

저항훈련은 랫 골격근에서 finasteride에 의해 유도된 단백질 항상성 교란을 개선시킨다

오성희¹, 이동원¹, 이유현², 주정선¹

¹수원대학교 스포츠과학부, ²수원대학교 식품영양학과

Resistance Training Ameliorates Finasteride-Induced Disturbance in Protein Homeostasis in Skeletal Muscle of Rats

Sung-hee Oh¹, Dong-won Lee¹, Yoo-hyun Lee², Jeong-sun Ju^{1*}

¹Department of Exercise Science, the University of Suwon, Hwaseong-si, Korea; ²Department of Food and Nutrition, the University of Suwon, Hwaseong-si, Korea

PURPOSE: Finasteride is a competitive inhibitor of 5-alpha reductase type 2 enzyme that is commonly used to treat benign prostatic hyperplasia and male pattern hair loss. It is not clear about the synergistic effects of finasteride and resistance training on protein homeostasis in androgen-target tissue such as skeletal muscle. Thus, the purpose of this study was to investigate the effects of 8-week finasteride and resistance exercise training on protein synthesis and autophagic degradation in rat skeletal muscle.

METHODS: Forty-eight male wild-type Sprague Dawley rats (8weeks old) were randomly assigned into 4 groups: (1) sedentary control, (2) finasteride, (3) exercise, and (4) exercise plus finasteride. Rats of the finasteride group received finasteride, dissolved in corn oil (10 mg/kg) by oral gavage. Rats of the exercise group climbed a 1-m ladder inclined at 85° every 3 days for 8 weeks as a means of resistance exercise. They climbed the ladder 8 times with the load of 50%, 75%, 90%, and 100% of its body weight. Rates of the exercise plus finasteride group were given both interventions. We assessed autophagy flux, protein synthesis (mTOR signaling and translation rate using the SUnSET assay), and muscular functions before and after 8-weeks of intervention, and performed one-way ANOVA to determine pre-post differences in each group.

RESULTS: The finasteride treatment significantly reduced protein synthesis while activating autophagic degradation in skeletal muscle of rats. The exercise training increased both protein synthesis and autophagic degradation. The combined treatments decreased both protein synthesis and autophagy flux in the skeletal muscle ($p < 0.05$).

CONCLUSIONS: Eight weeks of finasteride treatment appears to disturb the protein homeostasis, which is viewed as a balance of protein synthesis and degradation through the reduction in protein synthesis and activation in autophagic degradation simultaneously in skeletal muscle. Resistance exercise appears to alleviate the disruption of protein homeostasis induced by finasteride treatment.

Key words: Finasteride, Autophagy, Autophagic flux, Protein homeostasis, Skeletal muscle

서론

양성전립선비대증(Benign Prostatic Hyperplasia, BPH)은 노인 남성

에게 가장 흔한 질병 중의 하나로 증상이 점진적으로 진전되는 질병이다. BPH는 40대부터 증상이 생기기 시작하고, 50대 후반부터는 삶의 질을 저하시킬 정도의 증상을 호소하는 질병으로, 요도 후부의 점막

Corresponding author: Jeong-sun Ju Tel +82-31-230-2368 Fax +82-31-230-2563 E-mail jju625@hotmail.com

*이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 연구되었음(NRF-2016S1A5A8018229).

*이 연구는 오성희 석사학위 논문의 자료에 기초하여 작성됨.

Keywords 피나스테라이드, 자가포식, 자가포식 유동, 단백질 항상성, 골격근

Received 30 Mar 2019 **Revised** 17 Apr 2019 **Accepted** 23 Apr 2019

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

아래에 있는 내선, 요도 주위선이 정상보다 많이 증식하여 요도의 넓이가 줄어들거나 심한 경우 막혀서 배뇨 장애를 발생시킨다[1]. BPH 발병의 원인은 아직 명확하게 알려져 있지 않지만 호르몬의 불균형(andro- gen, estrogen), 전립선의 간질(stromal)과 상질(epithelial)의 성장인자들(growth factors)의 과잉발현, 사이토카인과 스테로이드 호르몬 등이 원인으로 알려져 있다. 그리고 나이, 가족력, 인종, 당뇨, 관상동맥질환, 고혈압 등과 같은 만성질환, 흡연 등이 연관되어 있는 것으로 보고되어 있고, 또한 식생활 습관과 영양요소는 다양한 기전을 통하여 BPH에 영향을 끼친다[2]. 병리학적으로 BPH는 상피와 간질 부분의 세포 증식성(hyperplastic) 성장으로 인하여 전립선에서 수많은 결절(nodules)이 생기는 것이 특징이다[3]. BPH의 임상적인 치료로 5 α -reductase inhibitors (5-ARI; e.g. finasteride)가 널리 사용되고 있다. 현재 finasteride는 전립선에서 다이하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone, DHT) 농도를 감소시키고 상피세포의 세포사멸(apoptosis)을 유도시킬 수 있는 유일한 약물이다. 하지만 5-ARI는 전립선의 크기를 약 20% 정도만 감소시킬 수 있고 그 결과로 4년 내에 수술 처치의 가능성을 약 55% 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었다[4].

Finasteride는 머크 제약회사가 BPH 환자들을 치료하기 위해 Proscar®라는 이름으로 1992년에 개발하였다. 그 후 BPH 환자들이 복용하는 과정에서 finasteride가 모발의 성장을 촉진시킬 수 있다는 점이 밝혀지면서 1997년에 Propecia®라는 탈모 치료제로 개발되었다. 5 α -reductase는 테스토스테론(testosterone)을 DHT로의 전환을 촉매하는 효소이고 DHT는 남성 성 스테로이드 호르몬(male sex hormone)으로 테스토스테론보다 안드로겐 수용체(androgen receptor, AR)와의 반응이 훨씬 강력한 것으로 알려져 있다. DHT는 또한 유전적인 요인과 함께 남성형 탈모증(androgenetic alopecia)을 일으키는 주요 원인으로 여겨지고 있다[5]. Finasteride는 5 α -reductase의 효소 활성을 억제시키는 약물로 DHT의 농도를 감소시킴으로써 탈모를 억제하는 것으로 보고

되었다[6](Fig. 1). Finasteride는 혈청 DHT 수준을 약 70% 감소시키고 전립선에서는 약 90%까지 감소시킨다[7]. Finasteride는 대체로 부작용이 많지 않은 것으로 알려져 있지만, 사정 양(ejaculation volume)의 감소와 성욕(libido) 감퇴와 같은 남성 성기능의 감소, 그리고 남성의 여성화 유방(gynecomastia), 우울증과 자살 충동과 같은 부작용 또한 보고되었다[8]. 또한 몇 개의 사례 연구에서 finasteride 투여가 근통증(my- algia)과 근육 손상의 지표인 혈액의 크레아틴 키나제(creatine kinase)를 증가시키는 증상인 혈청 크레아틴키나제증(hyperCKemia)을 유발시키며[9], 횡문근융해증(rhabdomyolysis)과 같은 근육 손상과 근육질환(myopathy)의 위험성이 보고되었다[10,11]. 따라서 finasteride는 골격근과 같은 남성호르몬 표적 조직에 영향을 미치는 것은 사실인 것 같다. Finasteride는 이러한 조직세포에서 DHT 생성을 억제시키기 때문에 세포 내 단백질 대사 작용에 관여하여 단백질 항상성(protein homeostasis) 유지에 영향을 미칠 것 같다.

남성형 탈모증 치료를 위해 finasteride (Propecia®)가 처방될 때, 의사가 주로 finasteride 복용과 함께 저항운동을 권장한다. 그 이유는 fin- asteride의 복용으로 인한 DHT의 감소가 근육 내 단백질 합성의 감소를 일으켜 환자들의 근육감소증(muscle atrophy)이나 근력 감소 유발에 대한 염려 때문으로 볼 수 있다. 그러한 증상을 완화시키기 위한 방편으로 finasteride 복용 시, 근력운동 즉 저항운동이 환자에게 추천된다. 근육은 단백질 합성과 단백질 분해 사이의 균형, 즉 단백질 전환율(protein turnover)에 의해 근질량(muscle mass)을 유지한다. 단백질 합성의 증가와 또는 단백질 분해의 감소는 정적인 단백질 균형(positive protein balance)으로 단백질이 축적된다. 반면, 부정적인 단백질 균형(negative protein balance)은 단백질 합성의 감소와 또는 단백질 분해의 증가로 인해 골격근의 단백질 손실이 생긴다. 근육 손실은 단백질 합성률의 감소, 단백질 분해률의 증가, 또는 이 두 가지 과정의 조합이 원인이 될 수 있다[12]. 골격근의 근질량 증가(hypertrophy)를 유도하는 가

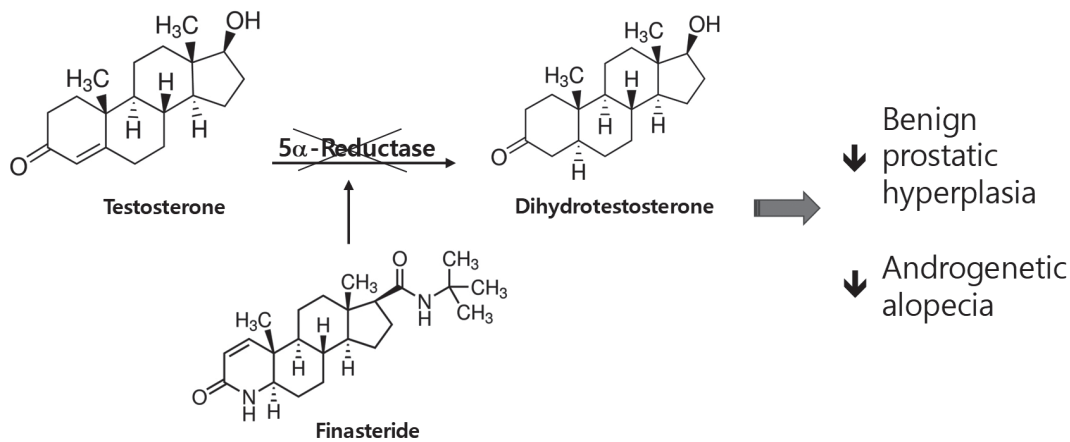


Fig. 1. Structure and mechanism of action of finasteride, a 5-alpha reductase inhibitor, reduces the conversion of testosterone to dihydrotestosterone.

장 효과적인 방법은 저항운동훈련에 의한 것으로 알려져 있다. 즉 근육 단백질의 분해율보다는 단백질의 합성률을 더 증가시킨다는 것을 의미한다. 또한 저항운동은 체력을 향상시키고, 근육량과 근육 횡단면적을 증가시키며, 체지방률을 감소시키며, 근력 및 근지구력의 향상에 도 효과가 있다[13].

BPH의 치료 목적이든 남성형 탈모증 치료의 목적이든, finasteride를 복용하면서 저항운동을 꾸준히 하는 환자들의 골격근에서 단백질 항상성에 직접적으로 관여하는 2가지 시스템인 단백질 합성/또는 단백질 분해시스템에 관한 연구는 현재 충분히 되어 있지 않다. 따라서 이러한 조직세포의 단백질 합성에 중요한 역할을 하는 mTOR 신호 시스템과 단백질 분해에 중요한 역할을 하는 자가포식(autophagy)이 장기 간의 finasteride 투여에 의해 어떠한 변화를 일으키는가를 알아봄으로써 finasteride 투여로 유발되는 생리적 현상들을 규명해 볼 수 있을 것 같다. 특히 BPH 환자의 경우 대부분이 남성 노인으로 노화에 의한 근육감소증(sarcopenia)이 진행되고 있는 상태이기 때문에 finasteride 과 저항운동의 복합적 처치는 골격근에서 단백질의 항상성과 관련된 아직 밝혀져 있지 않은 작용을 일으킬 수 있다.

따라서 본 연구는 BPH와 남성형 탈모증의 치료 약물로 사용되는 finasteride (Proscar®, Propecia®) 투여와 저항운동의 복합적 처치가 골격근과 같은 안드로젠 표적 조직(androgen target tissue) 세포에서 단백질 항상성 유지와 관련 있는 단백질 합성과 단백질 분해 시스템에 미치는 영향을 동물 모델을 사용하여 조사하고자 한다.

연구 방법

1. 실험동물

본 연구에 사용된 실험동물은 8주령의 수컷 Sprague-Dawley (SD) Rats 48마리(샘타코)를 구입하여 1주간의 적응기를 마친 후, 각각 그룹 당 12마리씩 무작위로 임의 배정하여 실험에 사용하였다. 사육실의 온도는 22°C, 습도는 약 50%, 명암은 12시간 주기로 조절하였다. 사료와 물은 충분히 공급하였고, 실험동물 취급법에 따라 실험하였으며, S대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시하였다. 초기 동물 그룹은 다음과 같이 구

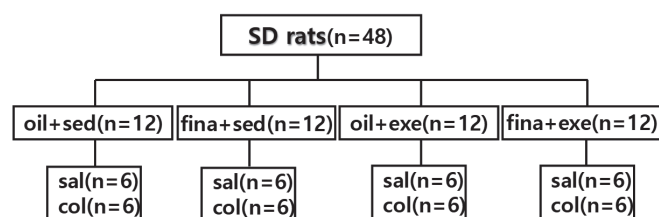


Fig. 2. Experimental design of *in vivo* autophagic flux assay. Oil+sed, corn oil+sedentary group; fina+sed, finasteride+sedentary group; oil+exe, corn oil+exercise group; fina+exe, finasteride+exercise group; sal, saline; col, colchicine.

분하였다: sedentary+oil (sed+oil, n=12); sedentary+finasteride (sed+fina, n=12); exercise+oil (exe+oil, n=12); exercise+finasteride (exe+fina, n=12) (Fig. 2).

2. 실험방법

1) Finasteride 처치

Finasteride 처치 그룹은 5 α -reductase 억제제인 Finasteride (TCI, F0675) 10 mg/kg을 8주 동안 매일 경구 투여하였고, 통제그룹은 finasteride를 녹이는 데 사용되는 corn oil이 finasteride와 동일한 양으로 매일 경구 투여되었다[14].

2) *In vivo* autophagy flux assay

지구성 운동이 마우스 골격근의 자가포식 유동을 변화시키는가를 조사하기 위해, *in vitro* autophagy flux assay를 동물모델에 적용시켜 개발된 “*in vivo* autophagy flux assay” [15] 방법을 사용하였다. 미세소관 중합억제제(microtubule depolymerizing agent)인 colchicine (Col, 0.4 mg/kg/day, Sigma-Aldrich, #C9754)을 처치하는 그룹과 처치하지 않는 그룹을 포함시켜 LC3-II를 Western blot으로 측정하였다. Fig. 2에 설명된 것처럼, 골격근에서 *in vivo* autophagy의 변화를 측정하기 위해 실험 초기에 구분된 4개의 그룹의 동물들을 희생시키기 전 이를 동안(매일 1회) colchicine I.P. 주사 그룹과 saline I.P. 주사 그룹으로 나누어 8개의 그룹을 적용시켰다.

3) 저항운동 프로그램

본 연구에서 동물의 저항운동은 Lee et al. [16]의 연구에서 실시한 tower climbing 운동을 수행하였다. 길이 1 m, 2.0 cm의 grid step (직경 0.5 mm)과 경사도 85°의 철제 사다리로 구성된 tower climbing 운동 장비를 이용하였다. 운동 프로토콜은 먼저 체중의 50%의 무게로 꼬리부분에 부하를 주어 tower climbing 운동에 3일간 적응하도록 하였다. 적응 기간이 지난 후, tower climbing 운동에 참여하는 동물들을 체중의 50, 75, 90, 100, 120, 130, 140, 150%까지 8주 동안 점진적으로 증가시켰다. 훈련 세션당 10번의 등반을 수행하였고 각각의 세션 사이의 2분간의 휴식을 취하도록 하였다. 훈련 세션은 일주일에 3일 실시하였다. 같은 케이지의 동물들은 함께 훈련되었고 동물들을 사다리 꼭대기의 플랫폼 위에 놓고 그중 하나를 사다리 바닥에 놓게 되면 운동하는 동물은 자연스럽게 다른 동물들과 빠르게 합류하게 된다.

4) *In vivo* SUnSET assay

골격근의 단백질 합성은 *in vivo* SUnSET (surface sensing of translation) 방법으로 측정하였다[17]. 단백질 합성률은 흔히 방사능 동위원소 추적자(e.g., 3H-phenylalanine, 35S-methionine, 15N-lysine, 13C-leu-

cine 등)를 사용하여 표지된 아미노산이 얼마나 많이 근육 단백질에 포함되어 단백질로 변화하는가를 수량화하는 방법을 통해 측정되어 왔다. SUnSET assay는 최근에 개발된 비방사성 비동위원소(puromycin)를 이용하는 *in vivo*에서 단백질 합성률을 Western blot 방식으로 측정할 수 있는 기술이다. 먼저, 동물 마취를 시킨 후, 0.02 M PBS 용액에 용해된 puromycin을 동물 체중 1 g당 0.04 μ mole을 I.P.로 주사한 후 골격근 조직을 정확히 15분 후에 적출시켰다. 나머지 과정은 Western blot 방법과 동일하며 조직 세포의 단백질 합성은 mouse monoclonal anti-puromycin 항체(cat#MABE343, Millipore)를 사용하여 분석되었다.

5) Western blotting 분석

마우스 골격근에서 자가포식 유동의 측정은 전기영동법(Westrn blot)에 의해서 분석되었다. 이 실험에서는 Bio-Rad사의 Western blot 시스템을 사용하여 전형적인 형태의 전기영동법을 사용하여 특정한 단백질의 양을 분석하였다. 간단히 설명하면, 전경골근(tibialis anterior, TA)이 그라인더에 protease inhibitors cocktail (Sigma-aldrich, #P2714)이 섞인 ripa buffer 안에서 분쇄되어 lysates로 만들어졌다. BCA assay를 통해 전체 단백질 양이 조사된 뒤 SDS와 염색약과 함께 섞어 샘플을 준비하였다. 단백질은 전기영동에 의해 젤에서 분리되고 nitrocellulose membrane (0.2 μ m, Bio-rad)에 전이시킨 후 5%의 우유에 blocking을 하였다. 그 후 primary 항체와 함께 overnight 4°C에서 incubation을 시키고 washing을 실시한 뒤 secondary 항체로 incubation을 시켰다. 다시 washing 과정을 거친 뒤 ECL 용액(Pierce Biotechnology)에 incubation 되고 필름에 현상되어 특정 단백질 수준을 분석하였다. Band의 강도는 densitometric scanning을 하여 “ImageJ”(NIH) 프로그램을 통해 단백질 양이 수량화(quantification)되었다. 이 실험에서 사용된 Primary 항체: anti-LC3B (L7543), anti-actin (A2066), Sigma-Aldrich; anti-p62 (1842-1-AP), Proteintech; anti-phospho-p70S6 (ser235/236), anti-p70S6, Cell Signaling Technology.

6) Hanging test

Finasteride와 저항운동이 골격근에 미치는 영향을 조사하기 위해 각 그룹의 동물들의 근육 능력이 평가되었다. 이 검사는 Two limbs hanging test를 통해 동물들의 평형성, 협응성, 근육 상태를 측정할 수 있으며 Aartsma-Rus & Putten이 개발한 방법이 사용되었다[18]. 2 mm의 두께, 60 cm 길이의 철제 와이어를 60 cm 높이의 틀에 고정시키고 동물을 두발(앞발)로만 매달릴 수 있도록 하여 매달린 시간(초)을 측정하였다.

3. 자료처리

SPSS 21.0을 이용하여 각 측정변인에 대해 평균값과 표준편차(M \pm SD)를 산출하여 그룹 간 차이에 대한 유의성을 일원변량분석(one-way ANOVA)으로 검증하였으며, 사후검증은 Fishers LSD post-hoc로 실시하였다. 유의 수준은 $\alpha=0.05$ 로 설정하였다.

연구 결과

1. 몸무게, 골격근과 전립선 무게

본 연구에서 8주 finasteride와 저항운동 후 측정된 몸무게는 4그룹 간에 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다($p>.05$, Table 1). Finasteride와 저항운동이 골격근의 무게에 미치는 영향을 비교하기 위해 8주간 finasteride 및 저항운동을 처치한 후 동물들의 전경골근(TA)과 장지신근(extensor digitorum longus, EDL)을 채취하여 그 무게를 측정하였다. Exe+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서 TA와 EDL 근육 무게가 약 12% 각각 감소하였다($p<.05$). 몸무게로 보정한 두 근육의 무게(근육 무게([mg]/몸무게[g]) 또한 sed+oil그룹과 exe+oil 그룹 그리고 exe+oil그룹과 exe+fina그룹 간의 유의한 차이를 보여주었다($p<.05$, Table 1). 따라서 본 연구에서 8주 저항운동은 골격근의 무게를 유의하게 증가시켰고 8주 finasteride 처치는 저항운동으로 증가된 골격근의 무게를 유의하게 감소시켰다. 8주 finasteride와 저항운동 후 측정된 전

Table 1. Wet skeletal muscle and prostate weight, and weight-adjusted muscle and prostate weight

	sed+oil	sed+fina	exe+oil	exe+fina
Body weight, g	380.3 \pm 10.0	371.0 \pm 10.8	368.4 \pm 7.7	354.2 \pm 11.5
TA wet weight, mg	577.0 \pm 27.1	593.3 \pm 24.3	644.7 \pm 25.2	565.6 \pm 22.4 ^δ
TA/BW, mg/g	2.04 \pm 0.08	2.16 \pm 0.04	2.36 \pm 0.07*	2.16 \pm 0.06 ^δ
EDL wet weight, mg	173.1 \pm 0.02	178.0 \pm 0.01	193.4 \pm 0.02	169.7 \pm 0.01 ^δ
EDL/BW, mg/g	0.46 \pm 0.02	0.48 \pm 0.01	0.52 \pm 0.02*	0.48 \pm 0.01 ^δ
Prostate weight, g	0.59 \pm 0.05	0.27 \pm 0.04*	0.38 \pm 0.04**	0.47 \pm 0.04**
Prostate/BW, g/g	0.0015 \pm 0.0	0.0007 \pm 0.0*	0.0010 \pm 0.0*	0.0013 \pm 0.0 ^δ

Values are means \pm S.E; n=6/group.
 TA, tibialis anterior; EDL, extensor digitorum longus; BW, body weight.
 * $p<.05$ vs. sed+oil, # $p<.05$ vs. sed+fina, ^δ $p<.05$ vs. exe+oil.

립선의 무게가 sed+oil그룹에 비하여 sed+fina그룹에서 약 50% 유의하게 감소하였고, exe+oil그룹에서는 약 30% 감소하였다($p < .05$). Exe+fina그룹의 전립선 무게는 sed+oil그룹과 유의한 차이가 발견되지 않았다($p > .05$). 이 결과는 전립선의 무게를 몸무게로 보정한 값으로 비교했을 때도 비슷하게 나타났다. Sed+oil그룹에 비하여 sed+fina그룹에서 전립선의 무게가 약 55%, exe+oil그룹에서는 약 33% 각각 감소하였다($p < .05$, Table 1).

2. 8주 finasteride와 저항운동이 골격근의 자가포식 유동에 미치는 영향

8주 finasteride와 저항운동이 골격근의 단백질 분해에 미치는 영향을 알아보기 위해 각 그룹의 TA 근육을 채취하여 자가포식의 활성화를 측정할 수 있는 두 가지 자가포식 마커인 LC3와 p62의 항체(antibody)를 사용하여 자가포식의 유동을 western blot 분석 방법으로 측정하였다. LC3를 이용한 *in vivo* autophagy flux assay 결과를 보면 colchicine을 처치하여 자가포식을 억제시켰을 때 sed+oil그룹에 비해 sed+fina와 exe+oil 두 그룹에서 각각 약 57%와 33% 증가하였고, sed+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서 약 46% 유의하게 증가하였다($p < .05$, Fig. 3). p62의 경우 saline 처치 그룹들 중, sed+oil그룹에 비해 sed+fina그룹에서 약 50%, exe+oil그룹에서 약 25% 유의하게 감소하였으며($p < .05$), exe+fina그룹에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다

($p > .05$). Sed+fina그룹에 비해 exe+oil그룹에서 약 50%, exe+fina그룹에서 약 100% 유의하게 증가하였다. 또한 exe+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서 약 25% 유의하게 증가하였다($p < .05$, Fig. 3). 따라서 8주 finasteride와 저항운동은 각각 골격근에서 자가포식의 활성화를 증가시켰다. 8주 finasteride와 저항운동의 복합적 처치는 골격근에서 두 처치들의 시너지한 효과는 나타나지 않았다.

3. 8주 finasteride와 저항운동이 골격근의 단백질 합성에 미치는 영향

8주 finasteride와 저항운동이 골격근의 단백질 합성에 미치는 영향을 알아보기 위해 각 그룹의 TA 근육에서, 단백질 합성의 수준을 알아볼 수 있는 대표적인 단백질로서 mTOR시스템 하위인자(substrate)인 phospho-S6 ribosomal protein (p-S6 ser235/236)과 puromycin 항체를 사용하여 western blot 분석 방법으로 측정하였다. S6 인산화는 sed+oil그룹에 비해 sed+fina그룹이 약 60%와 exe+fina그룹에서 약 50%가 각각 유의하게 감소하였다($p < .05$, Fig. 4A, B). 하지만 8주 저항운동은 S6 인산화를 변화시키지 않았다($p > .05$). Puromycin을 사용하여 측정된 단백질 합성 수준을 분석한 결과를 보면 sed+oil그룹에 비해, sed+fina그룹이 약 45% 유의하게 감소하였고($p < .05$), sed+oil그룹과 비교하여 exe+oil그룹은 약 48%가 유의하게 증가하였다($p < .05$). 또한 sed+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서는 약 95% 증가하였다. Sed+fina그

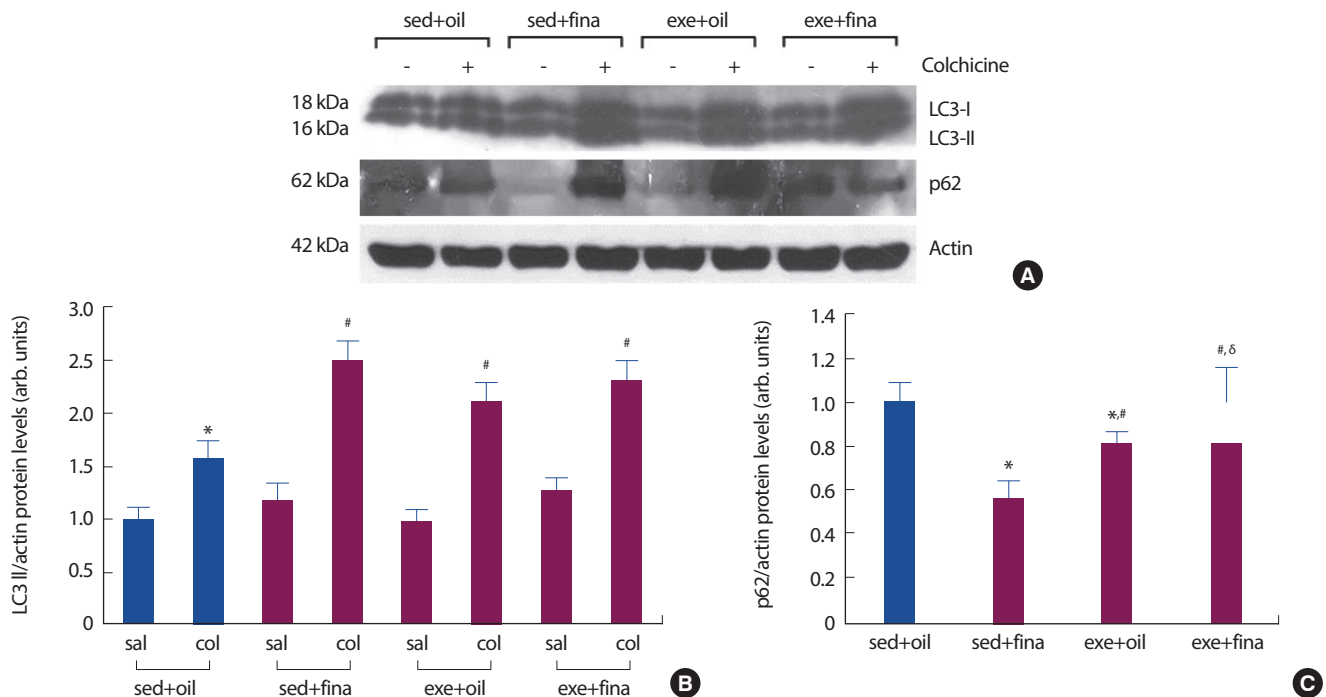


Fig. 3. The comparison of autophagy marker proteins and the effects of 8-week finasteride administration and resistance exercise on autophagy marker proteins in skeletal muscle of rats. Representative immunoblot images of LC3, p62 or actin (A). LC3-II/actin (B), p62/actin (C) were quantitated via densitometry from 6 mice per treatment conditions. Values are means±SE; (n=6). * $p < .05$ vs. sed+col. # $p < .05$ vs. sed+fina, $^{\delta}p < .05$ vs. exe+oil.

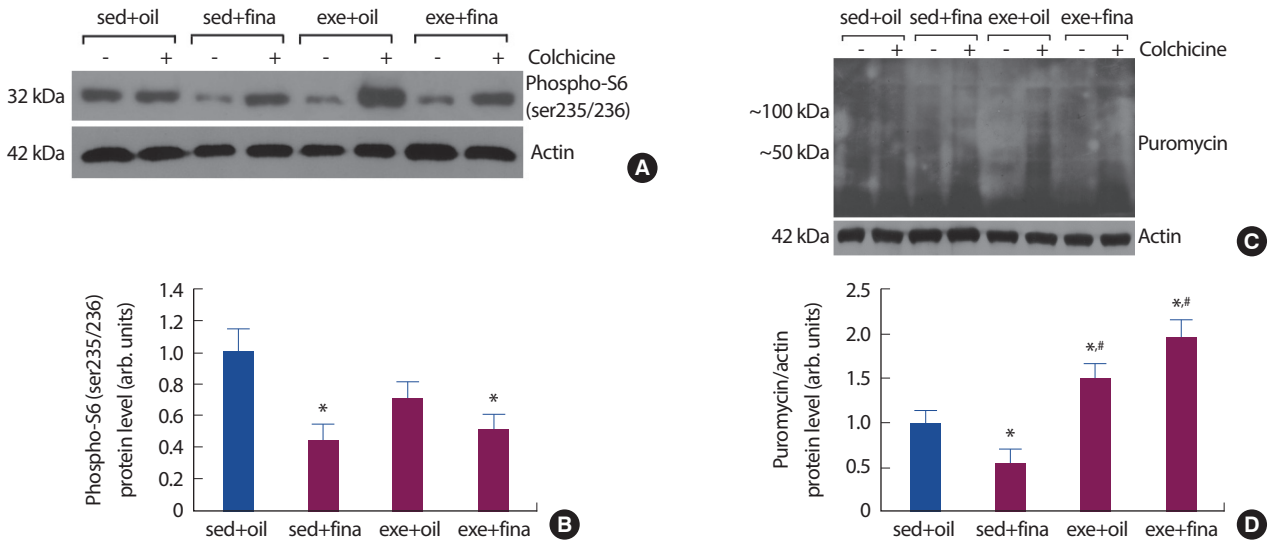


Fig. 4. The effects of 8-week finasteride administration and resistance exercise on phosphorylation of S6 in skeletal muscle of rats. Representative immunoblot images of phosphor-S6 (ser235/236) or actin (A). Phospho-S6 (ser235/236) (B) were quantitated via densitometry from 6 mice per treatment conditions. Quantification of protein synthesis following 8-week finasteride administration and resistance exercise in skeletal muscle of rats. Representative immunoblot images of puromycin or actin (C). Puromycin/actin (D). Each bar represents the means±SE for muscles from 6 mice (n=6). **p* < .05 vs. sed+oil, #*p* < .05 vs. sed+fina.

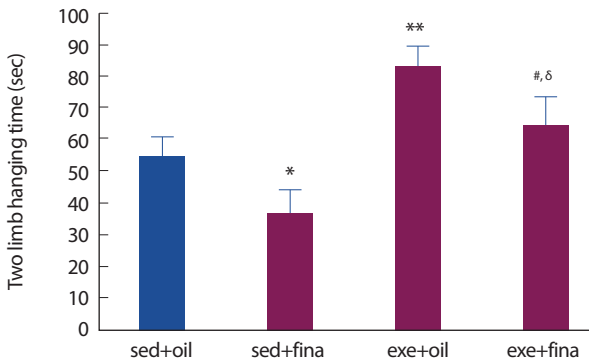


Fig. 5. Comparison of two-limb hanging time following 8-week finasteride administration and resistance exercise. Each bar represents the means ± SE for muscles from 6 mice (n=6). **p* < .05 vs. sed+oil, #*p* < .05 vs. sed+fina, ^δ*p* < .05 vs. exe+oil.

롭과 비교하여 Exe+oil그룹에서 puromycin의 농도가 약 95% 증가하였고(*p* < .05), sed+fina그룹에 비해 exe+fina그룹에서 140% 증가하였다 (*p* < .05). Exe+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다(*p* > .05, Fig. 4C, D). 따라서 8주 finasteride 처치는 골격근의 단백질 합성을 감소시킨 것을 알 수 있다.

4. 8주 finasteride와 저항운동이 근기능에 미치는 영향

8주 finasteride와 저항운동의 처치가 골격근 기능을 변화시킬 수 있는가를 측정하기 위해 앞발 매달리기 검사(two limb hanging test)를 통하여 각 그룹의 근력검사를 측정하였다. 두 개의 앞발로만 매달리기를 시행하고 그 시간(초)을 측정한 결과 sed+oil그룹에 비해 sed+fina그룹

에서 30% 감소하였고 exe+oil그룹에서는 50% 증가하였으며(*p* < .05, Fig. 5), exe+fina그룹에서는 큰 차이가 없었다(*p* > .05). Sed+fina그룹에 비해 exe+oil그룹에서 120% 증가하였고, exe+fina그룹에서 70% 증가하였다 (*p* < .05). 또한 exe+oil그룹에 비해 exe+fina그룹에서 30% 감소하였다 (*p* < .05, Fig. 5). 따라서 본 연구에서 8주 finasteride 처치는 근력과 같은 근기능을 감소시켰으며 8주 저항운동은 근기능을 오히려 증가시켰다.

논 의

본 연구에서는 finasteride의 투여와 저항운동이 골격근의 단백질의 항상성에 관여하는 단백질 합성 및 분해 시스템에 미치는 영향 조사하기 위하여 8주 동안 랫에 finasteride를 투여하거나 저항운동 훈련을 실시한 후 골격근의 단백질 합성과 분해 시스템을 측정하였다.

BPH 환자에게 사용되는 약물인 finasteride는 전립선이 표적 조직 중의 하나임이 분명한 것 같다. 본 연구에서 8주 finasteride를 처치한 후 측정된 전립선 무게가 평균 약 50% 감소되었고 몸무게로 보정시킨 전립선 무게 값 즉, 전립선 무게/몸무게(mg/g) 비율 또한 비슷하게 감소되었다. 하지만 8주 finasteride 처치는 골격근(전경골근, 장지신근)의 무게와 근육무게/몸무게(mg/g)의 비율을 변화시키지 못하였다. 두 조직 간의 이러한 차이가 나타난 것에 대해 정확히 이해되지는 않지만 신체 여러 조직에서 5 alpha-reductase (5A-R)의 동질 효소들(isozymes)의 유전자 발현상의 차이에 의한 것으로 생각된다. Finasteride는 5 alpha-reductase type 2 효소의 작용을 억제시켜 testosterone을 DHT로의 전환

을 감소시킨다. 세 가지 종류의 5A-R의 동질 효소들(type 1, 2, 3)이 발견되었으며 신체 여러 조직에서 이 효소의 유전자 발현이 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. 5 alpha-reductase type 1은 간, 지방과 골격근과 같은 대사적 조직(metabolic tissue)에 주로 발현되어 있고, type 2는 주로 전립선과 같은 생식계의 조직에 주로 발현되어 있다[19]. 5A-R type 3에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 따라서 type 2 5A-R 억제제인 finasteride 처치가 DHT 합성을 감소시켜 전립선 무게를 감소시키는 데 기여했을 것으로 생각되는 반면 골격근에서 type 2 5A-R의 결핍으로 인한 finasteride의 작용이 골격근의 무게를 변화시키지 못하였을 것으로 보인다. 그뿐만 아니라 골격근에서 DHT의 작용에 의문이 든다. 연구자들은 DHT의 효과, 즉 테스토스테론의 DHT로의 전환이 근육량, 근력 및 성기능에 미치는 영향을 현재 명확하게 이해하지 못하고 있다. 테스토스테론의 DHT로의 전환은 전립선 및 피부와 같은 높은 5A-R 활성을 갖는 일부 조직에 영향을 미치지만, 골격근 및 뼈를 비롯한 다른 조직에는 영향을 미치지 않는다[20]고 하였다. 따라서 전립선에서는 DHT의 역할이 테스토스테론에 비해 큰 반면 골격근에서는 DHT의 작용보다는 테스토스테론의 작용이 androgenic 효과를 발휘하는 데 있어 더 중요한 역할을 할 수도 있다. 골격근에서 이 두 호르몬에 대한 정확한 작용은 앞으로 명확히 밝혀져야 할 것으로 보인다.

본 연구에서 8주 finasteride 처치가 골격근에 아무런 영향을 미치지 않은 것은 아니었다. 8주 저항운동은 비훈련 통제그룹(sed+oil)보다 TA와 EDL 근육/몸무게 비율을 유의하게 증가시켰다. 8주 finasteride 처치는 8주 저항운동에 의해 증가된 근육 무게를 유의하게 감소시켜 골격근에서 저항운동 훈련의 효과를 상쇄시키는 결과를 보여주었다(Table 1). Finasteride에 의한 저항운동 효과의 상쇄 작용, 즉 근질량 감소를 유도한 기전에 대해 본 연구에서는 조사되지 않았지만, finasteride가 골격근에서 5 alpha-reductase type 2 효소를 억제시키는 작용 외의 알려져 있지 않은 다른 영향이나 효과에 의해 나타난 결과일지도 모른다. 예를 들어, 세포사멸을 유도하거나 단백질 분해 시스템을 활성화시켜 근질량 감소에 영향을 미칠 수 있다.

Finasteride와 저항운동이 골격근의 자가포식에 미치는 영향이 *in vivo*에서 autophagic flux assay 방법을 통해 측정되었다. 이 방법은 자가포식체의 분해, 즉 LC3-II의 분해를 억제시키는 colchicine을 처치하는 경우와 처치하지 않을 경우를 동시에 두고 LC3-II 단백질 수준을 측정하는 방법이다. 따라서 각 그룹에서 colchicine이 처치된 그룹만이 자가포식의 활성화를 보여줄 수 있으며 colchicine이 처치된 그룹의 LC3-II의 단백질 수준을 그룹 간 비교해 보았을 때, 골격근에서 8주 finasteride 처치와 저항운동 둘 다 자가포식을 약 50% 증가시켰으며, 8주 finasteride의 투여가 골격근의 자가포식을 운동으로 증가된 수준만큼이나 증가시킨다는 사실은 본 연구에서 처음으로 제시되었다. 또한 8주 finasteride와 저항운동을 복합적으로 처치했을 경우에는 추가적인

자가포식의 활성화는 발견되지 않았다. 이 결과는 또 다른 자가포식 마커인 p62 단백질 수준을 그룹 간 비교해 보았을 때도 이와 유사한 결과가 나타났다. p62 단백질은 자가포식이 활성화될 때 감소하게 되고 반대로 자가포식이 억제되었을 때, 세포 내에 분해되지 않고 축적되어 높은 단백질 수준을 보여준다. p62의 Western blot 결과는 8주 finasteride와 저항운동 처치가 각각 p62 단백질 수준을 감소시킨 것을 보여주었다. 즉, 8주 finasteride 및 저항운동 훈련은 골격근에서 자가포식을 활성화시킨다는 의미이다. 운동이 골격근의 자가포식을 활성화시키는 것은 본 연구뿐만 아니라 선행연구들[21-23]에서 밝혀졌었다. 이 선행연구들은 운동 프로그램을 유산소 운동 훈련을 사용하여 자가포식이 활성화되는 것을 보여주었고, 본 연구는 저항운동 훈련 또한 자가포식 유동을 증가시킨다는 것을 최초로 확인시켜 주었다. 본 연구에서 실시한 저항운동은 어느 정도의 유산소 운동 훈련의 효과를 수반할 수 있을 것으로도 간주된다. 반면 8주 finasteride와 저항운동의 복합적 처치는 골격근에서 p62 단백질 수준을 통제그룹(sed+oil)의 수준과 비슷하게 오히려 증가시키는 결과를 보여주었다. 본 연구에서 측정된 p62 단백질은 자가포식과 관련되어 있는 분자물질은 사실인 것 같지만 자가포식의 유동을 측정하는 데는 중요한 단백질이 아닌 것으로 생각된다. 8주 finasteride 처치 그리고 8주의 저항운동 훈련은 골격근의 자가포식을 활성화시켰으며, p62 Western blot 결과 또한 LC3를 이용한 autophagic flux assay로 측정된 결과와 비슷하게 나타났다.

8주 finasteride의 투여와 저항운동이 골격근의 단백질 합성에 미치는 영향을 조사하기 위해 mTOR의 하위 경로 인자인 phospho-S6의 인산화(serine 235/236)의 수준을 통해 mTOR 단백질의 활성화가 측정되었고 지방사성 추적자인 puromycin을 사용하여 SUNSET assay를 통해 조직 세포 내부에서 번역(translation)이라고 불리는 mRNA code에 의해 단백질이 합성되는 수준이 측정되었다. 8주 저항운동은 골격근에서는 단백질 합성을 증가시키고 근 비대(hypertrophy)를 일으키는 긍정적인 효과를 주는 것이 일반적인 사실이다. 본 연구에서 8주 저항운동은 골격근에서 mTOR의 유의한 변화 없이 근육 무게를 증가시키는 결과를 보여주었다. 그러나 전체적인 단백질의 합성률을 보여주는 SUNSET assay의 결과는 mTOR의 활성화(S6 인산화)의 결과와 일치하거나 다른 결과를 보여주었다. S6의 인산화와 마찬가지로, 8주 finasteride 처치는 골격근에서 puromycin 수준이 감소 즉, 8주 finasteride 처치는 단백질의 합성을 유의하게 감소시켰다. 이것은 finasteride 처치에 의한 항안드로젠 작용(anti-androgenic effect)에 의한 동화작용의 억제 및 이화작용(예, 단백질 분해)의 증가가 이러한 결과를 보여주었을 것으로 여겨진다. 8주 저항운동은 근육에서는 단백질 합성을 약 48% 증가시켰고 단백질 합성에 긍정적인 영향을 미쳤다. 이 결과는 본 연구에서 측정된 앞발 매달리기 검사(two-limb hanging test)에서 얻어진 결과를 지지해 준다. 앞발 매달리기 검사는 설치류 동물의 근력이나 근기능을

판별하는 데 사용되는 검사방법으로 8주 finasteride 처치는 이 매달리기 시간을 약 30% 감소시켰지만, 8주 저항운동 훈련은 매달리기 시간을 약 50% 증가시킬 수 있었다. 또한 8주 finasteride와 저항운동의 복합적 처치는 저항운동으로 증가된 매달리기 시간을 약 30% 감소시키는 것으로 보아 finasteride 처치는 근력과 근기능에 대해 부정적인 영향을 미치는 것으로 보인다.

BPH 환자나 남성형 탈모증 환자들이 finasteride를 장기간 투여했을 때 성기능의 장애 외에도 근 통증(muscle pain)이 발생시키고 근 위축(muscle atrophy)이나 근 쇠약(muscle weakness) 증상을 유발시킨다는 연구 및 사례가 있다[9-11,24]. Finasteride는 5A-R을 억제시키는 것을 통해 테스토스테론이 DHT로 전환하는 것을 차단시켜 BPH와 남성형 탈모증을 완화시킨다[6]. 테스토스테론은 남성호르몬으로서의 역할 이외에도 인체의 단백질 합성을 증가시켜 근육의 발달을 돕는다[25]. 또한 테스토스테론이 남성의 생식기 이외에 주로 영향을 미치는 장소는 골격근이라 할 수 있고 골격근을 강화시키는 역할을 한다[26]. 본 연구에서 finasteride 처치 후 얻어진 결과들은 finasteride는 테스토스테론을 DHT로 전환되는 것을 차단시키기 때문에 finasteride 처치가 안드로겐의 작용을 억제시켜 단백질의 분해의 증가/합성의 감소에 의해 생겨난 현상인 것으로 보인다. 본 연구를 통해 finasteride의 처치는 골격근 조직의 단백질 항상성에 영향을 미치는 것이 확인되었다. 8주 저항운동이 골격근의 단백질 분해와 합성을 동시에 활성화시키는 반면 8주 finasteride 처치는 골격근의 단백질 합성은 증가시켰지만 단백질 분해는 감소시켰다. 지속적인 finasteride 처치는 골격근의 단백질 항상성 유지에 부정적인 영향을 미친다. 본 연구에서 또한 8주 저항운동은 골격근에서 finasteride를 복용으로 교란된 단백질 항상성을 상쇄시키는 데 기여를 하였다. 따라서 의사가 추천하는 finasteride 복용 시 저항운동은 골격근의 단백질 항상성 유지에 긍정적인 효과를 줄 수 있을 것 같다. 8주 이상의 장기간 이러한 처치는 조직 내 단백질 항상성 유지에 또 다른 영향을 미칠 수도 있다. 차후 연구에서 인간을 대상으로 하는 장기간 finasteride와 저항운동의 복합적 처치에 대한 충분한 임상학적인 연구를 통해 본 연구를 뒷받침해 주고 근위축이나 근쇠약과 같은 몇 가지 근질환과도 관련이 있는가를 단백질 항상성 측면에서 더 자세히 확인이 되었으면 한다. 또한 finasteride를 복용하는 환자에게 가장 적절한 저항운동의 강도나 빈도 등을 찾아 이러한 대상자들을 위한 저항운동프로그램이 개발될 필요도 있다고 생각된다. 본 연구에서는 단백질 분해 시스템 중에서 자가포식에만 초점을 맞추어 finasteride 및 저항운동 훈련의 영향을 골격근에서만 조사되었지만 세포 내 또 다른 단백질 분해를 맡고 있는 유비퀴틴-프로테아좀 시스템(ubiquitin-proteasomal system, UPS)은 조사되지 않았다. 앞으로 finasteride 및 저항운동 훈련이 세포 내 두 단백질 분해 시스템인 UPS와 자가포식의 활성에 미치는 영향을 동시에 확인해 보는 것도 차후 연구로서 의미와

가치가 있을 것으로 고려된다. 본 연구에서 finasteride는 corn oil에 용해되어 투여되었고 대조군 또한 corn oil이 8주 동안 매일 투여되었다(0.6-1 mL). 고지방 식단은 에너지 대사, 호르몬, 염증인자, 면역 시스템, 압과 관련된 유전자 발현과 신호 경로에 영향을 미칠 수 있다[27]. 따라서 8주 섭취한 corn oil이 본 연구의 결과에 미치는 영향을 조사하지 못한 것은 연구의 제한점으로 두고자 한다.

현대사회에서는 많은 성인들이 하나 또는 둘 이상의 약물을 복용하면서 일상생활을 하고 있는 것이 사실이며 또 현대인들은 건강을 위해 다양한 형태의 운동이나 신체활동을 하고 있다. 예를 들어, 고지혈증 환자는 콜레스테롤을 낮춰주는 statin 약물(예, simvastatin, atorvastatin 등)을 복용하며 자발적이든 비자발적이든 규칙적인 운동을 실행한다. 하지만 약물 복용과 지속적 운동의 복합적 처치가 신체의 생리적 변화와 조직세포 내의 신호체계, 병리학적 기전, 대사적 작용 등의 변화에 미치는 효과를 조사한 연구는 아직까지 미미한 수준이다. 따라서 앞으로 꾸준한 약물 복용과 함께 지속적 운동훈련이 골격근을 포함한 대사적 조직세포에 미치는 다양한 생리적 현상이나 작용들을 조사하는 많은 연구가 필요할 듯하다.

결론

본 연구는 랫 모델을 이용하여 8주 finasteride 및 저항운동 그리고 finasteride와 저항운동의 복합적 처치가 안드로겐 표적 조직인 골격근에서 단백질 합성과 단백질 분해 시스템에 미치는 영향을 조사하였다. 8주 finasteride 처치는 골격근의 단백질 분해를 활성화시켰지만 단백질 합성을 감소시켰다. 반면 8주 저항운동 훈련은 골격근에서 단백질 합성뿐만 아니라 단백질의 분해도 증가시켰다. 8주 finasteride 처치에 의해 교란된 단백질 항상성은 저항운동에 의해 상쇄되었고, 따라서 저항운동은 골격근의 단백질 항상성 유지에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

CONFLICT OF INTEREST

이 논문 작성에 있어서 어떠한 조직으로부터 재정을 포함한 일체의 지원을 받지 않았으며, 논문에 영향을 미칠 수 있는 어떠한 관계도 없음을 밝힌다.

REFERENCES

1. Van Rij S, Gilling P. Recent advances in treatment for Benign Prostatic Hyperplasia. *F1000Res*. 2015;4. pii: F1000 Faculty Rev-1482.
2. Leedahl DD, Vo PH, Maxson PM, Lovely JK. Benign prostatic hyper-

- plasia: implications for pharmacologic treatment and perioperative care. *J Pharm Pract.* 2013;26(1):52-8.
3. Ho CK, Habib FK. Estrongen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nat Rev Urol.* 2011;8(1):29-41.
 4. McConnell JD, Bruskewitz R, Walsh P, Andriole G, Lieber M, et al. The effect of finasteride on the risk of acute urinary retention and the need for surgical treatment among men with benign prostatic hyperplasia. *Finasteride Long-Term Efficacy and Safety Study Group. N Engl J Med.* 1998;338:557-63.
 5. Shin YS, Karna KK, Choi BR, Park JK. Finasteride and erectile dysfunction in patients with benign prostatic hyperplasia or male androgenetic alopecia. *World J Mens Health.* 2018;36:e26.
 6. The Merck Index, 13th ed., Merck Rehway, New York. 2000.
 7. Bartsch G, Rittmaster RS, Klocker H. Dihydrotestosterone and the concept of 5 alpha-reductase inhibition in human benign prostatic hyperplasia. *World Urol.* 2009;19:413-25.
 8. Naslund MJ, Miner M. A review of the clinical efficacy and safety of 5 alpha-reductase inhibitors for the enlarged prostate. *Clin Ther.* 2007;29:17-25.
 9. Al-harbi TM, Kagan J, Tarnopolsky MA. Finasteride-induced myalgia and hyperCKemia. *Journal of Clinical Neuromuscular Disease.* 2008;10(2):76-8.
 10. Haan J, Hollander JM, van Duinen SG, Saxena PR, Wintzen AR. Reversible severe myopathy during treatment with finasteride. *Muscle Nerve.* 1997;20(4):502-4.
 11. Welk B, McArthur E, Ordon M, Dirk J, Dixon S, et al. Risk of rhabdomyolysis from 5- α reductase inhibitors. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2018;27(3):351-5.
 12. Breen L, Phillips SM. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: Interventions to counteract the 'anabolic resistance' of aging. *Nutr Metab. (London)* 2011;8:68.
 13. ACSM's Guidelines for Exercise Training and Prescription. Baltimore Williams & Wilkins, 1995; p. 159.
 14. Eslahi A, Noorafshan A, Safarpour AR, Sepehrimanesh M, Ariafera A, et al. Stereological comparison of intraprostatic injection of alcohol and bleomycin with finasteride gavages in rats. *Cent European J Urol.* 2017;70(2):163-9.
 15. Ju JS, Varadhachary AS, Miller SE, Wehl CC. Quantitation of "autophagic flux" in mature skeletal muscle. *Autophagy.* 2010;6(7):929-35.
 16. Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-1 enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol.* 2001;96:1097-104.
 17. Goodman CA, Mabrey DM, Frey JW, Miu MH, Schmidt EK, et al. Novel insights into the regulation of skeletal muscle protein synthesis as revealed by a new nonradioactive in vivo technique. *FASEB J.* 2011;25:1028-39.
 18. Aartsma-Rus A, Putten MV. Assessing functional performance in the Mdx mouse model. *J Vis Exp.* 2014;85:e51303.
 19. Upreti R, Hughes KA, Livingstone DEW, Gray CD, Minns FC, et al. 5 α -reductase type 1 modulates insulin sensitivity in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;96(8):E1397-E1406.
 20. Bhasin S, Travison TG, Storet TW, Lakshman K, Kaushik M, et al. Effect of testosterone supplementation with and without a dual 5 α -reductase inhibitor on fat-free mass in men with suppressed testosterone production. *JAMA.* 2012;37(9):931-9.
 21. Grumati P, Coletto L, Schiavinato A, Castagnaro S, Bertaggia E, et al. Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. *Autophagy.* 2011;7:1415-23.
 22. Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. *FASEB J.* 2013;27:4184-93.
 23. Ju JS, Jeong SI, Park JY, Lee JY, Lee SC, et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. *J Physiol Sci.* 2016;66:417-30.
 24. Ryu HJ, Kwon DY. Reversible myopathy and ophthalmoparesis after low-dose finasteride administration for androgenic alopecia. *Dermatologic Surgery.* 2014;40:595-7.
 25. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology* (6th ed). Philadelphia:W. B. 1981.
 26. Ratamess NA, Kraemer WJ, Volek JS, Maresh CM, Vanheest JL, et al. Androgen receptor content following heavy resistance exercise in men. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2005;93(1):35-42.
 27. Escrich R, Costa I, Moreno M, Cubedo M, Vela E, et al. A high-corn-oil diet strongly stimulates mammary carcinogenesis, while a high-extra-virgin-olive-oil diet has a weak effect, through changes in metabolism, immune system function and proliferation/apoptosis pathway. *J Nutritional Biochemistry.* 2019;64:218-27.