

腎氣丸의 남성 생식기능 및 성기능 개선효과 : 정자생성 촉진, 고환독성 완화 및 음경해면체 평활근의 이완

서일복^{1#}, 박선영^{2*}

1 : 세명대학교 한의과대학 생리학교실, 2 : 세명대학교 한의과대학 해부학교실

Effects of Shingi-whan on the Male Reproductive and Sexual Function : Enhancing Spermatogenesis, Reducing Testicular Toxicity, and Relaxing Smooth Muscle of Corpus Cavernosum

Il-Bok Seo^{1#}, Sun-Young Park^{2*}

1 : Department of Physiology, College of Korean Medicine, Semyung University,
2 : Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Semyung University

ABSTRACT

Objectives : This study aimed to investigate the effects of Shingi-whan(SG) on the male reproductive and sexual function, so we measured the spermatogenesis and the testicular toxicity in mice and the vasorelaxation in isolated rabbit corpus cavernosum smooth muscle.

Methods : To evaluate effect on the spermatogenesis in mice, we prepared two groups, control group and SG group that was orally administered SG(1,000mg/kg) for 20 days, and compared.

To analyze testicular toxicity in mice, we also prepared two groups, doxo group that was injected with doxorubicin (3mg/kg) on three times and doxo + SG group that was injected with doxorubicin and SG for 20 days, and compared.

To investigate sexual function of SG in mice, we prepared three groups, normal group and aging elicited group consisting of 18-month-old mice, SG treated aging group that was orally administered SG for 60 days, and compared using histochemical staining on mice corpus cavernosum tissues.

In order to define the relaxation effects of SG, rabbit corpus cavernosum tissues were prepared in 2 × 2 × 6 mm sized strip. Then the dose-dependent relaxation responses of SG at 0.01-3.0 mg/ml in contracted strips induced by phenylephrine were measured.

Results : The sperm density in dutus epididymis and the diameter of seminiferous tubules of SG group was significantly increased when compared to control group.

The testicular weight and the diameter and height of epithelial layer of seminiferous tubules of doxo + SG group was significantly increased when compared to doxo group.

The cavernous strips were significantly relaxed by SG extract

In SG treated aging group, ratio of smooth muscles to collagen fibers and red blood cell count in venous sinus was increased as compared to aging elicited group.

Conclusions : Our findings have shown that SG extract have effect on spermatogenesis and mitigating effect on doxo-induced testicular toxicity. Further, it also have the vasorelaxant effect on rabbit corpus cavernosum.

Key words : Shingi-whan, corpus cavernosum, spermatogenesis, testicular toxicity

서론

최근 우리나라도 평균 수명의 증가에 따라 중장년층의 인구가 증가하고 있고, 신체의 노화에 따른 다양한 질병이 동반

되며 삶의 질을 떨어뜨리고 있다¹⁾. 특히 남성의 경우 여성 갱년기와 같이 내분비계의 변화로 인하여 테스토스테론의 결핍과 함께 나타나는 임상적 및 생화학적 증후군인 후기 발현 남성 성선기능 저하증(LOH, late-onset hypogonadism)이 유

발되는데, 남성갱년기는 50세 이상의 남자가 신경과민, 우울증, 현기증, 안면홍조, 발한, 성욕감퇴, 만성피로 등의 증상을 호소하면서 혈중 남성호르몬이 3ng/ml 미만일 때 남성갱년기로 정의하며, 여러 신체적 및 정신적 증상 중에서도 성기능이나 생식기능 감퇴가 두드러지게 나타난다^{2,3)}.

남성의 신체적 盛衰의 변화에 대하여 內經의 上古天真論에서는 腎氣를 바탕으로 설명하고 있는데, 40살이 되면서 腎氣가 쇠약해져서 머리카락이 빠지고 齒牙가 마르며, 48살이 되면 陽氣가 쇠약해지고 고갈되면서 얼굴이 마르고 수염과 머리털이 희어지는 등 노화가 시작된다고 하였으며⁴⁾, 또한 성기능의 쇠퇴에 해당하는 陽痿나 陰痿 역시 腎氣의 衰弱이 하나의 원인이 되고 있다⁵⁾. 따라서 노화가 시작되면서 발생하는 남성갱년기는 腎氣의 盛衰와 많은 연관성이 있는 것으로 볼 수 있으며, 腎氣를 補充하는 것이 남성갱년기의 예방과 치료의 방법이 될 수 있다.

腎氣丸은 東醫寶鑑 虛勞門 腎虛藥에 나오는 처방으로 六味地黃元에 五味子를 가한 처방이다. 虛勞로 腎이 虛損된 것을 치료하며 "水泛爲痰之聖藥, 血虛發熱之神劑"로 腎水를 생기게 하고 肝도 補하여 肝과 腎의 病을 같이 치료해준다고 알려져 있다⁶⁾. 腎氣丸에 대한 연구로 Hirokawa 등⁷⁾은 腎氣丸의 긴망증 개선효과에 대하여, 류 등⁸⁾은 腎氣丸의 항불안효과에 대하여 보고하였고, 조 등⁹⁾은 노인성 어지럼증에 대한 腎氣丸의 효과에 대하여 보고하였다. 하지만 腎氣丸이 대표적인 補腎 처방임에도 불구하고 腎氣丸이 남성 생식기능이나 성기능 등 腎기능에 미치는 영향에 대하여는 아직 보고된 바가 없다.

이에 본 연구에서는 腎氣를 補하는 대표적 처방인 腎氣丸의 투여가 정자생성 및 doxorubicin으로 유발된 고환독성과 음경해면체의 평활근 혈관에 미치는 효과에 대하여 organ bath study를 중심으로 연구함으로써 남성 갱년기의 주된 장애인 생식기능과 성기능 개선에 대한 腎氣丸의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

8주령의 수컷 ICR계 생쥐, 18개월의 수컷 ICR계 생쥐(나라바이오텍, 한국)와 체중 1.5~2.0 kg 내외의 New Zealand white 수컷 토끼(샘타코, 한국)는 항온항습실(온도 23±℃, 습도 55±5%, 12시간 명암주기)에서 1주일간 환경에 적응시킨 후 사용하였고 실험기간동안 사료와 음수는 자유 섭취케 하였다. 본 동물실험은 세명대학교 동물실험윤리위원회의 승인(smecae 13-07-03)하에 실시되었다.

2. 처방 및 검액의 제조

腎氣丸은 東醫寶鑑 虛勞門 腎虛篇⁶⁾에 준하였으며, 약재는 ○○대학교 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 처방의 구성과 용량은 Table 1과 같다. 腎氣丸의 7첩 분량인 388.5 g을 증류수 2000 ml과 함께 round flask에 넣고 2시간 동안 가열 추출한 다음 rotary evaporator(Eyela, Japan)로 감압 농축하였고, 농축액을 동결건조기로 건조하여 얻은 분말 45 g을 실험에 사용하였다.

Table 1. Prescription of Shingi-whan per Pack

| Name of Herbs | Pharmacognositic Name | Weight(g) |
|---------------|------------------------------|-----------|
| 熟地黃 | Rhizoma Rehmanniae | 15 |
| 山藥 | Rhizoma Dioscoreae | 7.5 |
| 山茱萸 | Fructus Corni | 7.5 |
| 五味子 | Schisandra chinensis Fructus | 7.5 |
| 澤瀉 | Rhizoma Alismatis | 6 |
| 牡丹皮 | Cortex Moutan Radicis | 6 |
| 白茯苓 | Poria | 6 |
| Total | | 55.5 |

3. 실험군의 설정

신기환의 생식기능을 관찰하기 위한 실험군은 정상군, 신기환군, Doxo군, Doxo신기환군 총 4군으로 분류하고 각 군당 체중이 유사하도록 생쥐 8마리를 배정하였다. 정상군(normal group)은 증류수 0.5ml을 1일 1회 20일간 경구투여하였고, 신기환군(SG group)은 腎氣丸(1,000mg/kg)을 1일 1회 20일간 경구투여하여 신기환의 정자생성 효과를 평가하였다. Doxo군(Doxo group)은 증류수 0.5ml을 1일 1회 20일간 경구투여하면서 실험 5, 10, 15일째에 각각 doxorubicin(3mg/kg of b.w.)(Sigma, USA)을 복강내 투여하여 고환독성을 유발하였고, Doxo신기환군(Doxo + SG group)은 腎氣丸(1,000mg/kg)을 1일 1회 20일간 경구투여하면서 실험 5, 10, 15일째에 각각 doxorubicin(3mg/kg of b.w.)을 복강내 투여하여 고환독성의 완화를 평가하였다.

4. 체중 및 고환 무게 측정

실험개시일로부터 5일 간격으로 모든 개체의 체중을 측정하였고, 실험종료일에 희생하여 적출된 양쪽 고환의 무게를 측정하였다.

5. 병리조직학적 검사

HE 염색된 고환 조직에서의 일반적인 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

1) 고환 및 부고환의 처치

실험종료일에 희생하여 적출된 개체 당 1개의 고환 및 부

*Corresponding author : Sun Young Park, Department of Physiology, College of Korean Medicine, Semyung University 65, Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea

· Tel : +82-43-649-1345 · E-mail : sypark@semyung.ac.kr

#First author : Il-Bok Seo, Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Semyung University 65, Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea

· Tel : +82-43-649-1344 · E-mail : seoib@semyung.ac.kr

· Received : 24 April 2015 · Revised : 21 May 2015 · Accepted : 26 May 2015

고환을 Bouin's sol.에 담가 24시간 고정하고 고환 및 부고환 단면을 만들어 통상적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하였다. 포매된 고환 및 부고환을 5 μ m 두께의 절편으로 제작하고 poly-L-lysine이 코팅된 슬라이드(Mariefeld, Germany)에 부착시켜 Hematoxylin-Eosin(HE) 염색하여 관찰하였다.

2) 부고환관내 정자밀도의 측정

HE 염색된 부고환을 저배율에서 촬영하고, 칼라영상분석장치(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 모든 부고환관을 대상으로 광선투과도를 측정하였다. 정상군에서 측정된 투과도의 평균을 100%로 설정하고, 다른 군의 투과도를 환산하여 부고환관내 정자밀도로 평가하였다.

3) 고환의 정세관 직경의 측정

HE 염색된 고환 조직을 사진 촬영하고, 칼라영상분석장치(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 고환 1개 당 비교적 원형에 가까운 정세관 20개를 임의로 선택해서 직경을 측정하였다.

4) 정세관 상피세포층 높이의 측정

HE 염색된 고환 조직을 사진 촬영하고, 칼라영상분석장치(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 고환 1개 당 비교적 원형에 가까운 정세관 20개를 임의로 선택해서 정세관 상피세포층의 높이를 측정하였다.

6. 음경해면체 조직화학적 검사

1) 실험군의 설정

신기환의 성기능을 관찰하기 위한 실험군은 정상군, 노화군, 노화신기환군 총 3군으로 분류하고 각 군당 체중이 유사하도록 생쥐 7마리를 배정하였다. 정상군(normal group)은 8주령의 수컷 ICR계 생쥐에게 증류수 0.5ml을 1일 1회 60일간 경구투여하였고, 노화군(aging elicited group)은 18개월의 수컷 ICR계 생쥐에게 같은 방법으로 증류수를 경구투여하였으며, 노화신기환군(SG treated aging group)은 腎氣丸(1,000mg/kg)을 1일 1회 60일간 경구투여하였다.

2) 음경해면체 조직표본 제작

실험종료일에 희생하여 적출된 음경조직을 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정한 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 3 μ m 두께의 연속절편으로 제작되었다.

3) 음경해면체내 평활근 분포 및 정맥동내 혈액분포 변화 관찰

음경해면체에 분포하는 평활근과 아교섬유의 분포 변화를 관찰하기위해 Masson trichrome 염색을 실시하였다. 우선 50-60 $^{\circ}$ C Bouin 용액에서 1시간동안 매염 처리한 다음 70% 에탄올에서 picric acid를 제거하였다. Weigert iron hematoxylin에서 10분동안 반응시켜 핵 염색하고, Biebrich scalet-acid fuchsin와 phosphomolybdic-phosphotungstic acid에서 각

각 15분간, aniline blue에 5분간 처리하여 평활근(적색)과 아교섬유(청색)를 염색하고 광학현미경 (BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. Image pro Plus (Media Cybernetic, USA)을 이용한 영상분석 (image analysis)을 통해 음경해면체내 아교섬유에 대한 평활근육의 분포비율을 계산하였다.

7. 腎氣丸이 음경해면체 수축에 미치는 영향

실험에 필요한 절편을 제작하기 위하여 토끼를 urethane (0.6 g/kg, 정맥주사)으로 마취한 다음 음경을 적출하여 modified krebs-ringer bicarbonate solution(125.4 mM NaCl, 4.9 mM KCl, 2.8 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 15.8 mM NaHCO₃, 1.2 mM KH₂PO₄, 12.2 mM glucose, pH 7.4)에서 주위의 근육과 지방조직을 제거한 후 음경해면체 주위의 백막을 제거하여 2 × 2 × 6 mm 크기의 절편으로 만들었다. 이렇게 제작한 실험절편을 95%의 O₂와 5%의 CO₂ 혼합가스로 포화된 37 $^{\circ}$ C의 modified krebs-ringer bicarbonate solution이 peristaltic pump를 통하여 3 ml/min의 속도로 흐르고 있는 organ bath(용량 1.5 ml)에 현수하고, 실험절편의 한쪽 끝은 organ bath의 바닥에, 다른 쪽은 force transducer에 연결하여 장력을 측정한 다음 그 결과를 physiograph(PowerLab, Australia)로 기록하였다. 실험 시작 전 실험절편을 organ bath에서 1시간 안정시킨 후 micromanipulator(Narishige N2, Japan)를 이용하여 피동장력 1.5 g을 가하고 다시 1시간 안정시킨 다음 실험을 진행하였으며 해면체 절편에 PE 1 μ M을 투여하여 수축을 유발시킨 후 腎氣丸 추출물을 농도별(0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 mg/ml)로 투여하여 수축의 변화를 기록하였다.

8. 통계처리

측정된 항목은 평균 \pm 표준편차로 표시하였다. 측정 항목의 평균값은 SPSS 11.5 프로그램을 이용하여 doxorubicin을 접종하지 않은 두 군(정상군 및 신기환군)간에 대해서, 그리고 doxorubicin을 접종한 두 군(Doxo군 및 Doxo신기환군)간에 대해서 student's *t*-test로 유의성을 검증하였다.

또한 해면체의 수축변화는 실제 수축의 크기와 PE를 투여하여 유발된 최대 수축에 대한 백분율로 표현하였으며, 실험 결과의 비교는 student's *t*-test로 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 체중의 변화

신기환군의 체중 증가율은 정상군에 비해서 다소 높았으나 유의한 차이는 없었고, Doxo군에서는 실험 5일까지 체중이 증가되었으나 doxorubicin을 접종한 실험 5일 이후에는 체중이 감소되어 실험기간 중 체중 증가율은 1% 미만이었다. Doxo신기환군의 체중변화도 Doxo군과 유사한 경과를 보였으며, 체중 증가율은 약 2.4%로 Doxo군에 비해서 높았으나 유의한 차이는 없었다(Table 2).

Table 2. Effects of Shingi-whan Treatment on the Body Weight of Mice

| Group | Body Weight(g) | | | | | Increased Ratio of Body Weight(%) |
|-----------|----------------|------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 days | |
| Normal | 36,8 ± 2,1 | 38,0 ± 1,7 | 39,0 ± 1,4 | 40,0 ± 1,3 | 40,0 ± 1,9 | 9,0 ± 4,9 |
| SG | 36,8 ± 1,2 | 38,0 ± 1,3 | 39,6 ± 1,9 | 40,1 ± 2,0 | 40,3 ± 1,4 | 9,6 ± 4,0 |
| Doxo | 36,6 ± 1,8 | 38,1 ± 2,0 | 37,3 ± 1,8 [*] | 37,6 ± 1,2 ^{**} | 36,9 ± 1,7 ^{**} | 0,8 ± 4,7 ^{**} |
| Doxo + SG | 36,4 ± 1,2 | 38,5 ± 1,1 | 37,8 ± 1,3 | 38,4 ± 1,8 | 37,3 ± 1,8 | 2,4 ± 4,5 |

data were expressed as Mean ± S.D. (n=8)
 Normal : administered with distilled water for 20 days
 SG : administered with Shingi-whan for 20 days
 Doxo : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with distilled water for 20 days
 Doxo + SG : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with Shingi-whan for 20 days
^{*} : significant differences as compared with the Normal group ($p < 0,05$, ^{**} : $p < 0,01$)

2. 고환 무게의 차이

신기환군의 고환 무게는 정상군에 비해서 다소 높게 나타났으나 유의한 차이는 없었으며, Doxo신기환군의 고환 무게는 Doxo군에 비해서 유의성 있게 높았다(Table 3).

Table 3. Effects of Shingi-whan Treatment on the Testicular Weight of Mice

| Group | Testicular Weight(mg) |
|---------|---------------------------|
| Normal | 260,8 ± 37,6 |
| SG | 267,8 ± 27,1 |
| Doxo | 184,1 ± 14,3 [*] |
| Doxo+SG | 201,5 ± 14,3 [#] |

data were expressed as Mean ± S.D. (n=8)
 Normal : administered with distilled water for 20 days
 SG : administered with Shingi-whan for 20 days
 Doxo : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with distilled water for 20 days
 Doxo + SG : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with Shingi-whan for 20 days
^{*} : significant differences as compared with the Normal group ($p < 0,05$)
[#] : significant differences as compared with the Doxo group ($p < 0,05$)

3. 고환의 병리조직학적 소견

정상군에서는 여러 단계의 정세관이 모두 관찰되었으며, 정세관상피를 구성하는 세포들의 치밀한 증식과 활발한 정자 발생 소견이 관찰되었다(Fig. 1A). 신기환군에서는 어떠한 병적변화도 관찰되지 않았으며, 정상군에 비해서 정세관상피 및 정세관내 정자의 밀도가 보다 높게 관찰되었다(Fig. 1B). Doxo군의 대부분 정세관에서는 정세관상피 변성 및 괴사가 관찰되었으며, 상피세포의 탈락으로 정세관내강이 확장되어 있었다(Fig. 1C). Doxo신기환군에서는 정세관상피의 치밀도가 Doxo군에 비해서 증가되어 있었으며, 정자발생 소견도 Doxo군에 비해서 자주 관찰되었다(Fig. 1D)

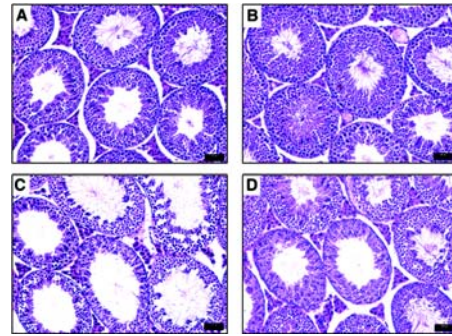


Fig. 1. Histological structure of testis

- A. Normal group. Well developed variable stages of seminiferous tubules are observed, H&E stain, bar=50µm
- B. Shingi-whan(SG) group. Well developed variable stages of seminiferous tubules are observed. The cellularities of seminiferous epithelia are higher than those of normal group. H&E stain, bar=50µm
- C. Doxorubicin(Doxo) group. The epithelia of seminiferous tubules are degenerated and the lumens of tubules are dilated. Activities of spermatogenesis are decreased, H&E stain, bar=50µm
- D. Doxorubicin+Shingi-whan(Doxo+SG) group. The cellularity of seminiferous tubules and activities of spermatogenesis are increased. Compare with Fig. 3. H&E stain, bar=50µm

1) 부고환관내 정자밀도의 차이

신기환군의 부고환관내 정자밀도는 정상군에 비해서 유의성 있게 높았고, Doxo신기환군의 부고환내 정자밀도는 Doxo군에 비해서 높았으나 유의한 차이는 없었다(Table 4).

2) 정세관 직경 및 정세관상피세포층 높이의 차이

신기환군과 Doxo신기환군의 정세관 직경은 정상군과 Doxo군에 비해서 유의성 있게 컸으며, 신기환군의 정세관상피세포층 높이는 정상군과 차이가 없었으나, Doxo신기환군의 정세관상피세포층 높이는 Doxo군에 비해서 유의성 있게 높았다(Table 4).

Table 4. Effects of Shingi-whan Treatment on the Sperm Density in Ductus Epididymis, Diameter and Height of Epithelial Layer of Seminiferous Tubules of Mice

| Group | Sperm Density in Ductus Epididymis(%) | Diameter of Seminiferous Tubules (µm) | Height of Epithelial Layer of Seminiferous Tubules (µm) |
|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| Normal | 100,0 ± 7,0 | 109,9 ± 4,2 | 30,3 ± 0,6 |
| SG | 108,7 ± 7,8 [*] | 114,4 ± 2,6 [*] | 30,2 ± 1,3 |
| Doxo | 77,1 ± 8,7 ^{**} | 89,7 ± 2,4 ^{**} | 18,4 ± 0,8 ^{**} |
| Doxo+SG | 83,5 ± 6,0 | 95,2 ± 4,8 [#] | 19,7 ± 0,9 ^{##} |

data were expressed as Mean ± S.D. (n=8)
 Twenty seminiferous tubules were examined per each mouse.
 Normal : administered with distilled water for 20 days
 SG : administered with Shingi-whan for 20 days
 Doxo : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with distilled water for 20 days
 Doxo + SG : injected with doxorubicin at 5, 10, 15th day and administered with Shingi-whan for 20 days
^{*} : significant differences as compared with the Normal group (\ddagger ; $p < 0,05$, ^{**} : $p < 0,01$)
[#] : significant differences as compared with the Doxo group (\ddagger ; $p < 0,05$, ^{##} : $p < 0,01$)

4. 음경해면체내 조직화학적 검사

1) 음경해면체내 평활근 분포 변화

조직화학적결과 아교섬유는 음경해면체 중심부와 가쪽 백색막주변부에서 관찰되었다. 평활근은 음경해면체에 분포하는

아교섬유 사이공간에서 관찰되었는데, 특히 노화신기환군에서는 음경해면체 중심부에 분포하는 아교섬유사이에서 많이 관찰되었다(Fig. 2C).

영상분석결과 음경해면체내 아교섬유에 대한 평활근의 분포비율은 정상군에서는 1 : 0.23, 노화군에는 1 : 0.18 그리고 노화신기환군에서는 1 : 0.33로 나타났다.

2) 정맥동내 혈액분포 변화

음경해면체내의 정맥동 영상분석 결과 적혈구가 관찰되었으며, 특히 노화신기환군에서는 노화군에 비해 307 % 많은 적혈구를 관찰할 수 있었다(Fig. 2C).

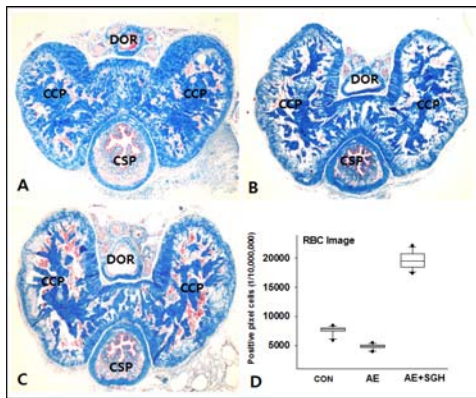


Fig. 2. Results of masson trichrome's stain for penis (x40).

- A. Normal group.
 - B. Aging elicited group.
 - C. SG treated aging group.
 - D. Image analysis result of RBC in venous sinus of CCP.
- Abbreviation, CCP, corpus cavernosum of penis ; CSP, corpus spongiosum of penis ; DOR, dorsal region of penis.

5. PE로 수축된 음경해면체에서의 수축변화

PE에 의하여 1.11 ± 0.08 g(100%) 수축된 해면체에 腎氣丸 추출물을 농도별로 투여하였을 때 0.03 mg/ml에서 1.04 ± 0.10 g(93.5%, p < 0.001), 0.1 mg/ml에서 0.96 ± 0.09 g(87.0%, p < 0.001), 0.3 mg/ml에서 0.91 ± 0.08 g(82.2%, p < 0.001), 1.0 mg/ml에서 0.82 ± 0.10 g(73.9%, p < 0.001), 3.0 mg/ml에서 0.63 ± 0.07 g(56.7%, p < 0.001)의 수축을 나타내어 유의성 있는 이완효과를 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

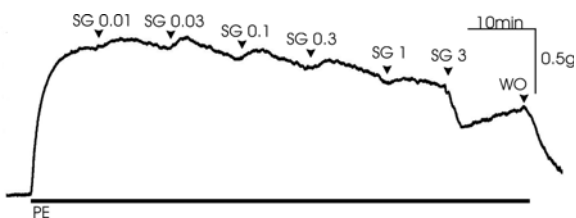


Fig. 3. SG extract-induced concentration-dependent relaxation in isolated rabbit corpus cavernosum(n=8).

Representative tracings are shown as the relaxation of corpus cavernosal strip by cumulative addition of 0.01 mg/ml to 3.0 mg/ml SG extract at the plateau of PE-induced contraction. PE, phenylephrine 1 μM ; SG, Shingi-whan extract(mg/ml) ; W/O, wash out or change of bath medium with a solution to which no drug is applied.

고찰

남성 갱년기 증후군을 경험하는 비율을 살펴보면 40세에서 70세의 우리나라 남성의 64.6%가 이에 해당하며, 미국에서는 매년 481,000명의 갱년기 증후군 환자가 새롭게 나타날 것으로 예측하고 있다^{10,11}. 이처럼 갱년기 증후군은 국내외적으로 높은 유병률을 보이고, 증상을 보이는 환자의 96%가 치료에 상당히 호의적인 생각을 가지고 있음에도 불구하고^{10,12}, 국내에서는 갱년기 장애와 관련된 연구가 대부분 여성을 중심으로만 이루어지고 있고 남성의 갱년기 장애와 관련된 연구는 미미한 실정이다. 이러한 남성갱년기 장애의 증상으로는 크게 성적 본능과 발기의 장애, 활력의 저하, 근육량과 골밀도의 감소 등의 신체적 증상과 우울증 및 의욕 감퇴, 건망증, 공허함, 허무감, 짜증 등의 심리적 증상으로 나눌 수 있다. 남성 갱년기 장애 증상 중 가장 두드러지는 증상은 성욕이 감퇴하고 발기력도 떨어지며, 사정시 쾌감이나 정액량이 감소되는 등 주로 성기능과 생식기능이 위축되며 이러한 증상을 보이는 남성에게서 삶의 만족도는 감소되어 나타난다^{2,3,13}.

素問, 上古天真論에 의하면 남성은 일반적으로 腎氣가 旺盛해지고 天癸가 이르는 16세가 되어야 아이를 낳을 수 있고, 40세가 되면 腎氣가 衰弱해짐에 따라 여러 신체기능의 저하가 일어나며, 56세가 되면 腎이 虛弱해지면서 天癸도 枯竭되어 아이를 낳지 못한다⁴. 즉, 남성은 腎氣의 盛衰가 生長, 發育, 老衰를 주도하고, 남성이 생식기능을 제대로 발휘하기 위해서는 腎氣의 充盛이 중요하다고 보았다. 한의학에서 성기능 장애에 해당하는 陽痿, 陰痿 등은 그 원인으로 命門火衰, 心脾虛損, 肝氣鬱結, 驚恐傷腎, 濕熱下注 등이 있지만 주된 원인은 '腎虛'로 溫補腎陽하는 治法이 자주 사용되고 있다⁵. 따라서 腎氣의 盛衰가 인체의 성기능과 생식능력을 결정한다는 素問 上古天真論篇의 논술과 한의학적인 성기능 장애에 해당하는 陽痿, 陰痿가 腎氣의 衰弱에 기인한다는 것은 남성 갱년기의 원인이 腎氣의 衰弱과 관련이 된다는 것으로 유추할 수 있으며, 腎氣의 補充을 통하여 남성 갱년기를 예방하고 치료할 수 있는 이론적 근거를 제공해준다.

Doxorubicin은 DNA 복제 및 전사과정을 억제하기에 생리적으로 분열증식되는 세포에 독성을 초래한다. 또한 free radical 생성을 증가 및 superoxide dismutase의 활성을 억제하는 등의 항산화 반응을 억제하여 세포내 lipid peroxidation 반응을 증가시킴으로써 분열증식 중이 아닌 일반 세포에도 독성을 초래한다고 알려져 있다^{14,15}. 이러한 doxorubicin은 고환에서 정세관 상피세포의 치밀도 감소 및 정세관 상피세포사이의 연결을 약하게 하며, 정조세포 및 정자세포의 감소와 정세관 상피세포의 괴사를 유발하는 것으로 알려져 있다¹⁶. 따라서 본 실험에서는 doxorubicin을 투여하여 고환독성을 유발시켰고, 腎氣丸의 투여에 따른 고환의 무게, 부고환내 정자 밀도, 정세관 직경 및 정세관상피세포층 높이의 변화를 관찰함으로써 腎氣丸이 남성 생식기능에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

먼저 각 실험군들의 체중을 측정해본 결과 신기환군에서도 정상군과 동일하게 체중이 정상적으로 증가되었다. Doxorubicin을 투여한 Doxo군과 Doxo신기환군에서는 doxorubicin의 세포독성에 의해, 다른 연구결과^{17,18}와 동일하게 전반적으로 체중 감소가 나타났다. 비록 정상군과 신기환군, Doxo군과

Doxo신기환군에서 모두 체중증감의 유의한 차이는 나타나지 않았지만 Doxo군과 Doxo신기환군의 체중감소를 비교해보았을 때 Doxo신기환군이 Doxo군에 비하여 체중감소폭이 적었다.

고환의 무게를 측정한 결과 정상군과 신기환군 사이에 유의한 차이는 없었지만 Doxo신기환군은 doxorubicin에 의하여 고환무게가 감소된 Doxo군에 비하여 유의한 고환무게의 증가를 보임으로써 腎氣丸이 doxorubicin에 의해 유발된 고환독성을 완화시킨다는 것을 알 수 있었다.

정자는 고환에서 생성되고, 정세관은 고환에서 정자를 생성하는 꼬여있는 관으로 고환의 80%를 차지하고 있다. 즉 미분화된 생식세포인 정조세포는 정세관의 가장자리에 해당하는 상피세포층으로부터 정자 성장과정을 거쳐 정세관의 내강에 도달함으로써 정자가 생성되는 것이다. 정세관에서 생성된 정자는 고환상부에 부착되어 있는 부고환으로 이동되며 부고환에서는 정자의 농축이 이뤄진다. 따라서 정세관의 병리조직학적 관찰을 통하여 정자 성장 및 생성과정을 알 수 있고, 부고환내 정자밀도의 증감을 통해 정자생성의 정도를 가늠할 수 있다^{19,20}.

본 실험에서는 신기환군이 정상군에 비해 부고환내 정자밀도를 유의성 있게 높였고 Doxo군과 Doxo신기환군 사이의 유의한 차이는 보이지 않았다. 이는 腎氣丸의 투여가 정상상태에서 정자생성을 촉진시키지만 고환독성이 유발된 상태에서는 신기환의 정자생성 촉진효과가 미흡한 것으로 판단할 수 있다.

또한 각 실험군의 정세관 직경 및 정세관상피세포층 높이를 관찰해보았을 때 신기환군 및 Doxo신기환군의 정세관 직경이 정상군 및 Doxo군에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다. 고환의 병리조직학적 조건에서 신기환군은 정상군에 비해 정세관상피 증식 및 정자발생이 뚜렷하게 관찰되었고 Doxo군에서는 정세관상피 변성 및 괴사가 관찰되어 다른 연구보고^{17,21}와 동일한 doxorubicin에 의한 고환독성이 확인되었으며, Doxo신기환군에서는 정세관상피의 치밀도가 Doxo군에 비해 증가되어 있었고 정자발생의 소견도 Doxo군에 비해 자주 관찰되었다. 이는 腎氣丸이 정자를 생성하는 정세관에 작용하여 정자 성장과정에 영향을 줌으로써 정자 발생을 촉진시킨다는 것으로 생각되며, Doxo군에 비해 Doxo신기환군에서 정자발생의 소견 및 정세관상피의 치밀도가 증가된 사실을 바탕으로 doxorubicin에 의한 고환독성도 완화시켜 정자발생에 영향을 준 것으로 생각된다.

남성 성기능의 측정은 발기유무로 할 수 있는데 발기는 음경해면체 평활근 내의 혈관이완 여부가 발기의 지속가능성에 중요한 역할을 한다. 즉 음경해면체 평활근내 혈관이 이완되어 혈액이 충분히 공급됨으로써 발기가 일어나며 만약 혈관이 이완이 원활하지 않고 수축상태가 유지된다면 발기부전이라는 병증으로 진단되는 것이다^{19,20}. 따라서 본 실험에서는 腎氣丸이 성기능에 미치는 영향을 음경해면체내 조직화학적 검사 및 음경해면체 평활근 이완 정도를 관찰함으로써 알아보려고 하였다.

음경해면체의 조직화학적 실험결과, 아교섬유에 대한 평활근의 분포비율은 노화군에 비하여 노화신기환군에서 증가되어 나타났고 음경해면체내 정맥동에서 적혈구의 수도 증가되었는데, 이를 통해 腎氣丸이 음경해면체내 평활근을 확장시킴으로써 음경해면체내 혈류량이 증가된 것을 알 수 있다.

음경해면체 평활근 이완 실험에서는 음경해면체를 적출하여 제작한 실험절편에 PE를 투여하여 최대 수축을 일으킨 후

0.01 mg/ml부터 3.0 mg/ml까지 腎氣丸 농도별로 투여하여 변화를 관찰하였다. 실험결과 腎氣丸 추출물은 PE로 수축된 음경해면체에서 이완효과를 나타냈으며, 이 결과는 腎氣丸이 음경해면체 평활근을 이완시킴으로써 음경으로의 혈류량이 증가되고 발기력을 증가시키는 일련의 과정을 통하여 성기능 개선에도 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해보면 腎氣丸은 부고환 및 정세관에 영향을 주어 정자발생을 촉진 및 doxorubicin에 의해 유발된 고환독성 완화로 생식기능의 개선에도 효과를 나타내며, 음경해면체에서는 조직내 혈관을 이완시킴으로써 성기능의 개선에도 효과를 나타냈다. 따라서 腎氣丸을 남성 갱년기 장애의 주된 장애인 생식기능과 성기능장애 개선 목적으로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

補腎에 사용되는 腎氣丸이 腎의 대표적인 기능인 생식기능과 성기능에 미치는 영향을 검증하고자 정자생성, 고환독성에 미치는 영향, 음경해면체 수축에 미치는 영향에 대한 실험을 통하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 신기환군은 정상군에 비해서 부고환내 정자밀도가 유의성 있게 높았다.
2. 신기환군은 정상군에 비해서 정세관 직경이 유의성 있게 컸다.
3. Doxo신기환군은 Doxo군에 비해서 고환 무게가 유의성 있게 높았다.
4. Doxo신기환군은 Doxo군에 비해서 정세관 직경이 유의성 있게 컸다.
5. Doxo신기환군은 Doxo군에 비해서 정세관상피층 높이가 유의성 있게 높았다.
6. 음경해면체 조직에 腎氣丸을 처치하였을 때 노화군에 비하여 평활근 비율과 정맥동내 적혈구의 증가가 관찰되었다.
7. 腎氣丸 추출물은 PE로 유발된 음경해면체의 평활근 수축에 대하여 농도의존적 평활근 이완작용을 나타내었다.

이상의 결과를 토대로 할 때, 腎氣丸은 정자발생을 촉진하는 효과와 doxorubicin에 의한 고환독성을 완화시키는 효과가 있고 음경해면체 평활근 이완효과를 통해 성기능 개선에도 도움을 주며, 남성 갱년기 장애의 주된 장애인 생식기능과 성기능 개선 목적으로 활용 가능성도 있을 것으로 생각된다.

References

1. Lee MW, Park HJ. A Study on Late-onset of Hypogonadism, Erectile Dysfunction, Depression, and Quality of Life among Middle-aged Male Worker. *Korean J Adult Nursing*. 2013 ; 25(5) : 483-93.
2. Ahn TY, Kang DW. Late-onset hypogonadism in the aging male(LOH). *J Health*. 2006 ; 30(12) : 6-11.
3. Schubert M, Jockenhövel F. Late-onset hypogonadism in the aging male(LOH): definition, diagnostic and clinical aspects. *J Endocrinol Invest*. 2005 ; 28(3) : 23-7.
4. Lee KH. *Huangjenaegyeongsomun*, 3rd. Seoul : Yeogang press. 2001 : 13-51.
5. Lee DS, Kang SB. A study of oriental-western medical research in male sexual dysfunction. *J East-West Med*. 1997 ; 22(3) : 53-85.
6. Heo J. *Donguibogam*, 2nd. Seoul : Namsandang. 1999 : 1183.
7. Hirokawa S, Nose M, Ishige A, Amagaya S, Oyama T, Ogihara Y. Effect of Hachimi-jio-gan on scopolamine-induced memory impairment and on acetylcholine content in rat brain. *J Ethnopharmacol*. 1996 ; 50 : 77-84.
8. Ryu JH, Kim MS, Hwang YS, Yook CS. Anxiolytic effects of the three kinds of traditional chinese medicine, Shin-Ki-Hwan, Bo-Jung-Ik-Ki-Tang, and Sa-Mul-Tang, Using the Elevated plus-maze test. *J Applied Pharmacol*. 2001 ; 9 : 125-31.
9. Jo CH, Kim SJ, Lee HJ, Shin HS, An JJ, Jo HK, Kim YS, Seol IC, Yoo HR. 1 Cases Study of The Effect of Jaeumgeonbi -tang Gamibang on the functional dizziness. *J Daejeon Orient Med Inst*. 2011 ; 20(1) : 65-8.
10. Park MG, Kang SC, Lee TW, Lee J, Kang SH, Moon DG. Attitude of Korean males toward late-onset hypogonadism : Survey of males in their 40s and above. *Korean J Androl*. 2007 ; 25(1) : 26-31.
11. O'Donnell AB, Araujo AB, Mckinlay JB. The health of normally aging men: The Massachusetts male aging study(1987-2004). *Exp Gerontol*. 2004 ; 39(7) : 975-84.
12. Kim NJ. Related factors and the symptoms of menopause in male workers. *J Korean Soc Health Edu Pro*. 2008 ; 25(4) : 29-42.
13. Makinen JI, Perheentupa A, Raitakari OT, Koskenvuo M, Pollanen P, Makinen J. Sexual symptoms in aging men indicate poor life satisfaction and increased health service consumption. *Urology*. 2007 ; 70 : 1194-9.
14. Janne SS, Jussi L, Hannu N, Harri H, Martti P, Jorma T. The effects of mono-2-ethylhexyl phthalate, adriamycin and N-ethyl-N-nitrosourea on stage-specific apoptosis and DNA synthesis in the mouse spermatogenesis. *Toxicology Letters*. 2003 ; 143 : 163-73.
15. Mahmoud AM, Hassan AE, Othman AA. Effect of captopril on doxorubicin-induced nephrotoxicity in normal rats. *Pharmacol Res*. 1999 ; 39(3) : 233-7.
16. Mi H, Dionisios C, Mirja N, Martti P, Staffan E, Olle S, Kirsi J. Doxorubicin induces apoptosis in germ line stem cells in the immature rat testis and amifostine cannot protect against this cytotoxicity. *Cancer Res*. 2005 ; 65(21) : 9999-10005.
17. Yachi K, Yamauchi H, Kikuchi H. Screening and biological evaluation of liposomal formulations containing Adriamycin. *Advanced Drug Delivery Rev*. 1997 ; 24 : 123-31.
18. Roh YW, Ji HJ, Chai HY, Hwang SY, Nam SY, Hong JT, Sung JH, Kim HK, Kang HG, Kim YB, Kang JK. Antitumor and cardioprotective effects of a ginseng intestinal metabolite in combination with doxorubicin in sarcoma-180 tumor-bearing mice. *Korean J Lab Ani Sci*. 2004 ; 20(4) : 348-56.
19. Lauralee Sherwood. *Human Physiology*. 7th. Seoul : Life Science Publishing co. 2011 : 746-58.
20. Cho YH. *Concepts of Human Physiology*. 1st. Seoul : Bummun Education. 2011 : 300-1.
21. Sjöblom T, West A, Lähdetie J. Apoptotic response of spermatogenic cells to the germ cell mutagens etoposide, adriamycin and diepoxybutane. *Environ Mol Mutagen*. 1998 ; 31(2) : 133-48.