

<特集「神経変性疾患のトピックス」>

筋萎縮性側索硬化症の発症機構

能登 祐一*, 森井美貴子

京都府立医科大学大学院医学研究科脳神経内科学

Genetics and Mechanisms in Amyotrophic Lateral Sclerosis

Yu-ichi Noto and Fukiko Kitani-Morii

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

抄 録

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、上位・下位の双方の運動ニューロンの変性により生じる、致死的な神経変性疾患である。ALSには、多くの遺伝的因子や細胞内プロセスの関与があることがわかってきているが、それらのどれが決定的な因子であるかは、未だ明らかではない。本稿では、本疾患の複雑な病態、遺伝的要因について概説する。

キーワード：筋萎縮性側索硬化症, SOD1, TDP-43, FUS, C9orf72.

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal motor neuron disease characterized by degenerative changes in both upper and lower motor neurons. Although ALS is believed to have a large genetic factors and many cellular processes that develop ALS, the critical factor in the disease remain unknown. We outline recent findings regarding ALS pathogenesis in this review.

Key Words: Amyotrophic lateral sclerosis, SOD1, TDP-43, FUS, C9orf72.

はじめに

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、上位・下位の双方の運動ニューロンの変性により生じる、致死的な神経変性疾患である。典型的には、中高年期に発症し、進行性の筋力低下、筋萎縮を

呈し、発症から2-4年で致死的な呼吸筋麻痺を生じる。ALSは成人期において最も多い運動ニューロン疾患で、発症率は2人/10万人、有病率は5.4人/10万人とされる¹⁾。現時点で根治法は存在せず、保険適応のあるリルゾールとエダラボンが治療薬として広く使用されるが、そ

令和3年12月28日受付 令和4年1月4日受理

*連絡先 能登祐一 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地

y-noto@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.131.02.141

の効果は、僅かな進行抑制程度にとどまる。

ALSには、多くの遺伝的因子や細胞内プロセスの関与があることがわかってきているが、それらのどれが決定的な因子であるかは、未だ明らかではない。本疾患の複雑な病態、患者ごとの遺伝的要因、表現型の多様性が、動物実験からヒトでの臨床試験の成功へつなげることを困難としている。

本稿では、まず、ALSの遺伝的要因について述べ、つづいて、現在考えられている病態仮説について概説する。

ALSの遺伝的要因

ALSの10%程度は「家族性ALS (familial ALS, fALS)」であり、家系内に少なくとも一人の同病者を持つ。fALSの遺伝形式はほとんどの場合で常染色体顕性(優性)遺伝をとることが知られている²⁾。ALSの原因遺伝子としては、1993年に初めて報告されたSuperoxide dismutase 1 (SOD1) 遺伝子を皮切りに、現在まで50以上の遺伝子が報告されてきた³⁾。その中で頻度が高いのはSOD1, TAR DNA binding protein (TARDBP), Fused in sarcoma (FUS), C9ORF72遺伝子の4つである。これらのALS原因遺伝子の疫学的頻度は人種によって多少異なることが報告されていて、たとえばC9ORF72遺伝子異常はヨーロッパ系人種ではfALSの約30%と高い頻度を示すが、アジア人では2%程度にしか見られない。一方アジア人ではSOD1変異がfALSの約30%を占め、最も頻度が高い。CaucasianにおけるSOD1変異の割合は15%程度である⁴⁾。

家系内に明らかな同病者がいない場合を「孤発性ALS (sporadic ALS, sALS)」と呼ぶ。ALSの90%以上がsALSだが、遺伝子検査技術の発達に伴い、sALSにおいても発症の背景に遺伝的要因が絡んでいることが知られ始めた。例えば、ヨーロッパ系人種のsALSでも遺伝子検査を行うと1~3%はSOD1変異が観察されるという報告や⁵⁾、5%以上にC9ORF72遺伝子異常が観察されるという報告がある⁶⁾。TARDBPやFUS遺伝子変異がsALSで報告されることもあるが、その頻度は低い。

代表的なALS原因遺伝子について、以下に詳述する。

1. SOD1

SOD1は細胞内に発生した活性酸素を分解する酵素の一つである。真核生物の細胞質に主に存在し、好気呼吸による酸化ストレスを軽減させる。153個のアミノ酸からなり、活性中心に銅および亜鉛イオンを持って安定なホモ二量体を形成する。SOD1遺伝子全体にわたって185個以上の遺伝子異常がALSに関連すると報告されている⁷⁾。遺伝子異常の大半がミスセンス変異によるもので、世界的にはD90A変異が最も頻度が高い。変異型によって重症度は異なるが、A4V, H43R, L84V, G85R, N86S, G93A変異などは進行が速い重症型として知られ、G93C, D90A, H46R変異などは比較的進行が遅いと報告されている⁷⁾。

SOD1遺伝子変異の発見から30年近くが経過したが、変異SOD1がどのようにALSの発症に繋がるのかは未だに完全には解明されていない。SOD1は抗酸化作用を持つ酵素であり、変異SOD1の酵素活性は30~50%低下するが、酵素活性とALSの重症度とは相関しないことが知られている⁸⁾。現在は主として変異SOD1タンパクはミスフォールディング(折りたたみ不全)を生じやすく、細胞質にユビキチン化された凝集体を生じ、これがALSの発症と進行に関与するというtoxic gain of function説が有力である⁹⁾。一方、野生型SOD1陽性の小顆粒がSOD1遺伝子変異を持たないsALS患者やC9ORF72遺伝子異常を持つALS患者の運動神経の細胞質で観察されることがあり、野生型SOD1の折りたたみ不全はさまざまな背景のALSに共通して生じる変化とも考えられている¹⁰⁾¹¹⁾。

2. TARDBP

TARDBP遺伝子はTAR DNA-binding protein 43 (TDP-43)をコードする。TDP-43は主として核に局在するRNA結合タンパク質で、414個のアミノ酸からなる。他のRNA結合タンパク質と結合して蛋白複合体を形成し、mRNAのスプラ

イシングに作用すると考えられている¹²⁾。2006年、NeumannらはALS患者の脳や脊髄の運動ニューロンの細胞質で観察されるユビキチン化封入体の内部に、TDP-43が含まれることを示した¹³⁾。現在ではこのようなTDP-43の局在変化が大多数のsALSでも観察され、ALSの特異的病理所見の一つと考えられている。また2008年には*TARDBP*の変異がfALSの原因となることが遺伝学的解析で明らかとなり、TDP-43の異常がALSの発症と関連することが示された¹⁴⁾。

TDP-43タンパク質動態は厳密な調整が必要で、それが障害されるとALSの発症に繋がると考えられている。実際にげっ歯類モデルではTDP-43ノックダウンと過剰発現の両者で運動障害を呈する¹⁵⁾¹⁶⁾。TDP-43の産生は自己フィードバックにより調整されている。すなわち*TARDBP*によるpre-mRNA産生が増えると、その3'UTR領域に翻訳産物であるTDP-43タンパク質が結合し、過剰なpre-mRNAを分解する¹⁷⁾。この調節系が破綻してTDP-43が過剰に存在した場合は細胞質へ局在を移し、凝集体を形成することで細胞障害につながる。さらにTDP-43が細胞質へ移行した結果、核でのTDP-43の枯渇が生じると様々なRNA代謝に障害をきたし、細胞の機能不全を惹起すると考えられている¹⁸⁾。

3. FUS

FUS遺伝子は526アミノ酸からなるRNA結合タンパク質をコードする。FUSは通常の状態では主として核に局在するが、核と細胞質を行き来することも知られており、核-細胞質間の輸送に関わっていると考えられる¹⁹⁾。2009年に最初のFUS遺伝子変異によるALS患者が報告され、臨床的には比較的若年で発症するという特徴がある²⁰⁻²²⁾。ALSを生じるFUS変異は50個以上報告されている。大半はアミノ酸が置換するミスセンス変異だが、まれに欠失や挿入変異も認められる。ほとんどの変異が核局在にかかわる遺伝子領域に集中しており、核から細胞質へのFUSの局在変化が見られる²³⁾。

FUS変異によるALS患者ではFUS陽性封入体が観察されるが、この封入体がFUS変異患者以

外で観察されることは稀で、またこのFUS陽性封入体にTDP-43が共局在することはほとんどない。そのためFUS変異によるALSはTDP-43から独立した経路で発症することが考えられるが²¹⁾、FUSもTDP-43もRNA結合タンパク質であり、翻訳やスプライシングの調整、RNA輸送などの機能は共通点が多い²⁴⁾。実際に野生型FUSの過剰発現マウスでは強い神経変性と細胞質へのFUS凝集が観察される²⁵⁾。凝集FUSはRNA結合能を欠き、RNA代謝異常が細胞障害をもたらすと考えられる²⁶⁾。さらに、細胞質の可溶性FUS(凝集体を形成していない状態)の増加もストレス顆粒の代謝を変化させることで毒性をもたらす可能性が指摘されている²⁷⁾²⁸⁾。

4. C9ORF72

2011年、C9ORF72遺伝子の非翻訳領域におけるGGGGCC繰り返し配列(リピート)の異常伸長がALSの原因となることが報告された²⁹⁾³⁰⁾。健康人においてはこのGGGGCCリピートは30コピー未満だが、C9ORF72遺伝子異常を有する患者では数百から数千コピーにも増加している²⁹⁾。C9ORF72によりALSの一部がリピート病として発症すること、非翻訳領域の異常がALSの原因となることが明らかにされ、ALSの遺伝を考える上で非常に重要な発見となった。ただ前述の通りC9ORF72遺伝子異常によるfALSはヨーロッパに多く、アジア人では少ない。

C9ORF72遺伝子ノックアウトマウスは神経変性も運動障害も示さなかったため、GGGGCCリピート異常伸長は毒性獲得により細胞障害をもたらすと考えられる³¹⁾。C9ORF72遺伝子の働きは実際のところまだよく理解されていないが、細胞内輸送やオートファジーに関与する可能性、過剰な免疫応答による炎症を抑制する可能性などが指摘されている³²⁾³⁴⁾。C9ORF72異常によるALSについても、核でのRNA凝集体の形成や開始コドン非依存的なタンパク翻訳(repeat associated non-ATG translation, RAN翻訳)が発症に関与する可能性が報告されていることを考えると、このようなRNA代謝障害が中心的病態であろうと推察されるが、今後のより詳細な検討が

待たれる³⁰⁾³⁵⁾。

ALSの病態仮説

長きに渡り研究が行われているにも関わらず、ALSの主要原因は未だ明らかではない。一要因のみでなく、おそらく複数の要因がALS発症と進行に関わっていると考えられている。それら複数の病態として、RNA代謝の障害、核-細胞質輸送障害、蛋白ホメオスタシスの障害、DNA修復の障害、神経興奮毒性、ミトコンドリア障害、酸化ストレス、軸索輸送障害、小胞輸送障害、神経炎症、オリゴデンドロサイト障害が考えられている。それぞれがどのタイミングで、どの程度、病態形成に関わっているのか、今後明らかにする必要がある。続いて上記の個々の病態について概説する。

1. RNA代謝障害

TDP-43やFUS遺伝子がALSの病態に関わることが判明したことで、RNA調節障害がALSの主要な病態であるという潮流が生まれた。TDP-43やFUS遺伝子がコードするRNA結合蛋白は、スプライシング、転写、輸送、翻訳、ストレス顆粒の貯蔵などのいくつかのRNA代謝に関与している。興味深いことに、TDP-43、FUS、TAD15、ESWR1、hnRNPA1、hnRNPA2B1などの多くのALS関連のRNA結合蛋白は、ストレス顆粒形成や動態に関与するプリオン様ドメインを有している。ストレス顆粒は細胞質内に存在するRNA-蛋白質複合体に富む構造体で、細胞が熱などのストレスを受けると形成され、特異的なmRNAを隔離し、翻訳を妨げる働きがある。それらの働きは細胞死を防ぐことにつながっている³⁶⁾。プリオン様ドメインはこのストレス顆粒の可逆的な構築に重要だとされている。

2. 核-細胞質輸送障害

ALS病理におけるTDP-43やFUSなどのRNA結合蛋白の核欠乏や細胞質への局在化は核-細胞質輸送障害により生じると考えられている。近年のALSにおけるC9ORF72遺伝子由来の異常伸長リピートの研究でも、ALSでの核-細胞質輸送

障害の存在を裏付ける根拠が蓄積されている。C9ORF72の毒性を修飾する因子を同定するためのショウジョウバエモデルでの遺伝的スクリーニングにより、18個の核-細胞質輸送とRNA輸出に関わる遺伝子が同定された³⁷⁾。

3. 蛋白ホメオスタシスの障害

異常蛋白蓄積はアルツハイマー型認知症、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病などのいくつかの神経変性疾患の発症に関与しており、ALSにおいても同様と考えられている。SOD1、C9ORF72、TDP-43、FUSなど主要なALSの遺伝子変異を持つALS患者の神経細胞において異常蛋白凝集が認められている。しかし、その異常蛋白凝集の意義や毒性については、未解明である。

ALSの異常蛋白凝集には、オートファジーとユビキチンプロテアソーム機構(UPS)という2つの蛋白クリアランス経路の障害が関与している。オートファジーとは、長期に生存する蛋白や細胞質内器の分解とリサイクルに関与する細胞質内経路で、ホメオスタシスを維持する重要な役割を担っている。UPSは、蛋白質がプロテアソームに認識され分解される前に、ユビキチン化によりマーキングされる経路である。C9ORF72、OPTN、SQSTM1、VCP、UBQLN2などのALS関連遺伝子は、オートファジーかUPSに関与する蛋白をコードする³⁸⁾³⁹⁾³³⁾。分解へ導くユビキチン化の役割を担っている機構にALS関連遺伝子が関与していることを考慮すると、ALS特有の病理学的蛋白封入体がユビキチン陽性であることに疑問はない。ユビキチン化はおそらく、神経細胞内のTDP-43や他の蛋白質の量を正常範囲に維持するために決定的な因子であり、ユビキチン化された蛋白凝集体が蓄積している状況は、蛋白クリアランス機構の障害を意味する。

4. DNA修復の障害

DNA修復の障害もALS発症に関わるメカニズムとして提唱されている。TDP-43とFUSは翻訳に関連し生じるDNA障害の予防や修復に関与し

ていると考えられている。特に *FUS* は、相同的組み換えや非相同末端結合による修復システムを介した DNA2 重らせん構造の破綻の修復の重要な役割を担っている^{40,41}。他の *TAF15*, *SETX*, *EWSR1* などの ALS 関連遺伝子も DNA 障害の修復に関与しているとされている。

5. ミトコンドリア障害と酸化ストレス

酸化ストレスは ALS の病態を惹起する要因であると考えられている。酸化ストレスは、活性酸素の産生が過剰となり、それを消去する抗酸化能とのバランスが崩れたときに生じる。酸化ストレスは、DNA、蛋白、リン脂質などの巨大分子を傷害しうる。特発性 ALS の患者の脊髄における、脂質過酸化などの酸化障害の形態学的な根拠が存在している⁴²。

ミトコンドリアは、スーパーオキシドラジカルとともに活性酸素の多くを産生する器官であり、ALS にミトコンドリアが関与している可能性が示唆される。ALS 関連遺伝子による凝集蛋白によるミトコンドリア機能の破綻や、障害されたミトコンドリアの除去障害、異常な RNA プロセッシングによるミトコンドリア障害などが想定されている。SOD1 には、細胞基質の抗酸化酵素としての役割がある。興味深いことに、変異 SOD1 においては、抗酸化機能の喪失ではなく、活性酸素種のアップレギュレーション、ミトコンドリアや他の蛋白との相互作用によって ALS を引き起こすと考えられている。

酸化ストレスは RNA の誤制御を引き起こすという仮説がある。酸化ストレスは RNA 制御蛋白である TDP-43 や *FUS* の凝集や細胞内局在化を増加させるという根拠は示されている^{43,44}。一方で、逆に RNA の誤制御により酸化ストレス、ミトコンドリア障害が引き起こされるという説もある。たとえば、*FUS* はミトコンドリアシャペロン蛋白 HSP60 との相互作用で、ミトコンドリアに局在すると考えられている。また、TDP-43 は直接ミトコンドリアの生理に関与する蛋白の mRNA 翻訳の制御に影響を与えるという仮説もあり、TDP-43 の過剰/過小発現、変異がミトコンドリアのダイナミクスに影響を与えて機能障

害を引き起こすという研究結果がその説を支持している⁴⁵。

6. 軸索輸送障害

軸索輸送は脂質、蛋白、mRNA、膜結合小胞、器官のような細胞内積荷の、軸索に沿った移動や時空間的分布に関与している。軸索輸送は、細胞の構造、機能を維持するため、また、細胞体とシナプス終末の長距離のコミュニケーションにおいて重要な役割を果たしている。軸索輸送障害は、神経変性疾患において共通して見られる病態である。ALS においては、剖検症例から、軸索輸送障害の病理学的な根拠が得られた。ニューロフィラメント、ミトコンドリア、ライソゾーム、それらを含むスフェロイドの異常な集積が明らかとなった^{46,49}。また、その後、*SOD1* 変異モデルマウスにて軸索輸送障害が認められた⁵⁰。病原性のある軸索輸送に関与する遺伝子変異として、*TUBA4A* が報告されており、稀ではあるが ALS の原因の一つである⁵¹。

TDP-43 が軸索輸送障害に関与するという報告もあり、その根拠として、TDP-43 は、mRNA 輸送を能動的な軸索輸送を介して促進する役割があり、*TDP-43* 変異のショウジョウバエモデル、マウスモデル、ALS 患者幹細胞由来ニューロンではその軸索輸送が障害されていたことが示されている⁵²。マウスモデルにおいては、症状発症よりも早期に、軸索輸送障害が観察されており、軸索輸送障害が病態形成に関わる可能性が示唆される。

7. 小胞輸送障害

小胞輸送障害も ALS の病態形成に関わるとされ、OPTN, VAPB, CHMP2B, UNC13A などいくつかの小胞輸送に関わる蛋白質が ALS と FTD 発症に関与すると報告されている。ゴルジ体から細胞膜への小胞輸送の抑制によって、蛋白凝集とゴルジ体の分裂が生じる。ゴルジ体の分裂は ALS の患者にみられる特徴的な病理所見である。ゴルジ体の分裂は、ALS の病初期に生じ、神経変性のトリガーとなっていることを示唆する結果がいくつかの研究により示されている^{53,54}。

8. 神経炎症

神経炎症がALSの病態に関わるエビデンスが蓄積されつつある。神経障害を来す神経炎症は、ミクログリアやアストロサイトの活性化、炎症性サイトカインの産生過多、T細胞リンパ球浸潤により生じている。ALSにおいてはミクログリアの活性化の存在を支持する研究結果が得られている⁵⁵⁾⁵⁶⁾。ミクログリアは、脳の恒常性を破壊させる攻撃や障害を検出し、形態を変化させ、病原やデブリを除去するためのサイトカインやケモカインを放出する。活性化されたミクログリアからの炎症性蛋白の分泌は、アストロサイトの活性化を引き起こし、それが神経毒性をもっていることが、神経細胞やオリゴデンドロサイトの死へつながらと考えられている。アストロサイトは、神経細胞、シナプスを栄養し、中枢神経系の恒常性を保つ役割を担っている。C9ORF72, TBK1, PGRNなどいくつかのALS関連遺伝子が、ミクログリアの機能に影響を与え、また、ミクログリアにて高頻度に発現しているという研究結果がえられていることが、神経炎症仮説の根拠となっている。免疫担当細胞は、ALSの病期によって、神経細胞生存に対して、保護的にも攻撃的にも働く。

9. 神経興奮毒性

神経毒性は、グルタミン酸受容体の刺激過多により引き起こされ、神経障害、変性につながる。グルタミン酸は、神経伝達物質としての役割があり、全シナプス終末から放出され、シナプス前、後のグルタミン酸受容体に作用する。中枢神経系では、細胞外グルタミン酸の濃度は低く保たれ、細胞内は高くなっている。細胞外のグルタミン酸濃度が高くなった時、神経は受容体の刺激過多により障害を受ける。この神経毒性が、長きにわたりALSの疾患メディエーターであると考えられてきた。神経興奮毒の経口摂取により運動ニューロン病が発症するという報告があり、運動神経は神経興奮毒性へ脆弱であることが示唆されている。ALSにおけるグルタミン酸濃度の変化についての報告は、結果が一定していないが、ALSで、グルタミン酸シ

グナルの変化がはじめに生じることは、電気生理学的な研究により明らかとなっている⁵⁷⁾。

グルタミン酸伝達の誤制御を引き起こすメカニズムには、いくつかの説がある。グルタミン酸の放出が増加、もしくは、シナプスでの再取り込みが不十分であることによる直接的なグルタミン酸濃度増大のメカニズムと、グルタミン酸受容体の発現障害やAMPA受容体の変化によるカルシウム流入増大などを含む機能障害による間接的なメカニズムが提唱されている⁵⁸⁾。グリア細胞におけるグルタミン酸受容体のEAAT2の表出や活動性の低下がグルタミン酸の除去の機能不全を生じ、神経興奮毒性を引き起こしているという説がある。また、介在ニューロンの誤制御、運動神経の興奮性の変化、致命的障害を受けた神経細胞、アストロサイト、ミクログリアの細胞内グルタミン酸の放出などが他の病態仮説として提唱されている。問題は、グルタミン酸シグナリングの障害は、ALS発症の直接的な原因なのか、他の因子により惹起された結果なのかということである。神経興奮毒性説を基盤として使用されているリルゾールはALS患者に軽度ではあるが、進行抑制効果はあるものの、多くの神経興奮毒性をターゲットとした臨床試験は不成功に終わっている。

10. オリゴデンドロサイト障害

オリゴデンドロサイトのような非神経細胞がALS病態に関与しているという研究結果も蓄積されつつある。オリゴデンドロサイトは、中枢神経系の髄鞘産生を担う細胞であるが、灰白質のオリゴデンドロサイトは髄鞘形成には関わらず、神経の代謝のサポートを担っていると考えられている。

オリゴデンドロサイトが関与する乳酸代謝産物産生の変化が軸索変性を生じさせると考えられており、MCT1という脳内の乳酸トランスポーターはオリゴデンドロサイトに豊富に存在し、ALSのモデルマウスやALS患者の大脳皮質においては減少していることがわかっている⁵⁹⁾。SOD1 (G93A) 変異マウスにおいても、脊髄灰白質のオリゴデンドロサイトの機能不全と広範

囲に及ぶ変性とオリゴデンドロサイトの前駆体の分化障害が確認されている⁶⁰⁾。これもまた、原因であるのか結果であるのかが現時点で不明である。ALSのマウスモデルにおいて無症候期、または病初期に脊髄の髄鞘構造に異常が見られたという報告もあり、本仮説は原因である可能性も考慮される。

さいごに

現時点で、広く用いられているALSの治療薬はリルゾールである。本薬は、グルタミン酸による神経興奮毒性の病態仮説を元に開発され、1995年に承認されたが、現在では、その作用機

序は、より多様であることが示されてきている。2017年には約20年ぶりに酸化ストレスの病態仮説に即したエダラボンが承認された。しかし両薬を持ってしても脳神経内科領域の最大の謎といっても過言ではないALSという疾患への効果は限定的であり、依然多くの解決すべき課題が残されている。多様な病態が考えられるALSにおいては、遺伝的情報、環境因子など含む非遺伝的情報を考慮した、個別的な治療法の開発が今後の潮流となるかもしれない。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Chiò A, Logroscino G, Traynor BJ, Collins J, Simeone JC, Goldstein LA, White LA. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology*, 41: 118-130, 2013.
- 2) Alsultan AA, Waller R, Heath PR, Kirby J. The genetics of amyotrophic lateral sclerosis: current insights. *Degener Neurol Neuromuscul Dis*, 6:49-64, 2016.
- 3) Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362: 59-62, 1993.
- 4) Zou ZY, Zhou ZR, Che CH, Liu CY, He RL, Huang HP. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 88: 540-549, 2017.
- 5) Gamez J, Corbera-Bellalta M, Nogales G, Ragner N, Garcia-Arumí E, Badia-Canto M, Lladó-Carbó E, Alvarez-Sabín J. Mutational analysis of the Cu/Zn superoxide dismutase gene in a Catalan ALS population: should all sporadic ALS cases also be screened for SOD1? *J Neurol Sci*, 247: 21-28, 2006.
- 6) Cooper-Knock J, Walsh MJ, Higginbottom A, Robin Highley J, Dickman MJ, Edbauer D, Ince PG, Wharton SB, Wilson SA, Kirby J, Hautbergue GM, Shaw PJ. Sequestration of multiple RNA recognition motif-containing proteins by C9orf72 repeat expansions. *Brain*, 137 (Pt 7): 2040-2051, 2014.
- 7) Yamashita S, Ando Y. Genotype-phenotype relationship in hereditary amyotrophic lateral sclerosis. *Translational neurodegeneration*, 4:13, 2015.
- 8) Cleveland DW, Laing N, Hulse PV, Brown RH, Jr. Toxic mutants in Charcot's sclerosis. *Nature*, 378: 342-343 1995.
- 9) Bruijn LI, Houseweart MK, Kato S, Anderson KL, Anderson SD, Ohama E, Reaume AG, Scott RW, Cleveland DW. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. *Science*, 281: 1851-1854, 1998.
- 10) Forsberg K, Jonsson PA, Andersen PM, Bergemalm D, Graffmo KS, Hultdin M, Jacobsson J, Rosquist R, Marklund SL, Brännström T. Novel antibodies reveal inclusions containing non-native SOD1 in sporadic ALS patients. *PLoS One*, 5: e11552, 2010.
- 11) Forsberg K, Graffmo K, Pakkenberg B, Weber M, Nielsen M, Marklund S, Brännström T, Andersen PM. Misfolded SOD1 inclusions in patients with mutations in C9orf72 and other ALS/FTD-associated genes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 90: 861-869, 2019.
- 12) Buratti E, Baralle FE. Characterization and functional implications of the RNA binding properties of nuclear factor TDP-43, a novel splicing regulator of CFTR exon 9. *J Biol Chem*, 276: 36337-36343, 2001.
- 13) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretzschmar HA,

- Trojanowski JQ, Lee VM. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 314: 130-133, 2006.
- 14) Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall JC, Williams KL, Buratti E, Baralle F, de Bellerocche J, Mitchell JD, Leigh PN, Al-Chalabi A, Miller CC, Nicholson G, Shaw CE. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 319: 1668-1672, 2008.
 - 15) Ash PE, Zhang YJ, Roberts CM, Saldi T, Hutter H, Buratti E, Petrucelli L, Link CD. Neurotoxic effects of TDP-43 overexpression in *C. elegans*. *Hum Mol Genet*, 19: 3206-3218, 2010.
 - 16) Kraemer BC, Schuck T, Wheeler JM, Robinson LC, Trojanowski JQ, Lee VM, Schellenberg GD. Loss of murine TDP-43 disrupts motor function and plays an essential role in embryogenesis. *Acta Neuropathol*, 119: 409-419, 2010.
 - 17) Avendaño-Vázquez SE, Dhir A, Bembich S, Buratti E, Proudfoot N, Baralle FE. Autoregulation of TDP-43 mRNA levels involves interplay between transcription, splicing, and alternative polyA site selection. *Genes Dev*, 26: 1679-1684, 2012.
 - 18) Highley JR, Kirby J, Jansweijer JA, Webb PS, Hewamadduma CA, Heath PR, Higginbottom A, Raman R, Ferraiuolo L, Cooper-Knock J, McDermott CJ, Wharton SB, Shaw PJ, Ince PG. Loss of nuclear TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) causes altered expression of splicing machinery and widespread dysregulation of RNA splicing in motor neurons. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 40: 670-685, 2014.
 - 19) Zinsner H, Sok J, Immanuel D, Yin Y, Ron D. TLS (FUS) binds RNA in vivo and engages in nucleo-cytoplasmic shuttling. *J Cell Sci*, 110 (Pt 15): 1741-1750, 1997.
 - 20) Gromicho M, Oliveira Santos M, Pinto A, Pronto-Laborinho A, De Carvalho M. Young-onset rapidly progressive ALS associated with heterozygous FUS mutation. *Amyotrophic lateral sclerosis & frontotemporal degeneration*, 18: 451-453, 2017.
 - 21) Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams KL, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Chalabi A, Leigh PN, Blair IP, Nicholson G, de Bellerocche J, Gallo JM, Miller CC, Shaw CE. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science*, 323: 1208-1211, 2009.
 - 22) Kwiatkowski TJ, Jr., Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis EJ, Munsat T, Valdmanis P, Rouleau GA, Hosler BA, Cortelli P, de Jong PJ, Yoshinaga Y, Haines JL, Pericak-Vance MA, Yan J, Ticozzi N, Siddique T, McKenna-Yasek D, Sapp PC, Horvitz HR, Landers JE, Brown RH, Jr. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 323: 1205-1208, 2009.
 - 23) Lattante S, Rouleau GA, Kabashi E. TARDBP and FUS mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis: summary and update. *Hum Mutat*, 34: 812-826, 2013.
 - 24) Ratti A, Buratti E. Physiological functions and pathobiology of TDP-43 and FUS/TLS proteins. *J Neurochem*, 138 Suppl 1: 95-111, 2016.
 - 25) Mitchell JC, McGoldrick P, Vance C, Hortobágyi T, Sreedharan J, Rogelj B, Tudor EL, Smith BN, Klasen C, Miller CC, Cooper JD, Greensmith L, Shaw CE. Overexpression of human wild-type FUS causes progressive motor neuron degeneration in an age- and dose-dependent fashion. *Acta Neuropathol*, 125: 273-288, 2013.
 - 26) Shelkvnikova TA, Peters OM, Deykin AV, Connor-Robson N, Robinson H, Ustyugov AA, Bachurin SO, Ermolkevich TG, Goldman IL, Sadchikova ER, Kovrazhkina EA, Skvortsova VI, Ling SC, Da Cruz S, Parone PA, Buchman VL, Ninkina NN. Fused in sarcoma (FUS) protein lacking nuclear localization signal (NLS) and major RNA binding motifs triggers proteinopathy and severe motor phenotype in transgenic mice. *J Biol Chem*, 288: 25266-25274, 2013.
 - 27) Vance C, Scotter EL, Nishimura AL, Troakes C, Mitchell JC, Kathe C, Urwin H, Manser C, Miller CC, Hortobágyi T, Dragunow M, Rogelj B, Shaw CE. ALS mutant FUS disrupts nuclear localization and sequesters wild-type FUS within cytoplasmic stress granules. *Hum Mol Genet*, 22: 2676-2688, 2013.
 - 28) Scekcic-Zahirovic J, Sendscheid O, El Oussini H, Jambau M, Sun Y, Mersmann S, Wagner M, Dieterlé S, Sinniger J, Dirrig-Grosch S, Drenner K, Birling MC, Qiu J, Zhou Y, Li H, Fu XD, Rouaux C, Shelkvnikova T, Witting A, Ludolph AC, Kiefer F, Storkebaum E, Lagier-Tourenne C, Dupuis L. Toxic gain of function from mutant FUS protein is crucial to trigger cell autonomous motor neuron loss. *EMBO J*, 35: 1077-1097, 2016.

- 29) Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, Schymick JC, Laaksovirta H, van Swieten JC, Myllykangas L, Kalimo H, Paetau A, Abramzon Y, Remes AM, Kaganovich A, Scholz SW, Duckworth J, Ding J, Harmer DW, Hernandez DG, Johnson JO, Mok K, Ryten M, Trabzuni D, Guerreiro RJ, Orrell RW, Neal J, Murray A, Pearson J, Jansen IE, Sondervan D, Seelaar H, Blake D, Young K, Halliwell N, Callister JB, Toulson G, Richardson A, Gerhard A, Snowden J, Mann D, Neary D, Nalls MA, Peuralinna T, Jansson L, Isoviita VM, Kaivorinne AL, Hölttä-Vuori M, Ikonen E, Sulkava R, Benatar M, Wu J, Chiò A, Restagno G, Borghero G, Sabatelli M, Heckerman D, Rogaeva E, Zinman L, Rothstein JD, Sendtner M, Drepper C, Eichler EE, Alkan C, Abdullaev Z, Päck SD, Dutra A, Pak E, Hardy J, Singleton A, Williams NM, Heutink P, Pickering-Brown S, Morris HR, Tienari PJ, Traynor BJ. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron*, 72: 257-268, 2011.
- 30) DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, Nicholson AM, Finch NA, Flynn H, Adamson J, Kouri N, Wojtas A, Sengdy P, Hsiung GY, Karydas A, Seeley WW, Josephs KA, Coppola G, Geschwind DH, Wszolek ZK, Feldman H, Knopman DS, Petersen RC, Miller BL, Dickson DW, Boylan KB, Graff-Radford NR, Rademakers R. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 72: 245-256, 2011.
- 31) Koppers M, Blokhuis AM, Westeneng HJ, Terpstra ML, Zundel CA, Vieira de Sá R, Schellevis RD, Waite AJ, Blake DJ, Veldink JH, van den Berg LH, Pasterkamp RJ. C9orf72 ablation in mice does not cause motor neuron degeneration or motor deficits. *Ann Neurol*, 78: 426-438, 2015.
- 32) McCauley ME, O'Rourke JG, Yáñez A, Markman JL, Ho R, Wang X, Chen S, Lall D, Jin M, Muhammad A, Bell S, Landeros J, Valencia V, Harms M, Arditi M, Jefferies C, Baloh RH. C9orf72 in myeloid cells suppresses STING-induced inflammation. *Nature*, 585: 96-101, 2020.
- 33) Nassif M, Woehlbier U, Manque PA. The Enigmatic Role of C9ORF72 in Autophagy. *Front Neurosci*, 11: 442, 2017.
- 34) Farg MA, Sundaramoorthy V, Sultana JM, Yang S, Atkinson RA, Levina V, Halloran MA, Gleeson PA, Blair IP, Soo KY, King AE, Atkin JD. C9ORF72, implicated in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia, regulates endosomal trafficking. *Hum Mol Genet*, 23: 3579-3595, 2014.
- 35) Rohrer JD, Isaacs AM, Mizielińska S, Mead S, Lashley T, Wray S, Sidle K, Fratta P, Orrell RW, Hardy J, Holton J, Revesz T, Rossor MN, Warren JD. C9orf72 expansions in frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*, 14: 291-301, 2015.
- 36) Protter DSW, Parker R. Principles and Properties of Stress Granules. *Trends Cell Biol*, 26: 668-679, 2016.
- 37) Freibaum BD, Lu Y, Lopez-Gonzalez R, Kim NC, Almeida S, Lee KH, Badders N, Valentine M, Miller BL, Wong PC, Petrucelli L, Kim HJ, Gao FB, Taylor JP. GGGGCC repeat expansion in C9orf72 compromises nucleocytoplasmic transport. *Nature*, 525: 129-133, 2015.
- 38) Majcher V, Goode A, James V, Layfield R. Autophagy receptor defects and ALS-FTLD. *Mol Cell Neurosci*, 66 (Pt A): 43-52, 2015.
- 39) Ying H, Yue BY. Optineurin: The autophagy connection. *Exp Eye Res*, 144:73-80, 2016.
- 40) Mastrocola AS, Kim SH, Trinh AT, Rodenkirch LA, Tibbetts RS. The RNA-binding protein fused in sarcoma (FUS) functions downstream of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in response to DNA damage. *J Biol Chem*, 288: 24731-24741, 2013.
- 41) Wang WY, Pan L, Su SC, Quinn EJ, Sasaki M, Jimenez JC, Mackenzie IR, Huang EJ, Tsai LH. Interaction of FUS and HDAC1 regulates DNA damage response and repair in neurons. *Nat Neurosci*, 16: 1383-1391, 2013.
- 42) Shibata N, Nagai R, Uchida K, Horiuchi S, Yamada S, Hirano A, Kawaguchi M, Yamamoto T, Sasaki S, Kobayashi M. Morphological evidence for lipid peroxidation and protein glycooxidation in spinal cords from sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. *Brain Res*, 917: 97-104, 2001.
- 43) Vance C, Scotter EL, Nishimura AL, Troakes C, Mitchell JC, Kathe C, Urwin H, Manser C, Miller CC, Hortobagyi T, Dragunow M, Rogelj B, Shaw CE. ALS mutant FUS disrupts nuclear localization and sequesters wild-type FUS within cytoplasmic stress granules. *Hum Mol Genet*, 22: 2676-2688, 2013.
- 44) Cohen TJ, Hwang AW, Restrepo CR, Yuan CX, Trojanowski JQ, Lee VM. An acetylation switch controls TDP-43 function and aggregation propensity. *Nat Commun*, 6: 5845, 2015.

- 45) Wang W, Li L, Lin WL, Dickson DW, Petrucelli L, Zhang T, Wang X. The ALS disease-associated mutant TDP-43 impairs mitochondrial dynamics and function in motor neurons. *Hum Mol Genet*, 22: 4706-4719, 2013.
- 46) Corbo M, Hays AP. Peripherin and Neurofilament Protein Coexist in Spinal Spheroids of Motor Neuron Disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 51: 531-537, 1992.
- 47) Rouleau GA, Clark AW, Rooke K, Pramatarova A, Krizus A, Suchowersky O, Julien JP, Figlewicz D. SOD1 mutation is associated with accumulation of neurofilaments in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 39: 128-131, 1996.
- 48) Sasaki S, Iwata M. Ultrastructural study of synapses in the anterior horn neurons of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett*, 204: 53-56, 1996.
- 49) Hirano A, Donnenfeld H, Sasaki S, Nakano I. Fine Structural Observations of Neurofilamentous Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*, 43: 461-470, 1984.
- 50) Bilsland LG, Sahai E, Kelly G, Golding M, Greensmith L, Schiavo G. Deficits in axonal transport precede ALS symptoms in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107: 20523-20528, 2010.
- 51) Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp S, Kenna KP, Scotter EL, Kost J, Keagle P, Miller JW, Calini D, Vance C, Danielson EW, Troakes C, Tiloca C, Al-Sarraj S, Lewis EA, King A, Colombrita C, Pensato V, Castellotti B, de Belleruche J, Baas F, ten Asbroek AL, Sapp PC, McKenna-Yasek D, McLaughlin RL, Polak M, Asress S, Esteban-Perez J, Munoz-Blanco JL, Simpson M, Consortium S, van Rheenen W, Diekstra FP, Lauria G, Duga S, Corti S, Cereda C, Corrado L, Soraru G, Morrison KE, Williams KL, Nicholson GA, Blair IP, Dion PA, Leblond CS, Rouleau GA, Hardiman O, Veldink JH, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F, Garcia-Redondo A, Wu Z, Glass JD, Gellera C, Ratti A, Brown RH, Jr., Silani V, Shaw CE, Landers JE. Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS. *Neuron*, 84: 324-331, 2014.
- 52) Ishiguro A, Kimura N, Watanabe Y, Watanabe S, Ishihama A. TDP-43 binds and transports G-quadruplex-containing mRNAs into neurites for local translation. *Genes Cells*, 21: 466-481, 2016.
- 53) Gonatas NK, Stieber A, Gonatas JO. Fragmentation of the Golgi apparatus in neurodegenerative diseases and cell death. *J Neurol Sci*, 246: 21-30, 2006.
- 54) van Dis V, Kuijpers M, Haasdijk ED, Teuling E, Oakes SA, Hoogenraad CC, Jaarsma D. Golgi fragmentation precedes neuromuscular denervation and is associated with endosome abnormalities in SOD1-ALS mouse motor neurons. *Acta Neuropathologica Communications*, 2: 38, 2014.
- 55) Turner MR, Cagnin A, Turkheimer FE, Miller CCJ, Shaw CE, Brooks DJ, Leigh PN, Banati RB. Evidence of widespread cerebral microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis: an [¹¹C] (R)-PK11195 positron emission tomography study. *Neurobiol Dis*, 15: 601-609, 2004.
- 56) Corcia P, Tauber C, Vercoullie J, Arlicot N, Prunier C, Praline J, Nicolas G, Venel Y, Hommet C, Baulieu JL, Cottier JP, Roussel C, Kassiou M, Guilloteau D, Ribeiro MJ. Molecular imaging of microglial activation in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 7: e52941, 2012.
- 57) de Carvalho M, Kiernan MC, Swash M. Fasciculation in amyotrophic lateral sclerosis: origin and pathophysiological relevance. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 88: 773, 2017.
- 58) Kwak S, Hideyama T, Yamashita T, Aizawa H. AMPA receptor-mediated neuronal death in sporadic ALS. *Neuropathology*, 30: 182-188, 2010.
- 59) Lee Y, Morrison BM, Li Y, Lengacher S, Farah MH, Hoffman PN, Liu Y, Tsingalia A, Jin L, Zhang PW, Pellerin L, Magistretti PJ, Rothstein JD. Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration. *Nature*, 487: 443-448, 2012.
- 60) Kang SH, Li Y, Fukaya M, Lorenzini I, Cleveland DW, Ostrow LW, Rothstein JD, Bergles DE. Degeneration and impaired regeneration of gray matter oligodendrocytes in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci*, 16: 571-579, 2013.

著者プロフィール



能登 祐一 Yu-ichi Noto

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学・学内講師

略歴：2003年3月 京都府立医科大学医学部卒業後，4月京都府立医科大学神経内科入局

2009年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学

2010年4月～2011年3月

千葉大学神経内科臨床神経生理グループ（桑原聡教授）特別研究員

2012年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科修了（神経内科学）

2012年4月 京都府立医科大学神経内科 病院助教

2013年1月 京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学 助教

2015年4月 シドニー大学Brain and Mind Centre, ForeFront Clinic post-doctoral fellow

2017年4月～現職

専門分野：筋萎縮性側索硬化症，シャルコーマリートゥース病，自免疫性ニューロパチーを主とした神経筋疾患
最近興味のあること：運動単位

- 主な業績：1. Noto YI, Watanabe K, Holobar A, Kitaoji T, Tsuji Y, Kojima Y, et al. High-density surface electromyography to assess motor unit firing rate in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A patients. *Clin Neurophysiol*, **132** (3): 812-818, 2021.
2. Noto YI, Kondo M, Tsuji Y, Matsushima S, Mizuno T, Tokuda T, et al. Diagnostic Value of Muscle [(11)C] PIB-PET in Inclusion Body Myositis. *Front Neurol*, **10**: 1386, 2019.
3. Noto YI, Simon NG, Selby A, Garg N, Shibuya K, Shahrizaila N, et al. Ectopic impulse generation in peripheral nerve hyperexcitability syndromes and amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol*, **129** (5): 974-980, 2018.
4. Noto YI, Garg N, Li T, Timmins HC, Park SB, Shibuya K, et al. Comparison of cross-sectional areas and distal-proximal nerve ratios in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*, **58** (6): 777-783, 2018.
5. Noto YI, Shibuya K, Shahrizaila N, Huynh W, Matamala JM, Dharmadasa T, et al. Detection of fasciculations in amyotrophic lateral sclerosis: The optimal ultrasound scan time. *Muscle Nerve*, **56** (6): 1068-1071, 2017.

著者プロフィール



森井 芙貴子 Fukiko Kitani-Morii

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学分子脳病態解析学講座・助教

略歴：2007年3月 京都府立医科大学医学部卒業

2011年4月 京都府立医科大学神経内科学入局

2013年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学

2014年5月～2017年3月

京都大学iPS細胞研究所（井上治久教授）特別研究員

2017年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科修了（神経内科学）

2017年4月 京都府立医科大学神経内科 病院助教

2019年4月～現職

専門分野：シャルコーマリートゥース病のモデリング，神経変性疾患のバイオマーカー開発
最近興味のあること：ショウジョウバエ

- 主な業績：1. Kitani-Morii F et al. Drosophila as a model for microbiota study of Neurodegeneration. *J Alzheimer Dis*, **84**: 479-490, 2021.
2. Kitani-Morii F et al. Risk factors for neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease during COVID-19 pandemic in Japan. *PLoS One*, **16**: e0245864, 2021.
3. Kitani-Morii F et al. Recent Advances in Drosophila Models of Charcot-Marie-Tooth Disease. *Int J Mol Sci*, **21**: 7419, 2020.
4. Kitani-Morii F et al. Rate of Changes in CMT Neuropathy and Examination Scores in Japanese Adult CMT1A Patients. *Front Neurol*, **11**: 626, 2020.

