

山羊精子的 呼吸作用에 미치는 Fructose, Glucose와 Steroid Hormone 併用的 影響

康珉秀, 正木淳二*

The Respiration of Goat Spermatozoa in the Presence of Fructose, Glucose and Steroid Hormones

Kang Min-soo and Masaki Junji*

Summary

The respiration of goat ejaculated spermatozoa was examined in the presence of fructose, glucose, fructose plus steroids or glucose plus steroids.

The results are summarised as follows.

Fructose(10mM) markedly increased respiration of washed spermatozoa.

Glucose(10mM) also stimulated sperm respiration.

Fructose(10mM) plus progesterone(100 nM) and glucose(10mM) plus progesterone(100 nM) significantly depressed the rate of O₂ uptake of spermatozoa.

序 論

精液 중에 함유되어 있는 果糖(fructose)은 分泌器官의 精囊腺으로 이 기관이 없는 개(犬)나 고양이에 있어서는 果糖이 發見되지 않고 있으나 사람이나 反芻家畜의 精液 中에는 이 成分이 多量으로 含有되어 있다. 그러나 豚이나 馬精液 中에는 비교적 적게 들어 있다. 또 동물개체에 있어서는 季節, 射精條件, 榮養條件 등에 따라 變動이 큰 것으로 알려져 있다(正木, 1982). 繁殖季節을 갖고 있는 馬, 緬羊 및 山羊 등에 있어서는 대부분의 경우 精液 中의 果糖量은 繁殖季節 中에 增加하며 非繁殖季節 中에는 減

少한다(廣江 등, 1963).

本 研究는 反芻家畜의 精液 中에 많이 들어있는 果糖이 山羊精자의 呼吸作用에 어떤 影響을 미치게 될지, 또 精子에 대해 呼吸抑制作用을 나타내는 steroid hormones(康 等, 1981, 1982a, 1982b, 1984d)과 果糖을 併用하게 되면 steroid hormones의 呼吸抑制作用은 어떻게 變化될 것인지에 대해 檢討할 目的으로 實施하였다.

康과 正木(1984c)는 山羊精자의 代謝에 미치는 sorbitol과 steroid hormones 併用的 影響에 관한 研究를 통하여 sorbitol의 呼吸促進作用과 steroid hormones의 強한 呼吸抑制作用을 認定하였을 뿐만 아니라 sorbitol과 steroid hormone을 동시에 添加하면

農科大學 助教授, 日本 東北大學 農學部 Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan)*

sorbitol의 呼吸促進作用은 消失되어 steroid hormone의 抑制作用만이 나타난다는 것을 認定했다.

한편 家畜精液 中에는 잘 發見되고 있지 않으나 雌의 生殖道 分泌液 中에 含有되어 있는 glucose (正木, 1978)에 대해서도 果糖과 同一한 실험을 실시하였다.

材料 및 方法

精液: 東北大學 農學部에서 사육 중인 日本在來種 山羊 7頭로부터 人工鑿法에 의해 採取했다.

酸素 消費量의 測定: 精液에 約 4倍의 Ca-free Krebs Ringer Phosphate液을 添加하여 約 1000×g로 원심분리 上澄液을 제거하고 이와 同一한 操作을

2回 반복한 후에 精子浮遊液을 調製했다.

精子의 酸素消費量은 Warburg 檢壓計로 37℃下에 4~6時間 測定했다. fructose와 glucose는 精子浮遊液 2ml 中에 10mM 濃度가 되도록 첨가하였다. 또 steroid hormone은 ethanol에 溶解한 후 100nM 濃度로 했다.

精子數 및 精子活力檢査: 康과 正木(1984)의 方法에 準해서 실시했다.

結果 및 考察

Table 1에는 山羊精子의 呼吸에 미치는 fructose, fructose와 steroid hormone의 併用 結果가 나타나 있다.

Table 1. Effect of fructose and fructose plus steroid hormones on oxygen uptake of washed goat spermatozoa

Incubation time(hours)	Oxygen uptake ($\mu\ell$)				
	No addition	Fructose (10 mM)	Fructose(10mM) plus progesterone(100nM)	Fructose (10mM) plus testosterone(100nM)	Fructose(10mM) plus estradiol-17 β (100nM)
0.5	4.64	3.84	1.22	1.56	2.64
1.0	17.89	13.96	3.28	8.18	12.51
1.5	31.15	25.27	9.83	15.67	31.43
2.0	43.08	36.57	15.08	23.85	33.06
2.5	51.69	46.54	17.66	30.66	41.66
3.0	58.98	57.18	23.60	38.16	51.58
3.5	64.95	67.81	28.84	45.65	60.83
4.0	70.25	78.45	33.43	53.14	70.75
4.5	73.56	87.09	37.36	59.28	78.03
5.0	77.54	96.40	40.64	65.41	85.96
5.5	80.19	105.71	43.91	71.54	93.89
6.0	80.85	111.69	45.88	76.31	99.19

Values represent the means of 3 replicates and are calculated per 10^8 spermatozoa.

實驗開始 1時間 後 對照區의 酸素消費量은 17.89($\mu\ell/10^8$ cells)인데 fructose 10mM 첨가구는 13.96으로 酸素消費量이 抑制되고 있다. 이런 傾向은 실험시작 2.5시간까지 계속되고 있으나 3시간이 경과

되면서 부터는 呼吸促進作用을 나타내어 incubation 6시간 후에는 對照區가 80.85인데 비해 fructose 첨가구는 111.69을 나타내고 있다.

實驗初期에 fructose 첨가구가 對照區보다 酸素消

費가 抑制되고 있는 것은 Lardy와 Phillips(1941)에 의해 基質로서 糖이 存在하면 呼吸은 節約된다고 하는 소위 Crabtree 效果가 認定된 것이다.

한편 fructose와 스테로이드 호르몬을 併用했을 때의 結果를 살펴보면 실험개시 후 5시간만에 對照區의 酸素消費量은 77.54($\mu\ell/10^8$ cells)인데 비해 fructose 첨가구는 96.40으로 呼吸促進을 나타내고 있고, fructose와 progesterone 同時添加에서는 40.64로 fructose 단독첨가구의 절반이하로 抑制되고 있으

며 fructose와 testosterone 併用區는 65.41, fructose와 estradiol-17 β 區는 85.96으로 나타났는데 이것은 fructose 단독 첨가구보다 fructose와 steroid hormone을 첨가하므로서 酸素消費가 모두 抑制되고 있다. 특히 fructose+progesterone區에서 가장 強하게 抑制作用을 나타냈고 비교적 抑制作用이 弱했던 것은 estradiol-17 β 區였다.

Table 2에서는 glucose와 steroid hormone의 併用に 대한 成績이 나타나 있다. 이 성적은 fructose

Table 2. Effect of glucose and glucose plus steroid hormones on oxygen uptake of washed goat spermatozoa

Incubation time(hours)	Oxygen uptake ($\mu\ell$)				
	No addition	Glucose (10mM)	Glucose(10mM) plus progesterone(100nM)	Glucose(10mM) plus testosterone(100nM)	Glucose(10mM) plus estradiol-17 β (100nM)
0.5	6.96	5.74	2.97	4.43	4.46
1.0	14.41	12.51	7.46	9.83	10.22
1.5	24.85	22.42	12.93	16.71	17.38
2.0	31.81	28.68	15.42	20.65	23.00
2.5	41.75	38.58	22.88	28.51	31.49
3.0	50.20	47.44	28.35	35.39	39.35
3.5	55.67	55.79	32.33	40.80	45.48
4.0	60.64	63.60	37.30	46.70	53.65
4.5	64.12	71.95	41.78	53.58	59.28
5.0	66.60	78.20	44.76	57.51	63.88
5.5	68.09	83.42	47.25	61.45	67.45
6.0	71.57	91.24	51.23	67.35	74.10

Values represent the means of 3 replicates and are calculated per 10^8 spermatozoa.

와 스테로이드 호르몬 併用에서 나타난 것과 類似한 結果가 얻어졌다. 즉 실험개시후 3시간까지는 glucose에 의한 Crabtree效果가 인정되고 있고, 그 이후에는 glucose의 呼吸促進效果가 두드러지게 나타나고 있다. 그리고 glucose와 스테로이드 호르몬의 併用은 역시 fructose와 스테로이드 호르몬 동시첨가의 경우와 같은 경향을 보였다. 특히 glucose + progesterone區에서 抑制作用이 顯著하다.

本 實驗을 통하여 fructose와 glucose는 山羊精자의 呼吸을 有意하게 促進한다는 것이 확인됐다. 이처럼 精液 中の fructose는 精자의 榮養源으로서 중

요한 역할을 하고 있음이 시사되었다. 그러나 精자에 대해 呼吸抑制作用이 있는 것으로 알려진 스테로이드 호르몬과 fructose 및 glucose를 併用한 결과 山羊精자의 呼吸作用은 顯著히 抑制되었다. 이 메카니즘에 대해서는 더욱 檢討가 필요하다.

소에 있어서 精液 中の 果糖量은 精囊腺의 果糖(fructose) 貯留量이 比較的 큰 까닭인지 短時間에 數回 連續射精을 실시해도 減少되지 않고 오히려 增加의 傾向이 認定되고 있다. 그러나 連續射精을 계속하게 되면 果糖濃度는 급속히 저하되는 것이 알려져 있다. 山羊精液의 경우는 數回の 射精으로 顯著

히 減少한다(正木와 富塚, 1965). 또 高榮養飼料를 급여한 소는 低榮養의 것에 비해 정액중의 果糖濃度가 높고 未成熟牛에 있어서는 果糖이 精液 中에 出現하기 시작하는 시기가 低榮養의 경우에 늦어진다(Mann, 1964). 이와 같은 榮養의 영향이 精巢의 androgen 分泌를 통하여 나타나는 것이 證明되고 있고 실제 testosterone 製劑를 去勢한 動物에 注射하거나 HCG를 非繁殖期의 山羊에 注射할 경우 精液 中의 果糖量이 增加한다(廣江 等, 1963). 이것은 testosterone이 精囊腺의 果糖 生合成과 分泌를 促進하기 때문이다. 精液 中에 있는 果糖의 前驅物質은 血中의 glucose로써 glycogen, 포도당 1-인산, 포도당 6-인산, 果糖 6-인산을 經由하여 生成된다(Mann, 1964). 따라서 glucose를 注射할 경우에도 精液 中의 fructose 함량은 增加한다(Hardwick S. et al. 1964).

精液 中의 果糖은 hexokinase에 의해 磷酸化되어 精자의 解糖系에 옮겨져 ATP生産을 위한 重要한 材料가 된다.

精자의 呼吸은 一般 動物組織에 있어서와 마찬가지로 TCA cycle을 통해서 또는 이것과 共役하는 酸化的 磷酸化系(oxidative phosphorylation)가 있다는

것이 確실시 되고 있다(Humphrey & Mann, 1949; Mann, 1945; Mann, 1951; Gonse, 1959; Perry et al., 1960).

摘 要

山羊精자의 呼吸作用에 미치는 fructose, glucose와 steroid hormone 併用的 影響에 대한 實驗을 實施한 結果 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. Fructose(10mM) 添加에 의해 精자의 酸素消費量이 實驗開始 後 3時間까지도 Crabtree 效果에 의해 약간 抑制되다가 그 後 차츰 促進되기 始作하여 實驗이 끝나는 6시간 경에는 對照區에 비해 顯著的한 促進效果가 나타났다.

2. Glucose(10mM) 添加에서도 fructose와 類似的한 傾向을 나타냈다.

3. Fructose(10mM), glucose(10mM)와 steroid hormone(100nM)의 併用에서는 各各 呼吸抑制作用을 나타내었으며, 특히 steroids 中 progesterone이 가장 강하게 抑制하였고, 그 다음이 testosterone, estradiol-17 β 순이었다.

參 考 文 獻

- Biswas, S., K. M., Ferguson, J., Stedronska, G., Baffoe, M., Mansfield, and M. Kosbab. 1978. Fructose and hormone levels in semen: their correlations with sperm counts and motility. *Fertil. Steril.*, 30: 200-204.
- Chan, S. Y. W., L. C. H., Tang, G. W. K. Tang, and P. H. Chan. 1983. Effects of androgens on fertilizing capacity of human spermatozoa. *Contraception* 28(4): 481-488.
- Cheng, C. Y. and B. Boettcher. 1979. The effect of sterids on the in vitro migration of washed human spermatozoa in modified Tyrode's solution or in fasting human blood serum. *Fertil Steril.* 32: 566-570.
- Cheng, C. Y. and B. Boettcher. 1981. Effects of steroids on the in vitro forward migration of human spermatozoa. *Contraception*, 24(2): 183-194.
- Hicks, J. J., N. Pedron and A. Rosado. 1972. Modifications of human spermatozoa glycolysis by cyclic adenosine monophosphate(cAMP), estrogens, and follicular fluid. *Fertil. Steril.* 23: 886-893.
- Hicks, J. J. and A. Rosado. 1976. Steroid hormones and spermatozoal metabolism. *Adv. Steroid Biogem. Pharmacol.*, 5: 263-333.
- Hyne, R. V., R. N. Murdoch, and B. Boettcher. 1978. The metabolism and motility of human

- spermatozoa in the presence of steroid hormones and synthetic pregestagens. *J. Reprod. Fertil.*, 53: 315-322.
- 廣江一正, 富塚常夫, 正木淳二, 1963. 家畜精液の生化学的研究. II. 家畜精液中のフラクトース量の季節的消長について. 日本畜産試験場研究報告.
- 康珉秀, 菅原七郎, 正木淳二, 1981. 山羊精子の呼吸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報, 3: 56.
- 康珉秀, 正木淳二, 1982a. 綿羊精子の代謝能に及ぼす性ホルモンの影響. 日本家畜人工授精研究會報, 4(2): 54.
- 康珉秀, 正木淳二, 1982b. ヤギ精子の代謝能および生存性に及ぼすペプチドホルモンの影響. 日本畜産學會 東北支部 會報, 32(1): 21.
- 康珉秀, 1982c. ヤギ精子の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 大学院 博士學位 論文.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984a. 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.
- 康珉秀, 1984b. 日本 在來種 山羊의 精液性狀에 관한 研究. 濟大論文集, 18: 89-92.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984c. 山羊精子の代謝에 미치는 sorbitol과 steroid hormones 併用的 影響에 관한 研究. 濟大論文集, 19: 89-94.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984d. 山羊精子の代謝에 미치는 progesterone의 影響. 石龜 金承贊 先生 停年退任 記念論文集, p. 11-14.
- 康珉秀, 正木淳二, 1985. 山羊精子の呼吸作用에 미치는 glycerol 및 L-glycerol-3-phosphate(α -phosphoglycerol)와 progesterone 併用的 影響. 濟大論文集, 20: 77-80.
- Mann, T., 1945. Studies on the metabolism of semen. 1. General aspects. *Biochem. J.*, 39: 451.
- Mann, T., 1946. Studies on the metabolism of semen. 3. Fructose as a normal constituent of seminal plasma. *Biochem. J.*, 40: 481.
- Mann, T., 1949. Metabolism of semen. *Adv. in Enzymol.* 9: 329.
- Mann, T., 1951. Studies on the metabolism of semen. 7. Cytochrome in human spermatozoa. *Biochem. J.*, 48: 386.
- Mann, T., 1964. *Biochemistry of semen and male reproductive tracts.* Methuen Co., London.
- 正木淳二, 1963. 最近の家畜精液に関する生化学的研究. 日本畜産學會報, 34(1): 1-6.
- 正木淳二, 富塚常夫, 柘田博司, 1970. ヤギの副生殖腺における果糖およびクエン酸の分布. 日本畜産試験場研究報告, 23: 47-53.
- 正木淳二, 1978. 家畜精液の生化学. 家畜繁殖學—最近の歩み— 文永堂, p. 75-92.
- 正木淳二, 1982. 精液. 最近家畜家禽繁殖學, 養賢堂, p. 42-44.
- Murodoch, R. N. and I. G. White 1966. The metabolism of glucose, fructose, acetate, lactate and pyruvate by ram, bull, dog and rabbit spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 12: 271-278.
- Natali P. Trifunac and Gerald S. Bernstein. 1981. Effect of steroid hormones on the metabolism of human spermatozoa. *Contraception.* 23(5): 527-541.