

수컷 백서의 성기능 평가 방법으로서의 비접촉성발기 관찰의 유용성

The Usefulness of Non-contact Erection Observation for Evaluation Sexual Function in Male Rat

Sung Hyun Paick, Byung Ki Lee, Sung Wook Yoon, Chang Hoe Ahn¹, Yong Soo Lho, Sang Kook Yang, Hyeong Gon Kim

From the Department of Urology, Konkuk University College of Medicine, Seoul, ¹Kangwon National University College of Medicine, Chuncheon, Korea

Purpose: Evaluation of sexual function is an important step for animal studies about sexual function. Male rats could display penile erection in the presence of an inaccessible estrous female. We examined the usefulness of observing non-contact erection (NCE) for the evaluation of sexual function in male rats.

Materials and Methods: Forty five Long-Evans male rats (8 weeks old) were used in this study. Tests for NCE were conducted in a glass chamber divided in half by 2 wire-mesh screens that prevented direct contact, but the rats freely passed other forms of stimulation. If at least 1 NCE could be observed during 45 minutes, we considered this as a positive response. In case of two or three positive responses in three NCE tests, that was considered as NCE (+). After NCE, copulation observations were noted to evaluate sexual function. If at least two ejaculations could be observed during 45 minutes, we considered that a positive response. In case of two or three positive responses in three copulation observations, that was considered as normal sexual function.

Results: Twenty one of 45 male rats (47%) were NCE (+) and 34 of 45 male rats (76%) had normal sexual function. In 21 NCE (+) rats, 20 rats had normal sexual function: only one was impotent. The positive predictive value of the NCE observation for the evaluation of sexual function was 95%. In 11 impotent rats, 10 rats were NCE (-). The specificity of the NCE observation was 91%.

Conclusions: These results indicated that NCE observation could be a useful method for evaluating the sexual function of male rat. (Korean J Urol 2006;47:1107-1110)

Key Words: Non-contact erection, Copulation, Sexual function, Rats

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 10 호 2006

건국대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
¹강원대학교 의과대학
비뇨기과학교실

백성현 · 이병기 · 윤성욱 · 안창희¹
노용수 · 양상국 · 김형곤

접수일자 : 2006년 5월 15일
채택일자 : 2006년 7월 4일

교신저자: 김형곤
건국대학교 의과대학
비뇨기과학교실
서울시 광진구 화양동 4-12,
☎ 143-914
TEL: 02-2030-5310
FAX: 02-2030-5319
E-mail: khgsjh@kuh.ac.kr

이 논문은 2005년도 건국대학교 학술진흥
연구비 지원에 의한 논문임.

서 론

효과적인 경구 발기부전 치료제인 Sildenafil이 나온 이후 새로운 발기부전 치료제를 개발하기 위한 연구는 전 세계적으로 활발히 이루어지고 있다. 이러한 약물의 개발 및 효과의 판정에 있어 동물을 이용한 실험은 필수이다. 백서는 대형동물에 비해 다루기는 힘들지만 비용이 적게 들고 성행위의 행동과 호르몬적인 측면이 사람과 유사하며 기본적인 연구가 많이 되어있어 발기부전에 관련된 연구에 많이

이용되고 있다.¹

사람에서 발기부전이 있는 것과 마찬가지로 백서에서도 발기부전은 존재한다.^{2,3} 따라서 백서를 이용한 발기부전에 관련된 연구에 있어 백서의 성기능을 평가하고 분류하는 것은 정확한 실험 결과를 위한 중요한 첫 단계라 할 수 있다.

하지만 수컷 백서의 성기능을 평가하는 표준화된 방법은 아직 없으며 주로 발정된 암컷 백서와 같이 놓고 수컷 백서가 보이는 교미행위를 직접 관찰하여 평가하는 방법을 사용하고 있다.^{4,6} 이 방법은 이론적으로는 가장 정확한 성기능 평가 방법이지만 실험의 진행에 있어서는 다음과 같은

문제들이 있다. 첫째로는 일대일로 접촉시켜야 하기 때문에 많은 암컷 백서가 필요하다는 점이 있으며, 둘째로는 한 마리당 적어도 30분 이상 관찰해야 하고 정확한 검사를 위해서는 검사를 3번 반복하여야 하므로 실험시간이 많이 걸린다는 점, 그리고 셋째로는 확실한 구분을 위해서는 쥐의 사정을 확인하여야 하는데 쥐의 교미행위는 매우 조심스럽고 짧게 이루어지기 때문에 삽입과 사정을 구별하기가 쉽지 않다는 점이다.

임상적으로 발기부전을 호소하는 남자 환자의 경우 실제 여성과 성관계를 하도록 하고 이를 관찰하여 환자의 성기능을 평가하는 것은 불가능하다. 그래서 주로 사용되는 방법이 성적으로 자극적인 영상을 보여주면서 환자의 반응을 보는 시청각 성자극 검사(audiovideo sexual stimulation; AVSS)이다. 이 방법은 생리적이면서도 간편하고 짧은 시간 안에 필요한 정보를 얻을 수 있어 임상적으로 매우 유용한 검사이다.⁷ 백서에서도 이와 유사하게 직접 접촉할 수 없는 발정된 암컷 백서가 있는 경우 수컷 백서가 발기를 보인다는 것이 보고된 바 있다.⁸ 이것을 비접촉성발기(non-contact erection; NCE)라고 한다.

백서에서 성기능 평가에 있어 NCE를 사람에서의 AVSS 처럼 이용할 수 있다면 이는 매우 유용한 방법이 될 수 있을 것이다. 이에 본 저자들은 백서의 성기능 평가에 있어서 NCE의 유용성에 대하여 연구하여 보았다.

대상 및 방법

1. 실험 대상

총 45마리의 생후 7주령의 Long-Evans 수컷 백서를 분양 받아 1주간 reverse cycle room에서 적응시킨 뒤 8주령째부터 실험에 이용하였다.

암컷 백서는 25마리의 8주령 Sprague-Dawley 백서를 이용하였다. 실험 때 암컷 백서를 정확하게 발정시키기 위하여 먼저 양측 난소를 제거한 뒤 2주간 적응시키고 실험 48시간 전에 10µg의 estradiol benzoate (Sigma Chemicals, St. Louis, USA)를 식물성 기름에 섞어 피하에 주입하였고 실험 4시간 전에는 2mg의 progesterone (Sigma Chemicals, St. Louis, USA)을 피하에 주입하였다. 발정이 잘 되었는지 여부는 성적 능력이 확실하게 확인된 수컷 백서 2마리에서 연속적으로 3번 이상의 삽입을 보이는지를 보아서 결정하였다.

2. 실험 환경

조용하고 격리된 암실에서 실험을 진행하였다. 조명은 실험이 가능한 최소한의 밝기의 붉은색 조명을 사용하였다. 실험은 매번 정오에 시작하였으며 60x30x30cm 크기의

직사각형의 유리 수조에서 진행하였다. 수조의 중앙에는 1cm 간격으로 2개의 철망을 설치할 수 있도록 하였고 2개의 철망이 처지는 경우 양쪽에서 서로 보고 냄새를 맡을 수는 있어도 직접적인 접촉은 불가능하게 하였다. 수조의 하방에는 전면 거울을 45도 각도로 설치하여 백서의 성기 부분을 잘 볼 수 있도록 하였다.

3. NCE 관찰

준비된 8주령 수컷 백서는 먼저 NCE를 관찰하는 실험을 하였다. 수컷 백서를 이중 철망이 설치된 실험용 수조에 넣고 5분간 적응시간을 준 뒤 발정이 유발된 암쥐를 같은 수조의 이중 철망의 반대편에 넣어주었다. 이후 45분간 수컷 백서의 음경이 발기가 되는지를 확인하였다. 한번이라도 확실하게 발기가 확인되는 경우 NCE가 나타난 것으로 판정하였다. 실험은 1주일 간격으로 3회를 시행하여 2회 또는 3회 NCE를 관찰할 수 있는 경우를 최종적으로 NCE 양성으로 평가하였다.

4. 직접적인 백서의 교미행위 관찰

3회의 NCE 관찰 후 직접적인 백서의 교미행위를 관찰하였다. 준비된 수컷 백서를 이중 철망이 없는 실험용 수조에 넣고 5분간 적응시간을 준 뒤 발정이 유발된 암쥐를 같은 수조에 넣어주었다. 이후 45분간 수컷 백서의 삽입과 사정을 관찰하고 2번 이상의 사정이 관찰되면 반응이 있다고 판정하였다. 실험은 1주일 간격으로 3회를 시행하여 2회 또는 3회의 반응이 확인되면 최종적으로 정상적인 성기능이 있다고 판정하였다.

결 과

먼저 시행한 NCE 관찰에서는 총 45마리의 수컷 백서 중 21마리의 백서가 NCE 양성으로 판정되었다(47%). 21마리의 NCE 양성 백서는 17마리에서는 3회 모두 NCE를 보였으며 4마리의 백서는 2회의 NCE를 보였다. 반면 총 45마리의 수컷 백서 중 24마리는 한번도 NCE를 보이지 않아 NCE 음성으로 판정되었다.

NCE에 이어 시행한 직접적인 백서의 교미행위 관찰에서는 총 45마리의 수컷 백서 중 34마리가 정상적인 성기능이 있는 것으로 판정되었다(76%). 정상적인 성기능이 있다고 판정된 34마리 중 24마리는 3번의 검사 모두에 반응을 보였으며 10마리는 3번의 검사 중 2번의 검사에 반응을 보였다. 반면 총 45마리의 수컷 백서 중 11마리의 백서는 3차례의 직접적인 백서의 교미행위 관찰에서 한번도 반응을 보이지 않아 비정상적인 성기능을 가지고 있는 것으로 판정되었다.

Table 1. Relationship between copulation and the NCE observation results

	NCE			Total
		+	-	
Copulation	+	20	14	34
	-	1	10	11
Total		21	24	45

NCE: non-contact erection, +: positive response twice or three times in three tests, -: no response or only one response in three tests

두 검사 간의 관계를 보면 NCE 양성인 21마리의 백서 중 20마리가 직접적인 백서의 교미행위 관찰에서도 정상적인 성기능을 가지고 있다고 판정되어 NCE의 백서의 정상 성기능에 대한 양성예측도는 95%로 나타났다. 또한 직접적인 교미행위 관찰에서 비정상 성기능을 가진 것으로 판정된 11마리의 수컷 백서는 10마리가 NCE 관찰에서도 음성으로 나타나 NCE의 정상 성기능에 대한 특이도는 91%로 나타났다. 민감도와 음성예측도는 각각 59%, 42%였다 (Table 1).

고찰

수컷 백서를 이용한 발기부전 관련 연구에 있어 백서의 성기능 상태는 실험 결과에 큰 영향을 줄 수 있다. 따라서 정확한 성기능 평가는 매우 중요한 과정이나 실제 대부분의 연구들은 이 과정을 생략한 채 진행되고 있다. 이러한 가장 큰 이유는 수컷 백서의 성기능 평가 방법이 표준화되어 있지 않으며 직접적인 성관계를 유발시켜 평가하기가 어렵다는 것이다. 이 중에서도 가장 어려운 점은 발정이 유발된 암컷 백서를 준비하는 것과 쥐의 사정을 구별하는 것이다.

암컷 백서의 발정을 정확하게 유발하기 위해서는 양측 난소를 제거하고 estradiol benzoate와 progesterone을 시기에 맞추어 주입하여야 하는데 이렇게 유발된 발정은 실제 실험을 해보면 평균적으로 3-4시간 정도밖에 유지되지 않는다. 매 실험이 암컷과 수컷 백서를 일대일로 대응시켜야 하며 한 실험당 시간이 최소 45분은 진행되어야 하므로 암컷 백서 1마리로 수컷 백서 3-4마리의 성기능을 평가하는 정도가 한계이다. 한번 이용된 암컷 백서는 최소 2주의 간격을 두어야 다시 실험에 이용될 수 있다. 따라서 1주 간격으로 3회를 연속하여 실험을 진행하여 성기능을 평가하고자 하면 최소한 수컷 백서의 절반 정도 숫자의 암컷 백서가 필요하게 된다.

또한 백서는 먹이사슬의 최하위에 속하는 동물로 매우 조심스럽기 때문에 교미행위 또한 매우 조심스럽게 이루어진다. 일반적으로 발정된 암컷 백서가 있을 경우 성기능이 정상적인 수컷 백서의 반응은 조심스럽게 주위를 살피다가 갑작스럽게 암쥐의 뒤쪽으로 접근하여 삽입을 시도하고 3-4차례의 피스톤 운동을 한 뒤 다시 떨어지기를 수차례 반복한다. 일반적으로는 이러한 삽입을 7-8회 정도 한 뒤에 사정을 하게 되는데 삽입하는 경우와 사정하는 경우의 차이는 사정의 경우가 1-2초 정도 더 길고 수컷 백서가 사정하는 순간 일시적인 온 몸의 신전 (extension)을 보인다는 것 뿐이다. 실제 암실의 붉은 조명 하에 이 차이를 알아보는 것은 매우 어려운 것으로 경험이 많은 실험자가 집중하여 관찰하여야만 구별이 가능하다.

NCE는 백서에서 성적 흥분 상태를 진단하는 데 이용될 수 있으며 사람에서 시각자극으로 유발되는 심인성 발기 (psychogenic erection)와 유사하다고 보고된 바 있다.⁹ 이러한 점에서 NCE는 사람에서의 AVSS와 같이 백서의 성기능 평가에 이용될 수 있을 것으로 판단되나 아직까지 이러한 관점에서 NCE와 직접적인 성교 능력을 비교한 연구는 시행된 적이 없었다.

NCE가 백서의 직접적인 교미행위를 관찰하는 것보다 성기능을 평가하는 데에 효과적인 점은 다음과 같다. 첫째, NCE는 약 10-12초 정도 발생하며 대개 백서가 glooming과 같이 보이기 때문에 알아보기가 쉽다. 따라서 확실치 않기 때문에 2번을 확인해야 하는 사정과 달리 한번만 확인해도 확실하며 NCE가 관찰되면 바로 NCE 양성으로 판정할 수 있어 짧은 시간 내에 평가가 가능하게 된다. 둘째는 직접 접촉이 아니라 후각과 시각자극만 전달하면 되므로 한번에 한 마리의 발정이 유발된 암컷 백서를 가지고 여러 마리의 수컷 백서를 평가할 수도 있다. 따라서 실험에 필요한 암컷 백서를 많이 줄일 수 있게 된다. 셋째로는 본 실험결과를 미루어 볼 때 NCE 양성인 수컷 백서는 확실히 건강한 성기능을 가진 소위 super-potent하다고 볼 수 있다는 것이다. 이는 단순히 발기 및 사정이 되는 일반적인 성기능을 가진 수컷 백서와 또 다른 분류가 될 수 있고 이는 좀 더 정확한 실험을 가능하게 할 수 있을 것이다.

NCE가 백서의 교미 경험 유무에 따라 영향을 받을 수 있는지 여부는 아직까지 알려지지 않았다. 하지만 본 연구를 시행하기 전에 시행한 예비실험에서 NCE와 직접적인 교미행위 중 어느 것을 먼저 하여도 실험결과는 변하지 않았다. 또한 본 실험의 목적이 백서를 이용한 발기부전 연구에 있어 백서의 성기능을 평가하기 위해 직접적인 교미가 아닌 NCE를 시행하는 것에 대한 유용성을 보는 연구이므로 본 실험은 NCE를 먼저 진행하고 추후 이 결과를 직접적인 교

미행위를 통해 점검하는 형태로 진행하였다.

백서에서 NCE를 유발하는데 가장 중요한 요소는 후각으로 알려져 있다.³ 후각적 자극은 매우 중요하여서 후각신경이 파괴된 백서는 NCE를 보이지 않으며 발정이 유발된 암컷 백서가 있었던 사육장이나 배지만으로도 수컷 백서의 NCE가 유발되었다는 보고도 있다.¹⁰⁻¹² 이러한 점을 좀 더 발전시켜 후각자극을 유발하는 페로몬을 저장하거나 만들어낼 수 있다면 굳이 암컷을 발정을 유발시킬 필요 없이 단순 후각자극만을 사용하여 NCE를 확인하여 성기능을 평가하는 더 간단한 성기능 평가법도 개발할 수 있을 것이다.

NCE를 이용하여 백서의 성기능을 평가하자는 본 연구에도 아직까지 몇 가지 문제점이 있다. 첫째는 NCE는 주로 얼룩무늬가 있는 백서류에서는 흔히 보이나 무늬가 없는 백서에서는 잘 나타나지 않는다는 점이다.^{8,13,14} 아직까지 그 원인은 밝혀지지 않았지만 백서별로 종류에 따라 반응이 다를 수 있으므로 이를 반드시 고려해야 한다. 둘째는 성적 자극이 없는 경우에도 일부에서 NCE가 나타날 수 있다는 것이다. Sachs 등⁸은 백서의 기본 성기능에 대한 연구에서 8%의 수컷 백서는 빈 수조에서 아무런 자극 없이도 NCE를 보였다고 하였다. 따라서 결과 해석에 있어 이러한 위양성의 가능성은 반드시 고려해야 한다.

일부 연구자들은 이미 NCE를 백서의 성기능을 표현하는 지표로 이용하여 특정 실험 전후의 NCE의 변화를 통해 성기능의 변화를 평가한 바 있다.^{2,3,15} 이러한 연구들에서도 NCE는 재현성이 있으며 신빙성 있는 성기능의 지표로 평가되었다. 또한 이러한 연구들에서 나타난 NCE 양성률은 8주령의 Long-Evans 수컷 백서를 이용한 Sachs³의 연구는 55%를 보고하였으며 200-300g 크기의 Wistar 수컷 백서를 이용한 Manzo 등¹⁵의 연구는 50%를 보고한 바 있다. 본 연구의 NCE 양성률은 47%로 이들의 연구와 유사한 결과이다. 동물실험에서 일정한 결과를 얻기가 힘들다는 점을 고려한다면 NCE는 높은 재현성을 가진 검사법으로 판단된다.

결 론

NCE 관찰은 사람에서의 AVSS처럼 백서의 성기능을 쉽고 간편하게 측정할 수 있는 유용한 방법이다.

REFERENCES

1. Gray GD, Smith ER, Dorsa DM, Davidson JM. Sexual

behavior and testosterone in middle-aged male rats. *Endocrinology* 1981;109:1597-604

2. Bialy M, Sachs BD. Androgen implants in medial amygdala briefly maintain noncontact erection in castrated male rats. *Horm Behav* 2002;42:345-55

3. Sachs BD. Erection evoked in male rats by airborne scent from estrous females. *Physiol Behav* 1997;62:921-4

4. Zanolli P, Benelli A, Rivasi M, Baraldi C, Vezzalini F, Baraldi M. Opposite effect of acute and subchronic treatments with *Ferula hermonis* on copulatory behavior of male rats. *Int J Impot Res* 2003;15:450-5

5. Ottani A, Giuliani D, Ferrari F. Modulatory activity of sildenafil on copulatory behaviour of both intact and castrated male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;72:717-22

6. Casto JM, Ward OB, Bartke A. Play, copulation, anatomy, and testosterone in gonadally intact male rats prenatally exposed to flutamide. *Physiol Behav* 2003;79:633-41

7. Baek UG, Moon KH. Efficacy of a 3-dimension HMD (Head Mounted Display) for audiovisual sexual stimulation after oral phosphodiesterase type 5 (PDE 5) inhibitor medication for the diagnosis of vasculogenic erectile dysfunction. *Korean J Urol* 2005;46:1302-7

8. Sachs BD, Akasofu K, Citron JH, Daniels SB, Natoli JH. Noncontact stimulation from estrous females evokes penile erection in rats. *Physiol Behav* 1994;55:1073-9

9. Sachs BD. Placing erection in context: the reflexogenic-sychogenic dichotomy reconsidered. *Neurosci Biobehav Rev* 1995;19:211-24

10. Hull EM, Du J, Lorrain DS, Matuszewich L. Extracellular dopamine in the medial preoptic area: implications for sexual motivation and hormonal control of copulation. *J Neurosci* 1995;15:7465-71

11. Mas M, Fumero B, Gonzalez-Mora JL. Voltammetric and microdialysis monitoring of brain monoamine neurotransmitter release during sociosexual interactions. *Behav Brain Res* 1995;71:69-79

12. Mitchell JB, Gratton A. Mesolimbic dopamine release elicited by activation of the accessory olfactory system: a high speed chronoamperometric study. *Neurosci Lett* 1992;140:81-4

13. Matsumoto T, Kondo Y, Sachs BD, Yamanouchi K. Effects of p-chlorophenylalanine on reflexive and noncontact penile erections in male rats. *Physiol Behav* 1997;61:165-8

14. Sachs BD. Penile erection in response to remote cues from females: albino rats severely impaired relative to pigmented strains. *Physiol Behav* 1996;60:803-8

15. Manzo J, Cruz MR, Hernandez ME, Pacheco P, Sachs BD. Regulation of noncontact erection in rats by gonadal steroids. *Horm Behav* 1999;35:264-70