

濃度別 韭子 投藥이
수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響

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

ABSTRACT

Effects of *Allii tuberosi* Semen Extract Solution
on Reproductive Capacities in Mice

In-Joong Kim, 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 *Allii tuberosi* Semen (ATS) on the spermatogenic abilities such as 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 8-week-old mice and administered the 0.2 ml extract solution of ATS in the different concentration (0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml and 100 mg/ml) once a day for 60 days. The control group was administered the distilled water in the same way. After the administration of each extract solution, we examined the number of total, motile and normal sperm, the activities of sperm hyaluronidase, testicular peroxidase and testicular catalase. Also we observed the histological changes of isolated testis. And we compared to the testicular tissue especially seminiferous tubules between control and treated group by histochemical methods.

Results : The concentration of total sperm, the motility and normality of spermatozoa were significantly increased in ATS groups, especially in 1 and 10 mg/ml groups, compared to 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 ATS groups compared to the control group, respectively. Also, the activity of hyaluronidase was significantly increased in the ATS groups compared to the control group. In the antioxidant activity analysis, the activity of testicular peroxidase was significantly increased in the ATS groups compared to the control group, especially in 1 mg/ml group. The activity of testicular catalase was increased in ATS groups.

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

Key Words : *Allii tuberosi* Semen, spermatogenic ability, sperm hyaluronidase, testicular peroxidase & catalase, infertility

I. 緒 論

최근 발생학적 요인과 환경적 요인의 상호작용으로 인하여 전세계적으로 전반적인 정자 질의 저하가 나타나고 있으며, 이는 남성불임의 증가로 이어지고 있다¹⁻³⁾.

남성불임은 약 40-75%가 원인불명으로⁴⁾, 약물치료와 보조생식술 등이 이용되고 있다. 남성 호르몬 제제^{5,6)}나 항여성 호르몬 제제⁷⁾ 등의 약물치료는 현재까지 만족할 만한 성과를 올리지 못하고 있으며, 보조생식술을 통한 임신은 근본적인 치료가 아니다. 또한, 유전적인 결함이 있는 불임 환자의 경우 그 결함이 자손까지 그대로 전달될 수 있다는 우려와, 약물치료 및 보조생식술에 있어서의 기술적인 불완전성이 한계로 인식되고 있다⁸⁾.

한의학에서 남성불임은 五勞, 七傷, 虛羸 등의 虛勞病證과 陽痿, 遺精, 早泄, 白濁 등을 포괄하는 개념으로⁹⁻¹¹⁾, 그 원인은 腎陽虛, 腎陰虛, 肝鬱氣滯, 痰濕內蘊, 氣血兩虛, 氣滯血鬱 및 脾腎兩虛 등이 있으나, 그 중 腎陽虛가 주된 원인이다^{10,12)}.

韭子は 《名醫別錄》¹³⁾의 中品에서 '韭子 主治夢泄精 溺白'이라고 기재하였으며, 補肝腎, 壯陽固精, 暖腰膝의 효능이 있어 陽痿, 夢遺, 頻尿, 遺尿, 腰膝酸軟冷痛 및 白濁帶下 등의 증상을 치료하는데 응용된다¹⁴⁻¹⁶⁾.

韭子를 이용한 실험적 연구로는 난소 적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방 및 치료효과¹⁷⁾와 항산화 작용¹⁸⁾에 대한 보고가 있으며, 박 등¹⁹⁾은韭子 투약이 수컷 생쥐의 정액 특성과 항산화 효소 활

성에 미치는 영향을 보고하였으나, 濃度別 投藥에 따른 효과와 수정 과정에서 중요한 영향을 미치는 精子尖體 活性에 대한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

이에 著者は 濃度別 韭子 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 韭子 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 活性度를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 藥材와 動物

1) 藥 材

百合科 (Liliaceae)에 속한 多年生 草本인 부추 *Allium tuberosum* Rottler의 성숙한 종자를 건조한 韭子 (*Allii tuberosi* Semen)를 경희의료원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

2) 動物

평균 체중 31.42 ± 1.57 g의 8주령 ICR 계 수컷 생쥐를 사용하였고, 12시간 소등과 점등 및 23 °C 조건의 사육실에서 사육하면서 물과 사료는 충분히 공급하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 製造

韭子 1000 g을 3차 증류수 (Ultrapure water systems, Milli-Q, USA) 1 l와 함께 용기 (Low density polyethylene)에 넣어 48시간 동안 60 °C에서 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, 고상시료에는 추가적으로 3차 증류수 1 ℓ를 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 감압 농축 (온도 60 °C 이하, 저압)하였다. 농축 시료는 -60 °C에서 48시간 저온 냉각 (Temphold, Hanil, Korea)하고 동결건조기 (CleanVac 8S, Hanil, Korea)에서 72시간 동안 동결 건조하여 최종 抽出物 46.81 g을 얻었다.

2) 檢液의 HPLC 分析

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

3) 實驗群 設定과 檢液 投與

생쥐 25마리를 각 군 당 5마리씩 5군으로 무작위 배정하였다. 실험군은 증류수에 용해한 精子 抽出物의 농도에 따라 0.1 mg/ml 군 (Sample A), 1 mg/ml 군 (Sample B), 10 mg/ml 군 (Sample C) 및 100 mg/ml 군 (Sample D)으로 구분하여

相異한 농도의 精子 檢液을 1일 1회 60일 (생쥐 정상 정자생성기간) 동안 0.2 ml씩 경구 투여하였고, 대조군은 동일한 양의 증류수를 동일한 방법으로 투여하였다.

4) 精子塊 分離

투약 종료 후 1일에 경추분리법으로 생쥐를 도살하고, 외과적으로 精巢上體尾部를 적출하여 해부현미경 (Nikon, Japan) 하에서 미세주사침을 이용하여 精巢上體尾部的 精子塊를 분리하였다.

5) 總 精子數와 活動 精子數 測定

채취한 精子塊 10 μl를 M2 배양액에 滴下하여 CO₂ 배양기 (Forma, USA)에서 1시간 동안 浮游한 후, 부유액 5 μl를 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 10 μl를 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, 공기 건조시켜 200배 및 400배 현미경 하에서 정자의 형태를 관찰하였다. 총 400개의 정자를 관찰하여 정자의 頭部, 中片部 및 尾部가 정상인 정자의 수를 측정하였다.

7) 睪丸組織 觀察

도살한 생쥐의 고환을 10% formalin (Junsei, Japan)에 고정하고 水洗한 후 ethanol (Merck, USA)로 저농도에서 고농도 순으로 각 단계별 한 시간이 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 0.1 mm 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 0.14 M sodium chloride 용액으로 5배 희석하여, 희석액 1 ml에 0.1 ml acetate buffer (0.3 mol/l, containing 0.45 mol/l sodium chloride)와 0.1 ml hyaluronic acid substrate를 첨가하여 37 °C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60 µl potassium tetraborate (0.8 mol/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 분리하고 상층액을 취하여 582 nm spectrophotometer (Beckman, Germany)에서 hyaluronidase의 optical density를 측정하였다.

9) 抗酸化酵素 分析

(1) Testicular peroxidase 活性度 分析

Cold buffer (50 mM potassium phosphate containing 1 mM EDTA, pH 7.0)에 적출 고환조직을 10 mg/ml 농도로 넣고 homogenizer로 30초간 파쇄한 후 13,000 rpm, 4 °C에서 15분간 원심 분리

하였다.

Luminescent용 96-well white plate (Griner, USA)에 standard diluent를 넣고 sample buffer를 50 µl 넣은 후 원심 분리된 상층액 50 µl와 substrate 50 µl를 넣은 다음 10초간 tapping하였다. Hydrogen peroxide trigger buffer를 50 µl 넣고 chemiluminescent hydrogen peroxide detection kit (Assay Design, Inc., USA)로 chemiluminometer (Tecan, USA)를 사용하여 5초간 peroxidase 活性도를 측정하였으며 모든 sample은 2회씩 측정하였다.

(2) Testicular catalase 活性度 分析

ELISA용 96-well plate (Nunc, Denmark)에 assay buffer 100 µl, methanol 30 µl, formaldehyde standard와 sample 20 µl 및 hydrogen peroxide 20 µl를 넣은 후 실온에서 20분간 shaking하였다. 이후 30 µl potassium hydroxide와 chromagen 30 µl를 넣고 실온에서 10분간 shaking한 후, 10 µl의 potassium periodate를 넣고 실온에서 5분간 shaking하고 catalase assay kit (Cayman Chemical, USA)로 ELISA reader (Tecan, USA)를 사용하여 540 nm 파장에서 catalase 活性도를 측정하였으며, 모든 sample은 2회씩 측정하였다.

10) 統計處理

실험 결과는 SPSS ver 11.5를 이용하여 ANOVA test로 통계적 유의성을 검증하였으며, $p < 0.05$ 인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였고, Tukey B로 multiple comparison test를 실시하였다.

Ⅲ. 結果

1. 總精子數, 活動精子數 및 正常形態精子數에 미치는 影響

總精子數는 대조군에서 $30.0 \pm 8.0 \times 10^6$ 개/ml로 측정되었다. Sample A, B, C 및 D는 각각 $55.2 \pm 5.5 \times 10^6$ 개/ml, $85.2 \pm 10.6 \times 10^6$ 개/ml, $76.4 \pm 11.5 \times 10^6$ 개/ml 및 $67.0 \pm 9.2 \times 10^6$ 개/ml로 측정되어 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었고, 檢液群 간 비교 결과, sample B와 C에서 현저한 증가를 나타내었다.

活動精子數는 대조군에서 $20.8 \pm 7.4 \times 10^6$ 개/ml로 측정되었다.

Sample A, B, C 및 D는 각각 $49.4 \pm 6.1 \times 10^6$ 개/ml, $72.2 \pm 7.6 \times 10^6$ 개/ml, $69.2 \pm 13.2 \times 10^6$ 개/ml 및 $59.2 \pm 8.9 \times 10^6$ 개/ml로 측정되어 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었고, 檢液群 간 비교 결과 sample B와 C에서 현저한 증가를 나타내었다.

正常形態精子數는 대조군에서 17.2 ± 7.3 개로 측정되었다. Sample A, B, C 및 D는 각각 50.4 ± 6.9 개, 72.0 ± 10.4 개, 66.6 ± 10.4 개 및 57.4 ± 10.3 개로 측정되어 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었고, 檢液群 간 비교 결과 sample B와 C에서 현저한 증가를 나타내었다 (Table I, Fig. 1).

Table I. Effect of *Allii tuberosi* Semen 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)	Normal Sperm
Control (n=5)	$30.0 \pm 8.0^{1)a2)}$	20.8 ± 7.4^a	17.2 ± 7.3^a
Sample A (n=5)	55.2 ± 5.5^b	49.4 ± 6.1^b	50.4 ± 6.9^b
Sample B (n=5)	85.2 ± 10.6^d	72.2 ± 7.6^d	72.0 ± 10.4^d
Sample C (n=5)	$76.4 \pm 11.5^{c,d}$	$69.2 \pm 13.2^{c,d}$	$66.6 \pm 10.4^{c,d}$
Sample D (n=5)	$67.0 \pm 9.2^{b,c}$	$59.2 \pm 8.9^{b,c}$	$57.4 \pm 10.3^{b,c}$

1) Mean \pm 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 0.1 mg/ml *Allii tuberosi* Semen extract solution

Sample B: Mice administered 1 mg/ml *Allii tuberosi* Semen extract solution

Sample C: Mice administered 10 mg/ml *Allii tuberosi* Semen extract solution

Sample D: Mice administered 100 mg/ml *Allii tuberosi* Semen extract solution

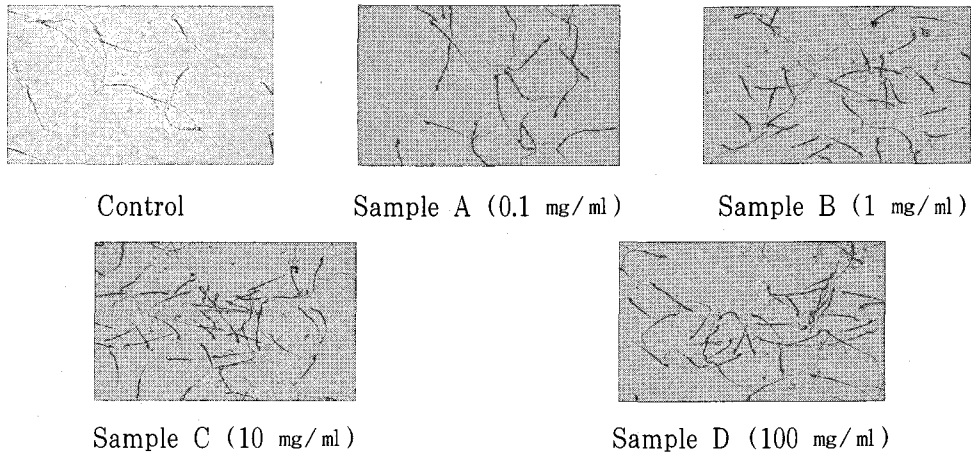


Fig. 1. Changes of the sperm count and morphology in the testis of mice administered *Allii tuberosi Semen* extract solution ($\times 200$)

2. 睪丸組織에 미치는 影響

고환조직을 해부현미경 (Nikon, Japan) 하에서 관찰한 결과 모든 韭子 檢液群의 고환조직 내 정소엽 (testicular

lobe) 직경이 대체로 크게 관찰되었으며 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig. 2, Fig. 3).

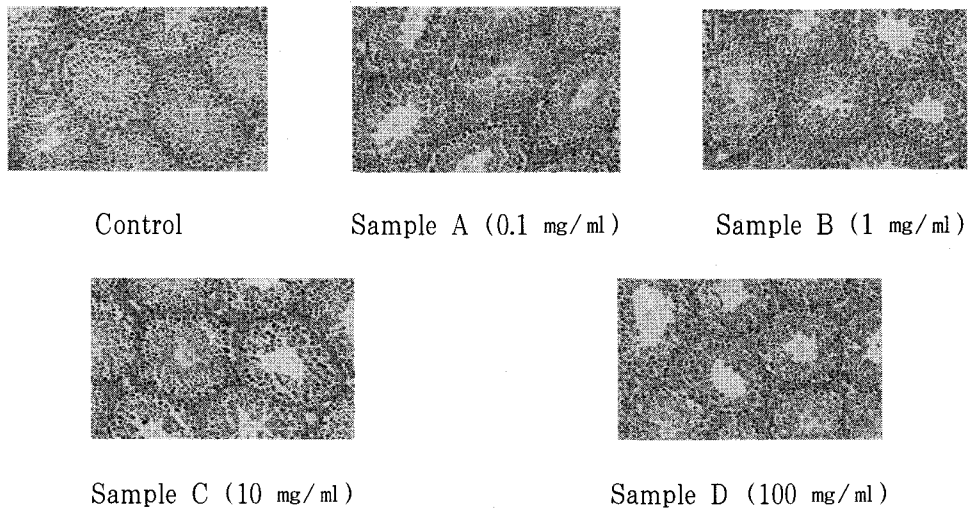


Fig. 2. Changes of tissue in the testis of mice administered *Allii tuberosi Semen* extract solution ($\times 200$)

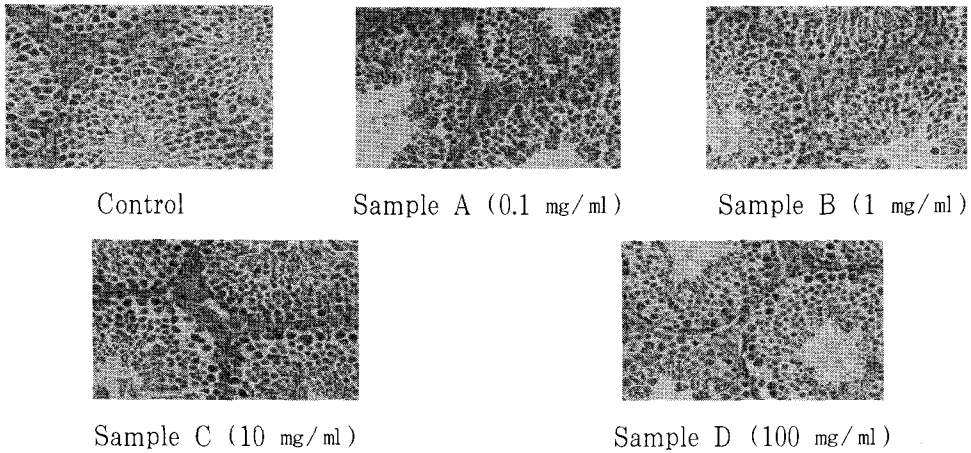


Fig. 3. Changes of tissue in the testis of mice administered *Allii tuberosi Semen* extract solution ($\times 400$)

3. 精子尖體 活性에 미치는 影響

Hyaluronidase의 活性度는 sample A가 0.1236 ± 0.0012 , sample B가 0.1486 ± 0.0029 , sample C가 0.1408 ± 0.0033 , sample D가 0.1726 ± 0.0030 로 측정되어, 대조군의 0.0374 ± 0.0024 에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 보였으나, 檢液群 간 차이는 나타나지 않았다 (Table II).

4. 抗酸化酵素에 미치는 影響

1) Testicular peroxidase 活性度

Testicular peroxidase 活性度는 대조군에서 14.80 ± 1.47 nmol/min/ml로 측정되었다. Sample A, B, C 및 D는 각각 21.97 ± 1.72 nmol/min/ml, 23.73 ± 2.52 nmol/min/ml, 18.20 ± 1.69 nmol/min/ml 및 19.25 ± 2.54 nmol/min/ml로 측정되어 대조군에 비하여 모두 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었으며, 檢液群 간 비교 결과 Sample B에서 현저한 증가를 나타내었다 (Table III).

Table II. Effect of *Allii tuberosi Semen* Extract Solution on the Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Groups		Sperm Hyaluronidase Activity
Control	(n=5)	$0.0374 \pm 0.0024^{1)a2)}$
Sample A	(n=5)	0.1236 ± 0.0012^b
Sample B	(n=5)	0.1486 ± 0.0029^b
Sample C	(n=5)	0.1408 ± 0.0033^b
Sample D	(n=5)	0.1726 ± 0.0030^b

1) Mean \pm 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 0.1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

Sample B: Mice administered 1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

Sample C: Mice administered 10 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

Sample D: Mice administered 100 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

Table III. Effect of *Allii tuberosi Semen* Extract Solution on the Activity of Testicular Peroxidase in the Testis of the Mice

Groups	Testicular Peroxidase Activity (nmol/min/ml)
Control (n=5)	14.80±1.47 ^{1)a2)}
Sample A (n=5)	21.97±1.72 ^{c,d}
Sample B (n=5)	23.73±2.52 ^d
Sample C (n=5)	18.20±1.69 ^b
Sample D (n=5)	19.25±2.54 ^{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 0.1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample B: Mice administered 1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample C: Mice administered 10 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample D: Mice administered 100 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

2) Testicular catalase 活性度

Testicular catalase 活性度는 Sample A가 0.4101±0.0164 nmd/min/ml, Sample B가 0.4651±0.0238 nmd/min/ml, Sample C가 0.4674±0.0025 nmd/min/ml, Sample D가 0.4064±0.0076 nmd/min/ml로 측정되어, 대조군의 0.3594±0.0564 nmd/min/ml에 비하여 모두 증가하였으며, 檢液群 간 비교 결과에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다 (Table IV).

Table IV. Effect of *Allii tuberosi Semen* Extract Solution on the Activity of Testicular Catalase in the Testis of the Mice

Groups	Testicular Catalase Activity (nmol/min/ml)
Control (n=5)	0.3594±0.0564 ^{1)a2)}
Sample A (n=5)	0.4101±0.0164 ^{a,b}
Sample B (n=5)	0.4651±0.0238 ^b
Sample C (n=5)	0.4674±0.0025 ^b
Sample D (n=5)	0.4064±0.0076 ^{a,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 0.1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample B: Mice administered 1 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample C: Mice administered 10 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solutionSample D: Mice administered 100 mg/ml *Allii tuberosi Semen* extract solution

IV. 考 察

불임은 1년 동안의 정상적인 부부관계 후에도 임신이 되지 않는 것으로²⁰⁾, 난소요인, 경관요인, 자궁내막요인, 난관요인 및 복강요인 등 여성 단독 요인이 30%를 차지하며, 남성 단독 요인은 약 30% 정도, 남여 공동 요인이 약 20% 정도로, 약 50%에서 남성 불임이 나타나고 있다²¹⁾.

남성불임의 원인은 정계정맥류, 정관

의 폐색, 사정 장애와 같은 명확한 해부학적인 원인도 있지만, 약 40% 이상은 원인이 밝혀지지 않은 불충분한 정자의 생성 및 정자의 활동성 감소에 의한 것이다. 기타 요인으로서는 영양 대사 장애, 만성소모성질환, 항정자 면역 이상 및 심인성 등이 있다⁴⁾.

남성불임에 대하여 《素問·上古天真論》²²⁾에서는 老化에 따른 腎精枯渴로 인한 人體生殖機能의 衰退를 언급하였고, 《靈樞·經筋》²³⁾에서는 足厥陰之脈이 寒에 傷하면 陰縮入하고 熱에 傷하면 縱挺不收한다고 하여 寒熱로 인한 勃起不全 즉 陽痿를 언급하였다. 漢代 張²⁴⁾은 虛勞로 인한 腎精虧損과 腎陽虛損을 주요 원인으로 보았고, 隋의 巢²⁵⁾는 精清, 精冷, 泄精 등으로 세분하였으며, 孫²⁶⁾과 陳²⁷⁾은 五勞, 七傷 등의 虛勞를 주 원인으로 보았다. 明代 張²⁸⁾은 精에 근본을 두어 精滑, 精清, 精冷, 臨事不堅, 流而不瀉, 夢遺頻數 및 好色 등으로 구체화하였고, 王²⁹⁾은 '男則主於精'이라 하여 精虛를 위주로 보았으며, 陳³⁰⁾은 精寒, 氣衰, 精少, 痰多, 相火 및 氣鬱 등의 병인을 제시하여, 대부분 腎陽虛를 남성 불임의 주원인으로 분류하였다³¹⁾.

남성불임의 한의학적 치료에 대하여, 《素問·痿論》²²⁾에서는 陽明을 取하여 宗筋을 滋養하라 하였고, 陳²⁷⁾은 勞傷痼疾을 調治한 후에 內外和平해야 한다고 했으며, 王²⁹⁾은 無子の 原因을 腎精不足으로 보고 補腎하되 脈의 虛實을 살펴서 補氣와 行氣를 겸하라 하였고, 陳³⁰⁾은 精寒은 溫其火, 氣衰는 補其氣, 痰多是 消其痰, 火盛은 補其水, 精少는 益其精하고, 氣鬱은 舒其氣하되 오로지 相火만을 補하는 것은 不可하다 하여 虛實을 구분

하고 辨證治療의 基礎를 마련하였다.

남성불임에 대한 치료 처방은 唐代 孫²⁶⁾이 精氣衰少無子에 七子散을 제시한 이후, 保眞丸, 聚精丸²⁹⁾, 慶雲散^{26,27)}, 忘憂散³²⁾, 五子衍宗丸³³⁾, 固本健陽丹, 六味地黃丸³⁴⁾, 景岳贊育丹²⁸⁾, 續嗣丹, 壯陽丹³⁵⁾ 등이 사용되어 왔으며, 주로 肉蓯蓉, 附子, 非子, 肉桂, 鹿角, 淫羊藿, 巴戟 등의 補腎陽 藥物이 頻用되었다¹²⁾.

이 중 非子는 百合科 (Liliaceae)에 속한 多年生 草本인 부추 *Allium tuberosum* Rottler의 성숙한 종자를 건조한 것으로¹⁴⁾, 辛甘溫하고 肝腎經에 들어가 補肝腎, 壯陽固精, 暖腰膝의 효능이 있으며^{14,15,36)}, 續嗣丹, 壯陽丹, 巨勝子丸³⁵⁾, 贊肉丹³⁷⁾, 韭子丸, 六子補腎湯, 沈香保生丸, 長春廣嗣丸³⁸⁾ 등의 처방에 사용되어 腎陽虛로 인한 陽痿, 遺精, 滑精, 頻尿 및 夜尿 등의 치료에 응용된다. 약리학적으로 非子の 주성분은 alkaloid, protein, saponin, flavonoid 및 vitamin C 등으로 알려져 있다^{14,39)}.

한약을 이용하여 남성불임을 개선시키는 연구로는 환경호르몬으로 알려진 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin로 유발된 고환 손상에 대한 인삼의 효과^{40,41)}, 정액 이상에 의한 남성불임에 대한 홍삼 추출물의 효과⁴²⁾, 少腹逐瘀湯의 acrosin activity 활성화⁴³⁾ 및 兎絲子⁴⁴⁾, 紫河車⁴⁵⁾, 淫羊藿^{46,47)}, 鹿茸⁴⁸⁾ 투약이 수컷 생쥐의 정자 수, 운동성 및 정상정자 비율을 증가시켰다는 보고가 있었다.

非子에 관한 실험 연구로는 난소를 적출하여 유발한 흰쥐의 골다공증에 일정한 예방 및 치료효과가 있다는 보고¹⁷⁾와 항산화 작용에 대한 보고¹⁸⁾가 있었으며, 박 등¹⁹⁾은 非子 投藥이 웅성 백서의 정

소기능 및 testicular catalase와 testicular peroxidase의 활성에 미치는 영향을 보고한 바 있으나, 濃度別 投藥에 대한 효과는 보고된 바 없다.

이에 著者は 濃度別 精子 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度의 精子 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 活性度를 관찰하였다.

남성의 가임능력 평가방법으로 가장 널리 사용되어온 정액검사는 정액 내 정자의 농도, 운동성 및 형태 등의 특성을 정량적으로 분석하는 것이다. 그러나 현미경하에서의 통상적 정액검사는 간편하게 시행할 수 있는 반면 변이성이 크기 때문에 민감도가 떨어져 정자의 수정능력을 정확히 반영할 수 없는 것으로 알려져 있다. 그럼에도 정자의 운동성과 운동성 정자의 농도는 가임능력에 대한 중요한 지침으로 인식되고 있으며, 정상형태인 정자의 비율도 남성불임의 평가에서 중요성이 강조되고 있다⁴⁹⁻⁵²⁾.

이 연구에서 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數에 대하여 모든 精子 檢液群이 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며, 檢液群 중에서는 1 mg/ml 와 10 mg/ml 檢液群에서 현저한 증가를 나타내었다.

精子 檢液 投與 후 고환조직을 관찰한 결과 고환조직 내 정소엽의 직경이 대체로 크게 관찰되었으며, 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다. 이는 精子 檢液 投與로 고환조직의 성숙과 발달이 촉진되었음을 의미하며, 혈관형

성의 촉진으로 인해 고환 내 정자 형성이 증가되었음을 유추할 수 있었다.

Hyaluronidase는 침체활동 동안 정자頭部에서 분비되는 효소로, 수정시 난자의 투명대를 뚫는 역할을 하며, hyaluronic acid는 난포막 세포의 extracellular matrix에 존재하며 hyaluronidase에 의하여 분해된다²⁰⁾. Hyaluronidase의 낮은 활성은 정자의 수정 효율을 감소시키므로, 최근 불임 분야에서는 semen hyaluronidase activity와 sperm characteristics의 관계에 관하여 연구가 진행 중이다⁵³⁾.

精子 檢液 投與 후 hyaluronidase 活性度를 측정한 결과 精子 檢液群 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었으나, 檢液群 간 차이는 없었다.

산소분자는 전자를 획득하여 환원되는 과정에서 더욱 활발한 반응을 할 수 있는 활성산소가 되는데, 적당한 활성 산소는 항균작용과 면역체계 조절, 세포성장의 조절 등 각종 생체현상에 유의한 역할을 담당한다. 그러나 활성산소가 과도하게 증가되면 정상 조직에 유해한 영향을 미치며, 정자에 대해서는 정자 세포막 불포화지방산을 공격하여 과산화시킴으로 인해 세포막 이상, 정자 운동성 감소, 정자침체 반응 이상 및 수정률 저하 등을 야기하는 것으로 알려져 있다⁵⁴⁻⁵⁶⁾.

활성산소를 조절하기 위해 생체 내에는 다양한 항산화기전이 존재하며, 정자 기능에 연관된 항산화제로는 superoxide dismutase, catalase 및 peroxidase 등이 있다. Catalase는 백혈구에서 발생한 O_2^- 를 제거하여 생식기의 염증 시에 정자를 보호하는 역할을 하며, peroxidase는 지질과산화의 억제에 의한 운동성의 호전

과 정자핵의 응축에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁵⁶⁾.

非子 檢液 投與가 고환조직 내 항산화제인 testicular peroxidase와 testicular catalase의 活性에 미치는 영향을 알아 본 결과, testicular peroxidase 活性도는 모든 非子 檢液群에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였으며, 檢液群 간에서는 1 mg/ml 檢液群에서 타 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. Testicular catalase 活性도는 모든 非子 檢液群에서 대조군에 비하여 증가하였다.

이상의 실험 결과를 종합해 보면, 非子 檢液은 수컷 생쥐의 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數를 증가시켰고, 辜丸組織의 정소엽 간 혈관 증식 및 정소엽의 크기를 증가시켰으며, 精子尖體 酵素인 hyaluronidase 活性도를 증가시켰고, testicular peroxidase와 testicular catalase의 活性도를 증가시킴으로써 수컷 생쥐의 生殖能力 개선에 유효함을 확인할 수 있었다. 특히 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數는 1 mg/ml와 10 mg/ml 檢液群에서, testicular peroxidase 活性도는 1 mg/ml 檢液群에서 유의한 증가를 나타내었다.

V. 結 論

濃度別 非子가 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響을 알아보고자, 相異한 濃度の 非子 檢液을 投與한 후 總 精子數, 活動 精子數, 正常形態 精子數, 辜丸組織의 變化, 精子尖體 活性 및 抗酸化 酵素 중 testicular peroxidase와 testicular catalase의 活性도를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數에 대하여 모든 非子 檢液群이 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며, 1 mg/ml와 10 mg/ml 檢液群에서 현저한 증가를 나타내었다.
2. 辜丸組織은 非子 檢液 투여 후 정소엽의 직경이 크게 증가하였고, 정소엽 간의 혈관 형성이 뚜렷하게 관찰되었다.
3. Hyaluronidase 活性도는 모든 非子 檢液群에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다.
4. Testicular peroxidase 活性도는 모든 非子 檢液群에서 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었으며, 1 mg/ml 檢液群에서 현저한 증가를 나타내었다.
5. Testicular catalase 活性도는 모든 非子 檢液群에서 대조군에 비하여 증가를 나타내었다.

□ 투 고 일 : 2006년 07월 24일

□ 심 사 일 : 2006년 08월 01일

□ 심사완료일 : 2006년 08월 09일

參 考 文 獻

1. Papolu RD *et al.* "Alternative medicine"-a right choice for male infertility management. International Congress Series. 2004;1271:67-70
2. Wong WY *et al.* Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. Fertil Steril. 2000;73(3):435-442
3. Skakkebaek NE, Giwercman A, de Kretser D. Pathogenesis and

- management of male infertility. Lancet. 1994;343(8911):1473-1479
4. 김동선 등. 비뇨기과학(3판). 서울: 고려의학. 2001:507-522
 5. Comhaire F. Treatment of idiopathic testicular failure with high-dose testosterone undecanoate: a double-blind pilot study. Fertil Steril. 1990;54(4):689-693
 6. Gerris J *et al.* Placebo-controlled trial of high-dose Mesterolone treatment of idiopathic male infertility. Fertil Steril. 1991;55(3):603-607
 7. Masala A *et al.* Effect of clomiphene citrate on plasma levels of immunoreactive luteinizing hormone-releasing hormone, gonadotropin, and testosterone in normal subjects and in patients with idiopathic oligospermia. Fertil Steril. 1978;29(4):424-427
 8. 이경호, 이정민, 이진수. 남성불임의 유전적 요인 및 불임유전자 연구 현황. 대한내분비학회지. 2001;16(6):550-561
 9. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울:杏林出版. 1994:278-282
 10. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울:東洋醫學研究院. 1993:712-726
 11. 吳馨淑, 金容晟, 金哲中. 男性不育症에 對한 文獻的 考察. 大田大學校 韓醫學研究所 論文集. 1999;7(2):497-508
 12. 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(1):151-162
 13. 陶弘景. 名醫別錄(輯校本). 北京:人民衛生出版社. 1986:201
 14. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울:永林社. 1991:572-573
 15. 徐國鈞. 中國藥材學(下). 北京:中國醫藥科技出版社. 1996:1317-1318
 16. 黃宮繡. 本草求真. 서울:一中社. 1992:223-224
 17. 徐富一, 卞晟僖, 金美麗 외. 韭子가 卵巢摘出로 誘發된 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 影響(2). 大韓本草學會誌. 1998;13(2):31-35
 18. 朴涌基. 韭子の 抗酸化作用에 關한 研究. 大韓本草學會誌. 1999;14(2):33-41
 19. 박창건, 백승희. 韭子가 여성 백서의 정소기능 및 catalase와 peroxidase의 활성화에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(3):72-81
 20. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(3판). 서울:칼빈서적. 1997:598-647
 21. 구병삼. 임상부인과 내분비학. 서울:고려의학. 2001:461-476
 22. 楊維傑 編. 黃帝內經素問靈樞譯解(素問). 서울:成輔社. 1980:4-9,337-341
 23. 楊維傑 編. 黃帝內經素問靈樞譯解(靈樞). 서울:成輔社. 1980:167
 24. 張仲景. 金匱要略. 北京:人民衛生出版社. 1989:158-159
 25. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울:大星文化社. 1992:284-285
 26. 孫思邈. 備急千金要方. 서울:一中社. 1988:16-18
 27. 陳自明. 婦人大全良方. 北京:人民衛生出版社. 1985:288,299
 28. 張介賓. 張氏景岳全書. 서울:翰成社.

- 1983:731
29. 王肯堂. 六科準繩. 臺北: 新文豐出版
 公社. 1979:265
 30. 陳士鐸. 石室秘錄. 北京: 中國中醫藥
 出版社. 1984:162
 31. 강석봉, 김종대, 박민호. 男性不育에
 對한 文獻的 考察. 濟韓東醫學術院
 論文集. 1999;4(1):116-126
 32. 陳士鐸. 辨證奇聞. 北京: 中國中醫藥
 出版社. 1995:323
 33. 朱震亨. 新編丹溪心法附餘. 서울: 大
 星文化社. 1999:323
 34. 龔廷賢. 增補萬病回春(下). 서울: 醫
 聖堂. 1991:98
 35. 李梴. 編註醫學入門(下). 서울: 南山
 堂. 1991:2101-2103
 36. 辛民教. 原色臨床本草學. 서울: 永林社
 1988:204
 37. 葉桂. 葉天士女科. 서울: 大星文化社.
 1995:395-410
 38. 雷載權, 張廷模 主編. 中華臨床中藥
 學. 北京: 人民衛生出版社. 1998:1685
 39. 王輝武. 中醫百家藥論薈萃. 北京: 中
 廣出版社. 1993:613
 40. 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
 41. 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
 42. 김용태 등. 홍삼추출물의 남성불임
 치료 효과. 대한남성과학회지. 2002;
 20(2):94-99
 43. 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
 44. Han JY *et al.* Effects of *Cuscutae*
Semen on the reproductive
 competence of male mice. J Oriental
 OB & GY. 2003;16(1):136-142
 45. 朴大淳 등. 紫河車가 수컷생쥐의 생
 殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人
 科學會誌. 2004;17(2):1-10
 46. 金承賢 등. 淫羊藿이 흰쥐 정자의 운
 동성에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科
 學會誌. 2004;17(2):52-63
 47. 李昌勳 등. 濃度別 淫羊藿 投藥이 수
 컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響.
 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(1)
 :142-155
 48. 吳在晟 등. 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
 49. Smith KD, Rodriguez-Rigau LJ,
 Steinberger E. Relation between
 indices of semen analysis and
 pregnancy rate in infertile couples.
 Fertil Steril. 1977;28(12):1314-1319
 50. Aafjes JH, van der Vijver JC,
 Schenck PE. The duration of
 infertility: an important datum for
 the fertility prognosis of men with
 semen abnormalities. Fertil Steril.
 1978;30(4):423-425
 51. Francavilla F *et al.* Effect of sperm
 morphology and motile sperm count
 on outcome of intrauterine
 insemination in oligozoospermia
 and/or asthenozoospermia. Fertil

- Steril. 1990;53(5):892-897
52. Johnston RC *et al.* Correlation of semen variables and pregnancy rates for donor insemination: a 15-year retrospective. *Fertil Steril.* 1994; 61(2):355-359
53. Cui YH *et al.* Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. *Asian J Androl.* 2000;2(3):229-232
54. 백재승. 남성불임과 활성산소. 대한 남성과학회지. 2003;21(1):1-11
55. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology.* 1996;48(6):835-850
56. 박남철 등. Rebamipide의 사람 정액 내 항산화효과. 대한비뇨기과학회지. 2002;43(4):332-338