원 저

대한신경과학회지 17(4):548~553, 1999 ISSN 1225-7044

한국인 근긴장성 이양증에서 CTG 반복확장의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 신경과학교실, 소아과학교실*, 임상연구센터**,
이화여자대학교 의과대학 신경과학교실*** 국립의료원****, 연세대학교 원주의과대학 신경과학교실*****

최병옥 선우일남 김승민 이진성* 이은경** 박기덕*** 정근호**** 문준식*****

Clinical Significance of CTG Repeat Expansion in Korean Myotonic Dystrophy Patients

Byung-Ok Choi, M.D., Il-Nam Sunwoo, M.D., Seung-Min Kim, M.D., Jin-Sung Lee, M.D.*, Eun-Kyung Lee, Kee-Duk Park, M.D.***, Keun-Ho Chung, M.D.****, Joon-Shik Moon, M.D.*****

Department of Neurology, Pediatrics, and Clinical Research Center, College of Medicine Yonsei University Department of Neurology, Ewha Womans University***, National Medical Center****, Yonsei University Wonju College of Medicine *****

Background : Myotonic dystrophy is the most common type of muscular dystrophy affecting adults, associated with the expansion of triplet repeat DNA sequences. A hallmark of the inherited disease with trinucleotide repeat DNA expansion is the clinical and genetic anticipation. The copy numbers of the CTG repeat are known to be related to the severity and the onset age of clinical symptoms. **Methods :** The copy numbers of the CTG repeats were determined using PCR amplification and Southern blotting. The clinical manisfestations of 34 patients from 14 families who had the CTG repeat expansion were evaluated based on the muscular disability rating scale and the electrophysiological study. **Results :** There was a significant positive correlation between the clinical scores and the size of the amplification of trinucleotide repeat, and a negative correlation with the age of onset. In 9 patients with copy numbers of CTG repeats between 61 and 100, 8 cases were asymptomatic and myotonic discharges were not seen in 71% of patients. Larger expanded bands, earlier onset, and worse symptoms were evident with each successive generation. **Conclusions :** Molecular genetic analysis with CTG repeat expansion might be useful in the detection and the genetic counseling of myotonic dystrophy patients.

J Kor Neurol Ass 17(4):548~553, 1999

Key Words : Myotonic Dystrophy, Clinical Significance, CTG Repeat Expansion, Myotonic Discharge, Anticipation

서 론

근긴장성 이양증 (Myotonic dystrophy)은 진행성 근력약화와 근긴장이 특징인 상염색체 우성 유전의 전신적 질환으로 근전도 검사상 근긴장성 방전 (myotonic discharge)이 관찰된다.[1-3] 본 질환은 세대를 거듭할수록 임상 증상이 심해지고 발병 연령이 어려지는 예기성 (anticipation)을 보이며, 모계를 통해 유전된 경우에는 부계를 통해 유전되었을 때보다 증세가 더 심하다고 알려져 있다.[9-15] 또한 근긴장성 이양증 환자에서는 염색체 19q13.2-q13.3에 삼핵산 염기서열인 CTG의 반복이 50회에서 3000회까지 확장되어 있음이 관찰되었다.[2-8] 따라서 근긴장성 이양증 환자들에서 보이는 임상적 특성들과 내재되어 있는 유전학적 이상사이에는 밀접한 상관 관계가 있을 가능성이 있으며 이에 관한 연구들이 진행되었다.[20-25]

우리 나라에서도 정상인에서의 CTG 반복횟수 및 근긴장성 이양증 환자에서 CTG 반복확장에 관한 보고는 있었지만 삼핵산 반복확장이 갖는 임상적 의의 및 임상 양상과의 상관 관계를 규명한 보고는 없었다.[23,26] 이에 저자 등은 분자 유전학적 검사상 근긴장성 이양증으로 진단된 환자들을 대상으로 임상 양상 및 근전도 검사소견을 분석하여 한국인

Manuscript received April 1, 1999.
Accepted in final form June 4, 1999.
* Address for correspondence
Il-Nam Sunwoo, M.D.
Department of Neurology, Yonsei University Medical College, Shinchon-dong 134, Seodaemoon-ku
C.P.O. Box 8044, Seoul, 120-752 Korea
Tel : +82-2-361-6099 Fax : +82-2-393-0705
E-mail : sunwooin@yumc.yonsei.ac.kr
* 본 연구는 연세대학교 의과대학 연구위원회 연구비 보조로 이루어졌음.

근긴장성 이양증 환자들에서 CTG 반복확장이 가지는 임상적 의의를 알아보고자 한다.

대상 및 방법

(1) 연구대상

임상적으로 근육 이완 장애등을 보이고 근전도 검사상 특징적인 근긴장성 방전이 관찰된 일반적인 myotonia환자 23가족 81명을 대상으로 유전자 검사의 동의를 구하고 염색체 19q13.2-q13.3에서 CTG 반복횟수를 검사하였다. 이중 정상 한국인을 대상으로한 연구 결과[23,26]와 비교하여 CTG 반복확장을 가진 근긴장성 이양증 환자로 확인된 경우는 총14가족 34명으로서 이들에서 임상 양상과의 상관 관계를 분석하였다. 대상 환자 중 선천성 근긴장성 이양증 (congenital myotonic dystrophy)은 없었다.

(2) 근전도 검사

근전도 검사는 CTG 반복확장이 확인된 34명 중 검사를 거부한 3명을 제외한 31명에서 시행하였다. 근위부 근육으로는 삼각근 (deltoid), 이두박근 (biceps) 및 외측광근 (vastus lateralis)을, 원위부 근육은 단수지외향근 (abductor pollicis brevis), 제 1배부골간근 (first dorsal interossei) 및 전경골근 (tibialis anterior)에서 선택하여 검사하였다.

(3) Muscular disability rating scale (MDRS)

근긴장성 이양증 환자에서 임상 증상이 심한 정도에 대한 기준은 Mathieu등 (1992)의 5단계 muscular disability rating scale (MDRS)을 사용하였는데 그 내용은 다음과 같다.[17] 1단계 (grade): 진찰상 근력 약화가 없는 경우 (diagnosis made by EMG, slit-lamp examination or DNA analysis); 2단계: 미약한 근력약화의 증후 (myotonia, jaw and temporal wasting, facial weakness, sternocleidomastoid wasting/ weakness, ptosis, nasal speech, no distal weakness except isolated flexor weakness); 3단계: 원위부 근력약화 (no proximal weakness except isolated triceps brachii weakness); 4단계: 경도 혹은 중등도의 근위부 근력약화; 5단계: 중증의 근위부 근력약화 (confined to wheelchair for short or long distances).

(4) PCR을 이용한 삼핵산 반복서열 검사

PCR을 이용한 삼핵산 반복서열 검사를 81명 전체 환자를 대상으로 하였다. 환자의 말초혈액 10㎖를 EDTA 튜브에 채취하고, 10배의 핵 추출 완충액 (0.3M Sucrose, 10mM TrisHCl, 5mM MgCl2, 1% Triton-X100, pH 7.5)과 융해 완충액 2㎖ (0.075M NaCl, 0.024M EDTA, pH8.0)와 10% SDS 125㎕, Proteinase K (10㎎/㎖)을 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. Genomic DNA에서 염색체 19q13.2-13.3 부위에 위치하는 근긴장성 이양증 유전자의 삼핵산 반복서열을 증폭하기 위한 primer로는 1a: 5'-GGAGGATGGAACACGGACGG-3', 1b: 5'-CAGAGCAGGGCGTCATGCACA-3'과 primer 2: 5'-GAAGGGTCCTTGTAGCCGGGAA-3'을 사용하였다. 각 primer set의 sense strand primer는 T4 polynucleotide kinase를 이용하여 [Y-32P]ATP로 5'-end labeling을 하였다. 반응 조건은 primer 10 pmole, 10×kinase buffer 0.5㎕, [Y-32P]ATP 2㎕, H2O 0.5㎕, T4 kinase 0.5㎕ (10 units)를 첨가하여 최종 반응 부피는 5㎕로 하고 37℃에 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 Sephadex-50 (Phamacia) column으로 unlabeled isotope을 제거하였다.

PCR은 labeled primer 0.5㎕, antisense primer 20 pmole, 10 x PCR buffer, dNTP 2.5mM, template 500ng, Taq polymerase (Takara) 1 unit를 첨가하였으며 최종 부피는 25㎕로 하였다. PCR program은 7 분간의 initial denaturation후, 94℃에서 1분, 60℃에서 1분, 72℃에서 30초로 하여 35회 반복하였다. 반응이 끝난 후PCR 산물의 2㎕를 취해 gel loading buffer 1㎕를 첨가하여 6% acrylamide/8M urea denaturation gel에 35watt로 2시간 30분간 전기영동한 다음 15% acetic acid 용액에서 고정하고 헤어 드라이어 건조후 X-ray 필름을 붙여 -70℃에서 약 12-15시간 노출시킨 다음 이를 현상하여 결과를 판독하였다.

(5) Southern blot analysis

환자의 blood DNA중에서 5㎕씩 EcoR1 효소로 처리한 후 1.0% agarose gel에 전기 영동하였다. 전기 영동에 의해 분리된 DNA를 hybond-N+ nylon membrane (Amersham, U.S.A.)에 옮긴 후, 65℃에서 6xSS, 5xDenhart용액, 0.1% salmon sperm DNA등과 함께 보합결합시켰다. Probe의 표식은 random primer 방법으로 [αP32]dATP를 표식하여 보합결합에 사용하였으며 12-18시간 지나서 membrane은 2xSSC, 0.1% SDS 65℃, 30분, 1xSSC, 0.1% SDS 65℃, 15분 2회, 0.1xSSC, 0.1% SDS 65℃, 10분간 씻었다. 이후 membrane을 빠르게 건조시킨 후 X-ray 필름을 붙여 overnight로 노출시킨 다음 이를 현상하여 자가방사기록 (autography)를 얻고 결과를 판독하였다.

(6) 통계 처리

환자들의 자료는 평균±표준 오차로 표시하였으며, 통계분석은 SPSS PC+를 이용하여 Spearman's rank coefficient test로 분석하였고, $p<0.05$인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

임상적으로 근육 이완 장애나 근전도 검사상 근긴장성 방전을 보인 23가족 81명에서 CTG 반복횟수를 검사하였

Table 1. *CTG repeat sizes(bp) and numbers(n) of 34 myotonic dystrophy patients. (CTG)n: number of CTG repeat; bp: base pair.*

	Male	Female	Total
Number	21	13	34
Age	37.0±4.0	38.3±5.5	37.5±3.2
Allele(bp)	1230.3±225.8	925.9±205.6	1124.2±159.7
(CTG)n	368.0±75.8	273.5±68.6	331.9±53.5

Table 2. Correlation between clinical severity by MDRS scores and CTG repeat numbers in myotonic dystrophy. MDRS: Muscular disability rating scale; (CTG)n: number of CTG repeat.

MDRS	61-100	101-250	251-500	>500
Grade 1	8	0	0	0
Grade 2	1	1	0	0
Grade 3	0	6	3	2
Grade 4	0	2	6	3
Grade 5	0	0	1	1
Total	9	9	10	6

Table 3. *Relationship between myotonic discharge and CTG expansion. EMG: electromyography; (CTG)n: number of CTG repeat.*

(CTG)n	61-100	101-250	251-500	501-1600
EMG(+)	2 (29%)	9 (100%)	9 (100%)	6 (100%)
EMG(-)	5 (71%)	0	0	0
not done	2	0	1	0
Total	9	9	10	6

Table 4. *Comparison of the CTG repeat numbers in paternal and maternal transmissions without congenital myotonic dystrophy. (CTG)n: number of CTG repeat.*

(CTG)n	Paternal	Maternal	Total
Parent's size	106.7	138.3	116.2
Offspring's size	315.7	373.3	333.0
Generational change	209.0	235.0	216.8

는데 대개 100회 이하인 경우에는 PCR로 정확하게 횟수를 알 수 있었지만 그 이상인 경우에는 Southern blot으로 반복횟수를 산출할 수 있었다. 삼핵산 염기서열의 반복횟수는5회에서 1600회까지 였는데 5회에서 31회의 범위에 속한 47명과 61회에서 1600회의 반복횟수를 보인 14가족 34예의 2군으로 나눌 수 있었다. 기존 연구 결과와 비교하여 반복횟수가 61회 이상인 34명을 CTG 반복확장을 가진 근긴장성 이양증 환자로 분류하였는데 남자 21명, 여자 13명으로서 평균 나이는 각각 37.0세와 38.3세였다. CTG 반복횟수의 평균은 남자 368.0±75.8회, 여자 273.5±68.6회로 남자에서 다소 많은 경향을 보였다 (Table 1). 삼핵산 반복횟수가 31회 이하였던 47명에서 14개의 서로 다른 대립인자가 관찰되었는데 삼핵산 반복서열의 빈도는 $(CTG)_{12}$에서 28개로 가장 많았고 $(CTG)_5$ 20, $(CTG)_{13}$ 14, $(CTG)_{11}$ 11의 순서였다.

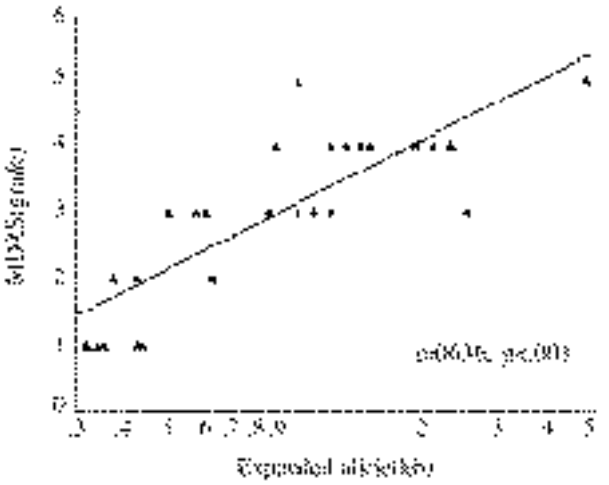

Figure 1. *Relationship between CTG trinucleotide expansion and clinical disease scores as MDRS in myotonic dystrophy patients. Logarithmic scales on X-axis.*

1. 임상 증상의 심한 정도와 CTG 반복횟수

삼핵산 반복횟수가 61회에서 100회 사이인 9예중 1예에서만 임상 증상이 있었고 나머지 8예는 무증상이었다. 그러나 반복횟수가 100회를 초과한 환자들은 모두 근긴장성 이양증의 증상이 있었다. 임상 증상을 MDRS 단계로 분류하면 1단계 8명, 2단계 2명, 3단계 11명, 4단계 11명, 5단계 2명이었는데 반복횟수가 증가할수록 MDRS 단계가 높아지는 경향을 보였으며 (Table 2), MDRS 단계와 삼핵산 반복횟수는 r=.636으로 통계적으로 유의하고 높은 상관 관계를 나타내었다 (Fig. 1).

2. 발병 연령 (age of onset)과 CTG 반복횟수

발병 연령과 CTG 반복횟수는 임상 증상이 나타난 연령이 낮을수록 CTG 반복횟수가 많은 역관계로써 높은 상관성을 보였다 ($r=-.680$; $p<.001$).

3. 근긴장성 방전 (myotonic discharge)과 CTG 반복횟수

삼핵산 반복횟수가 100회보다 많은 경우에는 근전도 검사상 근긴장성 방전이 모든 예에서 관찰되었다. 그러나 CTG 반복횟수가 100회 이하인 경우에는 근전도 검사를 시행한 7예중 5예 (71%)에서 근긴장성 방전을 관찰할 수 없었다 (Table 3).

4. 모계유전과 부계유전

총 14 가족중 부계유전은 7가족, 모계유전이 3가족이었는데 세대간 CTG 반복의 평균 증가횟수는 각각 209회와 235회로써 양군간에 유의한 차이가 없었으며 나머지 환자에서는 가족력에 대한 조사가 불가능하였다 (Table 4).

5. 예기성 (Anticipation)

세대가 내려갈수록 임상적으로 발병 연령이 빨라지고 증상이 심해지는 예기성은 가족검사가 가능하였던 10가계중 한가계 한세대를 제외한 모든 예에서 확인 할 수 있었다. Fig. 3-A의 II-4는 75세 남자로서 근긴장성 이양증의 임상 증상은 관찰되지 않았지만 유전자 검사에 의한 CTG 반복횟수가 61회였다. 그의 딸 (III-3)은 34세 경에 하지의 원위부 근력약화가 나타났는데 CTG 반복횟수는 240회였고 외손자 (IV-1)는 5세에 임상 증상이 나타나기 시작하였는데 삼핵산 반복횟수는 660회로 세대가 내려갈수록 예기성이 뚜렷하였다. 이에 비해서 Fig. 3-B에서 할머니 (I-2)와 아버지 (II-2)는 CTG 반복횟수가 각각 96회, 100회로써 임상 증상이나 근전도 검사에서 근긴장성 이양증 소견이 관찰되지 않아 임상적 예기성이 없었지만 아이들은 (III-1, 2) 각각 15세와 14세에 원위부 근력 약화가 발생하였고 CTG 반복횟수가 각각420회로 320회씩 증가하였다.

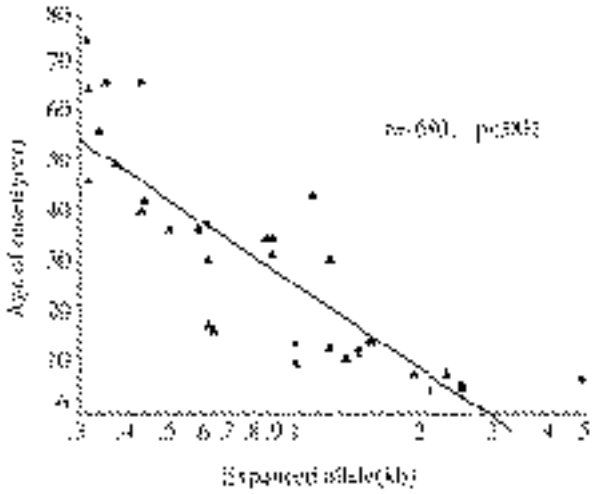

Figure 2. *Correlation between age of onset and CTG expansion in 34 myotonic dystrophy patients, plotted against CTG repeat number. Logarithmic scales on X-axis.*

고 찰

현재까지 Huntington's disease, Spinocerebellar ataxia (SCA), Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA), Fragile×syndrome, Friedreich ataxia등 10가지 이상의 유전 질환에서 다형적인 삼핵산 반복확장 (trinucleotide repeat expansion: TRE)으로 CTG 및 CAG, CGG, GAA 등의 염기서열 반복이 증폭되어 있는 것이 발견되었는데 이중 임상적으로 근육의 수축에 비해 이완 현상에 장애가 발생하는 독특한 증상인 근긴장과 진행성의 근력약화 및 중추신경, 눈, 내분비 기관의 이상을 보이는 질환인 근긴장성 이양증은 19q13.2-q13.3에서 CTG 반복확장이 있는 질환이다.[1-9] 근긴장성 이양증에서

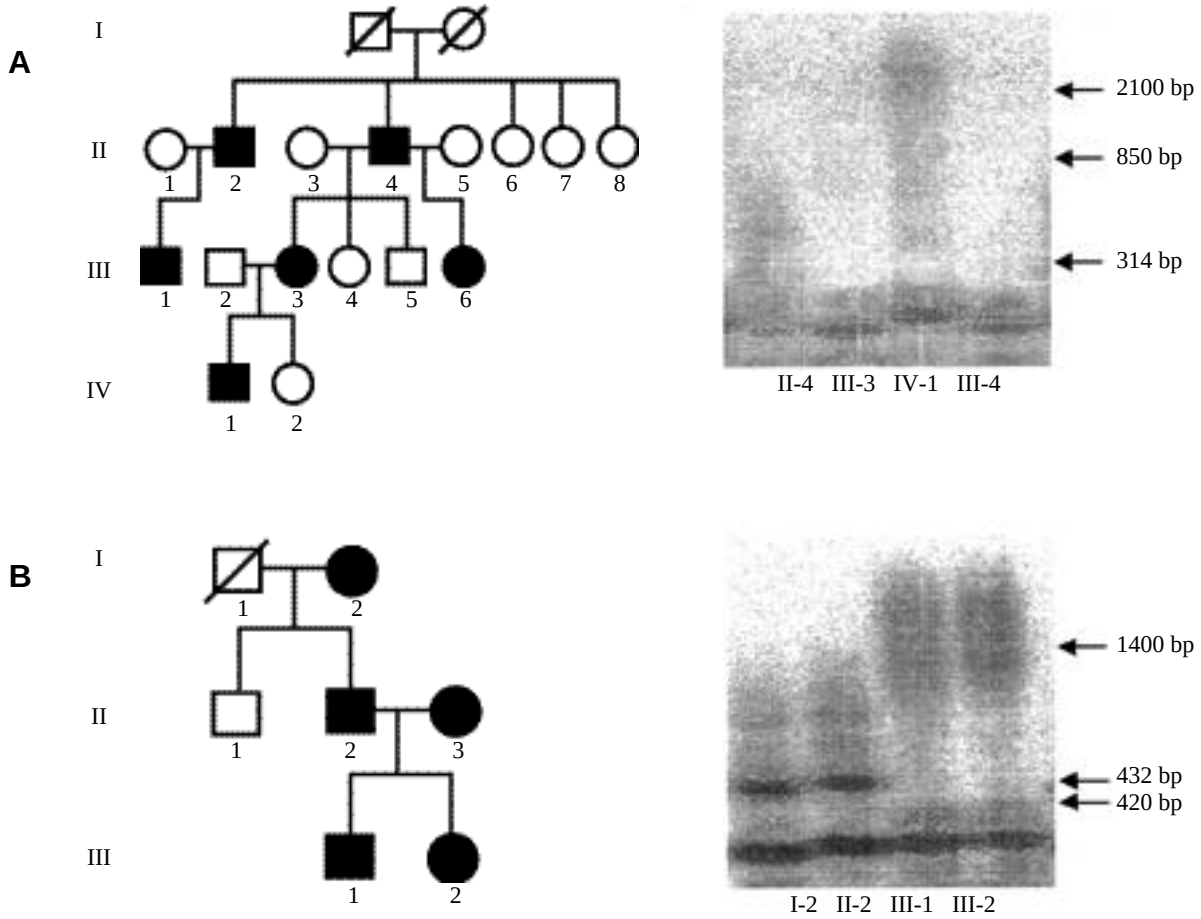

Figure 3. *Pedigree and Southern blot analysis of the family with typical(A) and atypical(B) anticipation. The pedigree illustrates affected males(black squares) and females(black circles). Normal members of the family showed open squares and circles.*

CTG 반복횟수와 임상 양상과의 관계는 서구인들을 대상으로한 연구는 있었으나 아직 우리나라에서는 환자수의 한계 때문에 연구가 미흡한 실정이었다.[9-15,23,26] 그런데 유전자는 종족간 차이가 있을 수 있기 때문에 유전병에서 서구인들의 연구 결과를 한국인에 직접 적용하는 것은 문제가 있다. 실제 정상인을 대상으로 한 연구결과를 보더라도 19q13.2-q13.3에서의 CTG 반복이 서구인에서는 $(CTG)_5$의 빈도가 다른 대립인자보다 2배 이상 많지만 한국인과 일본인에서는 $(CTG)_{11-14}$가 더 흔하다고 보고되었다.[3,6,23,26-28] 따라서 한국인 근긴장성 이양증 환자들에서 나타나는 임상 양상과 염기서열의 증폭에 대해 조사하고 분석하는 것은 이 질환에 대한 진단과 연구에 기초가 될 것이다.

본 연구에서 근긴장성 이양증 환자의 가족들 및 근긴장성을 보이지만 근긴장성 이양증의 임상 증상을 보이지 않았던 47명의 결과가 정상 한국인을 대상으로한 연구 결과와 유사하였기 때문에 기존의 결과를 본 연구에 적용할 수 있다고 생각했으므로 대조군 검사를 따로 하지는 않았다.[23,26] 저자 등의 결과를 보면 총 81명에서 CTG 반복횟수가 61회 이상인 군과 31회 이하인 두군으로 명확하게 구분되었고 반복횟수가 31개 이하인 47명에서의 대립인자의 분포는 정상 한국인을 대상으로한 결과와 거의 일치하였으며 이 군에 속한 예중에서 근긴장성 이양증의 임상 양상을 보인 환자는 없었다.

근긴장성 이양증 환자에서 CTG 반복횟수와 임상 증상의 심한 정도가 관련이 있다는 연구 결과들이 있다.[7-17] 저자 등은 Mathieu등 (1992)이 사용한 MDRS (muscular disability rating scale)로 임상 증상을 객관화 하였는데 MDRS 단계와 CTG 반복횟수간에 밀접한 상관관계 ($r=.636$; $p<.001$)를 보여 서구인들을 대상으로한 연구 결과들과 일치하였다.[9,10,16,20]

본 연구에서 관찰된 흥미있는 사실은 반복횟수가 61회이상 100회이하의 9예중 1예를 제외한 8예에서는 근긴장성 이양증의 임상 증상이 전혀 없었는데 이들은 모두 환자의 부모들이었다는 점이다. 또한 삼핵산 반복횟수가 100회를 초과한 경우에는 무증상인 예가 없었다. 따라서 한국인에서는 CTG 반복횟수 100회가 임상 증상의 유무를 가르는 경계선이 될 수도 있다고 생각되었다.

근긴장성 이양증이 어려서 발병한 경우는 늦은 나이에 발병한 경우에 비해 CTG 반복횟수가 유의하게 많은 것으로 보고되었는데.[5,7,9,15] 저자 등의 연구에서도 발병 연령과 CTG 반복횟수간의 밀접한 상관관계 ($r=-.680$; $p<.001$)는 Harley등 (1993)의 결과 ($r=-.816$; $p<.001$)와 유사하였다.

근긴장성 이양증에서는 근전도 검사상 근긴장성 방전 (myotonic discharge)이 특징적으로 관찰된다고 알려져 있지만 본 연구에서는 CTG 반복횟수가 100회 이하인 환자들 중 71%에서 근긴장성 방전이 관찰되지 않았다.[8-15] 또한 검사를 거부한 2명은 각각 65세와 75세로서 건강하게 농업에 종사하고 있으며 무증상이었기 때문에 만일 근전도 검사를 시행할 수 있었다면 이 빈도는 더 높아졌을 것으로 추측된다. 따라서 근긴장성 이양증에서 유전상담을 위한 가족력을 규명하고자 할 경우 임상 증상이나 근전도 소견으로는 한계가 있기 때문에 CTG 반복횟수에 대한 검사가 필수적이라고 할 수 있다.

근긴장성 이양증에서는 모계유전시 부계유전보다 삼핵산 반복횟수의 세대간 증가가 유의하게 많지만 이 결과는 모계유전으로 알려진 선천성 근긴장성 이양증 (congenital dystonia myotonica)때문으로써 이를 제외하면 모계유전과 부계유전간에는 차이가 없다고 하는데[7,18-22] 선천성 근긴장성 이양증이 포함되지 않은 본 연구에서도 같은 결론이었다.

가계 내에서 세대가 아래로 내려갈수록 질환의 발병 연령이 빨라지고 임상 증상이 더 심해지는 현상을 예기성 (anticipation)이라고 하는데, 이 현상은 관련 유전자가 세대를 걸쳐서 전달될 때 삼핵산 반복횟수가 증가되기 때문인 것으로 생각되고 있다.[11,16,19,27] 본 연구에서도 가족검사가 가능하였던 10가계중 한 가족 한세대에서만 예기성이 없었고 나머지는 모두 임상 증상과 삼핵산 반복횟수에 있어서 뚜렷한 예기성을 보였다. Fig. 3-B에서 아버지는 할머니에 비해 CTG 반복횟수의 증가도 현저하지 않고 임상적 예기성 (clinical anticipation)도 없어서 비전형적인 경우라고 생각되며 그 다음 세대에서는 예기성이 인정되었다.

삼핵산 반복확장이 있는 질환에서는 분자 유전학적 검사를 시행함으로써 보다 빠르고 정확하게 진단할 수 있으며 CTG 반복횟수가 발병 연령 및 임상 증상과 밀접한 상관관계가 있기 때문에 환자 관리에 도움이 될 수 있을 것이다. 또한 증상이 없거나 근전도검사에서 이상소견이 관찰되지 않는 경우라도 삼핵산 염기서열에 대한 검사를 하는 것이 정확한 진단 및 가족력 조사, 유전상담 등에 도움이 된다고 생각한다.

결 론

저자 등은 분자 유전학적 검사상 CTG 반복확장이 확인되어 근긴장성 이양증으로 진단된 14가족 34명의 임상 양상과 삼핵산 반복횟수를 비교 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 삼핵산 염기서열의 반복확장과 임상 증상의 심한 정도는 통계적으로 유의한 높은 상관 관계를 보였다.

2. 삼핵산 염기서열의 반복확장과 발병 연령 역시 높은 상관 관계가 있어서 반복횟수가 많을수록 발병 연령이 어렸다.

3. CTG 반복횟수가 61회 이상 100회 이하인 9예중 8예 (89%)에서 무증상이었으며, 근전도 검사를 시행한 7예중 5예 (71%)에서 근긴장성 방전 (myotrophic discharge)을 발견할 수 없었다. 그러나 CTG 반복횟수가 100회를 초과한 경우에는 모든 예에서 임상 증상과 근긴장성 방전이 관찰되었다.

4. 선천성 근긴장성 이양증 환자가 없었던 본 연구에서는 모계유전과 부계유전에서 세대간 CTG 반복횟수의 증가에 분명한 차이는 없었다.

5. 가족 검사가 가능하였던 가계중 한 가족의 한 세대를 제외한 모든 가계에서 뚜렷한 예기성 (anticipation)을 보였다.

REFERENCES

1. Caskey CT, Pizzuti A, Fu YH, et al. Triplet repeat mutations in human disease. *Science* 1992;256:784-789.
2. Buxton J, Shelbourne P, Davies J, et al. Detection of an unstable fragment of DNA specific to individuals with myotonic dystrophy. *Nature* 1992;355:547-548.
3. Imbert G, Kretz C, Johnson K, Mandel J. Origin of the expansion mutation in myotonic dystrophy. *Nature Genet* 1993;4:72-76.
4. Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, et al. Myotonic dystrophy mutation: An unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* 1992;255:1253-1255.
5. Wong LJ, Ashizawa T, Monckton DG, Caskey CT, Richards CS. Somatic heterogeneity of the CTG repeat in myotonic dystrophy is age and size dependent. *Am. J. Hum. Genet.* 1995;56:114-122.
6. Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992;68:799-808.
7. Harley HG, Rundle SA, MacMillan JC, Crow S. Size of the unstable CTG repeat sequence in relation to phenotype and parental transmission in myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 1993;52:1164-1174.
8. Ptacek LJ, Johnson KJ, Criggs RC. Genetics and physiology of the myotonic muscle disorder. *NEJM* 1993;328: 482-489.
9. Redman JB, Fenwick RG Fu YH, et al. Relationship between parental trinucleotide CTG repeat length and severity of myotonic dystrophy in offspring. *JAMA* 1993; 269:1960-1965.
10. Ashizawa T, Dunne PW, Ward PA, et al. Effects of the sex of myotonic dystrophy patients on the unstable triplet in their affected offspring. *Neurology* 1994;44:120-122.
11. Carpenter NJ. Genetic anticipation: Expanding tandem repeats. *Neurologic Clinics* 1994;12:683-697.
12. Koch MC, Grimm T, Harley HG, Harper PS. Genetic risks for children of women with myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 1991;48:1084-1091.
13. Harris S, Moncrieff C, Johnson K. Myotonic dystrophy: will the real gene please step forward! *Human Molecular Genetics* 1996;5:1417-1423.
14. Redman JB, Fenwick RG, Fu YH, et al. Relationship between paternal trinucleotide GCT repeat length and severity of myotonic dystrophy in offspring. *JAMA* 1993; 269(15):1960-1965.
15. Simmons Z, Thornton CA, Seltzer WK, Richards CS. Relative stability of a minimal CTG repeat expansion in a large kindred with myotonic dystrophy. *Neurology* 1998; 50:1501-1504.
16. Gharehbaghi-Schnell EB, Finsterer J, Korschineck I, Mamoli B, Binder BR. Genotype-phenotype correlation in myotonic dystrophy. *Clin Genet* 1998;53:20-26.
17. Mathieu J, De Brackeleer M, Prevost C, et al. Myotonic dystrophy: clinical assessment of muscular disability in an isolated population with presumed homogenous mutation. *Neurology* 1992;42:203-208.
18. Fu YH, Pizzuti A, Fenwick RG, et al. An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* 1992;255:1256-1258.
19. Lavedan C, Helene HR, Shelbourne P, et al. Myotonic dystrophy: size- and sex-dependent dynamics of CTG meiotic instability and somatic mosaicism. *Am J Hum Genet* 1993;52:875-883.
20. Martorell L, Johnson K, Boucher CA, Baiget M. Somatic instability of the myotonic dystrophy (CTG)n repeat during human fetal develpment. *Hum Mol Genet* 1997;6(6): 877-880.
21. Munain AL, Cobo AM, Huguet E, Masso FM, Johnson K, Baiget M. CTG trinucleotide repeat variability in identical twins with myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 1994;35(3): 374-375.
22. Taylor HP, Schwartzbach CJ, Gilbert JR, et al. Germline versus somatic diversity of the p(CTG)n repeat in myotonic dystrophy. *Neurology* 1993;43:A280.
23. **진동규, 김병준, 이광호등. 근긴장성 이양증의 삼핵산 반복 서열에 관한 연구**. *대한신경과학회지* 1997;15:90-98.
24. Kinoshita M, Takahashi R, Hasegawa T, et al. (CTG)n expansions in various tissues from a myotonic dystrophy patient. *Muscle Nerve* 1996;19:240-242.
25. Thorthon CA, Johnson K, Moxley RT. Myotonic dystrophy patients have larger CTG expansions in skeletal muscle than in leukocytes. *Ann Neurol* 1994;35:104-107.
26. Shim SH, Cho YH, Choi SK, Chung SR. The CTG repeat polymorphisms of myotonic dystrophy (DM) gene in Korean population. *J Gene Med* 1997;1:23-26
27. Ashizawa T, Dubel JR, Dunne PW, et al. Anticipation in myotonic dystrophy. II. complex relationships between clinical findings and structure of the GCT repeat. *Neurology* 1992;42:1877-1883.
28. Davies J, Yamagata H, Shelbourin P, et al. Comparison of the myotonic dystrophy associated CTG repeat in European and Japanese populations. *J Med Genet* 1992;29:766-769.