

백서 전립선에서 Heme Oxygenase-2의 발현과 평활근의 CO에 의한 이완 효과: 연령 및 고환 절제의 영향

Expression of Heme Oxygenase-2 and Smooth Muscle Relaxation by Carbon Monoxide in Rat Prostate: Effects of Age and Castration

Hea Young Oh, Soo Mee Kwon, Jong Ran Lee, Sun Il Kim¹, Young Deuk Choi, Sung Joon Hong

From the Department of Urology and Urological Science Institute, College of Medicine, Yonsei University, ¹Hanyang University, Seoul, Korea

Purpose: Carbon monoxide (CO), as well as nitric oxide (NO), have been proposed as potential effectors in the non-adrenergic, non-cholinergic (NANC), nerve-mediated relaxation of the prostate. Attempts were made to determine the localization and expression of heme oxygenase-2 (HO-2), and to observe the change in the relaxation of the smooth muscle induced by CO, depending on age and castration, in rat prostate glands.

Materials and Methods: The prostate smooth muscles, isolated from young (125±4.5g, n=18), adult (321±17.8g, n=18), old (413±6.4g, n=18) and castrated adult (318±15.2g, n=18) rats, were used. The HO-2 immunohistochemistry was observed using the rabbit anti-HO-2 polyclonal antibody. The expressions of HO-2 were measured by a reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blotting. Polygraphy, connecting the force displacement transducer, was used to observe the relaxation effect of CO. To investigate the relaxation action of the CO mediated, to the soluble guanylate cyclase (sGC) enzyme inhibitors, 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) and methylene blue were added to the reaction solutions.

Results: The HO-2 was located in the nerve fibers of the rat prostates. A quantitative analysis of PCR products revealed greater decreased levels of HO-2 mRNA and protein expression in the young ($p < 0.05$) and castrated adults ($p < 0.05$) than in the normal adult rats. The relaxation effect of CO was greater in the adult than in the young ($p < 0.05$), old and castrated adult rats ($p < 0.05$), but the effect was inhibited by the addition of ODQ and methylene blue in all groups ($p < 0.05$).

Conclusions: CO has an effect on the relaxation of rat prostate smooth muscle. The expression of HO-2 in the prostate became higher with increasing age, so it is estimated the relaxation effect of CO in the older adults will be higher than with the other ages. Androgen deprivation decreases relaxation effect of CO in prostate smooth muscle. (Korean J Urol 2003;44:592-598)

Key Words: Muscle, smooth, Carbon monoxide, Heme oxygenase, Castration, Prostate

대한비뇨기과학회지
제 44 권 제 6 호 2003

연세대학교, ¹한양대학교 의과대학
비뇨기과학교실, 비뇨기과학연구소

오혜영 · 권수미 · 이종란
김선일¹ · 최영득 · 홍성준

접수일자 : 2003년 2월 19일
채택일자 : 2003년 4월 3일

교신저자 : 홍성준
연세대학교 의과대학
비뇨기과학교실
서울시 서대문구 신촌동
134번지
☎ 120-749
Tel: 02-361-5806
Fax: 02-312-2538
E-mail: sjhong346@yumc.
yonsei.ac.kr

본 연구는 1999년도 연세대학교 의과대학 교수연구비(1999-22)지원에 의해 이루어짐.

서 론

Nitric oxide (NO)는 평활근 조직에서 비아드레날린성, 비콜린성 (non-adrenergic non-cholinergic; NANC) 신경 이완의 전달 물질로 추정되고 있다.¹ 최근, 중추와 말초신경계² 뿐만 아니라 요로³와 음경해면체⁴에서도 NO가 NANC의 이완 작용에 관여한다. 인체 전립선에서는 nitric oxide synthase

(NOS)가 말초신경과 전립선 선포, 기질과 선상피 내에 분포하여⁵ 분비조절과 섬유근 조직의 신경지배에 중요한 역할을 한다. 전립선 비대증 환자들의 경우, nitrinergic 신경지배가 감소하며⁶ 개를 대상으로 한 연구에서도 전립선 양성 증식과 함께 NOS가 감소하여⁷ NO가 전립선 성장과 병리 현상에 관련있다고 생각된다. 따라서 NO 수준의 저하가 평활근의 긴장도를 증가시킴으로써 전립선비대로 인한 하부 요로폐쇄의 기전으로 추정되고 있다. 이와 함께 동물 모델

에서 연령 증가에 따라 NO의 이완효과와 nitrinergic 신경지배가 저하된다.⁸ 거세된 백서 전립선의 혈관수축이 전립선 퇴화에 기여하며, 이것은 NOS 활성 감소와 연관성이 있다는 연구도 있다.⁹

이러한 NO 이외에 전립선의 긴장도를 조절하는 다른 요소로 carbon monoxide (CO)가 있으며, CO는 생체 내에서 heme oxygenase (HO)에 의해 heme이 biliverdin과 Fe²⁺로 산화되는 과정에서 발생하는 기체이다.¹⁰ 유도성 HO-1과 달리 지속적으로 발현되는 HO-2는 모든 조직에서 관찰되고 특히 두뇌와 고환에 많이 분포하고 있다.¹¹ CO의 역할은 soluble guanylate cyclase (sGC)를 활성화시켜 cyclic guanosine 3'5'-monophosphate (cGMP)를 증가시킴으로써 부분적으로 혈관세포의 신경전달물질 매개요소로 작용한다고 추정된다.¹² 신경계와 혈관에서는 CO와 NO의 동등한 역할을 한다는 보고도 있다.¹³ NO에 대한 연구에 비하여 연령과 거세에 따른 전립선내 CO의 수준 및 이완효과 변화에 대한 연구는 별로 없다. 이에 본 연구는 연령과 고환 절제에 따른 백서 전립선 조직의 HO-2 발현 강도 변화와 HO-2의 위치를 확인하고 전립선 평활근 조직의 CO에 의한 이완 효과 변화 및 sGC를 매개로 한 작용을 확인해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

실험동물은 (주)샘타코 바이오 코리아(오산시, 경기도, 한국)에서 구입한 Sprague Dawley 백서 수컷 72마리를 사용하여 연령에 따라 4군으로 나누었으며, 각각 18마리를 이용하였다. 각 군별 평균 몸무게는 유년기군은 (6-8주령) 125±4.5g, 성년기군은 (12-14주령) 321±17.8g, 노년기군은 (20-22주령) 413±6.4g, 고환절제군은 (12-14주령) 318±15.2g이었다. 고환절제는 전립선 적출 3일 전에 이루어졌으며 전신 마취는 140mg/kg 케타민 (유한양행, 서울, 한국)과 1.3mg/kg 자일라진 (Bayer Korea Co., 서울, 한국)을 혼합 근주하였다. 우배측 전립선 조직은 액체 질소에 동결 보관하였고, 좌배측 전립선 조직은 포르말린에 보관하고 일부는 생리학적인 관찰을 위한 재료로 사용하였다.

2. 전립선 조직에서 RNA 분리

액체 질소에 보관된 전립선 조직 10mg에 RNAzol™ B 용액 (1ml)을 넣고 4°C에서 homogenization하였다. -20°C에서 1시간 동안 방치한 후 100µl chloroform (Amresco Inc., Ohio, USA)을 넣어 가볍게 흔들어 준 후, 4°C에서 5분간 방치한 다음 4°C에서 15분간 12,000 rpm으로 원심 분리하였다. 상층액과 동량의 isopropanol (Amresco Inc., Ohio, USA)

과 혼합하여 4°C에서 15분 동안 방치하였다. 4°C에서 12,000rpm으로 원심 분리 후 침전물은 75% 에탄올로 씻고 적당히 건조시켜 diethyl pyrocarbonate (DEPC; Amresco Inc., Ohio, USA) 처리수로 용해시킨 후, UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV1601PC, Osaka, Japan)를 이용하여 RNA를 정량하였고, agarose gel electrophoresis로 28S, 18S RNA band를 확인하였다.

3. Semiquantitative RT-PCR

분리된 RNA 2µg을 취하여 cDNA 합성에 이용하였다. cDNA 합성을 위한 반응액으로 38U/µl AMV reverse transcriptase XL (Life science Co., Kyoto, Japan), 0.25µM Oligo (d) T primer (Takara Shuzo Co., Ltd., Kyoto, Japan)와 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 5mM MgCl₂, 1mM deoxyribonucleoside triphosphates (dNTPs) 혼합액을 사용하였다. Reverse transcription (RT) 조건은 42°C 30분, 99°C 5분, 5°C 5분 (1 cycle)이며 Perkin Elmer gene AMP PCR system 9600 (Applied biosystems, California, USA)을 이용하였다. PCR에 이용된 HO-2 primer로는 5'-AGAAGTATGTGGATCGGA-3' (sense)와 5'-TACTCAGGTCCAAGGCA-3' (antisense), β-actin은 5'-TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC-3' (sense)와 5'-TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCC G-3' (antisense)를 이용하였다. PCR 반응액은 50mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 2.5mM MgCl₂, 10mM dNTPs, 2.5U/µl Takara LA taq, 0.2µM primers (sense and antisense)를 이용하였고, 음성대조군으로 cDNA 대신 동량의 DEPC 처리수를 사용하였다. PCR은 30 cycle의 denaturation (95°C, 1분), annealing (55°C, 2분), extension (72°C, 3분) 과정을 거쳤고, β-actin을 internal reference로 이용하였다. 상대적인 발현 정도 측정값은 TINA 2.10 program (가톨릭대학교, 서울, 한국)으로 계산하였다.

4. Western blot analysis

동량의 단백질을 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide (SDS-PAGE) gel에 올려 전기영동한 후, hybond nitrocellulose membrane (Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, UK)으로 이동시켰다 (200mA, 2시간, 4°C). 비특이적인 결합을 막기 위해 5% 탈지분유가 혼합된 Tris-buffered saline (50mM TBS, pH 7.5 Tris-HCl, 150mM NaCl)에 실온에서 1시간 동안 침전시킨 후, 1:2,000으로 희석된 rabbit anti-Heme-Oxygenase-2 polyclonal antibody (StressGene Biotechnologies, Glanford Avenue Victoria, Canada)을 4°C에서 24시간 반응시켰다. Tween-20이 첨가된 TBS (TTBS)에서 30분 동안 씻어낸 후, 1:4,000으로 희석된 이차 항체인 goat anti-rabbit horseradish peroxidase-labeled secondary antibody (Bethyl

Laboratories Inc., Texas, USA)와 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후, TTBS로 30분 동안 씻었다. Enhanced chemiluminescence detection system (ECL, Amersham Pharmacia Biotech., Buckinghamshire, UK)을 이용하여 고감도 필름을 30초 동안 노출시킨 후, molecular weight marker (Bio-rad, Hercules, CA)로 HO-2의 크기와 강도를 확인하였다.

5. Immunohistochemistry

배측 전립선 조직을 4% para-formaldehyde로 고정시키고, 파라핀포맷 후 5µm 절편을 만들었다. Xylene으로 탈파라핀화시키고 재수화시킨 다음, 0.1M PBS로 씻어내었다. Target Retrieval Solution (InnoGenex, San Ramon, USA)을 처리하고 전자레인지에서 3분간 가열 후, 20분간 실온에서 식히고 증류수로 깨끗이 씻은 다음 PBS로 5분간 세척하였다. 내인성 과산화효소 활성을 제거하기 위해 조직 슬라이드를 0.3% 과산화수소가 포함된 메탄올에 30분 동안 침전시켰다. Aminoethyl carbazol peroxidase (AEC-HRP) immunostaining kit (InnoGenex, San Ramon, USA)을 사용하였으며 축축한 밀폐용기에서 1:100으로 희석된 HO-2 rabbit polyclonal IgG antibody (StressGene Biotechnologies, Glanford Avenue Victoria, Canada)를 4°C에서 24시간 동안 반응시켰다. 면역반응성을 나타내는 위치는 3-aminoethyl carbazol로 발색시키고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색 후, 마운트 용액으로 고정하고 현미경으로 관찰하였다.

6. 백서 전립선 절편을 이용한 CO의 이완 효과

1) 전립선 절편 표본작성: Sprague Dawley 수컷 백서를 디에틸에테르로 마취시킨 후, 배측 전립선을 절개하였다. 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체가 공급되는 저온의 tyrode 용액 내에서 해부용 현미경하에 결체 조직 및 지방 조직을 제거한 후, 백막으로부터 전립선 평활근을 분리하여 2x2x6mm 크기의 절편을 만들었다. Tyrode가 들어 있는 10ml 조직 용액기 밀 부분에 절편을 실크로 고정하고 반대편 끝은 등장력성 수축 기록계에 연결하여 전립선 평활근의 운동 상태를 에너지 변환기기 (Force displacement transducer, Biopac system, Santa Barbara, USA)가 연결된 탐지기 (Polygraph, Biopac system, Santa Barbara, USA)에 기록하였다. 조직 용액기의 이중벽 사이를 보온된 물로 순환시켜 욕조내의 tyrode를 37°C로 유지하고, 95%의 산소와 5%의 탄산가스의 혼합기체를 계속 공급하여 pH 7.4로 유지하였다.

2) 등장력 수축을 위한 이상적 장력 결정: 전립선 평활근 절편의 초기 장력을 2g 정도로 유지시킨 상태에서 약 100분 동안 tyrode를 갈아주어 안정상태로 유도하였고 이 상태에서 phenylephrine (PHE)을 투여하여 수축 정도를 관찰하였

다. 그 후 tyrode로 절편을 3회 이상 씻어 안정상태로 회복시키고 장력을 0.5g씩 올리고 내려 안정상태에서 같은 농도의 PHE에 의한 수축 정도를 다시 관찰하였다. 이러한 조작을 반복하여 최대 수축을 유도하고 수축 정도의 차이가 3회 연속으로 이전 수축의 10% 이내일 때를 이상적 장력으로 정하고 이완반응 실험을 시작하였다.

3) 전립선 평활근의 약물반응: 약물에 대한 반응 실험 전에 PHE (5x10⁻⁶M)의 투여로 수축반응을 확인하고, 약물에 반응하는 표본만을 실험에 사용하였고, 다음 실험 전까지 3회 이상 tyrode로 씻고 20분 이상 안정상태를 유지한 후 진행하였다. CO에 의한 전립선 조직 평활근 절편의 이완효과 관찰은 순도 99.9%의 CO 가스를 37°C에서 10분간 기포화시킨 생리식염수를 투여하여 관찰하였으며 동량의 CO가 포함되지 않은 생리식염수를 투여하여 비교하였다. 99.9%의 CO 가스를 상기 조건에서 식염수에 포화시킨 경우 농도는 3.6mM이었다. CO에 의한 절편의 이완이 sGC에 의한 것인지 확인하기 위해 특이적 억제제인 10⁻³M 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ)와 비특이적 억제제

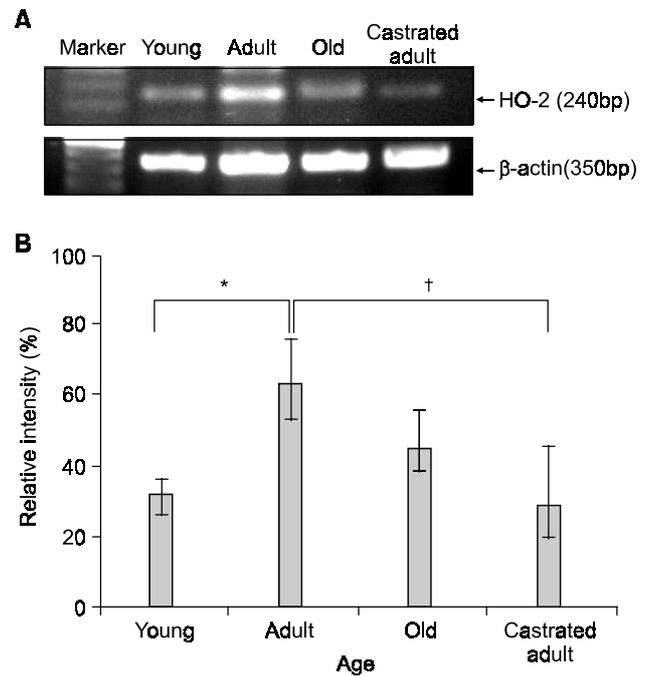


Fig. 1. RT-PCR analysis of heme oxygenase-2 (HO-2) levels in prostate tissue from young, adult, old and castrated adult rats. Experimental results for HO-2 (upper band) and β-actin (lower band) expression of each groups are in A. Quantitative analysis of HO-2 mRNA amplification normalized for β-actin levels in the same tissue samples from the dorsal lobes are in B. Values are the means±standard deviation. In B, significantly different compared to young rats (*, p<0.05) and, significantly different compared to adult rats (†, p<0.05).

인 10^{-3} M methylene blue로 진 처리하고, 5×10^{-6} M PHE로 수축시킨 절편에 CO를 투여하여 이완의 억제 정도를 관찰하였다. 또한 NO에 의한 이완작용과 비교하기 위해서 NO 공여물질인 10^{-1} M sodium nitroprusside (SNP)를 첨가하여 CO 실험과 동일한 방법으로 이완 억제 정도를 관찰하였다.

7. 통계처리

모든 결과는 $\text{means} \pm \text{standard deviation}$ 으로 표현하였다. 세 그룹 사이의 평균값 비교는 SPSS 통계 프로그램의 one-way ANOVA 방법을 이용하였고, 두 그룹 사이의 평균값 비교는 Student's *t*-test를 이용하였으며 유의수준은 $p < 0.05$

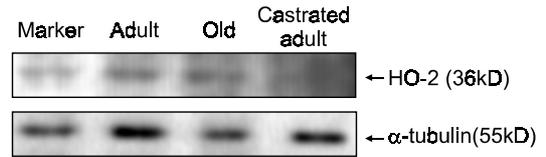


Fig. 2. Western blot analysis of home oxygenase-2 (HO-2) levels in prostate tissue of young, adult, old, castrated adult rats. Experimental results for HO-2 (upper band) and α -tubulin (lower band) expression in the dorsal lobes are shown. Although quantitative analysis of HO-2 protein normalized for α -tubulin levels in the same tissue samples from dorsal lobes are not shown in here, adult was significantly different from young rats ($p < 0.05$) and castrated adult was significantly different from adult rats ($p < 0.05$).

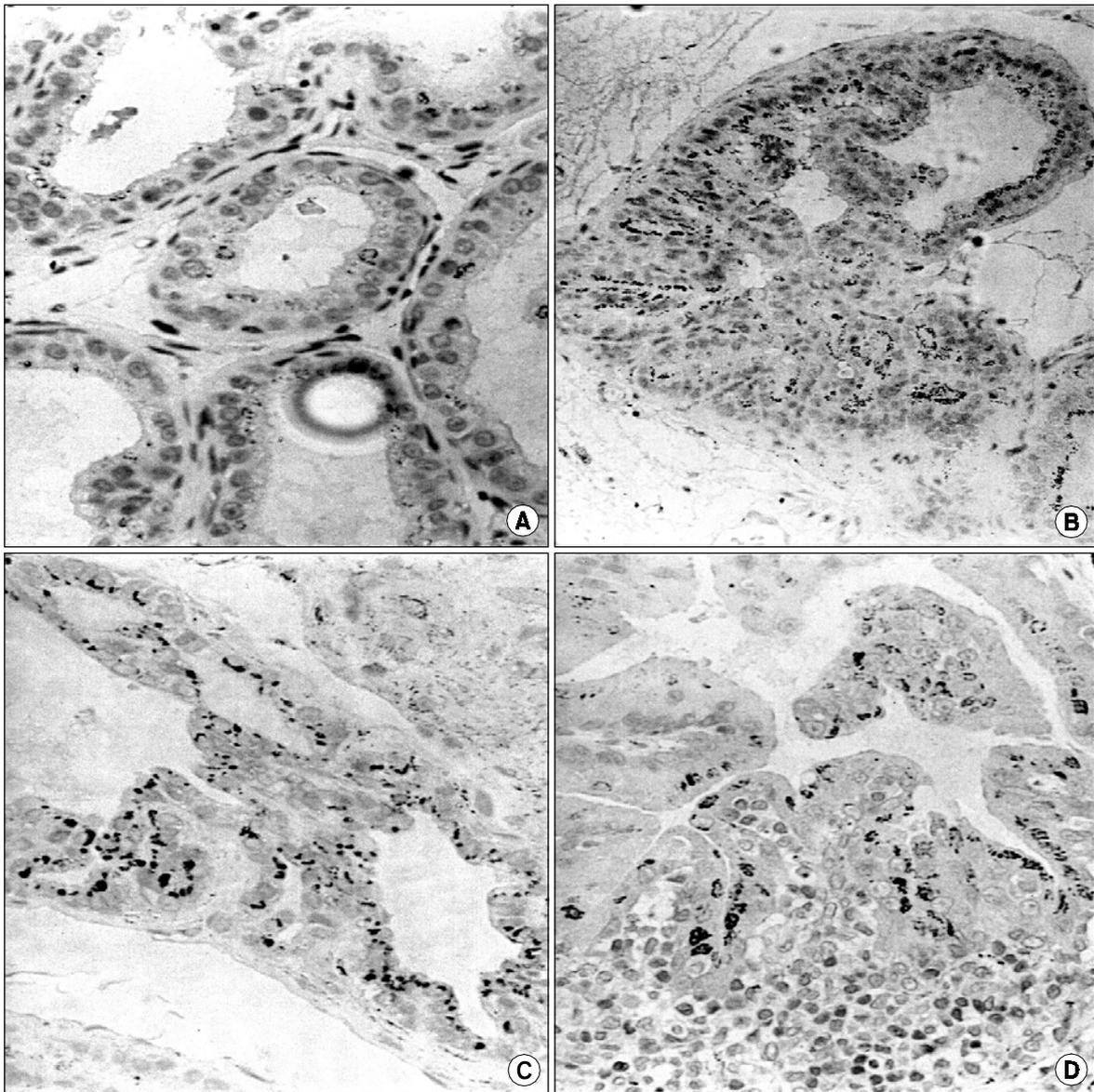


Fig. 3. Immunohistochemical expression and localization of heme oxygenase-2 (HO-2) in prostate tissues from young, adult, old and castrated adult rats. (A) young (x400), (B) adult (x200), (C) old (x200), (D) castrated adult rats (x200).

로 결정하였다.

결 과

1. Semiquantitative RT-PCR

각 연령 군과 고환절제군의 전립선에서 HO-2의 발현 강도를 측정하기 위하여 semiquantitative RT-PCR로 mRNA의 변화를 관찰한 결과, 모든 군에서 약 240-bp의 PCR product를 얻었고 각각의 PCR product는 연속적인 실험으로 동일한 결과임을 확인하였다 (Fig. 1A). 성년기군의 강도는 유년기군, 노년기군, 고환절제된 성년기군과 비교하여 각각 2.01배 ($p < 0.05$), 1.41배, 2.19배 ($p < 0.05$) 높은 것으로 관찰되었다 (Fig. 1B).

2. Western blotting

전립선에서 HO-2의 발현 강도를 재확인하기 위해서 western blotting으로 단백질 발현 변화를 관찰한 결과, 모든 군에서 36kD의 단백질 밴드를 확인하였다. 성년기군의 강도는 유년기군, 고환절제된 성년기군과 비교하여 통계적으로 유의하게 높았다 (Fig. 2).

3. Immunohistochemistry

백서 전립선에서 CO의 위치와 발현을 확인하기 위해 일차 항체인 rabbit anti-Heme-Oxygenase-2 polyclonal antibody로 반응시킨 결과, 혈관 주위에 부분적으로 heme oxidase 면역항체에 진하게 염색되는 신경다발이 관찰되었고, 혈관내

피에도 약하게 항체가 염색되는 것이 관찰되었다 (Fig. 3).

4. Relaxation effects

1) CO에 의한 이완 효과 및 연령에 따른 변화: NO의 이완효과와 비교하기 위해서 NO 공여제인 $10^{-1}M$ SNP를 투여하여 긴장도 변화를 관찰한 결과, 유년기군, 성년기군, 노년기군이 각각 12.1%, 23.7%, 22.7%로 유년기군에 비하여 성년기군과 노년기군이 NO에 의한 이완효과에 더 민감하였다 ($p < 0.05$, Fig. 4A). CO의 이완 효과를 알아보기 위해서 평활근 절편에 CO를 투여하여 긴장도 변화를 관찰한 결과, 유년기군, 성년기군, 노년기군이 각각 11.1%, 18.7%, 18.2%로 유년기군에 비하여 성년기군과 노년기군이 CO에 의한 이완효과에도 더 민감한 것으로 관찰되었고 ($p < 0.05$), CO와 NO의 이완효과 차이는 유년기, 성년기군, 노년기군이 각각 1.0%, 5.0%, 4.5%이었다 (Fig. 4A, B). sGC 억제제인 ODQ 전 처리 후, CO에 의한 이완효과는 유년기군, 성년기군, 노년기군이 각각 6.8%, 16.0%, 14.7%로 비처리군의 0.61배, 0.85배, 0.81배로 감소하였다 ($p < 0.05$). Methylene blue 전 처리 후, CO에 의한 이완효과는 유년기군, 성년기군, 노년기군이 각각 6.5%, 15.6%, 14.3%로 비처리군의 0.59배, 0.84배, 0.79배로 감소하였다 ($p < 0.05$, Fig. 4B).

2) 거세가 CO의 이완 작용에 미치는 영향: CO 가스를 투여하여 거세된 성년기군의 전립선 평활근의 긴장도 변화를 관찰한 결과, CO에 의한 이완효과는 12.5%로 성년기군의 0.65배 낮았다 ($p < 0.05$, Fig. 5A). 또한 ODQ와 methylene blue 전 처리 후, 거세된 성년기군의 이완효과는 각각 4.6%,

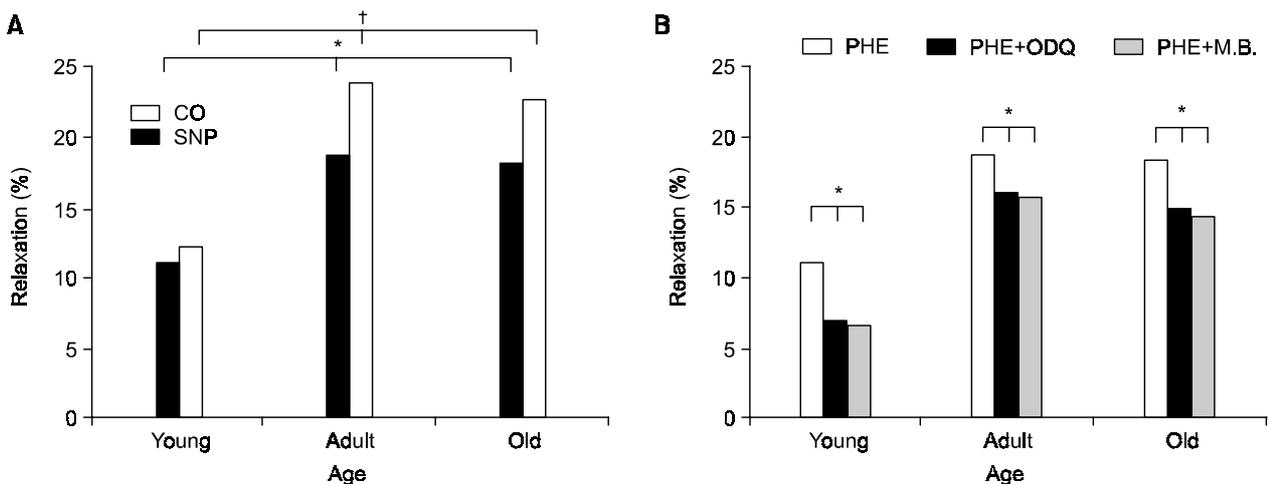


Fig. 4. Relaxation effect analysis by addition of carbon monoxide (CO) in prostate tissue from young, adult and old rats. Relaxation result of CO and sodium nitroprusside (SNP) was in A and the result of carbon monoxide after inhibition of soluble guanylate cyclase (sGC) by treatment of 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) and methylene blue was shown in B. Values are the means±standard deviation. In A, significantly different compared to young rats in each CO and SNP (*, †, $p < 0.05$). In B, significantly different compared to control treated by only phenylephrine (PHE) in each age group (*, $p < 0.05$).

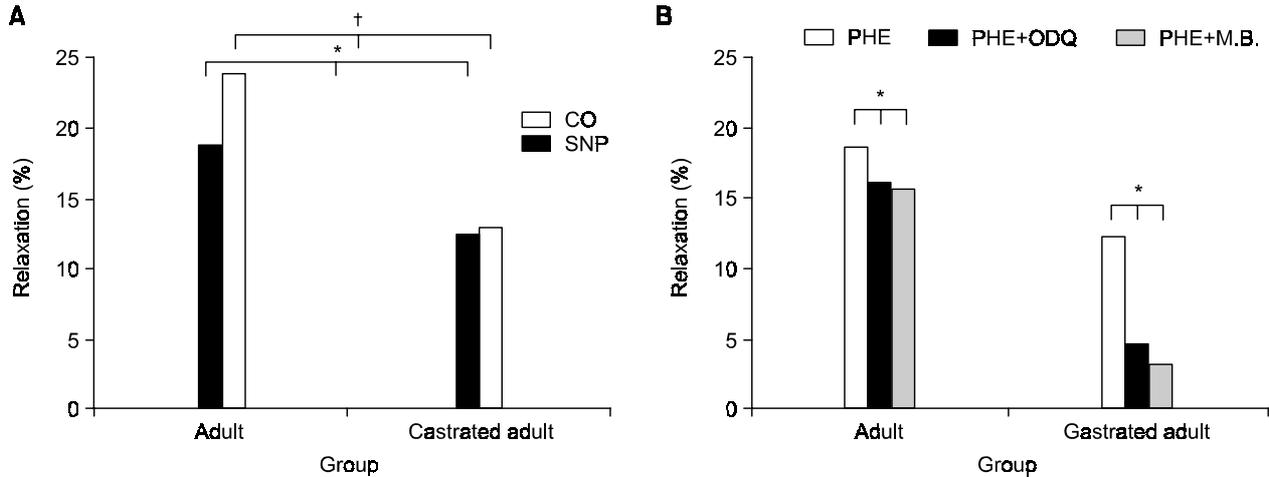


Fig. 5. Relaxation effect analysis by addition of carbon monoxide (CO) in prostate tissue from adult and castrated adult rats. Relaxation result of CO and sodium nitroprusside (SNP) was in A and the result of carbon monoxide after inhibition of soluble guanylate cyclase (sGC) by treatment of 1H-[1,2,4]oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) and methylene blue was shown in B. Values are the means± standard deviation. In A, significantly different compared to adult rats in each CO and SNP group (*, †, p<0.05). In B, Significantly different compared to control treated only phenylephrine (PHE) in each adult and castrated adult (*, p<0.05).

3.1%로 비처리군의 0.37배, 0.25배로 감소하여 (p<0.05), 비처리군과 비교하여 큰 폭의 이완 효과 감소가 보였다 (Fig. 5B).

고 찰

기존의 인체¹⁴와 고양이¹⁵ 전립선 조직을 이용한 면역염색 실험결과와 유사하게 백서의 전립선 평활근에서도 HO-2가 신경섬유, 특히 신경 줄기를 따라 분포하고 있었다. HO-1이 서로 다른 신경세포구조에서 발견된 것과는 달리 HO-2-IR은 NOS-IR 신경과 잘 반응하는 NADPH-d 신경구조에 양성반응을 보여 NOS와 HO-2가 같은 신경 세포내에서 발견되어¹⁴ central nervous system (CNS)¹⁶와 혈관¹⁴에서 보여주는 것과 마찬가지로 전립선에서도 NO와 CO의 상호교류 가능성이 있을 것으로 생각된다.

현재까지 CO의 이완작용 대한 연구는 NOS 활성화로 NO의 조절자 역할, sGC를 활성화시켜 cGMP의 수준 증가, cGMP와 관련 없이 새로운 단백질을 표적으로 calcium-activated potassium channels (Kca)를 활성화¹⁷ 등이 제시되고 있으나, 아직까지 확실하게 정립된 이론은 없다. 본 연구에서는 sGC의 억제제 처리 후 CO에 의한 이완이 유의적으로 저하되어, 백서의 전립선 평활근 조직에서 CO의 이완작용도 NO와 마찬가지로 sGC 매개로 한 작용일 것으로 추정된다. 또한 전립선 평활근 조직의 CO에 의한 이완율이 NO보다 4.5% 낮거나 유사한 수준으로 관찰되어 조직 이완 효과는 CO보다 NO에 의해 더 민감하게 작용하는 것으로 볼 수 있다.

토끼의 전립선에서¹⁵ 노년기가 유년기보다 nitrinegic 신경 지배와 전기자극에 의한 이완효과가 낮고, 연령 증가와 함께 NO 생산과 평활근의 이완효과도 감소된다. 본 실험에서는 HO-2의 발현강도와 CO의 이완효과가 동시에 성년기에 가장 큰 것으로 관찰되어, 백서의 연령에 따른 전립선 평활근의 이완효과 변화는 부분적으로 CO 생산 변화에 의한 영향이 있을 것으로 생각된다. 또한 HO-2 발현강도와 유사하게 성년기에 현저히 낮은 이완효과가 관찰되어, 안드로겐 결핍으로 인하여 CO의 생산 수준이 감소되어 CO에 의한 이완효과 저하가 발생하는 것으로 판단된다.

저자들의 연구결과 HO-2의 m-RNA와 단백질 발현강도는 유년기군보다 성년기군의 강도가 더 높았고 노년기군은 성년기군보다 낮았다. 또한 고환이 절제된 성년기군은 성년기군과 비교하여 매우 낮은 발현강도를 보여 백서의 전립선 평활근에서 CO의 분포는 성년기에 가장 높았다. 백서의 전립선을 대상으로 한 연구에서 거세 후 급격한 혈관 수축과 NOS 및 cGMP 수준의 감소 현상이 동시에 발생한다.⁹ 본 연구에서도 거세 후 CO를 생산하는 HO-2의 급속한 감소 현상이 동반되는 것으로 미루어, 거세로 인한 조직 퇴화 및 혈관 수축이 NOS 및 CO의 생산 감소 때문일 것으로 추정된다. 그러나 백서의 전립선상 내피세포에 안드로겐 수용체의 존재여부가 불확실하기 때문에 고환절제로 인한 혈관수축 반응이 안드로겐 때문인지 분명하지 않다.⁹ 따라서 전립선상 내피세포의 안드로겐 수용체 존재여부와 전립선 혈관계에 거세가 미치는 효과에 대한 관련성은 안드로겐 수용체를 갖는 세포들(상피세포, 평활근세포, 섬유세포)에

서 합성, 분비되는 vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor- β (TGF- β) 등의 성장인자들에 대한 연구가 필요하다.

결 론

백서 전립선 조직에서 CO는 평활근의 이완에 관여하며, HO-2의 발현 강도는 성인기에 가장 높고 이로 인해 이 시기에 CO에 의한 이완효과가 가장 큰 것으로 추정된다. 또한 안드로겐 결핍은 CO에 의한 이완효과를 둔화시키는 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron* 1992;8:3-11
2. Toker JF, Brave SR, Charalambous L, Hobbs AJ, Gibson A. L-NG-nitro arginine inhibits non-adrenergic, non-cholinergic relaxations of guinea-pig isolated tracheal smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1990;100:663-4
3. Andersson KE, Garcia Pascual A, Persson K, Forman A, Tottrup A. Electrically-induced, nerve-mediated relaxation of rabbit urethra involves nitric oxide. *J Urol* 1992;147:253-9
4. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 1992;326:90-4
5. Burnett AL, Maguire MP, Chamness SL, Ricker DD, Takeda M, Lepor H, et al. Characterization and localization of nitric oxide synthase in the human prostate. *Urology* 1995;45:435-9
6. Bloch W, Klotz T, Loch C, Schmidt G, Engelmann U, Addicks K. Distribution of nitric oxide synthase implies a regulation of circulation, smooth muscle tone, and secretory function in the human prostate by nitric oxide. *Prostate* 1997;33:1-8
7. Crone JK, Burnett AL, Chamness SL, Strandberg JD, Chang TS. Neuronal nitric oxide synthase in the canine prostate: aging, sex steroid and pathology correlations. *J Androl* 1998; 19:358-64
8. Aikawa K, Yokota T, Okamura H, Yamaguchi O. Endogenous nitric oxide-mediated relaxation and nitrinergic innervation in the rabbit prostate: the changes with aging. *Prostate* 2001; 48:40-6
9. Hayek OR, Shabsigh A, Kaplan SA, Kiss AJ, Chen MW, Burchardt T, et al. Castration induces acute vasoconstriction of blood vessels in the rat prostate concomitant with a reduction of prostatic nitric oxide synthase activity. *J Urol* 1999; 162:1527-31
10. Maines MD. The heme oxygenase system: A regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37:517-54
11. Trakshel GM, Kutty RK, Maines MD. Purification and characterization of the major constitutive form of testicular heme oxygenase. the noninducible isoform. *J Biol Chem* 1986;261: 11131-7
12. Verma A, Hirsch DJ, Glatt CE, Ronnett GV, Snyder SH. Carbon monoxide: a putative neural messenger. *Science* 1993; 259:381-4
13. Zakhary R, Gaine SP, Dienrman JL, Ruat M, Flavahan NA, Snyder SH. Heme oxygenase-2: endothelial and neuronal localization and role in endothelium-dependent relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:795-8
14. Hedlund P, Ekstrom P, Larsson B, Alm P, Andersson KE. Heme oxygenase and NO-synthase in the human prostate: relation to adrenergic, cholinergic and peptide-containing nerves. *J Auton Nerv Syst* 1997;63:115-26
15. Ny L, Alm P, Ekstrom P, Larsson B, Grundemar L, Andersson KE. Localization and activity of haeme oxygenase and functional effects of carbon monoxide in the feline lower oesophageal sphincter. *Br J Pharmacol* 1996;118:392-9
16. Maines MD, Mark JA, Ewing JF. Heme oxygenase, a likely regulator of cGMP production in the brain: induction in vivo of HO-1 compensates for depression in NO synthase activity. *Mol Cell Neurosci* 1993;4:389-97
17. Cary SP, Marletta MA. The case of CO signaling: Why the jury is still out. *J Clin Invest* 2001;107:1071-3