

# 山羊精子的代謝에 미치는 Sorbitol 과 Steroid Hormones 併用의 影響에 관한 研究

康珉秀, 正木淳二\*

## The Respiration of Goat Spermatozoa in the Presence of Sorbitol and Steroid Hormones

Kang Min-soo and Masaki Jun-ji\*

### Summary

Effect of sorbitol and sorbitol plus steroid hormones on the respiration of goat spermatozoa *in vitro* have been studied.

Goat semen were collected by the of artificial vagina. Respiration of washed spermatozoa was measured in Warburg manometer at 37 °C in the presence of sorbitol (10mM) and sorbitol(10mM) plus steroid hormones(100nM).

Respiration of goat spermatozoa was markedly stimulated by the inclusion of sorbitol in the incubation medium. In the presences of sorbitol plus steroid hormones, the rate of oxygen consumption were markedly depressed.

Progesterone was the most effective steroids in altering the metabolic pattern of the spermatozoa.

### 序 論

精漿은 精囊腺, 前立腺, 尿道球腺 등의 副生殖腺 分泌物이 대부분을 차지하고 있지만 이 외에도 精巢, 精巢上体, 精管, 尿道 등의 分泌物이나 精子成分의 一部가 포함되어 있다. 雄性生殖器的 分泌機能은 動物의 種에 따라 顯著하게 달라서 精漿의 性狀에 있어서도 確實히 種差가 나타나고 있다. 精漿 中에는 果糖, 구연산, inositol, GPC 등의 有機成分이 함유되어 있으나 이것들은 血液 中에서는 전혀 발견되지 않고

있다. 이러한 精漿成分들은 일반적으로 androgen의 支配를 받아 分泌되고 있다.

한편 精漿 中의 炭水化物은 遊離型 또는 結合型으로 存在한다. 遊離型의 主成分은 果糖이지만 動物에 따라서는 sorbitol, inositol, glucose, glycerine 등도 포함된다. 著者 등은 山羊 精子的 代謝能 및 生存性에 미치는 性호르몬의 影響에 관한 研究를 통하여 山羊精子는 스테로이드 호르몬 添加에 의해 呼吸이 顯著하게 抑制되며 peptide 호르몬은 스테로이드 호르몬과는 달리 精子的 呼吸을 약간 促進하거나 또는 별 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 더

\* 日本 東北大學 農學部 (Faculty of Agriculture, Tohoku University, Japan)

우기 스테로이드 호르몬에 의한 精子的 呼吸抑制作用은 精子的 生存성에 有効하게 作用할수 있는 가능성이 시사되어 이에 대해 研究 檢討한 結果 呼吸抑制作用이 가장 强하게 나타났던 progesterone에 있어 精子的 生存性 延長效果가 認定되었다.

本 研究는 精漿成分의 하나인 sorbitol과 스테로이드 호르몬을 併用했을때 精子的 呼吸作用이 어떻게 影響 할 지에 대해 檢討할 目的으로 實施되었다.

### 材 料    및    方 法

精液：東北大學(日本 仙台市)에서 飼育 중인

山羊(日本在來種) 7頭(2歲~5歲)로부터 人工鹽法에 의해 採取했다.

酸素 消費量의 測定：精液에 約 4 倍의 Ca 欠 KRP(Krebs Ringer Phosphate)을 添加 約 1000×g로 遠心分離하여 上澄液을 除去하고 이와 같은 操作을 2回 반복한 後에 精子浮遊液을 調製했다.

精子的 呼吸은 Warburg 檢壓計로 測定하고 37℃ 7時間동안 酸素 消費量을 調査했다. sorbitol은 精子的 浮遊液 2ml 중에 10mM 濃도가 되도록 添加하였다. 또 스테로이드 호르몬은 ethanol에 溶解한 후 100mM 濃도로 했다.

精子數 및 活力檢査：精子數는 血球計算板으로, 精子活力은 加溫板이 붙어있는 光學顯微鏡으로

Table 1. Effects of sorbitol and sorbitol plus steroid hormones on the respiration of washed goat spermatozoa.

Incubation time (hr)	Oxygen uptake ( $\mu\ell$ )				
	No additions	Sorbitol	Sorbitol plus progesterone	Sorbitol plus testosterone	Sorbitol plus estradiol-17 $\beta$
0.5	10.1	10.2	5.6	7.9	4.3
1.0	16.7	17.2	6.6	13.1	9.0
1.5	23.7	24.8	9.7	18.9	14.3
2.0	32.7	34.3	14.3	25.8	21.1
2.5	39.7	42.3	17.8	32.4	26.8
3.0	44.2	49.3	19.8	37.5	31.5
3.5	49.8	59.1	23.3	41.5	37.9
4.0	53.6	67.2	26.5	50.9	43.4
4.5	57.9	75.6	29.2	57.8	49.4
5.0	61.2	68.1	32.4	65.4	55.8
5.5	65.4	96.7	36.9	73.3	62.4
6.0	69.6	108.4	40.7	80.86	69.1
6.5	77.9	121.7	45.6	91.5	76.5
7.0	82.1	131.0	50.8	99.8	83.4

Values represent the means of 3 replicates and are calculated per 10<sup>8</sup> Spermatozoa.

로 37 °C 條件下에서 관찰했다.

### 結果 및 考察

Table 1에 山羊精子的 呼吸에 미치는 sorbitol 및 sorbitol + steroid hormones의 영향에 대한 結果가 나타나 있다.

incubation 30分 後 無添加의 酸素 消費量 ( $\mu\text{l}/10^8\text{ cells}$ )은 10.1인데 sorbitol區는 10.2로 兩區間에는 差異가 없으나 sorbitol + progesterone區, sorbitol + testosterone區 및 sorbitol + estradiol - 17 $\beta$ 區에서는 各各 5.6, 7.9, 4.3을 나타내어 精子的 酸素 消費는 steroid hormones에 의해 抑制되고 있다. 더우기 incubation 2時間 後에는 sorbitol 添加區가 無添加區에 비해 酸素 消費가 약간 促進되고 있고, sorbitol + steroid hormone 添加區에서는 점차 呼吸抑制作用이 強하게 나타나고 있다. 즉 無添加區는 酸素 消費量이 32.7 ( $\mu\text{l}/10^8\text{ cells}$ )이었으나 sorbitol區는 34.3이었고, sorbitol + progesterone, sorbitol + testosterone, sorbitol + estradiol - 17 $\beta$ 區에서는 各各 14.3, 25.8, 21.1을 나타내어 sorbitol과 steroid hormones의 併用에서는 山羊精子的 呼吸을 抑制시키고 있는데 供試한 3種의 steroid hormones 가운데 sorbitol + progesterone區에서 가장 強한 呼吸抑制作用이 나타났고 비교적 抑制作用이 弱했던 것은 sorbitol + testosterone區였다.

한편 sorbitol의 呼吸促進作用은 시간이 경과됨에 따라 더욱 뚜렷하게 나타났는데 incubation 7時間 後 無添加區의 酸素消費量이 82.2( $\mu\text{l}/10^8\text{ cells}$ )였는데 비해 sorbitol區는 131.0을 나타내므로서 顯著한 呼吸促進 效果가 認定되었다. 그러나 sorbitol + steroid hor-

mones의 影響은 sorbitol區를 對照로하여 比較하면 역시 incubation 7時間 後에 呼吸抑制作用이 더욱 強하게 나타나고 있다.

康等(1981, 1982a, 1982b, 1982c, 1984)은 山羊精子 및 緬羊精子的 呼吸이 steroid hormones 添加에 의해 強하게 抑制된다는 研究結果를 發表한바 있는데 本 實驗에서도 steroid hormones 添加에 의한 呼吸抑制作用이 認定되었다.

Table 2에는 山羊精子的 呼吸에 미치는 sorbitol, progesterone 및 sorbitol + progesterone의 영향에 대한 結果가 나타나 있는데 Table 1의 結果와 類似한 傾向을 보였다.

Gassner等(1955)도 牛精子的 代謝에 미치는 호르몬의 影響을 조사하여 testosterone에서 呼吸抑制作用을 認定했고, Murdock等(1970)도 緬羊精子에 있어 steroid hormone의 呼吸에 미치는 效果를 檢討한 結果, progesterone, testosterone에서 呼吸抑制作用을 確認했다. 한편 Hyne等(1978)은 人精子에 progesterone을 添加하여 呼吸抑制作用을 認定하였고, Voglmayr와 Amam(1973)도 牛精子에 있어 testosterone의 影響을 檢討한 結果 牛의 精巢上体精子和 射出精子 모두가 呼吸作用이 抑制되었다고 했다.

正木(1982)는 射出直後의 精子가 活潑한 前進運動을 나타내는데 主要한 에너지源은 fructose, sorbitol, 乳酸과 精子중의 磷脂質이라고 했다. 또 正木(1972)에 의하면 sorbitol은 fructose 含量이 많은 動物의 精液에 많이 들어 있고, 家畜에서는 주로 精囊腺에서 分泌되며 好氣의 條件下에서는 fructose로 變化된 後에 精子에 利用된다고 했다. 正木(1978)은 精液중의 fructose는 血中 glucose로부터 生成되지만 그 經路에는 2가지가 있어서 하나는 glucos 磷酸, fructose 磷酸을 順次的으로 經

Table 2. Effects of sorbitol and sorbitol plus progesterone on the respiration of washed goat spermatozoa.

Incubation time (hr)	Oxygen uptake ( $\mu\text{l}$ )			
	No additions	Sorbitol	Progesterone	Sorbitol plus progesterone
0.5	8.9	8.9	1.0	4.3
1.0	16.0	18.6	1.8	8.6
1.5	32.9	36.3	2.7	18.9
2.0	41.7	46.9	4.5	25.8
2.5	55.0	61.0	7.2	34.4
3.0	65.1	74.3	9.8	41.2
3.5	77.2	88.5	11.6	49.8
4.0	85.2	100.0	15.2	57.6
4.5	94.2	115.0	17.0	65.3
5.0	100.3	126.5	18.8	72.2
5.5	107.4	139.8	23.3	80.8
6.0	111.0	151.3	24.2	85.8
6.5	115.4	162.8	27.8	89.2
7.0	125.2	170.6	30.8	93.3

Values represent the means of 3 replicates and are calculated per  $10^6$  Spermatozoa.

由하는 것이고, 다른 하나는 sorbitol를 經由하는 것으로서 酵素學的으로 보면 sorbitol를 經由하는 反應에는 aldohexose reductase와 sorbitol dehydrogenase가 關與하고 있으나 前者에 의해 glucose가 還元되어 sorbitol로 變하고 後者に 의해 sorbitol이 酸化되어 fructose를 生成한다고 했다. 精漿의 주요 生産器官인 副生殖腺을 보면 사람이나 개에서는 前立腺, 家畜에서는 일반적으로 精囊腺이 크며 分泌機能도 活潑하다. 前立腺 및 精囊腺의 分泌液 중에는 sorbitol, fructose, inositol, prostaglandins 등의 混合되어 있고 蛋白質과 많은 種類의 酵素도 發見되고 있다(正木, 1979). sorbitol 濃度는 一般的으로 反芻家畜精液에서 높고 精囊腺에서 分泌되며 精子의 에너지源

으로 利用된다(正木, 1982).

以上の 結果에서 스테로이드 호르몬은 精子의 呼吸을 抑制하는 것이 再確認되었고, progesterone은 다른 스테로이드 호르몬에 비해 강한 抑制作用이 認定되었다. sorbitol에 의한 精子呼吸 促進効果는 스테로이드 호르몬과의 併用에 의해서 消失되어 스테로이드의 抑制效果만이 나타났다. 이 原因에 대해서는 아직 分明치 않으며 좀더 檢討가 필요할 것으로 생각된다.

### 摘 要

本 實驗은 山羊精子의 代謝에 미치는 sorbitol 및 sorbitol + steroid hormones의 影響에

대하여 檢討할 目的으로 實施하였는데 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 山羊精자의 呼吸은 sorbitol의 添加에 의해 顯著히 促進되었다.
2. 精자의 呼吸促進物質인 sorbitol과 스테로이드 호르몬의 併用에서는 sorbitol의 呼吸

促進效果가 消失되었으며 스테로이드 호르몬의 強한 呼吸抑制作用만이 나타났다.

3. 스테로이드 호르몬 중에서 呼吸抑制作用이 가장 強하게 나타났던 것은 progesterone이었고 比較的 弱했던 것은 testosterone이었다.

## 參 考 文 獻

- Eiler, H., C.N. Graves, 1977. Oestrogen content of semen and the effect of exogenous oestradiol-17 $\beta$  on the oestrogen and androgen concentration in semen and blood plasma of bulls. *J.Reprod. Fert.* 50:17 ~ 21.
- Gassner, F.X., M.L. Hopwood, 1955. Effect of hormones on *in vitro* metabolism of bull semen. *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.* 89:186 ~ 189.
- Hyne, R.V., Murdoch, R.N. and B.Boe. Boettcher, 1978. The metabolism and motility of human spermatozoa in the presence of steroid hormones and synthetic progestagens. *J. Reprod. Fert.* 53:315 ~ 322.
- 康珉秀·菅原 七郎·正木 淳二, 1981. 山羊精자의代謝能に及ぼすステロイドホルモンの影響. *日本家畜人工授精研究會誌.* 3:56.
- 康珉秀·正木 淳二, 1982a. 羊精자의代謝能に及ぼす스테로이드ホルモンの影響. *日本家畜人工授精研究會誌.* 4(2): 54.
- 康珉秀·正木 淳二, 1982b. 야기精자의代謝能および生存性に及ぼすペプチ드ホルモンの影響. *日本畜産學會東北支部會報.* 32(1):21.
- 康珉秀, 1982c. 야기精자의代謝能および生存性に及ぼす性ホルモンの影響. *日本 東北大學 大學院 博士學位論文.*
- 康珉秀·正木 淳二, 1984. 山羊精자의代謝에 미치는 progesterone의 影響. 石龜 金承贊先生 停年退任記念論文集 p.11.
- 康珉秀, 1984. 日本在來種 山羊의 精液性狀에 관한 研究. 濟州大學校 論文集, 第18輯, p.87.
- 康珉秀·正木 淳二, 1984. 雄山羊 血清 및 精漿 中の progesterone 濃度. *韓國家畜繁殖研究會報.* 8(2):97-99.
- King, T.E., Isherwood, F.A., Mann, T. 1958. Sorbitol in Semen. *Proc. 4th Intern. Congr. Biochem. Vienna, Abstr.* 15:77.
- King, T.E., and T.Mann, 1959. Sorbitol metabolism in spermatozoa. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* 151:226.
- King, T.E. and T.Mann, 1966. Sorbitol dehydrogenase from Spermatozoa. In: Wood WA(ed) *Carbohydrate metabolism.* Academic Press, New York London (Methods in enzymology), Vol. 9:159.
- 正木 淳二, 1963. 最近の家畜精液に關する生化學的研究. *日畜會報.* 34(1):1 - 6.
- 正木 淳二, 1968. 精子の一生. *化學と生物.* 5(11): 647 - 654.
- 正木 淳二, 1972. 人工授精における精子の活性. *化學と生物.* 10(12): 779 - 784.
- 正木 淳二, 1978. 家畜精液の生化學 - 家畜繁殖學 最近の歩み - (山内 亮 編), p.75 - 92, 文永堂.
- 正木 淳二, 1979. 精液と放精. *ホルモンと生殖II(日本比較内分泌學會編).* p.135 - 148. 學會出版センタ.
- 正木 淳二, 1979. 精子, 蛋白質·核酸·酵素, 24(3): 259 - 263.
- 正木 淳二, 1982. 繁殖および泌乳. *家畜生理學(津田*

- 恒之著) p.224. 養賢堂.
- 正木 淳二, 1982. 精液. 最新家畜家禽繁殖學 p.44. 養賢堂.
- Murdoch, R. N., I.G.White and R.F.Seamark, 1970. Oxidative and glycolytic activity of ejaculated ram spermatozoa in the presence of steroid hormones. *Acta Endocrinologica* 64:557 - 568.
- Voglmayr, J.K. 1971. The effect of testosterone and related steroids on the oxidayive and glycolytic activity and on lipid synthesis of testicular and ejaculated bull spermatozoa. *Acta Endocrinologica* 68:793-804.
- Voglmayr, J.K. and R.P. Amann, 1973. Glucose metabolism and lipid synthesis of cauda epididymal and ejaculated bull spermatozoa in the presence of selected androgens. *Acta Endocrinologica* 73:196 - 208.
- White, I.G. and B.Hudson, 1968. The testosterone and dehydroepiandrosterone concentration in fluids of the mammalian male reproductive tract. *J. Endocr.* 41:291 - 292.