

総 説

脊髄性筋萎縮症の臨床と分子遺伝学

東京女子医科大学 医学部 小児科学 (主任:大澤真木子教授)

サイトウカヨコ イトウマユリ マエダ ユミ トヨノ ミユキ オオサワマキコ
斎藤加代子・伊藤万由里・前田 由美・豊野 美幸・大澤真木子

(受付 平成12年2月16日)

緒 言

脊髄性筋萎縮症 (SMA) は脊髄の前角細胞の変性による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴とする常染色体性劣性遺伝病である。1891年¹⁾, 1894年²⁾にオーストリア Graz の神経科医 Werdnig が臨床例を報告し, 剖検において脊髄の運動神経と第 V, VII 脳神経核の萎縮を見出し, 神経原性であることを提唱した。1893年に Hoffmann³⁾の剖検例をも含めた報告において, 乳児期に発症, 急速に進行し, 脊髄前角細胞, 脳神経核の変性と脱落を示す疾患として小児の SMA が位置づけられた。彼らの名を冠して, SMA のうち最も重症なタイプ (I 型) を Werdnig-Hoffmann 病と呼んでいる。しかし, 彼らの報告した症例は現在の分類から考えると中間型 (II 型) に相当している。

最近になり, SMA の遺伝子の局在と原因蛋白質が明らかにされ, SMA の成因や病態の解析の進歩があった。これらの新しい展開を含めて, SMA の臨床と分子遺伝学について述べる。

1. SMA の診断基準, 分類, 頻度

SMA の遺伝子同定のためには明確な診断基準と分類を確立することが必要であるという考えのもとに, International SMA Consortium が組織され, 表に示す診断基準が作成された⁴⁾。これを満たすものが典型的 SMA であり, 遺伝子的に単一の疾患単位である。一方, 表の EXCLUSIONS に当てはまるような所見を示す場合, 遺伝的に異質である可能性が高い。この SMA の異質性に関し

ては後に述べる。

SMA の分類としては International SMA Consortium により発症年齢, 臨床経過に基づき, I 型 (重症型, Werdnig-Hoffmann 病), II 型 (中間型), III 型 (軽症型, Kugelberg-Welander 病) に分類され⁴⁾, この分類が現在最も一般的に用いられる。I 型は生下時から 6 カ月までの発症で, 座位不可能, 人工呼吸管理をしなければ, 2 歳までに 100% が死亡する重症型である。II 型は 1 歳 6 カ

表 SMA の診断基準 (International SMA Consortium⁴⁾ による)

INCLUSIONS

I. Weakness

- 対称性
- 近位筋>遠位筋
- 下肢>上肢
- 躯幹および四肢

II. Denervation

- 舌の fasciculation, 手の振戦
- 筋生検—groups of atrophic fibers
- EMG—神経原性変化

EXCLUSIONS

1. CNS 機能障害
2. 関節拘縮症
3. 外眼筋, 横隔膜, 心筋の障害, 聴覚障害, 著しい顔面筋罹患
4. 知覚障害
5. 血清 CK 値>正常上限の 10 倍
6. 運動神経伝導速度<正常下限の 70%
7. 知覚神経活動電位の異常

INCLUSIONS 包含基準と EXCLUSIONS 除外基準より成っている。

Kayoko SAITO, Mayuri ITO, Yumi MAEDA, Miyuki TOYONO and Makiko OSAWA [Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine]: Clinical features and molecular genetics in spinal muscular atrophy

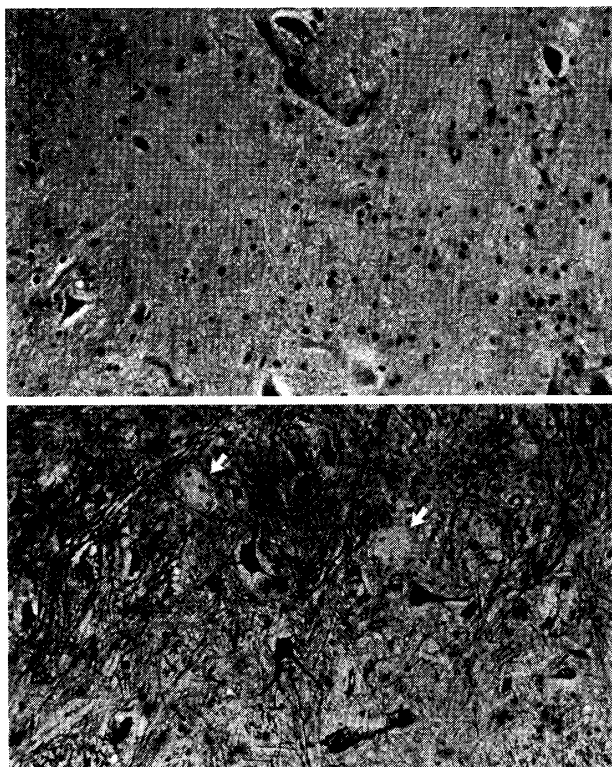


図1 SMAの脊髄の病理組織像(宍倉啓子博士より供与)
 上：胸髄，H&E染色，脊髄前角細胞の数が著明に減少している。
 下：腰髄，Bielschowski染色，矢印は，神経細胞脱落のあとが，空になっている細胞空床 empty cell bedsを示す。

月までに発症し，起立または歩行が不可能，2歳以上に生存する。III型は小児期から成人期に発症，歩行が可能な型である。しかし，筋力低下によって，次第に転びやすく，起立または歩行が困難となる。それぞれの型の中でも，臨床の重症度は多様であり，I型からIII型の分布はなだらかなものであるため，DubowitzはI型，II型，III型をそれぞれ，より重症な症例から軽症な症例へ1.1~1.9, 2.1~2.9, 3.1~3.9と分類し，4.0を正常としている⁵⁾。

欧米ではSMAの発生頻度の調査は1971年から1992年になされ，I型は20,000人に1人，遺伝子頻度は 6.25×10^{-3} ，保因者頻度は60~80人に1人とされ，II, III型では24,000人に1人，遺伝子頻度は 4.51×10^{-3} ~ 6.59×10^{-3} ，保因者頻度は76~111人に1人とされている⁶⁾。遺伝子病の中で，

2番目に頻度の高い疾患である。わが国では1970年，1978年に福山，大澤らが，81家系101例について臨床遺伝学的研究を行い，3型間の差は同一疾患内でのvariationと結論し，全症例の分離比は0.25であり，常染色体性劣性遺伝としている⁷⁾。

2. 臨床所見

SMAの臨床所見は，図1の脊髄の病理組織像に示すように脊髄の運動神経細胞(脊髄前角細胞)の消失による脱神経と，支配される骨格筋の筋萎縮，筋力低下によるものである。体幹，四肢近位部優位の筋の脱力，筋萎縮を示す。

I型は筋力低下が重症で全身性である。妊娠中の胎動が弱い例は胎内からの発症を考えさせる。発症後，運動発達は停止し，体幹を動かすこともできず，フロッピーインファントを呈する。肋間筋に対して横隔膜の筋力が維持されているため奇異呼吸を呈する。支えなしに座ることができず，哺乳困難，嚥下困難，誤嚥，呼吸不全を伴う。舌の線維束性攣縮がみられる。上肢の末梢神経の障害によって，手の尺側偏位とwrist dropが認められ⁸⁾，この手の形で早期に臨床診断もできる。深部腱反射は消失している。死亡年齢は平均6~9カ月であり，95%は18カ月までに呼吸器感染や呼吸不全で死亡する。

II型は支えなしに立ったり，歩いたりすることができない。舌の線維束性攣縮や萎縮，手指の振戦がみられる。腱反射は減弱または消失している。次第に側彎が著明になる。II型のうち，より重症な症例は呼吸器感染に伴って，呼吸不全を示すことがある。

III型では起立，歩行が可能であるが，次第に転びやすく，起立，歩行が困難となる。後に，上肢の挙上も困難になる。小児期や思春期に筋力低下を示すIII型の小児は側彎を示すが，成人発症のSMA患者では側彎は生じない。

3. 骨格筋病理所見

各型共通に認められる特徴的な筋組織所見は，小径萎縮筋線維(5~10 μ m以下)の大集団 large group of small fibers である(図2)。萎縮筋線維は円形で，I型，II型線維両型からなり，未熟なタイプIc線維の増加も認められる。さらに，年齢，月

年齢相当の筋線維径より大径の肥大線維 large hypertrophic fiber の存在も共通所見である(図2)。神経再支配の結果, 肥大線維はI型のみからなり, 単一から大集団をなすまで, さまざまな存在形態を示す。一般に, 年齢が長じ経過年数が長いほど,

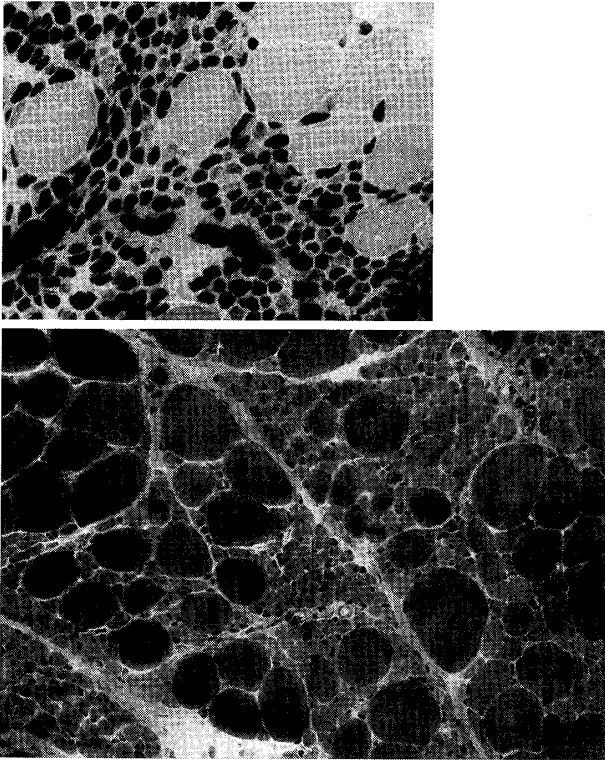


図2 SMAの筋生検組織像(鈴木陽子博士より供与)
上: I型, 0歳4カ月男児, myosin-ATPase染色(pH9.4). 大径肥大線維は全てI型(淡染する)である。萎縮線維はI型, II型, 両タイプが混在している。
下: II型, 1歳3カ月女児, Gomori-trichrome変法染色。小萎縮線維の大集団と集団化した大径肥大線維を認める。

肥大線維は大集団化する傾向がある。また, I型のごく幼若例では, 肥大線維が認められず, 小, 中径線維のみで占められることも多い。

4. SMA 遺伝子研究の進歩

1990年に Gilliam ら⁹⁾のコロンビア大学グループから, 引き続き Melki ら¹⁰⁾のフランスグループから, 第5染色体長腕のマーカールと強く連鎖していることが証明された。しかし, この染色体領域の不安定性, すなわち反復配列が多くあることや偽遺伝子の存在によって SMA の責任遺伝子同定は困難となっていた。ところが, 連鎖不平衡の存在と大きな欠失の証明によって, 1993年には SMA 遺伝子は染色体 5q13 に存在することが推定され¹¹⁾, 各国で遺伝子同定の努力を積み重ねてきた¹²⁾¹³⁾。1995年の Cell の 80 巻 1 号に 2 つの研究室から独立に SMA の候補遺伝子に関する論文が発表された。

フランスグループの Lefebvre ら¹⁴⁾は, この領域に 500kb にわたる inverted duplication を示し, そこに 20kb の survival motor neuron (SMN) 遺伝子を同定した(図3)。SMN 遺伝子は, テロメア側コピーにあり, SMN^t または SMN1 と示される。9つの exon を有し, mRNA のサイズは 1.7kb, 294 アミノ酸残基より成る。セントロメア側コピーの SMN^c または SMN2 と 5bp の違いがある。

一方, MacKenzie らのグループの Roy ら¹⁵⁾は胎児脳の cDNA ライブラリーをスクリーニングして, まず neuronal apoptosis inhibitory protein

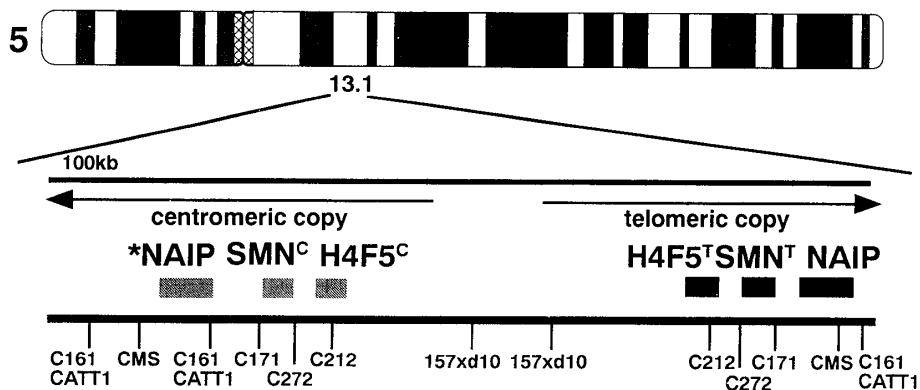


図3 SMA 遺伝子領域
上段に第5染色体, 下段に染色体 5q13.1 における遺伝子地図を示す。

(NAIP) 遺伝子の exon 13 を同定し、さらに 70kb の NAIP 遺伝子全体を同定し(図 3), SMA の候補遺伝子として発表した. mRNA は肝で 6 および 7kb, 胎盤で 7kb であり, 脊髄やリンパ芽球でも認められた. 16 の exon を有し, 1,232 アミノ酸残基より成り, exon 5-7 と 9-11 はウイルスによって生じる昆虫の細胞のアポトーシスを抑制する baculovirus apoptosis inhibitory protein とホモロジーを示しており, 神経細胞のアポトーシスの面から SMA の病因との関連が期待される.

5. SMA 患者における SMN 遺伝子, NAIP 遺伝子による遺伝子診断

Lefebvre ら¹⁴⁾ は SMA 患者の DNA の single strand conformation polymorphism (SSCP) 分析において, SMN 遺伝子は 229 例中 213 例 (93%) に SMNt の exon 7, 8 のホモ接合性欠失を示し, 13 例 (6%) では SMNt の exon 7 のホモ接合性欠失を示したことを報告した. 残り 3 例のうち 2 例で intron 内の欠失を, 1 例で exon 6 内の TAT→TGT のミスセンス変異を示した. 246 例のコントロールでは SMNt の少なくとも 1 コピーは変異を示さず, 11 例 (4.5%) で SMNc のホモ接合性欠失を示した. 型と欠失頻度との相関はなかった.

Van der Steege ら¹⁶⁾ は SMNt 遺伝子と SMNc 遺伝子の exon 7 と exon 8 の領域における塩基配列の 5bp の差を利用して, SMA 患者の DNA において exon 7 と exon 8 をそれぞれ独立に polymerase chain reaction (PCR) 増幅し, 産物をそれぞれ制限酵素 DraI と DdeI で処理する方法を報告した. 我々はこの方法により SMA 89 家系のうち 78 例 (88%), I 型 30 家系中 29 家系 (97%), II 型 29 家系中 27 家系 (93%), III 型 30 家系中 22 家系 (73%) に exon 7, 8 の両者または exon 7 のみの欠失を認めた¹⁷⁾ (図 4). SMN と NAIP 両遺伝子欠失を示した例は I 型の 37% で, 他の型より有意に高く, 発症年齢は有意に低かった(図 5). SMN 遺伝子の欠失の割合は, イギリス (140 例の 98%), オランダ (103 例の 93%), スイス (62 例の 90%), ベルギー (23 例の 91%), トルコ (69 例の 91%) などの SMA 患者の 90% 以上であり, 台湾の 89 例でも 99% である.

NAIP 遺伝子は Roy ら¹⁵⁾ が, 110 例の SMA において, I 型 38 例中 17 例 (45%), II および III 型 72 例中 13 例 (18%) に exon 5, 6 の欠失を報告し, 型と欠失の頻度との相関を示唆した. 各国における NAIP 遺伝子の欠失の割合はオランダ (103 例の 37%), スイス (62 例の 47%), トルコ (69 例で I 型の 70%, II 型の 15%) と高く, 台湾では 89 例中 21.3% であった. 我々の結果は, 89 家系中 14 家系 (16%) (I 型 11/30 家系, II 型 3/29 家系) のみであり, これらの例は SMN 遺伝子も欠失していた¹⁷⁾. 日本人の SMA における欠失領域は諸外国に比してテロメア側には広くないと考えられる.

SMA の臨床症状の修飾遺伝子に関しては, フランスグループの Bürglen ら¹⁸⁾ は転写因子 TFIID のサブユニット p44 の遺伝子が SMA 遺伝子領域に p44t と p44c として重複した状態で存在し, SMA の I 型において p44t 遺伝子を含む大きな欠失を示す例が 68% であり, 臨床症状の重症度は p44t 遺伝子が関連する可能性を示唆した. 最近, Scharf ら¹⁹⁾ は SMN 遺伝子上流に新たな遺伝子を発見し, H4F5 と名付けた(図 3). この遺伝子は SMAI 型の 15 家系中 10 家系 (67%) で欠失しており, II 型, III 型ではそれぞれ 3/15 家系 (20%), 3/11 家系 (27%) と欠失頻度が低く, SMA の臨床症状を修飾する遺伝子として興味深い (Toyono et al, in preparation).

一方, SMNt 遺伝子, SMNc 遺伝子と SMA の臨床症状の関係についても論議されている. Lefebvre ら¹⁴⁾ はコントロールと SMA 患者の培養リンパ芽球の転写産物を SMNc 遺伝子と SMNt 遺伝子の exon 6 から exon 8 の reverse transcriptase (RT)-PCR によって調べた. コントロールでは exon 6, 7, 8 の転写産物と SMNc 遺伝子の exon 7 が alternative splicing を受けた exon 6 と exon 8 からなる短い転写産物の 2 種類を有し, SMNt 遺伝子は exon 6, 7, 8 の転写産物のみを有していた. またコントロールに SMNc 遺伝子のみを欠く例を認めた. SMA 患者では SMNt 遺伝子の欠失を示したが, SMNc 遺伝子は正常であった.

DiDonato ら²⁰⁾ は SMNt 遺伝子の exon 7 のみが

No	発症年齢	臨床経過							最高到達運動機能定額		欠失領域	
		0m	6m	12m	18m	2y	5y	10y	-	+	SMN	NAIP
1	1m	■	+									
2	1m	■										
3	1m	■										
4	0m	■										
5	1m	■	+									
6	1m	■										
7	0m3w	■										
8	1m	■	+									
9	1m	■										
10	2m	■										
11	3m	■										
12	1m	■	+									
13	3m	■										
14	1m	■										
15	1m	■										
16	1m	■										
17	2m	■										
18	2m	■										
19	1m	■										
20	3m	■										
21	3m	■										
22	4m	■										
23	4m	■										
24	1m	■										
25	4m	■										
26	0m	■										
27	3m	■										
28	3m	■										
29	4m	■										
30	3m	■										
31	5m	■										

+ 死亡
人工呼吸器
使用

No	発症年齢	臨床経過								最高到達運動機能			欠失領域		
		0m	6m	12m	18m	2y	5y	10y	20y	座位	起立	歩行	SMN	NAIP	
32	0:1	■													
33	0:3	■													
34	0:4	■													
35	0:5	■													
36	0:6	■													
37	0:7	■													
38	0:8	■													
39	0:8	■													
40	0:3	■													
41	0:5	■													
42	0:4-6	■													
43	0:5	■													
44	0:5-6	■													
45	0:6	■													
46	0:6	■													
47	0:7	■													
48	0:7-8	■													
49	0:8	■													
50	0:8	■													
51	0:9	■													
52	0:9	■													
53	0:10	■													
54	0:10	■													
55	0:11	■													
56	1:0	■													
57	1:0	■													
58	1:1	■													
59	1:2	■													
60	1:3	■													
61	1:3	■													
62	1:7	■													

No	発症年齢	臨床経過								最高到達運動機能			欠失領域			
		6m	12m	18m	2y	5y	10y	20y	30y	起立	歩行	支持あり	支持なし	支持あり	SMN	NAIP
63	0:11	■														
64	1:3	■														
65	1:0	■														
66	1:0	■														
67	1:0	■														
68	1:4	■														
69	1:8	■														
70	0:8	■														
71	0:10	■														
72	1:0	■														
73	1:0	■														
74	1:2	■														
75	1:2	■														
76	1:3	■														
77	1:6	■														
78	1:6	■														
79	1:6	■														
80	1:6	■														
81	1:7	■														
82	2:0	■														
83	2:0	■														
84	2:6	■														
85	3:0	■														
86	3:0	■														
87	3:0	■														
88	5:0	■														
89	5:3	■														
90	6:0	■														
91	8:0	■														
92	12	■														
93	15	■														
94	40	■														

図4 SMAにおける発症年齢, 臨床経過, 最高到達運動機能, SMN 遺伝子, NAIP 遺伝子の欠失領域
欠失領域は左から SMN 遺伝子 exon 7, SMN 遺伝子 exon 8, NAIP 遺伝子 exon 5, NAIP 遺伝子 exon 6 の順に示す。
上: I型, 中: II型, 下: III型。

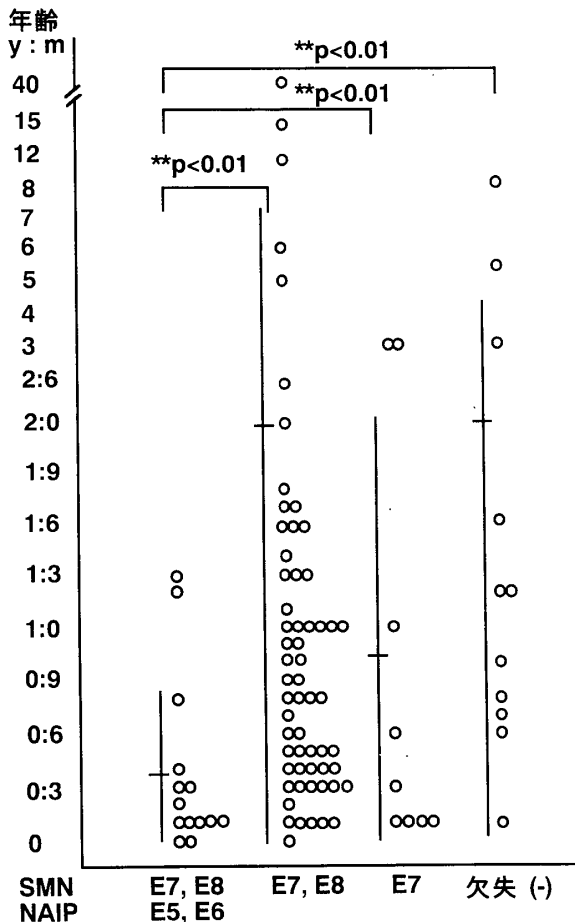


図5 SMN 遺伝子, NAIP 遺伝子の欠失と発症年齢の関係
SMN 遺伝子, NAIP 遺伝子がともに欠失している症例は有意に発症年齢が低かった ($p<0.01$).

欠失している SMA の II 型 3 例と III 型 2 例において, SMNt 遺伝子の exon 7 と exon 8 を含む領域を増幅し塩基配列を調べたところ, SMNt 遺伝子の exon 7 が SMNc 遺伝子の exon 7 に変換されていたことを明らかにした. 従って, SMNt 遺伝子の exon 7 は欠失していたのではなく遺伝子変換されており, 重症な I 型ではホモ接合性に SMNt 遺伝子の exon 7 と exon 8 の欠失を有しているが, 軽症の II 型, III 型では SMNt 遺伝子の exon 7 が SMNc 遺伝子の exon 7 に変換されることによって, 1 つのアリルが functional であり, 症状が軽症である可能性を示唆している.

一方, SMN 蛋白質については, Liu & Dreyfuss ら²¹⁾が SMN 蛋白質は細胞の核の構造物 “gem” に局在する蛋白質であり, RNA 結合蛋白質と反応するも

のであること, SMA は RNA 代謝の転写後の機能における欠陥によって生じることを示した.

Lefebvre ら²²⁾は SMN 蛋白質レベルの研究を行い, SMN 蛋白質の発現の障害によって SMA が生じること, そして SMNc 遺伝子によってコードされる蛋白質の量と SMA の臨床像の間の強い関連 (I 型では III 型より著明に減少) を SMA 患者 52 例において観察した. さらに, 形態学的, 免疫化学的実験によって SMA の標的細胞である運動ニューロンにおける強い SMN 蛋白質の発現の証拠を示した. SMAI 型と III 型の運動ニューロンにおいて, 核の SMNc 染色のそれぞれ欠損と著明な減少を証明した.

また, Coover ら²³⁾が SMNt 遺伝子と SMNc 遺伝子が SMN 蛋白質を産生していること, 抗 SMN 抗体によって同定される gem の数は SMA 患者の臨床型と相関すること, SMNt 遺伝子と SMNc 遺伝子のコピー数が同じでも I 型より II 型の方が gem の数が多いことを示した. さらに, Burlet ら²⁴⁾は SMN 蛋白質の発現は胎児期に比べ, 出生後に低下すること, SMAI 型の胎児の骨格筋と脊髄の組織において SMN 蛋白質が著しく欠損していることを示した.

6. SMA の異質性

International SMA Consortium によって図 1 に示すように, SMA の診断基準が作成されたことは先に述べた. この診断基準に基づいて診断した場合, SMA に似ているが, SMA とは異なった病因の疾患が存在する. Rudnik-Schöneborn ら²⁵⁾は 200 例以上の患者のうち少なくとも 1 つ以上の除外基準を示す例について臨床像の特徴と SMN 遺伝子の欠失を調べた. その結果, 染色体 5q のマーカーに連鎖しておらず, また SMN 遺伝子の欠失も示さず, SMA plus variant というカテゴリーに入る 7 例について述べ, これらを SMA + 横隔膜麻痺, SMA + オリーブ橋小脳低形成, SMA + 先天性関節拘縮と診断し, これらの遺伝子は染色体 5q13 にはないと述べている. また, 常染色体性優性遺伝形式の SMA が報告されているが, この遺伝子も第 5 染色体²⁶⁾にはない.

7. DNA マーカーを用いたハプロタイプ解析による遺伝子診断, 出生前診断

SMA の遺伝子領域において多くのマイクロサテライト DNA マーカーが報告され^{27)~31)}, SMA の家系における遺伝子診断に応用されている。特に, 出生前診断では高い精度が要求される。そのため, SMN 遺伝子, NAIP 遺伝子の欠失を調べると共に, SMA 遺伝子領域の DNA マーカーを用いたハプロタイプ解析が有用である。欧米では SMA, 特に重症の I 型と II 型については出生前診断の適応とされ, 施行されてきている。最も多くの症例の報告としては, Wirth ら³²⁾の報告がある。彼らは出生前診断を希望した家系 137 例において, 28 例で SMA の診断が不確定なため除外し, 残る 109 例において出生前診断を施行した。73 例で非罹患者, 29 例で罹患者, 7 例で組み換えのため遺伝子型が SMA/SMA であるか SMA/正常であるかが不確かであった。73 例の非罹患者のうち, 32 例において健康児の出生を確認でき, 41 例では出生後の回答がなかった。罹患者と診断された 29 例と組み換えのあった 7 例, 計 36 例では両親は中絶を決意していた。

結 論

脊髄前角細胞の変性による筋萎縮と筋力低下を特徴とする常染色体性劣性遺伝病である SMA の臨床, 原因遺伝子, 原因蛋白質に関する最近の知見を述べた。

諸外国では SMN 遺伝子のホモ接合性欠失は SMA 患者の 90% 以上で認めている。我々は日本人患者 89 家系中 78 家系 (88%) に欠失を認めた。NAIP 遺伝子は重症度と欠失の割合は相関し, 諸外国では I 型の 40~70% であり, 我々の日本人の結果は 89 例中 40 例 (45%) と低く, 日本人の SMA における欠失領域は諸外国に比して, NAIP 遺伝子領域を含まないと考えられる。

これらの遺伝子が SMA の病因, 病態に大きく影響しているのは確かであるが, SMA の原因は未だ全ては解明されていない。脊髄の細胞レベルにおける遺伝子の発現, その機能などが明らかにされることは, 本症の治療法の開発へ発展する可能性が考えられ, 期待される。

本研究の実施にあたって, 臨床検査技師河北有規子氏の御協力に深謝します。

本研究は平成 10, 11 年度文部省科学研究費基盤研究 C (課題番号 10670762) による。

文 献

- 1) **Werdnig G:** Zwei frühinfantile hereditäre Fälle von progressiver Muskelatrophie unter dem Bilde der Dystrophie, aber auf neurotischer Grundlage. *Arch Psychiatr* **22:** 437-480, 1891
- 2) **Werdnig G:** Die frühinfantile progressive spinale Amyotrophie. *Arch Psychiatr* **26:** 706-744, 1894
- 3) **Hoffmann J:** Ueber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer Basis. *Dtsch Z Nervenheilkd* **3:** 427-470, 1893
- 4) **Munsat TL:** Workshop report. International SMA Collaboration. *Neuromusc Disord* **1:** 81, 1991
- 5) **Dubowitz V:** Chaos in the classification of SMA: a possible resolution. *Neuromusc Disord* **5:** 3-5, 1995
- 6) **Pearn JH, Carter CO, Wilson J:** The genetic identity of acute infantile spinal muscular atrophy. *Brain* **96:** 463-470, 1973
- 7) **福山幸夫, 大澤真木子, 原田淳子ほか:** 小児脊髄性進行性筋萎縮症の臨床遺伝学的研究. 厚生省筋ジストロフィー症の病因の究明に関する研究昭和 52 年度研究報告書: 201-205, 1978
- 8) **Shishikura K:** Peripheral nerves in Werdnig-Hoffmann disease. *Neuropathology* **5:** 325-326, 1984
- 9) **Brzustowicz LM, Lehner T, Castilla LH et al:** Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3. *Nature* **344:** 540-541, 1990
- 10) **Melki J, Abdelhak S, Sheth P et al:** Gene for chronic proximal spinal muscular atrophies maps to chromosome 5q. *Nature* **344:** 767-768, 1990
- 11) **Kleyn PW, Wang CH, Lien LL et al:** Construction of a yeast artificial chromosome contig spanning the spinal muscular atrophy disease gene region. *Proc Natl Acad Sci USA* **90:** 6801-6805, 1993
- 12) **MacKenzie A, Roy N, Besner A et al:** Genetic linkage analysis of Canadian spinal muscular atrophy kindreds using flanking microsatellite 5q13 polymorphisms. *Hum Genet* **90:** 501-504, 1993
- 13) **Melki J, Lefebvre S, Bürglen L et al:** De novo and inherited deletions of the 5q13 region in spinal muscular atrophy. *Science* **264:** 1474-1477, 1994
- 14) **Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S et al:** Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* **80:** 155-165, 1995

- 15) **Roy N, Mahadevan MS, McLean M et al:** The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell* **80**: 167–178, 1995
- 16) **van der Steege G, Groorscholten PM, van der Vlies et al:** PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet* **345**: 985–986, 1995
- 17) **Saito K, Shiraiwa Y, Suzuki H et al:** Molecular genetic diagnosis of spinal muscular atrophy in Japan. *Neuromusc Disord Suppl*: 33–34, 1996
- 18) **Bürglen L, Seroz T, Miniou P et al:** The gene encoding p44, a subunit of the transcription factor TFIIH, is involved in large-scale deletions associated with Werdnig-Hoffmann disease. *Am J Hum Genet* **60**: 72–79, 1997
- 19) **Scharf JM, Endrizzi MG, Wetter A et al:** Identification of a candidate modifying gene for spinal muscular atrophy by comparative genomics. *Nat Genet* **20**: 83–86, 1998
- 20) **DiDonato CJ, Ingraham SE, Mendell JR et al:** Deletion and conversion in spinal muscular atrophy patients: Is there a relationship to severity? *Ann Neurol* **41**: 230–237, 1997
- 21) **Liu Q, Dreyfuss G:** A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein. *EMBO J* **15**: 3555–3565, 1996
- 22) **Lefebvre S, Burlet P, Liu Q et al:** Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* **16**: 265–269, 1997
- 23) **Coovert DD, Le TT, McAndrew PE et al:** The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **6**: 1205–1214, 1997
- 24) **Burlet P, Huber C, Bertrand S et al:** The distribution of SMN protein complex in human fetal tissues and its alteration in spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* **7**: 1927–1933, 1998
- 25) **Rudnik-Schöneborn S, Forkert R, Hahnen E et al:** Clinical spectrum and diagnostic criteria of infantile spinal muscular atrophy: Further delineation on the basis of SMN gene deletion findings. *Neuropediatrics* **27**: 8–15, 1996
- 26) **Kausch K, Müller CR, Grimm T et al:** No evidence for linkage of autosomal dominant proximal spinal muscular atrophies to chromosome 5q markers. *Hum Genet* **86**: 317–318, 1991
- 27) **Melki J, Burlet P, Clemont O et al:** Refined linkage map of the chromosome 5 in the region of the spinal muscular atrophy gene. *Genomics* **15**: 521–524, 1994
- 28) **DiDonato CJ, Morgan K, Carpten JD et al:** Association between Ag1-CA alleles and severity of autosomal recessive proximal spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* **55**: 1218–1229, 1994
- 29) **Francis MJ, Morrison KM, Campbell L et al:** A contig of non-chimeric YACs containing the spinal muscular atrophy gene in 5q13. *Hum Mol Genet* **2**: 1161–1167, 1993
- 30) **Wirth B, El-Agwany A, Burghes A et al:** Mapping of the spinal muscular atrophy (SMA) gene to a 750 kb interval and the identification of linkage disequilibrium in the German population. *Eur J Hum Genet* **3**: 56–60, 1995
- 31) **Wang CH, Kleyn PW, Vitale E et al:** Refinement of the spinal muscular atrophy locus by genetic and physical mapping. *Am Hum Genet* **56**: 202–209, 1995
- 32) **Wirth B, Rudnik-Schöneborn S, Hahnen E et al:** Prenatal prediction in families with autosomal recessive proximal spinal muscular atrophy (5q11.2–q13.3): molecular genetics and clinical experience in 109 cases. *Prenatal Diag* **15**: 407–417, 1995