

선천 섬유증 증후군 환자에서 Sarcospan 유전자이상의 검색

이 세업 · 서성일*

= 요약 =

선천 외안근 섬유증 증후군은 유전학적으로 linkage analysis 등의 방법을 통하여 염색체 12 번의 p11.2~q12 주변에 위치한 유전자와 관련 있다는 것이 알려져 있다. 최근에는 12번 염색체 p11.2에 위치하며 세포막 구성성분으로 dystrophin-glycoprotein복합체인 sarcospan유전자가 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련이 있을 것으로 보고된 바 있다. 이에 저자들은 선천 외안근 섬유증 증후군환자를 대상으로 하여 sarcospan유전자의 결손, 돌연변이 및 발현 등을 polymerase chain reaction(PCR), reverse transcription(RT)-PCR 및 PCR-SSCP(single strand conformational polymorphism)방법으로 조사하고자 하였다. 총 11명의 환자와 정상가족의 혈액에서 분리한 DNA를 대상으로 PCR 및 PCR-SSCP를 실시한 결과 sarcospan 유전자의 exon 3의 결손 및 돌연변이는 관찰할 수 없었으며, sarcospan 유전자의 발현을 RT-PCR로 조사한 결과 4개 중 3개에서 정상에 비해 발현이 다소 증가되어 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과로 sarcospan과 선천 외안근 섬유증 증후군과의 관계는 sarcospan 유전자의 결손 및 돌연변이와는 관계가 없을 것으로 보인다. 그리고 유전자의 발현이 정상에 비해 다소 증가된 양상을 보였지만 실험 예가 적어서 관계를 설명하기는 어렵다고 사료된다. 향후 선천 섬유증 증후군 환자의 외안근에서 DNA 및 RNA를 분리하여 sarcospan 유전자의 이상유무를 알아 보는 것이 필요할 것으로 생각된다(한안지 40:3414~3421, 1999).

= Abstract =

Alterations of Sarcospan Gene in Congenital Fibrosis Syndrome

<접수일 : 1999년 7월 6일, 심사통과일 : 1999년 9월 2일>

계명대학교 의과대학 안과학교실, 의과학연구소

Address reprint requests to Se-Youp Lee, M.D.

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Keimyung University

#194 Dongsan-dong, Taegu, 700-310, Korea

Tel : 82-53-250-7720, 7703, Fax : 82-53-250-7705, E-mail : lsy3379@dsmc.or.kr

계명대학교 의과대학 미생물학교실*

Department of Microbiology, School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea*

* 본 논문의 요지는 1999년 10월 제83회 대한안과학회 추계 학술대회에서 포스터 발표되었음.

* 이 연구는 1999년도 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어 졌음.

Se-Youp Lee, M.D., Seong-II Suh, M.D.*

Congenital fibrosis of the extraocular muscles syndrome(CFEOMS) was genetically related to the region of chromosome 12(p11.2~q12) by linkage analysis. Recently the gene encoding sarcospan, one of transmembrane components of the dystrophin-glycoprotein complex which falls within the genetic locus p11.2 of chromosome 12, was suggested to be related with CFEOMS. In this study, we analysed the genetic status(deletion and/or mutation) and the expression of sarcospan gene in 8 CFEOMS patients by using PCR(polymerase chain reaction), RT(reverse transcription)-PCR and PCR-SSCP(single strand conformational polymorphism) analysis. In PCR and PCR-SSCP analysis, we could not detect any deletion or mutation in exon 3 of sarcospan, and in RT-PCR, 3 out of 4 CFEOMS samples were found to be slightly the increased expression of sarcospan gene compared to that of normal control. In conclusion, the genetical relationship between sarcospan gene and CFEOMS could not be related with deletional and mutational events of sarcospan gene. Even though, sarcospan gene showed slightly the increased expressional patterns in CFEOMS samples, the relationship was difficult to explain because the cases were too small. Taken together, in order to confirm the relationship between sarcospan gene and CFEOMS, analysis of DNA and RNA from extraocular muscle were further needed(J Korean Ophthalmol Soc 40:3414~3421, 1999).

Key Words : Congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome, Dystrophin, Glycoprotein, Sarcospan

선천 외안근 섬유증 증후군은 외안근의 형성부전 및 섬유화에 의해 임상적으로 양안의 안검하수, 하방으로 눈이 고정되는 외안근 마비로 편위각이 큰 사시, 악시를 나타내는 상염색체 우성으로 유전되는 질환이다^{1~4)}. 현재까지 이 질환의 병인을 밝히기 위해 전기생리학적 검사 및 병리학적인 연구 등이 이루어 졌으나 아직 그 정확한 원인은 잘 알려져 있지 않다⁵⁾.

최근에 linkage analysis 등의 방법을 통하여 염색체 12번의 p11.2~q12 주변에 위치한 유전자와 선천 외안근 섬유증 증후군과의 관련이 보고되고 있으며^{5,6)}, Crosbie 등은 12번 염색체 p11.2에 위치하는 sarcospan유전자가 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련이 있을 것으로 보고한 바 있다⁷⁾. Sarcospan유전자산물은 multisubunit protein 복합체인 dystrophin-glycoprotein 복합체와 함

께 분리되는 것으로 보아 dystrophin-glycoprotein 복합체를 구성하는 하나의 요소로 알려졌다^{7,8)}. Dystrophin-glycoprotein 복합체는 근초(sarcolemma)에 위치하는 단백으로서 근초하 세포골격(subsarcolemmal cytoskeleton)과 세포의 기질사이의 연결에 관여하는데, 어떤 이유에서든지 간에 이러한 연결이 붕괴되면 근세포는 괴사로 이어지게 되고 결국에는 근육세포의 섬유화가 일어나게 된다고 알려져 있다^{9,10)}. 그러므로 dystrophin-glycoprotein 복합체는 정상 근육기능에 필수적인 것으로 알려져 있으나 그 정확한 기능은 아직 잘 밝혀져 있지는 않다. 또한 sarcospan 유전자의 발현이 Duchenne muscular dystrophy 환자에서 현저하게 감소되어 있어 sarcospan 유전자 산물이 세포막에 위치하기 위해서는 dystrophin의 발현과 연관이 있을 것으로 보인다⁷⁾.

본 연구는 linkage analysis상 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련된 유전자가 염색체 12번 p11.2~q12에 위치한다는 보고가 있고 또한 염색체 12번 p11.2에 위치한 sarcospan 유전자가 dystrophin-glycoprotein complex의 구성요소라는 점에 입각하여 선천 외안근 섬유증 증후군 환자를 대상으로 하여 sarcospan 유전자의 결손, 돌연변이 및 이상 발현 등의 유전자 자체의 이상 유무를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 환자 및 병리 조직학적 검사

선천 외안근 섬유증 증후군 환자가 있는 두 가계를 대상으로 하였다(Fig. 1,2). 8명의 환자와 환자의 가족 중에서 증상이 없는 정상인 3명 그리고 PCR 대조군으로 선천 외안근 섬유증 증후군의 가족력이 없는 정상인 1명을 대상으로 실험을 실시하였다. 가계 I는 환자인 모녀 이외에는 다른 친척들의 병력에 대해 상세히 알지 못하였다. 병리 조직학적 검사는 사시교정술시 적출한 외안근을 재료로 하여 Masson trichrome 염색을 하였다. 염색과정은 포르말린에 고정된 조직을 Bouin액에 고정하고 Weigert 철헤마톡실린액에 염색하여 수돗물에 수세 후 Biebrich scarlet-acid fuchsin 액에 염색한 후 증류수에 행군 뒤 aniline blue액에 염색하였다.

2. 혈액세포로부터 DNA 및 RNA분리

헤파린으로 처리한 혈액 5~10ml에 동량의 dextran/saline 용액을 넣고 실온에서 20분간 방치한 후 상층액을 회수한 다음 1,000 rpm으로 10분간 원침한 다음 상층액을 제거하였다. 그런 후 세포침사에 0.2% 식염수를 넣어 적혈구를 파괴한 다음 동량의 1.6% 식염수를 넣고 원침하여 백혈구만 순수 분리하였다. 분리한 세포로부터 DNA 및 RNA 분리는 Qiagen회사의 DNA 및 RNA 분리 kit를 사용하였고 자외선 분광흡도계(UV spectrophotometer)를 이용하여 DNA 및 RNA농도를 결정하였다.

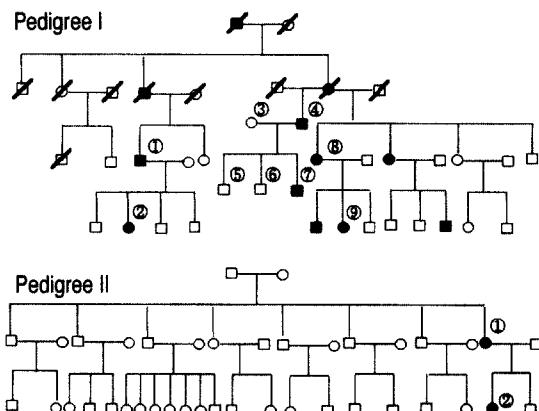


Figure 1. Pedigree of the congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome family. Filled symbols indicate individuals clinically affected with congenital fibrosis of the extraocular muscle. Individuals tested are indicated with number. Square indicates male and circle indicates female. A diagonal slash through a symbol denotes that the individual is deceased. The pedigree of family II can not be defined exactly.

Figure 2. Typical appearance of congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome family. Note severe ptosis, downward fixation of eyes and chin-up head position.

Table 1. Nucleotide Sequence of PCR Primers used in This Study

Primer	Sequence(5' → 3')	Description
GAPDH-S*	CGTCTTCACCACCATGGAGA	Exon 4
GAPDH-AS [†]	CGGCCATCACGCCACAGTTT	Exon 7
PseudoMTAP-S [#]	AGGGACCTCGTTTATCTCTTGA	chromosome 3
PseudoMTAP-AS	CTAGCATTTCCTTCGGGGTCTG	chromosome 3
F74	ACGACATGGAGCCGAAGAAG	Sarcospan Exon 1
F213	CTTCCTCATGGCGAGCATCA	Sarcospan Exon 1
R232	ACGACATGGAGCCGAAGAAG	Sarcospan Exon 1
F431	CCACCACTATTCCGAGCTCA	Sarcospan Exon 3
R489	TGGCAAGAGTCGAGTGTGGT	Sarcospan Exon 3
R637	CAGGCCAACAAAGCACACAG	Sarcospan Exon 3

*GAPDH-S: glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase-sense

[†]GAPDH-AS: glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase-antisense

[#]PseudoMTAP-s: Pseudomethylthioadenosine phosphorylase-sense

3. 중합효소연쇄반응(PCR) 및 역전사(RT)-PCR

중합효소연쇄반응은 5μl의 10Xreaction buffer(15mM MgCl₂, 100mM Tris-HCl pH 8.3, 500mM KCl)와 10mM의 dATP, dTTP, dCTP 및 dGTP, 그리고 20mM sense 및 antisense primer를 각각 1μl를 넣은 혼합물에 100ng의 분리한 DNA와 2.5 unit의 Taq polymerase(Permian Elmer corporation)를 넣은 후 증류수로 50μl로 용량을 맞추고 30μl의 mineral oil을 중충한 다음 DNA thermal cycler (Perkin Elmer corporation)를 사용하여 PCR을 시행하였다. RT-PCR을 위한 cDNA 합성은 분리한 RNA 2μg을 oligo-dT(16mer)를 사용하여 40μl 용량으로 역전사를 시행하였다. 반응 혼합액의 조성은 분리한 RNA 2μg, 5mM MgCl₂, 50mM KCl, 10mM Tris-Cl(pH 8.3), 각각 1mM의 dATP, dCTP, dGTP 및 dTTP, 1 U RNase inhibitor, 2.5U MuLV reverse transcriptase 그리고 2.5μM oligo-dT(16mer)로 하여 42도에서 1시간 99도에서 5분간 반응시켜 합성하였다. PCR을 위한 primer를 합성하기 위해 Genebank accession number x89105 (sarcospan-1 유전자) 및 AF016028(sarcospan-2 유전자)을 이용하였으며, 본 실험에 사용한 primer 염기서열은 Table 1에 나타내었다. 분리한

DNA 및 RNA로부터 합성한 cDNA의 상태를 검증하기 위하여 각각 pseudo-MTAP(methylthioadenosine phosphorylase) 및 GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase)에 대한 PCR을 동시에 실시하였다.

4. PCR-SSCP(Single Strand Conformational Polymorphism) 분석

PCR-SSCP 분석은 Orita 등의 방법에 준하여 실현하였다¹¹. 먼저 PCR은 10X reaction buffer (15mM MgCl₂, 100mM Tris-HCl pH 8.3, 500mM KCl) 10μl와 10mM dATP, dTTP, dGTP 각 2μl씩, 10mM dCTP 1μl, alpha ³²P-dCTP(3,000 Ci/mM, 10 mCi/ml) 1μl 그리고 20μM sense 및 antisense primer를 각각 10μl, 5 unit의 Taq polymerase(Perkin Elmer corporation)를 넣은 후 증류수로 95μl로 용량을 맞추고 0.5 ml tube에 9.5μl씩 분주한 후 여기에 0.5 μl의 RT-PCR 산물을 넣고 잘 혼합한 후 20μl의 mineral oil을 중충한 다음 DNA thermal cycler(Perkin Elmer corporation)를 사용하여 PCR을 시행하였다. Denaturation은 95°C 1분, annealing은 58°C 1분, extension은 72°C 2분으로 하여 35 사이클을 시행하였다. 합성된 PCR 산물 1μl를 9μl의 98% formamide, 20mM EDTA, 0.05% bromphenol blue, 0.05%

xylene cyanol 용액과 잘 섞고 90°C에서 2분간 둔 후 6% non-denaturing polyacrylamide 젤(gel)에서 냉각기(cooling system)을 사용하여 10°C를 유지하면서 TBE 완충액(Tris-Borate-EDTA buffer)로 10 Watt, 16시간 전기영동하였다. 전기영동된 젤은 Whatman filter paper상에서 gel dryer를 사용하여 건조시킨 후 자가방사기록법(autoradiography)를 시행한 후 돌연변이 유무를 확인하였다.

결 과

1. 선천 외안근 섬유증 증후군 환자의 병리조직학적 소견

병리 조직학적 소견은 하직근에서 채취한 근섬유의 전형적인 섬유화 소견을 나타내었다. 하직근 조직에서는 근섬유가 거의 보이지 않고 거의 교원섬유만 관찰되었다(Fig. 3).

2. PCR 및 PCR-SSCP 분석을 이용한 sarcospan 유전자의 이상 유무 검색

Sarcospan 유전자의 결손 유무를 알아보기 위하여 환자 8명, 정상가족 3명의 혈액으로부터 DNA를 분리한 후 sarcospan 유전자 중 가장 크기가 큰 exon 3에 대한 PCR을 실시한 결과 환자 및 정상가족 모두에서 sarcospan 유전자의 증폭(207 bp)이 관찰되어 이 유전자의 결손과 선천성 외안근 섬

유증 증후군과는 관계가 없음을 알 수 있었다(Fig. 4). 이 때 pseudoMTAP 유전자에 대한 PCR을 동시에 실시하여 추출한 DNA 상태를 검증하였다. 그리고 sarcospan 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위하여 PCR-SSCP 분석을 실시한 결과 환자 및 정상가족 모두에서 전기영동상에서 이상이 있는 경우를 발견할 수 없어 exon 3 부위에는 돌연변이가 없음을 알 수 있었다(Fig. 5).

3. RT-PCR을 이용한 sarcospan 유전자 발현관찰

RNA 분리 가능했던 환자 4명과 환자 가족 1명을 대상으로 실시하였다. 정상 대조군(가계도 I-3 및 정상인)에 비하여 선천 외안근 섬유증 증후군 환자, 즉 가계도 I-4 및 7 그리고 가계도 II-1의 경우에는 sarcospan 유전자의 발현이 다소 증가되어 있는 것으로 보이나 가계도 I-9의 경우는 다소 감소되어 있는 것으로 보였다(Fig. 6).

Figure 4. PCR analysis of sarcospan gene(207 bp) in congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome patients using F431 and R637 primers. M, N and P represent molecular size marker, normal control and negative control, respectively.

Figure 3. Light micrographs of inferior rectus of congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome. Muscle fiber is nearly total displacement by collagen fiber(arrow) (Masson's trichrome, $\times 200$).

Figure 5. PCR-SSCP analysis of sarcospan gene in congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome patients using F431 and R637 primers. N and P represent normal control and negative control, respectively.

Figure 6-A. RT-PCR analysis of sarcospan gene (207 bp) in congenital fibrosis of the extraocular muscle syndrome patients using F431 and R637 primers. M, N and P represent molecular size marker, normal control and negative control, respectively. **B.** The amounts of sarcospan gene expression were quantitated by a gel documentation system and image analysis software. The relative index is defined arbitrarily the ratio of the densities of sarcospan and GAPDH.

고 찰

선천 외안근 섬유증 증후군은 상염색체 우성으로 유전되며 현재까지 염색체 12번의 중심체부위에 이와 관련된 유전자가 위치한다고 알려져 있다^{5,6)}. 최근에 Crosbie 등이 염색체 12번 부위에 위치하는 sarcospan 유전자가 dystrophin과 복합체를 이루는 것으로 보아 아마도 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련이 있을 것으로 추정한 바 있다⁷⁾. 또한 Crosbie 등이 분리한 25Kd의 sarcospan 유전자 산물은 dystrophin과 복합체를 형성하여 근육세포의 세포막 및 근초에 위치하여 세포외 기질 및 세포내의 세포골격과의 연결에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다⁷⁾.

본 연구는 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련된

유전자가 linkage analysis상 염색체 12번 p11.2 ~q12에 위치할 것으로 보고된 바 있고 또 염색체 12번 p11.2에 위치한 sarcospan 유전자가 선천 외안근 섬유증 증후군과 관련이 있을 것이라는 보고가 있어 선천 외안근 섬유증 증후군과 sarcospan 유전자와의 관계를 알아 보고자 하였다. 환자 및 정상가족으로부터 혈액을 채취하여 혈액세포를 분리한 다음 DNA 및 RNA를 분리하였다. 그런 후 PCR방법 이용하여 sarcospan 유전자의 결손 및 돌연변이 유무를 알아보기 위해 primer를 작성하였다. PCR용 primer는 가능하면 G/C 비율이 50~60% 정도로 되도록 Genebank accession number X89105 (sarcospan-1 유전자) 및 AF016028(sarcospan-2 유전자)을 이용하여 작성하였다. 본 실험에 사용한 primer가 특이적으로 sarcospan 유전자의 DNA 및 cDNA를 증폭 가능한지를 알아 보고자 환자 및 정상인으로부터 분리 및 합성한 DNA 및 cDNA를 F74 및 R637, F431 및 R637 그리고 F213 및 R489를 쌍으로 하여 PCR을 실시한 결과 실험에 이용한 모든 primer쌍은 cDNA를 증폭하였으나 F431 및 R637쌍은 cDNA 및 DNA를 증폭 가능하여 본 실험에 사용한 primer가 선택적으로 sarcospan 유전자를 증폭 가능함을 알 수 있었다. Sarcospan 유전자는 3개의 exon으로 구성되어 있으며 이 중 exon 3이 가장 많은 염기수를 가지고 있어 본 실험에서는 exon 3에 대하여 집중적으로 실험하였다. 혈액세포로부터 분리한 DNA 100ng을 이용하여 F431 및 R637 primer를 이용하여 PCR을 실시한 결과 환자 및 정상 DNA에서 모두 PCR 산물이 관찰되어 sarcospan 유전자의 exon 3에는 결손이 없는 것으로 생각되며 선천 외안근 섬유증 증후군과 sarcospan 유전자의 결손과는 관계가 없을 것으로 사료된다.

어떤 유전자의 비활성화로 인해 초래되는 질환은 유전자의 결손 뿐만 아니라 유전자의 돌연변이가 관여하는 경우를 볼 수 있다. 그래서 sarcospan 유전자의 exon 3의 돌연변이 유무를 알아보기 위해 PCR-SSCP 분석을 실시하였으나 전기 영동상에서 PCR 산물의 이동의 이상이 있는 경우가 관찰되지 않아 exon 3의 돌연변이와 선천 외안근 섬유증 증후군과도 관계가 없는 것으로 보

인다. 그러나 exon 1 및 2에 돌연변이가 있을 수도 있으므로 앞으로 여기에 대한 실험이 필요할 것으로 생각된다. 앞에서 언급한 바와 같이 어떤 유전자의 비활성은 결손 및 돌연변이에 의해 생길 수 있는데 최근에 유전자의 promoter 부위의 cytosine염기의 메칠화(methylation)가 유전자 발현의 저하와 관련이 있음이 알려지고 있다¹²⁾. 특히 항암유전자로 알려진 p16INK4a(cyclin dependent kinase 4 inhibitor)이 대표적인 유전자이다. 그러나 sarcospan 유전자의 promoter 부위의 염기 서열이 알려지지 않은 상태여서 promoter부위의 메칠화 관련 실험은 추후에 실시해야 할 예정이다. 그래서 단순히 sarcospan 유전자의 발현정도와 선천 외안근 섬유증 증후군과의 관계를 알아보고자 환자의 혈액세포로부터 RNA를 분리한 다음 cDNA를 합성하여 RT-PCR을 실시한 결과 sarcospan의 발현이 4명의 환자의 경우 정상에 비해 다소 증가된 양상을 보였으며 1명의 경우는 다소 감소된 양상을 보여 sarcospan 유전자의 발현증가가 선천 외안근 섬유증 증후군과 관계가 있을 것으로 생각되지만 실험 예가 많지 않아 확신하기는 어려울 것으로 생각된다.

비록 외안근의 발생 및 생리적 기능에 대해 많은 부분이 잘 알려져 있지 않지만 외안근은 골격근에 비해 섬유의 종류 및 생리적 기능의 차이가 있다고 알려져 있다. 이러한 차이가 외안근 만의 특이한 병리 소견을 나타낼 수 있다^{13,14)}. 대표적인 예로서 Duchenne muscular dystrophy의 경우에는 dystrophin 소실에 따른 주요 골격근의 섬유화 및 쇠약 등을 볼 수 있으나 외안근은 임상적 및 병리적으로 이상이 없으나 진행성 외안근 마비(progressive external ophthalmoplegia)의 경우 외안근만 선택적으로 이상이 초래되어 있으며 어떤 경우에는 미토콘드리아 DNA의 이상이 발견된다^{15,16)}. 그러므로 아직까지 외안근의 생리 및 병리적 특성을 연구할 가치는 충분히 있다고 생각된다. 본 연구는 선천 외안근 외안근 섬유증 증후군 환자의 병인과 sarcospan 유전자의 이상과의 관계를 알아 보고자 실시하였다. 만일 sarcospan의 이상이 선천 외안근 섬유증 증후군을 유발한다면 이 질환이 상염색체 우성질환인 관

계로 환자의 모든 세포에서 sarcospan의 이상이 초래될 것으로 생각되어 환자의 혈액세포로부터 DNA 및 RNA를 분리하여 실험하였다. 그러나 이 질환의 주요 병소가 외안근이므로 앞으로 섬유화가 일어난 외안근으로부터 DNA 및 RNA를 분리하여 sarcospan 유전자의 exon 3 뿐만 아니라 exon 1 및 2의 이상유무에 대해 연구하고자 한다. 또한 최근에 sarcospan과 sarcoglycan complex간의 복합체 형성이 sarcospan이 근초에 위치할 수 있도록 한다는 보고^{17,18)}가 있어 sarcoglycan subcomplex에 대한 연구도 중요할 것으로 사료된다. 나아가서 본 논문은 선천 섬유증 증후군 뿐만 아니라 우리나라에서 흔한 의사사례에 대한 유전자를 연구하는데도 조그만한 도움을 주리라고 생각된다.

REFERENCES

- 1) 노영배, 김종환, 엄부섭, 백선용 : 선천섬유화증후군에서 임상 및 외안근의 조직학적 연구. 한안지 37: 133-140, 1996.
- 2) 이자영, 이경흔 : General fibrosis syndrome 1예. 한안지 27:93-96, 1986
- 3) 유광현, 노영배 : Congenital fibrosis syndrome 2 예. 한안지 29:719-732, 1988.
- 4) 임혜경, 이난규 : General fibrosis syndrome 1예. 한안지 22:663-667, 1981.
- 5) Engle EC, Kunkel LM, Specht LA, Beggs AH : Mapping a gene for congenital fibrosis of the extraocular muscles to the centromeric region of chromosome 12. Nat Genet 7:69-73, 1994.
- 6) Engle EC, Marondel I, Houtman WA, de Vries B, Loewenstein A, Lazar M, Ward DC, Kucherlapati R, Beggs AH : Congenital fibrosis of the extraocular muscle(autosomal dominant congenital external ophthalmoplegia) : genetic homogeneity, linkage refinement, and physical mapping on chromosome 12. Am J Hum Genet 57:1086-1094, 1995.
- 7) Crosbie RH, Heighway J, Venzke DP, Lee JC, Campbell KP : Sarcospan, the 25-kDa transmembrane component of the dystrophin-glycoprotein complex. J Biol Chem 272:31221-31224, 1997.
- 8) Culligan KG, Mackey AJ, Finn DM, Maguire

— 이세엽 외 : 선천성유증증후군 —

- PB, Ohlendieck K : *Role of dystrophin isoform and associated proteins in muscular dystrophy(review)*. *Int J Mol Med* 2:639-648, 1998.
- 9) Campbell KP : *Three muscular dystrophies: loss of cytoskeleton-extracellular matrix linkage*. *Cell* 80: 675-679, 1995
- 10) Straub V and Campbell KP : *Muscular dystrophies and the dystrophin-glycoprotein complex*. *Curr Opin Neurol* 10: 168-175, 1997
- 11) Orita M, Suzuki Y, Hayashi K : *Rapid and sensitive detection of point mutation and DNA polymorphy using polymerase chain reaction*. *Genomics* 5: 874-879, 1989.
- 12) Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa J-P : *Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia*. *Adv Cancer Res* 72: 141-196, 1998.
- 13) Ringel SP, Wilson WB, Barden MT, Kaiser KK : *Histochemistry of human extraocular muscle*. *Arch Ophthalmol* 96: 1067-1072, 1978.
- 14) Oda K : *Motor innervation and acetylcholine receptor distribution of human extraocular muscle fibers*. *J Neurol Sci* 74: 125-133, 1986.
- 15) Kaminski HJ, al-Hakim M, Leigh RJ, Katirji MB, Ruff RL : *Extraocular muscles are spared in advanced Duchenne dystrophy*. *Ann Neurol* 32:586-588, 1992.
- 16) Kosmorsky G and Johns DR : *Neuro-ophthalmologic manifestations of mitochondrial DNA disorders: chronic progressive external ophthalmoplegia, Kearns-Sayre syndrome, and Leber's hereditary optic neuropathy*. *Neurol Clin* 9: 147-161, 1991.
- 17) Crosbie RH, Lebakken CS, Holt KH, Venzke DP, Straub V, Lee JC, Grady RM, Chamberlain JS, Sanes JR, Campbell KP : *Membrane targeting stabilization of sarcospan is mediated by sarcoglycan subcomplex*. *J Cell Biol* 145: 153-165, 1999.
- 18) Duclos F, Straub V, Moore SA, Venzke DP, Hrstka RF, Crosbie RH, Durbe M, Lebakken CS, Ettinger AJ, van der Meulen J, Holt KH, Lim LE, Sanes JR, Davidson BL, Faulkner JA, Williamson R, Campbell KP : *Progressive muscular dystrophy in alpha-sarcoglycan-deficient mice*. *J Cell Biol* 142:1461-1471, 1998.