

ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구

원자력병원 외과

백 남 선

Study for Cancer Prevention Effect of Vitamins
by Ornithine Decarboxylase Induction Test

Nam-Sun Paik

Department of Surgery, Korea Cancer Center Hospital

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

대한암예방학회지 : 제 2 권 제 2 호 1997

- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-
- ODC 법에 의한 비타민의 암예방 효과에 관한 연구-

백남선

백남선

백남선

백남선

백남선

백남선

백남선

서 론

암의 발생기전은 충분한 량의 발암물질(carcinogen) 만으로 암이 발생될 수 있으나 실제적으로는 소량의 발암물질(initiator)의 접촉후에 계속적인 발암 촉진물질(tumor promoter)의 자극에 의해 암이 발생하는 것이 대부분인 것으로 알려지고 있다.^{1~3)} 개시 세포(initiated cell)는 현미경적으로 구분할 수가 없으며, 이 자체로서는 종양세포로 발전될 수 없고 발암 촉진물질(tumor promoter)의 계속적인 자극이 있어야 종양세포로 발전될 수 있다. 그러나 발암 촉진제 만으로는 종양이 생길 수 없고, 순서를 바꾸어 발암 촉진제 접촉 후 개시제로서 자극시켜도 종양은 발생하지 않는다. 즉, 발암 촉진제는 initiated cell들의 clonal expansion을 유도하여 종양세포로 발전시킨다. 즉, tumor promoter는 heterogeneous cell system에 여러 가지 작용을 하는 것으로 알려지고 있다.

발암 촉진물질은 그 물질의 생화학적 반응에 따라 TPA (12-O-tetra-decanoyl phorbol 13-acetate) type과 non-TPA type으로 분류되고 있는데 TPA type은 1) mouse ear irritation test 2) ornithine decarboxylase(이하 ODC라 칭함) induction 3) human promyelocytic leukemia cell (HL-60 cell)의 adhesion test 4) phorbol ester receptor binding test 등이 positive 반응을 나타내는 것으로, croton oil의 성분인 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate,^{4~5)} streptomyces mediodicidus에서 추출한 teleocidin,⁶⁾ marine blue-green alga, Lyngbya majuscula에서 추출한 Lyngbyatoxin A 및 aplysiatoxin,⁷⁾ streptovorticillium oli voreticuli의 mycelia에서 추출한 olivoretin D, des-O-methyl-olivoretin B and C 등이 있고,^{8~9)} non TPA type으로 알려진 것은 mouse ear test에만 positive이며, 다른 screening test에는 negative인 tumor promoter로서¹⁰⁾ Moore 및 Uemura에 의해 1981년 독자적으로 발견된 palythoa 속의 marine coelenterate에 있는 water soluble toxin인 palytoxin과 Fujiki에 의해 보고된 thapsia garagnica L.의 뿌리 성분인 thapsigargin (sesquiterpene lactone)이 알려져 있고,¹¹⁾ diarrhetic shellfish poisoning을 일으키는 조개 및 갑각류에 존재하는 polyether compound인

okadaic acid^{67,68)} Dinophysistoxin-1, calyculin A, chrysarobin (in press)이 최근 밝혀졌다. 이들 TPA type과 non-TPA type의 tumor promoters의 공통된 생물학적 반응은 mouse ear의 발적, prostaglandin E2 생성을 촉진, arachidonic acid metabolism의 촉진, superoxide anion 생성의 촉진등이며 동물에서 발암 촉진 효과가 있는 것이다.¹¹⁾

그러나 아직까지도 발암 촉진 기전이 잘 알려져 있지 않지만¹²⁾ TPA type의 tumor promoter가 mouse skin 에 접촉되었을 때 가장 먼저, 그리고 주된 변화가 나타나는 것은 epidermis의 ornithine decarboxylase로서^{12,13)} 이 enzyme은 polyamine들 즉, putrescine, spermidine 및 spermine의 synthesis를 위한 starting enzyme으로서 정상 세포 성장이나^{14,15)} 특히 transformed 세포 성장에서¹⁶⁾ 매우 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있어, ODC 측정법은 발암 촉진 물질과 발암 억제 물질의 검색법으로 매우 중요하게 보고되어 있다.^{13,14,17,18)} 발암 억제 물질(antitumor promoter)로는 protease inhibitor, ornithine decarboxylase inhibitor들이 기대된다. 이들 중 현재까지 알려진 것은 green tea 속의 main polyphenolic constituents인 (-) epigallocatechin gallate(EGCG), soft coral(산호일종)에서 얻어진 sarcophytol A, calmodulin antagonist인 N-(6-amino-hexyl)-5-chloro-1-naphthalene-sulfonamide (W-7), lipoxygenase inhibitor인 flavonoid 및 quercetin, 미역속의 프코스테롤 등이 있다.

저자는 본원에서 발암 촉진 및 발암 억제 물질을 검색하기 위한 ODC 법을 확립하기 위하여 강한 발암 촉진 물질로 잘 알려져 있는 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate를 사용하여 female Charles River CD-1 mice의 epidermis에서 ODC induction 여부, dose-dependency 및 time-sequence의 변화, red pepper, red pepper seed 및 capsicum oil의 mouse ear test 및 ODC 변화, 건강식품으로 잘 알려진 홍삼과 알로에, 한약 및 민간요법에서 암 치료제로 쓰는 감초와 참빗나무의 검색, 항산화 비타민으로 알려진 비타민 A류(13-cis-retinoic acid 및 13-cis-retinal), α -tocopherol이 mouse skin에서 ODC activity에 미치는 영향, 같은 조건에서 ascorbic acid의 효과 판정 특히 Dose-dependency의 실험, 항암제인 actinomycin D의 ODC activity에

미치는 효과, food preservatives인 BHA, cyclo-oxygenase inhibitor인 indomethacin의 효과에 관한 실험, 인체의 각종 장기의 정상조직과 암세포조직에서의 ornithine decarboxylase의 활성도의 차이를 밝히고자 본 실험을 시도하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험 재료

(1) 실험 동물 및 사육 조건: 본 실험에 사용된 female Charles River CD-1 mouse는 일본의 Charles River Breeding Lab.에서 생후 5주령을 구입하여 사육은 물과 basal diet NIH 7 formula를 임의대로 섭취하게 생후 6~9 주령에서 실험하였다.

(2) 시약 및 장치: 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (이하 TPA라 칭함, Sigma Co.), L-[1-14C] ornithine (New England Nuclear, Boston, Mass), Ethanolamine (Kanto Chemical Co. Japan), 2-Methoxyethanol (Junsei Chemical Co. Japan), Depilatory agent (Jully, 홍화신약 주식회사, Japan), Cocktail solution(Aquasol, New England Nuclear, Boston, Mass), L-ornithine (Sigma Co.), Bovine serum (Sigma Co.)를 구입하여 사용하였다. Water Bath (American Optical Co.), Homogenizer (Brinkmann Instrument Co.), Spectrophotometer (Beckman, Model DU-8B), Liquid Scintillation Counter (United Technologies Packard, Model B4530), Warburg flask (Dr. Fujiki, National Cancer Center Research Institute 기증), Centrifuge (Sorvall Instrument, Rotor SE-12), Electric animal clipper (Daito Electric Mfg. Co. Japan), Eppendorf micro-pipette (Brand Co.)를 구입하여 사용하였다. 13-cis-retinoic acid 및 13-cis-retinal, α -tocopherol, butylated hydroxyanisole(이하 BHA라 칭함) 및 indomethacin은 Sigma Co.에서, ascorbic acid는 대한 비타민 정보 센터를 통해 Roche Pharmaceutical Co.에서 기증받았으며 actinomycin-D (Merk, USA)는 환자용을 사용하였다. 홍삼, 감초, 참빗나물, 율등은 한약방 및 시장에서 구입하였고, 알로에는 본원에서 추출한 것을 사용하였다.

2) 실험 방법

(1) Ornithine decarboxylase activity 측정법:

Mouse의 dorsal skin (2.5×4 cm)을 상처가 나지 않게 electric animal clipper로 조심해서 shaving한다. 그 후 depilatory agent (Jully)를 틈없이 바르고 5~10분 지나서 티슈로 자극을 적게하면서 닦아내고 따뜻한 물수건으로 닦아낸다. 48시간이 지난 아침 10시경 hair가 나지않은 mice만 골라 0.2 ml의 acetone에 녹인 여러 가지 농도의 실험물질 (TPA 등 화학물질 혹은 extract)를 depilated area에 골고루 바른다. 도포후 2, 4, 6, 8시간후 mouse를 cervical dislocation 으로 도살한 후 3마리씩을 한 group으로 하여 55도에서 30초동안 heating 한 후 차게한 glassplate에서 razor로 epidermis 만을 긁어낸다. 긁어낸 epidermis는 1 ml buffer P1 (50 mM sodium phosphate buffer 0.1 mM pyridoxal phosphate, 0.1 mM EDTA)에 넣어 20초 homogenization하고 20초 쉬고 다시 20초 sonication 한 후 Rotor SE-12를 사용하여 30,000 g에서 20 분동안 centrifuge하여 Supernatant fraction을 분리하여 Lowry 법으로 protein content를 측정한다. Ethanolamine과 methoxyethanol을 2:1로 섞은 용액을 Warburg flask의 center well에 0.2 ml 넣고 buffer P2 (50 mM sodium phosphate buffer, 0.2 mM pyridoxal phosphate, 0.05 mM EDTA, 0.5 mM Dithiothreitol)와 100~400 ul 정도의 cell extract를 0.9 ml이 되게 center well 주위에 넣는다. 이것을 37°C에서 10 분동안 incubation 한 후 0.1 ml의 0.5 uCi L-[1-14C] ornithine & L-ornithine을 첨가하여 37°C에서 shaking을 하면서 60분 동안 incubation 한다. 그 후 0.4 ml의 2 M citric acid를 side pocket 에 넣어 reaction을 정지시키고 다시 37°C에서 60 분동안 incubation 한 다음 center well 속의 용액을 scintillation count를 위한 vial에 넣고 cocktail 용액 (aquasol)을 5 ml을 넣어 섞은 다음 Liquid scintillation count를 위한 vial에 넣고 cocktail 용액 (aquasol)을 5 ml을 넣어 섞은 다음 Liquid scintillation counter에 넣고 C-14에서 방출되는 radioactivity를 잰다.

Enzyme activity는 nM CO₂ in 60 min/mg protein으로 표시한다. 본 실험에서 hair clipping 시 상처가 나지 않은 mouse 만을 사용한 이유는 Clark-Lewis and Murray²¹⁾의 보고에 의하면 상처(wounding)는 ODC activity를 증가시켜 mouse skin tumor formation을 촉진시키며, 같은 시간에 도살한

이유는 circadian rhythm의 변화를 없애기 위해서였다.^{14,22)}

(2) **mouse ear test:** Red pepper와 red pepper seed는 water extract와 organic solvent (dichloro-methane: isopropylalcohol = 1 : 1) extract를 사용하였고 TPA는 acetone에 녹여 사용하였으며 홍삼, 감초, 참빗나무는 water extract만 사용하였으며, aloe는 lectin 성분으로 그 효과가 있는 농도에서 물에 녹여 사용하였다. Mouse ear에 application하는량은 200ul였으며 관찰 시간은 도포후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 24시간이었다.

(3) **human tissue**에서 ODC activity의 측정: 각종 암환자 수술시 specimen이 나오자마자 cancer tissue 1 gm정도, 정상조직 1 gm 정도를 떼어 즉시 ODC activity를 측정하거나 -70°C의 냉동실에 보관한 후 측정하였다.

연구 결과

1) TPA 처리후 time-sequence에 따른 ODC의 변화: 본 실험에 사용한 TPA는 croton oil 속에 함유되어 있는 매우 강한 tumor promoter로서 알려진 것으로²³⁾ 상품화된 pure 한 것을 사용하여 0.2 ml의 acetone에 TPA 농도를 17 nM로 용해시켜 오전 10시 일회 도포후 2시간, 4시간, 6시간 및 8시간 후 cervical dislocation으로 도살하여 ODC를 측정한 결과 ODC의 활성화도는 Table 1 및 Fig. 1과 같이 TPA 도포후 2시간부터 비교적 빠른 속도로 증가하여 4시간후 peak를 나타냈으며 그 이후는 감소 현상은 증가 속도의 기울기와 비슷하였다. 17 nM의 TPA 도포시 ODC의 peak activity는 0.2 ml의 acetone만을 도포한 control 보다 10.3배의 증가를 보였다.

2) TPA의 농도에 따른 ODC의 변화: 17 nM, 170 nM 및 1700 nM의 TPA를 0.2 ml의 acetone에 용해시켜 TPA의 농도와 ODC 활성화도의 관계를 ODC 활성화도가 peak인 4시간후 관찰한 결과 Table 2에서와 같이 mouse eipdermis의 ODC 활성화도는 TPA의 농도에 비례하여 증가하였다.

3) Mouse ear test에서 red pepper 및 red pepper seed의 organic solvent extract 및 capsicum oil의 결과는 비슷하였으며 도포 24시간 후 negative 현상으로 보아 mouse 피부에서는 발암촉진 효과가 없을 것으로 사료되며, 윗 및 참빗나무의 water extract

도 도포후 4~8시간에 +정도의 반응을 보였으나 곧 사라져 hyperplastic effect가 있을 것으로 사료되며, 특히 민간요법으로 항암효과를 목적으로 사용하는 참빗나무 extract는 오히려 해가 될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

4) TPA의 ODC induction의 효과를 홍삼, 감초, 알로에의 water extract가 각각 26.0, 9.6 및 6.3% 씩 억제시켜 해독제나 건강식품으로 간주될 수 있을 것으로 생각되나 홍삼이 피부에서의 발암억제 효과의 가능성에 대해서는 two stage carcinogenesis로 확인이 필요할 것으로 사료된다.

5) 13-cis-retinoic acid와 13-cis-retinal은 TPA에 의한 ODC induction에 효과를 각각 57.4%, 78.4% 억제시켰다.

6) Ascorbic acid는 dose에 비례해서 TPA에 의한 induction의 억제효과가 크게 나타났다.

7) 항암제 actinomycin D는 ODC 활성화도 억제효과가 미비했다.

8) α -tocopherol은 5 μ M, 50 μ M 및 500 μ M에서 각각 26.0%, 43.7% 및 51.0%의 ODC inhibition 효과가 있었다.

9) BHA는 5 μ M, 50 μ M 및 500 μ M에서 각각 19.2%, 73.5% 및 44.8%의 ODC inhibition 효과가 있었다.

10) Indomethacin은 5 μ M, 50 μ M 및 500 μ M에서 각각 38.9%, 40.2% 및 41.6%의 ODC inhibition 효과가 있었다.

11) 각종 장기의 정상세포 및 암세포에서의 ODC activity의 차이는 1.3~18.3배로 암세포에서 높았다.

문헌 고찰

Tumor promoter들은 작용기전에 따라 TPA, teleocidin 등의 TPA type과 palytoxin, thapsigargin, okadaic acid, calyculin A, Dinophysistoxin 및 chrysarobin⁶⁷⁾등이 속하는 non-TPA type으로 분류되고 있지만¹⁰⁾ 아직까지도 tumor promotion의 정확한 기전은 알려져있지 못한 실정이다.¹³⁾ 다만 TPA type과 non-TPA type에 의해서 나타나는 공통된 생물학적 반응은 mouse ear의 발적, cyclooxygenase의 자극에 의해 arachidonic acid 대사 촉진,⁷⁵⁾ 유리기(free radicals)인 hydroxy radical 및 superoxide anion등의 생성을 촉진하거나, 한편 이들 유리기들

의 분해를 촉진시키는 superoxide dimutase(SOD) 및 catalase(hydrogen peroxide 분해효소) activity를 감소시킨다. 실제로 polymorphonuclear leucocytes 나 macrophage 등이 TPA에 의해 respiratory bursting 반응을 일으켜 유리기의 생성을 촉진하게 된다.⁷³⁾ 이때 속발현상(sequential phenomena)들로서 RNA synthesis, DNA synthesis로 결국 protein synthesis 및 inflammatory 반응이 나타나 cell hyperplasia 현상으로 나타나며,¹³⁾ two stage carcinogenesis의 동물 실험에서 발암 촉진 효과가 있다.¹¹⁾ 한편 tumor promoter는 작용시기에 따라 hydrogen peroxide와 A23187 및 TPA 등과 같이 dark keratinocyte의 출현과 prostaglandin의 생성에 중요한 역할을 하는 1st stage promoter 들은 retinoic acid등으로 억제될 수 있다.²⁶⁾

현재까지로서는 non-TPA type인 palytoxin 과 thapsigargin과 최근 밝혀진 okadaic acid, dino-phystoxin-1, calyculin A, chrysarobin (refence A, B) 외의 모든 promoter 들은 mouse skin 에 접촉되었을 때 가장 먼저, 그리고 가장 주된 변화는 ornithine decarboxylase의 induction으로 이 enzyme 은 세포성장에 관여하는 polyamine 들 즉, putrescine, spermidine 및 spermine의 synthesis를 위한 starting enzyme으로^{13,31~34)} mouse skin tumor promotion의 기전에 매우 중요한 현상이다. Tumor promoter에 의한 ODC induction은 mouse epidermal cell^{14,15,28,29)}에서만 나타나는 현상이 아니고 transformed hamster embryo fibroblast,¹²⁾ NaCl 및 담즙산 (bile acids)에 의해서 rat의 glandular mucosa,⁴³⁾ rabbit에서 human gonadotropin(HCG)에 의해 ovary tissue에서,⁴⁸⁾ 그 밖에 ODC induction은 injury, hepatectomy 후에도 나타나며 최근 lymphokines(IL1, IL2)에 의해 T lymphocyte에서도 ODC induction 현상이 보고되고 있다.⁴⁹⁾ 이러한 tumor promoters에 의한 ODC induction 효과는 species 차이, cell type에 따라 정도 및 시간적 변화가 다른 것으로 보고되고 있고,¹²⁾ ODC Induction은 tumor promotion의 mechanism을 위해 꼭 필요하나 충분한 조건은 아닌 것으로 알려져 있다. 한편 tumor promoter에 의한 ODC induction을 억제시키는 물질 및 약물들을 찾아 antitumor promoter를 찾아내려는 많은 연구가 진행되고 있다. 그 예로 lipoxygenase inhibitor인 nordihydroguaiaretic acid

(NDGA), flavonoid 및 quercetin,⁵⁰⁾ nonspecific phospholipase A₂ inhibitor 인 tetracaine 및 mepacrine, PGE₂ production inhibitor 즉, cyclooxygenase inhibitor들인 indomethacine, flufenamic acid, acetyl-salicylic acid와⁵¹⁾ lbutrofen,⁴⁸⁾ 그 밖에 진통제로 사용되는 pethidine⁵²⁾ 등이 TPA에 의한 ODC induction을 억제하고 있어 이들의 항 발암물질로서 연구되고 있으며, 또한 항산화물질들의 발암억제 효과⁷¹⁾ 및 암치료 효과에 대한 많은 연구가 계속되고 있다.^{61~66)}

비타민 A의 본래의 기능은 visual pigments로서의 기능, 생식력의 유지, 정상세포, 특히 상피세포의 분화유지로서 매우 중요하다. 본실험에서 13-cis-retinoic acid와 13-cis-retinal의 ODC activity의 억제효과는 각각 57.5% 및 78.4%로 현저했으며, 향후 암예방 및 치료제로서 매우 각광을 받을 여지가 있는 물질로 사료되며, 다만 이들의 독성 문제가 새로운 문제로 대두되고 있다. 비타민 C의 항암효과는 Pauling등에 의해 보고되었고 그 기전은 항산화제로서의 효과, nitrosamination의 blocking 효과 등으로 알려져 있고 본 실험에서도 ascorbic acid가 ODC activity에 미치는 효과를 측정할 결과 Dose-dependency가 있었으며, ODC activity를 감소시켰다.

항산화비타민으로 알려진 α -tocopherol의 ODC 억제 효과도 의의가 있었으며, food preservatives로 쓰이는 BHA, cyclooxygenase inhibitor, indomethacine은 ODC 억제효과를 관찰할 수 있었다. Actinomycin D는 streptomycetes에서 추출하거나 합성할 수 있는 약제로서 Wilm's tumor, Ewing's sarcoma 및 gestational choriocarcinoma에 사용되는 약제이며, 방사선 치료시 피부에 손상을 많이 주어 re-epithelialization을 방해하는 기능이 알려져 있어 mouse skin에서의 ODC activity에 관한 효과 실험에서 그 결과는 8.5%의 억제 효과로 미비했다.

저자는 O'Brien(1975), Sina(1983),³⁵⁾ Fujiki(1984)¹⁰⁾ 및 Takao(1986)³⁷⁾ 등의 실험 방법을 일부 변형하여 실험한 결과, TPA 농도의 증가에 따른 ODC activity의 변화는 application 후 2시간부터 급속히 증가하여 4시간 Peak가 되었고 그 후 감소하는 현상을 보였다. 이결과는 많은 학자들의 보고와 같았다.^{11,12,14,44,47)} 결론적으로 본 실험법은 발암촉진 및 항발암촉진 물질의 검색법(screening test)으로서 사

용될 수 있을 것으로 사료된다.

Mouse ear test는 1971년 Hecker가 ID24-50 (irritant dose causing reddening of the ears of 50% of the mice after 24hrs)로서 tumor promoter를 screening 하는 데 사용하였다. 인삼의 항암효과에 대해서는 많은 학자들에 의해 연구되어 오고 있으나^{53~55)} 그의 확실한 Chemical component나 mechanism에 대해서는 아직도 여러 가지 학설이 있다.

감초의 ODC에 대한 효과는 뚜렷하지 않았고 aloe의 효과에 대해서도 동양에서나 서양에서 많은 연구가 되어오고 있으나^{56~60)} 항생작용, 세포활성화 작용 및 궤양치료 효과에 대해서 주로 연구되고 항암효과에 대해서는 Soeda(1969) 및 Rubel(1983)가 보고하고 있다. 이들의 결과는 실험 design 이나 충분한량을 사용하지 못한 결점 때문에 아직 결론을 내릴 수 없는 실정이나 antiprostaglandin effect, histidine decarboxylase inhibitor로 보고되었기에 ODC에 대한 효과를 기대했으나 뚜렷하지가 않았다. 그러나 aloe의 folklore remedy로서 존재가치는 더 많은 연구를 통하여 cost-effective analysis가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

Female Charles River CD-1 mice의 dorsal skin의 epidermis에 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate를 17,170 및 1700 nmole을 0.2 ml의 acetone에 녹여 single application 후 2, 4, 6 및 8 시간후 cervical dislocation에 의해 도살하여 본원에서 변형한 실험법으로 ODC activity를 측정된 결과 TPA의 농도에 따라 ODC activity는 증가되었으며, ODC induction의 peak time은 application 후 4시간 경이었다.

본 실험의 결과는 O'Brien, Fujik, Boutwell 및 Chida 등의 실험 결과와 같아, 본 실험법은 발암 촉진 물질 및 발암 억제 물질들의 검색법 (screening test)으로 사용될 수 있을 것으로 사료되며, mouse ear test로는 red pepper는 tumor promoting effect가 있다고 단정지을 수 없고, 홍삼, 감초, 알로에의 ODC activity inhibition 효과는 각각 26.0, 9.6 및 6.3%를 보여 감초 및 알로에의 ODC activity에 대한 영향도는 뚜렷하지 않았고 홍삼은 two stage

carcinogenesis 실험을 해 볼 가치가 있을 것으로 사료되며, 민간요법으로 항암효과를 목적으로 사용하는 참빗나무는 오히려 사용하지 않는 것이 좋을 것으로 사료되고, 다른 민간요법에 대해서도 계속 연구하여 그들의 재평가가 필요하며, 13-cis-retinoic acid와 13-cis-retinal은 TPA에 의한 ODC induction 효과를 각각 57.4%, 78.4% 억제시켰으며, ascorbic acid, α -tocopherol, indomethacin 및 BHA도 ODC 억제효과가 뚜렷했으며, dose-dependency가 있었다.

따라서 지금까지 알려진 비타민 A, C나 E의 항발암효과 및 암치료 효과외의 새로운 기전이 밝혀질 것으로 기대되며, 여러 가지 food preservatives(BHA 등), cyclooxygenase inhibitor 및 lipooxygenase inhibitor들에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 기대된다. 그리고 각종 항산화 비타민들(A, C, E)의 복합투여가 ODC activity에 어떤 영향을 나타낼 것인지의 in vitro 실험과 이들을 동물에 누여한 후 two stage carcinogenesis에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 실험에서는 항암제로서 actinomycin D를 사용하였으나 피부암에 도포하여 효과를 얻고 있는 5-fluorouracil이나 mitomycin등에 대한 연구가 필요할 것으로 사료되며, 최근 anthracycline 계통 및 platinum이 포함되어 있는 각종 unmasked compounds들의 ODC activity에 미치는 영향에 관한 연구가 흥미로운 것으로 기대된다.

인체의 정상조직과 암세포조직의 ODC 활성도의 차이가 뚜렷하므로 ODC를 억제시킬 수 있는 새로운 약제 개발이나 주위 환경물질을 찾아 암예방이나 치료에 공헌할 수 있는 연구가 더 필요할 것으로 사료된다. 최근 본원에서 임상적 실험으로 각종 암환자들의 수술 전후의 urine내 polyamines의 농도와 항암화학요법 전후의 urine내 polyamines의 농도를 비교하여 수술 및 항암화학요법의 치료효과를 어느 정도 판정할 수 있는지에 대한 연구를 실행하고 있다. 결론적으로 1940년대초 Berenblum에 의해 croton oil을 사용하여 mouse skin에서 two-stage carcinogenesis 실험이 시작된 후 tumor promotion 및 antitumor promotion에 대한 연구가 병리조직학적으로, 생화학적으로, 생물학적으로, 최근 gene level에 서까지 많이 시행되어 오고 있으나 아직까지도 많은 의문점이 남아있고 향후 인류의 최대의 적인 암 예방

을 위해 새로운 antitumor promoter들의 발견 및 이들의 작용기전에 대해서도 계속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

RERERENCES

- 1) Berenblum I. The mechanism of carcinogenesis: A study of the significance of cocarcinogenic action and related phenomena. *Cancer Res* 1941; 1: 807-814.
- 2) Boutwell RK. Some Biological Aspects of Skin Carcinogenesis. *Progr Exptl. Tumor Res* 1964; 4: 207-250.
- 3) Boutwell RK. The Biochemistry of Preneoplasia In Mouse Skin. *Cancer Res* 1976; 36: 2631-2635.
- 4) Hecker E. *Naturwissenschaften* 1967; 54: 282-284.
- 5) Van Duuren BL. *Prog Exp Tumor Res* 1969; 11: 31-68.
- 6) Takashima M, Sakai H. A new Toxic Substance, teleocidin, produced by *Streptomyces*. Part I Production, isolation and chemical studies. *Bull Agric Chem Soc Japan* 1960; 24: 647-651.
- 7) Moore RE. *Pure Appl Chem* 1982; 54: 1919-1934.
- 8) Sakai S, Aimi N, Yamaguchi K, Hitotsuyanagi Y, Watanabe C, Yokose K, Koyama Y, Shudo K, Itai A. *Chem Pharm Bull* 1984; 32: 354-357.
- 9) Ninomiya M, Fujiki H, Paik NS, Hakii H, Suganuma M, Hitotsuyanagi Y, Aimi N, Sakai S, Endo Y, Shudo K, Sugimura T. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1986; 77: 222-225.
- 10) Fujiki H, Suganuma M, Tahira T, Yoshioka A, Nakayasu M, Endo Y, Shudo K, Takayama S, Moore Re, Sugimura T. Cellular interactions by environmental tumor promoters. *Jpn Sci Soc Rress* 1984; 37-45.
- 11) Hirota Fujiki, Takashi Sugimura. New classes of tumor promoters: *Teleocidin Aplysiatoxin and Palytoxin Advances in Cancer Res* 1987; 49: 223-264.
- 12) Thomas G. O' Brien and leila diamond. ornithine decarboxylase induction and DNA synthesis in hamster embryo cell cultures treated with tumor promoting phorbol diesters. *Cancer Res* 1977; 37: 3895-3900.
- 13) O'Brien TG. The Induction of Ornithine Decarboxylase as an Early, Possibly Obligatory Event in Mouse Skin Carcinogenesis. *Cancer Res* 1976; 36: 2644-2653.
- 14) O'Brien TG, Simsiman RC, Boutwell RK. Induction of the polyamine-biosynthetic enzymes in mouse epidermis by tumor promoting agents. *Cancer Res* 1975; 35: 1662-1670.
- 15) Raineri R, Simsiman RC, Boutwell RK. Stimylation of the phosphorylation of mouse epidermal histones by tumor-promoting agents. *Cancer Res* 1973; 33: 134-139.
- 16) Raick AN. Cell proliferation and promoting action in skin carcinogenesis. *Cancer Res* 1974; 34: 920-926.
- 17) Verma AK, Shapas BG, Rice HM, Boutwell RK. Correlation of the inhibition by retinoids of tumor-promoter induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and skin tumor promotion. *Cancer Res* 1975; 39: 419-425.
- 18) Verma AK, Ashendel CL, Boutwell RK. Inhibition by prostaglandin synthesis inhibition of the induction of epidermal ornithine decarboxylase activity, the accumulation of prostaglandins, and tumor promotion caused by 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate. *Cancer Res* 1980; 40: 308-315.
- 19) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurement with the floin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- 20) Elliott Ross, Gottfried Schatz. Assay of protein in the presence of high concentrations of sulfhydryl compounds. *Analytical Biochemistry* 1973; 54: 304-306.
- 21) Clark-Lewis I, Murray AW. Tumor promotion and the induction of epidermal ornithine decarboxylase activity in mechanistically stimulated mouse skin. *Cancer Res* 1978; 38: 494-497.
- 22) Richard G, Weekes Ajit K, Verma, RK, Boutwell. Inhibition by putrescine of the induction of epidermal ornithine decarboxylase activity and tumor promotion caused by 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate. *Cancer Res* 1980; 40: 4013-4018.
- 23) Hecker E, Schmidt R. Phorbol esters-the irritants and co-carcinogens of croton Tiglium L. In: W Herz, H Grisebach, GW. Kirby(eds.), *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, New York: Springer-Verlag* 1974; 31: 377-467.
- 24) Henry Hennings RK, Boutwell. Studies or the mechanism of skin tumor promotion. *Cancer Res* 1970; 30: 312-320.
- 25) Williams-Ashman HG, Coppoc GL, Weber G. Imbalance in ornithine metabolism as expressed in formation of putrescine, spermidine, and spermine. *Cancer Res* 1972; 32: 1924-1932.
- 26) Verma AK, Boutwell RK. Vitamin A Acid (retinoic acid), a potent inhibition of 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis. *Cancer Res* 1976; 37: 2196- 2201.
- 27) Bachrach U. Polyamines as chemical markers of malignancy. *Ital J Biochem* 1976; 25: 77-93.
- 28) Russell DH. Polyamines in growth-normal and neoplastic. In: D.H. Russell(ed.), *Polyamines in Normal and Neoplastic Growth, 1-13, New York; Raven Press* 1973
- 29) Yuspa SH, Lichti U, Ben T, Patterson E, Hennings H,

- Slaga TJ, Colburn N, Kelsey W. Phorbol esters stimulate DNA synthesis and ornithine decarboxylase activity in mouse epidermal cell cultures. *Nature* 1976; 262: 402-404.
- 30) Hirota Fujiki, Masami Suganuma, Norio Matsukura, Takashi Sugimura, Shozo Takayama. Teleocidin in polyamine metabolism in mouse salivary glands. *J Biochem* 1974; 75: 679-687.
- 32) Kay JE, Lindsay VJ. Polyamine synthesis during lymphocyte activation. *Expl Cell Res* 1973; 77: 428-436.
- 33) Page AE, Lockwood DH, Williams-Ashman HG. Concentration of putrescine and polyamines and their enzymic synthesis during androgen-induced prostatic growth. *Biochem J* 1970; 117: 17-31.
- 34) Russell DH, Snyder SH. Amine synthesis in rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo, and various tumors. *Proc Natl Acad Sci US* 1968; 68: 1420-1426.
- 35) Joseph F, Sina, Matthews O, Bradley, Leila Diamond, and Thomas G. O'Brien. Ornithine decarboxylase activity and DNA synthesis in primary and transformed hamster epidermal cell exposed to tumor promoter. *Cancer Res* 1983; 43: 4108-4113.
- 36) Fufibata C, Sato Y, Hosaka M, Matsushima T, Furukawa F, Takahashi M. NaCl induced ornithine decarboxylase and DNA Synthesis in rat stomach mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 121: 1027-1032.
- 37) Takao Saito, Alihiko Kuwahara, Michio Kobayashi. Induction of ornithine decarboxylase activity in rat glandular stomach mucosa by bile acids. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1986; August 77: 739-742.
- 38) Takano S, Matsushima M, Erturk E, Bryan GT. Early detection of rat colonic epithelial ornithine and S-adenosyl-L-methionine decarboxylase activities by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine or bile salts. *Cancer Res* 1981; 41: 624-628.
- 39) Gordon D, Luk Stanley R, Hamilton, Peter Yang, Jeffery A. Smith, Denis O'Ceallaigh, David McAvinchey, and John Hyland. Kinetics changes in mucosal ornithine decarboxylase activity during azoxymethane-induced colonic carcinogenesis in the rat. *Cancer Res* 1986; 46: 4449-4452.
- 40) Luk GD, Marton JL, Baylin SB. Ornithine Decarboxylase is important in intestinal mucosa maturation and recovery from injury in rats. *Science (Wash. D.C.)* 1980; 210: 195-198.
- 41) Yang P, Baylin SB, Luk GD. Polyamines and intestinal growth: absolute requirement for ODC activity in adaptation during lactation. *Am J Physiol* 1984; 247: G553-G557.
- 42) Rozhin J, Wilson PS, Bull AW, Nigro ND. Ornithine decarboxylase activity in the rat and human colon. *Cancer Res* 1984; 44: 3226-3230.
- 43) Koji Sasajima, James C. Willey, Susan P. Banksschlegel, Curtis C, Harris. effects of tumor promoters and cocarcinogens on growth and differentiation of cultured human esophageal epithelial cells. *JNCI Col* 1987; 78: No 3, 419-423.
- 44) Boutwell RK. Biochemical mechanism of tumor promotion. In "Carcinogenesis-A Comprehensive Survey" ed. J. Slaga, A. Sivak and R.D. Boutwell, 2; 49-58, *Raven Press New York* 1978.
- 45) Mari K, Haddox Bruce E, Magun, Diane Haddock Russell. Ornithine decarboxylase induction during g1 progression of normal and rous sarcoma virus-transformed cells. *Cancer Res* 1980; 40: 604-608.
- 46) Maudsley DV. Regulation of polyamine biosynthesis. *Biochem Pharmacol* 1979; 28: 153-161.
- 47) Janne J, Williams-ashman HG. On the purification of L-ornithine decarboxylase from rat. prostate and effects of thiol compounds on the enzyme. *J Biol Chem* 1971; 246: 1725-1732.
- 48) Andre Bieniarz, Trish Berger, Kazunori Nishimura, Gere S. dizerega. Ibuprofen modulation of human chorionic gonadotropin induced ornithine decarboxylase activity and ovulation in rabbit ovary. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 147: 327-332.
- 49) Rosanne K, Fidelus, Arline H, Laughter, Jermiali J, Twonmey. The role of mitogens and Lymphokines in the induction of orithine decarboxylase in T lymphocytes. *J Immunol* 1984; 132: 1462-1465.
- 50) Teruo Nakadate, Satoshi Yamamoto, eriko Aizu, Ryuichi Kato. Effects of flavoids and antioxidants on 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate caused epidermal ornithine decarboxylase induction and tumor promotion in relation to lipoxigenase inhibition by these compounds. *Gann* 1984; 75: 214-222.
- 51) Teruo Nakadate, Satoshi Yamamoto, Miki Ishii, Ryuichi Kato. Inhibition of 12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate induced epidermal ornithine decarboxylase activity by phospholipase A2 inhibitors and lipoxigenase inhibition. *Cancer Res* 1982; 42: 2841-28455.
- 52) Emmanuel Oersitz, Donna Benalal, Uriel Bachrach, Shlomo Mor-Yoseph. Effect of maternal pethidine administration on neonatal brain cyclic AMP levels and ornithine decarboxylase activities. *Biochem Pharm* 1984; 33: 1816-1818.
- 53) ByungHoon Han, et al. Studies on the Antioxidant Compounds of Korean Ginseng[I]. *Korea Biochem J* (1979) vol. 12, No.1, 33-40.
- 54) ByungHoon Ha,n et al. Studies on the Antioxidant Compounds of Korean Ginseng[II], The effect of ferric ion on the antioxidant activity. *Kor J Pharm* 1978; 9(4): 169-171.

- 57) Imanixhi K, et al. Pharmacological studies on a plant lectin aloctin A. I. growth inhibition of mouse methylcholanthrene- induced fibrosarcoma (Meth A) in ascites form by aloctin A. *Experientia* 1981; 37: 1186-1187.
- 58) Morton JF. Folk uses and commercial exploitation of aloe leaf pulp. *Economic Botany* 1961; 15: 311-319.
- 60) Soeda M. Studies on the anti-tumor activity of cape aloe. *J Med Soc Toho Univ Japan* 1969; 16: 365-369.
- 61) Moon RC, Grubbs CJ, Sporn MB. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate. *Cancer Res* 1976; 36: 2626-2630.
- 62) Sporn MB, Squire RA, Brown CC, Smith JM, Wenk ML, Springer S. 13-cis-Retinoic acid: inhibition of bladder carcinogenesis in the rat. *Science (Wash. DC)* 1977; 195: 487-489.
- 63) Verma AK, Shapas BG, Rice HM, Boutwell RK. Correlation of the inhibition by retinoids of tumor promoter-induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and of skin tumor promotion. *Cancer Res* 1979; 39: 419-425.
- 64) Santamaria L, Bianchi A, Annaboldi A, Andreoni L, Bermond P. Dietary carotenoids block photocarcinogenic enhancement by benzo[a]pyrene and inhibit its carcinogenesis in the dark. *Experientia(Basel)* 1983; 39: 1043-1045.
- 65) Epstein JH. Effects of β -carotene on ultraviolet induced cancer formation in the hairless mouse skin. *Photochem. Photobiol* 1977; 25: 211-213.
- 66) Mathews-Roth MM. Antitumor activity of β -carotene. cantha- xanthin and phytoene. *Oncology(Basel)* 1982; 39: 33-37.
- 67) DiGiovani J, Kruszewski FH, Coombs MM, Bhatt TS, Pezeshk A. Structure-activity relationships for epidermal ornithine decarboxylase induction and skin tumor promotion by anthrones. *Carcinogenesis* 1988; 9: 1437-1443.
- 68) Fumitaka Katoh D, James Fitzgerald, Laurence Giroldi, Hirota Fujiki, Takashi Sugimura, Hiroshi Yamasaki. Okadaic acid phorbol esters: Comparative effects of these tumor promoters on cell transformation, intercellular communication and differentiation in vitro. *Jpn J Cancer Res* 1990; 81: 590-597.
- 69) Slaga TJ, Klein-Szanto AJP, Triplett LC, Yotti LP, Trosko JE. Skin tumor promoting activity of benzoyl peroxide: a widely used free radical generating compound. *Science* 1981; 213: 1023-1025.
- 70) Chan JT, Black HS. The mitigating effect of dietary antioxidants on chemically-induced carcinogenesis. *Experientia* 1978; 34: 110-111.
- 71) Kensler TW, Bush DW, Kozumbo WJ. Inhibition of tumor promotion by a bimimetic superoxide dimutase. *Science* 1983; 221: 75-77.
- 72) Solanki V, Rana RS, Slaga TJ. Diminution of mouse epidermal superoxide dimutase and catalase activities by tumor promoters. *Carcinogenesis* 1981; 2: 1141- 1146.
- 73) Slaga TJ. Anti-inflammatory steroids: potent inhibitors of tumor promotion. In Slaga, T.J. (ed.), *Carcinogenesis*. Raven Press, New York 1980; 5: 111-126.
- 74) Verma AK, Rice HM, Boutwell RK. Prostaglandins and skin tumor promotion: inhibition of tumor promoter-induced ornithine decarboxylase activity in epidermis by inhibitors of prostaglandin synthesis. *Biochem. Biophys Res Commun* 1977; 79: 1160-1166.
- 75) Furstenberg G, Richter H, Fusenig NE, Marks F. Arachidonic acid and prostaglandin E 2 release and enhanced cell proliferation induced by the phorbol ester TPA in a murine epidermal cell line. *Cancer Lett* 1981; 11: 191-198.

Table 2. The induction of ODC by TPA (4 h after application)

| TPA concentration nM | ODC specific activity nM CO ₂ in 60 min/mg protein |
|-------------------------|--|
| 17 | 0.380±0.009 |
| 170 | 0.760±0.015 |
| 1700 | 1.092±0.073 |

Table 5. Ornithine decarboxylase induction test

| | ODC specific activity nM CO ₂ in 60 min/mg protein 4 h after application |
|-------------------|---|
| Control (acetone) | 0.016±0.001 |
| TPA (17 nM) | 0.380±0.019 |
| 꽃 | 0.173±0.009 |
| 참빛나무 | 0.217±0.011 |

Fig. 1. The effect of various TPA concentration and time sequence of ODC activity in mouse eipdermis.

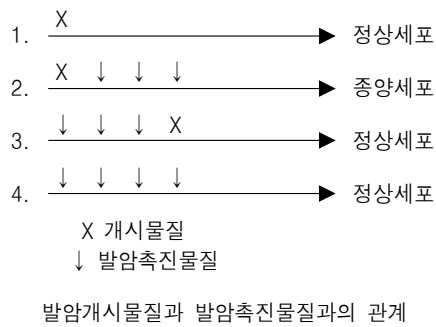


Table 1. The effect of various TPA concentration and time sequence on ODC activity in mouse epidermis

| TPA Concentration | ODC specific activity nM CO ₂ in 60 min/mg protein | | | |
|----------------------|---|-------------|-------------|-------------|
| | 2h | 4h | 6h | 8h |
| Control | 0.021±0.001 | 0.037±0.002 | 0.053±0.003 | 0.027±0.001 |
| 17 nM | 0.153±0.008 | 0.380±0.019 | 0.295±0.015 | 0.211±0.011 |
| 170 nM | 0.180±0.009 | 0.760±0.038 | 0.457±0.023 | 0.302±0.015 |
| 1700 nM | 0.225±0.011 | 1.092±0.096 | 0.620±0.031 | 0.375±0.019 |

Table 3. Mouse ear test with red pepper, red pepper seed and capsicum oil

| 반응물질 (200 ul) | 경과 시간 | | | | | | | |
|-----------------|-------|----|----|----|----|----|-----|-----|
| | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h | 12h | 24h |
| Red pepper | | | | | | | | |
| 1 mg/ml | + | + | + | ± | - | - | - | - |
| 2 mg/ml | + | + | + | + | ± | ± | - | - |
| 10 mg/ml | + | + | + | + | ± | ± | - | - |
| Red pepper seed | | | | | | | | |
| 1 mg/ml | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 mg/ml | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10 mg/ml | + | + | + | + | ± | ± | - | - |
| Capsicum oil | | | | | | | | |
| 10 mg/ml | + | + | + | + | + | + | - | - |

**Solvent: Dichloromethane+Isopropylalcohol
CH₂Cl₂ (CH₂)₂CHOH

Table 4. Mouse ear test with water and organic solvent extracts and TPA

| 반응 물질 | 관찰 시간 | | | | | |
|-------------------------------|-------|-----|-----|----|----|----|
| | 2 | 4 | 6 | 8 | 12 | 24 |
| TPA (1.7 uM) | + | +++ | +++ | ++ | + | + |
| 꽃 (w.e.) | - | + | + | - | - | - |
| 참빗나무 (w.e.) | - | + | + | - | - | - |
| 알로에 (w.e.) | - | - | - | - | - | - |
| 감초 (w.e.) | - | - | - | - | - | - |
| 13-cis-retinoic acid (o.s.e.) | - | - | - | - | - | - |
| 13-cis-retinal (o.s.e.) | - | - | - | - | - | - |
| ascorbic acid (o.s.e.) | - | - | - | - | - | - |
| actinomycin D (o.s.e.) | - | - | - | - | - | - |

w.e. : water extract, o.s.e. : organic solvent extract, -: no response, +: vessel dilatation, ++: hyperemia, +++: edema, ++++: necrosis

Table 6. Ornithine decarboxylase inhibition test with water extracts

| Materials (200 μ l) | ODC specific activity nM CO ₂ in 60 min/mg protein | Inhibition ratio |
|----------------------------|--|------------------|
| TPA (1.7 μ M) | 1.092 \pm 0.073 | |
| TPA+홍삼 | 0.808 \pm 0.040 | 26.0% |
| TPA+감초 | 0.987 \pm 0.049 | 9.6% |
| TPa+알로에 | 1.023 \pm 0.051 | 6.3% |

Table 7. The effect of pretreatment with vitamin A analogs on TPA-induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity (nM CO ₂ / 30 min/mg protein) | % inhibition |
|--------------------------|--|--------------|
| TPA | 4.02 \pm 0.67 | |
| 13-cis-Retinoic acid+TPA | 1.71 \pm 0.34 | 57.5 |
| 13-cis-Retinal+TPA | 0.87 \pm 0.26 | 78.4 |

The mice were treated with 1.7 nM of vitamin A analogs 1 h before application of 17 μ M TPA. The mice were killed 4 h after TPA treatment. Each value represents the mean \pm SE of determinations of enzyme activity 3 groups of mice.

Table 8. The effect of various doses of ascorbic acid on TPA-induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity (nM CO ₂ / 30 min/mg protein) | % inhibition |
|--------------------------------|--|--------------|
| TPA | 3.69 \pm 0.53 | |
| ascorbic acid+TPA (10 μ M) | 3.51 \pm 0.33 | 4.9 |
| ascorbic acid+TPA (25 μ M) | 3.01 \pm 0.30 | 1.8 |
| ascorbic acid+TPA (50 μ M) | 2.51 \pm 0.27 | 32.0 |

The mice were treated with various doses of ascorbic acid in 200 μ l acetone/methanol (1 : 1) 30min prior to the topical application of 17 μ M TPA. The mice were killed 4 h after TPA treatment. Each value represents the mean \pm SE of determinations of enzyme activity 3 groups of mice.

Table 9. The effect of pretreatment with actinomycin D on TPA induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity (nM CO ₂ / 30 min/mg protein) | % inhibition |
|-------------------|--|--------------|
| TPA | 2.83 \pm 0.42 | |
| actinomycin D+TPA | 2.59 \pm 0.38 | 8.5 |

The mice were treated with 100 μ g actinomycin D dissolved in actone 30 min prior to the topical application of 17 μ M TPA. The mice were killed 4 h after TPA treatment. Each value represents the mean \pm SE of determinations of enzyme activity 3 groups of mice.

Table 10. The effect of pretreatment with various doses of α -tocopherol on TPA-induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity* | % inhibition |
|--|---------------|--------------|
| TPA | 3.96±0.65 | |
| α -tocopherol+TPA (5 μ M) | 2.93±0.57 | 26.0 |
| α -tocopherol+TPA (50 μ M) | 2.23±0.51 | 43.7 |
| α -tocopherol+TPA (500 μ M) | 1.98±0.32 | 51.0 |

*nM CO₂/30 min/mg protein

The mice were treated with various doses of α -Tocopherol in 200 μ l acetone/methanol (1 : 1) 60 min prior to the topical application of 17 μ M TPA. The mice were killed 4 h after TPA treatment. Values represent the mean \pm SE of 3 determinations of enzyme activities.

Table 11. The effect of pretreatment with various doses of butylated hydroxyanisole on TPA induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity* | % inhibition |
|-----------------------|---------------|--------------|
| TPA | 4.87±0.72 | |
| BHA+TPA (5 μ M) | 3.93±0.69 | 19.2 |
| BHA+TPA (50 μ M) | 3.04±0.63 | 37.5 |
| BHA+TPA (500 μ M) | 2.69±0.52 | 44.8 |

*nM CO₂ /30 min/mg protein

The mice were treated with various doses of butylated hydroxyanisole (BHA) in 200 μ l acetone/methanol (1 : 1) 60 min prior to the topical application of 17 μ M TPA. The mice were killed 4 h after TPA treatment. Value represent the mean \pm SE of 3 determinations of ODC activities.

Table 12. The effect of pretreatment with various doses of indome-thacin on TPA-induced mouse epidermal ODC activity

| Treatment | ODC activity* | % inhibition |
|--------------------------------|---------------|--------------|
| TPA | 2.98±0.61 | |
| Indomethacin+TPA (5 μ M) | 1.82±0.50 | 38.9 |
| Indomethacin+TPA (50 μ M) | 1.78±0.47 | 40.2 |
| Indomethacin+TPA (500 μ M) | 1.74±0.46 | 41.6 |

*nM CO₂/30 min/mg protein

The mice were treated with various doses of indomethacin in 200 μ l acetone 60 min prior to the topical application of 17 μ M of TPA. The mice were killed 4 hr after TPA treatment. Value represent the mean \pm SE of 3 determinations of ODC activities.

Table 13. 인체 각종 정상조직과 암조직에서의 ODC Activity nM CO₂ in 60 min/mg protein

| Tissue Organ | Normal | Cancer | Ratio |
|--------------|-------------|-------------|--------|
| Stomach | 1.061±0.053 | 7.205±0.360 | 6.791 |
| Liver | 1.072±0.054 | 6.082±0.304 | 5.674 |
| Breast | 0.481±0.024 | 8.824±0.441 | 18.345 |
| Thyroid | 0.233±0.012 | 0.601±0.030 | 2.580 |
| Colorectum | 0.857±0.043 | 1.086±0.054 | 1.267 |
| Parotid | 1.249±0.062 | 5.382±0.269 | 6.722 |