

鎖陽의 期間別 投藥이
수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 영향

경희대학교 한의과대학 부인과학교실
최은미, 이진우, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Administration Duration Dependent Effects of Cynomorii Herba Extract Solution on the Reproductive Capacities in the Mice

Eun-Mi Choi, Jin-Moo Lee, Chang-Hoon Lee,
Jung-Hoon Cho, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee
Dept. of Oriental Gynecology, Collge of Oriental Medicine,
Kyung Hee University

Purpose: This study was undertaken to evaluate the effects of the different administration duration of Cynomorii Herba 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 8-week-old ICR mice and administered 0.3mg/g extract solution of Cynomorii Herba once a day for 30, 60, 90 and 120 days. The control group was administered the normal saline in the same way and duration. We examined the number of total, motile and normal sperm from the cauda epididymis. And we compared the testicular tissue especially seminiferous tubules between control and treated groups by histochemical methods. At the end we observed the difference of sperm hyaluronidase activities between control and treated groups.

Results: The significant differences were observed in the concentration of total sperm, the motility and normality of spermatozoa of the Cynomorii Herba extract solution administered groups compared to the control group in 60 and 90 days groups. In the histological analysis of the testicular tissues, the enlargement of testicular lobe diameter and apparent vasculogenesis between testicular lobes were observed in the Cynomorii Herba extract solution administered groups compared to the control group, respectively. Also, the activity of hyaluronidase was significantly increased in the Cynomorii Herba extract solution administered groups compared to the control group.

Conclusion: This study shows that Cynomorii Herba has the beneficial effect on the concentration, morphology and motility of sperm especially in 60 and 90 days administration group. We can suggest that Cynomorii Herba extract solution be useful for the treatment of male sexual dysfunctions and infertility.

Key Words: Cynomorii Herba, mice, sperm, hyaluronidase activity, infertility

I. 緒 論

불임부부의 약 50%에서 발견되는 남성불임증은^{1,2)} 최근 그 환자가 증가하고 있으며³⁾, 나이에 관계없이 정자수와 운동성 및 정상 정자 비율이 줄어들고 있다⁴⁾. 남성불임의 원인으로는 약물, 환경오염, 스트레스, 활성산소 및 고환암과 잠복고환 등 남성생식계 질환의 발병을 상승 등이 추정되고 있다^{4,6)}.

남성불임은 정자형성장애, 정자통과장애, 부성선기능장애 및 성기능장애로 대별되며, 이 중 정계정맥류나 정류고환같이 외과적 교정술이 필요한 질환과 염색체 이상 및 무고환증을 제외한 거의 모든 원인이 약물치료의 대상이 된다⁷⁾.

남성불임은 한의학에서 氣衰, 精清, 早泄 및 精寒으로 분류되며⁸⁾, 김 등⁹⁾은 腎陽虛, 腎陰虛, 肝鬱氣滯, 濕熱內蘊, 氣血兩虛, 氣滯血鬱 및 脾腎兩虛 등이 원인이며, 증례조사를 통해 腎陽虛가 가장 많다고 하였다. 이에 따라 최근 들어서 補腎陽하는 효능을 가진 兎絲子¹⁰⁾, 鹿茸¹¹⁾, 紫河車¹²⁾, 淫羊藿^{13,14,15)}, 非子^{16,17)} 및 巴戟^{18,19,20)} 등에 대한 연구가 이루어지고 있다.

鎖陽은 性味가 溫無毒甘하며 肝, 脾, 腎 및 大腸經으로 들어가 腎陽不足, 精血虧虛로 야기된 陽痿不孕, 腰膝痠軟 및 陽痿滑精을 치료한다^{21,22)}. 또한 強精·補精劑로서 元陽을 大補하여 性機能 쇠퇴로 인한 早漏 등을 치료하고, 催陰작용이 있어서 生育을 촉진시키는 효력이 있다²³⁾.

鎖陽에 대하여 오 등²⁴⁾이 남성생식세포에 대한 항산화작용, 정 등²⁵⁾이 총 정자수, 정자 운동성 및 정상 정자 비율의

증가 및 한 등²⁶⁾이 농도별 수컷 생쥐의 생식능력에 대한 영향을 보고한 바 있으나, 투약기간별 효과에 대한 연구는 아직까지 보고된 바 없었다.

이에 저자는 鎖陽 檢液을 30일, 60일, 90일 및 120일간 투여한 후 수컷 생쥐의 총 정자수, 활동 정자수, 정상형태 정자수, 고환조직의 변화 및 정자첨체 활성도를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 藥材와 動物

1) 藥 材

鎖陽科 (Cynomoraceae)에 속한 多年生 肉質寄生 草本인 Cynomorium songaricum RUPR.의 肉質莖을 건조한 鎖陽 (Cynomorii Herba)을 경희의료원 약제과에서 구입하여 사용하였다.

2) 動 物

평균 체중 31.40 ± 1.49 g의 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

鎖陽 400g을 3차 증류수 (Ultrapure water systems, Milli-Q, USA) 1ℓ와 함께 용기 (Low density polyethylene)에 넣어 48시간 동안 60°C에서 전탕한 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 27.2g을 얻었다.

2) 檢液의 HPLC 分析

최종 抽出物의 有效成分을 확인하기 위하여 鎭陽 抽出物 500mg에 50% 에탄올을 50ml를 가하여 1시간 진탕 혼합하여 원심분리하고 잔사에 다시 50% 에탄올 50ml를 가하여 15분간 초음파추출을 2회 반복하고, 모든 액을 합하여 감압농축하여 얻은 乾固物에 50% 에탄올 50ml를 가하여, 0.1M H3PO4:CH3CN (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.

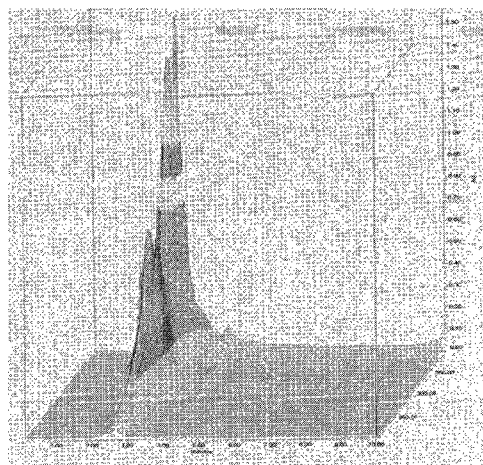


Fig. 1. HPLC result of *Cynomorii Herba*

3) 實驗群 設定과 檢液 投與

실험군은 투여기간별로 30일간 (실험군 A), 60일간 (생쥐 정상 정자생성기간, 실험군 B), 90일간 (실험군 C) 및 120일간 (실험군 D) 투여군으로 설정하고, 생쥐 40마리를 각 군당 10마리씩 무작위 배정한 후, 鎭陽 檢液을 1일 1회 0.3mg/kg으로 경구 투여하였고, 대조군은 20마리의 생쥐를 각 군당 5마리씩 무작위 배정한 후, 상응하는 실험군과 동일한 양의 생리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

4) 精子塊 分離

투약 종료후 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 10μl를 M2 배양액에 滴下하여 CO2 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) 精子形態 觀察

정자 부유액 10 μ l를 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, 공기건조시켜 200배 및 400배 현미경하에서 정자의 형태를 관찰하였다. 총 400개 정자를 관찰하여 정자의 두부, 중편부 및 미부가 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 1시간이 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-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 活性度 測定

정자 부유액을 0.14M sodium chloride 용액으로 5배 희석하여, 희석액 1ml에 0.1ml acetate buffer (0.3mol/l, containing 0.45mol/l sodium chloride)와 0.1ml hyaluronic acid substrate (4mg hyaluronic acid was dissolved in 1l

water)를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하였다.

배양액에 60 μ l potassium tetraborate (0.8mol/l in water, pH10)를 첨가하고 100 $^{\circ}$ C heating block (Fisher, USA)에서 5분간 반응시켰다. 이를 얼음으로 냉각시킨 후 p-dimethylaminobenzaldehyde 2 ml를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C water bath에서 20분간 배양하였다.

배양후 즉시 1500 \times g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 582nm spectrophotometer (Beckman, Germany)에서 hyaluronidase의 optical density (이하 OD) 값을 측정하였다.

9) 統計處理

통계는 SPSS ver 11.5를 이용하여 실험군과 대조군간 비교는 Mann-Whitney U test로, 실험군간 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 影響

실험군 A와 실험군 D는 대조군에 비해 유의한 증가가 나타나지 않았고, 실험군 B와 실험군 C의 總 精子數는 27.9 \pm 4.01 \times 10⁶개/ml와 28.5 \pm 7.96 \times 10⁶개/ml로 각 대조군의 16.8 \pm 1.09 \times 10⁶개/ml와 16.8 \pm 2.28 \times 10⁶개/ml에 비하여 통계적으로 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었다. 실험군 간 비교에서는 실험군 B와 실험군 C 사이에는 유의한 차이가 없었다

(Table I, Fig. 2).

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

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value ¹⁾
A	16.2±2.38 ²⁾	17.1±4.45 ^{a3)}	ns
B	16.8±1.09	27.9±4.01 ^b	p<0.01
C	16.8±2.28	28.5±7.96 ^b	p<0.01
D	17.2±2.38	21.9±4.48 ^a	ns

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 based on Tukey B multiple comparison test.

A: Group administered for 30 days

B: Group administered for 60 days

C: Group administered for 90 days

D: Group administered for 120 days

Control: Group administered by normal saline

Treatment: Groups administered by 0.3mg/g/day *Cynomorii Herba* extract solution

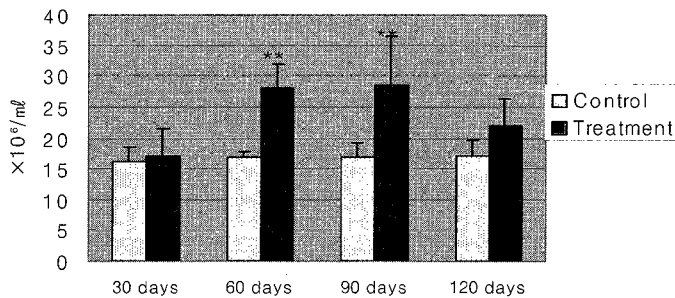


Fig. 2. Changes of the total sperm count in the mice administered *Cynomorii Herba* extract solution (**; p<0.01)

2. 活動 精子數에 미치는 影響

실험군 A는 대조군에 비해 유의한 증가가 나타나지 않았고, 실험군 D의 活動 精子數는 $14.5 \pm 3.20 \times 10^6$ 개/ml로 대조군 $10.2 \pm 1.92 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었으며, 실험군 B와 실험군 C의 活動 精子數는 $16.9 \pm 2.76 \times 10^6$

개/ml와 $15.3 \pm 3.62 \times 10^6$ 개/ml로 각 대조군 $10.0 \pm 1.22 \times 10^6$ 개/ml와 $9.8 \pm 2.04 \times 10^6$ 개/ml에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었다. 실험군 간 비교에서는 실험군 B와 실험군 C와 실험군 D 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table II, Fig. 3).

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

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value ¹⁾
A	9.0 \pm 1.22 ²⁾	11.0 \pm 2.90 ^{a3)}	ns
B	10.0 \pm 1.22	16.9 \pm 2.76 ^b	p<0.01
C	9.8 \pm 2.04	15.3 \pm 3.62 ^b	p<0.01
D	10.2 \pm 1.92	14.5 \pm 3.20 ^b	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 based on Tukey B multiple comparison test.

A: Group administered for 30 days

B: Group administered for 60 days

C: Group administered for 90 days

D: Group administered for 120 days

Control: Group administered by normal saline

Treatment: Groups administered by 0.3mg/g/day *Cynomorii Herba* extract solution

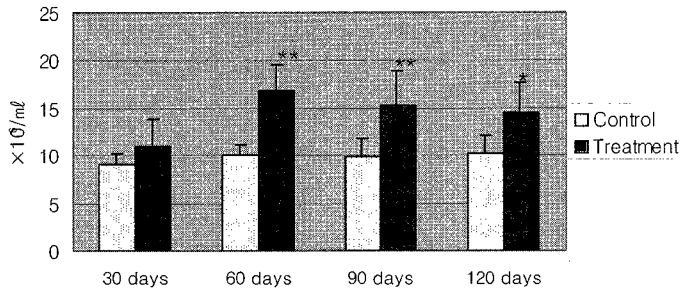


Fig. 3. Changes of the motile sperm count in the mice administered *Cynomorii Herba* extract solution (*; p<0.05, **: p<0.01)

3. 正常形態 精子數에 미치는 影響

실험군 A는 대조군에 비해 유의한 증가가 나타나지 않았고, 실험군 D의 正常形態 精子數는 15.8 \pm 4.02개로 대조군의 10.2 \pm 2.28개에 비하여 유의한 증가 (p<0.05)를 나타내었으며, 실험군 B와 실험군 C의 正常形態 精子數는

19.3 \pm 3.59개와 18.5 \pm 4.55개로 각 대조군 10.4 \pm 1.14개와 10.6 \pm 1.67개에 비하여 유의한 증가 (p<0.01)를 나타내었다. 실험군 간 비교에서는 실험군 B와 실험군 C가 실험군 A에 비하여 통계적으로 유의한 (p<0.05) 증가를 나타내었다(Table III, Fig. 4, Fig. 5).

Table III. Effect of *Cynomorii Herba* Extract Solution on the Normal Sperm Count in the Mice

Group	Control (n=5)	Treatment (n=10)	p-value ¹⁾
A	10.4±0.89 ²⁾	12.4±2.67 ^{a3)}	ns
B	10.4±1.14	19.3±3.59 ^b	p<0.01
C	10.6±1.67	18.5±4.55 ^b	p<0.01
D	10.2±2.28	15.8±4.02 ^{a,b}	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 based on Tukey B multiple comparison test.

A: Group administered for 30 days

B: Group administered for 60 days

C: Group administered for 90 days

D: Group administered for 120 days

Control: Group administered by normal saline

Treatment: Groups administered by 0.3mg/g/day *Cynomorii Herba* extract solution

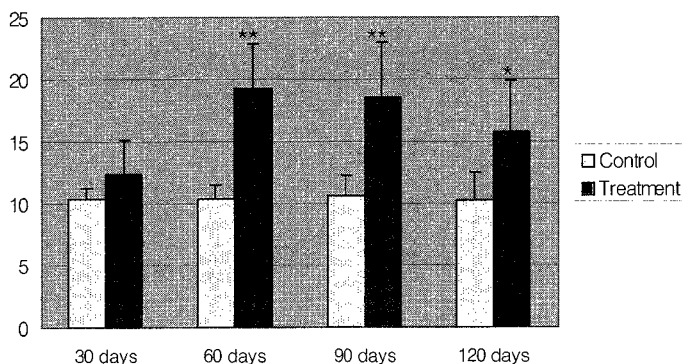
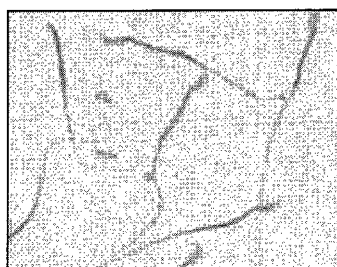
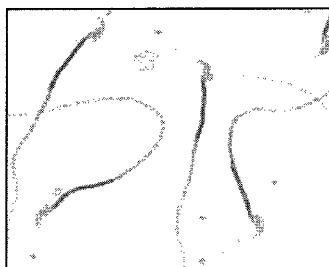


Fig. 4. Changes of the normal sperm count in the mice administered *Cynomorii Herba* extract solution (*: p<0.05, **: p<0.01)



Control A (for 30 days)



Treatment A (for 30 days)

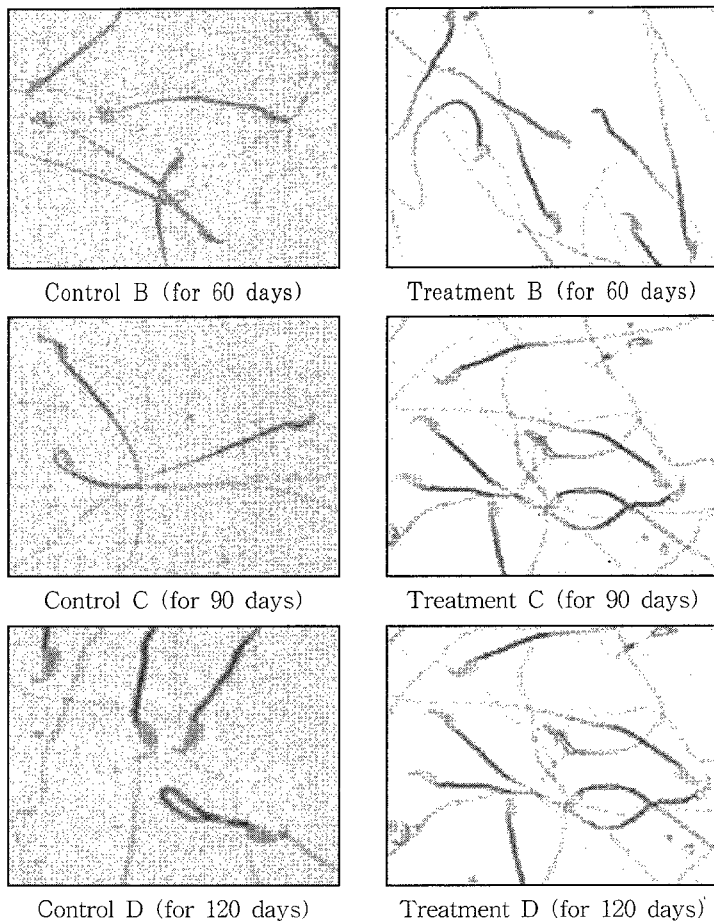
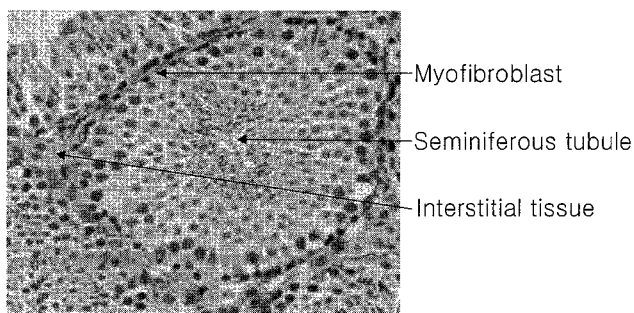


Fig. 5. Changes of the sperm count and morphology in the testis of mice administered *Cynomorii Herba* extract solution

4. 辜丸組織에 미치는 影響

고환조직을 해부 현미경 하에서 관찰한 결과 모든 鎖陽 投與群에서 고환조직 내 정소엽 (testicular lobe) 직경이 대체

로 크게 관찰되었으며 특히 정소엽 간의 혈관형성이 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 6, Fig. 7).



Control

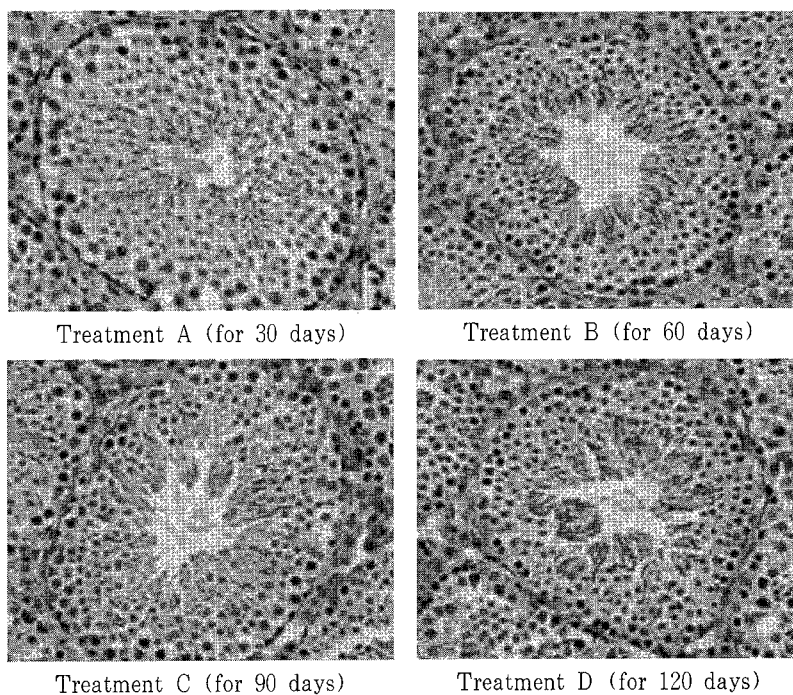
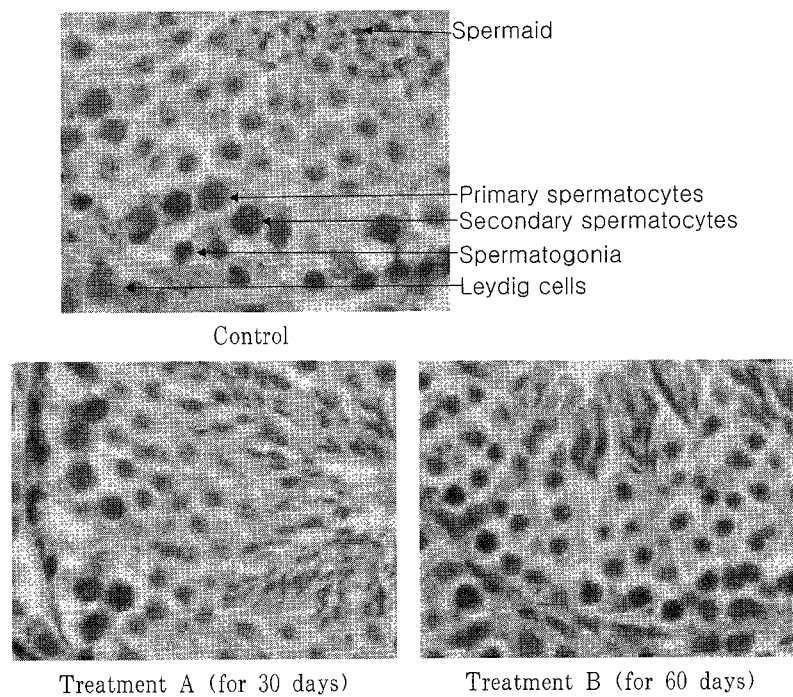


Fig. 6. Changes of tissue in the testis of mice administered *Cynomorii Herba* extract solution ($\times 200$)



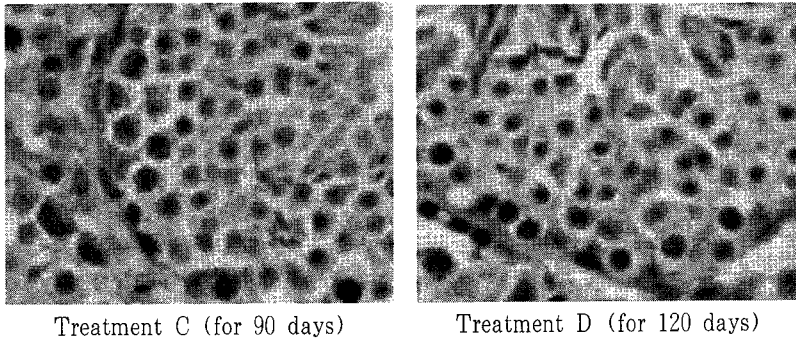


Fig. 7. Changes of tissue in the testis of mice administered *Cynomorii Herba* extract solution ($\times 400$)

5. 精子尖體 活性度에 미치는 影響

Hyaluronidase의 흡광도는 실험군 A가 0.1712 ± 0.0212 , 실험군 B가 0.1938 ± 0.0319 , 실험군 C가 0.1788 ± 0.0358 및 실험군 D가 0.1764 ± 0.0276 로 각 대조군 0.1084 ± 0.0086 ,

0.1032 ± 0.0037 , 0.1092 ± 0.0082 및 0.1094 ± 0.0050 에 비하여 모두 통계적으로 유의한 증가 ($p < 0.01$)를 나타내었으나, 실험군 간 비교에서는 유의한 차이가 없었다 (Table IV, Fig. 8).

Table IV. Effect of *Cynomorii Herba* Extract Solution on the Sperm Hyaluronidase Activity in the Mice

Group	Control (n=5)	Treatment (n=5)	p-value ¹⁾
A	$0.1084 \pm 0.0086^{2)}$	0.1712 ± 0.0212^a	$p < 0.01$
B	0.1032 ± 0.0037	0.1938 ± 0.0319^a	$p < 0.01$
C	0.1092 ± 0.0082	0.1788 ± 0.0358^a	$p < 0.01$
D	0.1094 ± 0.0050	0.1764 ± 0.0276^a	$p < 0.01$

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

2) Mean \pm standard deviation

A: Group administered for 30 days

B: Group administered for 60 days

C: Group administered for 90 days

D: Group administered for 120 days

Control: Group administered by normal saline

Treatment: Groups administered by 0.3 mg/g/day *Cynomorii Herba* extract solution

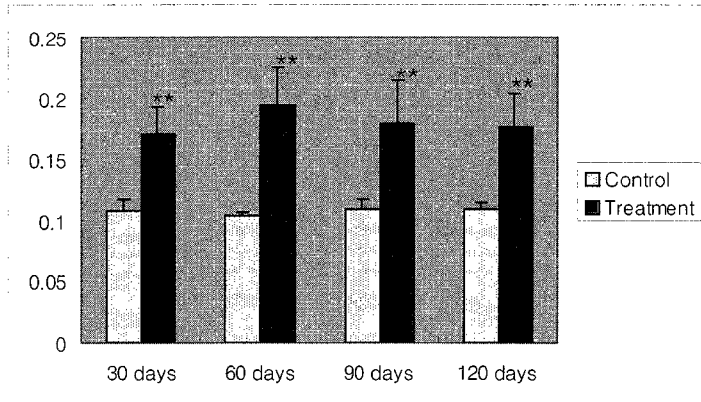


Fig. 8. Changes of the sperm hyaluronidase activity in the mice administered *Cynomorii Herba* extract solution (**: $p < 0.01$)

V. 結 論

생식보조술은 난자세포질내 정자주입법의 등장으로 남성불임의 진단과 치료에 많은 변화를 가져왔으나²⁷⁾, 이로 인해 남성 요인은 불임치료 과정에서 종종 무시되어 왔다²⁸⁾. 그러나 유전적인 결함이 있는 불임환자의 경우 그 결함정보가 자손까지 그대로 전달될 수 있다는 우려와²⁹⁾, 과도한 비용 및 정상 여성의 동반 치료가 불가피하므로 불임 부부의 치료에서 남성 요인에 대한 근원적 해결이 요구되고 있다³⁰⁾.

남성불임은 정자가 만들어져 수송되고 사정행위에 의해 배출되어 난자와 결합하는 과정 중에서 한 가지라도 문제가 생길 때 발생한다³¹⁾. 남성불임의 원인은 비뇨생식기 감염, 면역학적 요인, 외상, 수술 중 손상이나 독소에 노출과 같은 후천적 요인과 정계정맥류, 내분비이상 같은 선천적 요인 및 원인미상의 특발성 요인 등이다³²⁾. 국내 남성 불임환자의 원인을 분석한 보고에서는 원인 미상의 특발성 원인이 가장 많았다³³⁾.

남성불임의 진단은 병력청취와 함께 호르몬검사, 염색체검사, 방사선검사 및 정자기능검사 등이 시행되나, 남성 불임 환자의 수정 능력을 평가하고 불임의 원인을 파악하는데 가장 중요하고 기본적인 검사는 정액검사이다³⁴⁾. 그러나 정액검사의 결과는 금욕기간, 정액채취방법 및 몸 상태 등 여러 가지 요인들에 영향을 받을 수 있으므로 최소한 2-3일의 금욕기간을 가진 후 실시되어야 한다. 또한 채취 후 1시간 이내에 검사실로 도착하여야 하며 최소 2주 간격으로 2회 이상 검사하여 신체검사, 생활습관 및 작업환경 등을 고려하여 종합적으로 평가된다³⁵⁾.

남성불임에 대한 치료는 내과적 치료, 외과적 수술 및 보조생식술이 있으며, 내과적 치료는 항에스트론제, 항생제, 스테로이드제 및 α -교감신경자극제 등이 투여된다³⁶⁾. 그러나 이 약제들은 정자의 질적·양적인 결함을 개선시키려는 근본적인 치료가 아니며, 과학적 한계와 윤리적·사회적 문제를 야기하고 있어 이들을 해결할 수 있는 한의학적인 치료방

법의 개발이나 연구가 요구되고 있다³⁷⁾.

남성생식에 대한 연구로는 침치료와 한약치료로 정자의 수와 운동성을 증가시켰다는 보고^{38,39)}와 침구치료로 정상 형태의 정자수를 증가시킨 연구가 보고 되었으며⁴⁰⁾, 한약과 침구치료, 敷臍療法이나 심리치료 등의 다양한 방법을 사용하여 남성불임을 치료하고 있음을 보고 하였다³⁷⁾.

한의학에서는 남성의 생식능력이 상실된 것을 男性不育 또는 五不男이라고 하여 天, 漏, 疝, 怯, 變으로 나누었다⁴¹⁾. 남성불임의 病理는 氣衰不育, 精清不育, 早洩不育 및 精寒不育으로 분류하여 氣衰不育은 保養補氣, 精清不育은 滋陰益水, 早洩不育은 澁精秘氣, 精寒不育은 溫腎補精의 처방을 사용한다⁸⁾. <內經>⁴²⁾에서는 “丈夫 二八 腎氣盛 天癸至 精氣溢寫 陰陽和 故能有子...七八 肝氣衰 筋不能動 八八 天癸竭 精少 腎藏衰 形體皆極... 而無子耳.”라 하여 腎藏을 인체의 生長發育을 주관하는 臟器로 파악하였으며, 특히 腎氣가 쇠약해지면서 남성의 생식능력이 감소하는 것으로 보았다. 이에 따라 최근 補腎陽하는 약물의 남성불임에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다^{10-20,25,26)}

補陽藥 중 鎖陽은 補腎陽, 益精血하는 작용이 있어^{21,43)}, 續嗣丹⁴⁴⁾, 補腎益精方³⁸⁾, 補腎益精丸⁴⁵⁾, 通精子方⁴⁵⁾, 生精靈楊進⁴⁵⁾ 등의 처방에서 남성불임의 치료제로 사용되어 왔다. 최근 오 등²⁴⁾은 남성 생식세포의 일종인 GC-1 spg cell에 항산화작용이 있음을 보고하였고, 정 등²⁵⁾은 鎖陽 투약이 총 정자수, 정자 운동성 및 정상 정자 비율을 증가시켰음을 보고하였고, 한 등²⁶⁾은 농도별로 鎖陽을 투여

한 결과 항산화효소의 활성 증가, 정소엽간의 혈관형성 증가를 보고하면서 특히 총 정자수, 정자 운동성 및 정상 정자 비율이 10mg/ml 檢液群에서 가장 증가함을 보고한 바 있으나, 남성 생식능력에 대한 鎖陽의 투약기간별 효과에 대한 연구는 보고된 바 없었다.

이에 저자는 수컷 생쥐의 정상 정자 생성기간인 60일을 기준으로 30일, 60일, 90일 및 120일간 鎖陽 檢液을 투여한 후 투여기간별 총 정자수를 관찰한 결과 60일간과 90일간 鎖陽 檢液 투여군에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 증가하였고 60일간과 90일간 투여군간에는 유의한 차이는 없었다. 활동 정자수를 관찰한 결과는 60일간, 90일간 및 120일간 鎖陽 檢液 투여군에서 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였고 60일간, 90일간 및 120일간 투여군간에는 유의한 차이는 없었다. 정상형태 정자수를 관찰한 결과는 60일간, 90일간 및 120일간 鎖陽 檢液 투여군에서 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였고 특히 60일과 90일간 투여군에서 현저한 증가를 나타내었다.

이러한 결과는 巴戟²⁰⁾은 120일, 人蔘⁴⁶⁾은 90일, 淫羊藿¹⁵⁾은 60일 투여군에서 현저한 증가율을 보인 것과는 다르며, 鎖陽은 60일 투여시와 90일 투여시의 차이는 없었고 오히려 120일간 투여시는 감소하는 경향을 보이고 있어 鎖陽 투여시 생쥐의 정상 정자 생성 기간인 60일간 투여하는 것이 가장 효과적임을 알 수 있다.

해부 현미경 하에서 고환 조직내 정자형성 변화를 관찰한 결과 鎖陽 檢液을 투여한 군이 세정관 사이의 혈관 형성이

확인되었고, 대조군에 비하여 세정관 사이 간격이 넓어졌는데, 이는 정자 형성 촉진에 필요한 영양분과 호르몬을 분비하는 혈관, 림프관 및 Leydig cell 형성이 촉진된 것으로 해석할 수 있으며, 이는 정 등²⁵⁾과 한 등²⁶⁾의 연구에서도 확인하였던 결과이다.

정자의 첨체 (acrosome)는 정자막에 부착된 소기관으로 모세포 형성 동안 나타나며 첨체막 (acrosomal membrane)은 첨체외막과 첨체내막으로 구성되어 있다. 첨체반응은 첨체외막이 정자의 형질막 (plasma membrane)과 융합하면서 소포 (vesicle)에서 첨체내의 내용물인 acrosin, hyaluronidase 그리고 hydrolytic enzyme 등이 세포외로 유출되는 과정으로, 이를 통하여 정자는 난자의 투명대 (zona pellucida)를 뚫고 난자 내로 들어갈 수 있게 된다. 따라서 첨체반응은 수정에 있어 필수적인 단계이다⁴⁷⁾. 첨체반응을 일으키는 hyaluronidase는 정자두부에서 분비되는 효소로 그 낮은 활성은 정자의 수정 효율을 감소시킨다⁴⁸⁾.

鎖陽 檢液 투여후 hyaluronidase activity를 측정된 결과, 모든 투여군이 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었으나 투여군간 차이는 나타나지 않았다. 이는 한 등²⁶⁾의 농도별 鎖陽 투약에서의 결과와 동일한 결과로, 鎖陽은 최소농도와 최소투약기간만으로도 hyaluronidase activity를 증가시키는 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과를 종합해 보면, 鎖陽 檢液은 60일 투여군과 90일 투여군에서 수컷 생쥐의 총 정자수, 활동 정자수 및 정상형태 정자수를 증가시키고, 고환조직의 세정관 사이 간격과 혈관 증식 및 정자첨체 효소인 hyaluronidase

activity를 증가시켜, 수컷 생쥐의 생식 능력을 향상시킴을 알 수 있었다. 향후 鎖陽과 같은 補腎陽 작용이 있는 한약이 임상시험을 통해서도 남성불임 치료에 효과가 있음을 밝히는 연구가 필요하다고 사료된다.

V. 結 論

鎖陽 檢液을 30일, 60일, 90일 및 120일간 투여한 후 수컷 생쥐의 총 정자수, 활동 정자수, 정상형태 정자수, 고환조직의 변화 및 정자첨체 활성도를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 60일간과 90일간 鎖陽 檢液 투여군에서 총 정자수는 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였다.
2. 60일간, 90일간 및 120일간 鎖陽 檢液 투여군에서 활동 정자수는 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였다.
3. 60일간, 90일간 및 120일간 鎖陽 檢液 투여군에서 정상형태 정자수는 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가하였고, 60일과 90일간 투여군에서 현저한 증가를 나타내었다.
4. 고환조직은 모든 鎖陽 檢液 투여군에서 세정관 사이의 간격이 커졌고, 그 사이의 혈관 형성이 뚜렷하게 관찰되었다.
5. 모든 鎖陽 檢液 투여군에서 Hyaluronidase activity는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으나, 실험군간 비교에서는 유의한 차이는 없었다.

□ 투 고 일 : 2007년 01월 24일

□ 심 사 일 : 2007년 02월 01일

□ 심사완료일 : 2007년 02월 06일

參考文獻

1. 洪律惠, 姜允皓. 男性不妊症 治療에 관한 考察. 韓醫學研究所論文集. 1994;3:397-403
2. Dohle GR et al. EAU Guidelines on male infertility. Eur Urol. 2005;48(5):703-711
3. Jouannet P et al. Semen quality and male reproductive health: the controversy about human sperm concentration decline. APMIS. 2001;109(5):333-344
4. Auger J et al. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N Engl J Med. 1995;332(5):281-285
5. Saleh RA et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. Fertil Steril. 2003;79(suppl 3):1597-1605
6. Carlsen E et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. BMJ. 1992;305:609-613
7. 서주태. 남성불임의 약물치료. 대한의사협회지. 2004;47(12):1223-1228
8. 宋炳基. 漢方婦人科學. 서울:행림출판 1994:278-282
9. 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;3:151-162
10. Han JY et al. Effects of Cuscutae Semen on the reproductive competence of male mice. J Oriental OB & GY. 2003;16(1):136-142
11. 오재성 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
12. 박대순 등. 紫河車가 수컷생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):1-10
13. 김승현 등. 淫羊藿이 흰쥐 정자의 운동성에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(2):52-63
14. 이창훈 등. 濃度別 淫羊藿 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(1):142-155
15. 최정은 등. 淫羊藿의 수컷 생쥐 生殖能力에 대한 投藥期間別 效果. 大韓韓方婦人科學會誌. 2006;19(3):55-68
16. 박창건 등. 非子가 웅성 백서의 정소 기능 및 catalase와 peroxidase의 활성에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2004;17(3):72-81
17. 김인중 등. 濃度別 非子 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2006;19(3):41-54
18. Choi EM et al. Effects of Morindae Officinalis Radix on the spermatogenesis and antioxidant activities in the SD rat. J Kor Oriental Med Soc. 2005;26(4):31-38
19. 허지원 등. 濃度別 巴戟 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(3):17-31
20. 오재성 등. 수컷생쥐 生殖能力에 대한 巴戟의 投藥期間別 效果. 大韓韓醫學會誌. 2006;27(3):73-86

21. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울:永林社 1994:571-572
22. 凌一揆. 中藥本草學. 서울:保健新聞社 1998:679-680
23. 신길구. 申氏本草學. 서울:수문사 1988:58-59
24. 오명숙 등. Hydrogen Peroxide에 의해 유도된 남성생식세포의 세포독성에 미치는 鎖陽의 효과. 대한한의학회지. 2004;12(2):155-162
25. 정선형 등. 鎖陽이 白鼠 精子的 數, 運動性 및 形成에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2005;18(4):24-35
26. 한지영 등. 鎖陽의 濃度別 投藥이 수컷 생쥐 生殖能力에 미치는 影響. 大韓韓方婦人科學會誌. 2006;19(2):62-76
27. 서주태. 남성불임의 진단과 치료. 대한의사협회지. 2003;46(9):833-842
28. Ben-Chetrit A et al. In vitro fertilization outcome in the presence of severe male factor infertility. Fertil Steril. 1995;63(5):1032-1037
29. 이경호, 이정민, 이진수. 남성불임의 유전적 요인 및 불임유전자 연구 현황. 대한내분비학회지. 2001;16(6):550-561
30. 김정훈, 조운경, 목정은. 원인불명의 남성불임 환자에서 pure follicle stimulating hormone과 human chorionic gonadotropin을 이용한 전신적 치료에 관한 연구. 대한산부인과학회지. 1996;39(7):1310-1319
31. 이복희. 남성의 불임에 영향을 미치는 주요인 분석. 중앙대학교 생활과학논집. 2002;15:193-202
32. Wald M. Male Infertility: causes and cures. Sexuality, Reproduction and Menopause. 2005;3(2):83-87
33. 김하영, 이희영. 남성불임증: IX. 남자불임증의 임상적 고찰. 대한비뇨기과학회지. 1980;21(3):221-229
34. 대한남성과학회. 남성과학. 서울:군자출판사 2003:53-90
35. 서주태. 남성불임. 대한불임학회지. 2006;33(1):1-13
36. 박남철 등. 남성불임: 최근 10년간의 임상통계학적 분석. 대한비뇨기과학회지. 1996;37(8):939-946
37. 김형균 등. 정자감소로 인한 남성불임증의 최근 중의치료 동향에 대한 연구. 동의생리병리학회지. 2001;15(6):637-644
38. Sinclair S. Male Infertility: nutritional and environmental considerations. Altern Med Rev. 2000;5(1):28-38
39. Crimmel AS, Conner CS, Monga M. Withered Yang: a review of traditional chinese medical treatment of male infertility and erectile dysfunction. J Androl. 2001;22(2):173-182
40. Gurfinkel E et al. Effects of acupuncture and moxa treatment in patients with semen abnormalities. Asian J Androl. 2003;5(4):345-348
41. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울:東洋醫學研究院 1993:712-726
42. 王永註. 黃帝內經素問校釋. 서울:一中社 1993:7-10
43. 李芳遠. 本草精要. 서울:一中社 2002:602-604
44. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:大星文化社 1990:143-144
45. 楊進, 楊進飛. 生精靈治療男性少精不育症 78例. 湖北中醫雜誌. 1992;14(1):16-17

46. 김혜원 등. 期間別 人蔘 投藥이 수컷 생쥐의 生殖能力에 미치는 影響. 大韓 韓方婦人科學會誌. 2006;19(2):49-61
47. 김정훈 등. 체외수정시술시 예후인자로서 정자첨체반응 유발검사의 유용성. 대한불임학회지 1998;25(3):251-260
48. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학(제3판). 서울:칼빈서적 1997 :598-647