

## 淫羊藿의 수컷 생쥐 生殖能力에 대한 投藥期間別 效果

경희대학교 한의과대학 부인과학교실

최정은, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

### ABSTRACT

#### Administration Duration Dependent Effects of *Epimedium Herb* Extract Solution on the Reproductive Capacities in the Mice

Jung-Eun Choi, Chang-Hoon Lee, Jung-Hoon Cho,  
Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee

Dept. of Oriental Gynecology, College of Oriental Medicine,  
Kyung Hee University, Seoul, Korea

**Purpose** : This study was undertaken to evaluate the effects of the different administration duration of *Epimedium Herb* extract solution on the spermatogenic abilities such as concentration, motility and morphological normality of sperm from the testis and the activities of sperm hyaluronidase.

**Methods** : We used the 2-month-old mice and administered the extract solution of *Epimedium Herb* 0.3ml/g/day for 30, 60, 90 and 120 days. The control group was administered the normal saline as the same way. We examined the number of total, motile and normal sperm from the cauda epididymis, the activities of sperm hyaluronidase. Also we observed changes of isolated testis before and after administration of *Epimedium Herb* extract solutions in the mice. And we compared the testicular tissue especially seminiferous tubules with the control and treated group by histochemical methods.

**Results** : The significant differences were observed in the concentration of total sperm and normality of spermatozoa of the *Epimedium Herb* extract solution administered groups compared to the control group in 60, 90 and 120 days groups. The significant differences were observed the motility of the *Epimedium Herb* extract solution administered groups compared to the control group in 60 days 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 *Epimedium Herb* extract solution administered groups compared to the control group, respectively. And the activity of hyaluronidase was significantly increased in the *Epimedium Herb* extract solution administered groups compared to the control group.

**Conclusion** : This study shows that *Epimedium Herb* has the beneficial effect on the concentration, morphology and motility of sperm, the testicular tissues and the activities of sperm hyaluronidase in 60 days administration group. We can suggest that *Epimedium Herb* extract solution be useful for the treatment of male sexual dysfunction and infertility.

**Key Words** : *Epimedium Herb*, mice, reproductive capacity, male infertility

## I. 緒論

불임은 정상적인 부부 생활에도 불구하고 1년 이내에 임신을 못하는 것으로<sup>1)</sup>, 전체 부부의 약 15%에서 나타나며 그 중 약 30~50%가 남성 요인인 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 최근에는 중금속, 방사선 및 오염 등의 환경적인 영향<sup>3,4)</sup>과 음주<sup>5)</sup>, 흡연<sup>6,7)</sup>, 스트레스<sup>8)</sup> 및 비만<sup>9)</sup> 등으로 精子數와 精子運動性 등이 저하되어 남성 불임이 증가하고 있다<sup>10)</sup>.

남성 불임의 원인은 감염, 면역학적 요인, 외상 및 화학물질 노출에 의한 후천적인 경우와 정계정맥류, 내분비 이상이나 유전적 장애에 의한 선천적인 경우와 원인 불명의 특발성으로 분류된다<sup>11,12)</sup>. 정계정맥류, 정로 폐색, 외상 및 정류 교환 등에 의한 경우는 수술 요법이나 보조 생식 요법을 통하여 높은 치료 효과를 보이고 있다<sup>13-16)</sup>. 그러나 특발성인 경우는 항에스트로젠제로 대표되는 경험적 약물, 항생제, 스테로이드제 및  $\alpha$ -교감신경자극제가 투여되고 있으나 10% 전후의 낮은 임신율을 나타내고 있다<sup>17)</sup>.

韓醫學에서 남성 불임은 腎陰陽虛, 肝氣鬱結, 脾腎兩虛, 濕熱下注, 痰濁凝滯 및 氣滯血瘀 등으로 분류된다<sup>18)</sup>. 그 중 腎陽虛가 가장 중요한 원인으로 알려져 있고 益腎生精하기 위하여 補陽藥과 攝生法 등을 사용된다<sup>19,20)</sup>.

淫羊藿은 대표적인 補陽藥의 하나로, 性溫 味辛甘하다. 補腎壯陽, 祛風除濕하는 효능이 있어 陽痿不舉, 小便淋瀝, 半身不隨 등을 치료한다<sup>21,22,23)</sup>.淫羊藿에 대한 실험 연구는 항산화 성분과 작용에 대한 연구<sup>24,25)</sup>, flavonoid 성분에 대한 연구<sup>26)</sup>, 신경계 손상에 대한 항산화 작용 연

구<sup>27)</sup>, 항고혈압작용<sup>28)</sup>과 간의 대사계에 대한 연구<sup>29)</sup> 등이 보고 되었다.

남성 생식능력에 대해서 金 등<sup>30)</sup>은淫羊藿 投藥이 흰쥐 정액 특성과 항산화 활성에 유효함을 보고하였고, 李 등<sup>31)</sup>은 농도별淫羊藿 投藥이 수컷 생쥐의 생식 능력에 대한 영향을 보고한 바 있으나 投藥期間에 대한 연구는 보고된 바 없다.

이에 著者는 수컷 생쥐 생식 능력에 대한 投藥期間別淫羊藿의 효과를 알아보고자 수컷 생쥐의 正常 精子 생성기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간淫羊藿 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 및 精子尖體 活性 등을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗

### 1. 藥材와 動物

#### 1) 藥材

小蘗科 (매자나무과 : Berberidaceae)에 속한 多年生 草本인 三枝九葉草 *Epimedium Koreanum Nakai*의 全草를 건조한淫羊藿 (*Epimedium Herb*)을 경희의료원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

#### 2) 動物

평균 체중  $31.52 \pm 1.39g$ 의 8주령 ICR 계통 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

淫羊藿 600g을 3차 증류수 (Ultrapure

water systems, Milli-Q, USA) 1ℓ와 함께 용기 (Low density polyethylene)에 넣어 48시간 동안 60℃에서 진탕한 후 ultrasonic cleaners (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 1ℓ를 가해 ultrasonic cleaners로 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℃ 이하, 저압)하였다. 농축 시료는 -60℃에서 48시간 저온 냉각 (Temphold, Hanil, Korea)하고 동결건조기 (CleanVac 8S, Hanil, Korea)에서 72시간 동안 동결 건조하여 최종 추출물 11.6g을 얻었다.

### 2) 檢液의 HPLC 分析

최종 抽出物의 有效成分을 확인하기 위하여 淫羊藿 抽出物 500mg에 50% 에탄올 50ml를 가하고 1시간 진탕 혼합하여 원심분리한 후, 잔사에 다시 50% 에탄올 50ml를 가하여 15분간 초음파추출을 2회 반복하였다. 모든 액을 합하고 감압농축하여 얻은 乾固物에 50% 에탄올 50ml를 가하여, 0.1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>:CH<sub>3</sub>CN (72:28, v/v)을 이동상으로 Waters Spheisorb ODS1 column (40×250mm)을 이용하여 254nm에서 high performance liquid chromatography (Water 996 Photodiode Array Detector)를 시행하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같았다.

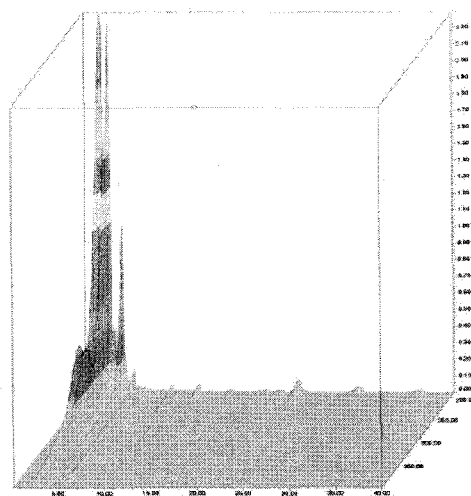


Fig. 1. HPLC result of Epimedium Herb

### 3) 實驗群 設定과 檢液 投與

實驗群은 投與期間別로 30일간 (實驗群 A), 60일간 (생쥐 정상 精子 生成기간, 實驗群 B), 90일간 (實驗群 C) 및 120일간 (實驗群 D) 投與群으로 설정하고, 생쥐 40마리를 각 군당 10마리씩 무작위 배정한 후, 淫羊藿 檢液을 1일 1회 0.3ml/g으로 경구 投與하였고, 對照群은 20마리의 생쥐를 각 군당 5마리씩 무작위 배정한 후, 상응하는 實驗群과 동일한 양의 생리식염수를 동일한 방법으로 投與하였다.

### 4) 精子塊 分離

投與 종료 후 1일에 경추 분리법으로 생쥐를 도살하고, 외과적으로 精巢上體尾部를 적출하여 해부현미경 (Nikon, Japan) 하에서 미세 주사침을 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 10μl를 M2 배양액에 滴下하여 CO<sub>2</sub> 배양기 (Forma, USA)에서 1시간 동안 浮游한 후, 부유액 5μl를 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) 精子的 形態 觀察

精子 浮游液 10 $\mu$ l를 70% ethanol로 세척한 slide glass (Fisher, USA)에 滴下한 후 cover slip (Fisher, USA)으로 塗抹하고, diff-quick kit (國際試藥, 日本)의 fixative로 15초간 固定, solution I에 10초, solution II에 5초간 塗抹 후, 공기 건조시켜 200배 및 400배 현미경하에서 精子的 形態를 觀察하였다. 총 400개 精子를 觀察하여 精子的 頭部, 中片部 및 尾部가 正常인 精子的 數를 測定하였다.

#### 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 탈수하였다. 추가적으로 100% ethanol에서 1시간씩 2회 탈수 후 xylene (Junsei, Japan)으로 overnight cleaning 하였다. 다음날 경질 paraffin wax (Oxford, USA)에 단계별로 2시간씩 mounting 후 회전 박절기 (Reichert-Jung Co., Germany)를 이용하여 0.1mm 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

精子 浮游液을 0.14M sodium chloride 용액으로 5배 희석하여, 희석액 1ml에 0.1 ml acetate buffer (0.3mol/l, containing 0.45mol/l sodium chloride)와 0.1ml hyaluronic acid substrate (4mg hyaluronic aci

d was dissolved in 1 l water)를 첨가하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60 $\mu$ l potassium tetraborate (0.8mol/l in water, pH 10)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 $\times$ g에서 10분간 원심 분리한 후 상층액을 취하여 582nm spectrophotometer (Beckman, Germany)에서 hyaluronidase의 optical density를 측정하였다.

#### 9) 統計處理

통계는 SPSS ver 11.5를 이용하여 實驗群과 對照群의 비교는 Mann-Whitney U test로, 實驗群間 비교는 ANOVA test로 통계적 유의성을 검증하였으며 post-hoc test는 Tukey B method를 실시하였고, 모든 결과는 p<0.05인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

## Ⅲ. 結果

### 1. 總 精子數에 미치는 영향

總 精子數는 實驗群 B가  $27.9 \pm 5.2 \times 10^6$  개/ml로 對照群의  $16.6 \pm 2.7 \times 10^6$  개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타냈고, 實驗群 C와 D가  $25.5 \pm 7.6 \times 10^6$  개/ml와  $27.3 \pm 5.6 \times 10^6$  개/ml로 각 對照群의  $16.4 \pm 4.9 \times 10^6$  개/ml와  $19.4 \pm 2.6 \times 10^6$  개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었다. 實驗群間 비교에서는 實驗群 B와 D가 다른 군에 비해 현저한 증가를 보였다 (Table I, Fig. 2).

Table I. Effect of *Epimedium Herb* Extract Solution on the Total Sperm Count in the Mice ( $\times 10^6/\text{ml}$ )

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	18.0 $\pm$ 1.0 <sup>2)</sup>	17.1 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup>	ns
B	16.6 $\pm$ 2.7	27.9 $\pm$ 5.2 <sup>c</sup>	p<0.01
C	16.4 $\pm$ 4.9	25.5 $\pm$ 7.6 <sup>b,c</sup>	p<0.05
D	19.4 $\pm$ 2.6	27.3 $\pm$ 5.6 <sup>c</sup>	p<0.05

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and treatment groups.

2) Mean $\pm$ standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference between groups by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

Control: Mice administered normal saline

Treatment: Mice administered 0.3ml/g/day *Epimedium Herb* extract solution

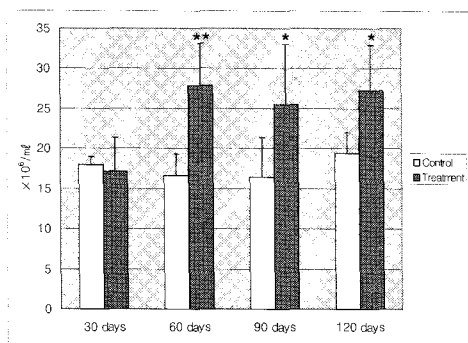


Fig. 2. Changes of the total sperm count in the mice administered *Epimedium Herb* extract solution (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01)

## 2. 活動精子數에 미치는影響

活動精子數는 實驗群 B와 D가 19.7 $\pm$ 3.0 $\times 10^6$ 개/ml와 17.3 $\pm$ 4.2 $\times 10^6$ 개/ml로 對照群의 10.0 $\pm$ 2.6 $\times 10^6$ 개/ml와 10.2 $\pm$ 1.6 $\times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었고, 實驗群 C가 15.1 $\pm$ 5.6 $\times 10^6$ 개/ml로 對照群의 10.0 $\pm$ 3.0 $\times 10^6$ 개/ml에 비

하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었다. 實驗群間 비교에서는 實驗群 B, D가 다른 군에 비해 현저한 증가를 보였다 (Table II, Fig. 3).

Table II. Effect of *Epimedium Herb* Extract Solution on the Motile Sperm Count in the Mice ( $\times 10^6/\text{ml}$ )

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	9.8 $\pm$ 1.3 <sup>2)</sup>	10.7 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	ns
B	10.0 $\pm$ 2.6	19.7 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup>	p<0.01
C	10.0 $\pm$ 3.0	15.1 $\pm$ 5.6 <sup>a,b</sup>	p<0.05
D	10.2 $\pm$ 1.6	17.3 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>	p<0.01

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and treatment groups.

2) Mean $\pm$ standard deviation

3) The same letters indicate non-significant difference between groups by Tukey B multiple comparison test.

A: Mice administered for 30 days

B: Mice administered for 60 days

C: Mice administered for 90 days

D: Mice administered for 120 days

Control: Mice administered normal saline

Treatment: Mice administered 0.3ml/g/day *Epimedium Herb* extract solution

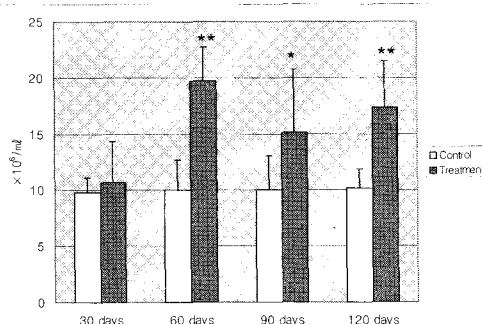


Fig. 3. Changes of the motile sperm count in the mice administered *Epimedium Herb* extract solution (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01)

3. 正常形態 精子數에 미치는 影響

正常形態 精子數는 實驗群 B가 23.2±3.6개로 對照群의 10.4±2.6개에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었으며, 實驗群 C와 D가 18.3±6.4개와 17.0±3.3개로 각 對照群의 10.2±4.9개와 2.0±2.0개에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었다. 實驗群間 비교에서는 實驗群 B가 다른 군에 비하여 현저한 증가를 보였다 (Table III, Fig. 4, Fig. 5).

Table III. Effect of *Epimedium Herb* Extract Solution on the Normal Sperm Count in the Mice (개/ml)

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	10.4±1.8 <sup>2)</sup>	12.1±3.1 <sup>a,b</sup>	ns
B	10.4±2.6	23.2±3.6 <sup>c</sup>	p<0.01
C	10.2±4.9	18.3±6.4 <sup>b</sup>	p<0.05
D	12.0±2.0	17.0±3.3 <sup>a,b</sup>	p<0.05

- 1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and treatment groups.
  - 2) Mean±standard deviation
  - 3) The same letters indicate non-significant difference between groups by Tukey B multiple comparison test.
- A: Mice administered for 30 days  
 B: Mice administered for 60 days  
 C: Mice administered for 90 days  
 D: Mice administered for 120 days  
 Control: Mice administered normal saline  
 Treatment: Mice administered 0.3ml/g/day *Epimedium Herb* extract solution

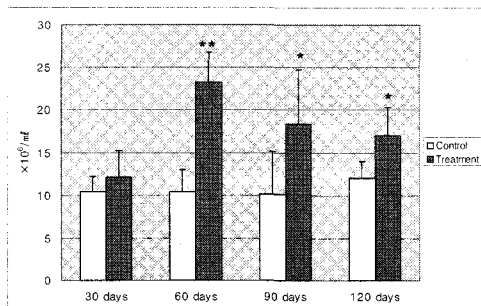


Fig. 4. Changes of the normal sperm count in the mice administered *Epimedium Herb* extract solution (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01)

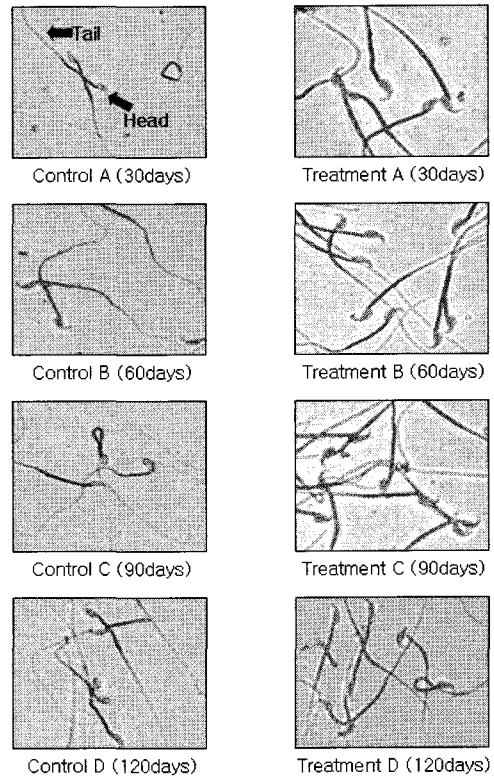


Fig. 5. Changes of the sperm count and morphology in the testis of mice administered *Epimedium Herb* extract solution

4. 辜丸組織에 미치는 影響

고환 조직을 해부현미경 하에서 관찰한 결과 모든 淫羊藿 檢液 投與群에서 고환 조직내 정소엽 (testicular lobe)의 직경이 對照群에 비하여 대체로 크게 관찰되었으며 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다 (Fig. 6, Fig. 7).

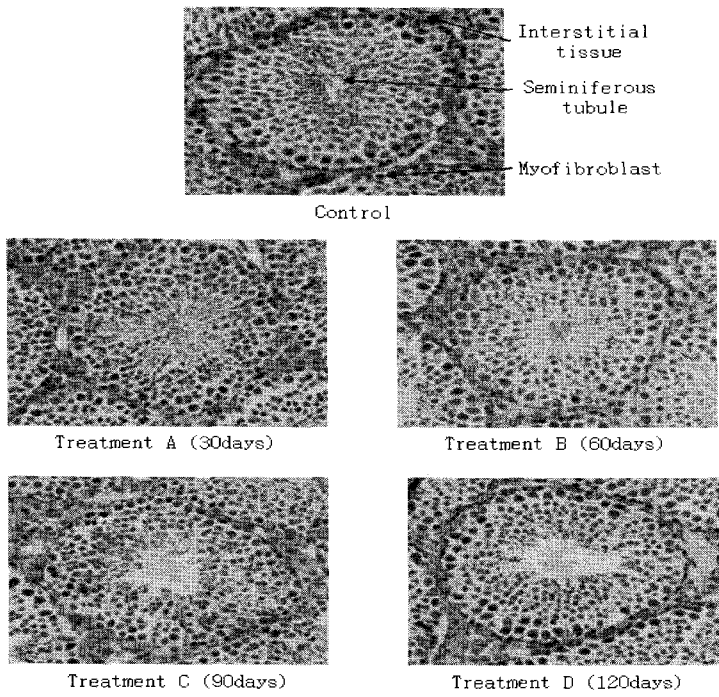


Fig. 6. Changes of tissue in the testis of mice administered *Epimedium Herb* extract solution ( $\times 200$ )

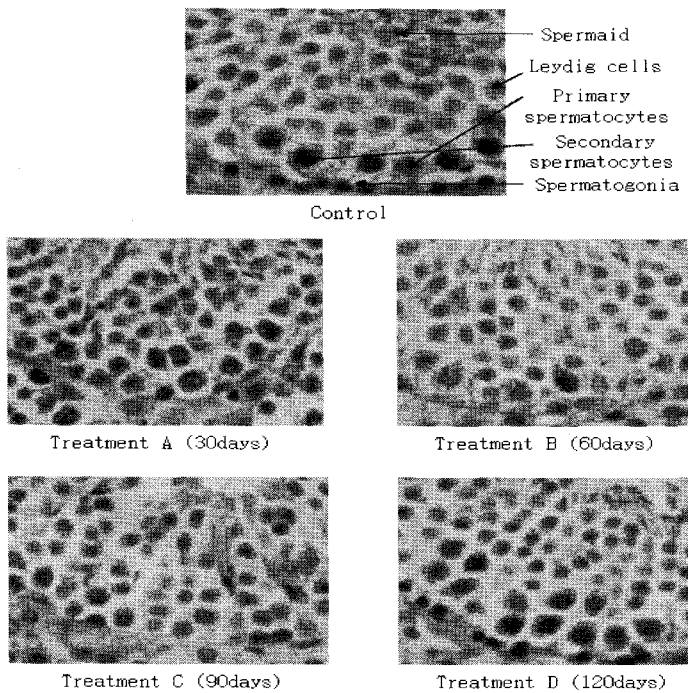


Fig. 7. Changes of tissue in the testis of mice administered *Epimedium Herb* extract solution ( $\times 400$ )

5. 精子尖體 活性에 미치는 影響

Hyaluronidase의 흡광도는 實驗群 A가 0.1926±0.0041, 實驗群 B가 0.1772±0.0022, 實驗群 C가 0.1756±0.0024, 實驗群 D가 0.1842±0.0025로 각각 對照群의 0.1068±0.0044, 0.1042±0.0058, 0.1096±0.0034, 0.1052±0.0031에 비하여 유의한 증가 (p < 0.01)를 보였다 (Table IV, Fig. 8).

Table IV. Effect of *Epimedium Herb* Extract Solution on the Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value <sup>1)</sup>
A	0.1068±0.0044 <sup>2)</sup>	0.1926±0.0041 <sup>a</sup>	0.01
B	0.1042±0.0058	0.1772±0.0022 <sup>a</sup>	0.01
C	0.1096±0.0034	0.1756±0.0024 <sup>a</sup>	0.01
D	0.1052±0.0031	0.1842±0.0025 <sup>a</sup>	0.01

1) Statistical significance was tested by Mann-Whitney U test between control and treatment groups  
 2) Mean±standard deviation  
 3) The same letters indicate non-significant difference between groups by Tukey B multiple comparison test.  
 A: Mice administered for 30 days  
 B: Mice administered for 60 days  
 C: Mice administered for 90 days  
 D: Mice administered for 120 days  
 Control: Mice administered normal saline  
 Treatment: Mice administered 0.3ml/g/day *Epimedium Herb* extract solution

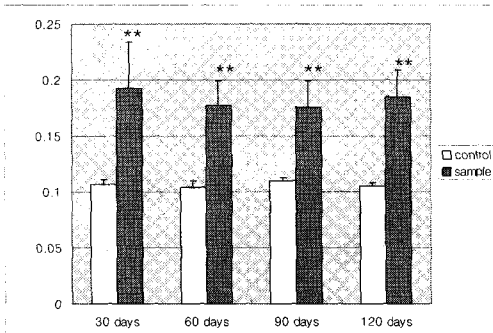


Fig.8. Changes of the sperm hyaluronidase activity in the mice administered *Epimedium Herb* Extract Solution (\*\*: p<0.01)

IV. 考察

가임 부부의 약 15%가 불임을 호소하고, 그 중 약 30~50%가 남성 요인인 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 남성 불임은 선천적, 후천적 그리고 특발성 원인 등으로 분류되는데<sup>11,12)</sup>, 그 중 특발성이 가장 많으며 그 외에 정계정맥류, 정로폐색, 감염 질환, 외상, 성염색체이상, 정류고환 등이 관련된 것으로 알려져 있다<sup>32,33)</sup>.

남성 불임의 평가는 생식기 계통의 과거력 청취와 정액검사로 시작되며 이 중 한 가지에서 이상이 있으면 이학적 검사, 전면적인 과거력 청취 및 2회 이상의 정액 검사를 하여 정액 상태로 통해 생식 능력을 판단한 후 보조 생식요법이나 약물치료 등을 결정하게 된다. 남성의 가임능력 평가 방법인 정액 검사는 1ml 당 2천만 이상의 精子數, 2ml 이상의 용적, 전방 진행 50%이상 또는 급속 진행 25%이상의 運動性 및 정상 형태 精子가 30%이상 되어야 한다<sup>34,35)</sup>.

남성 불임의 치료는 원인에 따라 내과적인 치료와 외과적인 치료를 한다. 내과적인 치료는 스테로이드 제제, 호르몬 치료, 항생제 및 기타 여러 가지 비타민과 무기질을 이용한 대체 요법 등의 경험적 약물 요법이 사용된다. 외과적인 치료는 정계정맥류, 정로폐색 및 정류고환 등으로 精子의 생산, 성숙 및 이동에 차질이 생기면 수술과 보조 생식술<sup>15)</sup>이 이용되며, 그 효과가 양호한 편이다. 하지만 精子의 생성 및 活動性 저하로 인



한 특발성 불임인 경우 적절한 치료법이 없는 상황이다<sup>17)</sup>.

〈黃帝內經〉<sup>36)</sup>에서는 丈夫가 二八歲가 되면 腎氣가 盛해지고 天癸가 至하여 有子할 수 있다고 하였고, 七八歲가 되면 天癸가 竭하고 精少하여 無子하게 된다고 하였고 이후 대부분의 歷代醫家 들은 남성 불임의 주된 病證을 虛勞로 보았다<sup>37-40)</sup>.

남성 불임의 원인은 腎陰陽虛, 肝氣鬱結, 脾腎兩虛, 濕熱下注, 痰濁凝滯 및 氣滯血瘀 등으로<sup>18)</sup>, 그 중 腎陽虛가 차지하는 비중이 가장 높다<sup>19)</sup>. 치료는 원인에 따라 각각 溫補腎陽, 滋陰補腎, 疎肝解鬱, 補益脾腎, 燥濕化痰, 補益氣血 및 活血化瘀 등의 처방을 사용하였다<sup>20)</sup>.

韓醫學에서 남성 불임의 주된 치료 원칙은 益腎生精이며<sup>20)</sup> 寡慾, 節勞, 息怒, 戒酒 및 慎味の 생활규범과 導引術을 통한 養精法을 강조하였다. 腎陽虛로 인한 男性不育에 대한 치료에는 補腎陽 약물인 肉蓯蓉, 附子, 韭子, 肉桂, 鹿角, 巴戟 및 淫羊藿 등이 빈용되었다<sup>19)</sup>.

淫羊藿은 대표적인 補陽藥의 하나로, 補腎壯陽, 祛風除濕하는 효능이 있어 陰痿, 絕傷, 陰中痛, 小便不利를 치료한다<sup>22-23)</sup>. 그 藥理 作用은 生殖 機能, 微生物에 대한 作用, 鎮咳, 祛痰 作用 등이 보고 되었다<sup>42-44)</sup>.

韓藥의 男性 生殖 能力에 대한 實驗 研究는 黃芪<sup>45)</sup>와 山茱萸<sup>46)</sup>의 精子 運動性 향상, 人蔘의 발기 능력 향상과 다이옥신으로 손상된 고환 조직 손상 예방<sup>47)</sup>, 厚朴의 지질 산화에 대한 精子의 運動性 보호<sup>48)</sup> 및 菟絲子<sup>49)</sup>, 鹿茸<sup>50)</sup>, 紫河車<sup>51)</sup> 및 巴戟<sup>52,53)</sup>의 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數 향상, 針의 精

子 數와 活動性을 증강 효과<sup>54)</sup>, 少府逐瘀湯의 男性 精子의 運動性과 抗酸化酵素 증가 등의 보고<sup>55)</sup>가 있었다.

淫羊藿의 남성 생식 능력에 대한 실험 연구로 金 등<sup>30)</sup>은 淫羊藿 投藥이 흰쥐 정액 특성과 항산화 활성에 유효함을 보고하였고, 李 등<sup>31)</sup>은 농도별 淫羊藿 投藥이 수컷 생쥐의 생식 능력에 대한 영향을 보고한 바 있으나 投藥期間에 대한 연구는 보고된 바 없다.

이에 著者는 수컷 생쥐 생식 능력에 대한 投藥期間別 淫羊藿의 효과를 알아보고자 수컷 생쥐의 正常 精子 생성기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일 간 淫羊藿 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 및 精子尖體 活性 등을 관찰하였다.

精液 檢査上 精子數가  $5 \times 10^6 / \text{ml}$  이하이거나 20% 미만의 活動性을 보일 경우 不妊을 초래하는 것으로 알려져 있지만 精子의 形態, 精子 活動의 樣相 및 精子 速度 등의 평가가 妊娠 豫後에 더 많은 영향을 미친다<sup>2)</sup>.

淫羊藿 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 總 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 檢液 投與群에서 對照群에 비하여 각각 유의하게 증가하였고 특히 60일과 120일 투여군에서 현저하게 증가하였다.

淫羊藿 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 活動 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 檢液 投與群에서 對照群에 비해 각각 유의하게 증가하였고 특히 60일과 120일 투여군에서 현저하게 증가하였다.

淫羊藿 檢液을 投與한 후 수컷 생쥐의 正常形態 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 投與群에서 對照群에 비해 각각 유의하게 증가하였고 특히 60일 投與群에

서 현저한 증가를 나타내었다.

이러한 결과는 濃度別 淫羊藿 檢液을 60日間 投與한 李 등<sup>31)</sup>의 研究와 일치하는 것으로, 기간에 의존하지 않고 60日 투여시 증가율이 가장 높고 그 이후에는 감소하는 경향을 보이고 있어 淫羊藿 投與는 正常 精子 形成 期間 동안 投與하는 것이 가장 효과적인 것을 알 수 있었다.

고환 기능 평가법 중 하나인 고환 조직 검사는 남성 불임 및 고환의 상피내암, 급성 림프구성 백혈병 등의 진단에 이용되어 왔으며, 이를 통해 생식 상피의 精子 형성을 객관적으로 평가할 수 있는 정량적 미세측정법도 활용된다<sup>17)</sup>.

해부 현미경 하에서 고환 조직내 精子 형성 변화를 관찰한 결과 모든 淫羊藿 檢액 投與群에서 睪丸組織 사이의 간격이 對照群에 비하여 넓어졌다. 이러한 결과는 紫河車<sup>51)</sup>와 巴戟<sup>52,53)</sup> 등의 연구 결과와 동일한 소견으로 淫羊藿은 30日 이상 投與時 高환 조직의 성숙과 발달을 촉진시키는 것을 알 수 있었다.

精子的 머리 부분을 덮고 있는 단백막을 제거하는 과정인 acrosomal reaction의 hyaluronidase는 精子두부에서 분비되는 효소로, 수정시 난자의 투명대를 뚫는 역할을 하며, 그 활성이 낮을 경우 精子的 수정율을 감소시킨다<sup>1)</sup>. 투명대 통과 및 난황막과의 융합에 필수적인 精子的 침체 반응 정도가 精子的 수정능과 밀접한 연관이 있음이 보고된 바 있다<sup>56-59)</sup>. Yang 등<sup>55)</sup>은 少府逐瘀湯을 이용하여 精子的 acrocin activity를 측정할 결과 유의한 증가를 나타냈다고 보고 하였다.

淫羊藿 檢액 投與 후 精子的 hyaluronidase 활성을 측정할 결과, 모든

投與群이 對照群에 비하여 유의한 증가를 나타내었으나 實驗群間 차이는 나타나지 않았다. 이는 李 등<sup>31)</sup>의 농도별 淫羊藿 投藥에서의 결과와 동일한 결과로서 淫羊藿은 최소 농도 1ml/kg/day와 최소 기간 30일 투여만으로도 hyaluronidase activity를 증가시키는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면 음양곽은 60일 투여군에서 수컷 생쥐의 總 精子數, 活動 精子數 및 正常形態 精子數를 현저하게 증가시키고 睪丸組織 세정관 사이의 간격과 혈관을 증식시켰으며 精子 침체 효소인 hyaluronidase activity를 증가시켜 수컷 생쥐의 生殖能力을 향상 시킬 수 있었다. 따라서 淫羊藿은 점차 더욱 증가하고 있는 환경적 영향에 의한 精子 생성 및 活動性 저하에 따른 특발성 남성 불임의 치료에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 보인다.

## V. 結 論

수컷 생쥐 生殖능력에 대한 投藥期間別 淫羊藿의 효과를 알아보려고 수컷 생쥐의 正常 精子 생성기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간 淫羊藿 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 및 精子尖體 活性 등을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 總 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 檢液 投與群에서 對照群에 비하여 각각 유의한 증가를 나타내었고 60일과 120일 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.

2. 活動 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 檢液 投與群에서 對照群에 비하여 각각 유의한 증가를 나타내었고 60일과 120일 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.
3. 正常形態 精子數는 60일, 90일 및 120일 淫羊藿 投與群에서 對照群에 비하여 각각 유의한 증가를 나타내었고 60일 投與群에서 현저한 증가를 나타내었다.
4. 辜丸組織은 모든 實驗群에서 세정관 사이의 간격이 커졌고, 그 사이의 혈관 형성이 뚜렷하게 관찰되었다.
5. Hyaluronidase activity는 모든 實驗群에서 對照群에 비해 각각 유의한 증가를 나타내었다.

- 투 고 일 : 2006년 07월 25일
- 심 사 일 : 2006년 08월 01일
- 심사완료일 : 2006년 08월 09일

## 參考文獻

1. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(3판). 서울: 칼빈서적. 1997: 598-647.
2. 구병삼. 임상 부인과 내분비학. 서울: 고려의 학. 2001:461-476.
3. 강길전. 여성생식의학. 서울: 대관출판사. 1998:359-363.
4. Mantovani A, Maranghi F. Risk assessment of chemicals potentially affecting male fertility. *Contraception*. 2005;72(4):308-313.
5. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril*. 2005;84(4):919-924.
6. Martini AC, *et al*. Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality. *Fertil Steril*. 2004;82(2):374-377.
7. Said TM, Ranga G, Agarwal A. Relationship between semen quality and tobacco chewing in men undergoing infertility evaluation. *Fertil Steril*. 2005;84(3):649-653.
8. Boivin J, Schmidt L. Infertility-related stress in men and women predicts treatment outcome 1 year later. *Fertil Steril*. 2005;83(6):1745-1752.
9. 민헌기. 임상 내분비학. 서울: 고려의 학. 1990:457-474.
10. Van Weert JM, *et al*. Performance of the postwash total motile sperm count as a predictor of pregnancy at the time of intrauterine insemination: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2004;82(3):612-620.
11. Wald M. Male infertility: Causes and Cures. *Sexuality, Reproduction and Menopause*. 2005;3(2):83-87.
12. 李京燮. 圖解臨床婦人科學. 서울: 書苑堂. 1987:408.
13. American Urological Association. Report on varicocele and infertility. *Fertil Steril*. 2004;82(1):142-14.
14. Boehlen D, Schmid H. Novel use of fine needle aspiration of seminal vesicles for sperm retrieval in infertile men. *Urology*. 2005;66(4):880.e11-880.e12.

15. Ashour S, Murthy P. Testicular sperm retrieval for assisted reproductive techniques. *Reviews in Gynaecological Practice*. 2004;4(2):105-110.
16. Irvine S. Guidelines in the treatment of male infertility. *International Congress Series*. 2004;1266:202-207.
17. Zini A, Nam RK, Jarvi K. Use of alternative and hormonal therapies in male infertility. *Urology*. 2003;63(1):141-143.
18. 박민호 등. 남성불육에 관한 문헌적 고찰. *경희한의대논문집*. 1995;18(2):81-92.
19. 두호경. *東醫腎系學*. 서울: 東洋醫學研究院. 1993:712-726.
20. 김길섭, 서운교, 정지천. 남성불임증의 치료에 대한 문헌적 고찰. *한의학 연구소논문집*. 1994;3:151-162.
21. 황금택, 강성용. 淫羊藿의 文獻的 考察. *대한본초학회지*. 1995;10(1):143-155.
22. 전국한의과대학 본초학 교실. *본초학*. 서울: 영림사. 1992:533-534.
23. 김창민 등 譯. *中藥大辭典*. 서울: 도서출판 정담. 1998:4400-4406.
24. 김성렬, 김진화, 김승겸. 淫羊藿 추출물 중의 항산화성분의 분리 및 성질. *Korean J Food Sci Technol*. 1992;24(6):535-540.
25. 이종원, 도재호, 이성계. 淫羊藿의 항산화활성. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2000;29(4):732-736.
26. 강삼식 등. 淫羊藿의 Flavonoid 성분 에 관한 연구. *생약학회지*. 1988;19(2):93-96.
27. 박승택, 전병훈, 박병림. 배양 희소돌기아교세포에 있어서 산소 자유기의 신경독성에 대한 淫羊藿의 효과. *대한동의병리학회지*. 1997;11(2):58-62.
28. 최형일 등. 淫羊藿의 항고혈압작용에 관한 연구. *大韓本草學會誌*. 1997;12(1):35-44.
29. 이영구 등. 淫羊藿의 추출물이 노화에 따른 흰쥐 간의 이물질대사 효소계에 미치는 영향. *Korean J Med Crop Sci*. 2002;10(1):29-36.
30. 김승현 등. 淫羊藿이 흰쥐 精子的 運動性에 미치는 影響. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2004;17(2):52-63.
31. 이창훈 등. 농도별 淫羊藿 投藥이 수컷 생쥐의 생식능력에 미치는 影響. *大韓韓方婦人科學會誌*. 2005;18(1):142-155.
32. Dohle GR, et al. EAU Guidelines on Male Infertility. *European Urology*. 2005;48(5):703-711.
33. 박남철 등. 남성불임: 최근 10년간의 임상통계학적 분석. *대한비뇨기과학회지*. 1996;37(8):939-946.
34. Lammarrone E, et al. Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet & Gynecol*. 2003;17(2):211-229.
35. 최유덕. *새임상 부인과학*. 서울: 고려의학. 2001:164-168.
36. *대한비뇨기학회*. *비뇨기과학3판*. 서울: 고려의학. 1987:408-416.
37. 洪元植 校合. *精校 黃帝內經素問*. 서울: 東洋醫學研究員出版部. 1981:11.
38. 張介賓. *景岳全書 婦人規*. 서울: 법인문화사. 1999:222-250.
39. 孫思邈. *備急千金要方*. 北京: 人民衛

- 生出版社. 1982:16-17.
40. 陳言. 三因極一病證方論. 서울: 一中社. 1992:234.
  41. 陳自明. 婦人大全良方. 北京: 人民衛生出版社. 1985:288-297.
  42. 鄒澍. 本經疎証. 서울: 아티전. 1998: 619-621.
  43. 李梴 編. 醫學入門. 서울: 대성문화사. 1983:224.
  44. 홍을혜, 강운호. 남성불임증 치료에 관한 고찰. 한의학연구소논문집. 1994:3:397-403.
  45. Hong CY, Ku J, Wu P. *Astragalus Membranaceus* stimulates human sperm motility in *vitro*. Am J Chin Med. 1992;20(3-4):289-294.
  46. Jeng H, *et al*. A substance isolated from *Cornus officinalis* enhances the motility of human sperm. Am J Chin Med. 1997;25(3-4):301-306.
  47. 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;83:842-849.
  48. Lin MH, Chao HT, Hong CY. *Magnolol* protects human sperm motility against lipid peroxidation: a sperm head fixation method. Arch Androl. 1995;34(3):151-156.
  49. Han JY, *et al*. Effects of *Cuscutae Semen* on the reproductive competence of male mice. J Oriental OB & GY. 2003;16(1):136-142.
  50. 오재성 등. 鹿茸이 수컷생쥐의 생식과 배발생에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(1):129-137.
  51. 박대순 등. 紫河車가 수컷생쥐의 생식능력에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):1-10.
  52. 최은미, 장준복, 이경섭. 巴戟이 白鼠의 精子 形成과 抗酸化酵素에 미치는 영향. 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文. 2004.
  53. 허지원 등. 농도별 巴戟 投藥이 수컷생쥐의 생식 능력에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(3):17-31.
  54. Pei J, *et al*. Quantitative evaluation of spermatozoa ultrastructure after acupuncture treatment for idiopathic male infertility. Fertil Steril. 2005;84(1):141-147.
  55. 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.
  56. McLachlan RI. New developments in the evaluation and management of male infertility. International Congress Series. 2004;1266:10-20.
  57. Langlois MR, *et al*. Discrepancy between sperm acrosin activity and sperm morphology: significance for fertilization in vitro. Clinica Chimica Acta. 2005;351:121-129.
  58. Liu DY, Baker HWG. Disordered zona pellucida-induced acrosome reaction and failure of in vitro fertilization in patients with unexplained infertility. Fertil Steril. 2003;79(1):74-80.
  59. Calvo L, *et al*. Acrosome reaction inducibility predicts fertilization

success at *in-vitro* fertilization.

Hum Reprod. 1994;9(10):1880-1886.