

# 人の白血病染色体に関する研究

川 村 範 夫

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

〔昭和40年4月23日受稿〕

## 目 次

I. 緒 言	1. 正常人の染色体
II. 実験材料及び実験方法	2. 各種白血病の染色体
1. 末梢血白血球培養法	V. 考 按
2. 骨髓直接法	1. 染色体研究法について
3. 低張処理押し潰し法	2. 正常人の染色体について
4. 染色体の観察	3. 白血病の染色体について
III. 症 例	VI. 結 論
IV. 実験成績	

染色体を研究した結果を報告する。

## I. 緒 言

人の癌を始め種々の悪性腫瘍における染色体異常に関しては既に古くから多くの業績があるが、白血病における染色体の研究は近年まで解明されないまま放置されていた。それは主として技術面での障害のためであった。近年に至りこの分野にも組織培養法が導入され、染色体研究は飛躍的な発展をとげた。この点に関して Nowell ら (1960)<sup>37)38)41)</sup> が創始した末梢血培養法の果たした役割は非常に大きい。一方低張処理標本作製に関する技術的進歩は, Sandberg ら (1960)<sup>62)</sup> による骨髓直接法に発展した。

この様に現在白血病における染色体の研究は、末梢血培養法と骨髓直接法との二つの相対立する方法の確立と共に近年急激に発展するに至り、白血病種類別の染色体異常を研究する段階に達している。

しかしこれまでの諸家の報告は白血病症例の血液学的事項が未整理のまま報告されている場合が多い。確実な病型分類がなされていないと思われるような曖昧な表現も散見される。著者の属する平木内科教室では骨髓組織培養法による白血病の診断法<sup>39)40)</sup>を確立し、同時に培養された白血病細胞の生態観察、更に細胞化学的検査・螢光顕微鏡的検査・電顕像などできるだけ多くの手段を用いて血球鑑別を試み、白血病の分類に多大の成果を収めている。<sup>7)</sup> 今回著者は当教室で正確に分類された各種白血病13例につき末梢血培養法及び骨髓直接法により

## II. 実験材料及び実験方法

末梢血白血球培養法及び骨髓直接法を併用したが、主として前者によつた。標本作製は水処理押し潰し法によつた。

### 1. 末梢血白血球培養法

末梢血白血球を phytohemagglutinin (以下 PHA と略す)<sup>61)</sup> によつて分離し、この血清浮遊液と合成培地 TC199<sup>38)</sup> を 1:4 の比で混合、37°C で 48~72時間静置培養した。標本作製の2時間前 colchicine<sup>6)</sup> を培地に対する最終濃度が 0.005% となる様に添加した。

以上は大体 Moorhead ら (1960)<sup>37)</sup> の方法に準拠したが、一部で若干の改良を試みた。改良した主要点は白血病では症例により末梢血白血球数の変動が大きいので、培養に際し常に一定の培地濃度を得るため、一旦白血球を集め、これを別に準備した自家血清又は馬血清に一定量ずつ再浮遊させる操作を挿入した事で、これにより末梢血白血球数の変動のいかにかわらず、同一条件下で培養する事が可能となつた。

### 2. 骨髓直接法

症例 1, 4, 7 では骨髓を穿刺採取後直ちに低張処理押し潰し法により標本作製した。又症例 3, 6, 10 では Bottura ら (1960)<sup>8)</sup> の方法に従い、骨髓穿刺の2時間前に colcemid 0.1 mg/体重 kg を静注し

た。

### 3. 低張処理押し潰し法

低張処理は、牧野ら(1952)<sup>35)</sup>の水処理押し潰し法に準拠し、一般に蒸留水を、又線維素析出のおそれのある時は1%クエン酸ソーダを使用した。染色固定には酢酸ダリアを使用した。染色後は押し潰し標本を作製した。

### 4. 染色体の観察

染色体数の算定は個々の染色体の明瞭に識別できる分裂中期像についてのみ行い、その中の一部について核型分析を行った。核型分析については1960年のDenver方式<sup>63)</sup>に従った。

## III. 症 例

観察した13例の白血病患者の内訳は、急性骨髄性白血病(AMLと略す、以下同じ)3例、急性淋巴性白血病(ALL)3例、単球性白血病(ML)2例、赤白血病(EL)1例、慢性骨髄性白血病(CML)2例、慢性淋巴性白血病(CLL)1例、及びDown氏症候群を合併したALLの1例である。この内初めの12例は当科入院患者であり、最後の1例は当大学小児科外来患者であった。別に健康で遺伝性疾患の負荷を認めない男2名、女3名を対照として染色体を観察した。

各白血病症例の入院時(症例13では外来検査時)の末梢血液像、骨髓像はそれぞれ表1, 2の通りである。染色体の研究はこれら血液学的検査と殆ど同時に、最大限4日以内に行つた。特に註記した症例5, 10, 11, 12の他は、染色体検査前に白血病に対する治療は行つていなかった。

#### 症例 1. AML 女 29才 工員

1960年10月発病、高熱・めまいあり、11月18日入院。

#### 症例 2. AML 女 54才 主婦

1960年12月発病、咽頭痛・高熱あり、その後出血傾向をきたす。1961年1月11日入院。

#### 症例 3. AML 男 67才 僧侶

1961年3月発病、貧血・顔面浮腫あり、6月9日入院。

#### 症例 4. ALL 男 16才 高校生

1961年5月発病、高熱・めまいあり、更に出血傾向をきたし、6月16日入院。

#### 症例 5. ALL 男 7才 小学生

1961年11月、貧血・出血斑をもつて発病、12月17、月当科へ入院、prednisolone内服及び輸血で寛解し、

1962年2月3日退院した。以後も自宅でprednisolone内服を続けていたが再燃、4月21日再入院した。染色体研究は再入院時に行つた。

#### 症例 6. ALL 女 51才 工員

1961年7月発病、貧血・高熱あり、9月1日入院。

#### 症例 7. ML 男 53才 農業

1961年1月発病、高熱・出血傾向あり、2月20日入院。

#### 症例 8. ML 女 17才 無職

1961年7月発病、高熱・出血傾向あり、歯肉出血のため当大学耳鼻科受診、8月9日当科へ転科入院した。

#### 症例 9. EL 男 47才 会社員

1961年2月発病、高熱・痔出血あり、3月3日入院。

#### 症例 10. CML 男 30才 農業

1958年9月脾腫に気づき、某病院でCMLと診断され6-mercaptopurine服用により軽快、その後再び悪化し、1960年11月4日当科へ入院。今回はmyleran服用により軽快、1961年1月退院。その後もmyleran服用を続けていたが、2月に白血球減少をきたし休薬していた。5月下旬より血液像の悪化(急性転化の徴候)を認め、6月9日再入院した。

#### 症例 11. CML 男 34才 石工

1960年9月脾腫を指摘され、某病院に入院。CMLの診断でmyleranによる治療を続けたが、1961年2月、白血球減少のため休薬し、退院。以後は全く放置していたが、1961年10月頃より再び脾腫の増大を認め、同年12月15日当科へ入院した。

#### 症例 12. CLL 男 69才 工員

1959年6月より全身各所のリンパ腺腫脹に気付くも放置して、胡桃大にまで達した。更に微熱を生じる様になり、1961年5月某病院に入院。リンパ生検でCLLと診断され、thio-TEPA, X線照射等の治療を行い、稍縮小化の傾向をみたが、6月23日当科へ転化した。

#### 症例 13. Down氏症候群を合併したALL

女 9才

母親31才の時、同胞3人の第2子として生れた。生下時体重2,600g、歩行は2年6カ月、人の識別は5年で可能となつたが発語はなお不能であった。

1961年2月、發育障害を主訴として当大学小児科を受診、頭蓋は小さく、鞍鼻、内眼角贅皮、耳殻異常、翼状頰を有し、眼球震盪を認めた。手には小指内転及び猿線を認めた。約2カ月間、外来で蛋白同

表 1 白血病症例の末梢血液像

症例 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
診断	AML	AML	AML	ALL	ALL	ALL	ML	ML	EL	CML	CML	CLL	ALL+ Down's S.
白血球数* ( $\times 10^3$ )	21.7	8.6	4.3	6.1	6.5	3.6	2.9	33.8	2.9	26.0	48.4	42.0	74.3
原赤芽球	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
*大 赤 芽 球 系	塩基性	—	—	1/100	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	多染性	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	正染性	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	塩基性	—	—	2/100	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	多染性	1/100	—	15/100	—	1/100	—	—	14.0	2/100	—	—	1/100
	正染性	—	—	5/100	—	—	—	—	83.0	—	—	—	—
核分裂像	—	—	—	—	—	—	—	0.5	—	—	—	—	
骨髓芽球	58	68	13	—	—	—	—	—	—	7	1	—	
好 中 性 粒	前骨髓球	15	9	1	—	1	—	—	—	6	12	—	—
	骨髓球	1	—	—	—	—	—	0.5	—	3	4	—	—
	後骨髓球	—	—	2	—	—	3.0	0.5	—	5	7	—	—
	桿状核球	4	2	6	—	—	5.0	2.5	6	—	17	15	—
	分葉核球	2	—	7	—	1	32.0	4.0	6	—	33	44	3
好 酸 性 球	前骨髓球	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—
	骨髓球	—	—	1	—	—	—	0.5	—	6	—	—	—
	後骨髓球	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	桿状核球	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
	分葉核球	—	—	—	—	—	6.5	—	—	—	—	—	—
好 塩 基 性 球	前骨髓球	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—
	骨髓球	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	後骨髓球	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	成熟球	—	—	—	—	—	1.5	1.5	2	—	2	10	—
単 球 系	単芽球	—	—	—	—	—	32.0	18	—	—	—	—	—
	前単球	—	—	—	—	—	30.5	22	—	—	—	—	—
	単球	2	4	2	—	—	—	25.0	8	—	3	3	2
淋 巴 系	淋巴芽球	—	—	—	63	23	8.5	—	—	—	—	—	58
	大淋巴球	2	3	8	3	2	4.0	0.5	6	0.5	1	—	31
	小淋巴球	16	14	59	34	73	39.5	2.0	32	2.0	7	4	91
核分裂像	—	—	—	—	—	—	0.5	—	—	—	—	1	
Peroxidase 反応	83	80	18	×	1	48	33.5	66	×	×	78	×	×
色素量 (ザリー値)	17	32	35	24	50	94	45	35	42	90	107	49	57
赤血球数 ( $\times 10^4$ )	85	156	146	131	255	514	220	208	188	501	633	336	304
粒球数 ( $\times 10^4$ )	1.02	1.25	0.88	0.39	0.25	4.65	1.83	2.29	1.88	36.79	17.72	5.04	0.30

\* 症例 9 に関しては有核細胞数を記した。

\*\* 症例 9 の他は白血球 100 に対する比率で表わした。

\*\*\* ×は未施行を表わす。

表 2 白血病症例の骨髓像

症 例 No.	1	2	3	4	6	8	9	10	11		
診 断	AML	AML	AML	ALL	ALL	ML	EL	CML	CML		
有核細胞数(×10 <sup>4</sup> )	9.2	25.0	18.5	11.5	20.7	35.5	17.5	11.2	74.2		
赤芽球系	原赤芽球	—	—	2.4	—	—	0.4	3.8	0.2	—	
	大	塩基性	—	0.2	11.2	—	0.1	0.8	18.4	0.8	1.0
		多染性	—	—	7.2	—	0.1	—	16.6	0.2	—
		正染性	—	—	0.8	—	—	—	4.0	—	—
	正	塩基性	—	—	2.0	—	0.3	0.8	3.6	—	2.0
		多染性	0.2	0.6	14.4	—	0.7	1.6	19.2	1.2	2.0
正染性		0.2	—	10.8	—	0.3	0.4	20.2	0.8	—	
核分裂像	—	—	0.8	—	—	—	1.0	—	—		
顆粒球系	骨髓芽球	64.2	79.4	14.8	—	—	—	4.8	4.8	1.5	
	好中性	前骨髓球	25.6	7.0	6.8	—	1.3	0.4	1.0	18.8	10.0
		骨髓球	3.0	0.2	2.8	—	1.3	—	—	6.4	13.5
		後骨髓球	4.6	0.2	2.0	—	1.1	0.4	0.2	13.4	17.0
		桿状核球	1.8	—	0.8	—	1.0	0.8	—	13.8	12.5
		分葉核球	2.2	—	0.8	0.2	1.5	0.4	—	13.6	32.5
	好酸性	前骨髓球	0.2	0.2	0.4	—	—	—	—	4.0	—
		骨髓球	—	—	0.4	—	0.3	—	—	5.4	0.5
		後骨髓球	0.2	—	—	—	—	—	—	2.0	0.5
		桿状核球	—	—	—	—	—	—	—	0.6	0.5
		分葉核球	—	—	—	—	0.3	—	—	1.4	1.0
	好塩基性	前骨髓球	—	—	0.8	—	—	—	—	1.6	—
		骨髓球	—	—	—	—	—	—	0.2	0.4	—
		後骨髓球	—	—	1.2	—	—	—	—	0.4	—
成熟球		—	—	0.8	—	—	—	—	3.8	1.5	
単球系	単芽球	—	—	—	—	—	10.0	—	—	—	
	前単球	—	—	—	—	—	64.0	—	—	—	
	単球	—	—	0.8	—	—	12.8	0.8	1.6	0.5	
淋巴球系	淋巴芽球	—	—	—	91.4	90.5	—	—	—	—	
	大淋巴球	—	2.8	7.2	0.2	0.9	0.4	3.0	1.0	0.5	
	小淋巴球	6.4	7.2	9.6	8.0	0.3	6.4	2.0	3.4	2.5	
核分裂像	0.2	0.6	—	—	—	—	—	—	—		
巨核球	—	—	—	—	—	—	—	0.2	—		
形質細胞	1.0	1.6	0.4	0.2	—	0.4	0.4	—	—		
細網細胞	0.2	—	0.8	—	—	—	0.2	0.2	—		
Peroxidase 反応	92.2	80.2	×	×	×	94.2	5.3	79.0	88.0		

註) 症例 5, 12 は骨髓採取不能, 症例 7, 13 は骨髓穿刺未施行.

化ホルモン, GABA 等を投与して経過観察していたがその後来院しなくなった。

1961年8月29日抜歯後止血せず, 更に高熱を来たすようになり, 9月15日再び小児科外来を受診, 末梢血所見より ALL の併発と診断し, 直ちに小児科へ入院させたが家族の事情により未治療のまま退院した。

IV. 実験成績

1. 正常人の染色体

正常人5例における染色体数分布は表3の如くで, 全例とも diploid 数の46に mode を認め, diploid modality は 202/256 (79.0%) であつた。この他 hypodiploid (42~45)の細胞を 35/256 (13.7%), hyperdiploid (47~49)の細胞を 19/256 (7.4%)

に認めた。又これとは別に全体の3.0%に相当する tetraploid の細胞を認めた。

核型分析の結果は22対の常染色体(7群に分けられる)と1対の性染色体(男 XY, 女 XX)を認めた。X染色体は Denver 分類の No. 6~7の常染色体に似た submedian 染色体, Y染色体は No. 21~22の常染色体に似た acrocentric 染色体と考えられる。aneuploid の細胞の核型分析においては一定の傾向はみられなかつた。

2. 各種白血病の染色体

白血病患者症例別の染色体数分布は表4の如くで, 症例13の Down 氏症候群を合併した ALL の1例を除き, 全例 diploid 数の46に mode を認めた。diploid modality は12例の統計では, 560/712 (78.7%) で対照との間に有意の差はみられなかつた。

表3 正常人の染色体数分布

症例 No.	性	実験材料	染色体数								Mitose 合計	Diploid*) 百分率
			~43	44	45	46	47	48	49	85~95		
1.	♂	末梢血	3	2	4	37	3	—	—	2	51	75.5
2.	♂	末梢血	—	1	1	13	—	—	—	—	15	86.7
3.	♀	末梢血	—	2	3	35	1	1	1	1	44	81.4
4.	♀	末梢血	—	1	—	14	—	—	—	1	16	87.5
5.	♀	末梢血	3	6	6	94	6	3	2	3	123	78.3
		骨髓	1	—	2	9	1	—	—	2	15	69.2
		末梢血培養法 小計	6	12	14	193	10	4	4	6	249	79.4
		骨髓直接法 小計	1	—	2	9	1	—	—	2	15	69.2
合計			7	12	16	202	11	4	4	8	264	79.0

\*) 染色体数 85~95 の細胞は百分率算出の対象から除外した。

表4 白血病患者の染色体数分布(その1)

症例 No.	性	病名	実験材料	染色体数								Mitose 合計	Diploid*) 百分率
				~43	44	45	46	47	48	49	85~95		
1.	♀	AML	末梢血	—	2	4	71	3	1	1	2	84	86.6
			骨髓	—	—	1	7	2	—	—	—	10	70.0
2.	♀	AML	末梢血	—	1	1	9	—	—	—	11	81.8	
3.	♂	AML	末梢血	4	1	5	66	—	3	—	—	79	83.5
			骨髓*)	—	1	2	6	—	—	—	1	10	66.7
4.	♂	ALL	末梢血	—	3	8	77	6	1	1	1	97	80.2
			骨髓	—	1	1	8	—	—	—	2	12	80.0
5.	♂	ALL	末梢血	4	5	3	48	2	2	—	64	75.0	
6.	♀	ALL	末梢血	—	2	1	42	7	1	—	1	54	79.2
			骨髓*)	—	—	2	8	1	—	—	1	12	72.7

註 \*) 染色体数 85~95 の細胞は百分率算出の対象から除外した。

註 \*\*) Colcemid 静注後骨髓押し潰し法によるもの。

表 4 白血病患者の染色体数分布(その2)

症例 No.	性	病名	実験材料	染 色 体 数								Mitose 合計	Diploid*) 百分率
				~43	44	45	46	47	48	49	85~95		
7.	♂	ML	末梢血	1	1	2	19	1	1	—	2	27	76.0
			骨 髄	—	1	—	3	—	—	—	—	4	75.0
8.	♀	ML	末梢血	—	—	3	30	3	—	—	36	83.3	
9.	♂	EL	末梢血	1	1	4	104	14	1	—	5	130	83.2
10.	♂	CML	末梢血	2	3	4	36	7	4	2	—	58	62.1
			骨 髄**)	1	—	1	6	—	1	1	—	10	60.0
11.	♂	CML	末梢血	—	2	2	7	1	—	—	12	58.3	
12.	♂	CLL	末梢血	—	1	—	13	2	1	—	17	76.5	
13.	♀	ALL+Down 症候群	末梢血	—	—	—	4	72	3	—	79	91.1***)	

註 \*) 染色体数 85~95 の細胞は百分率算出の対象から除外した。

註 \*\*) Colcemid 静注後骨髄押し潰し法によるもの。

註 \*\*\*) 染色体数47の細胞の百分率をとつた。

表 5 白血病分類別、及び実験方法別の白血病患者染色体数分布\*)

白血病分類 実験方法	染 色 体 数								Mitose 合計	Diploid 百分率
	~43	44	45	46	47	48	49	85~59		
1. AML (No. 1~No. 3)	4	5	13	159	5	4	1	3	194	83.2
2. ALL (No. 4~No. 6)	4	11	15	183	16	4	1	5	239	78.2
3. ML (No. 7~No. 8)	1	2	5	52	4	1	—	2	67	80.0
4. EL (No. 9)	1	1	4	104	14	1	—	5	130	83.5
5. CML (No. 10~No. 11)	3	5	7	49	8	5	3	—	80	61.2
6. CLL (No. 12)	—	1	—	13	2	1	—	—	17	76.5
1. 末梢血培養法	12	22	37	522	46	15	4	11	669	79.4
2. 骨髄直接法	1	3	7	38	3	1	1	4	58	70.4
合 計	13	25	44	560	49	16	5	15	727	78.7

註 \*) 症例 13 は本統計に関しては除外した。

白血病種類別の染色体数分布は表 5 の如くで、diploid modality は AML 83.2%, ALL 78.2%, ML 80.0%, EL 83.5%, CML 61.2%, CLL 76.5% と、CML でやや低値を示した他は特に変動は認めなかつた。

末梢血培養法と骨髄直接法との比較も表 5 の如くで、diploid modality は前者で 79.4%, 後者で 70.4% と骨髄直接法の方がやや低値を示した。

hypodiploid の細胞は 82/712 (11.5%), hyperdiploid の細胞は 70/712 (9.8%) であった。又これらとは別に、全体の 2.1% に相当する tetraploid 領域の細胞がみられた。(tetraploid 領域の細胞は全体から占める割合が少く、厳密に染色体数の算定のできなかつたものも含めたので、diploid modality

の計算にあつては算定の対象から除外した。)

核型分析の点では AML, ALL, ML, EL 及び CLL では各例において対照との間に相異を認めなかつた。CML においては 2 例とも Ph<sup>1</sup> (Philadelphia) 染色体を認めた。Ph<sup>1</sup> を有する細胞の出現率は症例 10 で 19.0%, 症例 11 で 28.5% であった。

Down 氏症候群と ALL との合併例では染色体数 47 の細胞が 72/79 (91.1%) し占めた。この細胞における核型分析では G 群 21 番に trisomy が認められた他に特異所見はなかつた。

全症例を通じて aneuploid の細胞における核型異常に一定の傾向はみられなかつた。

## V. 考 按

## 1. 染色体研究法について

## 1) 末梢血培養法

Osgood ら (1955)<sup>45)</sup> は PHA によつて分離した末梢血中の白血球を培養すると盛んに細胞分裂が起る事を発見した。Nowell (1960)<sup>30)</sup> はこの方法に従つて正常人及び白血病患者の末梢白血球を培養し、細胞学的に比較した。そして正常人では72時間後より、白血病患者では48時間後より活発に分裂を起す細胞が増加してくる事を認めた。Nowell はこれら分裂細胞が、正常人の場合は単球や大淋巴球が PHA によつて分裂能力を誘起されたものであり、白血病の場合は未熟な白血病細胞であると考えた。そしてこれを染色体研究に応用して画期的な成功を収めた。<sup>41)</sup> この末梢血培養法は白血病のみならず、各種遺伝性疾患などの染色体研究においても優秀な方法であつた。

末梢血培養法の長所としては、

(1) 反復して検査の必要な場合、患者に苦痛を与えずに材料を入手する事ができる；

(2) 一時に多くの分裂細胞を得る事ができる——これに比し骨髓法は一時に多くの分裂中期像を得る事は困難であり、時には骨髓穿刺すら不能の場合もある；

(3) 培養した末梢白血球は骨髓細胞に比し、低張処理がしやすく、良好な標本を作りやすい；などの諸点であるが、一方短所としては、最も問題となるのが培養細胞の帰属の問題である。Nowell は白血病細胞と正常白血球との life span の相異を利用して、培養48時間後に白血病細胞の分裂像を得た。著者も Nowell の実験を追試し、ほぼ同様の結果を得た。即ち正常例では培養3日目以降に核分裂像の出現がみられたが、大部分の白血病例では培養2日目より核分裂像が出現した。一部に培養3日目に核分裂像が現われた症例や、2日目よりも3日目に観察に適する核分裂像の多い症例もあつたが、これらの場合も当初より末梢血中に芽球などの白血病細胞が圧倒的に多く、培養経過中もずっと同様の傾向を示した症例であり、染色体標本作製と同時に行った May-Giemsa 染色所見・位相差顕微鏡所見等を参考にして、この時の核分裂像もやはり白血病細胞のものであると判定した。慢性白血病では末梢血への白血病細胞出現が急性白血病ほど多くなく、この点を考慮にいれて標本作製は培養2日目に行つた。

## 2) 骨髓直接法

Sandberg ら<sup>52), 53), 54)</sup> は末梢血培養法に批判的な立場をとり、白血病の場合には一貫して骨髓直接押し潰し法をとつてきた。この方法の長所は *in vitro* の状態が直接反映されることで、Sandberg らはこの方法により他の研究者よりも高率に染色体異常を指摘している。しかし前述した末梢血培養法の長所は裏返せば骨髓直接法の短所でもあり、Baikie ら<sup>4)</sup> も述べている如く、両者を併用する事が現在白血病の染色体研究において最も適切・確実な方法であるといえよう。

Bottura ら (1960)<sup>8)</sup> の colcemid 静注後骨髓穿刺法、Kinlough ら (1961)<sup>31)</sup> の colchicine 静注後骨髓穿刺法、Tjio ら (1962)<sup>55)</sup> の低張処理と同時に colchicine 処理を行う方法などは骨髓直接法の成功率を増大させた点で意義がある。著者も Bottura らの方法を追試し好結果を得た。但し colchicine 及びその誘導体の生体内への注射は慎重に行ふ必要があり、Bottura ら<sup>8)</sup> の様に正常人に対して使用する事は行きすぎであろう。

## 2. 正常人の染色体について

人類の染色体研究は19世紀の終り頃から過去80年の歴史を有し、初期の研究では人類の染色体数は24~32との報告が多い。現在の数字に最も近い値の報告は de Winiwarter (1912)<sup>62)</sup> が男で47を主張したのが最初で、次いで Painter (1923)<sup>47)</sup> が男で48を主張した。以後人類の染色体数は47説(男XY, 女XO), 48説(男XY, 女XX)とが対立したまま30年を経過した。

Tjio 及び Levan (1956)<sup>57)</sup> は人胎児の肺組織を培養し初めて人類の染色体数が46であると報告し、以後世界各国で人類染色体の研究が盛んとなり、46説が確認された。著者は今回対照として正常人5例の染色体を検索したが、その結果は全例 diploid 数46であることを認め、上記の事実を再確認したものである。本邦では未だ大学の専門教育で使用される一般遺伝学教科書においても依然として人類の染色体数に関しては47説と48説とがあるという記載が放置されている現状である事は残念である。

## 3. 白血病の染色体について

## 1) 急性骨髓性及び急性淋巴性白血病の染色体

人の急性白血病染色体に関する報告は Ford ら (1958)<sup>17)</sup> (1960)<sup>20)</sup> が最初で、彼らは骨髓短期培養により6例中4例(以下4/6の様に略す)に染色体数又は形態異常(微小染色体)を認めた。Baikie ら

(1959)<sup>2)</sup> は骨髓短期培養により 4/5 に染色体数又は形態異常 (環状染色体・微小染色体・転座) を認められた。

一方 Nowell と Hungerford (1960)<sup>4)14)</sup> は末梢白血球の培養により AML 4 例, 小児急性白血病 6 例の何れにも染色体異常を認めなかつた。次に Bayreuther (1960)<sup>6)</sup> は骨髓培養により AML 2 例, ALL 3 例について何等染色体異常を認めなかつた。彼は染色体変化は細胞の腫瘍性変化の原因ではなく, 細胞の変化に続いて起る副現象 (epiphenomenon) にすぎないと考えた。

これに対し Sandberg ら (1960)<sup>52)</sup>, (1961)<sup>53)</sup> は AML の 1/10, ALL の 8/11 に染色体数又は形態の異常を認めた。そして染色体の不規則性は腫瘍の増殖に寄与するものと考え, 先の Bayreuther の考えと対立した。なお 1 例の ALL で 97 という hyper-tetraploid に mode がみられた事も興味がある。続いて Baikie ら (1961)<sup>5)</sup> は新たに骨髓及び末梢血で急性白血病の 8/22 に染色体数又は形態上の何等かの異常を認めた。Hungerford (1961)<sup>26)</sup> は小児の急性白血病 7 例につき何等染色体異常を認めなかつた。

又 Kinlough ら (1961)<sup>32)</sup> は colchicine 静注後骨髓押し潰し法により AML の 2/8 に染色体数異常 (中型 acrocentric 染色体の過剰) を認めた。Bottura ら (1961)<sup>9)</sup> は colcemid 静注後骨髓押し潰し法により 1 例の急性白血病で aneuploid の細胞を 96% に認め, この内全体の 78.5% は染色体数 51~53 であった。

この間, 本邦では栗野ら (1960)<sup>65)</sup> は骨髓直接法により, AML 4/4 で染色体数の mode は 44~46 で一定の傾向をみず, かつ染色体数の如何に拘らず X 染色体が消失し, 小型の棒状染色体に置きかえられているという結果を報告した。衣笠・三輪 (1961, 12月)<sup>70)</sup> は骨髓又は末梢血により, AML の 5 例中何れにも diploid に mode を有し, 形態異常も認めなかつたと報告した。但し 1 例で tetraploid 及びその前後の細胞を高頻度に認めた。これより先, 三輪・衣笠 (1961, 4月)<sup>74)</sup> は AML 1/10, ALL 8/11 に異常を報告したが, これは Sandberg ら (1961)<sup>68)</sup> の報告と重複するようである。牧野ら (1961)<sup>72)</sup> は急性白血病の 4 例に何れも染色体異常を認めなかつた。

著者は (1961, 4月)<sup>67)</sup>, (1961, 10月)<sup>76)</sup> AML, ALL 各 3 例について報告したが, 第 IV 章に記した如く染色体数及び形態に異常を認めなかつた。

以上 1961 年までの急性白血病染色体に関する報告を概観すると, 当初 Ford, Baikie, 栗野の様に染色体数又は形態に異常を認めたものが多く, 当時は慢性型よりも急性型の白血病で特定の染色体異常が発見されるのではないかと期待された。しかし, これらは何れも初期の骨髓よりの標本で技術上の難点も多く, 現在の時点に立つてそれらが急性白血病に固有な染色体異常であると決論するわけにはいかない。Baikie らの最初の報告に関しては, その後彼等自身が標本作製技術が未熟であることを認めており<sup>69)</sup>, 又栗野らの報告においては X 染色体の同定に問題があり信頼性に乏しい。

その後になつて Nowell らは末梢血培養法により AML で異常を認めないと報告し, Bayreuther は骨髓で同様の成績を出し, 又牧野, 著者も異常を発見しなかつた。

一方 Sandberg は骨髓直接法により, 特に ALL において高率の異常を認め, Bottura も異常の 1 例を報告した。Baikie, Kinlough, 衣笠は一部の症例に染色体異常をみている。

従つて著者の成績から直ちに急性白血病における染色体異常はないか或いは極めて稀であると推論するのは危険である。染色体異常を有する症例に遭遇する可能性はあると考えられる。ただ上記報告例の約半数にみられる染色体異常には一定性がなく, CML における Ph<sup>1</sup> の様な特定の変化はみられていない。この事は Ph<sup>1</sup> が CML と結びつく本質的な変化と考えられるのに対し, 急性白血病では現在の技術で解明できる限度において本質的な染色体異常は認められない事を意味する。急性白血病における染色体異常はあたかも癌における多彩な染色体異常と同様に非特異的な現象であろう。そして急性白血病の発生と染色体異常との関係について Bayreuther の仮設が正しいか, 又は現在の手段では識別困難な変化が白血病発生に先立つて生ずるという仮定が正しいか, 現時点でこれを判定する事は不可能である。

最後に最近の主要文献について触れると, Hungerford ら (1962)<sup>27)</sup> は新たに成人の AML で 4/9 に染色体異常を認め, その内 3 例には類型的染色体異常 (O 群に相当する染色体の過剰) を認めた。Sandberg ら (1962)<sup>54)</sup> は AML, ALL 各 3 例につき末梢血培養と骨髓直接法とで染色体を比較観察し, 骨髓直接法のみで高率の染色体異常を認めた。Fitzgerald ら (1964)<sup>16)</sup> も成人の急性白血病 18 例で先の Sand-

berg と同様の成績を得た。Botiura ら (1963)<sup>10)</sup>, Houston ら (1964)<sup>25)</sup> は各 1 例の急性白血病で endoreduplication を認めた。

## 2) 単球性白血病の染色体

当教室では骨髓培養法による白血病の診断法を確立し、同時に培養された白血病細胞の生態観察によつて白血病種類の診断を行つてきた結果、本症は従来考えられていた様な稀なものでなく、予想外に多い事が明らかになつた<sup>86)</sup>。

しかし ML の染色体に関する研究は非常に少ない。探せば、まず Baikie ら (1961)<sup>6)</sup> の 22 例の急性白血病症例のうち単球性としているものが 1 例あり、この症例では染色体数 46 に mode があつた (61.2%) が、その他 47 の細胞が 26.9% とふえ、第 2 の種族細胞系と考えられた。

著者 (1961)<sup>67)75)</sup> は ML 2 例の染色体につき報告したが、第四章で記したとおり染色体異常を認めなかつた。本例は ML と正確に診断を下した症例の染色体に関する報告では最初のものである。

なお Reisman ら (1963)<sup>60)</sup> は 6-mercaptopurine で治療中の 1 例の '急性' ML で高率に endoreduplication を認めた。

## 3) 赤白血病の染色体

EL における染色体の研究も非常に稀である。しいて探せば Baikie ら (1961)<sup>6)</sup> の急性白血病 22 例中 'erythroid' となつている症例が 2 例あり、この内の 1 例は 16-N までの polyploid の細胞が多数みられた。最もこれら 2 例の血液学的事項の記載は極めて不十分で、果して EL といえるかどうか疑問である。

著者 (1961)<sup>76)</sup> は 1 例の EL の染色体について報告したが、その結果は第四章に記した如く染色体異常の所見を認めなかつた。本例は EL と正確に診断した症例の染色体に関する最初の報告である。

最近になり、長村 (1964)<sup>78)</sup> は本症の 2/4 に末梢血で正常、骨髓法で aneuploidy を認めた。著者の成績は末梢血培養のみの成績であり、従つて長村の成績との間に比較はできない。

## 4) 慢性骨髓性及び慢性淋巴性白血病の染色体

慢性白血病の染色体に関する研究は Baikie ら (1959)<sup>2)</sup>, (1960)<sup>3)</sup> が最初で、彼らは骨髓の短期培養により CML 5 例, CLL 3 例につき、何れも染色体異常を認めなかつた。同様に Ford (1960)<sup>20)</sup> は CML, CLL 各 2 例で、又 Bayreuther (1960)<sup>8)</sup> は CML 2 例, CLL 1 例で何れも染色体異常を認めなかつた。

つた。

Sandberg ら (1960)<sup>52)</sup> は骨髓直接法で CML, CLL 各 1 例につき、前者で染色体数の異常、後者で diploid と同数の tetraploid の細胞をみた。これは慢性白血病で染色体数の変化を認めた最初の報告である。更に Sandberg ら (1961)<sup>53)</sup> は症例を追加、CML<sup>2/8</sup>, CLL<sup>0/3</sup> に染色体数の異常を認めた。

本邦では粟野ら (1960)<sup>85)</sup> は CML 1 例で AML で観察したと同様に X 染色体が欠けていると報告した。三輪及び衣笠 (1961)<sup>74)</sup> は骨髓直接法で CML<sup>2/11</sup>, CLL<sup>0/3</sup> に染色体数異常を報告した。(これは Sandberg ら<sup>53)</sup> の報告と大部分重複する。) 更に CML の染色体異常は急性転化に際し最も多くみられるとして急性転化との関係を推論した。

これらに対し Nowell 及び Hungerford (1960)<sup>41)</sup> は末梢血培養法により男の CML 2 例において染色体数は正常だがその中に明らかに体細胞にみられぬ微小染色体 1 個が存在する事を認めた。Nowell ら (1960)<sup>42)</sup> は更に引き続き男 5 例, 女 2 例の CML 全例にこの異常染色体を認めた。彼らは最初この異常染色体を Y 染色体に関係したものと考えていたが、女性にもみられる事から最小の常染色体群 (Denver 分類 G 群) の 1 個におこつた変化であると訂正した。

Baikie ら (1960)<sup>4)</sup> も Nowell らの発見にやや遅れてこの染色体を CML の 8/12 において確認した。そして Nowell らの研究した場所に因んで、これを Philadelphia-1 (Ph<sup>1</sup>) 染色体と命名した。

1961 年には Tough ら<sup>68)</sup> は 13/18, Nowell ら<sup>43)</sup> は 9/10, 大野ら<sup>44)</sup> は 5/6, Adams ら<sup>1)</sup> は 4/4, Kinlough ら<sup>82)</sup> は 2/4, 又本邦では衣笠ら<sup>70)</sup> は 2/4, 著者<sup>78)</sup> は 1/1 に何れも Ph<sup>1</sup> 染色体を認めた。

Tough ら<sup>69)</sup> によると Ph<sup>1</sup> は疾患の経過や治療により多少影響をうけ、Ph<sup>1</sup> 陽性率は未治療群 4/4, 既治療群 8/11, 急性転化群 1/3 であつた。又 Ph<sup>1</sup> 陽性例でも Ph<sup>1</sup> 陽性細胞出現頻度は個々の症例で変動が大きい。著者の場合は症例 10 で 19.0%, 症例 11 で 28.5% と何れもかなり低値を示したが、症例 10 が急性転化例、症例 11 が既治療例である事も若干関係を有すると思われる。

なお大野ら<sup>44)</sup> は Ph<sup>1</sup> と D 群に属する acrocentric 染色体との間には相互転座 (reciprocal translocation) があると考え、Adams ら<sup>1)</sup> は Ph<sup>1</sup> の他に更に小さい微小染色体を 1 例で認めたが、これらは何れも CML に特異的な異常として承認されていない。

以上1961年までの慢性白血病染色体に関する報告を概観すると、1956年以来特有な染色体異常は発見されなかつたが、1960年 Nowell らが CML で Ph<sup>1</sup> を発見して以来世界各地で追試されたという状態である。Ph<sup>1</sup> に関しては当初 Baikie, Ford らが骨髓材料で発見できず、Nowell らが末梢血培養で発見したため当初は末梢血培養法の方が確認率が高い様に考えられていたが、著者の成績では症例 10 では末梢血で 16.7%, 骨髓で 33.3% と後者に高率に認めた。最近 Sandberg ら (1962)<sup>55</sup>, Tough ら (1963)<sup>60</sup>, Fitzgerald ら (1963)<sup>13</sup> もむしろ骨髓直接法において高率に Ph<sup>1</sup> を認めている。

又 Tough ら<sup>60</sup> は polyploid の細胞のすべてに Ph<sup>1</sup> をみた例を報告したが、著者も又図 12 に示す如く tetraploid の細胞に 2 個の Ph<sup>1</sup> を認めた。

悪性腫瘍における染色体異常は古くから知られているが、個々の腫瘍により、又個体によりその特徴はまちまちで一定の変化はなかつた。この点 Ph<sup>1</sup> は悪性腫瘍の中で初めて発見された疾患単位の染色体異常であるという点で注目すべきものである。

なお Wahrman (1962)<sup>61</sup> はすべての分裂細胞が個々に異つた異常染色体構成を示した CML の 1 例を報告した。これは白血病染色体変化で種族細胞系の存在を認めなかつたという珍しい 1 例である。

一方 CLL については Baikie ら (1959)<sup>2</sup>, (1960)<sup>3</sup>, Ford (1960)<sup>20</sup>, Bayreuther (1960)<sup>8</sup>, Kinlough ら (1961)<sup>32</sup>, 三輪ら (1961)<sup>74</sup>, 著者 (1961)<sup>68/75</sup> 等いずれも染色体異常を認めておらず、僅かに Sandberg ら (1960)<sup>52</sup> が tetraploidy の 1 例を報告したのみであつたが、その後 Gunz 及び Fitzgerald ら (1962)<sup>22</sup> が家族性に発生する CLL に異常染色体を発見し、Ch<sup>1</sup> 染色体と命名した。この染色体は未だ他の研究者によつては確認されておらず<sup>12</sup>, Fitzgerald ら自身<sup>14</sup> によつてもその後は発見されていない。

最後に慢性白血病の染色体において数的異常は急性白血病におけるほど多彩ではない事に注目する必要がある。これらの異常は Sandberg ら<sup>52</sup>, 三輪ら<sup>74</sup>, Tough ら<sup>59</sup>, 先述の Wahrman ら<sup>61</sup> により少数報告されているにすぎず、一般に CML, CLL では染色体数の変化をきたす事は稀であるといえよう。

##### 5) Down 氏症候群を合併した急性淋巴细胞性白血病の染色体

Down 氏症候群についてはこれまで一般には蒙古症 (Mongolism) の呼称が使われてきたが、本論文では日本人類遺伝学会の提唱に従いこれを採らなかつた。

本症の染色体について最初に正確な数 47 を報告したのは Lejeune ら (1959)<sup>33</sup> で、続いて Böök ら (1959)<sup>7</sup>, Jacobs ら (1959)<sup>29</sup>, Ford ら (1959)<sup>18</sup> によつて確認され、更に本症では Denver 分類の G 群 21 番にあたる常染色体の trisomy がある事が明らかにされた。その後 Polani ら (1960)<sup>49</sup>, Penrose ら (1960)<sup>48</sup>, Fraccaro ら (1960)<sup>21</sup> は家族性に起つた本症患者で染色体数は 46 であるが、21 番の trisomy の 1 つが、他の acrocentric の染色体に転座している、即ち効果的には 21 番 trisomy と同様の症例を発見した。

Down 氏症候群と白血病との合併は既に古く Ingalls (1947)<sup>28</sup> によつて報告され注目される様になつた。Stewart ら (1958)<sup>56</sup> の統計によると小児癌では 739 例中僅か 1 例しか Down 氏症候群の合併がみられなかつたのに対し、小児白血病では 677 例中 17 例の合併がみられた。

Down 氏症候群と白血病との合併例における染色体の研究はこれまでに Tough ら (1961)<sup>59</sup>, Sandberg ら (1961)<sup>53</sup>, Johnston (1961)<sup>30</sup>, それに著者ら (1961)<sup>68</sup> が行つている。Tough らは急性白血病との合併例 5 例で 21 番の trisomy という Down 氏症候群に固有の染色体構成以外に何ら異常を認めなかつた。Sandberg らは ALL との合併例、AML との合併例各 1 例について同様の成績をえた。これに対し Johnston は急性白血病との合併例で 21 番の trisomy の他に染色体の断片 (fragment) や破壊 (break) を 8/160 (5%) の細胞に認めたが、これらは白血病の治療後は消失したため白血病による変化と考えた。

著者の例では染色体数 47 の細胞は 91.1% にみられ、その核型分析の結果は何れも Down 氏症候群に固有の 21 番の trisomy を認めた。なお著者は先にこの trisomy の染色体間に時に大きさの不同が認められると報告したが<sup>68/75</sup>、その後対照をとり再検討した結果有意所見とは認められなとの結論に達したのでここで訂正したい。従つて第四章ではこの問題はふれなかつた。

Down 氏症候群の成立を決定する染色体の変化は 21 番の過剰にあり、またその 21 番は Ph<sup>1</sup> において裏付けられる様に白血球の産生と密接な関係をもつていられる。この事は Down 氏症候群において白血病発生の頻度が高い事と合わせて興味ある問題である。Down 氏症候群では常染色体異常があるため不安定な genom になり、それが細胞の悪

性化をきたし易くする一因となるのであろうが、その際21番の染色体異常が重要な作用を及ぼして急性白血病的発生に至るのであろうと考えられている。<sup>65)</sup>

なお著者の報告は Down 氏症候群と白血病との合併した症例の染色体研究では本邦第1例である。

#### 6) 各種白血病間の染色体異常の比較

著者は先にマウス白血病の染色体について考察したが、原発性白血病では総て diploid に mode を認め、形態的異常は認めなかつた。又マウス白血病全体としては染色体異常は多彩ではあるが白血病の種類に特異的な異常は認めなかつた。<sup>79)</sup>

著者は本編で人の各種白血病の染色体を検索したが、CML における Ph<sup>1</sup> の他には白血病による染色体異常は認めなかつた。AML, ALL 等では他の研究者の約半数が種々の染色体異常を報告しているが、それらは何れも非特異的変化であるといえる。僅かに Hunterford<sup>27)</sup> が AML で類型的染色体変化の存在を示唆したが、一般的ではない。従つて人の白血病染色体では CML における Ph<sup>1</sup> 以外には固有の染色体異常は認められないといえる。

#### 7) 白血病の発生と染色体異常との関係について

著者は先にマウス白血病の発生に関しては染色体変化が直接的・根本的な必要条件ではないとの結論に達したが<sup>79)</sup>、人の白血病においても CML 以外では特異的染色体異常が発見されていない限り同様の事がいえる。

又 CML に関しては Ph<sup>1</sup> が本症の発生と密接な関係を有する事は容易に推測されるが、Ph<sup>1</sup> 陰性の CML 例をどう考えるかという問題が残る。Tough<sup>80)</sup> は Ph<sup>1</sup> 陰性例を別の subgroup に分けるという考え方を提出したが、これの実証は不可能である。現在の技術により明らかにされた事実だけからこの問題に早急な結論を引き出す事は差し控えた

い。

## VI. 結 論

各種白血病症例13例の染色体を末梢血培養法及び骨髓直接押し潰し法により観察し次の結果をえた。

(1) Down 氏症候群を合併した ALL の1例を除き、全例において染色体数 46 に mode があり、その比率は正常人対照に比し有意の差を認めなかつた。白血病種類別では CML がやや低値を示した。

(2) CML 2例では何れにも Ph<sup>1</sup> 染色体を認めた。その他の種類の白血病では核型に異常を認めなかつた。

(3) Down 氏症候群を合併した ALL の1例では染色体数 47 の細胞が 91.1% をしめ、Denver 分類の 21 番に trisomy がみられたが、その他に特記すべき異常所見はなかつた。

(4) aneuploid の細胞における染色体構成には一定の傾向はみられなかつた。

以上より人の白血病においては CML における Ph<sup>1</sup> を除いては何等特異的な染色体異常はないものと考えられる。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師平木深教授に深甚の謝意を表します。

又標本作製面で多大の御指導をいただいた国立遺伝学研究所吉田俊秀博士、並びに終始多大の御援助と御指導をいただいた平木内科入野昭三講師、岡田耕一博士に深謝いたします。

(本論文要旨は部分的に昭和36年第23回日本血液学会総会<sup>67)</sup>、昭和36年第20回日本癌学会総会<sup>75)</sup>、昭和37年第24回日本血液学会総会<sup>68)</sup>、昭和37年第7回日本人類遺伝学総会<sup>69)</sup>において発表した。)

## 参 考 文 献

- 1) Adams, A., Fitzgerald, P. H., and Gunz, F. W.: A new chromosome abnormality in chronic granulocytic leukemia. *Brit. med. J.* 2: 1474~76, 1961.
- 2) Baikie, A. G., Court Brown, W. M., Jacobs, P. A., and Milne, J. S.: Chromosome studies in human leukemia. *Lancet* 2: 425~428, 1959.
- 3) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: Chromosome studies in leukemia. *ibid.* 1: 280, 1960.
- 4) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., and Tough, I. M.: A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukemia. *Nature* 188: 1165~66, 1960.
- 5) \_\_\_\_\_, Jacobs, P. A., McBride, J. A., and Tough, I. M.: Cytogenetic studies in acute leukemia. *Brit. med. J.* 1: 1564~71, 1961.
- 6) Bayreuther, K.: Chromosomes in primary neo-

- plastic growth. *Nature* 186 : 6~9, 1960.
- 7) Böök, J. A., Fraccaro, M., and Lindsten, J.: Cytogenetical observation in mongolism. *Acta paediat.* 48 : 453~468, 1959.
  - 8) Bottura, C., and Ferrari, I.: A simplified method for the study of chromosomes in man. *Nature* 186 : 904~905, 1960.
  - 9) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, and Veiga, A. A.: Caryotype anormal dans la leucémie aiguë. *Acta haemat. (Basel)* 26 : 44~49, 1961.
  - 10) \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: Endoreduplication in acute leukemia. *Blood* 21 : 207~212, 1963.
  - 11) Court Brown, W. M., Jacobs, P. A., and Doll, R.: Interpretation of chromosome counts made on bone-marrow cells. *Lancet* 1 : 160~163, 1960.
  - 12) \_\_\_\_\_: Chromosomal abnormality and chronic lymphatic leukemia. *Lancet* 1 : 986, 1964.
  - 13) Fitzgerald, P. H., Adams, A., and Gunz, F. W.: chronic granulocytic leukemia and the Philadelphia chromosome. *Blood* 21 : 183~196, 1963.
  - 14) \_\_\_\_\_, and Gunz, F. W.: Chromosomal abnormality and chronic lymphocytic leukemia. *Lancet* 2 : 150, 1964.
  - 15) \_\_\_\_\_, Adams, A., and Gunz, F. W.: Chromosome studies in adult leukemia. *J. nat. Cancer Inst.* 32 : 395~417, 1964.
  - 16) Ford, C. E., and Hamerton, J. L.: A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technol.* 31 : 247~251, 1956.
  - 17) \_\_\_\_\_, Jacobs, P. A., and Lejtha, L. G.: Human somatic chromosomes. *Nature* 181 : 1565~68, 1958.
  - 18) \_\_\_\_\_, Jones, K. W., Miller, O. J., Mittwoch, U., Penrose, L. S., Ridler, M., and Shapiro, A.: The chromosomes in a patient showing both mongolism and the Klinefelter syndrome. *Lancet* 1 : 709~710, 1959.
  - 19) \_\_\_\_\_, and Mole, R. H.: Chromosome studies in human leukemia. *Lancet* 2 : 732, 1959.
  - 20) \_\_\_\_\_: The chromosomes of normal human somatic and leukemic cells. (abridged) *Proc. roy. Soc. Med.* 53 : 491~493, 1960.
  - 21) Fraccaro, M., Kaijser, K., and Lindsten, J.: Chromosomal abnormalities in father and mongol child. *Lancet* 1 : 724~727, 1960.
  - 22) Gunz, F. W., Fitzgerald, P. H., and Adams, A.: An abnormal chromosome in chronic lymphocytic leukemia. *Brit. med. J.* 2 : 1097~99, 1962.
  - 23) Hiraki, K., Ofuji, T., and Sunami, H.: The method of tissue culture (mainly of the bone-marrow) and a simple method of observing living tissue. *Acta med. Okayama* 10 : 99~109, 1956.
  - 24) \_\_\_\_\_: Studies on diagnosis of leukemia by tissue culture. *Proc. 7th internat. Cong. Hemat. (Rome)* 307~309, 1958.
  - 25) Houston, E. W., Levin, W. C., and Ritzmann, S. E.: Endoreduplication in untreated early leukaemia. *Lancet* 2 : 496~497, 1964.
  - 26) Hungerford, D. A.: Chromosome studies in human leukemia. I. Acute leukemia in children. *J. nat. Cancer Inst.* 27 : 983~1011, 1961.
  - 27) \_\_\_\_\_, and Nowell, P. C.: Chromosome studies in human leukemia. III. Acute granulocytic leukemia. *ibid.* 29 : 545~565, 1962.
  - 28) Ingalls, T. H.: Pathogenesis of mongolism. *Amer. J. Dis. Child.* 73 : 279~292, 1949.
  - 29) Jacobs, P. A., Baikie, A. G., Court Brown, W. M., and Strong, J. A.: The somatic chromosomes in mongolism. *Lancet* 1 : 710, 1959.
  - 30) Johnston, A. W.: The chromosomes in a child with mongolism and acute leukemia. *New Eng. J. Med.* 264 : 591~594, 1961.
  - 31) Kinlough, M. A., Robson, H. N., and Hayman, D. L.: A simplified method for the study of chromosomes in man. *Nature* 189 : 420, 1961.
  - 32) \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: Study of chromosomes in human leukemia by a direct method. *Brit. med. J.* 2 : 1052~55, 1961.
  - 33) Lejeune, J., Gauthier, M., and Turpin, R.: Les chromosomes humains en culture de tissus. *C. R. Acad. Sc. (Paris)* 248 : 602~603, 1959.
  - 34) Ii, J. G., and Osgood, E. E.: A method for the rapid separation of leukocytes and nucleated erythrocytes from blood or marrow with a Phytohemagglutinin from red beans (*Phaseolus vulgaris*). *Blood* 4 : 670~675, 1949.

- 35) Makino, S., and Nishimura, I.: Water-pretreatment squash technic. *Stain Technol.* 27: 1~7, 1952.
- 36) Merrit, D. H., and Harris, J. S.: Mongolism and acute leukemia. Report of 4 cases. *J. Dis. Child.* 92: 41~44, 1956.
- 37) Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Buttips, D. M., and Hungerford, D. A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 20: 613~616, 1960.
- 38) Morgan, J. F., Morton, H. J., and Parker, R. C.: Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 73: 1~8, 1950.
- 39) Nowell, P. C.: Differentiation of human leukemic leukocytes in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 19: 267~277, 1960.
- 40) \_\_\_\_\_: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* 20: 462~466, 1960.
- 41) \_\_\_\_\_, and Hungerford, D. A.: Chromosome studies of normal and leukemic human leukocytes. *J. nat. Cancer Inst.* 25: 85~109, 1960.
- 42) \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 132: 1497, 1960.
- 43) \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: Chromosome studies in human leukemia. II. Chronic granulocytic leukemia. *J. nat. Cancer Inst.* 27: 1013~15, 1961.
- 44) Ohno, S., Trujillo, J. M., Kaplan, W. D., and Kinoshita, R.: Nucleolus-organizers in the causation of chromosomal anomalies in man. *Lancet* 2: 123~125, 1961.
- 45) Osgood, E. E., and Krippaehne, M. L.: The gradient tissue culture method. *Exp. Cell Res.* 9: 116~127, 1955.
- 46) \_\_\_\_\_, and Brooke, J. H.: Continuous tissue culture of leukocytes from human leukemic bloods by application of "gradient" principles. *Blood* 10: 1010~1022, 1955.
- 47) Painter, T.: Studies in mammalian spermatogenesis. II. The spermatogenesis of man. *J. exp. Zool.* 37: 291~321, 1923.
- 48) Penrose, L. S., Ellis, J. R., and Delhanty, J. D. A.: Chromosomal translocations in mongolism and in normal relatives. *Lancet* 2, 409~410, 1960.
- 49) Polani, P. E., Briggs, J. H., Ford, C. E., Clarke, C. M., and Berg, J. M.: A mongol girl with 46 Chromosomes. *ibid.* 1: 721~724, 1960.
- 50) Reisman, L. E., Zuelzer, W. W., and Mitani, M.: Endoreduplication in a patient with acute monocytic leukemia. *ibid.* 2: 1038~1039, 1963.
- 51) Rigas, D. A., and Osgood, E. E.: Purification and properties of the Phytohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris* J. *biol. Chem.* 212: 607~609, 1955.
- 52) Sandberg, A. A., Koepf, G. F., Crosswhite, L. H., and Hauschka, T. S.: The Chromosome constitution of human marrow in various developmental and blood disorders. *Amer. J. hum. Genet.* 12: 231~249, 1960.
- 53) \_\_\_\_\_, Ishihara, T., Miwa, T., and Hauschka, T. S.: The *in vivo* Chromosome constitution of marrow from 34 human leukemias and 60 nonleukemic controls. *Cancer Res.* 21: 678~689, 1961.
- 54) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, Crosswhite, L. H., and Hauschka, T. S.: Chromosomal dichotomy in blood and marrow of acute leukemia. *ibid.* 22: 748~756, 1962.
- 55) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_: Comparison of chromosome constitution in chronic myelocytic leukemia and other myeloproliferative disorders. *Blood* 20: 393~423, 1962.
- 56) Stewart, A., Webb, J., and Hewitt, D.: Survey of childhood malignancies. *Brit. med. J.* 1: 1495~1508, 1958.
- 57) Tjio, J. H., and Levan, A.: The Chromosome number of man. *Hereditas* 42: 1~6, 1956.
- 58) \_\_\_\_\_, and Whang, J.: Chromosome preparations of bone marrow cells without prior *in vitro* culture or *in vivo* colchicine administration. *Stain Technol.* 37: 17~20, 1962.
- 59) Tough, I. M., Court Brown, W. M., Baikie, A. G., Buckton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., King, M. J., and McBride, J. A.: Cyto-

- genetic studies in chronic myeloid leukaemia and acute leukaemia associated with mongolism. *Lancet* 1: 411~417, 1961.
- 60) \_\_\_\_\_, Jacobs, P. A., Court Brown, W. M., Baikie, A. G., and Williamson, E. R. D.: Cytogenetic studies on bone marrow in chronic myeloid leukaemia, *ibid.* 1: 844~846, 1963.
- 61) Wahrman, J., Schaap, T., and Robinson, E.: Manifold chromosome abnormalities in leukaemia, *ibid.* 1: 1098~1100, 1962.
- 62) Winiwarter, H.: Etudes sur la spermatogénèse humaine. *Arch. Biol.* 27: 91~188, 1912.
- 63) Human chromosome study group: A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *J. Hered.* 51: 214~221, 1960.
- 64) Editors: The Philadelphia chromosome. (Leading articles). *Lancet* 1: 433~434, 1961.
- 65) 栗野玄佐武, 津田福視, 外島伸: 人類の癌並びに白血球の染色体と体細胞染色体との比較——人類の癌並びに白血病の染色体と Virus との関係, *細胞化学シンポジウム*, 10: 159~175, 1960.
- 66) 平木 潔, 大藤 真: 単球白血病, *日本血液学全書*, 5: 268~312, 1962.
- 67) 川村範夫, 岡田耕一: 正常人並びに各種白血病患者白血球の染色体に関する研究 (第1報), *日血会誌*, 24: 267~268, 1961.
- 68) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_: 人及びマウス白血病染色体に関する研究 (第2報), *日血会誌*, 25: 517~518, 1962.
- 69) \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_: 白血病及び数種遺伝性疾患の染色体に関する研究, *人遺誌*, 8: 90, 1963.
- 70) 衣笠恵士, 三輪卓爾: 白血病における染色体異常について, *日臨*, 19: 2304~14, 1961.
- 71) 牧野佐二郎: 腫瘍の増殖と染色体, *細胞化学シンポジウム*, 10: 177~202, 1960.
- 72) \_\_\_\_\_, 佐々木正夫, 本田武夫: 人類腫瘍細胞の染色体研究 (続報), *日本癌学会記事 (第20回総会)*: 75, 1961.
- 73) \_\_\_\_\_: 人類の染色体—臨床医学への応用, 紀伊国屋書店 (東京), 1963.
- 74) 三輪卓爾, 衣笠恵士: 血液疾患の細胞遺伝学的研究 (第1報), 各種白血球の染色体異常, *日血会誌*, 24: 276, 1961.
- 75) 岡田耕一, 川村範夫: 人およびマウス白血病の染色体に関する研究, *日本癌学会記事 (第20回総会)*: 76, 1961.
- 76) 長村重之: 白血病と染色体異常. (第6回日本臨床血液学会総会特講) 未刊.
- 77) 真田浩, 他6名: 白血病の細胞学的分類, *岡山医会誌*, 76: 1~8, 1964.
- 78) 佐々木本道: 染色体研究の新しい方法, *日臨*, 19: 2233~42, 1961.
- 79) 川村範夫: マウスの白血病染色体に関する研究, *日血会誌*, 28: 1965. (投稿中)

## Chromosome Studies On Human Leukemias

By

Norio Kawamura

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

Chromosome studies were carried out on 13 cases of various types of leukemias (acute myelogenous and lymphocytic leukemias, monocytic leukemia, erythroleukemia, chronic myelogenous and lymphocytic leukemias, and the Down's syndrome associated with acute lymphocytic leukemia) and on 5 cases of normal controls.

In 6 out of the 13 cases, both peripheral blood and bone marrow were studied, and in the other 7 cases only peripheral blood was used.

The Ph<sup>1</sup> chromosomes and a rather low diploid modality were observed in either of 2 cases of chronic myelogenous leukemia. No chromosome abnormality except for the trisomy of the 21st chromosome (Denver classification) was observed in a case of the Down's syndrome associated with acute lymphocytic leukemia. In the other types of leukemias, no significant chromosome abnormality was found either in peripheral blood or bone marrow specimens.

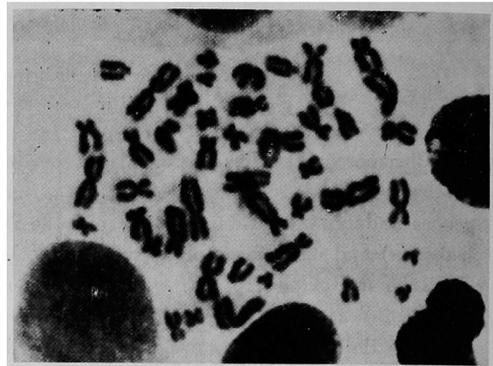
These findings suggest that in human leukemias there is no consistent chromosome change except for the Ph<sup>1</sup> chromosome in chronic myelogenous leukemia.

---

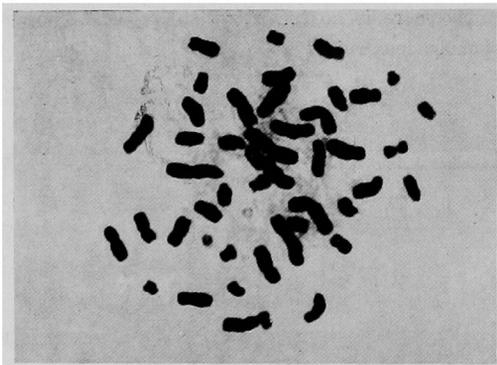
## 川村論文附図(1)



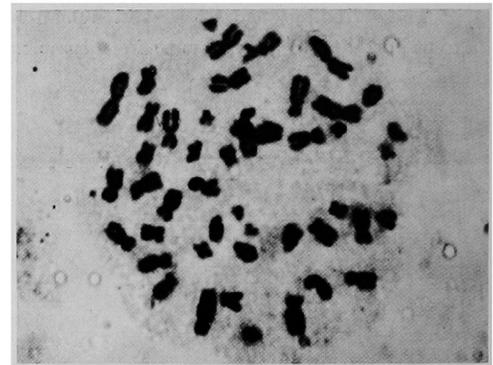
1) 正常人対照 No. 1 の分裂中期像 (2n=46)



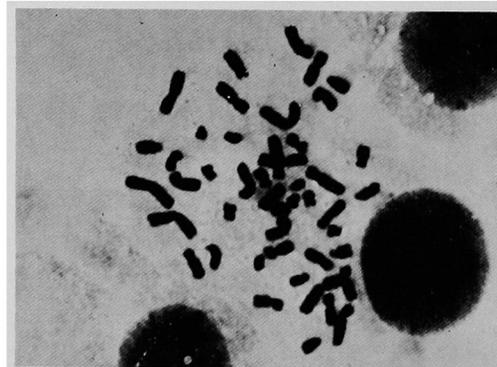
2) 白血病症例 No. 1 (AML) の分裂中期像.



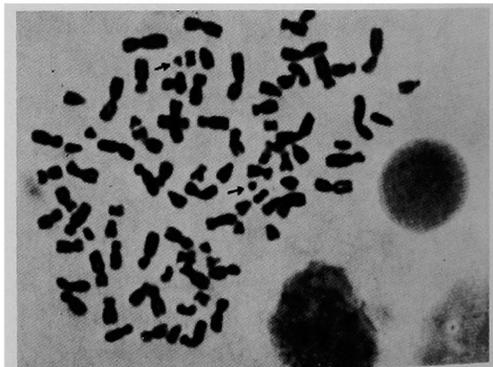
3) 白血病症例 No. 6 (ALL) の分裂中期像.



4) 白血病症例 No. 8 (MLL) の分裂中期像.

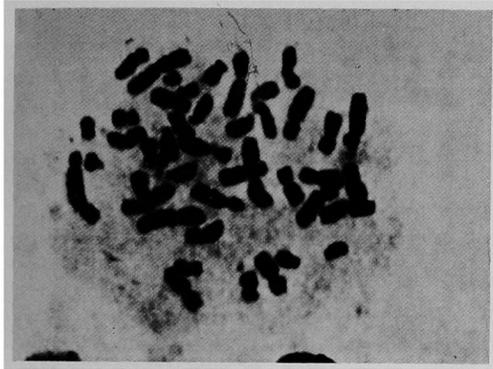


5) 白血病症例 No. 9 (EL) の分裂中期像.

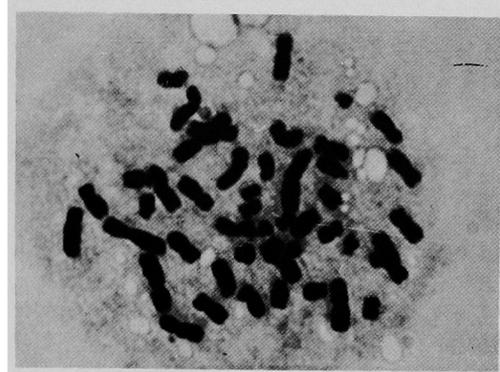


6) 白血病症例 No. 10 (CML) の分裂中期像. 一 tetraploid の細胞で 2 個の Ph1(矢印)を認める

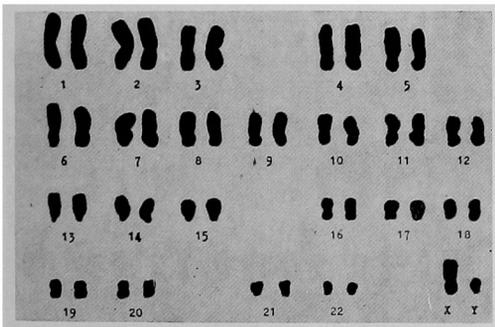
川村論文附図(2)



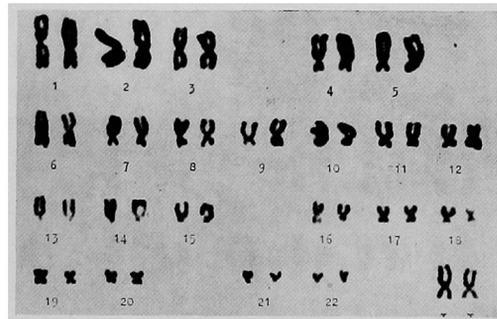
7) 白血病症例 No.12 (CLL) の分裂中期像。



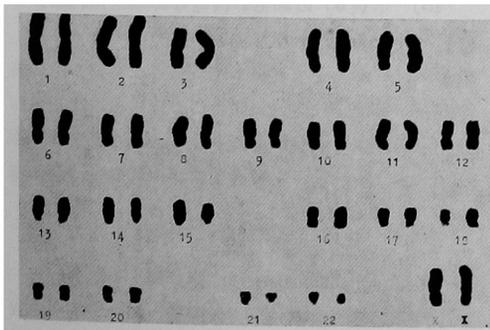
8) 白血病症例 No.13 (Down 氏症候群と ALL との合併例) の分裂中期像。



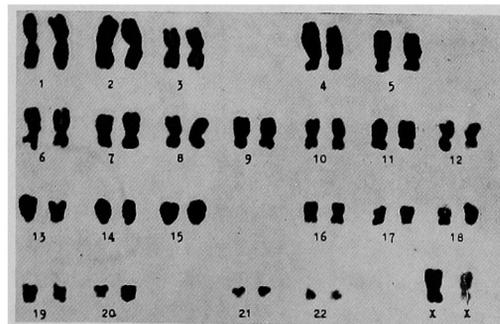
9) 写真1) の細胞の核型分析 (正常人)。



10) 写真2) の細胞の核型分析 (AML)。

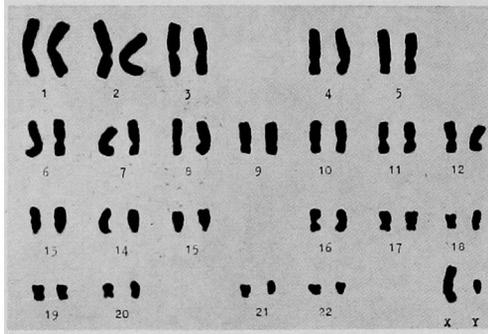


11) 写真3) の細胞の核型分析 (ALL)。

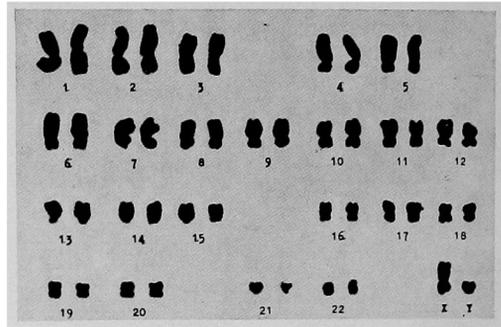
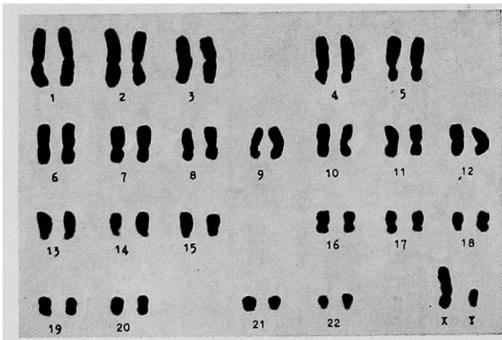


12) 写真4) の細胞の核型分析 (ML)。

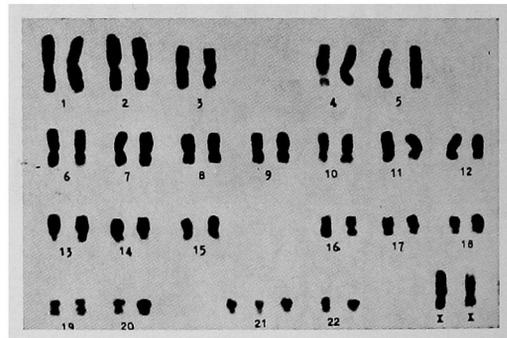
## 川 村 論 文 附 図 (3)



13) 写真5)の細胞の核型分析(EL).

14) 白血病症例 No.10 (CML) の diploid 細胞の核型分析——No. 21 に Ph<sup>1</sup> を認める.

15) 写真7)の細胞の核型分析(CLL).



16) 写真8)の細胞の核型分析——No. 21 trisomy あり.