

## 백서의 음경해면체에서 고환제거에 따른 Apoptosis 및 p53의 변화

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 남성의학연구소, 이화여자대학교 의과학연구소\*

최영득 · 박진아 · 정우식\* · 최형기 · 최영진\*\*

### =Abstract=

#### Effects of Castration on Apoptosis and p53 in the Adult Rat Penis

Young Deuk Choi, Jin-Ah Park, Woo Sik Chung,\* Hyung Ki Choi and Yeong Jin Choi\*\*

From the Department of Urology and Institute of Andrology, Yonsei University College of Medicine,  
and Ewha Womans University Medical Research Center\*, Seoul, Korea

**Purpose:** Androgen plays an important role during penile development and is essential for a normal libido in the male, but its role in the regulation of the androgen receptor (AR) and maintenance of the erectile response has been controversial. We investigated the effect of androgen on the AR and apoptosis of the penile erectile tissue after castration.

**Materials and Methods:** Adult Sprague Dawley rats were divided into four groups: sham operation, castration, testosterone and dihydrotestosterone (DHT) replacement after castration. Androgens (testosterone, DHT) were administrated for 7 days at week 1, 2, 3, and 4 after castration. The AR mRNA expression detected by reverse transcription-PCR and percentage of apoptosis (apoptotic index) were analyzed in the penis. The relation between androgen and p53 was determined by Western blot analysis.

**Results:** Castration induced a progressive decrease in serum testosterone. As serum testosterone decreased, a reduction in AR mRNA expression was noted, along with an increase in apoptosis and p53 expression in the penis. Androgen replacement after castration increased the AR mRNA expression with a decrease in apoptosis and p53.

**Conclusions:** The adult rat penis was affected by the androgen milieu via AR expression and apoptosis. Therefore, androgens such as testosterone and DHT play a direct role in the erectile function of the adult rat.

**Key Words:** Androgen, Apoptosis, Castration, p53, Penis, Rat

### 서 론

남성호르몬에 영향을 받는 남성생식기인 고환, 세정관, 전립선 등은 남성호르몬이 apoptosis를 관여하여 그 기능을 유지한다. 고환에서 정상적으로도 일부 apoptosis가 일어나며 (1), 남성호르몬의 감소시 apoptosis가 더욱 야기되고 (2,3), 남성호르몬을 보충함으로서 apoptosis가 방지된다 (4). 전립선의 경우 남성호르몬은 선세포에서 apoptosis가 일어나는 것을 방지하여 증식을 유도하고, 남성호르몬

이 결핍되면 apoptosis가 나타난다 (5-7). 따라서 남성호르몬은 남성생식기에서 apoptosis를 조절하여 그 기능을 유지하는데 필요한 물질일 것으로 여겨지나 성인의 남성생식기 중 음경해면체에서 남성호르몬과 apoptosis와의 관계에 대해서는 최근 일부에서 연구 중이다.

Apoptosis는 세포의 정상적인 homeostasis를 조절하기 위하여 이루어지는 physiologic cell death로서 cytokine, hormone, growth factor 등과 같은 생체물질, 신호를 수용하는 수용체와 그 신호전달체계, 유전인자 등에 의하여 조절된다 (8-10).

p53 유전자는 종양에서 벤이가 발견된 대표적인 종양억제유전자로, DNA가 손상을 받았을 때 활성화되며, 세포주기의 G1기에서 멈추게 하여 DNA재생이나 apoptosis를 일으키게 한다 (11,12). 이러한 p53이 apoptosis에서의 역할에 대해 Strange 등 (13)은 mammary gland에서 호르몬결핍에

교신저자: 최영진, 영동세브란스병원 비뇨기과  
서울시 강남구 도곡동 146-92 ☎ 135-270  
전화 : 02) 3497-3475

\*본 연구는 1999학년도 연세대학교 의과대학 강사원구비의 일부지원에 의하여 이루어진 것임.

따른 apoptosis에서 p53이 상승함을 보고하고 있다. Colombel 등 (14)은 쥐의 전립선에서 거세에 따라 남성호르몬 결핍이 되면 p53이 증가하고 apoptosis가 유도되어 p53은 남성호르몬의 변화에 따른 apoptosis에 중요한 역할을 함을 보고하고 있어 음경해면체의 apoptosis에도 p53이 관여 하리라 여겨진다. 최근 노화에 따른 현상에서 p53이 증가 된다는 결과가 보고 (15,16)되고 노화에 따라 발기력 저하가 나타나고, 혈중 남성호르몬의 감소가 나타나 음경해면체에서 호르몬변화에 따른 p53의 변화관찰은 보고된 바 없으나, 음경해면체에서의 남성호르몬 결핍에 따른 apoptosis가 나타난다면 이에 p53이 관여하리라 여겨지나 음경에서 밝혀진 바 없다.

이에 본 연구에서는 성숙한 백서에서 거세로 남성호르몬 결핍을 유도한 후 기간에 따른 백서의 음경해면체에서 apoptosis의 변화가 일어나는지를 확인하고, 호르몬의 변화에 의해 나타나는 apoptosis에 영향을 미치는 조절인자로 보고되고 있는 p53의 변화를 관찰하여 성숙한 백서의 음경해면체에서 남성호르몬의 역할을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

#### 1) 실험동물 및 실험군 설정

350~450 gm의 Sprague-Dawley계 수컷 백서 190마리를 이용하였으며, 남성호르몬 결핍과 보충방법에 따라 I군: 가장수술만을 시행한 대조군, II군: 양측 고환제거군, III군: 양측 고환제거 일정기간 후 testosterone 보충군, IV군: 양측 고환제거 일정기간 후 DHT 보충군으로 분류하였다. 남성호르몬 결핍기간은 1, 2, 3, 4주로 하였고, testosterone 및 DHT 보충은 고환제거 1, 2, 3, 4주 후에 1주일간 시행하였다. 각 군의 실험동물은 각 시점마다 군당 최소 15마리로 나누었으며, 먹이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

#### 2) 남성호르몬 결핍 유발 및 보충

백서를 ketamine (35 mg/kg) 마취하에 하복부 피부와 근육을 횡으로 절개하여 양측 고환을 적출하였다. 대조군은 가장수술로 하복부 피부와 근육에 절개만을 가한 후 봉합하였다. 남성호르몬 보충으로 testosterone propionate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA; TP)와 dihydrotestosterone propionate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA; DHT)는 3.0 mg씩 sesame oil 0.1 ml에 용해시켜 하복부의 피하에 매일 주사하였고, 대조군 및 고환제거군은 sesame oil만을 같은 방법으로 주사하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 혈중 testosterone의 측정

각 군의 백서는 매주 품무게를 측정하여 실험군간 비교하였으며, 혈중 testosterone은 회생직전에 복부대정액에서 5 ml 채취하여 혈청을 분리한 후 영하 20°C에 냉동보관하

였다가 DPC's Coat-A-Count testosterone RIA kit (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

#### 2) 음경해면체 조직채취

각 군의 백서는 남성호르몬 결핍이 완료된 후 ketamine (35 mg/kg) 마취하에, 음경 전체를 절제하고 결체조직 및 지방조직을 제거하고, 세포학적 및 조직학적 검사를 위한 조직은 10%의 포르말린에 고정하고, western blot을 위한 조직은 생리식염수로 세척하여 여과자로 혈액 및 식염수를 제거 후 액화 절소에 즉시 동결시켜 영하 70°C에 보관하였다.

#### 3) 남성호르몬수용체 (AR) reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

동결된 조직 50 mg으로부터 1 ml RNA STAT60 solution (Tel-Test, TX, USA)을 이용하여 RNA를 분리한 후 diethyl-pyrocarbonate (DEPC)가 처리된 증류수에 녹여 cDNA의 합성에 이용하였다. 각각의 cDNA 합성을 위한 reaction volume을 50 µl로 하고 5×buffer 10 µl, AMV reverse transcriptase (38 U/µl; Takara, Japan) 0.2 µl, RNase inhibitor (20 U/µl; Takara, Japan) 0.5 µl, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 8 µl, 2.5 mM dNTP mixture 8 µl, random hexamer (20 pmole) 1 µl, 10 µg RNA와 DEPC가 처리된 증류수를 넣고 30°C에서 15분, 42°C에서 60분 동안 반응 후, 95°C에서 5분 동안 reverse transcriptase를 처리시킨 후 PCR 반응을 위한 cDNA로 이용하였다. 각각의 PCR 반응액은 10×PCR buffer 2 µl, Taq polymerase (5 U/µl) 0.5 µl, 2.5 mM dNTP mixture 4 µl, AR sense (5' CAT-gAA-AgC-ACT-gCT-ACT-CTT-CAg), anti-sense (5' gCT-CAC-CAT-ATg-ggA-CTT-gAT-TAg) primer 각각 1 µM, cDNA 반응액 5 µl와 DEPC가 처리된 증류수를 넣어 최종 반응액을 20 µl로 하여 PCR을 진행하였다. PCR 반응은 94°C/30sec, 60°C/30sec, 72°C/60sec의 조건으로 32 cycle을 실시하였으며 1.5% Agarose에 loading한 후 internal control로 사용한 β-actin과 비교하여 각각 246 bp에서 AR의 발현도를 비교 분석하였다.

#### 4) Apoptosis의 변화

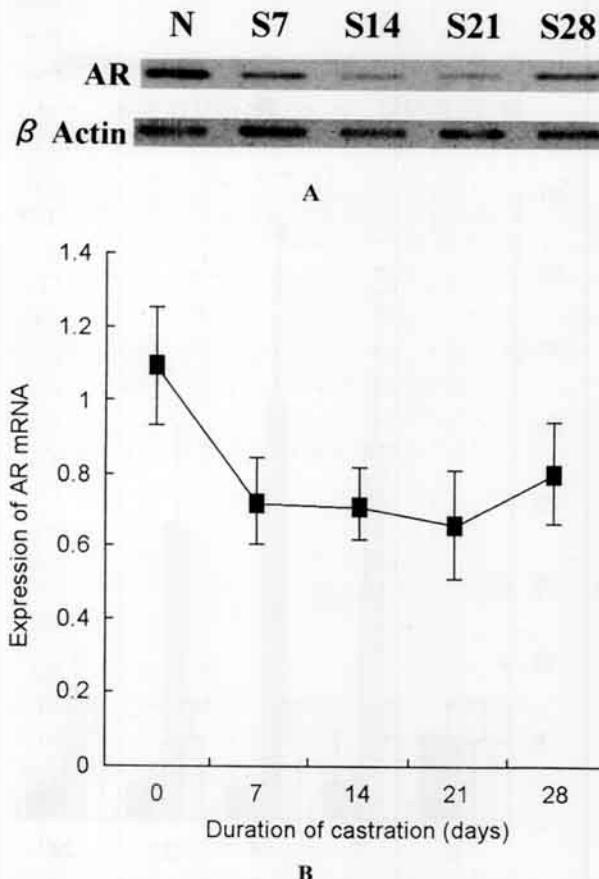
Apoptosis 관찰은 파라핀 포매조직에서 terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) 방법을 사용하였다. 파라핀 포매조직을 3 µm 두께로 silane coating slide에 붙여 xylene으로 탈립하고 100% ethanol과 80%, 50% ethyl 알코올에 차례대로 10분간 처리하여 함수시켰다. 처리된 절편을 proteinase K (60 µm/ml)로 37°C에서 10분간 처리하고 증류수로 세척하였다. 10분간 equilibration buffer로 씻은 뒤, Apoptag kit (Apop Tag in situ apoptosis detection kit, Oncor, Gaithersburg, Maryland, USA)를 사용하여 염색하였다. 즉 labelling safe buffer에 terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)를 섞어 37°C에서 90분 동안 배양하고, anti-digoxigenin-alkaline phosphatase를 작용시킨 다음 nitroblue tetrazolium-5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate로 발색하였다. 대조염색은 0.3% nuclear fast red로

시행하였다. 양성대조군으로는 인체의 편도선조직을 이용하였고 음성대조군으로는 TdT를 제외하고 증류수로 염색하여 관찰하였다. 염색 판정은 4부위 즉 외종축 백막, 내환상 백막, 평활근이 풍부한 근위부 해면체, 평활근이 상대적으로 적은 원위부 해면체로 구분하여 각 부위에 대해 무작위로 5군데를 선정하여 고배율에서 핵에 뚜렷하게 염색되는 세포를 합산한 백분율을 구하여 지수로 이용하였다.

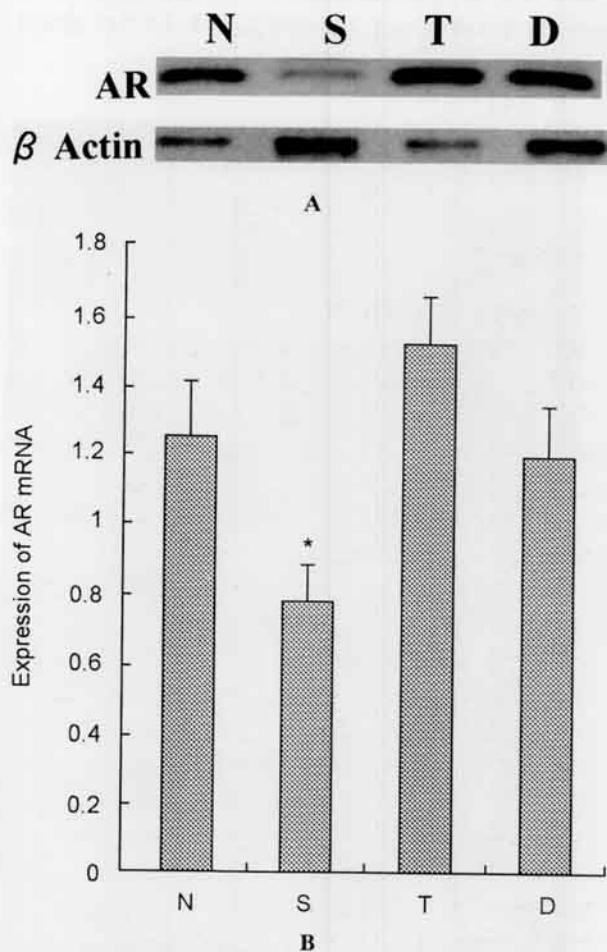
### 5) p53의 변화

조직 gm당 5배의 0.1 M PBS를 가하여 4°C에서 homogenizer로 분쇄하여 균질액을 만들고, 냉장원심분리기를 이용하여 12,000 g로 30분간 원심분리하여 상층액을 사용하였다. 균질액을 10 µl씩 취하여 sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 실시하였다. Separating gel은 10%로 조제하고, stacking gel은 5%로 만들어 사용하였다. 각 crude extract에 SDS와 β-mercaptoe-

thanol이 포함된 6×sample buffer를 넣고 100°C에서 3분간 가열하여 단백질을 변성시켜 gel에 loading하고 130 V에서 1시간 30분 동안 전기영동을 실시하였다. SDS-PAGE에 의해 분리된 단백질을 polyvinylidifluoride membrane에 transfer한 후 Ponceau S로 확인하고 blocking solution (5% skim milk/TBST)에서 4°C로 overnight하여 내인성 인자들을 차단하였다. 일차항체로는 monoclonal anti p53을 사용하며, blocking solution 5 ml에 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 배양하였다. TBST (1% Tween20/TBS)로 10분씩 3회 세척하고 rabbit anti-mouse IgG antibody (Sigma Chemical Co., USA)를 blocking solution 10 ml에 1:2500으로 희석한 후 실온에서 1시간 배양하였다. TBST로 세척 후 chemiluminescent substrate 용액으로 처리하고 Hyper film에 노출하여



**Figure 1.** AR mRNA expression in the castrated rat penis. AR mRNA expression was studied by RT-PCR. A. Representative band of AR mRNA separated in 1.5% agarose. B. Quantitative analysis of AR mRNA expression performed by each density of band. Mean  $\pm$  SEM are expressed as AR mRNA densitometric values compared with β-actin from 7 different rats. N; control, s7; 7 days after orchectomy, s14; 14 days after orchectomy, s21; 21 days after orchectomy, s28; 28 days after orchectomy.



**Figure 2.** Effects of androgen on AR mRNA expression in the adult rat penis. AR mRNA expression was studied by RT-PCR. A. Representative band of AR mRNA separated in 1.5% agarose. B. Quantitative analysis of AR mRNA expression performed by each density of band. Mean  $\pm$  SEM are expressed as AR mRNA densitometric values compared with β-actin from 7 different rats. N; control, S; 14 days after orchectomy, T; testosterone replacement after orchectomy, D; dihydrotosterone replacement after orchectomy.

현상하였다.

### 3. 자료분석

결과는 개인용 컴퓨터의 Excel 및 SPSS 7.5를 이용하여 평균과 표준오차를 구하였으며, 남성호르몬 결핍 시기변화에 따른 차이는 one-way analysis of variance를, 남성호르몬 결핍과 보충의 차이는 Student t-test를 이용하여  $p<0.05$ 일 때 의의있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 고환제거 및 남성호르몬 보충에 따른 혈중 testosterone의 변화

고환제거 전 혈청 testosterone은 3.49 ng/ml였으며, 고환제거 1일에 0.68 ng/ml로 감소하였고, 이후 4주까지 감소된

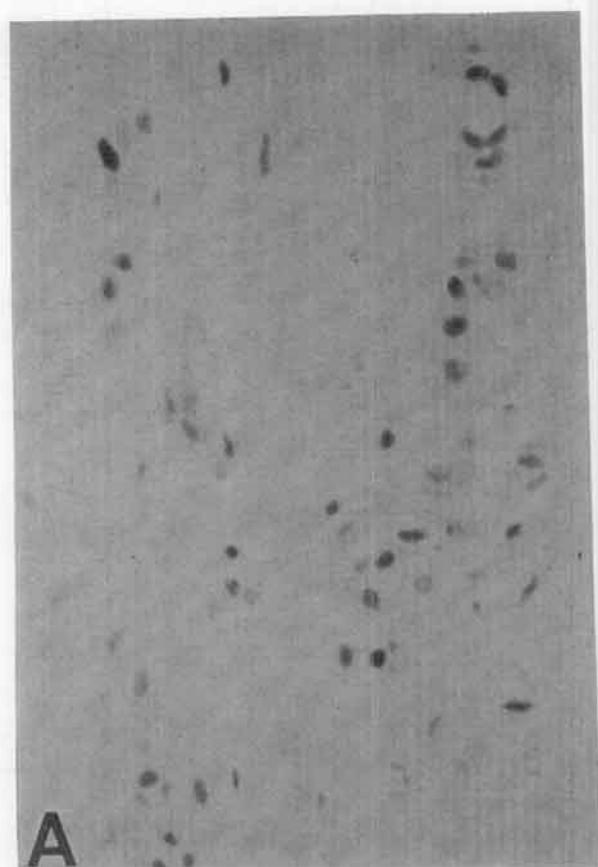
상태로 유지되었다. 고환제거에 따른 혈중 testosterone의 감소는 TP를 보충한 결과 고환제거기간에 관계없이 정상 대조군 수준으로 회복되었다. 고환제거 후 DHT를 보충한 결과 혈중 testosterone의 상승은 없었다.

### 2. 남성호르몬이 음경 AR mRNA에 미치는 영향

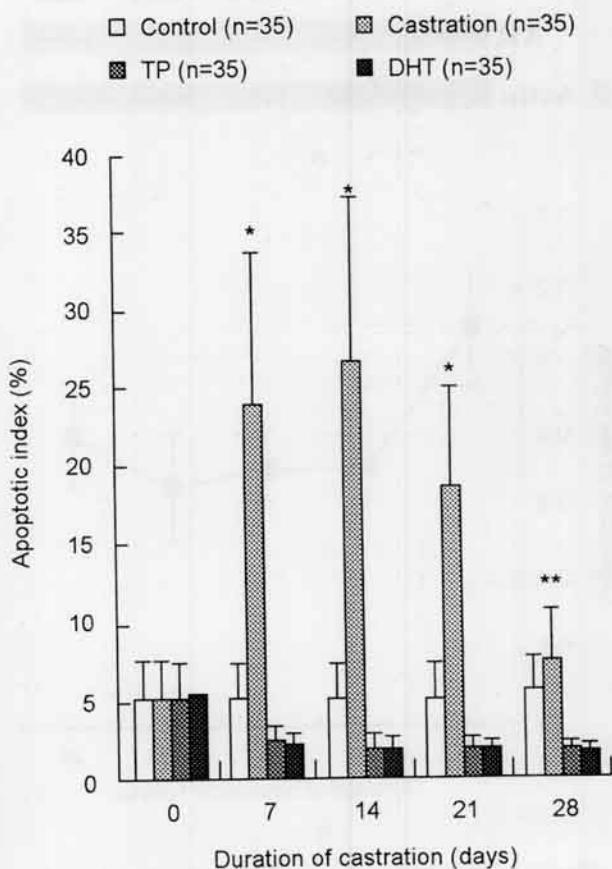
음경해면체의 AR mRNA 발현은 고환제거 일주일 후 66.1%로 감소하였으며 ( $p<0.01$ ), 고환제거 28일까지 유지되었다 (Figure 1). 고환제거에 따른 AR mRNA 감소는 TP나 DHT 보충 후 고환제거기간에 관계없이 정상대조군 수준으로 회복되었다 ( $p>0.05$ , Figure 2). TP과 DHT의 보충에 따른 정도를 비교하면 DHT를 보충한 경우 AR mRNA 발현정도가 강하였으나 의의있는 차이는 없었다 ( $p>0.05$ , Figure 2).

### 3. 남성호르몬이 음경의 apoptosis에 미치는 영향

음경의 apoptosis는 TUNEL 방법에서 핵에 진하게 색되

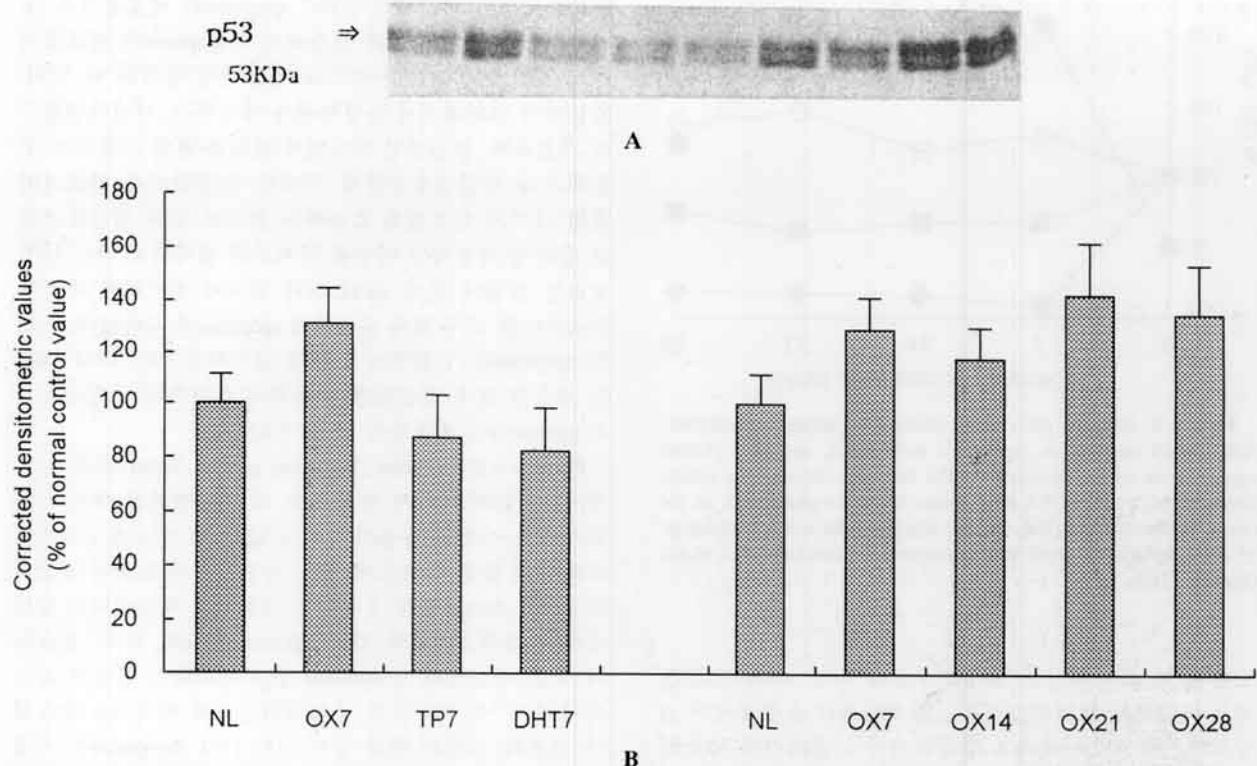


A



B

**Figure 3.** Effects of androgen on apoptosis in the adult rat penis. A. Formalin-paraffin longitudinal sections of the rat penis stained for apoptotic cell death using an in situ DNA fragmentation labelling system (Apoptag kit) at 7 days after castration ( $\times 400$ ). Extensively labeled nuclei are seen. B. Changes of apoptotic index (AI). AI represents the mean percentage of apoptotic cells in the penis. AI is significantly increased after castration and decreased with androgen replacement. Vertical bars are SEM. Significant difference compared with control (\*;  $p<0.01$ , \*\*;  $p<0.05$ ). Castration, Orchietomy bilateral; TH, Testosterone replacement after orchietomy; DHT, Dihydrotestosterone replacement after orchietomy.



**Figure 4.** Effect of androgen on the content of p53 in the cytosol fraction from the rat penis. **A.** Western blot analysis of p53 in the rat penis tissue. A p53 band at 53 KDa was detected in each penis. **B.** Densitometric analysis of the p53 53 KDa band. Mean and SEM of densitometric values (absorbance/ $\mu$ g protein) are expressed as % of normal control. Analysis of significance were compared with control (\*:  $p<0.05$ ). NL: intact control ( $n=7$ ), OX: castration ( $n=28$ ), TP: Testosterone replacement after orchiectomy ( $n=7$ ), DHT: Dihydrotestosterone replacement after orchiectomy ( $n=7$ ). Day means the duration of castration.

었다 (Figure 3). 정상대조군의 경우 백막 및 해면체에 일부 apoptosis가 나타났으며, 이러한 apoptosis는 고환제거 3~4일에 최고로 도달하였고 이후 감소하였다 (Figure 3). 고환제거로 나타난 apoptosis는 TP나 DHT를 보충한 경우 소실되었다. TP와 DHT 보충에 대한 정도를 비교하면 TP를 보충한 경우와 DHT를 보충한 경우 의의있는 차이는 없었다 ( $p>0.05$ ).

#### 4. 남성호르몬이 음경의 p53에 미치는 영향

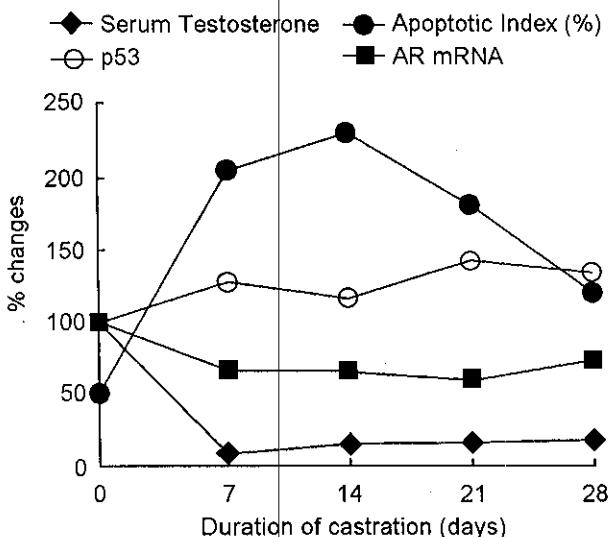
고환제거에 따라 음경의 p53은 증가하였다. 고환제거에 따른 p53의 증가는 고환제거기간에 따라 의의있는 차이는 보이지 않았으나 증가된 상태로 유지되었다 (Figure 4). 고환제거에 따른 음경 p53의 증가는 TP나 DHT를 보충함에 따라 감소하였다 (Figure 4).

#### 5. 혈중 testosterone과 AR mRNA, apoptosis 및 p53의 상관관계

고환제거에 따라 혈중 testosterone이 감소하면 음경의 AR mRNA는 감소되고, apoptosis가 증가하였으며 p53이 증가하였다 (Figure 5). 고환제거 후 남성호르몬을 보충함에 따라 음경의 AR mRNA 발현이 증가되었으며, apoptosis는 감소하고 p53도 감소하였다.

#### 고 찰

남성호르몬은 AR에 결합하여 생물학적 활성을 나타내게 되는데, AR의 양적인 조절에는 남성호르몬이 관여하리라 여겨지나 확실히 정립되어 있지 않다. 남성호르몬의 영향을 받는 남성생식기인 전립선에서 AR은 남성호르몬에 의해 하향조절된다는 보고가 있고 (17,18), 평활근, 부신,



**Figure 5.** Relative percentage changes of serum testosterone, AR mRNA expression, apoptotic index (AI), and p53 plotted against time after castration in the rat. The decrease in serum testosterone, AR mRNA expression is concomitant with an increase in the AI and p53. Values represent the mean percentage of each values referred to the respective intact control series determination.

고환 등 조직에서도 남성호르몬에 의한 AR의 조절은 서로 다양하게 보고되고 있다 (18,19). 성인 음경에서는 남성호르몬은 AR을 매개로 음경발기를 조절하리라 예측되나 남성호르몬 결핍과 보충 실험에서 AR은 남성호르몬에 의해 하향조절된다는 보고 (17,18,20)와 이에 상반되는 상향조절된다는 보고 (19,21)가 있어 아직 명확하지 않다. 본 연구 결과 음경해면체의 AR mRNA 발현은 고환제거 일주일에 66.1%로 감소하였으며 4주까지 감소된 상태로 유지되었다. 고환제거에 따른 AR mRNA 감소는 남성호르몬을 보충함으로써 고환제거기간에 관계없이 정상대조군 수준으로 회복되었다. 이러한 결과는 이미 서 등 (22)이 보고된 경우와 상이한 결과이나 본 연구자들이 면역염색방법에 의해서도 관찰한 바 있어 (23), 본 연구에서는 음경의 AR은 남성호르몬에 의해 상향조절됨을 알 수 있었다.

인체 기관이 정상적인 기능을 유지하기 위해서는 세포의 증식과 사멸에 균형이 이루어져야 하며, 이러한 증식과 사멸의 불균형은 질병과 기능 부전을 야기시킨다. Apoptosis는 세포의 정상적인 homeostasis를 조절하기 위하여 이루어지는 physiologic cell death로서 체내 성장 과정에 따른 세포의 성장 및 분화시 야기되며, 다양한 환경에 의하여 영향을 받아, 많은 생물학적, 생리적 인자 및 화학물질, 독성물질, 치료약물 등의 자극에 대한 기능 유지를 위해 세포내에서 야기될 수 있다 (8,9).

남성호르몬의 영향을 받는 남성생식기인 고환, 전립선에서 남성호르몬은 apoptosis를 조절하여 기능을 유지하게 한다. 고환에서 정상적으로 apoptosis가 일어나며 남성호르

몬 감소시 apoptosis가 증가되고, 남성호르몬 보충시 apoptosis가 억제되어 세포증식이 일어난다 (1,3). 전립선에서는 남성호르몬이 apoptosis를 억제하여 세포증식을 유도하는데 남성호르몬 결핍시 apoptosis가 야기된다 (5-7). 따라서 남성호르몬은 남성생식기에서 apoptosis와 세포증식의 조절인자로 작용할 것으로 추측되나 알려진 바 없다. 동물에서 고환제거시 음경무게가 감소하고, 해면체평활근이 감소하며, 전립선암 환자에서 치료로 흔히 사용되는 고환제거나 항남성호르몬제 투여시 음경발기가 약해지며 음경 크기가 감소함을 호소하는 것으로 보아 남성호르몬은 음경에 직접적인 영향을 미치리라 생각되고 이는 남성호르몬 결핍에 따른 apoptosis와 관계가 있으리라 추정할 수 있다. 본 연구 결과 음경에서 apoptosis가 나타났다. 이러한 apoptosis는 고환제거에 따라 감소하였으며, TP나 DHT를 보충한 경우 소실되었다. 따라서 음경에서 남성호르몬은 apoptosis를 조절함을 알 수 있다.

Apoptosis는 cytokine, hormone, growth factor 등과 같은 생체물질들에 의해서 조절되고, 다른 정상적인 세포와 마찬가지로 신호를 수용하는 수용체와 그 신호전달체계에 의해서 조절될 수 있으며, 일부 유전인자에 의하여 조절된다 (8-10). Apoptosis를 유발하는 신호에는 세포내외의 방사선이나 화학요법제의 자극, glucocorticoid의 자극, 호르몬의 소실, 성장인자 및 cytokine 등의 생화학적 물질의 자극이나 소실 즉 TGF-β 및 종양괴사인자의 자극, fas 수용체나 세포외 기질의 변화 등이 있다 (10). Apoptosis를 직접 실행시키는 세포내 기작에는 상승된 세포내 calcium에 의존하는 endonuclease, calpain, transglutaminase 등이 작용하여 이것들이 핵체 사이에 위치한 연결 DNA를 파괴시켜 180-200 base pairs의 특징적인 DNA 분절상이 나타난다. Apoptosis를 조절하는 핵내 유전자에는 bcl-2와 p53이 가장 잘 알려져 있다.

p53은 인체종양의 50% 내외에서 변이가 발견된 대표적인 종양억제유전자로, 이는 DNA가 손상을 받았을 때 활성화되어, 세포주기의 G1기에서 멈추게 하여 DNA재생이나 apoptosis를 일으키게 한다. p53단백은 전사조절 기능에 의해 p21, Gadd45 등의 단백의 생성을 증가시키는데 p21은 세포주기전반에 걸쳐서 cyclin-dependent kinase 및 PCNA의 작용을 억제하여 세포주기의 진행을 막고, Gadd45는 손상된 DNA의 복구를 촉진한다. 그러나 손상이 심하여 복구가 어려우면 세포는 apoptosis에 빠지는데 이는 c-myc 유전자의 발현을 통해서 간접적으로 혹은 bcl-2의 활성화를 억제하고, bax 유전자를 활성화시켜 apoptosis를 유도한다 (11,12). bcl-2 유전자가 활성화되면 24 kDa인 bcl-2 단백이 과발현되어 apoptosis를 억제하고, p53은 bcl-2의 활성화를 억제하고, bax 유전자를 활성화시켜 apoptosis를 유도하는 것으로 알려져 있다. 음경에서 p53 및 apoptosis에 관해서는 음경신경질단에서도 보고된 바 있으며 (24), 본 연구에서는 남성호르몬에 따른 음경에서의 apoptosis와

p53의 관계를 확인한 것으로서, 고환체거에 따라 음경의 p53은 증가하였고, 고환체거에 따른 음경 p53의 증가는 TP나 DHT를 보충함에 따라 감소하였다. 따라서 고환체거에 따라 음경의 p53은 증가하고 이에 apoptosis가 나타나며, 남성호르몬 보충으로 음경의 p53이 감소하면 apoptosis가 감소함을 알 수 있다. 그러나 본 연구에서 남성호르몬 결핍에 따른 AR mRNA 및 p53은 지속적으로 감소가 유지되는데 비해 apoptosis는 고환체거 3~5일에 최고로 도달후 점차 그 감소폭이 작아지는 것으로 보아 음경의 남성호르몬 감소에 따른 apoptosis에는 AR 및 p53 감소뿐 아니라 생체의 다른 조절인자가 관여하리라 여겨진다.

## 결 론

본 연구에서는 성숙한 백서에서 거세로 남성호르몬 결핍을 유도한 후 기간에 따른 백서의 음경해면체에서 apoptosis의 변화가 일어나는지를 확인하고, 호르몬의 변화에 의해 나타나는 apoptosis에 영향을 미치는 조절인자로 보고되고 있는 p53의 변화를 관찰한 결과 성인의 음경에서 고환체거에 따라 혈중 testosterone이 감소하면 음경의 AR mRNA는 감소되었고, apoptosis가 증가하였으며 p53이 증가하였다. 고환체거 후 남성호르몬을 보충함에 따라 음경의 AR mRNA 발현이 증가되었으며, apoptosis는 감소하고 p53도 감소하였다. 이상의 결과로 성숙이 완료된 성인 백서 음경에서 남성호르몬은 AR을 매개로 apoptosis의 조절에 영향을 미치는데, 남성호르몬 결핍에 의한 apoptosis 유발기전으로 음경의 p53 증가가 관여하리라 여겨진다.

## REFERENCES

- 1) Hsueh AJ, Eisenhauer K, Chun SY, Hsu SY, Billig H. Gonadal cell apoptosis. *Recent Prog Horm Res* 1996; 51: 433-55.
- 2) Troiano L, Fustini MF, Lovato E, Frasoldati A, Malorni W, Capri M, et al. Apoptosis and spermatogenesis: evidence from an *in vivo* model of testosterone withdrawal in the adult rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 202: 1315-21.
- 3) Herniksen K, Hakovirta H, Parvinen M. Testosterone inhibits and induces apoptosis in rat seminiferous tubules in a stage-specific manner: *In situ* quantification in square preparations after administration of ethane dimethane sulfonate. *Endocrinology* 1995; 136: 3285-91.
- 4) Tapanainen JS, Tilly JL, Vihko KK, Hsueh AJ. Hormonal control of apoptotic cell death in the testes: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. *Mol Endocrinol* 1993; 7: 643-50.
- 5) Colombel MC, Butyan R. Hormonal control of apoptosis: the rat prostate gland as a model system. *Methods Cell Biol* 1995; 46: 369-85.
- 6) Wright AS, Thomas LN, Douglas RC, Lazier CB, Rittmayer RS. Relative potency of testosterone and dihydrotestosterone in preventing atrophy and apoptosis in the prostate of the castrated rat. *J Clin Invest* 1996; 98: 2558-63.
- 7) Denmeade SR, Lin XS, Isaacs JT. Role of programmed (apoptotic) cell death during the progression and therapy for prostate cancer. *Prostate* 1996; 28: 251-65.
- 8) Muschel RJ, Bernhard EJ, Garza L. Induction of apoptosis at different oxygen tension: evidence that oxygen radicals do not mediate apoptotic signaling. *Cancer Res* 1995; 55: 995-8.
- 9) Vaziri H, Benchimol S. From telomere loss to p53 induction and activation of a DNA-damage pathway at senescence: the telomere loss/DNA damage model of cell aging. *Exp Gerontol* 1996; 31: 295-301.
- 10) Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
- 11) Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
- 12) Liebermann DA, Hoffman B, Steinman RA. Molecular controls of growth arrest and apoptosis: p53-dependent and independent pathways. *Oncogene* 1995; 11: 199-210.
- 13) Strange R, Li F, Saurer R, Burkhardt A, Friis RR. Apoptotic cell death and tissue remodelling during mouse mammary gland involution. *Development* 1992; 115: 49-58.
- 14) Colombel M, Olsson CA, Ng PY, Butyan R. Hormone-regulated apoptosis results from reentry of differentiated prostate cells onto a defective cell cycle. *Cancer Res* 1992; 52: 4313-9.
- 15) Vaziri H, Benchimol S. From telomere loss to p53 induction and activation of a DNA-damage pathway at senescence: the telomere loss/DNA damage model of cell aging. *Exp Gerontol* 1996; 31: 295-301.
- 16) Wynford-Thomas D. p53: guardian of cellular senescence. *J Pathol* 1996; 180: 118-21.
- 17) Shen R, Lin MC, Sadeghi F, Swerdloff RS, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Androgens are not major down-regulators of androgen receptor levels during growth of the immature rat penis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 57: 301-13.
- 18) Burnstei KL, Maiorino CA, Dai JL, Cameron DJ. Androgen and glucocorticoid regulation of androgen receptor cDNA expression. *Mol Cell Endocrinol* 1995; 115: 177-86.
- 19) Matsumoto A, Arai Y, Prins GS. Androgenic regulation

- of androgen receptor immunoreactivity in motoneurons of the spinal nucleus of the bulbocavernosus of male rats. J Neuroendocrinol 1996; 8: 553-9.
- 20) Takane KK, George FW, Wilson JD. Androgen receptor of rat penis is down-regulated by androgen. Am J Physiol 1990; 258: E46-50.
- 21) Gonzalez-Cadavid NF, Lemmi C, Swerdloff RS, Rafjer J. Expression of the androgen receptor gene in rat penile tissue and cells during sexual maturation. Endocrinology 1991; 129: 1671-8.
- 22) 서성일, 백재승. 백서 음경에서 남성 호르몬의 환경변화가 남성호르몬 수용체 mRNA의 발현과 발기애 미치는 영향. 대한비뇨회지 1998; 39: 1-8.
- 23) 최영득, 최형기. 성숙 백서의 음경해면체에서 남성호르몬의 변화가 남성호르몬 수용체의 발현과 apoptosis 및 세포증식에 미치는 영향. 대한비뇨회지 1999; 40: 497-505.
- 24) 김수웅, 김가동, 백재승. 발기부전에 대한 denervation 의 영향: 백서음경해면체 평활근세포의 apoptosis와 관련된 발기능의 저하. 대한남성과학회지 1998; 16: 35-40.