



## 가족성 해면혈관종에서 염색체 7q CCM1 염기서열의 가족간 연관성 분석

심기범<sup>1</sup> · 이창섭<sup>1</sup> · 김승기<sup>2</sup> · 왕규창<sup>2</sup> · 김영입<sup>3</sup> · 조병규<sup>2</sup>

<sup>1</sup>제주대학교 의과대학 신경외과학교실, <sup>2</sup>서울대학교 어린이병원 신경외과학교실, <sup>3</sup>서울대학교 의학연구원 신경과학연구소

## Family Linkage Analysis of CCM1 Locus on Chromosome 7q in Familial Cavernous Malformation

Ki-Bum Sim<sup>1</sup>, Chang Sub Lee<sup>1</sup>, Seung-Ki Kim<sup>2</sup>, Kyu-Chang Wang<sup>2</sup>, Young-Im Kim<sup>3</sup> and Byung-Kyu Cho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, College of Medicine, Cheju National University, Jeju

<sup>2</sup>Division of Pediatric Neurosurgery and Clinical Research Institute, Seoul National University Children's Hospital  
and <sup>3</sup>Neuroscience Research Institute, SNUMRC, Seoul, Korea

Received March 14, 2005; Accepted June 3, 2005

**ABSTRACT.** Although the pathogenesis of cerebral cavernous malformation (CCM) is unknown, a familial predisposition has been recognized, with up to 55% of patients having an affected relatives. Genetic linkage studies have recently mapped a gene causing CCM to a segment of the long arm of chromosome 7 (7q). We report herein a genetic linkage analysis conducted on a Korean three generation family with CCM. It's first report in Korean family. A Korean family in which one member had undergone surgery for intracerebral hematoma (ICH) and confirmed the CCM, was evaluated. They were examined clinically (n=18) and by magnetic resonance (MR) imaging (n=10). Polymorphic markers (D7S1813, D7S1789) spanning the CCM1 locus on 7q were genotyped by the polymerase chain reaction and analysis of linkage was performed in this family (n=17). Six had multiple lesions on brain MR image, one of them being symptomatic, and five were asymptomatic. Seven remaining members were asymptomatic and refused MR image study. One had died of ICH from presumed CCM. Analysis of the pedigree was consistent with an autosomal dominant pattern of inheritance. All affected patients were linked to CCM1. Linkage to CCM1 can account for inheritance of CCM in this family. They had some striking features with a low clinical penetrance and the presence of multiple lesions. These findings have implications for genetic testing of this disorder and represent an important step toward identification of the gene responsible for the pathogenesis of this disease.

**Keywords:** Familial cavernous malformation, Chromosome 7, CCM1 locus, Autosomal dominant pattern, Genetic linkage analysis.

### 서 론

해면혈관종은 단층의 내피세포로 구성된 굴맥관(sinusoidal channel)으로 이루어진 저혈류의 뇌혈관 기형으로서 전체 인구의 약 0.5%에서 발생한다(Moriarty *et al.*, 1999; Zabramski *et al.*, 1994). 최근 자기공명촬영의 도입으로 그 발견빈도가 현저히 높아지고 있다. 대부분 산

발적으로 발견되지만 6%에서 50%까지 가족력을 지니고 있다(Brunereau *et al.*, 2000). 가족성 해면혈관종은 상염색체 우성 유전의 특징을 갖고 해면혈관종의 병인과 관련된 중요한 유전자(cerebral cavernous malformation 1, CCM1)가 제 7 염색체의 장완(7q) 특히 7q21-22에 위치함을 강력히 시사한다고 알려져 있는데 대부분이 라틴 아메리카계(Hispanic)에서 발생하여 이들 인종을 대상으로 하는 연구결과가 지침이 되고 있다(Dubovsky *et al.*, 1995; Manson *et al.*, 1988; Polymeropoulos *et al.*, 1997). 근래에 라틴 아메리카인, 코카서스인, 프랑스 및 이태리인 등을 대상으로 시행한 분자 유전학적 연구에서

Correspondence to: Byung-Kyu Cho, Division of Pediatric Neurosurgery, Seoul National University Children's Hospital, 28 Yeongeong-dong, Jongno-gu, Seoul 110-769, Korea  
E-mail : bkcho@snu.ac.kr

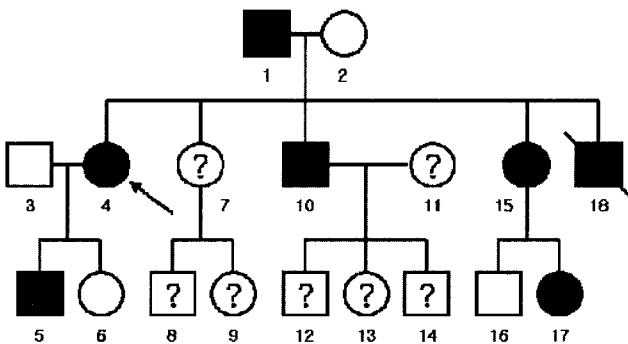
해면혈관종의 유전자가 인종 간에 차이가 있을 것이라 예상되고 있다(Davenport *et al.*, 2001; Gil-Nagel *et al.*, 1996; Gunel *et al.*, 1996; Laurans *et al.*, 2003; Verlaan *et al.*, 2002). 동양에서는 일본과 중국 가계에서 조직검사 및 자기공명촬영으로 진단된 가족성 해면혈관종이 보고되었고 분자 유전학적 연구에서는 영문 문헌상 중국의 한족 가족에서 CCM1 유전자가 가족성 해면혈관종의 발생에 관여한다는 보고가 유일하다(Chen *et al.*, 2002; Fobe *et al.*, 1996). 본 연구에서는 가족성 해면혈관종이 발생한 한국인 가족원(3세대)을 대상으로 임상적 특징과 뇌자기공명촬영을 조사하였고, 연관분석(linkage analysis)을 위해 제 7 염색체 장완상(CCM1)에 존재하는 다형 미세위성표식자(polymorphic microsatellite marker)들을 이용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)기법으로 각각의 유전자좌(alleles)가 유전되는 현상을 분석하여 한국인에서 발생한 가족성 해면혈관종의 발생이 CCM1좌와 밀접한 연관이 있다는 결론을 얻었다.

가족성 해면혈관종의 경우 가족내 유전성향을 보이는 해면혈관종 환자의 조기발견(screening)이 필요하며 가족간 연관성에 관여하는 염색체내 염기서열을 찾기 위한 활발한 분자 생물학적 연구 노력 및 이의 임상적 응용이 필요하겠다.

## 재료 및 방법

### 재료

46세 여자 환자(시조 : proband)가 갑자기 발생한 전신 경련, 우측 부전마비 및 감각 이상으로 내원하였다. 뇌전산화 단층촬영 및 자기공명촬영을 시행한 결과에서 좌측 두정부에 위치한 3×3×3 cm 크기의 뇌출혈과 다발성 해면혈관종(좌측 두정부, 뇌량, 소뇌 등)이 관찰되었다. 응급



**Fig. 1.** Family pedigree of a proband. Square: male, Circle : female, Filled circle or square: affected on magnetic resonance (MR) image, Open circle or square: normal MR image, Question mark in circle or square=refused MR image check, Diagonal line: individual deceased (due to intracerebral hemorrhage from a presumed CCM), Arrow: proband.

개두술로 뇌출혈을 제거하였고, 조직검사상 해면혈관종을 확진하였다. 시조의 가족력상 남동생이 21세에 군대에서 뇌종괴에 의한 뇌출혈로 사망하였다고 하였다. 또 시조의 아들이 교통사고로 두부 외상이 발생하여 자기공명촬영을 시행한 결과 우연히 다발성 해면혈관종이 관찰이 되어 이들의 3세대 가족원을 대상으로 가계도(18명)를 확보하고 17명에서 정맥 혈액을 채취하면서 신경학적 검진을 시행하였고 10명에서 T2 강조영상과 gradient echo영상의 자기공명촬영을 시행하였다. 나머지 7명의 가족원은 건강하게 지내고 있고 해면혈관종이 진단되어도 궁극적 치료 방법이 없다고 판단하여 자기공명촬영을 거부하였다(Fig. 1).

### 방법

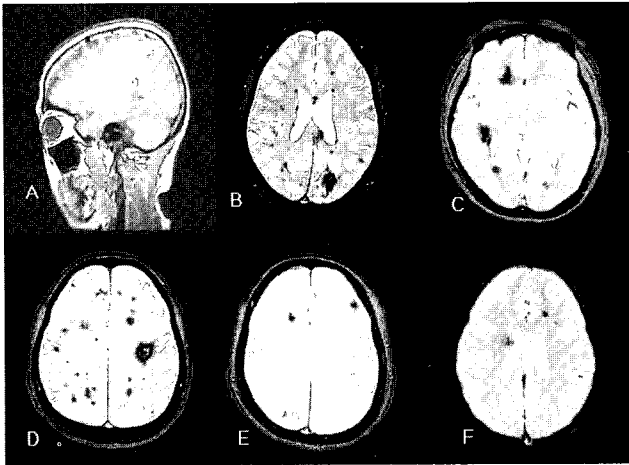
**검체 및 DNA 분리.** DNA 분리는 Gustincich의 slating out method(Gustincich *et al.*, 1991)로 시행했고 환자 및 가족들로부터 ethylenediaminetetraacetic acid 처리된 말초혈액을 8 ml을 채취하여 혈액 450  $\mu$ l에 동량의 12% dodecyl trimethyl ammonium bromide(DTAB)을 가하여 68°C에서 5분간 배양한 후 900  $\mu$ l의 chloroform을 넣어 혼합하고 10,000 rpm에서 2분간 원심 분리하였다. 상층액 500  $\mu$ l에 0.5% hexadecyltrimethylammonium bromide(CTAB) 100  $\mu$ l와 900  $\mu$ l 증류수를 가한 후 침전물이 생길 때까지 섞고 10,000 rpm에서 원심분리하였다. DNA-CTAB 침전물을 1.2 M NaCl 300  $\mu$ l를 가한 후 750  $\mu$ l 에탄올을 가하여 섞은 다음에 12,000 rpm에서 원심분리하고 70% 에탄올로 2회 세척하여 건조시킨 후 소독한 증류수에 녹여서 분광광도계(spectrophotometer)로 정량한 후 -20°C에 보관하였다.

**표식자(polymorphic microsatellite marker)를 이용한 연관 분석.** CCM1의 표식자로 D7S1813, D7S1789를 사용하였다(Craig *et al.*, 1998)(Table 1). 중합효소연쇄 반응은 각 시동체(primer) 0.5 pmol, dNTP 0.2 M, [ $\alpha$ - $^{32}$ P]dCTP] 1 uCi (Amersham Pharmacia Biotech, UK Buckinghamshire), AmpliTaq GOLD DNA 중합효소 (Applied Biosystems, Foster City, CA), 10X 반응완충 용액(reaction buffer) 2.5  $\mu$ l, genomic DNA 50~100 ng 총 25  $\mu$ l로 각 시동체 쌍에 맞는 단련(annealing) 온도(52°C와 55°C)에서 40 주기 증폭 반응을 시행하였다(Perkin Elmer 9600 thermal cycler). 증폭산물은 6% denaturing 아가로즈겔에서 50 W 3시간 전기영동으로 확인하였다.

## 결 과

### 가계도, 임상증상 및 자기공명영상

본 가계도는 모두 18명의 3세대 한국 가족원으로 구성



**Fig. 2.** Representative magnetic resonance (MR) images of affected members: A: A 46-year-old woman (proband, subject 4) with a generalized seizure and left hemiparesis and hemiparesalgia. Sagittal section of T1WI revealed right parietal hemorrhage and multiple cerebral cavernous malformations (CCM) in left parieto-occipital area and cerebellum. Gradient echo sequences (B-F) revealed multiple CCMs in the family members of the proband. They were asymptomatic. B. Father of proband (subject 1), 68-year-old. C. Son of proband, 20-year-old (subject 5). D. Brother of proband, 38-year-old (subject 10). E. Sister of proband, 36-year-old (subject 15). F. Niece of proband, 14-year-old (subject 17).

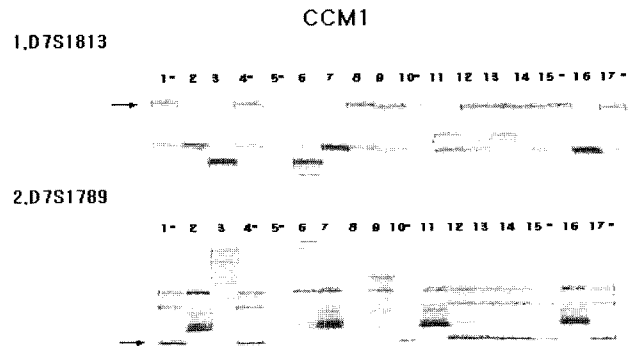
되었다. 가족들은 1~18번까지 일련번호를 붙였는데 시조는 4번이었고, 연령분포는 9~68세였다. 수술 혹은 자기공명촬영을 시행한 가족 10명 중 6명에서 해면혈관종이 진단되었으며 그들의 연령분포는 14~68세이고 평균 37세였다. 남녀 성비는 3 : 3이었다. 가족성 해면혈관종이 상염색체 우성 유전의 형태로 유전되었다(Fig. 1). 병변의 수는 모두 278개였으며 환자 일인당 10~120개, 평균 46개였다. 천막상부에 222개(80%), 천막하부에 56(20%)가 분포되었다(Fig. 2).

### 표현형 분석(phenotype analysis)

시조의 경우 해면혈관종에서 출혈이 발생하여 신경학적 증상이 발생하였고, 가족력상 뇌출혈로 사망한 시조의 동생은 해면혈관종에 의한 출혈로 추정되었다. 나머지 가족들(n=15)은 신경학적 증상이 없으면서 건강한 상태였다. 즉 임상적 침투도(clinical penetrance)는 불완전(incomplete)하지만 신경방사선학적 침투도는 완전 혹은 거의 완전(complete or almost complete)하였다(Fig. 1).

### 유전형 분석(genotype analysis)

해면혈관종 환자와 그의 가족에서 해면혈관종 유전에 관여하는 CCM1(7q21)에 대한 연관분석을 시행한 결과



**Fig. 3.** Genotypes were obtained using polymerase chain reaction amplification of microsatellite markers (D7S1813 and D7S1789 for cerebral cavernous malformation 1). Magnetic resonance image confirmed cavernous malformation patients are indicated with "\*". An arrow indicated same genotype for D7S1813 in 1, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 and 17 members and for D7S1789 in 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14, 15, and 17 members.

CCM1(D7S1813, D7S1789)에서는 자기공명촬영으로 판정한 환자의 표현형과 중합효소연쇄반응으로 확인한 유전형이 일치하였다(Fig. 1과 3에서 1번, 4번, 5번, 10번, 15번, 17번). 즉, D7S1813에 대해 1, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17번의 가족원이 동일한 유전형을 보였고, D7S1789에 대해 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14, 15, 17번의 가족원이 동일한 유전형을 보였다(Fig. 3). 12번, 13번, 14번 해면혈관종이 자기공명촬영을 시행하지 않았는데 D7S1813, D7S1789 모두에 대해 동일한 유전형이 나타나고 있으므로 추가로 자기공명촬영을 수행하여 확인할 필요가 있겠다.

본 연구에서는 한개의 가계도에서 가족원의 수가 많지 않고 자기공명촬영을 거부한 가족원이 7명이나 되어 유전자타이핑 단계에서 결과를 분석하였고 통계처리는 하지 않았다.

## 고 찰

2001년 우리나라 통계청보고에 따르면 뇌졸중은 인구 10만명 당 73.8명의 사망원인으로 중앙 다음으로 사망률 2위를 점하고 있다. 그러나 뇌졸중의 병태생리학적 연구는 거의 이루어지지 않아 위험인자 예방이 뇌졸중 치료의 주요 역할을 담당하고 있다. 뇌졸중의 원인중 그 병태생리가 잘 알려진 중추신경계의 해면혈관종은 임상적으로 전간증, 뇌출혈, 종괴 효과에 의한 신경학적 증상 및 단순한 두통 등 여러 가지 양태로 증상이 발현되며 일반적으로 뇌동정맥기형에 비하여 그 자연경과가 양호하다(Notolet *et al.*, 1997; Rigamonti *et al.*, 1988). 그러나 일단 증

상이 발현된 경우 증상이 반복되거나 악화되는 경향이 있으므로 적극적인 수술적 치료가 필요하다. 적절한 조기 치료로 신경학적 결손 및 사망 등의 이환율을 낮추기 위해서는 가족내 성향을 보이는 해면혈관종 환자의 조기발견이 필요하며 가족간 연관성에 관여하는 염색체내 염기서열을 찾기 위한 활발한 분자 생물학적 연구 노력 및 이의 임상적 응용이 필요하겠다.

1928년 Kufs가 해면혈관종이 유전된다는 사실을 처음 보고한 이래 많은 가족성 해면혈관종이 상염색체 우성유전을 한다는 것이 밝혀졌다(Craig *et al.*, 1998; Dubovsky *et al.*, 1995; Kufs *et al.*, 1928; Notelet *et al.*, 1997). 만일 한 사람이 해면혈관종의 유전자를 갖고 배우자가 정상이라면 자손에서 해면혈관종이 발생할 확률은 50%이다. 그러나 이러한 유전자는 다양한 표현도(expressivity)로 전이(carry)되어 이 유전자가 있는 사람이더라도 병변이 발견되지 않을 수 있다. 이러한 경우에도 두부 손상 같은 다양한 자극에 의해 비정상인 모세혈관 성장/증식에 의해 병변이 나중에 발생하는 경우도 있을 수 있다. 현재까지 가족성 해면혈관종은 임상적 증상과 뇌자기 공명 영상에 의해 진단되고, 유전자 검사는 연구용으로만 이용되고 있다. 처음에는 가족성 해면혈관종은 라틴 아메리카계 주민에 한하여 유전학적으로 동일상태(homogenous condition)라고 보았지만 라틴 아메리카계가 아닌 가족에서 가족성 해면혈관종이 제 7 염색체의 장완에 연관되어 있는 것이 발견되었다(Brunereau *et al.*, 2000; Craig *et al.*, 1998; Davenport *et al.*, 2001; Labauge *et al.*, 1999; Verlaan *et al.*, 2002). Dubovsky 등은 4세대 라틴 아메리카계 가계에서 가족성 해면혈관종에 관여하는 유전자가 염색체 7q11-22 사이(loci D7S502와 D7S479 사이)에 위치함을 확인하였다(Dubovsky *et al.*, 1995). Labauge 등은 가족성 해면혈관종이 발생한 프랑스인 57 가계를 대상으로 염색체 7q11-22 사이의 8가지 다형 미세 위성표식자를 이용한 두 점간(two-point) 또 여러 점간(multipoint) 연관분석을 시행하여 90% 이상의 연관성을 갖는다는 결과를 얻어 가족성 해면혈관종에 관여하는 유전자가 7q11-22 사이에 있음을 시사하였다(Labauge *et al.*, 1999). Craig 등은 코카서스계(non-Hispanic Caucaian kindreds)에서 발생한 가족성 해면혈관종 환자 20명을 대상으로 가족간 연관분석을 시행한 결과 7q21-22(CCM1)의 유전자 외에 7p13-15(CCM2)와 3q25.2-27(CCM3)의 새로운 유전자가 해면혈관종 유전에 관여한다고 보고하고 그 lod score는 14.11이었고 각 40%, 20%, 40%의 환자가 각기 연관성이 있었고 그 침투도는 각 99, 100, 63%라고 하였다(Craig *et al.*, 1998). Polymeropoulos 등은 153명의 환자를 포함하는 4가계 261명을 대상으로 한 다

좌(multilocus) 분석을 통해 그 침투도는 76%였고 7q21과 7q22 사이에 그 유전자가 존재한다고 보고하였다(Polymeropoulos *et al.*, 1998). 이상과 같이 최근까지의 연구 결과들은 가족성 해면혈관종 연구를 통해 해면혈관종에 관여하는 중요한 유전자가 염색체 7q의 말단 특히 7q21-22에 위치함을 강력히 시사하고 있다. Reich 등은 라틴 아메리카인에서는 모든 가족성 해면혈관종에서 CCM1 좌에서 첫 돌연변이가 있고, 그이외의 인종에서도 종종 CCM1의 돌연변이가 관여하고 있지만, CCM2와 CCM3에 관한 것은 드물게 보고되고 있다(Reich *et al.*, 2003)고 하여 인종간의 차이에 관한 연구가 더욱 필요한 실정이다(Dupre *et al.*, 2003; Reich *et al.*, 2003; Sahoo *et al.*, 2001). 아시아에서는 Chen 등이 3세대 중국인 가계에서 가족성 해면혈관종과 CCM1 좌와의 연관성을 처음으로 보고하였다(Chen *et al.*, 2002).

본 질환에 관한 유전자 연구가 단지 실험적으로 진단에 이용되는 것에 그치지 않고 가능한 빠른 시일 내에 치료 및 예방에 이용될 수 있어야 하겠다. 본 연구에서는 해면혈관종 환자 및 그의 가족에서 해면혈관종 유전에 관여하는 CCM1(7q21)에 대한 연관분석을 유전자타이핑(genotyping) 단계까지 시행한 결과 CCM1(D7S1813, D7S1789)에서는 핵자기 공명 촬영으로 판정한 환자의 표현형과 종합효소연쇄반응으로 확인한 유전형이 일치하였다(Fig. 1과 3에서 1번, 4번, 5번, 10번, 15번, 17번). 즉, D7S1813에 대해 1, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17번의 가족원이 동일한 유전형을 보였고, D7S1789에 대해 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14, 15, 17번의 가족원이 동일한 유전형을 보였다(Fig. 3). 본 가계도에서 자기공명촬영상 해면혈관종이 진단될 확률을 추정하자면 본 질환이 상염색체 우성 유전을 하므로 7번과 10번이 해면혈관종의 유전자를 갖고 배우자가 정상이라면 자손에서 본 질환이 발생할 확률은 50%이다. 또한 12번, 13, 14번의 경우 D7S1813, D7S1789 모두에 대해 동일한 유전형이 나타나고 있으므로 추가로 자기공명촬영을 수행할 경우 해면혈관종이 진단될 가능성이 높을 것으로 생각되었다. 본 연구 결과 해면혈관종의 환자의 경우는 가족력을 조사하고 그들의 자기공명촬영을 시행하고 혈액을 채취하여 분자유전학적 검사를 시행함으로써 가족성 해면혈관종의 여부를 확인할 필요가 있다고 본다.

연관분석법은 2개 혹은 그 이상의 유전자가 서로 멘델의 법칙에 따라 독립적으로 분리되는지 혹은 유전자들이 매우 근접하게 위치하기 때문에 독립적으로 분리되지 않고 연관되어 나타나는지를 조사하여 유전자들 간의 거리를 측정하는 방법이다(Causse *et al.*, 1994; Johnson *et al.*, 2002). 유전병 유전자를 지도 작성할 수 있는데 다시

말하면 유전병 유전자를 지도 작성할 수 있다. 이 방법의 사용에 있어서 첫 단계는 가계도 분석 등의 임상 자료 입력이 수행되고 다음 단계로 유전자타이핑등의 분자생물학적 자료 입력이 수행되고 마지막으로 통계분석이 따른다 (Johnson *et al.*, 2002; Polymeropoulos *et al.*, 1997). 정상인의 염색체 상에는 미세위성(microsatellite) 또는 short tandem repeat polymorphism(STRPs)으로 불리는 두 개 내지 네 개의 짧은 염기배열이 반복되는 유전자 조합이 유전체상에 광범위하게 존재하며 중합효소연쇄반응을 이용한 연구에서 표식자로 사용된다. 가장 널리 쓰이는 것은 CA dinucleotide repeat로서 약 10만개 정도가 유전체상에 존재하고 각 (CA)<sub>n</sub> 염기배열반복의 반복수 n은 10~60 copy로 다양하되 동일 개체의 동일 대립유전자간에는 같으며 다른 개체 간에는 다르고 같은 유전자좌의 부와 모에게서 받은 대립유전자간에도 다르므로 다형성이 매우 높아서 표식자로서 매우 유용하다. 관여 염기서열을 검색하고자 하는 유전자좌에 고르게 분포하고 다형성이 높은 미세위성 표식자 및 그 표식자에 인접한 시동체 연쇄(sequence)를 잘 결정하는 것이 중요한데 인터넷을 통하여 Human genome data base, Center for genome research at Whitehead Institute for biomedical research, Cooperative human linkage center 등의 공공 data base로부터 정보를 얻을 수 있다(Louis *et al.*, 1992; Ott *et al.*, 1999). 유전자타이핑하여 얻은 결과는 컴퓨터 프로그램이나 테이블 등을 이용하여 lod scores를 구한다. Lod score는 Morton이 개발한 수식인 likelihood of data if loci linked at  $\theta$ /likelihood of data if loci unlinked( $\theta$ =교차율)에 의해서 얻어진다(Ott *et al.*, 1999). 본 연구에서는 한 개의 가계도에서 가족원의 수가 많지 않고 자기공명촬영을 거부한 가족원이 7명이나 되어 유전자타이핑 단계에서 결과를 분석하였고 통계처리는 하지 않았다.

본 연구에서는 가족성 해면혈관종이 발생한 한국인 가족원(3세대)을 대상으로 임상적 특징과 자기공명촬영을 조사하였고, 연관분석을 위해 염색체 7q21 상에 존재하는 CCM1 좌의 다형미세위성 표식자인 D7S1813, D7S1789을 이용하여 중합효소연쇄반응방법으로 각 구성원의 DNA를 증폭한 다음 전기영동을 수행한 후 각각의 유전자좌가 유전되는 현상을 분석하였다. 임상적으로는 총 18명의 가족 중 2명에서 신경학적 증상이 발생하였고, 나머지 가족은 모두 건강한 상태였으며, 자기공명촬영을 시행한 10명 중 6명에서 다발성 해면혈관종이 진단되어 임상적 침투도는 불완전하고 신경방사선학적 침투도는 높게 나타났다. 가계도상 해면혈관종이 상염색체 우성 유전을 하였다. 연관분석의 결과에서 자기공명촬영으로 판정한 환자의 표현

형과 CCM1(D7S1813, D7S1789)을 중합효소연쇄반응으로 확인한 유전형이 일치하여 한국인에서 발생한 가족성 해면혈관종의 발생이 CCM1 좌와 밀접한 연관이 있다는 결론을 얻었다.

## 감사의 글

본 연구는 2001년도 서울대학교병원 일반연구비의 보조로 이루어 졌다(04-2001-021-0).

## 참고문헌

- Brunereau, L., Labauge, P., Tournier-Lasserre, E., Laberge, S., Levy, C. and Houtteville, J.P. (2000): Familial form of intracranial cavernous angioma: MR imaging findings in 51 families. *Radiology*, **214**, 209-216.
- Causse, M.A., Fulton, T.M., Cho, Y.G., Ahn, S.N., Cung-wongse, J., Wu, K., Xiao, J., Yu, Z., Ronald, P.C., Harrington, S.E., Second, G., McCauch, S.R. and Tanksley, S.D. (1994): Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics*, **138**, 1251-1274.
- Chen, D.H., Lipe, H.P., Qin, Z. and Bird, T.D. (2002): Cerebral cavernous malformation: novel mutation in a Chinese family and evidence for heterogeneity. *J. Neurol. Sci.*, **196**, 91-96.
- Craig, H.D., Gunel, M., Cepeda, O., Johnson, E.W., Ptacek, L., Steinberg, G.K., Ogilvy, C.S., Berg, M.J., Crawford, S.C., Scott, R.M., Steichen-Gersdorf, E., Sabroe, R., Kennedy, C.T., Mettler, G., Beis, M.J., Fryer, A., Awad, I.A. and Lifton, R.P. (1998): Multilocus linkage identifies two new loci for a mendelian form of stroke, cerebral cavernous malformation, at 7p15-13 and 3q25.2-27. *Hum. Mol. Genet.*, **7**, 1851-1858.
- Davenport, W.J., Siegel, A.M., Dichgans, J., Drigo, P., Mammi, I., Pereda, P., Wood, N.W. and Rouleau, G.A. (2001): CCM1 gene mutations in families segregating cerebral cavernous malformations. *Neurology*, **56**, 540-543.
- Dubovsky, J., Zabramski, J.M., Kurth, J., Spetzler, R.F., Rich, S.S., Orr, H.T. and Weber, J.L. (1995): A gene responsible for cavernous malformations of the brain maps to chromosome 7q. *Hum. Mol. Genet.*, **4**, 453-458.
- Dupre, N., Verlaan, D.J., Hand, C.K., Laurent, S.B., Turecki, G., Davenport, W.J., Acciarri, N., Dichgans, J., Ohkuma, A. and Siegel, A.M. (2003): Linkage to the CCM2 locus and genetic heterogeneity in familial cerebral cavernous malformation. *Can. J. Neurol. Sci.*, **30**, 122-128.
- Fobe, J.L., de Lima, J.B., de Buone, M.L. and Correa, Neto. (1996): Familial cavernous angioma. Report in 3 generations. *Arq. Neuropsiquiat. (Portugeses)*, **54**, 655-660.
- Gil-Nagel, A., Dubovsky, J., Wilcox, K.J., Stewart, J.M., Anderson, V.E., Leppik, I.E., Orr, H.T., Johnson, E.W., Weber, J.L. and Rich, S.S. (1996): Familial cerebral cavernous angioma: an autosomal dominant gene localized to a 15 cM interval on human chromosome 7q. *Ann. Neurol.*, **39**,

- 807-810.
- Günel, M., Awad, I.A., Finberg, K., Steinberg, G.K., Craig, H.D. and Cepeda, O. (1996): Genetic heterogeneity of inherited cerebral cavernous malformation. *Neurosurgery*, **38**, 1265-1271.
- Gustincich, S., Manfioletti, G., Del Sal, G., Schneider, C. and Carninci, P. (1991): A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechnique*, **11**, 298-300.
- Johnson, E.W., Marchuk, D.A. and Zabramski, J.M. (2002): The Genetic of Cerebral Cavernous Malformations. In: Winn HR, *Youmans Neurological Surgery*. 5th ed. Vol 2. Philadelphia: W.B. Saunders, 2299-2304.
- Kufs, H. (1928): Über heredofamiliäre angiomatose des gehirns und der retina, ihre beziehungen zueinander und zur angiomaose der haut. *Z. Neurol. Psychol.*, **113**, 651-686.
- Labauge, P., Enjolras, O., Bonerandi, J.J., Laberge, S., Dandurand, M., Joujoux, J.M. and Tournier-Lasserre, E. (1999): An association between autosomal dominant cerebral cavernomas and a distinctive hyperkeratotic cutaneous vascular malformation in 4 families. *Ann. Neurol.*, **45**, 250-254.
- Laurans, M.S., DiLuna, M.L., Shin, D., Niazi, F., Voorhees, J.R., Nelson-Williams, C., Johnson, E.W., Siegel, A.M., Steinberg, G.K., Berg, M.J., Scott, R.M., Tedeschi, G., Enevoldson, T.P., Anson, J., Rouleau, G.A., Ogilvy, C., Awad, I.A., Lifton, R.P. and Gunel, M. (2003): Mutational analysis of 206 families with cavernous malformations. *J. Neurosurg.*, **99**, 38-43.
- Louis, D.N., Deimling, A.V. and Seizinger, B.R. (1992): Short communication; a (CA)<sub>n</sub> dinucleotide repeat assay for evaluating loss of allelic heterozygosity in small and archival human brain tumor specimens. *Am. J. Pathol.*, **141**, 777-782.
- Mason, I., Aase, J.M., Orrison, W.W., Wicks, J.D., Seigel, R.S. and Bicknell, J.M. (1988): Familial cavernous angiomas of the brain in an Hispanic family. *Neurology*, **38**, 324-326.
- Morarity, J.L., Wetzell, M., Clatterbuck, R.E., Javedan, S., Sheppard, J.M., Hoenig-Rigamonti, K., Crone, N.E., Breiter, S.N. and Lee, R.R. (1999): The natural history of cavernous malformations: a prospective study of 68 patients. *J. Neurosurg.*, **44**, 1166-1171.
- Notelet, L., Chapon, F., Khoury, S., Vahedi, K., Chodkiewicz, J.P., Courtheoux, P., Iba-Zizen, M.T., Cabanis, E.A., Lechevalier, B., Tournier-Lasserre, E. and Houtteville, J.P. (1997): Familial cavernous malformations in a large French kindred: mapping of the gene to the CCM1 locus on chromosome 7q. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **63**, 40-43.
- Ott, J. (1999): Analysis of Human Genetic Linkage, 3rd ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press.
- Polymeropoulos, M.H., Hurko, O., Hsu, F., Rubenstein, J., Basnet, S., Lane, K., Dietz, H., Spetzler, R.F. and Rigamonti, D. (1997): Linkage of the locus for cerebral hemangiomas to human chromosome 7q in four families of Mexican-American descent. *Neurology*, **48**, 752-757.
- Reich, P., Winkler, J., Straube, A., Steiger, H.J. and Peraud, A. (2003): Molecular genetic investigations in the CCM1 gene in sporadic cerebral cavernomas. *Neurology*, **60**, 1135-1138.
- Rigamonti, D., Hadley, M.N., Drayer, B.P., Johnson, P.C., Hoenig-Rigamonti, K., Knight, J.T. and Spetzler, R.F. (1988): Cerebral cavernous malformations: incidence and familial occurrence. *N. Engl. J. Med.*, **319**, 343-347.
- Sahoo, T., Goenaga-Diaz, E., Serebriiskii, I.G., Thomas, J.W., Kotova, E., Cuellar, J.G., Peloquin, J.M., Golemis, E., Beitinjaneh, F., Green, E.D., Johnson, E.W. and Marchuk, D.A. (2001): Computational and experimental analyses reveal previously undetected coding exons of the Krit1 (CCM1) gene. *Genomics*, **71**, 123-126.
- Verlaan, D.J., Davenport, W.J., Stefan, H., Sure, U., Siegel, A.M. and Rouleau, G.A. (2002): Cerebral cavernous malformations: Mutations in Krit1. *Neurology*, **58**, 853-837.
- Zabramski, J.M., Wascher, T.M., Spetzler, R.F., Johnson, B., Golfinos, J., Drayer, B.P., Brown, B., Rigamonti, D. and Brown, G. (1994): The natural history of familial cavernous malformations: results of an ongoing study. *J. Neurosurg.*, **80**, 422-432.