

원발성 편평상피세포암과 유도된 세포주의 세포-분자유전학적 비교

계명대학교 의과대학 외과학교실 및 해부학교실*

강중신 · 손수상 · 김대광* · 장성익*

=Abstract=

Cyto-Molecular Comparison between Primary Squamous Cell Carcinoma and Derived Cancer Cell Line from Bladder

Joong Shin Kang, M.D., Soo Sang Sohn, M.D., Dage Kwang Kim, M.D.*
and Sung Ik Chang, M.D.*

Department of Surgery, and Anatomy*, Keimyung University,
School of Medicine, Taegu, Korea

To evaluate which cyto-molecular genetic evolutionary patterns take place during the *in vitro* establishment of permanent squamous cell carcinoma cell line of urinary bladder, cyto-molecular genetic follow up was performed on primary culture for two weeks and on cancer cell line after continued culture for three years *in vitro*. Near-diploid cells present on primary culture and near-hypertriploid or hypotetraploid cells, in contrast, present on cancer cell line. Chromosomal gains or losses are random from primary cancer to cell line. There are two kinds of structural cytogenetic abnormalities through progress in culture time. One is maintaining abnormal clone from original cancer to derived cancer cell line. Others are cytogenetic alteration during progressing culture time; Increasing and decreasing abnormal clones are co-existed in both group.

Activation of oncogenes are different from primary cancer to cancer cell line. In conclusion, there are genetic alterations through progressing from primary cancer to cancer cell line. Due to these alterations, cancer cell lines don't substituted for primary cancer and can not be available for using materials to choose production on monoclonal antibody and therapeutic test.

Key Words: Cyto-molecular, Carcinoma, Cancer cell, Cancer cell line, hypertriploid, Diploid, Abnormalities, Monoclonal antibody

서 론

암 분화 과정의 연구에 있어서 세포주가 실험실에서

연구재료로 흔히 많이 사용되고 있으며 그것은 암의 발생과정 뿐만 아니라 암의 진행 및 치료효과 판정에도 중요한 재료로 제공된다^[1,2]. 또한 암세포주는 계속 세포배양해 낼 수 있으므로 단기간에 많은 양의 세포를 얻을 수 있고 이런 특성을 이용하여 단크론항체생산에 대한 면역이나, 적격여부 그리고 생체 혹은 실험실에서의 치료 검사등에 이용되어지고 있다^[3]. 실제로

* 이 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

백혈병, 림프종 및 흑색종에서는 그 암의 특징을 갖고 있는 세포주가 많이 확립되어 있다^{4~6)}. 고형암은 세포주가 많이 확립되어 있음에도 불구하고 세포주가 원발성 암을 대표할 수 있는 것은 거의 없다. 그 원인은 아마도 원발성 암에서 세포주로 이행하는 과정에서 유전적 변화가 생기기 때문인 것 같다. 이런 유전적 변화는 세포유전학적 방법과 분자생물학적 방법으로 찾을 수 있으며 어느 한 가지 방법으로는 불충분하다. 편평상피암 상피에 대한 세포유전학적 보고는 있으나 대부분이 피부에 발생한 암에 대한 보고^{7~12)}이고 방광의 편평상피암에 대한 세포-분자유전학적 보고는 없다. 본 연구의 목적은 원발성 편평상피세포암과 이로부터 유도시킨 세포주에서 특정한 염색체 이상이 같은지 아니면 변화하는지를 찾아내고, 만약 변화한다면 어떤 염색체의 어느 부위가 변화하는지를 찾아내며, 유전자의 활성화가 양자간에 어떠한 차이가 있는지를 규명하므로서 세포주가 원발성 암에서 갖는 유전물질을 그대로 유지하는지의 여부와 세포주가 원발성 암을 대신해서 사용될 수 있는지를 알기 위하여 본 실험을 하게 되었다.

연구대상 및 방법

1) 대상

방광의 편평상피암(남자, 54세)으로 진단된 방광암 조직을 일차적으로 세포배양(2~3주)하고, 3년간 계속 배양하여 세포주를 만들었다.

2) 방법

(1) 세포유전학적 방법

① 세포배양: 수술실에서 얻은 방광암 조직을 수술용 칼로 잘게 썰어(약 1 mm³) 배양 접시에 분산시킨 다음 10%의 우테아 혈청(Gibco 제)이 들어있는 Ham's F-12 배양액(Gibco 제)으로 37°C의 CO₂ 배양기에서 세포배양을 실시하였다. 배양액은 3~5일마다 교환했으며 계대배양은 배양 용기에 세포가 가득차면 실시하였다.

② 세포수확: 계대배양을 하지 않은 약 2~3주 된 원발성 방광암 세포와 세포주에 colcemid(최종 농도 0.1 mg/ml, Gibco 제)로 1~1.5시간 처리한 후, 0.25% 트립신으로 세포를 탈락시킨 다음 0.075M KCl

저장액에 37°C 수조에서 20분간 처리하였다. 세포의 고정은 메탄올과 초산이 3:1로 배합한 고정액으로 3~4회 실시하였다.

③ 염색체 분석: 두 종류의 암세포의 염색체 슬라이드를 3~4일간 37°C에서 방치한 다음 60°C의 2X SSC(0.03 gm/l NaCl + 0.003 gm/l sodium acetate)에 40~50분간 처리하여 흐르는 물에 세척하여 공기 건조시켰다. 0.025% 트립신으로 슬라이드를 5~10초간 처리한 후 4% Giemsa(Merck 제) 용액에 5분간 염색하여 G-banding을 실시하여 1,000배율로 사진 촬영한 후 핵형 분석하였다.

(2) 분자학적 연구

Southern blot: 방광의 원발성 암에서의 DNA의 추출은 파라핀에 포매된 조직을 5 μm의 박절편을 만들어 50 ml의 xylene으로 탈파라핀하고 3,000rpm으로 10분간 원심 침전한 다음 연속적으로 xylene, 에탄올 및 1XSSC로 처리하였다. 용액 A[SSC: 1% sodium dodecyl sulfate(=SDS); proteinase K, 100 μg/ml]로 37°C에서 16시간 처리한 후 5,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 버리고 침전물을 다시 용액 A로 재처리한 다음 원심분리의 상층액을 모아 페놀-클로로포름 처리하여 에탄올로 DNA를 침전분리하였다. 세포주에서는 0.25% 트립신으로 세포를 배양용 기에서 분리시킨 다음 SE[75 mM NaCl, 25 mM ethylenediaminetetraacetic acid(=EDTA), pH 7.4]로 2회 세척하고 10 ml의 SE에 SDS(1%), proteinase K(100 μg/ml)를 추가하여 37°C에서 약 16시간 둔 후 페놀로 처리하여 DNA를 추출하였다. 재한효소는 10 μg의 DNA를 소화시킨 다음 0.8% agarose 겔(Sigma 제)에 전기 영동하였다. 전기 영동 후 겔을 0.5M NaOH, 1.5M NaCl 그리고 20XSSC로 각각 1시간 처리하고, 20XSSC로 capillary transfer를 실시하였다. 이동된 nylon 막(Schleicher & Schuell 제)을 6XSSC에 잠시 세척한 다음 80°C에서 2시간 동안 구웠다. Random prime labeling kit (Amersham 제)와 α -³²P dCTP로 probe를 분리한 후 labeling하여 65°C에서 16시간 hybridization하였다. [hybridization 용액: 0.5 M NaHPO₄, 0.25 M NaCl, 7% SDS, 1mM EDTA, 10% polyethylene glycol-6000]. 세척은 2XSSC, 0.1% SDS 용액과 0.1XSSC, 0.1% SDS 용액에서 각각 65°C에서

Fig. 1. Karyotype of primary cancer cell.

M: unidentified marker chromosome R: unidentified ring chromosome
Arrows: der(2) t(2;?), t(14;15) (q;q)

Fig. 2. Karyotype of derived cancer cell line.

M: unidentified Marker chromosome
Arrows: del(1) (p31) X2, der(2) t(2;2) (qter;?) del(3) (q21), del(3) (p21), iso(13q), t(13;15) (q;q), iso(21q)

20분간 2회 실시하였고 3~6일간 -80°C에서 자가방사능기법을 이용하여 암실에서 현상하였다.

결 과

방광의 원발성 편평상피암과 세포주에서 실시한 세포유전학적 분석과 Southern blot의 결과는 다음과 같다.

1) 방광의 원발성 편평세포암의 세포유전학적 분석

총 48개 세포에서 배수성 상태에 따른 염색체수의 분포는 34개의 세포가 과이배수성(hyperdiploid)을 나타냈다(70.83%)(Table 1).

과이배수성 상태 중에서 염색체수의 분포는 염색체 수가 52개에서 56개 사이에서 많이 보였다. 염색체의 수가 증가 경향이 있는 것은 염색체 1, 3, 20, 21, 16, 9, 13, 22 및 5번의 순서로 나타났으며 감소 경향에 있는 것은 염색체 8, 6, 15, 10, 17, 12, 4, 11 및 14번 순서로 나타났으며 전반적으로 증가경향에 있는 것 보다 적은 빈도로 나타났다(Table 2).

염색체의 구조적 이상은 del(1) (q31) (18.2%), der(2) t(2;?) (qter;?) (68.2%), del(3) (p21) (50%), iso(13q) (13.6%), iso(15q) (31.8%), iso(18q) (13.6%)

그리고 기원을 알 수 없는 여러 표지 염색체와 환상 염색체(81.8%)가 있었다(Table 3).

2) 세포주의 세포유전학적 분석

총 114개 세포에서 염색체를 얻을 수 있었으며 배수성 상태에 따른 염색체수의 분포는 과삼배수성(hypertriploid)에서 33(28.95%)개의 세포가, 저사배수성(hypotetradploid)에서는 43(37.72%)개의 세포가 각각 나타났으며(Table 4), 과삼배수성, 저사배수성, 사배수성 상태에 나타나는 염색체수의 분포는 염색체 수가 79~87개 사이에서 가장 많았다(Table 4).

염색체의 수가 증가하는 경향에 있는 것은 염색체 20, 3, 16, X, 5, 19 및 7번의 순서로 나타났고 감소

Table 1. Distribution of chromosome number in the primary squamous cell carcinoma of the urinary bladder according to ploid state

Ploid state (Chromosome range)	Cell number	(Percentage)
Hypodiploid(36~45)	4	(8.33)
Diploid(46)	0	(0.00)
Hyperdiploid(47~57)	34	(70.83)
Hypotriploid(58~68)	5	(10.42)
Over triploid(over 69)	5	(10.42)
Total	48	(100.0)

Fig. 3. Southern blot analysis of Erb B2 gene.

Fig. 4. Southern blot analysis of H-ras gene.

Table 2. Analysis of numerically chromosomal changes in the primary cancer cell

Chromosome number	Chromosome gains	Chromosome losses	Percentage [#]	Percentile number
1	23	0	+ 109.5	71.2
2	11	4	+ 33.3	53.7
3	22	0	+ 104.8	70.1
4	9	5	+ 19.1	50.4
5	10	1	+ 42.9	55.9
6	1	13	- 57.1	32.9
7	5	4	+ 4.8	47.1
8	2	16	- 66.7	30.7
9	13	1	+ 57.1	59.1
10	1	11	- 47.6	35.1
11	0	5	- 23.8	40.5
12	8	7	+ 4.8	47.1
13	13	3	+ 47.6	57.0
14	5	5	0	46.0
15	7	10	- 14.3	42.7
16	14	3	+ 52.4	58.0
17	6	10	- 19.1	41.6
18	7	1	+ 28.6	52.6
19	17	1	+ 76.2	63.5
20	22	0	+ 104.8	70.1
21	19	0	+ 90.5	66.8
22	12	4	+ 38.1	54.8
X	6	0	+ 28.6	52.6
Y	1	2	- 4.8	44.9

Total cell number: 21

Standard chromosome number: 46(0 percent)

Percentage[#]: sum of chromosome gains and losses/21 × 100

하는 경향에 있는 것은 염색체 제 6, 8, 15, 13, 10, 14, 22 및 4번의 순서로 나타났으며 전반적으로 증가 경향에 있는 것보다 많은 빈도로 나타났다(Table 5).

염색체의 구조적 이상으로 del(1) (p22) (12.9%), del(1) (p31) (64.5%), del(1) (q31) (58.1%), del(1) (q41) (22.6%), der(2) t(2;?) (qter:?) (74.2%), del(3) (p21) (76.7%), del(3) (q21) (9.7%), 5q+ (9.7%), iso (13q) (16.1%), iso(14q) (12.9%), iso(15q) (12.9%), t (13;15) (q;q) (16.1%), iso (21q) (12.9%)가 나타났고, 기원을 알 수 없는 여러 표지 염색체와 환상 염색체 (12.9%)가 있었다(Table 6).

방광의 원발성 편평암이 세포주로 이행되면서 나타나는 염색체의 구조적 이상의 변화(빈도)를 비교하면

Fig. 5. Southern blot analysis of K-ras gene.

Table 3. Structural abnormalities of chromososome analysis in the primary cancer cells

Clonal anomalies	Cell No.	(%)	Nonclonal anomalies	Cell No.	(%)
del(1) (q31)	4	(18.2)	del(1) (p31)	2	(9.1)
der(2) t(2;?) (qter;?)	15	(68.2)	del(1) (q21)	1	(4.5)
del(3) (p21)	11	(50.0)	3q+	1	(4.5)
iso(13q)	3	(13.6)	del(5) (p14)	1	(4.5)
iso(15q)	7	(31.8)	del(6) (q21)	1	(4.5)
iso(18q)	3	(13.6)	7p+	1	(4.5)
M1	18	(81.8)	del(8) (p21)	1	(4.5)
M2	9	(40.9)	8p+	2	(9.1)
M3	5	(22.7)	8q+	1	(4.5)
M4	3	(13.6)	9p+	2	(9.1)
M5	5	(22.7)	del(10) (p13)	1	(4.5)
ring chromosome	18	(81.8)	10p+	1	(4.5)
			iso(14q)	2	(9.1)
			t(13;15) (q;q)	1	(4.5)
			t(14;15) (q;q)	1	(4.5)
			iso(21q)	1	(4.5)
			M 6	2	(4.5)
			M 7	1	(4.5)
			M 8	2	(4.5)
			M 9	1	(4.5)
			M10	1	(4.5)

Table 4. Distribution of chromosome number in cell line according to ploid state

Ploid state (Chromosome range)	Cell number	(Percentage)
Hypodiploid(36~45)	1	(0.88)
Diploid(46)	0	(0.00)
Hyperdiploid(47~57)	5	(4.39)
Hypotriploid(58~68)	15	(13.16)
Triploid(69)	2	(1.75)
Hypertriploid(70~81)	33	(28.95)
Hypotetraploid(82~91)	43	(37.72)
Tetraploid(92)	5	(4.39)
Over triploid(over 92)	10	(8.77)
Total	114	

der(2) t(2;?) (qter;?) (68.2%→74.2%), del(3) (p21) (50.0%→76.7%), iso(13q) (13.6%→16.1%) 및 iso(15q) (31.8%→12.9%)는 클론성 염색체의 구조적 이상이 유지되는 것 이었고 클론성 염색체 구조적 이상

으로서 그 빈도가 증가하는 경우는 del(1) (q31) (18.2%→58.1%)이었다(Table 7). 반대로 세포주로 되면서 빈도가 감소하는 클론성 염색체 구조적 이상은 환상 염색체이었다(81.8%→12.9%)(Table 7). del(1) (p31) (9.1%→64.5%), del(1) (q41) (0.0%→22.6%), t(13;15) (q;q) (4.5%→16.1%) 및 iso(21q) (4.5%→12.9%)는 비클론성에서 클론성으로 변하는 염색체의 구조적 이상들 이었고 iso(18q) (13.6%→0.0%)는 클론성에서 비클론성 염색체의 구조적 이상으로 변하였다(Table 7).

3) Southern blot의 분석

H-ras는 대조군과 똑같이 원발성 암에서는 XbaI 으로 절단했을 때 18.0 kb와 10.4 kb, 4.2 kb, 3.6 kb, 2.6 kb에서 band가 나타났으나 세포주에서는 3.6 kb와 2.6 kb에서는 band가 나타나지 않았다. K-ras의 중폭이 원발성 암에서는 없었으나 세포주에서는 있었다. ErbB-2의 재배열이 원발성 암과 암세포주에서 함께 나타났으나 재배열의 위치가 양자간에 차이가 있었

Table 5. Analysis of numerically chromosomal changes in cell line

Chromosome number	Chromosome gains	Chromosome losses	Percentage*	Percentile number
1	47	6	+ 132.3	122.4
2	5	12	- 22.6	86.8
3	21	11	+ 32.3	99.4
4	4	29	- 80.6	73.5
5	12	10	+ 6.5	93.5
6	0	88	- 283.9	126.7
7	11	11	0	92.0
8	0	70	- 225.8	40.0
9	7	25	- 58.1	78.6
10	2	42	- 103.2	68.3
11	7	16	- 29.0	85.3
12	0	20	+ 64.5	77.2
13	3	43	- 129.0	62.3
14	1	38	- 119.4	64.5
15	0	65	- 209.7	43.8
16	20	16	+ 12.9	95.0
17	6	23	- 54.8	79.4
18	6	21	- 48.4	80.9
19	12	17	- 16.1	88.3
20	29	7	+ 71.0	108.3
21	7	14	- 22.6	46.8
22	4	35	- 100.0	69.0
X	17	3	+ 45.2	102.4
Y	0	18	- 58.1	78.7

Total cell number: 31

Standard chromosome number: 92(0 percent)

Percentage*: sum of chromosome gains and losses/31 × 100

다. 그외의 유전자(N-ras, c-myc, c-fos, v-sis, p53)는 대조군과 별차이 없이 나타났다.

고 찰

암세포주의 핵형은 일반적으로 많은 구조적 이상을 동반하여 주로 삼배체 내지 사배체 근처의 수가 대부분이다^{6,13}. 반면에 원발성 암을 단기간 배양한 후 핵형분석을 하면 대체로 이배체 근처의 수가 많다. 이러한 차이는 원발성 암에서 존재하는 삼배체 내지 사배체를 가지고 있는 소수의 세포가 배양 시간이 지남에 따라 그 세포수가 증가하기 때문일 수도 있고 배양 도중에 갑자기 세포가 진화현상을 일으켜 나타나기 때문

일 수도 있다. 본 실험에서도 원발성 방광 평평상피세포암에서는 이배체 근처의 세포가 대부분인 반면 세포주가 되고 나서는 삼배체와 사배체 근처의 세포가 대부분이었다. Rey 등^{14,15}은 신경교종에서 원발성 암에서 이배체이던 세포가 복제(duplication)를 일으켜 세포주에서는 사배체가 되고 유전자 dose의 작용에 의하여 염색체가 증가하거나 감소하여 세포자체가 안정성을 유지하게 되며 이때 대체로 저사배체(hypotetraploid)가 된다고 하였다. 본 실험에서 각각의 염색체수는 원발성 암에서는 1, 3, 20, 21, 16, 9, 13, 22 및 5번의 순서로 증가하는 경향에 있었고 염색체 8, 6, 15, 17, 12, 4, 11 및 14번의 순서로 감소하는 경향에 있었다. 반면 세포주에서는 염색체의 수가 중

Table 6. Structural abnormalities of the chromosome analysis in cell line

Clonal anomalies	Cell No.	(%)	Nonclonal anomalies	Cell No.	(%)
del(1) (p22)	4	(12.9)	del(1) (q21)	1	(3.2)
del(1) (p31)	20	(64.5)	3q+	1	(3.2)
del(1) (q31)	18	(58.1)	4q+	1	(3.2)
del(1) (p41)	7	(22.6)	del(6) (q25)	1	(3.2)
der(2) t(2;?) (qter;?)	23	(74.2)	del(8) (p21)	2	(6.5)
del(3) (p21)	21	(76.7)	8q+	1	(3.2)
del(3) (q21)	3	(9.7)	del(10) (p13)	1	(3.2)
5q+	3	(9.7)	10p+	2	(6.5)
iso(13q)	5	(16.1)	13p+	1	(3.2)
iso(14q)	4	(12.9)	t(13;14) (qq)	1	(3.2)
iso(15q)	4	(12.9)	t(14;15) (qq)	1	(3.2)
t(13;15) (q;q)	5	(16.1)	iso(17q)	1	(3.2)
iso(21q)	4	(12.9)	iso(22q)	2	(6.5)
M1	8	(25.8)	M6~M30	1	(3.2)
M2	20	(32.3)			
M3	22	(71.0)			
M4	8	(25.8)			
M5	3	(9.7)			
ring chromosome	4	(12.9)			

Table 7. Reservations and alternations of structural cytogenetic analysis in the process from primary bladder cancer to cell line

Cytogenetic reservation	Primary cancer	KUMA-1
Maintaining abnormal clone		
der(2) t(2;?) (qter;?)	68.2%	74.2%
del(3) (p21)	50.0%	76.7%
iso(13q)	13.6%	16.1%
iso(15q)	31.8%	12.9%
Cytogenetic alternation		
Increasing abnormal clone		
del(1) (q31)	18.2%	58.1%
Decreasing abnormal clone		
ring chromosome	81.8%	12.9%
Cells from nonclonal to clonal		
del(1) (p31)	9.1%	64.5%
del(1) (q41)	0.0%	22.6%
t(13;15) (q;q)	4.5%	16.1%
iso(21q)	4.5%	12.9%
Cells from clonal to nonclonal		
iso(18q)	13.6%	0.0%

가하는 경향에 있는 것은 염색체 20, 3, 16, X, 5, 19 및 7번의 순서로 나타났고 감소하는 경향에 있는 것은 염색체 6, 8, 15, 13, 10, 14, 22 및 4번의 순서로 나타났다. 원발성 암에서 나타난 숫자이상과 세포주에서 나타난 숫자이상은 특점염색체에 국한된 것이 아니고 작위적으로 나타났다. 그 원인은 아직 설명이 곤란하다. 염색체의 구조적 이상은 두가지 형태로 나타난 것이 특징이었다. 한가지는 원발성 암에서 나타난 구조적 이상이 세포주에서도 같은 비율로 존재하였고 다른 한가지는 원발성 암에서 나타난 구조적 이상이 세포주에서 상당히 증가하는 것과 감소하는 것이 동시에 존재하였으며 원발성 암에서 클론되지 않는 염색체가 세포주에서는 클론되어 있는 것도 있었으며 그 반대되는 현상도 있었다. 즉 구조적 염색체 이상이 원발성 암에서 세포주가 되면서 매우 다양한 형태로 변화됨을 알 수 있었다. 이런 변화의 원인은 아직 모르나 적어도 고형암의 암화과정 연구에 있어서 세포주가 원발성 암을 대신할 수 없다는 사실은 명확하다. 암유전자의 실험에서 ErbB-2가 원발성 암과 세포주에서 똑같이 재배열이 있었으나 재배열의 양상은 각각 달랐다. H-

ras와 K-ras는 원발성 암에서는 정상이었으나 세포주에서는 활성화되어 있었다. 원발성 암과 세포주에서 암유전자에 관하여 연구된 것은 없으므로 이들의 역할이 무엇인지는 아직 모른다. 적어도 세포주에서 암 유전자가 활성화되었다 해도 반드시 원발성 암에서도 활성화되어 있지 않다는 것은 분명하다. 위암세포에서 배양시기에 따라 염색체 이상을 분석해 본 결과 원발성 암에서는 이배체 균처였다가 25 passage에서 이배체와 사배체가 반반 정도 나타나다가 31 passage에서는 거의 사배체 균처로 바뀌었다¹⁶⁾. 이것은 원발성 암에서 암이 진행되는 동안 복제를 통해 진화되어 나가는 현상으로 생각된다. 위암에서 암관련 유전자 연구에서도 H-ras, K-ras, EGF receptor, ErbB-2 및 p53등이 세포배양 시기에 따라 모두 다르게 나타난 것은 매우 주목 할만한 결과이고¹⁶⁾ 앞으로도 계속 연구해 볼 가치가 있다. 결국 암은 진행되면서 계속 유전물질의 변화를 초래하고 세포주가 되면 유전물질의 변화없이 안정되어 간다고 생각된다. 결론적으로 고령암에서 세포주는 유전물질의 변화 때문에 원발성 암을 대신할 수 없고 따라서 암화과정의 연구나 암치료 효과판정 등의 재료로서 세포주가 타당하지 않다고 생각된다.

결 롬

방광 편평상피 세포암을 계속 배양하여 세포주를 만들고 원발성 암에서와 세포주에서 세포-분자유전학적인 차이를 알기 위하여 원발성 암은 2주 배양하고 세포주는 3년간 계속 배양하였으며 각각의 암세포를 세포유전학적인 방법과 Southern blot한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 원발성 암에서는 염색체의 수가 이배체 균처였고 세포주에서는 삼배체 내지 사배체 균처였으며 웃적 이상이 특수한 염색체에 국한되어 있지 않고 작위적이였다.

2) 염색체의 구조적 이상은 원발성 암에서 나타난 것이 세포주에서도 그대로 유지되는 것도 있는 반면 클론화된 이상이 증가하는 것도 있었고 감소하는 것도 있었다.

3) 암유전자도 원발성 암에서는 비활성화되어 있었으나 세포주에서는 활성화되는 것도 있었고 양세포에

똑같이 재배열을 나타내는 것은 재배열 양상이 달랐다.

이상의 성적을 종합해 보면 원발성 암에서 세포주를 이행하는 동안 많은 유전적 변화가 있음을 알 수 있으며 이런 유전물질의 변화때문에 세포주가 원발성암을 대신할 수 없다고 생각되며 단클론 생산이나 치료효과 판정에 있어서 세포주를 재료로 선택하는 것은 합당하지 않다고 생각된다.

참 고 문 헌

- Westley BR, May FEB: *Oestrogen regulates cathepsin D mRNA levels in oestrogen responsive human breast cancer cell lines.* Nucleic Acids Res 15: 3773, 1987
- Kozman SC, Bogard ME, Buser K: *The human c-kirsten ras gene is activated by a novel mutation in codon 13 in breast carcinoma cell line MDA-MB 231.* Nucleic Acids Res 15: 5963, 1987
- Tilgen W, Boukamp P, Breikreutz D: *Preservation of morphological, functional and karyotypic traits during long-term culture and in vivo passage of two human skin squamous cell carcinomas.* Cancer Res 43: 995, 1983
- Venaut AM, Rosenfeld C, Tester MJ: *Comparative cytogenetic studies of novel and leukemic lymphoblastoid cell lines during the course of their establishment.* Cancer Res 38: 1815, 1978
- Beinheim A, Berger R, Lenoir G: *Cytogenetic studies on African Burkitts lymphoma cell lines: t(8; 14), t(2;8), t(8;22) translocations.* Cancer Genet Cytogenet 3: 307, 1981
- Becher R, Gibas Z, Kanakonis C, Sandberg AA: *Non-random chromosome changes in malignant melanoma.* Cancer Res 43: 5010, 1983
- Heim S, Jin Y, Mandahl N, Bjorklund A, Wennerberg J, Jonsson N, Mitelman F: *Multiple unrelated clonal chromosome abnormalities in an in situ squamous cell carcinoma of the skin.* Cancer Genet Cytogenet 36: 149, 1988a
- Heim S, Caron M, Jin Y, Mandahl, Mitelman F: *Genetic convergence during serial in vitro passage of a polyclonal squamous cell carcinoma.* Cytogenet Cell Genet 52: 133, 1989
- Jin Y, Heim S, Mandahl N, Bjorklund A, Wennerberg J, Mitelman F: *Multiple apparently*

- unrelated clonal chromosome abnormalities in a squamous cell carcinoma of the tongue. cancer Genet Cytogenet 32: 93, 1988*
- 10) Jin Y, Heim S, Mandahl N, Björklund A, Wennerberg J, Willen R, Mitelman F: *Two unrelated clonal chromosome rearrangements in a nasal papilloma. Cancer Genet Cytogenet 39: 29, 1989*
 - 11) Jin Y, Heims S, Mandahl N, Björklund A, Wennerberg J, Mitelman F: *Diverse chromosomal aberrations in carcinomas of the oral cavity. Genes Chrom Cancer 1: 209, 1990a*
 - 12) Mertens F, Heim S, Jin Y, Johansson B, Mandahl N, Björklund A, Wennerberg J, Jonsson N, Mitelman F: *Baso squamous papilloma -a benign epithelial skin tumor with multiple cytogenetic clones. Cancer Genet Cytogenet 37: 235, 1989*
 - 13) Trent JM, Thompsom FH, Ludwig C: *Evidence for selection of homogeneously staining regions in a human melanoma cell line. Cancer Res 44: 233, 1984*
 - 14) Rey JA, Bello MJ, de Campos JM, Kusak ME, Moreno S: *Cytogenetic follow-up from direct preparation to advanced in vitro passages of a human malignant glioma. Cancer Genet Cytogenet 41: 175, 1983*
 - 15) Rey JA, Bello MJ, de Campos JM, Kusak ME, Ramos c, Benitez J: *Chromosomal patterns in human malignant astrocytomas. Cancer Genet Cytogenet 29: 201, 1987*
 - 16) 장성익, 김태평: *Cyto-molecular comparison between primary cancer and its derived cancer cell line from human squamous cell carcinoma of urinary bladder. The Japan Clinical Human Genetics, 1994 (in press)*
-