

혈관인성 발기부전에서 Dimethylarginine Dimethylamino-hydrolase의 기능부전이 발기능의 병태 생리에 미치는 영향

Dysregulation of Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Causes Elevation of Asymmetric Dimethylarginine in a Rat Model of Vasculogenic Erectile Dysfunction

Jin Gyu Oh, Kwan Jin Park¹, Jae Seung Paick

From the Departments of Urology, Seoul National University College of Medicine and ¹Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

Purpose: Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) and the major metabolic pathway of ADMA is enzymatic degradation via dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH). In this study, we hypothesized that an elevated cavernosal ADMA level might result from poor DDAH activity in the corpus cavernosum. We examined whether ADMA was accumulated in our atherosclerotic rat model of vasculogenic erectile dysfunction (VED).

Materials and Methods: Twelve 12-wk-old Sprague-Dawley rats were grouped in either the atherosclerosis group (AS, n=6) or the control (n=6) group. The AS group received a 1% cholesterol diet for 6 weeks and the rats were also treated with NG-nitro-L-arginine methyl ester (3mg/ml) for the initial 2 weeks. The control group received a normal diet. Six weeks later, all the rats were anesthetized with urethane (1.6g/kg) and cavernous electrostimulation was done under continuous arterial and cavernosal pressure monitoring (6V, 0.5ms, 20Hz, 50sec). The methylarginine level in both the AS group and the control group was measured respectively. Also, the NOS activity and DDAH activity in the corpus cavernosum were evaluated.

Results: Upon cavernous electrostimulation, the peak intracavernosal pressure (ICP) of the control group was 88.5 ± 5.5 mmHg (n=6). In contrast, the peak ICP level was markedly reduced in the atherosclerotic group to 54.2 ± 4.8 mmHg (n=6, $p < 0.001$). The cavernosal level of ADMA in the control group was 320.5 ± 23.6 μ M and it was 860.7 ± 34.7 μ M in the AS group. The constitutive NOS activity in the rat corpus cavernosum of the AS group was markedly reduced compared to the control group. Also, the cavernosal DDAH activity was reduced in the AS rats and the activity showed significant negative correlation with the cavernosal ADMA level.

Conclusions: In this study, we have demonstrated that the dysregulation of DDAH activity may be one of the causes of decreased NOS activity in atherosclerotic erectile dysfunction. (**Korean J Urol 2006;47:1079-1085**)

Key Words: Erectile dysfunction, Dimethylarginine dimethylaminohydrolase, Asymmetric dimethylarginine, Rats

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 10 호 2006

서울대학교 의과대학
비뇨기과학교실,
¹원자력병원 비뇨기과

오진규 · 박관진¹ · 백재승

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

교신저자: 백재승
서울대학교 의과대학
비뇨기과학교실
서울시 종로구 연건동 28번지
☎ 110-744
TEL: 02-2072-2422
FAX: 02-762-2428
E-mail: jsaick@snu.ac.kr

서 론

발기부전은 1992년 미국 NIH consensus conference에 따르

면 만족스러운 성생활을 누리는 데 충분한 발기를 얻지 못하거나 유지할 수 없는 상태를 의미한다고 정의하였다. 한국의 경우 2001년 Son 등¹의 연구 결과 40세 이상의 남성에서 84.3%의 발기 부전 유병률을 보고한 바 있으며, 미국의

40-70세 사이의 남자 1,709명을 대상으로 한 메사추세츠 남성노화연구 (Massachusetts Male Aging Study; MMAS)²에 따르면 전체 유병률은 52%로 이 결과를 근거로 추산하면 전 세계에 1억 이상의 남성이 발기부전을 가지고 있다고 할 수 있다.

일반적으로 음경발기는 음경혈관의 확장과 해면체평활근의 이완, 해면체내 혈류의 증가와 정상적인 정맥폐쇄 등의 과정을 요하는 신경계와 혈관계의 복잡한 상호작용을 통해 이루어진다.^{3,6} 실제로 발기부전은 이런 일련의 상호작용의 이상에 기인하며, 이런 발기부전의 원인 중 가장 많은 수를 차지하는 혈관인성 발기부전은 음경해면체와 혈관의 내피기능부전이 중요한 초기 병태생리라고 알려져 있다.

대표적인 내피기원 혈관이완인자로서 음경발기에 핵심적인 역할을 하고 있는 nitric oxide (NO)는 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 생성되며, 발기부전과 밀접한 관련이 있다고 알려진 죽상경화, 고혈압, 당뇨, 다발성경화증, 신부전 등의 질환에서는 이 NOS의 작용이 억제되어 내피기능부전 (endothelial dysfunction)을 유발하고 그로 인해 NO의 결핍 상태가 초래되어 발기부전이 생기는 것으로 추정되고 있다.⁷ 이런 NOS의 작용억제에 대하여 Leiper와 Vallance⁸는 arginine기를 포함하는 단백질의 대사과정을 담당하는 protein arginine N-methyl transferase (PRMT)에 의해 발생하는 최종 대사물의 하나인 asymmetric dimethyl arginine (ADMA)이 NOS에 대해 기질인 arginine과 경쟁적으로 결합함으로써 모든 종류의 NOS에 대한 내인성 억제제 역할을 하며,⁹ 조직 내 ADMA의 농도변화에 의해서 NOS의 활성도가 조절된다는 연구결과를 발표한 바 있다. 기존의 연구에서도 죽상경화,¹⁰ 고지혈증,¹¹ 당뇨,¹² 신부전¹³ 등의 질환에 있어 NOS 활성도가 저하된 반면 ADMA의 증가가 관찰됨을 보고하고 있다.

ADMA는 대부분 조직에 존재하는 dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH)라는 효소에 의하여 citrulline과 methyl arginine으로 대사되며, 사람과 백서에서 DDAH는 type 1과 2의 두개의 아형이 있고 type 1은 neuronal NOS (nNOS)를 주로 포함하는 조직에, type 2는 endothelial NOS (eNOS)를 주로 포함하는 조직에 분포하는 것으로 알려져 있다.¹⁴

한편 DDAH에 관련된 여러 연구를 살펴보면, 고지혈증을 유발시킨 토끼에서 DDAH의 기능부전이 발견되고, 죽상경화의 정도와 ADMA의 농도가 높은 상관관계를 보이며, 죽상경화에서 DDAH의 활성도 감소와 ADMA의 증가가 관찰되었다는 연구결과 등¹⁵을 토대로 볼 때 DDAH의 기능부전이 죽상경화 등의 병태생리와 밀접한 관련이 있을 것이라 추측을 가능케 하나, 실제 음경해면체 내의 DDAH와 ADMA

간의 관계에 대해서는 알려진 바가 없다.

최근 Shin 등¹⁶은 DDAH의 specific inhibitor인 S-2-amino-4-(3-methylguadino) butanoic acid를 음경 내에 주입한 결과, DDAH의 억제로 인한 음경 내 ADMA의 축적과 함께 주요 발기능지표인 최대해면체내압, AUC의 감소, ICP/MAP의 유의한 감소를 보이는 것으로 나타나 음경 내 DDAH가 실제로 음경 내에서 작용하는 효소체계이며 발기능과 밀접한 관계를 가지고 있다는 직접적인 증거를 제시하였다.

이에 본 연구자는 음경해면체 내의 DDAH 기능부전이 음경 내 ADMA의 증가를 가져올 것이라는 추정으로 질병모델인 혈관인성 발기부전을 보이는 백서에서 음경해면체 내의 DDAH-ADMA-NOS 간의 관계를 알아보고자 하였다. 이를 밝혀내기 위하여 본 연구자는 우선 정상 백서와 죽상경화 백서를 나누어 각각에 대하여 음경해면체 전기자극검사, 혈장 및 음경에서의 methyl arginine 양 측정, 음경해면체에서의 NOS와 DDAH의 활성도 등을 조사하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물

체중이 250-300g인 12주령 백서 (Sprague-Dawley) 12마리를 대상으로 하였다. 이중 6마리는 대조군으로 삼아 정상 식이를 시켰으며, 나머지 6마리를 죽상경화군으로 분류하여 첫 2주간 N^G-nitro-L-arginine methyl ester (3mg/ml)를 복용시키면서, 6주간 1% 콜레스테롤 식이를 섭취하도록 하였다. 이는 Park 등¹⁵이 고안한 백서에서의 혈관인성 발기부전 유발 방법에 의거하여 시행하였다.

2. 죽상경화군과 대조군 간의 발기능 비교

실험에 사용된 모든 백서는 urethane (1.6g/kg)으로 마취 후 양와위에서 음경주위를 박리하여 우측 음경각을 노출시켜 polyethylene tube (PE-50)를 삽입하고 30분간 안정화시켰다. 그 동안 좌측 내경동맥에 24G angiocatheter를 삽입하여 전신혈압을 측정할 수 있는 통로를 확보하였다. 이후 복부 정중절개로 우측 전립선의 외측에 위치하는 주골반신경절 (major pelvic ganglion)을 확인한 다음 양극성 전기자극기 (Grass SD9, Grass Instrument, Quincy, USA)를 이용하여 6v, 20Hz, 0.5msec의 조건으로 해면체신경을 50초간 자극하였다. 전신혈압과 해면체내압 (intracavernosal pressure; ICP)은 실험동안 지속적으로 측정하였다. 해면체신경 전기자극은 최소 5회 이상을 반복하였으며 각 전기자극 간의 시간 간격은 최소 10분 이상을 유지하였다. 해면체 신경자극을 마친 후 음경 내 ADMA의 발현유무를 확인하기 위하여 백서를 희생하여 음경을 요도와 주변조직으로부터 분리적출한 다

음 액체질소에서 급속냉동시킨 뒤 -70°C 에서 보관하였다.

두 군을 비교하는 주요 발기능의 지표로는 최대해면체내압 (peak ICP), 해면체내압곡선의 면적 (area under curve; AUC), 최대해면체내압/평균동맥혈압 (peak ICP/mean arterial pressure; ICP/MAP) 등이었다.

두 군의 ICP 및 BP monitoring은 PowerLab™ (ADInstruments, USA)를 이용하였고, AUC는 Image-Pro Plus (Media Cybernetics, USA)를 통해 알아보았다.

3. 혈장 및 음경조직 내 methylarginine의 측정

음경조직 내의 methylarginine의 측정을 위해 Azuma 등¹⁷이 제시한 방법대로 서울대병원 임상의학연구소에 있는 장비를 이용하여 high performance liquid chromatography (HPLC)를 시행하였다. 장비는 solvent selection system (LV-980-03, Jasco, Kyoto, Japan), autosampler (AS-950, Jasco), Column oven (CO-960, Jasco), Fluorescent detector (FP-920, Jasco), integrator (807-IT, Jasco) 등으로 구성되었다.

동결된 음경조직은 5mM ice cold HEPES buffer에서 sonicator를 이용하여 sonication을 시행하여 30%의 균질액을 만들었으며 trichloroacetic acid를 5%가 될 때까지 첨가하였다. 균질화된 조직액은 4,000g에서 10분간 원심분리한 다음에 상층액을 수거하여 100 μl 의 분량으로 HPLC에 사용하였다. 용출을 위한 완충액 (eluting buffer) 용출시간 (eluting time)은 Azuma 등¹⁷의 최초 연구와 같은 방법으로 시행하였다. 용출을 위해 사용한 완충액의 용출속도는 0.55ml/min이며 발색을 위해 사용한 ortho phthalaldehyde-용액 (Nakarai Chemicals co, Kyoto, Japan)의 용출속도는 0.33ml/min이었다. 사용한 column의 back pressure는 28kg/cm²였다. 발색된 형광에 의해 fluorescence peak가 나타났는데 이의 면적과 internal standard로 사용한 paraphenylenediamine의 비를 response factor (X)로 산정하였고 각 dimethylarginine의 양은 다음의 공식으로 계산하였다.

$$Y=59.38X-0.515 \text{ (paraphenylenediamine, internal standard)}$$

$$Y=84.6X-0.1 \text{ for L-NMMA}$$

$$Y=84.2X \text{ for ADMA}$$

$$Y=72.6X \text{ for SDMA}$$

4. 음경조직 내 NOS 및 DDAH의 활성도 측정

음경조직내의 NOS 활성도 측정은 Lugg 등이 소개한 바 있는 L-[3H]arginine의 L-[3H] citrulline로의 전환을 이용한 방법을 통하여 시행하였다.

DDAH의 활성도를 얻기 위해 사용하는 기질은 [¹⁴C]-L-LMMA이며 [¹⁴C]-citrulline을 측정하여 정상 대조군에 대한

%로 표시하였다.

백서를 희생시키고 음경을 적출한 다음 요도와 백막주변 결체조직을 제거한 후, 백막을 포함한 음경조직을 phosphate buffer에 넣고 4°C에 보관하였다. 보관된 조직은 homogenizer에 넣어 균질화과정을 거쳐 10,000g에서 40분간 원심분리 후 상층액을 추출하여 250 μl 를 취한 뒤 250 μl 의 0.02 μCi [¹⁴C]-L-LMMA가 100 μM 들어있는 sodium phosphate buffer 250 μl 와 섞고 37°C에서 1시간동안 보관하였다. 1시간이 지난 후 1ml의 cation exchange resin (1ml of 50% dowex 50X8-400, Sigma)를 넣고 반응을 종료시킨 후 10,000g에서 5분간 원심분리를 한 다음 500 μl 의 상층액을 취하여 [¹⁴C]-citrulline을 scintillation counting으로 측정하였다.

5. 통계분석

측정된 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시되었다. 대상군의 수가 적어 비모수검정법인 Mann-Whitney검정을 기본적으로 사용하였으나 혈압 및 발기능의 여러 지표 (peak ICP, AUC, ICP/MAP)들은 저자들의 이전 연구에서 정규분포를 보이는 것으로 확인된 바 있으므로 비모수검정법과 함께 Student's t-test를 함께 사용하였으며 $p<0.05$ 인 경우 유의한 차이로 간주하였다.

DDAH활성도가 음경 내 ADMA 농도에 미치는 영향을 조사하기 위해 Spearman's Rho를 측정하였다.

결 과

1. 죽상경화군과 대조군 간의 발기능 비교

Table 1에서 죽상경화군과 대조군에 대하여 각각 주요 발기능의 지표에 해당하는 최대해면체내압 (peak ICP), 해면체내압곡선의 면적 (AUC), 최대해면체내압/평균동맥혈압 (ICP/MAP)을 비교하였다.

죽상경화군에서 대조군에 비해 최대해면체내압의 저하와 AUC의 감소, ICP/MAP의 뚜렷한 감소를 보여 유의한 음경 발기능의 저하를 보였다.

Table 1. The results of cavernous stimulation

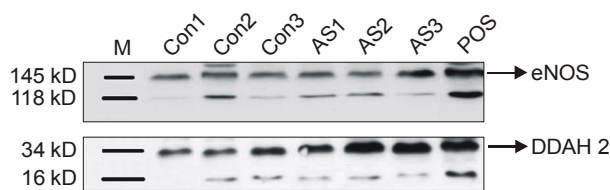
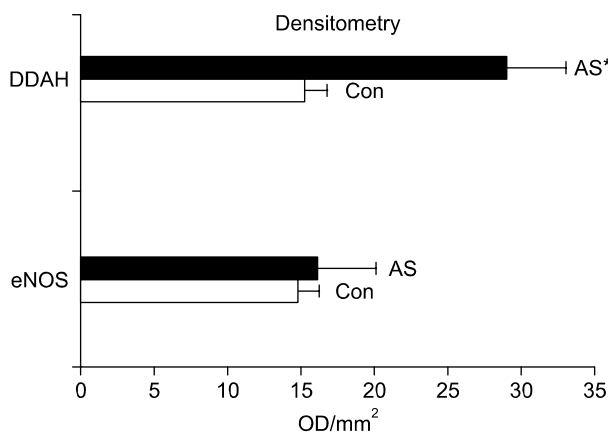
	Control	Atherosclerosis group	p-value
Peak ICP (mmHg)	88.5 \pm 5.5	54.2 \pm 4.8	0.001
AUC (mmHgsec)	2,785.2 \pm 185.1	1,430.6 \pm 236.7	0.001
ICP/MAP	90.3 \pm 3.1	47.6 \pm 4.5	0.001

ICP: intracavernosal pressure, AUC: area under curve, MAP: mean arterial pressure

Table 2. Chromatographic analysis of a standard mixture of methylarginine derivatives, cavernosal extract from the control and cavernosal extract from the atherosclerosis group (mean \pm SD)

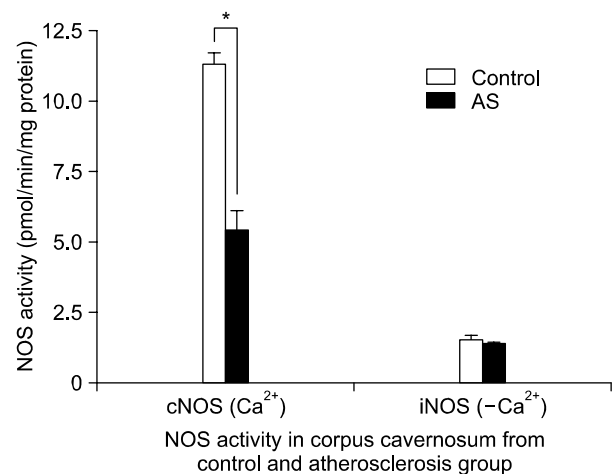
Group	L-NMMA		ADMA		SDMA	
	Plasma μ M	Cavernosum μ M	Plasma μ M	Cavernosum μ M	Plasma μ M	Cavernosum μ M
Control	58.2 \pm 9.3	24.2 \pm 8.1	550.5 \pm 29.6	320.5 \pm 23.6	186 \pm 10.7	98.4 \pm 13.3
Atherosclerosis	212.5 \pm 22.1*	82.5 \pm 12.8*	1,522.6 \pm 32.3*	860.7 \pm 34.7*	190.4 \pm 9.9	112.2 \pm 10.6

L-NMMA: N^G-monomethyl-L-arginine, ADMA: asymmetric N^{G,N}^G-dimethyl-L-arginine, SDMA: symmetric N^{G,N}^G-dimethyl-L-arginine, *significantly different from control.

**Fig. 1.** Expression of endothelial NOS and DDAH 2 in the rat penile tissue of the control group and the AS group. The DDAH 2 expression is more prominent in the AS group than that in the control group. M: marker, Con: control group, AS: atherosclerosis group, POS: positive control, NOS: nitric oxide synthase, eNOS: endothelial NOS, DDAH: dimethylarginine dimethylaminohydrolase.**Fig. 2.** Densitometry of endothelial NOS and DDAH 2 in the rat penile tissue of the control group and the AS group. The DDAH expression is significantly increased in the AS group. AS: atherosclerosis group, Con: control, eNOS: endothelial NOS, NOS: nitric oxide synthase, DDAH: dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *significantly different from corresponding value in the control at $p < 0.05$.

2. 혈장 및 음경조직 내 methyl arginine의 측정

죽상경화군과 대조군 간의 혈장과 음경조직 내에 존재하

**Fig. 3.** NOS activity in the rat corpus cavernosum between the control group and the AS group. Though there is no significant difference for iNOS between the two groups, the activity in the AS group is more prominently increased than that in the control group. AS: atherosclerosis group, NOS: nitric oxide synthase, cNOS: constitutive NOS, iNOS: inducible NOS. *significantly different from corresponding value in the control at $p < 0.01$

는 methylarginine의 정량결과를 비교해 보면 혈장 및 음경 내 symmetric dimethyl arginine (SDMA)의 양은 대조군과 죽상경화군의 차이가 없는 반면에 asymmetric dimethyl arginine (ADMA)와 L-monomethyl arginine (L-NMMA)은 두 군 간에 유의한 차이를 보이는 것으로 나타나 죽상경화군의 경우 대조군과 달리 혈장과 음경 모두에서 ADMA와 L-NMMA가 증가되어 있는 것으로 나타났다 (Table 2).

3. 음경조직 내 DDAH 2와 eNOS의 발현: Western blot

백서의 음경조직에서 DDAH 2와 eNOS의 발현은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 정상대조군과 죽상경화군 모두에서 DDAH 2와 eNOS는 발현되었으며 특히 DDAH 2에 있어서는 죽상경화군의 경우 정상대조군에 비해 현저한 발현을 보였다. 이는 Fig. 2의 densitometry에서도 두 군 간에 유의한

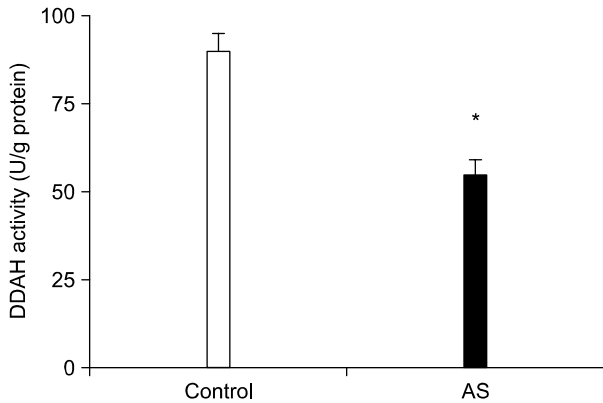


Fig. 4. Cavernosal DDAH activity between the control group and the AS group. As shown, the DDAH activity in the AS group is significantly decreased ($p < 0.05$). AS: atherosclerosis group, *denotes statistical significance ($p < 0.05$). DDAH: dimethylarginine dimethylaminohydrolase.

차이가 있는 것으로 나타났다.

4. 음경조직 내 NOS 및 DDAH의 활성도 측정

정상대조군과 죽상경화군의 음경조직 내 constitutive NOS (cNOS)와 inducible NOS (iNOS) 활성도를 비교하였는데 iNOS의 활성도는 유의한 차이를 보이지 아니하였으나 cNOS 활성도에 있어서는 죽상경화군에서 정상대조군에 비해 현저히 그 활성도가 감소되어 있었다 (Fig. 3).

이러한 결과는 DDAH의 활성도에 있어서도 마찬가지로 나타나 죽상경화군에서 정상대조군에 비해 DDAH의 활성도가 현저히 저하되어 있었으며 (Fig. 4), 혈장 ADMA 농도와 DDAH 활성도 간의 Spearman's Rho는 -0.88로 높은 음의 상관관계를 보였다 (Fig. 5).

고 찰

발기부전은 만족스러운 성생활을 누리는 데 충분한 발기를 얻지 못하거나 유지할 수 없는 상태를 의미한다.¹⁸ 최근 들어 이전에 비해 생활수준이 많이 향상되고, 삶의 질을 중시하는 사회풍조가 널리 퍼짐에 따라 성생활에 대한 관심이 증가하고, 이와 아울러 발기부전의 치료에 대한 요구 수준도 증대되고 있다. 인구의 고령화, 서구화된 식생활 습관과 생활태도 변화 등으로 혈관인성 발기부전의 위험인자라 할 수 있는 고혈압, 당뇨 등의 대사성 질환의 유병률이 증가하고 있으며, Rance 등¹⁹의 연구결과에서 당뇨를 가진 발기부전 환자들에 대한 설문조사에서 실명과 신부전 다음으로 심각한 합병증을 발기부전이라고 생각하며, 이는 족저궤양이나 고혈압보다 더 중시한다고 보고한 점을 고려하면, 혈

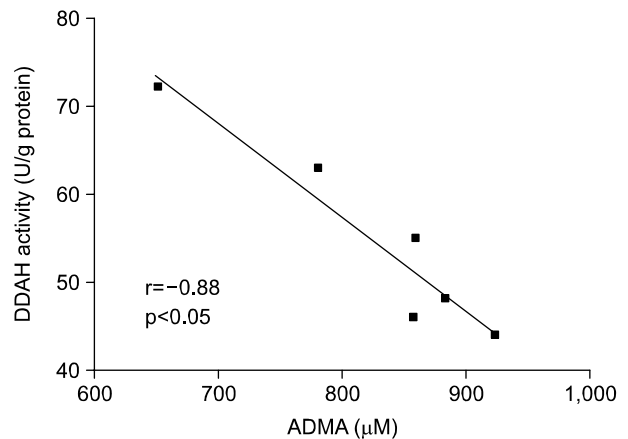


Fig. 5. Correlation between cavernosal DDAH activity and the ADMA level. As shown, the DDAH activity is inversely correlated with the cavernosal ADMA level. DDAH: dimethylarginine dimethylaminohydrolase, ADMA: asymmetrical dimethylarginine.

관인성 발기부전에 대한 명확한 병태생리의 이해와 이에 대한 적극적인 치료는 고령화 사회로 접어든 우리나라에서 조차 앞으로 해결해야 할 주요한 과제 중 하나라고 할 수 있다.

혈관인성 발기부전은 음경해면체에 공급되는 동맥혈류의 감소, 음경해면체의 백막, 평활근의 구조 및 기능적 이상으로 인한 정맥누출의 증가, 음경해면체와 공급혈관의 내피기능부전에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다.²⁰

내피는 음경해면체 내강과 음경혈관에 존재하며 내피에 존재하는 eNOS는 nonadrenergic noncholinergic nerve의 말단에 있는 nNOS와 함께 음경해면체와 혈관 평활근의 이완을 담당하는 NO를 분비하며,²¹ 심혈관계 위험인자인 고혈압, 고지혈증, 비만, 당뇨, 흡연 등은 oxidative stress의 증가, NO의 활성억제, 수축성 인자의 증가를 유발하여 전신혈관의 내피기능부전을 유발함과 아울러 음경해면체의 내피기능부전도 함께 유발하는 것으로 알려져 있다.²²

결국 이러한 내피기능부전은 가장 중요한 평활근 이완물질인 NO의 결핍을 유발하며, 수축성 인자인 adrenergic tone, thromboxane, angiotensin II, endothelin-1의 기능과다를 초래하여 발기부전이 나타나게 되는 것이다.

실제로 혈관인성 발기부전의 가장 주요한 원인으로 알려진 죽상경화²³에 대한 여러 연구들 중에서 Park 등¹⁵은 죽상경화성 발기부전을 보이는 백서모델에서 음경조직 내 혈류감소로 인한 허혈성 변화와 eNOS발현의 감소, 산화성 손상의 증가 등 내피기능부전의 소견이 관찰됨을 보고하였다.

죽상경화에서 보이는 NO 결핍증의 원인으로 superoxide 음이온 (O_2^-)에 의하여 NO 대사의 증가와 NOS의 중요함조효소인 tetrahydrobiopterine (BH_4)의 기능부전으로 NO 생

산의 저하,²⁴ 내인성 NOS 억제제인 ADMA의 증가,⁹ eNOS mRNA expression의 감소²⁵ 등을 생각해 볼 수 있다.

이들 중 NOS의 내인성 억제제인 ADMA에 대한 관심이 최근 증가되고 있으며, 여러 동물실험을 통하여 음경해면체 내에 ADMA가 존재하며, ADMA의 증가가 음경해면체의 NOS 기능을 감소시켜 음경해면체 평활근의 이완장애를 초래한다는 사실이 밝혀졌다.^{26,27} 앞서 서론에서 전술한 바와 같이 ADMA는 NOS에 arginine을 공급하는 y+transporter에서 arginine과 경쟁적으로 결합함으로써 NOS의 기능을 감소시켜 NO의 생산을 저하시킨다.⁹

DDAH는 ADMA를 citrulline과 methyl arginine으로 대사시키는 역할을 하며, type 1과 2의 두개의 아형이 있어 각각 type 1은 nNOS를, type 2는 eNOS를 주로 포함하는 조직에 분포하는 것으로 알려져 있다.¹⁴ ADMA가 NOS 억제제이므로, DDAH가 NOS의 이상과 연관이 있을 가능성이 높으리라 생각되며, 실제로 DDAH의 억제제인 4124w [S-2-amino-4 (3-methylguanidino) butanoic acid]를 혈관평활근에 반응시켰더니 혈관의 점진적인 수축을 유발하였다는 보고²⁸와 DDAH의 기능부전이 고지혈증을 유발시킨 토끼에서 발견되고, 죽상경화를 유발하는 중심물질인 oxidized LDL의 혈중농도보다 ADMA의 농도가 죽상경화의 정도와 높은 상관관계를 보이며, 죽상경화에서 DDAH의 활성도의 감소와 ADMA의 증가를 유발하였다는 연구 결과¹¹ 등은 DDAH의 기능부전이 죽상경화 등의 병태생리와 밀접한 연관이 있음을 시사하는 결과라고 하겠다.

뿐만 아니라 Shin 등¹⁶은 DDAH의 specific inhibitor인 S-2-amino-4 (3-methylguanidino) butanoic acid를 음경 내에 주입한 결과, DDAH의 억제로 인한 음경 내 ADMA의 축적과 함께 주요 발기능지표인 최대해면체내압, AUC의 감소, ICP/MAP의 유의한 감소를 보이는 것으로 나타나 음경 내 DDAH가 실제로 음경 내에서 작용하는 효소체계이며 발기능과 밀접한 관계를 가지고 있다는 직접적인 증거를 제시하였다.

이에 본 연구자는 죽상경화 백서모델을 이용하여 음경 내 DDAH의 기능부전이 음경 내 methylarginine과 NOS에 미치는 영향에 대하여 알아보려고 하였고, 이를 통해 음경 내 DDAH-ADMA-NOS 관계를 살펴보고자 하였다.

우선 죽상경화군과 정상대조군 간의 methylarginine 측정 결과에서 죽상경화군의 경우 대조군과 달리 혈장과 음경 모두에서 ADMA와 L-NMMA가 유의하게 증가되어 있는 것으로 나타났다.

한편 음경조직을 이용한 DDAH 2와 eNOS의 발현 결과를 보면 죽상경화군의 경우 정상대조군에 비해 DDAH 2의 발현정도가 더 현저함을 보였다.

DDAH 2가 앞서 언급했던 바와 같이 ADMA의 대사를 유발한다는 사실을 고려하면 혈관인성 발기부전은 DDAH 2의 양이 줄어들기보다는 DDAH 2의 활성도가 저하되어 ADMA가 축적됨으로써 발생한다고 생각해 볼 수 있다. 결국 Fig. 5에서 보여지듯 DDAH의 발현 정도와 상관없이 DDAH의 활성도와 ADMA의 양 사이에 음의 상관관계가 이루어진다고 할 수 있겠다.

물론 이러한 결과를 해석함에 있어 실험 과정에서 각각의 실험동물에 대해 *in vivo* 실험을 시행한 후, *in vitro* 실험을 시행함으로써 앞선 *in vivo* 실험에 의해 혈장 및 음경 조직 내 methyl arginine의 농도에 영향을 줄 가능성이 있다는 한계가 있다. 이에 대해서는 일시적인 음경해면체 신경 자극이 음경 내 NO metabolism에 대한 영향이 미비하리라 가정하였으며, 이러한 영향을 고려하더라도 두 군 간의 비교는 어느 정도 유의한 차이를 보였다.

아울러 이러한 관계는 본 연구를 통해 백서에서는 확인이 가능하였지만, 인간에서 이들의 존재 유무와 그 상관관계에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각되며, 이는 내피기능부전과 연관된 여러 질병들에 대해서도 다각적인 접근이 필요하리라 생각한다. 이를 토대로 all-trans-retinoic acid²⁹와 같은 DDAH의 활성도를 높이는 성분들에 대한 심층적인 연구와 현 수준에서 일진보한 발기부전에 대한 치료법 모색 등의 시도를 할 수 있으리라 생각한다.

결 론

본 연구는 죽상경화군과 정상대조군 간의 methyl arginine 비교 측정을 통해 죽상경화에서 ADMA가 현저히 증가한다는 사실을 확인할 수 있어서 ADMA가 죽상경화에 의한 발기부전에 병태생리적인 역할을 담당할 가능성을 보였다. 또한 DDAH의 발현과 활성도 측정을 통하여 죽상경화백서에서 DDAH는 과발현되지만, 그 활성도는 오히려 현저히 줄어들어 ADMA의 축적이 발생한다는 결론을 얻을 수 있었다. 따라서 향후 DDAH 활성도를 강화시키는 치료법은 ADMA의 조절을 통해 죽상경화에 따른 발기부전을 병태생리적으로 치료할 수 있는 계기를 마련할 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

1. Son HC, Byun SS, Park EC, Cho KS, Jo MK, Kim SW, et al. Prevalence of sexual dysfunction in men older than 40 living in Seoul: epidemiologic survey using questionnaire. Korean J Urol 2002;43:52-61
2. 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
3. Krane RJ, Goldstein I, Saenz de Tejada I. Impotence. *N Engl J Med* 1989;321:1648-59
4. Junemann KP, Persson-Junemann C, Alken P. Pathophysiology of erectile dysfunction. *Semin Urol* 1990;8:80-93
5. Vardi Y, Siroky MB. Hemodynamics of pelvic nerve induced erection in a canine model. I. Pressure and flow. *J Urol* 1990;144:794-7
6. Vardi Y, Siroky MB. Hemodynamics of pelvic nerve induced erection in a canine model. II. Cavernosal inflow and occlusion. *J Urol* 1993;149:910-4
7. Jones RW, Rees RW, Minhas S, Ralph D, Persad RA, Jeremy JY. Oxygen free radicals and the penis. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3:889-97
8. Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542-8
9. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2032-7
10. Das I, Khan NS, Puri BK, Hirsch SR. Elevated endogenous nitric oxide synthase inhibitor in schizophrenic plasma may reflect abnormalities in brain nitric oxide production. *Neurosci Lett* 1996;215:209-11
11. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842-7
12. Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Azuma H. Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors for NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol* 1999;126:211-8
13. MacAllister RJ, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1994;5:1057-65
14. Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler* 2003;4(Suppl):33-40
15. Park K, Son H, Kim SW, Paick JS. Initial validation of a novel rat model of vasculogenic erectile dysfunction with generalized atherosclerosis. *Int J Impot Res* 2005;17:424-30
16. Shin JW, Park K, Kim SW, Paick JS. Putative asymmetric dimethylarginine - dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway in rat penile tissue: a biochemical and functional study. *Korean J Androl* 2004;22:124-31
17. Azuma H, Masuda H, Sato J, Niwa K, Tokoro T. A possible role of endogenous inhibitor for nitric oxide synthesis in the bovine ciliary muscle. *Exp Eye Res* 1997;64:823-30
18. NIH. Consensus development conference statement. National Institutes of Health Impotence. December 7-9. 1992. *Int J Impot Res* 1993;5:181-284
19. Rance J, Phillips C, Davies S, O'Malley B, Zaman Q, Price D. How much of a priority is treating erectile dysfunction? A study of patients' perceptions. *Diabet Med* 2003;20:205-9
20. Siroky MB, Azadzi KM. Vasculogenic erectile dysfunction: newer therapeutic strategies. *J Urol* 2003;170:S24-9
21. Andersson KE. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol* 2003;170:S6-13
22. Solomon H, Man JW, Jackson G. Erectile dysfunction and the cardiovascular patient: endothelial dysfunction is the common denominator. *Heart* 2003;89:251-3
23. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Construction of a surrogate variable for impotence in the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Epidemiol* 1994;47:457-67
24. Matsuoka H. Endothelial dysfunction associated with oxidative stress in human. *Diabetes Res Clin Pract* 2001;54(Suppl): S65-72
25. Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Luscher TF. Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. *Circulation* 1998;97:2494-8
26. Ayajiki K, Hayashida H, Okamura T, Toda N. Pelvic nerve stimulation-induced pressor responses in corpus cavernosum of anesthetized dogs. *Am J Physiol* 1997;273:H2141-5
27. Masuda H, Tsujii T, Okuno T, Kihara K, Goto M, Azuma H. Accumulated endogenous NOS inhibitors, decreased NOS activity, and impaired cavernosal relaxation with ischemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;282:R1730-8
28. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119:1533-40
29. Achan V, Tran CT, Arrigoni F, Whitley GS, Leiper JM, Vallance P. All-trans-Retinoic acid increases nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for the induction of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ Res* 2002;90:764-9