

급성백혈병에서 염색체 이상과 암유전자의 전좌*

계명대학교 의과대학·해부학교실 및 동국대학교 의과대학 내과학 교실*

장성익 · 양창현*

서 론

암 세포유전학은 만성골수성 백혈병(이하 CML) 환자의 골수세포 염색체에서 G-group에 속하는 염색체 하나가 소실된 소위 Ph¹ 염색체가 발견되면서 시작되었다(Nowell과 Hungerford, 1960). Casperson 등(1970)에 의하여 염색체 band법이 개발된 후 Rowley(1973b)에 의하여 CML에서 Ph¹ 염색체란 G-group의 염색체 하나가 소실된 것이 아니라 제9번 염색체로 전좌된 t(9;22)(q34;q11) 형태의 염색체라고 판명되었으며 Ph¹ 염색체는 현재 CML 환자의 진단이나 치료 및 예후판정에 매우 유용하게 사용되고 있다. 최근에는 분자생물학의 발달로 제9번 염색체에 있는 abl 암유전자의 제22번 염색체에 있는 bcr 유전자가 융합되어 원래 abl 암유전자에서 분비하던 P145K 단백질이 융합유전자에서는 P210K 단백질을 분비하여 암화된다는 사실까지 알려져 있다.

급성백혈병에서는 염색체 이상이 다양한 형태로 나타나고 있는데 급성 비임파구 백혈병(ANLL) 중에서 FAB 분류에 의한 M2에서는 t(8;21)(q22;q22) (Rowley 등, 1982)가, M3에서는 t(15q⁻; 17p) (Berger 등, 1983)가, M4에서는 del(16)(q22) (Arthur와 Bloomfield, 1983)가 각각 대표적인 이상으로 보고되어 있으며 드물게 나타나지만 t(6;9)(p23; q34)가 나타나면 예후가 좋지않다는 보고도 있다 (Schwartz 등, 1983).

한편 급성 임파구성 백혈병(ALL)에서는 t(1;19)(q23;p11) (Carroll 등, 1984), t(4;11)(q21;q23) (Parkin 등, 1982) 및 t(9;22)(q34;q11) (Erikson 등, 1986) 등이 대표적으로 보고되고 있다. 이상의 보고를 종합해 보면 급성백혈병에서 염색체 이상은 전좌형의 구조적인 이상이 특징이다. 암세포 염색체에서 전좌형의 구조적 이상은 암유전자의 활성화와 밀접한 관계가 있다. 암화과정에 있어서 암유

전자의 활성화와 밀접한 관계가 있다. 암화과정에 있어서 암유전자의 활성화는 일차적으로 세포를 증식시키는 역할을 하고 이차적으로 협력하는 다른 유전자가 반드시 있을것으로 생각하고 있다(Schwartz와 Witte, 1988). 급성백혈병에서 보고된 암유전자의 연구는 abl을 비롯하여 erb B2, src, ras 및 mos 등이 있으며(McClain 등 1984, Diaz 등 1985, Rossendorff 등, 1987) 항암유전자로 알려진 p53의 발현에 관한 보고가 있다(Mashal 등, 1990). 저자들은 상기의 보고를 토대로 급성 백혈병 환자의 골수세포에서 염색체 이상과 암유전자에 대한 DNA in situ hybridization를 시행한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

골수세포를 병리학적으로 진단된 급성백혈병 환자 10명(AML 6명과 ALL 4명)의 골수세포 및 암유전자 DNA probe(K-ras, erb B2, mos 및 P53).

방법

A. 염색체의 핵형분석(Karyotyping)

1. 골수세포의 배양

골수세포에서 임파구만을 분리 배양하기 위해 골수액 2ml에 동량의 인원총액을 잘 섞어준 후 lym phoprep(density; 1.077+0.010g/ml) 3ml가 들어 있는 원심분리관에 조심스럽게 넣어 주고 1,800rpm에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리된 세포층들 가운데 단핵구 세포층만을 분리하여 위의 과정을 반복한 후 임파구만을 분리하여 인원총액, 순수 McCoy's 5A배지 및 임파구들만을 배양하기 위한 특수배지(hydrocortisone, sodium bicarbonate, sodium pyruvate, vitamins, essential amino acids, nonessential amino acids, glutamine, antibiotic- antimycotic solution, horse serum, fetal bovine serum, McCoy's

5A medium)로 순차적으로 수세한 후 임파구만을 배양하는 특수배지를 이용하여 37°C 배양기에서 배양하였다.

2. 세포수확(Harvest)

위와 같이 배양된 골수 임파구 세포에 colcemide 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가하여 90분간 배양하고 난 후 1,500 rpm으로 3분간 원심분리한 다음 상층액을 제거하고 미리 37°C 수조에 담궈 두었던 0.075M KCl 저장액 (hypotonic solution) 5ml을 첨가하여 37°C 수조에서 15분간 세포들을 팽창시켰다. 여기에 미리 준비하여 -20°C 냉장고에 보관해둔 고정액(glacial acetic acid; methanol=1: 3) 1ml를 첨가 pipette로 섞어준 후 1,500rpm으로 3분간 원심분리하여 부유액을 버리고 세포의 덩어리가 회개될 때까지 고정단계를 3~4회 더 실시하였다. 이렇게하여 만들어진 세포덩어리에 고정액을 약간량 첨가하여 부드럽게 섞어준 후 각각의 세포를 완전히 분리시켰다. 다음에 70% 알콜에 담구어둔 젖은 slide를 휴지로 완전히 닦은 다음 두 장의 젖은 거즈를 펴고 그위에 slide를 올려 놓고 세포들을 pasteur pipette으로 2방울 떨어뜨렸다.

3. Giemsa band법

위와 같은 방법으로 만들어진 slide를 3~4일간 37°C 배양기 혹은 실온에서 말린 다음 G-band를 실시하였다. 즉, slide를 60°C 2XSSC 용액에 50분간 담구어 둔 다음 Sørensen씨 완충액으로 씻어주고 실온에서 건조시킨후 33ml의 Sørensen씨 완충액과 17ml의 과산화수소수가 들어 있는 용액에 5~7초간 둔 다음 즉시 50ml의 중류수에 0.03g trypsin(1: 250, Gibco사 제품)이 녹아 있는 용액에 1~3초간 둔 뒤에 흐르는 물에 씻어주고 4% Giemsa용액에 8분간 염색을 하였다.

B. DNA in situ hybridization

1. Digoxigenin-11-dUTP를 이용한 암유전자의 labelling

1 μg 의 k-ras, erb B2, mos, p53 암유전자를 PstI, EcoRI, Hind III, Bam HI 제한효소로 소화시킨 후 3M sodium acetate(pH5.2)를 1/10 volume 첨가하고 다시 무수 alcohol 2.5 volume을 첨가하여 DNA를 침전 시킨후 -20°C 냉동실에서 overnight 시키고 난 다음 10,000rpm에 15분간 원심분리하여 상층액을

제거한 후 70% alcohol로 수세하였다. 다시 위와 같이 원심분리하여 37°C 배양기에서 완전히 건조시킨후 TE buffer 10 μl 를 첨가하여 37°C 배양기에서 완전히 용해시켰다. 이렇게 하여 linearized purified 된 DNA를 얻어낸 후 95°C의 끓는물에 10분간 변성시켜 얼음에 보관하였다. 여기에 Baelinger Mannheim회사 제 kit에 준비된 2 μl hexanucleotide mixture와 2 μl -dNTP labelling mixture를 혼합하여 다시 3차중류수를 첨가하면서 19 μl 로 조절하고 다시 여기에 DNA polymerase인 klenow enzyme 1 μl 를 첨가하였다. 이것을 초고속 원심분리하여 37°C 수조에서 약 2시간 가량 중합반응시킨후 반응을 중지시키기 위해 0.2M EDTA 2 μl 를 첨가하고 DNA를 침전 시키기 위해서 4M LiCl 2.5 μl , prechilled 100% ethanol 75 μl 를 첨가하였다. 혼합액을 잘 섞어준 후 tube를 -20°C에서 overnight 시키고 10,000rpm에서 15분간 원심분리하여 pellet을 얻은후 70% cold ethanol 40 μl 을 수세한 후 다시 위와 같이 원심분리하여 37°C 배양기에서 완전히 건조 시킨후 50 μl TE buffer에 녹였다.

2. Hybridization

앞에서 기술된 방법에 의해 만들어진 염색체 slide에 hybridization을 실시하였다. Prehybridization은 실시하지 않았으며 probe의 비특이적인 결합을 방지하기 위해 slide에 DNase-free RNase(10 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 100 μl 를 얹은후 coverslip을 덮어 1시간 가량 37°C 배양기에서 방치후 coverslip을 제거하여 slide를 계속적으로 중류수로 수세하고 alcohol을 이용하여 탈수한 다음 37°C 배양기에서 완전히 건조시켰다. 50% formamide, 10% Dextran sulfate, 2XSSC, 0.5mg/ml sonicated herring sperm DNA와 1mg/ml의 digoxigenin labelled probe의 hybridization mixture를 slide위에 50 μl 씩 얹은후 37°C 배양기에서 14시간 가량 배양하였다. 이때 probe와 염색체는 72°C 건조기에서 10분간 변성시켰다.

Coverslip을 제거한 후 slide를 실온에서 5분간 3회 2XSSC 용액으로 철저히 수세한 후 인 완충액과 0.1% Triton X-100용액을 이용하여 실온에서 다시 3분간 수세한 다음 인 완충액으로 3회 수세하였다.

3. Detection

Slide를 100mM Tris-HCl(pH 7.5)완충액, 150mM NaCl용액으로 수세한 후 100mM Tris-HCl(pH 7.5), 150mM NaCl용액에 antibody conjugate를 1:5,000

(150mg/ml)으로 희석하여 용액 100 μ l를 slide 위에 얹은 후 coverslip을 덮고 암실 실온에서 1시간 가량 방치시켰다. Coverslip을 제거하고 100mM Tris-HCl(pH 9.5), 100mM NaCl과 50mM MgCl₂ 용액으로 중화시켰다. 다시 위의 용액 10ml에 45 μ l의 NBT와 35 μ l의 X-phos phate를 첨가하여 신선한 color용액을 만든 후 300 μ l을 각각의 slide 위에 놓고 coverslip을 덮은 후 실온에서 1시간 가량 방치시켰다. Coverslip을 제거한 후 slide를 10mM Tris-HCl(pH 8.0) 완충액과 1mM EDTA 용액으로 철저히 수세한 뒤에 공기중에서 건조시킨 다음 4% Giemsa 용액으로 2분간 counterstain을 실시하였다.

성 적

1. 세포유전학적인 분석

10명의 급성백혈병으로 진단된 환자의 풀수세포

Table 1. Cytogenetic assessment in acute leukemia

Case	Type (subtype)	*M.N	Type of Karyotyping	Counted		Chromosomal changes	
				metaphase	Numerical	Structural	
1	AML (M3)	46	46, XY/45, XY -22	12	Monosomy 22		
2	AML (M4)	46	46, XX/47, XX +6	11	Trisomy 6		
3	AML (.)	52	52, XY +6, +10, +21 +22, +X, + +15/46, XY	9	Trisomy 6, 10 21, 22, X	Marker del(7)(q35)	
4	AML (.)	46	46, XX, -9, -10, -17/ 45, XX, -9, -10, -17	8	Monosomy 9 10 17	Marker del(1)(q26) (6)(q26) t(3;10)(q12;q11)	
5	AML (M2)	45	45, XY, -8, -10/ 46, XY	9	Monosomy 8 21	Marker del(2)(p25)	
6	AML (M2)	45	45, XY, -18/45, XY, -19/ 46, XY	5	Monosomy 15 19	del(16)(q24)	
7	ALL (L2)	47	47, XX, +9, /47, XX, +8	10	Trisomy 8, 9	t(9;22)(q24;q12)	
8	ALL (L1)	46	46, XY	7		del(9)(q34)	
9	ALL (L1)	58	58, XX, +4, +6, +7, +10, +15 +16, +17, +18, +20, + +9/ 45, XX, -10	8	Monosomy 10 Trisomy 4, 6, 7 10, 15, 16, 17, 18, 20	Marker del (1)(q28) (1)(p11)	
10	ALL (L2)	45	45, XX, 11/46, XX	8	Tetrasomy 9 Monosomy 11	Tetrasomy 9 t(9;22)(q34;q12)	

* M.N: means modal number

에서 염색체이상은 다양한 형태로 나타났다(Fig. 1, 2와 Table 1). 수적 이상도 monosomy, trisomy 및 tetrasomy까지 나타났으며 염색체상의 위치도 다양하게 나타났다. 구조적 이상도 표지염색체, 전좌 및 결손등으로 다양하게 나타났다. 비임파구성 백혈병과 임파구성 백혈병간의 세포유전학적으로 뚜렷한 차이는 없었으며 비임파구성 백혈병이나 임파구성 백혈병 각각에서 특수한 부위의 염색체 이상은 없었다. 비임파구성 백혈병에서 구조적 이상은 결손형의 del(1)(q26), del(2)(p25), del(6)(q26), del(7)(q35) 및 del(16)(q24)와 전좌형의 t(3;10)(q12; q11)이 있고 임파구성 백혈병에서 구조적이상은 결손형의 del(1)(q28), del(1)(p11) 및 del(9)(q34)와 전좌형의 t(9;22)(q34;q12) 이 있다(Table 2).

2. 분자유전학적 분석

급성백혈병에서 암유전자의 활성화를 일기위하여

Table 2. Most common characteristics of chromosome abnormalities in acute leukemia

Type	Chromosome abnormalities	
	Numerical	Structural
AML	Monosomy 9, 10, 18 19, 21, 22 Trisomy 6, 10, 21, 22 X Tetrasomy 15	Marker del (1)(q26) (2)(q25) (6)(q26) (7)(q35) (16)(q24) t(3;10)(q12;q11)
ALL	Monosomy 10, 11 Trisomy 4, 6, 7, 8 9, 10, 15, 16 17, 18, 20 Tetrasomy 9	Marker del (1)(q28) (1)(q11) (9)(q34) t(q22)(q34;q12)

DNA *in situ* hybridization을 시행한 결과 AML에서는 K-ras가 염색체에서의 전좌가 없었으나 ALL에서는 제 6번 염색체에서 9번 염색체로 전좌되어 있었다. erb B2는 AML과 ALL 모두에서 17q22에서 7pll-12로 전좌되어 있었고 mos는 AML에서는 8q11에서 2p12로 전좌되었으나 반면 ALL에서는 8q11에서 1q31, 9q12 및 18q12로 다양하게 전좌되어 있었다. 한편 p53은 AML에서는 17q22에서 9q21-34 및 4q12로 전좌되었으나 ALL에서는 17q22에서는 2q21-24로 전좌되어 있었다(Fig. 3, 4, 5, 6과 Table 3).

고 찰

급성백혈병 환자 10명의 콜수세포를 배양하여 G-band에 의한 염색체 분석결과 모든 환자에서 각각

염색체 이상이 달랐다. 이런 결과는 Knudson(1985)이 제시한 바와 같이 각 개인의 선천적인 염색체상의 안정성의 차이와 여러가지 genotoxins에 대한 저항 능력의 차이에서 기인한 것으로 간주되어졌다. 급성 비임파구성 백혈병에서 FAB 분류의 결과에서 80% 정도에서 세포유전학적 변화는 일정한 일차적인 염색체 이상이 존재하고 부가적인 이차성 변화양상을 가지며 평균적으로 55%에서는 오직 하나의 염색체 이상이 관찰되나 나머지에서는 둘 이상의 변화양상을 가진다고 밝혔다. 이 연구의 결과에서 급성 비임파구성 백혈병 환자 6명에서 3명은 monosomy나 trisomy로 하나의 염색체 이상을 보였고 나머지 3명에서는 여러 형태의 염색체 이상을 보였다. 급성 비임파구성 백혈병 환자에서 염색체의 구조적이상인 전좌형으로는 Kamada 등(1968)이 C-G군간의 전좌를 처음 밝힌 후 Rowley(1973a)는 8번과 21번 염색체간의 전좌를 기술하였다. 이를 뒤받침하여 Oguma 등(1983)은 t(8;21)(q22;q22)를 특징적으로 관찰하였으나 sakurai 등(1982)과 Swirsky 등(1984)은 8q22는 전좌에 관여하나 21q22는 관여하지 않았다고, caimo 등(1986)과 Billstrom 등(1987)은 21q22는 전좌에 관여하나 8q22는 관여하지 않았다는 등 일정한 형태의 전좌형을 관찰할 수 없었다고 하여 아직 급성 비임파구성 백혈병에서의 특징적인 전좌형이 규명되어 있지 않다.

이 연구에서의 전좌형은 t(3;10) (q12;q11)로 다른 보고들과는 다른 형태를 발견하였으나 이러한 형태는 급성 비임파구성 백혈병 환자 6명 중 1명에서 나타났다. 그리고 유래를 알 수 없는 표지염색체가 6명 중 3명에서 출현하였다. 결손형으로는 주로 del(5q), del(7q), del(9p), del(11q), del(12p), del(16q)

Table 3. Comparison of original localization and translocated site of oncogenes

Type \ Location	Oncogene	Site	
		Original site	Translocated site
AML	K-ras	6p11-12	
	erb-B2	17q21	7p11-12, 13q33-32
	mos	8q11 or 8q22	2p12-13
	p53	17q21-22	9q21-34, 4q12
ALL	K-ras	6p11-12	9q12
	erb-B2	17q21	7p11-12
	mos	8q11 or 8q22	1q31-41, 9p12, 18q12
	p53	17q21-22	2q21-24

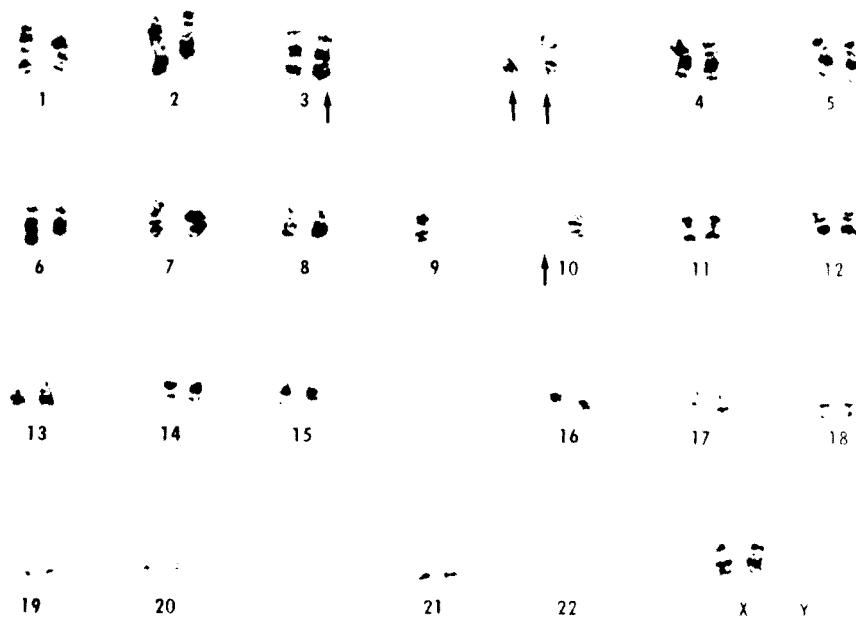


Fig. 1. Karyotype of bone marrow in acute myelogenous leukemia (AML).
Arrows(→) represent der(3) t(3;10)(q12;q11), marker chromosomes

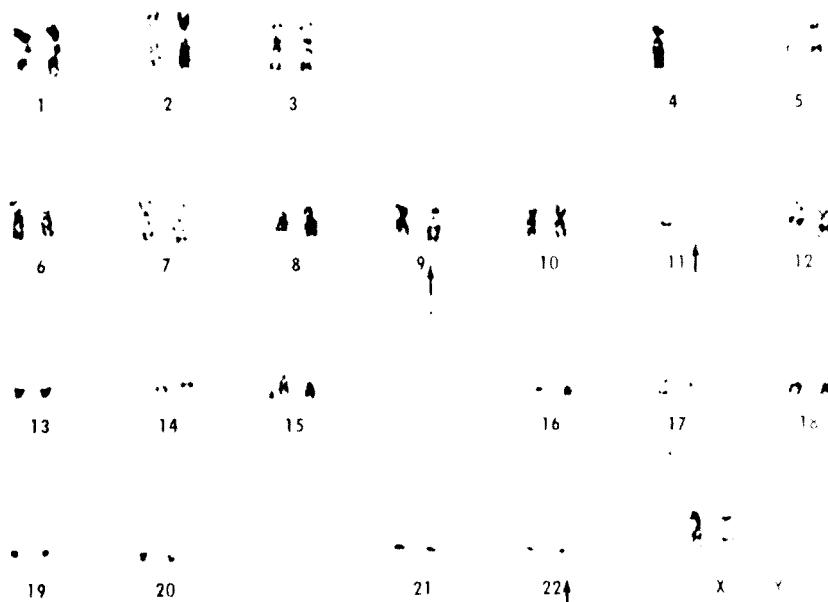


Fig. 2. Karyotype of bone marrow in acute lymphocytic leukemia (ALL).
Arrows(→) represents monosomy 11, der(9) t(9;22)(q34;q12)



Fig. 3. DNA in situ hybridization.
Arrow(→) represents translocation of
K-ras(6p11-12 → 9q12) in ALL.



Fig. 4. DNA in situ hybridization.
Arrow(→) represents translocation of
erb-B2(17q21 → 7p11-12) in AML.



Fig. 5. DNA in situ hybridization.
Arrow(→) represents translocation of
mos (8q11 or 8q22 → 2p12-13) in AML.

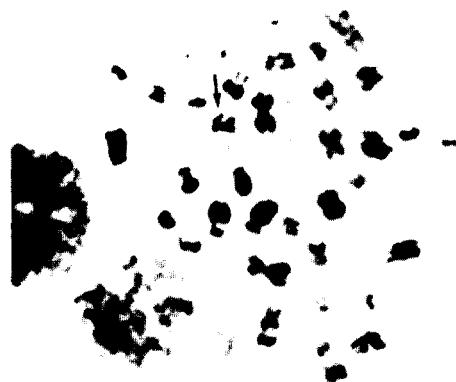


Fig. 6. DNA in situ hybridization.
Arrow(→) represents translocation of
p53 (17q21-22 → 2q21-24) in ALL.

(q22) 및 del(20) 등이 보고되었으나 (Sakurai 등, 1982; Caimo 등, 1986) 이 실험에서는 del(1)(q26), del(2)(p25) del(6)(q26), del(7)(q35) 및 del(16)(q24)로 나타났는데 일반적으로 염색체이상 중 결손은 항암유전자의 위치와 관련있다고 알려져 있다(Knudson, 1985). 염색체의 수적인 변화에서는 Heim과 Mitelman(1987)은 급성 비임파구성 백혈병의 1/5에서 나타났다고 보고하면서 4, -5, -7, +8, +21과 -Y가 관찰 되었고 특히 -7과 +8이 70%와 40%로 많이 출현하였다고 강조하였으며,

Mecucci 등(1986)은 +4를 특히 강조하였다. 이 실험에서의 6명 중 3명에서 +6, -9, -22 만의 수적변화상을 가지는 환자들과 구조적 이상을 동반한 수적 변화들이 다양하게 나타났다. 급성 임파구성 백혈병에서는 약 2/3에서 염색체이상이 나타나며 특히 수적변화가 급성 비임파구성 백혈병에서 보다 더 높아 30% 이상에서 hyperdiploid가 나타나는데 염색체수가 47-49인 경우는 약 20% 이상 나타나고 12% 정도에서는 염색체수가 50개 이상, 10% 정도에서 hypodiploid로 나타나는 특징이 있다고 Wil-

liams 등 (1986)이 보고하였다. 이 연구에서는 4명의 급성 임파구성 백혈병 환자에서 염색체수가 45, 46, 47 그리고 58로 나타났다. 급성임파구성 백혈병에서 염색체 이상은 급성 비 임파구성 백혈병보다 구조적 이상이 더욱 다양하게 나타나는데 전좌형의 t(9;22)가 급성 임파구성 백혈병과 연관된 가장 흔한 형태이며 성인의 경우에는 15-20%, 소아인 경우는 약 5% 정도를 점한다고 Bloomfield 등(1986)은 보고하였다. 이 실험에서 급성 임파구성 백혈병 환자 4명 중 2명에서 t(9;22)(q34;q12)가 나타났다. 결손형의 이상은 del(6q), del(9p) 그리고 del(12p)가 특징이라고 Heerema 등(1985)과 Chilcote 등(1985) 및 Raimondi 등(1986)이 각각 주장하였으나 본 실험에서는 한 환자에서 del(9)(q34), 또 다른 환자에서 del(1)(q28)과 del(1)(p11)이 동시에 나타난 형태가 관찰되었다. 특히 del(9)(q34)만 갖고 46, XY인 환자에서 결손 부위가 9번 염색체 장완 34부위로 전좌형의 t(9;22)(q34;q12)에서의 절단부위와 일치하고 또한 이 부위에 암유전자 abl이 존재하므로 급성 임파구성 백혈병은 22번 염색체 장완에 위치하는 유전자 bcr보다 암유전자 abl이 더 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되었다. 염색체 수적변화에서는 +21이 가장 일반적인 형태며 +6, -7, +8, +18 그리고 -20이 있으나 이들은 구조적변화의 이차성 형태라고 Bloomfield 등(1986)이 정리한 바와 같이 이 실험에서는 +8, +9를 가지는 경우와 +4, +6, +7, +10, +15, +16, +17, +18, +20 및 +9를 갖는 경우 및 -11를 가진 경우가 나타나 ALL의 4명의 환자 중 3명에서는 수적인 변화가 있어 Williams 등(1986)이 주장한 바와 같이 수적인 변화는 구조적인 변화의 이차성 형태로 생각되었고 그 변화도 다양하였다. 급성 백혈병의 암유전자에 대한 연구에서 McClain(1984)은 급성백혈병에서 erbB2, src와 ras 암유전자들이 공통적으로 발현되어지고 있다고 하였고 Diaz 등(1985)과 Rosendorff 등(1987)은 c-mos가 급성 비임파구성 백혈병에서 전좌된 형태를 관찰하였다. Smith 등(1986)은 p53 암유전자의 발현이 급성 비 임파구성 백혈병 환자에서 나타난다고 주장하였으나 Mashal 등(1990)은 ph(+) 급성 임파구성 백혈병 환자에서는 p53 mRNA의 크기의 변화는 없었다고 밝혔으나 p53 단백질의 발현은 많은 연구들(Linzer와 Levine, 1979; Clarke 등, 1988; Lubbert 등, 1988)에서 다양하였다. 비 임파구성 백혈병 세포주 HL60에서는 p53의 재

배열을 Wolf와 Rotter(1985)가 보고 하였다. 위의 보고들을 근거로 하여 본 실험에서 사용된 4 종류의 암유전자들 (K-ras, erb-B2, mos, p53) 중, k-ras를 제외한 세 종류에서는 급성 비임파구성 백혈병이나 급성임파구성 백혈병에서 공히 원래의 염색체 위치에 비해 다른 염색체들에서 hybridized 된 signal이 더 강하게 나타났으나 세포유전학적 관찰의 결과와 일치하지 않기 때문에 이러한 현상들의 해석이 다소 어려우나 이를 암유전자들이 원래 자기 위치에서 다른 염색체로 전좌되어 활성화된 것은 이들 유전자가 1차적이든 2차적이든 암화과정에 관여 된 것은 틀림없으며 이들 유전자가 함께 작용하는지 아니면 순차적으로 상호 활성화 시키는지의 기전은 아직 모른다. 그러나 세포유전학적 분석과 연관지어 보면 제1번과 2번 염색체에서 급성백혈병에 관여하는 유전자가 암유전자 외에 따로 존재하는 것 같으며 제9번에 있는 유전자도 어떤 형태로든 관여 되어 있음을 틀림없는 것 같다. 여기에 관해서는 앞으로 계속적인 연구가 더 필요하다고 생각된다.

요약

10명의 급성 백혈병 환자의 골수세포를 이용하여 세포유전학적 분석과 암유전자(k-ras, erb-B2, mos, p53)의 활성화 유무를 알기 위해 골수세포를 배양하여 G-band법으로 염색체분석을 하였고 DNA *in situ hybridization*을 이용하여 암유전자 활성화 유무를 관찰하였다.

핵형분석 결과 비임파구성 백혈병에 있어서 표지염색체와 (1)(q26), (2)(p25), (7)(q25), (8)(q26), (16)(q24)의 결손형과 t(3;10)(q12;q11)의 전좌형이 특징적이었으며 임파구성 백혈병에 있어서는 (1)(q28), (1)(p11), (9)(q34)의 결손형과 t(9;22)(q34;q12)의 전좌형이 특징적이었다.

암유전자의 활성화 유무를 알아보기 위한 DNA *in situ hybridization*의 결과는 K-ras를 제외한 세 개의 암유전자(erb-B2, mos, p53)가 임파구성, 비임파구성 백혈병에서 전좌 된 형태로 나타났지만 이들의 위치가 핵형분석의 결과와 일치하지 않았다. 이상의 성적을 종합해 보면 제1번 및 2번 염색체에는 급성백혈병에 관여하는 항암유전자가 존재할 것으로 생각되고 제9번 염색체에 있는 유전자가 직접 백혈병 암화과정에 활성화 시키는 유전자가 존재한다고 생각되며 이번 실험에서 활성화된 erb-B2, mos 및 p

53은 이차적으로 관여된 암유전자일 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

- Arthur DC, Bloomfield CD: Partial deletion of the long arm of chromosome 16 and bone marrow eosinophilia in acute nonlymphocytic leukemia: A new association. *Blood* 1983; 61: 994-998.
- Berger R, Bernheim A, Daniel MMT, et al: Cytological types of mitoses and chromosome abnormalities in acute leukemia. *Leuk Res* 1983; 7: 221-236.
- Billstrom R, Nilsson PG, Mitelman F: Characteristic patterns of chromosome abnormalities in acute myeloid with Auer rods. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 23: 79-83.
- Bloomfield CD, Goldman AI, Alimena G, et al: Chromosomal abnormalities identify high-risk and low-risk patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1986; 67: 415-420.
- Caimo A, Parodi CM, De filippi S, et al: A new chromosome translocation (3;21) in M2 acute lymphocytic leukemia. *Acta Haematol* 1986; 75: 23-25.
- Carroll AJ, Crist WM, Parmley RT, et al: pre-B cell leukemia associated with chromosome translocation 1; 19. *Blood* 1984; 63: 721-724.
- Caspersson T, Zech L, Johansson C: Differential binding of alkylating fluorochromes. *Exp Cell Res* 1970; 60: 315-319.
- Chilcote RR, Brown E, Rowley JD: Lymphoblastic leukemia with lymphomatous features associated with abnormalities of the short arm of chromosome 9. *N Engl J Med* 1985; 313: 286-291.
- Clarke CF, Cheng K, Frey AB, et al: Purification of complexes of nuclear oncogene p53 with rat and Escherichia coli heat shock murine p53 by ATP. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 1206.
- Diaz MO, Le Beau MM, Rowley JD, et al: The role of the c-mos gene in the 8; 21 translocation in human acute myeloblastic leukemia. *Science* 1985; 229: 767-769.
- Erikson J, Griffin CA, Ar-Rushdi A, et al: Heterogeneity of chromosome 22 breakpoint in philadelphia-positive(Ph+) acute lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1807-1811.
- Heerema NA, Palmer CG, Baehner RL: Karyotypic and clinical findings in a consecutive series of children with acute lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 17: 165-179.
- Heim S, Mitelman F: Numerical chromosome aberrations in human neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 22: 99-108.
- Heim S, Mitelman F: Nineteen of 26 cellular oncogenes precisely localized in the human genome map to one of the 83 bands involved in primary cancer-specific rearrangement. *Hum Genet* 1987; 35: 70-72.
- Kamada N, Okadak, Ito T, et al: Chromosomes 21-22 and neutrophil alkaline phosphatase in leukemia. *Lancet* 1968; i: 364.
- Knudson AG Jr: Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Cancer Res* 1985; 45: 1437-1443.
- Linzer DIH, Levine AJ: Characterization of a 54k dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 1979; 17: 43-52.
- Lubbert M, Miller CW, Crawford L, et al: p53 in chronic myelogenous leukemia. *J Exp Med* 1988; 167: 873.
- Mashal R, Shtalrid M, Talpaz M, et al: Rearrangement and expression of p53 in the chronic phase and blast crisis of chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1990; 75: 180-189.
- McClain KL: Expression of oncogenes in human leukemia. *Cancer Res* 1984; 44: 5382-5389.
- Mecucci C, Van Orshoven A, Tricot G, et al: Trisomy 4 identifies a subset of acute nonlymphocytic leukemias. *Blood* 1986; 67: 1328-1332.
- Nowell PC, Hungerford DA: A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
- Oguma N, Misawa S, Testa JR: A variant 8;21 translocation in acute myeloblastic leukemia. *Am J Hematol* 1983; 15: 391-396.
- Parkin LJ, Arthur DC, Abramson CS, et al: Acute leukemia associated with the t(4;11) chromosome rearrangement; Ultrastructural and immunologic characteristics. *Blood* 1982; 60: 1321-1331.
- Raimondi SC, Williams DL, Callahan T, et al: Nonrandom involvement of the 12p12 breakpoint in chromosome abnormalities of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1986; 68: 69-75.
- Rowley JD: Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann Genet (Paris)* 1973a; 16: 109.
- Rowley JD: A new consistent chromosomal abnor-

- rmality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973b; 243: 290-292.
- Rosendorff J, Bowcock AM, Kuyl JM, et al: Localization of the human c-mos gene by in situ hybridization in two cases of acute nonlymphocytic leukemia type M2. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 24: 137-141.
- Sakurai M, Kaneko Y, Abe R: Further characterization of acute myelogenous leukemia with (8; 21) chromosome translocation. *Cancer Genet Cytogenet* 1982; 6: 143-152.
- Schwartz S, Tiji R, Kerman S, et al: Translocation (6;9) (p23;q34) in acute nonlymphocytic leu6; 9) (p23; q34) in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1983; 10: 133-138.
- Schwartz PC, Witte ON: The role of multiple oncogenes in hematopoietic neoplasia. *Mutat Res* 1988; 195: 245-253.
- Smith L, McCulloch EA, Benchimol S: Expression of the p53 oncogene in acute myeloblastic leukemia. *J Expt Med* 1986; 164: 751.
- Swirsky DM, Li YS, Matthews JG, et al: 8; 21 translocation in acute granulocytic leukemia: Cytological cytochemical and clinical features. *Br J Haematol* 1984; 56: 199-213.
- Williams DL, Harber J, Murphy SB, et al: Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1986; 68: 205-212.
- Wolf D, Rotter V: Inactivation of p53 gene expression by an insertion of Moloney murine leukemia virus-like DNA sequences. *Mol Cell Biol* 1985; 4: 1402.

=Abstract=

Chromosomal Aberrations and Oncogenic Translocation in Acute Leukemiae

Sung Ik Chang, MD; Chang Heon Yang, MD*

*Department of Anatomy, Keimyung University, School of Medicine, Taegu and Department of Internal Medicine, DongGuk University, School of Medicine Kyungju, Korea**

To investigate the specific chromosomal abnormalities and role on oncogenes in human acute leukemia, bone marrow cells from ten cases of acute leukemia patients were cultured and karyotyped after G-banding. DNA in situ hybridization was also performed on the same samples with K-ras, erb-B2, mos and p53 oncogenes. The most characteristics of chromosome abnormalities were marker chromosomes, deletion types of (1) (q26), (2)(p25), (7)(q25), 8(q26), (16)(q24) and t(3;10)(q12;q11) in AML, while deletion types of (1) (q28), (1)(p11), (9)(q34) and t(9;22)(q34;q12) were found in ALL. It was found that three oncogenes (erb-B2, mos, p53) except K-ras were activated with translocation in both subtype leukemia by DNA in situ hybridization. It was obscure that chromosome aberrations and activation of oncogenes were not correlated by individuals. It is presumed that acute leukemia-related antioncogenes are located on the chromosome 1 and 2 and direct activating gene causing acute leukemia in oncogenesis is located on the chromosome 9. An activation of erb-B2, mos and p53 is related to the secondary effect on oncogenesis in acute leukemia.

Key Words: Antioncogenes, Marker chromosomes, Oncogene