

# 인체 각종 암조직에 있어서 젖산 각탄소의 산화과정\*

서울대학교 의과대학 생리학교실

李 鍾 勳 · 李 相 敦

=Abstract=

## Oxidation of Each Carbon of Lactate in Various Cancer Tissues of Human

Chong Hun Lee and Sang Don Rhee

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

Tissue homogenates of 10 kinds of human cancer tissues were incubated in medium containing either one of C<sup>14</sup>-1, C<sup>14</sup>-2, or C<sup>14</sup>-3-lactate as a substrate in order to observe the oxidative pathway of lactate in cancer tissues. Lactate concentration in incubation medium was maintained at 50 mg%. At the end of incubation period, gas samples and incubation media were analyzed for total CO<sub>2</sub> production rates, radioactivities of respiratory CO<sub>2</sub>, lactate uptake rates and pyruvate appearance rates. The following results were obtained.

1. Lactate uptake rates in all of cancer tissues examined were less than 2.5 μM/hr/gm and much lower than those in normal tissues.

2. In the 10 kind of human cancer tissues, total CO<sub>2</sub> production rates were less than 10 μM/hr/gm, in all cases. These lower values impressed that oxidative metabolism in tumor tissues generally inhibited as compared with that in normal tissue. On the other hand, fractions of CO<sub>2</sub> derived from lactate to total CO<sub>2</sub> production rates were less than 15% except one case. These facts showed that oxidation of lactate into CO<sub>2</sub> was greatly inhibited in tumor tissues.

3. Respiratory CO<sub>2</sub> yields from C-1 carbon of lactate in various cancer tissues were mean of 77.7% of total CO<sub>2</sub> yield from lactate and CO<sub>2</sub> yields from C-2 and C-3 carbon of lactate were mean of 9.1% and 12.6% respectively. These facts showed that carboxyl carbon of lactate oxidized more easily than α and β carbon of lactate.

4. In 10 kinds of cancer tissues, fractions of disappeared lactate from media into CO<sub>2</sub> and pyruvate, which expressed as RLD<sub>CO<sub>2</sub></sub> and RLD<sub>py</sub> respectively, were about 5% in except 3 cases and less than 3% except one case. These fact showed that almost of disappeared lactate from media were degraded into compounds other than CO<sub>2</sub> and pyruvate.

From the above date, it was suggested that in the oxidative pathway of lactate in cancer tissues CO<sub>2</sub> was easily produced from carboxyl carbon of lactate by oxidative decarboxylation as in the normal tissue, and further oxidation of 2 carbon unit via TCA cycle was inhibited.

일반적으로 암조직에서 공통적특징으로써 젖산 축적을 초래함은 오래전에 Warburg 등 (Warburg, 1931; Warburg, 1959; Warburg, et al., 1924; Busch, 1962)에 의하여 지적된 바 있다.

중래에는 이러한 암조직의 젖산축적을 조직학적 소견

즉 암조직에는 일반적으로 혈관분포가 적으며 모세혈관도 다른조직과 달리 길고 팽창되어 혈액순환이 느리다는 점(Greestein, 1954; Algire & Chalkley, 1945)으로 보아 순환장애로 인한 산소공급 결핍 때문에 유기성 대사과정이 억제되어 젖산축적이 다른조직 보다 증가한다고 설명하였다. 실제로 Goldblatt(1953)등은 fibroblast의 조직배양에서 fibrosarcoma로의 이행이 저산소 환경

\* 본 연구의 일부경비는 1968년도 중앙암연구소 연구비로 충당하였음

으로 인하여 촉진됨을 직접 관찰한바 있다. 따라서 이들 저자는 저산소 자체가 악성 종양의 원인 인자가 된다고 주장 하였다. 그러나 Warburg (Warburg, 1931; Warburg, 1956; Warburg, et al., 1924; Busch, 1962) 등이 지적한 바와 같이 암조직에서 초래되는 젖산축적이 유기성환경하에서 무기성환경시와 같이 증가하는 점으로 보아 조직학적 혈관분포로 인한 저산소증 보다 암조직당대사에 있어서 암조직자체의 생화학적 변화에 대하여 주의를 환기하게 되었다.

암조직에서 젖산축적을 초래함에는 다음 세가지 가능성을 지적할 수 있다. 첫째 다른 당대사경로는 정상인데 불구하고 무기성해당(anaerobic glycolysis)이 촉진되어 이의 중산물인 삼탄화합물이 젖산으로 환원되어 축적될 가능성과 둘째로 생산된 젖산이 TCA 경로와 같은 산화경로가 억제되어 젖산의 호흡  $\text{CO}_2$ 로의 산화가 억제됨으로 대사반응의 노폐물로 축적될 가능성과 셋째로 정상 무기성 해당경로를 밟아 분해된 젖산이 지방산 또는 아미노산으로의 합성 또는 당원질로의 재합성과정이 비가역적으로 진행되어 억제되므로 젖산축적을 초래하게 될 것이다. 첫째가능성인 무기성 해당 반응의 촉진은 Lepage (1948, 1950) 등의 실험성적으로 보아 암조직에서 특별히 촉진된 증거는 볼 수 없었으나 견실한 조직학적조건을 참작하면 in vivo에서 실지로 저산소로 인하여 젖산축적이 효소계의 변동없이도 촉진 될 수 있을 것이다. 둘째가능성인 당의 기본적 산화경로인 TCA 경로가 억제된다는 증거는 Busch 등(1960, 1952)의 실험적  $\text{C}^{14}$ -포도당을 주입한 후 조암세포에서 TCA 경로의 중간 대사물질을 추출하여 방사능을 측정할 때 정상조직에 비하여 무시할 정도로 저하되고 대부분의 방사능이 젖산에 존재한다는 실험성적에서 볼 수 있을 뿐 아니라 본교실에서도 에르릿히 복수암(Kwon, 1967) Walker 256 암조직(Ku, 1900) 및 인체 각종 암조직(Lee, 1968)을 이용하여  $\text{C}^{14}$ -포도당용매와 배양 하였을 때  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  발생이 정상조직에 비하여 현저히 저하하였다는 점으로 증명할 수 있었다. 셋째가능성인 무기성대사로 분해된 3탄화합물이 지방산 또는 아미노산으로의 합성이 억제된다는 점은 문등(1966)이 에르릿히 복수암을 이용하여 젖산 각 탄소에 따라  $\text{C}^{14}$ 를 표지한 젖산용매와 배양하였을 때 젖산의 C-1 탄소는 상당한 양의 호흡  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ 로 산화되지만 C-2 및 C-3 탄소의  $\text{C}^{14}\text{O}_2$ 로의 산화는 현저히 억제된다는 점으로 보아 젖산의 C-1 탄소를 제외한 2탄화합물은 도리어 지방산 또는 탄백질로의 합성이 촉진될 가능성을 지적한바 있다. 이상 논의한 바와 같이 암조직에서 젖산축적은 무기성환경하에서 TCA 경로가 억제되어 증가 함은 의심할 바없는 것이다. 일방 권(1967)등

은 TCA 경로가 억제되는 정도 또는 hexose monophosphate pathway(HMP)와 같은 당의 다른 산화경로에 대한 영향을 규명하기 위하여  $\text{C}^{14}$ -1-포도당 및  $\text{C}^{14}$ -6-포도당을 이용하여 에르릿히복수암에서 당의 산화경로를 분석한 바 포도당에서 유래된  $\text{CO}_2$ 의 7%가 기본적인 Embden Meyerhoff pathway 및 TCA cycle(EMP-TCA)를 통하여 산화되고 대부분의  $\text{CO}_2$ 는 포도당의 C-1 탄소가 우선적으로 산화되는 HMP와 같은 경로를 밟아 산화됨을 밝혔고 차후 이등(1968)은 인체 각종암에서 정도의 차이는 있었으나 공통적으로 같은 결과를 얻었다. 이상과 같이 암조직의 당대사과정에 있어서 타정상조직에 비하여 현저한 차이가 있음은 의심할 바 없으나 이러한 당대사의 변화가 각종암조직에 있어서 공통적인 특징을 지니고 있는가의 여부를 규명하기 위하여 젖산 각 탄소에 따라  $\text{C}^{14}$ 를 표지한 기질을 이용하여 인체 각종 암조직과 배양하였을 때 젖산각탄소의 산화과정을 개별적으로 규명하므로써 암조직의 당의 산화경로를 규명하고자 시도 하였다.

## 실험 방법

### 1. 실험 재료

서울대학병원 중앙수술실에서 적출한 10종의 암조직을 이용하였다. 각종의 암조직의 실험예수는 다음과 같다. 자궁경부암이 8예, 위암이 4예, 간암 및 폐암이 각각 2예, 설암, 결장암, 난소암, 방광암, 뇌암 및 spindle cell sarcoma가 각각 1예로 총 22예였다. 본실험에서 사용한 암조직은 조직학적으로 확인된 암조직만 사용하였다.

각실험에서 적출직후 0.5~2 gm의 암조직을 정확히 평량하고 Krebs-Ringer-phosphate buffer(K-R-P, pH 7.4) 용액을 첨가하여 glass homogenizer로 20 ml의 조직 균등액(tissue homogenate)을 만들었다.

조직균등액은 이를 10 ml씩 3등분 하여 3실험군으로 하였던바 제 1군은  $\text{C}^{14}$ -1-젖산, 제 2군은  $\text{C}^{14}$ -2-젖산, 제 3군은  $\text{C}^{14}$ -3-젖산을 기질로 하여 배양(incubate)하였다.

### 2. 배양 배지

$\text{C}^{14}$ -1-젖산,  $\text{C}^{14}$ -2-젖산 및  $\text{C}^{14}$ -3-젖산(New England Nuclear Corp. 제)을 각각 50  $\mu\text{C}$ 씩 50 ml의 K-R-P 용액으로 희석하고 비방사성 젖산염을 첨가하여 10 mg/ml의 젖산농도를 유지하는 용액을 각군의 저장용액으로 사용하였다. 각군의  $\text{C}^{14}$ -젖산의 방사능 또는 Apecific activity(SA)는 저장용액 1 ml를 취하여 Van Slyke-Folch 방법(1940)으로 총  $\text{CO}_2$ 로 산화시킨후 이를 다시  $\text{BaCO}_3$ 로 침전시켜 Geiger-Müller counter로 방사능의

Table 1. Concentration and specific activity of lactate in the incubation media

Group	Substrate	Medium	Volume	Conc. of lactate	SA of med. lactate
1	C <sup>14</sup> -1-lactate	K-R-P	10 cc	50 mg%	3.19×10 <sup>4</sup> cpm/mgC
2	C <sup>14</sup> -2-lactate	K-R-P	10 cc	50 mg%	3.18×10 <sup>4</sup> "
3	C <sup>14</sup> -3-lactate	K-R-P	10 cc	50 mg%	2.24×10 <sup>4</sup> "

총계수 (total counts)를 측정할 때 C<sup>14</sup>-1-젖산 저장용액의 SA는 1,270×10<sup>5</sup>cpm/ml였고, C<sup>14</sup>-2-젖산의 값은 1,270×10<sup>5</sup>cpm/ml이고, C<sup>14</sup>-3-젖산 저장용액의 값은 8.96×10<sup>4</sup>cpm/ml이었다.

매 실험에서 3 등분한 조직 균등액을 따로 배양용기에 넣고 각군에 C<sup>14</sup>-1-젖산 저장용액, C<sup>14</sup>-2-젖산 저장용액 및 C<sup>14</sup>-3-젖산 저장용액을 각각 0.5 ml씩 첨가하여 배양하였으므로 각군의 배지내 젖산농도 및 배지젖산의 SA는 제 1 표에 종합한 바와 같다.

제 1 표에서 보는 바와 같이 K-R-P 용액으로 만든 압조직 균등액에 10 mg/ml의 C<sup>14</sup>-젖산 저장용액 0.5 ml를 첨가하고 10 ml로 만들어 배양하였으므로 각군의 배양배지의 젖산 농도는 50 mg%이고 0.5 ml의 저장용액내 방사능을 젖산의 탄소중량 ( $5 \text{ mg} \times \frac{36}{90} = 2 \text{ mg}$ )으로 제하여 배지내 젖산의 SA를 cpm/mgC으로 표시한 바 제 1 군에서 배지 C<sup>14</sup>-1-젖산의 SA는 3.19×10<sup>4</sup>cpm/mgC, 제 2 군에서 3.18×10<sup>4</sup>cpm/mgC, 제 3 군에서 2.24 cpm/mgC이었다.

3. 일반 실험 조작

각군에 있어서 균등액 배양실험에 사용한 배양용기는 밀면 직경 6 cm, 높이 8 cm의 Erlenmeyer flask의 밀면 중앙에 직경 1 cm, 높이 2 cm의 중심관을 설치한 조작용기를 이용하였다. 배양용기 중심관에는 호흡 CO<sub>2</sub>를 채취하기 위하여 CO<sub>2</sub> free 2N NaOH를 1 ml 넣고 10 ml의 조직 균등액을 중심관 주위에 넣은 다음 산소와 함께 밀봉하고 Dobnuff metabolic shaking incubator로 38°C 항온조에서 좌우진탕을 1분에 60회 정도 가하면서 3 시간 동안 배양하였다.

배양후 냉동기에 12 시간 이상 방치하여 조직에서 유래된 CO<sub>2</sub> 흡수를 완전케하고 배양용기 중심관 내에서 CO<sub>2</sub>를 흡수한 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 표본을 분석하여 총 CO<sub>2</sub> 생산물 및 방사능을 계속하여 CO<sub>2</sub>의 SA를 계산하고 균등액 2 ml를 취하여 젖산 및 피루빈산을 정량하여 젖산의 이용률 및 피루빈산의 생산률을 계산하였다.

4. 화학 조작 및 방사능 측정

균등액의 젖산 정량에는 Barker 및 Summerson(1941)의 방법, 피루빈산 정량에는 Friedmann 및 Haugen(1943)의 방법을 사용하였다. 총 CO<sub>2</sub> 생산물 측정에는 배양용기 중심관에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 표본으로 흡수된 CO<sub>2</sub>를 양적으로

BaCl<sub>2</sub>와 작용시켜 Whatman No 542 여지위에 BaCO<sub>3</sub> 표본으로 침전시켜 건조시킨 다음 정확히 증량을 평량하여 이를 균등액내 조직무게, 배양시간 및 BaCO<sub>3</sub>의 분자량으로 제하여 μM/hr/gm로 표지하였고 CO<sub>2</sub>배방사능 측정은 BaCO<sub>3</sub> 표본을 직접 Geiger-Müller counter로 총계수를 측정한 다음 이를 BaCO<sub>3</sub>내 탄소중량으로 제하여 호흡 CO<sub>2</sub>의 SA를 결정하였다. 이 실험에서 얻은 방사능 측정치는 모두 자기흡수에 대한 교정을 가하여 비교 관찰하였다.

5. 실험 성적 산출 방법

a. 젖산 이용률 및 피루빈산 생산률

배양 전후의 조직 균등액내 젖산 및 피루빈산 농도를 정량하여 얻은 농도차에 배양 균등액용적을 승하고 조직중량 및 배양시간으로 제하여 μM/hr/gm로 표지 하였다.

b. Relative Specific activity(RSA)

RSA는 호흡 CO<sub>2</sub> 및 배지 C<sup>14</sup>-젖산의 SA와의 비로 산출하였다. 각군의 RSA 값은 젖산의 각탄소가 C<sup>14</sup>-표지 탄소와 같은 비율로 산화되었다고 가정 할 때 젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub> 생산물의 총 CO<sub>2</sub> 생산물에 대한 분률(fraction)을 의미한다.

c. 호흡 CO<sub>2</sub>로의 비교 젖산 소실률(relative lactate disappearance rate into CO<sub>2</sub>: RLDco<sub>2</sub>)

배지에서 소실된 C<sup>14</sup>-젖산의 호흡 CO<sub>2</sub>로 완전 산화된 분률을 표시하며 다음과 같이 산출하였다.

$$RLDco_2 = \frac{\text{total CO}_2 \text{ prod. rate} \times \text{RSA}}{\text{lactate uptake rate} \times 3}$$

위식의 분자는 배지내 C<sup>14</sup>-젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub> 발생률을 표시하며 1 분자의 젖산이 CO<sub>2</sub>로 완전 산화되면 3 분자의 CO<sub>2</sub>를 발생하므로 C<sup>14</sup>-젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub> 발생률을 3으로 제하면 CO<sub>2</sub>로 완전산화된 젖산량을 산출하게 된다. 따라서 이값과 젖산 흡수률과의 비율은 배지에서 흡수된 젖산의 호흡 CO<sub>2</sub> 완전 산화된 분률을 표시하게 된다.

d. 피루빈산으로의 비교 젖산 소실률(relative lactate disappearance rate into pyruvate: RLDpy)

피루빈산 발생이 모두 배지 C<sup>14</sup>-젖산에서 유래되었다고 가정하여 피루빈산 발생률과 젖산 흡수률과의 비율로 산출하였다. 이는 흡수된 젖산이 피루빈산으로 변화된 분률을 표시한다.

Table 2. Metabolism of lacte-1-C<sup>14</sup> by various human cancer tissues(group 1)

Tumor tiss.	No. of case	Lact. uptake rate	SA of CO <sub>2</sub>	SA of medium lact.	RSA CO <sub>2</sub>	Total CO <sub>2</sub> prod. rate	CO <sub>2</sub> from L-1-C <sup>14</sup>	Equi. amt. of lact.	RLDco <sub>2</sub>	Pyruv. appear. rate	RLD py.
Unit		μM/h/g	cpm/mgc	cpm/mgc	%	μM/h/g	μM/h/g	μM/h/g	%	μM/h/g	%
Uterine Cervix	8	1.56	4,400	31,900	13.8	2.4	0.33	0.11	7.1	0.03	1.02
Stomach	4	1.32	4,150	"	13.0	2.9	0.36	0.12	9.1	0.03	2.27
Liver	2	0.67	2,750	"	8.5	1.3	0.11	0.04	6.0	0.0200	0.30
Lung	2	1.78	5,260	"	16.5	2.0	0.33	0.11	6.2	0.01	0.56
Tongue	1	2.45	11,600	"	35.5	10.5	3.72	1.24	50.7	0.15	6.13
Colon	1	1.89	12,400	"	38.9	7.3	2.84	0.95	50.2	—	—
Ovary	1	2.36	7,460	"	23.4	3.4	0.80	0.27	11.4	0.02	0.85
Bladder	1	1.97	6,190	"	19.4	2.8	0.74	0.25	12.7	0.07	0.51
Brain	1	1.45	13,500	"	42.4	1.5	0.64	0.21	14.5	0.04	2.76
Spindle cell sarcoma	1	1.79	7,910	"	24.8	1.9	0.47	0.16	8.9	0.01	0.56

Table 3. Metabolism of Lact. -2-C<sup>14</sup> by various human cancer tissues (group 2)

Tumor tiss.	No. of case	Lact. uptake rate	SA of CO <sub>2</sub>	SA of medium lact.	RSA CO <sub>2</sub>	Total CO <sub>2</sub> prod. rate	CO <sub>2</sub> from L-2-C <sup>14</sup>	Equiv. of lact.	RLDco <sub>2</sub>	Pyruv. appear. rate	RLD py.
Unit		μM/h/g	cpm/mgc	cpm/mgc	%	μM/h/g	μM/h/g	μM/h/g	%	μM/h/g	%
Uterine Cervix	8	1.44	762	31,750	3.4	2.6	0.088	0.029	2.01	0.04	2.78
Stomach	4	1.38	291	"	1.3	3.1	0.040	0.013	0.94	0.03	2.18
Liver	2	0.57	90	"	0.4	1.5	0.006	0.002	0.35	0.004	0.70
Lung	2	1.76	560	"	2.5	1.8	0.045	0.013	0.74	0.01	0.57
Tongue	1	2.46	919	"	4.1	9.7	0.398	0.133	5.00	0.11	4.70
Colon	1	1.87	650	"	2.9	6.8	0.197	0.066	3.53	—	—
Ovary	1	2.26	740	"	3.3	4.1	0.135	0.045	1.99	0.02	0.89
Bladder	1	1.59	381	"	1.7	3.9	0.006	0.022	1.38	0.02	1.26
Brain	1	1.67	1,280	"	5.7	1.8	0.103	0.034	2.04	0.04	2.33
Spindle cell sarcoma	1	1.96	1,210	"	5.4	2.1	0.113	0.038	1.34	0.01	0.51

실험 성적

C<sup>14</sup>-1-젖산을 기질로 하여 각종 인체 암조직을 배양하였을 경우의 젖산의 분해산화과정에 관한 성적은 제 2 표에, C<sup>14</sup>-2-젖산을 기질로 할 때의 성적은 제 3 표에, C<sup>14</sup>-3-젖산과 배양하였을 때의 성적은 제 4 표에 각각 따로 종합하였다.

첫째 젖산흡수율을 보면 제 2, 3 및 4 표에서 보는 바와 같이 C<sup>14</sup>-1, C<sup>14</sup>-2, 및 C<sup>14</sup>-3-젖산 배양실험에서 얻은 값은 비등하였으므로 각 배양 실험에서 측정된 평균값으로 각종 암 조직의 젖산흡수율을 비교한 바 제 5 표에서 보는 바와 같이 난소암 및 설암에서 각각 2.42 및 2.41 μM/hr/gm 로 최고흡수율을 보였고 결장암 spindle

cell sarcoma, 방광암, 폐암, 뇌암, 자궁경부암, 위암의 순서로 저하 되었으나 별로 큰 차이는 없었고 1.37~1.91 μM/hr/gm 의 범위에서 동요하였다. 그러나 간암에서 현저히 저하되어 0.61 μM/hr/gm 에 불과하였다.

둘째로 피루빈산 생산물은 젖산소실물에서와 같이 각 배양실험에서 동일 암조직을 사용하였으므로 비등한 값을 보였다(제 2, 3 및 4 표 참조). 따라서 각 배양실험의 평균값으로 각종암조직의 피루빈산 생산물을 비교한 바 설암 및 간암을 제외하고 다른암조직의 값은 0.01에서 0.04 μM/hr/gm 범위에서 변동하였고 큰 차이를 볼 수 없었으나 설암에서 0.13 μM/hr/gm 로 최대값을 보였고 간암에서 현저히 저하되어 0.002 μM/hr/gm 로 최저값을 얻었다.

Table 4. Metabolism of lactate-3-C<sup>14</sup> by human cancer tissues (group 3)

Tumor tiss.	No. of case	Lact. uptake rate	SA of CO <sub>2</sub>	SA of medium lact.	RSA CO <sub>2</sub>	Total CO <sub>2</sub> prod. rate	CO <sub>2</sub> from L-3-C <sup>14</sup>	Equi. of 14 Lact.	RLDco <sub>2</sub>	Pyruv. appear. rate	RLD py.
Unit		μM/h/g	cpm/mgC	cpm/mgC	%	μM/h/g	μM/h/g	μM/h/g	%	μM/h/g	%
Uterine Cervix	8	1.32	1,009	22,400	4.5	2.5	0.112	0.037	2.80	0.02	1.52
Stomach	4	1.42	240	"	1.0	2.7	0.027	0.009	0.63	0.03	2.11
Liver	2	0.58	179	"	0.8	1.7	0.014	0.005	0.86	0.001	0.17
Lung	2	1.67	695	"	3.1	2.1	0.065	0.022	1.32	0.01	0.60
Tongue	1	2.33	1,210	"	5.4	9.7	0.524	0.175	7.51	0.12	5.13
Colon	1	1.98	830	"	3.7	8.3	0.332	0.111	5.60	—	—
Ovary	1	2.63	919	"	4.1	2.8	0.112	0.037	1.41	0.03	1.14
Bladder	1	1.79	403	"	1.8	3.7	0.067	0.022	1.23	0.02	1.12
Brain	1	1.54	1,970	"	8.8	1.6	0.141	0.047	3.05	0.03	1.95
Spindle cell sarcoma	1	1.87	1,610	"	7.2	1.8	0.130	.0043	2.30	0.02	1.07

Table 5. Ovr-all metabolism of lactate by various human cancer tissues

Cancer Tiss. (No. of case)	Lact. uptake rate	Pyruv. appear rate	Total CO <sub>2</sub> prod. rate	Fract. of CO <sub>2</sub> from each carbon of lact.				CO <sub>2</sub> derived from lact.	Equi. of 14 Lact.	RLDco <sub>2</sub> (true)	RLD py. (true)	RLD (total)
				C-1	C-2	C-3	total					
Unit	μM/h/g	μM/h/g	μM/h/g	%	%	%	%	μM/h/g	μM/h/g	%	%	%
Uterine Cervix(8)	1.44	0.03	2.5	4.60	1.13	1.50	7.23	0.18	0.06	4.14	2.08	6.22
Stomach(4)	1.37	0.03	2.9	4.33	0.43	0.33	5.09	0.15	0.05	3.65	2.18	5.83
Liver(2)	0.61	0.002	1.5	2.83	0.13	0.27	3.23	0.05	0.02	3.28	0.33	3.61
Lung(2)	1.74	0.01	2.0	5.50	0.83	1.03	7.36	0.15	0.05	2.87	0.58	3.45
Tongue(1)	2.41	0.13	10.0	11.80	1.37	1.80	14.97	1.50	0.50	20.7	5.40	26.1
Colon(1)	1.91	—	7.5	12.63	0.97	1.23	14.83	1.11	0.37	19.4	—	—
Ovary(1)	2.42	0.02	3.4	7.80	1.10	1.37	10.27	0.35	0.12	5.00	0.83	5.83
Bladder(1)	1.78	0.02	3.8	6.47	0.57	0.60	7.64	0.29	0.10	5.62	1.12	6.74
Brain(1)	1.55	0.04	1.6	14.13	1.90	2.91	18.94	0.29	0.10	6.45	2.58	9.03
Spindle cell sarcoma(1)	1.87	0.01	1.9	8.27	1.80	2.40	2.47	0.24	0.08	4.28	0.54	4.82

세제로, 각종 암조직의 CO<sub>2</sub> 생산물을 C<sup>14</sup>-1, C<sup>14</sup>-2 및 C<sup>14</sup>-3-젖산 배양실험에서 얻은 평균값으로 구하여 비교한 바 젖산소실률 및 피루빈산 생산물이 가장 큰 설암에서 10.0 μM/hr/gm로 최대값을 보였고 결장암에서 7.5, 방광암에서 3.8, 난소암에서 3.4, 위암에서 2.9, 자궁경부암에서 2.5, 폐암에서 2.0, spindle cell sarcoma에서 1.9, 뇌암에서 1.6, 간암에서 최저로 1.5 μM/hr/gm였다. 즉 암조직의 종류에 따라 젖산 산화대사에 현저한 차이가 있었다.

네제로, 젖산 각탄소가 호흡 CO<sub>2</sub>로의 산화과정에 관여하는 분율을 구명하기 위하여 젖산 탄소에 따라 C<sup>14</sup>를 표지한 C<sup>14</sup>-1, C<sup>14</sup>-2, C<sup>14</sup>-3-젖산을 기질로 하여 배양하였을 때 배지 C<sup>14</sup>-젖산 및 호흡 CO<sub>2</sub>의 SA의 비율

로 RSA를 산출하여 비교한 바 C<sup>14</sup>-1-젖산 배양실험에서 얻은 RSA 값은 제 2표에서와 같이 뇌암에서 최고로 42.4%이며 결장암, 설암, spindle cell sarcoma, 난소암, 방광암, 폐암, 자궁경부암, 위암 및 간암의 순서로 저하되었고 최저값을 보인 간암에서 8.5%였다. C<sup>14</sup>-1-젖산 배양실험에서 얻은 RSA 값은 젖산의 C-2 및 C-3 탄소 즉 젖산의 α 및 β 탄소가 C-1 탄소와 같은 비율로 산화하였다고 가정할 때 젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 총 CO<sub>2</sub> 생산물에 대한 분율을 의미 함으로 C-1 탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 총 CO<sub>2</sub> 생산물에 대한 분율은 C<sup>14</sup>-1-젖산 배양실험에서 얻은 RSA 값의 1/3이 된다. 따라서 젖산의 C-1 탄소에서 발생한 CO<sub>2</sub>의 분율은 제 5표에서와 같이 결장암에서 최고 12.63%이며 C<sup>14</sup>-1-젖산실험

군의 RSA 값의 순서로 저하되어, 간암에서 최저 2.83%의 값을 보였다.

같은 원리로 C<sup>14</sup>-4-젖산 배양실험에서 얻은 RSA 값의 1/3을 산출하여 젖산의 C-2 탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 총 CO<sub>2</sub> 생산물에 대한 분율을 각종 암조직에서 비교한 바 뇌암, spindle cell sarcoma, 설암, 자궁경부암, 난소암, 결장암, 폐암, 방광암, 위암, 간암의 순서로 저하되고 최고값 1.9%에서 최저값은 간암에서 0.13%였다. 일방 젖산의 C-3 탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 총 CO<sub>2</sub> 생산에 대한 분율을 같은 방법으로 산출한 바 C-2 탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 분율과 비등하였다. 그러나 위암을 제외하고 모든 암조직에서 C-3탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>가 C-2탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub> 발생보다 약간 증가된 경향을 보였다(제 5표 참조).

젖산 전체에서 유래된 CO<sub>2</sub> 발생의 총 CO<sub>2</sub> 생산물에 대한 분율은 젖산 각 탄소에서 얻은 분율의 총화로 계산한 바 제 1도 및 제 5표와 같이 뇌암에서 최고값인 18.94%였고 설암, 결장암, spindle cell sarcoma 및 난소암에서 각각 14.97, 14.83, 12.47 및 10.27%로 비등한 값을 보였다. 방광암, 폐암 및 자궁경부암의 값은 각각 7.64, 7.36 및 7.23으로 비등하였다. 한편 위암 및 간암에서 5.09 및 3.23%로 최저값을 보였다.

이상 실험성적에서 보는 바와 같이 공통적으로 암조직의 산화대사 과정에 특히 CO<sub>2</sub>발생에 젖산과 같은 다른 합수탄소가 정상조직에 비하여 관여함이 총 CO<sub>2</sub> 발생의 20%미만이며 대부분의 CO<sub>2</sub>은 합수탄소의 외의 다른 기질에서 유래됨을 지적 할 수 있었다.

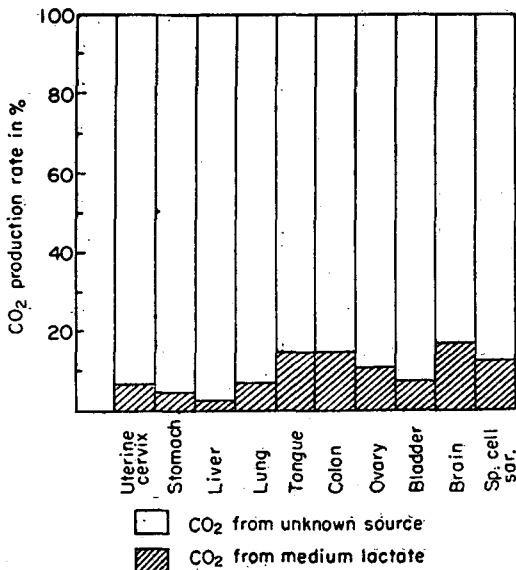


Fig. 1. Fraction of CO<sub>2</sub> derived from lactate to total CO<sub>2</sub> production rate in various cancer tissues.

Table 6. Fractions of CO<sub>2</sub> from each carbon of lactate among the CO<sub>2</sub> production derived from lactate

Cancer tissue	C-1	C-2	C-3	CO <sub>2</sub> from lactate
	%	%	%	%
Uterine cervix	63.6	15.6	20.8	100
Stomach	85.0	8.5	6.5	''
Liver	87.6	4.0	8.4	''
Lung	74.7	11.3	14.0	''
Tongue	79.0	9.0	12.0	''
Colon	85.2	6.5	8.3	''
Ovary	76.0	10.7	13.3	''
Bladder	84.7	7.5	7.8	''
Brain	74.7	10.0	15.3	''
Spindle cell sarcoma	66.4	14.4	19.2	''
Mean	77.7	9.1	12.6	''

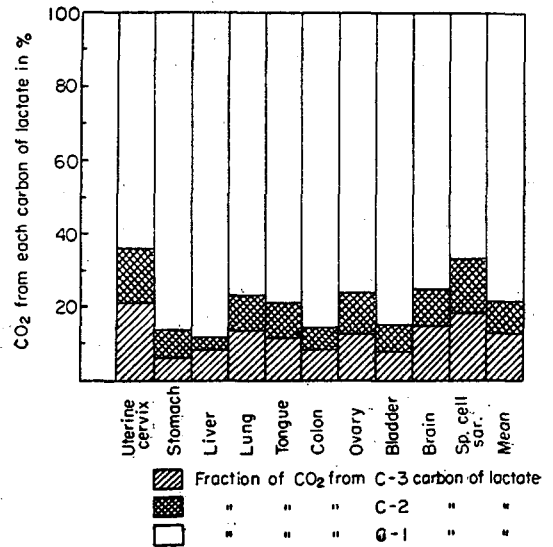


Fig. 2. Comparison of CO<sub>2</sub> yield from each carbon of lactate.

젖산 각탄소의 호흡 CO<sub>2</sub>로의 분해과정을 비교하면 제 6표 및 제 2도에서 보는 바와 같이 각종 암조직에서 젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 대부분 즉 평균 77.7%(63.6%~87.6%)가 C-1 탄소에서 발생하고 C-2 및 C-3 탄소에서 유래된 CO<sub>2</sub>는 젖산 전체에서 유래된 CO<sub>2</sub>의 평균 9.1 및 12.6%에 불과하였다. 이러한 사실은 젖산 산화과정에 있어서 oxidative decarboxylation을 입어 탄산기 탄소는 쉽게 호흡 CO<sub>2</sub>로 산화할 수 있으나 나머지 2탄화합물의 분해과정은 억제되어 TCA cycle과 같은 산화경로를 밟지 못하고 지방산 또는 단백질로 합

성되어 중앙조직 증식을 초래하는 인상을 주었다.

다섯째로 암조직에서 흡수된 젖산이 호흡  $CO_2$  및 피루빈산으로 분해된 분율을 구명하기 위하여  $RLDco_2$  및  $RLDpy$ 를 산출하여 비교한 바  $RLDco_2$ 은 설암 및 결장암에서 각각 20.7 및 19.4%로 비교적 높은값을 보였으나 기타 8종의 암조직에서 2.87에서 6.45% 범위에서 변동하였다. 즉 일반적으로 암조직에서 젖산이 호흡발생에 관여함이 적음을 지적할 수 있었다. 한편  $RLDpy$ 은 설암에서 5.4%로 약간 높은값을 보였을 뿐 기타 암조직에서는 모두 3%이내의 적은 값에 불과하였다. 이상과 같은 성적으로 보아 암조직에서 흡수된 젖산은 극히 일부가 암조직 산화과정에 관여할 뿐 대부분의 흡수된 젖산은  $CO_2$  및 피루빈산 이외의 다른 기질로 변화할 수 있었다.

### 고 찰

10종의 암조직의 젖산흡수율은 모두  $2.5 \mu M/hr/gm$ 로 고등이 정상조직에서 측정된 값 즉 간에서 12.8, 콩팥조직에서 17.8, 대뇌조직에서  $22.7 \mu M/hr/gm$  값에 비하면 암조직에서 젖산 이용률이 현저히 저하된다고 볼 수 있겠으나 어느정도 이용되는 점으로 보아 일반적으로 알려진 암조직내 젖산축적은 젖산분해가 전혀 불가능함으로 발생하는 현상이라기 보다 당의 무기성 해당경로로 인한 젖산축적물이 젖산 분해물보다 큼으로 젖산축적을 초래한다고 생각함이 타당할 것이다.

각종암조직의 총  $CO_2$  생산량을 보면 모두  $10 \mu M/hr/gm$ 이하의 값을 얻었다는 사실은 개개 암조직의 대조군 값을 얻지 못하였음으로 일률적으로 비교하기는 곤란하지만 단편적으로 고등(1965)이 정상조직에서 같은 방법으로 측정된 값, 즉 간에서 28.7, 콩팥에서 43.6, 대뇌에서  $45.3 \mu M/hr/gm$ 과 비교 할 때 암조직에서 공통적으로 전체적인 산화대사가 억제되는 인상을 주었다. 젖산에서 유래된  $CO_2$ 가 총  $CO_2$ 발생에 20%이하이며  $RLDco_2$ 도 2예를 제외하고 5%내외라는 점으로 보아 암조직의  $CO_2$ 발생의 일반적인 저하는 가장 중요한 에너지원인 젖산과 같은 합수탄소의 사화가 억제되는 현상을 지적 할 수 있었다.

각종암조직에서 젖산의 산화경로를 분석하기 위하여 젖산의 각탄소에 따로  $C^{14}$ 으로 표지한 젖산기질과 배양한 바 제 6표에서 보는 바와 같이 젖산에서 유래된  $CO_2$ 는 대부분이 젖산의 C-1 탄소 즉 탄산기탄소에서 유래되었고 젖산의 C-2 및 C-3 탄소 즉  $\alpha$  및  $\beta$ 탄소에서 유래된  $CO_2$ 는 10%내외에 불과하였다. 이러한 차이는 젖산과 같은 3탄 화합물이 TCA 경로의 중간대사 물질인 fumarate 또는 succinate와 같은 4탄화합물과의 가역

적 반응이 일반 생체조직에서 비교적 빨리 진행 할 수 있다는 점(Topper, et al., 1947) 즉  $C^{14}-C-C+CO_2 \rightleftharpoons C^{14}-C-C-C \rightarrow C^{14}O_2+C-C-C$  반응으로 젖산의 C-1에 있던  $C^{14}$ 이 교체되면서 가역적으로 분해되어  $C^{14}O_2$ 을 발생하고 비 방사성젖산을 유리하기 때문에 젖산의 C-1이 호흡  $CO_2$ 발생에 더 많이 관여할 기회를 갖게 될 가능성을 생각할 수 있으며 실제로 정상조직에서 C-1 탄소의  $CO_2$ 발생이 일반적으로 C-2 및 C-3탄소의 그것보다 약 30%가량 증가 한다(Ko, 1965). 그러나 암조직에서 본실험성적에서 보는 바와 같이 C-1탄소의  $CO_2$ 발생이 C-2 및 C-3탄소로부터 발생한  $CO_2$ 보다 월등히 증가되었다는 점으로 볼 때 암조직에서는 위에서 논의한 가능성과 더불어 제 3도에 도시한 바와 같이 젖산

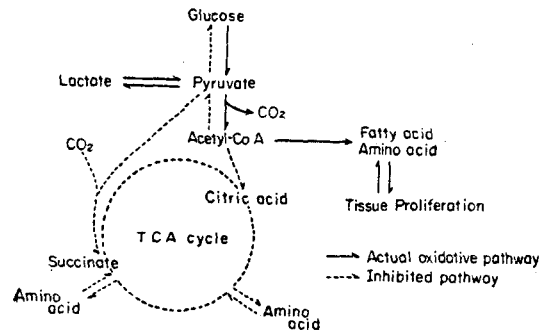


Fig. 3. Catabolic pathway of lactate in cancer tissues.

에서 산화된 피루빈산은 다음 반응으로서 C-1 탄소가 우선 oxidative decarboxylation를 입어  $CO_2$ 를 발생하고 나머지 2탄화합물 즉 acetyl-CoA는 TCA 경로가 억제됨으로 대부분이 지방산 또는 아미노산으로 합성되어 조직증식에 관여한다고 설명함이 타당 할 것이다. C-2 및 C-3탄소의  $CO_2$ 발생이 현저히 저하되었다는 사실은 TCA 산화경로가 억제됨을 의미하며 이는 Busch(1953) 등의 실험에서  $C^{14}$ -초산염을 주입한 후 중앙조직에서 TCA 경로의 중간대사 물질인 succinate를 추출하여 방사능을 측정하고 정상조직과 비교한 값이 전자에서 무시할 정도로 저하되었다는 사실로 보아 TCA 경로가 암조직에서 일반적으로 억제됨을 재 확인할 수 있었다.

C-3탄소의  $CO_2$ 발생이 1예를 제외하고 C-2탄소의 값보다 향상 증가된 경향을 보였다. 이는 권등(1967)의 암조직의 당류대사경로에 관한 실험에 있어서 산화과정은 90%이상 HMP와 같은 포도당의 C-1탄소가 우선적으로  $CO_2$ 로 산화되는 경로를 밟아 분해되고 기본적인 당류대사경로인 EMP-TCA을 통한 경로는 현저히 억제되었다는 실험성적을 참작할 때 젖산과 포도당의 가역적 합성이 이루어지면 젖산의 C-3탄소는 포도당의 C-1 및 C-6탄소에 해당하게 됨으로 젖산의 C-3탄소는

포도당의 C-1 탄소가 합성되어 쉽게 HMP 경로를 통하여 CO<sub>2</sub> 발생에 관여 하게 됨으로 젖산의 C-2 탄소의 CO<sub>2</sub> 발생 보다 큰 값을 보일 가능성을 지적할 수 있는 것이다.

이상 논의 한 바와 같이 암조직의 젖산 산화과정에 있어서 젖산의 C-1 탄소는 쉽게 oxidative decarboxylation 을 입어 CO<sub>2</sub> 를 발생할 수 있으나, 나머지 2 탄화합물의 산화는 억제됨으로 공통적인 특성으로서 암조직의 당류 산화경로를 제 3 도와 여히 추측 하였다.

### 총괄

10 종의 인체 암조직의 조직균등액을 C<sup>14</sup>-1-젖산 C<sup>14</sup>-2-젖산 및 C<sup>14</sup>-3-젖산 배지에 배양하며 젖산 각 탄소의 CO<sub>2</sub> 로의 산화과정을 개별적으로 측정하고 암조직에 있어서 젖산의 대사경로를 분석하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 젖산 흡수율은 모든 암조직에서 2.5 μM/hr/gm 이하이며 정상조직값 보다 현저히 저하 되었다.

2. 10 종의 암조직에서 총 CO<sub>2</sub> 생산율은 모두 10 μM/hr/gm 이하이며 일반적으로 암조직 산화대사는 정상 조직에 비하여 현저히 저하됨을 밝혔다. 일반 젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub> 생산의 총 CO<sub>2</sub> 발생률에 대한 분율은 1 에를 제외하고 모두 15% 이내로 암조직에서 젖산의 호흡 CO<sub>2</sub> 로의 산화가 현저히 억제됨을 보았다.

3. 젖산 각 탄소의 호흡 CO<sub>2</sub> 로의 산화과정을 보면 젖산에서 유래된 CO<sub>2</sub> 의 평균 77.7%가 젖산 C-1 탄소에서 발생하고 9.1%가 C-2 탄소, 12.6%가 C-3 탄소에서 발생하였다.

4. 흡수된 젖산이 CO<sub>2</sub> 및 피루빈산으로 분해된 분율을 RLDco<sub>2</sub> 및 RLDpy 를 산출한바 RLDco<sub>2</sub> 는 3 에를 제외하고 모두 5% 내외이며 RLDpy 는 1 에를 제외하고 3% 이내였다. 즉 흡수된 젖산의 대부분이 CO<sub>2</sub> 또는 피루빈산 이외의 다른 물질로 분해됨을 보았다.

### REFERENCES

Algire, G. H., and Chalkley, H. W.: *Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants. J. Natl. Cancer Inst. 6:73, 1945.*

Barker, S.B., and Summerson, W.H.: *Colorimetric determination of lactic acid in biological material. J. Biol. Chem. 138:535, 1941.*

Busch, H., Fujiwara, E., and Keer, L.M.: *Metabolic patterns for glucose-1-C<sup>14</sup> in tissues of tumor-bearing rats. Cancer Research 20:50, 1960.*

Busch, H., Jurlbert, R. B., and Potter, V. R.: *Anion*

*exchange chromatography of acids of the citric acid cycle. J. Biol. Chem. 196:717, 1952.*

Buach H.: *Studies on the metabolism of acetate-1-C<sup>14</sup> in tissues of tumor bearing rats. Cancer Research, 13:789, 1953.*

Busch, H.: *"Biochemistry of cancer cell" Acad. press, New York. London, pp313, 1962.*

Friedemann, T.E., and Haugen, G.H.: *The determination of keto acid in blood and urine. J. Biol. Chem. 147:15, 1943.*

Goldblatt, H., and Cameron, G.: *Induced malignancy in cells from rat myocardium g. exptl. Med., 97: 525, 1953.*

Greestain, J.P.: *"Biochemistry of Cancer" New York Academic press, 1954.*

Ko, T.Y.: *Metabolism of C<sup>14</sup>-lactate by various tissues of Rabbits, Korean J. of Obst & Gyn., 8:339, 1965.*

Kwon, Chang Rak: *Metabolism of C<sup>14</sup>-1-glucose and C<sup>14</sup>-6-glucose by the Ehrlich ascites tumor tissues Korean J. Physiol. 1:33, 1969.*

Ku C.H.: *Oxidative metabolism of C<sup>14</sup>-glucose and C<sup>14</sup>-lactate in the Waker 256 tumor. unpublished*

Lepage, G.A.: *Glycolysis in tumor homogenates. J. Biol. Chem. 176:1009, 1948.*

Lepage, G.A.: *A comparison of tumors and normal tissues with respect to factors affecting the rate of anaerobic glycolysis. Cancer Research 10:77, 1950.*

Lee Bong Kee, and Rhee, S.D.: *oxidative pathway of C<sup>14</sup>-glucose in various human cancer tissues Korean. g. Physiol. 2:23, 1968.*

Moon, I.S., and Rhee, S.D.: *Catabolic pathway of oxidative metabolism of carbon at ons Seoul g. med., 7:93, 1966.*

Topper, Y.G., and Harting, A.B.: *Study of chemical origins of glycogen by use of C<sup>14</sup>-labeled carbondioxide, acetate and pyruvate., g. Biol. Chem. 179:1255, 1949.*

Van Slyke, D.D., and Folch, J.: *Manometric carbon determination. J. Biol. Chem. 136:509, 1940.*

Warburg, O.: *"Metabolism of Tumors" New York Smith, 1931.*

Warburg, O.: *On the origin of cancer cells. Science 123:309, 1956.*

Warburg, O., Pasener, K., and Negelein, E.: *Ueber den Stoffwechsel der Carcinomzelle. Biochem. Z. 152:309, 1964.*