

에르릿히 복수암조직에 있어서 젖산의 유리 아미노산 전환에 관한 연구

On Cytoplasmic Free Amino Acids Converted from Exogenous Lactate *in vitro* in Ehrlich Ascites Tumor Tissue in Mice

서울대학교 대학원 의학과 일반의과학전공

〈지도 박 이 길 상 훈 교수〉

강 진 국

암조직에 있어서는 당질대사과정에서 변조가 있음은 주지의 사실이다. Warburg 가¹⁾ 1924년 발표한 바 암조직에서는 호기성 상태하에서도 혐기성 상태하에서와 마찬가지로 젖산형성이 촉진되어 있음을 발견한 이래로 암조직의 당질대사에 관하여 관심이 쏠리기 시작하였다. 이에 관한 실험은 Warburg 가¹⁾ 흰쥐의 종양조직 균등액 및 절편에서 처음으로 젖산축적에 관한 실험을 하였고 Cori²⁾는 생체내 실험에서 이를 증명하였다. 즉 암조직을 관류하는 동맥 및 정맥혈을 뽑아 혈중 포도당 및 젖산농도를 측정하여 그 농도차를 정상조직의 값과 비교한 바 정상조직에서는 젖산의 정맥내농도가 동맥내의 농도보다 낮고 따라서 정상조직에서는 젖산이 이용되고 있는데 대하여 암조직에서는 포도당으로부터 젖산이 형성되는율이 높아서 오히려 정맥혈의 젖산의 농도가 높아짐을 보고한 바 있다. Busch 등³⁻⁸⁾은 Walker-256 담암동물에 ¹⁴C-포도당을 투여한후 그 암조직에서 당질의 중간대사물질들을 추출하여 크로마토그래피 방법을 이용하여 측정하고 정상동물에서 같은 방법으로 얻은 결과와 비교하였던 바 암조직에서는 대부분의 ¹⁴C-포도당의 방사능이 젖산에서 검출되었으며 TCA 회로의 유기산들에서는 소량의 방사능이 검출되었는데 비하여 정상조직에서는 상당량의 방사능이 TCA 회로의 유기산들에서 측정되는 것으로 보아 암조직에 있어서의 당질대사 과정에서 혐기성 해당경로의 효율은 정상조직과 비슷하나 TCA 효율에는 이상이 있음을 지적하였다 Potter 등^{9, 10)}은 호흡효소인 cytochrome C의 함량이 정상조직에서는 21~371 $\mu\text{g/gm}$ 이었으나 암조직에서는 9~20

$\mu\text{g/gm}$ 으로 그함량이 낮음을 보고 하는 한편 Weinhouse¹¹⁾는 Oxidative decarboxylation의 보조효소 및 Vitamine B-Complex의 농도역시 암조직에서는 낮았음을 보고 하였다. 이상의 보고들에 의하면 Warburg¹⁾의 소론처럼 암조직에 있어서는 세포호흡계에 장애가 일어나서 TCA 회로의 효율이 낮아지고 따라서 젖산이 축적하는양 강조되고 있지만 Burk¹¹⁾와 Weinhouse¹¹⁾가 이미 지적한바 있듯이 종양조직의 산화대사에 장애가 있다는 실험적 근거가 상기 제보고로는 의심적다는 것이다.

즉 Weinhouse¹¹⁾는 종양조직이라 할지라도 산소소모량이 줄어든 것이 아니며 정상조직과 비슷하게 산소소모하므로 종양조직에서는 혐기성 해당이 과다해져서 정상적인 호흡과 TCA 효율로서는 그산물인 pyruvate를 완전산화해내기엔 어렵게된 것으로 해석하여야 마땅한 것이다. 이상의 여러보고들과 비슷한 연구를 계통적으로 행하고 분석검토해은 Rhee¹²⁾의 최근보고에 의하면 암조직에서는 공통적으로 포도당이 쉽게 HMP 경로를 통하여 포도당의 C-1탄소가 CO₂로 산화되고, 일방 EMP의 혐기성 해당경로를 통하여 3탄화합물로 분해된 후 이 3탄화합물의 C-1탄소는 Oxidative decarboxylation으로 쉽게 CO₂와 2탄화합물로 분해되지만 2탄화합물의 TCA cycle로의 incorporation이 억제된다고 보고한바 있으며 이는 앞에서 언급하였듯이 Weirhouse¹¹⁾의 보고와 합치하는 사실이라 하겠다.

이와같은 사실에 착안한 저자는 암조직에 과잉형성된 젖산의 대사적 특이성을 본논문에서 구명코저하여 에르

릿히 복수암세포를 이식한 담양동물의 이식암조직을 이용하여 시험관내에서 젖산-U- C^{14} 을 첨가하고 그 방사능의 행방을 추적한 것이다. 즉, 이와같이 축적된 젖산은 암조직의 왕성한 조직증식에 요구되는 단백질의 생합성에 필요한 아미노산으로 전환될 가능성이 큰 것이며, 또한 TCA 회로내의 유기산 역시 다른 생체분자의 생합성을 위한 출발물질이 되는 것이므로, 첨가한 젖산의 LDH 반응을 경유해서 pyruvate로 되고 이어 TCA의 유기산으로도 전환될 것이므로 많은 아미노산에서 방사능이 검출될 것이라는 기대를 가지고 이 젖산이 암조직의 유리 아미노산으로 얼마만큼 전환되어 단백질 생합성에 이용되는가를 연구한 것이다.

실험 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 담양동물은 Ehrlich 복수암을 가진 생쥐의 복수를 요부피하에 약 0.1m 주입한 뒤 1주-2주일후 이식된 복수종양이 육안으로 직경 1.0cm 이상 성장된 생쥐를 선택하였다. 참고가 될만한 자료를 얻기 위하여 대사가 왕성한 정상생쥐의 간조직도 동일한 처리를 하였다.

2. 동위원소 배양용액

저장용액은 50 μ C의 L-lactate-U- C^{14} (New England

Nuclear Corp.제)을 sterile isotonic saline으로 희석하여 25ml가 되게 하였다. 매실험마다 0.5c.c의 저장용액을 5.0c.c의 조직 균동액에 첨가하여 배양하였다.

3. 시료의 준비

조직 균동액 배양실험에 사용한 용기는 직경 3.5cm, 높이 5.5cm의 Erlenmyer flask를 이용하였다.

암조직 중심부에 생긴 괴사조직을 제거한뒤 정확하게 무게를 평량하고 KRP 완충용액을 첨가하면서 냉온조에서 homogenizer로 조직균동액을 만들어 최종용적이 5.0c.c가 되도록 하여 조직배양기에 넣고 동위원소 저장용액 0.5c.c(225 $\times 10^3$ cpm/ μ M)를 첨가한 후 유리구슬을 flask 입구에 올려놓고 Dubnuff metabolic shaker로 38 $^{\circ}$ C 항온조에서 서서히 좌우진탕을 가하면서 10분간 배양하였다.

Table 1. Rf-value and Ninhydrin colour reaction of amino acids at the room temperature.

No.	Amino Acids	Ninhydrin Colour	Phenol-Water (8+2)	Collidine-Lutidine (1+1)
1	L-Aspartic A.	Steel-blue	0.11	0.68
2	L-Cystine	Violet	0.13	0.70
3	L-Glutamic A.	Violet	0.15	0.62
4	L-Lysine	Violet	0.16	0.23
5	L-Serine	Violet	0.20	0.62
6	L-Arginine	Violet	0.23	0.30
7	L-Glycine	Reddish brown	0.24	0.61
8	L-Threonine	Violet	0.25	0.62
9	L-Histidine	Violet	0.26	0.64
10	L-Alanine	Violet	0.31	0.72
11	L-OH Proline	Yellow-Grey	0.36	0.63
12	L-Valine	Violet	0.40	0.64
13	L-Methionine	Violet	0.80	0.42
14	L-Tyrosine	Grey	0.42	0.90
15	L-Isoleucine	Violet	0.43	0.70
16	L-Leucine	Violet	0.44	0.73
17	L-Proline	Yellow-Grey	0.46	0.58
18	L-Tryptophan	Grey-blue	0.52	0.88
19	L-Phenyl Alanine	Violet	0.56	0.83

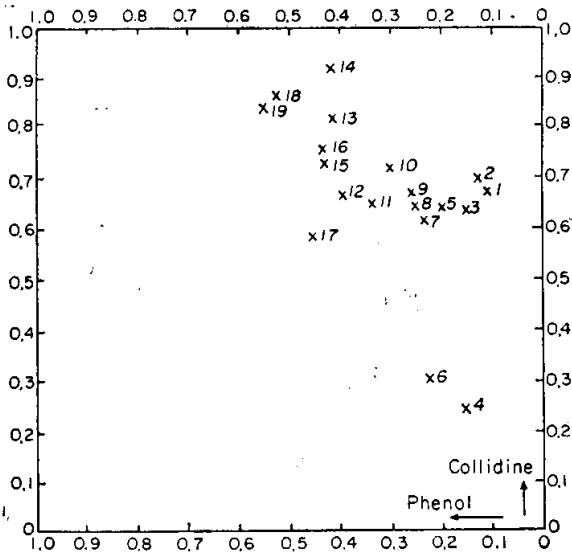


Fig. 1. Position of amino acids in the two-dimensional, ascending chromatogram (spot map). Numbers in this figure are the same amino acids indicated in Table 1.

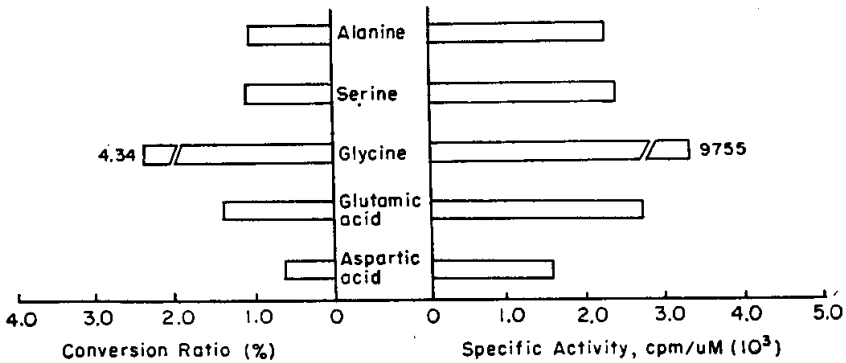


Fig. 2. The specific activity and conversion ratio of each amino acid derived from L-lactate-U-C¹⁴ in the cancer tissues.

Table 2. The specific activity and conversion ratio of each amino acids derived from L-lactate-U-C¹⁴ in the cancer tissues.

Amino acids	Activity (cpm/gm wet tissue)	Amount uMx10 ⁻³ /gm wet tis.)	Specific Activity (cpm/uM)	Conversion* Ratio(%)
Tryptophan		442		
Tyrosine		612		
Methionine		2431		
Valine		573		
Proline		1102		
Alanine	4511 (1248-7525)	2006 (953-2946)	2245	1.00
Serine	4648 (1552-6752)	1975 (1337-2682)	2353	1.05
Glycine	25899 (11500-31500)	2655 (1365-3785)	9755	4.34
Glutamic acid	4625 (1278-7815)	1711 (927-2161)	2703	1.20
Aspartic acid	1849 (756-3755)	1230 (522-1750)	1503	0.67

* Specific activity of radioactive lactate added was 225×10^3 cpm/uM. Conversion ratio was calculated from the following formula; conversion ratio(%) = $\frac{\text{S. A. of converted amino acid}}{\text{S. A. of lactate added}} \times 100$ () denotes range.

4. 박층크로마토그래피와 방사능측정

배양직후 조직균동액의 처리는 Busch¹⁶⁾의 방법을 택하였다.

아미노산의 정량 및 정성분석을 하기 위하여 박막크로마토그래피를 사용하였다. Chromatoplate의 Silca gel의 두께는 250 μ 으로 만들어 사용하였고 Sample spotting은 10 μ l씩 하였다. 용매로는 phenol-water (8+2)용액과 Lutidine-collidine(1+1) water & satur-

ated 용액을 사용하여 ascending, two-dimensional chromatography를 택하였다. 각 아미노산의 동정은 Ninhydrin reagent와의 발색반응과 Rf치를 가지고 가능하였고(제1표, 제1도) 개개 아미노산의 정량 및 방사능 측정에는 Aloka Model TLC-2B Radio Thin-Layer Chromatogram Scanner를 이용하여 Spot density와 activity를 동시에 기록하므로써 구할 수 있었다.

표준 아미노산 용액을 전개시켜 얻은 각 용매에서의 Rf치로 만든 Spot map와 발색형태로 동정하였고, 정

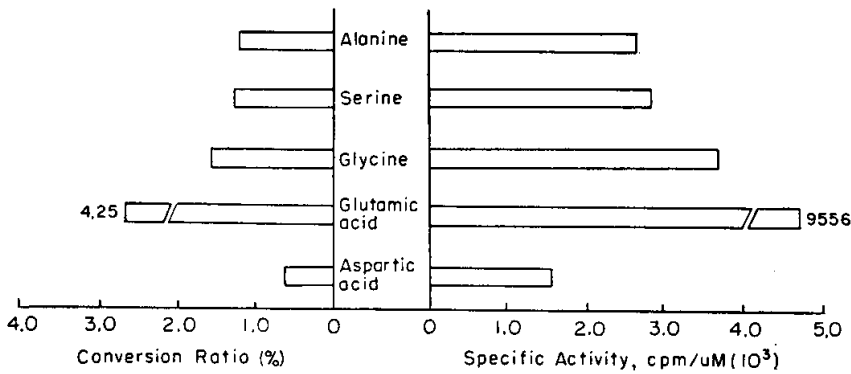


Fig 3. The specific activity and conversion ratio of each amino acid derived from L-lactate-U-C¹⁴ in the normal hepatic tissues.

Table 3. The specific activity and conversion ratio of each amino acid derived from L-lactate-U-C¹⁴ in the normal hepatic tissues.

Amino Acids	Activity (cpm/gm wet tissue)	Amount ($\mu\text{M} \times 10^{-3}$ /gm wet tissue)	Specific Activity (cpm/ μM)	Conversion Ratio (%)
Tryptophan		192		
Tyrosine		199		
Methionine		2259		
Valine		584		
Proline		765		
Alanine	4439 (3111—6047)	1643 (1037—2750)	2702	1.20
Serine	4994 (3912—6240)	1722 (1490—2075)	2900	1.20
Glycine	12576 (7950—18636)	3379 (652—5825)	3721	1.65
Glutamic acid	14001 (7850—21500)	1465 (958—2450)	9556	4.25
Aspartic acid	3086 (1215—5039)	1976 (563—3950)	1561	0.69

* Specific activity of the lactate added was 225×10^3 cpm/ μM . () denotes range.

량분석은 densitometer 에 연결된 기록계로 기록된 그라프면적의 무게를 표준 아미노산(10 μg)이 기록한 면적의 무게와 비교하여 정량하는 cut-and-weigh method 를 사용하였다.

방사능 측정에는 windowless, slit 1.5 \times 20mm, chart speed 와 scanning speed 는 12.5mm/min 로 고정시키고 Q-gas bubbling 은 300bb/min 로 하고 기록한 뒤 densitometry 와 마찬가지로 표준면적 무게와 비교하는 cut and weigh method 를 사용하였다. 젖산에서 전환되는 아미노산의 전환율은 젖산의 비방사능(225×10^3

cpm/ μM)을 100으로 보았을때 각 아미노산의 비방사능의 비로 나타내었다.

실험 성적

암조직의 조직 균등액 배양실험결과를 제 2표 및 제2도에 표시하였다. 크로마토그래피로 나타나는 아미노산은 tryptophan, tyrosine, methionin, valine, proline, alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid 로 10종이었고 이 중에서 방사능이 측정되는 것은

고 찰

alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid의 5종의 비필수 아미노산에서만 측정되었다. 이들 각각의 유리아미노산으로 전환된 전환율을 보면 glycine 4.3%로 가장 높았으나 aspartic acid 0.67%, alanine이 1.00% serine 1.05%, glutamic acid 1.20%로서 대동소이한 값을 보였으며 결국 Total Conversion ratio는 8.26%였다. 비방사능을 보면 glycine이 9755 cpm/ μ M로서 다른 아미노산 보다 3배이상의 높은 값을 보였다.

정상간조직을 배양한 결과는 제 3표 및 제3도에 나타내었다. 크로마토그래피로 발색되는 아미노산은 역시 10종으로서 tryptophan, tyrosine, methionine, valine, proline, alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid였는데 이중 방사능이 검출된 아미노산은 alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid이었다. 유리아미노산으로의 전환율을 보면 glutamic acid가 4.25%로서 가장 높은 값을 나타내었고 glycine이 1.65%로서 다음으로 높았으며 alanine, serine 및 aspartic acid는 서로 큰차가 없었다. Total conversion ratio는 9.08%이었다. 이들의 비방사능을 비교하여 보면 alanine 2702 cpm/ μ M, serine 2900 cpm/ μ M glycine 3721 cpm/ μ M, glutamic acid 9556 cpm/ μ M, aspartic acid 1561 cpm/ μ M로서 glutamic acid가 가장 높은 값을 나타내었다.

방사능이 측정되는 alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid가 투여된 L-lactate-U- C^{14} 으로부터 전환가능한 metabolic pathway를 제 3도에 요약하였다. 즉 alanine은 pyruvate로부터 만들어질 수 있고 serine, glycine은 3-phosphoglycerate를 거쳐서 생산될 수 있으며 glutamate도 TCA cycle의 중간대사물질인 α -Ketoglutarate를 통하여 가능하다 aspartate는 oxaloacetic acid로부터 만들어질 수 있다.

Christensen 등¹⁸⁾의 생쥐를 이용한 실험성적을 보면 암조직에서는 정상조직보다 유리아미노산의 흡수능력이 우수하여 glycine을 주사할 경우 암조직내의 유리 glycine 농도가 정상조직보다 훨씬 높았다.

Nyhan 등¹⁹⁾은 rat의 Walker 256 tumor를 재료로 암조직과 정상조직에서 L-glutamate-U- C^{14} 의 대사과정을 비교 관찰한 바 암조직의 경우에는 단백질합성율이 7%로서 정상조직 보다 6배이상이나 높은 값을 보였으며 배양액중에 포도당을 첨가할 경우 단백질 합성율은 7%에서 11%로 증가하였다. 간장조직의 경우 단백질 합성율은 사용된 glutamate의 0.7%정도였다. 이러한 실험사실들은 암조직의 경우 정상조직보다는 보다 효율적으로 유리아미노산을 많이 흡수하여 조직증식에 필요한 단백질로 합성한다고 말할 수 있으며 본 실험에서 알 수 있는 바 측정되는 젖산의 상당한 부분이 glycine, serine, alanine, glutamic acid 및 aspartic acid 등으로 되고 있으므로 이들의 상당량이 단백질로 합성될 가능성을 짐작할 수 있다.

Busch 등²⁰⁾은 pyruvate-2- C^{14} 을 이용하여 암조직과 정상조직사이의 대사과정을 비교실험하여 재미있는 성적을 보고하였다. 즉 pyruvate-2- C^{14} 주사후 3분 이내에 정상조직에는 주입된 총량의 30~80%가 glutamic acid alanine, 및 aspartic acid에 포함되어 있었는데 비하여 암조직에서는 이러한 아미노산 pool에 5%미만이 포함되어 있었다. 젖산에서 측정되는 방사능의 시간결과에 따른 변화를 보면 정상조직의 경우에는 1분내에 peak에 달하였다가 갑자기 하강하기 시작하여 주사후 8분이 될 때에는 3~20%만이 젖산에서 측정되었고 암조직의 경우에는 8분에도 50~90%가 젖산에 포함되어 있었다. 암조직에서 pyruvate-2- C^{14} 로부터 유리아미노산으로의 전환율을 보면 Walker 256 Carcinoma의 경우에는 26%였으나 배양액중 glucose농도를 높였더니(110mg%) lactate로는 58%에서 91%로, $C^{14}O_2$ 로는 17%에서 3%

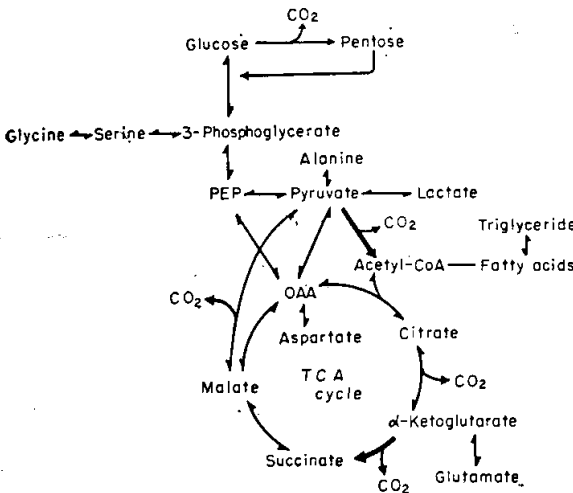


Fig. 4. The synthesis of amino acids derived from carbohydrate.
PEP: P-enolpyruvate
OAA: Oxaloacetic acid

로 아미노산 합성율은 26%에서 5.2%로 변하였다. 본 실험의 경우 lactate로부터 유리아미노산으로의 전환율이 8.26%인 것과 비교하여 큰 차가 없는 것으로 해석된다. 본실험에서 나타난 두드러진 차이로는 암조직에서 전환되는 유리아미노산중에서 glycine이 alanine, serine, aspartate, 및 glutamate보다 전환율이나 비방사능이 훨씬 높게 나타났것은 간단하게는 Warburg 등이 주장하는 바 respiratory system의 변조로 TCA Cycle이 원활치 못하여 주로 3-phosphoglycerate를 거쳐 serine→glycine으로 전환되었다고 해석할수도 있다

Davis 등^{21, 22)}은 방사능 동위원소로 표지된 아미노산을 이용한 실험에서 암세포들은 주로 세포질 구성 단백질 보다는 오히려 세포액내 단백질로 주로 합성한다고 보고하였다. 이러한 사실은 본실험에서 많이 측정되는 glycine이 세포액내의 핵단백질이나 핵산형성에 많이 쓰여질 가능성을 보여준다고 해석된다.

암조직 증식에 필요한 nitrogenous source는 간단히는 유리아미노산으로 생각되어 왔으나 Busch²³⁾ 등의 실험성적을 보면 glycine-C¹⁴을 담담동물에 정맥주사하고 6시간 뒤 암조직에서 보다는 정상조직에서 비방사능이 높았으며 glycine-labelled albumin이나 globulin을 주사하면 암조직내 비방사능이 훨씬 더 높았다.

정상 간조직을 Incubate 한 실험에서 유리아미노산으로의 전환율이 9.08%였고 주로 glutamic acid로 전환되는 것은 TCA 회로의 효율이 정상적이므로 첨가한 대부분의 lactate는 산화되었을 것이며 일부 유리아미노산으로 전환되는 것중 TCA 회로 중간대사 물질인 α-Ketoglutarate에서 유래되는 glutamic acid가 생성된 것으로 생각된다.

본 실험의 성적을 보면 암조직에서 축적되고 있는 젖산의 상당한 부분이 유리아미노산으로 전환되어 암조직 증식에 필요한 단백질 생합성에 기여하고 있음을 분명히 하였다.

결 론

Ehrlich 복수암을 가진 생쥐의 복수를 생쥐에 피하주사 하여 생긴 이식암조직을 실험재료로 사용하였으며 정상조직으로는 정상생쥐의 간조직을 이용하였다. 이것들의 조직균등액에 L-lactate-U-C¹⁴을 첨가(225×10³ cpm/μM)한뒤 38°C 항온조에서 10분간 incubate 하였으며 Busch 방법에 따라 조직처리를 하고 그 상층액에서 박층크로마토그래피로 유리 아미노산을 분리하였다.

아미노산의 정량 및 정성분석은 Chromatoplate 상에

서 각 용매에서 이동된 각 유리아미노산의 Rf 치와 ninhydrin 과의 발색반응으로 동정(identity) 하였고, Aloka Model 2B TLC scanner 로 각각에서 동시에 stot density 와 activity 를 측정하여 아미노산의 amount (μM/gm wet tissue)와 Activity (cpm/gm wet tissue) 를 구하였다.

젖산으로부터 전환된 유리 아미노산의 비방사능(S. A)의 계산은 측정된 그 아미노산의 Activity/Amount 로 계산하였고 전환율은 균등액에 첨가한 젖산의 S. A = 225×10³ cpm/μM)을 100으로 하고 이것에 대한 각 유리아미노산의 S-A 의 비율로 계산하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 암조직과 정상 조직에서 정량되는 아미노산은 tryptophan, tryrosine, methionine, valine, proline, alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid 이었고 이중 비필수아미노산인 alanine, serine, glycine, glutamic acid 및 aspartic acid 만이 젖산으로부터 전환되었다.

2. 암조직의 경우 전환된 유리아미노산의 S. A 를 보면 alanine 2245, serine 2353, glycine 9755, glutamic acid 2703, 및 aspartic acid 1503 cpm/μM 로서 glycine 이 높은 비방사능을 보였다.

3. 암조직에서 첨가한 lactate는 225×10³ cpm/μM 으로 각 아미노산의 전환율을 보면 alanine 1.00, serine 1.05, glycine 4.34, glutamic acid 1.20, aspartic acid 0.67%로서 8.26%가 젖산으로부터 유리 아미노산으로 전환되었다.

4. 정상 간조직의 경우 전환된 유리 아미노산의 S. A 를 보면 alanine 2702, serine 2900, glycine 3721, glutamic acid 9556 및 aspartic acid 1561 cpm/μM 로서 glutamic acid 가 높은 비방사능을 보였다.

5. 정상 간조직에서 계산된 각 아미노산의 젖산으로부터의 전환율은 alanine 1.20, serine 1.29, glycine 1.65, glutamic acid 4.25 및 aspartic acid 0.69%로서 9.08%가 젖산으로부터 전환되었다.

이상의 실험성적으로 보아 암조직에 있어서 젖산은 당질대사를 통하여 소실되는 외에 상당량의 유리아미노산으로 전환되어 조직증식에 관여함을 알 수 있었다

(본연구에 있어서 조언과 도움을 주신 생화학교실 김승원 교수님과 생리학 교실의 김기환 선생님께 감사를 드립니다.)

ABSTRACT

On Cytoplasmic Free Amino Acids Converted from Exogenous Lactate in Vitro Ehrlich Ascites Tumor Tissue in Mice

Jin Kook Kang, M.D.

Department of General Surgery, College of Medicine Seoul National University

<Directed by Prof. K.S. Park
Prof. S.D. Rhee>

The conversion of amino acids from L-lactate- $U-C^{14}$ was investigated in the normal liver, and cancer tissues which obtained from the tumor-bearing animals (Ehrlich ascites tumor). Tissue homogenates of tumors and normal liver were incubated for 10 minutes in the water bath at the constant temperature ($38^{\circ}C$).

The assay of amino acid was performed quantitatively and qualitatively by the method of thin layer chromatography, in which two dimensional ascending method was used. The amino acid spots on the chromatoplate were identified by means of Rf value and colour developed in the ninhydrin spray. The density and radioactivity of each spot were measured simultaneously by use of the Radio Thin-Layer Chromatogram Scanner.

The specific activity (cpm/uM) of each amino acid was obtained from the result of activity (cpm/gm wet tissue) divided by amount (uM/gm wet tissue). The conversion ratio of each converted amino acid(%) was calculated as the ratio of S.A. of converted amino acid (cpm/uM) and S.A. of lactate added (225×10^3 cpm/uM).

The data obtained, were summarized as follows;

1. The amino acids converted from the added L-lactate- $U-C^{14}$ were alanine, serine, glycine, glutamic acid and aspartic acid in the cancer tissues and also in the normal hepatic tissues.

2. The specific activity of the converted amino acids were alanine 2245, serine 2353, glycine 9755 (highest), glutamic acid 2703, and aspartic acid 1503 cpm/uM, respectively, in the cancer tissues.

3. The conversion ratio from the added L-lactate- $U-C^{14}$ of each converted amino acid was alanine 1.00, serine 1.05, glycine 4.34, glutamic acid 1.20

and aspartic acid 0.67%. Total conversion ratio was 8.26% in the cancer tissues.

4. In the normal hepatic tissues, the specific activity of each converted amino acid was alanine 2702, serine 2900, glycine 3721, glutamic acid 9556, (highest) and aspartic acid 1561 cpm/uM, respectively.

5. The conversion ratio calculated from the S.A. of the converted amino acid and the S.A. of the added lactate was alanine 1.20, serine 1.29, glycine 1.65, glutamic acid 4.25, and aspartic acid 0.69%, respectively. Thus the total conversion ratio was 9.08% in the normal hepatic tissues.

From the above results, it was concluded that the accumulated lactic acid in the cancer tissues was not only used for further metabolites in carbohydrate metabolism, but also considerable fraction of it was converted into the various amino acids which were necessary in the cancer tissue proliferation.

REFERENCES

1. Warburg, O: *On the origin of cancer cells.* *Science* 120:309, 1956.
2. Cori, C.F., and Cori, G.T.: *The carbohydrate metabolism of tumors. I, The free sugar, lactic acid and glycogen contents of malignant tumors.* *J. Biol. Chem* 64:11, 1952.
3. Cori, C.F., and Cori, G.T.: *The carbohydrate metabolism of tumors. II. Changes in the sugar, lactic acid and CO_2 Combining power of blood passing through a tumor.* *J. Biol Chem* 65:397, 1952.
4. Harris Busch: *Studies on the metabolism of acetate- $1-C^{14}$ in tissues of tumor-bearing rats.* *Cancer Research* 13:789, 1953.
5. Harris Busch and H.A. Baltrush: *Rates of metabolism of Acetate- $1-C^{14}$ in tissues in vivo.* *Cancer Research* 14:448, 1954.
6. Harris Busch: *Studies on the metabolism of pyruvate- $2-C^{14}$ in tumor-bearing rats.* *Cancer Research* 15:365, 1955.
7. Harris Busch, Morris H. Goldberg et al: *Substrate effects on metabolic patterns of pyruvate- $2-C$ in tissue slices.* *Cancer Research* 16:173, 1955.
8. William L. Nyhan and Harris Busch: *Metabolic pattern for L-glutamic- $U-C^{14}$ in slices of tumors and other tissues.* *Cancer Research* 17:227, 1956.

9. Potter, V.R., and Dubois, K.P.: *Biocatalysis in cancer tissue I. Cytochrome C. Cancer Research* 2:290, 1942
10. Potter, V.R., and Schneider, W.C.: *Biocatalysis in cancer tissue. III. Succinic dehydrogenase and cytochrome oxidase. Cancer Research* 3:353, 1943.
11. Weinhouse, S.: *Oxidative metabolism of neoplastic tissues. Advances in Cancer Research* 3:269, 1955.
12. Sang Don Rhee: *A study on the biochemical diagnostic method of various human cancer tissues. MOST-R88-PM, 1970.*
13. Weinhouse, S.: *Science* 124:267, 1956.
14. Weinhouse, S.: *Enzymes in health and disease. D.M. Greenberg and H. Harpers, eds. 1960.*
15. Harris Busch: *Method in Cancer Research vol. II. Chapter XII. The Molecular Correlation Concept. Academic Press, 1967.*
16. Harris Busch: *An introduction to the biochemistry of the cancer cell. Chapter X. Glycolysis. Academic Press, 1962.*
17. Harris Busch, Robert B. Hurbert, and Van R. Potter: *Anion exchanges chromatography of the acid cycle. J Biol Chem* 196:717, 1952.
18. Christensen, H.N., and Henderson, M.E.: *Comparative uptake of free amino acids by mouse-ascites carcinoma cells and normal tissues. Cancer Research* 12:229, 1952,
19. Nyhan, W.L. and Busch, H.: *Metabolic patterns for L-glutamate-U- C^{14} in slices of tumors and other tissues. 17:227, 1956.*
20. Harris Busch, Morris H. Goldberg, and Dolores C. Anderson: *Substrate effects of metabolic patterns of pyruvate-2- C^{14} in tissue slices. 16:175, 1955.*
21. Starbuck, W.C., and Busch, H.: *Kinetics of incorporation other tissues in vivo. Cancer Research* 20:891, 1960.
22. Davis, J.R., and Busch, H.: *Purification of RP_2-L , an acidsoluble nuclear protein found in neoplastic tissue. Fed. Proc. 20:383, 1961.*
23. Busch, H., Fujiwara, E., and Firszt, D.C.: *Studies on the metabolism of radioactive albumin in tumor-bearing rats Cancer Research* 21:371, 1961.