

## C-分染에 의한 사람의 염색체 다형성에 관한 연구

제일병원 유전학 연구실 · 건국대학교 이과대학 생물학과\*

최수경 · 백용균 · 이형환\*

Cytogenetic Research Laboratory, Cheil General Hospital

Soo Kyung Choi, Yong Kyun Paik and Hyung Hoan Lee\*

Dept. of Biology, College of Science, Kon-Kuk University\*

### ABSTRACT

Lymphocyte chromosome preparations obtained by the micromethod (Arakaki and Sparkes, 1963) from 234 our patients (165 females and 69 males) were analysed by C-, NOR- and GC-bandings for chromosome heteromorphisms.

The centromeric regions of chromosomes 1, 9, 16 and the long arm of the Y chromosomes were tested for C heteromorphism. Minor variations found in this study such as inv(9), prominent short arms and large satellites of acrocentrics were also examined by appropriate banding techniques.

Of the 234 probands, a total of 125 different C-variants were detected, and the average frequency of the variants per individual was estimated to be 0.53. The observed variations were as follows: 99 qh variants, 5 pericentric inversions of chromosome 9, and 21 satellite and/or short arm variants.

### I. 서 론

Arrighi와 Hsu(1971)는 사람 염색체의 구성 이질염색질 (constitutive heterochromatin)에 대한 개념을 C-분염방법에 의해 처음으로 논의 하였으나, 쥐를 대상으로 실험하여 관찰 하였다.

구성이질염색질은 부수체(satellite) DNA와 반복된 DNA의 배열이 연속적으로 구성되어 있는 것을 Arrighi(1971)가 in situ hybridization에 의하여 증명 하였다. 이 이질염색질의 DNA 부분은 진핵염색질(euchromatin)의 단일배열(unique sequence)DNA와는 구성이 다르다고 생각되며, 현재까지 그 기능이 정확하게 알려져 있지 않다. 이질염색질 DNA의 반복구조는 생물의 다형성(polymorphism)에 관계하고 있고, 모든 진핵생물의 염색체 중심질 부위에 위치하며, 이것을 쉽게 식별할 수 있는 방법으로는 Ca-

spersson et al.,(1970)이 Q-형광염색분염법(Q-banding)을 처음으로 개발 하였으며, 이후 C-분염법(C-banding)이 Bloom et al.,(1976)에 의하여 개발 되었다.

C-분염법은 DNA를 변성시킨 후 56°C~60°C 항온수조에서 방치하는 동안 DNA가닥이 재연합되며, Giema염료를 처리하면 각 염색체마다 중심질부위에 염색된 검은부분이 생성된다. 이부분을 이질염색질 또는 C-분절(C-segment)이라 하며, 사람염색체의 1, 9, 16번과 Y염색체의 장완(long arm)의 말단부분중 약 1/2이 여기에 해당된다.

이 C-분절의 변이(variation)는 인체에 큰 영향을 미치지 않는다고 Baliček et al.,(1978)과 Podugolnikova et al.,(1979)는 보고 하였고, Canevale과 Robinson et al.,(1976)은 C-분절의 길이가 멘델법칙에 따라 유전되며, 큰 C-분절이 있는 9번염색체는 우성으로 유전된다고 하였다. Lubs와 Lubs(1972)는 정신박약집단에서

의 9번염색체 C-분절의 증가는 정상집단보다 10배나 높게 관찰되었고, 아기를 갖기 못하는 부부의 핵형을 분석한 결과 C-분절이 증가된것을 관찰할 수 있었다고 하였다. 또 Y염색체의 장완이 큰 아기를 잉태한 어머니는 자연유산의 위험이 높다고 하였으며(Patil and Lubs, 1977; Nielsen, 1978), 이 Y염색체의 크기에 대한 다형성은 장완말단부분의 이질염색질 변이와 관계가 있다고 하였다(Jalal et al., 1974). 이러한 C-분절의 크기의 감소는 배아 또는 후배아(postembryo)의 치사인자라고 하였으며, 배아의 발육과정 중 좋지못한 영향을 미친다고 하였다(Karetnikova, 1980; Podugolinkova, 1983).

이렇게 많은 학자들의 의견과 해석에 대한 논쟁은 C-분절의 기능이 불확실하다는 반증이기도 하다(Kulazheko et al., 1973; Bernheim 1977; Atkin, 1977).

본 실험은 각 염색체의 이질염색질의 다형성이 임상적으로 인체에 어느정도 영향을 미치는지 관련유무를 알아보고자 일반환자 집단에서 채취한 혈액중의 백혈구세포를 배양하여 얻은 염색체를 분염법으로 분석하였다.

## II. 실험대상 및 방법

### 1. 대 상

실험대상자는 병원을 내원한 234명의 일반환자를 대상으로 하였다. 이중 여자는 165명이며, 남자는 69명 이었다. 검사대상자 모두 정상적인 지능과 외모를 갖고 있었으며, 염색체 이상은 의심되지 않았다.

### 2. 혈액채취와 세포배양

혈액을 주사기로 2~3ml씩 채취하여 헤파린(ml당 1,000 units, GIBCO)이 첨가된 멸균상태의 혈액채취병에 분주하여 전혈(全血)배양을 하였다(Arakaki and sparkes, 1963).

세포배양으로는 RPMI 1640과 Medium 199(GIBCO)에 Fetal Bovine Serum(Hyclone Co. U.S.A) 및 임파구의 분열과 증식을 유발시키기 위해 phytohemagglutinin-M(배지 100ml당 1.5ml)을 첨가 시켰으며, penicillin G를 ml당 100unit, streptomycin을 ml당 100 $\mu$ g(GIBCO)첨가하여 사용하였다. 세포배양은 5% CO<sub>2</sub>와 습기로 포화된 37°C항온기에서 72시간 배양 하였으며, 배양종료 1시간 전에 Colcemid를 ml당 0.2 $\mu$ g

(GIBCO)첨가 하였다.

### 3. 백혈구 중기상 세포의 수확

세포분열을 중기상(metaphase)에서 저지시킨후 원심분리(300×g, 8~10분)를 하였다. 상층액을 버리고 가라앉은 세포를 저장액(0.075M KCl)에 처리하여 10분간 방치한다음 Carnoy's 고정액(absolute methanol:Glacial acetic acid=3:1)으로 3~4회 고정시켰다. 고정시킨 세포부유액을 슬라이드위에 2~3방울 적하시켜 공기중에서 슬라이드를 건조 시켰다. 슬라이드는 각 실험 대상자당 3~5장을 제작 하였으며, C-분열, GC-분열과 NOR염색을 위해 슬라이드를 실온에서 약 20일간 방치하여 성숙 시켰다.

### 4. 분염방법

#### 1) C-분염방법

성숙시킨 슬라이드상의 염색체내에 있는 단백질을 제거하기 위해 0.2N HCl용액에서 10~15분간 처리하고 이어서 0.07N NaOH용액에서 1~2분 담가 처리한 다음 증류수로 세척 하였다. 70%와 95% 에탄올에 각각 5분동안 처리하고, 2×SSC(pH 7, Sodium Saline-Citrate)용액에서 16~18시간(56°C~60°C)동안 방치 하였다. 방치후 다시 70%와 95% 에탄올에 각각 5분동안 세척한후 4% Giemsa용액에서 30분동안 염색하였다(Arrighi and Hsu, 1974).

#### 2) GC-분염방법

성숙된 슬라이드를 0.07N NaOH용액에 10~20초동안 실온에서 처리한 다음 증류수로 신속히 세척하고, 2×SSC용액으로 실온에서 5분동안 처리 하였다. 처리한후 56°C에서 12~16시간동안 방치한 다음 4% Giemsa용액에서 30분동안 염색 하였다(Sumner et al., 1971).

#### 3) NOR-염색방법

성숙된 슬라이드를 50% AgNO<sub>3</sub>용액으로 처리를 하여 50°C항온수조에 15~16시간 방치한 다음 증류수로 세척하여, 1% Giemsa용액에서 수초간 염색 하였다(Bloom and Goodpasture, 1976).

### 5. 관찰방법

염색된 슬라이드에서 염색체의 이질염색질의 다형성을 보기위해 각대상마다 15~30개 세포를 검경(×1,000)하였으며, 정확한 분석을 위해 대상자당 3~4매의 슬라이드를 반복관찰하여 재확

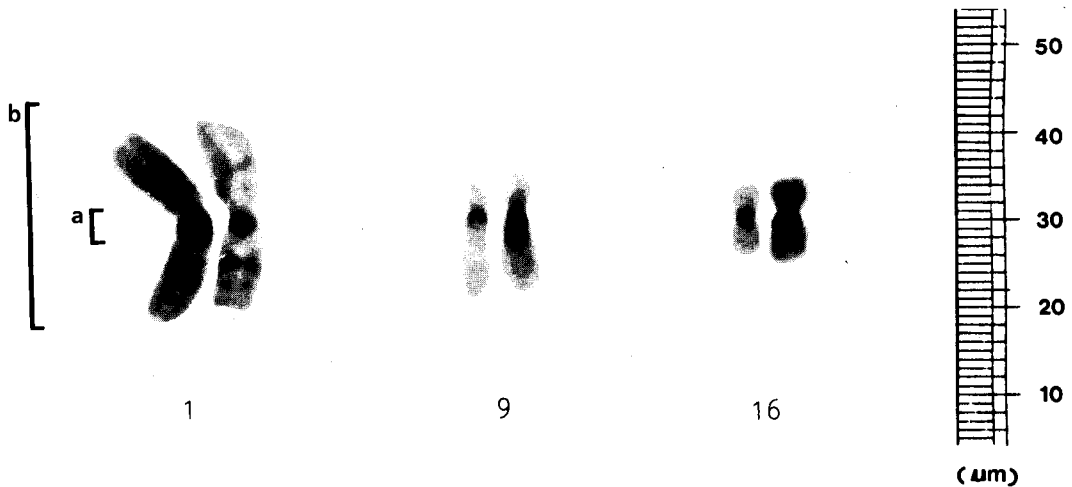


Fig. 1. Measurement of heterochromatin in chromosome. a : Length of heterochromatin, b : Total length of chromosome.

Appendix 1. Types of C-band variants

Types of Size variation	Location of heterochromatin	Variant symbols
2° Constriction region(qh)	·Secondary constrictin heterochromatin of chromosome Nos. 1, 9 and 16 ·Distal long arm heterochromatin of Y chromosome	N ; + ; -
Satellite region(S)	·Satellite heterochromatin of chromosome Nos. 13, 14, 15, 21 and 22	N ; + ; -
Position variation	·Position variation of C region ·Position variation of qh region	N ; + ; - N ; + + ; + + +
Centromere region(C)	·Centromereheterochromatin of chromosome Nos. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 17, 18,- 19, 20, 21, 22, X and Y	N ; +

Craig-Holmes et al.,(1974)

인 하였다. 염색 상태가 불량하여 이질염색질의 크기를 현미경으로 정확히 관찰하기 어려운것은 사진촬영을 하여 사진으로서 분석 하였으며, 동시에  $\mu\text{m}$ 를 사용하였다(Fig. 1).

염색체의 다형성을 관찰하는 방법으로는 Craig-Holmes et al.,(1974)등의 방법을 따랐으며, C-분염법의 변이는 Appendix 1에 준하여 관찰하였고, 일반적인 명명포기법은 Paris Conference Supplement(1975) Appendix 2에 따랐다.

III. 결 과

일반환자집단 234명(여 165, 남 69)을 대상으로 혈액채취후 백혈구배양을 하여 다음과 같은 염색체 변이를 관찰 하였다.

1. 전체대상자에 대한 변이

염색체 1, 9, 16번 그리고 Y염색체와 D 및 G군에서의 변이를 관찰한 결과 234명중 91명(여 68, 남23)이 변이세포를 갖고 있었으며, 그중 변이세포가 없는 사람은 143명(여 97, 남 46)이다 (Table 1)(Fig. 2,3). 변이세포를 갖고 있는 91명의 1, 9, 16번 그리고 Y염색체와 D 및 G군에 대한 총변이수는 125에 인데, 성별로서는 남자는 69명중 총변이가 39으로서 56%를 차지하며, 여자는 165명중 86으로서 52%를 차지하여 남자보다 낮은 것으로 나타났다(Table 2). 그중 1개만의 변이세포를 갖고있는 사람은 65명, 2개 이상은 18명, 3개 이상은 6명, 4개 이상은 2명 이었다.

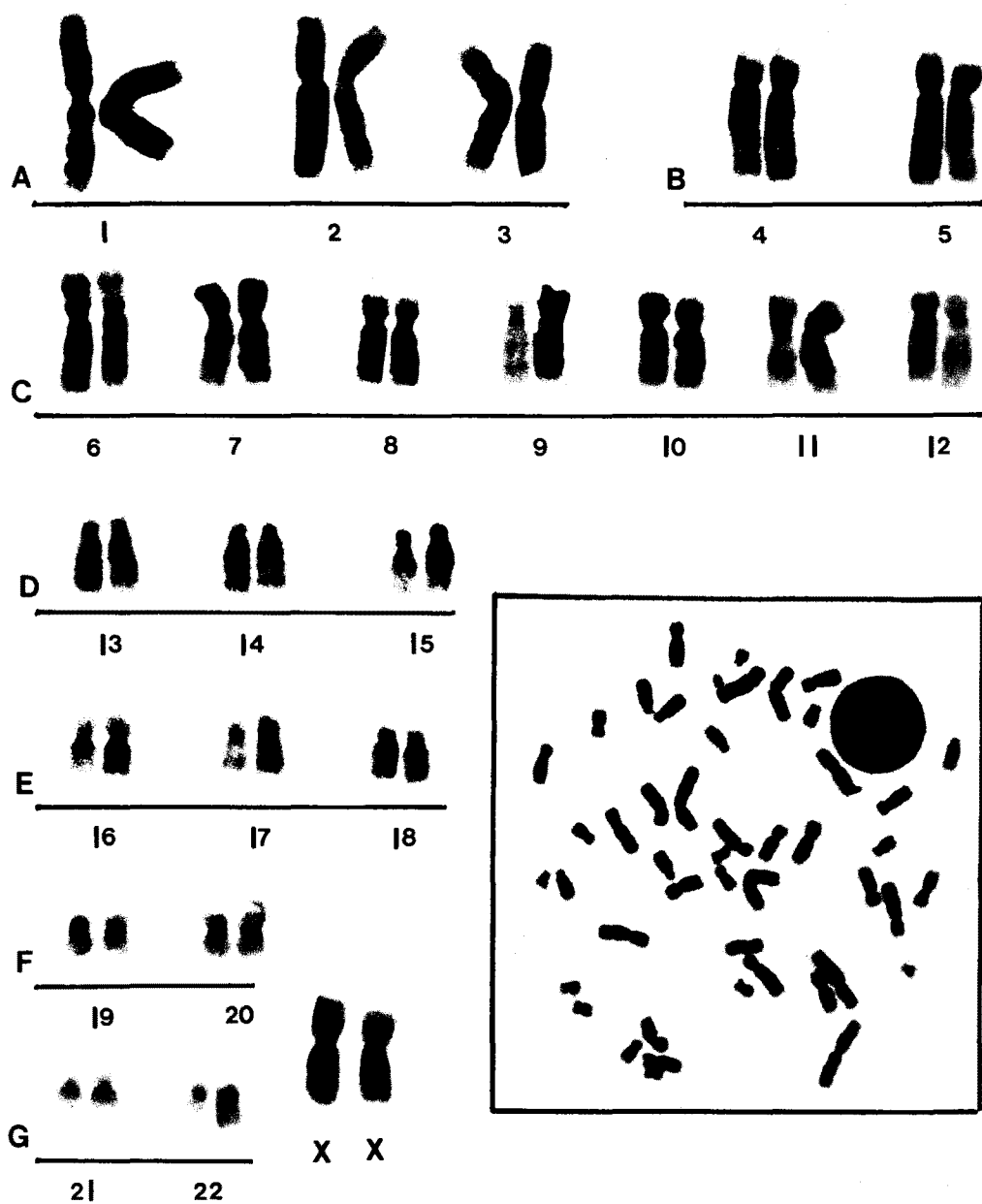


Fig. 2. Karyotype of a normal female, 46,XX.(C-banding). A-G : Chromosome group. 1-22 : Chromosome No.

1) 염색체 1, 9, 16번과 Y의 qh증감 변이

염색체 1, 9, 16 그리고 Y의 이질염색질(qh) 변이는 234명중에 104(qh)변이가 관찰되었다. 1번 염색체의 변이는 57예로서 qh+가 8(6.4%)에, qh-는 49(39%)에 이었다. 9번 염색체는 18예로서 qh+가 1(0.8%)에 이며 qh-는 17(14%)에 이었다. 또한 9번 염색체에서는 편동원체 역위

(pericentric inversion)가 5(4%)에 관찰되었다 (Fig. 4,5). 16번 염색체는 16예로서 qh+는 관찰되지 않았으며, qh-는 16(12.8%)에 이었고, Y염색체는 8예로서 qh+가 6(4.8%)에, qh-는 2(1.6%)예로 관찰되었다(Table 3) (Fig. 6).

2) "S"변이(Satellite region variation)

D와 G군의 부수체 부분에서의 변이는 234명

**Appendix 2.** Numerical designation of size intensity of the variable chromosomal regions

Size variation(C and Q-banding)	
1. Very small	
2. Small	
3. Intermediate	
4. Large	
5. Very large	
Intensity variation (Q-banding)	
1. Negative (no or almost no fluorescence)	
2. Pale (as no distal 1q)	
3. Medium (as the two broad bands on 9q)	
4. Intense (as the distal half of 13q)	
5. Brilliant(as on distal Yq)	
6. No quantitation of intensity	

(Paris Conference supplement, 1975)

**Table 1.** Frequency of variation of chromosomal C-Segments in 234 subjects

Sex	No. of subject	Variations (%)	No. variations (%)
M	69	23(33%)	46(67%)
F	165	68(41%)	97(59%)
Mean(%)		91(39%)	143(61%)

**Table 2.** Distribution of sum of C-Segments variations in sex

Sex	No. of subject	Sum of variations
M	69	39(1) (Nos. 1,9,16,D,G and Y)
F	165	86(4) (Nos. 1,9,16 and D,G)
Total	234	125

( ) Figures in ( ) indicate the inv (9) included

**Table 3.** Distribution and variations of chromosomal C-band heteromorphism in 234 subjects

Chromosome	1q		9q		16q		D		G		Yq	
no. of variation	h+	h-	h+	h-	h+	h-	S+	S-	S+	S-	h+	h-
	8	49	4	14	16		12	3	4	2	6	2

Notes : h+ : Large C-band  
 h- : Small C-band  
 q : Long arm of chromosome  
 D : Chromosome D group(13, 14, 15)

G : Chromosome G Group(21, 22)  
 Yq : Long arm of Y chromosome  
 S+ : Large Satellite  
 S- : Absense of Satellite

중 21예의 "S"번이로, D군에서는 15예(12.8%), G군에서는 6예(1.6%)로 관찰되었다 (Table 3) (Fig. 7). 차단동원염색체(acrocentric chromosome)인 D와 G군은 이차수축부위가 있는 염색체의 변이빈도 보다 낮게 나타났으며, 그 변이순서를 보면, 1>9>16>D>G,Y 순이었다.

**2. 변이에 따른 임상적 결과**

C-분절의 증가와 감소현상이 임상적인 영역에서 어느정도 영향을 미치는가를 알아보고자 1qh+, inv(9), Yqh+, 등의 환자 12명의 병력과 진단명을 살펴본 결과 다음과 같았다.

1번염색체의 이질염색질이 증가(1qh+)된 경우에서 3명이 생식기관의 이상이 있었으며, 9번염색체의 편동원체 역위(inv (9))인 경우 2예와 1qh+ 1예에서는 3회 이상 반복 유산이된 환자였다. inv(9) 1예와 1qh+ 1예에서는 암의 초기 상태에 있었고 1qh+ 1예는 결핵이었으며, 1qh+ 2예와 Yqh+ 1예는 정상이었다.

**IV. 고 찰**

이질염색질의 변이를 관찰하는데에 있어서는 C-분절의 크기를 얼마나 정확히 측정하느냐가 중요한 문제가 되며, 실험과정중의 단계가 매우 중요한 요소로 작용한다. 예를들면 pH가 높은 조건의 배양액에서는 중심절 밴드(centromere bands)모양이 각기 다르게, 한 슬라이드상에서 관찰될 수 있으며(Kim, 1974), Giemsa염색액의 pH가 높을때는 9번 염색체의 중심절 부위는 잘 관찰되지만 다른 염색체의, 중심절 부위는 잘 관찰되지 않는다고 하였다(Bobrow et al., 1972 : Buhler et al., 1975). 또한 부수체 길이의 변이도 배양상태에 따라 다르게 나타난다고 하였다 (Van Dyke, 1976). Wegner(1981)는 Ce-분염법에 의해 염색체의 신장과 수축상태를 조절하

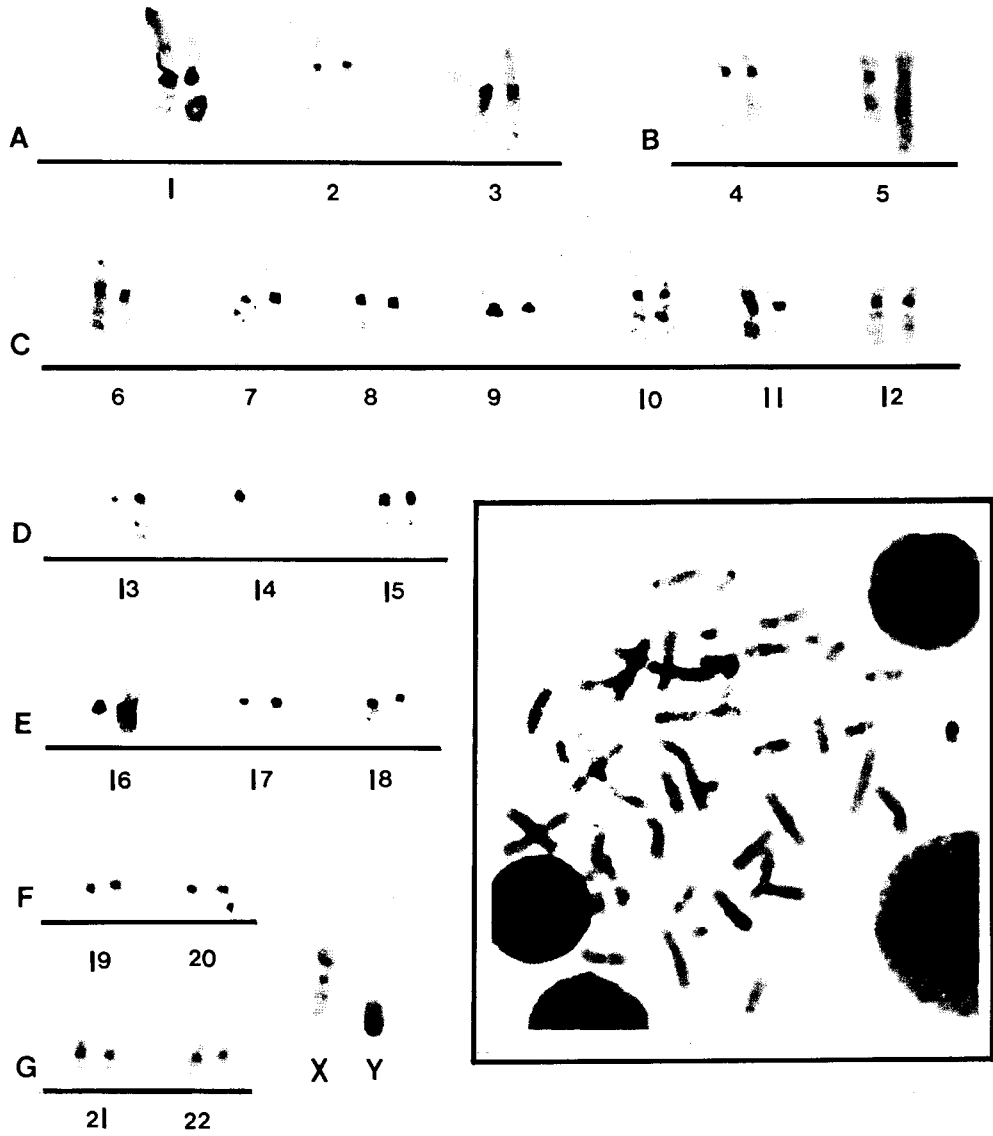


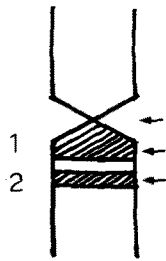
Fig. 3. Karyotype of a normal male, 46,XY.(C-banding). A-G : Chromosome group. 1-22 : Chromosome No.



Fig. 4. GC- and C-band karyotypes of leukocytic cell demonstrating pericentric inversion of chromosome 9

hc : Heterochromatin

▲ : Pericentric inversion of chromosome 9



Small arrows indicate possible points in 2° constriction heterochromatin region.

Numbers 1 and 2 represent suggested subunit bands of the same or different size in the C-band region.

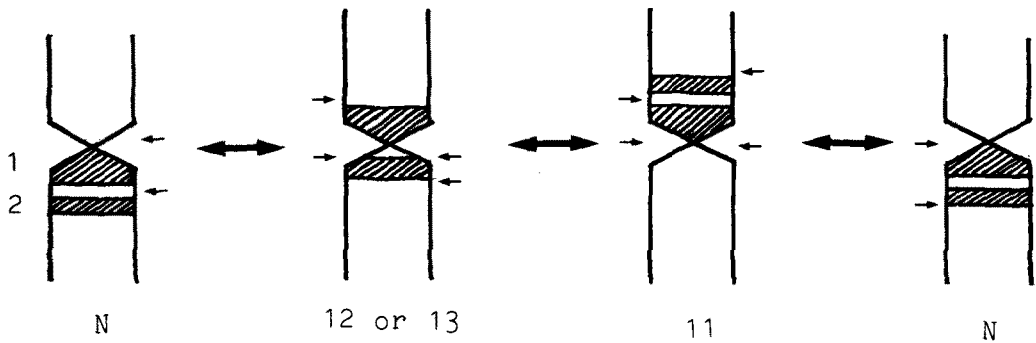


Fig. 5. Possible relationship between break points and different types of position variants.



Fig. 6. Illustration of chromosomal C-band variant(qh variants)

Notes: N: Normal  
 ++: Large increasing of qh  
 --: Large decreasing of qh  
 +: Small increasing of qh  
 -: Small decreasing of qh  
 qh: Heterochromatin of long arm

여 변이상태를 정확하게 관찰할 수 있다고 보고 하였다.

본 실험은 처음부터 끝까지 두가지 배양액 (RPMI 1640, Medium 199)에서 일정한 pH의 염색액 및 배양액의 조건으로 실험 하였으며, 한가지의 배양액에서 배양이 여의치 못하였을때

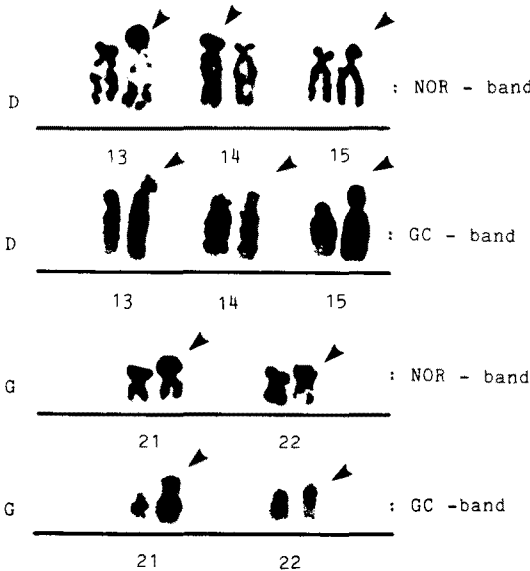


Fig. 7. Illustration of satellite size variants GC-and NOR-band.

(▲ : Large satellite.)

다른 배양액에서 얻은 결과로서 실험을 시행하였다. 3~4장의 슬라이드를 관찰하는 동안 같은 슬라이드상에서 실험의 오차로 인한 변이를 없애고자 15~30개의 세포를 관찰하였으며, C-분염법의 반복 실험과 관찰로서 재확인 하였다.

Van Dyke(1976)는 일반적인 G-분염법으로 염색체 1, 9, 16번에서 C-분절의 다형성을 관찰할 수 있다고 하였지만 본 실험에서는 1, 16번 염색체에서는 C-분절이 식별되나 9번 염색체에서는 C-분절을 관찰할 수 없었고, 차단동원염색체인 D와 G군의 단완 및 부수체의 변이를 관찰하는데 있어서 C-분염법만으로는 관찰이 어려워 NOR-염색법을 함께 사용하였다. 이는 염색체 1, 9, 16번 그리고 Y염색체와 더불어 유전적 다형성을 연구하는데 하나의 유전적 표식자로서 중요한 자료가 되었다(Matsui and Sasaki, 1973; Faust and Vogel, 1974).

염색체 1, 9, 16번과 Y의 변이를 관찰한 결과로서 1qh변이를 보면 park(1976)은 동양인 집단에서는 22.9% 인디아유럽인 집단은 13.0%였고, Craig-Holmes et al.,(1973)은 12.5%, Mckenzie (1973)은 8.3%, Palmer et al.,(1974)와 Yu et al.,(1976)는 10%, Müller와 Klinger(1975)는 9.1%, Buckton et al.,(1976)은 5.6%로 1qh+의 평균변이는 1.0~8.5%, 1qh-의 평균변이는 0.6~10%인데 비해 본 실험에서는 45%로서 1qh+의

Appendix 3. Incidence of total and partial inversion of chromosome 9 reported by various authors using the same criteria<sup>a</sup>

Authors	Sample size	Total inversion (Percentage)	Partial inversion (Percentage)
Mutton and Daker(1973)	200	1.5	—
Chapelle de la et al.(1974)	631	1.0	—
Ferguson-Smith M.A.(1974)	367	1.1	—
Madan and Bobrow (1974)	282	2.8	—
Boue et al.(1975)	300	1.33	—
Muller et al.(1975)	708	0.6	10.7
Buckton et al.(1976)	568	0.85	2.35
Pescia et al.(1977)	272	1.1	—
Zabel et al.(1977)	1000	1.1	—
Metaxotou et al.(1978)	600	2.2	2.0
Shabtai and Halbrecht(1979)	800	0.75	4.0
Bortotto et al.(1980)	290	1.37	—
Tejada et al(1980)	650	0.92	—

a : The criteria are(1) at least 200 subjects. (2) chromosome banding technique used, and (3) distinction between partial and complete inversion.



**Appendix 4.** Reports analyzing the effects of C-band variants on the phenotype and on the reproductive fitness

Character	Related	C-band variants	Analysis	Reference <sup>a</sup>
Chromosome aberrations	+	1qh+, 9qh+	15% of variants in 44 couples (I) with abortions with abnormal karyotypes and only 6% in 36 couples (II) with abortions with normal karyotypes	1
	-	Acrocentric	11% of variants in sample (I) and 22% in sample (II)	
Chromosome aberration	+	9qh+	0.05% of the variant in 8712 individuals of 5 populational samples; and 3.5% in the parents and 2.8% in the relatives of carriers of abnormal karyotype	2
Mitotic non-disjunction	+	Size/inv: 9h	Hyperaneuploidy in 3 x 10 controls, 0%; and in 31 individuals with 9qh+ or 9ph+, 3.6%-7.3%	3
Chromosome breakage	+	Size/inv: 1h, 9h	Breakage in cells without the variants: 2.5% in 50 normals and 8% in 16 patients; with the variants: 10.5% in 50 normals and 16% in 104 patients	4
Trisomy 21	+	Inv 9h	The variant in 93 21-trisomics (I): 26%, and in 165 newborns (II): 7%	5
	No	Size: 1h, 9h, 16h; inv: 1h	No significant difference between samples I and II	
Trisomy 21	No	Size: 1h, 9h, 16h	No difference in 30 21-trisomics and 30 mentally retarded	6
	No	Inv: 1h, 9h	No difference in 50 21-trisomics and 50 mentally retarded	
Trisomy 21	+?	Size: 1h, 9h, 16h	Greater C-band size in 50 parents of 21-trisomics than in normal population; no control	7
Malformations	+	1qh+	Six cases with 1qh+ suggesting a Patau/Meckel-like syndrome	8
Malformations	+	1qh+	Seven pedigrees with 1qh+ and an increased incidence of malformations	9
Malformations	+	1qh+, 9qh+	In 23 malformed: 17 with 9qh+ and 9 with 1qh+; in 25 controls: one with 9qh+	10
Malformations	No	Size: 1h, 9h, 16h	No difference in 38 malformed newborns with their parents and 39 normals with their parents	11
Malformations	+	Variants	In 11,148 newborns 192 had variants which presented more treatment during delivery, higher percent of low birth weight, and more congenital anomalies	12
Mental retardation	No	All	No difference in paired samples of Caucasoids: 25 with low IQ ( $\leq 84$ ), and 70 with normal IQ ( $> 85$ )	13
	No/+	All	In paired samples of Blacks: 54 with low IQ ( $\leq 84$ ), and 43 with normal IQ ( $> 85$ ): low IQ group presented more 9qh+ and 19h+, and no differences in the other C-bands	
Mental retardation	No	Size: 1h, 9h, 16h	No differences in 3 groups of mental retardation: 245 biological, 82 medical, and 76 sociofamilial	14
Mental retardation	No	Size: 1h, 9h, 16h, 17h, Y, acrocen.	No difference between 200 mentally retarded and 200 controls	15
Mental retardation	No/+	Size/inv: 1h, 9h, 16h	In 165 newborn controls, 93 with trisomy-21, 69 with acquired mental retardation (MR), 54 with idiopathic MR, 48 with MR and malformations: no difference except for more 9ph+ in idiopathic MR and 21-trisomics	5
Mental illness	+/-	Yq+	Yq+ in some studies related to low IQ, aggressive behavior, mental disorder, psychosis; however other studies did not find such associations	16
Cancer	+	1qh	55% of 1qh heteromorphism in 58 with malignant diseases, and 31% in 55 controls	17
Cancer	+	Heterom.: 1h inv: 1h	54% in 76 with cancer and 32% in 68 controls 16% in 76 with cancer and 4% in 68 controls	18
Ovarian cancer	+?	Size/inv: 1h	57% in 14 with ovarian cancer; no control	19
Blood diseases	+	Size/inv: 1h, 9h	87% variants in 120 patients, and 15% in 800 newborns	4

Appendix 4. (Continued)

Character	Related	C-band variants	Analysis	Reference <sup>a</sup>
Polycythemia vera	+?	19h+	73% of 19h+ in 15 patients; no control	20
Blood diseases	+	Size: 1h, 9h, 16h	Excess of large classes of C-bands in 166 patients in relation to 70 controls;	21
	No	inv: 1h, 9h	in the same samples: no difference in inv	
Leukemia	-	Size: 1h	In 20 leukemics or preleukemics: lower mean of 1qh than in 20 controls;	22
	No	Size: 9h, 16h	no difference in the other two pairs	
Ovary/breast cancer	No	Size/inv: 1h, 9h, 16h	No differences in 20 with ovary and 16 with breast cancer, and 40 controls	23
Abortion	+	Yq+	10% with Y/F index > 1 in 29 boys of mothers with ≥ 3 abortions; only 1.7% in 1736 normal boys	24
Abortion	+	Yq+	Rate of abortion/pregnancy: in overall study (4773), 16%; in mothers of boys with long Y (54), 33%	25
Abortion	+	Yq+	Abortion: 13% for 4895 mothers of boys with normal Y and 22% for mothers of boys with Yq+	26
Abortion	+	Inv: 9h	10 unrelated families with reproductive failure	27
Abortion	+?	Variants	7.8% of variants in 77 couples with ≥ 2 abortions; no control	28
Abortion	No	Size/inv: 1h, 9h	No differences in 50 couples with ≥ 3 abortions and 50 control couples	29
Abortion	No	Inv: 9h	No differences in 100 couples with 2 abortions and 184 controls	30
Abortion	No	Variants: 1, 9, 16, Y, acro.	Only 2 significant differences in > 50 comparisons between 200 with reproductive failure and 105 controls	31
Abortion	No	Extreme variants	No differences in 200 with reproductive failure and 105 controls	32
Reproductive fitness	+	Extreme variants	Reproductive fitness in 31 carriers of variants (controls: relatives of noncarriers): estimated from segregation: $0.96 \pm 0.07$ ; from fertility: $0.79 \pm 0.06$ ; pooled: $0.86 \pm 0.05$	33

References: (1) Holbek et al. 1974; (2) Nielsen et al. 1974; (3) Ford and Lester 1978; (4) Shabtai and Halbrecht 1979; (5) Wang and Hamerton 1979; (6) Funderburg et al. 1980; (7) Lopetegui 1980; (8) Gardner et al. 1974; (9) Halbrecht and Shabtai 1976; (10) Kunze and Mau 1975; (11) Brown et al. 1980; (12) Nielsen et al. 1981; (13) Lubs et al. 1977; (14) Matsuura et al. 1978; (15) Tharapel and Summitt 1978; (16) Brøgger et al. 1977; (17) Atkin 1977; (18) Atkin and Baker 1977; (19) Atkin and Pickthall 1977; (20) Shabtai et al. 1978; (21) Berger et al. 1979; (22) Sampaio, personal communication; (23) Kivi and Mikelsaar 1980; (24) Patil and Lubs 1974; (25) Patil and Lubs 1977; (26) Nielsen 1978; (27) Boué et al. 1975; (28) Tsenghi et al. 1976; (29) Hemming and Burns 1979; (30) Ward et al. 1980; (31) Tsvetkova and Yankova 1979; (32) Tsvetkova 1979; (33) Jacobs et al. 1975

평균변이는 6.4%, 1qh-의 평균변이는 39%로서 상당히 높은 결과치를 얻었다.

염색체 9번의 qh변이는 Park(1976)은 동양인 집단에서 13.3%, 인디아유럽인 집단에서 13%였으며, Craig-Holmes et al.,(1973)은 12.5%, Mckenzie(1973)은 12%, palmer et al.,(1974)와 Yu et al.,(1976)은 19.5%, Müller와 Klinger(1975)은 8.0%, Buckton et al.,(1976)은 7.4%로서 9qh+의 평균변이는 2.7~8.4%, 9qh-의 평균변이는 0.5~11.1%인데 본 실험에서는 9qh+는 0.8%로서 낮은편 이었고, 9qh-는 14%로서 높은 것으로 나타났다. 또 염색체 9번의 편동원체 역위는 4%로서 Tejada et al.,(1980)등 외 13인의 보고(Appendix 3)에서 평균치가 1.35%인데 비해 높은 결과로 나타났다. 16번 염색체의 변이는 Park

(1976)은 동양인집단에서 17.5%, 인디아유럽인에서는 17.4%였으며, Craig-Holmes et al.,(1973)은 17.5%, Mckenzie(1973)은 16.9%, Palmer et al.,(1974)와 Yu et al.,(1976)은 26.2%, Müller와 Klinger(1975)는 31.1%, Buckton(1976)은 4.8%로서 16qh+의 평균변이는 0.3~6.4%이고 16qh-의 평균변이는 1.0~24.7%인데 본 실험에서는 16qh+는 0%, 16qh-는 12.8%로 나타났다.

Y염색체는 Mckenzie(1973)의 보고에 의하면 동양인 집단에서 Yqh+는 7.3%, Yqh-는 2.4%에 비해 본 실험에서는 Yqh+는 4.8%, Yqh-는 1.6%로 나타났다.

D와G군의 단원 및 부수체의 변이에 있어서도 본 실험이 다른 보고보다 높은 결과치를 나타내었다. 이런 실험결과치는 일반집단이 아닌 환자

집단이기 때문에, 유의한 결과가 나왔으리라 생각되며, 선택된 집단의 연구대상수와 인종에 따라 차이가 있을 것으로 생각된다. 일반 환자집단에서의 변이현상에 대한 자료는 보고된 바 없어 비교할 수 없었다.

Bernt Schulze et al.,(1984)는 1번염색체의  $qh+$ 가 비교집단에서 25%인데 비해 악성종양 질환에 있어서는 33%로 관찰되었다고 하였고, Judith et al.,(1983)는 상동염색체간의 1번, 9번 염색체에 이질염색질 크기에 차이가 있을 경우 반복유산의 실례를 보고 하였다. Boué et al.,(1975)는  $inv(9)$ 인 경우에서 생식세포 형성시의 교차(crossing-over)중에 유전자의 중복과 결실이 있는 세포를 만들 가능성이 높다고 하였으며, Mattei et al.,(1981)는 9번 염색체의 부분적인 역위(partial inversion)를 Giemsa 11.6분염법으로 관찰함과 동시에 반복유산과 관련이 있다고 하였지만, 본 실험에서는 5예의 편동원체역위만이 관찰되었다. 5예중 2예는 반복 유산환자였고, 2예는 암의 초기상태, 1예는 정상이었다. 또 Karetnikova(1980)는 생식기관의 이상이 있는 사람의 핵형분석결과에서 큰-분절을 관찰하였다 하여, 불임증과의 관계를 시사해 주고 있으며 Patil과 Lubs(1974)는 Y염색체의 장완부분의 증가로 불임과 관련이 있다고 하였다. 이는 Y염색체의 이질염색질이 개체내의 유사분열때에 불평등한 교환으로 일어난다는 보고가 이 이론을 뒷받침해 주고 있다(Hohen, 1985). 이러한 사실들이 C-분절의 불확실성에 대한 반증이론이며, 현재까지 정확한 임상적 의의를 확실하게 제공하지 못하고 있지만 이런  $inv(9)$ ,  $1qh+$ ,  $Yqh+$  등의 이질염색질의 변이가 임상적질환과 직접적 관련이 있는 것으로 생각된다. 단지 이러한 학자들의 의견이 통계자료(Appendix 4)에 의한 것이 대부분이므로 임상유전학 영역에서 C-분절의 다형성에 관한 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

본 실험은 국내에서의 C-분염법의 다형성에 관한 자료가 없으므로 임상적 영역에서 C-분절의 감소가 어느만큼 영향이 있는지의 유무를 확인코저 시행하였으므로 임상유전학 측면에 큰 의의가 있으리라 사료된다.

## V. 요 약

사람에 있어서 C-이질염색질의 다형성을 관

찰하기 위하여, 일반환자 234명(여자 165, 남자 69)의 말초혈액백혈구를 배양하였다. 슬라이드 제작후 C-분염법(NOR-염색법, GC-분염법 포함)에 의해 염색체 1, 9, 16번 그리고 Y의 이질염색질( $qh$ )과 D와 G군의 부수체와 단완의 변이를 관찰한후 변이를 나타낸 환자의 임상적 고찰을 함께 실시 하였다.

I. 234명중 변이세포를 갖는 사람은 91명(여 68, 남 23)이었으며, 변이세포를 갖고 있지않은 사람은 143명(여 97, 남 46)이다.

변이세포를 갖고있는 91명에 대한 총변이수는 125예로서 다음과 같다.

- 1) 염색체 1, 9, 16번과 Y의  $qh$ 변이의 수는 99예였고,
- 2) D와 G군의 부수체(Satellite)와 단완의 변이의 수는 21예였으며,
- 3) 염색체 9번의 편동원체 역위인 경우가 5예였다.

II. 염색체 1번, 9번, Y에서 이질염색질이 크게 증가한 환자 12명의 병력을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 생식기관의 이상(reproductive failure)인 경우가 3예( $1qh+$ )였고,
- 2) 3회이상의 반복유산(habitual abortion)인 경우가 3예, 즉  $inv(9)$ 이 2예,  $1qh+$ 가 1예이고,
- 3) 암의 초기상태(precancerous state)가 2예, 즉  $inv(9)$ 이 1예,  $1qh+$ 가 1예,
- 4) 결핵(tuberculosis)은 1예( $1qh+$ ),
- 5) 정상(normal)은 3예, ( $1qh+2$ 예,  $Yqh+1$ 예)였다.

위와같은 결과를 통하여, 본 실험에서의 염색체 1, 9, 16번 그리고 Y의  $qh$ 의 변이중 이질염색질의 감소( $qh-$ )는 단순한 다형현상이라 생각되며, 이질염색질의 증가( $qh+$ )와 9번염색체의 편동원체 역위현상은 임상적 질환과 상당한 연관성이 있다고 사료된다.

추후 이러한 C-이질염색질의 다형성과 임상적 이상과의 관계에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

## REFERENCES

- Arakaki, D.T. and Sparkes, R.S. : *Microtechnique for Culturing Leukocytes from Whole Blood. Cytogenetics 2* : 57-60, 1963.
- Arrighi, F.E. and Saunders, G.F. : *The Rela-*

- tionship Between Repetitious DNA and Constitutive Heterochromatin with Special reference to man, in *Modern Aspects of Cytogenetics ; constitutive Heterochromatin in Man*. R.A.Pfeiffer, ed, *Symposia medica Hoechst* 6 : 5-17, 1972.
- Arrighi, F.E. and Hsu, T.C. : *Localization of Heterochromatin in Human Chromosomes*. *Cytogenet.* 10 : 81-86, 1971.
- Atkin NB : *Chromosome 1 heteromorphism in patients with malignant disease : A constitutional maker for a high-risk group ?* *Br. Med. J.* 1 : 358, 1977.
- Atkin NB, Baker MC : *Pericentric inversion of chromosome 1: Frequency and possible association with cancer*. *Cytogenet. Cell Genet.* 19 : 180-184, 1977.
- Atkin NB, Pickthall, V.J. : *Chromosome 1 in 14 ovarian cancers : Heterochromatin variants and structural changes*. *Hum. Genet.* 38 : 25-33, 1977.
- Baliček, P., Žkzka, J., Skalská, H. : *Variability and Familial Transmission of Constitutive Heterochromatin of Human Chromosomes Evaluated by the Method of Linear measurement*. *Hum. Genet.* 42 : 257-265, 1978.
- Baliček, P., Žizka, J., Skalska, H. : *Length of Human Constitutive Heterochromatin in Relation of Chromosome Contraction*. *Hum. Genet.* 38 : 189-193, 1977.
- Berger, R., Bernheim, A. : *Anomalie de Frequence du Chromosome 1qh + dans la Leucémie Myémoide Chronique*. *C.R. Acad. Sci. (D)(Paris)* 285 : 1183-1185, 1977.
- Berger R, Bernheim A, Coniat M, Vecchione D : *C-banding studies in various blood disorders*. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1 : 95-102, 1979.
- Bernt schulze, Cornelia Golinski, and Christa Fonatsch : *Heterochromatin and nucleols organizer regions in cells of patients with malignant and premalignant lymphatic disease*. *Hum. Genet.* 67 : 391-395, 1984.
- Bloom, S.E., Goodpasture, C. : *An improved Techique for Selective Silver Staining of nuclear Organizer Regions in Human Chromosomes*. *Hum. Genet.* 34 : 199-206, 1976.
- Bobrow, M., Madan, K. and Pearson, P.L. : *Staining of some specific regions of human chromosomes, particularly the secondary constriction of No. 9*. *Nature(Nw Biol)* 238 : 122-124, 1972.
- Boué J., Taillemite, J.L., Hazael-Massieux, P., Léonard, C. and Boué, A. : *Association of pericentric inversion of chromosome 9 and reproductive failure in ten unrelated families*. *Humangenetik* 30 : 217-224, 1975.
- Brøgger, A., Urdal, T. and Laik, N.J. : *No evidence for a correlation between behavior and the size of the Y chromosome*. *Clin. Genet.* 11 : 349-358, 1977.
- Brown, T., Robertson, F.W., Dawson, B.M., Hanlin, S.J., Page, B.M. : *Individual variation of centric heterochromatin in man*. *Hum. Genet.* 55 : 367-373, 1980.
- Buhler, E.M., Tsuchimoto, T., Jurik, L.P. and Stalder, G.R. : *Satellite DNA III and Alkaline Giemsa Staining*. *Humangenetik* 26 : 329-333, 1975.
- Caspersson, T., Lomakka, G. and Zech, L. : *The 24 Fluorescence Patterns of the Human Metaphase Chromosomes-distinguishing Characters and Variability*. *Hereditas* 67 : 89-102, 1971.
- Craig-Holmes, A.P. and Moore, Shaw, M.W. : *Polymorphism of C-band Heterochromatin. 1. Frequency of Variants*. *Am. J. Hum. Genet.* 25 : 181-192, 1973.
- Carnevale, A., Ibamez, B.B. and Castillo, V. : *The Segregation of C-band Polymorphism on Chromosomes 1, 9 and 16*. *Am. J. Hum. Genet.* 28 : 412-416, 1976.
- Erdtmann. : *Aspects of Evaluation, Significance, and Evolution of Human C-Band heteromorphism*. *Hum. Genet.* 61 : 281-294, 1984.
- Faust, J. and Vogel, W. : *Are 'N bands' Selective Staining of Specific Heterochroma-*

- tin? *Nature* 249 : 352-353, 1974.
- Ford, J.H. and Lester, P. : *Chromosomal variants and nondisjunction. Cytogenet. Cell Genet.* 21 : 300-303, 1978.
- Funderburg, S.J., Klisak, I., Sparkes, R.S. and Westlake, J. : *C-band polymorphism : Comparison between trisomy 21 cases and mentally retarded controls. Am. J. Med. Genet.* 5 : 265-269, 1980.
- Gardner, R.J.M., McGreanor, H.R., Parslow, M.I. and Veale A.M.O. : *Are Iq+ chromosomes Harmless? Clin. Genet.* 6 : 383-393, 1974.
- Genetical Factors in the Origin of Unkonwn Etiology Habitual Abortions and Inborn Malformations. (in Russian) Thesis, Moscow. 1980.
- Halbrecht, I. and Shabtai, F. : *Human chromosome polymorphism and congenital malformations. clin. Genet.* 10 : 113-122, 1976.
- Hemming, L. and Burns, C. : *Heterochromatic polymorphism in spontaneous abortions. J. Med. Genet.* 16 : 358-362, 1979.
- Hoehn, H. and Kurnit, D.M. : *Intraindividual Y-chromosome heteromorphism. Hum. Genet.* 71 : 278, 1985.
- Holbek, S., Friedrich, U., Lauritsen, J.G. and Therkelsen, A.J. : *Marker chromosomes in parents of spontaneous abortuses. Human-genetik* 25 : 61-64, 1974.
- Ihramow, A.I. and Mirrakhimov, M.M. : *Human chromosomal polymorphisms. II Chromosomal C polymorphism in Mongoloid populations of central Asia. Hum. Genet.* 60 : 8-9, 1982.
- Jacobs, P.A., Cruickshank, G., Faed, M.J.W., Frackiewicz, A., Robson, E., Harris, H. and Sutherland, I. : *Pericentric Inversion of a group C Autosome. A Study of Three Families. Ann. Hum. Genet.* 31 : 210-230, 1967.
- Jacobs, P. : *The load due to chromosome abnormalities in man. In : Salzano FM(ed) The role of natural selection in human evolution. North - Holland, Amsterdam Oxford, pp. 337-352, 1975.*
- Jalal, S.M., Pfeiffer, R.A., Pathak, S. and Hsu, T.C. : *Subdivision of the Human Y Chromosome. Hum. Genet.* 24 : 59-65, 1974.
- Judith, H., Ford, D.F., Callen, Cynthia, G., Roberts, and Ardianne, B., Jahnke. : *Interactions Between C-Bands of chromosomes 1 and 9 in Recurrent Reproductive Loss. Hum. Genet.* 63 : 58-62, 1983.
- Karethinkova, N.A. : *Genetical factors in the origin of unknown etiology habitual abortions and inborn malformations. (In Russian) Thesis, Moscow 1980.*
- Kim. M.A. : *Identification and Characterization of Heterochromatin Regions in the Human Metaphase and Interphase Nucleus. Humangenetik* 21 : 331-340, 1974.
- Kivi, S. and Mikelsaar, A.V. : *Q-and C-band polymorphism in patients with ovarian or breast carcinoma. Hum. Genet.* 56 : 111-114, 1980.
- Kunze, J. and Mau, G. : *A 1 and C 9 marker chromosmes in children with combined minor and malformations. Lancet* 1 : 273, 1975.
- Kulazhenko, V.P., Lazjuk, G.I., Mikelsarr, A.V.N., Kotovich, L.G., Usoev, S.S. and Levchenko, N.N. : *Heteromorphism of Homologues of the First Chromosome Pair in the Father Combined with the Phenotypical Patau Syndrome in the Fetus. (In Russian) Genetika* 9(3), 138-148, 1973.
- Lopetegui, P.H. : *1, 9, and 16 C-band heteromorphisms in parents of Down's syndrome patients : Distribution and etiological significance. Jpn. J. Hum. Genet.* 25 : 29-37, 1980.
- Lubs, H.A. and Lubs, M.L. : *Neonatal Cytogenetics-The Next Decade, S.W. Wright, B.F. Crandall, L. Boyer, eds, pp. 297-304, Springfield : C.C. Thomas Publishing Co. 1972.*
- Lubs, H.A., Patil, S.A., Kimberling, W.J., Brown, J., Cohen, M., Gerald, P., Hecht, F., Myriantopoulos, N, Summitt, R.L. : *Q and C banding polymorphism in 7-and*

- 8-year-old children : Racial differences and clinical significances. In : Hook EB, Porter IH(eds) *Populational cytogenetic studies in humans*. Academic Press, New York San Francisco London, pp. 133-159, 1977.
- Lurie, J.W., Lazjuk., Gurevich, D.V. and Usoev, S.S. : *Genetics of the +pq Syndrome*. *Hum. Genet.* 32 : 23-34, 1976.
- Matsui, S.I. and Sasaki, M. : *Differential Staining of Nucleolus Organizers*. *Nature* 246 : 148-150, 1973.
- Matsuura, J., Mayer, M. and Jacobs, P. : *A cytogenetic survey of an institution for mentally retarded : II. C-band chromosome heteromorphism*. *Hum. Genet.* 45 : 33-41, 1978.
- Mckenzie, W.H. : *Q and C Chromosomal Variation in Man : Their Distribution and Incidence*. Ph. D. Thesis, North Carolina State University at Raleigh. 1973.
- Muller, H., Klinger, H.P. and Glasser, M. : *Chromosome Polymorphism in a Human Newborn Population. II. Potentials of Polymorphic Chromosome Variants for Characterizing the Idiogram of an Individual*. *Cytogenet. Cell Genet.* 15 : 239-255, 1975.
- Nielsen, J., Friedrich, U., Hreidarsson, A.B. and Zeuthen, E. : *Frequency of 9qh+ and risk of chromosome aberrations in the progeny of individuals with 9qh+*. *Hu-mangenetik* 21 : 211-216, 1974.
- Nielsen, J. : *Large Y Chromosome (Yq+) and Increased Risk of Abortion*. *Clin. Genet.* 13 : 415-416, 1978.
- Nielsen, J., Hansen, K.B., Sillensen, I. and Videbach, P. : *Chromosome abnormalities in newborn children. Physical aspects*. *Hum. Genet.* 59 : 194-200, 1981.
- Palmer, C., Rivas, M., Wang, L. and Stine, R. : *Chromosome Polymorphism in Chromosome 1,9 and 16*, 13th Annual Somatic Cell Genetics Conference. St. Thomas, V.I. 1974.
- Paris Conference. 1971. : *Standardization in Human Cytogenetics. Birth Defects Orig. Art. Ser. The National Foundation*. New York. 119 : 9, 1975.
- Patil, S.R. and Lubs, H.A. : *Spontaneous Abortions and Long Y Chromosomes*. *Am. J. Hum. Genet.* 26 : 66a, 1974.
- Patil, S.R. and Lubs, H.A. : *Classification of qh Regions in Human Chromosome 1,9 and 16 by C-banding*. *Hum. Genet.* 38 : 35-38, 1977.
- Patil, S.R. and Lubs, H.A. : *A possible association of long Y chromosomes and fetal loss*. *Hum. Genet.* 35 : 233-235, 1977.
- Philips, R.B. : *Inheritance of Q- and C-band Polymorphisms*. *Con. J. Genet. Cytol.* 19 : 405-413, 1977.
- Podugolnikova and M.G. Blumina : *Heterochromatic Regions on chromosomes 1,9, 16 and Y in children with some Disturbances Occuring During Embryo Development*. *Hum. Genet.* 63 : 183-188, 1983.
- Podugolinkova, O.A. : *The quantitative Analysis of Polymorphism on Human Chromosomes 1,9, 16 and Y. III. Study of Relationships of C Segment Lengths in Individual Karyotypes*. *Hum. Genet.* 49 : 261-268, 1979.
- Podugolnikova, O.A., Sushanlo, H.M., Parfenova, I.V. and Prokofieva Belgovskaja, A.A. : *The Quantitative Analysis of Polymorphism on Human Chromosomes 1,9,16 and Y. II. Comparison of the C Segments in Male and Female Individuals (The Group Characteristics)*. *Hum. Genet.* 49 : 251-260, 1979a.
- Robinson, J.A., Bucton, K.E., Spowart, G., Newton, M. and Jacobs, P.A. : *Evans, H.J., Hill, R. : The Segregation of Human Chromosome Polymorphisms*. *Am. J. Hum. Genet.* 40 : 113-121, 1976.
- Shabtai, F. and Halbrecht, I. : *Risk of Malignancy and chromosomal polymorphism : A possible mechanism of association*. *Clin. Geret.* 15 : 73-77, 1979.
- Shabtai, F., Weiss, S., van der Lijn, E. and Lewinski. U. : *A new Cytogenetic aspect*

- of polycythemia vera. *Hum. Genet.* 41 : 281-287, 1978.
- Silvana Simi and F. Tursi. : *Polymorphism of Human Chromosomes 1, 9, 16, Y : Variations, Segregation and Mosaicism.* *Hum. Genet.* 62 : 217-220, 1982.
- Staessen, C., Kirsch-Volders. M. and Susame : *Comparison of two Measuring Methods for the Evaluation of C-Heterochromatin in Human chromosomes.* *Hum. Genet.* 61 : 68-70, 1982.
- Sumner, A.T. : *A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin.* *Expl. cell Res.* 75 : 304-306, 1972.
- Tharapel, A.T. and Summitt, R.L. : *Minor chromosome variation and selected heteromorphisms in 200 unclassifiable mentally retarded patients and 200 normal controls.* *Hum. Genet.* 41 : 121-130, 1978.
- Tsenghi, C., Metaxotou-Stavridaki, C., Stratakibenetou, M., Kalpininavrou, A. and Matsaniotis, N. : *Chromosome studies in couples with repeated spontaneous abortions.* *Obstet. Gynecol.* 47 : 463-468, 1976.
- Tsvetkova, T.G. : *Chromosome polymorphism and reproductive dysfunction in man. III. Extreme C-variants of autosomes : Analysis of distribution and combination in the Karyotype (in Russian).* *Genetika* 16 : 2210-2216, 1979.
- Tsvetkova, T.G. and Yankova, M.F. : *Human chromosome polymorphism and reproductive failure. II. C-variants (in Russian).* *Genetika* 15 : 1870-1879, 1979.
- Van Dyke, D.L. : *Human Chromosome Polymorphism : Heritability and Usefulness in Twin Zygosity Evaluation.* Ph. D. Thesis, Indian Univ. 1976.
- Wang, H.S. and Hamerton, J.L. : *C-band Polymorphisms of chromosomes 1, 9 and 16 in four subgroups of mentally retarded patients and a normal control population.* *Hum. Genet.* 51 : 269-275, 1979.
- Ward, B.E., Henry, G.P. and Robinson, A. : *Cytogenetic studies in 100 couples with recurrent spontaneous abortions.* *Am. J. Hum. Genet.* 32 : 549-554, 1980.