

이소플라본 섭취가 전립선암환자의 Serum PSA, 지질패턴, 항산화체계 및 면역체계에 미치는 영향

이주민¹ · 홍성준² · 이민준^{3*} · 윤 선¹

¹연세대학교 식품영양학과

²연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실

³연세대학교 식품영양과학연구소

The Effects of Isoflavone Supplementation on Serum PSA, Lipid Profile, Antioxidant and Immune System in Prostate Cancer Patients

Joo Min Lee¹, Sung Joon Hong², Min-June Lee^{3*} and Sun Yoon¹

¹Dept. of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

²Dept. of Urology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-752, Korea

³Research Institute of Food and Nutritional Sciences, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Abstract

Soy foods are a unique dietary source of isoflavones, which have effects relevant to prostate cancer prevention. The present study determines the effects of a short-term isoflavone supplement on serum PSA (prostate specific antigen), lipid profile, antioxidant status, and immune system in prostate cancer patients. Ten prostate cancer patients were supplemented daily with 150 mg of isoflavone for 2 months. Blood samples were collected baseline and 2 month after for analysis of PSA, serum lipid profiles, total antioxidant status (TAS), grade of DNA damage in lymphocytes, IL-6, VEGF and TNF- α . After 2 month isoflavone supplementation, increased significantly a total of estimated urinary isoflavone excretion and did not change PSA. Serum lipid profiles showed significant change in serum total cholesterol level ($p=0.007$). However, there was no significant change in HDL- and LDL-cholesterol levels. TAS was increased but not significant after isoflavone supplementation. Tail moment (TM) was decreased and especially tail length (TL) was decreased significantly ($p=0.043$). IL-6 level was decreased but VEGF level and TNF- α level were increased. The results of the present study led to the conclusion that the isoflavone dosage (150 mg) in supplement had positive effects on the serum total cholesterol level and DNA damage.

Key words: isoflavone, prostate cancer, prostate specific antigen (PSA), antioxidant status, lipid profiles

서 론

최근 우리나라에서도 식생활이 서구화되고 노년층의 증가와 병에 대한 진단기법의 발달로 노인성 질환은 크게 증가하고 있으며 특히 서구에서 남성에게 발생하는 암 중에 가장 흔한 전립선암이 증가하고 있다. 우리나라의 전립선암으로 인한 사망률은 1992년 인구 10만 명당 0.8명에서 2002년 3.1명으로 최근 10년간 세 번째로 많은 증가를 보인 암이다(1).

역학 조사에 의하면 각 문화마다 다른 식생활의 차이가 전립선암의 발병률에 차이를 가져오는 것으로 생각되어지고 있으며, 특히 대두식품에 많이 포함된 이소플라본이 전립선암의 예방 및 치료에 효과적일 것으로 기대되어지면서 대두식품에 대한 관심이 높아지게 되었다. 문헌에 따르면 대두에 포함된 이소플라본이 estrogen과 유사한 구조를 가짐으로

서 estrogenic activity를 가지며 이로써 전립선암과 유방암과 같은 호르몬 의존성 암에 영향을 줄 수 있다고 보고되었다(2-4). 특히 이소플라본의 대사물질중 하나인 genistein은 *in vitro*와 *in vivo* 연구에서 protein tyrosine kinase의 inhibitor 역할을 함으로써 전립선암세포의 생육을 효과적으로 억제하고 또한 apoptosis를 일으켜서 전립선암 진행을 늦추는 것으로 보고되었다(5-7).

전립선암의 진단 시 쓰이는 PSA(prostate specific antigen) 수치는 전립선과 유방암 상피세포에 의해 합성되는 serine protease로서 전립선암의 종양지표로 쓰이며(8), *in vitro* 연구에서 이소플라본 대사물질인 genistein이 serum PSA의 수치를 감소시킨다는 연구 결과가 있으나 인체를 대상으로 한 임상연구가 부족하므로 이소플라본과 serum PSA에 대한 더 많은 연구가 필요한 실정이다(8,9). 대두에 함유

*Corresponding author. E-mail: minjlee@yonsei.ac.kr
Phone: 82-2-2123-3102. Fax: 82-2-312-5229

된 이소플라본이 estrogen 유사 구조와 활성을 가지고 있음으로 인해 anti-inflammatory cytokine인 interleukin-6(IL-6)와 pro-inflammatory cytokine인 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 체내의 면역 반응에 영향을 미친다고 보고되었으며(10,11), VEGF(vascular endothelial growth factor)는 인체에 생기는 많은 암에서 높은 수치를 나타내며 이는 종양 혈관형성인자의 직접적인 주변 분비 매개체로서 암의 생성과 전이를 가능하게 한다고 여겨지고 있다(12,13). 이소플라본은 산화적 손상을 억제함으로써 암과 심혈관계 질환을 예방하는데 효과적이라고 보고되어지고 있다(14). 대두 이소플라본이 동맥경화와 관상동맥심장질환을 예방하는 다양한 기전이 연구 발표되고 있으며 이소플라본이 LDL receptor를 up-regulation하고 내인성 콜레스테롤 합성을 막음으로써 콜레스테롤 저하 효과가 있음이 제안되었다(15).

지금까지의 연구에 의하면 대두 이소플라본이 전립선질환의 예방 및 치료에 효과가 있을 것으로 추정되지만 주로 세포 모델계나 동물 모델계에서의 효과 및 메카니즘 규명에 비중을 두고 연구가 진행되고 있으며, 인체를 대상으로 한 대사 및 효능에 관한 체계적인 연구는 극히 미미한 실정이다. 이에 본 연구에서 이소플라본 보충이 혈중 PSA 수치 및 지질패턴에 미치는 영향, 면역체계 및 항산화체계에 미치는 영향을 단기간의 평가를 통해 분석하고 향후 이소플라본과 관련된 전립선질환에 대한 연구 설정에 도움이 되고자 전임상연구를 시행하였다.

연구 방법

연구 대상 및 연구 기간

본 연구는 Y 의과대학 비뇨기과에 내원하는 전립선암 환자 10명을 대상으로 하였다. 10명의 환자 중 4명의 환자는 호르몬 불응성 전립선암 환자였고, 환자 10명 모두 호르몬 치료 중이었다. 환자들에게 2003년 3월부터 2003년 5월까지 2개월간 이소플라본을 매일 150 mg씩 복용하도록 하였다.

이소플라본 보충제 준비

본 연구에 사용한 이소플라본은 (주)Amax Nutrasource에서 제공받았으며, 40% 이소플라본 중에는 daidzein이 10.52%, genistein이 6.43%가 함유되어 있다. 75 mg의 이소플라본이 함유된 캡슐을 만들어 환자들에게 제공하였으며, 이를 아침·저녁 식후에 1알씩 복용하여 하루에 총 150 mg의 이소플라본을 복용하도록 하였다.

소변 수집 및 이소플라본 배설량 분석

아침 첫 소변은 연구가 시작되는 날과 이소플라본 보충 2달 후에 수집하였다. 소변은 산화와 미생물에 의한 오염 방지를 위해 0.3 g ascorbic acid와 0.3 g boric acid를 첨가한 소변 통에 수집하였으며, 분석을 위해 수집된 소변을 -20°C 냉동고에 보관 후 균질화시켜 일부를 분석에 사용하였다. 소

변 중 이소플라본(daidzein과 genistein) 분석을 위해 HPLC를 이용하였다(16).

혈액 수집 및 분석

혈액수집 : 이소플라본 섭취 전과 섭취 2달 후, 최소 8시간 이상 공복 후 채혈하였다. 채혈한 8 cc 혈액은 각각 4 cc씩 나누어 serum과 plasma로 분리한 후, 사용 직전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다. 분리된 serum과 plasma는 PSA, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도와 TAS(total antioxidant status) 그리고 임파구 세포 DNA 손상 정도를 측정하기 위한 comet assay, 체내 면역반응에 관여하는 IL-6, VEGF, TNF- α 의 측정을 위해 사용되었다.

PSA(prostate specific antigen) 측정 : PSA 측정은 미국 DPC 회사의 immulite2000을 이용하여 chemiluminescent method를 이용하여 측정하였다.

혈청 내 지질패턴 측정 : 혈청 내 지질패턴은 혈액 자동 분석기기(Autoanalyzer, Chiron Co.)를 이용하여 혈청에서 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도를 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedwald의 계산법으로 산출하였다(LDL-cholesterol=Total cholesterol-HDL cholesterol-Triglycerol/5).

Total antioxidant status(TAS) 측정 : Total antioxidant status(TAS)는 혈청 안에 존재하는 총항산화력을 보는 것으로 Commercial kit(Randox Antioxidant status, Cat No. NX2332)를 이용하여 혈청 500 μ L를 혈액 자동 분석기기(Autoanalyzer, Chiron Co.)로 분석하였다. 분석 원리는 ABTS[®](2,2'-Azino-di-[3-ethylbinzthiazoline sulphonate])를 peroxidase 및 H₂O₂와 배양시키면 ABTS[®] 양이온기를 생성하는데 이는 매우 안정한 청록색 분자로 600 nm에서 측정된다. 검체 중에 존재하는 항산화제에 의해 발색이 억제되며 그 정도는 항산화제 농도에 비례한다. 정상 antioxidant level은 1.30~1.77 mmol/L이다(17-20).

IL-6(Interleukin-6), VEGF(vascular endothelial growth factor), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 측정

IL-6, vascular endothelial growth factor(VEGF), TNF- α (tumor necrosis factor- α)의 검사방법은 sandwich enzyme immunoassay(ELISA)를 이용하였다(21-23).

혈청 내 임파구를 이용한 comet assay 분석 : 아침 공복의 전립선 암환자 5명에게서 채취한 혈액 120 μ L와 PBS(phosphate-buffered saline) 900 μ L를 섞은 후 Histopaque를 이용하여 임파구만을 200 μ L 분리하였다. Washing을 위해 다시 PBS 900 μ L와 분리한 임파구 suspension 200 μ L를 원심분리(1400 rpm, 4°C, 4분)한 후 상층액의 PBS를 제거하고 바로 임파구를 실험에 이용하였다.

분리된 임파구의 DNA 손상 정도를 측정하기 위한 comet assay는 Rojas 등(24)의 방법을 참고하였다. 실험 당일 만든 NMA(normal melting agarose)가 precoating된 슬라이드에 혈액에서 뽑은 임파구 15 μ L와 0.5% LMA(low-melting agarose) 75 μ L mixture를 깔고 10분정도 실온에서 방치

후, mixture가 마르면 한 번 더 75 µL LMA를 깔고 cover glass로 덮어 냉장고에 10분정도 보관하였다. 이 슬라이드의 cover glass를 벗긴 후, alkalilysis buffer에 1시간동안 암실에 방치하였다. Electrophoresis 기계에 슬라이드를 차례로 방향을 일정하게 한 다음, electrophoresis buffer를 균일하게 붓고 40분간 unwinding하였다. 40분이 지난 후, 25 V, 300 mA로 setting한 후에 20분간 전기 영동하였다. 전기영동이 끝난 후 neutralization buffer(pH 7.5)를 넣고 각각 5분씩 3번 세척한 후 ethanol로 1번 세척하였다.

Comet image 분석을 위해 10 µg/mL 농도의 ethidium bromide로 nucleotide를 염색하여 현미경으로 관찰하였다. 인체임파구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length, TL)와 tail moment(TM)=(percentage of the DNA in the tail) × (length of the tail in µm) 값을 측정하였다. 각각 슬라이드는 환자 당 2개의 슬라이드를 만들어 임파구의 TL과 TM값의 평균을 구해 DNA 손상 정도를 비교 측정하였다.

통계처리

자료의 통계분석은 SPSS 통계분석프로그램(SPSS for Windows, version 11.0)을 이용하였다. 모든 변수에 대해 평균과 표준편차를 구하였으며, isoflavone 투여 전·후의 혈중 각종 지표의 변화는 paired t-test와 Wilcoxon signed ranks test를 이용하여 유의성을 검증하였고, 유의수준 p<0.05에서 통계적으로 유의하다고 보았다.

결과 및 고찰

연구 대상자의 특성

본 연구 참여자(n=10)의 평균 나이는 69.9세이었다(범위 48~80세). 평균 신장과 체중은 각각 165.2 cm와 64.5 kg이었고 평균 BMI는 25.6 kg/m²이었다. 10명의 전립선암 환자는 모두 전이 암 환자였으며, 이중 4명은 호르몬치료 불응성(hormone refractory prostate cancer)환자였고, 1명은 전립선 상피내암(prostatic intraepithelial neoplasia) 그리고 나머지 5명의 환자는 호르몬치료를 받고 있는 전이 암 환자이었다 (Table 1).

이소플라본 섭취 전·후의 소변 내 이소플라본의 배설량 분석

전립선암 환자에게 하루 150 mg의 이소플라본을 섭취시

Table 1. Characteristics of subjects (n=10)

	Age (yr)	Anthropometry		
		Height (cm)	Weight (kg)	BMI ¹⁾ (kg/m ²)
Mean ± SD	69.9 ± 8.8	165.2 ± 3.9	64.5 ± 3.9	25.6 ± 7.0

¹⁾Body Mass Index = body weight (kg)/Height² (m²)

킨 결과 이소플라본 복용 전에는 소변 내 daidzein 양이 평균 0.17 nmol/mg creatinine이었으나, 복용 2개월 후에는 평균 0.51 nmol/mg creatinine으로 유의적으로 증가하였다. Genistein의 양은 이소플라본 복용 전에는 평균 0.10 nmol/mg creatinine이었으나 복용 2개월 후에는 평균 0.20 nmol/mg creatinine으로 증가하였으며, 소변 내의 총 이소플라본 양은 평균 0.27 nmol/mg creatinine에서 복용 후 2개월 후에는 평균 0.71 nmol/mg creatinine으로 유의적으로 증가하였다 (Fig. 1).

소변 내의 이소플라본 농도는 이소플라본 보충제의 섭취 여부를 측정할 수 있는 유용한 biomarker이다. 본 실험에서는 이소플라본의 대사물질인 daidzein과 genistein이 이소플라본 복용 2달 후에 증가함을 보였다. 또한 소변 내 이소플라본의 배설량은 genistein보다 daidzein이 더 높았으며 이는 King과 Bursill(25)의 실험 결과와 유사하였다.

이소플라본 섭취 전·후 전립선암 환자의 PSA 수치 비교
 혈청 PSA(prostate specific antigen) 수준은 이소플라본 섭취 전에 평균 2.05 ± 2.49 ng/mL에서 섭취 2달 후에는 2.44 ± 2.73 ng/mL로 약간 증가하였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 호르몬 불응성 전립선암 환자와 그렇지 않은 환자를 분류하여 PSA수치를 비교한 결과, 호르몬 불응성 전립선암 환자의 경우는 이소플라본 섭취 전에 PSA 수치가 평균 3.29 ng/mL에서 섭취 2개월 후에 평균 4.60 ng/mL으로 호르몬 불응성 전립선암 환자 모두에게서 증가하여, 이소플라본 섭취가 호르몬 불응성 전립선암 환자에게는 별 영향을 주지 않은 것으로 보인다. 반면 호르몬 불응성 전립선암 환자를 제외한 호르몬치료 전립선암 환자의 평균 PSA 수치는 이소플라본 섭취 전 평균 0.42 ng/mL에서 이소플라본 섭취 2개월 후에는 평균 0.34 ng/mL로 감소하였다(Fig. 2). 이소플라본 복용 전·후에 호르몬치료 전립선암 환자 5명 중 1명의 PSA 수치는 변화가 없었으나 나머지 4명은 모두

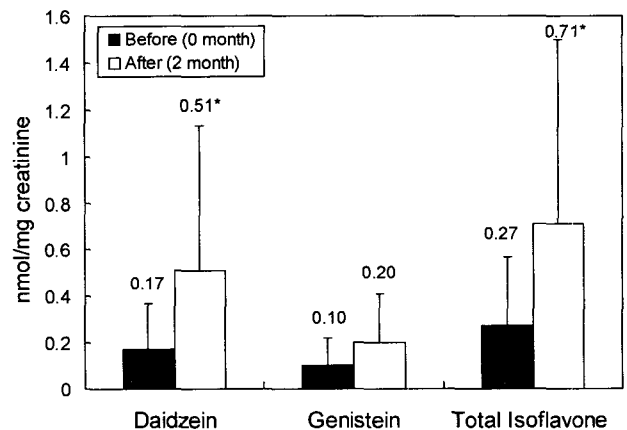


Fig. 1. Change of daidzein and genistein in urinary isoflavone excretion in prostate cancer patients before and after intervention.

*Significantly different by wilcoxon signed ranks test at p<0.05.

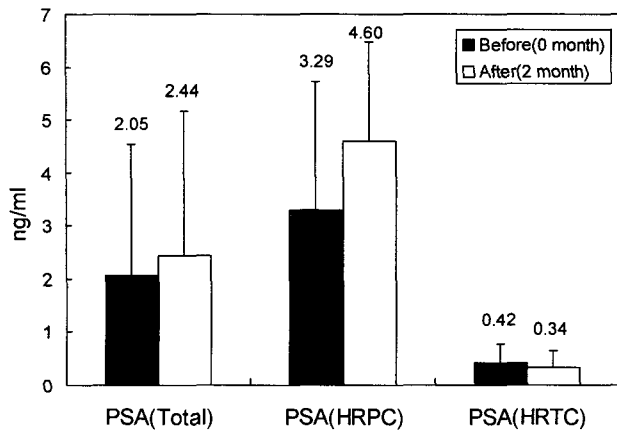


Fig. 2. Change of PSA in hormone refractory prostate cancer patients (HRPC) and hormone treated prostate cancer patients (HTPC) before and after intervention.

PSA 수치가 감소함을 보였다. 따라서 이소플라본의 섭취기간을 연장하거나 투여 용량을 높이면 의미 있는 변화를 보여 줄 가능성이 있을 것으로 사료된다.

최근 Jarred 등(26)은 19명의 전립선암 환자를 대상으로 하루 160 mg의 이소플라본을 20일 동안 섭취시킨 결과, PSA 수치에는 변화가 없음을 보고하였다. Urban 등(27)이 serum PSA가 상승된 정상 노인을 대상으로 분리대두단백질(70 mg 이소플라본 포함)섭취가 serum PSA와 p185erbB-2 proto-oncogene의 soluble p105 component 수준에 미치는 영향을 검토한 실험연구 결과, 단기간(6주)의 이소플라본 섭취 후 PSA와 p105erbB-2 수준이 감소되었으나 유의적인 영향을 주지 못함을 보고한 바 있다. Jenkins 등(28)도 건강한 중년남성에게 하루 116 mg의 이소플라본을 3~4주 동안 섭취시킨 결과 serum total or free PSA에 유의적인 변화를 유도하지 못했음을 보고하였다. 이들 연구자들은 이소플라본 섭취가 serum PSA의 감소를 유도하지 못한 결과에 대해 짧은 섭취기간과 적은 용량 및 대상자수가 원인일 수 있음을 지적하였으며, 한편으로는 이소플라본이 직접적으로 전립선조직에 관한 성호르몬활성에 영향을 주기보다는 항산화효과와 같은 다른 작용에 의해 전립선질환에 대한 예방/치료 효과가 있을 수 있음을 지적하였다.

이소플라본 섭취 전·후 전립선암환자의 지질패턴 변화

Fig. 3에 나타난 바와 같이, 총 콜레스테롤 농도는 이소플라본 섭취 전·후에 평균 191 mg/dL에서 178 mg/dL로 유의적으로 감소되었다(p=0.007). LDL 콜레스테롤 수준은 평균 123 mg/dL에서 112 mg/dL로 저하되었고, HDL 콜레스테롤 수준도 평균 46 mg/dL에서 39 mg/dL으로 저하된 것으로 나타났다.

Urban 등(27)과 Jenkins 등(28)의 연구에서 단기간의 이소플라본 섭취가 혈중 콜레스테롤 수준을 낮추는 것으로 나타났다으며, 이소플라본의 콜레스테롤 저하 효과가 전립선질환자에게 흔히 발생할 수 있는 심혈관질환을 예방할 수 있다

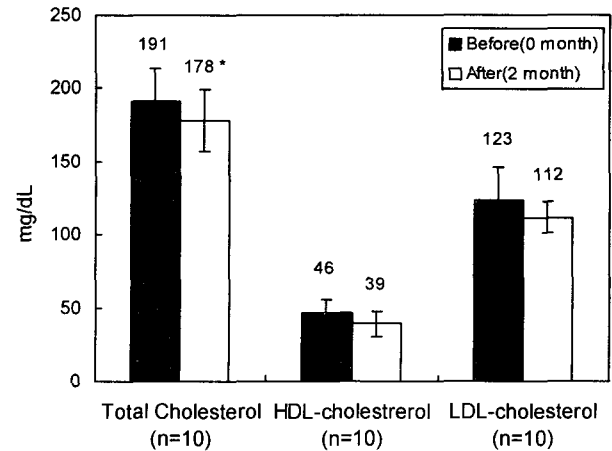


Fig. 3. Change of serum total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in prostate cancer patients before and after intervention.

*Significantly different by paired t-test at p<0.05.

는 측면에서 이소플라본의 중요성을 강조하였다. 동물을 대상으로 한 Kirk 등의 연구(29)에서도 이소플라본이 콜레스테롤 저하 효과를 갖는다고 하였다. 이소플라본이 지질패턴에 미치는 영향 뿐만 아니라 심혈관계 질환에도 긍정적인 영향을 준다는 연구 결과도 제시되고 있으며, Kapiotis 등(30)은 이소플라본의 항산화능이 심혈관에서 지방의 산화를 막는 것에 기여한다고 하였다. Ruiz-Larrea 등(31)은 이소플라본의 대사물질 중 genistein이 *in vitro*에서 LDL의 산화를 방지하는 역할을 한다고 하였다. 이러한 기전으로는 여러 가지 가능성이 제기되고 있는데, genistein이 플라크 형성의 주요 촉진자인 응고의 진행과 혈소판과 같은 성장인자, 그리고 thrombin 형성을 억제하는 역할과 연계된 것으로 여겨진다(32,33). 또한 이러한 영향들은 thrombin 형성과 염증에 중요한 역할을 하는 tyrosine kinase를 genistein이 억제하기 때문으로 생각되어진다(34).

이소플라본 섭취가 전립선암환자의 면역체계에 미치는 영향

본 연구에서는 이소플라본 섭취 후, 유의적이진 않았으나 IL-6의 감소를 보였으며(Table 2), 이는 체내 estrogen과 유사한 구조를 가진 이소플라본이 면역체계에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있음을 보여준다. 많은 연구에서 IL-6은 전이된 전립선암 환자에게서 증가하는 것으로 나타났으며(35,36), Drachenberg 등(37)은 정상인과 전립선비대증, 전립선염 환

Table 2. The effects of isoflavone supplementation on cytokine levels in prostate cancer patients before and after intervention (pg/mL)

Month	IL-6		VEGF		TNF- α	
	0	2	0	2	0	2
Mean	6.84	6.21	277	441	8.16	8.33
SD	4.92	3.30	248	401	1.29	1.25

자에 비해 호르몬불응성 환자에게서 IL-6 수치가 높음을 보고하였다. 한편, 본 연구결과, VEGF와 TNF- α 는 이소플라본 섭취 전보다 섭취 2개월 후에 오히려 증가하였으나 통계적으로 유의적인 차이를 보이지는 않았다(Table 2). 중요한 중앙혈관형성인자 중의 하나인 VEGF는 전이된 암에서 증가함을 보이며(38), Duque 등(39) 및 Turner와 Jones(40)가 호르몬 불응성 환자와 그렇지 않은 환자를 대상으로 VEGF를 측정 한 결과, 호르몬 불응성 환자의 VEGF가 그렇지 않은 환자보다 높았음을 보고하였다. 또한 PSA 수치가 높은 환자에게서 VEGF 수치도 증가되었음을 관찰하였는데, 본 연구 결과도 이와 유사하게 나타났다. TNF- α 는 VEGF와 암 발생에 있어 높은 연관성을 보이며, 최근 면역조직화학염색법을 통해 VEGF는 모든 전립선암에서 적은 분화정도와 함께 발현됨을 확인하였으며 이는 E2(PGE2)와 TNF- α 에 의해 유도된다고 하였다(41,42). David 등(43)은 100 mg의 이소플라본을 정상인에게 3주 동안 복용시킨 결과, TNF- α 를 처리한 혈액의 lymphocyte에서 NF- κ B activation이 줄었음을 확인하였으며, NF- κ B activation를 매개로한 TNF- α 억제 효과를 나타냈다.

이소플라본 섭취가 전립선암환자의 항산화체계에 미치는 영향

Total antioxidant status(TAS) : 본 연구에서 전립선암환자의 총항산화력을 TAS를 통해 측정 한 결과, 이소플라본 섭취 전에는 평균 1.39 mol/L에서 2개월 섭취 후 1.48 mol/L로 증가하였으나 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않았다($p=0.092$)(Fig. 4). 전립선암 환자에게 이소플라본을 투여한 결과, 투여 전·후의 총항산화력은 정상범위인 1.30~1.77 mol/L 안에서 증가하였다. 그러나 이 범위는 유럽인을 기준으로 한 수치이며, 총산화력은 인종과 식사패턴, 지역과 유전인자 등에 의해 다를 수 있음을 고려해야 한다.

한편, Table 3에 나타난 바와 같이, 환자 개개인의 데이터를 분석한 결과, 이소플라본 섭취 전에 총항산화력이 정상범

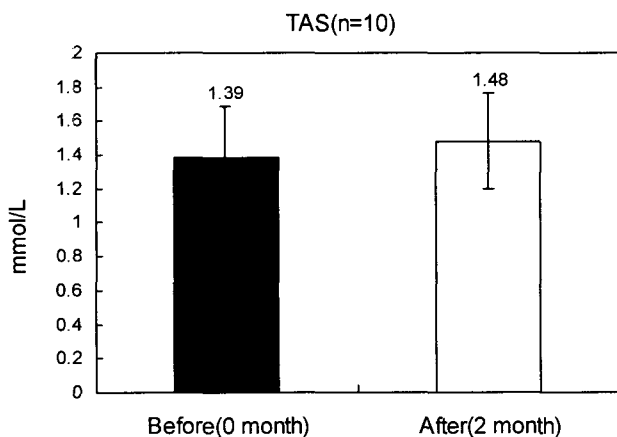


Fig. 4. Change of TAS in prostate cancer patients before and after intervention.

Table 3. The effects of isoflavone supplementation on total antioxidant status in prostate cancer patients

Reference value	TAS	
	1.3~1.77 (mmol/L)	
Patients	0 month	2 month
1	1.03	1.23
2	1.26	1.39
3	1.68	1.45
4	1.19	1.31
5	1.16	1.23
6	1.39	1.85
7	1.72	1.85
8	0.99	1.06
9	1.78	1.72
10	1.66	1.69
Mean	1.39	1.48
SD	0.30	0.28

위에 속해있지 않았던 5명의 환자들(subjects 1, 2, 4, 5, 8)이 섭취 2개월 후에 총산화력 수치가 정상범위 또는 정상범위 근처로 들어옴으로써 이소플라본 섭취가 전립선암 환자의 총산화력 증가에 긍정적 효과가 있는 것으로 보였다.

Comet assay를 통한 DNA 손상 정도 측정 : 분리된 임파구의 DNA 손상 정도를 측정하기 위해 comet assay를 시도한 결과, tail moment의 경우 평균 0.17에서 0.11로 감소하였으나 유의적인 차이는 없었으며($p=0.225$), tail length의 경우 평균 0.89 μ m에서 0.71 μ m로 유의적으로 감소하였다($p=0.043$)(Fig. 5).

이소플라본의 대사물질인 genistein은 tyrosine kinase growth signaling을 억제시킴으로써 cell에서의 apoptosis를 유발하여 DNA damage를 줄이고, 임파구 내에서 topoisomerase II를 억제한다는 보고가 발표되면서 이에 대한 많은 연구가 행해지고 있다(44-47). Miltyk 등(48)은 20명의 전립선암환자를 대상으로 genistein 300 mg/d을 4주간 섭취시킨 후에 다시 4주간 600 mg/d의 genistein을 섭취하게 하였으나, TM(tail moment)값의 감소가 유의적이지 않음을 보고하였다. Mitchell과 Collins(49)의 연구에 따르면, 건강한 남성을 대상으로 대두유를 하루에 1 L씩 4주간 섭취시킨 결과, 실험대상자의 임파구와 H₂O₂에 의해 DNA damage를 준 임파구의 경우를 비교 시, 둘 다 DNA 손상정도에 유의적인 감소를 보이지 못했다. 그러나 endonuclease III로 처리 시 DNA pyrimidine의 산화적 손상이 줄었음을 확인하였다. 이는 이소플라본의 항산화능과 관련하여 혈청의 genistein과 daidzein 농도의 증가와 연관이 있음을 보여주는 것이라 할 수 있겠다. 또한 이와 유사하게 Zora 등의 연구에서 건강한 남성을 대상으로 3주간 하루에 100 mg의 이소플라본을 섭취하게 하고 혈액에서 산화적 DNA 손상정도를 측정하는 marker인 5-hydroxymethyl-2'-deoxyuridine(5-OHmdU)를 측정 한 결과, 그 수치가 낮아졌다. 이는 Mitchell 등의 연구에서 comet assay에 의한 DNA damage의 감소와 Davis

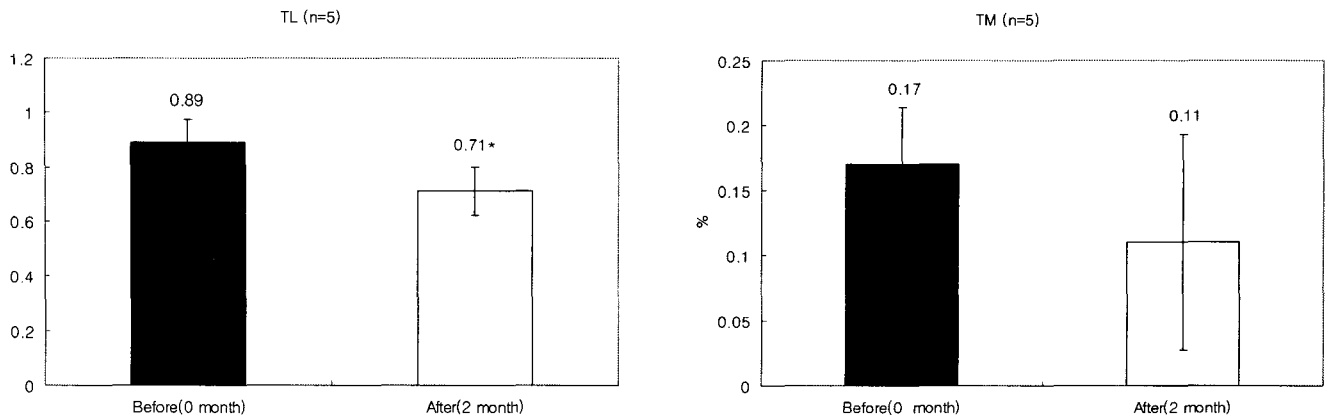


Fig. 5. Change of tail moment and tail length in prostate cancer patients before and after intervention.

*Significantly different by paired t-test at $p < 0.05$.

등의 연구에서와 같은 결과를 보이는 것이다(43,50).

요 약

본 연구에서는 전립선암 환자를 대상으로 이소플라본 보충제 섭취가 혈중 PSA 농도, 지질 패턴, 면역체계 및 항산화 체계에 미치는 영향에 대하여 검토하고자 하였다. 전립선암 환자에게 하루 150 mg의 이소플라본을 섭취시킨 결과, 이소플라본 섭취 전에 비해 소변 내 이소플라본의 배설량이 유의적으로 증가하였다. PSA(prostate specific antigen)의 경우는 이소플라본 섭취 전보다 섭취 2달 후에 약간 증가함을 보였으나 유의적인 수준은 아니었다. 이소플라본 섭취가 전립선암 환자의 혈청 지질패턴에 미치는 영향에 대한 분석결과, 총 콜레스테롤의 경우 이소플라본 섭취 시작 전에 비해 섭취 2달 후에 유의적으로 감소되었으며, LDL 콜레스테롤의 경우 이소플라본 섭취 2달 후에 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이를 보이지 않았고, HDL 콜레스테롤 수준에는 변화가 없는 것으로 나타났다. IL-6의 경우, 이소플라본 섭취 전에 비해 이소플라본 섭취 후에 수치가 감소하였고, VEGF와 TNF- α 는 이소플라본 섭취 전보다 섭취 2개월 후에 증가하였으나 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 이소플라본 섭취 전·후의 총항산화력을 TAS를 통해 측정된 결과 이소플라본 투여 전에 비해 투여 2개월 후 수치가 증가하였으나 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않았다. 또한 혈액에서 분리된 임파구의 DNA 손상 정도를 측정하기 위해 comet assay를 시도한 결과 tail moment (TM)의 경우 이소플라본 섭취 2달 후에 감소하였으나 유의적인 차이는 없었으며, tail length(TL)의 경우는 유의적으로 감소하였다. 본 연구의 제한점으로는 연구 대상자의 수가 적었으며, 실험 결과를 비교할 대조군이 없었고, 연구기간이 짧다는 것을 들 수 있다. 따라서 이번 연구에서 이소플라본이 전립선암에 기대되는 효과를 보여주기엔 미비한 점이 있었다. 그러나 본 연구결과 이소플라본은 전립선암 환자의 혈중 지질 패턴과 항산화체계를

개선시키는 효과를 보였다. 따라서 이소플라본이 지질대사에 미치는 영향과 항산화작용기전에 대한 보다 심층적인 연구가 이루어져야 할 것이며, 보다 많은 전립선암 환자를 대상으로 이소플라본 섭취에 따른 장기적인 임상실험연구가 이루어져 이소플라본이 전립선암 환자의 삶의 질을 향상시킬 수 있는 지에 대한 다각적인 검토가 필요하다고 본다.

문 헌

1. Korea National Statistical Office. 2003. Annual report on cause of death statistics.
2. Messina MJ, Persky V, Setchell KD, Barnes S. 1994. Soy intake and cancer risk: a review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr Cancer* 21: 113-131.
3. Adlercreutz H, Mazur W, Bartels P, Elomaa V, Watanabe S, Wahala K. 2000. Phytoestrogens and prostate disease. *J Nutr* 130: 658S-659S.
4. DiPaola RS, Zhang H, Lambert GH, Meeker R, Licitra E, Rafi MM. 1998. Clinical and biologic activity of an estrogenic herbal combination (PC-SPES) in prostate cancer. *N Engl J Med* 339: 785-791.
5. Affenito SG, Kerstetter J. 1999. Position of the American dietetic association and dietitians of Canada: women's health and nutrition. *J Am Diet Assoc* 99: 738-751.
6. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, Shibuya M, Fukami Y. 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 262: 5592-5595.
7. Davis JN, Muqim N, Bhuiyan M, Kucuk O, Pienta KJ, Sarkar FH. 2000. Inhibition of prostate specific antigen expression by genistein in prostate cancer cells. *Int J Oncol* 16: 1091-1097.
8. Messina MJ. 2003. Emerging evidence on the role of soy in reducing prostate cancer risk. *Nutr Rev* 61: 117-131.
9. Onozawa M, Fukuda K, Ohtani M, Akaza H, Sugimura T, Wakabayashi K. 1998. Effects of soybean isoflavones on cell growth and apoptosis of the human prostatic cancer cell line LNCaP. *Jpn J Clin Oncol* 28: 360-363.
10. Twillie DA, Eisenberger MA, Carducci MA, Hsieh WS, Kim WY, Simons JW. 1995. Interleukin-6: a candidate mediator of human prostate cancer morbidity. *Urology* 45: 542-549.

11. Drachenberg DE, Elgamal AA, Rowbotham R, Peterson M, Murphy GP. 1999. Circulating levels of interleukin-6 in patients with hormone refractory prostate cancer. *Prostate* 41: 127-133.
12. Ferrara N, Davis-Smith T. 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 18: 4-25.
13. Claffey KP, Robinson GS. 1996. Regulation of VEGF/VPF expression in tumor cells: consequences for tumor growth and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 15: 165-176.
14. Torel J, Cillard J, Cillard P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 25: 383-385.
15. Wang W, Goodman MT. 1999. Antioxidant property of dietary phenolic agents in a human LDL-oxidation ex vivo model: interaction of protein binding activity. *Nutr Res* 19: 191-202.
16. Huang MH, Harrison GG, Mohamed MM, Gornbein JA, Henning SM, Go VLW, Greendale GA. 2000. Assessing the accuracy of a food frequency questionnaire for estimating usual intake of phytoestrogens. *Nutrition and Cancer* 37: 145-154.
17. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidants status in premature neonates. *Clin Sci* 84: 407-412.
18. Miller NJ, Castelluccio C, Tijburg L, Rice-Evans C. 1996. The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters—radical scavengers or metal chelators. *FEBS Letters* 392: 40-44.
19. Rice-Evans C, Miller NJ. 1994. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 234: 279-293.
20. Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez VM, Vargas-Guadarrama LA. 1998. Niveles de antioxidantes totales en una muestra de la población gerontológica de la ciudad de México. *Bioquímica* 23: 848-855.
21. Hansen MB, Svenson M, Diamant M, Bendtzen K. 1993. High-affinity IgG autoantibodies to IL-6 in sera of normal individuals are competitive inhibitors of IL-6 in vitro. *Cytokine* 5: 72-80.
22. MacEwan DJ. 2002. TNF ligands and receptors - a matter of life and death. *British J Pharmacology* 135: 855-875.
23. Cao Y, Chen H, Zhou L, Chiang MK, Anand-Apte B, Weatherbee JA, Wang Y, Fang F, Flanagan JG, Tsang ML. 1996. Heterodimers of placenta growth factor/vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 271: 3154-3162.
24. Rojas E, Lopez MC, Valverde M. 1999. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *J Chromatography B* 722: 225-254.
25. King RA, Bursill DB. 1998. Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans. *Am J Clin Nutr* 67: 867-872.
26. Jarred RA, Keikha M, Dowling C. 2002. Induction of apoptosis in low to moderate-grade human prostate carcinoma by red clover-derived dietary isoflavones. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 1689-1696.
27. Urban D, Irwin W, Kirk M, Markiewicz MA, Myers R, Smith M, Weiss H, Grizzle WE, Barnes S. 2001. The effects of isolated soy protein in plasma biomarkers in elderly men with elevated serum prostate specific antigen. *J Urol* 165: 294-300.
28. Jenkins DJ, Kendall CW, D'Costa MA, Jackson CJ, Vidgen E, Singer W, Silverman JA, Koumbiris G, Honey J, Rao AV, Fleshner N, Klotz L. 2003. Soy consumption and phytoestrogens: effect on serum prostate specific antigen when blood lipids and oxidized low-density lipoprotein are reduced in hyperlipidemic men. *J Urol* 169: 507-511.
29. Kirk EA, Sutherland P, Wang SA, Chait A, LeBoeuf RC. 1998. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr* 128: 954-959.
30. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H, Gmeiner BM. 1997. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 2868-2874.
31. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. 1997. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res* 26: 63-70.
32. Sargeant P, Farndale RW, Sage SO. 1993. The tyrosine kinase inhibitors methyl 2,5-dihydroxycinnamate and genistein reduce thrombin-evoked tyrosine phosphorylation and Ca²⁺ entry in human platelets. *FEBS Letters* 315: 242-246.
33. Wilcox JN, Blumenthal BF. 1995. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis: potential impact of soy protein. *J Nutr* 125: 631S-638S.
34. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara S, Watanabe S, Itoh N, Shiyba M, Fukami Y. 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 262: 5592-5595.
35. Smith PC, Hobisch A, Lin DL, Culig Z, Keller ET. 2001. Interleukin-6 and prostate cancer progression. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 12: 33-40.
36. Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, Timme TL, Scardino PT, Thompson TC. 1999. Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in patients with metastatic prostatic carcinoma. *J Urol* 161: 182-187.
37. Drachenberg DE, Elgamal AA, Rowbotham R, Peterson M, Murphy GP. 1999. Circulating levels of interleukin-6 in patients with hormone refractory prostate cancer. *Prostate* 41: 127-133.
38. Jones A, Fujiyama C, Turner K, Fuggie S, Cranston D, Bicknell R, Harris AL. 2000. Elevated serum vascular endothelial growth factor in patients with hormone-escaped prostate cancer. *BJU Int* 85: 276-280.
39. Duque JLF, Loughlin KR, Adam RM. 1999. Plasma levels of vascular endothelial growth factor are increased in patients with metastatic prostate cancer. *Urology* 54: 523-527.
40. Turner K, Jones A. 2000. Vascular endothelial growth factor in prostate cancer. *Urology* 56: 183.
41. Kollermann J, Helpap B. 2001. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor Flk-1 in benign, premalignant, and malignant prostate tissue. *Am J Clin Pathol* 116: 115-121.
42. Lucia MS, Torkko KC. 2004. Inflammation as a target for prostate cancer chemoprevention: pathological and laboratory rationale. *J Urol* 171: S30-S35.
43. Davis JN, Kucuk O, Djuric Z, Sarkar FH. 2001. Soy isoflavone supplementation in healthy men prevents NF-kappa B activation by TNF-alpha in blood lymphocytes. *Free Radic Biol Med* 30: 1293-1302.
44. Li Y, Upadhyay S, Bhuiyan M, Sarkar FH. 1999. Induction of apoptosis in breast cancer cells MDA-MB-231 by genistein. *Oncogene* 18: 3166-3172.
45. Morris SM, Chen JJ, Doman OE, McGarrity LJ, Bishop ME, Manjanatha MG, Casciano DA. 1998. P53, mutation and apoptosis in genistein-exposed human lymphoblastoid cells. *Mutat Res* 405: 41-56.
46. Salti GI, Grewal S, Mehta RR, Das Gupta TK, Boddie AW, Constantinou AI. 2000. Genistein induces apoptosis and

- topoisomerase II-mediated DNA breakage in colon cancer cells. *Eur J Cancer* 36: 796-802.
47. Traganos F, Ardeli B, Halko N, Bruno S, Darzynkiewicz Z. 1992. Effects of genistein on the growth and cell cycle progression of normal human lymphocytes and human leukemic MOLT-4 and HL-60 cells. *Cancer Res* 52: 6200-6208.
48. Mityk W, Craciunescu CN, Fischer L, Jeffcoat RA, Koch MA, Lopaczynski W, Mahoney C, Jeffcoat RA, Crowell J, Paglieri J, Zeisel SH. 2003. Lack of significant genotoxicity of purified soy isoflavones (genistein, daidzein, and glycitein) in 20 patients with prostate cancer. *Am J Clin Nutr* 77: 875-882.
49. Mitchell JH, Collins AR. 1999. Effects of a soy milk supplement on plasma cholesterol levels and oxidative DNA damage in men—a pilot study. *Eur J Nutr* 38: 143-148.
50. Djuric Z, Chen G, Doerge DR, Heilbrun LK, Kucuk O. 2001. Effect of soy isoflavone supplementation on markers of oxidative stress in men and women. *Cancer Letters* 172: 1-6.

(2004년 7월 5일 접수; 2004년 9월 13일 채택)