

요중 폴리아민 프로파일과 전립선비대증

연세의대 비뇨기과, 서울의과학연구소*, 한국과학기술연구원**

홍성준 · 정병하 · 서자원* · 정봉철** · 박동수 · 이동현

=Abstract=

Urinary Polyamine Profiles and Benign Prostatic Hyperplasia

Sung Joon Hong, Byung Ha Chung, Ja Won Seo*, Bong Chul Chung**,
Dong Soo Park and Dong Hyeon Lee

From the Department of Urology, Yonsei University College of Medicine, Seoul Medical
Science Institute* and Korea Institute of Science and Technology**, Seoul, Korea

Polyamines are non-specific marker of cellular proliferation in many malignant tumors, and it is also increase in certain benign conditions. We measured the urinary polyamines to investigate the possibility as a marker of abnormal prostate growth and the correlation with various clinical parameters. Urinary polyamine concentrations in 27 cases of symptomatic benign prostatic hyperplasia (BPH) were compared with those in 32 cases of age matched normal controls. Urinary concentration of polyamine profiles were quantitatively determined by Gas Chromatography/Nitrogen Phosphorus Detector and they were calculated by the correction of gram creatinine.

The concentrations of N-acetyl putrescine, N-acetyl cadaverine, spermidine(spd), N1-acetyl spermidine, N8-acetyl spermidine, and spermine(spm) showed significant increase in BPH compared with normal control(all $p < 0.05$). Level of serum prostate specific antigen(PSA) in BPH patients was negatively correlated with the concentration of urinary spermidine($p = 0.049$). And the ratio of spm/spd correlated with the level of prostate volume($p = 0.046$). No significant correlations was found between other clinical parameters such as age, level of hemoglobin or erythrocyte count with polyamine profiles concentration.

These data suggested that urinary concentration of polyamines in BPH are elevated compared with those in normal control. Altered regulation of the biosynthesis and metabolism of spermidine and spermine may be involved in BPH.

Key Words: Urinary polyamine, Benign prostatic hyperplasia, Prostate specific antigen.

서 론

체내에서 자연 생성된 spermine, spermidine, putrescine 등의 폴리아민은 polycationic amine 으로서 생체내의 거의 모든 장기에서 분비되는 비특이적 대사물질이다. 그러나 장기에 따라서는 농도의 차이가 매우 심하여 신장과 간을 위시한 기타

장기에는 100그램당 5mg 미만인 반면, 전립선조직 100 그램당 함유된 폴리아민의 농도는 130mg 으로 가장 높아서 전립선 선상피에서 합성 및 분비가 가장 활발함을 알 수 있다. 따라서 폴리아민의 대사 및 기능에 대한 연구는 전립선의 비정상적 분화 및 성장에 대한 생물학적 지표로서의 이용 가능성이 있다고 하겠다. 폴리아민의 생합성과정은 ornithine이 decarboxylation에 의해 putr-

escine을 생성하고, putrescine은 aminopropylation에 의해 단계적으로 spermidine과 spermine을 만드는 것으로 이어진다. 또한 spermidine과 spermine은 각각 N-acetylation과 polyamine oxidation에 의해 putrescine과 spermidine으로의 역전환이 일어날 수 있다(Fig. 1). 기능적으로 폴리아민은 태아기 분화과정과 성숙 세포의 분화 및 증식에 중요한 역할을 하며, 폴리아민의 고갈은 세포주기중 S-phase의 완성을 저해하는 것으로 보고된 바 있다². 또한 폴리아민의 측정시 각각의 대사물 사이에 변환되는 속도가 매우 빠르고, 서로 역전환을 할 수 있기 때문에 전체적인 농도보다는 free form 및 acetylated form의 폴리아민을 동시 측정 비교함으로써 이들의 비를 비교하는 것이 더욱 중요하다. 더욱이 폴리아민에 대한 연구 초기인 1980년 전후에 비해 현재 폴리아민의 측정 방법은 괄목할 만한 발전을 보이고 있으며³, 이를 토대로 1990년대에 들어 전립선에 대한 다양한 연구가 시도되고 있다. 이들 중 최근 임상적으로는 적혈구의 폴리아민치를 이용한 전립선 종양병기와의 연관성 및 예후 추정인자로서의 활용가능성에 대해 보고된 바 있고⁴, 치료 및 예방적 차원에서는 폴리아민의 대사과정에 필수적인 ornithine decarboxylase(ODC)의 억제제인 alpha-difluoromethylornithine(DFMO)을 이용하여 비정상적인 세포의 분화 및 증식을 억제할 수 있는 화학적 예방 요법이 시험적으로 시도되면서 최근 들어 다시 활발한 연구가 이루어지고 있다^{5,6}. 그러나 아직까지도 폴리아민의 구체적인 대사과정이나 기능, 질병과의 연관성에 대해서 잘 알려져 있지 않아서 이에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다. 특히 비뇨기압에 대한 연구 결과는 간혹 있으나^{7,8}, 전립선비대증과 폴리아민의 관계에 대한 연구, 더욱이 진단적 시료로서 가장 얻기에 수월한 환자의 소변에서 직접적으로 이들의 차이를 분석한 연구는 극히 드물다⁹. 따라서 본 연구에서는 acetylated form의 폴리아민까지도 모두 검출이 가능한 Gas Chromatography /Nitrogen Phosphorus Detector(GC/NPD)를 이용하여 정확성 및 다양성에서 기존의 연구결과와 차별화를 시도하였고, 수술적 치료를 필요로 하는, 증상이 있고 일정 부피 이상의 전립선 체적을 가진 전립선비대증 환자와 비슷한 연령의 증상이 없는 정상대조군의 요중 폴리아민 농도를 비교하여, 각 profile의 차이점과 임상지표

와의 연관성에 대해 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

증상을 동반한 전립선비대증으로 경요도적 전립선절제술을 시행 받은 27례를 대상으로 하였으며, 수술 전에 아침 첫 소변 50cc를 받아 실험을 진행할 때까지 -200℃에 보관하였다. 이들의 평균 연령은 69세(55세~81세)였으며, 초유파로 측정된 전립선 용적은 평균 51.8cc로 모든 환자가 30cc 이상이였다. 전립선특이항원(PSA)치는 평균 10.6ng/ml (1~37), 혈색소치는 평균 12.8g/dl (10.3~14.7)이었고, 적혈구수는 ml당 4.11×10^6 ($3.3 \sim 4.9 \times 10^6$)이었다. 대조군으로는 배뇨에 이상이 없으며, 과거 병력이나 현증을 가지고 있지 않은 연령 50세 이상의 정상 성인 남성 32명에서 같은 조건으로 아침 첫 소변을 받아 실험에 이용하였으며, 이들의 평균 연령은 63세(50~72세)였다. 대조군은 전례에서 직장 촉진만을 시행하였고, 배뇨증상이 없더라도 촉진시 전립선이 증대가 있으면 대상에서 제외하였다.

2. 요중 폴리아민의 측정

보관된 소변 중에서 시료 1ml씩을 채취하여 1, 6 diamino-hexane 0.5μg과 100μl의 6N HCl을 섞은 다음 5ml의 ethylacetate를 사용하여 10분간 잘 흔들어 혼합하였다. 혼합용액을 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 ethylacetate층을 제거하였다. 남아있는 수층에 2ml의 borate buffer를 넣고, 4N NaOH로 pH를 9.0으로 보정한 후 Sep-pak-silica cartridge에 흡착시켰다. 이 cartridge를 3ml의 n-pentane과 methanol을 이용하여 씻어낸 다음, 6ml의 0.1N methanolic HCl로 용출하여 건조시켰다. 유도제화 과정 (derivatization)으로 100 μl의 HFBA(heptafluorobutyricanhydride)와 ethylacetate를 첨가하고, 80°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 남아있는 유도제 시약과 용매는 상온에서 흐르는 공기를 이용하여 건조시켰다. 건조된 잔유물질을 50μl의 ethylacetate에 녹이고 이중 2μl를 취하여 GC/NPD에 주입시켜 분석하였다. 얻어진 결과는 개개인의 gram creatinine치로 보정하였다.

3. 통계처리

두 군간 요중 폴리아민의 차이는 unpaired stu-

dent t-test를 이용하여 분석하였으며, 전립선비대증군에서 임상지표와의 연관성에 대한 의의는 Spearman's rank correlation test를 이용하였다. 또한 임상지표의 적정 cut-off value에 의한 전립선비대증 환자군 간의 비교는 Mann-Whitney U test를 이용하였다. 각각은 p값이 0.05 이하인 경우 통계적인 의의가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 정상과 전립선비대증군간의 요중 폴리아민 농도 차이

요중 폴리아민 중 1,3 diamino putrescine, putrescine, cadaverine 그리고 spermine /spermidine (spm/spd) 비는 두 군간에 의의있는 차이를 보이지 않았다. 반면 spermidine, spermine 그리고 acetylated form의 N-acetyl putrescine, N-acetyl cadaverine, N1- 및 N8- acetyl spermidine은 모두 전립선비대증에서 통계적으로 의의있는 증가를 보였다(Table).

2. 임상지표와 폴리아민의 관계

전립선비대증 환자군에서 spermidine이 증가할 수록 PSA치가 감소하는 경향을 보였으며(Fig. 2, p=0.049), 전립선의 용적이 증가할 수록 spm/spd 비가 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다(Fig. 3, p=0.046). 이외 환자의 연령, 혈색소치 및 적혈구

수는 spermidine, spermine 및 spm/spd 비와 의미

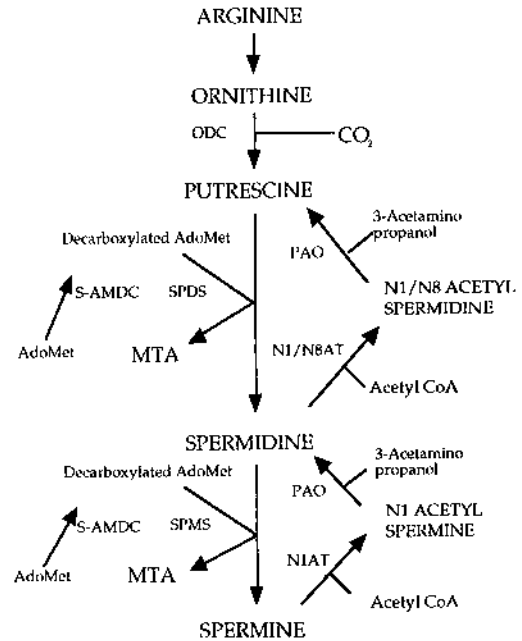


Fig. 1. Flow chart for the metabolic formation and interconversion of major polyamines and their respective enzymes. ODC; ornithine decarboxylase, AdoMet; S-adenosyl-I-methionine, S-AMDC; S-adenosyl methionine decarboxylase, SPMS; spermidine synthase, SPMS; spermine synthase, MTA; methylthioadenosine, PAO; polyamine oxidase, NI/N8AT; NI/N8-acetyltransferase.

Table. Comparison of polyamine concentrations between normal control group and benign prostatic hyperplasia(BPH)

Polyamines	Control(n=32)	BPH(n=27)	p Value
1,3 DA put	2.25+/-0.23	3.56+/-1.20	0.138
Putrescine	5.17+/-1.05	7.31+/-1.22	0.093
Cadaverine	6.30+/-1.05	8.33+/-2.10	0.190
N-acetyl Putrescine	11.78+/-1.54	28.04+/-4.40	>0.001*
N-acetyl cadaverine	2.92+/-0.37	14.77+/-5.55	0.016*
Spermidine	0.60+/-0.05	1.35+/-0.21	>0.001*
N1-acetyl spermidine	2.24+/-0.29	7.73+/-1.54	>0.001*
N8-acetyl spermidine	2.25+/-0.29	5.47+/-0.97	0.001*
Spermine	3.68+/-0.49	8.89+/-1.71	0.002*
Spm/Spd	7.75+/-1.32	6.92+/-0.99	0.306

Data represents the mean+/- S.E. Values are umole/g creatinine. 1,3 DA put; 1,3 diamino putrescine, spm; spermine, spd; spermidine.

*, Statistically significant (p less than 0.05 by student t-test).

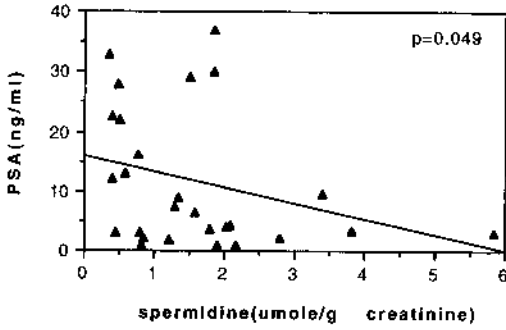


Fig. 2. Significant negative correlation between serum PSA and urinary spermidine level in benign prostatic hyperplasia.

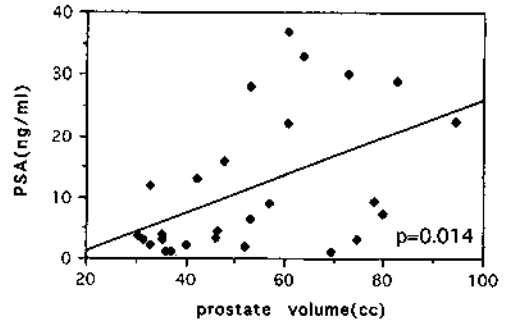


Fig. 4. Significant correlation of prostate volume/prostate specific antigen level in patients with benign prostatic hyperplasia.

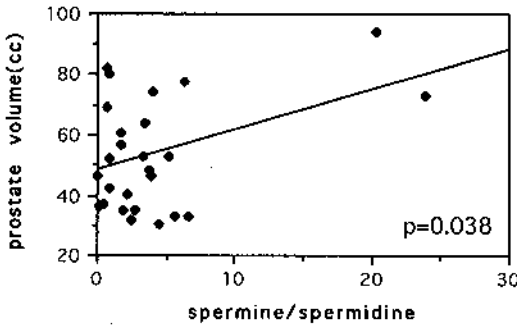


Fig. 3. Significant correlation of prostate volume and the ratio of spermine/spermidine urinary concentration in patients with benign prostatic hyperplasia.

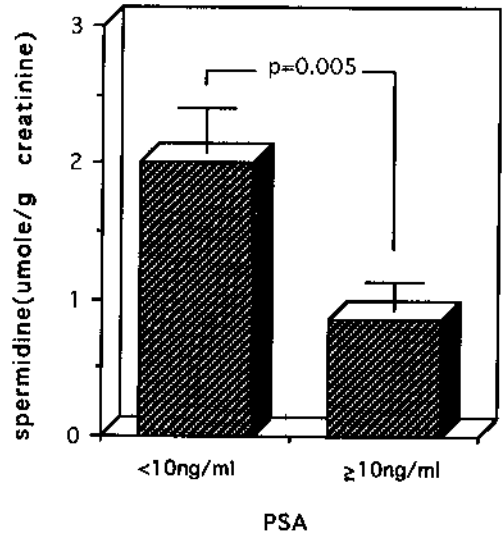


Fig. 5. Significant difference in spermidine concentration between two groups in benign prostatic hyperplasia when divided with PSA 10ng/ml as a cut-off value.

있는 연관성은 없었다. 임상지표간에는 전립선의 용적이 증가할 수록 유의있게 PSA치가 증가하는 소견을 보여주었을 뿐(Fig. 4, $p=0.014$), 이외의 각 지표간 연관성은 찾을 수 없었다.

3. 임상지표의 cut-off value를 이용한 비교

PSA치를 환자들의 평균치에 근접하는 10ng/ml을 기준으로 두 군으로 나누었을 때, PSA 10ng/ml 이상군에서 PSA 10ng/ml 이하군에 비해 spermidine이 유의있는 감소를 보인 외에(Fig. 5, $p=0.005$), spermine이나 spm/spd비에는 두 군간에 의미있는 차이를 보이지 않았다. 마찬가지로 평균치를 기준으로 연령을 70세, 전립선 용적 50cc, 혈색소치 12.5g/ml, 적혈구 400만개를 기준으로 spermidine, spermine 그리고 spm/spd비를 비교하였을 때에도 유의있는 차이는 발견할 수 없었다.

고 안

인체 전립선과 그 분비물에는 calcium, zinc 그리고 많은 양의 폴리아민이 포함되어 있다. 그러나 전립선내 calcium과 zinc의 농도는 음식으로 섭취한 양에 따라 좌우되는 반면, 폴리아민은 이와 상관없이 전립선 상피에서 자체 생성된다는 점에서 이들과 차이가 있다. 따라서 전립선 상피조직의 형태적 또는 기능적 변화에 따라 폴리아민의 농도에 차이를 보일 수 있을 것으로 생각된다.

전립선비대증에서의 요중 폴리아민에 대한 직접적인 연구는 극히 드물었으나, 유일하게 보고된 Sakai⁹ (1986)의 결과에서는 정상대조군에 비해 전립선비대증 환자에서 폴리아민이 유의있게 증가함을 보고하고 있어서 본 연구에서의 결과와 비슷한 양상을 보여주었다. 그러나 단지 7례에서 측정된 결과를 이용하여 분석을 하였고, 더욱이 상품화된 kit를 이용하여 폴리아민 전체량을 비교한 것이기 때문에 본 연구와는 연구의 방법적인 면에서 명백한 차이가 있다.

본 연구에서 전립선비대증의 경우 요중 N-acetyl putrescine, N-acetyl cadaverine, spermidine, N1-acetyl spermidine, N8-acetyl spermidine, 그리고 spermine이 정상 대조군에 비해 유의있는 증가를 보여주었다. 문제는 과연 요중에서 측정된 폴리아민이 조직내의 폴리아민 변화를 반영해 줄 수 있는가 하는 점인데, 본 연구에서는 동일인에서 이에 대한 검증을 하지 못했다. 그러나 1978년 Duzendorfer와 Russell¹⁰이 정상 전립선과 전립선비대증 조직에서 폴리아민을 측정 비교한 결과 전립선비대증의 경우 putrescine의 양은 정상 전립선에 비해 감소하나, spermine의 양이 유의있게 증가하고, 통계적인 의미는 없으나 spermidine 또한 증가함을 보고한 바 있다. 이는 본 연구에서 보여준 요중 측정치와 매우 유사한 경향을 보여주고 있다. 이러한 결과는 요중 검사소견이 간접적으로 전립선 조직에서의 검사소견을 반영할 수 있다는 추정을 가능케 하나, 이에 대해서는 동일인에서 요중과 조직내 폴리아민의 상관성에 대한 추가적인 연구가 필수적이라 하겠다. 본 연구의 결과 중 아직까지 문헌에 보고된 바 없으나, N1-, 그리고 N8- acetyl spermidine이 증가를 보였다. 이러한 이유를 확실히 알 수는 없으나 spermidine과 spermine의 상대적 증가로 인해 feedback inhibition으로 sprm/spd acetyl transferase의 활성도가 증가한 것이 하나의 이유가 될 수 있을 것으로 생각된다¹¹.

임상지표와의 연관성과 관련하여 일반적으로 PSA치의 변화는 전립선 크기와 관련이 있는 것으로 알려져 있으며^{12,13}, 본 연구 대상자들에서도 측정된 혈청 PSA와 전립선의 크기 사이에 의미 있는 연관성을 보였다. PSA는 폴리아민과 마찬가지로 전립선 선상피에서 분비가 되며, 폴리아민 생성의 주 효소인 ODC의 활성도가 안드로젠에 의해 영향을 받는다는 점에서⁵ PSA와 폴리아

민은 유사점을 가지고 있다. 본 연구에서는 이들의 관계가 spermidine이 증가할수록 PSA가 유의있게 감소하는 경향을 보였으며, 보완적으로 PSA 10ng/ml 이상과 이하의 두 군으로 분리하였을 때 더욱 뚜렷한 차이를 나타냈다. 또한 전립선비대증 환자간에는 전립선의 용적이 증가할수록 spm/spd 비가 유의있게 증가하는 것을 볼 수 있었다. 따라서 정상 전립선에 비해 전립선의 체적이 클수록, 또한 PSA가 증가할수록 spermidine을 spermine으로 전환시키는 spermine synthase의 활성이 상대적으로 증가를 나타내고, 결과 spermine이 증가하는 것으로 생각된다. 이것은 전립선비대증 조직에서 측정시 spermine은 유의있는 증가를 보인 반면, spermidine은 증가 소견을 보이지는 하나 통계적인 의의가 없었다는 점¹⁴과 어느 정도 일치하는 추세를 보인 것으로 판단된다. 반면 일부에서는 악성종양의 경우 반대로 spd/sprn 비가 높을수록 오히려 조직의 빠른 증식을 의미하는 것으로 주장되기도 한 바 있어서¹⁴ 양성적인 조직의 증식과 악성종양의 증식사이의 폴리아민 대사과정에서의 차이에 대한 비교 연구도 필요하다고 생각된다.

향후 전립선내 상피 조직의 구성비율과의 관계에서 요중 폴리아민, 그 중에서도 특히 spermidine과 어떠한 연관성을 보이는지에 대한 연구는 PSA와 함께 보완적으로 조직학적 유형을 예측하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 기대되며, 특히 Tabor¹⁵등과 Van Sande¹⁶의 보고로 미루어 볼 때 전립선에서 안드로젠의 작용 차단 후 폴리아민의 농도가 급격히 떨어지는 현상이 spermidine과 spermine 생성의 rate-limiting enzyme으로, ODC와 마찬가지로 안드로젠 의존성을 가진 것으로 생각되는 S-adenosyl-L-methionine decarboxylase(S-AMDC)의 활성 저하와 관계가 있을 것으로 생각되고 있어서 전립선내 폴리아민 농도에 영향을 줄 수 있는 성호르몬과의 관련성에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

결론

전립선비대증 환자에서 GC/NPD로 측정된 요중 폴리아민은 정상대조군에 비해 spermidine, spermine의 뚜렷한 증가를 보였으며, 아울러 acetylated form인 N-acetyl putrescine, N-acetyl cadaverine, N1-, 및 N8-acetyl spermidine도 증가를

보였다. 임상지표와는 전립선 용적이 커질수록 요중 spm/spd 비가 증가하는 유의한 상관 관계를 보여 주었으며, PSA는 spermidine치와 유의한 역 상관관계를 보였다. 이러한 의미있는 차이점은 전립선조직의 미정상적 증식에 대한 생물학적 지표로서의 이용가능성을 보여준다고 생각되며, 현재 PSA와 보완적 또는 독립적으로 전립선비대증의 조직 유형 예측에 이용하기 위한 형태 계측적 연구를 진행중이다. 아울러 폴리아민 대사에 관여하는 효소의 활성도와 조직내 홀몬농도를 중심으로 악성 전립선암과의 차이에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Harrison GA. Spermine in human testis. *Biochem J* 1931; 25: 1885-92.
2. Brooks WH. Polyamine involvement in the cell cycle, apoptosis, and autoimmunity. *Med Hypotheses* 1995; 44: 331-8.
3. Muskiet FA, Dorhout B, van den Berg GA, Hesses J. Investigation of polyamine metabolism by high-performance liquid chromatographic and gas chromatographic profiling methods. *J Chromatogr Biomed Applica* 1995; 667: 189-98.
4. Cipolla B, Guille F, Ph.Moulinoux J, Quemener V, Staerman F, Corbel L, et al. Polyamines and prostatic carcinoma: Clinical and therapeutic implications. *Eur Urol* 1993; 24: 124-31.
5. Heston WDW. Prostatic polyamines and polyamine targeting as a new approach to therapy of prostate cancer. *Cancer surveys* 1991; 11: 217-38.
6. Pegg AE, Shantz LM, Coleman CS. Ornithine decarboxylase as a target for chemoprevention. *J Cell Biol* 1995; 22: 132-8.

7. Sanford EJ, Drago JR, Ruhner JJ, Kessler GF, Sheeman L, Lipton L. Preliminary evaluation of urinary polyamines in the diagnosis of genitourinary tract malignancy. *J Urol* 1975; 113: 218-21.
8. Fair WR, Wehner N, Brorsson V. Urinary polyamine levels in the diagnosis of carcinoma of the prostate. *J Urol* 1975; 114: 88-92.
9. Sakai S, Koide T, Ito Y, Tei K, Deguchi T, Matsuda S, et al. Urine polyamine in patients with malignant urological diseases using a polyamine-test enzyme kit. *Acta Urol Jpn* 1986; 32: 661-5.
10. Duzendorfer U, Russell DH. Altered polyamine profiles in prostatic hyperplasia and in kidney tumors. *Cancer Res* 1978; 38: 2321-4.
11. Pegg AE, McCann PP. Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol* 1982; 243: 212-21.
12. Babaian RJ, Miyashita H, Evans RB, Ramirez EI. The distribution of prostate specific antigen in men without clinical or pathologic evidence of prostate cancer: Relationship to gland volume and age. *J Urol* 1992; 147: 837-40.
13. 정병하, 홍성준, 이승연, 이동현. 연령의 증가가 전립선특이항원치, 전립선특이항원 밀도에 미치는 영향. *대한비뇨회지* 1996; 37: 257-62.
14. Janne J, Raina A, Siimes M. Spermidine and spermine in rat tissues at different ages. *Acta Physiol Scand* 1964; 62: 352-8.
15. Tabor H, Tabor C. Spermidine, spermine and related amines. *Pharmacol Rev* 1964; 16: 245-300.
16. Van Sande M, Van Camp K, Van Berendonckx J. Polyamine profiles in human pathological prostate tissue. *Urol Int* 1983; 38: 368-70.