

血清의 RNase inhibitor 活性, Sialic acid 및 脂質代謝에 관한 研究

Studies on Metabolism of RNase Inhibitor Activity, Sialic Acid and Lipids in Human Serum

서울대학교 醫科大學 內科學教室
<指導 許 仁 穆 教授>

李 雲 卿

1. 序 論

蛋白質 合成에 直接 關與하는 RNN代謝의 調節 메카니즘의 하나로서 RNA 分解酵素인 ribonuclease(RNase)가 큰 役割을 하리라는 것은 쉽게 理解할 수 있으며 따라서 RNase의 活性이 조직에 따라 또 生理的 또는 病的狀態에서 變化가 클 것으로 보고 큰 關心이 集中되어 있어 이에 關한 論文이 많이 發表되어 있다.

RNase 酵素는 至適 pH로 acid RNase와 alkaline RNase로 區別하고 acid RNase보다 重要視되어 있는 alkaline RNase의 活性은 高等動物조직에 널리 分布되어 있는 RNase inhibitor로 抑制되어 있다 한다¹⁾. 조직에서는 RNase inhibitor가 과잉하게 存在하여 조직內 RNase는 普通 inhibitor와 結合되어 不活性體를 形成하고 있다 한다. 이와같이 RNase 특히 alkaline RNase는 그 inhibitor와 緊密한 平衡을 이루어 RNA 合成 따라서 蛋白質 合成을 微妙하게 調節하는 것으로 생각하고 있다. Shorman²⁾과 Roth³⁾ 등은 肝조직에서 分離 精製한 RNase inhibitor를 glycoprotein의 一種으로 報告하였는데 sialic acid가 glycoprotein의 接合分子로 含有하여 있음을 이미 Blix⁴⁾와 Klenk⁵⁾에 의하여 밝혀졌다. 李⁶⁾는 最近에 產母 및 胎兒의 血清 alkaline RNase 活性을 測定 比較하여 胎兒側의 RNase 活性이 產母보다 높은 것을 보고 血清 sialic acid와의 關係를 考察하였다.

血清脂質은 中性脂肪, 脂酸, 磷脂質 그리고 cholesterol, carotinoid 및 비타민 A, D, E, K 등과 같은 不鹼化成分이 主要한 것이다. cholesterol, 磷脂質 등은 주로 lipoprotein으로 血清內에서 운반되지만 中性脂肪은 주로 chylomicron 狀態로 存在하고 있다. 脂酸은 磷脂

質과 結合되던지 또는 cholesterol, carotinoid 및 脂溶性 비타민 등과 ester 結合을 하던지 또는 遊離脂酸으로서 血漿蛋白과 結合되어 있다.

일찍이 本教室에서 申⁷⁾ 등은 產母, 胎兒의 血清 lipoprotein 및 lipoprotein-cholesterol을 濾紙電氣泳動法으로 測定하여 胎兒의 血清 lipoprotein cholesterol이 產母에 비해 1/3에 未達하는 事實을 처음으로 發表하였으며 또 崔⁸⁾는 產母, 胎兒의 血清 總脂質量을 重量法으로 分析하고 또 lipoid 磷量을 測定하여 產母側이 모두 約 3배나 높았음을 밝힌 바 있다.

生理的이지만 細胞조직의 增殖이 異狀으로 빠른 胎兒를 잉태하고 있는 妊婦에 있어 胎兒發育에 必要한 모든 物質들을 供給하여야 하므로 妊婦體內的 anabolism이 크게 充進되어 있는 것은 쉽게 이해할 수 있다. 本研究에서 RNase 및 RNase inhibitor와 anabolism과의 關係를 살피고자 李⁹⁾의 研究를 계승하여 產母, 胎兒 血清에서 直接 RNase inhibitor 活性을 測定하고 同時에 free RNase 活性 및 血清 sialic acid 量을 調査하는 한편 thin-layer chromatography 法¹⁰⁾으로 reference lipid를 使用하여 產母, 胎兒의 血清 各 脂質 即 中性脂肪, 遊離脂酸, 磷脂質, 遊離 cholesterol 및 ester 형 cholesterol을 定量하여 廣範圍하게 產母, 胎兒의 血清을 比較 檢討하였다. 妊婦와는 달리 增殖發育이 病的으로 크게 充進되고 있는 암조직을 내포하고 있는 擔當生體 即 암患者에 있어서는 anabolism과 catabolism이 다 같이 促進되어 있는 것으로 볼 수 있다. 產母와 比較하면서 암患者血清의 free RNase, RNase inhibitor 活性 및 sialic acid 量을 살피는 것은 興味있는 것으로 本實驗을 企圖한 취지의 하나가 된다.

從來의 代謝 研究를 보면 에너지, 核酸, 酵素 其他

蛋白質代謝 등에 集中的으로 置重되어 왔다. 그러나 最近에는 암 연구에 있어 脂質代謝에도 큰 關心을 갖게 되었다.

上述한 바와 같이 妊娠末期에 lipemia⁸⁾가 현저하게 惹起되지만 擔當 生體에 있어서도 암조직의 增殖에 따라 體脂肪이 消耗되는 同時에 lipemia가 생긴다는 것이 알려져 있다¹⁰⁾ 本 研究에서 암 患者에게도 亦是 血清脂質들을 같은 方法으로 定量하여 암 患者에 있어 血清脂質變化를 살핀 것이다.

II. 實驗 材料 및 方法

實驗材料

產母, 胎兒에 對하여 產母는 分娩直後 肘靜脈에서 採血하고 胎兒는 出生直後 胎兒臍帶靜脈血을 採取한 後 血清을 얻었으며 各種 암 患者에서는 診斷이 決定된 手術前에 採血하여 血清은 모두 採血後 2日以内に 모든 測定에 使用하였다.

血清의 RNase 및 RNase inhibitor 活性 測定法

基質 RNA 精製法

市販 Merck 會社製 RNA 를 다음과 같은 方法으로 精製하였다. 即 RNA 10gm 을 蒸溜水 150ml 에 浮遊시켜 濃암모니아水를 滴加하면서 溶解시켜 (pH 7.4) CHCl₃-isoamyl alcohol(9:1)混液을 40ml 加하여 Sevag 法으로 除蛋白하였다. Sevag 法에 依한 除蛋白操作을 4-5회 되풀이 한 다음 最後의 遠心分離 上澄液(3,000回轉 10分)에 同量의 95% ethanol 을 加하고 攪拌하면서 6N HCl 을 滴加하여 pH 2.0에서 沈澱物을 얻었다. 이 RNA 沈澱物을 2回 遠心洗滌한 後 注意하여 1N NaOH 를 滴加하면서 蒸溜水 200ml 에 溶解(pH 7.4) 시킨 다음 醋酸소다 結晶 2gm 을 加하여 溶解시키고 95% ethanol 400ml 를 加하여 約 30分間 放置하여 RNA 를 沈澱시켰다.

이 沈澱物을 다시 70% 및 90% ethanol 로 各各 2回 洗滌한 後 無水 ethanol 및 ether 를 使用하여 吸引乾燥시켜 精製 RNA 를 얻었다. 以上 操作은 모두 低溫(5°C)에서 施行하였다.

다음과 같은 方法으로도 基質 RNA 를 精製하였다. 即 yeast RNA 를 蒸溜水에 넣어 잘 混合하고 1N KOH 로 注意하면서 滴加하여 pH 7.0로 만들어 녹힌 後 蒸溜水를 加하여 終末濃도가 10% RNA 溶液이 되도록 하였다.

이것에 等量의 acid-ethanol 을 加하여 RNA 를 沈澱시킨 後 acid-ethanol 로 2回, 0.24% HClO₄ 로 3回 各 洗溜한 다음 蒸溜水에 RNA 를 풀어 KOH 로 다시 pH 7.0로 調整하여 溶解시킨 後 증류수를 加하여 정화

하게 1% RNA 용액을 만들었다.

RNase 및 RNase inhibitor 活性은 Shortman²⁾, Little & Meyer¹¹⁾ 및 Tsukada¹²⁾法 등을 改良하여 다음과 같은 方法으로 測定하였다.

Free RNase 活性 測定

試料 血清을 10倍로 稀釋하고 그 血清 稀釋液 0.2ml 에다 蒸溜水 0.2ml 및 0.2M Tris-HCl 완충液(pH 7.6) 0.1ml 를 加한 後 0°C에서 20分間 放置하였다가 氷浴上에서 基質로서 0.1% RNA 溶液(精製 RNA 100mg 을 0.2M Tris HCl, pH 7.8, 100ml 에 溶解시킨 것) 0.2ml 를 加하여 30°C에서 45分間 incubate 시켰으며 한편 30°C에서 incubation 시키는 代身 0°C에서 45分間 放置한 것을 control 로 하였다. 다음 氷浴上에서 HCl-ethanol 溶液 (1N HCl in 76% ethanol) 0.7ml 를 넣어 0°C로 2時間 放置하였다가 2,400 rpm 으로 10分間 遠心 分離하여 얻은 上澄液을 全量이 20ml 가 되게 稀釋한 後 그 稀釋液에 대하여 Beckman DU spectrophotometer 를 使用하여 260mm 에서 optical density(O.D)를 測定하였다. 試料의 O.D 值에서 control 의 O.D 值를 뺀 것 에다 1000倍 하여 RNase 活性 unit 로 삼았다.

血清 Total RNase 活性 測定

Total RNase 活性은 蒸溜水 대신에 2mM 의 p-chlor-mercuribenzoate(PCMB) (0.2M Tris HCl 완충液, pH 7.6에 溶解시켰음) 0.2ml 를 加하여 free RNase 活性 測定과 같은 方法으로 測定하였다.

血清 RNase inhibitor 測定

Sigma Co. 製品 pancreatic RNase 結晶을 0.1% gelatin 液에 濃도가 0.05μg/ml 되게 溶解시켜 RNase gelatin 溶液을 얻었다. 實驗에 使用한 gelatin 은 0.01M EDTA 溶液으로 透折하여 重金속 이온을 除去한 다음 다시 0.15M NCl 溶液 및 蒸溜水로 차례로 透折하여 精製하였다. 증류수 0.2ml 대신 증류수 0.1ml 와 RNase-gelatin 溶液 0.1ml 를 넣은 것이 다를 뿐 free RNase 活性 測定과 같은 方法으로 O.D 를 測定하고, 한편 稀釋 血清 代身 蒸溜水 0.2ml 를 加하여 亦是 同一한 方法으로 O.D 를 測定하여 얻은 pancreatic RNase 活性을 control 值로 삼아 다음과 같이 血清의 RNase inhibition (%)을 算出하였다.

血清의 RNase inhibitor (%)

$$= \frac{\text{pancreatic RNase (unit)-活性血清存在下的}}{\text{pancreatic RNase 活性(unit)}} \times 100$$

血清 sialic acid 測定法

血清 sialic acid 는 Böhm 等法¹³⁾에 依하여 다음과 같

Table 1. Free alkaline RNase and RNase inhibitor activities in maternal and fetal serum

Sample No.	Free RNase activity (Unit)			Total RNase activity (unit)			Pancreatic RNase activity (unit)			RNase inhibition (%)		
	Control	Mother	Fetus	Control	Mother	Fetus	Control	Mother	Fetus	Control	Mother	Fetus
1	243	256	366	284	370	395	418	370	445	11	10	5
2	242	190	235	272	365	353	377	315	470	20	33	0
3	227	225	310	254	354	391	380	325	371	19	31	20
4	185	257	346	237	303	359	355	315	364	25	33	22
5	251	245	295	280	350	370	407	365	410	14	22	13
6	302	222	251	335	268	300	412	316	375	12	31	20
7	227	235	267	157	265	310	385	315	368	18	33	22
8	321	290	290	325	310	325	422	334	382	10	28	19
9	327	225	240	340	—	—	410	317	362	13	31	23
10	227	235	325	276	—	—	379	310	363	20	34	23
11	—	295	305	—	—	—	—	336	352	—	28	25
12	—	259	285	—	—	—	—	345	375	—	26	20
Mean ±S.D	255±44	2,405 ±24.5	287 ±32.4	—	—	—	—	—	—	16±4.7	28±6.4	18±6.7

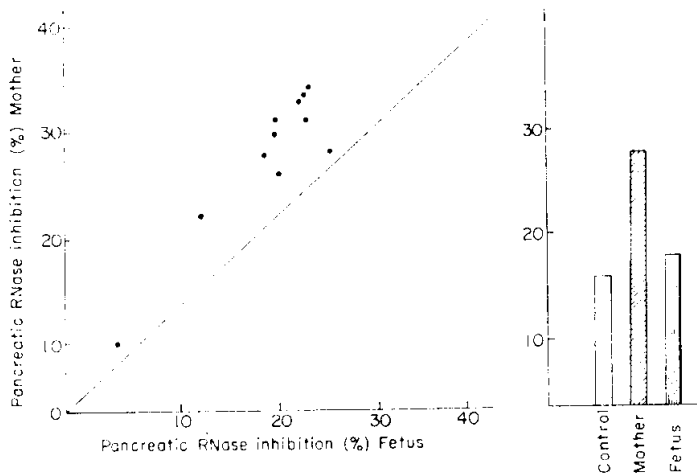


Fig. 1. Correlation of RNase inhibitor activities between maternal and fetal serum.

이 定量하였다. 卽 血清 0.05ml 에 蒸溜水 1.0ml 를 넣
고 잘 섞은 뒤에 10% TCA 液 1.0ml 를 加하여 冷蔵
庫에 10分間 放置하였다가 2,400rpm 으로 15分間 遠心
分離하였다. 遠沈後 上澄液은 버리고 남은 沈渣에 5%
TCA 20ml 를 加하여 잘 混合한 後 2,400rpm 에서 10
分間 遠沈하여 上澄液을 버리고 沈渣에다 蒸溜水를
0.5ml 加한 다음 Bialis reagent(orcino 0.1gm 을
40.7ml 의 濃 HCl 에 녹인 後 1% FeCl₃ 溶液 1ml 를 加
하여 중류수로 50ml 되게 하였음)를 넣고 watch glass
로 덮어 끓는 水浴槽中에 15分間 放置하여 發色케 하고

冷却시킨 다음 3分間 遠沈하여 上澄液을 Spectronic 20
spectrophotometer 로 540mm 에서 比色定量하였다.

또 血清代身 蒸溜水를 넣고 만 條件은 모두 同一하게
處理한 後 比色定量한 것을 blank 로 삼았다.

한편 Sample 測定時 standard 用으로 crystalline
sialic acid(igma Co)를 每번 使用하여 標準曲線을 作
成하여 各 檢體의 sialic acid 量을 算出하였다.

血清 脂質 分劃 및 定量法

血清 脂質들은 다음과 같이 薄層 chromatography 法
(TLC)으로 分離하여 Marzo 等²⁾法으로 定量하였다.

Table 2. Sialic acid contents of maternal and fetal serum

Sample No.	Cotrol			Mother		Fetus	
	Sex	Age	sialic acid (mg/dl)	Age	sialic acid (mg/dl)	Sex	sialic acid (mg/dl)
1	F	3	135	29	233	M	57
2	F	5	124	31	241	M	89
3	F	30	131	40	198	F	67
4	M	35	174	23	260	F	110
5	M	35	154	28	197	F	56
6	F	37	139	29	230	M	109
7	M	45	158	33	197	F	107
8	M	47	204	25	212	M	11
9	M	56	110	27	113	M	87
10	M	62	210	39	148	M	88
Mean±S.D			154±27.7	—	203±42	—	86±19.1

t=186 P<0.05

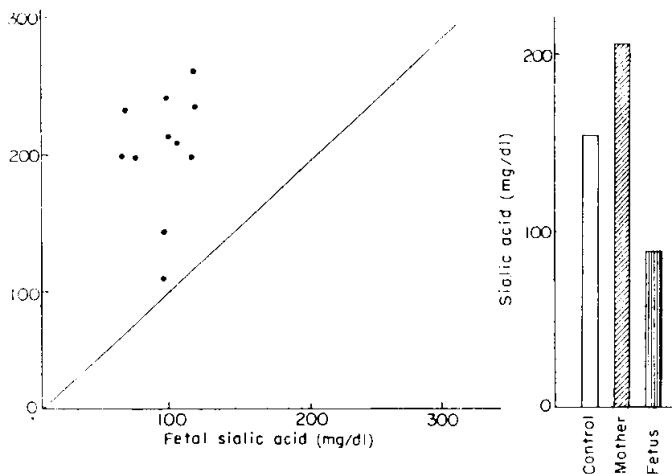


Fig. 2. Correlation of sialic acid contents between maternal and fetal serum.

Silica gel plate 製作: Silica gel 은 Merck Co. 製品 Kiesel Gel G nach Stahl 을 使用하였으며 脫脂精製한 silica gel 을 100-mesh sieve 를 通過시켜 均等한 粒子 를 얻었다. silica gel 14g 에다 再蒸溜水 30.8ml 를 加하여 세게 攪拌시켜 가지고 applicator 를 使用하여 硝子板(20cm×20cm)에 0.35mm 두께로 均一하게 展開 하여 만든 silica gel 薄層板을 風乾시킨 後 desiccator 속에 貯藏하였다가 110°C oven 속에서 30分間 活性化 시킨 後에 使用하였다.

血糖脂質 抽出方法¹⁴⁾: 血清 0.5ml 에다 9.5ml 의 CHCl₃: CH₃OH(2:1) 混合液을 넣고 잘 섞어 脫脂 濾紙 로 濾過한 後 濾液에다 2.4ml 의 0.05M NaCl 용액을

加하여 2,400rpm 으로 15分間 遠沈하였다. 分離된 上層 液을 capillary suction 으로 可及的 除去한 後 남은 下層 液에다 1.5ml 의 CHCl₃: CH₃OH: H₂O(3:48:47) 混合液 의 pure solvent upper phase 을 注意해서 管壁으로 徐徐 加하여 重疊시킨 後 다시 capillary suction 을 하였다. 以上과 같은 洗滌을 세 차례 되풀이 한 後에 남은 液을 眞空상태에서 低溫乾燥시킨 後 그 residue 에다 CHCl₃: CH₃OH 混合液을 加하여 잘 溶解시킨 다음 이것을 試料로 使用하였다. 試料 10μl 를 各各 duplicate 로 silica gel 薄層板에 塗沫시켜 展開溶媒로 petroleum ether: diethyl ether: CH₃OH: CH₃COOH(90:7:2:0.5) 混合液을 使用하여 密閉硝子槽 속에 넣어 約 30分間 展

Table 3. Lipid contents of maternal and fetal serum

Sample No.	Triglyceride (mg/dl)	Free fatty acid (mg/dl)	Rhospholipid (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	Esterified cholesterol (mg/dl)
1	92	15	84	48	108
2	60	20	118	40	84
3	140	23	144	32	136
4	52	15	92	24	92
5	118	23	180	52	120
6	80	12	176	20	120
7	108	24	152	52	100
8	160	13	132	32	124
9	164	11	152	64	140
10	112	12	112	44	160
Mean±S.D	109±36.8	17±4.9	141±33.4	41±13.1	119±22.2
1	585	26.6	256	78.2	188
2	361	14.0	234	57.8	164
3	370	14.0	183	91.8	164
4	318	11.2	333	64.6	154
5	585	21.7	264	85.0	244
6	366	14.0	242	80.1	181
7	576	23.8	269	66.3	161
8	380	25.0	204	54.5	120
9	409	14.0	282	73.2	209
10	580	14.8	279	78.0	212
Mean±S.D	453±106.8	17.9±5.3	254.6±39.9	72.9±11.3	180±33.3
1	42	3.3	150	9.0	45.6
2	105	5.6	90	12.6	31.6
3	84	3.7	136	27.0	46.4
4	49	4.5	138	28.8	40.9
5	112	5.6	90	10.8	33.6
6	53	3.9	151	13.5	35.0
7	84	4.4	108	27.0	46.4
8	75	6.8	113	18.7	25.2
9	106	3.4	122	18.4	36.0
10	50	3.4	114	24.0	49.6
Mean±S.D	76±25.0	4.5±1.1	121.2±21.2	19.0±6.2	390±7.5

開한 後 風乾시켜 iodine 蒸氣를 쏘여 分雜된 各 脂質 spot를 發色케 하였다. (Fig. 1) 着色한 各 脂質 band의 薄層部를 spatel을 使用하여 剝離시켜 혀실없이 모두 시험관에 옮겨 담은 後 5ml의 濃 H₂SO₄를 加하여 잘 흔들어 200°C oven 속에 45分間 放置하였다가 15分間 遠沈 分離하여 얻은 上層液에 對하여 375mm에서 Spectronic 20 spectrophotometer를 使用하여 optical density를 測定하였다. 한편 着色치 않은 薄層을 같은

위치에서 같은 크기로 옮겨 담은 後에 同一한 條件으로 處理한 것을 blank 値로 삼았다.

標準曲線 作成

標準 脂質物質로는 Sigma. Co 製品 standard 用的 D. L- α -lecithin, linoleic acie, triolein, cholesterol 및 cholesteroyl stearate를 使用하였다. 以上 標準物質을 各各 10mg/ml의 濃度가 되도록 精製 CHCl₃에 溶解시켜 標準試料로 삼았다. 이것을 여러 濃度로 하여

variable로 spotting 하여 血清試料와 同一한 方法으로 處理하여 濃度에 對한 O.D의 標準曲線을 作成하였다.

Ⅲ. 實驗 結果

1) 產母 및 胎兒 血清 RNase inhibitor 活性: 產母 및 胎兒 12雙에 대하여 血清의 free alkaline RNase 및 RNase inhibitor 活性을 測定한 結果는 다음과 같다. (第1表 第1圖)

血清 RNase inhibitor 活性은 加한 pancreatic RNase 活性의 血清 RNase inhibitor 에 의한 減少率 即 inhibition %로 表示하였다.

第1表 第1圖에서 보는 바와 같이 產母 血清의 RNase inhibition은 $28 \pm 6.4\%$ 로서 胎兒의 $18 \pm 6.7\%$ 에 比하여 높다. ($P < 0.01$)

또 對照(非妊婦) 値는 $16 \pm 4.7\%$ 로서 產母 値는 對照 値보다 높고($P < 0.01$), 胎兒 値와 對照 値와는 有意義한 差를 볼 수 없으며 한편 血清의 free alkaline RNase 活性은 產母 値가 240 ± 24.5 unit, 胎兒 値가 287 ± 32.4 unit 로서 胎兒 値가 產母 値보다 높다($P < 0.01$).

2) 產母 및 胎兒 血清 sialic acid 量:

產母 및 胎兒 10雙에 對하여 血清 sialic acid 量은 第2表, 第2圖에서 보는 바와 같이 產母 値가 203 ± 42 mg/dl, 胎兒 値가 86 ± 19.1 mg/dl 로서 產母 値가 胎兒 値보다 約 2.5倍나 높고 또 對照(非妊婦)群의 154 ± 27.7 mg/dl 에 比하여 亦是 높다 ($P < 0.01$), 또 對照 値와 胎兒 値를 比較하면 胎兒 値가 對照 値보다 낮은 有意義한 差異 ($P < 0.01$)를 보여 주고 있다(第2表 第2圖).

3) 產母 및 胎兒의 血清 脂質 量:

血清 脂質은 thin-layer chromatography 法을 利用하여 triglyceride(TG), free fatty acid(FFA) phospholipid(PL), cholesterol(free chol.) 및 esterified cholesterol(ester. chol.) 등으로 分離한 다음 溶出시켜 比色法으로 定量하였다.

各種 脂質의 標準曲線:

Reference 脂質로 Sigma Co. 發賣의 triolein, linoleic acid, D.L- α -Lecithin, cholesterol 및 cholesteryl stearate 를 使用하여 各 脂質의 標準曲線을 作成한 것이 第4(a, b)圖이며 血清의 各 脂質成分은 이 標準曲線

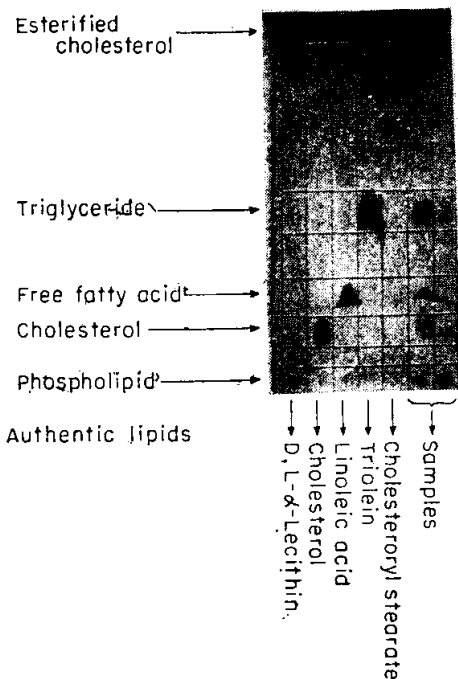


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of authentic and serum lipids.

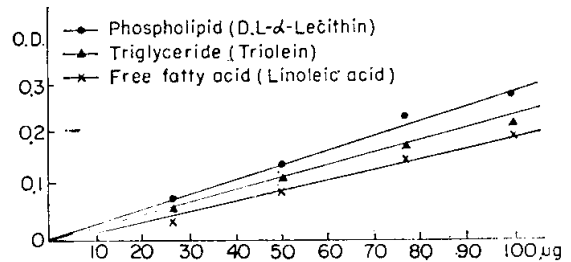


Fig. 4 a. Standard curve of triolein linoleic acid and D.L- α -lecthin.

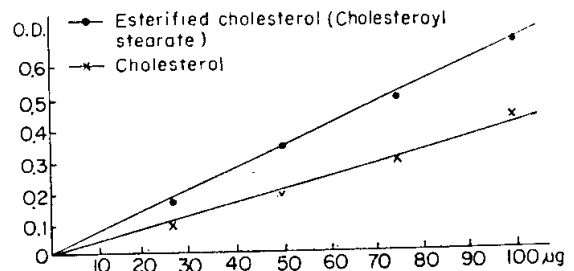


Fig. 4 b. Standard curve of cholesterol and cholesteryl stearate.

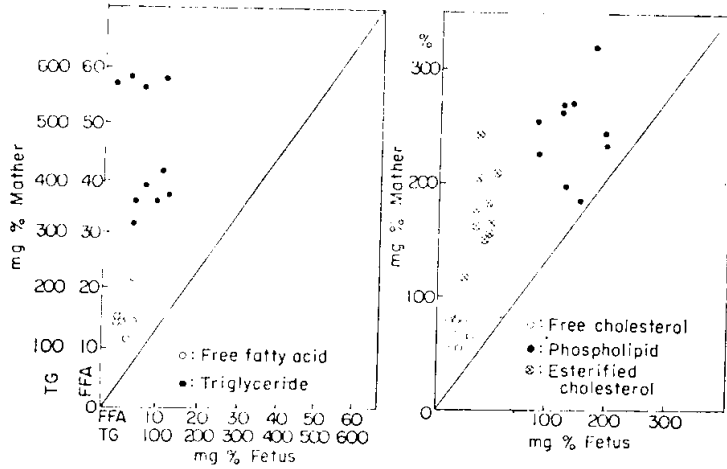


Fig. 5. Correlation of lipid contents between maternal and fetal serum.

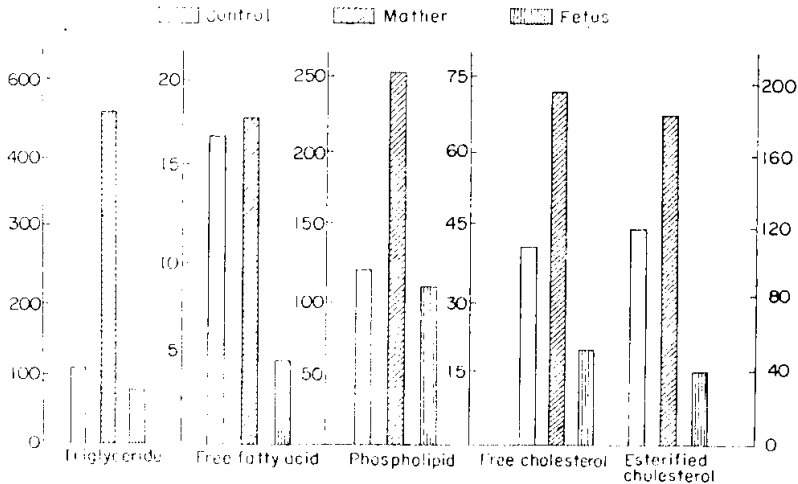


Fig. 6. Histogram of serum lipid contents of mother, fetus and control group.

을 利用하여 O.D에서 직접 各脂質量을 算出하였다(第 4a 4b圖).

血清 triglyceride(TG)量:

産母, 胎兒血清脂質量을 綜合하여 第3表 第5 및 6圖에 表示하였다. 産母 및 胎兒의 血清 TG量을 보면 前者가 $453 \pm 106.8 \text{ mg/dl}$, 後者가 $76 \pm 25.0 \text{ mg/dl}$ 로서 産母值가 胎兒值보다 대단히 커 約 6배나 되며 또 對照群의 $109 \pm 33.8 \text{ mg/dl}$ 보다도 월등히 높다 한편胎兒值는 對照值에 比하여 낮다($P < 0.01$).

血清 free fatty acid(FFA)量:

産母 및 胎兒의 血清 FFA量을 보면 産母值는 $17.9 \pm 5.3 \text{ mg/dl}$ 로서 胎兒值의 $4.5 \pm 1.1 \text{ mg/dl}$ 에 比하여 4배

나 크며 對照值의 $17.0 \pm 4.9 \text{ mg/dl}$ 와는 거의 같다.

以上과 같이 胎兒 血清의 TG 및 FFA量은 産母值보다 대단히 낮고 또 産母血清의 TG量은 對照值보다도 월등히 높은 것을 알 수 있다.

血清 phospholipid (PL)量:

産母血清의 PL量은 $254 \pm 39.9 \text{ mg/dl}$ 로서 胎兒의 $121 \pm 21.2 \text{ mg/dl}$ 보다 2배 가량 높으며 對照值의 $141 \pm 33 \text{ mg/dl}$ 보다도 월등하게 크다. 이와 같이 産母에 있어 血清 PL量도 相當히 증가되어 있음을 알 수 있다. 그러나 胎兒值는 對照值과 거의 같다.

血清의 free cholesterol 및 ester형 cholesterol量

産母血清의 free cholesterol과 ester형 cholesterol

Table 4. RNase inhibitor activities in serum of varying cancer patients

Sample No.	Sex	Age	Free RNase Activity (unit)	Total RNase Activity (unit)	Pancreatic RNase Activity (unit)	RNase Inhibition (%)
Contol group						
1	M	31	243	284	418	11
2	M	26	242	272	377	20
3	M	20	227	254	280	19
4	F	30	185	237	355	25
5	M	35	251	280	407	14
6	M	35	302	335	412	21
7	F	37	227	257	385	18
8	M	45	321	325	422	10
9	M	47	327	340	410	13
10	M	56	227	276	379	26
Mean±S. D.			55±44	—	—	16±4.7
Hepatoma						
1	M	44	347	360	436	8
2	"	36	310	357	397	15
3	"	45	277	300	374	21
4	"	30	328	345	405	14
5	"	52	278	331	350	25
6	"	65	385	452	354	25
7	F	45	347	377	419	21
8	M	36	311	350	428	9
9	"	16	282	327	425	10
10	"	49	362	400	422	10
11	"	45	331	392	435	8
12	F	40	283	377	399	15
13	M	55	338	356	418	12
14	"	27	327	377	399	15
15	F	61	369	383	435	8
16	M	27	388	455	475	0
17	"	27	419	360	416	12
18	"	53	334	370	436	7
19	"	45	337	379	378	20
20	"	44	304	316	371	21
21	"	27	452	369	398	15
22	M	39	317	338	408	14
23	"	48	375	380	436	7
24	"	27	438	389	456	3
25	F	48	299	310	384	18
26	"	26	406	416	515	0
27	M	69	396	449	440	6
28	"	51	272	342	382	19
29	"	49	231	321	352	25
30	"	27	260	362	385	18
31	"	48	240	306	305	35

32	/	43	247	320	397	15
33	/	46	266	325	369	21
34	/	48	283	340	372	21
35	F	52	305	401	400	15
36	M	48	373	436	416	12
37	/	42	245	298	328	30
38	/	53	244	252	311	34
Mean±S. D			325±58.4	—	—	15±8.1

Stomach cancer

1	F	39	312	456	495	0
2	M	38	238	277	317	33
3	F	39	245	277	292	38
4	M	51	246	280	309	34
5	/	26	185	263	293	38
6	F	52	233	254	328	30
7	/	64	307	350	333	29
8	M	30	268	375	304	35
9	F	44	257	317	322	31
10	/	44	272	365	330	30
11	/	62	273	345	353	25
12	M	48	285	295	438	7
13	F	44	275	373	434	8
14	M	32	341	355	315	12
15	/	56	351	387	422	10
16	F	47	257	207	330	30
17	M	56	405	403	453	3
18	F	4	341	350	387	18
Mean±S. D			282±53.2	—	—	24±11.5

Colon cancer

1	F	37	204	248	325	31
2	M	44	227	274	296	37
3	/	45	346	388	440	6
4	M	53	373	460	462	2
5	/	62	289	358	421	10
6	F	50	289	296	425	10
Mean±S. D			71±462	—	—	16±13

Rectal cancer

1	M	42	275	365	421	10
2	F	58	324	389	420	11
3	M	69	243	275	387	18
4	F	61	353	385	385	18
5	M	62	283	257	357	20
6	F	61	294	354	444	6
Mean±S. D			295±35.2	—	—	13±5.1

Breast cancer						
1	F	55	285	290	371	21
2	M	45	253	315	400	15
Lung cancer						
1	F	72	311	375	495	0
2	M	33	333	360	372	21
Thyroid cancer						
1	M	36	338	410	414	12
2	F	36	267	380	425	10
Pancreas cancer						
1	M	63	388	465	553	0
2	F	53	330	340	412	12
Leukemia						
1	F	16	345	360	436	7

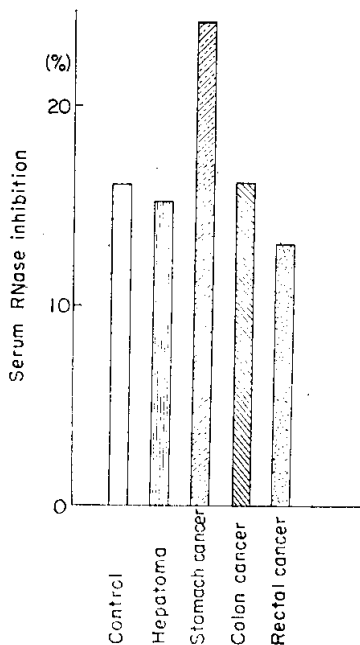


Fig. 7. RNase inhibitor activities in serum of varying cancer patients.

량은 각각 $72.9 \pm 11.3 \text{ mg/dl}$ 및 $180 \pm 33.3 \text{ mg/dl}$ 로서胎兒의 $19 \pm 6.2 \text{ mg/dl}$ 및 $39 \pm 7.5 \text{ mg/dl}$ 에 比하여 各各約 3.5倍 및 4.5倍나 높으며 또 對照值의 $41 \pm 13.1 \text{ mg/dl}$ 및 $119 \pm 22.2 \text{ mg/dl}$ 보다도 훨씬 크다.

以上과 같이 産母의 血清 脂質量은 胎兒에 比하여 TG

및 FFA 量은 4倍내지 6倍나 높고 PL 量은 2배, 또 cholesterol 量은 3.5내지 4.5倍가 높다. 또 産母는 血清 脂質에 있어 FFA 를 除外하고 對照值보다도 현저하게 增加되어 있다(第3表) (第5圖 및 第6圖).

4) 各種 암 患者의 血清 RNase inhibitor 活性

第4表, 第7圖에서 보는 바와 같이 肝암 患者 38名의 平均血清 RNase inhibitor 活性은 inhibition 이 $15 \pm 8.1\%$ 로서 對照群(正常人)의 $16 \pm 4.7\%$ 에 比하여 別差異가 없다. 그러나 胃암 患者 18名의 平均血清 RNase inhibition 은 $24 \pm 11.5\%$ 로서 對照值 및 肝암 患者의 그것보다 相當히 높다($P < 0.01$) 또 結腸암 患者 및 直腸암 患者 各 6名의 平均血清 RNase inhibitor 活性은 各各 $16 \pm 1.3\%$ 및 $13 \pm 5.1\%$ inhibition 으로서 腸암 患者 相互間 및 正常值에 對하여 有意義한 差를 볼 수 없다. 乳암, 肺암, 甲狀腺암, 脾臟암, 및 白血病 等 各 암 患者 血清 RNase inhibitor 活性에 對해서는 各各 1~2例에 不過하여 結論을 얻을 수 없으나 모두 正常值보다는 높지 않다(第4表, 第7圖).

한편 各種 암 患者의 血清 free RNase 活性을 보면 對照值 $255 \pm 44 \text{ unit}$ 에 對하여 肝암, 胃암, 結腸암 및 直腸암 等에서는 各各 $325 \pm 58.4 \text{ unit}$, $282 \pm 53.2 \text{ unit}$, $271 \pm 46 \text{ unit}$, 및 $295 \pm 35.2 \text{ unit}$ 로서 一般으로 암患者에서 血清 free RNase 活性은 上昇되어 있으며 特히 肝암에 있어 현저함을 알 수 있다.

5) 各種 암 患者의 血清 Sialic acid 量

各種 암 患者의 血清 Sialic acid 量은 第6表 第9圖에서 보는 바와 같이 肝암 患者에서는 $161 \pm 37.9 \text{ mg/dl}$ 로

서 對照值(正常人) 154 ± 27.7 에 比較하여 有意義한 差를 볼 수 없으나 ($t=0.59$) 胃암 患者는 116 ± 31.6 mg/dl 로서 肝암 患者值나 正常值에 比較하여 相當히 低下되어 있어 有意義한 差를 보여 주고 있다($P < 0.01$). 이것은 上述한 바 胃암 患者에 있어 血清의 Rnase inhibitor 活性이 다른 암 患者 및 正常人에 比較 亢進되어 있는 事實과 關聯되어 興味있는 事實이다. 또 結腸암 및 直腸암 患者의 血清 Sialic acid 量은 各各 188 ± 36.7 mg/dl 및 165 ± 22.2 mg/dl 로 兩者間에는 有意義한 差는 없으나 ($t=14$) 結腸암에 있어서는 正常值에 比較하여 有意義한 差를 보여 주고 있다($P < 0.05$), (第5表 第8圖)

Table 5. Sialic acid contents in serum of varying cancer patients

Sample No.	Sex	Age	Sialic acid mg/dl
Control (normal)			
1	F	3	135
2	"	5	124
3	"	30	131
4	M	35	174
5	"	35	154
6	F	37	139
7	M	45	158
8	"	47	204
9	"	56	110
10	"	62	210
Mean \pm S. D			154 \pm 27.7
Hepatoma			
1	M	44	158
2	"	36	120
3	"	45	146
4	"	45	135
5	"	30	124
6	M	65	72
7	F	45	135
8	M	52	158
9	"	16	120

10	"	65	188
11	F	45	143
12	M	36	131
13	"	16	150
14	"	49	128
15	"	45	196
16	F	40	140
17	M	55	/66
18	"	27	120
19	F	61	116
20	M	27	196
21	"	27	164
22	"	53	146
23	"	45	154
24	"	44	146
25	"	27	139
26	M	39	143
27	"	48	192
28	"	27	164
29	F	48	190
30	"	26	304
31	M	69	224
32	"	51	212
33	"	79	174
34	"	27	150
35	"	48	202
36	"	43	205

Mean \pm S. D 161 \pm 73.9

Stomach cancer

1	F	39	90
2	M	38	108
3	F	39	116
4	"	51	100
5	M	26	96
6	F	52	100

7	"	64	92
8	M	30	96
9	F	44	104
10	"	44	104
11	"	62	112
12	M	48	150
13	F	44	116
14	M	32	192
14	M	32	192
15	"	56	146
16	F	47	106
17	M	56	129
18	F	47	80

Mean±S. D 116±31.6

Colon cancer

1	F	37	112
2	M	44	188
3	F	50	196
4	M	45	204
5	"	62	204
6	"	53	228

Mean±S. D 188±36.7

Rectal cancer

1	M	42	189
2	F	58	178
3	M	69	131
4	F	61	139
5	M	62	174
6	F	61	182

Mean±S. D 65±22.2

Breast cancer

1	F	45	135
2	F	55	124

Mean	129
------	-----

Lung cancer

1	F	72	136
2	M	33	162

Mean 148

Pancreas cancer

1	M	63	112
2	M	52	112

Mean 112

Thyroid cancer

1	F	36	154
2	F	36	143

Mean 148

Leukemia

1	F	16	194
---	---	----	-----

乳암, 肺암, 膵臟암, 甲狀腺암 및 白血病 患者에 있어서는 例數가 1~2例에 不遇하여 結論을 얻지 못했다.

6) 各種 암 患者의 血清 脂質量

各種 암 患者의 血清脂質들은 triglyceride (TG), free fatty acid(FFA), phospholipid(PL), cholesterol 및 ester 형 cholesterol로 分劃하여 定量한 結果는 第6表 및 第9圖와 같다. 血清 TG量은 肝암 患者에서는 102±66mg/dl로서 對照值 109±33mg/dl와 別差異없으나 胃암 및 直腸암 患者에서는 各各 150±52mg/dl, 154±69mg/dl,로서 正常人 및 肝암 患者보다 훨씬 높다. 血清 FFA量은 對照值 17±4mg/dl에 대하여 肝암 胃암, 直腸암 및 結腸암에서는 各各 59±27mg/dl, 55±21mg/dl, 49±6.0mg/dl 및 55mg/dl로서 各種 암 患者의 FFA量이 正常值에 比하여 3倍 또는 그 以上으로 激增되어 있는 것을 알 수 있다. 血清 PL量은 正常人과 肝암 患者에 있어 各各 141±33mg/dl 및 125±43

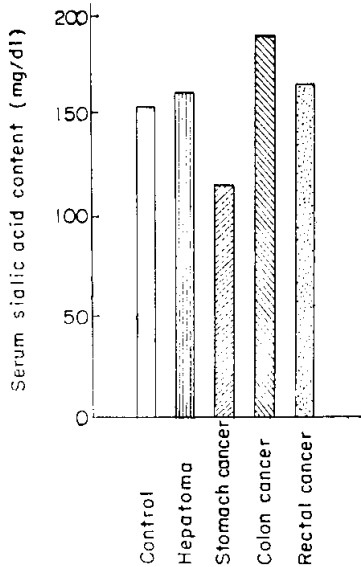


Fig. 8. Sialic acid contents in serum of varying cancer patients.

mg/dl로서 肝암이 對照値보다 적다. 또 위암과 直腸암에 있어서는 各各 153±25mg/dl 및 200±40mg/dl로서 肝암보다 현저히 增加되어 있다. 血清 cholesterol量은 肝암, 胃암 및 直腸암에 있어 各各 45±18mg/dl, 46±14mg/dl 및 57±24mg/dl로서 對照値 41±13mg/dl에 比하여 약간 증가되어 있다.

肝암 患者의 ester 型 cholesterol 量은 111±3.5mg/dl로서 대조치 119±22mg/dl와 거의 같으나 胃암, 直腸암 患者에 있어서는 各各 146±29mg/dl 및 144±35mg/dl로서 對照値에 比하여 增加되어 있다. (第6表 第9圖)

以上과 같이 各種 암 患者에 있어 血清 FFA 量이 正常値에 比하여 激增하여 있는 것이 特異하며 特히 胃암 및 直腸암에 있어 血清 TG, PL 및 cholesterol 量 등이 正常値보다 현저하게 높다.

V. 考 察

血清 RNase inhibitor 活性을 RNase inhibition %로 표시하면 產母, 胎兒의 血清 RNase inhibition 은 各各

Table 6. Serum lipid contents of varying cancer patients

Sample No.	Sex	Age	Triglyceride (mg/dl)	Free fatty acid (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	Esterified cholesterol (mg/dl)
Control 1							
1	F	3	92	15	84	48	108
2	"	5	60	20	84	40	83
3	"	30	140	23	144	32	136
4	M	35	52	15	92	24	92
5	"	35	118	23	180	52	126
6	F	37	80	12	76	20	120
7	M	45	108	24	152	52	100
8	"	47	160	13	132	33	124
9	"	56	164	11	152	64	140
10	"	62	112	12	112	44	160
Mean±S. D			109±33.8	17±4.9	121±34.3	41±34.3	119±22.2
Hepatoma							
1	M	44	160	44	168	68	88
2	"	36	828	84	208	48	228
3	"	52	220	44	132	16	120
4	M	45	192	20	125	28	112
5	M	65	92	108	100	—	120
6	F	45	102	60	96	36	88
7	M	36	80	84	84	76	108
8	"	49	180	76	180	68	108

9	"	45	40	44	84	28	88
10	F	40	60	32	132	44	132
11	M	55	160	104	208	68	152
12	"	27	49	48	84	56	100
13	F	61	92	102	128	44	92
14	M	27	32	—	126	24	96
15	"	27	60	52	108	52	108
16	"	53	100	128	204	56	192
17	"	45	80	44	152	80	108
18	"	44	80	—	144	56	108
19	M	27	120	44	112	16	124
20	"	48	60	46	72	32	56
21	"	27	42	32	84	36	96
22	F	48	56	63	128	52	76
23	"	51	200	24	116	52	132
24	"	49	40	28	68	28	68
25	"	27	38	32	56	24	92
26	"	48	104	72	180	68	104
27	"	43	36	—	86	20	76
28	"	48	100	—	144	28	124
Mean±S. D.			162±66.7	56±27.3	125±43.2	45±18.7	111±35.2

Stomach cancer

1	M	48	248	76	164	60	200
2	F	44	120	33	152	36	156
3	M	32	140	76	188	56	124
4	M	56	92	64	148	56	132
5	F	47	152	24	112	24	120
Mean±S. D.			150±52.8	55±21.9	153±25.6	46±14.0	146±29.7

Rectal cancer

1	M	42	132	44	180	20	92
2	F	58	260	44	248	57	164
3	M	69	160	44	168	60	124
4	F	61	220	52	260	88	200
5	M	62	92	52	152	76	164
6	F	61	60	60	192	40	120
Mean±S. D.			154±69.2	49±6.0	200±40.2	57±24.4	144±35.6

Colon cancer

1	M	45	140	46	116	32	92
2	M	62	132	63	128	52	116
Mean±S. D.			136	55	122	42	104

Breast cancer

1	F	45	120	12	168	56	168
---	---	----	-----	----	-----	----	-----

Thyroid cancer							
1	F	36	160	24	220	88	220
Leukemia							
1	F	16	520	33	180	92	192

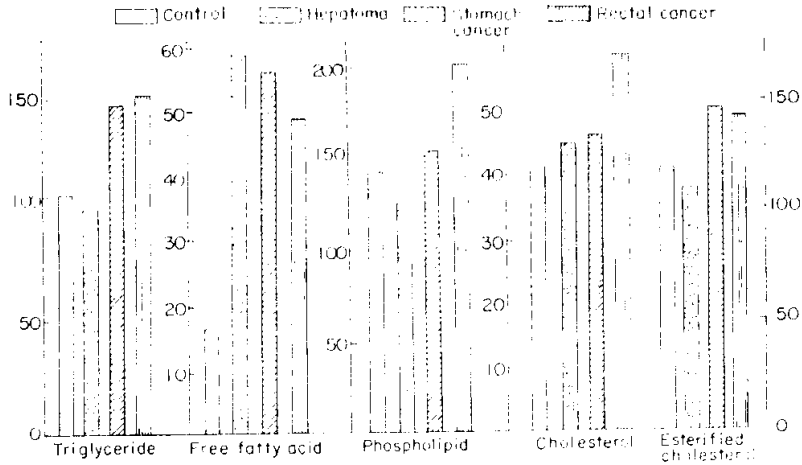


Fig. 9. Histogram of serum lipid contents of varying cancer patients.

28±2.6% 및 18±6%로서 產母值가 胎兒值보다 훨씬 높다. 李⁶⁾는 產母, 胎兒間의 血清 free(alkaline) RNase 活性 量을 測定하여 胎兒가 產母보다 높다는 事實을 밝힌바 있으며 本 實驗에서도 產母, 胎兒의 血清 free RNase 活性이 各各 240±24Unit 및 287±32Unit로서 亦是 胎兒側이 높다. 또 產母, 胎兒間의 血清 sialic acid 量은 各各 203±42mg/dl 및 86±19mg/dl로서 產母側이 2.5倍나 높고 對照値는 154±27mg/dl로서 產母 및 胎兒值의 中間쯤 된다.

DNA의 遺傳情報로 轉寫된 RNA는 효소를 위시하여 모든 蛋白質 合成에 關與하고 있다. 이와같이 蛋白質 合成에 至大한 拘束을 하는 RNA代謝의 調節 메카니즘은 여러가지 있겠지만 RNase 分解 酵素인 RNase가 큰 影響을 주리라는 것을 쉽게 수증하는 바이다.

따라서 生體內에서 RNase 活性이 生理的 또 病的 狀態에서 變化가 클 것이라는 것도 남득이 된다.

補乳動物 細胞內에는 RNase 酵素가 들어 있으며 RNase는 보통 活性의 至適 pH로 acid RNase와 alkaline RNase로 區別하는데 acid RNase는 주로 lysosome 속에 다른 acid hydrolase와 같이 存在하여 있고 acid RNase보다 意義가 큰 alkaline RNase는 cytoplasmic RNA와 밀접한 關係가 있다 한다^{15) 16)}. Roth¹⁾에 依하면 alkaline RNase 活性은 特殊한 RNase

inhibitor로 抑制되어 있다고 하며 이 inhibitor는 高等 動物 組織속에 널리 分布되어 있어 組織內 不活性體를 形成하고 있다 한다^{17) 18)}, 흰쥐 血清에는 alkaline RNase만 存在하여 있고 또 그 일부는 RNase inhibitor와 結合되어 있다 한다¹²⁾ RNase inhibitor의 實際的인 機能은 아직 잘 모르지만 部分的 肝 切除를 한 흰쥐 肝 組織의 RNase inhibitor 含量이 증가되었다 하며 또 2-aminofluorene을 投與한 흰쥐의 precancerous 肝 組織의 RNase inhibitor 活性이 增加한다¹⁹⁾는 것을 보면 RNase inhibitor level과 細胞중식과는 어떤 聯關性이 있는 것을 示唆하고 있는 것 같다.

Tsukada¹²⁾는 部分的 切除術을 받은 흰쥐 血清內 RNase 法性이 低下되고 血清 RNase 活性의 低下와 RNase inhibitor의 增加는 밀접한 關係가 있을 것이라고 報告하였다.

本 實驗에서 產母의 free RNase 活性은 胎兒, 非妊婦보다 낮고 RNase inhibitor 活性은 胎兒, 非妊婦보다 높다는 것은 妊婦때 母體가 胎兒조직 中식에 必要한 모든 物質을 供給하여야 하는 故로 結局 anabolism이 그만큼 旺盛함을 示唆하는 것으로 볼 수 있다. RNase inhibitor의 正體는 아직 밝혀지지 않았으나 Roth²⁰⁾와 Shortman²¹⁾은 흰쥐 肝 組織의 可溶性分劃에서 分離한 RNase를 glycoprotein의 一種으로 보고 있다. Klenk⁶⁾

22) 23) 및 Blix²⁴⁾ 등은 glycoprotein의 接合 分子로 sialic acid 成分이 있음을 밝힌 바 있다. 그러나 Sialic acid를 그대로 RNase inhibitor로 推測할 수는 없다. 產母, 血清의 RNase Inhibitor 活性과 Sialic acid 量이 모두 胎兒值나 對照值보다 큰 것은 우연의 一致인지도 모른다. Lustig等²⁵⁾과 Novak等²⁶⁾은 妊娠時 血清 glycoprotein이 增加되었다 하며 또 Pederson²⁷⁾ 등은 妊娠時 血清의 glycoprotein이 增加되는 原因으로서 胎兒 發育에 따라 그 조직 合成에 必要한 glycoprotein 需要가 많아져서 이것이 母體의 肝을 자극하여 glycoprotein 合成을 促進시킨다고 說明하고 있다.

第3表, 第5 및 6圖에서 보는 바와 같이 產母의 血清 TG(中性脂肪)은 453±106mg/dl로서 胎兒의 76±25mg/dl나 對照值의 109±33mg/dl 보다 굉장히 높으며 胎兒值는 對照值보다 낮다. 또 產母의 血清 FFA(遊離 脂肪酸)量은 17.9±5mg/dl로서 胎兒의 4.5±1.1mg/dl보다 約 4배나 크다. 그러나 對照值되는 거의 같다. 또 產母의 血清 磷脂質量은 254±39mg/dl로서 胎兒의 121±21mg/dl에 比하여 約 2배가 높으며 또 產母의 遊離 cholesterol 및 ester 型 cholesterol 量은 各各 72.9±11mg/dl 및 180±33mg/dl로서 胎兒의 19±6mg/dl 및 39±8mg/dl에 比하여 各各 3.5배와 4.5배가 높고 또 對照值의 41±13mg/dl 및 119±22mg/dl보다도 현저하게 높다. 또 胎兒值는 對照值보다 모두 훨씬 낮다.

以上과 같이 本實驗에서 thin-layer chromatography 法으로 微量의 血清으로 迅速하고 比較的 正確하게 血清 諸脂質을 分離하여 產母, 胎兒間의 血清 脂質成分을 직접 定量하여 比較할 수 있었다.

일찍이 申⁷⁾ 등은 產母, 胎兒의 lipoprotein cholesterol 量이 產母에 比하여 1/3도 못된다는 事實을 하였으며 한편 崔⁸⁾는 血清의 總脂質量을 重量法으로 分析하고 또 脂質磷量을 定量하여 產母의 血清 總脂質量이 胎兒보다 3.6배나 많고 產母의 血清 脂質磷量이 胎兒보다 約 3배가 많음을 發表하였다.

Chauffard²⁾ 등⁸⁾ 및 Neuman & Herrman²⁹⁾은 일찍이 1910年代에 妊娠時 血清 cholesterol 量이 增加됨을 報告하였고 其後 Boyd³⁰⁾는 妊娠中 血清 cholesterol 뿐 아니라 中性脂肪 및 脂質磷量이 현저하게 增加됨을 밝혔다.

Oliver & Boyd³¹⁾는 妊娠 第8週에서 第32週를 통하여 血清 lipid 磷이 44% 增加된다고 하였다. 以上 文獻들은 間接法에 依한 것이 많고 總括적인 것이 없으나 대략 本實驗 結果와 符合된다. 이와같이 產母 血清에

있어 脂質量이 크게 增加하여 소위 hyperlipemia 現象을 일으키는 原因에 대해서는 明確한 解釋을 내릴 수 없다. 그러나 脂質代謝에 對한 內分泌調節³²⁾ 妊娠中의 ホル몬 變動^{33) 34)} 등이 問題로 되어 있다. 또 胎兒 血清의 脂質이 현저하게 적은 한 理由로서 諸脂質들은 血清內에서 주로 巨分子의 lipoprotein으로 存在되어 있는 故로 分子量과 關聯하여 그 placental transfer가 容易치 않음을 들 수 있다.

肝암 患者 38名의 平均 血清 RNase inhibitor 活性은 15±4%의 inhibition으로 對照值 16±4%와 거의 같으나 胃암 患者 18名에 있어서는 平均 24±11%로서 對照值나 肝암 患者에 比하여 훨씬 높다(P<0.01). 또 結腸암 및 直腸암 各 6名의 平均 血清 RNase inhibitor 活性은 各各 16±1.3% 및 13±5% inhibition으로서 對照值에 比하여 有意義한 差를 볼 수 없다. 다음 各種 암 患者의 血清 free RNase 活性을 보면 對照值 255±44Unit에 대하여 肝암, 胃암 結腸암 및 直腸암 등에서 各各 325±50unit, 282±53unit, 271±46unit 및 295±35unit로서 암 患者에서는 一般의 血清 free RNase 活性이 增加되어 있음을 알 수 있다.

血清 RNase inhibitor 活性은 肝암 患者 38名中 對照值와 비슷한 것이 32名이고 이보다 높은 値를 가진 것은 6名에 不過한데 反하여 胃암 患者에 있어서는 18名中 11名이 對照值보다 높고 各 6名의 結腸암 患者와 直腸암 患者中 結腸암 患者는 2名이 대조치보다 直腸암 患者는 거의가 對照值에 해당한다. 이와같이 胃암 患者에서 유독 血清 RNase inhibitor 活性이 높은 것이 特異한 것이고 그 原因에 대해서는 아직 說明할 수는 없지만 이것이 더 많은 例數에서 確認이 된다면 診斷的 價値를 지니고 있을지도 모른다.

Levy와 Rottino³⁵⁾ 등은 血清 RNase 活性은 많은 病的 狀態에 있어서 一般의 血清으로 增加한다고 하며 特히 肝硬變症과 白血病은 60~70%에 있어서 血清 RNase 活性이 높으며 脾臟암, Hodgkin氏病 等에서는 患者의 30%가 높은 値를 보였다고 報告하였다.

Shortman³⁶⁾은 원위部 部分的 肝切除 手術을 하여 肝 組織의 RNase inhibitor가 增加됨을 밝혔고 또 Taper³⁷⁾ 등은 사람의 中樞神經 末梢에서 RNase 活性이 消失됨을 보고하였다.

한편 Tsukada¹²⁾는 部分的 肝切除 手術을 받은 원위에 있어 血清 RNase 活性은 減少되지만 RNase inhibitor 活性은 增加하는 것을 보고 細胞 증식과 RNase inhibitor 量과는 어떤 關聯性이 있을 것이라고 報告하였다. 細胞 組織의 증식이 病的으로 대단히 빠른 암조직에서는 效

소 및 一般 단백질 合成이 왕성함으로 RNase inhibitor 가 增加될 것은 상상이며 이러한 암조직을 대조하고 있는 암患者에서 혈청 RNase inhibitor의 增加를 推測할 수 있다.

그러나 細胞內의 RNase와 inhibitor 分子가 어떻게 血清으로 옮겨 갈 수 있느냐가 問題이다. 암 患者의 血清 RNase 및 inhibitor 活性을 系統的으로 調査한 文獻은 별로 찾아 볼 수 없다. 이 問題는 앞으로 많이 追尋하여 볼 必要가 있다.

各種 암 患者의 血清 Sialic acid 量은 肝암이 $161 \pm 37 \text{mg/dl}$ 로서 대조치의 $154 \pm 27 \text{mg/dl}$ 와 別差가 없으나 위암 患者의 $116 \pm 31 \text{mg/dl}$ 는 肝암이나 對照值에 比하여 相當히 低下되어 있다. 結腸암과 直腸에서는 各各 $188 \pm 36 \text{mg/dl}$ 및 $165 \pm 22 \text{mg/dl}$ 로 胃암 보다는 높고 結腸암 患者는 對照值보다 높다.

上述한 바와 같이 胃암 患者에서 血清 RNase inhibitor 活性이 만 암 患者보다 월등히 높는데 反하여 血清 Sialic acid 量은 다른 암 환자나 정상치에 比하여 현저히 低下되어 있는 것이 特異하다.

이러한 事實로 보아 一種의 glycoprotein으로 推測되는 RNase inhibitor와 glycoprotein의 接合分子인 Sialic acid는 關聯성이 별로 없음을 알 수 있다. Bierry & RATHERY³⁸⁾와 Shetlar³⁹⁾ 등은 惡性종양 때 血清 Sialic acid 量이 增加함을 보고하고 있다. 또 Pederson²⁷⁾은 암 初期에 血清 Sialic acid 量이 增加된다고 하였다.

그러나 本實驗에서는 血清 sialic acid가 結腸암에 있어서는 增加되고 胃암에서는 오히려 低下되어 있다.

암의 基礎的 研究에 있어서 從來에 에너지 核酸, 酵素 및 一般 단백질대사에 置重되어 온 것은 事實이지만 最近에 脂肪代謝에 있어서도 相當한 注目を 끌고 있다. 特히 一種의 lipoprotein으로 볼 수 있는 細胞膜의 變化가 암 發生과 밀접한 關聯성이 있다는 事實이 많이 證明이 되어 關한 이에 研究도 各國에서 活潑히 進行되고 있다.

그러나 암 患者의 血清 脂質量의 變化를 詳細히 報告된 文獻을 찾아 보기 힘들다. 암이 진행됨에 따라 擔癌 生體의 體脂肪이 減少되면서 一種의 lipemia가 일어난다는 것은 Stewart 및 Begg¹⁰⁾가 이미 지적하고 있다.

第7表 第10圖에서 보는 바와 같이 肝암 患者 28名의 平均血清 中性脂肪量은 $102 \pm 66 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 $109 \pm 33 \text{mg/dl}$ 와 거의 비슷하다. 胃암, 直腸암 患者에서는 各各 $150 \pm 52 \text{mg/dl}$ 및 $154 \pm 69 \text{mg/dl}$ 로서 對照值나 肝암보다 훨씬 높다. 血清의 遊離脂酸量은 肝암, 胃암, 直腸암 및 結腸암에서 각각 $59 \pm 27 \text{mg/dl}$,

$55 \pm 21 \text{mg/dl}$, $49 \pm 6 \text{mg/dl}$ 및 55mg/dl 로서 대조치 $17 \pm 4 \text{mg/dl}$ 에 比하여 各種 암 患者의 血清 遊離脂酸量은 正常值의 3배 또는 2以上 激增되어 있는 것이 特異하다. 또 血清 磷脂質量은 肝암과 대조치가 각각 $125 \pm 43 \text{mg/dl}$ 및 $141 \pm 33 \text{mg/dl}$ 로서 肝암이 對照值보다 낮다.

그러나 胃암과 直腸암에서는 各各 $153 \pm 25 \text{mg/dl}$ 및 $200 \pm 40 \text{mg/dl}$ 로서 對照值보다 높다. 血清 遊離 Cholesterol 量은 肝암, 胃암 및 直腸암에 있어 各各 $45 \pm 18 \text{mg/dl}$, $46 \pm 14 \text{mg/dl}$ 및 $57 \pm 27 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 $41 \pm 3.1 \text{mg/dl}$ 에 比하여 直腸암에서 增加되어 있다.

또 血清 給合형 cholesterol 量은 肝암이 $111 \pm 35 \text{mg/dl}$ 로서 대조치 $119 \pm 22 \text{mg/dl}$ 와 거의 같고 胃암, 直腸에서는 各各 $146 \pm 29 \text{mg/dl}$ 및 $144 \pm 35 \text{mg/dl}$ 로서 對照值에 比하여 높다.

以上과 같은 各種 암 患者에 있어 血清 脂質의 變化 特히 遊離脂酸의 激增을 招來한 것은 암 조직 및 一般體 조직의 脂質代謝의 變調를 反映하는 것으로 볼 수 있다.

특히 脂質代謝에 있어 中樞的 役割을 하는 肝조직의 암 發生은 脂質代謝의 큰 變化를 가져 올 것은 쉽게 수증되는 바이다. 肝암에 있어 血清 遊離脂酸量의 激增, 血清磷脂質의 減少 등은 肝조직內 脂質代謝의 異變을 誘여 주는 것으로 볼 수 있다.

V. 結 論

產母 胎兒 및 各種 암 患者에 대하여 血清 RNase inhibitor 活性 및 sialic acid 量을 測定하고 또 thin-layer chromatography 法으로 血清 脂質을 分離 定量하여 大略 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 產母 胎兒 12雙에 대하여 血清 RNase inhibitor 活性을 測定한 結果 產母 및 胎兒 血清의 RNase inhibition은 各各 $28 \pm 6\%$ 및 $18 \pm 6\%$ 로서 產母值가 胎兒值보다 높고 ($P < 0.01$) 非妊婦의 대조치 $16 \pm 4\%$ 보다 크다 ($P < 0.01$).

그러나 胎兒值와 對照值는 有意義한 差를 볼 수 없다

2) 產母 胎兒 10雙의 平均 血清 sialic acid 량을 보면 산모의 $203 \pm 42 \text{mg/dl}$ 가 胎兒의 $86 \pm 19 \text{mg/dl}$ 보다 約 2.5배나 크고 대조치 $154 \pm 27 \text{mg/dl}$ 보다도 높으며 ($P < 0.01$) 胎兒值는 對照值보다 낮다 ($P < 0.01$).

3) 血清 脂質量을 보면 產母의 血清 中性脂肪 (TG) 量은 $453 \pm 106 \text{mg/dl}$ 로서 胎兒의 $76 \pm 25 \text{mg/dl}$ 보다 約 6배나 많고 對照值 $109 \pm 33 \text{mg/dl}$ 보다도 현저하게 높으며 또 胎兒值는 대조치에 比하여 낮다 ($P < 0.01$). 產母

의 血清遊離脂肪酸 (FFA)量은 $17.9 \pm 5 \text{mg/dl}$ 로서 胎兒의 $4.5 \pm 1.1 \text{mg/dl}$ 보다 約 4배나 크며 對照值 $17 \pm 4.9 \text{mg/dl}$ 와는 거의 같다. 血清 磷脂質(PL)量은 產母 胎兒에 있어 各各 $254 \pm 39 \text{mg/dl}$ 및 $121 \pm 21 \text{mg/dl}$ 로서 產母가 胎兒보다 約 2배나 높으며 胎兒値는 대조치 $141 \pm 33.4 \text{mg/dl}$ 에 比하여 낮다. 產母의 血清 free cholesterol 및 ester 형 cholesterol 量은 各各 $72.9 \pm 11 \text{mg/dl}$ 및 $180 \pm 33 \text{mg/dl}$ 로서 胎兒의 $19 \pm 6 \text{mg/dl}$ 및 $39 \pm 7 \text{mg/dl}$ 에 比하여 各各 約 3.5배 내지 4.5배나 높고 또 對照值의 $41 \pm 13 \text{mg/dl}$ 및 $119 \pm 22 \text{mg/dl}$ 보다도 현저하게 높다. 그러나 태아치는 대조치보다 모두 훨씬 낮다.

4) 肝암 患者 38名의 平均血清 RNase inhibitor 活性은 inhibition 이 $15 \pm 8\%$ 로 대조치의 $16 \pm 4\%$ 와 거의 같다. 그러나 胃암 患者 18名의 血清 RNase inhibition 은 $7.4 \pm 11\%$ 로서 對照值나 肝암 患者에 比하여 현저하게 높다($P < 0.01$). 또 結腸암 및 直腸암 患者 各各 6名의 平均血清 RNase inhibition 은 各各 $16 \pm 1.6\%$ 및 $13 \pm 5.1\%$ 로서 對照值에 比하여 有意義한 差를 볼 수 없다.

한편 各種 암, 患者의 血清 free RNase 活性을 보면 對照值 $255 \pm 44 \text{unit}$ 에 대하여 肝암, 胃암, 結腸암 및 直腸암 등에서 各各 $325 \pm 58 \text{unit}$, $282 \pm 53 \text{unit}$, $271 \pm 46 \text{unit}$ 및 $295 \pm 35 \text{unit}$ 로서 암 患者에서 一般的으로 血清 free RNase 活性은 높다.

5) 各種 암 患者의 血清 sialic acid 量은 肝암 患者가 $161 \pm 37 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 $154 \pm 27 \text{mg/dl}$ 에 比하여 別 差가 없다($t=0.6$). 그러나 胃암 患者에서는 $116 \pm 31 \text{mg/dl}$ 로서 肝암치나 대조치에 比하여 상당히 저하되어 있다($P < 0.01$).

結腸암 및 直腸암 患者의 血清 sialic acid 量은 各各 $188 \pm 36 \text{mg/dl}$ 및 $165 \pm 22 \text{mg/dl}$ 이고 結腸암은 대조치에 比하여 유의한 差를 보여 주고 있다($P < 0.05$).

6) 肝암 患者의 血清 中性脂肪量은 $102 \pm 66 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 $109 \pm 33 \text{mg/dl}$ 와 거의 같으나 胃암, 直腸암 患者에서는 各各 $150 \pm 52 \text{mg/dl}$, $154 \pm 69 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 및 肝암보다 훨씬 높다.

血清의 유리脂肪酸量은 對照值 $17 \pm 4 \text{mg/dl}$ 에 대하여 肝암, 胃암, 直腸암 및 結腸암에서 各各 $59 \pm 27 \text{mg/dl}$, $55 \pm 21 \text{mg/dl}$, $49 \pm 6 \text{mg/dl}$ 및 55mg/dl 로서 各種 암 患者 血清의 유리脂肪酸이 對照值에 比하여 3배 또는 그 이상으로 激增되어 있음을 알 수 있다.

血清磷脂質量은 肝암과 對照值가 各各 $125 \pm 43 \text{mg/dl}$ 및 $141 \pm 33.4 \text{mg/dl}$ 로서 肝암이 對照值보다 낮다. 그리

나 胃암과 直腸암에서는 各各 $153 \pm 25 \text{mg/dl}$ 및 $200 \pm 40 \text{mg/dl}$ 로서 血清 磷脂質量은 對照群보다 增加되어 있다.

血清 遊離 cholesterol 量은 肝암, 胃암 및 直腸암에 있어서 各各 $45 \pm 18 \text{mg/dl}$, $46 \pm 14 \text{mg/dl}$ 및 $57 \pm 27 \text{mg/dl}$ 로서 對照值 $41 \pm 30 \text{mg/dl}$ 에 比하여 直腸암에 있어 增加되어 있다. 또 血清 結合형 cholesterol 量은 肝암에 있어 $111 \pm 35 \text{mg/dl}$ 로 대조치 $119 \pm 22 \text{mg/dl}$ 와 거의 같으나 胃암, 直腸암에 있어서는 各各 $146 \pm 29 \text{mg/dl}$ 및 $144 \pm 35 \text{mg/dl}$ 로서 對照值에 比하여 높다.

以上과 같이 各種 암 患者에 있어 血清 유리 脂酸量이 激增되어 있는 것이 特異하며 또 胃암 및 直腸암에 있어 血清 中性脂肪, 磷脂質 및 cholesterol 量 등이 對照值보다 현저하게 높은 것을 알 수 있다

ABSTRACT

Studies on on Metabolism of RNase Inhibitor, Sialic Acid and Lipids in Human Serum

Un Kyong Lee

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University

(Director: Prof. In Mok Heu)

The serum samples were obtained from the maternal and fetal pairs and various cancer patients. The serum levels of RNase inhibitor and sialic acid were determined and the serum lipid were also separated by the thin-layer chromatography, followed by elution and colorimetric determination. The following results were obtained.

1) The serum RNase inhibitors in 12 maternal and fetal pairs showed $28 \pm 6\%$ and $18 \pm 6\%$ inhibition respectively, and the maternal level is higher than the fetal one with significance($P < 0.01$).

The maternal level is also higher than the control value of $16 \pm 4\%$ with significance($P < 0.01$)

2) The serum sialic acid contents of 10 maternal and fetal pairs are $203 \pm 42 \text{mg/dl}$ and $86 \pm 19 \text{mg/dl}$ respectively, the maternal value showing 2.5 times higher than the total one. The sialic acid level of maternal serum is higher than $1.54 \pm 27 \text{mg/dl}$ of

the control value, but the fetal value is lower than the control one.

3) The Triglyceride(TG) level in maternal serum is 453 ± 106 mg/dl which is 6 times higher than the control value of 109 ± 33 mg/dl. The fetal value is lower than the control value. The free fatty acid(FFA) level in maternal serum is 17.9 ± 5 mg/dl, showing much higher than the fetal value of 4.5 ± 11 mg/dl.

The phospholipid level in maternal serum is 254 ± 39 mg/dl and is twice the fetal level of 121 ± 21 mg/dl, also showing much higher than the control value of 141 ± 33 mg/dl.

The free esterified cholesterol levels in maternal serum are 72.9 ± 11 mg/dl and 180 ± 33 mg/dl, respectively and those of fetal serum are 19 ± 6 mg/dl and 39 ± 7 mg/dl respectively. Thus, the maternal values of serum cholesterol is 3.5 or 4.5 times higher than the fetal values and is also much higher than control values of 41 ± 13 mg/dl and 116 ± 22 mg/dl. The fetal values, however, are much lower than respective control values.

4) The serum RNase inhibitor levels of 38 hepatoma patients showed $15 \pm 8\%$ inhibition, similar to control value of $16 \pm 4\%$, but that of 18 stomach cancer patients showed $24 \pm 11\%$ inhibition, indicating significantly higher than that of control and hepatoma groups. The serum RNase inhibitor levels of 6 cases each of colon and rectal cancer patients showed $16 \pm 13\%$ and $13 \pm 5\%$ inhibition respectively, without significant difference comparing to the control value.

The serum RNase activities of varying cancer patients are 325 ± 58 units in hepatoma, 282 ± 53 units in stomach cancer, 271 ± 46 units in colon cancer and 295 ± 35 units in rectal cancer, in control value of 255 ± 44 units. Thus, the serum RNase activities were shown to be elevated in various cancer patients examined.

5) The serum sialic acid level of hepatoma patients is 161 ± 37 mg/dl, nearly similar to control value of 154 ± 27 mg/dl, but that of stomach cancer patients is 116 ± 31 mg/dl, indicating much lower than the control and hepatoma groups. The serum sialic acid levels of colon and rectal cancer patients are 188 ± 36 mg/dl and 165 ± 22 mg/dl respectively. The lowest level of serum sialic acid and the highest level of serum RNase inhibitor were observed in stomach cancer patients, in contrast to other cancer

patients examined.

6) The serum TG level in hepatoma patients is 102 ± 66 mg/dl, comparing to 109 ± 33 mg/dl of control group, but those of stomach and colon cancer patients are 150 ± 52 mg/dl and 154 ± 69 mg/dl respectively, indicating much higher than the hepatoma and control values. The serum FFA levels in hepatoma, stomach, rectal and colon cancer patients are 59 ± 27 mg/dl, 55 ± 21 mg/dl, 49 ± 6 mg/dl and 55 mg/dl respectively, in contrast to the control value of 17 ± 4 mg/dl. The serum FFA levels of cancer patients were thus shown to increase markedly about 3 times as much higher than the control value.

Whereas the serum phospholipid content of hepatoma patients is 125 ± 43 mg/dl, which is slightly lower than 141 ± 33 mg/dl of control value, those of stomach and rectal cancer patients are 153 ± 25 mg/dl respectively, showing both higher than the control value. The serum free cholesterol levels of hepatoma, stomach and rectal cancer patients are 45 ± 18 mg/dl, 46 ± 14 mg/dl and 57 ± 27 mg/dl, respectively, and that of rectal cancer patients is higher than 41 ± 3.1 mg/dl of the control value.

The serum esterified cholesterol levels of hepatoma, stomach and rectal cancer patients are 111 ± 35 mg/dl, 146 ± 29 mg/dl and 144 ± 35 mg/dl, respectively, comparing to 119 ± 22 mg/dl of the control value.

Those levels of stomach and rectal cancer patients were thus shown considerable increase, compared to the control value. The serum FFA level showed a marked increase in all cancer patients examined.

It was thus confirmed that the marked lipemia occurred in cancer patients examined, except hepatoma with higher level of FFA alone.

REFERENCES

1. Roth, J.S.: *Biochim. Biophys. Acta.* **21**, 34, 1956.
2. Shortman, K.: *Ibid.*, **51**, 37, 1961.
3. Roth, J.S.: *J. Biol. chem.*, **231**, 1085, 1958.
4. Blix, G.: *Hopper-Seyler, Z. physiol. Chem.*, **240**, 43, 1636.
5. Klenk, E.: *Ibid.*, **268**, 50, 1941.
6. 李庸一: *소아과* **15**, 50, 1973.
7. 申鉉求, 崔漢雄, 李基寧: *서울대학교 論文集, 自然科學, 醫藥學*, **8**, 207, 1958.
8. 崔允洙: *日醫大誌*, **27**, 1308, 1960.

9. Marzo, A., Ghirardi, P., Sardini, D. and Meron, G.: *Clin. Chem.*, **17**, 145, 1971.
10. Stewart, A.G., Begg, R.W.: *Cancer Res.*, **13**, 556, 1953.
11. B.W. Little & Meyer, W.: *Science*, **170**, 747, 1970.
12. Tsukada, K.: *Biochem J.* **186**, 21, 1969.
13. Böhm, P., Dauber, S. & Baumeister. L.: *Klin wscr.*, **32**, 289, 1954.
14. Folch, J., Lees, M. & Sloane-stanley, G.H.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497, 1957.
15. Roth, J.S.: *J. Biol. Chem*, **208**, 181, 1954.
16. Reid, E. & Nodes, J.T.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **81**, 618, 1959.
17. Roth, J.S.: *Biochim, Biophys. Acta*: **61**, 903, 1962.
18. Roth, J.S., Hilton, S. & Morris H.R.: *Cancer Res.*, **24**, 294, 1964.
19. Roth, J.S.: *Cancer Res.*, **17**, 991, 1957.
20. Roth, J.S.: *J. Biol. Chem.*, **231** 1097, 1958.
21. Shortnian, K.: *Biochim Biophys Acta*, **55**, 88, 1962.
22. Klenk, E. & Stoffel, W.: *Hoppe-Seyler Z. physiol Chem.*, **302**, 286, 1955.
23. Klenk, E. & Uhlenbruck, G.: *Ibid.*, **311**, 227, 1958.
24. Blix, G., Lindber, E. & Odin, L.: *Vature*, **175**, 340, 1755.
25. Lustig, B. & Novak, J.: *Exptl, Surg.*, **4**, 255, 1946.
26. Novak, J. & Lustig, S.: *Mt. Sinai Hosp.*, **14**, 534, 1947.
27. Pederson, K.O.: *J. Phys. & Colloid Chem.*, **51**, 164, 1957.
28. Chauffard, A., Laroche, G. & Grigaut.: *Obstetrique*, **4**, 481, 1911.
29. Neumann, J. & Hermann, E.: *Wien. Klin. Wochenschr.*, **24** 411 1911.
30. Boyd, E.M.: *J. Clin. Inves.* **13**, 347, 1934.
31. Oliver, M.F. & Boyd, G.S.: *Clin. Soi.*, **14**, 15, 1955.
32. Adlersberg, D.: *Amer. J. Med.*, **23**, 769 1957.
33. Venning, E.H.: *Ibid.*, **19**, 721, 1955.
34. Vailer, J.W. & Lorigson, D.: *Clin, North Amer.*, **37**, 341, 1957.
35. Levy, A.L. & Rottino, A.: *J. Amer, Assoc. Clin., Chem.*, **6** 43, 1960.
36. Shortman, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **61**, 50, 1962.
37. Taper, H.S., Brucher, J.M. & Fort, L., *Cancer*, **28**, 482, 1971.
38. Bierry, H. & Rathery. F.: *Comp. Rend Acad. Soi.* **172**, 244, 1953.
39. Shetlar, M.R., Knobloch, W.H., Richmond, V., Shetlar, C.L. & Everett, M.R.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **83**, 75, 1953.