Journal of Korean Association
of Cancer Prevention
2002; 7(2): 127-133

대두 Saponin이 정상 대장상피세포 및 대장암세포의 성장과 Ornithine Decarboxylase 활성에 미치는 영향에 관한 연구

숙명여자대학교 식품영양학과, [1]연세대학교 식품영양학과

김 성 은·전 혜 승[1]·성 미 경

Effect of Soybean Saponins on the Growth and Ornithine Decarboxylase Activity of Normal Colon Epithelial Cells and Colon Adenocarcinoma Cells

Sung-Eun Kim, Hye-Seung Jun[1] and Mi-Kyung Sung

Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea
[1]Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Epidemiological studies have observed a negative association between increased soybean consumption and colon cancer incidence. Among several biologically active components in soybeans, saponins are reported to possess anticarcinogenic activity. The objective of the present study was to investigate a possible mechanism of anticarcinogenic activity of soybean saponins by measuring ornithine decarboxylase (ODC)-mediated colon cancer cell (HT-29) growth inhibition and to examine if soybean saponins possess a selective growth inhibition against cancer cells. Colon adenocarcinoma cells (HT-29) and normal colon epithelial cells (CCD-18Co) were incubated with soybean saponins for 72 hrs. Cell growth was measured by cell count using a hemocytometer, and cellular ODC activity was measured by radio-labelled ornithine quantification. Saponins at a concentrations of 200, 400, and 800μg/plate inhibited colon cancer cell (HT-29) growth and the ODC activity in a concentration-dependent manner. Also, there was a highly significant correlation (r^2=0.79, $p < 0.0001$) between cell growth and ODC activity in colon cancer cell (HT-29). However, saponins did not induce any effect on normal colon cell (CCD-18Co) growth and cellular ODC activity. These results indicate that a possible mechanism by which saponins exert anticarcinogenic activity is to change membrane permeability which include changes in membrane signal transduction pathway reducing ODC synthesis followed by cell growth inhibition. Also, saponins are shown to possess selective toxicity toward cancer cells implying they are ideal candidates for chemotherapeutic agents.

Key Words: Soybean saponins, Colon cancer cell, Normal colon cell, Ornithine decarboxylase, Anticancer agents

책임저자 : 성미경, ㉾ 140-742, 서울시 용산구 청파동 2가 53-12, 숙명여자대학교 식품영양학과
Tel: 02-710-9395, Fax: 02-710-9395, E-mail: mksung@sookmyung.ac.kr
본 연구의 일부는 과학재단 2001 특정기초연구사업연구비(R01-2001-00231)의 지원으로 수행됨.
접수일 : 2002년 3월 20일, 게재승인일 : 2002년 5월 15일

서 론

최근에 발표된 자료에 의하면 암과 심장순환기계 질환은 한국인의 사망원인 중 수위를 차지하고 있고 특히 대장암으로 인한 사망률은 매우 빠르게 증가하고 있다.[1] 대장암은 식사습관과 밀접한 관련을 가지는데 과다한 지방섭취는 대장암의 발생 위험을 증가시키는 반면 식물성 식품에 함유된 다양한 비영양화합물의 섭취는 그 위험을 감소시키는 것으로 알려진 바 있다.[2~5] Saponin은 열에 안정한 배당체로 스테로이드 계열의 sapogenin에 한 개 이상의 단당체가 결합한 구조를 지닌다. 한 분자 내에 친수기와 친유기를 모두 지니고 있는 화학구조상의 특징으로 인하여 특히 세포막과 쉽게 결합하는 성질을 지니고 있다. 여러 식물체 중에서도 특히 대두는 saponin의 함량이 가장 많은 식품의 하나로[6,7] 여러 역학조사에 의하면 일본, 한국 등 동아시아 국가들이 다른 지역에 비해 대두 및 그 가공식품의 섭취가 많고 그에 반해 대장암 발병이 서구사회보다 현저히 낮다고 보고된 바 있다.[8]

실제로 saponin은 다양한 암세포에 대해 성장억제 효과를 지닌 것으로 보고되었으며[9~15] 이러한 항암효과는 saponin의 암세포에 대한 직접적인 세포독성작용,[9,11~17] 면역조절효과,[16,18,19] 암세포를 분화시키는 능력[20]에 의한 것으로 나타났다. 그러나 지금까지 행해진 대부분의 연구들은 비식용식물이나 약용식물에 함유된 saponin을 사용하여 수행되었고, 식품 내에 함유된 saponin에 관한 연구는 매우 희박하다. 최근 식용 saponin의 주요 급원인 대두에서 추출된 saponin의 항암효과가 보고되었는데[21,22] 특히 대두 saponin은 비식용 saponin에 비해 그 독성이 낮은 것으로 알려져[21,23] 적합한 항암물질로의 개발가능성이 시사된 바 있다.

Ornithine decarboxylase (ODC)는 arginine으로부터 polyamine을 합성하는데 필요한 효소이다. Polyamine은 단백질 합성에 관여하므로[24] 분화하는 세포는 휴지기에 비해 ODC의 함량이 높고, 여러 성장촉진요인 즉 호르몬, 조직손상, 발암물질 등과 접하면 세포내 ODC 양이 증가한다.[25,26] 따라서 많은 연구에서 대장암세포는 건강한 대장세포에 비해 ODC 함량이 높고,[27~30] 이는 세포성장과 직접적인 연관이 있는 것으로 생각된다. 또 Nishioka 등[31]은 polyamine 농도상승이 대장암의 지표로 사용될 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 ODC 활성이 세포막의 신호전달체계에 의하여 조절된다는 사실에 착안하여 saponin에 의한 세포막 구조변화가 ODC 활성에 영향을 미쳐 그 결과 세포의 성장이 저해될 것이라고 가정하고 대두 saponin 처리에 의한 ODC 활성 변화와 세포성장 변화를 측정하였다. 또 암 세포막에는 정상세포막에 비해 콜레스테롤 함량이 높다는데 기초하여 대두 saponin이 대장암 세포의 성장을 선택적으로 저해하는지를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1) 세포구입

HT-29 (Adenocarcinoma, colon, moderately well-differentiated grade II, human) 세포와 CCD-18Co (normal, colon, colorectal) 세포는 서울의대 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다.

2) 세포배양

본 연구에 사용한 heat-inactivated FBS (fetal bovine serum)와 penicillin-streptomycin solution 100 unit/ml, Dulbecco's Modified Eagle Medium, RPMI 1640은 Gibco (Gibco, New York, USA)에서 구입하였고, sodium bicarbonate는 Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. HT-29 세포는 10% (v/v) heat-inactivated FBS, 100 unit/ml penicillin, 100μg/ml streptomycin을 함유한 RPMI 1640 배지를 이용하고 CCD-18Co 세포는 같은 조성을 지닌 Dulbecco's Modified Eagle Medium을 이용하여 5% CO_2/95% air인 세포배양기에서 37°C로 배양하였다. 세포는 2일 간격으로 배지를 갈아주며 4일에 한 번씩 계대배양하였다.

3) 실험처리

(1) 처리농도와 시간: 본 연구를 위하여 plate당 10^4~10^5 cells가 되도록 분주한 뒤 각 군별로 대두 saponin을 0, 200, 400, 800μg/plate의 농도로 처리하여 24시간, 48시간, 72시간에 각각 다음과 같이

세포의 성장과 ODC 활성을 측정하였다.

(2) 세포성장 측정: 세포를 희석시킨 후 haemocytometer를 이용하여 배지 ml당 세포의 수를 측정함으로써 세포성장 정도를 측정하였다.

(3) ODC 활성도 측정: ODC 활성도의 측정은 Fugimoto[32]의 방법에 기초하여 측정하였다. 즉 조직 균질화시 사용되는 buffer는 0.1 M Tris (hydroxymethyl)-HCl (pH 7.4), 1 mM EDTA, 50μM pyridoxal-5-phosphate 및 5 mM dithiothreitol (DTT)을 사용하여 제조하고, DL-[1-^{14}C]ornithine hydrochloride (Amersham; Specific activity 57.0 mCi/mmol)를 ODC buffer에 1 : 10으로 희석시켰다. 세포에 ODC buffer 700μl를 가하고 cell sonicator를 이용하여 균질화(homogenization)시켰다. 이와 같이 처리한 세포를 4°C, 30,000 xg로 25～30분간 원심분리시킨 뒤 그 상층액을 검체로 사용하였다. 예열한 water bath (37°C)에서 100μl의 ODC buffer를 함유한 시험관에 20μl의 ^{14}C-Ornithine을 넣고 섞은 후 일정한 간격으로 200μl의 검체를 넣고 paper를 끼운 rubber stopper를 꼭 닫아 37°C에서 15분간 배양시켰다. Cap을 통하여 3% trichloroacetic acid (TCA) 300μl를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 cap을 열고 center well에 담겨 있는 paper를 scintillation cocktail solution에 담가 β-counter로 ornithine의 탈탄산화로 발생하는 CO_2를 측정하였다. 결과는 pmol/mg protein/hour로 나타내었다. Protein 함량은 Bradford[33]의 방법에 의한 Bio-Rad Protein Assay를 이용하여 측정하였다.

4) 통계처리

모든 실험은 전 과정을 통해 3번 반복하였으며, 본 연구에서 얻은 모든 결과는 평균과 표준편차(Mean±Standard deviation)를 구하였다. 통계처리로는 ANOVA와 Duncan's multiple range test를 실시하였고, α=0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

1) 대두 saponin이 세포성장에 미치는 영향

대두 saponin을 200～800μg/plate의 농도로 72시간 동안 배양한 결과 인체 대장암세포(HT-29)의 성장을 현저히 저하시키는 결과를 얻었다(Fig. 1). 그러나 saponin을 처리하지 않은 대조군은 48시간, 72시간 배양 후 처음 분주한 세포수에 비하여 각각 220%, 525% 증가하였다($p<0.05$). 한편 800μg/plate 농도의 saponin으로 처리한 경우에는 24시간, 48시간, 72시간 배양 후 각각 세포성장이 71%, 78%, 62% 감소하는 결과를 얻었고, plate당 200μg과 400μg의 농도로 saponin을 처리하여 48시간 배양하였을 때에는 약간의 세포성장은 관찰되었으나 72시간 배양 후에는 세포성장이 감소하였다. 반면 인체 정상 대장세포(CCD-18Co)의 경

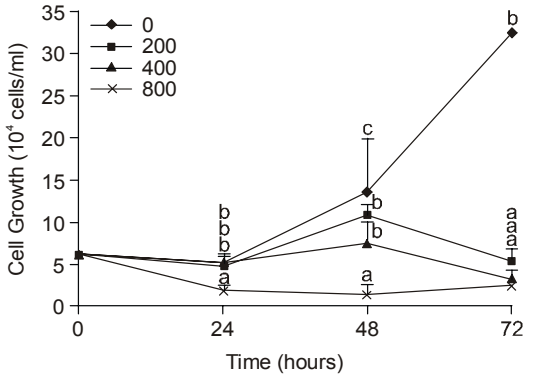

Fig. 1. Inhibitory effect of soybean saponin (0, 200, 400, 800μg/plate) on the growth of HT-29 colon adenocarcinoma cells. Concentration which do not share common letters are significantly different at p=0.05.

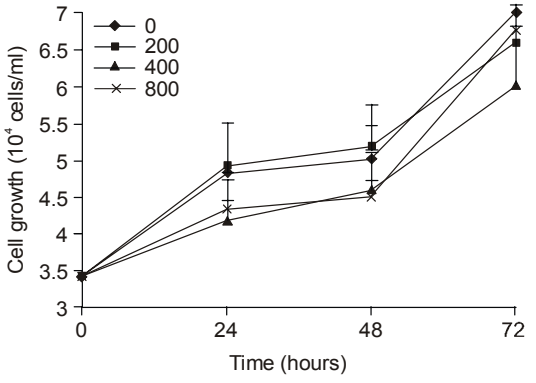

Fig. 2. Inhibitory effect of soybean saponin (0, 200, 400, 800μg/plate) on the growth of CCD-18Co normal colon epithelial cells. No significant difference was found with saponin treatment.

우에는 각기 다른 농도의 saponin으로 처리하여 72시간 동안 배양하여 대조군과 비교한 결과 세포성장 정도에 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2).

2) 대두 saponin이 ODC 활성(도)에 미치는 영향

Fig. 3에서는 인체 대장암세포(HT-29)에서 saponin 처리로 인한 ODC 활성도 변화를 나타내었다. 대조군의 ODC 활성은 24시간에 비해 48시간, 72시간 경과 후 각각 638%, 2039% 증가하였다. 반면 saponin을 800μg/plate의 농도로 처리한 경우에는 배양시간 증가에 따른 유의적인 차이가 관찰되지 않았고, 200μg/plate와 400μg/plate 농도에서는 48시간에 증가하였다가 72시간에 다시 감소하였다($p<0.05$). 그러나 정상 대장세포(CCD-18Co)에 각기 다른 농도의 saponin을 처리하였을 때 ODC 활성도 변화는 모든 농도에서 배양시간별로 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Fig. 4).

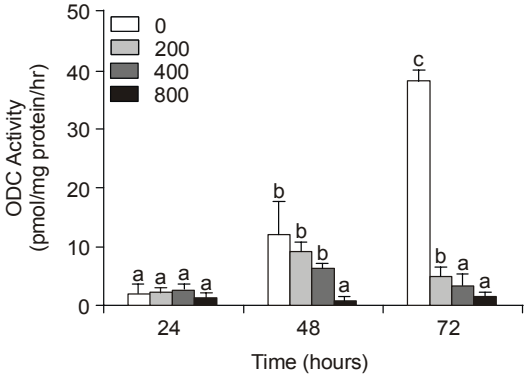

Fig. 3. Inhibitory effect of soybean saponin (0, 200, 400, 800 μg/plate) on ODC activity in HT-29 colon adenocarcinoma cells. Bars with different letters at each concentration are significantly different at p=0.05.

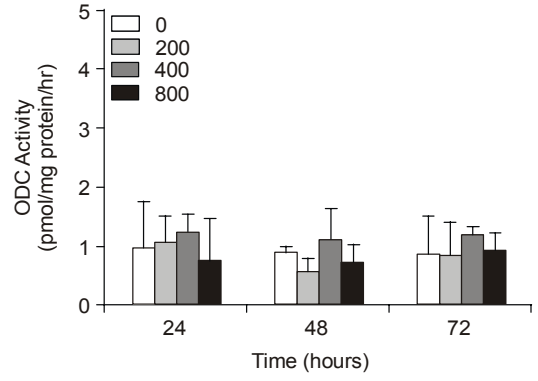

Fig. 4. Inhibitory effect of soybean saponin (0, 200, 400, 800μg/plate) on ODC activity in CCD-18Co normal colon cells. No significant difference was found with saponin treatment.

3) ODC 활성도와 세포증식간의 상관관계

인체 대장암세포(HT-29)에서 Fig. 5와 같이 ODC 활성도와 세포증식간에 유의적인 양의 상관관계가 성립되는 것이 밝혀졌다($r^2=0.79$, $p<0.0001$).

고 찰

대두 saponin이 세포성장에 미치는 영향을 살펴본 연구결과, 대두에서 추출한 saponin은 정상 대장세포의 성장에는 영향을 주지 않으면서 대장암세포의 성장을 저해하는 효과를 지니고 있으며, 이는 saponin에 의한 ODC 활성 감소에 일부 기인한 것으로 사료된다.

각종 식물체에서 추출한 saponin의 항암효능 연구결과들에 의하면 경부암세포,[11] 비인두암세포,[34] 흑색종 세포[12] 등 암세포에 대해 성장저해 효과를 가지고 있는 것으로 밝혀진 바 있으나, 그 기전에 대해서는 연구가 드문 실정이고 특히 정상세포에

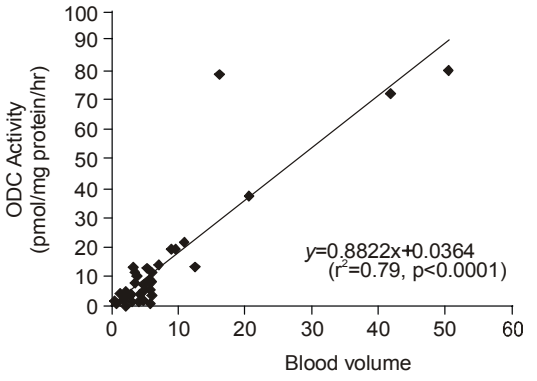

Fig. 5. Regression analysis between ODC activity and growth of HT-29 colon adenocarcinoma cells treated with saponins.

대한 saponin의 세포증식억제효과 및 세포독성효과에 대하여도 아직 알려진 바가 없다. Sung 등[23]의 연구에서는 대두 saponin과 비식용식물에서 추출한 *gypsophilla* saponin을 비슷한 농도로 처리하였을 때, 대두 saponin은 약한 세포막 활성을 보이는 반면, *gypsophilla* saponin은 세포막을 파괴시킨다고 보고하고 있다. Saponin 종류에 따른 이러한 활성의 차이는 이들 saponin의 화학구조가 다르기 때문으로 여겨진다. 실제 대두 saponin은 acidic group이 없는 sapogenol로 구성되어 있으나, *gypsophilla* saponin은 carboxylic acid를 함유한 sapogenol로 이루어져 있다. 또한 이들 두 가지 saponin의 세포막 결합양상을 비교한 *in vitro* 연구에서 대두 saponin은 세포막 내의 sphingomyelin과 가장 많이 결합하고, *gypsophilla* saponin은 cholesterol과 결합하는 결과가 보고되어 세포막에서의 결합부위에 차이가 있음이 밝혀졌다.[23] 따라서 saponin의 종류에 따른 세포막 활성의 차이는 세포막내의 결합부위차에 기인하는 것으로 사료된다. 암세포막은 정상세포에 비하여 cholesterol과 phospholipid의 함량이 더 높아[35,36] 정상세포보다 암세포에는 더 많은 양의 saponin이 결합해서 세포막의 활성에 더 큰 변화를 일으킬 수 있을 것으로 보이고, 따라서 대두 saponin의 선택적인 성장저해 효과가 나타날 수 있다. 또한 대장암세포를 서로 다른 형태의 saponin과 함께 배양시킨 후 세포질내 효소인 LDH 유출을 측정한 결과 대두 saponin은 saponin 농도가 증가함에 따라 유출양이 증가하지 않았으나 *gypsophilla* saponin은 saponin의 양이 증가함에 따라 유출양도 증가하는 결과를 보였다.[21] 이는 대두 saponin이 세포막을 파괴하지 않는다는 간접적인 증거이며 따라서 대두 saponin은 세포막의 투과성 및 유동성을 변화시켜 세포막에 활성을 띠는 것으로 생각된다.

본 연구의 대두 saponin에 따른 ODC 활성 결과를 통해 알 수 있는 바와 같이 대두 saponin은 세포막과 결합하여 ODC 활성을 변화시키고 대장암세포의 성장을 저해시키는 효과를 나타냈다. ODC 활성은 빠르게 증식하는 세포에서 증가하며 특히 정상 점막에 비해 결장선종이나 용종 등 대장암으로 진전될 위험이 있는 부위의 ODC 활성도가 더 높다.[27,28] 또한 대장선종과 대장암 조직의 ODC 활성도가 증가되어 있고, 정상 건강인의 대장점막과 암조직 주변의 점막조직에서 ODC 활성이 증가되었다는 결과도 보고되었다.[29,30] 본 연구에서는 대장암세포(HT-29)가 정상 대장세포(CCD-18Co)에 비해 40배가 높은 ODC 활성을 나타내었으나 대두 saponin 처리는 이를 매우 유의적으로 낮추었다. 특히 ODC 활성과 암세포성장간의 유의적인 양의 상관관계를 나타낸 결과를 고려할 때, ODC는 대장암의 세포성장에 관여하는 중요한 지표임을 알 수 있다.

Tutton과 Barkla[37]는 ODC 활성의 증가가 intestinal crypts의 성장과 관계가 있다고 하였고, Luk와 Baylin[38]은 crypts 성장이 ODC의 작용으로 합성되는 polyamine의 양과 비례함을 보고하였다. Polyamine 합성은 세포막을 매개로 하는 신호전달체계에 의해서 조절되므로[24] saponin과 세포막의 결합으로 유도된 세포막 기능의 변화는 신호전달체계의 변화, polyamine 합성 감소, 세포성장 감소로 이어질 수 있을 것으로 보인다.

결 론

본 연구는 대두에 함유되어 있는 비영양화합물중 saponin이 지니는 항암효과를 규명하기 위하여 인체 대장암세포에 대한 성장저해 효과 및 그 가능한 기전을 정상 대장세포와 비교하여 검증하고자 하였다. 이를 위해 인체 대장암세포(HT-29)와 정상 대장세포(CCD-18Co)를 이용하여 세포성장을 측정하고, 세포성장 억제기전의 일부를 설명하기 위하여 DNA 합성과 세포분화를 조절하는 polyamine 생합성 조절효소인 ornithine decarboxylase (ODC)의 활성을 관찰하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1) 인체 대장암세포(HT-29)와 정상 대장세포(CCD-18Co)에 200, 400, 800μg/plate의 농도로 saponin을 처리한 뒤 배양한지 24, 48, 72시간이 되는 때에 세포의 성장과 ODC의 활성도를 측정하였다. 대두 saponin의 대장암세포에 대한 세포증식 억제효과를 살펴보면 세포를 배양한지 48시간 후에 200, 400, 800μg/plate의 농도에서의 세포성장은 대조군에 비하여 각각 20, 45, 90% 감소하고 ($p < 0.001$), 72시간 후에는 대조군에 비해 각각

84, 90, 92% 감소하였다($p<0.0001$). 반면에 정상 대장세포는 배양시간에 관계없이 유의차를 관찰할 수 없었다.

2) ODC 활성은 대장암세포를 48시간 동안 배양시킨 후 200, 400, 800μg/plate의 saponin 농도에서 대조군에 비해 각각 23, 47, 93%로 감소하였고 ($p<0.05$), 72시간 동안 배양시킨 후에 측정한 결과는 각각 87, 91, 96%으로 감소하였다($p<0.0001$). 반면에 정상 대장세포는 배양시간과 saponin 농도에 따른 ODC 활성의 변화에 유의한 차이가 없었다.

3) 대장암세포의 경우에는 ODC 활성도와 세포증식간에 유의적인 양의 상관관계가 성립되었다 ($r^2=0.79$, $p<0.0001$).

이상의 연구결과 대두 saponin은 선택적인 세포독성을 지니며 암 세포의 성장을 저지시키는 효과를 가진 우수한 화학요법(chemotherapy) 후보물질로 간주되며 대두 saponin이 세포막 활성을 변화시키는 기전 및 세포분화에 미치는 효과 등에 대한 후속연구가 계속된다면 현대인의 질병예방을 위한 자연 항암제로써의 개발이 가능할 것으로 보인다.

참고 문헌

1) 통계청. 사망원인 통계 원보. 2000
2) Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiologic evidence. *Nutr Cancer* 1992; 18: 1-29.
3) Doll R. The lession of life: Keynote address to the nutrition and cancer conference. *Cancer Res* 1992; 52: 2024s-2029s.
4) Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relationship of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among woman. *New Engl J Med* 1990; 323: 1664-1674.
5) Klurfeld DM. Dietary fiber-mediated mechanisms in carcinogenesis. *Cancer Res* 1992; 52: 2055s-2059s.
6) Oakenfull DG. Saponins in food: a review. *Food Chem* 1981; 6: 19-40.
7) Anderson RL, Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr* 1995; 125: 581s-588s.
8) Messina M, Persky V, Setchell KDR, Barnes S. Soy intake and cancer risk: A review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr Cancer* 1994; 21: 113-131.
9) Odashima S, Nakayabu Y, Honjo N, Abe H, Arichi S. Induction of phenotype reverse transformation by ginsenosides in culture Morris hepatoma cells. *Eur J Cancer* 1979; 12: 885-892.
10) Okubo K, Kudou S, Uchida T, Yoshiki Y, Yoshikoshi M, Tonomura M. Soybean saponin and isoflavonoids: Structure and antiviral activity against human immunodeficiency virus *in vitro*. In: Food Phytochemicals for Cancer Prevention I: Fruits and Vegetables. pp. 330-339, ACS Press. Washington D.C., 1994.
11) Sati OP, Pant G, Nohara T, Sato T. Cytotoxic saponins from Asparagus and Agave. *Pharmazie* 1985; 40: 586.
12) Tokuda H, Konoshima T, Kozuka M, Kimura T. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-promoted mouse skin papilloma by saponins. *Oncol* 1991; 48: 77-80.
13) Matsunaga H, Katano M, Yamamoto H, Mori M, Takat K. Studies on the panaxytriol of Panax ginseng C. A. Meyer. Isolation, determination and antitumor activity. *Chem Pharm Bull* 1989; 37: 1279-1281.
14) Tode T, Kikuchi Y, Kita T, Hirata J, Imaizumi E, Nagata I. Inhibitory effect by oral administration of ginsenoside Rh_2 on the growth of human ovarian cancer cells in nude mice. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 120: 24-26.
15) Yamamoto M, Kumagai A, Yamamura Y. Plasma lipid-lowering action of ginseng saponins and mechanism of the action. *Am J Chin Med* 1983; 11: 84-87.
16) Wu RT, Chiang HC, Fu WC, Chein KY, Chang YM, Horng LY. Formosanin-C, an immunomodulator with antitumor activity. *Int J Immunopharm* 1990; 12: 777-786.
17) Yu L, Ma R, Wang Y, Nishino H, Takayasu J, He W, Chang M, Zhen J, Liu W, Fan S. Potent antitumorigenic effect of tubeimoside I isolated from the bulb of Bolbostemma paniculatum (Maxim) Franquet. *Int J Cancer* 1992; 50: 635-638.
18) Kenarova B, Neychev H, Hadjivanova C, Petkov VD. Immunomodulating activity of ginsenosides Rg_1 from Panax Ginseng. *Jap J Pharmacol* 1990; 54: 447-454.
19) Maharaj I, Froh KJ, Campbell JB. Immune responses of mice to inactivated rabies vaccine administered orally: potentiation by Quillaja saponin. *Can J Microbiol* 1986; 32: 414-420.
20) Zhang B. Biological activity of quillaja saponin in gastrointestinal tract and its possible role in carcino-

genesis. Master's thesis. University of Toronto, 1989.
21) Sung M-K, Kendall CWC, Koo M, Rao AV. Effect of soybean saponins and *gypsophilla* saponin on growth and viability of colon carcinoma cells in culture. *Nutr Cancer* 1995; 23: 259-270.
22) Koratkar R, Rao AV. Effect of soya saponins on Azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the colon of mice. *Nutr Cancer* 1997; 27: 206-209.
23) Sung M-K, Kendall CWC, Rao AV. Effect of soybean saponins and *gypsophilla* saponin on morphology of colon carcinoma cells in culture. *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 357-366.
24) Tabor CW, Tabor H. Polyamines. *Ann Rev Biochem* 1984; 53: 749-790.
25) Luk GD, Marton LJ, Baylin SB. Ornithine decarboxylase is important in intestinal mucosal maturation and recovery from injury in rats. *Science* 1980; 210: 195-198.
26) 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* 1981; 41: 624-628.
27) Koo HB, Sigurdson ER, Daly JM, Berenson M, Grashen S, Decosse JJ. Ornithine decarboxylase levels in the rectal mucosa of patients with colonic neoplasia. *J Surg Oncol* 1989; 38: 240-243.
28) Narisawa T, Takahashi M, Niwa M, Koyama H, Kotanagi H, Kusaka N, Yamazaki Y, Nagasawa O, Koyama K, Wakizaka A, Fukaura Y. Increased mucosal ornithine decarboxylase activity in large bowel with multiple tumors, adenocarcinoma, and adenoma. *Cancer* 1989; 63: 1572-1576.
29) Luk GD, Moshier JA, Ehrinpreis MN. Ornithine decarboxylase as a marker for colorectal polyps and cancer. *Prog Clin Biol Res* 1988; 274: 227-239.
30) 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* 1989; 86: 1260-1265.
31) Nishioka K, Romsdahl MM, McMurtrey MJ. Serum polyamine alterations in surgical patients with colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 1977; 9: 555-562.
32) Fugimoto K, Granger DN, Price VH, Tso P. Ornithine decarboxylase is involved in repair of small intestine after ischemia-reperfusion in rats. *Am J Physiol* 1991; 261: G523-G529.
33) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.
34) Konoshima T, Lee KH. Antitumor agents, 82. Cytotoxic sapogenols from Aesculus hippocastanum. *J Nat Prod* 1986; 49: 650-656.
35) Hilf R, Goldenberg H, Michael L, Orlando RA, Archer FL. Enzymes, nucleic acids, and lipids in human breast cancer and normal breast tissues. *Cancer Res* 1970; 30: 1874-1882.
36) Perkins RG, Kummerow FA. Major lipid classes in plasma membrane isolated from liver of rats fed a hepatocarcinogen. *Biochim Biophys Acta* 1976; 424: 469-480.
37) Tutton PJ, Barkla DH. Comparison of the effects of an ornithine decarboxylase inhibitor on the intestinal epithelium and on intestinal tumors. *Cancer Res* 1986; 46: 6091-6094.
38) Luk GD, Baylin SB. Polyamines and intestinal growth increased polyamine biosynthesis after jejunectomy. *Am J Physiol* 1983; 245: G656-G660.