

흰쥐에서 부분방광출구폐색 후 나타나는 음경해면체의 변화

Changes in Corpus Cavernosum after Partial Bladder Outlet Obstruction in Rat

Kyo Ik Mo, Hyung Il Lee, Kyung Seop Lee

From the Department of Urology, College of Medicine, Dongguk University, Gyeongju, Korea

Purpose: Abnormalities of the relaxation and contraction of the corpus cavernosum can lead to erectile dysfunction. Therefore, we induced a partial bladder outlet obstruction (PBOO) in male rats, and investigated the mechanisms of penile dysfunction with endothelial nitric oxide synthase (eNOS), vascular endothelial growth factor (VEGF), endothelin-1 (ET-1), and apoptosis of peri-vascular smooth muscle and connective tissue cells in the corpus cavernosum.

Materials and Methods: PBOO was induced in 13 Sprague-Dawley rats by placing a 25 gauge needle sheath around the urethra, then ligating the bladder neck with a 3-0 suture. Three week after surgery, distal penile tissues were dissected for immunohistochemical staining, immunoblotting, and TUNEL staining.

Results: The expression of eNOS and VEGF were significantly decreased, whereas the expression of ET-1 and apoptosis of perivascular smooth muscle and connective tissue cells were significantly increased in the corpus cavernosum.

Conclusions: The significant increase of ET-1 and apoptosis along with decreased eNOS and VEGF could mediate erectile dysfunction. (**Korean J Urol** 2008;49:160-167)

Key Words: Partial bladder outlet obstruction, Endothelin-1, Endothelial nitric oxide synthase, Vascular endothelial growth factor, Apoptosis

대한비뇨기과학회지
제 49 권 제 2 호 2008

동국대학교 의과대학 비뇨기과학교실

모교익 · 이형일 · 이경섭

접수일자 : 2007년 9월 28일
채택일자 : 2007년 12월 17일

교신저자: 이경섭
동국대학교 경주병원 비뇨기과
경북 경주시 석장동
1090-1번지
☎ 780-350
TEL: 054-770-8265
FAX: 054-771-0769
E-mail: ksleemd@dongguk.ac.kr

서 론

최근 들어 발기부전 (erectile dysfunction)과 하부요로증상 (lower urinary tract symptom)의 상관관계에 대한 보고가 증가하고 있다.¹⁻⁴ 이 두 질환은 몇 가지 공통점을 가지는데, 첫째, 두 질환 모두 유병률이 높고, 둘째, 노년층에서 공존하는 경우가 흔하며, 셋째, 삶의 질에 지대한 영향을 미친다는 것이다. 여러 임상 연구에 의하면 나이가 증가함에 따라 발기부전의 유병률은 증가하고 같은 나이로 할지라도 하부요로증상이 심할수록 발기부전의 유병률이 높아지는 것으로 알려져 있다.⁵ 이러한 발기부전과 하부요로증상의 상관관계를 설명하는 여러 가설이 제안되고 있는데 아직까지 확립된 바는 없다.⁴

발기와 발기해소 (detumescence)는 음경해면체 평활근의 이완과 수축의 결과에 기인한다. 전립선비대증은 방광출구 폐색을 유발하여 하부요로증상을 나타내며 또한 음경해면체의 이완에 영향을 미쳐 발기부전과 연관되어 있다는 보고가 있다.⁶ 음경해면체의 이완은 음경 발기 과정 중 필수적인 요소로서 nitric oxide (NO)가 중요한 신경전달물질로 알려져 있고, endothelin-1 (ET-1)은 모든 혈관근에 강력하고 지속적인 수축작용을 일으키며 음경해면체 내 평활근의 지속적인 수축을 일으키는 인자이다.^{7,8} 또한 혈관내피에서 생성되는 vascular endothelial growth factor (VEGF)는 혈관생성에 작용하는 물질로 알려져 있는데 현재까지 당뇨병이 있는 경우 그 발현이 감소하여 혈관의 위축으로 인하여 이차적인 변화를 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다.⁹

저자들은 수컷 흰쥐에서 전립선비대증과 유사한 조건인

부분방광출구폐색을 유발하여 음경해면체 내 내피세포에서 NO, ET-1과 VEGF가 어떻게 변화하는지 알아보고자 하였으며 이들 단백질의 변화가 혈관과 혈관주위 평활근세포들과 결합조직세포들의 세포자연사를 유발할 수 있는가를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

실험동물은 9주령의 280g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 13마리를 사용하였다. 실험동물은 대조군 6마리와 실험군 7마리로 나누었으며, 대조군은 sham 수술을 시행한 동물을 사용하였다. 실험동물은 실험 기간 동안 물과 먹이에 자유롭게 접근할 수 있게 하였으며 모든 실험은 동물 실험 관리 위원회의 승인하에 이루어졌다.

1. 방광출구폐색

실험동물은 3% isoflurane과 산소/산화질소 (30:70) 혼합물을 이용하여 마취 유도를 하였으며 수술 중 1% isoflurane과 산소/산화질소 (30:70) 혼합물로 유지하였다. 수술 중 온도 조절은 발열판을 이용하여 37°C를 유지하였다. 실험동물을 앙와위로 위치시킨 후 하복부를 중절개하여 현미경 시야 하에 방광경부 및 요도주위를 박리하였다. 25 gauge angio-needle sheath를 사용하여 요도주위에 위치한 후 방광경부를 3-0 봉합사로 결찰하고 angio-needle sheath를 제거하여 부분 폐색을 일으킨 후 복부절개 부위를 봉합하였다.

2. 음경해면체 조직 절취

부분 방광출구폐색 후 3주간 자유롭게 사육한 후 동일한 방법으로 마취시킨 후 복부와 흉강을 절개하여 4% paraformaldehyde와 isotonic saline으로 transcardiac infusion을 하여 음경조직을 관류시켰다. 방광경부 및 요도주위를 박리하여 결찰되어 있던 봉합사의 원위부 음경해면체 조직을 절취하였다.

3. 조직절편제작과 면역조직화학적 검사

관류된 음경해면체 조직은 paraffin 고정을 한 후 5 µm 두께로 횡단절편을 제작하였다. Paraffin wax는 실온에서 xylene에 하룻밤 담가 제거하였으며 paraffin wax가 제거된 조직절편은 ethanol (99%, 96%, 70%)로 수화시켰다. 내인성 과산화효소 (endogenous peroxidase)의 활성을 방지하기 위해 3.0% H₂O₂ 용액으로 처리한 후 30분간 실온에 방치하였다. 이후 조직을 흐르는 수돗물로 세척한 후 microwave oven (650-720W)에서 끓고 있는 Tris-EDTA buffer (pH 8.9-9.0)에 10분간 담가둔 후 꺼내어 50mM NH₄Cl에서 30분간 방치하였다.

1% BSA, 0.2% gelatin과 0.05% saponin이 함유된 phosphate buffered saline (PBS; NaCl 137mM, KCl 2.7mM, Na₂HPO₄ 10mM, KH₂PO₄ 2mM, pH 7.4)으로 세척한 후 2% bovine serum albumin (BSA, blocking antibody)을 사용하여 humidified chamber에서 한 시간 동안 반응시켜 항체의 비특이적인 결합을 방지하였다. Blocking antibody를 제거한 후 ET-1에 결합하는 mouse monoclonal anti-ET-1 (1:1,000, Sigma, USA)을 희석용 완충액인 0.05% BSA를 포함한 0.02M PBS로 희석시킨 용액에 4°C에서 16-18시간 방치하였다. 조직절편을 냉장고에서 꺼내어 실온에서 1시간 방치하고 1% BSA, 0.2% gelatin과 0.05% saponin이 함유된 PBS로 세 번 세척한 후 이차항체인 biotylated universal anti-mouse, goat와 rabbit immunoglobulins (DAKO, Denmark)에 반응시킨 후 PBS에 담가 30분간 방치하였다. 조직절편을 다시 1% BSA, 0.2% gelatin과 0.05% saponin이 함유된 PBS로 세 번 세척하고 PBS 안의 streptavidin conjugated to horse-radish peroxidase에 30분간 반응시킨 후 PBS로 세 번 세척하였다. 세척 후 0.001% hydrogen peroxide가 포함된 diaminobenzidine (DAB) 용액과 반응시켰다. 광학 현미경하에서 염색이 잘 되는지 확인하면서 일정 시간 동안 발색시킨 다음 슬라이드를 흐르는 물에 씻어 반응을 중지시킨 후 ethanol에 단계적으로 담가 탈수시키고 Eukitt (Fluka, Germany)를 이용하여 봉입하였다. ET-1의 발현 정도는 한 명의 연구자에 의해 100배 시야에서 관찰하였다.

4. SDS-PAGE와 Immunoblotting

1) 음경해면체조직의 단백질 분리: 마취 유도된 흰쥐로부터 음경해면체조직을 취하여 8.5mM leupeptin, 1mM phenyl-methylsulfonyl fluoride, 0.32M sucrose, 25mM imidazole, 1mM EDTA, pH 7.2의 용액을 이용하여 조직분쇄기 (polytron, USA)에서 10초 동안 조직을 균질화하였다. 남아있는 조직용액은 Aliquots의 형태로 -70°C에 저장하였다.

2) 전기영동 및 염색: SDS-polyacrylamide겔은 Laemli 방법에 따라 6-12% 겔을 사용하고 Coomassie (Coomassie brilliant blue 0.3g, 2-propanol 200ml, acetic acid 80ml, H₂O 640ml) 용액으로 염색하였다.

3) Immunoblot: 전기영동이 끝나면 곧바로 전이완충용액 (50mM Tris-base, 380mM glycine, 0.1% SDS, 20% methanol)을 이용하여 400mA에서 16-18시간 동안 nitrocellulose (NC)에 전이하였다. 전이가 끝나면 Ponceau S 용액 (0.1% (w/v) Ponceau S, 0.1% acetic acid)으로 1분간 염색하고 1분간 물로 탈염색하여 단백질 띠를 확인하였다. NC를 TTBS용액 (10 mM Tris-HCl, pH7.5, 200mM NaCl, 0.2% Tween-20, 0.02% NaN₃)으로 실온에서 각각 10분간 네 차례 수세하고, 같은

용액으로 2시간 더 반응시켰다. 4°C에서 16-18시간 동안 일차항체인 mouse anti-eNOS affinity purified monoclonal antibody (BD transduction laboratories, 1:2,500), mouse anti-VEGF affinity purified monoclonal antibody (Santa Cruz biotechnology, 1:1,000)를 처리한 후 50mM NaCl로 10분간 수세하고 TTBS 용액으로 10분간 네 차례 더 수세하였다. HRP-conjugated secondary antibody (DAKO, P448; Santa Cruz Biotechnology, SC 2031, 1:3,000)로 처리 후 enhanced chemiluminescence (ECL) system (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, UK)을 이용하여 발색반응을 유도하였다. ECL system으로 나타난 immunoblot 신호는 Scion image software (version 1.59)를 사용하여 수치화하였다. 값은 $\text{means} \pm \text{SE}$ 로 표시하였으며 통계학적 처리는 Student's t-test (unpaired)를 사용하여 p값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 의미가 있는 것으로 하였다.

5. TUNEL stain

음경해면체 조직을 탈파라핀화하고 proteinase K를 사용하여 단백질을 침지(digesting)하고 PBS에서 3.0% H_2O_2 로 endogenous peroxidase 활성도를 떨어뜨린 후, 슬라이드를 equilibration 완충제에 넣고 나서 TdT 효소에 작용시켜 stop/wash 완충제에 놓았다. Anti-digoxigenin-peroxidase 두 방울을 슬라이드에 떨어뜨린 후 DAB로 peroxidase를 발견하였다. 음성대조군은 TdT 효소를 대치하여 증류수 또는 PBS를 사용하였다.

결 과

면역염색의 정도는 대조군을 기준으로 자의적으로 분석하였으며 염색의 정도는 염색이 되지 않는 상태를 (-)로 하였으며 아주 강하게 염색된 상태를 (++++)로 표현하였다.

1. ET-1

대조군의 혈관내피세포에서는 발현을 보이지 않은 (-) (Fig. 1A)인 반면 3주 동안 방광부분폐색을 시킨 실험군에서는 아주 강한 발현 (++++)을 보였다 (Fig. 1B).

2. eNOS

Immunoblotting에서 eNOS는 140KDa의 single band로 나타났으며 단백질의 양을 조절하기 위해 사용된 β -tubulin은 55-65KDa에서 동일한 양으로 확인되었다 (Fig. 2A). 대조군에 비해 3주 동안 방광부분폐색을 시킨 실험군에서 eNOS의 발현정도가 $53.3 \pm 11.4\%$ 로 낮게 나타났으며 통계적으로 의미가 있는 것으로 나타났다 ($p < 0.05$) (Fig. 2B).

3. VEGF

Immunoblotting에서 VEGF는 49KDa의 single band로 나타났으며 (Fig. 3A), 대조군에 비해 3주 동안 방광부분폐색을 시킨 실험군에서 VEGF의 발현정도는 각각 $47.7 \pm 2.9\%$ 로 낮게 나타났으며 통계적으로 의미가 있었다 ($p < 0.05$) (Fig. 3B).

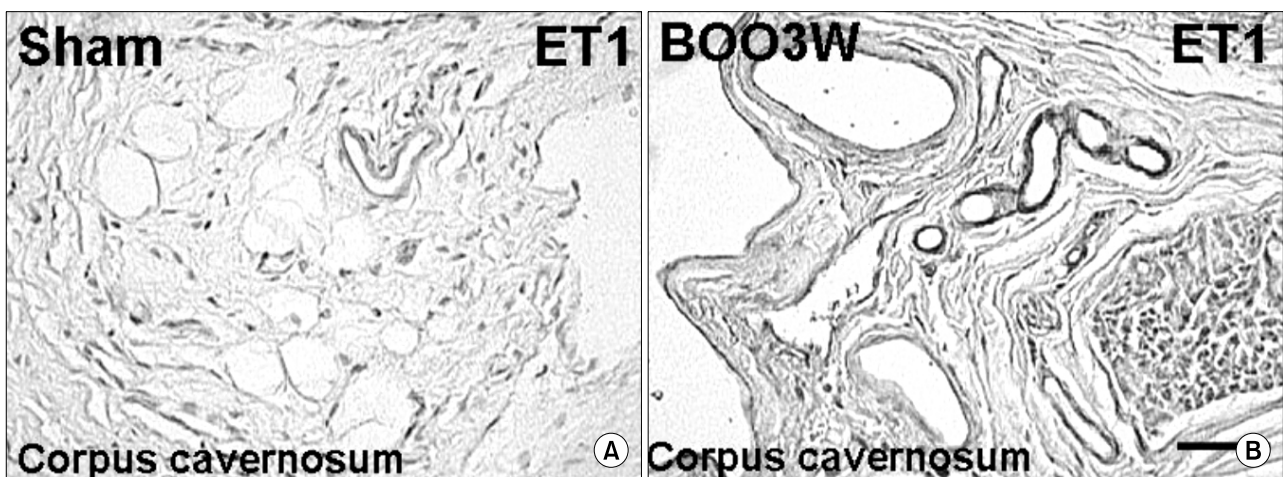


Fig. 1. Immunohistochemical identification of endothelin-1 (ET-1) in corpus cavernosum of the penis. ET-1 immunoreactivity is present in the endothelium of the small vessels in the corpus cavernosum. Rats with partial bladder outlet obstruction (PBOO) treatment showed increased ET-1 immunoreactivity (++++)(B) compared with sham-operated animals (A). Sham: sham-operated animals, BOO3W: PBOO treatment for 3 weeks. Scale bar: 50 μm .

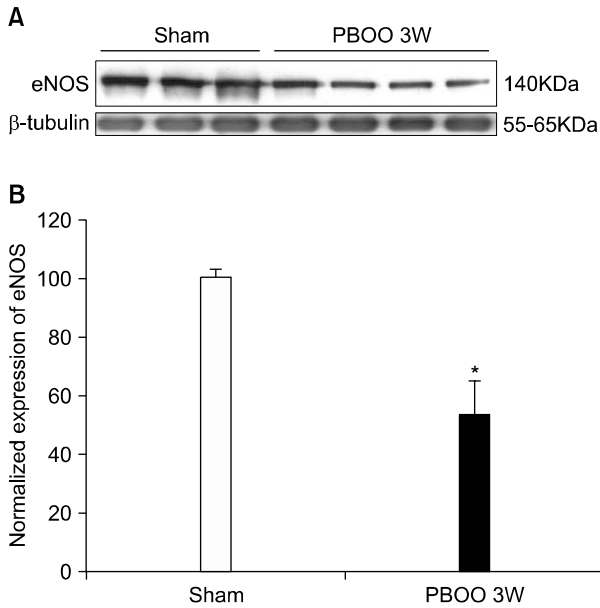


Fig. 2. Normalized expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in sham and partial bladder outlet obstruction (PBOO) rats. (A, Upper panel): Immunoblot reacted with an affinity purified anti-eNOS antibody reveals a 140 KDa band. β -tubulin was used as an internal control. (B, Lower panel): Densitometric analysis revealed that eNOS immunoreactivity is down-regulated by PBOO. * $p < 0.05$.

4. TUNEL stain

부분방광출구폐색에 의한 혈관주위세포에서의 세포자멸사의 정도는 대조군을 기준으로 자의적으로 분석하였다. 20개 이상의 TUNEL 양성세포들이 관찰되면 ++++로, 10-20개는 +++로, 10-5개는 ++로, 1개 이상의 TUNEL 양성세포들이 관찰되면 +로, TUNEL 양성세포들이 관찰되지 않으면 -로 정의하였다. 대조군의 혈관에서는 TUNEL 양성세포가 관찰되지 않는 반면 (Fig. 4A), 3주 동안 부분방광출구폐색을 시킨 실험군에서는 혈관주위의 결합조직 (Fig. 4B)과 평활근 (Fig. 4C)에서 각각 (++)의 TUNEL 양성세포가 관찰되었다.

고 찰

최근 노인인구의 증가와 더불어 전립선비대증과 발기부전 모두 유병률이 증가하고 있으며 호발연령이 비슷하다는 공통점이 있다. 또한 두 질병은 삶의 질에 유의한 영향을 미치므로 두 질병 사이의 연관성이 주목을 받고 있다. 아직 두 질병 간의 연관성이 확립된 것은 아니지만 전립선비대증이 발기부전을 발생시키는 임상적 위험인자라는 보고가

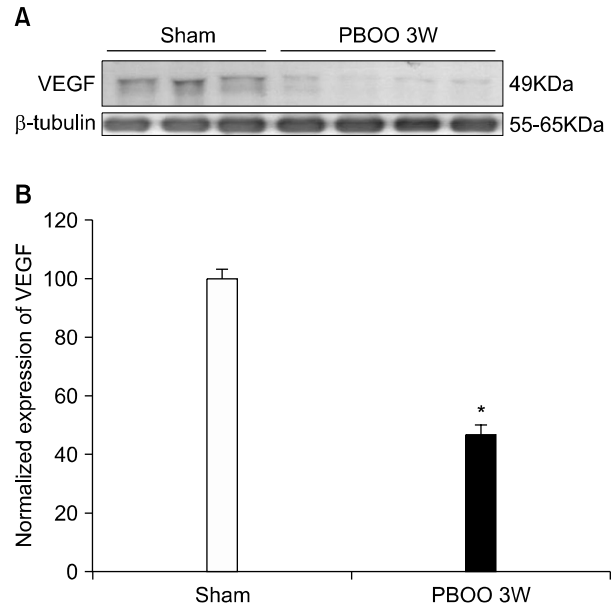


Fig. 3. Normalized expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in sham and partial bladder outlet obstruction (PBOO) animals. (A, Upper panel): Immunoblot reacted with an affinity purified anti-VEGF antibody reveals a 49KDa band. β -tubulin was used as a internal control. (B, Lower panel): Densitometric analysis revealed that VEGF is down-regulated by PBOO. * $p < 0.05$.

있다.³⁻⁵ Blanker 등¹⁰은 나이, 비만, 하부요로증상, 심혈관질환, 만성폐쇄성폐질환, 흡연 등이 발기부전의 위험인자이며, 이 중 하부요로증상은 나이에 이어 두 번째로 발기부전에 대한 비교위험도 (relative ratio; 1.8-7.5)가 높다고 보고하였다. 또한 Multinational Survey of the Aging Male (MSAM-7)에서도 환자의 국제발기능지수 (International Index of Erectile Function; IIEF)와 국제전립선증상지수 (International Prostate Symptom Score; IPSS)가 강한 상관관계를 가지고 있는 것으로 보고한 바 있다.³

하부요로증상이 발기부전의 중요한 위험인자라는 사실이 알려지고 역학적인 관련성이 입증되면서 두 질병 간의 분자생물학적 연관성에 대한 몇 가지 가설이 보고되었다. 첫째, 전립선비대증 조직에서 정상 조직에 비해 nitric oxide synthase (NOS) 및 NO의 감소가 일어나 음경해면체 평활근의 이완에 장애가 발생하여 발기부전이 생긴다는 가설이다. 발기를 일으키고 유지하는데 있어서 음경해면체 평활근의 이완이 주된 역할을 하는 것은 이미 잘 알려져 있고 여기에는 NO가 중요 조절 인자임이 밝혀져 있다. NO는 L-arginine으로부터 NOS에 의해 기체의 형태로 생성된다. 이렇게 생성된 NO는 세포 내로 들어간 후 guanylate cyclase (GC)를 활성화시키고 활성화된 GC에 의해 guanosine tri-

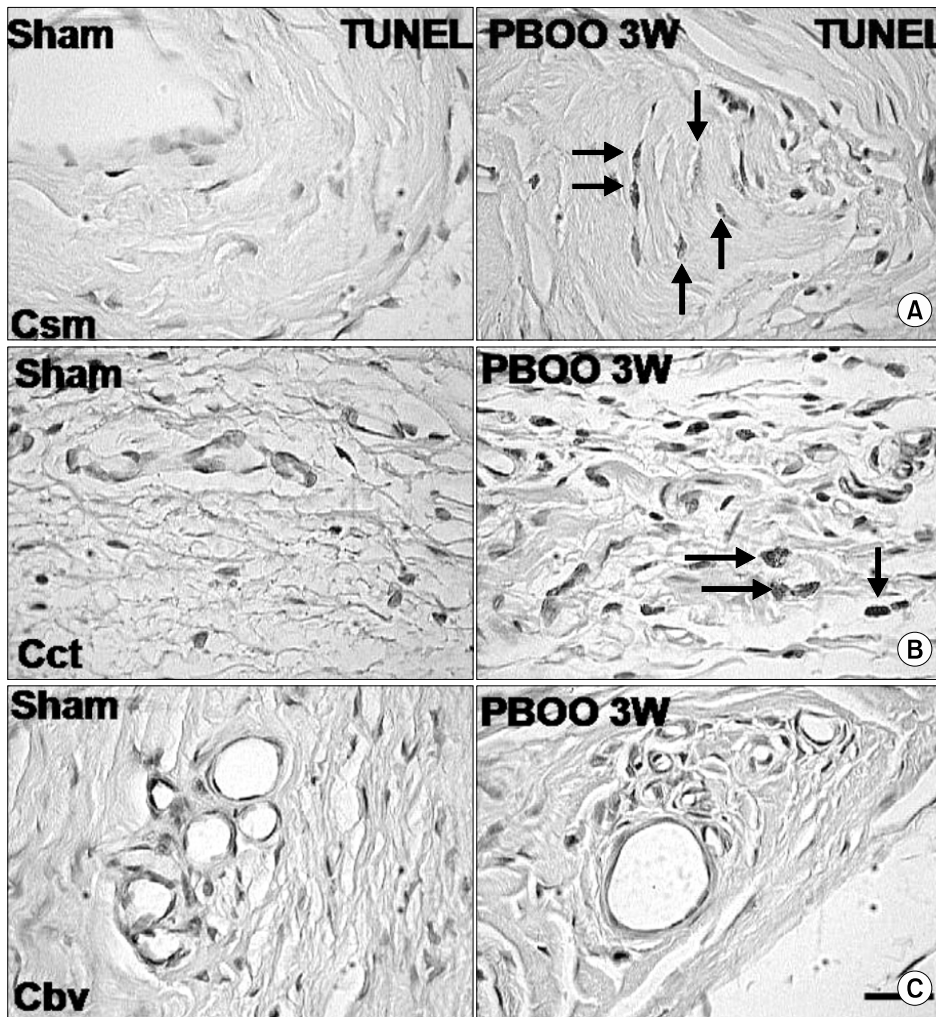


Fig. 4. Apoptotic cell death in the corpus cavernosum after partial bladder outlet obstruction (PBOO). Apoptosis was measured using the TUNEL method. Sham: no apoptotic cell death, PBOO: Brownish TUNEL positive cells (arrows) were significantly increased in the smooth muscle and connective tissue, Csm: smooth muscle cells, Cct: connective tissue, Cbv: small blood vessels. Scale bar: 50 μ m

phosphate (GTP)로부터 생성된 불활성물질인 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)가 평활근 이완을 유발한다.¹¹ Podlasek 등¹²은 성체 쥐의 전립선에서 노화와 함께 neuronal NOS (nNOS)의 유전자 발현이 감소한다는 것으로 보고하여 이 가설을 뒷받침해주고 있다. 또한 phosphodiesterase-5 억제제인 sildenafil을 복용한 환자에서 하부요로증상의 개선이 일어난다는 보고도 전립선비대증과 발기부전의 연관성을 설명하고 있다.¹³

본 연구에서는 전립선비대증과 유사한 상황 즉, 부분방광출구폐색이 음경해면체조직에서 eNOS의 발현 감소를 가져오는 것을 확인하였다. 이미 알려진 바와 같이 NO는 정상적인 내피세포에서 혈관이완 작용을 가지며 RhoA/Rho-kinase를 매개체로 하는 혈관수축과 평형을 맞추어서 혈관 평활근의 긴장도의 항상성을 유지한다. 또한 병적인 상황에서 NO는 superoxide 음이온과 반응하여 peroxynitrite를 형성함으로써 혈관내피세포에 손상을 초래하기도 한다. 일반적으로 peroxynitrite는 DNA와 단백질 및 지질에 산화

적 손상을 일으키며 혈관수축제의 분비를 촉진하고 세포자연사를 증가시켜 조직손상을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 peroxynitrite는 직접적으로 NO를 비활성화시키고 NO의 생체내 이용률 (bioavailability)을 감소시키는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁶ 최근에는 peroxynitrite가 RhoA의 세포막으로 이동하여 RhoA binding-kinase를 활성화시키고 이로 인해 음경조직 내 혈관수축을 야기함으로써 발기부전이 유발된다는 기전이 제시되었다. 따라서 eNOS의 감소에 따른 NO의 감소는 음경혈관의 정상적인 이완과 peroxynitrite와 같은 반응성산소화합물 (reactive oxygen species)의 증가를 유도하여 정상적인 발기기능의 유지에 심각한 손상을 초래할 수 있다. 음경발기를 일으키고 유지하는데 있어서 음경해면체 평활근의 긴장도가 주된 역할을 하는 것은 널리 알려져 있고 이것을 조절하는 데는 적어도 세 가지의 신경전달경로가 있음이 알려져 왔다. 즉, 아드레날린성, 콜린성 그리고 비아드레날린성비콜린성 (NANC)으로 이 중에서도 비아드레날린성비콜린성 신경전달경로가 가장 중요한 것으

로 보고되고 있으며 여기에 NO가 중요 조절인자로 작용하는 것이 밝혀져 있다.¹⁷ 결론적으로 방광부분폐색 모델에서 eNOS/NO의 감소는 비아드레날린성비콜린성 신경전달경로에 지장을 초래하여 음경혈관의 이완을 방해하는 것으로 생각된다. 실제로 전립선비대증 환자에서는 정상 전립선조직에 비해서 NOS/NO의 생산이 감소되어 전립선 내 평활근의 이완에 장애가 발생하여 증세가 나타나는 것으로 알려져 있다.¹⁸

두 번째, Rho-kinase 활성화 및 ET-1의 활성화에 관한 가설이 있다. 몇몇 보고에서 동물실험을 통한 하부요로폐색이 음경해면체 평활근의 수축을 증가시키고, 이완이 감소되는 것을 확인하였고 여기에는 Rho-kinase와 ET-1의 활성화 증가가 원인이 된다는 주장이 있다.^{19,20} 특히 ET-1은 혈관내피세포에서 생성되며 모든 혈관근에 강력하고 지속적인 수축작용을 일으키며 혈관경련의 주된 인자로 알려져 있을 뿐만 아니라 여러 장기의 조직에서 다양한 생물학적 작용을 나타내며 음경해면체 내 평활근의 지속적인 수축을 일으키는 인자로 알려져 있다.⁹ ET-1은 사람과 동물의 종을 불문하고 혈관의 평활근에 작용하는 주된 ET의 동종효소로서 ET_A 수용체와 ET_B 수용체에 모두 작용하여 생물학적 반응을 매개한다.¹⁸ ET_A 수용체는 혈관평활근 세포에 존재하며 세포의 증식과 혈관수축을 매개한다.²¹ 한편 ET_B 수용체는 혈관내피 세포에 현저하게 많이 분포하며 NO의 생성에 의해서 혈관확장을 매개한다.²² Saenz de Tejada 등²³은 이러한 기전으로 ET-1이 음경발기와 발기부전을 야기할 수 있는 중요한 인자로 제안하였다. 본 연구에서도 부분방광출구폐색이 음경해면체 내의 평활근 및 내피세포의 ET-1을 강하게 증가시키는 것으로 확인되었다. 이러한 ET-1의 증가는 음경해면체 평활근의 이완을 방해하여 발기부전을 일으킬 수 있는 원인으로 생각된다. 또한 Sullivan 등²⁴은 흰쥐에서 당뇨병과 고지질혈증을 유발하여 음경해면체의 ET 수용체가 변화함을 확인하고 이러한 현상이 발기부전을 야기하는 것으로 보고하였다.

본 실험에서는 실험군에서 통계학적으로 의미 있는 VEGF의 발현감소가 관찰되었다. VEGF는 in vitro에서 내피세포 특이적인 분열촉진물질이며 혈관신생성장인자로 밝혀져 있다.^{9,10} Rajasekaran 등²⁵의 보고에 따르면, 발기조직에서의 VEGF 감소는 나이와 연관된 발기조직의 형태적, 생리적 변화에 기인한다고 하였으며 4주 동안 VEGF로 치료받은 군에서 통계적으로 유의하게 음경해면체 내피세포와 평활근의 비율이 증가하였다. 또한 Rajasekaran 등²⁵과 Park 등²⁶도 음경에서 젊은 쥐에 비해 늙은 쥐의 eNOS와 VEGF의 발현정도가 떨어져 있다고 하였으며 Lin 등²⁷은 음경해면체에 VEGF를 주입하여 eNOS의 발현이 증가하였고 VEGF가 내

피세포와 평활근 세포의 VEGF 수용체를 통해 eNOS의 발현을 증가시킨다고 하였다. 한편 Yamanaka 등²⁸은 당뇨병 쥐에서 세포자연사 억제 단백질의 감소, 세포자연사 비율의 증가를 관찰하였고 VEGF로 치료한 후에는 세포자연사 억제 단백질의 증가, 세포자연사 비율의 감소가 관찰되었다고 하였다. 이상의 결과들을 종합하면, 본 실험에서의 VEGF의 유의한 감소는 eNOS의 발현감소를 유도하여 혈관의 효과적인 이완을 방해하고, 부분방광출구폐색에 의해 야기된 음경조직 내 혈관내피세포와 평활근세포의 사망에 따른 효과적인 재생을 방지하며, 세포자연사를 촉진함으로써 음경조직의 발기부전에 심대한 영향을 미칠 것으로 생각한다.

이외에도 자율신경계의 과활성화에 의해 발기부전이 발생하거나 골반강 내 동맥경화로 인한 허혈로 인해 발기부전이 발생할 가능성에 대한 보고가 있다.²⁹

이렇듯 전립선비대증과 발기부전의 연관성에 대한 여러 가설들이 알려져 있지만 아직 정립된 것은 없는 상황에서 부분방광출구폐색이 음경해면체의 eNOS와 VEGF의 감소와 ET-1의 증가를 통하여 발기부전을 야기할 수 있다는 가능성의 제시는 중요할 것으로 생각한다.

발기부전의 보다 직접적인 원인은 세포자연사에 의한 평활근세포의 손실과 손실된 세포의 아교섬유(collagen fiber)로의 대체로 인한 평활근의 이완장애이다.¹³ 따라서 부분방광출구폐색 군의 혈관주위 평활근과 결합조직에서 현저히 증가된 TUNEL 양성세포의 증가는 세포자연사가 발기부전에 직접적 원인을 제공할 수 있다는 가능성을 제시하고 있다. 발기부전과 세포자연사의 기전을 연구한 논문들 중 Yamanaka 등³⁰은 늙은 흰쥐가 젊은 흰쥐에 비해 세포자연사를 촉진하는 유전자인 Bak와 Bax의 단백질 발현에는 차이가 없었으나 세포자연사를 억제하는 유전자인 Bcl-2와 Bcl-x의 발현이 낮게 나타나는 것을 보고함으로써 발기부전과 세포자연사억제유전자의 발현감소가 연관이 있음을 보고하였다. 하지만, 본 연구에서는 실험동물의 수가 비교적 적은 초기 실험결과이며, 향후 추가적인 연구를 통해 그 결과를 재확인하고 그 기전에 관한 추가적인 실험이 뒤따라야 할 것으로 생각한다.

결론

수컷 흰쥐에서의 부분방광출구폐색은 음경해면체조직에서 ET-1을 증가시키고 eNOS와 VEGF의 감소를 유발한다. 이는 음경해면체 내 혈관의 원활한 확장을 방해하고 음경해면체 주위조직의 세포자연사를 촉진함으로써 음경의 발기에 부정적 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol* 1994;151:54-61
2. Chung WS. The relationship between benign prostate hyperplasia and erectile dysfunction: what is reality? *Korean J Androl* 2005;23:111-5
3. Rosen R, Altwein J, Boyle P, Kirby RS, Lukacs B, Meuleman E, et al. Lower urinary tract symptoms and male sexual dysfunction: the multinational survey of the aging male (MSAM-7). *Eur Urol* 2003;44:637-49
4. Boyle P, Robertson C, Mazzetta C, Keech M, Hobbs R, Fourcade R, et al. The association between lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction in four centres: the UrEpik study. *BJU Int* 2003;92:719-25
5. Braun MH, Sommer F, Haupt G, Mathers MJ, Reifenrath B, Engelmann UH. Lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: co-morbidity or typical "Aging Male" symptoms? results of the "Cologne Male Survey". *Eur Urol* 2003;44:588-94
6. Anderson KE. Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissues. *Pharmacol Rev* 1993;45:253-308
7. Chang S, Hypolite JA, Zderic SA, Wein AJ, Chacko S, DiSanto ME. Enhanced force generation by corpus cavernosum smooth muscle in rabbits with partial bladder outlet obstruction. *J Urol* 2002;167:2636-44
8. Becker AJ, Uckert S, Stief CG, Scheller F, Knapp WH, Machtens SA, et al. Systemic and cavernous plasma levels of vasoactive intestinal polypeptide during sexual arousal in healthy males. *World J Urol* 2002;20:59-63
9. Huggins JP, Pelton JT, Miller RC. The structure and specificity of endothelin receptors: their importance in physiology and medicine. *Pharmacol Ther* 1993;59:55-123
10. Blanker MH, Bohnen AM, Groeneveld FP, Bernsen RM, Prins A, Thomas S, et al. Correlates for erectile and ejaculatory dysfunction in older Dutch men: a community-based study. *J Am Geriatr Soc* 2001;49:436-42
11. Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;170:843-50
12. Podlasek CA, Zelner DJ, Bervig TR, Gonzalez CM, McKenna KE, McVary KT. Characterization and localization of nitric oxide synthase isoform in the BB/WOR diabetic rat. *J Urol* 2001;166:746-55
13. Sairam K, Kulinskaya E, McNicholas TA, Boustead GB, Hanbury DC. Sildenafil influences lower urinary tract symptoms. *BJU Int* 2002;90:836-9
14. Schulz E, Anter E, Keaney JF Jr. Oxidative stress, antioxidants, and endothelial function. *Curr Med Chem* 2004;11:1093-104
15. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000;87:840-4
16. Zalba G, Beaumont J, San Jose G, Fortuno A, Fortuno MA, Diez J. Vascular oxidant stress: molecular mechanisms pathophysiological implications. *J Physiol Biochem* 2000;56:57-64
17. Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science* 1992;257:401-3
18. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 1990;348:730-2
19. Chang S, Hypolite JA, Zderic SA, Wein AJ, Chacko S, DiSanto ME. Increased corpus cavernosum smooth muscle tone associated with partial bladder outlet obstruction is mediated via Rho-kinase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289:R1124-30
20. Khan MA, Dashwood MR, Thompson CS, Auld J, Morgan RJ, Mikhailidis DP. Down-regulation of endothelin-B receptor sites in cavernosal tissue of a rabbit model of partial bladder outlet obstruction: potential clinical relevance. *World J Urol* 1999;17:290-5
21. Hirata Y, Takagi Y, Fukuda Y, Marumo F. Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1989;78:225-8
22. Warner TD, De Nucci G, Vane JR. Rat endothelin is a vasodilator in the isolated perfused mesentery of the rat. *Eur J Pharmacol* 1989;159:325-6
23. Saenz de Tejada I, Carson MP, de las Morenas A, Goldstein I, Traish AM. Endothelin: localization, synthesis, activity, and receptor types in human penile corpus cavernosum. *Am J Physiol* 1991;261:H1078-85
24. Sullivan ME, Dashwood MR, Thompson CS, Mudd JR, Mikhailidis DP, Morgan RJ. Alterations in endothelin B receptor sites in cavernosal tissue of diabetic rabbits: potential relevance to the pathogenesis of erectile dysfunction. *J Urol* 1997;158:1966-72
25. Rajasekaran M, Kasyan A, Jain A, Kim SW, Monga M. Altered growth factor expression in the aging penis: the Brown-Norway rat model. *J Androl* 2002;23:393-9
26. Park K, Ahn KY, Kim MK, Lee SE, Kang TW, Ryu SB. Intracavernosal injection of vascular endothelial growth factor improves erectile function in aged rats. *Eur Urol* 2004;46:403-7
27. Lin CS, Ho HC, Chen KC, Lin G, Nunes L, Lue TF. Intracavernosal injection of vascular endothelial growth factor induces nitric oxide synthase isoforms. *BJU Int* 2002;89:955-60
28. Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, Tanaka Y, Enokida H, Tsujimura A, et al. Vascular endothelial growth factor restores erectile function through inhibition of apoptosis in diabetic rat penile crura. *J Urol* 2005;173:318-23

29. Azadzi KM, Master TA, Siroky MB. Effect of chronic ischemia on constitutive and inducible nitric oxide synthase expression in erectile tissue. J Androl 2004;25:382-8
 30. Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, Shirai M, Tanaka Y, Fujime M, et al. Loss of anti-apoptotic genes in aging rat crura. J Urol 2002;168:2296-300
-