

대장 종양조직의 Ornithine Decarboxylase 활성도

연세대학교 의과대학 내과학교실 및 소화기병 연구소

김중영 · 유효민 · 박효진 · 김원호 · 박인서

아주대학교 의과대학 내과학교실

함기백 · 김진홍 · 이상인

연세대학교 의과대학 의과학교실

이 경 식

서 론

최근 우리나라에서도 식생활이 서구화되면서 동물성 단백질과 지방 섭취의 증가로 발암 인자에 노출될 위험성이 증가되면서 대장 종양의 발생률이 높아지는 경향이다. 발암 물질에 노출된 후에 위장관 상피 세포 내에서 일어나는 첫 단계 중의 가장 중요한 사실은 비정상적인 세포 증식이 점막 상피 세포의 기저부에서 상부로 옮겨간다는 것이다¹⁾. 비정상적인 점막 상피 세포의 증식은 세포 분화와 proto-oncogene의 활성화 함께 암의 중요한 특성이²⁾. 또한 "colon adenoma carcinoma sequence"의 필요 조건은 정상 대장 점막에서 상피 세포의 증식이 일어나야 된다고 알려져 있다³⁾. 그러므로 대장 점막 상피 세포의 증식정도를 알아보는 것은 대장암의 특성을 규명하는데 중요하다. Polyamine은 정상 조직과 암조직 성장에 필요한 종양 표지자로서 알려져 있다^{4, 6)}, Polyamine 생합성의 처음 단계에서 ornithine으로부터 putrescine을 합성하는 ornithine decarboxylase(이하 ODC로 약함)는 촉매 효소로서 중요한 역할을 하며 점막 상피 세포 증식의 표지자로 최근에 관심을 끌고 있다. ODC는 휴지기 세포에서 매우 소량으로 존재하나, 다양한 성장 촉진 인자 즉 호르몬, 약물, 조직 재생, 성장 요인 및 발암 물질에 의하여 그 효소의 활성도가 급격히 증가

하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. ODC 활성도의 증가는 발암 모형 특히 발암 촉진 단계에서 종양 세포 증식에 중요한 역할을 한다고 보고되었다⁷⁾. 쥐의 피부 발암 연구에서 ODC 활성도와 발암 촉진 능력과는 깊은 연관성이 있다고 보고되었으며⁸⁾, ODC 활성도의 증가에 따른 polyamine 합성의 축적은 in vitro에서 장 점막 증식에 중요한 역할을 한다고 보고되었다⁹⁾.

또한 직장 내로 발암 물질인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine을 투여한 후에 대장 점막 조직에서 ODC 활성도가 초기에 급격히 증가하였음을 보고하였다^{10, 11)}. 이와 비슷한 실험으로 발암 물질인 azoxymethane을 투여한 쥐 모형에서는 대장 점막의 ODC 활성도가 현저히 증가되어 대장 종양이 발생하였다고 보고하였다⁷⁾. 발암 인자에 의해 발생된 종양 조직에서의 ODC는 주변 정상 점막 조직에 비하여 그 활성도가 4배 이상 증가되었으며, 발암 인자로 전처치하지 않은 장 점막 조직보다 18배 증가되었다고 보고하였다⁷⁾. ODC 억제제로 작용하는 2-difluoromethylornithine을 투여하면 발암물질로 전처치한 쥐 모형에서 암세포의 성장을 억제하고 발암 빈도를 낮출 수 있다고 보고하여 ODC 활성도의 증가는 대장 종양 발생에 중요한 역할을 한다고 증명하였다^{11, 12)}. 대장암으로 발병될 위험도가 높은 가족성 대장 용종증 환자에서 채취한 대장 점막 조직의 ODC 활성도가 정상 건강인의 점막 조직에 비해 월등히 높은 것으로 보고되었고, 대장 점막에서의 ODC 활성도의 증가는 대장 점막 상피 세포의 이형성의 정도와 연관이 깊은 것으

접 수 : 1995년 2월 13일

통 과 : 1995년 2월 28일

로 알려졌다¹³⁾. 비 가족성 대장암 조직에서도 주변 정상 점막 조직에 비해 ODC 활성도가 증가되어 있다는 것이 밝혀졌다^{14, 15)}. 이와 같이 점막 상피 세포 증식의 표지자로 알려져 있는 ODC 활성도는 발암 촉진 능력을 가지고 있고 대장 용종등에서도 ODC 활성도가 증가되어 있으며 대장암의 점막 증식 정도를 알아보는 생화학적 표지자로서 최근 관심을 끌고 연구되어 왔다.

이에 저자들은 대장 종양 환자를 대상으로 암조직과 주변 정상 점막 조직에서의 ODC 활성도를 비교 분석하였고 암조직의 위치, 크기, 형태, 분화 및 병기에 따라 ODC 활성도의 변화 양상을 관찰하고, 대장 용종 조직의 병리학적 소견에 따라 ODC 활성도의 차이가 나타나는지 연구하였다. 또한 정상 대장 점막의 ODC 활성도 측정이 대장암과 대장 용종을 구별할 수 있는 지표로 이용할 수 있는지를 연구하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상과 조직 절편 채취

1993년 1월부터 1994년 9월까지 연세 대학교 의과 대학 세브란스 병원과 아주 대학교 의과대학 부속병원에 내원한 환자중 병리 조직학적으로 확진된 대장암 26예와 대장용종 11예를 대상으로 하였다. 암환자 26예중 9예는 용종 조직을 동반하여 총 용종 조직은 20예이었다. 암환자의 경우에는 장절제술을 시행한 후 10분 이내에 암조직 절편과 주변 정상 조직절편을 채취하고 용종 조직이 동반된 경우에는 용종 조직 절편도 동시에 채취하여 -70℃ 냉동실에 보관하였다가 ODC 활성도를 검사하였다. 대장 내시경으로 용종이 확인된 용종환자의 경우에는 조직 검자로 용종 조직 절편을 채취하였다.

2. Ornithine Decarboxylase(ODC) 활성도 측정

ODC 활성도 측정은 Fujimoto등¹⁶⁾이 제시한 방법을 근거로 측정하였고, ODC 측정을 위한 조직 균질화시에 사용되는 buffer를 먼저 준비하였는데 ODC buffer는 100ml의 증류수에 15.76mg Tris-HCl, 37.23mg EDTA, 1.236mg pyridoxal 5-phosphate (Sigma) 및 77.7mg dithiotheritol(Aldrich)을 섞어서 pH를 7.4로 맞추었다. ¹⁴C-Ornithine (52.3mCi/

mmol, New England Nuclear, Boston, MA; Specific activity 52.3mCi/mmol)을 ODC buffer에 1:10으로 희석하여 사용하였으며 100ul의 ODC buffer에 20ul의 ¹⁴C-Ornithine을 넣고 30℃에서 흔든 다음 200ul의 검체를 넣고 15분간 incubation시켰다. Cap을 통하여 10% TCA 300ul와 L-Ornithine(Aldrich)을 넣은 후 30℃에서 10분간 반응시킨 후 Cap을 열고 center well에 담겨있는 여과지를 꺼내 scintillation cocktail에 담근 후 방사선을 측정하였다. 이때 여과지는 Whatman filter paper(Cat. No. 1003323)를 사용하였는데 ¹⁴CO₂ trap을 용이하게 하기 위해 미리 solvable에 담근 후 말린 후에 사용하였다. Filter paper와 반응을 위한 튜브에는 Kontes사의 center well(Cat. No. 882310-0000)과 stopper(Cat. No. 832320-0000)을 사용하였다.

3. 통계처리

SAS를 이용하여 후리드만 검정, 맨-휘트니 검정, 윌콕슨 부호순위 검정 및 크루스 칼 윌리스 검정을 시행하였으며 통계적 의의는 P값이 0.05미만인 것을 의미 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 대장 종양 환자의 임상적 특징과 병리 조직학적 특성

대장암 환자 26예의 평균 연령은 56세이었고 남녀별 비율은 1:0.8이었다. 대상 암환자중 대장 용종을 동반한 경우는 26예중 9예(34.6%)이었다. 대장 용종 환자 11예의 평균 연령은 53세이었고 남녀별 비율은 1:1.3이었다. 대장 용종 조직 20예중 13예(65%)가 대장 선종이었고, 6예(30%)가 과형성성 용종이었으며, 1예(5%)가 과오종이었다(Table 1).

대장암 환자 26예중 17예(65%)가 결장암이었고 9예(35%)가 직장암이었다. 암의 분화도는 26예중 4예(15%)가 well differentiated, 17예(65%)가 moderately differentiated, 5예(20%)가 poorly differentiated이었다. 암의 병기는 Duke 병기 B가 26예중 15예(58%)로 가장 많았으며, Duke 병기 C가 9예(35%)이었고 Duke 병기 D는 2예(7%)이었고, Duke 병기 A는 없었다(Table 3).

Table 1. Age Distribution in Patients with Colorectal Cancer and Polyp

Age	Cancer		Polyp	
	with adenoma ¹	without adenoma ²	adenomatous	non-adenomatous
-29				
30-39				3
40-49		2		1
50-59		2	2	1
60-69	4	8	1	1
70-79	5	5	1	1
Total(n)	9	17	4	7

1. "Cancer with adenoma" means cancer with coexisting adenoma
2. "Cancer without adenoma" means cancer without coexisting adenoma.
3. n : number of patients.

Table 2. ODC Activity of Adjacent Normal Mucosa, Polyp and Carcinoma in Large Bowel

Tissue	N	ODC activity (pmol CO ₂ /hr/mg protein, Mean±SD)
Carcinoma	26	18.31±10.18*
Polyp	15	8.05± 3.78
Adjacent mucosa	25	9.63± 3.56

* p<0.05 compared to ODC activity of polyp and adjacent mucosa

2. 종양 조직과 주변 정상 점막 조직의 Orinithine Decarboxylase(ODC) 활성도

대상 암조직 26예의 평균 ODC 활성도는 18.31 (pmol CO₂/hr/mg protein)이었고, ODC 활성도를 측정할 수 있었던 15예의 용종 조직에서의 평균 ODC 활성도는 9.63으로, 암조직에서의 평균 ODC 활성도가 용종 조직과 암 주변의 정상조직에서 보다 2배 이상 높았으며 통계학적으로 의의가 있었다(Table 2). 그러나 용종 조직은 주변 정상조직과 비교하여 ODC 활성도의 차이를 보이지 않았다. 동일 개체내에 암과 용종 조직이 공존하는 경우에도 상기 결과처럼 ODC 활성도는 암조직에서 가장 높았으며 용종 조직과 주변 정상조직은 차이가 없었다.

성별에 따른 암조직에서의 평균 ODC 활성도는 남자가 여자보다 1.6배 높았으며, 암의 위치에 따른 암 조직에서의 평균 ODC 활성도는 결장암이 직장암보다 1.8배 높은 결과로 통계학적으로 의의가 있었다(p<0.05). 그러나 암의 발병 연령, 암의 크기, 암의 형

태, 암의 분화도 및 암의 병기에 따른 ODC 활성도의 변화는 통계학적으로 의의가 없었다(Table 3). 대상 암조직중 1예에서는 병리 조직학적으로 대장 선종에서 유래된 암조직으로 판명되었으며, 대장 내시경으로 통해 본 육안적 소견상 Yamada type IV의 대장 선종으로 ODC 활성도는 30.42pmol CO₂/hr/mg/protein으로 많이 증가된 소견을 보였다. 용종을 동반한 암조직이 용종이 없는 단독 암조직보다 평균 ODC 활성도가 1.6배 높았으며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(Table 4).

대상 암조직 주변의 정상 점막조직의 평균 ODC 활성도는 9.63이었고, 암을 동반하지 않은 대상 용종 조직 주변의 정상 점막조직의 평균 ODC 활성도는 6.45로 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 5). 대상 용종 15예중 8예의 선종성 용종 조직에서의 평균 ODC 활성도는 8.94, 비선종성 용종 조직 7예의 평균 ODC 활성도는 7.03으로 두 그룹간의 ODC 활성도 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 6).

고 찰

대장암은 병리 조직학적으로 대장 점막 상피 세포의 과도한 증식과 비정상적인 세포 분화로 발생되는 것으로 알려져 있다³⁾. 화학성 발암 물질에 노출된 설치류의 장점막 상피 세포에서 일어나는 초기의 변화는 점막 상피 세포의 기저부에서 세포 증식 능력이 왕성하게 증가하는 것으로 보고되어 있다¹⁾. 이같은 대장 점막 상피 세포의 과도한 증식은 대장 선종과 대장암

Table 3. Correlation between ODC Activity and Clinicopathological Characteristics of Colorectal Cancer

Characteristics	N	ODC activity(pmol CO ₂ /hr/mg protein, M±SD)	p value
Sex			
male	14	21.98± 9.97	
female	12	14.03± 8.99	p<0.05
Age			
<60	16	15.44± 7.46	
≥60	10	22.90±12.50	NS
Size			
5cm≤	13	15.65± 6.79	
5cm>	12	19.86±12.30	NS
Site			
Colon	17	21.70±10.40	
Rectum	9	11.89± 6.05	p<0.05
Morphology			
Ulceroinfiltrating	17	14.90± 8.90	
fungating	6	23.77± 6.11	
ulcerofungating	2	24.35±22.71	
Infiltrating	1	31.45	NS
Differentiation			
well differentiated	4	22.70±12.96	
moderately differentiated	17	14.81± 6.37	
poorly differentiated	5	26.69±14.13	NS
Duke Stage			
A	0	-	
B	15	24.04± 9.67	
C	9	10.73± 3.06	
D	2	9.39± 6.06	NS

NS : not significant

Table 4. Comparison of ODC Activity in Cancer Coexistent with and without Adenoma

Specimens	N	ODC activity(pmol CO ₂ /hr/mg protein, M±SD)
Cancer with Adenoma	9	24.28±8.41*
Cancer without Adenoma	17	15.15±9.79

*p<0.05

Table 5. Statistical Comparison of ODC Activity in Grossly Normal Mucosa between Cancer and Polyp Cases

Case	N	ODC activity(pmol CO ₂ /hr/mg protein, M±SD)
Cancer	9	9.63±3.56*
Polyp	17	6.45±4.01

*Not significant

Table 6. Comparison of ODC Activity in Adenomatous Polyp and Non-adenomatous Polyp

Polyp	N	ODC Activity (pmol CO ₂ /hr/mg protein, M±SD)
Adenomatous	8	8.84±3.98*
Non-adenomatous	7	7.03±3.55

* Not significant

을 유발하는 원인이다. 가족성 대장 용종증과 대장암에서 대장 점막 상피 세포의 과도한 증식이 일어나고

세포 증식 부위가 colonic crypt의 상부로 이동되는 것은 이미 보고되었다^{17, 18)}. 대장 점막 상피 세포의

증식정도와 상태를 알아보는 표지자로는 [3H] thymidine autoradiography, Protein Kinase C, Ki-67, Proliferating Cell Nuclear Antigen 및 Ornithine decarboxylase 활성도 등이 있다¹⁹⁻²³. 상기 검사 방법중 ODC 활성도 측정은 대장 내시경을 통해 얻은 조직 절편으로 쉽고 간편하게 검사할 수 있는 방법으로 최근 생화학적 점막증식의 표지자로서 관심을 끌고 연구되어 왔다. Ornithine decarboxylase는 점막조직의 증식 및 분화에 필요한 Polyamine 생합성의 처음 단계에서 촉매 효소로서 작용하는 중요한 효소이며, 정상 조직과 암조직의 세포 증식에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다²⁴. ODC 활성도의 유도가 쥐 모형에서 피부암을 유발시키는데 중요한 역할을 한다고 보고된 이후에 ODC 활성도의 증가는 대장 종양의 발생에 중요한 역할을 한다고 보고되어 왔다^{10, 11, 25}. 최근 ODC 활성도는 전암 병소인 대장 선종과 대장암 조직에서 증가되어 있으며, 정상 건강인의 대장 점막보다 암조직 주변의 정상 점막 조직에서 ODC 활성도가 증가되어 대장암의 생화학적 표지자로서 ODC 활성도가 중요하다는 보고가 나오고 있다^{26, 27}.

본 연구에서는 암 조직에서의 평균 ODC 활성도가 암 조직 주변의 정상 점막 조직에서의 ODC 활성도보다 통계학적으로 유의있게 증가된 결과를 보여주어 Porter 등¹⁵의 연구 결과와 일치하였다. 이것은 ODC 활성도의 증가가 암 조직의 증식과 관계가 있다는 것을 간접적으로 시사하는 결과라고 생각된다. 또한 본 연구의 한 증례에서는 대장 내시경 검사상 Yamada IV의 용종이 발견되어 용종 절제술을 시행하였는데 병리 조직검사 결과가 대장 선암으로 판명된 예로서 ODC 활성도가 30.42pmol CO₂/hr/mg protein으로 매우 높았다. 즉 용종 조직이라도 악성 변화가 나타난 악성 종양 조직과 ODC 활성도의 증가와는 깊은 관계가 있음을 보여주는 결과였다. 그러나 암 조직간에도 ODC 활성도가 최저 5.1pmol CO₂/hr/mg protein에서부터 최고 40.40pmol CO₂/hr/mg protein으로 그 변화가 매우 심하였는데 그 이유로는 첫째, 같은 암 조직이라도 암 조직의 이질성으로 세포 증식 능력이 서로 상이한 암세포들이 혼합되어 있으며 둘째, 조직 절편을 채취하는 위치와 방법에 따라 ODC 활성도에 영향을 줄 수 있고 셋째, 암 조직에서의 ODC

mRNA 수준의 차이 때문이라고 생각된다. 그러므로 암 조직 절편의 ODC mRNA에 관한 연구도 진행되어야 한다고 보며 또한 암 조직과 정상 점막 조직의 ODC 활성도 차이가 ODC mRNA의 변화로 인한 것인지도 규명할 필요가 있다고 생각된다.

암 조직과 용종이 공존한 10예에서 대장 선암, 대장 용종 및 주변 정상조직간의 ODC 활성도 변화를 본 연구에서 50%는 암, 용종, 정상 조직의 순으로 ODC 활성도 증가를 나타냈고 50%는 용종, 암, 정상 조직의 순으로 ODC 활성도 증가를 보고한 결과가 있다¹⁵. 본 연구에서는 ODC 활성도는 암 조직에서 가장 높았고, 용종 조직과 정상 조직은 유사한 ODC 활성도를 보여 동일 개체내에서도 암 조직의 ODC 활성도가 가장 높으며, 점막 상피 세포의 증식 능력이 상이한 대장 점막이 혼재되어 있다고 생각된다.

대장 선암의 분화도와 ODC 활성도와는 깊은 연관성이 없다고 보고한 기록¹⁴이 있는데, 대장암의 임상 병리학적 특성에 따라 암 조직의 ODC 활성도 변화를 관찰한 저자의 연구에서는 암의 크기, 암의 발병 연령, 암의 형태, 암의 분화 정도 및 암의 병기에 따른 ODC 활성도 변화는 통계적으로 의의가 없었으며 이것은 Linsalata 등²⁸의 연구 결과와 일치하였다. 성별과 암의 위치에 따라서는 ODC 활성도 변화가 통계적으로 의의가 있었으며(p<0.05), 남자와 결장 암에서 ODC 활성도가 여자와 직장암보다 각각 1.6배, 1.8배 정도 높은 결과였다. 이것은 Murakami 등²⁷의 연구 결과와 일치하였다. 암의 침윤 정도와 암의 분화 정도에 따라서 ODC 활성도의 변화가 없다는 것은 ODC 활성도는 단지 암세포의 증식 능력과 관련된 표지자이며, 암의 예후와 관련된 표지자로서의 유용성은 없다고 생각된다.

대장 종양이 단독으로 있는 경우보다 다발성일수록 암 조직에서의 ODC 활성도가 1.6배 높았으며 이것은 종양의 수가 많을수록 암의 점막 증식이 증가되어 있음을 시사하고 이런 경우 수술후 재발 방지를 위하여 항암제와 함께 ODC 활성 억제제를 사용하는 것을 고려해 볼 가치가 있다고 생각된다. 그 이유는 대장암 수술후 남아있는 대장 점막에서 발암의 위험성은 다발성 대장 선종이 있는 집단에서 주로 호발하기 때문이다²⁹.

용종 조직에서는 ODC 활성도가 주변 정상 점막

조직의 ODC 활성도보다 4배나 높다고 보고¹⁵⁾한 것과 달리 본 연구에서는 15예의 용종 조직에서의 평균 ODC 활성도는 8.05(pmol CO₂/hr/mg protein), 주변 정상 조직에서의 평균 ODC 활성도는 6.45로 통계학적으로 유의한 차이가 없었는데 대장 선종(15예중 8예)의 대부분이 경도의 이형성 상태이며, 나머지 7예가 양성 용종으로 정상 점막 조직 증식 상태와 현저한 차이를 보이지 않기 때문이라고 생각된다.

정상 대장 점막의 ODC 활성도 측정으로 대장암과 대장용종을 선별할 수 없다고 하였는데³⁰⁾ 본 연구에서도 대장 종양주변의 정상 점막의 ODC 활성도 측정으로 악성종양과 양성종양을 선별하기는 어렵다고 생각된다. 앞으로 정상 건강인과 대장암 환자의 정상 직장 점막의 ODC 활성도를 측정하여 ODC 활성도가 대장암의 선별검사로써 이용될 수 있는 표지자인지를 알아보기 위해 더 광범위한 연구가 필요하다고 생각된다.

가속성 대장 용종중에서는 ODC 활성도가 대장 점막의 이형성과 깊은 연관 관계가 있다고 하였는데¹³⁾ 대장 용종의 조직학적 특성에 따른 ODC 활성도의 변화를 관찰한 연구에서는 대장 선종 조직 8예의 평균 ODC 활성도가 8.94(pmol CO₂/hr/mg protein), 과형성성 용종이 대부분을 차지하는 비 선종성 용종 조직 7예의 평균 ODC 활성도는 7.03으로 두 그룹간의 ODC 활성도 차이는 없었는데 그 이유는 대장 선종 8예 대부분이 경도의 이형성 상태를 보였기 때문일 가능성이 있다. 이 결과로 ODC 활성도가 선종성 용종과 비 선종성 용종을 선별하는 검사로서 이용되기는 어렵다고 생각된다. 앞으로 대장 선종의 이형성 정도에 따른 ODC 활성도의 변화에 관한 연구가 더 진행되어야 한다고 생각된다.

결론적으로 ODC 활성도는 대장 용종과 주변 정상 점막 조직에 비해 대장암 조직에서 증가되어 있으므로 암조직의 증식정도가 용종이나 정상 조직에 비하여 월등히 높다는 것을 의미하는 중요한 사실로서 ODC 활성도의 증가는 암의 발생과 부분적으로 관계가 있다고 생각된다. 정상 대장 점막에서 대장 선종으로 진행할 때에 ODC 활성도의 변화가 없고 용종의 병리학적 상태에 따라 ODC 활성도의 변화가 없으므로 ODC 활성도가 대장 용종 조직의 악성화 여부를 예측하는 표지자로서는 적합하지 않지만 ODC 활성도가 증가된 조직은 대장 점막 조직의 증식 능력이 증가된 상태로

발암의 위험성이 높은 조직이라고 생각된다. 앞으로 더 광범위한 대장 용종 조직에서의 ODC 활성도 측정과 대장 종양 환자의 정상 직장 점막 조직에서 ODC 활성도 측정에 관한 연구 및 대장 종양 점막 상피 세포의 ODC mRNA 변화에 대한 연구가 필요하리라고 생각된다.

요 약

목적 : Ornithine decarboxylase(ODC)는 대장 점막 상피 세포의 증식정도를 알아볼 수 있는 생화학적 효소로서 정상 대장 점막 조직이 대장 선종과 대장암으로 진행될 때에 특히 가속성 대장 용종중에서 그 활성도가 증가한다. ODC는 Ornithine으로부터 Polyamine을 합성하는 촉매 효소로서 작용하며 ODC 활성도의 지속적인 증가에 의한 Polyamine의 축적은 대장암의 발생과 깊은 연관성이 있다고 알려져 있다.

이에 저자들은 대장 종양 환자를 대상으로 암조직과 주변 정상 점막 조직에서의 ODC 활성도를 비교 분석하였고 암조직의 위치, 크기, 형태, 분화 및 병기에 따라 ODC 활성도의 변화 양상을 관찰하고, 대장 용종 조직의 병리학적 조건에 따라 ODC 활성도의 차이가 나타나는지 연구하였다.

방법 : 1993년 1월부터 1994년 9월까지 연세대학교 의과대학 세브란스 병원과 아주대학교 의과대학 부속병원에 내원하여 병리 조직학적으로 확인된 대장 종양 환자 37예를 대상으로 하였다. 대장암의 경우 대장 절제술을 시행한 후 10분 이내에 암조직 절편과 주변 정상 조직 절편을 채취하여 Fujimoto등¹⁶⁾이 제시한 방법을 기준으로 ¹⁴C-Ornithine이 반응하여 유리되는 ¹⁴CO₂의 양을 측정 환산하여 ODC 활성도를 측정하였다. 대장 용종의 경우에는 조직 검사로 채취한 조직 절편을 상기와 같은 방법을 사용하여 ODC 활성도를 측정하였다.

결 과 :

1) 26예의 대상 암환자의 평균 연령은 56세이었고, 11예의 대장 용종 환자의 평균 연령은 53세이었고, 암환자의 남녀 비율은 1:0.8이었고, 용종 환자의 남녀비율은 1:1.3이었다.

2) 대장암 조직에서의 평균 ODC 활성도는 18.31(pmol CO₂/hr/mg protein), 대장용종 조직에서는

8.05, 대장암 주변의 정상 점막 조직에서는 9.63으로 암조직에서의 ODC 활성도가 통계적으로 유의있게 가장 높았으며($p < 0.05$), 주변 정상 점막 조직에서의 ODC 활성도보다 190% 증가되었다. 그러나 용종 조직과 주변 정상 조직간의 ODC 활성도 차이는 없었다.

3) 암 조직의 크기, 발병 연령, 암의 형태, 암의 분화 및 병기에 따른 ODC 활성도의 변화는 유의한 차이가 없었으며, 암의 위치와 성별에 따른 ODC 활성도가 각각 1.6배, 1.8배 높았다.

4) 대장 선종을 동반한 암 조직에서의 평균 ODC 활성도는 24.28로 대장 선종을 동반하지 않은 암조직보다 1.6배 높았으며 통계학적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

5) 25예의 대상 암환자의 주변 정상 점막 조직의 평균 ODC 활성도는 9.63, 대상 용종환자 10예의 주변 정상 점막 조직의 평균 ODC 활성도가 1.49배 높았으나 통계적으로 유의는 없었다.

6) 8예의 선종성 용종 조직의 평균 ODC 활성도는 8.94, 7예의 비선종성 용종 조직의 평균 ODC 활성도는 7.03으로 서로 유의한 차이가 없었다.

결론 : 대장암 조직의 ODC 활성도는 용종 조직과 대장암 주변의 정상 점막 조직에 비하여 현저히 증가되어 있으며 암의 침윤과 암의 분화도와는 관련성이 없는 것으로 보아, ODC 활성도는 대장암의 점막 증식 정도와 깊은 연관 관계가 있다고 생각된다. 또한 대장 선종을 동반한 대장암이 대장 선종을 동반하지 않은 대장암에 비하여 암조직의 증식정도가 높은 것으로 관찰되었다. 그러나 대장 용종 조직의 증식 정도는 용종 주변의 정상 점막 조직과 비교하여 유의한 차이가 없었으며, 용종의 조직학적 소견에 따라 ODC 활성도의 변화가 없었다. 앞으로 더 광범위한 대장 용종 조직에서의 ODC 활성도를 측정하여 용종 조직의 점막 증식 정도를 규명할 필요가 있다고 생각된다.

= Abstract =

Ornithine Decarboxylase(ODC) Activity in Human Colorectal Tumors

Joong Young Kim, M.D., Hyo Min Ryu, M.D.
Hyo Jin Park, M.D., Won Ho Kim, M.D.
and In Suh Park, M.D.

*Department of Internal Medicine, Yonsei
University College of Medicine, Seoul, Korea*

Ki Baik Hahm, M.D., Jin Hong Kim, M.D.
and Sang In Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine, Ajou University
College of Medicine, Suwon, Korea*

Kyong Sik Lee, M.D.

*Department of General Surgery, Yonsei
University College of Medicine, Seoul, Korea*

Objectives : Ornithine decarboxylase(ODC) is the first and rate-limiting enzyme of polyamine biosynthesis involved in normal and neoplastic cell proliferation. The induction of ODC activity plays an important role in the tumor promoting step of the two stage carcinogenesis model, initiation and promotion. Initially, an excellent correlation between ODC activity and tumor promoting ability was shown in mouse skin carcinogenesis model. Also, ODC levels have shown correlation with the progression from normal mucosa to adenoma and carcinoma, especially in hereditary polyposis syndromes. Recently, elevated ODC activity have been studied as potential markers for human colon cancer.

The purpose of this study was to find correlation between ODC activity and colorectal tumor. We compared ODC activity in tumor tissues and adjacent normal appearing mucosa in patients with colorectal tumor.

Methods : Subjects consisted of twenty six patients with colorectal cancer and eleven patients with colorectal polyp diagnosed at Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine and Ajou University Hospital from January, 1993 to September, 1994.

Tissue samples of grossly normal appearing mucosa, polyp and carcinoma in large bowel were obtained from patients who received colectomy or colonoscopic procedure. Tissue samples were frozen

immediately in liquid nitrogen, stored at -70°C , and were analyzed for ODC activity within two weeks. ODC activity was assayed by a radioisotopic technique in which the amount of $^{14}\text{CO}_2$ liberated from L-[1- ^{14}C] ornithine was measured according to the method by Fujimoto. Radioactivity of the $^{14}\text{CO}_2$ trapped in the filter paper was measured in an aqueous miscible scintillant.

Results :

1) Mean ODC activity (pmol $\text{CO}_2/\text{hr}/\text{mg}$ protein) of cancer, polyp and adjacent normal mucosa were 18.31, 8.05, 9.63, respectively. There was a significant difference in mean ODC activity in cancer tissue compared with polyp and adjacent normal mucosa.

2) There was no significant difference in mean ODC activity according to the size, age, morphology, differentiation and stage of cancer. But there was a statistical difference in mean ODC activity according to sex and tumor location. Mean ODC activity of males with cancer and of those with colon cancer was significantly higher than that of females with cancer and of those with rectal cancer.

3) Mean ODC activity for cancer coexistent with adenoma was significantly higher than that of cancer with no coexisting adenoma.

4) In adjacent normal mucosa of cancer and polyp, mean ODC activity were 9.63, 6.45, respectively. There was no statistical difference in mean ODC activity between the two groups.

5) Mean ODC activity in adenomatous polyps and non-adenomatous polyps were 8.94, 7.03, respectively.

Conclusion : The ODC activity in cancer tissue of large bowel was markedly increased compared with polyp and normal appearing colonic mucosa. But ODC activity was not correlated with invasion and differentiation of colorectal cancer. These results suggest that the elevation of ODC is correlated with cell proliferation status of colorectal cancer and reflects changes in the large bowel epithelium toward phenotypic neoplastic expression. Also, the mucosa of colorectal cancer with coexisting adenoma was shown to demonstrate a marked increase in mean ODC activity than that of colorectal cancer without adenoma. But the mucosal proliferation status of polyp was not higher than that of normal mucosa adjacent to polyp and ODC activity had no correlation to the pathologic characteristics of polyps. A broad and larger scale study on ODC activity of colorectal polyps is necessary to help predict cell

proliferation of tumor.

Key Words : Colorectal tumor, Cell proliferation, Ornithine decarboxylase(ODC)

REFERENCES

- 1) Lipkin M: *Biomarkers of increased susceptibility to gastrointestinal cancer: New application to studies of cancer prevention in human subjects.* *Cancer Res* 48:235-245, 1988
- 2) Deschner EE: *Cell proliferation as a biological marker in human colorectal neoplasia.* In Winawer S, Schottenfeld D, Sherlock P, eds. "Colorectal Cancer: Prevention, Epidemiology and Screening". New York, Raven Press, 1980, pp 133-142
- 3) Bresalier RS, Toribara NW: *Familial colon cancer.* In Eastwood GI, ed. *Premalignant Conditions of the Gastrointestinal tract. Controversies in Gastroenterology Series.* Zakim E, ed. New York, Elsevier Science Publishers, 1990, p227
- 4) Nishioka K, Romsdahl MN, McMutrey MJ: *Serum polyamine alterations in surgical patients with colorectal carcinoma.* *J Surg Oncol* 9:555-562, 1977
- 5) Pegg AE, McCann PP: *Polyamine metabolism and function.* *Am J Physiol* 243:c212-c221, 1982
- 6) Lundell L, Rosengren E: *Polyamine levels in human gastric carcinoma.* *Scand J Gastroenterology* 21:829-832, 1986
- 7) Luk GD, Hamilton SR, Yang P, Smith JA, O'Ceallaigh D, McAviney D, Hyland J: *Kinetic changes in mucosal ornithine decarboxylase activity during azoxymethane-induced colonic carcinogenesis in the rat.* *Cancer Res* 46:4449-4452, 1986
- 8) O'Brien TG: *The induction of ornithine decarboxylase as an early, possibly obligatory, event in mouse skin carcinogenesis.* *Cancer Res* 36:2644-2653, 1976
- 9) Luk GD, Marton LJ, Baylin SB: *Ornithine decarboxylase is important in intestinal mucosal maturation and recovery from injury in rats.* *Science* 210:195-198, 1980
- 10) Takano S, Matsushima M, Erturk E, Bryan GT: *Early induction of rat colonic epithelial ornithine and S-adenosyl-L-methionine decarboxylase activities by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or bile salts.* *Cancer Res* 41: 624-628, 1984

- 11) Rozhin J, Wilson PS, Bull AW, Nigro ND: *Ornithine decarboxylase activity in the rat and human colon. Cancer Res 44: 3326-3230, 1984*
- 12) Kingsnorth AN, King WWK, Diekkema KA, McCann PP, Ross JS, Malt RA: *Inhibition of ornithine decarboxylase with 2-difluoromethylornithine: Reduced incidence of dimethylhydrazine-induced colon tumors in mice. Cancer Res 43:2545-2549, 1983*
- 13) Luk GD, Baylin SB: *Ornithine decarboxylase as a biologic marker in familial colonic polyposis. N Engl J Med 311:80-83, 1984*
- 14) LaMuraglia GM, Lacaine F, Malt RA: *High ornithine decarboxylase activity and polyamine levels in human colorectal neoplasia. Ann Surg 204:89-93, 1986*
- 15) Porter CW, Herrera-Omelas L, Pera P, Petrelli NF, Mittelman A: *Polyamine synthetic activity in normal and neoplastic human colorectal tissues. Cancer 60:1275-1281, 1987*
- 16) Fujimoto K, Granger DN, Price VH, Tso P: *Ornithine decarboxylase is involved in repair of small intestine after ischemic reperfusion in rats. Am J Physiol 261:G523-G529, 1991*
- 17) Deschner EE, Lipkin M: *Proliferative patterns in colonic mucosa in familial polyposis. Cancer 35: 413-418, 1975*
- 18) Ponz de Leon M, Roncucci L, Di Donato P, Tassi L, Smerieri O, Amorico MG, Malagoli G, De Maria D, Antonioli A, Chahin NJ, Perini M, Rigo G, Barberini G, Manenti A, Biasco G, Barbara L: *Pattern of epithelial cell proliferation in colorectal mucosa of normal subjects and of patients with adenomatous polyps or cancer of the large bowel. Cancer Res 48:4121-4126, 1988*
- 19) Terpstra OT, van Blankenstein M, Dees J, Eilers GAM: *Abnormal pattern of cell proliferation in the entire colonic mucosa patients with colon adenoma or cancer. Gastroenterology 92:704-708, 1987*
- 20) Matsubara N, Fuchimoto S, Orita K: *Differing roles of protein kinase C on the antiproliferative effects of tumor necrosis factor alpha and beta on LoVo cells. Pathobiology 58 (3):168-171, 1990*
- 21) Hietala OA, Yum KY, Pilon J, O'Donnell K, Holroyde CP, Kline I, Reichard GA, Litwin S, Gilmour SK, O'Brien TG: *Properties of ornithine decarboxylase in human colorectal adenocarcinoma. Cancer Res 50:2088-2094, 1990*
- 22) Pantel K, Schlimok G, Braun S, Kutter D, Lindemann F, Schaller G, Funke I, Izbicki JR, Riethmuller G: *Differential expression of proliferation associated molecules in individual micro-metastatic carcinoma cells. J Natl Cancer Inst 85(17):1419-1424, 1993*
- 23) Adams WJ, Lawson JA, Nicholson SE, Cook TA, Morris DL: *The growth of carcinogen-induced colon cancer in rats is inhibited by cimetidine. Eur J Surg Oncol 19(4):332-335, 1993*
- 24) Elitsur Y, Moshier JA, Murthy R, Barbish A, Luk GD: *Polyamine levels, ornithine decarboxylase activity (ODC), and ODC mRNA expression in normal and cancerous human colonocytes. Life Sci 50:1417-1424, 1992*
- 25) Narisawa T, Takahashi M, Niwa M, Koyama H, Kotanagi H, Kusaka N, Yamazaki Y, Nagasama O, Koyama K, Wakizaka A, Fukaura Y: *Increased mucosal ornithine decarboxylase activity in large bowel with multiple tumors, adenocarcinoma, and adenoma. Cancer 63:1572-1576, 1988*
- 26) Luk GD, Moshier JA, Ehrnpreis MN: *Ornithine decarboxylase as a marker for colorectal polyps and cancer. Prog Clin Biol Res 279:227-239, 1988*
- 27) Murakami S, Haruma K, Sumii K, Tari A, Yoshihara M, Inoue K, Kimura M, Matsubara H, Teshima H, Tokumo K: *A study of ornithine decarboxylase activity in tumor tissue and rectal mucosa in patients with colorectal cancer or adenoma. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi 86(6):1260-1265, 1989*
- 28) Linsalata M, Russo F, Cavallini A, Berloco P, Di Leo A: *Polyamines, Diamine oxidase, and ornithine decarboxylase activity in colorectal cancer and in normal surrounding mucosa. Dis Colon Rectum 36(7):662-667, 1993*
- 29) Lofti AM: *Colorectal polyps and the risk of subsequent carcinoma. Mayo Clin Proc 61:337-343, 1986*
- 30) Hixon LJ, Garewal HS, McGee DL, Sloan D, Fennerty MB, Sampliner RE, Germer EW: *Ornithine decarboxylase and polyamines in colorectal neoplasia and mucosa. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention 2(4):369-374, 1993*