

발 간 등 록 번 호

안내서-0773-02

국민 안전이 기준입니다

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

-전립선건강 관련-

2022. 7.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드 (전립선건강 관련)	
아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.		
등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☒ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	☐ 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☒ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서 · 안내서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☒ 지침서) ☒ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☒ 지침서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☒ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2022년 7 월 일		
담당자 확 인(부서장)		이 해 영

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 (‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2022년 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품 안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해 평가부 영양기능연구과으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422, 4428, 4429

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1		2014.12.	제정
2	안내서-0773-01	2017.6.	「식약처 지침서 등의 관리에 관한 규정」에 따른 등록 번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.)
3	안내서-0773-02	2022.7.	개정 (시험 설계 시 고려사항 등 업데이트)

※ 건강기능식품의 기능성 개요.....	1
-----------------------	---

※ 약어.....	3
-----------	---

I 서론	4
-------------	---

II 일반적 사항	4
------------------	---

1. 전립선(샘)의 구조와 전립선 비대.....	4
2. 전립선 비대 발생기전.....	8

III 기능성 시험 방법	13
----------------------	----

1. 바이오마커의 선정.....	13
2. 주요 바이오마커의 측정 방법.....	19
3. 시험 설계 시 고려사항.....	26

IV 참고문헌	32
----------------	----

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

건강기능식품법 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보 되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인 되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이
상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우
인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과
간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에
의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나
기능향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정

약 어

AR	Androgen receptor
AUA	American Urological Association
Bax	B-cell lymphoma associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BPE	Benign prostatic enlargement
BPH	Benign prostatic hyperplasia
COX	Cyclooxygenase
DHT	Dihydrotestosterone
E1	Estrone
E2	Estradiol
EGF	Epidermal growth factor
FGF	Fibroblast growth factor
H&E	Hematoxylin and eosin
17 β -HSD	17 β -hydroxysteroid dehydrogenase
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
IPSS	International Prostate Symptom Score
KGF	Keratinocyte growth factor
LUTS	Lower urinary tract symptoms
PGR	Progesterone
PI	Prostatic index
PSA	Prostate specific antigen
PVR	Post void residual
Qmax	Maximum flow rate
SRC-1	Steroid receptor coactivator-1
TGF- β	Transforming growth factor-beta
TLI	Thymidine labeling index
TNF- α	Tumor necrosis factor-alpha
TT	Testosterone
VEGF	Vascular endothelial growth factor

I 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성 원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품 안전처의 기능성(전립선건강에 도움) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성 원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II 일반적 사항

1. 전립선(샘)의 구조와 전립선 비대

(1) 전립선(샘)의 구조

전립선은 해부학적으로 샘조직과 이를 둘러싸고 있는 섬유 근육조직으로 이루어진 부속 생식샘 기관으로 성인 정상 전립선의 무게는 약 20 g 정도이다(그림 1). 전립선은 앞으로는 두덩전립선인데, 아래로는 비뇨생식기로 막에 의해 고정되어 있다. 최근에는 발생 기원을 기초로 한 McNeal의 분류가 주로 사용된다(그림 2). 이는 전립선을 중심구역(central zone), 주변구역(peripheral zone), 이행구역(transition zone), 앞섬유근지질구역(anterior fibromuscular zone)으로 분류한다.

조직학적으로 70%의 샘조직(glandular tissue)과 30%의 섬유근지질(fibromuscular stroma)로 구성되며 전립선의 샘조직은 요도를 중심으로 동심원처럼 배열되어 있고 여기에서 나온 15~30개의 전립선관이 전립선 요도에 열린다. 샘조직은 5~10%가 이행구역, 25%가 중심구역, 70%가 주변구역에 각각 분포한다.

전립선이 건강하다는 것은 전립선의 생리적 또는 병리적 변화로 인해 파생되는 여러 증상들이 발생하지 않는 것을 말한다. 이 중 전립선염이나 암의 경우는 적극적인 치료가 필요한 질환이므로 본 평가가이드의 경우는 전립선 비대를 중심으로 건강기능식품의 효능 평가에 대해 기술하고 있다.

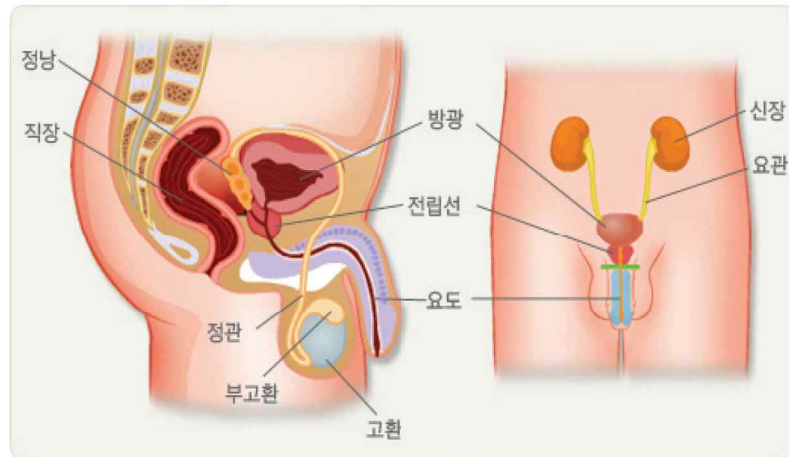


그림 1. 전립선의 구조와 위치

[출처: 질병관리본부 국가건강정보포털]

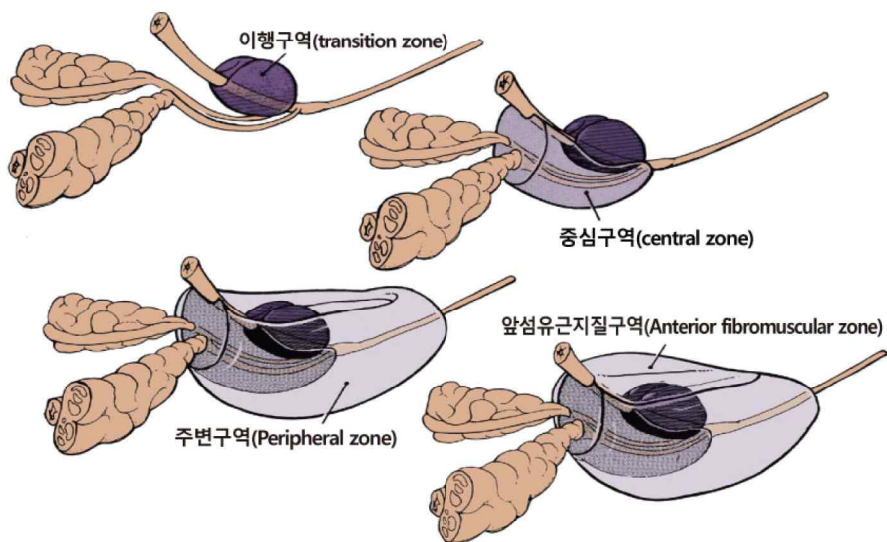


그림 2. 전립선의 구조와 McNeal의 전립선 분류

[출처: 비뇨기과학 4판]

(2) 양성 전립선 비대증(benign prostatic hyperplasia, BPH)

BPH는 전립선의 상피조직(epithelial tissue)과 기질조직(stromal tissue)이 증가한 상태를 말하며 남성에서 가장 흔한 양성 신생물이다(신생물이란 새로 생긴 이상 조직을 말하며, 양성 신생물은 악성신생물(암, 종양)과는 달리 위험도 낮은 상태를 말함). BPH는 60대 남성에서 50%, 80대 남성에서 90%에 근접하는 유병률을 보이는 질환이다. 전립선은 일생 동안 안드로겐(androgen)에 반응을 유지한다. 남성의 성기 같은 경우는 안드로겐 수용체의 발현이 청소년기 이후로 줄어들어 체내 안드로겐이 높은 수준으로 유지되더라도 성기의 성장은 멈춘다. 그러나 전립선은 나이가 증가하여도 안드로겐에 반응하여 지속적으로 성장하기 때문에 여러 가지 증상들이 생길 수 있다. 전립선이 커지면서 요로의 저항이 점점 커지고 이로 인한 부작용으로 방광의 기능이 변화한다(그림 3). 하부 요로증상(lower urinary tract symptoms, LUTS)은 양성 전립선 비대증으로 인해 불편을 겪게 되는 증상들이며, 잔뇨감(incomplete emptying), 빈뇨(frequency), 간헐뇨 (intermittency), 급박뇨(urgency), 세뇨(weak urinary stream), 복압배뇨(straining), 야간뇨(nocturia)를 포함한다(그림 4). BPH와 달리 임상적인 증상 없이 전립선 부피가 증가 된 상태는 전립선 증대(benign prostatic enlargement, BPE)라고 한다.

전립선이 비대해지더라도 방광 출구의 저항만큼 방광의 압력이 강하게 유지된다면 정상적으로 방광을 비울 수 있겠지만 일반적으로 노화로 인해 전립선이 비대해 지면서 방광, 신경계의 기능도 점점 약화하므로 하부요로 증상이 정상적인 생활과 충분한 수면을 방해하게 된다.



그림 3. 전립선비대증

[출처: 질병관리본부 국가건강정보포털]



그림 4. 전립선 비대증의 주요 증상

[출처: 질병관리본부 국가건강정보포털]

2. 전립선 비대 발생기전

전립선 비대는 전립선의 상피세포와 기질 세포의 수가 증가하는 것으로 호르몬, 세포성장과 세포사멸과의 균형, 만성 염증 등이 관여하고 각 요인들은 독립적으로 작용하지만 상호 영향을 주기도 한다.

(1) 호르몬

1970년대 성 호르몬은 BPH의 가능한 발생인자로 알려졌으며 성 호르몬 중에서도 테스토스테론(testosterone, TT), 디하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone, DHT), 프로제스테론(progesterone, PGR), 에스트로겐(estrogen)등이 많이 연구되었다.

고환의 라이디히세포(Leydig cell)에서 분비된 테스토스테론은 단순 확산에 의해 전립선 세포로 유입되고 5-알파 환원효소(5-alpha reductase)에 의해 DHT로 전환된다. DHT는 전립선에 대한 작용이 테스토스테론의 약 5배에 해당하는 안드로겐 역가를 가지고 있으며, 전립선 내 DHT의 농도는 테스토스테론의 약 2배 정도이다. 따라서 DHT의 전립선에 대한 역할은 테스토스테론의 약 10배에 해당한다고 볼 수 있다. 그러므로 테스토스테론이 DHT로 전환되면 전립선 비대를 유발하게 된다.

전립선 비대환자의 경우 혈장 내 DHT 농도가 건강한 사람에 비해 높다. 나이에 따라 혈청과 전립선 내 테스토스테론의 농도는 감소하지만 DHT 농도가 증가하는 이유는 세포 내 5-알파 환원효소의 활성이 증가하여 이에 따른 DHT 농도가 증가하기 때문이라고 한다. 그러므로 나이에 따라 테스토스테론 농도가 감소하더라도 전립선 내 DHT 농도는 큰 차이가 없다. 또한 전립선 비대환자에서 혈청과 전립선 내 DHT 농도가 증가하는 것에 대한 가능한 설명 중 하나로 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase(17 β -HSD)에 의해 5- α -androstenedione이 DHT로 전환이 있다. 17 β -HSD는 조효소로 NAD(P) H or NAD(P+)를 사용하여 알코올을 환원시키는 효소에 속한다. HSD는 3 α -, 3 β -, 11 β -, 17 β -, 20 α -HSD 의 5개형이 있다. 17 β -HSD는 estrone (E1), estradiol (E2), 5-androstene-3 β , 17 β -diol, TT, DHT 생성에 사용된다(그림 5).

에스트로겐도 전립선 비대와 관련이 있다고 보고하고 있다. 노화가 진행되는 남성에서 지방세포의 증가는 방향화효소(aromatase)의 발현을 증가시켜 에스트로겐 전환이 증가하여 유리 에스트라디올(estradiol)양이 증가하게 되고 결과적으로 혈장 내 안드로겐에 대한 에스트로겐 비율이 증가한다. 에스트로겐은 전립선 기질세포를 자극하여 전립선의 과잉증식을

가져오고 전립선 비대를 발생시킨다고 보고되어 있고, 에스트로겐은 개와 원숭이에서 전립선 성장을 유도하는 것이 관찰되었다.

DHT는 전립선 상피와 기질 세포에 존재하는 안드로겐수용체(androgenic receptor, AR)에 결합한다. 안드로겐 수용체는 전립선내 성 호르몬 수용체의 90%를 차지하고 있으며, AR-A와 AR-B 두 가지 형태가 있다. 에스트로겐 수용체로는 에스트로겐 수용체 α (estrogen receptor- α , ER α)와 에스트로겐 수용체 β (estrogen receptor- β , ER β)가 있으며, ER α 는 세포증식을 매개하나 ER β 는 세포사멸을 매개하는 반대작용을 한다. 그러므로 ER β 는 전립선의 비대를 억제하는 우호적인 작용을 할 수 있다. AR과 ER는 결과적으로 핵 안에서 전사인자와 작용하여 세포증식을 억제하거나 증식시키는데, 한 예로 전사인자 중 steroid receptor coactivator-1(SRC-1)와 결합하여 세포증식을 일으킨다.

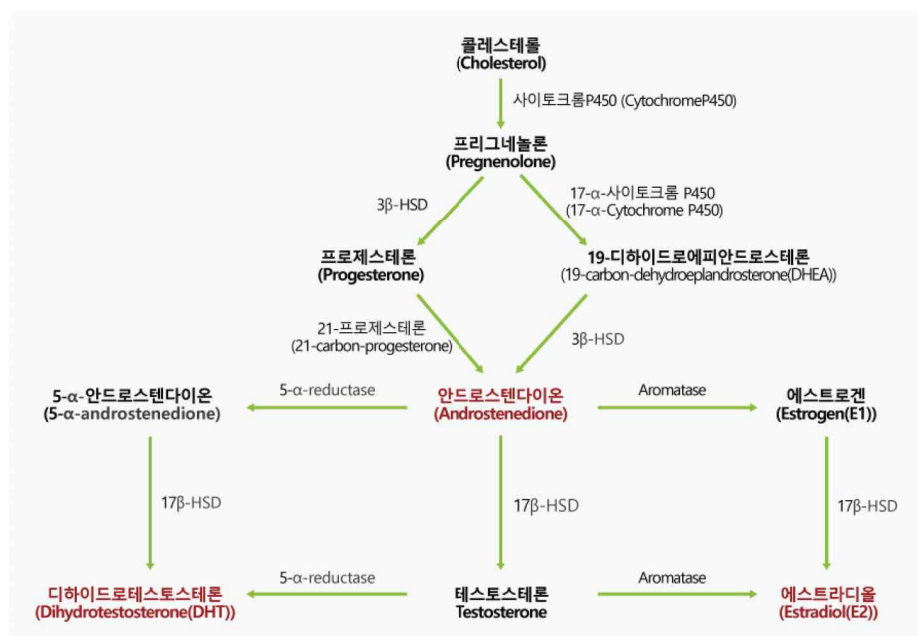


그림 5. 테스토스테론과 디하이드로테스토스테론의 전환

17β-HSD: 17β-hydroxysteroid dehydrogenase, 3β-HSD 17β-hydroxysteroid dehydrogenase

[출처: Res Rep Urol 11:1-8, 2019]

(2) 세포증식과 세포사멸 균형

전립선은 성인 크기로 성장 후에 하루에 1~2%의 세포가 증식되고 같은 수준으로 세포사멸이 일어나 세포증식과 사멸이 균형을 이루면서 일정량을 유지하게 되는데 이러한 균형이 깨지면 BPH가 일어날 수 있다. 전립선에서는 basic fibroblast growth factor(bFGF, FGF-2), acidic FGF(FGF-1), FGF-3, keratinocyte growth factor(KGF, FGF-7), transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor(EGF)등의 성장인자들이 발견된다. FGF-1, FGF-2, FGF-7, FGF-17 families, vascular endothelial growth factor(VEGF), insulin-like growth factor(IGF)과 같은 성장인자는 세포증식을 촉진하며, TGF- β 는 정상 상피세포 증식의 잠재적인 억제인자로 작용한다. 성장인자들은 상피세포와 기질세포의 세포막에 존재하는 성장인자 수용체와 결합하여 전립선의 성장을 유도한다.

그리고 전립선 기질세포와 상피세포의 세포주기도 세포분열에 영향을 줄 수 있다. Proliferating cell nuclear antigen(PCNA)는 산성의 핵 단백질로 세포주기의 G1/S phase에 대한 조직학적 지표(histological marker)로 알려져 있다. 그러므로 PCNA 발현증가는 전립선 비대과정에서 전립선 세포 증식을 반영한다.

정상 전립선에서 세포사멸 기전을 통한 세포증식과 억제의 평형을 이루게 되는데 전립선 비대에서는 세포사멸이 억제되는 것을 관찰 할 수 있다. 전립선 비대에서 감소된 세포사멸의 속도는 Bcl-2, Bax, caspase-3, -9와 같은 단백질과 세포사멸의 신호전달에 관여하는 단백질(AKT 등)의 균형 변화로 나타날 수 있다. Bcl-2(B-cell lymphoma 2)는 미토콘드리아의 내막 단백질(inner mitochondrial membrane protein)로 세포사멸을 억제하는데, Bcl-2 발현증가는 caspases를 활성화시키는 사이토크롬 c(cytochrome c)의 분비를 억제하므로 세포사멸을 억제시킨다. 전립선 비대증 환자에서 Bcl-2가 과잉발현되었다는 보고가 있다. 반면 Bax(B-cell lymphoma associated X protein)의 발현은 세포사멸을 촉진시키는 작용을 하므로 Bcl-2와 Bax의 균형이 중요한 의미를 가진다. Caspase family는 세포사멸에서 중요한 역할을 하며, caspase-3가 활성화되면 세포사멸을 유도한다.

따라서, 전립선 비대의 원인 기전으로 기질세포에서 분비된 성장인자들이 과잉으로 분비되어 상피세포 또는 기질세포의 증식이 촉진된다는 기전과 세포사멸 결함으로 인한 세포증식 억제기전의 약화에 따른 상대적 증식이 제시되고 있다. 이러한 전립선 세포의 증식과 세포사멸의 비정상적인 불균형은 전립선 성장을 유도하는 중요한 원인으로 생각되고 있다.

전립선 비대를 일으키는 요인들인 호르몬, 호르몬 수용체와 세포증식의 상호관련성은 그림 6과 같다.

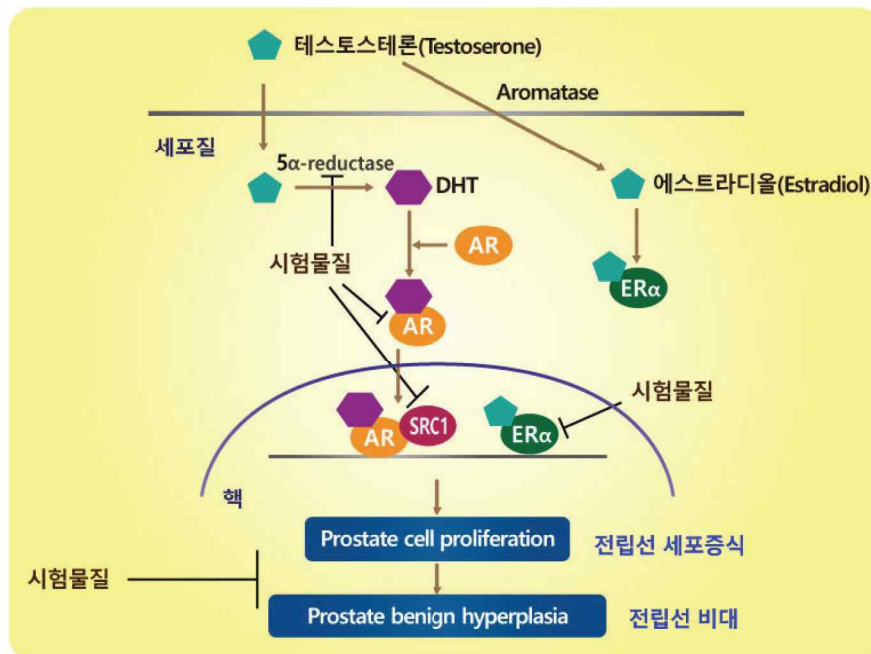


그림 6. 시험물질이 호르몬, 호르몬 수용체작용 억제에 의해 전립선 비대를 억제하는 가능한 기전

AR: androgen receptor, DHT: dihydrotestosterone, ERα: estrogen receptor alpha, SRC-1: steroid receptor coactivator-1

[출처: Res Rep Urol 11:1-8, 2019]

(3) 염증

전립선 세포 증식에서 염증의 역할이 보고되고 있다. 전립선 비대증환자의 40% 이상이 만성 염증상태를 나타낸다. 염증상태 초기에는 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)이 분비되고, 이후 성장인자 분비, 혈관신생(angiogenesis)이 일어난다. 전립선 비대를 유도한 실험동물에서 전립선에 염증이 나타나며, IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α 같은 사이토카인의 과잉발현과 관련이 있다고 보고하고 있다. IL-6은 성장인자로 작용하여 상피조직의 증식을 유발한다. TNF- α 는 COX-2 발현을 유도하며, 활성산소를 생산하고, 전립선 비대에서 중요한 과정인 기질세포의 증식과 분화를 조절한다. COX-2는 아라키돈산(arachidonic acid)으로부터 염증매개체인 프로스타글란딘(prostaglandins)을 합성하여, 세포증식을 유도하고, 세포사멸을 억제한 Bcl-2의 발현을 증가시키는 역할을 한다. 전립선 비대의 경우 전립선에서의 COX-2 mRNA 발현이 증가되었다고 보고되었다. 그러므로 염증과 전립선 세포의 증식과 사멸의 불균형간에는 상호관련성을 가진다.

III 기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 유형별 바이오마커

전립선건강 기능성을 확인하기 위한 시험관시험, 동물시험 및 인체적용시험의 바이오마커(biomarker)는 표 1을 참고할 수 있다.

표 1. 전립선건강 기능성 확인을 위한 연구유형별 바이오마커

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		in vitro	in vivo	Human
임상적 증상	국제 전립선 증상점수(IPSS)			○
배뇨 관련 인자	요속검사(Qmax)			○
	잔뇨량(PVR)			○
전립선 지표	전립선 크기		○	○
	전립선특이 항원(PSA)		○	○
	조직학적 분석		○	
호르몬 관련 지표	5-알파 환원효소	○	○	
	테스토스테론(TT), 디하이드로테스토스테론(DHT)		○	○
	호르몬 수용체(안드로겐 수용체, 에스트로겐 수용체)	○	○	
세포증식/사멸 지표	성장인자 (FGF, TGF- β , VEGF, IGF-1 등)		○	
	세포증식 관련 단백질 (SRC-1, PCNA 등)	○	○	
	세포사멸 관련 단백질 (Bcl-2, Bax, caspase-3, caspase-9, Akt 등)	○	○	
염증 지표	COX-2	○	○	
	사이토카인 (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α 등)	○	○	

나. 바이오마커 설명

(1) 임상적 증상: 국제 전립선 증상 점수

(International Prostate Symptom Score, IPSS)

IPSS는 1992년 미국비뇨기과학회의에서 만들어졌으며, 1993년 세계보건기구가 주관한 전립선 비대증 국제자문회의에서 기본적인 검사기준으로 채택되어 역학조사나 치료효과 판정에 사용되고 있다. IPSS는 총 8개의 문항으로 이루어져 있으며, 7개 문항은 증상(잔뇨감, 빈뇨, 간헐뇨, 요절박, 약뇨, 복압배뇨, 요주저, 야간뇨)에 대한 것으로, 각 문항은 증증도에 따라 0~5점을 부여한다. 증상과 관련된 7개 문항의 총점으로 전립선 비대 정도를 mild(0~7점), moderate(8~19점), severe(20~35점)로 나눌 수 있다. 마지막 문항은 삶의 질을 측정하는 항목으로 0~6점의 점수를 부여한다. 인체적용시험에서 IPSS 점수는 1차 결과(outcome)로 사용되는 경우가 많다.

(2) 배뇨관련 인자

(가) 요속검사

요속검사는 하부요로증상을 가진 대상자의 검사에 있어서 기본검사로 추천되며 배뇨의 한 주기의 요속을 전자로 기록하는 것이다. 결과가 증상의 원인에 특이적이지는 않지만 방광 출구 폐색의 증상을 측정하는데 비침습적으로 사용되는 가장 유용한 검사이다. 최대요속(Qmax)은 전립선 비대를 확인하는데 평균요속보다 더 특이적이다. 50 mL 이상의 배뇨량을 기준으로 적어도 2번 이상 검사를 시행하는 것이 권장된다. 정상 최대 요속은 논란의 여지가 있으나 일반적으로 20~25 mL/sec이며, 최대요속은 배뇨량에 따라 변하며, 나이가 증가함에 따라 감소한다. 최대요속이 15 mL/sec 이하이면 방광출구폐색을 의심할 수 있다. 최대요속이 10 mL/sec 이하이면 방광출구폐색을 가지고 있을 확률이 더 높으며, 정상 최대요속을 보이나 하부요로증상을 호소하는 남성은 그 증상의 원인이 전립선 비대가 아닐 가능성이 높다. 인체적용시험에서 최대요속의 증가는 전립선 비대상태가 개선되었다는 것을 의미한다.

(나) 잔뇨량(post-void residual urine, PVR)

배뇨 후 발생하는 잔뇨는 방광근육의 수축 저하나 전립선 비대증으로 인한 폐색에 의해 영향받는다. 평상시대로 자연스럽게 소변을 본 다음 잔뇨를 측정하는데, 정상 잔뇨량은 50 mL 미만이어야 한다. 인체적용시험에서 잔뇨량의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(3) 전립선 크기

정상적인 전립선은 20 g 정도이며 전립선 크기가 증가하는 것은 전립선 비대 지표로 사용된다. 시험물질을 섭취한 동물실험이나 인체적용시험에서 전립선 크기의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(4) 전립선특이항체(prostate specific antigen, PSA)

PSA는 전립선 세포에서 생산되는 단백질이며, 전립선암(prostate cancer) 또는 다른 양성 전립선 질환으로 PSA 수치가 상승할 수 있다. PSA는 전립선암 선별검사로써의 역할을 하지만, 전립선 크기예측에도 사용된다. 혈중 PSA 수치가 전립선 크기와 관련이 있으며, 전립선 비대를 유용하게 예측할 수 있다고 보고되고 있다. 혈청 PSA의 정상범위는 0~3 ng/mL 이다. 시험물질의 섭취한 동물실험이나 인체적용시험에서 PSA 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(5) 조직학적 분석

전립선 조직이 비대해 지면서 전립선 조직의 형태학적 변화가 나타난다. 실험동물의 전립선 조직을 염색하여 전립선 비대에 따른 상피세포의 과증식, 지질 세포 확장, acinar lumen 감소 등의 형태학적 변화를 관찰한다. 시험물질의 섭취한 동물실험의 전립선 조직분석의 개선은 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(6) 호르몬 관련 지표

(가) 테스토스테론, 디하이드로테스토스테론, 5-알파 환원효소

전립선은 안드로겐 의존기관으로 전립선이 성장하고 작용 기능을 유지하기 위해서는 지속적인 안드로겐의 공급이 필요하다. 안드로겐 자체가 전립선을 성장시키지는 않으나 전립선 성장에는 안드로겐이 필요하다. 사춘기 이전에 거세되었거나 다른 유전질환으로 안드로겐의 작용과 형성이 되지 않는 경우에는 전립선 성장이 일어나지 않는다는 보고가 있다. 거세로 인해 안드로겐이 없어지면 전립선 조직 내에 급격한 세포변화가 일어나 전립선의 위축이 일어나며, 거세된 전립선 모델 쥐에게 안드로겐을 다시 보충하면 전립선이 다시 자라기 시작하는 것을 확인할 수 있다.

전립선조직에서 테스토스테론은 5-알파 전환효소에 의해 디하이드로테스토스테론(DHT)으로 전환되는데, DHT은 전립선조직 내 안드로겐의 90%를 구성하는 대부분의 안드로겐이다. 테스토스테론과 DHT은 전립선조직에서 안드로겐 수용체(AR)와 결합하는데 DHT가 테스토스테론 보다 수용체에 대한 친화도가 높다. 그러므로 5-알파 환원효소를 억제하는 것은 전립선 내 테스토스테론으로부터 DHT으로 전환을 억제하여 전립선 비대를 억제할 수 있다. 전립선 비대의 치료제로 사용되는 약물인 finasteride와 dutasteride는 5-알파 환원효소 억제제로 작용한다. 시험물질을 섭취한 동물실험이나 인체적용시험에서 호르몬 수치의 감소와 효소 발현의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(나) 호르몬 수용체(안드로겐 수용체(AR), 에스트로겐 수용체(ER))

전립선은 다른 안드로겐에 의존하는 장기들과는 달리 평생 동안 안드로겐에 반응을 유지한다. 예로 남성의 성기 같은 경우 AR의 발현은 청소년기 이후로 줄어들어 성기의 성장은 멈추게 된다. AR은 세포 내 스테로이드 결합 단백질로 안드로겐에 의해 활성화되어 세포의 활동을 조절하여 전립선의 분화, 성장, 항상성에서 중추 역할을 하며 지질세포와 상피세포 모두에서 관찰된다. 정상적인 전립선에 비해 비후된 전립선 조직에서 AR 수준 상승이 보고되고 있다. 시험물질을 섭취한 동물실험에서 AR 발현의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

에스트로겐은 전립선에 존재하며 BPH 발생에 영향을 미친다. 에스트로겐 수용체로는 $ER\alpha$ 와 $ER\beta$ 가 있으며, $ER\alpha$ 는 세포증식을 매개하나 $ER\beta$ 는 세포사멸을 매개하는 반대작용을 한다. 그러므로 $ER\beta$ 는 전립선의 비대를 억제하는 우호적인 작용을 할 수 있다. 시험물질을 섭취한 동물실험에서 $ER\alpha$ 의 발현감소, $ER\beta$ 의 발현증가는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다

(7) 세포증식/사멸 지표

(가) 성장인자

성장인자는 전립선에서 세포활동의 매개체로 세포의 분열과 분화를 자극 또는 억제하는데 정상인 조건에서는 측분비(paracrine) 기전으로 조절한다. 세포의 성장인자에 반응하는 세포들은 표면에 특정 수용체를 가지고 있으며 이는 세포표면이나 세포 내 여러 형태의 신호전달체계와 관련있다. 세포 성장인자와 스테로이드 호르몬간의 상호작용은 세포증식과 사멸의 균형을 변화시켜 전립선 성장을 일으킨다.

정상 전립선, 전립선 성장, 전립선암 조직에서 많은 성장 인자들이 발견되었다. 성장인자는 bFGF(FGF-2), acidic FGF(FGF-1), FGF-3, keratinocyte growth factor(KGF, FGF-7), transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor(EGF)가 있다. 이 중 TGF- β 는 여러 조직의 정상 상피세포에서 증식의 잠재적인 억제인자이다. 세포증식이 전립선 성장의 기전으로 작용할 때 FGF-1, FGF-2, FGF-7, FGF-17 families, vascular endothelial growth factor(VEGF), insulin-like growth factor(IGF)가 세포증식을 촉진의 역할을 할 것으로 보고 있다. 성장인자와 수용체, 그리고 스테로이드호르몬 환경은 상호의존적이라는 증거들이 많아지고 있다. 비록 정상 조직에 비교한 비후된 전립선조직에서 성장인자, 수용체의 절대적인 양에 대한 연구보고는 일정하지 않지만 성장인자는 전립선 성장의 병태생리에 일정한 역할을 할 것으로 추정된다. 시험물질을 섭취한 동물실험에서 성장인자의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다

(나) 세포증식 관련 단백질

AR과 ER는 결과적으로 핵 안에서 전사인자와 작용하여 세포증식을 억제하거나 증식시킨다. Steroid receptor coactivator-1(SRC-1)는 AR 보조물질(adjuvant)로 AR과 결합하여 세포증식에 영향을 주는 유전자의 발현을 일으킨다. 그리고 proliferating cell nuclear antigen(PCNA)는 세포주기 G1/S phase의 지표로 PCNA 발현증가는 전립선 비대과정에서 전립선 세포 증식을 반영한다. 시험물질을 섭취한 동물실험에서 세포성장과 관련된 단백질의 감소는 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다

(다) 세포사멸 관련 단백질

전립선조직의 항상성은 세포증식유도와 억제의 균형, 즉 세포증식과 사멸의 조절에 의해 이루어지게 된다. 정상 전립선 상피세포는 비후된 전립선 조직보다 세포사멸이 4배 이상 증가한다고 한다. 그러므로 세포사멸과 관련된 단백질을 측정하여 전립선 세포의 증식상태를 파악할 수 있다. Bcl-2 발현증가는 세포사멸을 억제하고 Bax와 caspases의 발현은 세포사멸을 유도한다. 또한 세포사멸 신호전달 과정에 관여하는 단백질(예:AKT)을 측정할 수 있다. 시험물질이 세포사멸에 미치는 가능한 기전은 그림 7과 같다. 시험물질을 섭취한 동물실험에서 세포사멸과 관련된 단백질의 변화에 의해 전립선 비대 상태가 개선을 평가할 수 있다.

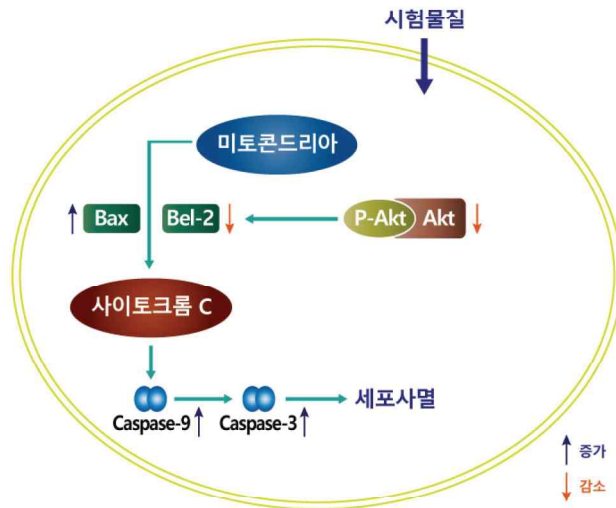


그림 7. 시험물질이 세포사멸과 관련된 가능한 기전
[출처: BMC Complement Altern Med 17;19(1):270, 2019]

(8) 염증 지표

(가) COX-2

COX-2는 염증을 유발하는 효소로 사이토카인, 활성산소종, 성장인자 등에 의해 발현이 유발된다. COX-2는 지방산인 아라키돈산(arachidonic acid)을 프로스타글란딘으로 전환시키는 효소로 프로스타글란딘은 염증을 유발하는 물질로 작용한다. 그러므로 시험물질을 섭취한 실험동물에서 COX-2의 발현이 감소되었다는 것은 프로스타글란딘의 생성이 감소되어 염증이 완화되어 전립선 비대상태가 개선됨을 의미한다.

(나) 사이토카인

염증 상태에서는 IL-1 β , IL-6, IL-8 , TNF- α 같은 사이토카인의 과잉발현이 나타난다. 그러므로 시험물질을 섭취한 실험동물에서 사이토카인의 측정하면 염증상태를 파악하여 전립선 비대 상태에 미치는 영향을 관찰할 수 있다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 임상적 증상: 국제 전립선 증상 점수

(International Prostate Symptom Score, IPSS)

하루요로 증상 측정에 가장 널리 쓰이는 설문지이다(그림 8). 증상과 관련된 7개 문항의 총 점수로 0~7점을 mild, 8~19점을 moderate, 20~35점을 severe로 판정한다. 삶의 질(QoL)에 대한 1문항은 0~6점을 부여한다.

국제 전립선 증상점수표 International Prostate Symptom Score: IPSS							
병록번호 _____	성명 _____	성별 M/F _____	나이 _____세				
평소 (지난 한 달간) 소변을 볼 때의 경우를 생각해서 대략 5번쯤 소변을 본다고 하면 몇 번이나 다음의 불편한 증상이 나타나는가를 생각해서 해당 칸에 V표시를 하여 주십시오.							
국제 전립선 증상점수표 (IPSS)							
	전혀 없음	5번 중 한 번	5번 중 1-2번	5번 중 2-3번	5번 중 3-4번	자의 항상	
1. 평소 소변을 볼 때 다 보았는데도 소변이 남아있는 것같이 느끼는 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
2. 평소 소변을 본 후 2시간 이내에 다시 소변을 보는 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
3. 평소 소변을 볼 때 소변줄기가 끊어져서 다시 힘주어 소변을 보는 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
4. 평소 소변을 참기 어려운 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
5. 평소 소변줄기가 약하다거나 가늘다고 생각한 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
6. 평소 소변을 볼 때 소변이 금방 나오지 않아서 아랫배에 힘을 주어야 하는 경우가 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
7. 평소 잠자다 일어나서 소변을 보는 경우가 하룻밤에 몇 번이나 있습니까?	0	1	2	3	4	5	
생활 만족도							
	아무 문제 없다	괜찮다	대체로 만족	만족, 불만족 반반	대체로 불만	괴롭다	견딜 수 없다
지금 소변을 보는 상태로 평생을 보낸다면 당신은 어떻게 느끼겠습니까?	0	1	2	3	4	5	6
총 증상점수 _____점				생활불편점수 _____점			
국제 전립선 증상점수표는 전립선비대증 환자의 증상을 점수로 매겨 증상의 정도를 비교·평가하는 데 사용된다.							

그림 8. 국제 전립선 증상점수표(IPSS)

[출처: J Androl 25(1):32-35, 2007]

나. 배뇨 관련 인자

(1) 요속검사

요속검사는 요로속도 측정검사라고도 하는데 검사자가 소변을 볼 때 기계를 이용하여 소변의 배출속도를 측정하여 그래프로 표시해주는 검사이다. 요속검사는 150~200 mL 정도의 소변이 방광이 있어야 하므로 검사전 2시간 정도는 소변을 참아야 정확한 결과를 얻을 수 있다.

(2) 잔뇨량(post-void residual urine, PVR)

잔뇨량 측정은 비침습적인 방법(초음파)과 침습적인 방법(요도관)으로 가능하다. 침습적인 방법이 보다 정확하지만 임상적으로 분명한 불편감, 요도손상, 요로감염, 균혈증의 위험이 있다. 정상적으로 0.09~2.24 mL의 분포를 보이며 평균 0.53 mL이다.

다. 전립선 지표

(1) 전립선 크기

동물실험의 경우 시험물질을 섭취 시킨 후 희생하여 전립선을 채취하여 무게를 측정하고 (절대 무게)와 체중에 대한 전립선 무게의 비율(prostatic index, PI)을 구한다.

인체적용시험에서 전립선 크기는 복부초음파, 경직장전립선 초음파, 전산화단층촬영과 자기공명영상(경직장전립선 자기공명영상도 포함)등으로 측정한다. 일반적으로는 경직장전립선 초음파를 시행하며, 경직장전립선 초음파검사를 시행하기 어려운 경우 복부초음파를 시행한다. 전립선크기 측정에 있어 경직장전립선 초음파의 정확성에 대하여 많은 연구가 시행되었다. 경직장전립선 초음파검사는 방광요도 내시경검사, 배설성 요로조영술, 직장수지검사 또는 요도압력검사 보다 정확성이 현저하게 높다. 직장수지검사, 방광요도내시경에 의한 전립선 크기 측정은 40 mL 이상의 전립선에서 과소 측정하는 것으로 알려져 있다.

(2) 전립선 특이항체(prostate specific antigen, PSA)

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈청과 전립선 조직, 인체의 노와 혈청에서 PSA의 양이나 단백질 발현, 유전자 발현을 측정할 수 있다. PSA 양은 실험동물의 혈청, 인체의 혈청과 노에서 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit를 이용하여 측정할 수 있다. 세포나 실험동물의 전립선에서의 단백질 발현은 전기영동법을 사용한다. 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, PSA의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 band를 정량화한다. 세포나 실험동물의 전립선에서의 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로포름을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 PSA의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(3) 조직학적 분석(histopathological examination)

시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선 조직에서 전립선의 형태학적 변화를 관찰하기 위해 조직학적 분석을 실시한다. 전립선 조직을 10% 포르말린에 고정시킨 후 파라핀에 포매하여 4 μ m 두께로 절단하여 슬라이드에 고정 시킨 후에 hematoxylin and eosin(H&E) 용액으로 염색을 한다. 상피세포의 과증식, 지질 세포 확장, acinar lumen 감소 등의 형태학적 변화를 현미경으로 관찰한다.

라. 호르몬 관련 지표

(1) 5-알파 환원효소

시험물질의 5-알파 환원효소의 억제 활성은 실험관 실험으로 측정할 수 있다. 실험 쥐의 전립선 균질액을 만든 후 테스토스테론 5-알파 환원효소 현탁액을 만든다. 이 현탁액에 시험물질, NADPH, (1,2,6,7-³H)-테스토스테론을 혼합하여 37 °C 1시간 배양한 후 liquid scintillation counter를 이용하여 ³H 방사능(radioactivity)을 측정하여 활성을 계산한다.

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈청과 전립선 조직, 인체의 혈액에서 5-알파 환원효소의 양, 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 전기영동법을 통한 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 5-알파 환원효소의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 5-알파 환원효소의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(2) 테스토스테론(TT), 디하이드로테스토스테론(DHT)

시험물질을 섭취시킨 실험동물의 혈청과 전립선 조직, 인체의 혈청에서 TT와 DHT 농도는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit를 이용하여 측정할 수 있다. 분광광도계를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 농도를 계산한다.

(3) 호르몬 수용체(안드로겐 수용체 (AR), 에스트로겐 수용체(ER))

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선 조직에서 안드로겐 수용체와 에스트로겐 수용체(α , β)의 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 전기영동법으로 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을

정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 안드로젠 수용체나 에스트로젠 수용체의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시켜 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 안드로젠 수용체나 에스트로젠 수용체(α , β)의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다

마. 세포증식/사멸 지표

(1) 성장인자

시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선 조직에서 성장인자(IGF-1, VEGF, TGF- β 1, bFGF 등)를 면역조직화학법과 단백질 발현으로 측정할 수 있다. 면역조직염색을 위해 전립선 조직을 10% 포르말린에 고정시킨 후 파리핀에 포매하여 4 μ m 두께로 절단하여에 슬라이드에 고정시킨다. 슬라이드를 goat이나 rabbit 혈청으로 10분간 반응시킨 후 개별 성장인자의 1차 항체와 반응시킨다. 이 후 2차 항체와 반응시키고, 세척 후 streptodavidin-HRP를 가한 후 PBS로 닦아내고, diaminobenzidine tetrahydrochloride substrate (DAB)로 10분간 반응시킨다. 임의로 3곳을 지정하여 염색된 부분을 측정한다. 전기영동법을 이용해 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 개별 성장인자의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다.

(2) 세포증식 관련 단백질

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선조직에서 PCNA, SRC-1등 세포증식과 관련된 단백질 발현을 측정할 수 있다. 전기영동법을 통한 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 세포증식 관련 단백질의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 개별 세포증식 관련 단백질의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(3) 세포사멸 관련 단백질

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선 조직에서 세포사멸관련 단백질(Bcl-2, Bax, caspase-3, caspase-8, Akt 등)의 단백질 발현과 유전자발현을 측정할 수 있다. 전기영동법을 이용해 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 세포사멸 관련 단백질의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 개별 세포사멸 관련 단백질의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

바. 염증 지표

(1) COX-2

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선조직에서 COX-2 단백질 발현과 유전자 발현을 측정할 수 있다. 전기영동법에 의해 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, COX-2의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 COX-2의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

(2) 사이토카인

시험물질을 처리한 세포나 시험물질을 섭취시킨 실험동물의 전립선조직에서 사이토카인의 양과 단백질 발현이나 유전자 발현으로 측정할 수 있다. 사이토카인양은 상용화된 ELISA kit로 측정할 수 있다 전기영동법에 의한 단백질 발현을 측정하기 위해 시료를 균질화한 후 상층액을 얻어 단백질을 정량한다. 일정량의 단백질을 SDS-PAGE로 분리한 후, membranes에 이동시킨다. Membranes는 skim milk나 BSA로 blocking 과정을 거친 후, 개별 사이토카인의 1차 항체를 첨가하여 반응시킨다. 그 후 2차 항체를 첨가하여 반응시킨 다음 ECL 용액으로 반응시켜 X-ray film에 노출시킨 다음 각각의 band를 정량화한다. 유전자발현은 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현수준을 측정할 수 있다. RT-PCR 방법으로 mRNA 발현을 측정하기 위해 시료에 Trizol을 넣어 균질기로 분쇄하여 클로로폼을 첨가한 후 혼합하여 방치 후, 원심분리한다. 원심분리 상층액을 회수하여 2-propanol을 혼합하여 방치한다. 이를 다시 원심분리한 후 80% 에탄올로 세척하여 건조시킨다. 추출한 RNA는 DEPC water에 녹여 first strand cDNA로 합성한다. 합성된 cDNA에 개별 사이토카인의 primer를 반응시켜 타겟 유전자를 증폭시킨 후, 유전자 발현량을 분석한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관 시험

(1) 시험계

인체 정상 전립선 상피세포(RWPE-1, BPH-1), 인체 정상 전립선 기질세포(WPMY-1), 인체 BPH 세포, 인체 전립선 암세포(LNCaP, PC3)가 사용된다. 세포를 DHT와 함께 배양하여 전립선 비대 모델을 만들어 실험한다. 또한 실험동물의 전립선을 채취하여 조직을 분리하거나 균질액을 만들어 시험관 시험의 시료로 사용할 수 있다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사 경로에 위치하고 있는 바이오마커를 측정한다.

(3) 통계처리

시험결과를 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

나. 동물시험

(1) 실험동물

개와 침팬지에서 전립선 비대증이 나타나고, 개는 인간과 같이 유일하게 나이가 증가함에 따라 자발적인 전립선 비대가 발생한다. 그러나 개나 침팬지를 실험동물로 사용하기에는 어려움이 있어 설치류를 많이 사용한다. 그러나 설치류는 인체 전립선과는 해부학적으로 차이가 있으므로 설치류를 이용한 동물실험 결과를 인체에 직접적으로 적용하는 주의가 필요하다. 다음과 같은 동물모델이 사용된다(표 2).

표 2. 전립선 비대 동물모델

동물모델	내용
호르몬 유발 전립선 비대 모델	호르몬 투여로 전립선 비대를 유도한다 (실험 디자인 예시) 1군 대조군(sham operation): vehicle 피하주사 + 정제수 경구투여 2군 BPH 대조군(고환절제): 테스토스테론 피하주사 + 정제수 경구투여 3군 BPH 양성대조군(고환절제): 테스토스테론 피하주사+치료약물 경구투여 4군 BPH 실험군(고환절제): 테스토스테론 피하주사+시험물질 경구투여
Transgenic knock-out, knock-in mouse 모델	• 15-LOX-2 transgenic mouse • PPAR γ knock-not mouse
Nonobese diabetic 마우스 모델	자가면역(autoimmune) 인슐린 의존형 당뇨병을 일으키면, 전립선에서 염증이 생기고 전립선의 비대가 유도된다
Non inflamed non obese diabetic/severe combine immune deficiency 동물모델	당뇨병과 면역결핍상태가 함께 나타나면 전립선 상피세포의 증식이 나타나 전립선 비대가 유도된다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위해 바이오마커를 측정한다. 한 가지 지표의 변화 보다는
기전에 따른 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

다. 인체적용시험

(1) 시험대상

인체적용시험의 대상자의 선정/배제기준은 원료의 특징과 작용 기전에 따라 인체적용시험 IRB 승인 시 구체적으로 결정할 수 있다. 본 평가 가이드는 인체적용시험의 선정/배제기준을 설정 시 고려되어야 할 사항을 예시로 제공하고 있다.

(가) 시험대상자(예시)

- 만 40세 이상, 만 75세 이하의 남성
- IPSS 점수: 8점~19범위에 해당하는 자
- 인체적용시험에 참여를 동의한 자

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 전립선 관련 지표
 - 혈중 PSA (prostate specific antigen) 농도: ≥ 4.0 ng/mL
 - 최대 배뇨속도: < 5 mL/초
 - 잔뇨량: > 150 mL
- 질병 상태
 - 임상적으로 유의한 급성 또는 만성 심뇌혈관계, 면역계, 호흡기계, 간담도계, 신장 및 비뇨기계, 신경계, 근골격계 질환, 정신성, 감염성 및 혈액·종양성 질환 등으로 현재 치료 중인 자
 - 전립선 수술을 포함한 비뇨생식기 관련 수술, 기타 전립선 치료를 위한 침습성 시술을 받은 자(경요도 침소작술, 전립선레이저치료 등), 전립선염증, 요로감염증, 급성요폐, 신경인성 방광증, 방광종양, 요로결석, 요도협착, 방광경부구축, 하부요로의(방광, 요도)염증, 요로결핵, 전립선암 혹은 방광암 진단받은 자
 - 담관폐쇄, 당뇨병종을 포함한 당뇨병, 장폐색증, 담석이 있는 자
 - 조절되지 않는 고혈압 환자(SBP > 160 mmHg 또는 DBP > 100 mmHg)
 - 조절되지 않는 당뇨병 환자(HbA1c 10 %를 초과하고, 공복 혈당이 180 mg/dL 이상 또는 3개월 이내에 당뇨병으로 인해 약제를 새로 시작한 경우)
 - 갑상선 질환이 있는 자
- 약물복용
 - 항-androgens과 LH-RH analog 복용자

- 전립성 비대 약물(5-알파환원효소억제제, 알파차단제, 항콜린제, 베타-3 작용제, 항무스카린 제제) 및 전립선건강 관련 건강기능식품을 복용한 자
- 다음과 같은 약물을 복용하고 있는 자(NSAIDs corticosteroids, antibiotics by systemic route, mepartiricine, ACE inhibitors, calcium antagonists, diuretics, sympathomimetics, antihistamines, antidepressants (anticholinergic), atropine, antispasmodic drugs, antiparkinsonism drugs, pseudoephedrine, chlorpheniramine, or spironolactone)

○ 알레르기

- 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자

○ 기타

- 최근 3개월 내 다른 임상 실험 참가자
- 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 사람

(2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

(3) 바이오마커

기능성 내용을 확인할 수 있는 전립선건강 관련 바이오마커의 변화를 측정한다. 바이오마커는 기전별로 다양한 지표들이 포함되어 있기 때문에 연구 목적에 부합하는 추측 기전을 선정하고, 관련된 바이오마커의 결과에 일관성이 나타나야 한다(Ⅲ. 기능성 시험방법 1. 가. 연구유형별 바이오마커 참고).

(4) 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가 기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석결과에 사용된 통계분석방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계분석방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술하도록 한다.

1. 종속변수가 범주형일 경우

- 범주형 변수는 크게 명목 척도와 순위 척도로 구분할 수 있음
 - 명목 척도 : 성별, 국가, 흡연 여부 등 연속되지 않으며 범주 간 서열이 존재하지 않는 범주형 척도
 - 순위 척도 : 질병의 병기(1기, 2기, 3기) 등 연속되지 않으나 범주 간 서열이 존재하는 범주형 척도
- 연속형 변수는 수치화된 변수로 연속성이 있으며, 평균, 표준편차 등을 계산할 수 있는 변수임

1.1. Chi-square test

- 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨
 - * 빈도가 5 미만인 항목이 있는 경우 Fisher's exact test를 사용

1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

※ 연구 내 비교군이 2개(대조군, 시험군)일 경우 사용되는 분석 모델임

2.1. Paired T-test : 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 군 내의 전후 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용됨

2.2. Independent T-test : 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨

2.2.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 두 군간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포*를 따르지 않는 경우 사용됨

2.3. Linear mixed effect model

- 유효성 평가 지표 측정 시점이 3회 이상일 경우 사용할 수 있음*

* 방문 시점 간의 공분산 구조(covariance structure)를 결정하여 분석에 적용할 수 있는 모델이며, 효과의 크기(slope), linear function의 절편(intercept) 등의 방문시점, 대상자 등에 따른 고정효과(fixed effect) 또는 무작위효과(random effect)의 여부를 결정하여 model안에 혼합(mixed effect)하여 적용할 수 있음

3. 종속변수가 연속형일 경우 AND 비교군이 3개 이상일 경우

※ 연구 내 비교군이 3개(대조군, 시험군1, 시험군2 등)일 경우 사용되는 분석 모델임

3.1. ANOVA(Analysis of variance) : 군 간의 차이를 비교할 때 사용

3.2. Kruskal Wallis test : 군 간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용

※ 변수 분포의 정규성 검정

- 정규성 검정 방법은 Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test 등의 방법으로 검정할 수 있음. 일반적으로 p value가 0.05 미만일 경우, 정규분포를 따르지 않는 것으로 판단함. 그러나 현실에서 해당 기준에서 정규분포를 따르는 경우가 많지 않으므로, p value가 0.05 이상이라도 marginal한 p value를 확인하거나 Q-Q plot을 육안으로 확인하는 등 연구자가 자의적으로 정규분포를 따르는 것으로 판단할 수 있음
- 군 당 sample size가 30 이상인 경우, 중심극한정리를 이용하여 정규성을 가정하는 경우가 있음. 그러나 중심극한정리는 표본집단이 대표하는 모집단이 무한모집단이라는 가정 하에 사용됨. 즉, 모집단에 대한 가정이 불확실한 경우 또는 유한모집단인 경우가 있으므로 군 당 sample size가 30 이상이라고 해도 정규성 검정이 필요할 수 있음. 또한 30명이라는 기준은 연구자가 임의적으로 설정한 것임을 고려하여 절대적인 기준이 되지 않을 수 있음

4. 교란변수 보정이 필요한 경우

- Randomized Clinical Trial(중재연구)은 randomization을 통해 대상자가 군에 배정되므로, 교란변수를 통제할 수 있는 설계의 연구임. 그러나 우연에 의해 baseline의 특성이 군 간 차이를 보이는 경우가 발생할 수 있음. 이럴 경우, 연구자는 해당 변수를 공변량(covariate)으로 model에 포함시켜 분석할 수 있음. 그러나 가능할 경우, randomization block으로 생성하여 randomization 단계에서 층화무작위배정 등으로 미리 불균형을 방지하는 것이 바람직할 수 있음

4.1. ANCOVA

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4.2. Linear mixed effect model

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

IV 참고문헌

1. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전처 고시 제2020-12호, 2020
2. 건강기능식품 기능성평가 해설서, 식품의약품안전처, 2008
3. 건강기능식품 시험법 가이드(I), 식품의약품안전처, 2005
4. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
5. 권미진, 조영호. 전립선 비대증 세포 사멸에 대한 쏘팔메토 열매추출물과 홍경천 추출물의 복합 효과. KBSS J 34(4):338-345, 2019
6. 김중경, 김진범, 송민선. 전립선비대증 환자의 하부요로증상의 증증도에 따른 생리학적 지수 및 불안, 우울. J Korean Biol Nurs Sci 18(3):127-134, 2016
7. 대한배뇨장애요실금 학회. 과민성방광진료지침서 (3판), 2016
8. 대한비뇨기과학회, 대한가정학회, 대한배뇨장애요실금학회. 전립선비대증 진료권고안. 2015
9. Adaramoye OA, Oladipo TD, Akanni OO, Abiola OJ. Hexane fraction of *Annona muricata* (Sour sop) seed ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats. Biomed Pharmacother 111:403-413, 2019
10. Al-Shukri1 SH, Deschaseaux P, Kuzmin IV, Amdiy RR. Early urodynamic effects of the lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon1) in patients with lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia. Prostate Cancer Prostatic Dis 3(3):195-199, 2000
11. Altavilla D, Minutoli L, Polito F, Irrera N, Arena S, Magno C, Rinaldi M, Burnett BP, Squadrito F, Bitto A. Effects of flavocoxid, a dual inhibitor of COX and 5-lipoxygenase enzymes, on benign prostatic hyperplasia. Br J Pharmacol 167:95-108, 2012
12. Aron LT, Franco OE, Hayward SW. Review of prostate anatomy and embryology and the etiology of benign prostatic hyperplasia. Urol Clin N Am 43:279-288, 2016

13. Bent S, Kane C, Shinohara K, Neuhaus J, Hudes ES, Goldberg H, Avins AL. Saw palmetto for benign prostatic hyperplasia. *N Engl J Med* 354:557-566, 2006
14. Boeri L, Capogrosso P, Ventimiglia E, Cazzaniga W, Pederzoli F, Moretti D, Dehò F, Montanari E, Montorsi F, Salonia A. Clinically meaningful improvements in LUTS/BPH severity in men treated with Silodosin plus hexanic extract of *Serenoa Repens* or Silodosin alone. *Sci Rep* 9:7(1):15179, 2017
15. Braeckman J, Bruhwyler J, Vandekerckhove K, Geczy J. Efficacy and safety of the extract of *Serenoa repens* in the treatment of benign prostatic hyperplasia: Therapeutic equivalence between twice and once daily dosage forms. *Phytother Res* 11:558-563, 1997
16. Braeckman J. The extract of *Serenoa Repens* in the treatment of benign prostatic hyperplasia: a multicenter open study. *Curr Ther Res* 55(7):776-785, 1994
17. Cai T, Cui Y, Yu S, Li Q, Zhou Z, Gao Z. Comparison of *Serenoa repens* with Tamsulosin in the treatment of benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *Am J Mens Health* 14(2):1557988320905407, 2020
18. Carbin BE, Larsson B, Lindahl O. Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols. *Br J Urol* 66(6):639-641, 1990
19. Carilla E, Briley M, Fauran F, Sultan C, Duvilliers C. Binding of permixon, a new treatment for prostatic benign hyperplasia, to the cytosolic androgen receptor in the rat prostate. *J Steroid Biochem* 20(1):521-523, 1984
20. Carraro JC, Raynaud JP, Koch G, Chisholm GD, Di Silverio F, Teillac P, Da Silva FC, Cauquil J, Chopin DK, Hamdy FC, Hanus M, Hauri D, Kalinteris A, Marencak J, Perier A, Perrin P. Comparison of phytotherapy (Permixon®) with finasteride in the treatment of benign prostate hyperplasia: a randomized international study of 1,098 patients. *Prostate* 29:231-240, 1996
21. Chen MF, Qi L, Li Y, Zu XB, Dai YQ, Zhang P. Icaritin induces growth inhibition and apoptosis of human prostatic smooth muscle cells in an estrogen receptor-independent manner. *Amino Acids* 38(5):1505-1513, 2010

22. Choi HM, Jung Y, Park J, Kim HL, Youn DH, Kang J, Jeong MY, Lee JH, Yang WM, Lee SG, Ahn KS, Um JY. Cinnamomi Cortex (*Cinnamomum verum*) suppresses testosterone induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 α -reductase. *Sci Rep* 23;6:31906, 2016
23. Choi YJ, Fan M, Tang Y, Yang HP, Hwang JY, Kim EK. In Vivo Effects of polymerized anthocyanin from grape skin on benign prostatic hyperplasia. *Nutrients* 14;11(10):2444, 2019
24. Choi YJ, Kim EK, Fan M, Tang Y, Hwang YJ, Sung SH. Effect of *Paecilomyces tenuipes* extract on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in sprague-dawley rats. *Int J Environ Res Public Health* 7;16(19):3764, 2019
25. Cicero AFG, Allkanjari O, Busetto GM, Cai T, Larganà G, Magri V, Perletti G, Robustelli Della Cuna FS, Russo GI, Stamatiou K, Trinchieri A, Vitalone A. Nutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Arch Ital Urol Androl* 92(3):139-152, 2019
26. Da Silva MHA, De Souza DB. Current evidence for the involvement of sex steroid receptors and sex hormones in benign prostatic hyperplasia. *Res Rep Urol* 11:1-8, 2019
27. de Lourdes Medina-Contreras JM, Mailloux-Salinas P, Colado-Velazquez JI, Gómez-Viquez NLGV, Velázquez-Espejel R, Del Carmen Susunaga-Notario A, Arias-Chávez DJ, Bravo GJ. Effect of *Serenoa Repens* on oxidative stress, inflammatory and growth factors in obese wistar rats with benign prostatic hyperplasia. *Phytother Res* 29:1525-1531, 2015
28. Elberry AA, Mufti ST, Al-Maghrabi JA, Abdel-Sattar EA, Ashour OM, Ghareib SA, Mosli HA. Anti-inflammatory and antiproliferative activities of date palm pollen (*Phoenix dactylifera*) on experimentally-induced atypical prostatic hyperplasia in rats. *J Inflamm* 8(1):40, 2011
29. Eleazu C, Eleazu K, Kalu W. Management of benign prostatic hyperplasia: Could dietary polyphenols be an alternative to existing therapies? *Front Pharmacol* 28:8:234, 2017

30. Foo KT. What is a disease? What is the disease clinical benign prostatic hyperplasia (BPH)? World J Urol 37(7):1293-1296, 2019
31. Geavlete P, Multescu R, Geavlete B. Serenoa repens extract in the treatment of benign prostatic hyperplasia. Ther Adv Urol 3(4):193-198, 2011
32. Gerber GS, Zagaja GP, Bales GT, Chodak GW, Contreras BA. Saw palmetto (*Serenoa repens*) in men with lower urinary tract symptoms: Effects on urodynamic parameters and voiding symptoms. Urology 51:1003-1007, 1998
33. Gharaee-Kermani M, Macoska JA. Promising molecular targets and biomarkers for male BPH and LUTS. Curr Urol Rep 14(6):628-637, 2013
34. Goyal A, Delves GH, Chopra MM, Lwaleed BA, Cooper AJ. Prostate cells exposed to lycopene in vitro liberate lycopene-enriched exosomes. BJU Int 98(4):907-911, 2006
35. Guzmán R, Fernández JC, Pedroso M, Fernández L, Illnait J, Mendoza S, Quiala AT, Rodríguez Z, Mena J, Rodríguez A, Campos M, Sánchez C, Alvarez Y, Jiménez G. Efficacy and tolerability of Roystonea regia lipid extract (D-004) and terazosin in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia: a 6-month study. Ther Adv Urol 11:1756287219854923, 2019
36. Hostanska K, Suter A, Melzer J, Saller R. Evaluation of cell death caused by an ethanolic extract of *Serenoa repens* fructus (Prostasan) on human carcinoma cell lines. Anticancer Res 27(2):873-881, 2007
37. Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W. The effect of extracts of the roots of the stinging nettle (*Urtica dioica*) on the interaction of SHBG with its receptor on human prostatic membranes. Planta Med 61(1):31-32, 1995
38. Hwang JH, Park SW. Prostate Artery Embolization: Treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia. J Korean Soc Radiol. 90(4):656-666, 2019
39. Jin BR, Kim IJ, Park SK, Kim MS, Lee KII, Yoon IJ, An IJ. Anti-proliferative effects of HBX-5 on progression of benign prostatic hyperplasia. Molecules 14:23(10):2638, 2018

40. Jin BR, Kim HJ, Seo JH, Kim MS, Lee KH, Yoon IJ, An HJ. HBX-6, Standardized *Cornus officinalis* and *Psoralea corylifolia* L. extracts, suppresses benign prostate hyperplasia by attenuating E2F1 activation. *Molecules* 2;24(9):1719, 2019
41. Ju JY, Chung KS, Cheon SY, An HJ. Musulju improves benign prostatic hyperplasia by regulating inflammatory and apoptotic proteins. *Mol Med Rep* 14(5):4692-4698, 2016
42. Jun JEJ, Kinkade A, Tung ACH, Tejani AM. 5 α -Reductase inhibitors for treatment of benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *Can J Hosp Pharm* 70(2):113-119, 2017
43. Jarred RA, McPherson SJ, Jones ME, Simpson ER, Risbridger GP. Anti-androgenic action by red clover-derived dietary isoflavones reduces non-malignant prostate enlargement in aromatase knockout (ArKo) mice. *Prostate* 56(1):54-64, 2003
44. Kwon Y. Use of saw palmetto (*Serenoa repens*) extract for benign prostatic hyperplasia. *Food Sci Biotechnol* 28(6):1599-1606, 2019
45. Kim S, Kim YU, Ma E. Synthesis and 5 α -reductase inhibitory activity of c(2)(1) steroids having 1,4-diene or 4,6-diene 20-ones and 4-azasteroid 20-oximes. *Molecules* 17:355-368, 2011
46. Kim SK, Seok H, Park HJ, Jeon HS, Kang SW, Lee BC, Yi J, Song SY, Lee SH, Kim YO, Chung JH. Inhibitory effect of curcumin on testosterone induced benign prostatic hyperplasia rat.
47. *BMC Complement Altern Med* 22:15:380, 2015
48. Kim YU, Son HK, Song HK, Ahn MJ, Lee SS, Lee SK. Inhibition of 5 α -reductase activity by diaryl heptanoids from *Alpinia officinarum*. *Planta Med* 69(1):72-74, 2003
49. Lee G, Shin J, Choi H, Jo A, Pan S, Bae D, Lee Y, Choi C. *Cynanchum wilfordii* ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating 5 α -reductase and androgen receptor activities in a rat model. *Nutrients* 27;9(10):1070, 2017

50. Leibbrand M, Siefer S, Schön C, Perrinjaquet-Moccetti T, Kompek A, Csernich A, Bucar F, Kreuter MH. Effects of an oil-free hydroethanolic pumpkin seed extract on symptom frequency and severity in men with benign prostatic hyperplasia: A pilot study in humans. *J Med Food* 22(6):551-559, 2019
51. Lim KB. Epidemiology of clinical benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol* 4:148-151, 2017
52. Lim SN, Lee WW, Lee DS, Nam IJ, Yun NY, Jeong YS, Rho TW, Kim SY. Botanical formulation HX109 ameliorates TP-induced benign prostate hyperplasia in rat model and inhibits androgen receptor signaling by upregulating Ca²⁺/CaMKK and ATF3 in LNCaP cells. *Nutrients* 10:1946, 2018
53. Lopatkin N, Sivkov A, Walther C, Schlaefke S, Medvedev A, Avdeichuk J, Golubev G, Melnik K, Elenberger N, Engelmann U. Long-term efficacy and safety of a combination of sabal and urtica extract for lower urinary tract symptoms—a placebo-controlled, double-blind, multicenter trial. *World J Urol* 23:139-146, 2005
54. Marks LS, Partin AW, Epstein JI, Tyler VE, Simon I, Macairan ML, Chan TL, Dorey FJ, Garriss JB, Veltri RW, Santos PB, Stonebrook KA, deKernion JB. Effects of a saw palmetto herbal blend in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 163(5):1451-1416, 2000
55. Matsumoto S, Hanai T, Matsui T, Oka M, Tanaka M, Uemura H. Eviprostat suppresses urinary oxidative stress in a rabbit model of partial bladder outlet obstruction and in patients with benign prostatic hyperplasia. *Phytother Res* 24(2):301-303, 2010
56. McConnell JD, Barry MJ, Bruskewitz RC. Benign prostatic hyperplasia: Diagnosis and treatment. Clinical Practice Guideline No. 8, AHCPR Publication No. 94-0582.
57. Mitropoulos D, Kyroudi A, Zervas A, Papadoukakis S, Giannopoulos A, Kittas C, Karayannacos P. In vivo effect of the lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on mast cell accumulation and glandular epithelium trophism in the rat prostate. *World J Urol* 19:457-461. 2002

58. McNicholas T, Kirby R. Benign Prostatic Hyperplasia and Male Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS). *BMJ Clin Evid* 26:2011:1801, 2011
59. Morgia G, Vespasiani G, Pareo RM, Voce S, Madonia M, Carini, Ingrassia A, Terrone C, Gentile M, Carrino M, Giannantoni A, Blefari F, Arnone S, Santelli G, Russo GI, SPRITE investigators. *Serenoa repens* + selenium + lycopene vs tadalafil 5 mg for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic obstruction: a Phase IV, non-inferiority, open-label, clinical study (SPRITE study). *BJU Int.* 122(2):317-325, 2018
60. Pais P, Villar A, Rull S. Determination of the potency of a novel saw palmetto supercritical CO₂ extract (SPSE) for 5 α -reductase isoform II inhibition using a cell-free in vitro test system. *Res Rep Urol* 21:8:41-49, 2016
61. Papaioannou M, Schleich S, Roell D, Schubert U, Tanner T, Claessens F, Matusch R, Baniahmad, A. NBBS isolated from *Pygeum africanum* bark exhibits androgen antagonistic activity, inhibits AR nuclear translocation and prostate cancer cell growth. *Invest New Drug* 28(6):729-743, 2010
62. Park BK, Kim CW, Kwon JE, Negi M, Koo YT, Lee SH, Baek DH, Noh YH, Kang SC. Effects of *Lespedeza Cuneata* aqueous extract on testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Pharm Biol* 57(1):90-98, 2019
63. Park HK, Kim SK, Lee SW, Chung JH, Lee BC, Na SW, Park CG, Kim YO. A herbal formula, comprising *Panax ginseng* and bee-pollen, inhibits development of testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in male Wistar rats. *Saudi J Biol Sci* 24(7):1555-1561, 2017
64. Park HS, Seo CS, Wijerathne CU, Jeong HY, Moon OS, Seo YW, Won YS, Son HY, Lim JH, Kwun HJ. Effect of *Veratrum maackii* on testosterone propionate-induced benign prostatic hyperplasia in rats. *Biol Pharm Bul* 42(1):1-9, 2019
65. Paubert-Braquet M, Cousse H, Raynaud JP, Mencia-Huerta JM, Braquet P. Effect of the lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) and its major components on basic fibroblast growth factor-induced proliferation of cultures of human prostate biopsies. *Eur Urol* 33:340-347, 1998

66. Paubert-Braquet M, Mencia Huerta JM, Cousse H, Braquet P.M. Paubert-Braquet, J.-M. Mencia Huerta, H. COUSSE, P. Braquet. Effect of the lipidic lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on the ionophore A23187. stimulated production of leukotriene B₄ (LTB₄) from human polymorphonuclear neutrophils. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 57(3):299-304, 1997
67. Pytel YA, Vinarov A, Lopatkin N, Sivkov A, Gorilovsky L, Raynaud JP. Long term clinical and biological effects of the lipidosterolic extract of *serenoa repens* in patients with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Adv Ther* 19(6):297-306, 2002
68. Ren GF, Huang YM. Inhibitive effect of soybean isoflavone on prostate hyperplasia in rats. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 28(4):343-346, 2003
25. Yang, A. Ren, G. Tang, L. Jiang, W. Effects of soy bean isoflavone on inhibition of benign prostatic hyperplasia and the expressions of NO and NOS of rats. *Wei Sheng Yan Jiu*, 38(2):172-174. (2009)
69. Shenouda NS, Sakla MS, Newton LG, Besch-Williford C, Greenberg NM, MacDonald RS, Lubahn DB. Phytosterol *Pygeum africanum* regulates prostate cancer in vitro and in vivo. *Endocrine*. 31:72-81, 2007
70. Sirab N, Robert G, Fasolo V, Descazeaud A, Vacherot F, de la Taille A, Terry S. Lipidosterolic extract of *serenoa repens* modulates the expression of inflammation related-genes in benign prostatic hyperplasia epithelial and stromal cells. *Int J. Mol. Sci* 14:14301-14320, 2013
71. Soèkeland J. Combined sabal and urtica extract compared with finasteride in men with benign prostatic hyperplasia: analysis of prostate volume and therapeutic outcome. *BJU Int* 86:439-442, 2000
72. Song J, Lee SH, Kim H. Efficacy and safety of HT080 for lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia: A study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Medicine (Baltimore)* 98(45):e17848, 2019

73. Stranda DW, Costab DN, Francisc F, Ricked WA, Roehrborn CG. Keehn A. Targeting phenotypic heterogeneity in benign prostatic hyperplasia. *Differentiation* 96:49-61, 2017
74. Sudeep HV, Venkatakrishna K, Amrutharaj B, Anitha, Shyamprasad K. A phytosterol-enriched saw palmetto supercritical CO₂ extract ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating the inflammatory and apoptotic proteins in a rat model.
75. *BMC Complement Altern Med* 17:19(1):270, 2019
76. Sun H, Li TJ, Sun LN, Qiu Y, Huang BB, Yi B, Chen WS. Inhibitory effect of traditional Chinese medicine Zi-Shen Pill on benign prostatic hyperplasia in rats. *J. Ethnopharmacol* 115(2):203-208, 2008
77. Talpur N, Echard B, Bagchi D, Bagchi M, Preuss HG. Comparison of Saw Palmetto (extract and whole berry) and Cernitin on prostate growth in rats. *Mol Cell Biochem* 250(1-2):21-26, 2003
78. Vacherot F, Azzouz M, Gil-Diez-De-Medina S, Colombel M, De La Taille A, Lefrère Belda MA, Abbou CC, Raynaud JP, Chopin DK. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by the lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* (LSEsr, Permixon) in benign prostatic hyperplasia *Prostate* 45:259-266, 2000
79. Vahlensieck W, Theurer C, Pfitzer E, Patz B, Banik N, Engelmann U. Effects of pumpkin seed in men with lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia in the one-year, randomized, placebo-controlled GRANU Study. *Urol Int* 94(3):286-295, 2015
80. Van Coppenolle F, Le Bourhis X, Carpentier F, Delaby G, Cousse H, Raynaud JP, Dupouy JP, Prevarskaya N. Pharmacological effects of the lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on rat prostate hyperplasia induced by hyperprolactinemia: comparison with finasteride. *Prostate* 43(1):49-58, 2000

81. Vela-Navarrete R, Alcaraz A, Rodríguez-Antolín A, López BM⁴, Fernández-Gómez JM, Angulo JC, Díaz DC, Romero-Otero J, Brenes FJ, Carballido J, García JMM, Ledesma AF, Olmos JMC, Dalmau JM, Cachinero IS, Herdman M, Ficarra V. Efficacy and safety of a hexanic extract of *Serenoa repens* (Permixon[®]) for the treatment of lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia (LUTS/BPH): systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studie. *BJU Int* 122(6):1049-1065, 2018
82. Vela Navarrete R, Garcia Cardoso JV, Barat A, Manzarbeitia F, López Farré A. BPH and inflammation: pharmacological effects of Permixon on histological and molecular inflammatory markers. Results of a double blind pilot clinical assay. *Eur Urol* 44:549-555, 2003
83. Vitalone A, Bordi F, Baldazzi C, Mazzanti G, Saso L, Tita B. Anti-proliferative effect on a prostatic epithelial cell line (PZHPV-7) by *Epilobium angustifolium* L. *Farmaco* 56(5-7):483-489, 2001
84. Vuichoud C, Loughlin KR. Benign prostatic hyperplasia: epidemiology, economics and evaluation. *Can J Urol* 22(suppl1):1-6, 2015
85. Weisser H, Tunn S, Behnke B, Krieg M. Effects of the sabal serrulata extract IDS 89 and its subfractions on 5 alpha reductase activity in human benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 28:300, 1996
86. Wu GX, Lin YX, Ou MR, Tan DF. An experimental study (II) on the inhibition of prostatic hyperplasia by extract of seeds of *Brassica alba*. *Zhongguo Zhong Yao ZaZhi* 28(7):643-646, 2003

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 전립선건강 관련 -

발 행 인 : 서경원

편 집 위 원 장 : 윤혜정

편 집 위 원 : 이혜영, 윤태형, 권광일, 서은채, 이유경, 고경욱, 정유경,
홍은경, 김규현, 이미영, 안정선, 최정호, 이세윤, 이민아

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2022년 7월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과
(043-719-4402, 4409, 4416, 4417, 4419, 4422,
4428, 4429)



건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY
www.mfds.go.kr



【공직자 부조리 및 공익신고안내】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담” 코너