

*Estradiol*로 유도된 백서
전립선염에 미치는 *oligomerized*
*polyphenol*의 예방적 효과

연세대학교 대학원

의과학과

이 은 진

*Estradiol*로 유도된 백서
전립선염에 미치는 *oligomerized*
*polyphenol*의 예방적 효과

지도교수 홍성준

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2007년 6월 일

연세대학교 대학원

의과학과

이은진

이은진의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 홍 성 준 (인)

심사위원 최 영 득 (인)

심사위원 조 남 훈 (인)

연세대학교 대학원

2007년 6월 일

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 도움을 주신 많은 분들께 진심으로 감사드립니다.

언제나 아낌없는 격려와 용기를 주신 홍성준 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 부족한 논문을 지도해주신 최영득 교수님, 조남훈 교수님께도 진심으로 감사드립니다. 풍부한 임상적인 조언들로 복잡했던 고민을 쉽게 해결 해 주신 조강수 선생님, 김선일 선생님께 감사드립니다.

친 언니처럼 언제나 든든한 힘이 되어 준 오혜영 선생님, 실험과정 중 부딪히는 문제들을 슬기롭게 해결하는데 큰 도움을 주신 김매화 선생님, 지금은 옆에 없지만 석사과정동안 활력소가 되어준 수현이, 김민정 선생님, 알게 된지는 얼마 안됐지만 늘 곁에서 기쁨이 되어준 윤소정 선생님께도 진심으로 감사드립니다. 긴 학위기간에 동반자가 되어준 친구, 지희에게 특별히 고마움을 전합니다. 멀리 프랑스에서 응원을 아끼지 않는 소중한 친구 경민이, 힘들 때마다 명쾌한 해답을 준 다희, 민영이, 순자, 지영이, 소소한 일에 쉽게 지쳐 짜증낼 때마다 항상 내편이 되어준 혜영이, 효진이. 모두 너무나 고마워. 지친 삶에 활력소가 되어준 진석이, 혁진이에게 고마움을 전합니다.

마지막으로 사랑하는 부모님과 하나뿐인 오빠와 새언니, 이수진 마리안나 수녀님과 이 기쁨을 나누고 싶습니다. 감사합니다.

저자 씬.

차 례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	7
1. 실험동물 및 실험군	7
2. 조직 준비 및 보관	8
3. Hematoxylin-Eosin 염색	8
4. ELISA 기법을 이용한 산화성 손상 인자 측정	8
가. Superoxide dismutase (SOD)	8
나. Glutathione peroxidase (GPx)	9
5. ELISA 기법을 이용한 TNF-alpha의 발현 측정	9
6. Western blotting	10
7. 자료분석	10
III. 결과	12
1. 일반적인 특징	12
2. 병리조직학적 소견	13
3. 산화성 손상 인자 활성화도 변화	15
가. Superoxide dismutase (SOD)	15
나. Glutathion peroxidase (GPx)	15
4. TNF-alpha의 발현 변화	18
5. IκBα의 활성화 변화	19
IV. 고찰	21

V. 결론	25
참고문헌	26
영문요약	31

그림 차례

그림 1. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 조직 변화	14
그림 2. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 SOD 활성도 변화	16
그림 3. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 GPx 활성도 변화	17
그림 4. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 혈액 내 TNF- α 발현 양상.....	18
그림 5. 비세균성 전립선염 유발 및 올리고놀 투여에 의한 I κ B α 인산화 변화	20

표 차례

표 1. 실험군 분류 세부 구조	7
표 2. 실험동물의 체중 변화 및 조직 무게 변화	12

국문 요약

*Estradiol*로 유도된 백서 전립선염에 미치는 *oligomerized polyphenol*의 예방적 효과

전립선염은 50세 이하 남성에서 가장 흔한 비뇨기질환 중의 하나이다. 특히 비세균성 전립선염은 전립선염의 90%를 차지하지만, 현재까지 명확한 유발기전이 밝혀지지 않아서 항생제, 항염제, 알파차단제 및 대증요법에 의존하고 있는 실정이다.

염증 유발로 누적된 많은 양의 reactive oxygen species (ROS)는 세포 내 산화 항상성을 깨뜨려 세포를 산화시키고 조직의 회복을 방해한다. Polyphenol (폴리페놀)은 대표적인 항산화제로 다양한 항산화 효소의 활성도를 증가시켜 ROS를 억제하고, 염증을 완화시키는 것으로 알려져 있다. Oligonol (올리고놀)은 폴리페놀을 올리고중합화한 것으로 분자량이 일반 폴리페놀보다 적어 생체 흡수력이 더 높다.

이에, 본 연구는 비세균성 전립선염의 대표적인 동물 모델을 이용하여 올리고놀의 투여에 의한 항산화 효과 및 전립선염 발생 억제를 확인하였다. 비세균성 전립선염의 발생을 위하여 12주령 된 Wistar계 수컷 흰쥐에 17β -estradiol (E2)를 0.25mg/kg, 4주 동안 피하주사 하였으며, 조직의 손실을 줄이기 위해 E2투여 후 15일째부터 2주 동안 dihydrotestosterone (DHT)를 E2와 동일한 용량, 동일한 방법으로 함께 투여하였다. 올리고놀은 음용수에 녹여 60mg/kg을 실험 시작일부터 4주 동안 경구 투여하였다. 모든 실험에는 전립선 외측엽 조직을 이용하였으며, 혈

액은 희생 시 심장채혈 하였다. 전립선염 유발 및 올리고놀의 섭취에 따른 조직학적인 변화는 hematoxylin-eosin 염색을 이용하여 확인하였다. 항산화 효과는 ELISA를 이용하여, 대표적인 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)와 glutathione peroxidase (GPx)의 활성도로 확인하였고, 염증성 cytokine의 하나인 TNF- α 의 발현은 ELISA로 측정하였다. 대표적인 염증 관련 단백질인 NF- κ B의 활성화는 I κ B α 의 인산화를 확인하는 방법으로 western blotting 하였다.

결과로 E2와 DHT 처리 후 전립선염증이 전례에서 유발되었음이 확인되었고, 올리고놀 병용투여 시 염증의 감소현상이 조직학적으로 확인되었다. 전립선 외측엽 내 SOD활성도는 올리고놀 병용투여 시 활성도가 증가되는 양상을 보였으나, 유의성은 없었고, GPx 활성도는 올리고놀로 인하여 의미 있게 증가하였다. 전립선염의 유발로 유의적으로 증가된 혈액 내 TNF- α 는 올리고놀에 의해서 감소하는 추세를 보였으나, 유의성은 없었다. pI κ B α 의 발현은 올리고놀 투여에 의해서 의미 있게 감소되었다.

본 연구에서는 E2와 DHT 투여로 발생된 비세균성 전립선염이 올리고놀의 섭취에 따라 완화됨을 확인하였고, 이는 항산화 효소의 활성도 증가와 NF- κ B의 활성도 감소에 의해 조절됨 제시하였다. 따라서 올리고놀은 비세균성 전립선염 환자의 예방 및 치료 보조제로써 효과적인 역할을 할 것으로 기대된다.

핵심되는 말: 비세균성 전립선염, 에스트로젠, 산화성 손상, 폴리페놀, 올리고놀

*Estradiol*로 유도된 백서 전립선염에 미치는 *oligomerized polyphenol*의 예방적 효과

<지도교수 홍 성 준>

연세대학교 대학원 의과학과

이 은 진

I. 서론

전립선염은 50세 이전의 남성에게 가장 흔한 비뇨기계 질환이며, 성인 남성의 약 50%가 일생에 한번 이상 전립선염 증상으로 고통 받을 정도로 발생 빈도가 높다.¹ 그러나 진단 및 치료에 있어서 해결되지 않은 점이 많아서 환자와 의사 모두에게 고통을 주고 있다. 전립선염은 1998년 미국 National Institutes of Health/National Institutes of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIH/NIDDK) chronic prostatitis workshop 이후 카테고리 I. 급성 세균성 전립선염, II. 만성 세균성 전립선염, III. 만성 비세균성 전립선염/만성 골반통증 증후군, IIIa. 염증성 만성 골반 통증 증후군, IIIb. 비염증성 만성 골반 통증 증후군, IV. 무증상성 염증성 전립선염으로 새롭게 분류되었다. 그중 세균성 전립선염은 전체 전립선염의 약 4-5%만을 차지하며 원인균 검출을 통한 치료가 가능하지만, 90%이상을 차지하는 비세균성 전립선염은 배양검사에서 원인균이 검출되지 않고, 발병 원인이 아직 불분명하여 치료에 어려움을 갖는다. 특히 만성화되면 완치가 어렵고, 장기간 반복되는 증상 때문에 환자에게 정신신경증을 동반시켜, 환자의 삶의 질을 떨어뜨린다.

Polyphenol (폴리페놀)은 식물의 2차 대사산물로 대표적인 항산화물질로 알려져 있다. 폴리페놀은 hydroxyl group (-OH)의 이용성을 기

본으로 하여 다양한 항산화 효소의 활성도를 증가시켜 염증의 발생을 억제시키는 것으로 보고 되고 있으며, 폴리페놀의 섭취와 건강과의 연구는 과거 10년 동안 꾸준히 발전해 왔다. 녹차에 들어 있는 catechin, 커피에 포함되어있는 chlorogenic acid, 포도의 resveratrol 등은 모두 폴리페놀화합물이다. 폴리페놀의 산화적 손상 조절 기작은 불분명하지만, 심혈관계 질환, 암등의 퇴행성질환 예방에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔으며,²⁻³ 최근 염증을 바탕으로 한 연구가 활발하다. IL-1 β 를 이용하여 A549세포에 염증을 유도 한 후 녹차의 폴리페놀을 첨가하였을 때 IL-8이 효과적으로 감소하였으며,⁴ *Ruggiero P* 등⁵의 연구에 의하면 VacA toxin을 이용하여 *Helicobacter pylori* 감염시킨 위염마우스모델에 적포도주로부터 추출한 폴리페놀을 섭취시켰을 때, VacA를 억제하여 세균의 군집화가 감소하고, 위상피세포의 손상이 감소되었다. 이와 같이 폴리페놀과 염증과의 관계가 많은 기관에서 이루어지고 있으며, 전립선염에서도 1999년 카테고리 III.의 만성 비세균성 전립선염환자에게 4주 동안 하루 2회 500mg의 quercetin을 투여하였을 때 67%의 환자에서 25%이상의 증상개선 효과가 확인되었다.⁶

Oligonol (올리고놀, Amino Up Chemical Co. Sapporo, Japan)은 ‘oligomerized polyphenol’로 catechin-type 폴리페놀을 depolymerization하여 다량의 dimer, trimer, tetramer 등의 oligomer를 함유하도록 합성한 것으로, 일반적인 폴리페놀이 10%의 oligomer 함량을 가질 때 올리고놀은 50%를 갖게 된다. 이것은 고분자 폴리페놀이 생체활성 및 흡수에 어려웠던 문제를 극복할 수 있을 것으로 예상되는데, 최근 *Fujii H* 등⁷의 연구 결과를 보면, 올리고놀과 포도씨에서 추출한 폴리페놀을 동시에 섭취했을 때 단위 시간당 혈중 폴리페놀 농도가 올리고놀 섭취군에서 2배 이상 높ی 측정되었고, 지속력도 월등함이 증명되었다. 또한 올리고놀은 마우스실험을 통해서 kg당 5g의 LD50값이 측정되었는데, 이것은 60kg 체중의 사람이 한번에

300g을 섭취한 것과 동일한 양이므로, 그 안정성이 입증되었다고 보겠다.

실험동물 중 Wistar, Lewis, 그리고 Copenhagen rats의 대다수는 13주경에 전립선 외측엽에 비급성 전립선염이 발생하는데,⁸ 추가적인 17 β -estradiol (E2)의 투여는 노령의 Wistar rats에게서 100% 전립선염 발생을 유도시키며, 거세 또한 유사한 효과를 나타낸다.⁹⁻¹⁰ Naslund¹⁰의 보고에 따르면 Wistar rats 실험에서 자발적으로 발생된 비세균성 전립선염과 E2로 유도된 전립선염의 조직병리학적 양상이 동일하였다. 또한 많은 연구에서, 백서에서 자발적으로 발생하는 비세균성 전립선염의 조직병리학적 양상이 인간의 만성전립선염과 유사한 것으로 보고하였고,¹¹⁻¹² 전립선염의 치료 보조제 연구에 위의 실험동물모델을 사용한바 있어¹³ 인간의 만성 전립선염 치료에 대한 연구를 하는데 적합할 것으로 생각한다.

Nuclear factor kappa B (NF- κ B)는 모든 세포에서 발현되며, 염증의 개시와 종료에 모두 관여하여 전사가 이루어지면 200여개의 염증관련 유전자가 발현된다. I κ B는 NF- κ B발현의 억제자로서 염증반응 및 암세포 성장을 제한한다. 최근 연구결과에 따르면 녹차의 폴리페놀 성분인 epigallocatechin-3-gallate를 IL-1 beta 처리한 A549세포에 첨가하였을 때, NF- κ B 경로를 억제하는 것으로 밝혀졌고,¹⁴ resveratrol이 LPS 유도된 쥐의 폐의 염증을 완화시키고, U937세포와 A549세포에서도 NF- κ B와 activator protein-1 (AP-1)의 활성을 억제시키는 등의 폴리페놀의 항산화 효과와 연관성이 보고 되고 있다.¹⁵⁻¹⁷ 그러나 NF- κ B가 염증반응에 대표적인 transcriptional factor임에도 불구하고, 전립선을 대상으로 한 NF- κ B활성도와와의 관련성은 전립선암에서만 확인되었을 뿐 전립선염에서는 보고 된 내용이 없어, 전립선염발생 및 산화성 손상에 의한 NF- κ B 활성화 변화의 확인이 요구된다.

본 연구는 앞서 기술한 이론적 배경을 바탕으로 비세균성 전립선염

동물모델을 이용하여 올리고놀이 비세균성 전립선염의 발생에 미치는 영향과 예방적 효과를 알아보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

실험동물로는 생후 12주의 Wistar계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 총 3가지의 군으로 ①정상대조군, ②실험대조군, ③실험군으로 표 1과 같이 분류하였으며, ③실험군은 전립선염 유발과 동시에 올리고놀을 경구 투여하였다. 각 군당 10마리로 실험시작 후 4주에 희생시켜 심장 채혈과 조직적출을 하였다.

전립선염 유발은 백서에 0.25mg/kg의 17 β -estradiol (E2, sigma, Steinheim, Germany)을 peanut oil에 용해시켜 4주 동안 피하주사 하여 제작하였고, E2로 인한 전립선 조직의 감소를 최소화하기 위하여 E2투여 후 15일째부터 2주 동안 dihydrotestosterone (DHT, TCI, Tokyo, Japan)를 E2와 동일한 용량, 동일한 방법으로 함께 투여하였다. Oligonol (Amino Up Chemical Co., Sapporo, Japan)은 음용수에 녹여 60mg/kg을 실험 시작 일부터 4주 동안 경구 투여하였다.

Group	No.	Drug treatment	Inflammatory agent
①	10	-	-
②	10	-	E2 0.25mg/kg (s.c.) + DHT 0.25mg/kg (s.c.)
③	10	Oligonol 60mg/kg	E2 0.25mg/kg (s.c.) + DHT 0.25mg/kg (s.c.)

표 1. Structure of experimental groups. ①normal control group, ②experimental control group, ③experimental group

2. 조직 준비 및 보관

채취된 전립선 조직은 전립선 전엽과 전립선 외측엽으로 분류하여 좌우 각각 떼어낸 후 왼쪽은 동결시켜 보관하고, 오른쪽은 파라핀 블록을 만들었다. 에스트로겐의 투여는 전립선 외측엽에 선택적으로 전립선염을 일으키므로 모든 실험에는 전립선 외측엽을 이용하였다.

3. Hematoxylin-Eosin 염색

10% formalin에 고정하고, 파라핀에 내장시킨 후 5 μ m 두께로 박절하여 슬라이드 글라스에 고정시켜 염색하였다. 60 $^{\circ}$ C 드라이 오븐에서 5분간 파라핀을 녹인 후 100% Xylene에 5분씩 6번 두었다. 100% Xylene과 100% EtOH을 1:1로 혼합한 용액에 5분둔 후, Ethanol 100% \rightarrow 95% \rightarrow 85% \rightarrow 75%에서 각각 5분씩 탈수하였다. Tray를 흐르는 물에 10분간 헹구고, hematoxylin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)이 있는 jar에 슬라이드를 6분 두었다. 흐르는 물에 3회 정도 흔들여 헹구고, 0.5% HCl을 70% ethanol에 녹인 jar에 담구고 3-5회 정도 씻어준 후 흐르는 물에 10분 동안 두었다. 3차 증류수에 1% 농도로 용해한 EOSIN Y (Sigma, Steinheim, Germany)에 2분간 염색시키고, Ethanol 75% \rightarrow 85% \rightarrow 95% \rightarrow 100% \rightarrow Ethanol 50%+ Xylene 50%에 2회씩 담구고, Xylene 100%에 둔 후 Mounting하였다. 슬라이드는 광학현미경을 검경하여 병리조직학적 변화를 관찰하였다.

4. ELISA 기법을 이용한 산화성 손상 인자 측정

가. Superoxide dismutase (SOD)

혈액은 3000rpm, 10min, 4 $^{\circ}$ C에서 원심분리하여 상층액인 혈청을 실험에 이용하였으며, 전립선 외측엽은 PBS에 2회 씻어주고, sucrose buffer (0.25M sucrose, 10mM Tris, 1mM EDTA, pH 7.4)속에서 0 $^{\circ}$ C를 유지하면서, homogenizer를 이용하여 균질화 시킨 후, 60W에서 10분 간격으로 2회 sonication 하였다. 분쇄된 조직은 10,000g, 15min,

4°C에서 원심분리한 후 상층액을 새로운 튜브에 옮겨 담아 즉시 실험에 이용하였고, 잔여 혈청은 -80°C 냉동고에 보관하여 반복실험에 이용하였다. 실험에 이용하였다. 준비된 검체의 SOD활성도는 SOD Assay Kit-WST (Dojindo, Maryland, USA)를 이용하여 측정하였으며, 450nm에서 spectrophotometer를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

나. Glutathione peroxidase (GPx)

EDTA 처리된 튜브에 모아진 혈액은 1,000 x g, 10min, 4°C에서 원심분리한 후 상층액인 혈장을 실험에 이용하였다. 전립선 외측엽은 PBS에 2회 씻어주고, lysis buffer (50mM Tris-HCl, pH7.5, 5mM EDTA, and 1mM DTT)속에서 0°C를 유지하면서, homogenizer를 이용하여 균질화 시킨 후 60W에서 10분 간격으로 2회 sonication 하였다. 분쇄된 조직은 10,000 x g, 15min, 4°C에서 원심 분리한 상층액을 새로운 튜브에 옮겨 담아 즉시 실험에 이용하였고, 잔여 혈장은 -80°C 냉동고에 보관하여 반복실험에 이용하였다. 검체 내의 GPx활성도는 Glutathione Peroxide Assay Kit (Cayman chemical, Michigan, USA)를 이용하여 340nm에서 spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

5. ELISA 기법을 이용한 TNF-alpha의 발현 측정

희생 시 모든 실험동물의 심장에서 채혈하여 3000rpm, 10min, 4°C에서 원심분리한 상층액인 혈청을 실험에 이용하였으며, TNF-alpha immunoassay (PEPROTECH, Rocky Hill, New Jersey, USA)를 실시하였다. PBS에 희석한 capture Ab를 ELISA microplate (Nunc, Roskilde, Denmark)에 실온에서 12시간동안 부착시킨 후 용액을 제거하고, 300µl의 wash bufer (0.05% Tween-20 in PBS)로 4회 세척한다. 300µl의 blocking buffer (1% BSA in PBS)를 넣고 실온에서 1시간 둔 후 동일한 방법으로 세척한다. 준비된 혈청을 검체 당 3개의

well에 넣고 실온에서 2시간 둔다. 4회 세척하고, detection Ab를 0.5μg/ml의 농도로 100μl씩 well에 넣은 후 2시간 incubation한다. 4회 세척 후 avidin peroxidase를 well당 100μl씩 넣고 실온에서 30분 둔 후 마지막으로 4회 세척 후 ABTS liquid substrate (Sigma, Steinheim, Germany)를 100μl 넣고, 색변화를 확인한 뒤 spectrophotometer를 사용하여 450nm에서 5분 간격으로 30분 동안 O.D.값을 측정한다.

6. Western blotting

전립선 외측엽은 PBS로 두 번 씻은 후 homogenizer를 이용하여 얼음 속에서 균질화 하였다. Protein extract buffer (iNtRON Biotechnology, Seongnam-Si, Korea)를 넣고, -20℃에서 20분간 incubation 시킨 후 13,000rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 모아 새로운 tube에 모은 뒤 단백질 농도를 측정하였다. 단백질 농도는 Dc protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA)를 사용하여 Lowery 방법으로 측정하였다. 정량된 50μg의 단백질을 10% SDS-PAGE gel 상에서 분리한 후, 이를 nitrocellulose membrane (Amersham Bioscience, Bunkinghamshire, England)으로 이동시켰다. 5% 탈지분유에 membrane을 침전시켜 4℃에서 24시간동안 blocking하고, IκBa (1:1000), pIκBa (1:1000), β-actin (1:1000) 항체와 4℃에서 24시간동안 반응시켰다. 상온에서 HRP-conjugated 이차 항체와 1시간 동안 반응시키고, ECL chemiluminescence system (Amersham Bioscience, Bunkinghamshire, UK)에 1분 동안 반응시킨 후 hyperfilm (Amersham Bioscience, Bunkinghamshire, UK)에 1분 동안 노출하여 단백질 발현을 측정하였다.

7. 자료 분석

실험 결과는 SPSS 통계분석프로그램 (SPSS for Windows, version 11.0)을 이용하여 통계 분석하였다. 변수에 대해 평균과 표준편차를

산출하였고, 대조군과 실험군 사이의 지표 변화를 Mann-Whitney U test를 이용하여 유의성을 검증하였고, 유의 수준은 $p < 0.05$ 로 지정하였다. 모든 수치는 ‘평균±표준편차’로 나타내었다.

Ⅲ. 결과

1. 일반적인 특징

실험 모델 제작 과정 중 매주 1회씩 동물의 체중을 측정하였다. 정상대조군과 비교하였을 때 E2투여로 인하여 백서의 체중이 전반적으로 감소하였으며, 전립선 조직의 크기 및 무게도 전립선염 유발로 인하여 감소하였다. 올리고놀 병용 투여로 인한 체중의 변화는 없었다.

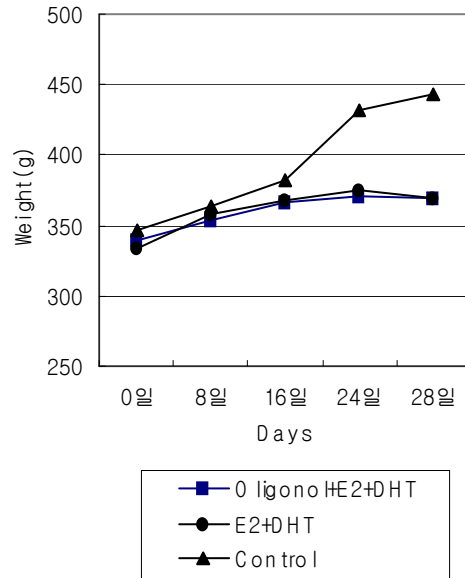


표 2. 실험동물의 체중변화 및 조직 무게의 변화. 전립선염 유발로 인하여 동물의 체중 및 조직의 무게가 감소하였으며, 올리고놀 투여는 체중감소 및 조직 무게의 감소에 영향을 미치지 않았다.

2. 병리조직학적 소견

E2 투여로 인하여 전립선염증이 유발되었음을 병리조직학적으로 확인하기 위하여 실험시작 후 4주에 조직을 적출하여 전립선 외측엽을 H&E 염색을 하였다. 그림 1에서 (A)의 정상대조군에서는 염증반응을 보인 경우가 없었으나, (B)의 E2+DHT를 투여한 실험대조군에서는 10마리 모두에서 간질에 심한 염증이 발생하였으며, 전립선 내강에 염증세포와 퇴화되어 탈락된 상피세포들이 관찰되었다. 염증세포는 중성호중구, 림프구, 대식세포 등이 관찰되었다. (C)의 올리고놀을 병용 투여한 실험군에서는 염증 세포의 침윤이 정상수준에 근접하게 관찰되었으며, 선 상피 및 간질이 전립선염 유발군과 비교하였을 때 개선되어 있음이 확인되었다.

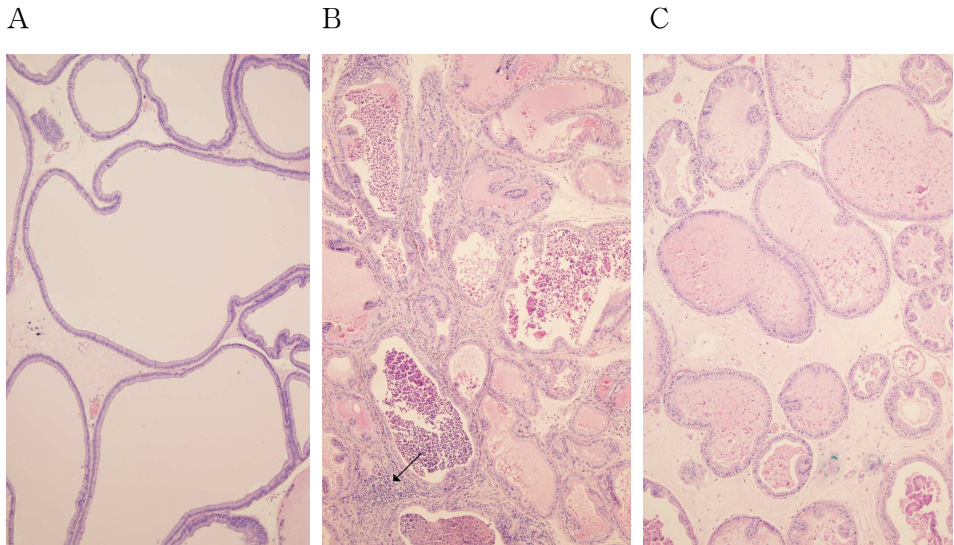


그림 1. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고뉴클레오타이드 투여에 따른 조직 변화. (A) Vehicle을 투여한 정상 대조군. (B) E2+DHT 투여한 실험대조군. (C) E2+DHT+올리고뉴클레오타이드 투여한 실험군. paraffin embedding tissue를 박절하여 H&E stain으로 확인하였다. (B)에서 화살표가 가리키는 바와 같이 E2로 인하여 염증이 발생하여 중성호중구, 림프구, 대식세포들이 관찰되었고, (C)의 결과 올리고뉴클레오타이드 투여로 염증양상의 조직학적 개선이 확인되었다. (x100)

3. 산화성 손상 인자 활성화도 변화

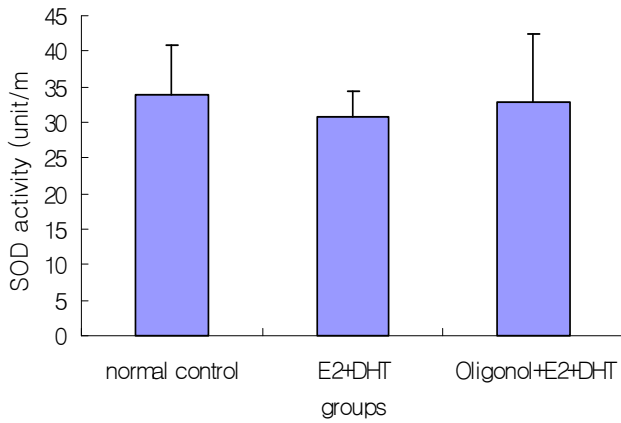
가. Superoxide dismutase (SOD)

SOD는 인간의 혈액 및 장기에 존재하는 생체 활성 효소로써, superoxide ($O_2^{\cdot-}$)를 hydroxyl peroxide (H_2O_2)로 전환시켜주어, 증가된 활성산소를 제거하는 역할을 한다. 본 연구에서는 실험동물의 혈청 내의 SOD 활성도를 측정하였는데, vehicle을 투여한 정상대조군에서는 33.9 ± 7.05 (unit/ml)이었고, 실험대조군에서 30.77 ± 3.7 로 약간 감소하였다. 실험군에서는 32.93 ± 9.45 로 올리고놀을 추가하지 않은 실험대조군에 비하여 다소 증가된 추세를 보였으나, 유의성은 없었다. 전립선 외측엽 내의 SOD활성도는 정상대조군에서 37.82 ± 1.98 이었고, 전립선염을 유발한 실험대조군에서는 31.59 ± 3.57 로 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.05$), 올리고놀을 병용 투여한 실험군에서는 37.01 ± 3.95 로 증가하였다. 비록 통계적 유의성은 없었지만, E2+DHT치리로 감소된 SOD 활성도가 증가되는 추세를 나타낸 점으로 미루어 볼 때, 올리고놀이 SOD 활성도에 영향을 미칠 것으로 예상된다. (그림 2.)

나. Glutathione peroxidase (GPx)

H_2O_2 를 물로 안정화시키는 효소인 GPx의 혈장 내 활성도는 정상대조군에서 13.58 ± 1.47 (nmol/min/ml)이었고, E2+DHT 투여한 실험대조군에서 6.37 ± 1.8 로 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.05$), 올리고놀을 추가한 실험군에서는 11.46 ± 1.8 로 다소 증가하였다. 전립선 외측엽 내의 GPx의 활성도는 정상대조군에서 358.94 ± 90.91 이였으며, 실험대조군에서는 173.19 ± 13.3 으로 유의적으로 감소하였고, 실험군에서는 210.12 ± 67.25 으로 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). (그림 3.)

A



B

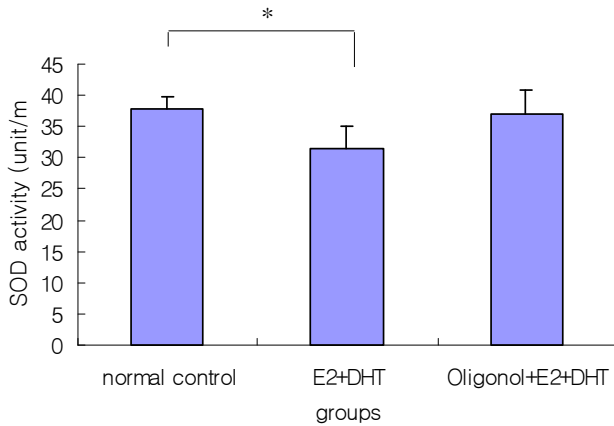
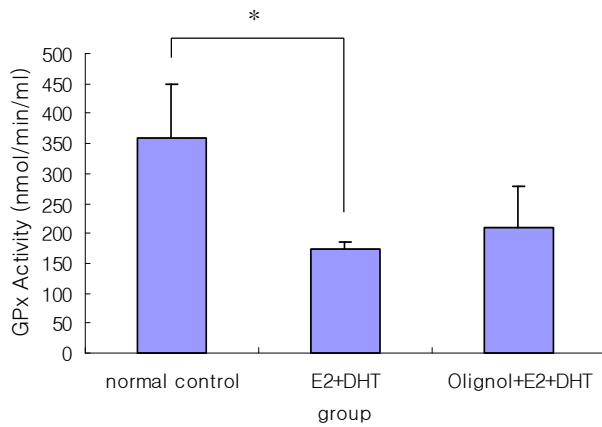


그림 2. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 SOD 활성도 변화. (A) 혈청 내 SOD 활성도, (B) 전립선 외측엽 내 SOD 활성도. SOD 활성도는 실험동물의 혈청과 전립선 조직을 검체로 하여 ELISA방법으로 측정하였다. 전립선염의 유발은 조직 내 SOD의 활성도를 감소시켰으나 ($*p<0.05$), 올리고놀의 병용투여는 SOD의 활성도에 영향을 미치지 않았다. 실험은 모든 군에서 3회 반복되었다.

A



B

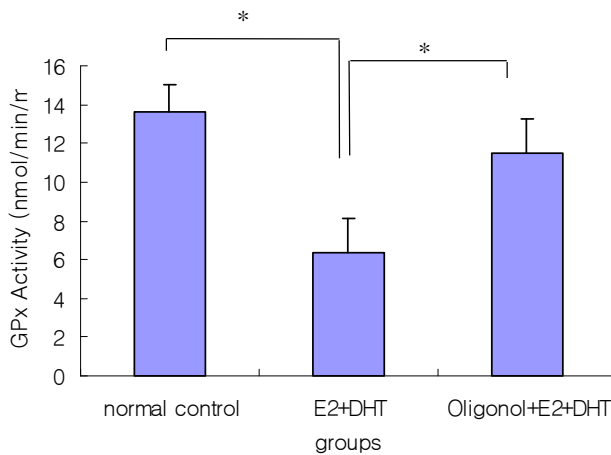


그림 3. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고놀 투여에 따른 GPx 활성도 변화. (A) 혈장 내 GPx 활성도 (B) 전립선 외측엽 내의 GPx 활성도. GPx 활성도는 실험동물의 혈장과 전립선 조직을 검체로 하여 ELISA 방법으로 측정하였다. 전립선염의 유발은 혈장과 조직 내 GPx의 활성도를 감소시켰으며, 올리고놀 병용투여는 조직 내의 GPx 활성도를 증가시켰다(* $p < 0.05$). 실험은 모든 군에서 3회 반복되었다.

4. TNF- α 의 발현 변화

염증 반응에 대표적인 사이토카인인 TNF- α 의 혈장 내 농도를 측정하였다. 정상 대조군에서 TNF- α 의 발현 수준은 6.5 ± 4.95 (pg/ml)로 낮았으며, E2+DHT를 투여한 군에서는 62.5 ± 10.61 으로 정상 대조군과 비교했을 때 그 수치가 9.6배 증가하였다 ($p < 0.05$). E2+DHT 투여와 동시에 올리고뉴클레오타이드를 투여한 군에서는 TNF- α 의 발현 수준이 41.25 ± 17.46 으로 E2와 DHT만 투여한 군에 비해 1.5배 감소하였으나, 실험동물 개체 사이의 편차가 상대적으로 커 통계적 유의성은 없었다. (그림 4.)

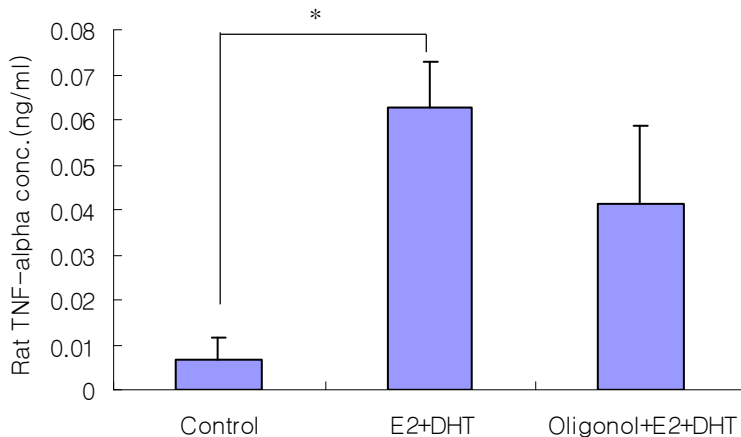


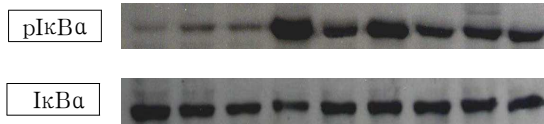
그림 4. 비세균성 전립선염 유발 쥐에서 올리고뉴클레오타이드 투여에 따른 혈액 내 TNF- α 발현 양상. 실험동물의 희생 시 심장에서 채혈한 혈액을 분리하여 얻은 혈장을 이용하여 ELISA를 실시하였다. E2+DHT를 투여한 실험대조군에서는 혈중 TNF- α 의 농도가 유의적으로 증가하였고 ($*p < 0.05$), 올리고뉴클레오타이드를 추가한 실험군에 의해서 감소되는 추세를 보였다.

5. I κ B α 의 활성화 변화

I κ B는 NF- κ B발현의 억제자로서 염증반응 및 암세포 성장을 제한하는데, IL-1이나 TNF- α 가 수용체에 결합하면, I κ B kinase (IKK)로 인한 I κ B의 인산화 및 ubiquitination이 일어나 I κ B가 분해 되어, NF- κ B가 작용하게 된다. 그림 5의 1번에서 3번 lane은 vehicle을 투여한 정상대조군이고, 4번에서 6번 lane은 실험대조군, 7번에서 9번 lane은 실험군이다. I κ B α 의 인산화를 정상대조군과 비교하였을 때, E2와 DHT를 투여한 실험대조군에서는 pI κ B α 의 발현이 증가되었고, 올리고놀을 병용 투여한 실험군은 상대적으로 pI κ B α 의 발현양이 적음이 나타났다. 그림 5에서 B와 같이 TINA를 통한 발현량을 정량화한 결과, E2와 DHT로 인한 전립선염의 발생이 NF- κ B와 관련성이 있음이 확인되었고, 염증 유발과 동시에 올리고놀을 추가한 군에서 그 활성이 유의하게 감소되었다. (그림 5.)

A

E2+ DHT	-	-	-	+	+	+	+	+
Oligonol	-	-	-	-	-	-	+	+



B

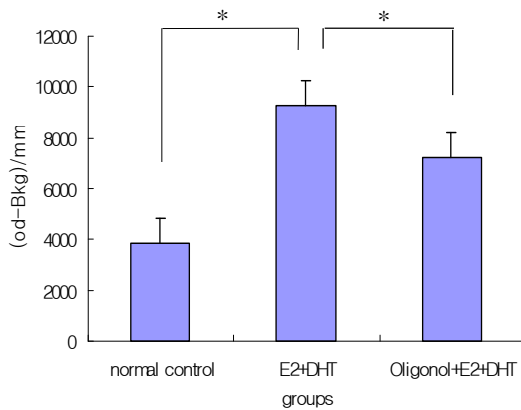


그림 5. 비세균성 전립선염 유발 및 올리고놀 투여에 의한 IkBa 인산화 변화. (A). Western blotting을 통한 IkBa 단백질 발현도 (B). 발현강도의 정량화 (TINA 2.0 program). 각 lane에 단백질 50ug을 로딩하였다. 1-3번째 lane은 정상대조군, 4-6번째 lane은 E2+DHT로 전립선염이 발생한 실험대조군이며, 7-9번째 lane은 전립선염 발생과 올리고놀의 투여를 동시에 실시한 실험군이다. (A)의 western blotting 결과를 정량화한 결과, 전립선염을 발생시킨 4-6번째 lane의 실험대조군의 pIkBa 발현량이 정상대조군에 비해 유의성 있게 증가하였고 (* $p < 0.05$), 7-9번째 lane에서는 실험대조군과 비교하여 발현량이 감소하였다 (* $p < 0.05$). od:Optical Density, Bkg:background.

IV. 고찰

비세균성 전립선염은 병리 및 임상적 소견이 세균성 전립선염과 유사하지만, 요로감염이 병발하지 않고 전립선액에서 많은 염증 증세를 보일 뿐 원인균은 각종 검사에서도 찾아볼 수 없는 것이 특징이다. 유발 시 완치가 어렵고 장기간 재발되는 증상 때문에 환자의 삶의 질을 저해하는 문제점을 갖는데, 이번 연구의 결과들은 이와 같이 치료에 많은 문제점을 갖는 비세균성 전립선염의 보조제로써 올리고놀의 사용을 제안할 수 있겠다.

본 연구에서는 60mg/kg을 올리고놀의 투여량으로 설정하였는데, 이는 생후 6개월 내에 자발적으로 안구에 염증이 발생하는 SAMP8 mouse를 이용하여 올리고놀의 항염 효과 판정한 연구에서 사용한 용량과 동일한 용량이었다.¹⁸

Estrogen에 의한 전립선염의 유도는 시상하부의 도파민분비 억제와 연관되어있는 것으로 알려져 있으며, 이는 pituitary gland로부터 prolactin의 생산과 분비를 증가시켜 전립선에 염증을 발생시키는 것으로 보고 되었다.¹⁹⁻²⁰ Wistar rats에서 거세를 하고, 염증이 발생할 시점까지 E2를 투여 했을 때에는 전립선 조직이 거의 사라져 그 결과를 판정하기에 어려움이 따른다. E2 투여 후 약 2주부터 전립선에 염증이 발생하지만, 본 연구에서는 성숙한 백서에 거세과정 없이 4주 동안 E2를 투여하여 전립선염증을 유발하였으며, 염증성 세포 대부분이 림프구, 대식세포로 관찰되어 염증이 만성화에 이른 것으로 사료된다. Androgen중 testosterone은 E2와 함께 투여했을 때, 조직의 위축을 막아주지만 염증 발생도 억제시킨다. 그러나 DHT는 E2 투여로 인한 조직의 염증은 유지시켜주고, 조직의 위축을 막아 주는 것으로 알려져 있다. 또한 E2 단독 투여군에 비하여 체중과 전립선조직을 유지시켜주는 것으로 보고되어,²¹ E2와 DHT를 투여하였으며 결과적으로 염증이 만성화에 이르기까지 생육이 가능하였다.

비세균성 전립선염의 병인론은 아직 밝혀지지 않았으나, 다양한 요인들이 발병 가능성을 갖는 것으로 보고되고 있다. 그중에는 *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, genital mycoplasmas, staphylococci, coryneforms, genital viruses,²² biofilm,²³ prostatic secretion의 stagnation, 자가면역질환, allergy, 성호르몬 이상, 그리고 심리적요인²⁴등이 있는데, 최근에는 산화성 스트레스와 전립선염과의 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 산화성 스트레스란 불안정한 분자인 reactive oxygen species (ROS)가 체내에 있는 산소화합물과 반응하여 세포와 조직에 염증을 일으키는 현상으로 이는 세포와 조직을 손상시켜 결국 암이나 심혈관계 질환을 일으킬 수 있다. 활성산소의 증가는 체내의 항상성을 깨뜨려 국소적인 염증을 가중시키기도 한다. SOD와 GPx는 산화손상을 방어하는 대표적인 효소로써 Oligonol이 ROS에 미치는 항산화 효과를 확인할 수 있는 지표이다. SOD는 superoxide($O_2^{\cdot-}$)를 hydroxyl peroxide (H_2O_2)로 전환시키며 GPx는 H_2O_2 를 물로 안정화시켜 체내 산화를 억제한다. 본 연구에서는 비세균성 전립선염 발생으로 SOD, GPx의 활성도가 유의하게 감소하는 것으로 확인하였으며, GPx의 경우 올리고놀의 투여로 인하여, 그 활성도가 조직 내에서 유의수준으로 증가되는 것이 나타났다. 이러한 결과를 통하여 올리고놀이 GPx의 활성도를 조절하여 H_2O_2 를 물로 안정화시키는 과정에 더 큰 영향을 미칠 것으로 예상된다. 전립선염과 산화성 스트레스의 연관관계를 연구한 논문들을 보면, 자발적으로 발생한 전립선염 백서에서 catalase의 활성이 감소하고 lipid peroxidation이 증가함이 보고되었고,²⁵ 만성 세균성 전립선염 환자에서도 혈중 항산화효소의 활성도가 낮음이 보고되었다.²⁶ 현재 ROS와 TAC (total antioxidant capacity)의 score를 계산하여 전립선염 및 불임의 가능성 예측이 시도되고 있다. 카테고리Ⅲ. 전립선염 환자의 정액 내 TAC 수치가 정상군에 비하여 의미 있게 낮았고, ROS에 로그값을 취하여 산출한 ROS-TAC score가 정상군과 비교하였을 때, 유

의적으로 낮게 확인되어 카테고리 III의 만성전립선염을 가진 환자의 항산화 보조제의 섭취가 염증 완화에 도움을 줄 것이라고 제안된 바 있다.²⁷ 또한 ROS-TAC score가 남성의 불임을 예측하는 인자로써의 가능성이 제시되었고, 그 중 varicocele (정삭정맥류)를 가진 전립선염 환자에서 ROS 수치가 가장 높게 확인되었다.²⁸ 전립선염을 대상으로 한 연구에서 ROS, TAC 자체를 측정 한 사례가 빈번하게 확인되나, SOD, GPx 등의 항산화 효소를 확인한 경우는 극히 드물다. 그 중 비세균성 전립선염을 대상으로 한 경우는 그 사례를 찾아보기가 어려워 본 연구 결과가 더 큰 의미를 갖는다고 보겠다.

폴리페놀은 최근에 가장 많은 관심을 받고 있는 항산화 물질로 항염, 항암, 심혈관계질환 완화 등의 연구에 활용되고 있다. 폴리페놀은 다양한 항산화 효소의 활성도를 증가시켜 염증의 발생을 억제시킨다. 분자량이 매우 큰 물질로 생체 내의 흡수성 및 활성이 높지 못하여, 본래의 기능을 발휘하지 못할 것으로 예상 되는데, 이것과 비교했을 때, 올리고놀은 과일에서 추출한 폴리페놀을 monomer, dimer, trimer 등으로 올리고머화 한 것으로, 폴리머로 이루어진 폴리페놀 보다 흡수능력 및 생체 내 활성이 더 높을 것으로 예상되며, 그 결과가 입증된 바 있다.¹⁸ 30mM의 high glucose투여로 유도된 세포 독성과 산화성 손상이 올리고놀의 처리로 인하여 감소되었고, 증가되었던 Cox2의 발현이 억제되었으며, NF- κ B의 핵 이동도가 감소하는 결과가 확인되었다.²⁹ 또한 beta-amyloid로 유도된 PC12세포 내 산화성 스트레스가 10 μ g/ml의 올리고놀의 처리 시 효과적으로 억제됨이 보고되었으며 이것은 NF- κ B의 활성화 저해를 통해서 이루어짐이 확인되었다.³⁰ 본 연구의 결과에서도 올리고놀의 투여가 전립선 외측엽에 염증을 효과적으로 감소시킴이 H&E 염색을 통해서 관찰되었는데, 병리조직학 결과로 전립선염이 발생된 실험대조군에서는 염증세포의 간질 내 침윤이 관찰되었고, 샘 내강으로 상피세포가 탈락되는 현상이 확인되었으나, 올리고놀을 병용투여한 실험군에서는 앞서 언급한 염증 지표들이 완

화되었음이 나타나, 올리고놀의 병용투여가 전립선염 발생을 억제하는 것으로 확인되었다. 현재까지 전립선염에서 올리고놀의 효과를 판정한 연구결과는 없으며, 본 연구가 비세균성 전립선 백서 모델을 이용하여 폴리페놀의 영향을 확인한 최초의 결과로써 의미가 있다고 생각한다.

TNF- α 의 증가는 NF- κ B의 활성화를 유도하여 염증반응을 지속시킨다. 본 연구 결과에서 전립선염이 발생한 동물의 혈중 TNF- α 의 수치가 유의적으로 증가하였다. 비록 올리고놀을 병용 투여한 군에서는 전반적으로 감소하는 추세를 보이고 통계적 유의 수준에는 못 미쳤지만, 그림 1의 조직병리학적 결과와 그림 5의 pIkBa 발현도 변화 결과를 통해 그 상관관계를 미루어 짐작 할 수 있겠다. A549세포에 100 μ M의 hydrogen peroxide와 10ng/ml의 TNF- α 처리는 NF- κ B의 DNA결합을 높여주는 것으로 나타났고,³¹ 폴리페놀의 일종인 resveratrol은 TNF로 유도된 NF- κ B의 활성을 억제하는 것으로 세포 수준에서 보고되었다.¹⁶ 전립선염에서도 E2와 DHT로 발생한 비세균성 전립선염 백서의 전립선내 TNF- α 가 RNA수준에서 증가됨이 확인되었다.³² 결론적으로, 올리고놀의 섭취는 비세균성 전립선염 백서의 항산화 효소 활성도를 증가시키고, 더불어 TNF- α 의 발현 감소를 통한 NF- κ B 활성화를 감소시켜 전립선염증 발생에 예방적 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

임상적으로 큰 중요성을 갖고 있음에도 불구하고, 발병기전의 불분명성으로 비세균성 전립선염의 연구가 활발하게 진행되고 있지 못하고 있다. 본 연구에서 제시된 결과들을 토대로 항산화 물질이 비세균성 전립선염의 발생 억제와 치료에 미치는 효과를 다각적으로 연구해 볼 필요가 있겠다.

V. 결론

백서를 이용한 비세균성 전립선염 모델에서 올리고놀의 투여는 항산화 효소의 활성을 강화시키고, NF- κ B의 활성화를 억제하면서 전립선염을 완화시켰다. 이것은 향후 임상에서 카테고리Ⅲ. 전립선염 환자의 치료에 보조적인 방법이 될 수 있을 것으로 생각하며, 인간을 대상으로 한 보다 폭넓은 연구가 지속되어야 하겠다.

참고문헌

1. Fowler JE Jr. Prostatitis. In: Gillenwater JA, Grayhack JT, Howard SS, Duckett JW, editors. Adult and pediatric urology. St. Louis: Mosby-Year Book, 1991;1395-1423
2. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:215S-217S
3. Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol.* 2006;72:1439-52
4. Kim IB, Kim DY, Lee SJ, Sun MJ, Lee MS, Li H, et al. Inhibition of IL-8 production by green tea polyphenols in human nasal fibroblasts and a549 epithelial cells. *Biol Pharm Bull.* 2006;29:1120-5
5. Ruggiero P, Tombola F, Rossi G, Pancotto L, auretti , Del Giudice G, Zoratti M. Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or VacA toxin administration in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2550-2
6. Shoskes DA, Zeitlin SI, Shahed A, Rajfer J. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. *Urology* 1999;54:960-3
- 7 Fujii H, Sun B, Nishioka H, Hirose A, Aruoma OI. Evaluation of

the safety and toxicity of the oligomerized polyphenol Oligonol. *Food Chem Toxicol.* 2007;45:378-87.

8. Robinette CL. Sex-hormone-induced inflammation and fibromuscular proliferation in the rat lateral prostate. *The Prostate* 1988;12:271-286

9. Seethalakshmi L, Bala RS, Malhotra RK, Austin-Ritchie T, Miller-Graziano C, Menon M, Lubet-Narod J. 17 beta-estradiol induced prostatitis in the rat is an autoimmune disease. *J Urol.* 1996;156:1838-42.

10. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS. The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. *J Urol.* 1988;140:1049-53

11. Lundgren R, Holmquist B, Hesselvik M, Muntzing J. Treatment of prostatitis in the rat. *The Prostate.* 1984;5:277-84

12. Muntzing J, Sufrin G, Murphy GP. Prostatitis in the rat. *Scand J Urol Nephrol.* 1979;13:17-22.

13. Kamijo T, Sato S, Kitamura T. Effect of cernitin pollen-extract on experimental nonbacterial prostatitis in rats. *Prostate.* 2001;49:122-31

14. Wheeler DS, Catravas JD, Odoms K, Denenberg A, Malhotra V, Wong HR. Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived

polyphenol, inhibits IL-1 beta-dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells. *J Nutr.* 2004;134:1039-44

15. Birrell MA, McCluskie K, Wong S, Donnelly LE, Barnes PJ, Belvisi MG. Resveratrol, an extract of red wine, inhibits lipopolysaccharide induced airway neutrophilia and inflammatory mediators through an NF-kappaB-independent mechanism. *FASEB J.* 2005;19:840-1

16. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol.* 2000;164:6509-19

17. Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE, Fenwick PS, Leung RH, Ito K, et al. Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2004;287:L774-83

18. Aruoma OI, Sun B, Fujii H, Neergheen VS, Bahorun T, Kang KS, et al. Low molecular proanthocyanidin dietary biofactor Oligonol: Its modulation of oxidative stress, bioefficacy, neuroprotection, food application and chemoprevention potentials. *Biofactors.* 2006;27:245-65

19. Shull JD, Gorski J. Regulation of prolactin gene transcription in

vivo: interactions between estrogen, pimoziide, and alpha-ergocryptine. *Mol Pharmacol.* 1990;37:215-21

20. Tangbanluekal L, Robinette CL. Prolactin mediates estradiol-induced inflammation in the lateral prostate of Wistar rats. *Endocrinology.* 199;132:2407-16

21. Wilson MJ, Woodson M, Wiehr C, Reddy A, Sinha AA. Matrix metalloproteinases in the pathogenesis of estradiol-induced nonbacterial prostatitis in the lateral prostate lobe of the Wistar rat. *Exp Mol Pathol.* 2004;77:7-17

22. Domingue GJ, Hellstrom WJ, Prostatitis. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:604-613

23. Arakawa S, Matsui T, Gohji K, Okada H, Kamidono S. Prostatitis--the Japanese viewpoint. *Int J Antimicrob Agents.* 1999;11:201-3

24. Donovan DA, Nicholas PK. Prostatitis: diagnosis and treatment in primary care. *Nurse Pract.* 1997;22:144-6, 149-56

25. Orsilles MA, Depiante-Depaoli M. Oxidative stress-related parameters in prostate of rats with experimental autoimmune prostatitis. *Prostate.* 1998;34:270-4

26. Lou JG, Dong J, Zheng YC, Zhang SM, Xiao WQ, Zhou JF. Increased oxidative stress and damage in patients with chronic

bacterial prostatitis. *Biomed Environ Sci.* 2006;19:481-6

27. Pasqualotto FF, Sharma RK, Potts JM, Nelson DR, Thomas AJ, Agarwal A. Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Urology.* 2000;55:881-5

28. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Agarwal A. The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod.* 1999;14:2801-7

29. Fujii H, Yokozawa T, Kim YA, Tohda C, Nonaka G. Protective effect of grape seed polyphenols against high glucose-induced oxidative stress. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2006;70:2104-11

30. Li MH, Jang JH, Sun B, Surh YJ. Protective effects of oligomers of grape seed polyphenols against beta-amyloid-induced oxidative cell death. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1030:317-29

31. Rahman I, Gilmour PS, Jimenez LA, MacNee W. Oxidative stress and TNF-alpha induce histone acetylation and NF-kappaB/AP-1 activation in alveolar epithelial cells: potential mechanism in gene transcription in lung inflammation. *Mol Cell Biochem.* 2002;234:239-48

32. Harris MT, Feldberg RS, Lau KM, Lazarus NH, Cochrane DE. Expression of proinflammatory genes during estrogen-induced inflammation of the rat prostate. *Prostate.* 2000;44:19-25

Abstract

Preventive Effects of Oligomerized Polyphenol on Estradiol-induced Prostatitis in Rats

Eun Jin Lee

*Department of Medical Science,
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Sung Joon Hong)

Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS, NIH category III) accounts for 90%-95% of prostatitis cases. However, standard treatment has not been established. It is known that polyphenols have an inhibitory effect on inflammation by their antioxidative capacity. Oligonol, a derivative of polyphenols, has much higher bioavailability and bioactivity than common polyphenols. We investigated the anti-inflammatory effects and the mechanisms of Oligonol in estradiol-induced prostatitis rat model.

Prostatitis was induced by 17beta-estradiol (E2) and dihydrotestosterone (DHT) in male Wistar rats (N=20). Of them, 10 rats were Oligonol-treated group and 10 rats were non-treated group. The other 10 rats were also included as normal control group. Oligonol (200mg/kg/day) was

administered via gavage tube for 4 weeks. Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and TNF- α were quantified in blood samples. Phosphorylation of I κ B α and histological changes were also evaluated in prostatic tissue.

The SOD and GPx activity showed tendencies to increase in Oligonol-treated group compared with non-treated group. TNF- α expression was slightly reduced in Oligonol-treated group. Western blotting demonstrated that the phosphorylation of I κ B α in Oligonol-treated group is significantly lower than non-treated group. Histologically, non-treated group revealed severe acinar gland atrophy and infiltration of leukocytes and lymphocytes in prostate, but Oligonol-treated group showed overall reduction in these inflammatory features.

This study demonstrates that the supplement of Oligonol improves estradiol-induced non-bacterial prostatitis in conjunction with decreased NF- κ B activation. These findings suggest that Oligonol supplement is expected to have a beneficial effect on prevention and treatment of CP/CPPS.

Key Words : nonbacterial prostatitis, anti-inflammation, polyphenol, Oligonol, oxidative stress