

Turner 증후군 환자에서 분자유전학적 방법을 이용한 Y 염색체의 증명

김혜란¹ · 신정환^{1,3} · 정우영² · 이정녀^{1,3}

인제대학교 의과대학 부산백병원 진단검사의학교실¹, 소아과학교실², 백인제 기념 임상의학 연구소³

Identification of Y-chromosome by Molecular Analysis in Patients with Turner Syndrome

Hye Ran Kim, M.D.¹, Jeong Hwan Shin, M.D.^{1,2}, Woo Yeong Jung, M.D.³, and Jeong Nyeo Lee, M.D.^{1,2}

Departments of Laboratory Medicine¹, Pediatrics², Paik Institute for Clinical Research³, Busan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University, Busan, Korea

Background : It is known that the Y chromosome or Y-specific sequence is present in about 6% of Turner syndrome (TS) patients and that it predisposes them to gonadoblastoma formation with an estimated risk of 15-25%. In this study, we performed a polymerase chain reaction (PCR) in 32 patients with TS to detect Y-specific sequence. The results were compared with those obtained by the fluorescence in situ hybridization (FISH) method.

Methods : Cytogenetic analysis was performed by phytohemagglutinin (PHA)-stimulated peripheral lymphocyte cultures, using G-banding. DNA was extracted from peripheral blood for PCR. Seven different sets of oligonucleotide primers, sex determining region Y (SRY), zinc finger gene on the Y chromosome (ZFY), testis specific protein Y (TSPY), DYZ3, DYF49S1, RNA binding motif protein (RBM), and DYZ1, spanning on centromeres and short and long arms of the Y chromosome were used for PCR. FISH was carried out using X and Y chromosome enumeration probe for Xp11.1-q11.1 (DXZ1 locus) and Yp11.1-q11.1 (DYZ3 locus), respectively.

Results : Among 32 patients with TS, four (12.5%) were positive for Y specific sequence by PCR. Of these, two patients were detected previously by a cytogenetic analysis: 45,X/47,XXY and 45,X/46,XY. Only one Y specific sequence, DYZ3, was detected by PCR in the other two patients without cytogenetically obvious Y chromosome. Y signal was not detected by FISH for the last two patients.

Conclusions : It may be reasonable to consider using a PCR method to screen for Y-specific sequences in all patients with TS. Even though we did not demonstrate Y-signal by FISH in patients with PCR positive and cytogenetically no obvious Y chromosome, FISH may be another useful method in TS patient, and further investigation is necessary. (*Korean J Lab Med* 2006;26:131-6)

Key Words : Turner syndrome, Y-chromosome, Gonadoblastoma, PCR, FISH

서론

Turner 증후군은 비교적 흔한 염색체질환으로, 1938년 Henry

Turner가 처음으로 성적 영아증(sexual infantilism), 익상경(web neck) 및 외반주(cubitus valgus)와 난소부전을 특징으로 하는 일련의 증후군을 발표하였으며, 1959년 Ford가 처음으로 세포유전학적 방법에 의해 Turner 환자의 핵형이 45,X임을 밝혔다[1]. 출생 빈도는 여아 약 2,000명당 1명으로 보고되고 있다[2].

Turner 증후군 환자의 염색체 소견은 매우 다양한데, 약 50%에서 45,X의 핵형을 가지며, 이들은 비교적 전형적인 Turner 증후군의 형태학적 특징을 나타내지만, 나머지 50%에서는 X 염색체의 구조적 변형이나 모자이시즘의 다양한 핵형과 임상적 형태를 나타낸다[2]. 또 대략 환자의 6%에서 Y 염색체 혹은 Y 특이유

접 수 : 2006년 1월 20일 접수번호 : KJLM1919
수정본접수 : 2006년 2월 21일
게재승인일 : 2006년 3월 15일
교신저자 : 김 혜 란
우 614-110 부산시 부산진구 개금2동 633-165
인제대학교 의과대학 진단검사의학교실
전화 : 051-890-6872, Fax : 051-893-1562
E-mail : pk7146@hanmail.net

*본 논문은 2004년도 인제대학교 학술연구조성비 보조에 의한 것임.

전물질을 보유하는 것으로 알려져 있는데[3], 이들 환자가 Y 특이유전물질을 보유하면 15-25%에서 발육부전 난소에 성선모세포종(gonadoblastoma)이 발생하고 남성화의 위험성을 증가시킨다고 보고되고 있다[4]. 그러므로 Turner 증후군 환자에서 Y 염색체나 Y 특이유전물질의 존재유무를 명확히 규명하는 것은 환자의 치료방침에 매우 중요하다. 그러나 Y 염색체는 흔히 세포분열 과정에서 소실되어 세포유전학적 검사로는 존재를 증명할 수 없는 경우가 많고, 특히 완전한 Y 염색체가 아닌 표지염색체로 존재하거나 Y 특이유전물질만 보유할 경우는 통상적인 세포 유전학적 검사방법만으로는 검출에 한계가 있다.

분자유전학적 방법의 발달로 세포유전 검사에서 검출할 수 없었던 Y 염색체나 Y 특이유전물질을 민감한 분자유전학적 방법으로 검사할 수 있게 되었으므로[5], 본 연구에서는 임상증상과 염색체 검사로 Turner 증후군으로 확진된 환자들을 대상으로 Y 염색체나 Y 특이유전물질을 중합효소연쇄반응을 이용하여 검출하고, 아울러 형광동소교잡법과 결과를 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

1997년부터 2004년 7월 사이에 인제대학교 부산백병원 진단검사의학과에 말초혈액 염색체 검사를 의뢰한 환자 중 Turner 증후군으로 확진된 32명의 환자를 대상으로 하였고, 중합효소연쇄반응과 형광동소교잡법은 2004년 7월에서 9월 사이에 시행하였다. 모두 본 연구에 대한 동의를 받았다. 환자의 나이는 4세에서 20세로 다양하였으며, 모든 환자에서 가장 흔한 형태적 이상인 단신을 보였다. 사춘기에 이른 3명의 환자에서는 원발성 난소부전의 증상이 있었으나, 나머지 환자에서는 단신 이외에는 다른 전형적

인 Turner 증후군의 증상이 없었다.

2. 염색체 검사

염색체 검사는 환자의 말초혈액 림프구를 phytohaemagglutinin (PHA)으로 자극한 후 72시간 배양하여 실시하였다. G-분법으로 염색하여, 50개 이상의 중기세포를 관찰하였으며, 동일한 구조적 이상이 2개 이상의 세포에서 관찰되거나, 동일한 염색체의 소실이 3개 이상의 중기세포에서 관찰될 때 이를 이상 세포군으로 분류하였다.

3. 중합효소연쇄반응

모든 Turner 증후군 환자를 대상으로 중합효소연쇄반응을 실시하였다. 환자에서 채취한 EDTA 말초혈액을 이용하여 상용화된 DNA 추출 시약(QIAamp® DNA Blood Mini kit, Qiagen, USA)을 사용해 DNA 분리를 하였다. Y-특이 염기서열의 분석을 위해 실험에 사용한 각 시발체는 바이오니아(대전, 한국)에 주문 제작하여 사용하였다. 중합효소연쇄반응으로 분석한 Y-특이 표지자는 Y 염색체의 장완과 단완, 그리고 중심질 상의 위치를 고려하여 모두 7종으로 sex determining region Y (SRY)[6]와 zinc finger gene on the Y chromosome (ZFY), testis specific protein Y (TSPY), DYZ3, DYF49S1, RNA binding motif protein (RBM), DYZ1[7, 8] 등이었다. 각 시발체의 염기서열 및 중합효소연쇄반응 증폭 산물의 크기는 Table 1과 같다. 반응혼합물은 0.1 μ g의 DNA 추출액을 가하여 50 μ L가 되도록 하였으며, 각각 2 μ M의 시발체, 1.25 units의 Taq polymerase (Promega, USA), 5 μ L의 10x reaction buffer, 1.25 mM $MgCl_2$, 각각 200 μ M의 dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)가 함유되도록 최종 농도를 조정하였다. 핵산증폭기(GeneAmp PCR system

Table 1. Primers and product for PCR amplification

Markers	Intervals	Primers	Product size	Reference
SRY	1A1A	5'-CAGTGTAACGGGAGAAAACAGT-3' 5'-CTCCGACGAGGTGATACTTATA-3'	270 bp	[6]
ZFY	1A2	5'-CGAATTCATACCGGCGAGAAGCCATACC-3' 5'-AAAGCTTGTAGACACATCGTTAGGG-3'	735 bp	[7]
TSPY	3C	5'-CCAGATGTCAGCCCTGATCA-3' 5'-GCTCCATCATATTCAACTCAAT-3'	450 bp	[8]
DYZ3	4B	5'-TCCTTTTCCACAATAGACGTCA-3' 5'-GGAAGTATCTTCCCTTAAAAGCTA-3'	170 bp	[8]
DYF49S1	6B	5'-CACATGAAGCACTGGAACGTG-3' 5'-AGGGCCTGAGTCTCCAGG-3'	170 bp	[8]
RBM	3	5'-CTCGGATGTCTTATGGTGGAA-3' 5'-GCATCAACAAGTATGAAATTACT-3'	474 bp	[8]
DYZ1	7	5'-TACGGGTCTCGAATGGAATA-3' 5'-TCATTGCATTCTTTCCATT-3'	236 bp	[8]

Abbreviations: PCR, polymerase chain reaction; SRY, sex determining region Y; ZFY, zinc finger gene on the Y chromosome; TSPY, testis specific protein Y; RBM, RNA binding motif protein.

9600, Perkin-Elmer, Norwalk, USA)를 이용하여 SRY는 pre-denaturation을 94°C에서 5분간 반응시킨 다음 denaturation을 94°C에서 30초, annealing은 65°C에서 30초, extension은 72°C에서 1분간 실시하는 과정을 35회 반복하고 72°C에서 5분간 반응시켰다. 나머지 6개의 시발체는 pre-denaturation을 94°C에서 5분간 반응시킨 다음 denaturation을 94°C에서 1분, annealing은 61°C에서 1분, extension은 72°C에서 1분간 실시하는 과정을 30회 반복한 다음 72°C에서 5분간 반응시켰다. 중합효소연쇄반응 산물의 확인을 위하여 0.8% agarose가 혼합된 gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색한 다음 UV transilluminator하에서 Y-특이 증폭산물의 띠를 관찰하였다. 모든 중합효소연쇄반응 단계마다 정상 남자와 여자에서 추출한 DNA를 대조군으로 포함시켰다.

4. 형광동소교잡법

형광동소교잡법은 세포유전학 검사에서 Y 염색체가 관찰되거나, 중합효소연쇄반응에서 Y 염색체나 Y 특이유전물질이 검출된 환자를 대상으로 하였다. 소식자는 각각 X와 Y 염색체의 중심절지 역인 Xp11.1-q11.1 (DXZ1 locus)과 Yp11.1-q11.1 (DYZ3 locus)에 교잡하는 X와 Y의 염색체계수소식자(CEP-X and CEP-Y probe, Vysis Inc., Downers Grove, IL, USA)를 사용하였다. 제조사에서 지시한 방법으로 시행하였으며, 핵형분석기(Cytovision Image Analyzer system, Applied Imaging International Ltd., Newcastle, England)를 이용하여 최소한 간기세포 200개의 세포를 세어 분석하였다.

염색체핵형과 형광동소교잡법 결과는 An International System

Table 2. Various karyotypes of 32 patients with Turner syndrome

Karyotype	Number of patient (%)
45,X	16 (50.0)
45,X/46,X,i(Xq)	4 (12.5)
46,X,i(Xq)	3 (9.4)
45,X/47,XXX	2 (6.2)
45,X/47,XXX/46,XX	2 (6.2)
45,X/46,XX	1 (3.2)
45,X/47,XXY	1 (3.2)
45,X/46,XY	1 (3.2)
45,X/46,X,+mar/46,XX	1 (3.2)
Total	32

Table 3. Summary of positive results of PCR and FISH analyses for presence of Y-chromosome material

No. case	Karyotype	PCR							FISH	
		SRY	DYZ3	DYF49S	RBM	DYZ1	ZFY	TSPY	DXZ1	DYZ3
1	47,XXY[36]/45,X[14]	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	45,X[37]/46,XY[13]	+	+	+	+	+	+	-	+	+
3	45,X[92]/46,X,+mar[3]/46,XX[5]	-	+	-	-	-	-	-	+	-
4	45,X[61]/47,XXX[35]/46,XX[4]	-	+	-	-	-	-	-	+	-

Abbreviations: PCR, polymerase chain reaction; FISH, fluorescence in situ hybridization; SRY, sex determining region Y; ZFY, zinc finger gene on the Y chromosome; TSPY, testis specific protein Y; RBM, RNA binding motif protein.

for Human Cytogenetics Nomenclature 1995 (ISCN 1995)[9]의 기준에 따라 명명하였다.

결 과

1. 염색체 검사

전형적인 45,X의 핵형은 16예에서 관찰되어 가장 많은 빈도를 나타내었다(16/32, 50.0%). 이외에도 구조적 이상을 동반하는 경우와 모자이시즘 등 매우 다양한 형태의 핵형을 나타내었는데 빈도별로 보면 45,X/46,X,i(Xq)가 4예(12.5%), 46,X,i(Xq)가 3예(9.4%), 45,X/47,XXX와 45,X/47,XXX/46,XX가 각각 2예(6.2%)였고 그외에도 다양한 핵형이 관찰되었다(Table 2). 1예에서 표지염색체가 관찰되었고, 핵형은 45,X[92]/46,X,+mar[3]/46,XX[5]였다.

Y 염색체는 45,X/47,XXY 1예와 45,X/46,XY 1예 등 모두 2예에서 관찰되었다. 45,X/47,XXY의 핵형을 보인 예는 예방적 성선제거술을 시행하였는데 삭상성선조직(streak gonadal tissue)에서 성선모세포종의 조직학적 소견은 관찰되지 않았다. 45,X/46,XY의 핵형을 보인 예는 초음파 소견으로 성선의 흔적은 없었으며 작은 난소만 관찰되었다.

2. 중합효소연쇄반응

중합효소연쇄반응으로 Y 특이염기서열이 증명된 예는 모두 4예(12.5%)였다(Table 3). 45,X/47,XXY (증례 1)는 모든 시발체에 증폭이 되었으며, 45,X/46,XY (증례 2)는 TSPY를 제외한 모든 시발체에 증폭되었다. 증례 3과 증례 4는 염색체 검사에서는 Y 염색체를 관찰할 수 없었던 경우로서 DYZ3에만 증폭이 되었다(Fig. 1).

3. 형광동소교잡법

증례 1과 증례 2의 결과는 각각 nuc ish Xcen(DXZ1x1),Ycen(DYZ3x2)[144]/Xcen(DXZ1x1)[56]과 Xcen(DXZ1x1)[166]/Xcen(DXZ1x1),Ycen(DYZ3x1)[34]으로 1개의 X와 함께 각각

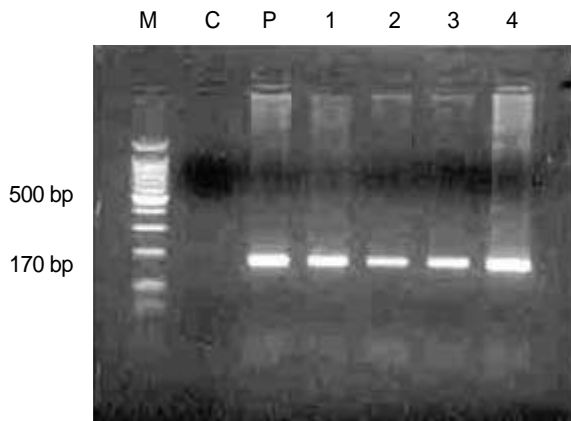


Fig. 1. Multiplex PCR amplification of the DYZ3 gene (M, marker; C, negative control; P, positive control; lanes 1-4, Cases 1-4 was described in Table 3).

Abbreviation: PCR, polymerase chain reaction.

2개와 1개의 Y 형광물질이 있는 세포군이 확인되었다(Table 3). 염색체 검사에서는 Y 염색체가 관찰되지 않고, 중합효소연쇄반응에서만 DYZ3에 증폭이 된 증례 3과 증례 4에서는 각각 nuc ish Xcen(DXZ1x1)[471]/Xcen(DXZ1x2)[29]과 nuc ish Xcen(DXZ1x1)[331]/Xcen(DXZ1x3)[207]/Xcen(DXZ1x2)[10]으로, 500개 이상의 세포를 관찰하였으나, Y 형광물질은 확인되지 않았다. 다만 이들은 처음 염색체 검사에서는 46,XX의 세포군이 관찰되지 않았으나, 형광동소교잡법 결과 X 형광물질이 2개 관찰되는 세포가 있어 다시 100개의 분열중기 염색체를 관찰하였으며, 모두 소수의 46,XX 세포군을 확인하였다(Table 3).

고 찰

성선이형성증을 보이는 환자가 Y 특이유전물질을 보유하면 성선모세포종(gonadoblastoma)의 발생 위험성을 증가시킨다고 알려져 있다. Troche 등은 성선이형성증을 가진 환자에서 발생한 germ cell tumor를 분석한 결과, 환자의 90%에서 완전하거나 부분적인 Y 염색체가 존재했다고 보고하였다[10]. 전통적 세포유전학적 방법에서는 Y 염색체가 검출되지 않고, 분자유전학적 방법으로도 Y 염색체를 증명한 여러 보고가 있다[7, 11]. 그러나 이들은 사용한 분자유전학적 방법의 민감도에 따라 Y 특이유전물질의 검출빈도를 2%에서 61%까지 매우 다양하게 보고하였다. 예를 들면 Coto 등[12]은 45,X나 46,X,+mar의 핵형을 가진 환자 18명 중 11명(61%)에서 Y 특이유전물질을 증명하였지만, Medlej 등[11], Binder 등[13], 그리고 Quiter 등[14]은 각각 2.5% (1/40), 3.8% (2/53), 2% (1/50)의 낮은 검출률을 보고하였다. 저자들의 연구에서는 32예 중 모두 4예에서 Y 염색체나 Y 특이유전물질이 증명되어 검출률은 12.5%였다. 4예 중 2예는 세포유전학적 검사에서도 Y 염색체가 관찰되었지만, 나머지 2예는 중합

효소연쇄반응에서만 Y 특이유전물질이 검출되었다(Table 3).

성선모세포종은 Y 염색체상의 성선모세포종 유전자(gonadoblastoma locus on Y chromosome, GBY)에 의해 발생한다고 알려져 있다. 정상 남자에게서 이 유전자는 정자 형성에 중요한 역할을 하지만 이형성을 가진 성선인 경우에는 종양발생의 위험 인자가 될 수 있다. GBY 유전자의 위치를 알아내기 위한 많은 연구들이 이루어졌지만, 현재까지도 정확한 위치는 밝혀지지 않았다. Page 등[15]이 Y 염색체의 중심질의 존재가 성선모세포종의 발생에 중요한 위험인자라 하였고, Tsuchiya 등[16]이 Y 염색체의 중심질이나 중심질에 근접한 단완에 GBY 유전자가 위치한다고 가정하였다. 그러므로 이 부분을 검출할 수 있는 시발체를 중합효소연쇄반응에 포함시키는 것이 중요한데 본 연구에서는 SRY, ZFY, TSPY, DYZ3를 포함시켰으며, Y 염색체의 장완과 단완, 그리고 중심질 상의 위치를 고려하여 나머지 3개의 시발체를 포함시켜 총 7개의 시발체를 사용하였다(Table 1).

중합효소연쇄반응에서 Y 특이유전물질이 증폭된 예 중, 증례 3과 증례 4는 염색체 검사에서는 Y 염색체를 관찰할 수 없었던 경우로서 반복검사에서 모두 중심질에 위치한 DYZ3 시발체에만 증폭이 되었다(Fig. 1). 그래서 형광동소교잡법에서도 Yp11.1-q11.1 (DYZ3 locus)에 양성일 것으로 기대하였으나, 증례 3과 증례 4 모두 500개의 세포를 분석하여도 양성 signal을 관찰할 수 없었다. DYZ3 시발체의 검출한도가 1/10,000인 것을 감안하면 두 증례는 모두 극히 저빈도의 Y 모자이시즘의 가능성이 높다고 하겠다[17].

증례 3과 증례 4의 경우처럼 염색체 검사에서는 Y 염색체를 관찰할 수 없으면서 중합효소연쇄반응에서만 Y 특이유전물질이 증명된 경우는 성선모세포종의 발생위험과 예방적 성선제거술의 필요성에 대한 명확한 결론은 없다. 이는 연구에 사용한 검사방법간의 민감도 차이와 연구 대상군의 다양성에 의한 검출률의 차이가 가장 큰 원인일 것으로 생각된다. 또 본 증례들처럼, 중합효소반응에서 7개의 시발체 중 1개에서만 양성인 경우로서 위양성이 배제되고, 형광동소교잡법에서는 검출이 되지 않은 경우의 임상적 의의에 대해서는 추후에 연구가 더 진행되어야겠다.

다만 증례 3과 증례 4는 형광동소교잡법을 통해 숨겨진 Y 염색체는 발견할 수 없었으나, 이들은 처음 염색체 검사에서는 46,XX의 세포군이 관찰되지 않았으나, 형광동소교잡 결과 46,XX 세포군을 확인하였으므로 염색체 핵형검사의 한계를 감안하면 의미 있는 것으로 사료된다.

Turner 증후군 환자의 약 3%에서 표지염색체가 존재한다고 하였는데, 증례 3에서 표지염색체가 검출되었다(Table 2). Turner 증후군 환자에서 이 표지염색체의 기원을 밝히는 것이 매우 중요한데, 56-92%가 Y 염색체 기원이기 때문이다. 본 증례는 형광동소교잡법에서 DYZ3 소식자에 형광물질이 검출되지 않아 추후에 Y-whole chromosome paint probe (WCP-Y) 소식자로 검사하였으나, 역시 Y 염색체는 검출할 수 없었다. 그렇지만 Turner 증후군 환자에서 표지염색체가 존재할 경우에 형광동소교잡법으

로 그 기원을 밝힌 경우가 많이 보고되었고[18, 19], 본 연구에 포함된 환자수가 적었던 점이나, 대상 환자군과 포함된 시발체의 종류와 수에 다양한 민감도를 보이는 중합효소연쇄반응의 결과를 확인한다는 의미에서 형광동소교잡법은 Turner 증후군 환자에서 필요한 중요한 검사의 하나로 사료된다.

요 약

배경 : Turner 증후군 환자의 약 6%에서 Y 염색체 혹은 Y 특이유전물질을 보유하고, 이들 중 15-25%에서 성선모세포종이 발생하는 것으로 추정되고 있다. 본 연구에서 저자들은 Y 특이유전물질을 중합효소연쇄반응을 이용하여 검출하고, 아울러 형광동소교잡법과 결과를 비교하고자 하였다.

방법 : 염색체검사는 환자의 말초혈액 림프구를 phytohaemagglutinin (PHA)으로 자극한 후 G-분염법으로 염색하여 분석하였다. 중합효소연쇄반응을 수행하기 위해 모든 환자의 말초혈액을 이용하여 DNA를 분리하였으며, Y 특이 표지자는 Y 염색체의 장완과 단완, 그리고 중심질 상의 위치를 고려하여 SRY, ZFY, TSPY, DYZ3, DYF49S1, RBM, DYZ1 등 모두 7종을 사용하였다. 형광동소교잡법은 X와 Y 염색체의 Xp11.1-q11.1 (DXZ1 locus)과 Yp11.1-q11.1 (DYZ3 locus)에 각각 교합하는 X와 Y의 염색체계수소식자를 사용하여 시행하였다.

결과 : 중합효소연쇄반응으로 Y 특이염기서열이 증명된 경우는 32예 중 4예였다(12.5%). 이들 중 2예는 염색체 검사에서 Y 염색체가 관찰되었던 경우로 이들의 핵형은 각각 45,X/47,XXY와 45,X/46,XY였다. 나머지 2예는 염색체 검사에서는 Y 염색체를 관찰할 수 없었던 경우로서 DYZ3에만 증폭이 되었고, 형광동소교잡에서 Y 형광물질이 확인되지 않았다.

결론 : 모든 Turner 증후군 환자에서 Y 특이유전물질의 존재를 중합효소연쇄반응을 이용하여 선별하는 것이 유용하다고 생각된다. 비록 본 연구에서 세로유전학검사에서 Y 염색체가 관찰되지 않고, 중합효소연쇄반응에서만 양성이었던 환자에서 형광동소교잡법을 통하여 Y 염색체를 증명하지는 못하였지만, 형광동소교잡법은 Turner 증후군 환자에서 유용한 검사의 하나로 사료되고 추후의 연구가 더 진행되어야 하겠다.

참고문헌

1. Ford CE, Jones KW, Polani PE, De Almeida JC, Briggs JH. A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet* 1959;1:711-3.
2. Fernandez-Garcia R, Garcia-Doval S, Costoya S, Pasaro E. Analysis of sex chromosome aneuploidy in 41 patients with Turner syndrome: a study of 'hidden' mosaicism. *Clin Genet* 2000;58:201-8.
3. Jacobs P, Dalton P, James R, Mosse K, Power M, Robinson D, et al. Turner syndrome: a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet* 1997;61:471-83.
4. Verp MS and Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;25:191-218.
5. Jang YW, Chun HJ, Kim EJ, Jeon DS, Kim JR, Lee YJ, et al. PCR-based analysis for Y-specific sequence in patients with Turner syndrome. *Korean J Clin Pathol* 1998;18:271-8. (장영우, 전효진, 김은진, 전동석, 김재룡, 이영재 등. Turner 증후군 환자에서 중합효소연쇄반응을 이용한 Y-특이 염기서열의 동정. *대한임상병리학회지* 1998;18:271-8).
6. Yorifuji T, Muroi J, Mamada M, Uematsu A, Kawai M, Momoi T, et al. Analysis of the SRY gene in Turner syndrome patients with Y chromosomal material. *J Med Genet* 2001;38:E41.
7. Mendes JR, Strufaldi MW, Delcelo R, Moises RC, Vieira JG, Kasamatsu TS, et al. Y-chromosome identification by PCR and gonadal histopathology in Turner's syndrome without overt Y-mosaicism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:19-26.
8. Patsalis PC, Sismani C, Hadjimarcou MI, Kitsiou-Tzeli S, Tzeou A, Hadjiathanasiou CG, et al. Detection and incidence of cryptic Y chromosome sequences in Turner syndrome patients. *Clin Genet* 1998;53:249-57.
9. Mitelman F, ed. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: Karger, 1995.
10. Troche V and Hernandez E. Neoplasia arising in dysgenetic gonads. *Obstet Gynecol Surv* 1986;41:74-9.
11. Medlej R, Lobaccaro JM, Berta P, Belon C, Leheup B, Toubanc JE, et al. Screening for Y-derived sex determining gene SRY in 40 patients with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1289-92.
12. Coto E, Toral JF, Menendez MJ, Hernando I, Plasencia A, Benavides A, et al. PCR-based study of the presence of Y-chromosome sequences in patients with Ullrich-Turner syndrome. *Am J Med Genet* 1995;57:393-6.
13. Binder G, Koch A, Wajs E, Ranke MB. Nested polymerase chain reaction study of 53 cases with Turner's syndrome: is cytogenetically undetected Y mosaicism common? *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3532-6.
14. Quilter CR, Taylor K, Conway GS, Nathwani N, Delhanty JD. Cytogenetic and molecular investigations of Y chromosome sequences and their role in Turner syndrome. *Ann Hum Genet* 1998;62:99-106.
15. Page DC. Y chromosome sequences in Turner's syndrome and risk of gonadoblastoma or virilisation. *Lancet* 1994;343:240.
16. Tsuchiya K, Reijo R, Page DC, Distech CM. Gonadoblastoma: molecular definition of the susceptibility region on the Y chromosome. *Am J Hum Genet* 1995;57:1400-7.
17. Yorifuji T, Muroi J, Kawai M, Sasaki H, Momoi T, Furusho K. PCR-based detection of mosaicism in Turner syndrome patients. *Hum*

Genet 1997;99:62-5.

18. Alvarez-Nava F, Soto M, Martinez MC, Prieto M, Alvarez Z. FISH and PCR analyses in three patients with 45,X/46,X,idic(Y) karyotype: clinical and pathologic spectrum. *Ann Genet* 2003; 46:443-8.

19. Schwartz S, Depinet TW, Leana-Cox J, Isada NB, Karson EM, Park VM, et al. Sex chromosome markers: characterization using fluorescence in situ hybridization and review of the literature. *Am J Med Genet* 1997;71:1-7.