

팔정산약침이 실험적으로 유발된 전립선 비대증 Rat에 미치는 영향

김채원, 이광호*

하상지대학교 한의과대학 침구의학교실



[Abstract]

Effects of *Paljeong-san* Pharmacopuncture on Experimental Rat Model of Benign Prostatic Hyperplasia

Chae Weon Kim and Kwang Ho Lee*

Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Oriental Medicine, Sangji University

Objectives : The aim of this study is to evaluate the effect of *Paljeong-san* pharmacopuncture(PJS) on the rat model of benign prostatic hyperplasia(BPH).

Methods : Rats were divided into 5 groups, with 6 rats in each group. The 5 groups included sham-operated group(sham group), BPH model group(BPH group), finasteride-treated group (fina group), PJS-treated groups(PJS 10 and PJS 100 group). Testosterone was injected subcutaneously to the castrated rats except sham group for BPH model. During 4-week experimental period, finasteride(5 mg/kg) was administrated orally once daily in fina group, PJS in PJS 10(10 mg/kg) and PJS 100(100 mg/kg) group and normal saline in sham and BPH group were injected subcutaneously once daily at *Jungwan*(CV₁₂).

We checked prostate weights, serum concentration of dihydrotestosterone(DHT), morphologic changes of the prostate, and the amount of expression of the proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and 5 α -reductase gene to evaluate the effect of PJS after 4-week experimental period.

Results : 1. PJS and finasteride treatment reduced prostate weights comparing with BPH group, but PJS-treated groups showed no significant changes, unlikely fina group.
 2. PJS-treated groups showed significant decreases in concentration of DHT.
 3. PJS-treated groups showed significant decreases concentration-dependently in the amount of expression of the PCNA and 5 α -reductase gene.
 4. PJS treatment showed shrinking of thickness in the prostatic epithelial tissue.

Conclusions : PJS has the effects that improve the symptoms of BPH through inhibiting proliferation of the prostatic tissues.

Key words :
 Benign prostatic hyperplasia;
Paljeong-san;
 Pharmacopuncture;
 Finasteride

Received : 2014. 02. 12.
 Revised : 2014. 03. 05.
 Accepted : 2014. 03. 10.
 On-line : 2014. 03. 20.

* Corresponding author : Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Oriental Medicine, Sangji University, 280, Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do, 220-955, Republic of Korea
 Tel : +82-33-741-9257 E-mail : redphilips@hanmail.net

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The Acupuncture is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.or.kr>)
 Copyright © 2014 KAMMS. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

I. 서론

양성 전립선비대증(benign prostatic hyperplasia, 이하 BPH)은 조직학적으로 전립선 transition zone의 평활근과 상피세포의 증가를 일컬으며¹⁾, 빈뇨, 야간뇨, 요절박, 잔뇨감, 약뇨, 요주저, 간헐뇨 등의 하부요로증상²⁾, 방광 출구폐색, 전립선의 용적증가의 소견이 모두 있을 때 임상적으로 의미 있는 진단이 가능하다³⁾.

특히 하부 요로증상(lower urinary tract symptoms)의 악화는 남성 노인성 질환 중 흔한 변화이며, BPH에 의해 발생하는 경우가 약 80 %에 이른다³⁾. 비록 이러한 증상이 생명을 위협하는 경우는 흔치 않지만 삶에 뚜렷한 영향을 미친다⁴⁾.

전통적으로 BPH 치료의 가장 중요한 목표는 전립선이 비대해짐으로써 발생하는 하부 요로계 증상을 경감시켜주는 것이며, 최근에는 추가적으로 병의 진행을 바꾸는 것과 이로 인해 이차적으로 생길 수 있는 합병증을 막는 데 초점을 두고 있다⁵⁾.

BPH 환자에 대한 치료 방법으로 경과 관찰, 약물치료, 보완 및 대체의학(complementary and alternative medicine), 최소 침습치료, 수술요법을 들 수 있다. 약물치료로는 α 차단제와 dutasteride, finasteride의 5-ARI 등이 있고¹⁾ 수술요법으로는 경요도전립선절제술(transurethral resection of prostate, TURP)과⁶⁾, 최근에는 홀mium 레이저 전립선절제술이 사용되고 있다⁷⁾.

한의학에서 BPH는 배뇨곤란, 소변불통의 증상을 통해 癃閉 淋病의 범주로 보며, 그 병인으로는 濕熱下注, 氣滯血瘀, 腎虛가 있다⁸⁾. 이중 “濕熱下注膀胱滯塞者治宜清熱利濕通利小便”이라 하여, 그 대표적 처방이 八正散이다⁹⁾. 팔정산은 車前子·瞿麥·萹蓄·滑石·山梔子·甘草·木通·大黃·燈心으로 구성되어 清熱瀉火, 利水通淋하는 효능이 있으며, 이에 전탕액으로 난치성 아역¹⁰⁾, 여성요도증후군¹¹⁾, BPH²⁾를 치료한 예와 팔정산약침(Paljeong-san pharmacopuncture, 이하 PJS)이 급성 신부전에 미치는 영향^{3,14)} 등이 보고되었으나, PJS 시술과 BPH에 관련된 연구는 아직 보고된 바 없다.

이에 본 연구에서는 고환 절제 후 testosterone 투여로 BPH를 유발한 Rat을 대상으로 中樞(CV₁₂)에 PJS를 주입하여 혈액학적 및 조직병리학적으로 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

(1) 재료 및 시약

팔정산 제제를 위한 약재들은 상지대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다. Finasteride는 Merck & Co, Inc(NJ, USA)에서 얻었다. 명시되지 않은 다른 시약들은 Sigma-Aldrich(St Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

(2) PJS의 제조

팔정산은 9개의 약재로 구성되어 있다(Table 1). 팔정산 약재 450 g을 준비한 이후에 약재들을 70 % ethanol을 용매로 하여 110 °C 추출기에서 각 3시간, 3회씩 반복 추출하고 rotary evaporator(Eyela, Japan)을 이용하여 감압 농축한 후 동결건조하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4 °C에서 12시간 방치한 후 멸균하였다. 멸균된 농축액에 PBS를 가하여 10%로 희석하여 약침으로 사용하였다.

Table 1. Prescription of *Paljeong-san*

Scientific name	Weight(g)
<i>Dianthi Herba</i>	50 g
<i>Rhei Racix Et Rhizoma</i>	50 g
<i>Akebiae Caulis</i>	50 g
<i>Polygoni Avicularis Herba</i>	50 g
<i>Talcum</i>	50 g
<i>Garseniae Fructus</i>	50 g
<i>Plantaginis Semen</i>	50 g
<i>Glycyrrhizae Radix</i>	50 g
<i>Junci Medulla</i>	50 g
Total amount	450 g

(3) 실험동물 및 실험군의 분류

대한바이오링크(Daejeon, Korea)에서 10주령 수컷 Wistar rats(200 ± 20 g)을 구입하여 실험하였다. 이 실험은 상지대학교 동물실험윤리위원회에서 정한 실험동물 가이드라인에 따라 진행되었다. 실험 시작 전 2주 동안 적응 기간을 둔 후 실험하는 4주간 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였으며 12시간 간격으로 빛을 조절해주는 환경에서 온도 22 ± 2 °C, 습도 55 % ± 9 %의 환경을 유지해주었다.

실험동물은 무작위로 총 5개의 군(n=6): sham-operated group(이하 sham군); BPH 모델 group(이하 BPH군);

finasteride-treated group(이하 fina군); PJS(10 mg/kg, 20 μ L/마리)-treated group(이하 PJS 10군); PJS(100 mg/kg, 200 μ L/마리)-treated group(이하 PJS 100군)으로 나누었다.

4주간의 실험이 끝나는 마지막 날 몸무게를 측정하고 모든 실험동물은 12시간 동안 절식시켰다. 다음날 Zoletil (Virbac; Carros Cedex, France) 0.4 mL를 투여하여 마취시킨 후 cardiac puncture하여 심장에서 채혈하였다. 전립선조직은 절제 후 생리식염수에 씻어낸 후 무게를 측정한 뒤 실험하기 전까지 -80 °C에 보관하였다.

(4) 취혈

약침이 투여된 중완혈(CV₁₂)은 백선을 따라 정중선상에서 흉골검돌첨과 13번째 늑골단과 장골의 가상 수평선상의 중간점과의 1/2되는 부위로 인체에 상응하는 부위를 취하였다.

2. 실험방법

(1) BPH 유도 및 실험물질 투여

적응기간을 마친 rat을 Zoletil 1 mL/kg의 용량을 투여하여 마취시킨 후, sham군은 복강을 개복 후 다시 닫았으며 나머지 실험동물은 고환 상위 부위의 정관, 혈관 및 신경조직을 봉합사로 묶고 고환과 부고환을 절제하였다. 이후 testosterone propionate을 corn oil에 녹여 sham군을 제외한 BPH군, fina군 그리고 PJS 10군과 PJS 100군에 10 mg/kg의 양을 피하 주사하여 BPH를 유도하였다. Sham군에는 corn oil만 같은 용량으로 피하 주사하여 vehicle과 처치에 의한 스트레스가 실험결과에 영향이 없도록 하였다.

PJS는 Lim et al^[3]의 논문을 참고로 하여 하루 100 mg/kg을 최대용량으로 설정하고 10 mg/kg/day 치료군을 함께 비교하였다. 주입방법은 각각 10 mg/kg(PJS 10군), 100 mg/kg(PJS 100군)을 PBS에 희석하여 하루에 한 번 4주간 중완혈에 피하주입하였다(insulin syringe, 30 G \times 8 mm, Sungshim medical Co, Korea). 대조군인 BPH군은 생리식염수를 같은 방식으로 주입하였고, fina군은 양성대조군으로서 finasteride를 증류수에 녹여 5 mg/kg를 경구 투여하였다.

(2) 전립선 무게 측정

전립선조직은 rat을 희생시킨 후 즉시 무게를 측정하였다. 전립선을 수술로 절제하여 전립선 주변의 지방 및 이물질을 제거한 후 전립선 주위의 습기를 제거하고 측정하였다.

(3) 혈중 Dihydrotestosterone 측정

혈중 dihydrotestosterone(이하 DHT) 측정은 DHT ELISA kit(ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA)를 이용하여 측정하였다. Rat의 심장에서 채혈하여 4000 rpm으로 4 °C에서 원심 분리하여 혈청을 분리하였으며, -20 °C에서 실험에 사용하기 전까지 보관하였다. Kit manual에 따라 측정하였으며, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법에 따라 실험하였다.

(4) 조직학적 검사

각 군의 전립선조직을 4 % formalin으로 고정된 후 paraffin으로 블록을 형성하였다. 이후 조직을 4 μ m의 두께로 절편하고 hematoxylin and eosin(HE)으로 염색하여 조직학적으로 평가하였다. 사진은 SZX10 microscope(Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하여 얻었다.

(5) 전립선 조직에서 RNA의 분리 및 cDNA 합성

각 군의 전립선 조직을 total RNA extraction kit(iNtRON Biotechnology, Korea)를 이용하여 mRNA를 추출하였다. 추출방법으로 조직에 1 mL의 lysis buffer를 가한 후 다시 200 μ L의 클로로포름을 가하여 섞어주었다. 13,000 rpm에 10분간 원심분리한 뒤 상층액 400 μ L의 binding buffer와 섞어주고, kit에 제공된 컬럼에 상층액과 buffer를 옮겨준 다음 13,000 rpm에 30초간 원심분리를 하고 washing buffer A와 B 700 μ L로 순간적으로 원심분리를 하였다. 마지막으로 50 μ L의 elution buffer를 넣고 원심 분리하여 RNA를 분리하였다. 분리 후 nano drop을 이용하여 농도를 측정하였다. 분리 정제된 2 μ g의 RNA를 cDNA synthesis kit(Enzynomix, Korea)를 이용하여 cDNA를 합성하여 이 cDNA를 실험 시까지 -20 °C에서 보관하였다.

(6) Real-time polymerase chain reaction(이하 PCR)

각각의 유전자 발현량을 측정하기 위해 cDNA를 이용하여 real-time PCR를 실시하였다. 적당량 희석된 cDNA에 10 μ L의 SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, USA)와 각각의 sense, antisense primer를 넣고 증류수를 더하여 최종 부피가 20 μ L가 되게 한 후, Step One real-time PCR systems(Applied Biosystems)을 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR 조건은 95 °C에서 10분간 denaturation한 후 95 °C 15초, 60 °C 60초를 40 cycle 반복하였다. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(이하 GAPDH), proliferating cell nuclear antigen(이하 PCNA), 5 α -reductase의 유전자 발현량을

Table 2. Primer Sequence

Genes	Sequence	
GAPDH [¶]	Sense	5'-CGGGAAACCCATCACCATCT-3'
	Antisense	5'-CACAAACATGGGGCATCAG-3'
PCNA [*]	Sense	5'-TCTAGACGTCGCAACTCCGC-3'
	Antisense	5'-ATGTCCCAGCAGGCCTCATT-3'
5α-reductase 2	Sense	5'-GACCACAGGCGAGATGCAGA-3'
	Antisense	5'-TGTGTTTCCCGTAACTGGCG-3'

¶ : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.
 * : proliferating cell nuclear antigen.

측정하였으며, 각각의 primer sequence는 Table 2에 표시하였다. 5α-reductase의 경우는 finasteride와의 비교를 위하여 제2형을 확인하였다. 모든 유전자의 발현량은 GAPDH의 발현량을 이용하여 normalization하였다.

(7) 통계분석

모든 수치는 mean ± SEM(n=6)으로 나타냈다. Data는 one-way analysis of variance(ANOVA)를 이용하였으며, 사후검정 방법으로 Dunnett's test를 사용하였다. 통계학적 분석은 statistical package for the social sciences(SPSS; version 19.0)를 이용하였고 p < 0.05인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

III. 결 과

1. PJS가 전립선 무게에 미치는 영향

BPH 유발군에서 sham군에 비해 전립선 무게가 증가하였으나 그 중 양성대조군인 fina군 및 치료군인 PJS 시술군에서 BPH군에 비해 전립선 무게가 줄어드는 경향을 보였다. 그러나 PJS 시술군의 경우 fina군과 같은 유의성은 보이지 않았다(Table 3).

2. PJS가 혈청 DHT 농도에 미치는 영향

팔정산 투여가 혈청에서 DHT 농도에 미치는 영향을 알아보기 위해 ELISA kit을 이용하여 측정하였다. 대조군인 BPH군에서 DHT농도가 가장 높게 나타났으며, 양성대조

Table 3. Effects of *Paljeong-San* Pharmacopuncture Administration on Prostate Weights

Group	N	Prostate weight(mg)
Sham [*]	6	0.89 ± 0.12
BPH [†]	6	1.46 ± 0.11
Fina [‡]	6	1.15 ± 0.10 [¶]
PJS 10 [§]	6	1.43 ± 0.15
PJS 100	6	1.36 ± 0.12

Values are expressed as mean±SEM of 6 rats per group.
 ¶ : significant difference by Dunnett's test. p < 0.05
 * : sham-operated group.
 † : BPH model group.
 ‡ : finasteride-treated group.
 § : PJS(10 mg/kg)-treated group.
 || : PJS(100 mg/kg)-treated group.

Table 4. Effects of *Paljeong-San* Pharmacopuncture Administration on the Concentration of Serum Dihydrotestosterone(DHT)

Group	DHT(pg/ml)
Sham [¶]	123.35 ± 21.65
BPH [*]	1356.94 ± 184.93 ^a
Fina [†]	371.02 ± 88.49 ^b
PJS(10 mg/kg) [‡]	967.53 ± 141.42 ^b
PJS(100 mg/kg) [§]	379.52 ± 127.02 ^b

Data are presented as the means ± SEM of six rats experiments.
 Significant difference by Dunnett's test.
 a : p < 0.05 vs. sham group. b : p < 0.001 vs. BPH group.
 ¶ : sham-operated group.
 * : BPH model group.
 † : finasteride-treated group.
 ‡ : PJS(10 mg/kg)-treated group.
 § : PJS(100 mg/kg)-treated group.

약물인 fina군에서 DHT 수치가 BPH군에 비해 낮은 것을 확인하였다. PJS 시술군에서 BPH군에 비해 DHT 수치가 낮게 나타났으며, 특히 PJS 100군에서 DHT수치를 양성대조 약물인 fina군의 수준으로 저하시킴이 확인되었다(Table 4, Fig. 1).

3. PJS가 전립선 형태학적 변화에 미치는 영향

팔정산이 전립선 형태학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 H&E로 염색 후 광학 현미경상에서 관찰하여 조직

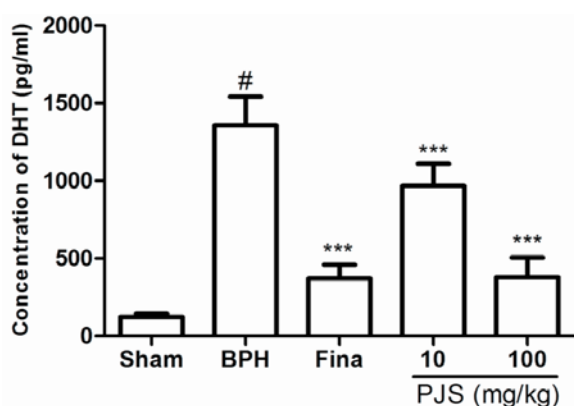


Fig. 1. Effects of *Paljeong-San* pharmacopuncture administration on the concentration of serum dihydrotestosterone(DHT)

Values are expressed as mean±SEM of 6 rats per group.

Sham : sham-operated group.

BPH : BPH model group.

Fina : finasteride-treated group.

10 : PJS(10 mg/kg)-treated group.

100 : PJS(100 mg/kg)-treated group.

Significant difference by Dunnett's test.

: $p < 0.05$ vs. sham group. *** : $p < 0.001$ vs. BPH group.

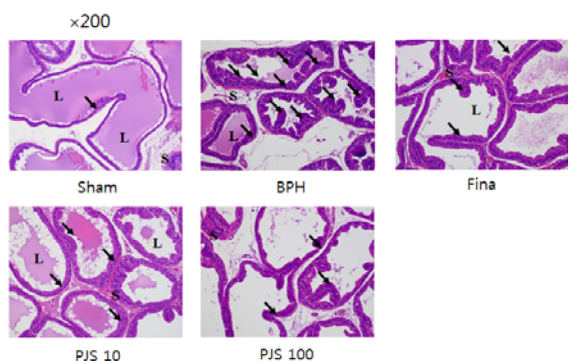


Fig. 2. Effects of *Paljeong-San* pharmacopuncture(PJS) on prostatic epithelial hyperplasia

H&E staining of prostatic tissue from rats; original magnification 200×. L indicates lumen area and S indicates stromal area. Arrows indicate luminal involutions. The rats in BPH group showed typical histologic changes of reduced glandular luminal area, vacuolated cytoplasm projecting into the glandular lumen and thickened glandular epithelium. In short, most tubule has developed involutions projecting into the lumen, reducing the volume of the inner lumen space compared to others. Administration of PJS for 4 weeks suppressed these typical hyperplastic patterns. PJS, in particular, was more efficacious in suppressing the thickening of epithelium, as compared to the other groups.

학적 검사를 시행하였다. 관찰한 결과 정상군에 비해 고환 절제와 testosterone을 피하주사한 BPH군에서 전립선 상 피조직이 짙어지고, 전립선 조직의 lumen area가 줄어들었으며 전립선 lumen에 액포가 증가하는 것이 확인되었다.

Finasteride 투여군과 PJS 시술군 모두 BPH 형성에 명확히 개선효과가 있으며 특히 다른 군들에 비해 PJS 시술군에서 BPH 형성 패턴이 억제되는 것이 확인되었으며, 상피조직의 두께증가 억제에 대해서도 효과가 있음이 확인되었다(Fig. 2).

4. PJS의 전립선조직 PCNA 유전자에 대한 억제 효과

전립선 조직에서 PCNA mRNA 발현량을 Real-time PCR 실험 방법을 통해 확인하였다. PCNA는 BPH군에서 sham군에 비해 유의성 있게 증가하였는데, fina군과 PJS 시술군에서 모두 BPH군과 비교하여 유의성있게 PCNA 발현량이 줄었다(Fig. 3).

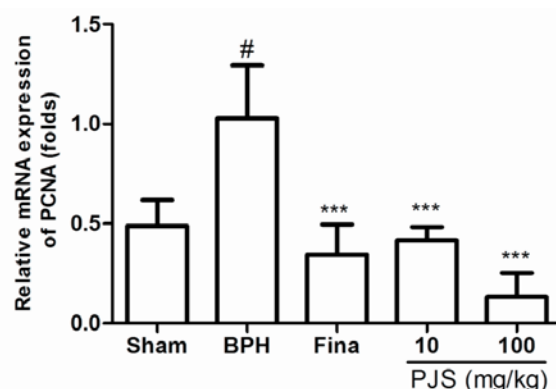


Fig. 3. Effects of *Paljeong-San* pharmacopuncture on PCNA mRNA expressions in the prostate

Sham : sham-operated group.

BPH : BPH model group.

Fina : finasteride-treated group.

10 : PJS(10 mg/kg)-treated group.

100 : PJS(100 mg/kg)-treated group.

Significant difference by Dunnett's test.

: $p < 0.05$ vs. sham group. *** : $p < 0.001$ vs. BPH group.

5. PJS의 전립선조직 5α-reductase 유전자에 대한 억제 효과

Testosterone을 DHT로 전환시키는 효소인 5α-reductase의 발현 정도를 전립선 조직에서 각 군별로 확인하였다. 그 결과 BPH를 유도한 BPH군에서 sham군에 비해 유의성 있게 5α-reductase가 유전자 수준에서 증가하였으며, fina군과 PJS 시술군에서 모두 BPH군과 비교하여 유의성 있게 농도 의존적으로 5α-reductase 발현량이 줄었다(Fig. 4).

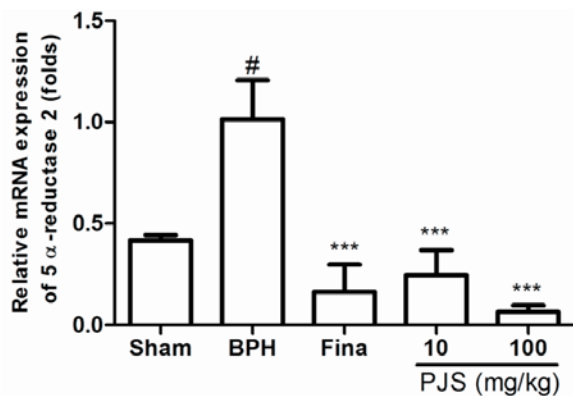


Fig. 4. Effects of *Paljeong-San* pharmacopuncture on 5α-reductase mRNA expressions in the prostate

Sham : sham-operated group.

BPH : BPH model group.

Fina : Finasteride-treated group.

10 : PJS(10 mg/kg)-treated group.

100 : PJS(100 mg/kg)-treated group.

Significant difference by Dunnett's test.

: $p < 0.05$ vs. sham group. *** : $p < 0.001$ vs. BPH group.

IV. 고찰

전립선은 선조직과 이를 둘러싼 섬유근 조직으로 이루어진 부성선기관으로¹⁵⁾, BPH는 전립선 이행대 부분에서 과도한 결합성 증식을 동반한 요도주위의 선조직과 기질조직의 진행성 과증식을 말한다⁶⁾.

BPH는 초기에 빈뇨, 야간뇨, 급박뇨 등의 자극 증상을 보이며, 폐쇄 증상으로 요류의 힘과 굵기가 감소되고 배뇨 시작이 늦어지며, 이후 잔뇨가 나타나고 요의감을 쉽게 느낀다. 점차 방광의 배뇨력이 더욱 악화되어 요저류가 지속 되면 방광 내압의 상승, 방광요관 역류, 신우 확장증, 수신증 등이 초래되어 서서히 신기능이 저하된다⁷⁾. 이와 같은 하부 요로증상으로 국제 전립선증상점수(international prostate symptom score)가 7점 이상인 경우, 전립선의 크기가 25 g 이상으로 최대요속이 15 mL/sec 이하인 조건을 모두 만족할 때 임상적으로 BPH의 진단이 가능하다³⁾.

BPH에 의한 하부 요로증상의 기전은 두 가지로, 한 가지는 전립선 평활근을 지배하는 신경조절에 의한 기능적 폐쇄이다. 교감신경이 광범위하게 분포된 전립선과 방광경부에 신경자극이 가해지면 교감신경 말단부위에서 nor-adrenaline이 분비되어 평활근 세포의 α-adenoreceptor를 통하여 평활근 수축이 일어난다¹⁸⁾.

다른 한 가지는 커진 전립선에 의한 전립선 요도의 물리

적 폐쇄이다¹⁹⁾. Testosterone은 5α-reductase에 의해 DHT로 전환된다²⁰⁾. 노화에 따라 혈중 testosterone의 농도는 감소하나 5α-reductase의 활성은 오히려 증가되어 testosterone에서 DHT로의 전환이 증가되는데²¹⁾, 이는 growth-stimulatory epidermal factor, keratinocyte growth factors, insulinlike growth factors와 같은 세포 성장인자의 생성과 분비를 자극하여 전립선의 성장을 유도한다²⁰⁾. 반면 이러한 증식은 programmed cell death나 apoptosis의 기전을 통한 억제로 형평을 이루는데, 전립선 세포의 증식과 세포자멸사의 비정상적 불균형으로 BPH가 유도된다³⁾.

이에 따라 BPH에 대한 약물 치료도 두 기전으로 나뉘는데, 알파차단제는 교감신경을 차단하여 전립선과 방광경부 평활근의 긴장을 이완시켜 증상을 완화시키며, 5α-reductase 억제제는 testosterone에서 DHT로의 전환을 차단하여 전립선 크기를 경감시킨다⁹⁾. Finasteride가 II형 5-알파환원효소만을 억제하는 반면 Dutasteride는 I형과 II형 5-알파환원효소를 모두 억제하여 혈중 DHT의 수치를 낮게 유지할 수 있다²²⁾. 그러나 이러한 약물은 두통, 현기, 피로, 코막힘 및 성욕 감퇴, 발기력 저하 등의 부작용이 보고되었다¹⁵⁾.

또한 외과적 치료로 경요도전립선절제술은 BPH 환자에서 방광출구폐색을 해결하는 표준치료이지만 배뇨장애 및 감염, 발기부전, 요실금, 요도협착 등의 합병증이 발생하였고¹⁵⁾, 최근에는 부작용이 적은 풍선확장술, 고주파 침박리술 등의 저침습적 치료법이 개발되고 있으나, 전립선절제술에 비해 증상의 호전이 뚜렷하지 않고 재수술의 빈도가 전립선절제술보다 높은 것으로 알려져 있다²³⁾.

한의학에서 BPH는 癃, 小便不通, 淋病의 범주에 속하며, 腎陽이나 腎陰의 偏衰로 인하여 유발되는 것으로 腎陰이나 肝陰이 偏衰하면 火旺되어 前陰의 宗筋이 肥弱垂縮하므로 방광의 氣化機能이 失調한 所致로 소변이 癃閉된다. 치법으로는 滋陰清陽, 水濕停留而通之, 當通後補, 補陽 혹은 補陰, 肥而消之로 標本同治 등이 있는데⁸⁾, ‘腑以通爲用을 원칙으로 하는 八正散이 대표적인 처방이다²⁴⁾.

팔정산은 陳承의 《太平惠民和劑局方》²⁵⁾의 小便에 처음 수록된 처방으로, “治大人小兒心經邪熱一切 癰毒 口乾咽燥 大渴 飲心忪面熱 煩燥不寧 目赤睛疼 唇焦鼻衄 口舌生瘡 咽喉腫痛 又治小便赤澀 癃閉不通 及熱淋 血淋 并治之”한다고 한 이래 여러 의가들이 활용하였으며, 《東醫寶鑑》²⁶⁾에서는 “膀胱熱積 小便癃閉不通”에 사용하였다. 처방 중에 木通 · 瞿麥 · 車前子 · 蘆薈 · 滑石 등의 利水通淋하는 약물들을 집중적으로 하여 清熱利濕하고, 山梔子를 배오하여 三焦의 濕熱을 清熱하고, 大黃은 泄熱降火하고, 燈心은 導熱下行하

며, 甘草는 諸藥을 조화하는 효능이 있다. 따라서 팔정산은 清熱瀉火, 利水通淋하는 효능으로 熱淋 血淋에 小便이 渾赤하고 排尿澀痛 淋漓不暢하거나 혹은 심하여 癃閉不通 小腹急滿 口燥咽乾 舌苔黃膩 脈滑數한 증상을 치료한다²⁷⁾.

또한 中脘(CV₁₂)은 任脈에 속하고, 胃經의 募穴이자 八會穴 중 腑會穴이며, 小腸經·三焦經·胃經·任脈의 交會穴이자 回陽九鍼穴 중의 하나로 化濕滯, 理中焦, 調升降하는 효능²⁸⁾이 있어 이번 실험에서 PJS의 주입경로로 이용되었다.

이에 본 연구에서는 PJS의 증완혈 시술이 BPH에 미치는 영향을 알아보기 위해 BPH를 유발한 rat에 finasteride와 PJS를 사용하여 각 실험군 간의 전립선 무게와 혈액학적 변화 및 조직학적 변화를 관찰하였다.

전립선의 무게는 정상군인 sham군에 비해 대조군인 BPH군과 양성대조군인 fina군 및 실험군인 PJS 시술군 모두 증가하였으며, fina군 및 PJS 시술군에서 BPH군보다 감소하였다. 그러나 PJS 시술군의 경우 fina군처럼 유의성을 보이지는 않았다. DHT농도는 BPH군에 비해 fina군 및 PJS 시술군 모두 감소하였으며, 특히 PJS 100군은 DHT 수치를 fina군 수준으로 저하시켰다.

PJS가 전립선의 형태학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 H&E로 염색 후 광학 현미경상에서 관찰하여 조직학적 검사를 시행하였다. 전립선은 간질조직과 선조직의 두 가지 주요 부분으로 나눌 수 있으며, 선조직은 다시 선내강과 선상피조직으로 세분화할 수 있다²⁹⁾. 일반적으로 BPH는 선조직보다 주로 기질의 과증식 때문이라는 것이 지배적 견해이나³⁰⁾, 초기에는 기질세포의 이상에 의해 커지지만 이후 기질세포가 상피세포의 증식을 유도하여 전립선의 크기가 더욱 커진다는 McNeal³¹⁾의 가설과 같이 전립선의 크기가 커질수록 상피세포가 차지하는 비중이 높아진다³²⁾. 또한 전립선 용적의 5~23 %를 차지하는 선상피에는 남성호르몬 수용기가 위치해 다른 구성 조직에 비해 finasteride를 포함한 남성호르몬 억제 약물에 민감하게 반응한다³³⁾. 관찰 결과 정상군에 비해 BPH군에서는 전립선 상피조직이 짙어지고, 전립선 조직의 lumen area가 줄어들었으며 전립선 lumen에 액포가 증가하였다. 반해 fina군과 PJS 시술군 모두 BPH 형성 패턴 및 상피조직 두께 증가에 대한 명확한 억제효과가 있었다.

또한 cell proliferation의 일반적 marker로 사용하는 PCNA의 mRNA 발현량과 testosterone을 DHT로 전환시키는 효소인 5α-reductase의 발현량을 확인하기 위해 real-time PCR 실험 방법을 사용하였다. 실험결과 PCNA와 5α-reductase 모두 BPH군에서 정상군에 비해 유의성 있게 증가했으며, fina군과 PJS 시술군에서 모두 BPH군과 비교하여 농도 의존적으로 감소하였다.

그 동안 전립선암 연구³⁴⁻³⁸⁾에 비하여 BPH에 대한 연구는 증례보고 위주였으며, 기초적인 실험연구는 부족한 편이었다. 이번 실험의 결과로 PJS의 증완혈 주입이 BPH를 유발한 rat에 효과적임을 알 수 있었으며, 양성 대조군으로 사용한 fina군과의 유사한 효능으로 미루어 BPH에 유용한 치료법이 될 수 있으리라 생각된다. 또한 향후 본 실험결과를 바탕으로 PJS에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

BPH 유도 Rat에 대한 PJS의 中脘穴 시술 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PJS 시술군에서 BPH군에 비하여 전립선 무게가 감소되었으나 유의성이 나타나지는 않았다.
2. PJS 시술군에서 BPH군에 비해 DHT 수치가 유의성 있게 감소하였으며, 특히 PJS 100군은 DHT 수치를 양성대조 약물인 finasteride 투여 수준으로 저하시켰다.
3. H&E 염색을 통해 전립선 형태학적 변화 및 전립선상피조직 두께를 관찰한 결과 PJS 시술군이 BPH군에 비해 BPH 형성 패턴 및 상피조직의 두께증가 억제에 효과가 있었다.
4. Real-time PCR을 통해 proliferating cell nuclear antigen(PCNA) mRNA 발현량을 확인한 결과 PJS 시술군에서 BPH군에 비해 유의성 있게 감소하였다.
5. Real-time PCR을 통해 5α-reductase 발현량을 확인한 결과 PJS 시술군에서 BPH군에 비해 농도 의존적으로 감소하였다.

이상을 통해 PJS 시술이 BPH 형성으로 생기는 변화에 대한 억제 효과가 있음을 알 수 있으며, 이는 5α-reductase를 억제하여 DHT로의 전환을 차단하여 전립선 세포의 증식을 감소시킨 데 기인한 것으로 생각된다.

VI. References

1. American Urological Association. American Urological Association Guideline: Management of Benign

- Prostatic Hyperplasia(BPH). American Urology Association Education and Research, Inc. 2010 : 2-8.
2. AUA Practice Guidelines Committee. AUA guideline on management of benign prostatic hyperplasia (2003). chapter 1: Diagnosis and treatment recommendations. *J Urol.* 2003 ; 170 : 530-47
 3. The Korean Urological Association. *The Urology.* Seoul : Korea Medical Box Publisher. 2001 : 307-9.
 4. Wei J, Calhoun E, Jacobsen S. Urologic disease in America project: benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 2005 ; 173(4) : 1256-61.
 5. McConnell J, Roehrborn C, Bautista O et al. Benign prostatic hyperplasia: maintaining symptom control and reducing complications. *Urology.* 2003 ; 62(3 Supple 1) : 15-23.
 6. Lee HG, Park YI, Jo SR. Clinical results of transurethral Electro-Vaporization of the prostate. *Korean J Urol.* 2001 ; 42(8) : 804-8.
 7. Amy E Krambeck, Shelly E Handa, James E Lingeman. Experience with more than 1,000 Holmium laser prostate enucleations for benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 2013 ; 189(4) : 1415-20.
 8. Doo HK. *Donguisingyehag.* Seoul : Seongbosa. 2003 : 705-8.
 9. Doo HK. *Imsangsingyehagyeongu.* Seoul : Seongbosa. 1995 : 452.
 10. Hyun MK, Sin WY, Choi EY et al. A case of intractable hiccup treated with Paljung-san. *J Korean Orient Int Med.* 2005 ; 25(2) : 506-11.
 11. Kim SM, Yoo DY. A case report of the effect of Paljeongsna on the female urethral syndrome. *Korean J Obstet Gynecol.* 2007 ; 20(4) : 225-33.
 12. Song MK, Park SH, Kang JS et al. Report of four cases of Paljung-san on lower urinary tract symptoms in patients with benign prostatic hyperplasia. *J Korean Oriental Med.* 2010 ; 31(1) : 153-61.
 13. Lim CY, Kim MH, Lee GS et al. Beneficial effect of Paljeong-san pharmacopuncture treatment combined with peritoneal injection on Glycerol-induced acute renal failure in rabbits. *J Korean Pharm Sci.* 2010 ; 13(3) : 73-80.
 14. Lee SY, Kim MH, Cho SI et al. The effect of Paljeong-San pharmacopuncture treatment on Glycerol-induced acute renal failure in rats. *The Journal of Daejeon Oriental Medicine.* 2012 ; 21(1) : 163-74.
 15. Korean Society for Sexual Medicine and Andrology. *Textbook of Andrology.* Seoul : Koonja. 2003 ; 542, 557-65.
 16. Hong SJ. Benign prostatic hyperplasia: Multiple factors for prostate tissue change with aging. *Korean J Urol.* 2005 ; 46(6) : 547-54.
 17. Lee DH, Lee JS, Kim YS. The effects of *Lygodium japonicum* on experimental rat model of benign prostatic hyperplasia. *J Korean Orient Int Med.* 2010 ; 31(3) : 457-66.
 18. Paloma AM, Clemens B, Angelika R et al. A role for epithelial-mesenchymal transition in the etiology of benign prostatic hyperplasia. *PNAS.* 2009 ; 106(8) : 2859-63.
 19. Chung BH. Medical management for benign prostatic hyperplasia. *Korean J Urol.* 2007 ; 48(3) : 233-43.
 20. Carson C III, Rittmaster R. The role of dihydro-testosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 2003 ; 61(4 Supple 1) : 2-7.
 21. Bartsch G, Rittmaster RS, Klocker H. Dihydro-testosterone and the concept of 5 alpha-reductase inhibition in human benign prostatic hyperplasia. *World J Urol.* 2002 ; 19(6) : 413-25.
 22. Woo JH, Kang JY, Kim EK et al. The effect of short term dutasteride therapy on microvessel density in benign prostatic hyperplasia. *Korean J Urol.* 2008 ; 49(6) : 515-9.
 23. Lourenco T, Peickard R, Vale L et al. Minimally invasive treatments for benign prostatic enlargement: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ.* 2008 ; 337 : a1662.
 24. Doo HK. *Donguisingyehagyeongu.* Seoul : Kyung Hee University Press. 1994 : 359.
 25. Jin S. *Taepyeonghyeminhwajegugbang.* Taipei : Seonpung Publisher. 1984 : 175.
 26. Heo J. *Donguibogam.* Seoul : Donguibogam. 2010 : 346.
 27. Professors of Department of Formula Science in College of Korean Medicine. *Formula Science.* Seoul :

- Yeongnimsa. 1999 : 497.
28. Committee on Compilation of Textbook of Korean Society for Acupuncture & Moxibustion. *Acupuncture & Moxibustion*. Paju : Jipmoondang Publishing Company. 2008 : 306.
 29. Rim HK, Rim JS, Moon HB. A Study on the Relationship between Histologic Composition and Clinical Symptoms in Benign Prostatic Hyperplasia. *Korean J Urol*. 1994 ; 35(3) : 230-6.
 30. McNeal JE. The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis. *J Urol*. 1972 ; 107(6) : 1008-16.
 31. McNeal JE. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol*. 1978 ; 15(4) : 340-5.
 32. Kim JG, Cho KS, Ahn HJ. The Evaluation of Correlation between the Histologic Composition of BPH and TRUS Findings. *Korean J Urol*. 1998 ; 39(1) : 51-6.
 33. Jung SI, Oh BR, Ryu SB. Assessing the Effect of Finasteride by Prostate Tissue Composition. *Korean J Urol*. 2001 ; 42(12) : 1278-83.
 34. Chae SJ, Song HS. The Effects of Cobrotoxin on NF- κ B Activation in Human Prostatic Cancer Cell Line(PC-3). *J Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2005 ; 22(5) : 37-48.
 35. Yang CY, Song HS. Bee Venom Inhibits Prostate Cancer Growth in LNCaP Xenografts via Apoptosis. *J Pharmacopuncture*. 2010 ; 13(1) : 15-35.
 36. Shin JM, Song HS. Bee Venom Inhibits DU-145 Human Prostate Cancer Cell Growth Through Inactivation of NF- κ B. *J Korean Acupuncture & Moxibustion Society*. 2011 ; 28(3) : 101-10.
 37. Oh HJ, Song HS. Bee Venom Inhibits PC-3 Cell Proliferation Through Induction of Apoptosis Via Inactivation of NF- κ B. *J Korean Acupuncture & Moxibustion Society*. 2010 ; 27(3) : 1-13.
 38. Hur KY, Song HS. Bee Venom Inhibits DU-145 Cell Proliferation Through Induction of Apoptosis. *J Korean Acupuncture & Moxibustion Society*. 2011 ; 28(3) : 111-9.