

Extract of Fructus Corni Ameliorates Testosterone-induced Benign Prostatic Hypertrophy in Sprague Dawley Rats

Seon Yeong Ji^{1,2}, Min Yeong Kim^{1,2}, Hyun Hwangbo^{1,2}, Hyesook Lee^{1,2}, Su Hyun Hong^{1,2}, Tae Hee Kim³, Seonhye Yoon⁴, Hyun Jin Kim⁴, Sung Yeon Kim⁵, Ha Eun Jung⁵, Tae Jung Kim⁵, Min Ji Kim⁵, Sung Ok Kim⁶ and Yung Hyun Choi^{1,2*}

¹Department of Biochemistry, Dong-eui University College of Korean Medicine, Busan 47227, Korea

²Anti-Aging Research Center, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

³Hansoapharm Central Research, Jinan 55442, Korea

⁴R&D Center, Naturetech Co. Ltd., Jincheon 27858, Korea

⁵BIO Center, Chungbuk Technopark, Ochang 28115, Korea

⁶Department of Food Science and Biotechnology, College of Engineering, Kyungsoong University, Busan 48434, Korea

Received March 15, 2021 / Revised May 20, 2021 / Accepted May 21, 2021

Fructus Corni, the fruit of *Cornus officinalis*, has long been used for the prevention and treatment of various diseases. We recently suggested that it was effective against benign prostatic hyperplasia (BPH). In this study, we investigated the inhibitory effect of Corni Fructus (CF) water extract on BPH induced by testosterone propionate (TP) in noncastrated and castrated animal models. BPH was induced in Sprague Dawley rats by an intramuscular injection of TP in castrated or noncastrated rats. Finasteride (FINA) treatment was used as a positive control for inhibition of BPH. According to our results, CF administration inhibited excessive enlargement of development of the prostate in both the noncastrated and castrated groups compared to the control and FINA-treated groups. The inhibitory effect of CF on BPH was associated with inhibition of expression of hypoxia-inducible factor-1 α , 5 α -reductase type 2, steroid receptor coactivator-1, androgen receptor (AR), and prostate-specific antigen. Serum levels of the stress hormone cortisol increased during BPH induction by TP in both the noncastrated and castrated groups, but they were attenuated significantly by CF administration. However, insulin and IGF-1 levels were not increased in the BPH-induced groups and CF, and no effective results were found by CF administration. These results point to a beneficial effect of CF on BPH through inhibition of AR signaling pathway activity and imply that CF shows excellent potential as a therapeutic agent for the prevention and treatment of BPH.

Key words : Androgen receptor, benign prostatic hyperplasia, Corni Fructus, cortisol

서 론

전립선의 과도한 증식에 의한 양성 전립선 비대증(benign prostatic hyperplasia, BPH)은 노년기 남성에서 가장 흔한 비뇨기 질환으로 노화와 식습관의 서구화로 점차 증가하고 있다. 과도한 전립선의 증식은 내분비 기능 저하에 따른 남성 호르몬 수치 변화와 밀접한 관련이 있으며, 배뇨 지연, 요실금, 야뇨증, 요로 증상, 성기능 저하 등을 동반한다[21, 31]. 특히 혈중 내 testosterone의 농도는 나이가 들어감에 따라 감소하지만 세포 내 5 α -reductase type 2의 활성은 높은 수준으로

유지된다. 이로 인하여 testosterone이 생물학적 활성 대사 산물인 dihydrotestosterone (DHT)으로의 전환이 촉진된다[4, 21]. 아울러 노화가 진행되면서 androgen receptor (AR)의 발현이 증가하여 DHT와의 결합력이 증가되어 전립선의 비대를 촉진시킨다[4, 9]. 증가된 DHT는 또한 AR에 결합하여 prostate-specific antigen (PSA)의 생성 또한 촉진한다[9, 31]. 비록 AR이 정상적인 전립선 발달에 필수적이지만, 내인성 testosterone의 영향이 배제된 외과적 또는 화학적 거세(castration)에 따른 AR 신호 전달에 결함이 있는 경우 BPH가 유발되지 않는다. 거세가 BPH 치료를 위한 효율적인 방법이기는 하지만, 수술 및 마취 합병증과 수술 후 생식 기능이 불가능하다[4, 31]. 그러나 거세는 내인성 호르몬의 영향이 없는 조건에서 BPH의 연구를 위한 동물 모델에서 매우 효율적으로 적용되고 있다[2, 23]. 현재 거세, 항안드로젠성 약물(anti-androgenic drugs, 5 α -reductase inhibitor) 및 항아드레날린성 수용체(anti-adrenergic receptor, α 1-AR antagonist)가 전립선 비대를 억제하고 PSA 수준을 낮추기 위하여 사용되고 있지만 성

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-3319, Fax : +82-51-893-3333

E-mail : choiyh@deu.ac.kr

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.

기능 장애를 포함한 다양한 부작용들이 보고되고 있다[18, 34]. 따라서 이러한 부작용을 최소화하기 위한 대체 약물로서 천연물의 활용에 대한 관심이 증대되고 있다[9, 10, 29].

우리나라를 포함한 동아시아에 분포하는 층층나무과(family Cornaceae)에 속하는 산수유나무(*Cornus officinalis* Sieb et Zucc)는 전통 의학에서 사용되는 약용 식물 중의 하나이다[8, 15]. 특히 산수유나무의 열매인 산수유(山茱萸, Fructus Corni)는 면역 증진, 저혈당, 항산화, 항염증, 항암, 항당뇨, 신경 보호, 간 보호 및 신장 보호 등을 포함한 광범위한 약리적 효능이 있는 것으로 보고되고 있다[12, 15]. 본 연구실에서의 선행 연구에 의하면 산수유 추출물은 testosterone으로 유발된 BPH를 효과적으로 억제하였으며, 이는 5 α -reductase 및 AR의 발현 감소와 연관성이 있었다[16]. 본 연구에서는 이를 바탕으로 내인성 testosterone의 영향을 배제한 조건에서 산수유 추출물의 BPH 억제 효과를 추가적으로 조사하였다.

재료 및 방법

산수유 추출물의 준비

본 연구에 사용된 산수유는 2019년 전라남도 구례시 주변에서 채취된 것으로서 구례 산수유 영농조합법인으로부터 제공 받았다. 산수유 열수 추출물(Corni Fructus water extract, CF)을 분리하기 위하여 건조된 산수유를 잘게 마쇄한 후, 증류수를 이용하여 100°C에서 2시간 동안 끓였다. 불용성 물질을 제거하기 위해 추출물을 0.45 μ m 필터를 통해 여과하고 동결 건조한 후 사용 전까지 -20°C에서 보관하였다[16]. 총 추출 수율은 23.5% 정도였으며, 바우처 표본(WECU-17-2)이 동의대학교 한의과대학 생화학교실에 보관 중이다.

동물사육, 거세, BPH 유발 및 CF 처리

본 연구에 사용된 6주령 수컷 Sprague-Dawley 쥐는 Samta-ko Bio Korea (Osan, Republic of Korea)에서 구입하여, 선행 연구 조건에 준하여 사육하였으며[16], 모든 동물 실험은 동의대학교 동물 실험 윤리위원회(R2017-004)의 지침에 따라 진행되었다. 내인성 testosterone의 영향을 배제하기 위해 거세는 Van Coppenolle et al. [30]의 방법에 준하였으며, 비거세군과 거세군의 쥐를 각각 4그룹(n=6)으로 무작위 할당하였다. 비거세군과 거세군의 쥐를 대상으로 BPH를 유도하기 위하여 TP를 복강 내 주사로 투여하였고, CF군 CF를 경구 투여하였다 [① 정상대조군: 옥수수 기름 처리군, ② BPH군: testosterone propionate (TP, 3 mg/kg, Tokyo Chemical Industry Co., Tokyo, Japan) 처리군, ③ CF군: 700 mg/kg의 CF가 처리된 BPH 그룹, ④ 양성대조군: TP (3 mg/kg)와 함께 finasteride (FINA, 5 mg/kg, Sigma-Aldrich Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 처리한 군]. 6주 후에 생화학적 분석을 위한 대퇴 정맥에서의 혈액 샘플을 수집하기 위해 마취 하에 동물을 희생시

켰으며, 체중을 측정하고, 전립선과 폐, 심장, 비장, 간, 신장 등과 같은 주요 기관을 회수하여 무게 변화를 조사하였다.

단백질 발현 분석

CF의 투여가 BPH 유발 관련 주요 유전자들[hypoxia-inducible factor-1 α (Hif-1 α), 5 α -reductase type 2, steroid receptor coactivator-1 (SRC1), AR 및 PSA]의 발현에 미치는 영향을 분석하기 위하여 각 실험군의 쥐에서 추출한 전립선 조직을 작은 조각으로 자르고 PROPREP lysis buffer (Intron Biotechnology Inc., Seongnam, Republic of Korea)를 사용하여 균질화하였다. 조직 추출물에 포함된 불용성 물질을 제거하고, 동량의 단백질을 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동으로 분리하였다. 이를 polyvinylidene fluoride membranes (Schleicher & Schuell, Keene, NH, USA)으로 전이시킨 후, Thermo Scientific Inc. (Waltham, MA, USA) 및 Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입한 1차 항체와 Amersham Biosciences (Westborough, MA, USA)에서 구입한 horseradish peroxidase-conjugated된 2차 항체에 반응시켰다. 분석 대상 단백질의 발현은 enhanced chemiluminescence (ECL) kit (Amersham Biosciences)를 사용하여 검출하였다.

혈액 생화학적 분석

BPH 유발 쥐에서 스트레스 지표 호르몬인 cortisol과 insulin 및 insulin-like growth factor-1 (IGF-1)의 수준에 미치는 CF의 영향을 조사하기 위하여, 선행 방법[16]에 준하여 채취한 혈액 샘플에서 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청을 대상으로 각 지표 분석 키트(Asan Pharm, Seoul, Republic of Korea)에 제시된 방법에 준하여 동의대학교 생체조직재생핵심연구지원센터의 자동생화학분석기(Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China)를 사용하여 실험군 사이의 수치를 비교하였다.

통계 분석

실험 결과의 유의성 분석을 위하여 GraphPad Prism 5.03 소프트웨어(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)를 사용하였다. 모든 실험은 평균 \pm 표준 편차(standard errors, SD)로 표시하였고, one-way analysis of variance에 이어 Tukey's post hoc 테스트로 분석하여 0.05 미만의 값은 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

BPH 유도 쥐에서 전립선 무게의 증가에 미치는 CF의 영향 비거세군과 거세군의 쥐를 대상으로 CF가 BPH에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 1A 및 Fig. 1B에 나타내었다. 비거

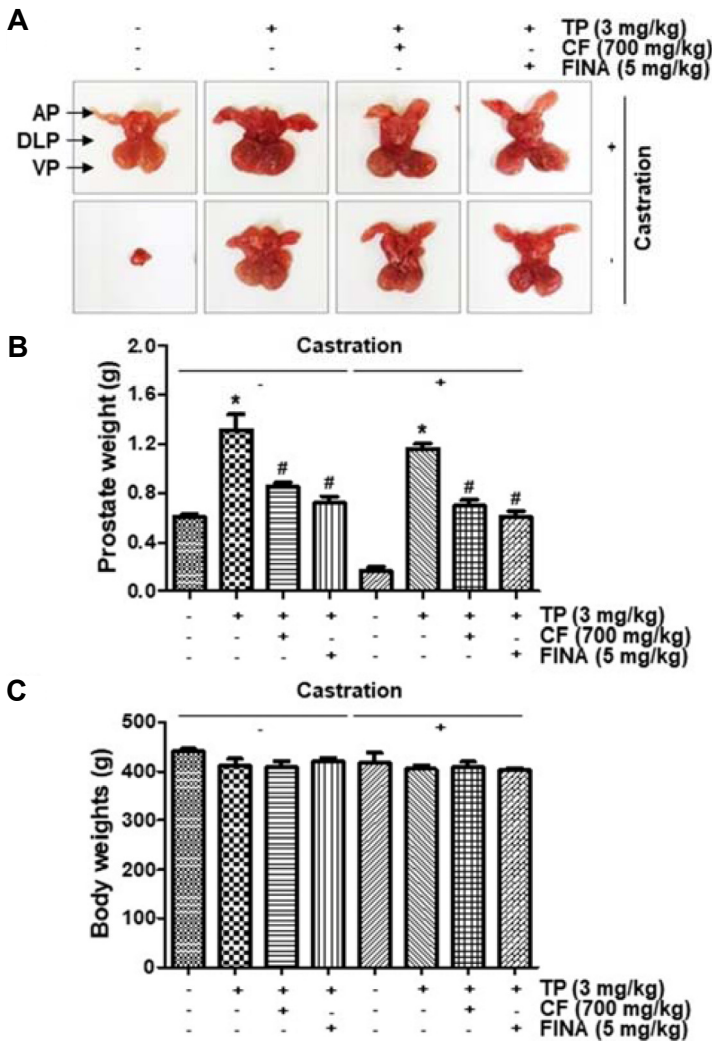


Fig. 1. Effect of CF administration on prostate and body weights in TP-induced BPH rat model. (A) Representative images showing changes of prostate tissues in the castrated and non-castrated experimental groups were presented; the tissue was from the anterior prostate (AP), dorsolateral prostate (DLP) and ventral prostate (VP). (B and C) Prostate (B) and body (C) weights were measured and analyzed. Values are the mean SD (n=6); **p*<0.05 vs. control group; #*p*<0.05 vs. the rat with BPH group. TP (3 mg/kg), rats with testosterone propionate (TP)-induced BPH group; CF (700 mg/kg), rats with BPH group treated with Corni Fructus water extract (CF); FINA (5 mg/kg), rats with BPH group treated with finasteride (FINA)

세균에 비하여 거세군에서는 전립선의 크기가 현저하게 줄었음을 관찰하였으며, 거세군의 설정이 적절하게 이루어졌음을 먼저 확인하였다. BPH를 유도하기 위하여 비거세군과 거세군에 TP를 처리한 결과, 두 그룹에서 대조군에 비하여 전립선의 크기가 유의적으로 증가하였다. 그러나 CF 처리군에서는 전

립선의 크기와 무게가 비거세군과 거세군 모두에서 유의적으로 감소되었으며, FINA 처리군에서도 현저한 감소를 보여주었다(Fig. 1A, Fig. 1B). 각 실험군에 따른 주요 장기는 변화는 일부 차이가 있었지만, 전체적으로 큰 변화는 관찰되지 않았다(Table 1).

Table 1. Effect of CF administration on the relative organ weight of BHP rats in the non-castrated and castrated experimental groups

Group	No. of animals	Castration	Organ weights (g)					
			Thymus	Lung	Heart	Spleen	Liver	Kidney
Normal	6	-	0.56±0.06	1.81±0.02	1.54±0.05	0.78±0.01	15.73±4.61	3.30±0.12
TP	6	-	0.56±0.05	1.56±0.06	1.41±0.04	0.68±0.03	11.22±2.30	3.40±0.14
TP+CF	6	-	0.57±0.19	1.79±0.09	1.48±0.07	0.72±0.04	13.17±3.41	3.19±0.09
TP+FINA	6	-	0.56±0.05	1.80±0.11	1.49±0.01	0.69±0.07	13.29±1.49	3.44±0.08
Normal	6	+	0.60±0.10	1.60±0.12	1.41±0.08	0.77±0.08	11.94±1.83	3.55±0.27
TP	6	+	0.52±0.11	1.69±0.23	1.47±0.13	0.73±0.07	11.69±1.95	3.31±0.31
TP+CF	6	+	0.52±0.16	1.78±0.09	1.48±0.09	0.74±0.05	12.77±1.96	3.41±0.21
TP+FINA	6	+	0.54±0.09	1.65±0.05	1.43±0.06	0.69±0.08	12.09±1.91	3.40±0.14

TP (3 mg/kg), rats with testosterone propionate (TP)-induced BPH group; CF (700 mg/kg), rats with BPH group treated with Corni Fructus water extract (CF); FINA (5 mg/kg), rats with BPH group treated with finasteride (FINA)

BPH 유도 관련 주요 유전자들의 발현 증가에 미치는 CF의 영향

Fig. 1의 결과에서 CF가 TP에 의하여 유도되는 BPH의 억제 효과가 확인이 되었기에, BPH의 유도에 관여하는 주요 유전자들의 발현 변화를 조사하였다. 먼저 Fig. 2에 나타난 비거세군의 결과에 의하면, TP가 처리된 조건에서 Hif-1 α , 5 α -reductase type 2, SRC1, AR 및 PSA의 발현이 대조군에 비하여 현저하게 증가된 반면, CF를 섭취한 조건에서는 이들 단백질들의 발현이 모두 유의적으로 억제되었다. 비록 FINA 처리군과 비교하여 5 α -reductase type 2와 AR 발현의 억제 효과는 다소

미비하였으나, BPH 유도에 관여하는 주요 단백질들의 발현이 CF에 의하여 감소된 점은 CF 처리군에서는 전립선의 크기와 무게가 감소되었다는 결과와 연관성이 있음을 알 수 있다. 또한 거세군에서도 TP에 의하여 증가된 이들 단백질들의 발현이 모두 FINA 처리군과 유사하게 CF 처리에 의하여 감소되었다(Fig. 3).

BPH 유도군에서 cortisol, insulin 및 IGF-1의 생성에 미치는 CF의 영향

다음은 BPH 유도에 따른 스트레스 반응 및 insulin 대사에

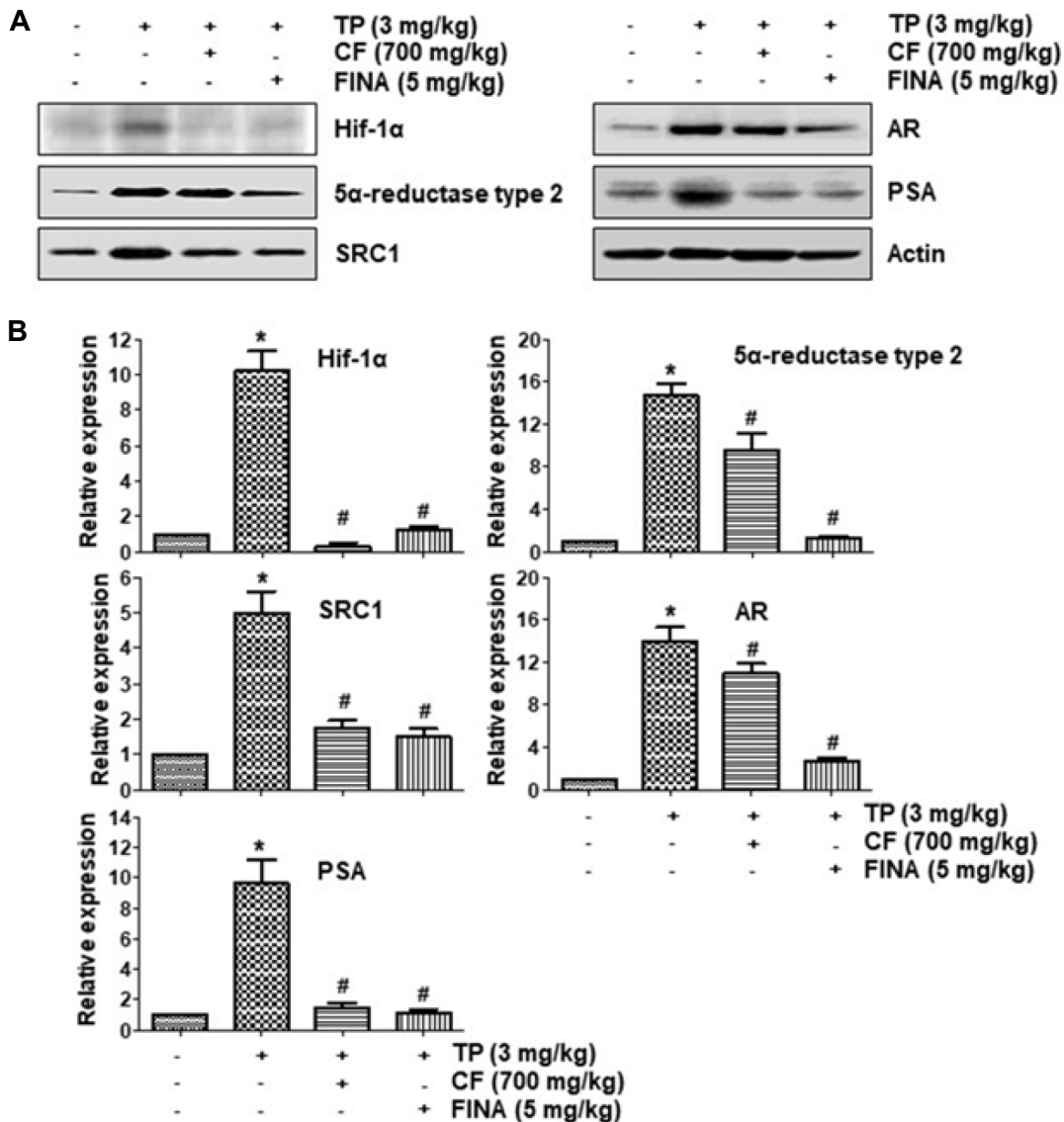


Fig. 2. Effect of CF administration on the expression of Hif-1 α , 5 α -reductase type 2, SRC1, AR and PAS in the prostate tissue of rats with BPH in the non-castrated experimental group. (A) The protein levels were determined by Western blotting using the indicated antibodies. Actin was used as an internal control. (B) Densitometric analysis was performed using an ImageJ Software. Values are the mean SD (n=6); * p <0.05 vs. control group; # p <0.05 vs. the rat with BPH group. TP (3 mg/kg), rats with testosterone propionate (TP)-induced BPH group; CF (700 mg/kg), rats with BPH group treated with Corni Fructus water extract (CF); FINA (5 mg/kg), rats with BPH group treated with finasteride (FINA)

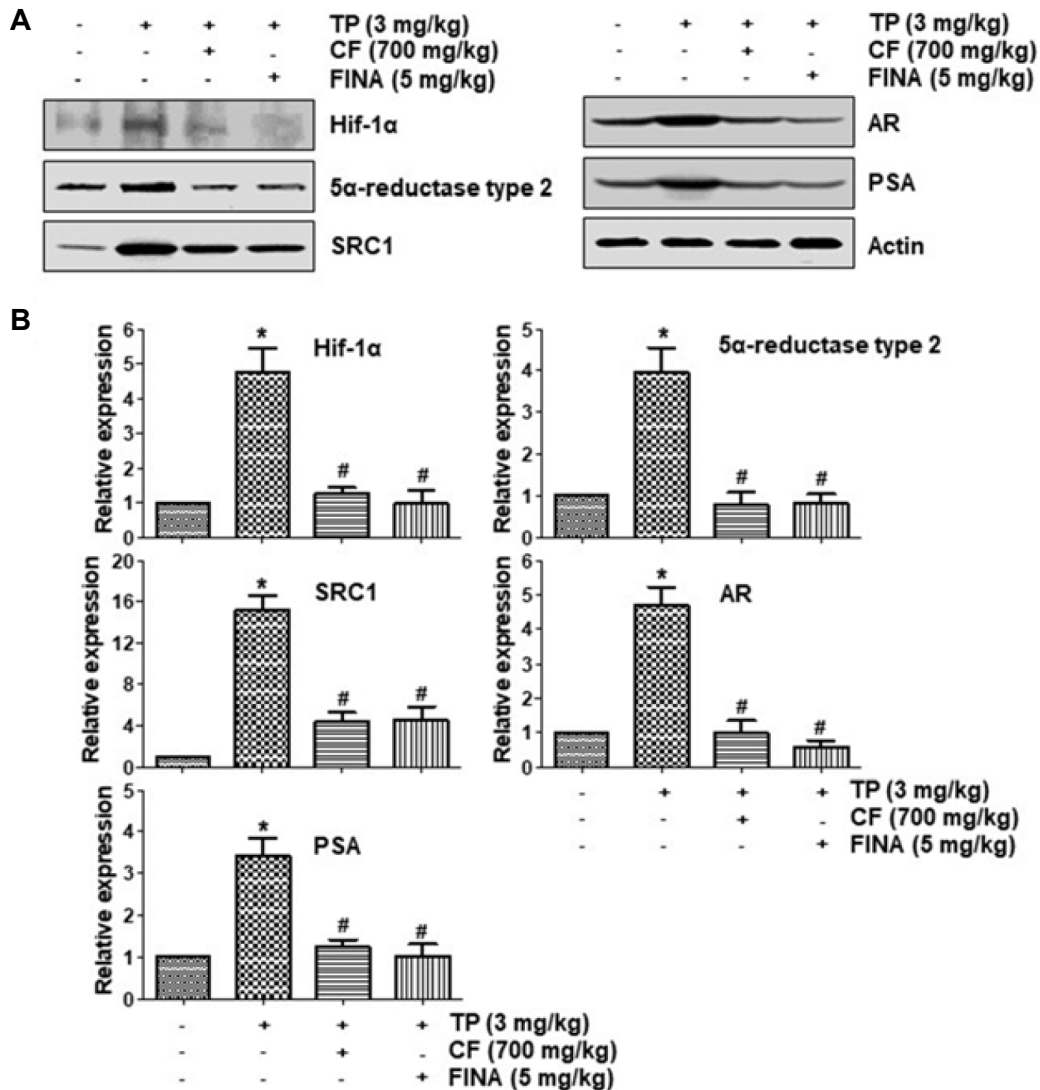


Fig. 3. Effect of CF administration on the expression of Hif-1α, 5α-reductase type 2, SRC1, AR and PAS in the prostate tissue of rats with BPH in the castrated experimental group. (A) The protein levels were determined by Western blotting using the indicated antibodies. Actin was used as an internal control. (B) Densitometric analysis was performed using an ImageJ Software. Values are the mean SD (n=6); * $p < 0.05$ vs. control group; # $p < 0.05$ vs. the rat with BPH group. TP (3 mg/kg), rats with testosterone propionate (TP)-induced BPH group; CF (700 mg/kg), rats with BPH group treated with Corni Fructus water extract (CF); FINA (5 mg/kg), rats with BPH group treated with finasteride (FINA)

미치는 영향을 조사하였으며, 그 결과를 Fig. 4에 제시하였다. 비거세균과 거세균에서 TP 처리에 의하여 혈청 내 cortisol의 함량이 대조군에 비하여 증가되었지만, CF 처리군에서는 모두 유의적으로 감소되었다. 또한 비거세균에서는 TP에 의한 cortisol의 생성이 FINA 처리에 의하여 유의적으로 억제되었지만, 거세균에서는 유의적인 억제가 관찰되지 않았다(Fig. 4A). 그리고 insulin의 경우, 비거세균에 비하여 거세균에서 2배 이상 증가되었지만, 각 실험군에서 TP 처리군에서는 유의적인 증가가 관찰되지 않았다. 비록 비거세균에 TP에 의해 증가된 insulin의 수준이 CF 처리에 의하여 FINA 처리군처럼 유의적인 감소는 되지 않았지만, TP 처리군이 비하여 다소 억

제되었으며, 이러한 경향성은 거세균에서도 유사하게 나타났다(Fig. 4B). IGF-1의 경우, 거세균에서 비거세균에 비하여 오히려 다소 감소되는 경향성을 보여주었고, insulin의 경우처럼, TP에 의하여 비거세균과 거세균에서 감소된 IGF-1의 수준이 CF 처리군에서는 유의성은 없었다(Fig. 4C).

고 찰

현재 우리나라에서 전립선 질환 치료를 위해 식품의약품안전처로부터 기능성 인증을 받은 천연물로서는 saw palmetto라고 불리는 톱야자(*Serenoa repens*) 추출물이 유일하며, 합성

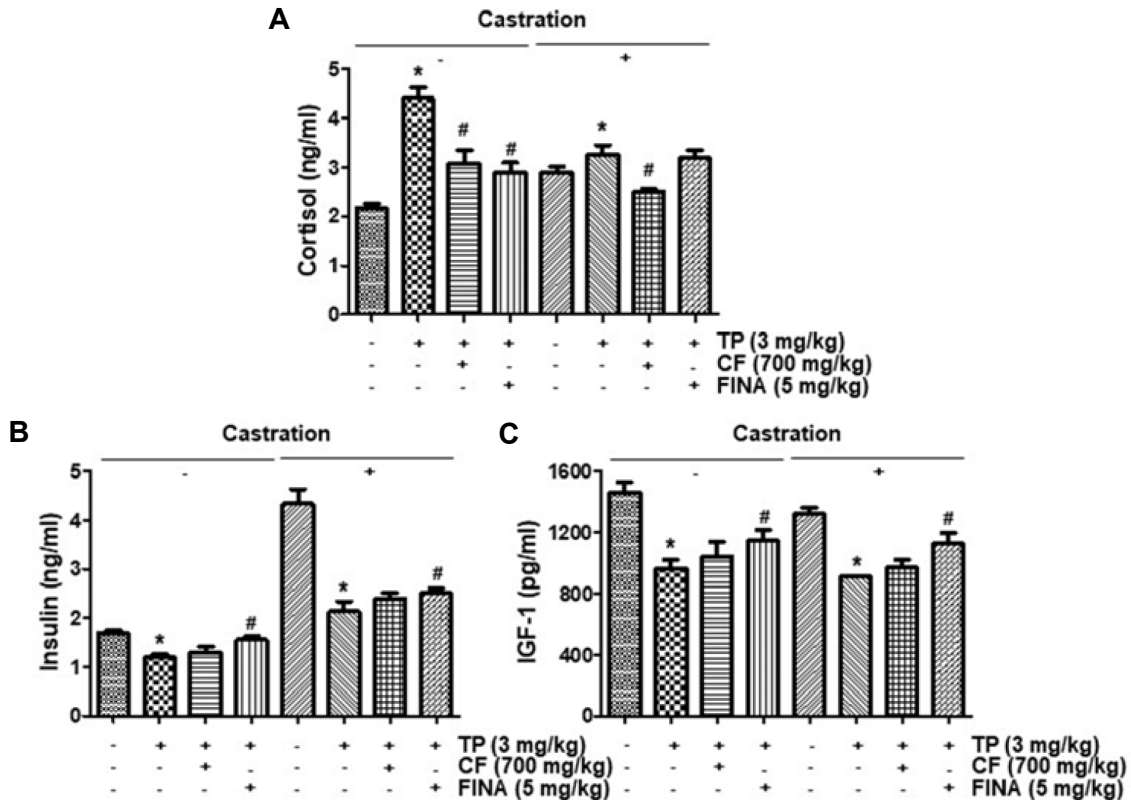


Fig. 4. Effect of CF administration on the levels of cortisol (A), insulin (B) and IGF-1 (C) in non-castrated and castrated BPH rat serum. Values are the mean SD (n=6); **p*<0.05 vs. control group; #*p*<0.05 vs. the rat with BPH group. TP (3 mg/kg), rats with testosterone propionate (TP)-induced BPH group; CF (700 mg/kg), rats with BPH group treated with Corni Fructus water extract (CF); FINA (5 mg/kg), rats with BPH group treated with finasteride (FINA).

약물에 비하여 부작용은 없는 것으로 보고되고 있다[3, 7]. 그러나 다양한 한약재 및 국내 자생 식물들도 BPH의 예방과 치료에 효과적임에도 불구하고 여전히 기능성 인증을 취득한 예는 없다. 본 연구에서는 BPH에 대한 기능성 인증을 위한 추가 자료의 획득 차원에서 이미 BPH에 대한 효능이 보고된 바 있는 산수유 추출물[16]을 비거세군과 거세군 모델에서 재확인하였다. 본 연구에 의하면, TP가 처리된 거세된 쥐에서도 정상 쥐에 비하여 전립선의 크기 및 전립선 무게가 크게 증가되었으나, CF 처리군에서는 두 실험군 모두에서 유의적인 억제 효과가 관찰되었고, 그 결과는 양성 대조 약물로 사용된 FINA 처리 그룹과 비슷하였다. 그리고 총 몸무게와 주요 장기들의 무게에는 큰 영향이 없었으며, 실험 과정에서 행동학적 이상 현상도 관찰되지 않았다. 물론 CF 처리에 따른 정확한 독성 여부의 판단을 위해서는 혈액학적, 혈청학적 및 뇨 분석에 따른 각 장기들의 병리학적 지표를 평가해야 하지만, 본 연구에서는 각 장기들의 무게에 따른 큰 유의적인 변화가 없었기에 처리된 CF는 유의적인 독성을 유발하지 않았다고 판단하였다. 아울러 선행 연구에서 나타난 TP 유도 BPH의 발달에 CF가 유의적인 억제 효과가 있었음[16]이 거세군 모델에서도 재현되었음을 알 수 있었다.

전립선의 성장과 유지에 필수적인 역할을 하는 것이 AR이지만, 노화와 함께 testosterone의 분비 감소에 의한 내분비계의 균형을 유지하기 위하여 전립선 세포는 AR의 발현을 증가시켜 DHT가 더 많은 수용체에 결합한다[4, 9]. DHT는 AR에 결합한 후 AR의 coregulator인 SRC1과 결합하면 핵에서 전립선 세포의 증식에 관여하는 다양한 성장 인자들의 전사활성이 증가하여 BPH의 발달을 촉진시킨다. 그리고 testosterone에서 DHT로의 전환을 촉진하는데 관여하는 핵심적인 효소가 5α-reductase이다[4, 21]. 본 연구의 결과에 의하면, TP는 비거세군과 거세군 모두에서 5α-reductase, AR 및 SRC1 발현의 증가를 유도하였으며, CF 처리군에서 모두 유의적으로 억제되었다. 따라서 본 연구는 결과가 CF가 5α-reductase 발현의 저하를 통하여 testosterone이 DHT로 활성화되는 단계를 차단함과 동시에 AR과 SRC1 발현의 억제를 통하여 전립선 세포의 증식을 지연시켰을 것임을 의미한다.

CF는 또한 비거세군과 거세군에서 TP에 의한 HIF-1α와 PSA의 발현도 유의적으로 억제시켰으며, 이는 FINA 처리군에서도 매우 유사하였다. 혈관 신생촉진 전사인자인 HIF-1α은 BPH에서 상피간엽이행(epithelial-mesenchymal transition)에 관여하며 전립선 세포의 증식과 BPH 세포의 이동성을 촉

진시킨다[6, 22]. 선행연구의 결과에 의하면, testosterone은 HIF-1 α 의 발현을 증가시키고 BPH에서 관찰되는 저산소증과 HIF-1 α 발현 증가는 암화학요법에 대한 내성에도 기인한다[1, 25]. 그리고 HIF-1 α 는 PSA와 함께 전립선암 초기 단계에 높은 발현을 보이며, HIF-1 α 발현 차단에 의한 전립선 암세포의 증식 억제는 PSA 발현의 감소와 직접적인 연관성을 가진다[24, 25]. 따라서 AR 의존적으로 발현되는 PSA는 BPH, 전립선 염증 및 전립선암과 같은 전립선 질환을 진단하는 데 중요한 바이오 마크로 활용되고 있다[17, 20]. 아울러 선행 연구에 의하면 산수유 추출물은 전립선 암세포의 증식을 억제할 수 있으며 이는 세포주기 정지 및 세포사멸(apoptosis) 유도 및 밀접한 연관성이 있었다[24, 33]. 따라서 CF는 AR 신호 전달 활성을 감소시킴으로써 PSA 수준을 억제하여 BPH 뿐만 아니라 다양한 전립선 질환의 억제에도 유의적인 효과가 있을 것으로 기대된다.

Cortisol은 대표적인 스트레스 호르몬으로 BPH 환자에서 상대적으로 높은 수치를 보이며, 5 α -reductase 저해제에 의한 BPH 치료군에서는 저하됨이 보고된 바 있다[11, 19]. 그리고 IGF-1/IGF-1 receptor (IGF-1R) 신호 전달 경로는 정상적인 전립선 발달에 관여하며, 이 경로의 활성 증가는 전립선 세포의 비정상적인 증식과 관련이 있다[28, 32]. 이는 활성화된 AR이 전립선 기질세포에서 IGF-1의 생산을 유도하고 주변 전립선 상피의 IGF-1R을 통해 증식하도록 자극하기 때문으로 추정된다[5, 14]. 따라서 BPH 치료를 위한 전략 중의 하나로 IGF-1/IGF-1R 신호계가 표적으로 사용될 수 있음이 제시된 바 있다[13, 27]. 본 연구에서, CF에 의한 BPH 유도의 억제에 이들 인자가 관여하는지 조사한 결과, 비거세군과 거세군에서 TP에 의해 BPH가 유도된 쥐의 혈청에서 cortisol의 수준이 증가되었지만, CF가 투여된 실험군에서는 FINA 처리군에서처럼 유의적으로 감소되었다. 그러나 insulin과 IGF-1의 수준은 오히려 TP 처리에 의하여 감소되었으며, CF 처리에 의하여 유의적인 회복 현상은 관찰되지 않았다. 특히 본 연구에서 사용된 것과 유사한 실험 모델에 의한 Elbaz et al. [13]의 결과에 의하면, TP 처리군의 전립선 조직에서 IGF-1의 발현이 매우 증가되었으며, BPH가 억제되는 조건에서 IGF-1의 발현은 현저하게 감소되었다. 비록 그들의 실험에서 혈청 내 insulin이나 IGF-1의 수준은 조사되지 않았지만, 본 연구의 결과와는 매우 상이함을 알 수 있다. 따라서 이러한 차이점을 해결하고 위한 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

결론적으로, 산수유 추출물(CF)은 비거세군에서 뿐만 아니라 거세군 모델에서도 TP에 의하여 유도된 BPH를 현저하게 개선시킴을 보여주었으며, 이러한 효과는 최소한 testosterone과 DHT의 감소와 HIF-1 α , 5 α -reductase type 2, SRC1, AR 및 PSA 발현의 억제에 의한 것임을 알 수 있다. 아울러 cortisol 수치의 감소는 유의적인 결과로 나타났지만, IGF-1/IGF-1R 신호계의 활성 관련 기전 연구는 추가 실험의 필요성이 제기

하였다. 비록 본 연구의 결과는 산수유가 BPH의 예방과 치료를 위한 잠재적인 식의약 소재로서의 개발 가능성이 높음을 시사하지만, CF에 함유된 생리활성 성분의 분석과 함께 BPH 유발에 관여하는 추가적인 세포 내 신호계 및 내분비계의 영향에 관한 유효성의 평가 또한 구체적으로 확인이 되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역 특화산업육성사업(R&D, S2874684)” 연구개발비 지원으로 수행된 연구 결과임.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Abdel-Naim, A. B., Neamatallah, T., Eid, B. G., Esmat, A., Alamoudi, A. J., Abd El-Aziz, G. S. and Ashour, O. M. 2018. 2-Methoxyestradiol attenuates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats through inhibition of HIF-1 α /TGF- β /Smad2 axis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, 4389484.
2. Akanni, O. O., Owumi, S. E., Olowofela, O. G., Adeyanju, A. A., Abiola, O. J. and Adaramoye, O. A. 2020. Protocatechuic acid ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia through the regulation of inflammation and oxidative stress in castrated rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **34**, e22502.
3. Allkanjari, O. and Vitalone, A. 2015. What do we know about phytotherapy of benign prostatic hyperplasia? *Life Sci.* **126**, 42-56.
4. Banerjee, P. P., Banerjee, S., Brown, T. R. and Zirkin, B. R. 2018. Androgen action in prostate function and disease. *Am. J. Clin. Exp. Urol.* **6**, 62-77.
5. Bogdanos, J., Karamanolakis, D., Tenta, R., Tsintavis, A., Milathianakis, C., Mitsiades, C. and Koutsilieris, M. 2003. Endocrine/paracrine/autocrine survival factor activity of bone microenvironment participates in the development of androgen ablation and chemotherapy refractoriness of prostate cancer metastasis in skeleton. *Endocr. Relat. Canc.* **10**, 279-289.
6. Chen, Y., Xu, H., Shi, Q., Gu, M., Wan, X., Chen, Q. and Wang, Z. 2019. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) mediates the epithelial-mesenchymal transition in benign prostatic hyperplasia. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **12**, 295-304.
7. Cicero, A. F. G., Allkanjari, O., Busetto, G. M., Cai, T., Larganà, G., Magri, V., Perletti, G., Robustelli Della Cuna, F. S., Russo, G. I., Stamatiou, K., Trinchieri, A. and Vitalone,

- A. 2019. Nutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Arch. Ital. Urol. Androl.* **91**, 3.
8. Czerwińska, M. E. and Melzig, M. F. 2018. *Cornus mas* and *Cornus officinalis*-analogies and differences of two medicinal plants traditionally used. *Front. Pharmacol.* **9**, 894.
 9. Da Silva, M. H. A. and De Souza, D. B. 2019. Current evidence for the involvement of sex steroid receptors and sex hormones in benign prostatic hyperplasia. *Res. Rep. Urol.* **11**, 1-8.
 10. Das, K. and Buchholz, N. 2019. Benign prostate hyperplasia and nutrition. *Clin. Nutr. ESPEN* **33**, 5-11.
 11. Detering, M., Steels, E., Koyyalamudi, S. R., Alliffranchini, E., Bocchietto, E. and Vitetta, L. 2017. *Ageratum conyzoides* L. inhibits 5-alpha-reductase gene expression in human prostate cells and reduces symptoms of benign prostatic hypertrophy in otherwise healthy men in a double blind randomized placebo controlled clinical study. *Biofactors* **43**, 789-800.
 12. Dong, Y., Feng, Z. L., Chen, H. B., Wang, F. S. and Lu, J. H. 2018. Corni Fructus: a review of chemical constituents and pharmacological activities. *Chin. Med.* **13**, 34.
 13. Elbaz, E. M., Amin, H. A. A., Kamel, A. S., Ibrahim, S. M. and Helmy, H. S. 2020. Immunomodulatory effect of diallyl sulfide on experimentally-induced benign prostate hyperplasia via the suppression of CD4+T/IL-17 and TGF-beta1/ERK pathways. *Inflammopharmacology* **28**, 1407-1420.
 14. Garrison, J. B. and Kyprianou, N. 2004. Novel targeting of apoptosis pathways for prostate cancer therapy. *Curr. Cancer Drug Targets* **4**, 85-95.
 15. Huang, J., Zhang, Y., Dong, L., Gao, Q., Yin, L., Quan, H., Chen, R., Fu, X. and Lin, D. 2018. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. *J. Ethnopharmacol.* **213**, 280-301.
 16. Hwangbo, H., Kwon, D. H., Choi, E. O., Kim, M. Y., Ahn, K. I., Ji, S. Y., Kim, J. S., Kim, K. I., Park, N. J., Kim, B. H., Kim, G. Y., Hong, S. H., Park, C., Jeong, J. S. and Choi, Y. H. 2018. Corni Fructus attenuates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by suppressing 5 α -reductase and androgen receptor expression in rats. *Nutr. Res. Pract.* **12**, 378-386.
 17. Jin, W., Fei, X., Wang, X., Song, Y. and Chen, F. 2020. Detection and prognosis of prostate cancer using blood-based biomarkers. *Mediators Inflamm.* **2020**, 8730608.
 18. Kim, E. H., Brockman, J. A. and Andriole, G. L. 2018. The use of 5-alpha reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Asian J. Urol.* **5**, 28-32.
 19. Kwon, Y. E., Oh, D. J. and Choi, H. M. 2020. Severe asymptomatic hypokalemia associated with prolonged licorice ingestion: A case report. *Medicine (Baltimore)* **99**, e21094.
 20. Liu, J., Li, Y., Yang, D., Yang, C. and Mao, L. 2019. Current state of biomarkers for the diagnosis and assessment of treatment efficacy of prostate cancer. *Discov. Med.* **27**, 235-243.
 21. Madersbacher, S., Sampson, N. and Culig, Z. 2019. Pathophysiology of benign prostatic hyperplasia and benign prostatic enlargement: A mini-review. *Gerontology* **65**, 458-464.
 22. Mitani, T., Harada, N., Nakano, Y., Inui, H. and Yamaji, R. 2012. Coordinated action of hypoxia-inducible factor-1 α and β -catenin in androgen receptor signaling. *J. Biol. Chem.* **287**, 33594-33606.
 23. Mota, P., Barbosa-Martins, J., Moura, R. S., Lima, E., Miranda, A., Correia-Pinto, J. and Carvalho-Dias, E. 2020. Effects of testosterone replacement on serotonin levels in the prostate and plasma in a murine model of hypogonadism. *Sci. Rep.* **10**, 14688.
 24. Park, K. H., Yin, J., Yoon, K. H., Hwang, Y. J. and Lee, M. W. 2016. Antiproliferative effects of new dimeric ellagitannin from *Cornus alba* in prostate cancer cells including apoptosis-related S-phase arrest. *Molecules* **21**, 137.
 25. Pipinikas, C. P., Carter, N. D., Corbishley, C. M. and Fenske, C. D. 2008. HIF-1 α mRNA gene expression levels in improved diagnosis of early stages of prostate cancer. *Biomarkers* **13**, 680-691.
 26. Ranasinghe, W. K., Sengupta, S., Williams, S., Chang, M., Shulkes, A., Bolton, D. M., Baldwin, G. and Patel, O. 2014. The effects of nonspecific HIF1 α inhibitors on development of castrate resistance and metastases in prostate cancer. *Cancer Med.* **3**, 245-251.
 27. Reynolds, A. R. and Kyprianou, N. 2006. Growth factor signalling in prostatic growth: significance in tumour development and therapeutic targeting. *Br. J. Pharmacol.* **147**, S144-S152.
 28. Ruan, W., Powell-Braxton, L., Kopchick, J. J. and Kleinberg, D. L. 1999. Evidence that insulin-like growth factor I and growth hormone are required for prostate gland development. *Endocrinology* **140**, 1984-1989.
 29. Srivilai, J., Minale, G., Scholfield, C. N. and Ingkaninan, K. 2019. Discovery of natural steroid 5 alpha-reductase inhibitors. *Assay Drug Dev. Technol.* **17**, 44-57.
 30. Van Coppenolle, F., Slomianny, C., Carpentier, F., Le Bourhis, X., Ahidouch, A., Croix, D., Legrand, G., Dewailly, E., Fournier, S., Cousse, H., Authie, D., Raynaud, J. P., Beauvillain, J. C., Dupouy, J. P. and Prevarskaya, N. 2001. Effects of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgen-dependence. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **280**, E120-129.
 31. Vickman, R. E., Franco, O. E., Moline, D. C., Vander Griend, D. J., Thumbikat, P. and Hayward, S. W. 2020. The role of the androgen receptor in prostate development and benign prostatic hyperplasia: A review. *Asian J. Urol.* **7**, 191-202.
 32. Wu, J. and Yu, E. 2014. Insulin-like growth factor receptor-1 (IGF-IR) as a target for prostate cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev.* **33**, 607-617.
 33. Yousefi, B., Abasi, M., Abbasi, M. M. and Jahanban-Esfahlan, R. 2015. Anti-proliferative properties of *Cornus mass* fruit in different human cancer cells. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **16**, 5727-5731.
 34. Zhou, Z., Cui, Y., Wu, J. and Jin, H. 2020. Efficacy and safety of dutasteride compared with finasteride in treating males with benign prostatic hyperplasia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Exp. Ther. Med.* **20**, 1566-1574.

초록 : 산수유 추출물에 의한 testosterone으로 유발된 양성 전립선 비대증의 개선

지선영^{1,2} · 김민영^{1,2} · 황보현^{1,2} · 이혜숙^{1,2} · 홍수현^{1,2} · 김태희³ · 윤선혜⁴ · 김현진⁴ · 정하은⁵ · 김성연⁵ · 김태중⁵ · 김민지⁵ · 김성옥⁶ · 최영현^{1,2*}

(¹동의대학교 한의과대학 생화학교실, ²동의대학교 항노화연구소, ³㈜함소아제약 중앙연구소, ⁴㈜네이처텍, ⁵충북테크노파크 바이오센터 화장품 뷰티팀, ⁶경성대학교 식품응용공학부)

양성 전립선 비대증(BPH)의 발병은 노화에 따른 남성 호르몬 수치의 변화와 연관된 내분비 기능 저하와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 현재 BPH 치료를 위해 임상적으로 사용되는 약물은 다양한 부작용을 나타내므로 효과적인 대체 식의약 소재의 개발을 시급히 요구된다. 산수유나무의 열매인 산수유(Fructus Corni)는 오랫동안 다양한 질병의 예방 및 치료에 사용되어왔으며 최근 BPH의 진행을 억제할 수 있음이 밝혀졌다. 본 연구에서는 BPH에 대한 산수유 열수 추출물(CF)의 추가 효능을 평가하기 위해 비거세 및 거세 동물 모델에서 TP에 의한 BPH 유도에 미치는 효과를 조사하였으며, BPH 억제를 위한 양성대조군으로 FINA를 사용하였다. 본 연구의 결과에 의하면 CF 투여는 대조군 및 FINA 처리 그룹에 비하여 비거세 및 거세군 모두에서 전립선의 과도한 발달을 억제하였다. BPH에 대한 CF의 억제 효과는 BPH 유도에 관여하는 testosterone과 DHT의 발현 감소뿐만 아니라 HIF-1 α , 5 α -reductase type 2, SRC1, AR 및 PSA 발현의 과도한 발현 억제와 관련이 있었다. 또한, 스트레스 호르몬인 cortisol의 혈청 수준은 비거세 및 거세군 모두에서 TP에 의한 BPH 유도 동안 증가하였지만 CF 투여에 의하여 유의하게 감소되었다. 그러나 BPH 유도군에서 insulin 및 IGF-1은 증가되지 않았으며 CF에 의한 효과적인 결과는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 AR 신호 전달 경로 활성의 억제를 통해 BPH에 대한 CF의 유의한 효과를 시사하며, 산수유가 BPH의 예방과 치료에 잠재적인 가능성을 가지고 있음을 시사한다.