8주 지구성 훈련이 랫 전립선의 자가포식과 전립선비대증에 미치는 영향

이동원¹, 홍용식¹, 오성희¹, 이유현², 주정선¹

¹수원대학교 건강과학대학 스포츠과학부, ²수원대학교 건강과학대학 식품영양학과

The Effects of 8-Week Endurance Training on Prostatic Autophagy and Benign Prostatic Hyperplasia of Rats

Dong-Won Lee¹, Yong-Sik Hong¹, Sung-Hee Oh¹, Yoo-Hyun Lee², Jeong-Sun Ju¹

¹Department of Exercise Science, College of Health Science, The University of Suwon, Hwaseong; ²Department of Food and Nutrition, College of Health Science, The University of Suwon, Hwaseong, Korea

PURPOSE: Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a typical male adult disease in which the prostate is enlarged but not cancerous. Autophagy is a catabolic process of cellular constituents and a mechanism for cellular homeostasis of tissues. Currently, it is not established whether BPH is linked to autophagy or not and whether endurance exercise training, an autophagy activator, can ameliorate its disease symptoms. Therefore, the purpose of this study was to investigate whether BPH is closely related with autophagy dysregulation and induced autophagy by exercise training can relieve BPH.

METHODS: Forty-eight male wild-type SD rats (10-week old) were randomly divided into 4 groups: Sham, BPH-sedentary, BPH-exercise, and BPH-finasteride. For BPH induction, rats were castrated and testosterone (3 mg/kg/day) were administered daily for 2 months. During this period, rats performed five daily bouts of 25-minute treadmill running exercise per week or daily treated with finasteride dissolved in corn oil (10 mg/kg) by oral gavage for 8 weeks. Prostate weight, autophagy flux, serum and prostate levels of androgens and inflammatory factors were analyzed. The results were analyzed with one-way ANOVA.

RESULTS: In BPH rats, the ratio of prostate weight/body weight was significantly elevated, but autophagy flux was significantly decreased ($p < .05$). Eight-week exercise training failed to reduce the ratio and to increase autophagy flux in the prostate of BPH rats. However, 8-week running training significantly decreased the levels of DHT and proinflammatory factors (IL-1 β and IL-6) in the serum and the prostate of BPH rats ($p < .05$).

CONCLUSIONS: This current study suggests that endurance exercise training may be beneficial for BPH not through the mechanisms involved in autophagy regulation but through alleviating hormonal and inflammatory factors.

Key words: Benign prostatic hyperplasia, Autophagy, Exercise training, Testosterone, Inflammation

서론

양성전립선비대증(Benign Prostatic Hyperplasia, BPH)은 중·노년 남

성의 하부요로증상(Lower Urinary Tract Symptom)을 유발하는 대표적인 질환으로 남성의 배뇨장애 중 가장 높은 빈도를 차지하고 있으며, 이는 후부요도의 점막하에 있는 요도 주위선이 과증식하여 전립

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

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

*이 연구는 이동원 석사학위 논문의 자료에 기초하여 작성됨.

Keywords 전립선비대증, 자가포식, 운동훈련, 테스토스테론, 염증

Received 5 Jul 2019 **Revised** 19 Jul 2019 **Accepted** 5 Aug 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.

선 요도가 좁아지거나 폐쇄되어 다양한 배뇨와 관련된 증상을 일으킨다[1]. 60세 이후의 약 50%의 남성이 양성전립선비대증이 나타나며 양성전립선비대증 발병률은 연령 증가와 비례하여 증가된다[2]. 양성전립선비대증 발병의 원인은 아직 명확하게 알려져 있지 않지만 호르몬의 불균형(androgen, estrogen), 전립선의 간질(stromal)과 상질의(epithelial) 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 양성전립선비대증에 영향을 끼친다[3]. 병리학적으로 양성전립선비대증은 상피와 간질 부분의 세포 증식성(hyperplastic) 성장으로 인하여 전립선에서 수많은 결절(nodules)이 생기는 것이 특징이다[4]. 양성전립선비대증의 임상적인 치료로는 α -blockers와 5 α -reductase inhibitors (5-ARI, eg. finasteride), 수술 또는 이 방법들의 복합적인 처방이 있다. 비약물성 물질로는 아연, 셀레늄(selenium), 비타민 E, 아미노산 등이 있다[5].

신체활동과 운동은 건강상의 많은 이점을 보여주고 있기 때문에 신체활동과 운동은 양성전립선비대증의 발병 및 진전에 대해 보호 기능의 역할로도 또한 가능할 수 있을 것 같다. 신체활동/운동과 양성전립선비대증 발병과의 관계를 보여주지 못하는 연구도 있었다[6-8]. 반면 신체활동은 전립선 크기 감소, 교감신경계 활성 감소, 전신 염증 수준 감소 등과 같은 몇 가지 메커니즘을 통해 양성전립선비대증 발병과 진전에 대한 보호 기능의 역할을 하는 것으로 보고되었다[9-12]. 인간을 대상으로 했던 연구들은 운동이 양성전립선비대증의 완화에 대해 부정적인 연구보다는 긍정적인 연구가 더 많은 것은 사실이다. 하지만 신체활동과 운동이 어떠한 기전과 경로를 통해 양성전립선비대증 발병과 진전에 도움이 되고 증상을 완화시켜주는가를 명확히 설명해 주는 연구는 없는 상태이다. 신체활동에 의한 양성전립선비대증에 대한 보호기전은 교감신경계 활성의 감소, 호르몬 수준의 감소, 염증과 산화손상(oxidative damage)의 감소에 의한 것이라고 보고되었고, 최근의 몇 연구에서 자가포식(autophagy)이 양성전립선비대증 치료를 위한 새로운 전략으로 제안되었다.

자가포식(autophagy)은 self-eating이라는 뜻으로 세포내부에 필요 없는 물질이나 세포소기관을 이중막인 자가포식체(autophagosome)로 둘러싸서 리소좀(lysosome)에서 분해하며 세포의 항상성을 유지하고 대사 스트레스를 감소시키는 이화작용이다. 또한 다양한 조직에서 개체발생, 세포분화 또는 조직 재형성을 조절한다[13]. 비정상적인 자가포식은 암, 퇴행성신경질환, 근질환, 감염성질환 등과 같은 질환과 관련이 있으며 자가포식성 세포사멸(autophagic cell death)이라고 불리는 세포자멸사(apoptosis)와도 관련이 있다[14]. 최근 두 개의 연구는 양성전립선비대증 환자의 전립선 조직에서 자가포식의 활성화가 감소되어

자가포식성 세포사멸이 감소되고 전립선 조직의 세포증식이 증가되는 것이 양성전립선비대증 발병의 원인으로 여기고 있다[15,16]. 운동은 골격근 외의 여러 다른 조직에서 자가포식을 활성화시키는 것으로 알려져 있지만 운동이 전립선 조직의 자가포식을 직접적으로 활성화시켜 양성전립선비대증을 치료하고 증상을 완화시킨다는 것을 명확히 보여주는 증거는 현재 없는 상태이다. 운동은 아니지만 자가포식을 활성화시키는 약물을 양성전립선비대증 환자에 적용시켰을 때 양성전립선비대증을 완화시킬 수 있는 가능성은 보여주었다. 예를 들어, 양성전립선비대증 환자에게 finasteride를 처방하여 자가포식을 증가시켰고, 증가된 자가포식은 전립선의 임상조직학적 현상들에 긍정적인 영향을 미쳤다[15]. 또한 B양성전립선비대증 유도된 쥐동물 모델을 사용하여 자가포식 활성 물질(rapamycin)을 처방하였을 때, 양성전립선비대증의 증상이 완화되었다고 하였다[16].

정확한 원인은 알 수 없지만 양성전립선비대증은 전립선의 조직 세포 수의 증가(hyperplasia)에 의해 발생되고 자가포식은 전립선에서 세포 수를 조절하고 유지시키는 중요한 역할을 한다. 따라서, 전립선에서 자가포식이 손상되면 자가포식에 의한 전립선 조직 세포 수의 조절은 억제될 수 있을 것으로 여겨진다. 현재 자가포식과 양성전립선비대증과의 관련성은 잘 알려져 있지 않으며 그에 대한 연구 또한 거의 없는 상태이다. 예를 들어, 전립선에서 비정상적이거나 손상된 자가포식이 양성전립선비대증을 유발시키는 데 기여를 하는가? 운동은 골격근의 자가포식을 활성화시키지만 전립선에서도 자가포식을 활성화시키는가? 운동으로 전립선의 자가포식을 활성화시킬 수 있다면 운동을 통해 전립선의 자가포식을 활성화시켜 양성전립선비대증 발병을 예방하고 치료하거나 증상을 완화시킬 수 있는가 등에 대한 해답은 현재 알 수 없다. 따라서 본 연구는 아직까지 불명확한 양성전립선비대증과 자가포식과의 상호관련성을 살펴보고 운동을 이용한 자가포식의 조절을 통해 양성전립선비대증의 원인과 치료 가능성을 동물 모델을 사용하여 조사하고자 한다.

연구 방법

1. 실험동물

본 연구에 사용된 실험동물은 10주령의 수컷 Sprague-Dawley (SD) Rats 48마리(샘타코)를 구입하였다. 전립선비대증을 유발시킨 후 지구성운동 훈련이 전립선의 자가포식을 조절하여 전립선비대증에 미치는 영향을 조사하기 위해 1주간의 적응기를 마친 후, 대조그룹(Sham, n=12)과 전립선비대증그룹(BPH, n=36)으로 무작위 분리하였다. BPH 양성전립선비대증이 유도된 동물들은 다시 비운동그룹(sedentary), 운동그룹(exercise), positive control 그룹(finasteride)으로 분리되었다. Sham control (n=12); BPH+Sedentary (BPH+Sed, n=12); BPH+Exercise

Fig. 1. Experimental design of *in vivo* autophagic flux assay (A). Experimental procedures (B).

(BPH+Exe, n=12); BPH+Finasteride (BPH+Fina, n=12) (Fig. 1A). 사육실의 온도는 22°C, 습도는 약 50%, 명암은 12시간 주기로 조절하였다. 사료와 물은 충분히 공급하였고, 실험동물 취급법에 따라 실험하였으며, S대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시하였다.

2. 실험방법

1) 실험 모형

동물들은 1주일간의 적응을 마친 후, 전립선비대증을 유도시키기 위해 고환절제(castration) 수술을 받았고 1주일의 회복 후에 남성호르몬인 테스토스테론(testosterone propionate)이 매일 처리되었다. 전립선비대증 유도는 식약청에서 제시한 수술과 처리 방법에 따라 실시되었다. 대조군 또한 고환절제가 없는 비슷한 수술과정을 경험하였다(Sham). 1주일간의 회복기간이 지나고 매일 일정 양의 vehicle (corn oil)이 투여되었다. 테스토스테론이 투여되면서 지구성 수영운동 훈련이 8주 동안 실시되었다. 자가포식 유동(autophagy flux)을 측정하기 위해 수영훈련이 끝나고 이를 동안 매일 1회 saline 또는 colchicine이 투여되었다. 동물들은 수영훈련이 끝나고 약 48시간 이후 희생되었다(Fig. 1B).

2) 전립선비대증 유도

적응기간이 끝난 후, 전립선비대증을 유도하기 위하여 고환절제 수술을 실시하였다. 쥐를 tribromoethanol (250 mg/kg)로 마취시킨 후 음낭 피부를 절제한 후 고환 상위 부위의 정관(vasdeferense) 혈관 및 신경을 봉합사로 묶은 후 고환과 부고환을 절제하였다. 고환절제 후 음

낭 피부를 봉합하였고, 1주일간의 회복기를 거치게 하였다. 1주일간의 회복기 후, testosterone propionate (TCl, Japan) 3 mg/kg을 8주간 매일 피하(subcutaneous) 주사하여 전립선비대증을 유발시켰다. sham 그룹 동물들에게도 같은 양의 corn oil을 피하 주사하였다.

3) 운동 프로그램

지구성 운동훈련 프로그램은 Chan et al. [17]의 연구에서 수행했던 방법을 활용하여 실시하였다. 동물들은 8주 동안 맞춤형으로 제작된 전동 트레드밀 위에서 1주일에 5일 훈련(월-금)을 받았다. 훈련은 10° 경사도로 10 m/min 속도에서 5 min 동안 실시하고 나서 매 1분마다 1 m/min의 속도를 나머지 15분 동안 증가시켰다. 마지막 20분에서 동물들은 25 m/min의 속도로 달렸다. 달리기를 장려시키기 위해 트레드밀 뒷부분의 전기 충격 grid를 활용하였다.

4) 상대적 전립선 무게 비율

온전하게 전립선 조직을 분리하여, PBS로 세척한 후 무게를 측정하였다. 상대적 전립선 무게는 체중(g)에 대한 전립선 무게(mg)의 비율(the ratio of prostate weight/body weight)로 계산되었다. 전립선 무게 측정이 끝나고 전립선 조직은 반으로 절개한 후, 하나는 조직학이나 단백질 분석을 위해 사용되었고, 또 다른 하나는 추가적인 분석을 위해 -80°C에 저장한 후 차후 분석에 사용되었다.

5) *In vivo* Autophagy flux assay

지구성 운동이 쥐전립선의 자가포식 유동을 변화시키는가를 조사하기 위해, *in vitro* autophagy flux assay를 동물모델에 적용시켜 개발된 “*in vivo* autophagy flux assay” [18] 방법을 사용하였다. 미세소관 중합억제제(microtubule depolymerizing agent)인 colchicine (Col, 0.4 mg/kg/day, Sigma-Aldrich, #C9754)을 처리하는 그룹과 처리하지 않는 그룹을 동시에 두고 LC3-II를 Western blot으로 측정하였다. Fig. 1A에 설명된 것처럼, 전립선 조직에서 *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 그룹이 적용되었다.

6) Western blotting 분석

마우스 골격근에서 자가포식 유동의 측정은 전기영동법(Western 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)을 그라인더에 protease inhibitors cocktail (Sigma-aldrich, #P2714)이 섞인 lysis buffer 안에서 분쇄되어 lysates로 만들어졌다. BCA assay를 통해 전체 단백질 양이 조사된 뒤 SDS와 염색약과 함께 섞어 샘플을 준비하였다. 단백질은 전기영동에 의해 SDS 젤에서 분리되고 nitrocellulose membrane (0.2 µm, Bio-rad)에 전이시킨 후 5%의 skim milk에 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 incubation되고 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 (5114), Beclin-1 (3738), Cell Signaling Technology.

7) 혈액 샘플 채취

후대정맥(postcaval vein)에서 혈액이 채취되었고, 혈액은 실온에서 2

시간 동안 튜브에두고 나서, 4°C에서 20분간 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청은 추가적인 분석이 있을 때까지 -80°C에서 보관되었다.

8) ELISA

혈청과 전립선 조직의 테스토스테론과 DHT 수준은 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 측정하였다. Testosterone kit는 ARBOR ASSAYS (www.ArborAssays.com, Cat#K032-H1)에서, DHT ELISA kit는 CUSABIO (www.cusabio.com, Cat#CSB-E07979r)에서 구입하였고, abcam (www.abcam.com)에서 IL-1β (cat#ab100768)과 IL-6 (cat#100772) Elisa Kit를 구입하였다. 측정은 제조사의 매뉴얼에 따라 이루어졌고 OD값은 Epoch Microplate Spectrophotometer (Biotek)를 사용하여 450 nm에서 측정하였다. Curve Expert 1.3 소프트웨어를 사용하여 four parameter logistic (4-PL) curve-fit을 통해 standard curve가 구해진 후 샘플의 측정값이 계산되었다.

3. 자료처리

SPSS 22.0을 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 $\alpha = .05$ 로 설정하였다.

연구 결과

1. 지구성훈련이 쥐 몸무게와 전립선 무게에 미치는 영향

본 연구에서 8주 트레드밀 달리기 운동이 쥐 몸무게와 전립선 무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 고환 절제된 동물에 testosterone propionate (3 mg/kg)를 8주 동안 매일 피하 주사하여 전립선비대증을 유도하였고, 1주일에 5회 트레드밀 달리기 운동을 시켰다. 8주 달리기 운동은 비운동 그룹(sham과 BPH control)에 비해 몸무게가 약 16% 감소하였다(Table 1, $p < .05$). 8주 finasteride control 그룹과는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 8주 달리기 운동이 전립선비대증이 유도된 쥐의 전립선 무게를 유의하게 변화시키지 않았지만, 8주 finasteride 치료 그룹

Table 1. The effects of 8-week treadmill running exercise on prostate weight in BPH-induced rats

Group	Body weight (g)	Prostate weight (g)	Prostate ratio ¹⁾ (mg/100 g of BW)
Sham Control	438 ± 20	0.76 ± 0.04	0.173 ± 0.03
BPH-Control	420 ± 35	1.28 ± 0.12*	0.304 ± 0.04*
BPH-Exercise	374 ± 21*	1.24 ± 0.08*	0.331 ± 0.03*
BPH-Finasteride	408 ± 37	1.06 ± 0.07*, #	0.260 ± 0.02*, #

All data are presented as means ± SD; (n = 6).

BPH, benign prostatic hyperplasia.

¹⁾Prostate ratio: prostate weight (mg) / body weight (mg) × 100 (g). * $p < .05$ vs. sham control, # $p < .05$ vs. BPH control.

에서는 약 17%의 전립선 무게가 유의하게 감소하였다($p < .05$). 또한 8주 달리기 훈련은 전립선/몸무게 비율을 변화시키지 않았지만, 8주 finasteride 처치는 전립선/몸무게 비율을 약 20% 유의하게 감소시켰다 (Table 1, $p < .05$).

2. 지구성훈련이 쥐 전립선과 혈액의 테스토스테론과 DHT에 미치는 영향

달리기 훈련이 전립선 조직과 혈청의 테스토스테론과 DHT (dihydrotestosterone)의 농도에 미치는 영향을 조사하기 위해 전립선비대증을 유도시킨 후 8주 달리기 훈련을 실시하였다. 테스토스테론의 수준은 양성전립선비대증 모델 쥐의 전립선과 혈청에서 sham control에 비해 유의하게 증가하였지만, 8주 달리기 운동과 finasteride 처치에 의해 변화하지 않았다 (Fig. 2A, B, $p > .05$). Sham control 그룹에 비해 양성전립선비대증 모델 쥐의 전립선과 혈청의 DHT 수준은 유의하게 증가하였으며 8주 달리기 훈련에 의해 DHT 수준이 전립선과 혈청에서 유의한 차이가 나타나지 않았지만, 8주 finasteride 처치는 전립선(27%)과 혈청(33%) 모두에서 통계적으로 유의한 감소를 보여주었다 (Fig. 2C, D, $p < .05$).

3. 지구성훈련이 양성전립선비대증 쥐전립선의 자가포식 유동에 미치는 영향

지구성훈련이 쥐 전립선의 자가포식 유동에 미치는 영향을 조사하

기위해 8주 동안 전립선비대증을 유도시키면서 8주 트레드밀 달리기 훈련을 실시하였다. *in vivo* autophagy flux assay, 즉 LC3-II 단백질 turnover assay (Fig. 3A, C)를 보면, Sham control에서 colchicine을 처치한 그룹의 LC3-II가 유의하게 증가하였다. Colchicine은 자가포식 억제제로 LC3-II (autophagosome)의 분해를 억제시키기 때문이다. Sham+colchicine 그룹과 BPH+colchicine 그룹을 비교해 보면 전립선에서 LC3-II가 유의하게 감소하였다 (Fig. 3A, C, $p < .05$). 즉, 양성전립선비대증 동물의 자가포식 유동이 정상 쥐(Sham)에 비해 자가포식의 활성이 감소되어 있는 것을 의미한다. 양성전립선비대증이 유도된 동물을 8주 달리기 훈련을 시킨 그룹(BPH-exercise-colchicine)과 BPH-control-colchicine을 비교할 때 8주 운동은 전립선에서 자가포식의 유동을 통계적으로 유의하게 증가시키지 못하였다($p > .05$). 반면 8주 finasteride 처치는 양성전립선비대증 동물의 자가포식 유동을 -75% 증가시켰다 (Fig. 3A, C, $p < .05$). 또 다른 자가포식 지표 중의 하나인 Beclin-1 (초기 자가포식체 형성에 필수적인 단백질)은 양성전립선비대증 쥐의 전립선에서 유의하게 감소다. 이 결과는 LC3-II turnover assay의 결과와 일치한다. 8주 달리기 운동은 감소된 양성전립선비대증 모델의 Beclin-1 단백질 수준을 유의하게 증가시켜주지는 못하였지만, 8주 finasteride 처치는 감소된 Beclin-1 단백질 수준을 유의하게 증가시켰다 (Fig. 3B, D, $p < .05$). p62 단백질은 자가포식의 활성이 증가될 때 감소하게 되고 자가포식이 비활성화되면 세포 내에 축적된다. p62 단백질 수준은 양성전립선비대증이 유도된 쥐의 전립선에서 증가되었다 (Fig. 3B, E, $p < .05$). 이것은 전립선

Fig. 2. The effects of 8-week running exercise on T and DHT levels in prostate and serum of rats. T levels in prostate (A) and serum (B). DHT levels in prostate (C) and serum (D). Values are means $\pm$ SE; (n=6). T, testosterone; DHT dihydrotestosterone. * $p < .05$ vs. sham control, # $p < .05$ vs. BPH control.

에서 자가포식이 감소되었음을 다시 한번 보여주는 것이다. 8주 달리 기 훈련과 finasteride 처치는 양성전립선비대증 모델 쥐의 전립선에서

p62 단백질 수준을 통계적으로 유의하게 변화시키지 않았다(Fig. 3B, E, $p>.05$). 본 연구에서 전립선비대증 모델 쥐의 자가포식 유동이 감소

Fig. 3. The effects of 8-week running exercise on autophagy flux and autophagy marker proteins in prostate of rats. Representative immunoblot images of LC3, Beclin 1, p62 or actin (A & B). LC3-II/actin (C) Values are means $\pm$ SE; (n=6) * $p<.05$ vs. sham+sal, # $p<.05$ vs. Sham+Col, δ $p<.05$ vs. BPH+Con+Col. Beclin 1 (D) and p62/actin (E) were quantitated via densitometry from 6 mice per treatment conditions. Values are means $\pm$ SE; (n=6). * $p<.05$ vs. sham control, # $p<.05$ vs. BPH control.

Fig. 4. The effects of 8-week running exercise on the levels of pro-inflammatory factors in prostate and serum of rats. IL-1 β levels in prostate (A) and serum (B). IL-6 levels in prostate (C) and serum (D). Each bar represents the means $\pm$ SE for muscles from 6 mice (n=6). * $p<.05$ vs. sham control, # $p<.05$ vs. BPH control.

하였고, 8주 finasteride 처치는 자가포식의 유동을 증가시켜준 반면 8주 달리기 훈련은 자가포식 유동에 영향을 미치지 않았다.

4. 지구성 훈련이 혈청과 전립선 염증인자에 미치는 영향

8주 달리기 훈련이 양성전립선비대증 쥐의 전립선과 혈청 염증인자 수준에 미치는 영향을 조사하기 위해 interleukin-1 β (IL-1 β)와 interleukin-6 (IL-6)가 측정되었다. 전립선에서, sham control에 비해 양성전립선비대증 동물의 IL-1 β 수준은 약 3배 증가하였고, 8주 달리기 훈련은 IL-1 β 수치를 유의하게 감소시키지 못한 반면 8주 finasteride 처치는 IL-1 β 수치를 약 55% 유의하게 감소시켰다(Fig. 4A, $p < .05$). IL-6는 8주 운동과 finasteride 처치 둘 다 양성전립선비대증 동물에서 증가된 수치를 약 50% 감소시켰다(Fig. 4C, $p < .05$). 혈청에서도 비슷하게 sham control에 비해 양성전립선비대증 동물에서 IL-1 β 수준이 약 3배 증가하였고 8주 달리기 훈련과 finasteride 처치 둘 다 IL-1 β 수치를 유의하게 감소시켰다(Fig. 4B, $p < .05$). 그뿐만 아니라 혈청에서 8주 달리기 훈련과 finasteride 처치 모두 IL-6 수준을 유의하게 감소시켰다(Fig. 4D, $p < .05$).

논 의

본 연구는 양성전립선비대증이 유발된 쥐 모델을 이용하여 양성전립선비대증과 자가포식의 관계를 확인하고 자가포식을 활성화시키는 것으로 알려진 지구성 운동훈련이 양성전립선비대증을 완화시키는가에 대해 조사되었다. 본 연구를 통해 양성전립선비대증 쥐의 전립선에서 자가포식은 감소되어 있는 것이 분명한 것 같다. 본 연구에서 자가포식 마커인 Beclin-1 단백질 수준은 전립선에서 유의하게 감소되어 있었고, 다른 자가포식 지표인 p62 또한 증가되어 있었다(Fig. 3). p62는 자가포식에 의해 분해되는 자가포식 substrate로 자가포식이 활성화되었을 때 감소하게 되고 반대로 자가포식이 비활성화되었을 때 세포 내 축적이 증가된다. 노화와 함께 유발되는 여러 질환의 경우(예, 치매와 파킨슨 질환)에 자가포식이 감소되었다는 최근의 연구들이 있다[19]. 이러한 질환들, 특히 나이 증가와 함께 발생하는 퇴행성 질환들은 자가포식의 감소와 관련이 있는 것으로 보이며, 양성전립선비대증도 마찬가지로 연령 증가와 함께 자가포식의 감소가 질병의 원인이 될 수도 있을 것 같다. 질병과 관련이 없더라도 노령 쥐와 젊은 쥐의 골격근을 비교하였을 때 자가포식과 관련된(autophagy-related) 단백질 양의 차이는 없었지만 자가포식 유동을 측정해 본 결과 젊은 쥐에 비해 노령 쥐에서 유의하게 감소되었다[20].

양성전립선비대증 환자를 대상으로 수행되었던 연구에서는 상반되는 결과들이 발표되기는 하였지만 더 많은 연구가 양성전립선비대증 전립선에서 자가포식이 감소된 것으로 보고되었다. 한 선행연구에서

전립선암 환자의 전립선과 비교하여 양성전립선비대증 환자의 전립선의 Beclin-1과 LC3 단백질 발현이 증가된 것을 보여주었다[15]. 이 연구에서 양성전립선비대증 전립선에서 자가포식의 증가는 조직 내에서 세포 분열(division)과 증식(proliferation)을 통제하는 cell cycle 과정에서 생길 수 있는 이차적인 영향에 의한 것일 수 있다고 하였다. 즉, 병적인 전립선에서 cell cycle 중에 과도한 세포 분열과 증식이 일어나면서 만들어진 비정상적인 세포들이 축적될 수 있는데 이들 세포들을 제거하기 위해 자가포식의 유도에 의한 세포사멸(autophagic cell death)이 증가된 것이라고 제안되었다.

반면 Nunzio et al. [21]은 94명의 양성전립선비대증 환자에서 적출한 전립선을 분석한 결과 자가포식이 유의하게 감소하였고 염증 수치가 현저히 증가된 것을 보여주었다. 이 연구자들은 p62의 발현의 증가와 LC3B 단백질 발현의 유의한 감소가 전립선의 만성 염증을 일으키고 전립선의 세포 증식, 즉 전립선 비대에 기여한 것이라고 주장하였다. 조직 배양세포를 비교한 또 다른 연구에서 이와 비슷한 결과를 보여주었다. 정상 노령 남성의 전립선 조직 세포주(RWPE-1)와 양성전립선비대증 환자의 전립선 조직 세포를 이용한 배양 세포(BPH-1)를 서로 비교한 결과, BPH-1 세포의 자가포식 유동이 정상 세포주(RWPE-1)에 비해 유의하게 감소한 것을 보여주었다[22]. 위의 두 연구는 본 연구의 결과와 일치하며 양성전립선비대증의 전립선 조직에서 자가포식의 활성이 감소되었다는 것을 뒷받침해 준다. 그렇다면 양성전립선비대증의 감소된 자가포식을 증가시킬 수 있다면 양성전립선비대증 예방이나 치료에 도움이 될 수 있을까?

자가포식을 조작하는 방법을 통해 양성전립선비대증 치료를 시도했던 연구들이 많지는 않지만 이미 선행되었다. Lie et al.은 양성전립선비대증 환자들이 가장 널리 복용하는 finasteride를 환자들에 투여하였을 때 전립선에서 Beclin-1과 LC3의 발현이 증가되었고 이 증가된 자가포식의 활성화는 양성전립선비대증 완화에 도움이 된다고 하였다. 본 연구에서도 positive control로 사용한 finasteride가 전립선과 골격근에서 자가포식 유동의 증가, Beclin-1 발현의 증가, p62 단백질 축적을 감소시켰다. 즉, finasteride 처치가 전립선의 자가포식을 활성화시킨다는 뜻이다. Finasteride는 5 α -reductase inhibitor로 전립선에서 테스토스테론이 DHT로 전환되는 것을 억제시키며, finasteride 처치에 의한 이러한 자가포식의 증가는 안드로겐 감소(androgen reduction), 즉 항아나볼릭 안드로겐 작용(anti-anabolic androgenic effect)에 의한 것으로 여겨진다[23]. 이 동화작용의 억제는 자가포식과 같은 이화작용을 충분히 활성화시킬 수 있을 것 같다. 최근 한 연구에서 양성전립선비대증이 유도된 쥐모델을 사용하여 Rapamycin이라는 rapamycin 유사물을 투여한 결과 자가포식을 활성화시켰으며 양성전립선비대증의 증상을 완화시킬 수 있었다[16]. Rapamycin은 mTOR (mammalian target of rapamycin)를 억제시키며 자가포식 활성화제로 널리 알려져 있다. 이 연구

에서 Rapatar라는 약물의 효과와 자가포식과의 관계에 대해 직접 언급되지는 않았지만, 자가포식의 활성화를 통해 양성전립선비대증의 치료를 위한 처방적 가치를 제시해 주었다고 본다.

지구성 운동훈련은 골격근의 자가포식을 활성화시킨다는 것은 이미 확립된 사실이다. 하지만 운동에 의한 자가포식의 활성이 finasteride 처치와 같은 양성전립선비대증 완화에 도움을 줄 수 있을까라는 의문은 아직 풀려져 있지 않다. 본 연구에서 사용한 양성전립선비대증 쥐의 전립선에서 8주 지구성 운동훈련이 유의한 수준의 자가포식 유동과 Beclin-1을 증가시키지 못하였고 p62 단백질 양의 감소만을 보여 주었다. 반면 finasteride 처치는 양성전립선비대증 쥐의 전립선의 자가포식 유동과 Beclin-1을 유의하게 증가시켰다. 이 결과는 8주 지구성 훈련과 finasteride 처치에 대한 전립선 무게/몸무게 비율에 대해 설명해주는 것 같다. 8주 finasteride 처치가 ~20% 유의한 감소를 보여준 반면 8주 지구성 훈련은 전립선 무게/몸무게 비율의 변화를 일으키지 못하였다(Table 1).

저자들은 본 연구 이전에 비슷한 연구를 수행하였다. 본 연구와 마찬가지로, 고환 절제 후 2개월간 테스토스테론을 주사하여 양성전립선비대증 쥐를 유도시킨 후 4주 동안 지구성 달리기 운동훈련을 실시한 후의 결과는 BPH-sedentary와 BPH-exercise 그룹 간의 자가포식 유동뿐만 아니라 전립선 무게/몸무게 비율의 차이가 나타나지 않았다(자료 제시 안 됨). 1차 연구 후 결과를 분석하면서 연구자들은 이미 양성전립선비대증 질환이 발전된 이후에는 운동을 통해 자가포식을 활성화하여 전립선 크기를 감소시키기 어려울 수 있을 것으로 추측하였고 2차 연구(본 연구)를 수행하여 양성전립선비대증을 유도시키면서 운동훈련을 동시에 실시하여 운동훈련이 최소한 양성전립선비대증을 예방하는 효과를 보여줄 수 있을 것으로 기대하였다. 하지만 두 연구(1차와 2차)의 결과는 비슷하게, 운동훈련의 효과가 양성전립선비대증 완화에 유의한 영향을 미치지 않았다. 본 연구의 비슷한 결과를 보여주는 선행연구가 있다. Peng et al. [24]은 호르몬 불균형(testosterone 3.5 mg/estradiol 0.1 mg daily injection for 8 weeks)을 일으켜 쥐에 양성전립선비대증을 유도시킨 후, 4주 동안 은행나무 잎의 추출물(Ginkgo) 투여와 트레드밀 달리기 운동(Exercise)을 시켰다. Ginkgo 그룹과 Ginkgo+Exercise 그룹은 전립선 무게/몸무게 비율을 유의하게 감소시켰지만, Exercise alone 그룹은 BPH control과 비슷하게 변화가 나타나지 않았다. 그렇다면 운동훈련/신체활동은 양성전립선비대증의 예방이나 치료에 전혀 도움이 되지 않는가?

본 연구에서 finasteride 처치에 의한 전립선에서 자가포식의 증가가 일어나는 반면 지구성 훈련은 자가포식에 영향을 덜 미치는가에 대한 정확한 원인은 제시되지 않았지만, 지구성 근육 활동은 골격근에만 국한된 생리적 그리고 분자생물학적으로 큰 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 반면 지구성 운동은 전립선에 미치는 이러한 작용이 직접적으로

그리 크지 않고 미미할 수도 있을 것 같다. 골격근은 전립선에 비해 훨씬 대사적 조직(metabolic tissue)임은 분명하고 골격근은 전립선에 비해 자가포식 활성이 훨씬 크게 일어나는 조직일 수 있다. 특히 운동 자극에 대한 자가포식 반응이 두 조직 간의 큰 차이가 있을 수 있다. 즉, 운동에 대한 자가포식의 반응이 골격근에서는 크지만 전립선에서는 운동 자극에 대한 자가포식의 반응이 거의 일어나지 않거나 미미한 수준일 수 있다. 하지만 지구성 운동훈련이 전립선에 미치는 간접적인 영향은 충분히 있을 것 같다. 본 연구에서 8주 지구성 운동훈련은 혈청과 전립선의 DHT 호르몬 수준을 유의하게 감소시켰고(Fig. 2), 염증인자(IL-1 β 와 IL-6)를 유의하게 감소시켰다(Fig. 4). 노화와 함께 DHT의 과생산(overproduction)이 양성전립선비대증의 발병의 원인이고, 따라서 DHT 수준을 낮추기 위해 환자에 finasteride를 처방한다[25]. 또한 양성전립선비대증의 원인을 cytokines와 같은 염증성 인자들의 증가와 염증에 의한 것이라는 보고가 있다[26]. 본 연구에서 보여준듯이 8주 지구성 운동훈련은 전립선의 DHT 수준을 낮추고 염증인자를 감소시켜 양성전립선비대증의 예방과 치료에 충분히 도움이 될 수도 있을 것으로 여겨진다. 또한 양성전립선비대증과 관련된 운동이나 신체활동의 유의한 효과들이 전립선에 직접적으로 미치는 영향보다는 운동/신체활동을 통한 다양한 적응 기전이나 생리적 변화에 의한 이차적 또는 간접적 유의한 효과들에 의한 것일 수 있다. 최근의 메타분석 연구를 보면 신체활동/운동과 양성전립선비대증이나 하부요로증상 유발과 관련성을 조사한 역학적 연구들을 보면 운동 효과가 양성전립선비대증의 위험을 감소시켜주고 비뇨기 장애를 완화시켜준다고 보고한 논문들이 운동/신체활동이 이러한 질환과 연관성을 보여주지 못한 논문보다 더 많았고, 운동과 양성전립선비대증은 역관계이며 이 역관계의 효과는 운동량에 따라 달라지며, 젊은 나이에 운동을 시작하는 것이 효과가 크며, 이 효과는 양성전립선비대증의 치료보다는 예방과 관련이 있는 것으로 제시되었다[27].

본 연구의 8주 지구성 운동훈련은 전립선의 자가포식을 활성화시키지 못한 이유 중의 하나는 양성전립선비대증을 유도시키기 위해 쥐에게 2개월 동안 매일 주입시켰던 테스토스테론 때문일 수 있다. 앞에서 언급했듯이 테스토스테론은 아나볼릭 스테로이드 호르몬으로 자가포식을 억제시키는 물질이다. 본 연구에서 지구성 운동훈련에 의한 전립선의 자가포식의 활성화가 테스토스테론 투여에 의해 억제되었을 수 있다. 따라서 본 연구에서 사용했던 양성전립선비대증 동물 모델은 자가포식과의 관련성을 연구하는 데 적합하지 못하다고 여겨지며, 운동/신체활동에 의한 자가포식 활성화를 통해 양성전립선비대증 완화에 기여하는 정확한 기전을 찾기 위해서는 새로운 동물 모델의 개발이 필요할 것 같다. 후속 연구에서 새로운 동물 모델을 통해 운동훈련이 전립선의 자가포식을 충분히 활성화시킬 수 있는가를 먼저 확인해 봐야 하고, 이 동물 모델을 사용하여 운동과 자가포식을 이용한 양성전

립선비대증의 예방과 치료를 위한 기전과 처방법들을 찾을 수 있기를 기대한다. 예를 들어, 자가포식을 활성화시키는 약물이나 천연물과 운동의 복합적 처치나 또는 양성전립선비대증을 완화시키는 데 필요한 운동강도나 운동량을 찾는 것을 포함시킬 수 있을 것 같다.

결론

본 연구는 정상 쥐에 비해 양성전립선비대증 쥐의 전립선의 자가포식은 감소되어 있고 8주 달리기 운동 훈련이 양성전립선비대증 쥐전립선의 자가포식을 변화시키지 못하는 것을 확인시켜주었다. 8주 finasteride 처치는 양성전립선비대증 쥐의 전립선의 자가포식에 영향을 주는 것으로 보아 운동/신체활동 자극이 전립선에 직접적인 반응을 일으키지 않을 수 있다. 하지만 이 결과는 후속연구에서 새로운 양성전립선비대증 동물 모델을 통해 확인되는 것이 필요할 것 같다. 하지만 8주 운동 훈련은 양성전립선비대증 발병 원인으로 여겨지는 DHT와 염증인자의 수치를 유의하게 낮춰주었다.

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. Wilis D. Tamig the overgrown Prostate. American Journal of Nursing. 1992;92(2):34-43.
2. Garraway W, Lee R, Collins G. High prevalence of benign prostatic hyperplasia in the community. The Lancet. 1991;338(8765):469-71.
3. Leedahl DD, Vo PD, Maxson PM, Lovely JK. Benign prostatic hyperplasia: Implications for pharmacologic treatment and perioperative care. J Pharm Pract. 2013;26:52-8.
4. Ho CK, Habib FK. Estrongen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. Nat Rev Urol. 2011;8(1):29-41.
5. Roehrborn CG, Barkin J, Siami P, Tubaro A, Wilson TH, et al. Clinical outcomes after combined therapy with dutasteride plus tamsulosin or either monotherapy in men with benign prostatic hyperplasia (BPH) by baseline characteristics: 4-year results from the randomized, double-blind Combination of Avodart and Tamsulosin (CombAT) trial. 2011;107(6):946-54.
6. Kristal AR, Arnold KB, Schenk JM, Neuhouser ML, Weiss N, et al. Race/ethnicity, obesity, health related behaviors and the risk of symptomatic benign prostatic hyperplasia: results from the prostate cancer prevention trial. J Urol. 2007;177(4):1395-400.
7. Dal Maso L, Zucchetto A, Tavani A, Montella M, Ramazzotti V, et al. Lifetime occupational and recreational physical activity and risk of benign prostatic hyperplasia. Int J Cancer. 2006;118(10):2632-5.
8. Lacey JV, Deng J, Dosemeci M, Gao YT, Mostofi FK, et al. Prostate cancer, benign prostatic hyperplasia and physical activity in Shanghai, China. Int J Epidemiol. 2001;30(2):341-9.
9. Platz EA, Kawachi I, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. Physical activity and benign prostatic hyperplasia. Arch Intern Med. 1998;158(21):2349-56.
10. St Sauver JL, Jacobson DJ, McGree ME, Lieber MM, Jacobsen SJ. Protective association between nonsteroidal antiinflammatory drug use and measures of benign prostatic hyperplasia. Am J Epidemiol. 2006;164(8):760-8.
11. Abramson JL, Vaccarino V. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. Arch Intern Med. 2002;162(11):1286-92.
12. Vesely S, Knutson T, Damber JE, Dicuio M, Dahlstrand C. Relationship between age, prostate volume, prostate-specific antigen, symptom score and uroflowmetry in men with lower urinary tract symptoms. Scand J Urol Nephrol. 2003;37(4):322-8.
13. Mizushima N. Physiological functions of autophagy. Curr Top Microbiol Immunol. 2009;335:71-84.
14. Tait S, Ichim G, Green DR. Die another way - non-apoptotic mechanisms of cell death. J Cell Sci. 2014;127(10):2135-44.
15. Liu C, Xu D, Chen X, Fan Y, Xu M, et al. Roles of autophagy-related genes Beclin-1 and LC3 in the development and progression of prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia. Biomed Rep. 2013;1:855-60.
16. Lesovaya EA, Kirsanov KI, Antoshina LS, Trukhanova TG, Gorkova EV, et al. Rapatar, a nanoformulation of rapamycin, decreases chemically-induced benign prostatic hyperplasia in rats. Oncotarget. 2015;6:9718-27.
17. Chan FK, Hsu C, Li TC, Chen WH, Tseng KT, et al. Bitter melon seed oil increases mitochondrial content in gastrocnemius muscle and improves running endurance in sedentary C57BL/6J mice. J Nutrional Biochem. 2018;58:150-7.
18. Ju JS, Varadhachary AS, Miller SE, Wehl CC. Quantification of "autophagic flux" in mature skeletal muscle. Autophagy. 2010;6(7):929-35.

19. Nah J, Yuan J, Jung Y. Autophagy in neurodegenerative diseases: from mechanism to therapeutic approach. *Mol Cells*. 2015;38(5):381-9.
20. Hong YS, Oh SH, Lee DW, Ju JS. Autophagy flux is decreased in response to endurance exercise training in aged mouse skeletal muscle. *Exercise Science*. 2016;25(1):50-9.
21. De Nunzio C, Giglio S, Stoppacciaro A, Gacci M, Cirombella R, et al. Autophagy deactivation is associated with severe prostatic inflammation in patients with lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *Oncotarget*. 2017;8(31):50904-10.
22. Jiang MY, Han ZD, Li W, Yue F, Ye J, et al. Mitochondrion-associated protein peroxiredoxin 3 promotes benign prostatic hyperplasia through autophagy suppression and pyroptosis activation. *Oncotarget*. 2017;9(46):80295-302.
23. Oh SH, Lee DW, Lee YH, Ju JS. Resistance training ameliorates finasteride-induced disturbance in protein homeostasis in skeletal muscle of rats. *Exercise Science*. 2019;28(2):159-67.
24. Peng CC, Liu JH, Chang CH, Chung JY, Chen KC, et al. Action mechanism of Ginkgo biloba leaf extract intervened by exercise therapy in treatment of benign prostate hyperplasia. *Evid Based Complement alternat Med*. 2013;2013:408734. doi: 10.1155/2013/408734.
25. Carson C 3rd, Rittmaster R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2003;61(4 Suppl 1):2-7.
26. Chughtai B, Lee R, Te A, Kaplan S. Role of inflammation in benign prostatic hyperplasia. *Rev Urol*. 2011;13(3):147-50.
27. Lee YH, Kim DH, Yoon JH, Ju JS. Association of exercise with benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms. *Exercise Science*. 2019;28(1):3-10.