

<特集「神経変性疾患のトピックス」>

アレキサンダー病にみられる異常GFAP

吉 田 誠 克*

京都府立医科大学大学院医学研究科脳神経内科学

Aberrant GFAP in Alexander Disease

Tomokatsu Yoshida

*Department of Neurology, Graduate School of Medical Science,
Kyoto Prefectural University of Medicine*

抄 録

アレキサンダー病 (Alexander disease: ALXDRD) は, glial fibrillary acidic protein (GFAP) をコードする *GFAP* 遺伝子の変異による一次性アストロサイト疾患 (primary astrocytic disorder) で, 病理学的にはアストロサイト細胞質に認める GFAP を主要な構成成分とするローゼンタル線維が特徴的の所見である. 本稿では ALXDRD の病態解明研究で明らかにされつつある異常な GFAP に関する知見を紹介する. ALXDRD の病態機序としては, GFAP の過剰発現による機能獲得性機序が想定されている. 可溶性の GFAP toxic oligomer によるプロテアソーム系の機能低下とシャペロンタンパクである α B crystallin の消費亢進が GFAP 凝集体形成の上流にある機序とされている. また, GFAP isoform の比率変化が GFAP 凝集に関わることが最近報告され大変興味深い. 現在, GFAP 発現抑制を治療標的としたアンチセンススクレオチドの臨床試験が進められており, その有効性が期待されるが, 一方で正常な髄鞘化ホメオスタシスの維持など長期的な影響への懸念は残されている.

キーワード: アレキサンダー病, GFAP, アストロサイト.

Abstract

Alexander disease (AXDRD) is a primary astrocytic disorder caused by glial fibrillary acidic protein (GFAP) gene mutation. The characteristic pathological finding is the formation of cytoplasmic inclusions mainly composed of GFAP, Rosenthal fibers, in the end-feet of astrocytes. Here, I introduce findings on aberrant GFAP being generated in pathological research on ALXDRD. In ALXDRD, a gain-of-function mechanism due to overexpression of GFAP is considered to exist. The upstream pathomechanism leading to the formation of GFAP aggregates is dysfunction of the proteasome system caused by soluble toxic GFAP oligomers, followed by increased consumption of α B-crystallin. A recent report showed that changes in the proportion of GFAP isoforms are involved in GFAP aggregation. Currently, clinical trials of antisense nucleotides tar-

令和3年12月14日受付 令和4年1月5日受理

*連絡先 吉田誠克 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地
toyoshid@koto.kpu-m.ac.jp
doi:10.32206/jkpum.131.02.133

getting suppression of GFAP expression are underway, and their effectiveness is expected. However, there remain concerns about long-term adverse effects, such as maintenance of myelinated homeostasis.

Key Words: Alexander disease, GFAP, astrocyte.

はじめに

アレキサンダー病 (Alexander disease: ALXDRD) は, glial fibrillary acidic protein (GFAP) をコードする *GFAP* 遺伝子の変異による一次性アストロサイト疾患 (primary astrocytic disorder) で, 病理学的にはアストロサイト細胞質のローゼンタル線維を特徴的所見とする¹⁾. 新生児から高齢者まで幅広い年齢層で発症し, 臨床的には, 乳幼児期発症で大脳白質に病変の主座をもつ大脳優位型, 成人期発症で延髄・脊髄に病変の主座をもつ延髄・脊髄優位型, 両型の特徴をもつ中間型の3つの病型に分類される¹⁾. GFAPは中間径フィラメントの1つで, アクチンフィラメント (直径5-9 nm) と微小管 (直径約25 nm) の中間の径 (直径8-12 nm) をもち, アストロサイト細胞質における細胞骨格の重要な構成要素として, 構造の保持, 酵素や細胞小器官の足場, 細胞外環境の機械的刺激の感知などの役割を担う²⁾. アストロサイトは中枢神経系において, ニューロン, 他のグリア細胞, 血管などと相互作用して³⁾, 中枢神経系の栄養代謝, 血流調節, シナプス可塑性, 細胞間の情報伝達機能など多彩な役割を果たしていることが報告されている⁴⁾. ALXDRDの病態機序としては, GFAPヌルマウスは表現型の異常を示さず⁵⁾, ヒト野生型GFAPを過剰発現させたトランスジェニックマウスにおいてローゼンタル線維の出現およびGFAPの発現量増加に伴う寿命の短縮が認められたことから機能獲得性機序が考えられている⁶⁾. 本稿では, ALXDRDの病態の上流に位置する異常なGFAPに関するこれまでの知見を紹介する.

GFAP凝集体の形成機序

Alexanderは1949年に難治性けいれん, 水頭症, 精神遅滞を呈し, 15か月で死亡した乳児剖

検例を報告した⁷⁾. この症例の特徴的な病理所見は, 大脳白質, 上衣下および軟膜下のグリア細胞内の多数のフィブリノイド変性で, のちにローゼンタル線維と同一であることが判明した⁸⁾. ローゼンタル線維は主にアストロサイトのエンドフィートにみられ, GFAP, vimentinやsyneminといった他の中間径フィラメント, α B crystallinや熱ショックタンパク27などのストレスタンパク, サイクリンD2から構成される⁹⁾¹⁰⁾. ローゼンタル線維形成の初期段階についてはよく分かっていないが, ストレス顆粒から生じる可能性が示唆されている¹⁰⁾. ローゼンタル線維の形成過程は, 変異GFAPの研究結果から以下のように推察される. 4-6分子の変異GFAPのcoiled-coil重合体からなる可溶性の“GFAP toxic oligomer”により, プロテアソーム系の機能が低下する¹¹⁾¹²⁾. 同時にストレス経路の活性化¹¹⁾¹³⁾, オートファジーの亢進¹⁴⁾, caspase 3および6の活性化¹⁵⁾¹⁶⁾が惹起されて変異GFAPの凝集が進行する. 一方, α B crystallinは変異GFAPの凝集を抑制し, プロテアソーム系の機能を回復する方向に働くが¹²⁾¹⁷⁾, プロテアソーム系の機能低下が進行し, α B crystallinの消費が亢進すると, 変異GFAP凝集レベルが毒性閾値を超えて, ローゼンタル線維が形成される¹⁸⁾. 毒性閾値については, ヒトGFAPを過剰発現させたトランスジェニックマウスを用いた検討結果があるが詳細は不明である¹⁹⁾.

GFAP isoformの比率変化がALXDRDの病態に関与する

冒頭で述べたように, ヒト野生型GFAPを過剰発現させたトランスジェニックマウスはALXDRDの表現型を再現するが⁶⁾, ALXDRD患者においては*GFAP*のmultiplicationを同定した報告はなく, 大多数が*GFAP*コード領域のヘテロ接合体変異を示す¹⁾. この乖離の解明に関して, 最

近GFAP isoformに着目した興味深い研究報告があった¹⁹⁾²⁰⁾。ヒトとマウスのGFAPには少なくとも10種類のisoformが知られている²¹⁾。その中でGFAP- α がヒトGFAPの約90%を占めており²²⁾、これまでのGFAPに関する知見は大多数がGFAP- α に関するものである。Minor isoformのうち、タンパクへの翻訳に関する明瞭な報告があるのは、GFAP- δ (ヒトでのホモログはGFAP- ε)²³⁾とGFAP- κ ²⁴⁾のみである。GFAP- δ はGFAP- α と異なるC-末端配列(exon 7a)を持ち、ヒトGFAPの約10%を占める。exon 7aは高等霊長類で高度に保存されているが、他の哺乳類では保存されておらず、また、高等霊長類間では通常では考えられないほど多くの同義置換の違いがみられる(図1)。このことは高等霊長類間の新しい機能に関する正の選択に関与している可能性がある²⁾。GFAP- κ は δ -isoformと同じく短縮化されたC-末端をもち、腸管グリアの主要なisoformである²⁵⁾。GFAP- δ と κ は自身同士では会合できず、GFAP- α と会合して成熟フィラメントを形成する。ALXDRDの原因となるminor isoformの変異として、GFAP- δ をコードする遺伝子変異(p.R430H)が報告されていた²⁶⁾²⁷⁾。しかし、このisoformが全GFAPに占める割合は10%に満たないのに、なぜこの変

異が病的変異となりうるのかは不明であった。最近、Helmanらはexon 7aの点変異により、スプライス部位の変化が生じ、新たなGFAP isoform (GFAP- λ : GFAP- α のexon7とexon8の間にexon7aとほぼ相同のexonが挿入: 図1)がupregulationすることを示し、GFAP isoformの比率の変化が病態に関与すると推察した²⁰⁾。Linらはヒト野生型GFAPを過剰発現させたトランスジェニックマウス、ヒト剖検脳およびin vitroの観察から、GFAP- κ およびGFAP- λ は通常では低いレベルで発現しているが、何らかの誘因で全体のGFAPレベルが亢進した際には、GFAP- α よりも容易に発現が上昇し、その割合がある閾値(Linらの実験では25%以上)を超えた際に凝集体形成が促進され、さらにグルタミン酸トランスポーターやアクアポリン4の発現低下といったアストロサイトの機能障害に関与することを示した¹⁹⁾。

GFAPの発現抑制はヒトアストロサイトの機能に影響を与えないのか

ALXDRDにおいては、GFAP遺伝子が現時点で唯一の病原性遺伝子であること、病態機序としてGFAP過剰発現による機能獲得性機序が想定されること⁶⁾、さらにGFAPヌルマウスは表現型

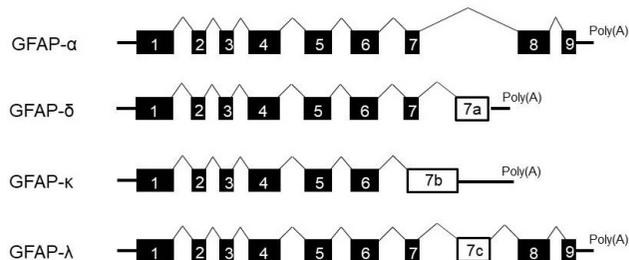


図1 GFAPのisoform

GFAP- α : ヒトGFAPの約90%を占める主要なアイソフォーム (432のアミノ酸)。

GFAP- δ (- ε): ヒトGFAPの約10%を占め、短縮化されたC-末端(エクソン7a)をもつ。自身同士では会合できず、GFAP- α と会合して成熟フィラメントを形成。脳室下帯、吻側移動経路、軟膜下領域に存在。

GFAP- κ : 腸管グリアの主要なアイソフォームで、短縮化されたC-末端(エクソン7b)をもつ。自身同士では会合できず、GFAP- α と会合して成熟フィラメントを形成。

GFAP- λ : GFAP- α と- δ のハイブリッド。

の異常を示さないこと⁵⁾からGFAPの発現抑制を治療標的として基礎研究が進められてきた²⁸⁻³²⁾。その中でも*Gfap* 遺伝子を標的にしたアンチセンスオリゴヌクレオチド (antisense nucleotide: ASO) を用いたモデルマウスの実験において、長期にわたる*Gfap* の転写および翻訳抑制効果が得られるとともに、病理学的ホールマークであるローゼンタル線維の消失、活性化アストロサイトのマーカーの正常化、体重の回復が認められた²⁸⁾。このデータをもとに現在、ALXDRD患者に対してASOの第1-3相臨床試験が進められている³³⁾。

しかし、一方で、Liedtkeらが作成したGFAPヌルマウスは、表現型異常を示さないが、組織学的に遅発性のミエリン減少、脳梁の菲薄化、血液脳関門の異常、アストロサイトの形態異常がみられ、GFAPは中枢神経系の正常な髄鞘化ホメオスターシスの長期維持に重要な役割を担っていることが示唆される³⁴⁾。また、外傷に対する脆弱性³⁵⁾、炎症や感染に対する防御反応の低下³⁶⁾³⁷⁾といった問題を指摘する報告もある。これらの見解に懐疑的な意見もあるが²⁾、ヒトに対するASOによるGFAPの発現抑制が及ぼす長期的な影響に関しては、十分な検証が行われておらず懸念が残る。

おわりに

ALXDRDの病態解明研究で明らかになった病的なGFAPの凝集過程および、すでに治験が進

められているGFAP発現抑制治療に関する懸念について概説した。ALXDRDの病態の下流はアストロサイトの機能障害であり、ALXDRD患者の剖検脳およびALXDRDモデル動物のアストロサイトでは、グルタミントランスポーター、Kir4.1³⁸⁾³⁹⁾ やアクアポリン4¹⁹⁾ の発現低下、Ca²⁺ シグナル現象変化⁴⁰⁾ が観察されている。GFAP遺伝子がALXDRDの原因遺伝子であることが報告⁴¹⁾ されてから20年間で、病態解明研究が進み、核酸医薬品の技術的進歩もあり、国際治験まで到達した。しかし、GFAP凝集体がどのような機序でアストロサイト機能に影響を及ぼすかは明らかにされていない。さらに、ニューロンやオリゴデンドロサイトなどの他のグリア細胞にどのような影響を及ぼすのか、影響を及ぼすとしたら、異常なGFAPが直接影響するのか、アストロサイト障害の二次的な影響なのか、また、ALXDRDの多彩な表現型を決定する因子は何か、など未解明の問題は山積している。

謝 辞

本総説は令和3年度厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患等政策研究事業)「遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築(21FC1015)」研究代表者:小坂仁(自治医科大学小児科学)の助成を受けてまとめた成果である。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

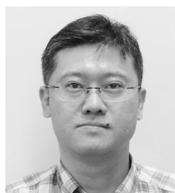
文 献

- 1) Yoshida T. Clinical characteristics of Alexander disease. *Neurodegenerative Disease Management*, 10: 325-333, 2020.
- 2) Messing A, Brenner M. GFAP at 50. *ASN Neuro*, 12: 1759091420949680, 2020.
- 3) Barres BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*, 60: 430-440, 2008.
- 4) Eroglu C, Barres BA. Regulation of synaptic connectivity by glia. *Nature*, 468: 223-231, 2010.
- 5) Pekny M, Levéen P, Pekna M, Eliasson C, Berthold CH, Westermarck B, Betsholtz C. Mice lacking glial fibrillary acidic protein display astrocytes devoid of intermediate filaments but develop and reproduce normally. *EMBO J*, 14: 1590-1598, 1995.
- 6) Messing A, Head MW, Galles K, Galbreath EJ, Goldman JE, Brenner M. Fatal encephalopathy with astrocyte inclusions in GFAP transgenic mice. *Am J Pathol*, 152: 391-398, 1998.
- 7) Alexander WS. Progressive fibrinoid degeneration of

- fibrillary astrocytes associated with mental retardation in a hydrocephalic infant. *Brain*, 72: 373-381, 2014.
- 8) Rosenthal W. Über eine eigenthümliche, mit Sylingomyelie complicirte Geschwulst des Rückenmarks. Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie, 23: 111-143, 1898.
 - 9) Perng MD, Su M, Wen SF, Li R, Gibbon T, Prescott AR, Brenner M, Quinlan RA. The Alexander disease-causing GFAP mutant, R416W, accumulates into Rosenthal fibers by a pathway involving filament aggregation and the association of α B-crystallin and HSP27. *Am J Hum Genet*, 79:197-213, 2006.
 - 10) Heaven MR, Flint D, Randall SM, Sosunov AA, Wilson L, Barnes S, Goldman JE, Muddiman DC, Brenner M. The composition of Rosenthal fibers, the protein aggregate hallmark of Alexander disease. *J Proteome Res*, 15: 2265-2282, 2016.
 - 11) Tang G, Xu Z, Goldman JE. Synergistic effects of the SAPK/JNK and the proteasome pathway on glial fibrillary acidic protein (GFAP) accumulation in Alexander disease. *J Biol Chem*, 281: 38634-38643, 2006.
 - 12) Tang G, Perng MD, Wilk S, Quinlan RA, Goldman JE. Oligomers of mutant glial fibrillary acidic protein (GFAP) inhibit the proteasome system in Alexander disease astrocytes, and the small heat shock protein α B-crystallin reverses the inhibition. *J Biol Chem*, 285: 10527-10537, 2010.
 - 13) Hagemann TL, Connor JX, Messing A. Alexander disease-associated glial fibrillary acidic protein mutations in mice induce Rosenthal fiber formation and white matter stress response. *J Neurosci*, 26: 11162-11173, 2006.
 - 14) Tang G, Yue Z, Tallozy Z, Hagemann T, Cho W, Messing A, Sulzer DL, Goldman JE. Autophagy induced by Alexander disease-mutant GFAP accumulation is regulated by p38/MAPK and mTOR signaling pathways. *Hum Mol Genet*, 17: 1540-1555, 2008.
 - 15) Chen YS, Lim SC, Chen MH, Quinlan RA, Perng MD. Alexander disease causing mutations in the C-terminal domain of GFAP are deleterious both to assembly and network formation with the potential to both activate caspase 3 and decrease cell viability. *Exp Cell Res*, 317: 2252-2266, 2011.
 - 16) Chen MH, Hagemann TL, Quinlan RA, Messing A, Perng MD. Caspase cleavage of GFAP produces an assembly-compromised proteolytic fragment that promotes filament aggregation. *ASN Neuro*, 5: e00125, 2013.
 - 17) Hagemann TL, Boelens WC, Wawrousek EF, Messing A. Suppression of GFAP toxicity by α B-crystallin in mouse models of Alexander disease. *Hum Mol Genet*, 18: 1190-1199, 2009.
 - 18) Messing A and Brenner M. Genetic disorders affecting astrocytes. In: Ransom BR, Kettenmann H. *Neuroglia* 3rd edition. New York: Oxford University Press, 884-895, 2012.
 - 19) Lin NH, Yang AW, Chang CH, Perng MD. Elevated GFAP isoform expression promotes protein aggregation and compromises astrocyte function. *FASEB J*, 35: e21614, 2021.
 - 20) Helman G, Takanohashi A, Hagemann TL, Perng MD, Walkiewicz M, Woidill S, Sase S, Cross Z, Du Y, Zhao L, Waldman A, Haake BC, Fatemi A, Brenner M, Sherbini O, Messing A, Vanderver A, Simons C. Type II Alexander disease caused by splicing errors and aberrant overexpression of a GFAP isoform. *Hum Mutat*, 41: 1131-1137, 2020.
 - 21) Hol EM, Pekny M. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Curr Opin Cell Biol*, 32: 121-130, 2015.
 - 22) Roelofs RF, Fischer DF, Houtman SH, Sluijs JA, van Haren W, van Leeuwen FW, Hol EM. Adult human subventricular, subgranular, and subpial zones contain astrocytes with a specialized intermediate filament cytoskeleton. *Glia*, 52: 289-300, 2005.
 - 23) Nielsen AL, Holm IE, Johansen M, Bonven B, Jorgensen P, Jorgensen AL. A new splice variant of glial fibrillary acidic protein, GFAP epsilon, interacts with the presenilin proteins. *J Biol Chem*, 277: 29983-29991, 2002.
 - 24) Blechinger J, Holm IE, Nielsen KB, Jensen TH, Jorgensen AL, Nielsen AL. Identification and characterization of GFAP kappa, a novel glial fibrillary acidic protein isoform. *Glia*, 55: 497-507, 2007.
 - 25) Clairembault T, Kamphuis W, Leclair-Visonneau L, Rolli-Derkinderen M, Coron E, Neunlist M, Hol EM, Derkinderen P. Enteric GFAP expression and phosphorylation in Parkinson's disease. *J Neurochem*, 130: 805-815, 2014.
 - 26) Melchionda L, Fang M, Wang H, Fugnansei V, Morbin M, Liu X, Li W, Ceccherini I, Farina L, Savoirdo M, D'Adamo P, Zhang J, Costa A, Ravaglia S, Ghezzi D, Zeviani M. Adult-onset Alexander disease, associated with a mutation in an alternative *GFAP* transcript, may be phenotypically modulated by a non-neu-

- tral *HDAC6* variant. *Orphanet J Rare Dis*, 8: 66, 2013.
- 27) Karp N, Lee D, Shickh S, Jenkins ME. C.1289G > A (p.Arg430His) variant in the epsilon isoform of the *GFAP* gene in a patient with adult onset Alexander disease. *Eur J Med Genet*, 62: 235-238, 2018.
- 28) Cho W, Brenner M, Peters N, Messing A. Drug screening to identify suppressors of *GFAP* expression. *Hum Mol Genet*, 19: 3169-3178, 2010.
- 29) Bachetti T, Zanni ED, Balbi P, et al. In vitro treatments with ceftriaxone promote elimination of mutant glial fibrillary acidic protein and transcription down-regulation. *Exp Cell Res*, 316: 2152-2165, 2010.
- 30) Bachetti T, Di Zanni E, Balbi P, et al. Beneficial effects of curcumin on *GFAP* filament organization and down-regulation of *GFAP* expression in an in vitro model of Alexander disease. *Exp Cell Res*, 318: 1844-1854, 2012.
- 31) LaPash Daniels CM, Paffenroth E, Austin EV, et al. Lithium decreases glial fibrillary acidic protein in a mouse model of Alexander disease. *PLoS One*, 10: e0138132, 2015.
- 32) Hagemann TL, Powers B, Mazur C, Kim A, Wheeler S, Hung G, Swayze E, Messing A. Antisense suppression of glial fibrillary acidic protein as a treatment for Alexander disease. *Ann Neurol*, 83: 27-39, 2018.
- 33) A study to evaluate the safety and efficacy of ION373 in patients with Alexander disease (AxD). *Clinical Trials*. gov April, 19, 2021.
- 34) Liedtke W, Edelmann W, Bieri PL, Chiu FC, Cowan NJ, Kucherlapati R, Raine CS. *GFAP* is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron*, 17: 607-615, 1996.
- 35) Nawashiro H, Messing A, Azzam N, Brenner M. Mice lacking glial fibrillary acidic protein are hypersensitive to traumatic cerebrospinal injury. *Neuro Report*, 9: 1691-1696, 1998.
- 36) Liedtke W, Edelmann W, Chiu FC, Kucherlapati R, Raine CS. Experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking glial fibrillary acidic protein is characterized by a more severe clinical course and an infiltrative central nervous system lesion. *Am J Pathol*, 152: 251-259, 1998.
- 37) Stenzel W, Soltek S, Schluter D, Deckert M. The intermediate filament *GFAP* is important for the control of experimental murine *Staphylococcus aureus*-induced brain abscess and *Toxoplasma* encephalitis. *J Neuropathol Exp Neurol*, 63: 631-640, 2004.
- 38) Sosunov AA, Guilfoyle E, Wu X, McKhann GM, Golman JE. Phenotypic conversions of "protoplasmic" to "reactive" astrocytes in Alexander disease. *J Neurosci*, 33: 7439-7450, 2013.
- 39) Minkel HR, Anwer TZ, Arps KM, Brenner M, Olsen ML. Elevated *GFAP* induces astrocyte dysfunction in caudal brain regions: A potential mechanism for hind-brain involved symptoms in type II Alexander disease. *Glia*, 63: 2285-2297, 2015.
- 40) Saito K, Shigetomi E, Yasuda R, Sato R, Nakano M, Tashiro K, Tanaka KF, Ikenaka K, Mikoshiba K, Mizuta I, Yoshida T, Nakagawa M, Mizuno T, Koizumi S. Aberrant astrocyte Ca^{2+} signals "AxCa signals" exacerbate pathological alterations in an Alexander disease model. *Glia*, 66: 1053-1067, 2018.
- 41) Brenner M, Johnson AB, Boespflug-Tanguy O, Rodriguez D, Goldman JE, Messing A. Mutations in *GFAP*, encoding glial fibrillary acidic protein, are associated with Alexander disease. *Nat Genet*, 27: 117-120, 2001.

著者プロフィール



吉田 誠克 Tomokatsu Yoshida

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科脳神経内科学・准教授

略歴：1997年3月 京都府立医科大学医学部 卒業

1997年4月 京都府立医科大学神経内科

2008年10月 京都府立医科大学神経内科 助教

2013年1月 京都府立医科大学神経内科 講師

2016年10月～現職

専門分野：神経内科学，臨床遺伝学

- 主な業績：1. [Yoshida T](#), et al. Clinical and radiological characteristics of older-adult-onset Alexander disease. *Eur J Neurol*, **28**: 28: 3760-3767, 2021.
2. Amano E, [Yoshida T](#), et al. Activation of a cryptic splice site of GFAP in a patient with adult-onset Alexander disease. *Neurol Genet*, **7**: e626, 2021.
3. [Yoshida T](#). Clinical characteristics of Alexander disease. *Neurodegener Dis Manag*, **10**: 325-333, 2020.
4. [Yoshida T](#), et al. Characteristics of cerebral lesions in adult-onset Alexander disease. *Neurol Sci*, **41**: 225-227, 2020.
5. Yasuda R, [Yoshida T](#), et al. Towards genomic database of Alexander disease to identify variations modifying disease phenotype. *Sci Rep*, **9**: 14763, 2019.
6. Saito K, [Yoshida T](#), et al. Aberrant astrocyte Ca²⁺ signals “AxCa signals” exacerbate pathological alterations in an Alexander disease model. *GLIA*, **66**: 1053-1067, 2018.
7. [Yoshida T](#), et al. Quantitative evaluation of brain stem atrophy using MRI in adult patients with Alexander disease. *Eur Neurol*, **77**: 296-302, 2017.
8. [Yoshida T](#), et al. Effects of a polymorphism in the GFAP promoter on age of onset and ambulatory disability in late-onset Alexander disease. *J Hum Genet*, **58**: 635-638, 2013.
9. [Yoshida T](#), et al. Nationwide survey of Alexander disease in Japan and proposed new guidelines for diagnosis. *J Neurol*, **258**: 1998-2008, 2011.
10. [Yoshida T](#), et al. The process of inducing GFAP aggregates in astrocytoma-derived cells is different between R239C and R416W mutant GFAP. A time-lapse recording study. *Neurosci Lett*, **458**: 11-14, 2009.
11. [Yoshida T](#), et al. The functional alteration of mutant GFAP depends on the location of the domain: morphological and functional studies using astrocytoma-derived cells. *J Hum Genet*, **52**: 362-369, 2007.

