KOREAN JOURNAL OF ZOOLOGY
Vol. 13, No. 1, 29~33, 1970

배양한 子宮癌세포의 염색체에 관한 연구

姜 永 善·*金 錫 煥·李 正 吉
(서울대·문리대·동물학과, *중앙암연구소)

Chromosome Studies on the Cultured Uterine Carcinoma Cells

Yung Sun Kang, Suk Whan Kim and Chung Keel Lee
(Dept. of Zoology, Seoul National University, *Chung Ang Cancer Institute)

SUMMARY

The conclusions established in the present study on the chromosomes *in vitro* of the uterine carcinomas of Korean women are as follows:

1. The pattern of the distribution of chromosome number in uterine carcinoma cells was quite different from that of normal cells, and modal number of the chromosome was 45 and 46.

2. The frequency of diplochromosomes was 0.053 per cell(5.3%) and that of chromosome aberration was 0.16 per cell (16%), which are significantly higher than each of normal cells. In chromosome aberration types, chromatid and isochromatid deletions (chromatid type) and dicentric (chromosome type) were observed.

3. Idiogram analysis showed a tendency that the number of chromosomes belonging to group F increased while that of chromosomes in groups B and E decreased in total. The number of chromosomes in groups C and G in the hypodiploidy cells decreased, but it increased in the hyperdiploidy cells.

서 론

癌의 특성과 생성기작을 구명하기 위해 근래에 많은 사람들이 각종 腫瘍의 染色體에 관한 연구에 비상한 관심을 갖게 되었다. 그것은 癌발생의 기작이 染色體 수적 및 형태적인 변화와 긴밀한 관계를 맺고 있는 때문이다. 따라서 癌細胞의 染色體의 수적인 變異와 核型分析의 결과를 정상인 細胞와 비교검토하는 일은 癌의 생성기원을 추구하는데 중요한 의의를 가지고 있다.

일찌기 Makino등 (1959)은 子宮癌細胞를 재료로 染色體 관찰을 한 바 있으나, 組織을 그대로 스쿼슈(squash)해서 染色體의 수적인 變異를 관찰한데 불과하다. 현재 染色體의 형태적인 면을 추구하는데는 組織을 배양한 뒤 空氣乾燥法을 통해 재료를 얻는 것이 효과적인데, 子宮癌 부위의 細胞는 배양하기가 대단히 힘든다. 그러기에 1960년대에 들어와서도 子宮癌에 기원을 둔 HeLa細胞를 가지고는 많은 업적이 나와 있지만, 子宮癌자체의 組織(solid cancer tissue)을 배양을 해서 얻은 細胞를 재료로 染色體의 수적 및 형태적인면을 추구한 보고는 대단히 드물며 (Kim등 1967; Miles, a.b 1967; Kang등 1968), 본 연구에서도 관찰한 細胞의 수가 많지 못한 것도 배양이 힘든데 기인한다.

본 연구는 1966년 이래 癌細胞의 특성을 보다 상세하게 파악하기 위해 추진해온 한국부인의 子宮癌細胞의 染色體에 관한 계속연구의 일부이며, 특히 染色體 그르프에 따라 變異의 차이가 있는지를 구명하는데 연구의 초점을 두고, 아울러 染色體의 수적 및 형태적인

면을 재검토한 것이다.

재료 및 방법

子宮癌 환자에서 수술로 인해 얻어진 재료를 병원으로 부터 즉시 운반하여 무균실에서 Ca과 Mg이온이 들지 않은 PBS용액(CMF-PBS; Merchant, D.J., 1964)으로 여러번 씻는다. 다음 組織을 아주 잘게 썰어 그 전체를 거의 죽처럼 만든 뒤, magnetic bar가 들은 삼각 플라스크에 재료를 옮겨 0.25% trypsin (Difco 1 : 250, 용매는 PBS) 용액을 재료의 5배가량 넣어 37°C에서 30분간 방치한다. 다음 이것을 攪拌器(magnetic stirrer)에 올려 분당 2~300회전으로 1시간 회전시켜 細胞를 분리한다. 분리된 細胞는 멸균된 遠心分離管에 옮겨 5분간 원침시켜 상등액을 버리고, 細胞만을 혈청이 들지않은 배양액(T.C. media 199, Difco)으로 두번 씻어 trypsin을 완전히 제거한다. 이들 細胞를 Leighton culture tube에 배양액(T.C. media 199+50%의 소혈청+항생제, penicillin G와 streptomycin) 2ml을 넣어 37°C의 定溫器에서 4~10일간 배양한다. 배양액은 매일 갈아주고 배양이 끝난 細胞는 고정하기 전 10시간 colchicine처리를 하고, EDTA로 細胞를 분리시켜 低調液(배양액 1 : 증류수 4)을 37°C에서 30분간 처리한 뒤, 4°C로 냉각시킨 고정액(absolute ethanol 3: glacial acetic acid 1)으로 30분간 처리한다. 다음 새로운 고정액을 2~3회 바꾼뒤 空氣乾燥法(air drying method)에 따라 染色體표본을 작성한다. 표본은 giemsa로 염색하고 染色體分析에 적당한 분열상을 位相差顯微鏡(Ortholux 및 Wild)을사용하여 관찰, 사진촬영하였다. Denver규약 (1960)에 따라 染色體를 분류했고, 染色體異常型은 Bender(1964)의 기준에 따라 식별하였다.

결 과

한국부인의 子宮癌細胞중 중기핵상이 명백한 것 173개에서 관찰된 染色體의 수적인 變異를 Fig. 1에 나타냈다. 染色體數가 넓은 범위로 흩어지나 대부분의 細胞가 42~49개의 染色體數를 지니고 있음은 저자들의 이전 보고와 같다(Kim등, 1967; Kang등, 1968). 種族細胞(stem-line cells)의 染色體數는 45와 46의 2종류로, 각각 染色體變異곡선의 피이크(peak)를 이루고 있다.

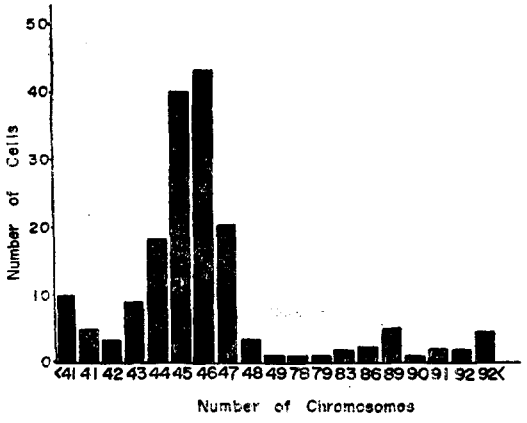

Fig. 1. Chromosome-number distribution observed in 173 cells of uterine carcinoma.

다음 子宮癌細胞 染色體의 형태에 관하여 우선 diplochromosome의 출현율이 정상인 경우보다 훨씬 높아져서, 관찰된 전체세포에 대해 5.3%를 나타낸다. 한편 정상인 사람의 細胞에서는 dilpochromosome은 거의 찾아볼 수 없다. 본연구에서 관찰된 染色體異常(chromosome aberration)의 출현빈도와 타입을 Table 1에 나타냈다. 조사한 子宮癌細胞의 染色體異常전체에 걸친 細胞당 異常率은 0.16이고, 이안에 12개의 染色分體缺失(chromatid deletion), 2개의 同位染色分體缺失(isochromatid deletion), 그리고 3개의 2動原體인 染色體(dicentric chromosome)가 들어 있다. 앞의 두가지는 染色分體異常型이고 뒤의 것은 染色體異常型이다.

核型(karyotype)을 분석하기에 충분한 25개의 細胞를 택하여, 子宮癌細胞에서 染色體 그르프별로 染色體變異를 나타내는 경도의 차이가 있는지를 조사한 결과를 Table 2에 나타냈다. 본연구에서는 적은 수의 細胞를 가지고 조사했기 때문에 확언하기는 어렵지만, 표에서 보는 바와 같이 전체적으로 그르프F에서 染色體數가 증가하며, 그르프 B 및 E에서는 감소되는 경향이 있다. 또 染色體數가 정상인 경우 (2n=46)보다 적은 低2倍性인 (hypodiploidy) 細胞에서는 그르프 C 및 G에 속하는 染色體數가 줄어들고, 반대로 高2倍性인 (hyperdiploidy) 細胞에서는 그르프 C 및 G의 것이 느는 경향을 보여주고 있다. 染色體數가 정상인 경우에도 그르프의 異常을 볼 수 있다(Fig. 2).

Table 1. Frequencies of chromosome aberrations

No. of cases	Cells scored	Types of aberration			Total aberrations	Aberrations per cell
		Chromatid deletion	Isochromatid deletion	Dicentric		
8	103	12	2	3	17	0.16*

* Aberrations per cell in normal cells: around 0.03

Table 2. Idiogram analyses in 25 cells of uterine carcinoma

Chromosome number	Cells examined	Chromosome groups						
		A	B	C	D	E	F	G
2n<40	3	−2	−1	−8	−1	−9	−2	−5
2n=44	4		−3	−1		−5	+2	−1
2n=45	4	+2	−1		−2	−10	+6	−2
2n=46	5	−1		−2	+2	−4	+3	
2n=47	5	−2		+5		−7		+9
2n>80	4	−18	−12	+41	−5	−8	+18	+8
Total	25	−21	−17	+35	−6	−43	+27	+9
(%)		(14.0)	(17.0)	(8.7)	(4.0)	(28.0)	(27.0)	(9.0)

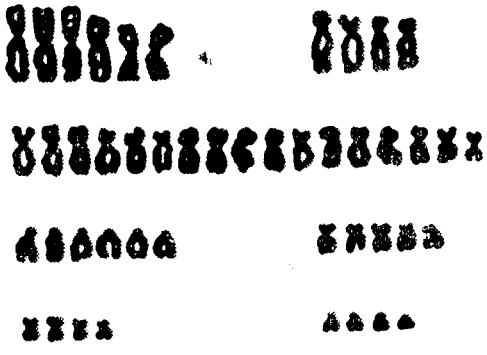

Fig. 2. Metaphase figure with 46 chromosomes.

물론 染色體의 그르프의 구분은 Denver 규약(1960)에 따라서 A~G에 이르는 7그르프로 정했다.

논 의

일반으로 사람의 腫瘍細胞에는 1종류 내지 그 이상의 種族細胞가 존재하며, 이것이 腫瘍의 대표적인 특성의 한가지로 되어있다(Makino, 1952 a,b, 1956, 1957; Hauschka, 1953; Hauschka 및 Levan, 1953). 한편 Hsu (1953)와 Ising 및 Levan(1957)은 惡性腫瘍(malignant tumors)의 種族細胞에서 보이는 染色體數가 64~74임을 보고하였고, 또 Makino(1958)와 Ishihara(1959)는 種族細胞의 染色體數가 48과 55의 2종류임을 지적한 바 있다. 子宮癌細胞에 관해 Makino등(1959)이 種族細胞의 染色體數는 低2倍性이라한데 대해 한편 Miles(1967 a,b)는 2倍性(diploidy range)에서 벗어나지 않는다고 했다. 그러나 본연구의 결과는 선인들의 보고와는 달리 한국부인의 子宮癌細胞에는 2倍性(2n=46)과 低2倍性(2n=45)의 2종류의 種族細胞가 존재함을 밝히고 있으며, 이결은 저자들의 이전의 업적을 재확인한 것이 된다(Kim등, 1967; Kang등, 1968). 한국사람이라고 해서 種族細胞의 染色體數가 다를리는 없겠지만, 환자개개인에 따라 染色體數가 한결같지 않음은 이미 알려지고 있는 사실이다.

染色體異常에 관해 본연구에 있어 모든 타입에 걸쳐 얻게된 細胞당異常率 0.16은 저자들의 이전 보고의 0.17과 방불한 것이다. 그러나 이것은 일찌기 Bender (1960)와 Bender 및 Gooch(1962)등이 정상인 사람의 細胞에서 얻은 細胞당異常率 0.009~0.030에 비해 유의한 차이를 보여주고 있다.

일찌기 Miles(1967 a,b)는 여러 종류의 腫瘍細胞에 있어 染色體數의 증감을 찾아 볼 수 있으며, 더 나아가

染色體그르프에 따라서 染色體變異의 차이가 있지 않은가 하는 점을 지적한 바 있지만 별로 확고한 증거는 잡지 못하였다. 저자의 한 사람인 Kang(1963)은 배양한 차이니스·햄스타(Chinese hamster) 細胞에다 steroid 물질(testosterone 및 progesterone)을 처리했을 경우에 일어나게 되는 染色體變異가 染色體그르프에 따라 한결같지 않음을 발견한 바 있다. 본연구에 있어 子宮癌細胞에서 관찰한 細胞의 수는 많지 않지만, 그래도 染色體그르프에 따라 變異의 차이가 존재함을 포착하게 되었다. 이 문제는 특히 腫瘍의 생성기원과 보다 긴밀한 관련이 있을 것으로 추측되기에, 앞으로 보다 더 케이스(case)를 늘려, 세밀한 조사를 추진시킬 필요가 있다고 본다.

요 약

한국부인의 子宮癌細胞에 관한 본 연구결과는 다음과 같다.

1. 種族細胞의 染色體數는 45와 46의 2종류임을 확인했다.

2. 染色體 형태에 있어서 diplochromosome의 출현율이 높아 5.3%을 나타낸다. 染色體 異常率은 細胞당 0.16이고, 異常型으로는 染色分體缺失, 同位染色分體缺失의 染色分體異常型과 2動原體인 染色體異常型이 보였다.

3. 核型을 분석한 결과 전체로는 그르프F의 染色體數의 증가와 그르프B 및 E의 감소경향을 보여주었다. 이것이 低2倍性인 細胞에서는 그르프C 및 G에서 감소하고, 반대로 高2倍性에서는 그르프C 및 G에서 증가하는 경향이 있었다.

참고문헌

Bender, M.A., 1964. Chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Ann. New York Acad. Sci.* **114** (1): 249-251.

Bender, M.A. and P.C. Gooch, 1962. Types and rates of X-ray induced chromosome aberrations in human blood irradiated *in vitro*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **48**(4): 522-532.

Denver Conference, 1960. A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet* 1:1063-1965.

Hauschka, T.S., 1953. Cell population studies on mouse ascites tumors. *Trans. New York Acad. Sci.* **16**(2): 64-73.

Hauschka, T.S. and A. Levan, 1953. Inverse relationship between chromosome ploidy and host-specificity of sixteen transplantable tumors. *Exp. Cell Res.* **4**: 457-467.

Hsu, T.C., 1953. *Anat. Rec.* **115**: 325.

Ishihara, T., 1959. Some aspects on the chromosomes of a human gastric carcinoma in the ascites form. *Jap. J. Genet.* **34**: 28-33.

Ising, A. and A. Levan, 1957. The chromosome of two highly malignant human tumors. *Acta Path. Microbiol.* **40**(1): 13-24.

Kang, Y.S., 1963. Some chromosome alterations in the cultured Chinese hamster cells treated by steroids. *Kor. J. Zool.* **6**(2):21-27.

Kang, Y.S., S.W. Kim and C.K. Lee, 1968. Chromosome analysis of cultured uterine carcinoma. *J. Kor Can. Res. Assoc.* **3**(2) :39-42.

Kim, S.W., Y.S. Kang and S.R. Kim, 1967. A chromosome study on uterine carcinoma. *J. Kor. Can. Res. Assoc.* **2**(1): 25-28.

Makino, 1952a. A cytological study of the Yoshida sarcoma, ascites tumor of white rat. *Chromosoma* **4**: 640-672.

_____, 1952b. Cytological studies on cancer. III. The characteristics and individuality of chromosomes in tumor cells of the Yoshida sarcoma which contribute to the growth of tumor. *Gann* **43**: 17-34.

_____, 1956. Further evidence favoring the concept of the stem cell in ascites tumors of rats. *Ann. New York Acad. Sci.* **63**: 813-830.

_____, 1957. The chromosome cytology of the ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stemline cell. *Inter. Rev. Cytol.* **6**: 25-84.

_____, 1958. Mitotic events and cellular morphology in ascites tumors of rats observed by phase cinematography. *Symposia Cell. Chem.* **7**: 113-132.

———, T. Ishihara and A. Tonomura, 1959. Cytological studies of tumors. XXVII. The chromosomes of thrity human tumors. *Z. Krebsforsch.* **63**: 184-208.

Merchant, D.J., 1964. Handbook of Cell and Organ Culture. *Burgess Pub. Co.*, 11~21.

Miles, C.P., 1967a. Chromosome analysis of solid tumors. I. Twenty-eight nonepithelial tumors. *Cancer* **20**(8): 1253-1273.

Miles, C.P., 1967b. Chromosome analysis of solid umors. II. Twenty-six epithelial tumors. *Cancer* **20**(8): 1274-1287.