膀胱癌の染色体分析

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 穂坂正彦教授)

森 山 正 敏

CYTOGENETIC ANALYSIS OF HUMAN URINARY BLADDER CANCER

Masatoshi Moriyama

Department of Urology, Yokohama City University School of Medicine, Yokohama
(Director: Prof. Masahiko Hosaka)

To elucidate the specific chromosomal abnormality and its role in human bladder carcinogenesis, chromosomal analysis by Qbands staining method was performed.

Two human bladder cancer cell lines, T-24 and MGH-U1, and tumor cells from 7 patients with transitional cell carcinoma of the bladder were analysed.

Abnormalities of number 1 chromosome, as $1p^+$, $1p^-$ and $1q^-$ in T-24 cells, $1p^-$ or $1q^-$ in MGH-U1 cells were observed in all karyotypes analysed. Abnormalities of number 1 chromosome, as $1p^-$, $1q^-$ and monosomy, were also shown in tumor cells from all bladder cancer patients analysed. Other anomalies, such as trisomy and tetrasomy, were found in some of chromosomes. Marker chromosomes were also found but their origin was not clear.

These results suggest that the abnormality of number 1 chromosome might be associated with the carcinogenesis of human bladder cancer.

要旨: 膀胱癌における特異的な染色体異常の有無を知り, ヒト膀胱癌の発癌機構を解明する一助とする目的で培養ヒト膀胱癌由来株細胞2株(T-24細胞とMGH-U1細胞)および膀胱移行上皮癌患者7例より得られた腫瘍細胞について染色体標本を作製しQ分染法を施行し染色体分析を行なった。

T-24細胞では $1p^+$, $1p^-$, $1q^-$ のいずれかの異常が, MGH-U1細胞では $1p^-$, $1q^-$ のいずれかの異常が分析した全核板において認められた。7例の膀胱移行上皮癌症例では $1p^-$, $1q^-$, monosomy という1番染色体のいずれかの異常が分析可能であった6症例の全例において認められた。また, その他同定不能のいわゆるマーカー染色体が全症例に認められた。

これらの染色体の異常, 特に1番染色体の異常がヒト膀胱癌の発生過程に関与している可能性が考えられた。

緒 言

癌細胞における染色体の形態や染色体数の異常は癌の発生過程あるいは癌の増殖に密接に関与していると考えられている。そしてもし本当に染色体異常が癌の発生に関与しているのであれば, 発生原因が同じ癌においては特定の染色体異常が癌細胞において認められるはずである。したがって種々の癌細胞において特異的な染色体異常の有無を調べることはその癌の発生過程における染色体異常の意義を明らかにすることになる。

従来より造血系細胞, 特に白血病細胞の特異的な染色体異常が詳細に検討され, また最近では固型腫瘍における検討がすすめられてきた。一方, 近年染色体上

に縞(バンド)を染め出す分染法が発達し染色体分析の精度を向上させる努力がなされ, これにより個々の染色体の識別や染色体の極く小さな部分の転座・欠失などの異常を確実に検出できるようになった。その結果, 慢性骨髄性白血病における Ph^1 染色体¹⁾や, Burkittリンパ腫²⁾さらには固型腫瘍である Wilms 腫瘍³⁾や網膜芽細胞腫⁴⁾などにおいてそれぞれ特異的な染色体異常が明らかになってきた。

膀胱癌においては以前よりの染色体分析がなされてきた⁵⁾⁶⁾が, 染色体数の異常やマーカー染色体の有無について検討されているにすぎず, 分染法を用いた詳細な分析はきわめて少なく膀胱癌に特異的な染色体異常は現在までのところ明らかにされていない。

そこで今回、膀胱癌における特異的な染色体異常の有無を検索し、ヒト膀胱癌の発癌機構を解明する一助とする目的で培養ヒト膀胱癌由来株細胞および膀胱癌患者より得られた腫瘍細胞について染色体標本を作製しQバンド法による分染法を施行し染色体分析を行った。

材料および方法

I) 細胞および症例

分析に使用した細胞はヒト膀胱癌由来株細胞2株、T-24細胞⁷⁾およびMGH-U1細胞⁹⁾(秋田大学、加藤哲郎氏より提供)である。

分析を行なった7例の膀胱癌患者の詳細はTable 1に示す。全例移行上皮癌であり、男性6例、女性1例、年齢は57歳から80歳で平均年齢は68.6歳であった。悪性度はG1が2例、G2が4例、G3が1例であった。

II) 培養液・試薬

Ham's F-12培地(GIBCO), ウシ胎児血清(HyClone®), コルセミド(GIBCO), トリプシン(持田製薬), ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)(和光純薬工業), ギムザ液(MERCK 社), キナクリンマスタード(QM)(SIGMA)

III) 実験方法

T-24細胞およびMGH-U1細胞をプラスチック製培養フラスコに1×10⁵cells/ml 播種しF-12培地に8%ウシ胎児血清を加えた培養液5mlを入れCO₂細胞培養恒温器にて5%CO₂濃度、37℃の条件下で48~72時間培養した。対数増殖期において最終濃度0.01μg/mlのコルセミドを添加し1~2時間培養後0.01%トリプシン-EDTA溶液にて細胞を剥離し滅菌スピッツに採取して0.075M KClを加え37℃、30分間の低張処理を行なった。その後固定液(酢酸:メタノール=1:3)にて2~3回細胞を固定し蒸気乾燥法⁹⁾にてスライドグラス上に染色体標本を作製した。ギムザ液を

pH 6.8のリン酸緩衝液にて2%液として20分間染色し顕微鏡にて観察した。まず染色体数を算定してモードを知り、モード付近の染色体数を有する核板を選び固定液にて脱色した。0.2M リン酸2ナトリウム液3量と0.1M クエン酸液1量より成るMacIlvaine緩衝液に1分間標本を浸した後に0.005%キナクリンマスタード(QM)液中で15分間染色した。その後再びMacIlvaine緩衝液に標本を浸し速やかに蛍光顕微鏡のV励起で観察した。写真撮影して染色体分析を行った。

膀胱癌患者7例の分析は手術時無菌的に腫瘍組織を採取し、ハサミで細切りF-12培地を用いて細胞浮遊液として滅菌スピッツ内で1~2分間静置した。白濁した上清を別のスピッツに採取し、0.075M KCl液による低張処理、固定液による固定、ギムザ液による染色を株細胞の場合と同様に施行した。染色体数のモードを確認後、固定液にて脱色しMacIlvaine緩衝液、0.005%QM液、MacIlvaine緩衝液の順序でQ分染法を施行し写真撮影して染色体分析を行なった。

結 果

I) ヒト膀胱癌由来株細胞の染色体分析

T-24細胞では染色体数のモードは48と2倍体付近に存在した。Q分染法による核型はFig. 1では1p⁺, 1p⁻, 1q⁻, 6p⁻, 13p⁺, 14p⁺, 18p⁺, #9・#15・#20・#22のmonosomy, C(isochr.), Dq⁺, Gq⁺という同定不能のいわゆるマーカー染色体が存在した。他の核板の分析結果と合わせて各染色体別にみるとFig. 2の如くなる。すなわち1p⁺, 1p⁻, 1q⁻, 6p⁻, 13p⁺, 14p⁺, 18p⁺, #4・#6・#7・#8・#9・#10・#12・#13・#14・#15・#16・#18・#19・#20・#22・Xのmonosomyが認められたが、特に1番染色体において1p⁺, 1p⁻, 1q⁻, monosomyのいずれかが分析した15核板のすべてにおいて認められた。

Table 1 Karyotypes in Bladder Cancer Patients

Cases	Age	Sex	Grade	Stage	Modal population	Total counts	No. of karyotypes analysed
1	57	M	G1	PTaNXMO	46	10	3
2	69	M	G1	PT1NXMO	44	7	3
3	80	M	G2	PT2NXMO	45	10	2
4	80	M	G2	PT2NXMO	75	2	0
5	67	F	G3	PT4N4MO	45	8	1
6	65	M	G2	PT2NOMO	44	4	3
7	62	M	G2	PT1NXMO	45	15	10

Fig. 1 Q-banded karyotype of a T-24 cell. 46, X, -1, -1, -6, -9, -13, -14, -15, -18, -20, -22, -X, +1q⁻, +1q⁻, +1p⁺, +1p⁻, +6p⁻, +13p⁺, +14p⁺, +18p⁺, +C (isochr.), +Dq⁺, +Gq⁺

Fig. 2 Frequency of chromosomal abnormalities in T-24 cells. Gains (upwards from abscissa) and losses (downward from abscissa) in percent of each chromosome. M means marker chromosomes.

MGH-U1細胞では染色体数のモードは75と高3倍体付近に存在した。Q分染法による核型分析ではFig. 3のt(1) (1p ter → cent. → 1q⁻; 1p ter → cent. → 1q), 1p⁻, 1q⁻, #3・#4・#5・#7・#8・#9・#10・#11・#12・#13・#14・#15・#17・#18・#19・#20・#21・#22のtrisomyあるいはtetrasomy, C, E(isochr.), Gq⁺という同定不能のいわゆるマーカー染色体が存在した。他の核板

の分析結果と合わせて各染色体別にみると Fig. 4の如くなる。すなわち, 1p⁻, 1q⁻, t(1) (1p ter → cent. → 1q⁻; 1p ter → cent. → 1q), #2・#11・#12・#13・#20のmonosomy, #4・#5・#6・#7・#8・#9・#10・#11・#12・#14・#15・#17のtrisomy, #3・#4・#7・#8・#13・#14・#16・#18・#19・#21・#22のtetrasomy, Yの欠損が認められたが、特に1番染色体において1p⁻, 1q⁻

Fig. 3 Q-banded karyotype of a MGH-U1 cell. 80, XY, -1, +3, +3, +4, +5, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +13, +14, +15, +17, +18, +18, +19, +19, +20, +20, +21, +21, +22, +22, +t(1) (1pter → cent. → 1q⁻; 1pter → cent. → 1q), +1q⁻, +1p⁻, +C, +C, +C, +C, +E(isochr.), +E(isochr.), +Gq⁺

Fig. 4 Frequency of chromosomal abnormalities in MGH-U1 cells

のいずれかが分析できた5核板のすべてにおいて認められた。

II) 膀胱癌患者の腫瘍細胞の染色体分析

7例の膀胱移行上皮癌患者より得られた腫瘍細胞では染色体数のモードは6例が2倍体付近に存在し、1例が高3倍体付近に存在していた (Table 1)。

症例1では Fig. 5の1p⁻, 1q⁻, #4・#8・#10・#11・

#13・#15・#16の monosomy, D, Dp⁺, E といういわゆるマーカー染色体が存在した。分析可能であった3核板の分析結果を各染色体別にみると、1p⁻, 1q⁻, #2・#4・#6・#8・#10・#11・#13・#15・#16・#17・#21の monosomy が認められた。特に1番染色体において1p⁻, 1q⁻のいずれかが全核板にみられた (Fig. 6)。

症例2では Fig. 7の#1・#21の monosomy が認めら

Fig. 5 Q-banded karyotype of case 1. 46, XY, -1, -4, -8, -10, -11, -13, -15, -16, +1p⁺, +1q⁻, +C, +C, +D, +E, +E +E

Fig. 6 Frequency of chromosomal abnormalities in case 1

Fig. 7 Q-banded karyotype of case 2. 44, XY, -1, -21

Fig. 8 Frequency of chromosomal abnormalities in case 2

れた。分析可能な3核板の分析結果をみると、13p⁺, 14p⁺, #1・#2・#4・#6・#9・#12・#13・#14・#18・#21の monosomy が認められた (Fig. 8)。

症例3では Fig. 9に示すように#3・#11・#17・#22の monosomy が認められた。分析可能であった2核板の分析結果をみると、#1・#3・#11・#17・#21・#22の monosomy が認められた (Fig. 10)。

症例4では染色体数のモードが75と高3倍体付近に

存在していたが、核板数が少なくQ分染法による分析ができなかったため詳細は不明である。

症例5では Fig. 11と Fig. 12で示す如く、#1・#2・#13・#15・Xの monosomy とC,Dといういわゆるマーカー染色体が認められた。

症例6では#1・#9の monosomy とC,Dというマーカー染色体が観察された。

症例7では#1・#3・#9・#13の monosomy と、C,D,

Fig. 9 Q-banded karyotype of case 3. 42, XY, -3, -11, -17, -22

Fig. 10 Frequency of chromosomal abnormalities in case 3

E といういわゆるマーカー染色体がみられた。
以上のヒト膀胱癌患者より得られた腫瘍細胞での分析結果を総合すると、 $1p^-$, $1q^-$, $13p^+$, $14p^+$, $\#1 \cdot \#2 \cdot \#3 \cdot \#4 \cdot \#6 \cdot \#8 \cdot \#9 \cdot \#10 \cdot \#11 \cdot \#12 \cdot \#13 \cdot \#14 \cdot \#15 \cdot \#16 \cdot \#17 \cdot \#18 \cdot \#21 \cdot \#22 \cdot X$ の monosomy が観察された。特に1番染色体の $1p^-$, $1q^-$, monosomy のいずれかの異常が分析可能であった6症例のすべてにおいて認められた。また由来不明のマーカー染色体は全症

例に存在した。その他、 $\#13$ の monosomy が4例に、 $\#2 \cdot \#9 \cdot \#21$ の monosomy が3例に認められた。
考 察
Q 分染法を用いてヒト膀胱癌由来株細胞2株および7例の膀胱癌患者より得られた腫瘍細胞の染色体分析を行ない1番染色体の $1p^-$, $1q^-$, monosomy のいずれかが株細胞の全核板と7例のうち分析可能であった6例の全例において認められた。

Fig. 11 Q-banded karyotype of case 5. 43, X, -1, -2, -13, -15, -Y, +C, +D

Fig. 12 Frequency of chromosomal abnormalities in case 5

悪性腫瘍における染色体異常については、今までに造血系の悪性腫瘍、特に白血病において詳細な検討がなされてきた。慢性骨髄性白血病における Ph^1 染色体の如く特異的な染色体異常が報告され¹⁾、その Ph^1 染色体が 9 番染色体と 22 番染色体との相互転座 $t(9; 22)$ であることが明らかになった¹⁰⁾。さらに近年の高精度分染法の導入により 9 番染色体長腕の一部分と 22 番染色体長腕の一部分との相互転座 $t(9; 22)(q34; q11)$

であることが確認されるまでになった¹¹⁾。腫瘍に特異的な染色体は Burkitt リンパ腫における 8 番染色体の長腕の一部分と 14 番染色体の長腕の一部分との相互転座 $t(8; 14)(q24. 13; q32. 33)$ ¹²⁾、Wilms 腫瘍における 11 番染色体短腕の部分欠失 $del(11)(p13)$ ¹³⁾、網膜芽細胞腫における 13 番染色体長腕の部分欠失 $del(13)(q14)$ ¹⁴⁾ が確認されるようになった。一方、最近の遺伝子工学の発達には様々な遺伝子の染色体上の存在部位を

明らかにした。その中で興味深いのは、免疫グロブリン L 鎖遺伝子は 2 番染色体上に、H 鎖遺伝子は 14 番染色体と 22 番染色体上にそれぞれ存在することが明らかになり^{15)~18)}、また癌遺伝子の 1 つである c-myc 遺伝子が 8 番染色体上に存在することが確認された¹⁹⁾。そして Burkitt リンパ腫では染色体転座 t(8;14), t(2;8), t(8;22) が起こり c-myc 遺伝子はこの染色体転座によって免疫グロブリン遺伝子近くに転座するため免疫グロブリンの発現機構を介して c-myc 遺伝子が多量に発現され癌を引き起こすことが明らかになった²⁰⁾。このように、最近では染色体の特異的な異常と癌遺伝子の発現との関係を軸に発癌機構が解明されつつある。慢性骨髄性白血病の t(9;22) 転座においても c-abl 癌遺伝子の 9 番染色体より 22 番染色体への転座と発現が明らかになってきた²¹⁾。その他、Wilms 腫瘍²²⁾や網膜芽細胞腫²³⁾においても遺伝子レベルでの発癌機構と染色体異常との関係が急速に解明されつつある。

膀胱癌における染色体分析は従来より染色体数の異常やマーカー染色体の有無について検討されてきた^{24)~27)}が、1984 年 Granberg-Öhman ら²⁸⁾は 89 例の膀胱移行上皮癌患者の腫瘍細胞より得られた染色体標本に G 分染法あるいは C 分染法を施行し 62 例が分析可能で、#1・#3・#10・#14・#16・#18・#19・#20 の trisomy や #1・#2・#3・#4・#5・#6・#7・#8・#9・#10・#11・#12・#13・#14・#15・#17・#18・#20 の monosomy, B, C, D, E, F, G 群染色体, ring, isochr といういわゆるマーカー染色体の出現を報告した。しかし特異的な染色体異常は認めていない。1986 年 Gibas ら²⁹⁾は 7 例の膀胱移行上皮癌患者から得られた 9 検体の腫瘍細胞より染色体標本を作製し G 分染法を用いて分析し 1 p⁺, 1 q⁺, del (6), 11 p⁺, del (11) (p13), i (11q), dup (13), t (11;13), i (5p) を認めたが特に i (5p) が特異的な異常である可能性を報告した。1985 年 Fearon ら³⁰⁾は 12 例の膀胱移行上皮癌患者について 11 番染色体の短腕の遺伝子の欠如を報告した。また 1983 年 deMartinvill ら³¹⁾はヒト膀胱癌由来株細胞である EJ 細胞を用いて 11 番染色体の短腕の一部 (11p11→p15) に c-Ha-ras 1 癌遺伝子が存在していると報告した。

今回の検討では 5 番染色体は T-24 細胞では異常を認めず、MGH-U1 細胞では trisomy が全核板で認められた。臨床例では異常を認めなかった。また 11 番染色体については T-24 細胞では異常を認めず、MGH-U1

細胞においては monosomy または trisomy が 2 核板で観察された。さらに臨床例では monosomy が 2 例でみられたがこれが特異的な異常か否かは不明である。

このように膀胱癌の染色体分析は、近年分染法を用いた詳細な分析がなされてきているが、いまだ完全な染色体異常と膀胱癌の発生、増殖との関係の解明はなされていない。膀胱癌に特異的な染色体異常の追求と確認、そして癌遺伝子等の遺伝子との関係を追求する段階である。

今回、Q 分染法を用いて膀胱癌患者の腫瘍組織の染色体分析を行なったが、分染法には種々の前処理後にギムザ染色を行なう G 分染法³²⁾、キナクリンマスタードを用いて蛍光バンドを描出する Q 分染法³³⁾、G 分染法と逆の濃淡を示す R 分染法³⁴⁾、繰り返し塩基配列の多い DNA を濃染する C 分染法³⁵⁾などがある。G 分染法はトリプシン処理という比較的簡単な処理で特別な器具も不要で鮮明なバンドが得られるためもっとも広く利用されている。しかし、気温、湿度、標本の保存状態などの条件により微妙にトリプシンの至適処理時間やトリプシン濃度に変化するという困難さがある。一方、Q 分染法はスライドガラスをキナクリンマスタード液中に浸すだけで種々の条件に影響されず良好なバンドが得られ、また Q 分染法施行後に同一核板に G バンドを描出させることも可能である。それゆえ今回の染色体分析はこの Q 分染法を用いた。Q 分染法を施行する場合、核板は染色体同志の重なりが少なくしかもバンドが入るに十分な長さを持つ染色体を選ぶ必要があり、実際に Q 分染法にて分析可能な核板は少なかった。

このような背景のもとに染色体分析を施行した結果、1 番染色体に 1 p⁺, 1 p⁻, 1 q⁻ および monosomy のいずれかが培養細胞では全核板に、膀胱癌症例では分析可能であった 6 症例の全例において認められ膀胱癌における特異的な染色体異常の存在を示唆する成績であった。マーカー染色体については全例においてやはり認められたが由来が不明でありさらに検討する必要があると思われた。

膀胱癌の染色体分析の臨床への応用としては、ヒト膀胱癌の発生過程や増殖の過程が染色体の異常を手がかりに解明できれば膀胱癌の発生を予知することが可能となり、また膀胱癌に対する予後判定の有効な指標となり得る。この意味で今後も膀胱癌の染色体分析の結果を集積し、より詳細な分析を行なっていく必要があると思われる。

今回の分析の問題点としては、Q分染法にて分析可能であった核板数が1症例あたり少なく、すべての細胞を分析できなかったこと、また同定不能の染色体が多く存在し詳細な分析が困難なことがしばしばあったことである。今後、高精度分染法^{36)~38)}の導入がこれらの問題点を解決し、より詳細な構造異常の検出および同定不能のいわゆるマーカー染色体の由来の分析も可能となると思われる。今後はこの方向で症例を重ね詳細な検討を加えるつもりである。

結 語

ヒト膀胱癌由来株細胞であるT-24細胞とMGH-U1細胞、および7例の膀胱移行上皮癌患者より得られた腫瘍細胞の染色体分析をQ分染法にて行なった。その結果、1p⁻, 1q⁻, 1番染色体のmonosomyのいずれかが株細胞の全核板において、臨床例では分析可能であった6例の全例において観察された。また由来不明のマーカー染色体が全例に認められた。その他、#13のmonosomyが4例に、#2・#9・#21のmonosomyが3例に認められた。これら染色体の異常がヒト膀胱癌の発生にかかわる可能性が示唆された。

本論文の要旨は第44回日本癌学会総会および第74回日本泌尿器科学会総会において発表した。また、研究の隊行にあたり御指導、御協力をいただいた当教室の窪田吉信講師に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Nowell, P.C. and Hungerford, D.A.: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science*, 132, 1497, 1960.
- 2) Manolov, G. and Manolova, Y.: A marker band in chromosome 14 in Burkitt lymphomas. *Nature*, 237, 33—34, 1972.
- 3) Kaneko, Y., Egues, M.C. and Rowley, J.D.: Interstitial deletion of short arm of chromosome 11 limited to Wilms' tumor cells in a patient without aniridia. *Cancer Res.*, 41, 4577—4578, 1981.
- 4) Yunis, J.J. and Ramsey, N.: Retinoblastoma and subband deletion of chromosome 13. *Am. J. Dis. Child.*, 132, 161—163, 1978.
- 5) Lamb, D.: Correlation of chromosome counts with histological appearances and prognosis in transitional-cell carcinoma of bladder. *Brit. Med. J.*, 1, 273—277, 1967.
- 6) Cooper, E.H., Levi, P.E., Anderson, C.K. and Williams, R.E.: The evolution of tumor cell populations in human bladder cancer. *Brit. J. Urol.*, 41, 714—717, 1969.

- 7) Bubeník, J., Baresová, M., Viklický, V., Jakoubková, J., Sainerová, H. and Donner, J.: Established cell line of urinary bladder carcinoma (T-24) containing tumour-specific antigen. *Int. J. Cancer*, 11, 765—773, 1973.
- 8) Kato, T., Ishikawa, K., Nemoto, R., Senoo, A. and Amano, Y.: Morphological characterization of two established cell lines, T-24 and MGH-U1, derived from human urinary bladder carcinoma. *Tohoku J. Exp. Med.*, 124, 339—349, 1978.
- 9) 福嶋義光, 井上信男: 染色体検査法. 臨床検査, 28, 759—770, 1984.
- 10) Rowley, J.D.: A new consistent chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature*, 243, 290—294, 1973.
- 11) Yunis, J.J.: Specific fine chromosomal defects in cancer: An overview. *Hum. Path.*, 12, 503—515, 1981.
- 12) Yunis, J.J., Oken, M.M., Kaplan, M.E., Ensrud, K.M., Howe, R.R. and Theologides, A.: Distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 307, 1231—1236, 1982.
- 13) Slater, R.M. and deKruker, J.: Chromosome number 11 and Wilms' tumor. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 5, 237—245, 1982.
- 14) Balaban-Malenbaum, G., Gilbert, F., Nichols, W.W., Hill, R., Shields, J. and Meadows, A.T.: A deleted chromosome No. 13 in human retinoblastoma cells: Relevance to tumorigenesis. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 3, 243—250, 1981.
- 15) Croce, C.M., Shander, M., Martinis, J., Cicurel, L., Dancona, G.G., Dolby, T.W. and Koprowski, H.: Chromosomal location of the genes for human immunoglobulin heavy chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76, 3416—3419, 1979.
- 16) Erikson, J., Martinis, J. and Croce, C.M.: Assignment of the genes for human λ immunoglobulin chains to chromosome 22. *Nature*, 294, 173—175, 1981.
- 17) McBride, O.W., Hieter, P.A., Hollis, G.F., Swan, D., Otey, M.C. and Leder, P.: Chromosomal location of human kappa and lambda immunoglobulin light chain constant region genes. *J. Exp. Med.*, 155, 1480—1490, 1982.
- 18) Malcolm, S., Barton, P., Murphy, C., Ferguson-Smith, M.A., Bentley, D.L. and Rabbitts, T.H.: Localization of human immunoglobulin κ light chain variable region genes to the short arm of

- chromosome 2 by in situ hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **79**, 4957—4961, 1982.
- 19) Dalla-Favera, R., Martinotti, S., Gallo, R.C., Erikson, J. and Croce, C.M.: Translocation and rearrangements of the c-myc oncogene locus in human undifferentiated B-cell lymphomas. *Science*, **219**, 963—967, 1983.
 - 20) Battey, J., Moulding, C., Taub, R., Murphy, W., Stewart, T., Potter, H., Lenoir, G. and Leder, P.: The human c-myc oncogene: Structural consequences of translocation into the IgH locus in Burkitt lymphoma. *Cell*, **34**, 779—787, 1983.
 - 21) deKlein, A., van Kessel, A., Grosveld, G., Bartram, C.R., Hagemeijer, A., Bootsma, D., Spurr, N.K., Heisterkamp, N., Groffen, J. and Stephenson, J.R.: A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature*, **300**, 765—767, 1982.
 - 22) Fearon, E.R., Vogelstein, B. and Feinberg, A.P.: Somatic deletion and duplication of genes on chromosome 11 in Wilms' tumors. *Nature*, **309**, 176—178, 1984.
 - 23) Murphree, A.L. and Benedict, W.F.: Retinoblastoma: Clue to human oncogenesis. *Science*, **223**, 1028—1033, 1984.
 - 24) 重松 俊: 膀胱腫瘍に於ける染色体の意義. 日泌尿会誌, **55**, 734—737, 1964.
 - 25) 嶺井定一: 膀胱腫瘍に於ける染色体の研究. 泌尿紀要, **11**, 1085—1113, 1965.
 - 26) 長山忠雄, 片海七郎: Pumping 法による膀胱腫瘍の細胞診および腫瘍細胞染色体の検索. 泌尿紀要, **18**, 5—11, 1972.
 - 27) 佐々木紘一: 膀胱癌の染色体に関する研究—特に予後との関係について—. 日泌尿会誌, **67**, 968—986, 1976.
 - 28) Granberg-Öhman, B., Tribukait, B. and Wijkström, H.: Cytogenetic analysis of 62 transitional cell bladder carcinomas. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **11**, 69—85, 1984.
 - 29) Gibas, Z., Prout, G.R., Pontes, J.E., Connolly, J. G and Sandberg, A.A.: A possible specific chromosome change in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **19**, 229—238, 1986.
 - 30) Fearon, E.R., Feinberg, A.P., Hamilton, S.H. and Vogelstein, B.: Loss of genes on the short arm of chromosome 11 in bladder cancer. *Nature*, **318**, 377—380, 1985.
 - 31) deMartinville, B., Giacalone, J., Skin, C., Weinberg, R.A. and Francke, U.: Oncogene from human EJ bladder carcinoma is located on the short arm of chromosome 11. *Science*, **219**, 498—501, 1983.
 - 32) Sumner, A.T., Evans, H.J. and Buckland, R.A.: A new technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol.*, **232**, 31—32, 1971.
 - 33) Caspersson, T., Lomakka, G. and Zech, L.: The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes distinguishing characters and variability. *Hereditas (Lund)*, **67**, 89—102, 1971.
 - 34) Sehested, J.: A simple method for R banding of human chromosomes showing a PH-dependent connection between R and G bands. *Human-genetik*, **21**, 55—58, 1974.
 - 35) Sumner, A.T.: A simple method for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl. Cell Res.*, **75**, 304—306, 1972.
 - 36) Yunis, J.J., Sawyer, J.R. and Ball, D.E.: The characterization of high-resolution G-banded chromosomes of man. *Chromosoma*, **67**, 293—307, 1978.
 - 37) Ikeuchi, T. and Sasaki, M.: Accumulation of early mitotic cells in ethidium bromide-treated human lymphocyte culture. *Proc. Jpn. Acad.*, **55**, Ser. B, 15—18, 1979.
 - 38) Moriyama, M., Shuin, T., Kubota, Y., Satomi, Y., Sugio, Y. and Kuroki, Y.: A case of rhabdomyosarcoma of the bladder with a (2;5) chromosomal translocation in peripheral lymphocytes. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **22**, 177—181, 1986.

(1987年3月24日受理, 特別掲載)