

黃柏이 前立腺肥大症 Rat에 미치는 영향

박정준, 이장식, 김용성

동신대학교부속목포한방병원

The Effects of Phellodendri Cortex Ex on Experimental Rat Model of Benign Prostatic Hyperplasia

Jungjun Park, Jangsik Lee, Youngseung Kim

Dept. of Dong-Shin University Oriental Medicine Hospital

Objective : Benign prostatic hyperplasia(BPH) is one of the most common diseased among elderly men. BPH can be treated with alpha-1 adrenergic blocker or 5α-reductase inhibitor(Finasteride) that reduces serum dihydrotestosterone(DHT). Phellodendri Cortex Ex has been broad studied on its chemical components, pharmacological activity, and clinical effects on anti-inflammation, anti-allergy, anti-tumor, immunity, antibacteria and other bioactivities. In this study, we investigated the therapeutic effects and action mechanism of Phellodendri Cortex Ex with a BPH induced by castration and testosterone treatment.

Methods : Sprague-Dawley rats were treated with testosterone after castration for induction of experimental benign prostatic hyperplasia, which is similar to human benign prostatic hyperplasia in histopathological profiles. Phellodendri Cortex as an experimental specimen, and Finasteride as a positive control, were administered orally. The prostates were evaluated by histopathological changes, and the expression of 5α-reductase genes.

Results : While prostates of control rats revealed severe acinar gland atrophy and stromal proliferation, the rats treated with Phellodendri Cortex Ex showed a diminished range of the tissue damage. In the reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) of 5α-reductase genes, Phellodendri Cortex inhibited the expression of 5α-reductase genes.

Conclusions : These findings suggest that Phellodendri Cortex Ex may protect the glandular epithelial cells and also inhibit stromal proliferation in association with the suppression of 5α-reductase. From these results, we suggest that Phellodendri Cortex Ex could be a useful agent for treating the benign prostatic hyperplasia.

Keywords : Benign prostatic hyperplasia, Phellodendri Cortex Ex, 5α-reductase

I. 서론

전립선 비대증은 남성의 배뇨 장애를 일으키는 질환 중 가장 높은 빈도를 차지하는 질환으로 후부 요도 점막하에 있는 전립선의 요도주위구역과 이행구역이 과증식으로 인하여 전립선 요도가 좁아지거나 폐쇄되어 배뇨 장애를 유발하는 질환이다¹⁾. 전립선 비대증 대표

적인 유발인자는 노화에 따른 남성호르몬의 변화인데, 우리나라에서도 노인 인구가 증가함에 따라 전립선 비대증 환자가 지속적으로 증가하고 있는 추세이며 최근의 통계학적 연구에 따르면 국내의 전립선 비대증 환자수는 빠른 증가세를 보이고 있다²⁾. 전립선 비대증에 대한 서양 의학적 치료는 크게 외과적 치료, 내과적 치료로 나눌 수 있는데, 외과적 치료 방법으로 많이 사용되어온 요도경유 전립선절제술의 경우 배뇨장애 및 감염, 발기부전, 요실금, 요도협착 등의 합병증이 있을 수 있고, 내과적 치료로 α1-아드레날린성 수용성

접수 ▶ 2010년 6월 30일 수정 ▶ 2010년 7월 21일 채택 ▶ 2010년 7월 29일
교신저자 김용성, 전남 목포시 상동 834번지 동신대학교부속목포한방병원
Tel 061-280-7700 Fax 061-280-7788 E-mail underlo@hanmail.net

차단제와 5 α -reductase Inhibitor인 Finasteride가 사용되었지만 두통, 현기, 피로, 코막힘 및 성욕 감퇴, 발기력 저하 등의 부작용이 있었다³⁾. 그러므로 반드시 수술적 치료가 필요한 경우를 제외한 전립선 비대증의 치료에 한의학적 접근과 치료방법은 환자의 삶의 질 향상에 양호한 결과를 나타낼 수 있을 것이라 생각된다.

전립선 비대증은 한의학적으로 癰, 小便不利, 淋病 등의 범주에 속하고, 주로 濕熱下注, 氣滯血瘀, 腎虛로 발생한다고 보고 있다⁴⁾.

黃柏은 性은 苦寒하고 沈降하여 腎火를 瀉하고 清熱燥濕, 瀉火解毒하는 효능이 있어 淋濁, 小便不利, 糖尿 등의 濕熱로 인하여 주로 腎, 膀胱, 大腸에 나타나는 질환을 치료하는 약물이다⁵⁻⁶⁾.

黃柏을 전립선 비대증의 치료에 응용한 이전의 연구 결과는 없었으나 黃柏의 본초학적 효능과 전립선 비대증이 腎, 膀胱과 밀접한 관계가 있고 소변의 이상을 나타내는 질환임을 생각해 보았을 때 전립선 비대증의 치료에 응용될 수 있을 것으로 생각되어, 고환절제술 및 testosterone 투여로 유발된 전립선비대증 모델 rat의 체중, 전립선의 크기, 무게 및 체중 당 전립선 비율, 간기능, 신기능, 조직병리학적변화, 5 α -reductase 1(5 α -R1) 및 5 α -reductase 2(5 α -R2) 유전자의 발현에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험에 사용된 동물은 200-220 g의 수컷 Sprague-Dawley rat(중앙실험동물, Korea)을 구입하였으며, 먹이와 물은 자유롭게 먹도록 하면서 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험실의 온도는 22 \pm 2 $^{\circ}$ C, 습도는 40-70%로 일정하게 유지하고 12 시간씩 낮과 밤이 교대되는 환경으로, 조명은 낮 12 시간은 200-300 Lux로, 밤 12 시간은 외부빛이 차단되는 conventional system으로 조절되는 환경으로 조성되었다.

2) 약재

본 실험에서 사용한 黃柏(Phellodendri Cortex)은 동신대학교부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

일반시약은 Sigma(Chemical Co, U.S.A)에서 구입하였고, 플라스틱 실험 도구는 Falcon Lavware (Becton-Dickinson, U.S.A)에서 구입하였고, Zoletil (Virbac Laboratories, France), PCNA staining kit (ZYMED Laboratories, U.S.A), Bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, U.S.A), Normal horse serum (Vector Laboratories, U.S.A)

측정에 사용된 기기는 Rotary evaporator(Model NE-1, 東京理化學株式會社, Japan), 동결건조기 (Model FD-1, 東京理化學株式會社, Japan), 광학현미경(Olympus BX-50, Olympus Optical, Japan), MetaVue(Molecular devices, U.S.A) 등이었다.

2. 방법

1) 검액의 조제

黃柏(Phellodendri Cortex) 1,000 g을 1,500 ml의 80% 에탄올에 넣어 heating mantle를 이용하여 2 시간 동안 가열 추출하고 여과한 여액을 applicator를 이용하여 500 ml 플라스크에 넣은 후 filter로 걸러내었다. 걸러진 여과액을 Rotary evaporator(Model NE-1, 東京理化學株式會社, Japan)로 건조시키고, 동결 건조된 약제 1차 추출물 1 g씩을 10 ml의 증류수로 용해시킨 후 95 $^{\circ}$ C 수조에서 2시간 동안 재차 가열 추출하였고, 추출물을 원심분리용 시험관에 담아 14,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 上淸液을 수거하였다. 이 上淸液을 직경 0.2 μ m의 필터에 통과시켜 여과 멸균하였으며, 사용할 때까지 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 黃柏의 최종 수거율은 4.9%였다.

2) 고환절제술 및 testosterone 유발 전립선 비대증 동물 모델의 제작

적응기간을 마친 수컷 Sprague-Dawley rat에 zoletil 50(Virbac, France)을 1 ml/kg의 용량으로 rat의 tail vein을 통해 주사하여 마취하고 rat의 음낭 피부를 절개하여 고환 상위부위의 정관(vas deferense), 혈관 및 신경조직을 봉합사로 묶은 후 고환과 부고환을 절제하였다. 고환절제 후 음낭피부를 봉합하고, 1일 간의 회복기를 거치게 하였다. 고환절제 후 2일째부터 testosterone(Wako, Japan)을 corn oil과 ethanol (9:1) 혼합액에 희석하여 30일 동안 20 mg/kg 용량으로 실험동물에 피하주사하여 전립선 비대증을 유발하였다.

3) 실험군 배정 및 연구 스케줄

본 연구의 실험군은 각 군당 6마리씩 정상군(Normal group), 대조군(Control group), 黃柏 0.5 g 투여군(Phellodendri 0.5 group), 黃柏 1.0 g 투여군(Phellodendri 1.0 group) 및 양성대조군인 Finasteride 투여군(Finasteride group)의 5군으로 나누어 진행하였다.

정상군은 sham-castration으로 음낭을 절개하여 고환부분을 확인한 후 어떠한 조직의 절제나 결박없이 그대로 봉합하고, 연구기간동안 어떤 약물도 투여하지 않았다. 대조군은 고환절제술 후 2일째부터 testosterone 혼합액을 30일간 피하로 주사하면서, 생리식염수 5 ml/kg만을 경구 투여하였다. 黃柏 투여군은 고환절제술 다음날부터 testosterone 혼합액을 30일간 피하로 주사하면서, 黃柏을 생리식염수에 현탁하여 0.5 g/kg(黃柏 0.5 g 투여군) 및 1.0 g/kg(黃柏 1.0 g 투여군)의 용량으로 zonde를 이용하여 1일 1회 경구 투여하였다. 양성 대조군인 Finasteride 투여군은 고환절제술 다음날부터 testosterone을 30일간 피하로 주사하면서 Finasteride(Sigma, U.S.A)를 생리식염수에 현탁하여 1 mg/kg의 용량으로 경구 투여하였다.

4) 체중 측정

체중 측정은 실험 개시일에 최초 측정을 하였고, 이후 매주 1회씩과 실험종료일 마지막 sampling하기 전까지 측정하였다. 체중 측정은 아침 사료 공급 전에 일괄적으로 전자저울(CAS 2.5D, Korea)을 이용하여 시행

하였으며, 측정시 rat의 움직임에 따른 체중 오차를 최소화하기 위해 플라스틱 bowl에 rat를 올려놓고, rat가 안정 상태에 이르러 나타나는 체중을 기록하였다.

5) 전립선 크기, 체중당 전립선 비율 및 무게 측정

마지막 투약 다음날 체중 측정과 채혈을 하고나서 rat를 희생시킨 후 전립선을 적출하여 전립선 주변의 지방 및 이물질을 제거하고 전립선 상하 좌우의 최장 길이와 최단 길이를 측정하였다.

전립선의 크기는 다음의 공식을 이용하여 계산하였으며,

Prostate volume(cm³): the formula: 1/2(a × b²)(a and b refer to longer and shorter dimension)

체중당 전립선 비율은 다음의 공식을 이용하여 계산하였다.

Prostate weight ratio(mg/100 g of B.W.) = prostate weight(mg) × 100(g) / Body weight(g)

전립선의 무게는 전립선의 크기를 측정한 다음 전립선 주위의 습기를 제거한 후 전자저울을 이용하여 측정하였다.

6) 肝, 腎 독성검사에 대한 생화학적 혈액검사

실험 시작 31일째에 rat의 심장에서 채혈하여 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 다음 上淸液을 얻어 -4 0°C에 보관한 것을 AST(Aspartate Transaminase), ALT(Alanine Transaminase), γ-GTP(gamma glutamyltranspeptidase), BUN(Blood urea nitrogen) 및 creatinine 등의 생화학적 분석을 시행하였다.

7) 전립선 조직의 조직병리학적 평가

크기와 무게를 측정 후 각 전립선을 10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정한 후 70%, 80%, 95%, 100% 에탄올에 차례로 담가 탈수시킨 다음 파라핀 블록을 만들었다. 이후 microtome을 이용하여 4 μm의 두께로 각 전립선조직을 관상으로 절편한 다음 gelatin coated slide에 부착시켰다. 작성된 조직절편들은 조직염색을 위하여 xylene에 담가 파라핀을 제거하고, 100%,

95%, 80%, 70% 에탄올, 증류수에 차례로 담가 재수화(rehydration)시켰다. 재수화된 조직을 Hematoxyline-Eosin(HE)으로 염색하여 광학현미경하에서 조직학적으로 평가하였다.

8) 전립선 세포의 5α-Reductase 1(5α-R1) 및 5α-Reductase 2(5α-R2) 유전자의 발현 측정

전립선 세포의 5α-Reductase 1(5α-R1) 및 5α-Reductase 2(5α-R2) 유전자의 발현 측정은 반정량(semi-quantitative) 역전사 연쇄중합반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction 이하 RT-PCR)을 이용하여 측정하였다. 지방 조직에서 분리한 1 μg의 RNA에 PCR buffer와 5 mM의 MgCl₂, 1 mM의 dNTP, 20 U의 RNasin, 2.5 μM의 Oligo (dT), 100 U의 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase를 혼합하여 42°C에서 50분, 70°C에서 15 분씩 반응시켰다. 역전사를 통해 얻어진 각각의 complementary DNA(cDNA)에 PCR buffer, 2.5 mM dNTP, 2 U Taq polymerase, 5 pM의 primers를 혼합하여 Eppendorfs Mastercycler Gradient PCR device(Eppendorf, Germany)를 이용하여 RT-PCR을 시행하였다. PCR 반응의 표준 대조군(internal house keeping gene)으로 GAPDH를 사용하였으며, 사용한 각각의 primer의 염기서열은 다음과 같다<Table 1>. 각각의 RT-PCR의 주기수(cycle)와 신장단계 온도(annealing temperature)는 5α-R1, 5α-R2의 경우 55°C 30 cycles, GAPDH의 경우 58°C 25 cycles로 시행하였으며, 예상 RT-PCR 결과물의 염기 크기는 5α-R1의 경우 185 bp, 5α-R2의 경우 192 bp, GAPDH의 경우 199 bp였다. 이상의 과정을 통해 얻어진 각각의 RT-PCR 결과물은 ethidium bromide로 염색하여 2% 아가로스 젤(agarose gel)에서 확인한 후 각각의 발현도를 densitometry를 이용하여 측정하였다.

9) 통계 분석

통계학적 비교분석은 GraphPad PRISM statistical package(ver 2.00, Graphpad software Inc., U.S.A)를 이용하였으며 각 군간의 비교는 one-way analysis of variance(ANOVA)에 이어 Tuckey's post-hoc test로 사후 검증하였다. 각각의 수치는 평균 ± 표준

<Table 1> Sequence of Primers for PCR

Primers	Sequences of Primers
5α-R1	5'- GAGATATTCAGCTGAGACCC -3' 5'- TTAGTATGTGGCAGCTTGG -3'
5α-R2	5'- ATTTGTGTGGCAGAGAGAGG -3' 5'- TTGATTGACTGCCTGGATGGC -3'
GAPDH	5'- TGCCAAGGCTGTGGGCAAGG -3' 5'- GCTTCACCACCTTCTTGTATG -3'

편차(mean ± S.D.)로 표시했으며, 양방 검정 유의도(Two-tailed p value)는 $p < 0.05$ 수준일 때를 기준으로 하였다.

III. 결 과

1. 체중의 변화

체중은 대조군의 경우 327.4 ± 17.0 g으로 정상군의 337.7 ± 26.0 g에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다. 실험군의 경우 체중의 변화는 대조군의 327.4 ± 17.0 g에 비해 黃柏 0.5 g 투여군이 335.2 ± 15.4 g, 黃柏 1.0 g 투여군이 351.7 ± 9.6 g으로 체중이 증가하였으며, Finasteride 투여군에서 311.5 ± 10.9 g으로 감소하였으나, 유의성이 없었다<Table 2>.

<Table 2> Body Wight of Each Experimental Group

Group	Body weight(g)
Normal	337.7 ± 26.0
Control	327.4 ± 17.0
Phellodendri 0.5	335.2 ± 15.4
Phellodendri 1.0	351.7 ± 9.6
Finasteride	311.5 ± 10.9

Normal : not treated group
 Control : saline 5 ml/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Phellodendri 0.5 : phellodendri cortex 0.5 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Phellodendri 1.0 : phellodendri cortex 1.0 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Finasteride : finasteride 1.0 mg/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration(positive control)

<Table 3> Prostate volume, weight and prostate weight ratio of each experimental group

Group	Prostate volume(cm ³)	Prostate weight(g)	Prostate weight ratio(mg/100 g of BW)
Normal	1.29 ± 0.28	1.02 ± 0.14	0.30 ± 0.05
Control	2.24 ± 0.56**	1.30 ± 0.10***	0.40 ± 0.02***
Phellodendri 0.5	1.28 ± 0.35##	1.30 ± 0.11	0.39 ± 0.05
Phellodendri 1.0	1.27 ± 0.18##	1.29 ± 0.06	0.37 ± 0.02#
Finasteride	1.20 ± 0.17###	1.27 ± 0.15	0.41 ± 0.06

* : Significantly different from the normal group(** : P < 0.01, *** : P < 0.001)

: Significantly different from the control group(# : P < 0.05, ## : P < 0.01, ### : P < 0.001)

Normal : not treated group

Control : saline 5 ml/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Phellodendri 0.5 : phellodendri cortex 0.5 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Phellodendri 1.0 : phellodendri cortex 1.0 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Finasteride : finasteride 1.0 mg/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration(positive control)

<Table 4> Blood chemistry of each experimental group

Group	AST(u/l)	ALT(u/l)	γ-GTP(u/l)	BUN(mg/dl)	Cr(mg/dl)
Normal	165.17 ± 24.08	52.17 ± 7.17	1.17 ± 0.41	19.52 ± 2.62	0.53 ± 0.05
Control	146.00 ± 16.27	50.00 ± 6.85	1.37 ± 0.74	20.15 ± 2.26	0.51 ± 0.08
Phellodendri 0.5	165.00 ± 32.51	50.83 ± 5.98	1.50 ± 0.55	20.48 ± 1.99	0.52 ± 0.04
Phellodendri 1.0	149.33 ± 19.99	46.00 ± 4.60	1.17 ± 0.41	19.53 ± 3.03	0.57 ± 0.08
Finasteride	114.17 ± 13.20	51.00 ± 5.29	2.17 ± 0.75	19.60 ± 1.67	0.45 ± 0.06

Normal : not treated group

Control : saline 5 ml/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Phellodendri 0.5 : phellodendri cortex 0.5 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Phellodendri 1.0 : phellodendri cortex 1.0 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration

Finasteride : finasteride 1.0 mg/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration(positive control)

2. 전립선 부피, 무게 및 체중당 전립선 비율의 변화

전립선의 부피는 대조군에서 2.24 ± 0.56 cm³로 정상군의 1.29 ± 0.28 cm³에 비해 유의하게 증가하였으며(P < 0.01), 黃柏 0.5 g 투여군과 黃柏 1.0 g 투여군은 각각 1.28 ± 0.35 cm³, 1.27 ± 0.18 cm³로 대조군에 비해 유의하게 감소하는 효과를 보였고(P < 0.01), 양성 대조군인 Finasteride 투여군 역시 1.20 ± 0.17 cm³로 유의한 감소 효과를 나타내었다(P < 0.001).

전립선의 무게는 대조군에서 1.30 ± 0.10 g으로 정상군의 1.02 ± 0.14 g에 비해 유의하게 증가하였으며(P < 0.001), 黃柏 0.5 g 투여군과 黃柏 1.0 g 투여군은 각각 1.30 ± 0.11 g, 1.29 ± 0.06 g, Finasteride 투여군은 1.27 ± 0.15 g으로 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

최종적으로 체중당 전립선의 비율은 대조군에서 0.40 ± 0.02으로 정상군의 0.30 ± 0.05에 비해 유의하게 증가하였으며(P < 0.001), 黃柏 0.5 g 투여군은

0.39 ± 0.05에서 뚜렷한 차이가 없었으나, 黃柏 1.0 g 투여군은 0.37 ± 0.02로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(P < 0.05). 양성대조군인 Finasteride 투여군은 0.41 ± 0.06으로 오히려 증가하는 결과를 보였으나 유의성은 없었다<Table 3>.

3. 간기능 및 신기능의 변화

AST, ALT, γ-GTP 항목에서는 정상군 및 대조군 사이의 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 黃柏 0.5 g 투여군, 黃柏 1.0 g 투여군 및 Finasteride 투여군 모두에서 유의한 차이는 없었다.

BUN과 creatinine 항목에서는 정상군 및 대조군 사이의 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 黃柏 0.5 g 투여군, 黃柏 1.0 g 투여군 및 Finasteride 투여군 모두 유의한 차이는 없었다<Table 4>.

4. 전립선의 조직병리학적 변화

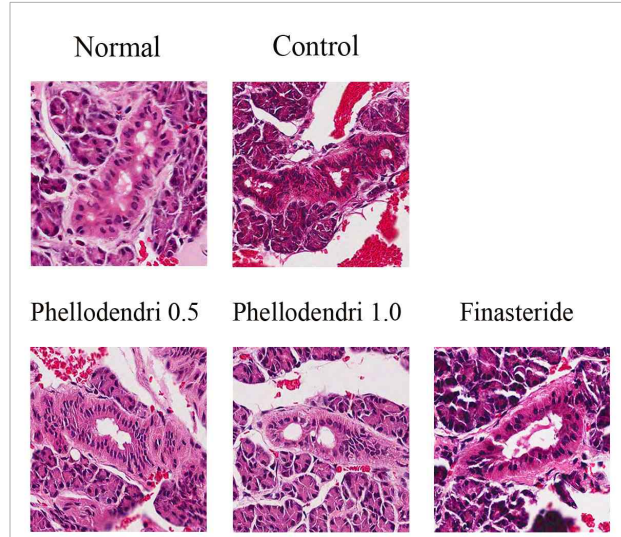
黃柏 투여가 전립선의 조직학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행한 H&E 염색 표본의 광학 현미경상 관찰에서 정상군은 acinar gland가 둥근 형태로 위축 없이 잘 유지되고 있었고, duct epithelial cell 역시 원주형의 형태로 정상 세포핵과 분비선들이 정상 형태를 유지하고 있었으며, 결합 조직의 증식이나 섬유화 및 임파구와 단핵구의 침윤은 관찰되지 않았다.

고환 절제술과 testosterone를 투여한 대조군에서는 정상군에 비해 상피성분(epithelial elements)의 luminal cells의 편평함(flatten)이 관찰되었고, acinar gland는 타원형 및 선형의 형태로 위축되어 불규칙하게 분포되어 있으며, duct epithelial cell 역시 편평세포의 형태로 위축되었고, 간질성분(stromal elements)은 증식되었다.

黃柏 투여군에서는 상피성분(epithelial elements)의 luminal cells는 대조군보다 비교적 둥근 형태로 경도의 위축이 관찰되었고, duct epithelial cell는 입방형으로 세포핵과 분비선들의 형태 및 공간이 대조군에 비해 정상군에 가까운 형태를 유지하고 있었으며, 결합 조직 및 간질성분에서의 증식이 감소된 양상을 보였다. 이러한 조직학적 변화 양상은 黃柏 0.5 g 투여군보다 1.0 g 투여군에서 더 뚜렷하게 관찰되었다. Finasteride 투여군에서는 상피성분의 luminal cells는 대조군에 비해 비교적 둥근 형태로 정상군에 가까운 형태를 보였고, duct epithelial cell 역시 원주모양으로 유지되었으며, 결합 조직 및 간질성분은 경도의 증식과 섬유화가 관찰되었다<Figure 1>.

5. 전립선 세포에서 5α-Reductase 1(5α-R1) 및 5α-Reductase 2(5α-R2) 유전자 발현의 변화

정상군에서의 유전자 발현을 1로 했을 때 대조군에서의 5α-R1 유전자 발현은 1.27 ± 0.02 로 상승하였고, 黃柏 0.5 g 투여군에서는 1.31 ± 0.10 , 黃柏 1.0 g 투여군에서는 1.29 ± 0.01 로 대조군에 비해 증가하였으며, 양성 대조군인 Finasteride군에서도 1.34 ± 0.17 로 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였으나 모두 통계학적 유의성은 없었다<Figure 2>.



<Figure 1> Morphological profiles of the prostate tissues from the rats with benign prostate hypertrophy(BPH) experimentally induced by castration and testosterone injection($\times 400$)

Normal prostate : Duct cells were long columnar in shape and fibrous tissues were poorly developed in the surrounding stroma.

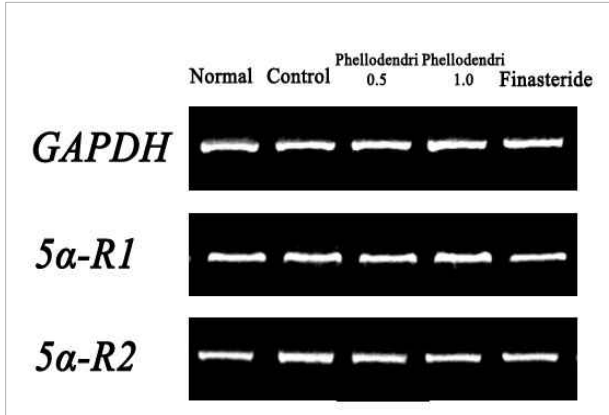
Control group : Duct cells were flattened to low cuboidal or squamous type. The stroma showed a severe infiltration of lymphocyte and monocyte and remarkable fibrosis.

Phellodendri 0.5 group : Duct cells demonstrated a typical cuboidal feature and the mild proliferation of the acinar cells were seen in the periductal area. A few lymphocytes, monocytes and fibroblasts were infiltrated in the stroma of the tissue.

Phellodendri 1.0 group : Duct cells were recovered to high cuboidal profile.

Finasteride group : Duct cells showed cuboidal appearance and fibrous tissues were poorly developed in the stroma.

정상군에서의 유전자 발현을 1로 했을 때 대조군에서의 5α-R2 유전자 발현은 1.23 ± 0.11 로 상승하였고, 黃柏 0.5 g 투여군에서는 1.23 ± 0.04 로 대조군과 차이가 없었으나, 黃柏 1.0 g 투여군에서는 1.07 ± 0.01 로 대조군에 비해 유의하게 감소하였고($P < 0.05$), 양성 대조군인 Finasteride 군에서도 1.02 ± 0.02 로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다($P < 0.05$)<Figure 2>.



<Figure 2> Effects of Phellodendri on expression of 5α-Reductase 1(5α-R1) and 5α-Reductase 2(5α-R2) mRNA in the prostate.

Normal : not treated group
 Control : saline 5 ml/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Phellodendri 0.5 : phellodendri cortex 0.5 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Phellodendri 1.0 : phellodendri cortex 1.0 g/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration
 Finasteride : finasteride 1.0 mg/kg oral administration and testosterone 20 mg/kg injection for 30 days group after castration(positive control)

IV. 고 찰

전립선은 남성생식계통에서 가장 큰 부속성선(accessory genital gland)기관으로 크기와 모양은 일반적으로 호두와 비슷하며 정상 성인의 전립선 무게는 약 20 g 정도이다. 전립선은 해부학적으로 방광의 아래에 위치하며 앞으로는 치골전립선인대, 아래로는 비뇨생식가로막에 의해 고정되어 있고, 전립선 뒤쪽으로는 튼튼한 직장방광사이막(Denonvillier 근막)이 있어 직장과 격리되어 있으며, 속골반근막(endopelvic fascia)에 싸여 골반 바닥에 밀착되어있다²⁾.

이의 조직학적 구조는 70%의 분비선 조직(glandula tissue)과 30%의 섬유근육기질로 구성되며, 선조직은 요도를 중심으로 동심원처럼 배열되어 있고, 여기에서 나온 15-30개의 전립선관이 전립선 요도로 열린다. 성인의 전립선 실질은 해부학적 및 임상적으로 뚜렷한 4개의 구역으로 나뉘는데, 분비선 조직의 70%가 존재하며 염증이나 암증이 호발하는 부위인 가장자리구역(peripheral zone)과 분비선 조직의 약 25%를 차지

하며 염증이나 암증이 대한 내성을 가지고 있는 중심구역(central zone), 점막분비선을 포함하며 노인에서 실질세포의 과형성(hypertrophy)이 자주 발생하는 이행구역(transitional zone), 점막 및 점막하 분비선을 포함하며 양성전립선비대증에서 병리적으로 비후되어 요도압박을 증가시켜 방광에서 요정체를 일으키는 요도주위구역(periurethral zone)으로 나뉜다⁷⁾.

전립선은 칼슘, 사이트레이트 이온(citrate ion), 인 이온, 응고효소, 섬유소용해소를 포함한 묽고 우유빛의 약 알칼리성 액을 분비하고, 이들 전립선의 약 알칼리성 액은 정액으로 합쳐져 정낭액의 산성을 중성화하는데 도움을 주고 정자의 활동과 생식력을 증진시킨다⁸⁾.

양성전립선비대증(Benign prostate hyperplasia; BPH)은 60-70세 남성의 40-70%에서 발생하며 비뇨기와 질환의 25%이상을 차지하는 흔한 질환이다. 양성전립선비대증은 지난 20여 년간 임상 및 기초 연구가 활발히 시행되어 병인 및 자연경과에 대한 이해가 축적되었으나 임상적 전립선비대증의 정의는 아직까지 명확하지 않다⁹⁾.

엄격한 의미에서 양성전립선비대증의 정의는 조직학적으로 전립선의 요도주위구역과 이행구역의 섬유기질과 상피조직의 증식을 보이며 요역동학적으로 방광출구폐색으로 인한 방광내압의 증가와 요속감소를 보이고 일련의 하부요로증상(lower urinary tract symptoms)을 나타내는 질환을 말하나, 임상적으로는 전립선비대로 인하여 나타나는 일련의 하부요로증상이 정상적인 생활과 충분한 수면을 방해하는 경우를 나타낸다²⁾.

양성전립선비대증의 유발인자로는 노화에 따른 남성호르몬의 변화로, 우리나라에서도 노인 인구가 증가함에 따라 양성전립선비대증 환자가 점차 증가하고 있는 추세이며 건강보험심사평가원의 자료에 따르면 국내 전립선비대증 환자 수는 빠른 증가를 보이고 있다²⁾. 최근 연구결과를 보면 한국인을 포함한 아시아인은 같은 연령대 환자에서 중등도 이상의 하부요로증상을 호소하는 경우가 서구보다 더 많은 것으로 보고되었고^{10,11)}, 상대적으로 서양인에 비해서 전립선특이항원 수치가 낮고 전립선 크기가 작음에도 불구하고 국제전립선증상 점수(International Prostate Symptom Score) 및 삶의 질 평가 설문지에서는 하부요로증상을 심각하게 호소하고 삶의 질을 낮게 평가하고 있다고 보고되었다¹²⁻¹³⁾.

전립선비대증에 대한 서양의학적 치료는 대부분 요도 경유전립선절제술(Transurethral resection of prostate; TURP)이 주로 시행되었으나 수술 환자의 10-20%에서 느끼는 불만족과 수술 10년 후 15-20%의 환자에서 나타나는 재수술의 필요성 및 출혈, 요도경유전립선절제술 증후군, 배뇨장애, 감염, 발기부전, 역행성 사정 등과 같은 합병증 때문에 최근 내과적 처치나 덜 침습적인 수술요법으로 치료방침이 변화하고 있다^{3,14}. 1990년대 초반에 들어서 하부요로에 선택적으로 작용하는 알파차단제가 개발되고 이에 대한 실험적 임상적 연구결과들이 축적되어 현재 내과적 치료가 많이 쓰이고 있다⁹. 대한비뇨기과학회의 통계자료에서도 수술적 치료의 시행율이 점차 감소하고 있어 전립선비대증의 일차적인 치료법이 수술적 치료에서 약물적 치료로 전환되었음을 알 수 있다¹⁵. 그러나 내과적 치료로 α1-아드레날린성 수용성 차단제와 5α-reductase Inhibitor인 Finasteride가 사용되었지만 두통, 현기, 피로, 코막힘 및 성욕 감퇴, 발기력 저하 등의 부작용이 있다³.

전립선 비대증은 한의학적으로 癃, 小便不通, 淋病 등의 範疇에 속하며, 주로 腎陽이나 腎陰의 偏衰로 인하여 유발된다. 腎陰이 偏衰하여 火旺하게 되면 前陰의 宗筋이 肥厚腫結하게 되므로, 방광의 氣化機能의 失調가 발생하고 이 때문에 소변이 癃閉, 不通하게 되는 것이다⁴. 이에 대한 한의학적 치료는 본증이 주로 濕熱下注, 氣滯血瘀, 腎虛로 발생한다고 생각했기 때문에 清熱瀉火, 補腎, 利尿의 치법을 사용하고 있다. 최근에는 전립선비대증에 대한 서양의학적인 병리기전을 참고하고 한의학적인 변증시치를 하여 시행된 치료에 대한 보고가 발표되고 있는데 李 등¹⁶은 전립선비대증의 기본증상이 배뇨곤란과 소변불통이므로 疏通을 위주로 치료하여야 한다고 보았으며 虛證은 補腎을 위주로, 實證은 活血化瘀와 軟堅散結을 위주로 치료하여야 한다고 하였다. 또한 譚 등¹⁷은 濕熱蘊結은 清熱利濕, 氣滯血瘀은 行氣活血化瘀, 痰瘀敗精互結은 化痰散結, 活血祛瘀, 脾虛氣陷은 益氣健脾, 升清, 脾陽虛衰는 溫補益氣, 行氣利水法을 사용하며, 活血祛瘀軟堅의 약물을 배합하여야 한다고 하였다.

최근의 전립선 비대증에 대한 연구로는 姜 등¹⁸이 봉약침의 전립선 비대증에 대한 효과를 연구하였으며, 김 등¹⁹은 복분자를, 이 등²⁰은 강황을, 김²¹은 황금을

이용하여 전립선 비대증에 대해 실험적으로 연구하였다.

본 연구의 실험약물인 黃柏(phellodendri cortex)은 운향과에 속한 황벽나무 또는 황피수의 수피를 건조시킨 것으로 性은 寒·無毒하고, 味는 苦하며, 腎·膀胱·大腸經으로 歸經하는 약물이다⁵. 黃柏은 또한 解毒, 殺菌, 消炎利尿劑로서 腎臟炎, 膀胱炎, 尿道炎 등 腎, 膀胱에 나타나는 질환을 치료하는 약물이다⁶. 최근에는 黃柏을 면역활성이나 항종양에 응용하거나²²⁻²⁵, Alzheimer²⁶나 파킨슨병²⁷, 만성 비세균성 전립선염²⁸에 응용하는 등 다방면으로 치료에 응용하고 있다.

黃柏을 전립선 비대증 치료에 이용한 기록은 없으나 전립선 비대증의 한의학적 주요 치법중의 하나인 清熱瀉火의 개념에 충분히 부합이 되고, 黃柏의 항종양 효과 또한 전립선 비대증의 주요 유발기전 가설 중의 하나인 세포 자멸사 기전의 저해¹⁸와도 상호 연관지어 생각할 수 있어서 본 연구에서는 黃柏이 전립선 비대증 유발 실험모델에 미치는 영향에 대하여 알아보고자 하였다.

본 실험에서는 전립선 비대증 병리기전 및 약물의 유효성을 검증하기 위한 실험 동물 model은 Sprague-Dawley rat의 고환과 부고환을 절제한 후 testosterone을 30일동안 20 mg/kg 용량으로 피하주사하여 전립선비대증과 유사한 상태를 유도하는 방식으로 만들었는데, 이러한 방법은 조직 병리학적으로 선조직과 선상피세포의 위축과 이형성, 그리고 결합조직의 증식과 섬유화를 유발하여 인간의 전립선비대증과 유사한 형태를 나타내게 되어²⁹ 최근의 전립선비대증에 대한 연구에 많이 응용되고 있다³⁰⁻³¹.

본 연구에서는 정상군과 고환절제술후 testosterone을 투여한 대조군, 그리고 testosterone을 투여하면서 각각 黃柏 0.5 g/kg 과 1.0 g/kg 을 투여한 실험군, 5α-환원효소억제제인 Finasteride를 투여한 양성대조군의 5군으로 나누어 진행하였다. Finasteride는 대표적인 2형 5α-환원효소의 경쟁적 억제제로서 혈중과 전립선 내의 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone; DHT) 수치를 낮추고 전립선의 크기를 줄이는 효능을 갖는다³². 전립선비대증의 원인은 아직까지 분명하지는 않으나 나이에 따른 변화와 남성호르몬, 특히 DHT의 존재가 큰 관련이 있다는 점은 확실하다. 고환의 라이디히세포(Leydig cell)에서 분비된 testosterone은 단순환산에 의해 전립선 세포로 유입되고, 5알파 환원효소(5α-reductase)에 의해 DHT로 전환된다. DHT는

전립선에 대한 작용에 있어서 testosterone의 약 5배에 해당하는 남성호르몬 역가를 가지고 있으며, 전립선내 DHT의 농도는 testosterone의 약 2배정도이므로 DHT의 전립선에 대한 역할은 testosterone의 약 10배에 해당한다고 볼 수 있다. DHT는 전립선 상피세포와 기질세포의 핵에 존재하는 남성호르몬 수용체 (androgen receptor; AR)에 결합하여 구조적 변화와 이합체화(dimerization)을 유도하고, 이 과정에서 AR DNA의 몇몇 분절이 전사(transcription)된다. 이 분절들은 여러 EGF, FGF 등의 성장인자와 관련된 유전자에 암호화되며, 이후 분비된 EGF, FGF 등은 기질과 상피 세포막에 위치하는 성장인자수용체(growth factor receptor)와 결합하여 전립선의 성장을 유도한다. 이러한 증식은 정상 전립선에서는 세포자멸사 (apoptosis) 기전을 통한 억제로 평형을 유지하게 되는데 전립선 비대증의 주요 유발기전은 기질세포에서 분비된 EGF, FGF 등의 과도한 작용에 의한 원인과 세포자멸사 기전의 결합으로 억제기전이 약화되어 상대적으로 증식되어 발생한다는 두 가지가 유력한 이론이다.

사람이 나이가 들게 되면 성호르몬에 변화가 나타나게 되는데 대표적으로 혈중 testosterone 농도의 감소가 나타나게 된다. 그러나 세포내 5 α -reductase의 활성이 증가하고 이에 따른 전립선 세포내 DHT 농도가 증가와 이에 반응하는 남성호르몬수용체의 증가가 나타나 이에 따른 testosterone이 감소하더라도 전립선 내 DHT의 농도는 큰 차이가 없게 되는데, 이러한 사실이 연령에 따른 혈중 testosterone의 감소에도 불구하고 전립선 비대증이 연령에 비례하여 발생하는 경향이 있음을 설명하고 있다²⁾.

본 실험에서 rat의 체중변화를 관찰한 결과 정상군에 비하여 대조군, 黃柏 0.5 g 투여군, 黃柏 1.0 g 투여군, Finasteride 투여군 모두 유의한 차이가 나타나지는 않았다. 전립선의 크기, 무게 및 체중당 전립선 비율을 조사한 결과 정상군에 비하여 대조군에서는 전립선의 크기와 무게, 체중당 전립선 비율 모두 유의한 증가가 나타나 성공적인 전립선 비대증 실험모델을 형성하였음을 보여주었다. 각 군과 대조군과의 비교를 살펴보면 전립선의 크기에서는 黃柏 0.5 g 투여군, 黃柏 1.0 g 투여군, Finasteride 투여군 모두 대조군에 비하여 유의한 감소가 나타났으며, 전립선의 무게에서는 세 군 모두 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 유의

성은 없었다. 체중당 전립선의 비율에서는 黃柏 0.5 g 투여군과 黃柏 1.0 g 투여군, 그리고 Finasteride 모두 전립선의 크기를 감소시키는 경향은 있었으나 黃柏 1.0 g의 투여군에서만 유의성이 있었다.

본 실험에서 黃柏을 kg당 0.5부터 1.0 g까지 투여하였으나 통계학적으로 유의한 간기능 및 신기능의 손상은 나타나지 않았으며, 黃柏의 다량 투여가 인체 내에서 간독성 및 신독성에 미치는 영향을 알기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

전립선의 조직병리학적 변화에 대해 살펴본 결과 대조군에서는 정상군에 비하여 광범위한 상피세포의 변형과 acinar gland, duct epithelial cell의 위축, 그리고 간질성분의 증식을 관찰할 수 있었다. 黃柏 투여군에서는 대조군보다 상피세포의 변형이나 duct epithelial cell의 위축이 감소되는 양상이 나타났으며 결합 조직 및 간질성분의 증식이 감소되어 나타났는데, 0.5 g 투여군보다 1.0 g 투여군에서 더 정상군에 가까운 모습을 나타내었다. Finasteride 투여군에서는 상피성분이나 duct epithelial cell의 변형이 대조군에 비하여 감소되어 정상군에 가까운 모습을 나타내었으며 결합 조직 및 간질성분에서는 경도의 증식과 섬유화가 관찰되었다. 黃柏 1.0 g 투여군과 Finasteride 투여군의 조직 변화를 비교하여 보면 상피성분이나 도관성분은 정상군과 가까운 모습을 나타내고 있으나 결합 조직 및 간질성분에 있어 黃柏 1.0 g 투여군이 Finasteride 투여군에 비하여 증식이 감소된 것을 볼 수 있는데, 이는 Finasteride가 결합 조직보다는 주로 선조직 세포의 자연사와 위축을 유도 하기 때문으로 볼 수 있다³³⁾.

본 실험에서는 testosterone을 DHT로 전환시키는데 관여하는 5 α -R1과 5 α -R2의 유전자 발현에 대하여 살펴보았는데, 대조군에서는 5 α -R1과 5 α -R2 모두 상승하였고 5 α -R1의 경우 黃柏 투여군과 Finasteride 투여군 모두 유의하게 감소하지 아니하였으나, 5 α -R2의 경우 黃柏 1.0 g 투여군과 Finasteride 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. 5 α -reductase는 1형과 2형의 두가지 아형이 존재하는데 5 α -R1은 피부와 간 등의 여러 장기에서 발현되고 5 α -R2는 주로 간과 전립선을 포함한 요로기계와 피부에 존재한다. 2형은 정상 전립선의 발달과 노년의 전립선 비대증에서 중요한 역할을 담당하는데 Finasteride는 주로 5 α -R2를 억제하는 약물로 알려져 있다²⁾. 본 실험

에서 黃柏 1.0 g 투여군이 Finasteride 투여군과 비슷한 정도로 5 α -R2의 유전자 발현을 억제시킨 것은 현재 여러 실험과 임상 연구로 전립선 크기의 감소와 하부 요로증상의 개선, 전립선암 예방 등에 효과적으로 판명된 Finasteride와 유사한 효과를 기대할 수 있음을 의미한다.

이처럼 본 실험에서 살펴본 결과 黃柏은 전립선 비대증에 대하여 조직 병리학적인 전립선의 상피조직의 변형 및 결합조직, 간질조직의 증식을 감소시켜 전립선의 크기를 감소시키는 효과를 기대할 수 있고, 이러한 결과는 5 α -R2의 발현 억제로 인한 임상 효과로 추측할 수 있었다. 또한 黃柏의 투여로 신독성 및 간독성 유발에 대한 안정성도 확보하여 차후 전립선 비대증의 치료에 충분히 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

黃柏이 고환절제술 및 testosterone 투여로 유발된 전립선비대증모델 rat의 체중, 전립선의 크기, 무게 및 체중 당 전립선 비율, 간기능, 신기능, testosterone 농도, 조직병리학적변화, 5 α -reductase 1(5 α -R1) 및 5 α -reductase 2(5 α -R2) 유전자의 발현에 미치는 영향을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중, 전립선의 무게에 있어 黃柏 투여군 모두 대조군에 비하여 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.
2. 전립선의 크기에 있어 黃柏 0.5 g 투여군과 1.0 g 투여군 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으며, 체중당 전립선의 비율에 있어 黃柏 1.0 g 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
3. 黃柏 0.5 g 투여군과 1.0 g 투여군 모두 간독성 및 신독성이 나타나지 않았다.
4. 전립선 조직학적 변화에 있어 黃柏 투여군 모두 대조군에 비하여 상피성분, acinar gland, duct epithelial cell의 변형 및 위축이 감소하였으며 결합 조직 및 간질성분의 증식도 감소하였고, 이러한 변화는 黃柏 1.0 g 투여군에서 뚜렷하였다.

5. 5 α -R1과 5 α -R2 유전자 발현에 있어 5 α -R1의 경우 黃柏 투여군 모두 대조군에 비하여 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았고, 5 α -R2의 경우 黃柏 1.0 g 투여군이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.

黃柏의 투여가 간독성 및 신독성을 일으키지 않으면서도 전립선 크기를 줄이며 전립선 조직의 변형, 위축 및 결합조직과 간질성분의 증식을 감소시키는 유의한 효과가 있었고, 黃柏 0.5 g 투여군에 비해 1.0 g 투여군에서 전립선 크기 감소 및 5 α -R2 유전자 발현 감소에 유의한 효과가 있었기에 보고하는 바이다.

參考文獻

1. 대한일차의료학회. 개원의를 위한 일차진료지침. 서울: 도서출판 한우리. 2003:538.
2. 대한비뇨기과학회. 제4판 비뇨기과학. 서울:일조각. 2007: 31-35.
3. 대한남성과학회. 남성과학. 서울:군자출판사. 2003:557-569.
4. 두호경. 동의신계학. 서울:동양의학연구원. 2003:707-708.
5. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울:행림사. 1991: 182-183.
6. 신길구. 申氏本草學. 서울:수문사. 1988:653-657.
7. Michael H. Ross, Wojciech Pawlina. 조직학(Histology a text and atlas. fifth edition). 서울:군자출판사. 2004: 865-868.
8. Arthur C. Guyton, John E. Hall. 의학생리학. 서울: 도서출판 정담. 2002:175. 434. 446. 447. 1073.
9. 대한남성과학회. 남성과학 10대 질환의 최신 길라잡이. 서울:군자출판사. 2008:96-121.
10. Honma Y. Kawabe K. Tsukamoto T. Yamanaka H. Okada K. Okajima E. et al. Epidemiologic survey of lower urinary tract symptoms in Asia and Australia using the International Prostate Symptoms Score. Int Urol. 1997;4:40-46.
11. Tsukamoto T. Kumamoto Y. Masukmori N. Miyakr H. Rhodes T. Girman GJ. Guess HA. Jacobsen HJ. Lieber MM. Prevalence of prostatism in Japanese men in a population based study with comparison to a similar American study. J Urol. 1995;154:391-395.

12. Chung BH. Hong SJ. Cho JS. Seong DH. Relationship between serum prostate specific antigen and prostate volume in Korean men with benign prostatic hyperplasia:a multicentry study. *BJU Int.* 2006;97:742-746.
13. Kim JH. Kim SC. Validation of Korean version of International Prostate Symptom Score:a comparison of physician versus self-administration. *Kor J Androl.* 2007;25:32-35.
14. 김현희, 곽철, 서성일, 정현, 이은식, 이종욱. 전립선 비대증에 대한 경요도절제술의 효과 및 합병증 장기추적 결과. *대한비뇨회지.* 1996;37:268-280.
15. Paick JS. Kim SW. Ku JH. Patterns in diagnosis and management of benign prostatic hyperplasia in a country that does not have country-specific clinical practiceguidelines. *Yonsei Med J.* 2007;48:281-288.
16. 李衛眞. 前立腺病中醫診療學. 北京:北京科學機術出版社. 1996:122-139.
17. 譚異倫, 周禎祥. 準治男科疾病的良方妙法. 中國:中國醫藥科技出版社. 1996:317-343.
18. 강현민, 김관수, 김두용, 유영진, 박희수, 권기록. 會陰穴의 봉약침 기술을 이용한 양성 전립선비대증 치험 2례. *大韓藥鍼學會誌.* 2008;26(11-2):125-130.
19. 김성대, 이병희, 손동완, 조용현, 이승민, 김정옥, 김세웅. 전립선 비대증 유발 백서에서 복분자를 주성분으로 한 생약제제 KH-305가 미치는 영향. *생약학회지.* 2008;39(2):80-85.
20. 이상헌, 안영민, 안세영, 김영옥, 이병철, 강황이 고환절제술 및 testosterone으로 유발된 rat의 전립선 비대증에 미치는 영향. *대한한방내과학회지.* 2009;30(2):355-364.
21. 김진성. 황금이 전립선비대증 Rat에 미치는 영향. *동신대학교 대학원.* 2009.
22. 김의근, 김동일, 이태균. 黃柏의 腫瘍抑制 및 免疫活性에 관한 研究. *大韓韓方婦人科學會誌.* 2002;15(1):19-30.
23. 권영. Phellodendri Cortex induces apoptosis and inhibits MMP-9 expression in human colon cancer HCT116 cell line. *동국대 대학원.* 2007.
24. 배창욱. Macrophage-stimulating activity of the polysaccharide fraction from phellodendron Chinese schneid(hwangbek). *동국대 대학원.* 2008.
25. 최영성. Immunopotentiating and antitumor activities of the purified polysaccharides from phellodendron amurense Rupr. *동국대 대학원.* 2006.
26. 김영표, 黃柏이 Alzheimer's Disease 병태 모델에 미치는 영향. *대전대 대학원.* 2003.
27. 정영석. 黃柏의 1-methyl-4-phenylpyridinium(MPP+)로 유도된 파킨슨병의 신경세포 손상에 대한 보호효과. *동국대 대학원.* 2009.
28. 김순일, 안영민, 안세영, 두호경, 이병철. 黃柏이 만성 비세균성 전립선염 모델에서 혈액학적 및 세포조직학적 변화에 미치는 영향. *大韓韓醫學會誌.* 2006;27(3):51-62.
29. Colombel MC. Buttyan R. Hormonal control of apoptosis : the rat prostate gland as a model system. *Methods Cell BIOL.* 1995;46:369-385.
30. Prieto JC. Carmena MJ. Receptors for vasoactive interstitial peptide on isolated epithelial cells of rats ventral prostate. *Biochim Biophys Acta.* 1983;763:408-413.
31. Carmena MJ. Prieto JC. Cyclic AMP-stimulating effect of vasoactive intestinal peptide in isolated epithelial cells of rat ventral prostate. *Biochim Biophys Acta.* 1983;763:414-418.
32. 대한가정의학회. *가정의학<임상편>.* 서울:계축문화사. 2003:1410-1415.
33. Rittmaster RS. Norman RW. Thomas LN. Rowden G. Evidence for atrophy and apoptosis in the prostates of men given Finasteride. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(2):814-819.