristics in male mice¹⁾

Item	Control	Treatment ²⁾
Sperm motility (%)	16.16±0.63	18.21±0.63
Curvilinear velocity (µm/s)	45.12±2.02	46.68±1.83
Straight-line velocity (µm/s)	13.35±0.98*	16.35±0.80*
Average-path velocity (µm/s)	20.32±0.70*	24.35±0.63*
Linearity	27.21±2.14*	34.39±1.93*
Amplitude of lateral head displacement (µm)	4.37±0.12	4.26±0.11
Hyperactivated (%)	29.30±1.44	25.33±1.30
Straightness	59.83±2.13	65.85±1.93

¹⁾Forty male mice with an average initial body weight of 32 ~ 33 g.

²⁾Abbreviated TRT, CON diet+1.5% yeast hydrolysate.

*Means in the same row with different superscripts are different at p<0.05.

오차가 크기 때문에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Curvilinear velocity(VCL)는 정자의 실제 이동경로에 따른 이동속도인 곡선운동속도를 나타내는 것으로, 대조군과 비교하여 처리군의 VCL이 높았으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다. Straight-line velocity(VSL)는 단위시간당 시점에서 종점까지의 속도를 나타내는 직선운동속도를 나타내는 것으로 대조군과 비교하여 처리군의 VSL이 유의적으로 높았다(p<0.05). 곡선이동경로에 대한 평균 이동을 나타내는 평균 경로속도를 나타내는 average-path velocity(VAP)와 곡선 경로선형도(linearity; LIN)는 대조군과 비교하여 처리군이 더 높았다(p<0.05). 그러나 평균이동경로와 실제이동경로와의 측방거리차인 측두거리(amplitude of lateral head displacement; ALH)와 고활력정자(hyperactivated sperm percent; HYP) 농도는 처리군과 비교하여 대조군이 더 높았으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한, 웅성 마우스 사료내 SCP-20의 첨가가 정자 이동속도에 미치는 영향을 분석하였다(Fig. 1). 웅성 마우스에게 SCP-20을 급여하면 정소상체 미부 정자의 속도가 증가하는 것으로 나타났으며, Fig. 1에서 볼 수 있는 것처럼 정자의 운동속도 중 rapid를 나타내는 정자의 비율이 유의적으로 높아졌다(p<0.05).

최근 남성의 정자수가 감소하는 경향을 나타낸다는 연구 결과가 지속적으로 발표되면서 남성불임에 대한 관심과 연구활동이 활발히 이루어지고 있다. 남성이 불임되는 경우는 무정자증인 경우, 정자는 만들어지는데 정관이 막혀 정자가

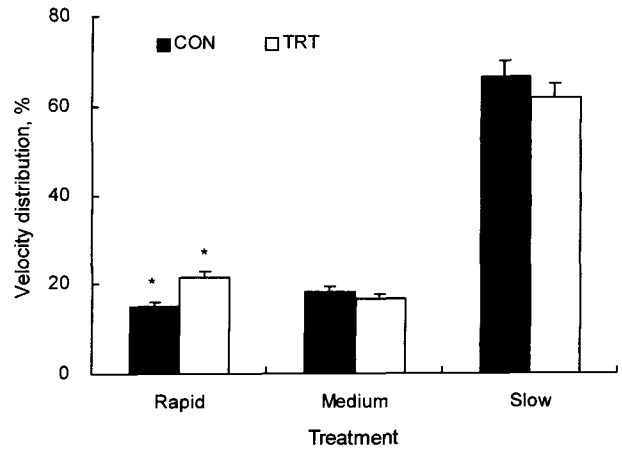


Fig. 1. Effects of dietary yeast hydrolysate on velocity distribution of epididymal sperms in male mice.

*Means are significantly different at p<0.05 from control.

밖으로 사출되지 못하는 경우, 정자 생성 부족, 정자의 운동성 부족, 희소 정자증, 호르몬 이상 등이다(6). 남성 불임 발생에 영향을 주는 요인에는 음주, 흡연, 식습관과 같은 요인들이 있으나, 성인 남성의 경우 스트레스가 남성 불임의 주요 요인으로 작용할 수 있다. 사람이 스트레스를 받으면 자율신경계 중교감신경의 흥분으로 아드레날린과 같은 호르몬 분비가 촉진된다. 그러나 체내에는 이러한 지속적인 교감신경의 흥분을 저지하기 위하여 부교감신경을 흥분시켜 전체적인 자율신경계의 균형을 유지하려 하지만, 계속적으로 스트레스를 받으면 스트레스 에너지가 축적되고, 이로 인해서 호르몬 분비기관인 시상하부나 뇌하수체 기능 장애, 갑상선 기능 저하증, 부신증식증 등 생식기계 질환이 발생할 수 있다(7). 따라서 이러한 스트레스성 질환 증상을 개선하기 위해 불안 완화제나 신경이완제를 사용할 수 있으나, 이러한 약물들은 스트레스에 대한 원인과 병리 작용 없이 미세한 증상적 약물 치료만을 나타내는 단점을 갖고 있으며, 스트레스에 의해 발생하는 만성손상을 감소시키지 못하기 때문에 사용상한계를 갖고 있다. 그러나 본 실험에 사용한 SCP-20은 *Saccharomyces cerevisiae*를 단백분해효소로 처리하여 얻은 가수분해물로서 스트레스성 증상 완화 효과가 있는 것으로 보고되었다(4).

본 실험에 사용한 SCP-20은 천연물질로서 여성의 경우 월경주기에 따른 감정, 행동, 정신적 변화로 인해 결혼생활, 사회생활 그리고 가사 등에 상당한 정도의 장애를 가져오는 월경전증후군 감소 효과가 보고되었다(4). 이와 같은 결과는 SCP-20의 항스트레스 효과를 나타낸 것으로 본 실험결과에서도 SCP-20을 웅성 마우스에게 급여할 경우, 직선운동속도, 평균경로속도, 곡선경로선형도 그리고 정소상체 미부 정자의 운동속도가 증가한 것으로 나타났다. 그러나 SCP-20이 웅성 마우스에 생식기능에 미치는 영향에 대한 명확한 기전이 아직까지 확립되지 않은 상태이며, 현재 항스트레스성 물질인 SCP-20과 생식기능 향상에 대한 실험을 계획중에 있다.

요 약

본 실험의 목적은 *Saccharomyces cerevisiae*를 단백질분해 효소로 처리하여 얻은 가수분해물 SCP-20의 첨가가 마우스의 생식 기능에 미치는 영향을 평가하기 위하여 실시하였다. 개시시 체중 32~33 g의 7주령 ICR 웅성 마우스 40수를 공시하여 SCP-20의 급여가 정소무게 및 정소상체 미부 정자의 운동특성 미치는 영향을 평가하였다. 실험설계는 분쇄한 가루형태의 일반 마우스 식이를 급여한 대조군(CON)과 대조군 식이에 효모가수분해물 SCP-20을 1.5% 첨가한 처리군(TRT)으로 하였다. 정소무게에 있어서는 대조군과 비교하여 처리군의 정소무게가 유의적으로 더 높게 평가되었다($p < 0.05$). 정자의 직선운동속도(VSL)는 대조군과 비교하여 처리군에서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 평균경로속도(VAP)와 곡선경로선형도(LIN)는 대조군과 비교하여 처리군이 더 높았다($p < 0.05$). 또한, 웅성 마우스에게 SCP-20을 급여하면 정소상체 미부 정자의 운동속도가 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 결론적으로, 마우스에게 SCP-20를 급여하면 정자의 운동속도가 증가하는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 단국대학교 대학연구비 지원으로 연

구되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Joo HS. 2002. The diagnostic study of male infertility using DNA chip. *MS Thesis*. Hanyang University of Seoul, Korea.
2. Bhasin S, de Krester DM, Baker HW. 1994. Clinical review 74: Pathophysiology and natural history of male infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 1525-2529.
3. Jouannet P, Wang C, Eustache F, Kold-Jensen T, Auger J. 2001. Semen quality and male-reproductive health: The controversy about human sperm concentration decline. *APMIS* 109: 333-344.
4. Yu KW, Oh SH, Choi YS, Hwang WJ, Suh HJ. 2001. The reduction effect of yeast hydrolysate SCP-20 on premenstrual syndrome. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1000-1003.
5. SAS. 1996. *SAS user's guide*. Release 6.12 ed. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
6. Lee JK. 2001. A study on the stress and depression suffered by sterile men. *MS Thesis*. Hanyang University of Seoul, Korea.
7. CHA Medical Center. 2000. *Clinical Manual*. Seoul.

(2003년 4월 26일 접수; 2003년 8월 13일 채택)