

각종 인체 암조직의 당의 산화경로 분석

서울대학교 의과대학 생리학교실

李 鳳 基 · 李 相 敦

Abstract==

Oxidative Pathway of C¹⁴-glucose in Various Human Cancer Tissues

Bong Kee Lee and Sang Don Lee

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Tissue homogenates of 12 kinds of human cancer tissues were incubated separately in medium containing C¹⁴-1-glucose and C¹⁴-6-glucose as a substrate in order to observe the oxidative pathway of glucose in the tumor tissues. At the end of 3 hours incubation in the Dubnuff metabolic shaking incubator, respiratory CO₂ samples trapped by alkaling which was placed in the center well of incubation flask were analyzed for total CO₂ production rates and their radioactivities. The tissue homogenate samples after incubation were analyzed for their concentrations of glucose, lactate and pyruvate. Calculations were made on the glucose consumption rate and accumulation rates of lactate and pyruvate. Fractionation of oxidative pathway of glucose was carried out by calculating C¹⁴O₂ yields from C-1 and C-6 carbon of glucose. The following results were obtained.

1. In 12 kinds of human cancer, total CO₂ production rates were less than 8μM/gm except 2 cases. These lower values impressed that oxidative metabolism in the tumor tissues generally inhibited as compared with that in normal tissues. On the other hand, fractions of CO₂ derived from glucose to total CO₂ production rates (RSA) were less than 10% in every case. These facts showed that oxidation of glucose into CO₂ was remarkably inhibited in the tumor tissues.

2. Fractions of glucose disappeared into CO₂ (RGDCO₂), lactate (RGDL), pyruvate (RGDP) to glucose consumption rates were as follows. RGDCO₂ were less than 2% in cases of in this experiment and RGDL showed more than 5% except in 2 cases. These facts showed that anaerobic degradation of glucose into 3 carbon compounds was easily proceeded but further degradation into CO₂ via the TCA cycle was greatly inhibited resulting in accumulation of lactate. There are large variation in values of RGDP in different kinds of tumor tissue but relatively higher values in RGDCO₂ were obtained in the tumor tissues as compared with those of normal tissues.

3. The oxidative pathway of glucose in tumor tissues were analyzed from the values of RSA which were obtained in C¹⁴-1 and C¹⁴-6-glucose incubation experiments. It was found that 3% of CO₂ derived from glucose were oxidized via the principal EMP-TCA cycle and the remainder were via alternate pathway such as HMP in the liver cancer and values in other cancer tissues were as follows; 4% in the tongue cancer, 6% in the colon cancer, 7% in the lung cancer, 9% in the stomach cancer, 11% in the ovarian cancer, 12% in the neck tumor, 22% in the uterine cancer, 22% in the bladder tumor, 32% in the spindle cell sarcoma and 65% in the brain tumor. These values except later 2 cases showed less than 30% which is the lowest value among the normal tissues. Even in the brain tumor in which showed highest value in the tumor group. It is reasonable to suppose that this fraction was remarkably decreased because values in normal brain tissue was more than 90%.

From the above data, it was concluded that in tumor tissues, oxidation of glucose via TCA cycle

was greatly inhibited but correlation between degree of inhibited oxidation of glucose via TCA cycle and malignancy of tumor were not clarified in this experiments.

서 론

종양조직에서 일반적으로 당의 산화대사가 억제되며 젖산축적을 초래함은 오래전에 Warburg^{1,2,3,4)} 등에 의하여 주장된바 있었고 이러한 당산화대사의 변조현상은 종양조직에서 공통적으로 볼 수 있음은 차후 Greest-ein⁵⁾ 등에 의하여 밝혀졌다. 당산화의 억제현상은 조직학적 소견 즉 종양조직에는 일반적으로 혈관분포가 적으며 모세혈관도 다른 조직과 달리 길고 팽창되어 혈액순환이 느리다는 점^{6,7)}으로 보아 순환장애로 인한 산소공급 결핍때문에 초래되는 현상이라고 설명할 수 있으며 생화학적으로도 다음과 같은 가능성을 지적할 수 있다.

젖산 축적은 첫째 당대사에 관여하는 효소계는 정상인데 불구하고 조직학적 소견에서 보듯이 종양조직은 무기성 환경하에 놓여 있으므로 무기성 해당이 촉진되어 이의 중산물인 3탄화합물이 젖산으로 환원되어 축적될 가능성과, 둘째로 생산된 젖산이 TCA 경로와 같은 기본적인 당산화경로가 억제되어 젖산 이용률이 저하되므로 축적될 가능성과, 셋째로 당의 중간대사 과정에서 무기성 대사경로를 밟아 분해된 3탄화합물이 아미노산 또는 지방산으로의 합성 또는 당원질로의 가역적 재합성과정의 억제로 젖산축적이 초래될 가능성이 있는 것이다. Lepage 등^{3,9)}의 실험에 의하면 다른 조직에 비하여 종양조직에서 무기성 대사물이 특별히 증가된 증거는 없고 정상조직과 비슷하였으므로 무기성 해당경로는 큰 영향을 받지 않는다고 한다. 그러나 상술한 둘째 가능성인 당의 기본적 산화경로가 억제된다는 증거는 Besch^{10,11)} 등의 실험 즉 C¹⁴-포도당은 주입한 후 종양조직에서 TCA 경로의 중간대사 물질을 추출하여 방사능을 측정하든 바 타 조직에 비하여 무시할 정도로 저하되고 대부분의 방사능이 젖산에 존재한다는 실험성적에서 볼 수 있을 뿐 아니라 본 교실에서도 에르릿히 복수암¹²⁾ 및 Walker²⁵⁶ 종양조직¹³⁾을 이용하여 C¹⁴-포도당 용해와 배양 하였을 때 C¹⁴O₂ 발생이 정상 타조직에 현저히 저하 하였다는 점으로 증명 할 수 있었다. 셋째 가능성인 무기성 대사로 분해된 3탄화합물이 아미노산 또는 지방산으로의 합성이 억제 된다는 점은 문등¹⁴⁾이 에르릿히 복수암을 이용하여 젖산 각 탄소에 따로 C¹⁴을 표지한 젖산 용매와 배양 하였을 때 젖산의 C-1 탄소는 상당한 양이 호흡 C¹⁴O₂로 분해되지만 C-2 및 C-3 탄소의 C¹⁴O₂로의 산화는 현저히 억제 되었음을 보고 젖산의 C-1 탄소를 제외한 2 탄소 화합물은 도리어 지방산 또는 단백질로의 합성이 촉진될 가능성을 지적한바 있

다. 따라서 이상 논의한 실험 성적을 종합하며는 종양 조직에 있어서 젖산축적은 당의 기본적인 산화경로인 TCA 경로가 억제됨은 의심할 바 없는 것이다. 일방권¹²⁾ 등은 TCA 경로가 억제 되는 정도 또는 hexose monophosphate pathway (HMP)와 같은 당의 다른 산화 경로에 대한 영향을 규명하기 위하여 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당을 이용하여 에르릿히 복수암에서 당의 산화경로를 분석한 바 포도당에서 유래된 CO₂의 7%가 기본적인 해당 경로인 EMP-TCA 경로를 밟아 산화되고 대부분의 CO₂는 포도당의 C-1 탄소가 우선적으로 산화되는 HMP와 같은 경로를 밟아 산화됨을 밝혔다. EMP-TCA 경로를 밟아 생산된 CO₂의 분율이 같은 방법으로 임등¹⁵⁾ 이 정상조직에서 측정된 값 즉 대뇌 조직에서 90%, 콩팥에서 60% 간에서 30%라는 값과 비교할 때 에르릿히 복수암의 값은 정상조직에서 가장 낮은 값을 보이는 간 조직의 값에도 미달 하므로 종양 조직에서 TCA 경로에 관련된 효소계가 억제 당함을 재 확인 할 수 있었다. 이러한 현상은 HMP 경로가 에르릿히 복수암에서 일차적으로 촉진되는지의 여부는 확실히 밝힐 수는 없었으나 전체적인 당 산화가 저하되었다는 점으로 보아 HMP 경로가 일차적으로 영향을 받는다고 보는 것 보다 기본적인 TCA 경로가 억제되므로 실제로 HMP 경로는 영향은 받지 않더라도 HMP 경로를 밟아 산화되는 분율이 증가한다고 봄이 타당할 것이다.

본 실험은 이상과 같이 TCA 산화 경로가 억제되는 현상이 종양조직에 있어서 공통적인 특징인지의 여부를 통한 산화의 억제 정도와 종양조직의 악성 정도(malignancy)의 연관성을 관찰하기 위하여 수술실에서 적출한 각종 암조직을 이용하여 시도하였다.

실험 방법

실험재료: 서울대학병원 중앙수술실에서 적출한 12종의 종양조직을 이용하였다. 각종의 종양조직의 실험 예수는 다음과 같다. 자궁경부암이 10예, 위암이 6예, 간암 및 폐암이 각각 2예, 십암, 결장암, 난소암, 경부암, 방광암, 뇌암, 유암 및 spindle cell sarcoma가 각각 1예로 총 28예였다. 본실험에서 사용한 종양조직은 조직학적으로 확인된 암조직만 사용하였다.

각실험에서 적출 직후 약 0.5~2 gm의 종양조직을 정확히 평량하고 200 mg%의 포도당 농도를 유지하는 Krebs-Ringer phosphate 완충용액(KRP, pH 7.4)으로 20 ml의 조직 균등액을 만든 다음 10 ml씩 2등분하여 용기에

따로 넣고 한 반응관에는 C¹⁴-1-포도당 저장용액 0.5 ml 를 넣어 C¹⁴-1-포도당 배양실험에 사용하고 다른 반응관의 균등액에는 C¹⁴-6-포도당 저장용액 0.5ml 를 첨가하여 C¹⁴-6-포도당 배양실험에 사용하였다.

C¹⁴-포도당 배지 : C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당(New England Nuclear Corp 제)을 각기 100 μC 씩 구입하여 이를 100 ml 의 K-R-P 용액으로 희석하여 저장 용액으로 사용하였다. 따라서 저장용액 1 ml 에는 1 μC 의 방사능이 있었다. C¹⁴-포도당 배양실험에서 조직균등액내의 C¹⁴-포도당의 방사능(specific activity : SA)은 저장용액 0.5 ml 내의 총계수(total counts)를 균등액내 포도당 탄소농도로 제하여 환산한바 5897 cpm/mgC 이었다. C¹⁴-6-포도당 배양실험에서도 같은 방법으로 균등액내 포도당의 SA 를 계산한 바 5506 cpm/mgC 이었다.

일반 실험 조작 : 수술실에서 적출한 중앙조직은 1 시간 이내에 상술한 바와 같이 균등액으로 만들어 2 등분하고 다른 반응관에 옮긴 다음 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당의 저장용액을 첨가하여 산소와 함께 Dubnuff metabolic shaker 로 38°C 항온조에서 좌우진탕을 가하면서 3 시간 동안 배양하였다.

각 배양실험에 사용한 반응관은 직경 6 cm, 높이 8 cm 의 플라스크 내 밀면 중앙에 직경 1 cm, 높이 2 cm 의 중심관을 설치한 용기를 사용하였다. 중심관에는 CO₂ 흡수제 즉 2 N NaCl 1 ml 를 넣어 중심관 주위의 조직 균등액에서 유리된 CO₂를 Na₂CO₃의 형태로 채취하였다.

배양직후 반응관은 밀폐한 채로 냉동기에 12 시간 이상 방치하여 조직에서 유리된 CO₂흡수를 완전케 한 다음 반응기 중심관 내부의 CO₂ 흡수제를 주사기로 빼내어 총 CO₂ 생산물 및 호흡 CO₂의 방사능을 측정하였다. 한편 조직 균등액의 포도당 젖산 및 초성포도당의 농도를 측정하여 포도당 소실물 젖산 및 초성포도당의 생산물을 계산하였다.

화학조작 및 방사능 측정 : 균등액내 포도당 정량에는 Somogy's¹⁶⁾ 및 Nelson¹⁷⁾의 방법을 사용하고 젖산정량에는 Barker 및 Summerson,¹⁸⁾ 초성포도산 정량에는 Friedmann 및 Haugen¹⁹⁾의 방법을 사용하였다. 총 CO₂생산물 측정에는 반응기 중심관에 Na₂CO₃로 채취된 CO₂ 사료를 BaCl₂로 정량적으로 Whatman 여과지(No. 542)에 BaCO₃로 침전시켜 BaCO₃의 중량을 측정하여 이를 BaCO₃의 분자량으로 제하여 CO₂ 생산물을 계산하고 BaCO₃표본을 그대로 이용하여 endwindow Geiger Müller Counter 로 방사능을 측정하여 호흡 CO₂의 SA 를 계산하였다. 조직균등액내 C¹⁴-1 및 C¹⁴-6-포도당의 SA 측정은 각 저장용액 1 ml 에 비방사성 포도당을 소량첨가하여 Vanslyke-Folch²⁰⁾ 방법으로 CO₂로 분해한

다음 BaCO₃로 침전시켜 endwindow Geiger Müller Counter 로 저장용액 1ml 내의 총계수를 측정하였다. Endwindow Geiger-Müller Counter 로 측정된 값은 모두 자기 흡수에 대한 교정을 하여 비교하였다.

실험성적 분석 : 포도당 흡수율, 젖산 및 초성포도산 생산물은 배양된후의 각 기질의 농도차를 측정하고 이를 배양균등액의 용적으로 승하고 다시 배양 조직 무게와 배양시간으로 나누어 μM/hr/gm 로 표시하였다.

총 CO₂발생물은 배양기내의 중심관에 흡수시킨 Na₂CO₃표본을 BaCO₃로 침전시켜 이것의 무게를 측정하고 이를 BaCO₃의 분자량, 배양시간 및 조직무게로 제하여 μM/hr/gm 로 표시하였다.

호흡 CO₂의 relative specific activity (RSA)는 배지 포도당에서 유래된 CO₂발생물의 총 CO₂발생물에 대한 분률(fraction)을 의미하며 배지 C¹⁴포도당의 SA 와 호흡 CO₂의 SA 와의 비율로 산출하였다.

배지에서 소실된 포도당이 호흡 CO₂, 젖산 및 초성포도산으로 분해된 분률 즉 relative glucose disappearance rate into CO₂(RGDco₂), RGD_L 및 RGD_P는 다음과 같이 산출하였다.

$$RGD_{CO_2} = \frac{\text{total CO}_2 \text{ prod. rate} \times \text{RSA}}{\text{glucose disappearance rate} \times 6}$$

$$RGD_L = \frac{\text{lactate appear. rate}}{\text{glucose disappear. rate} \times 2}$$

$$RGD_P = \frac{\text{pyruvate appear. rate}}{\text{glucose disappear. rate} \times 2}$$

RGDco₂ 산출공식에 있어서 분자는 포도당에서 유래된 CO₂발생물이며 1 분자의 포도당은 6 분자의 CO₂을 발생 함으로 C¹⁴-포도당에서 유래된 CO₂를 6로 제하면 CO₂로 완전산화된 포도당량을 계산하게 된다. 젖산 및 초성포도산은 포도당 1 분자에서 2 분자씩 생산됨으로 2로 나누어 젖산 및 초성포도산으로 분해된 포도당량을 산출하여 포도당 소실물과의 비율로 계산한 것이다.

포도당 산화경로 분석 : 일반 생체조직의 포도당 산화 과정은 그림 1에서 보는 바와 같이 EMP-TCA 경로에 의거한 기본적인 산화 경로와 포도당의 C-1 탄소가 우선적으로 호흡 CO₂로 산화되는 HMP 와 같은 경로를 통하여 이루어진 주지의 사실이다. C¹⁴-1-포도당 배양실험에서 얻은 호흡 CO₂의 방사능은 상술한 양경로를 밟아 산화된 C¹⁴O₂에 기인된 방사능의 총화이며 C¹⁴-6-포도당 배양실험에서 얻은 호흡 CO₂의 방사능은 오로지 EMP-TCA 경로를 밟아 유래된 C¹⁴O₂에 기인된 것이라고 가정하면 전자 배양실험에서 얻은 RSA 값은 양경로를 밟아 포도당에서 산화된 CO₂의 총 CO₂ 생산물에 대한 분률을 의미하며 후자 실험에서 측정된 RSA 는 단순히 EMP-TCA 경로에 의거한 CO₂의 분률을 의미함으로써 양

실험에서 RSA 값의 비율은 양경로를 밝아 포도당에서 유래된 총 CO₂중에서 EMP-TCA 경로를 밝아 발생한 CO₂의 분율을 의미하게 된다.

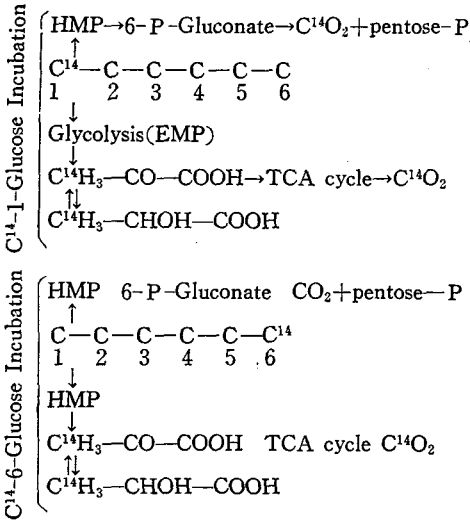


Fig. 1. Catabolic pathway of glucose

실험 성적

총 CO₂ 발생률을 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당 배양 실험에서 측정된 값의 평균으로 계산한바 각종암조직의 종류에 따라 현저한 차이가 있었다. 뇌암에서 최저값인 2.5 μM/hr/gm 을 보이고 간암, spindle cell sarcoma, 경부암, 폐암, 위암, 유암, 자궁경부암, 난소암, 방광암의 순서로 증가되었으나 모두 1.5 μM/hr/gm 미만이고 결장암에서 16.6, 설암에서 23.5 μM/hr/gm 로 후자 2 예에서 월등히 증가된 값을 보였다. 그러나 본교실에서 갈

은 방법으로 정상조직에서 측정된 값^{15,21)}에 비하면 결장암 및 설암을 제외하고 현저히 저하된 것으로 보아 암조직의 산화대사는 일반적으로 억제됨을 볼 수 있었다 (제 1 표 참조).

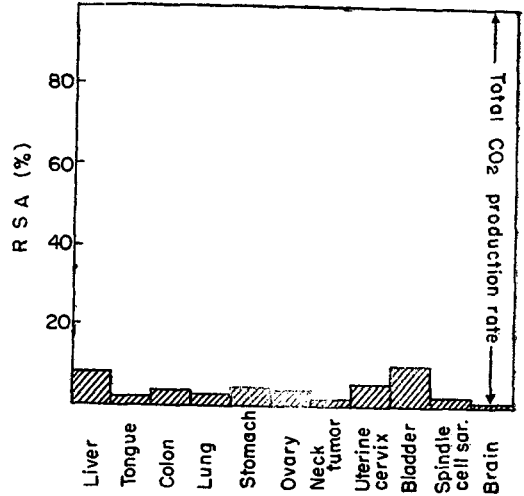


Fig. 2. Fractions of CO₂ derived from glucose to total CO₂ production rate in various cancer tissues (RSA).

증양조직에서 CO₂ 발생에 포도당이 관여하는 바를 구명하기 위하여 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당 배양실험에서 측정된 RSA 값으로부터 포도당에서 유래된 CO₂의 총 CO₂ 발생률에 대한 분율(actual RSA)을 산출한 바 제 1 표 및 제 1 도에서와 같이 폐암에서 최저 0.82%이며 방광암에서 최고값 11.74%을 보였다. 즉 12 종의 암조직에서 actual RSA 값은 모두 12% 이하에 불과하였다. 정상생체조직의 에너지 대사에서 포도당이 가장 중요한

Table 1. Glucose disappearance rate and appearance Rates of lactate and pyruvate

Tumor tissue	No. of case	Total CO ₂ Prod. Rate μM/hr/gm	RSA Actual %	CO ₂ dev. from Glucose μM/hr/gm	Glucose Disappear. Rate μM/hr/gm	Lactat. Appear. Rate μM/hr/gm	pyruvate Appear. Rate μM/hr/gm	RGDCO ₂ %	RGDL %	RGDP %	RGDT %
Liver	2	2.7	9.30	0.25		1.61	0.016				
Tongue	1	23.5	1.48	0.35	22.35	2.43	0.514	0.26	5.43	1.14	6.83
Colon	1	16.6	5.42	0.90	7.09	0.67		2.11	4.73		
Lung	2	3.9	0.82	0.03	3.20	0.43	0.005	0.16	6.65	0.56	7.37
Stomach	6	4.4	2.88	0.13	3.60	0.37	0.004	0.59	5.16	5.51	11.26
Ovary	1	5.4	4.05	0.22	4.56	0.16	0.002	0.80	1.79	0.62	3.21
Neck Tumor	1	3.2	0.85	0.03	0.77	0.30	0.002	0.59	19.47	0.25	20.31
Uterine Cervix	10	4.8	5.48	0.26	4.71	0.55	0.010	0.93	5.86	0.86	7.65
Bladder	1	7.6	11.74	0.89	6.36	1.06	0.007	2.32	8.31	0.32	10.95
Spindle Cell sarcoma	1	2.8	2.22	0.06	2.02	0.23	0.006	0.51	5.55	1.22	7.28
Brain	1	2.5	3.82	0.09	0.94	0.45	0.002	1.67	23.93	0.21	25.81
Breast	1	4.6	1.37	0.06	5.44	0.10					

위치를 차지하며 포도당의 산화 에너지를 이용하게 되는데 암조직에서 산화 에너지의 10% 내외가 포도당이 관여하고 대부분의 산화 에너지는 포도당 이외의 다른 기질로써 대치 된다는 점으로 보아 포도당산화과정이 억제됨은 물론이거니와 당대사에도 현저한 변조를 초래함을 예측할 수 있는 것이다. 따라서 포도당, 젖산 및 초성포도산 농도를 배양전후에 측정하여 이들 기질의 소실률 및 생산률을 제한하여 포도당의 중간대사 과정을 검토한 바 제 1 표에 표시된 바와 같다. 12종의 암조직에서 포도당 소실률은 뇌암에서 $0.94 \mu\text{M/hr/gm}$ 로 최저값을 보였고 설암에서 $22.35 \mu\text{M/hr/gm}$ 로 최고값을 얻었다. 젖산생산율은 유암에서 최저값이 $0.1 \mu\text{M/hr/gm}$ 이며 설암에서 최고값이 $2.43 \mu\text{M/hr/gm}$ 였다. 일반 초성포도산 생산률은 0.002에서 $0.514 \mu\text{M/hr/gm}$ 의 범위에 있었다. 즉 포도당, 젖산 및 초성포도산 소실률 또는 생산률은 암조직에 따라 절대값의 차이가 현저하여 일률적인 특성을 논하기 곤란하였으나 소실된 포도당의 호흡 CO_2 , 젖산 및 초성포도산으로 분해된 분률 즉 RGD_{CO_2} , RGD_{L} 및 RGD_{P} 값은 제 1 표 및 제 3 도에서 관찰하는 바와 같이 암조직에서 공통적인 특성을 지니고 있었다. RGD_{CO_2} 의 최고 값은 방광암의 2.32%이며 다른 암조직에서 모두 2.32%보다 작음으로 포도당이 호흡 CO_2 로의 산화과정에 관여함이 극히 적음을 지적할 수 있었다. 반면에 RGD_{L} 은 난소암을 제외하고는 모두 5% 이상이며 최고 뇌암에서 23.93%의 값을 보이는 것으로 보아 암조직에서 무기성 대사로 인하여 쉽게 3탄화합물까지는 분해 되지만 TCA 경로와 같은 유기성 대사가 현저히 억제됨을 재확인 할 수 있었다.

이상과 같이 암조직의 포도당 산화과정에서 기본적인 산화경로인 TCA 경로가 억제됨은 의심할 바 없으나

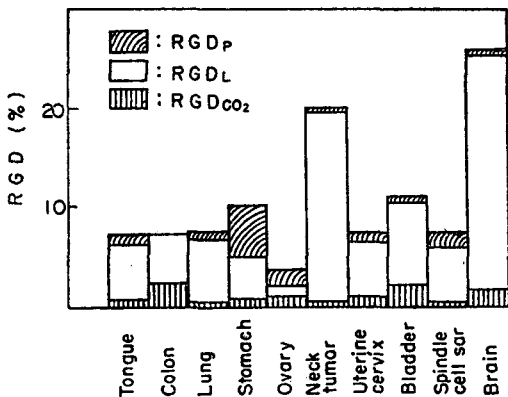


Fig 3. Relative glucose disappearance rates into CO_2 , lactate and pyruvate (RGD_{CO_2} , RGD_{L} and RGD_{P}).

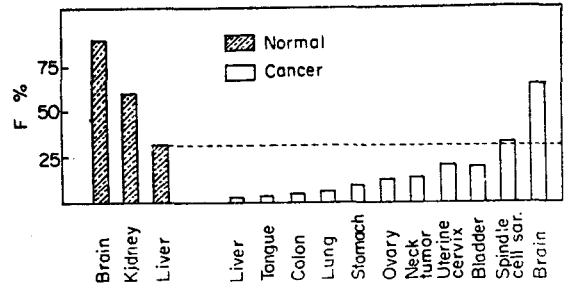


Fig. 4. Fraction of CO_2 derived from glucose via EMP-TCA cycle to total CO_2 production from glucose (F) in various cancer tissues and normal data for normal tissues were cited from Lim's thesis¹⁵⁾

HMP와 같은 다른 산화경로에 미치는 영향을 검토하기 위하여 C^{14} -1-포도당 및 C^{14} -6-포도당 배지를 따로따로 하여 동일 암조직을 2등분하여 배양하고 각배양실험에서 얻은 RSA 값으로부터 포도당의 C-1 탄소 및 C-6 탄소에서 유래되는 CO_2 발생률을 구하여 당의 산화경로를 분석한 바 제 2 표 및 제 3 도에서 보는 바와 같이 기본적인 EMP-TCA 경로를 밟아 산화된 CO_2 의 분률 (F)는 간암에서 최저값인 3%, 설암에서 4%, 결장암에서 6%, 폐암에서 7%, 위암에서 9%, 난소암에서 11%, 경부암에서 12%, 자궁경부암 및 방광암에서 22%, spindle cell sarcoma에서 32%, 뇌암에서 최고로 65%의 값을 얻었다. spindle cell sarcoma 및 뇌암을 제외하고는 모두 정상조직에서 가장 낮은 값을 보이는 간조직에서의 값¹⁵⁾ 30%보다 적다는 것으로 보아 HMP와 같은 산화경로는 암조직에서 큰 영향을 받지 않고 당으로부터의 CO_2 발생의 저하는 오로지 EMP-TCA 산화경로의 억제현상을 지적할 수 있었다. 뇌암에서 65%의 최고값을 보였으나 정상 뇌조직의 포도당산화에 있어서 90% 이상이 EMP-TCA 경로를 밟아 산화된다는 점¹⁵⁾을 참작하면 암조직에서 TCA 경로가 현저히 저하 되었다고 보는 것이 타당한 것이다. 이상 실험성적을 종합하면 각종 암조직에서 일반적으로 당의 산화과정이 억제되며 젖산축적을 초래하게 되는데 이는 기본적 산화경로인 TCA 경로가 억제됨이 원인임을 밝힐 수 있으나 HMP와 같은 다른 산화경로에는 영향을 주지 않았다.

고 찰

첫째 각종암조직의 총 CO_2 생산률을 보면 2 예를 제외하고 모두 $10 \mu\text{M/hr/gm}$ 이하의 값을 얻었다는 사실은 개개암조직의 대조군값을 얻지 못하였으므로 일률적으로 비교하기는 곤란하지만 단편적으로 정상조직의 값

Table 2. oxidative metabolism of G-1-C¹⁴ and G-6-C¹⁴ in various tumor tissues

Tumor tissue	No. of case	Total CO ₂ prod rate(μM/hr/gm)		RSA				F*
		C-1	G-2	G-1-C ¹⁴ %	G-6-C ¹⁴ %	G-1 Carbon μM/hr/gm	C-6 Carbon μM/hr/gm	
Liver	2	2.6	2.8	47.57	1.65	1.24	0.05	0.03
Tongue	1	29.8	17.2	7.50	0.27	2.24	0.05	0.04
Colon	1	15.6	17.5	24.98	1.51	3.90	0.26	0.06
Lung	2	3.3	4.4	3.59	0.26	0.12	0.01	0.07
Stomach	6	4.4	4.4	11.82	1.20	0.52	0.05	0.09
Ovary	1	4.8	6.0	15.72	1.72	0.75	0.12	0.11
Neck tumor	1	3.6	2.8	3.17	0.38	0.11	0.01	0.12
Uterine celvix	10	5.5	4.1	15.72	3.44	0.86	0.14	0.22
Bladder	1	7.1	8.0	33.30	7.43	2.36	0.59	0.22
Spindle cell sarcoma	1	3.1	2.5	5.16	1.64	0.16		0.32
Brain	1	2.4	2.5	5.38	3.51	0.13	0.09	0.65
Breast	1	5.3	3.8		1.22		0.05	

*F means fraction of CO₂ derived from glucose via EMP-TCA cycle to total CO₂ production from glucose.

즉 뇌조직²²⁾ 및 간조직²¹⁾에서 같은 방법으로 측정된 값이 50μM 이상이라는 점을 참작할 때 암조직에서 공통적으로 전체적인 산화대사가 억제되는 인상을 주었다.

둘째로 암조직의 총 CO₂생산률중에 포도당에서 유래된 CO₂의 분률(RSA)을 보면 모두 10% 내외에 불과하다는 점은 암조직 산화과정에서 포도당의 이용률이 현저히 저하됨을 의미한다. 물론 조직에 따라 포도당의 산화물은 차이가 있어 암조직의 RSA의 저하됨을 일률적으로 비교할 수 없었으나, 단편적으로 간암 및 뇌암의 RSA 값을 같은 방법으로 측정된 정상 간²¹⁾ 및 뇌조직²³⁾ 값과 비교할 때 전자에서 약 $\frac{1}{5}$, 후자에서 약 $\frac{1}{20}$ 가량 저하된 것으로 보아 다른 암조직에서도 포도당 산화가 현저히 저하됨을 예측할 수 있었다.

셋째로 포도당 소실물을 보면 일반적으로 정상조직 값^{21,22)}에 비하여 저하된 인상을 주었으나 전술한 RSA 값에서 본 포도당의 호흡 CO₂로의 산화과정에서와 같은 현저한 저하는 볼 수 없었고 상당한 량의 포도당이 암조직에 의하여 이용됨을 보였다.

넷째로 소실된 포도당이 호흡 CO₂ 젖산 및 초성포도산 생산에 관여하는 분률 즉 RGD_{CO₂}, RGD_L 및 RGA_P을 보면 RSA 값에서 예측한 바와 같이 RGD_{CO₂}은 각종 암조직에서 2배를 제외하고 모두 1%미만이었고 RGD_L은 모두 5% 이상이며 최고 29.93%의 값을 얻음과 동시에 RGD_P도 정상조직에서 얻은 값보다 증가되었다는 사실로 보아 암조직에서 포도당이 무기성 대사경로 즉 EMP 경로를 밟아 쉽게 3탄화합물인 젖산 또는 초성포도산으로 분해 될 수 있으나 3탄화합물이 TCA 경

로와 같은 산화경로를 밟아 계속적인 분해가 억제됨을 의미하며 이러한 암조직에 있어서의 당대사의 변조는 권등¹²⁾이 에르릿히 복수암에서 밝힌 바와 같이 암조직의 공통적인 특수성을 지적할 수 있었다.

다섯째로 이조직에서 TCA 경로를 통한 산화의 억제 정도와 malignancy와의 연관성을 구명하기 위하여 Bloom²⁴⁾ 등의 방법으로 C¹⁴-1-포도당과 C¹⁴-6-포도당을 이용하여 포도당의 호흡 CO₂로의 완전 산화경로를 분석하였다. 이러한 산화경로의 분류는 처음 Bloom²⁴⁾ 등이 간조직을 이용하여 시도하였고 포도당 대사에 있어서 가역적인 반응으로 인한 recycling 즉 C¹⁴-6-포도당 실험에서 C₁-C₂-C₃-C₄-C₅-C¹⁴₆→C₃-C₂-C₁+C₁-C₂-C₃→C¹⁴₁-C₂-C₃-C₄-C₅-C¹⁴₆와 같은 반응을 걸쳐 포도당의 C-6 탄소가 C-1으로 표시되어 HMP 경로를 밟아 C¹⁴O₂로 산화될 가능성 또는, TCA 경로의 중간대사물질이 aspartic acid 또는 glutamic acid와 같은 아미노산으로 amination 되어 CO₂로 완전 산화되지 않고 TCA 경로에서 이탈되는 가능성을 고려해 넣지 않고 일방적 분해를 입는다는 가정하에 적용되는 계산에 불과 하지만 암조직에서 합수탄소의 합성이 현저히 저하된다는 사실^{25,26)}로 보아 분해된 포도당의 재 합성으로 인한 recycling은 없다고 생각할 수 있으며 Busch¹⁰⁾ 등의 실험성적에서 보는 바와 같이 C¹⁴-포도당을 중앙 발생 동물에 주입한 후 중앙암조직내의 TCA 경로의 중간대사물질에서 기인되는 아미노산을 추출하여 방사능을 측정할 때 C¹⁴의 incorporation이 무시할 정도로 저하되었다는 점으로 보아 일단 TCA 경로에 들어간 중간대사물질이 다른 기질로 변화되는 가능성이 극히 희소함

을 지적할 수 있다. Bloom²⁴⁾ 등의 계산원리에서 여러 가정을 제거할 수 있으므로 암조직에서는 비교적 정확한 포도당의 분해과정을 분류할 수 있었다. 각종 암조직에서 2 예를 제외하고 EMP-TCA 경로를 밟아 산화된 포도당은 전 산화포도당의 20% 미만에 불과하며 정상 조직에서 가장 낮은 값을 보이는 간조직의 값 30%¹⁵⁾보다 적다는 점으로 보아 암 조직에서 포도당의 산화는 기본적 산화경로인 TCA 경로를 밟지 않고 대부분의 CO₂는 HMP와 같은 포도당의 C-1 탄소가 우선적으로 산화되는 경로를 밟아 산화된 것은 의심할 바 없는 것이다. 한편 제 2 표에 나열한 포도당의 산화경로의 분률(F)의 저하와 암조직의 Incorporation 과의 연관성은 조직학적으로 malignancy의 정도를 분류할 수 있는 확실한 지표가 없으므로 본실험에서는 평가할 수 없었으나 만약에 F의 저하율이 암조직의 malignancy와 연관을 가질 수 있는 지표란 구명된다면 조직학적 소견과 덩으로 생화학적으로 생검법으로 F를 결정함으로써 암조직 진단에 기여할 수 있음을 기대하는 바이다.

총 괄

12종의 암조직을 이용하여 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-6-포도당을 기질로 하는 배지와 함께 따로 균등액으로 만들어 38°C의 항온조에서 진탕을 하면서 3시간 배양하였을 때 포도당의 호흡 CO₂로의 산화과정을 측정하고 중간대사물질인 젖산 및 초성포도산생산물을 측정함과 동시에 산화경로를 분석한 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 12종의 암조직에서 총 CO₂ 산물은 2 예를 제외하고 모두 8μM/hr/gm이며 일반적으로 암조직 산화대사는 정상조직에 비하여 현저히 저하됨을 밝혔다. 일방 포도당에서 유래된 CO₂ 발생의 총 CO₂ 발생률에 대한 분률(RSA)은 모두 10% 이내로 암조직에서 포도당의 호흡 CO₂로의 산화가 현저히 억제됨을 보였다.

2. 각종 암조직에서 포도당 소실물, 젖산 및 초성포도산 발생률을 측정하여 암조직에서 소실된 포도당이 호흡 CO₂, 젖산 및 초성포도산으로 분해된 분률 즉 RGD_{CO₂}, RGD_L 및 RGD_P을 계산한 바 RGD_{CO₂}은 모두 2% 내외이며 RGD_L은 2 예를 제외하고 모두 5% 이상이며 최고 뇌암에서 23.93%의 값을 얻은 점으로 보아 공통적으로 암조직에서 포도당이 쉽게 무기성 대사 경로를 밟아 3 탄화합물까지 분해 되지만 TCA 경로와 같은 기본적 산화경로를 통하여 3 탄화합물이 호흡 CO₂로의 완전산화가 억제됨을 지적할 수 있었다. RGD_P은 조직에 따라 절대값의 차이가 현저하였으나 일반적으로 정상 조직에 비하여 증가되었다.

3. 암조직에서 TCA 경로가 억제되는 정도와 암조직

의 malignancy와의 연관성을 구명하기 위하여 포도당의 C-1 탄소 및 C-6 탄소에서 유래되는 CO₂ 발생을 개별적으로 측정하여 당의 산화경로를 분류한 바 TCA 경로를 밟아 산화된 CO₂의 포도당에서 산화된 총 CO₂ 발생에 대한 분률은 간암에서 3%, 설암에서 4%, 결장암에서 6%, 폐암에서 7%, 위암에서 9%, 난소암에서 11%, 경부암에서 12%, 자궁경부암에서 22%, 방광암에서 22%, spindle cell sarcoma에서 32% 뇌암에서 65%로 후자 2 예를 제외하고 정상생체 조직에서 가장 낮은 값을 보이는 간조직의 값 약 30%보다 모두 저하된 값을 보였다. 뇌암에서 특히 높은 값을 보였으나 정상 뇌조직에서 90% 이상의 CO₂가 TCA 경로를 밟아 산화됨으로 뇌암의 65%의 값은 대조조직과 비교할 때 현저히 저하하였다고 봄이 타당한 것이다.

이상과 같이 각종암조직에 있어서 당의 기본적인 산화경로인 TCA 경로가 억제됨은 공통적인 특징임을 의심할 바 없으나 이 경로의 억제 정도가 종양조직의 malignancy와 상관관계가 있는지의 여부는 본실험에서 확실히 구명할 수 없었다.

REFERENCES

- 1) Warburg, O.: *Metabolism of Tumors*. New York, Smith, 1931.
- 2) Warburg, O.: *On the origin of cancer cells*. *Science*, 123:309, 1956.
- 3) Warburg, O., Pasener, K., and Negelein, E.: *Ueber den Stoffwechsel der Carcinomzelle*. *Biochem.*, z. 152: 309, 1924.
- 4) Busch, H.: *Biochemistry of cancer cell*. *Acad. press, New York. London*, pp 313, 1962.
- 5) Greestain, J.P.: *Biochemistry of Cancer*. New York, Academic press, 1954.
- 6) Algire, G.H., and Chalkley, H.W.: *Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo*. I. *Vascular reactions of mice to wounds and neoplastic transplants*. *J. Natl. Cancer Inst.* 6:73, 1945.
- 7) Tannenbaum, A.: *The cancer investigator, an evaluation*. *Cancer Research*, 17:547, 1957.
- 8) Lepage, G.A.: *Glycolysis in tumor homogenates*. *J. Biol. Chem.*, 176: 1009, 1948.
- 9) Lepage, G.A.: *A comparison tumors and normal tissues with respect to factors affecting the rate of anaerobic glycolysis*. *Cancer Research*, 10:77, 1950.

- 10) Busch, H., Fujiwara, E., and Keer, L.M.: *Metabolic patterns for glucose-1-C¹⁴ in tissues of tumor-bearing rats. Cancer Research*, 20:50, 1960.
- 11) Busch, H., Jurlibert, R.B., and Potter, V.R.: *Anion exchange chromatography of acids of the citric acid cycle. J. Biol. Chem.*, 196:717, 1952.
- 12) Kwon, Chang Rak: *Metabolism of C¹⁴-1-glucose and C¹⁴-6-glucose by the Ehrlich Ascites Tumor Tissues. Korea J. Physiol.* 1:33, 1967.
- 13) Ku C.H.: *Oxidative metabolism of C¹⁴-glucose and C¹⁴-lactate in the Walker 256 tumor. unpublished*
- 14) Moon, I.S., and Rhee, S.D.: *Catabolic Pathway of Oxidative Metabolism of Carbon Atoms of Lactate in Ehrlich Ascites Tumor. Seoul J. Med.*, 7:93, 1966.
- 15) Lim, S.J.: *The Glucose Catabolic Pathways in the Various Tissues of the Rabbits. Seoul J. Med.*, 5:55., 1964.
- 16) Somogyi, M.: *A new reagent for the determination of sugars. J. Biol. Chem.*, 160:61, 1945.
- 17) Nelson, Norton: *A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem.*, 153: 375, 1944.
- 18) Barker, S.B., and Summerson, W.H.: *Colorimetric determination of lactic acid in biological material. J. Biol. Chem.*, 138: 535, 1941.
- 19) Friedemann, T.E., and Haugen, G.H.: *The determination of keto acid in blood and urine. J. Biol. Chem.*, 147:15, 1943.
- 20) Van Slyke, D.D., and Folch, J.: *Manometric carbon determination. J. Biol. Chem.*, 136: 509, 1940.
- 21) Lee, U.S.: *Kinetic Study of Oxidative Metabolism of C¹⁴-labeled Glucose in Liver Slices of Normal and Alloxan Diabetic Rats. Seoul J. Med.*, 2:2 89, 1961.
- 22) Chang, S.Y., Chang, K.Y., and Rhee, S.D.: *Metabolism of C¹⁴-labeled pyruvate and Glucose by Brain Slices of Normal and Alloxan Diabetic Rats. Seoul J. Med.*, 4:1, 1963.
- 23) Cecil, L.A., H. Gainer and I.L. Chaikoff: *Method for kinetic study of in vitro conversion of a C¹⁴-labeled substrate to CO₂. J. Appl. Physiol.*, 15: 949, 1960.
- 24) Bloom, B., Stetten, M.R., and Stetten, D.: *Evaluation of catabolic pathways of glucose in mammalian system. J. Biol. Chem.*, 204:681, 1953.
- 25) Elliott, K.A.C., Benoy, M.P., and Baker, Z.: *The metabolism of lactic and pyruvic acid in normal and tumor tissues. II. Rat kidney and transplantable tumors. Biochem. J.*, 29: 1937-1950, 1935.
- 26) Elliott, K.A.C., and Grieg, M.E.: *The metabolism of lactic acid and pyruvic acid in normal and tumor tissues. IV. The formation of succinate. Biochem. J.*, 31: 1021-1032, 1937.