

제24회 한국 양돈대상

【연구 및 관련 산업 부문】

방명걸 교수

【중앙대학교 동물생명공학과】

◑ 주요 경력

- 2003년~현재 중앙대학교 동물생명공학과 교수
- 2009년~현재 한국과학기술한림원 정회원
- 2018년~현재 이공분야 대학중점연구소 중앙대학교 생명환경연구원 원장
- 2021년~현재 이공분야 대학중점연구소 협의회 회장
- 2023년~현재 한국과학기술한림원 과학기술유공자 후보자발굴 위원회 위원
- 2005년~2009년 국립축산과학원 겸임연구관
- 2008년~2012년 국립축산과학원 우수정액등처리업체 인증위원회 위원
- 2011년~2013년 중앙대학교 생명자원발굴 및 실용화센터 센터장
- 2015년~2015년 한국발생생물학회 회장

◑ 주요 공적

· **양돈업계 후진 양성에 노력** : 중앙대학교 동물생명공학과 교수로 재직하며 후계자 양성에 힘쓰고 있으며, 많은 우수한 인재들을 배출하였다.

· **양돈 분야 연구 업적** : 수퇘지 수태성에 관한 전문연구학자로 수퇘지 수태성의 예측, 진단 및 진단 마커 개발의 연구 등을 오랜 기간 수행하며 현장과 연계한 연구를 통해 수퇘지의 수태성 진단을 90% 이상 정확히 할 수 있는 발판을 구축하였다. 또한 2두 이상의 산자수를 향상시킬 수 있는 정자 내 특정 바이오마커를 발견하는 등 산자수 향상 관련 연구는 세계적으로 이 분야를 선도하는 역할을 하고 있다. 미국, 영국, 스페인, 중국 등 국제학회에서 특강 연자로 초청받아 돼지 산자수 향상 관련 6회의 기조강연을 통해 기술을 전파하고, 그에 더해 논문 198편을 출판하였으며, 그중 60편이 돼지의 산자수 향상에 관한 기초 및 현장중심 연구이다. 또한 국제특허 3건, 국내특허 17건 및 5건의 기술 이전을 하였으며, 그중 국제특허 3건과 국내 특허 12건이 돼지의 산자수 향상에 관한 연구에 기반을 두고 있다.

생산성 향상을 위한 수퇘지 수태성의 중요성



방 명 걸 교수
중앙대학교 동물생명공학과

현재 소의 70%, 돼지의 90%가 인공수정(AI)을 통해 생산되고 있으며, 이를 위해 정액의 질이나 수컷의 수태성을 검사하기 위한 여러 가지 방법이 개발되고 있다(Kang et al., 2019). 정액의 질과 관련된 문제는 유럽과 북미 국가들의 AI시설에서 정액 생산용 수퇘지를 교체하는 가장 일반적인 원인이 되고 있다(Robinson & Buhr, 2005). 흥미로운 사실은 이 수퇘지들이 이미 정액검사에서는 정상으로 판정받았다는 것이다. 약 10~30%의 수퇘지가 정액의 질, 즉 수태성이 만족스럽지 못하여 AI 프로그램에서 제거된다고 한다.

낮은 수태성은 축산업 생산성 저하의 주원인이 되고 있다. 수컷의 낮은 수태성에 기여하는 요인 중 낮은 정자의 질이 지배적인 요인이다. 이 문제로 인해 축산업에서는 상당한 경제적 손실이 발생한다. 따라서 정액의 질이나 수컷의 수태성에 대한 정확한 예측이나 평가는 오늘날 축산업에 있어 매우 중요한 이슈이다.

정자 수, 운동성, 형태 검사를 포함한 기존 정액검사를 통해 정자의 양적 정보를 제공받을 수 있다. 이러한 변수들은 전 세계적으로 일상적인 정액검사 방법으로 잘 표준화되어 있지만 현장에서의 가치는 여전히 의심스럽다. 따라서 수컷의 수태성 예측이나 진단을 위한 정확한 도구의 개발이 매우 중요하다. 그러나

현재 다양한 생리학적, 병리학적 측면을 포함하여 정자에 대한 이해와 지식은 여전히 제한적이며 잘 정의되어 있지 못하다(Khatun et al., 2018).

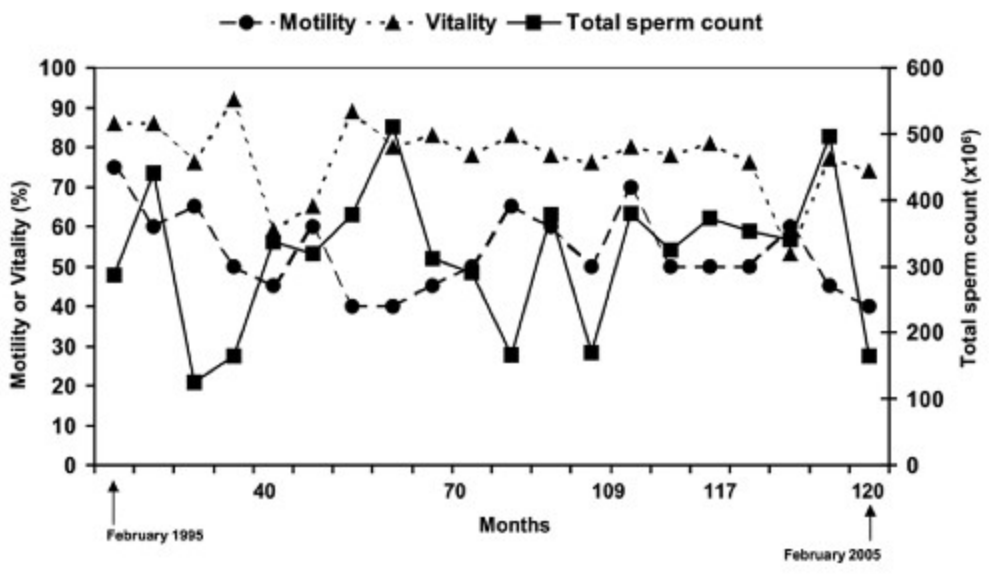
Accuracy of Semen Analysis

	Normal Fertilization	Abnormal Fertilization
Normal S/A (n=95)	87	8
Abnormal S/A (n=28)	21	7
Sensitivity		80.6%
Specificity		46.7%
Positive Predictive Value		91.6%
Negative Predictive Value		25.0%
Overall diagnostic accuracy		76.4%

(그림 1) 인간에서 정액검사의 진단 정확성 (방 등, 1993)

먼저 생각해 볼 점은 정액검사가 과연 수컷의 수태성이나 불임을 얼마나 잘 **식별할 수 있는가이다.** 동물 모델에서는 수컷의 수태성 예측이나 진단을 위한 정액검사 결과의 정확성에 대한 연구가 없기 때문에 인간의 경우를 예로 들어 보겠다. (그림 1)에서 보듯이 정액검사의 정확성을 확인하기 위해 체외수정 시 정상 수정과 비정상 수정 결과를 비교했다. 민감도(sensitivity)와 양성예측치(positive predictive value)는 높게 나타났으나 특이도(specificity)와 음성예측치가 매우 낮게 나타났다. 즉 정액검사가 WHO 정액검사 기준을 충족하지 못하더라도 정상적인 수정이 가능한 경우가 발생할 수 있다. 이러한 문제로 인해 인간에서 정액검사의 진단 **정확성은 실험방법이 잘 설정된 실험실에서도 약 76% 선의 정확성 밖에 이끌어 낼 수 없다.**

(그림 2)는 수태성이 정상인 남성에서 10년간 정액검사를 시행한 결과인데 사정 당 심한 변이를 보인다(Sergerie et al., 2006). 정액검사가 정액의 양적 정보



(그림 2) 수태성이 정상인 남성의 10년간 추적한 정액 변수의 변이
(Sergerie et al., 2006)

에 대해 정확하다고 간주되더라도 정액 수, 운동성, 생존성 등의 양적 변수들은 사정할 때마다 큰 변이를 보인다. 이러한 변이는 정액검사의 진단 가치를 더욱 낮추게 된다.

다음은 현장에서 어떻게 수퇘지의 수태성을 측정할 수 있는지 알아보고자 한다. 인공수정 18~24일 후 발정이 나타나지 않는 암컷의 비율(non return rate), 인공수정 후 22일 초음파 검사에 따른 임신 비율, 한 번의 발정 동안 인공수정 이후 새끼 돼지를 분만하는 암컷의 분만율, 평균 산자수 또는 태어난 총 새끼 돼지 수, 연간 총 태어난(살아있는) 새끼 돼지의 수로 측정할 수 있다(Amann et al., 2018). 각각의 측정치는 수퇘지 수태성을 다른 시각으로 바라보고 측정하므로 상호 관계가 적을 수 있다. 현장에서는 수퇘지 수태성을 주로 분만율이나 산자수로 나타낸다. 각 농장에서 생산성을 향상시키고자 할 때 어떤 표현형을 향상시키는 것이 유리한 지 우선적으로 고민하여야 한다. 우리나라에선 분만율보다는 산자수가 양돈 선진국에 비해 크게 떨어지므로 이 표현형과 관계가

밀접한 수퇘지 수태성 요인을 찾아 내는 것이 시급하다.

(표 1)은 수태성 관련 마커를 발견하기 위해 사용한 수퇘지의 인공수정 후 분만율과 산자수 결과이다. 흥미롭게도 11~24두 암퇘지에 각각의 수퇘지 정액으로 인공수정한 결과에서 많지 않은 암퇘지를 실험에 공유했음에도 분만율이나 산자수로 나타난 수퇘지의 수태성의 변이는 크지 않았다(Pang et al., 2022). 즉 앞서 언급한 양적 정액 변수들은 매우 가변적이지만, 수퇘지 고유의 수태성은 상대적으로 일정했다. 그러면 여기서 한 가지 의문이 생긴다. 분만율 혹은 산자수로 측정한 결과를 가변적인 정액 분석 결과와 연관시키는 것이 가능할 것인가? 가변적인 정액검사를 이용하여 수퇘지의 고유 수태성을 측정할 수 있을 것인가? 따라서 매우 가변적인 정액 변수와 안정적인 수퇘지의 수태성 사이의 간격을 줄이려면 수퇘지의 수태성을 예측하기 위해 보다 본질적이고 안정적인 인자를 측정하는 도구가 필요하다.

(표 1) 인공수정 후 수퇘지에 따른 분만율 및 산자수 결과 (Pang et al., 2022)

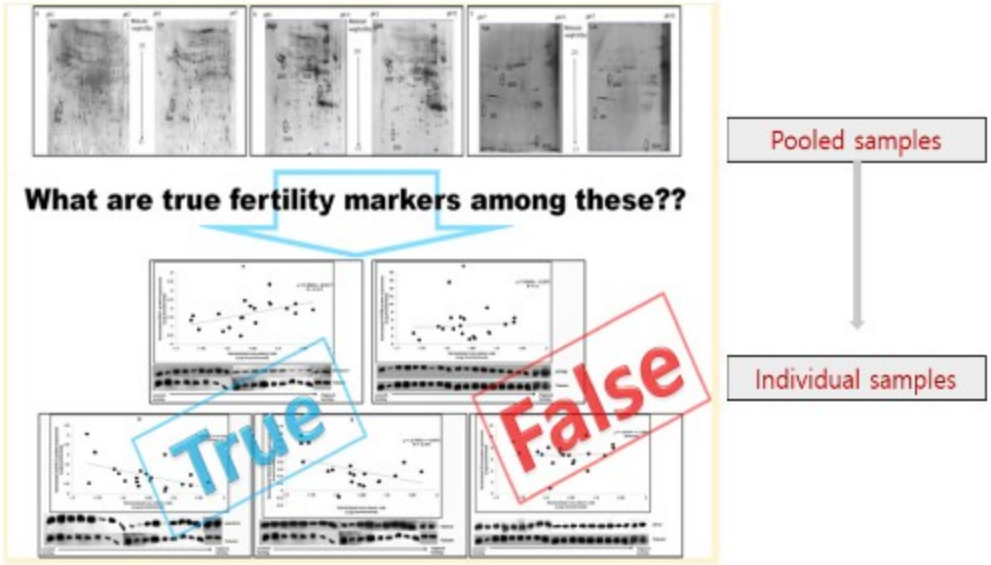
ID	No. of sows inseminated	Farrowing rate (%)	Litter size
A	13	90.00 ± 1.00	14.35 ± 0.52
B	15	89.35 ± 1.25	14.13 ± 0.75
C	22	93.13 ± 1.20	14.00 ± 0.70
D	18	92.00 ± 0.28	13.72 ± 0.82
E	20	87.54 ± 2.81	13.60 ± 0.88
F	20	85.74 ± 0.78	13.59 ± 0.65
G	22	100.00 ± 0.00	13.57 ± 0.73
H	21	90.48 ± 1.40	13.51 ± 0.72
I	11	90.00 ± 2.00	13.34 ± 0.74
J	14	90.00 ± 2.21	13.00 ± 0.50
K	20	95.52 ± 4.82	12.91 ± 0.62
L	15	100.00 ± 0.00	12.83 ± 0.68
M	20	85.42 ± 1.63	12.72 ± 0.57
N	24	91.70 ± 1.22	12.71 ± 0.83
O	21	100.00 ± 0.00	12.47 ± 0.71
P	20	87.32 ± 1.71	12.31 ± 0.96
Q	16	94.39 ± 0.96	11.83 ± 0.95

Collins 등(2008)은 정자 기능 검사의 필수 조건의 한계에 대처하기 위해 2~3단계 접근 방식이 제안하였다. 즉 정자 수와 객관적인 운동역학(kinematics) 검사, 정자 수정능 획득과 첨체반응 검사, 정자-투명대 결합 검사, 투명대 제거 햄스터 난자 침투 검사 중 복합적으로 포괄적인 정자의 기능 평가 프로토콜을 시행하여 현재 정액검사의 문제점을 해결할 수 있다고 제안하였으나 모든 검사를 포괄적으로 시도하는 전략은 실질적으로 가능하지 않다.

그러므로 Corner와 Barratt(2006)는 남성 불임과 정자 기능 장애를 평가하는 미래 프로젝트를 위한 다음의 세 가지 플랫폼을 제안했다. 첫째, 포괄적인 고품질 정액 평가가 개발되어야 하며 표준 정액검사를 개선하기 위해 모든 노력을 기울여야 한다. 둘째, 남성 수태성에 대한 전 세계적으로 조정된 게놈 및 단백질학 **접근이 필요한 시점이다.** 셋째, 남성 수태성과 관련된 새로운 게놈과 프로테옴의 기능을 규명할 필요가 있다. 본인은 여기에 chip 혹은 kit 기반의 상용화를 추가하고 싶다. 검사의 자동화까지 곁들이면 금상첨화일 것이다. 물론 이 분야에 급속한 기술개발이 이루어지겠지만 이들의 사용은 현장 및 임상 환경에서 엄격한 테스트를 거쳐야 한다.

최근 omics 기법 덕분에 omics 데이터를 활용한 다양한 바이오마커가 개발되고 있다. 또한 omics는 최첨단 sequencing 및 array 기술을 기반으로 생명과학 연구에 급속히 떠오르고 있다. 최근 수많은 omics 데이터가 폭발적으로 축적되고 있으며, 누구나 손쉽게 접근할 수도 있다. 그러나 이를 통해 진정한 바이오마커를 개발하기 위해서는 충분한 데이터 해석과 검증이 필요하다.

본인의 연구실에서는 바이오마커를 이용한 수퇘지 수태성 진단 기술을 개발하고 있는데 이 경험을 공유하고자 한다. 먼저 정상(고수태성) 수퇘지 정자와 저수태성 수퇘지 정자 사이에 포괄적인 비교 omics 연구를 수행했다. **그리고 확인된 omics 데이터는 광범위한 개별 수태지의 인공수정 결과와 함께 비교 분석하여 엄격한 현장 시험에서의 산자수와 상관관계가 있는지를 확인했다.** 또한 수퇘지 수태성과 관련된 새로운 유전자의 기능을 규명하고 있다. 이러한 힘든 과정을 거쳐 진정한 수퇘지 수태성 관련 바이오마커가 탄생하게 된다. 다시 한 번



(그림 3) 정자의 수태성 관련 바이오마커 개발 및 검증 (Park et al., 2012)

강조하고 싶은 점은 **엄격한 현장 시험을 통해 개별 수퇘지 정액 샘플 정자에서 발견된 바이오마커를 검증**하여야 한다(그림 3, Park et al., 2012).

(표 2)는 본 연구실에서 단백질체학 방법으로 정자에서 발견한 5종의 수태성 단백질 마커로 높은 정확성을 보여 수퇘지 수태성의 진단 및 예측에 유용하다. 또한 좀 더 민감하고 편리한 마커를 개발하기 위하여 정자 전사체를 분석한 결과(표 3) 민감도가 높은, 즉 진단의 정확성이 높은 RNA 마커들을 개발할 수 있

(표 2) 본 연구실에서 개발된 단백질 마커의 수태지 수태성 진단 정확성 (Kwon et al., 2015)

Correlation between expression level of RAB2A, TPI, NDUFS2, CALM, MDH2 and litter size

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Negative predictive value (%)	Positive predictive value (%)	Overall accuracy (%)
RAB2A	90.91	44.44	80.00	66.67	70.00
TPI	72.73	44.44	57.14	61.54	60.00
NDUFS2	90.91	44.44	80.00	66.67	70.00
CALM	81.82	88.89	80.00	90.00	85.00
MDH2	90.91	66.67	85.71	76.92	80.00

(표 3) 본 연구실에서 개발된 RNA 마커의 수퇘지 수태성 진단 정확성 (Pang et al., 2022)

Gene	Cut-off value	AUC	Sensitivity (%)	Specificity (%)	NPV (%)	PPV (%)	OA (%)
EQTN	1.0	0.8	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0
ZP4	1.2	0.9	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
UNC13B	1.5	0.6	60.0	50.0	55.6	54.5	55.0
RIMS1	1.1	0.6	50.0	40.0	44.4	45.5	45.0
SPACA3	2.0	0.8	70.0	70.0	70.0	70.0	70.0

었다(Pang et al., 2022). 정자에서 발견한 단백질 마커나 RNA 마커 모두 AI 현장에 적용 시 마커의 종류 및 종에 따라 0.8~2.5두의 산자수를 향상시킬 수 있었다.

다행히도 본인의 연구실에서 수퇘지의 수태성, 즉 산자수를 90%에 육박하는 정확성으로 예측 및 진단할 수 있는 바이오마커 여러 종을 발견하였다. 앞으로 kit, chip 개발, 특히 point-of-care-testing 같은 자동화 기술과 연결되도록 개발된다면 양돈농가 등 현장에서도 용이하게 활용할 수 있다. 물론 실용화 단계까지 가야 할 길은 멀다. 그러나 분명한 것은 이러한 접근이 산자수 문제, 즉 생산성 향상의 열쇠임을 강조하고 싶다. 향후 많은 지원이 이 분야에 지원되어 진다면 오히려 양돈선진국보다 더 많은 산자수를 자랑할 시기도 올 수 있지 않을까 희망을 가져 본다.

참고문헌

1. 방명걸, 오선경, 신창재, 김정구, 문신용, 장윤석, 이진용. Sperm Penetration Assay의 임상적 타당성에 관한 연구. 대한불임학회잡지 1993, 20:1-7.
2. Amann RP, Saacke RG, Barbato GF, Waberski D. Measuring Male-to-Male Differences in Fertility or Effects of Semen Treatments. Annu Rev Anim Biosci. 2018 Feb 15;6:255-286.

3. Collins ED, Flowers WL, Shanks RD, Miller DJ. Porcine sperm zona binding ability as an indicator of fertility. Anim Reprod Sci. 2008 Feb 1;104:69-82.
4. Corner JS, Barratt CLR. Genomic and proteomic approaches to defineing sperm. In The sperm cell, eds De Jonge, Barratt CLR. 2006. pp 49-71. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
5. Kang S, Pang WK, Ryu DY, Song WH, Rahman MS, Park YJ, Pang MG. Porcine seminal protein-I and II mRNA expression in boar spermatozoa is significantly correlated with fertility. Theriogenology. 2019 Oct 15;138:31-38.
6. Khatun A, Rahman MS, Pang MG. Clinical assessment of the male fertility. Obstet Gynecol Sci. 2018 Mar;61:179-191.
7. Kwon WS, Rahman MS, Lee JS, Yoon SJ, Park YJ, Pang MG. Discovery of predictive biomarkers for litter size in boar spermatozoa. Mol Cell Proteomics. 2015 May;14(5):1230-40.
8. Pang WK, Amjad S, Ryu DY, Adegoke EO, Rahman MS, Park YJ, Pang MG. Establishment of a male fertility prediction model with sperm RNA markers in pigs as a translational animal model. J Anim Sci Biotechnol. 2022 Jul 7;13(1):84.
9. Park YJ, Kwon WS, Oh SA, Pang MG. Fertility-related proteomic profiling bull spermatozoa separated by percoll. J Proteome Res. 2012 Aug 3;11(8):4162-8.
10. Robinson JAB, Buhr MM. Impact of genetic selection on management of boar replacement. Theriogenology. 2005 Jan 15;63:668-78.
11. Sergerie M, Mieusset R, Daudin M, Thonneau P, Bujan L. Ten-year variation in semen parameters and sperm deoxyribonucleic acid integrity in a healthy fertile man. Fertil Steril. 2006 Nov;86(5):1513.e11-8.