

【総 説】

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因究明と治療に向けた基礎研究

新倉 麻己子、三澤 日出巳

慶應義塾大学薬学部 薬理学講座

要約

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、中年期以降に発症し、運動ニューロンが選択的に死滅していく神経変性疾患である。ALS の一部を占める家族性 ALS では原因遺伝子の解明が急速に進んでいるものの、大部分を占める孤発性 ALS では、病気の原因は依然として不明であり、有効な治療法も存在しない。本総説では、近年研究の進展がめざましい家族性 ALS の原因遺伝子の研究について解説し、ALS の治療を目指した最近の試みについて紹介した。また、著者らが開発した運動ニューロン特異的な遺伝子改変マウスを用いた研究成果を概説した。ALS 研究は、これまでの家族性 ALS 研究で明らかとなった多くの成果をもとに、孤発性 ALS の原因究明に取り組み、有効な治療法を模索するステージにある。

キーワード： ALS, SOD1, TDP-43, VChT-Cre, non-cell autonomous

1. はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis : ALS) は、大脳皮質運動野の上位運動ニューロン及び脳幹と脊髄の下位運動ニューロンが、選択的かつ系統的に障害される神経変性疾患である。ほとんどの患者は 50 ~ 60 代、主に中年期以降で発症をむかえる。構音障害や嚥下困難、呼吸筋麻痺などを経て、人工呼吸器を使用しない場合は平均して発症後 3 ~ 5 年で死に至ることが知られている。ALS の臨床症状は個人差が大きく、進行速度や病状の多様性から複数の病因が関与している可能性が示唆されている。

患者の 5 ~ 10% は家族歴を伴い、家族性 ALS (Familial ALS) と呼ばれる。家族性 ALS の原因としてこれまでに同定された主な遺伝子を表 1 に示す。2006 年には、運動ニューロンに出現するユビキチン陽性封入体の主要構成成分として TAR DNA-binding protein of 43 kD (TDP-43) が同定され、孤発性 ALS の発症機序解明につながることを期待されている [1]。

本稿では、ALS 研究を大きく進展させるきっかけとなった 2 つの原因遺伝子を中心に、これまでの ALS 研究の道のりを紹介する。また、我々が作製した運動ニュー

ロン特異的 Cre マウスを用いた研究の展開、今後の治療法開発の展望についても概説する。

2. ALS 研究の道を拓いた変異 SOD1 (superoxide dismutase 1) 遺伝子の発見

1) 変異 SOD1 タンパク質の毒性

1993 年、家族性 ALS の原因遺伝子として初めて SOD1 が同定された [2]。現在では家族性 ALS の約 20% がこの遺伝子の変異により生じることがわかっている [3]。SOD1 は 153 アミノ酸から成るタンパク質で、スーパーオキシドラジカルを過酸化水素と酸素に分解する反応を触媒する酵素である。変異遺伝子の発見当初は、遺伝子異常により SOD1 タンパク質の機能が失われること (loss of function) が運動ニューロン障害の原因と考えられた。しかし遺伝子変異のほとんどが点変異であり、酵素活性が失われない場合にも運動ニューロンの細胞死が生じること、SOD1 ノックアウトマウスが ALS の症状を示さなかったことから、現在では変異 SOD1 タンパク質が新たに神経を傷害する異常機能を獲得すると想定されている (gain of function)。この“異常機能”が何であるかについては諸説あり、結論は出ていないが、変異 SOD1 の発見は ALS の病態解明と治療法開発において大きな役割を果たしている。

2) 変異 SOD1 トランスジェニックマウス

SOD1 が ALS の原因遺伝子として同定された翌年、変異 SOD1 遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウス [4] が作出された。このマウスは筋萎縮、グリア

連絡先：〒 105-8512

東京都港区芝公園 1-5-30

TEL：03-5400-2674

FAX：03-5400-2698

E-mail：misawa-hd@pha.keio.ac.jp

表1 ALSの主な原因遺伝子

変異遺伝子	遺伝子座	遺伝様式	家族性ALS患者における割合
Superoxide dismutase 1 (SOD1)	21q22.1	優性	20%
TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43)	1p36.2	優性	1-5%
FUS	16p11.2	優性	1-5%
Angiogenin (ANG)	14q11.2	優性	<1%
Senataxin (SETX)	9q34	優性	不明
Chromosome 9 open reading frame 72 (C9ORF72)	9p21.3-p13.3	優性	40-50%
Ataxin 2 (ATXN2)	12q24	優性	<1%
Ubiquilin 2 (UBQLN2)	Xp11	優性	<1%
Optineurin (OPTN)	10p15-p14	優性 / 劣性*	<1%
D-amino-acid oxidase (DAO)	12q24	優性	<1%
Profilin 1 (PFN1)	17p13.2	優性	不明

*日本人患者の一部では劣性遺伝の可能性あり。(文献[37]より改変)

細胞の活性化、脊髄前角での運動ニューロン消失などALS患者と同様の病態を示すことから、ALSのモデル動物として原因究明および治療法の開発のため世界中で使用されている。

このようなモデル動物を用いた研究から、運動ニューロンが細胞死に至るメカニズムについていくつかの説が報告された。ミトコンドリア障害(ミトコンドリア膜あるいは内部に変異SOD1タンパクが蓄積することで、シトクロムcなどのアポトーシス因子を放出してアポトーシスを引き起こす)[5]、小胞体ストレス(ミスフォールディングを起こした変異SOD1タンパク質の凝集あるいは蓄積により細胞死が起こる)[6]、酸化ストレス、軸索輸送障害、グルタミン酸による興奮毒性[7]、神経栄養因子の欠如、変異SOD1タンパク質の細胞外毒性などである[8]。また近年では、ニューロンと周囲のグリア細胞との相互関係も注目を集めている(次項参照)。

3) 「非細胞自律性」な神経細胞死

ALS患者の脊髄前角では、運動ニューロンの変性以

外、グリア細胞や血管内皮細胞の病理学的変化も認められることが知られている。モデルマウスやALS患者においてグリア細胞が増殖・活性化していく現象は神経炎症と呼ばれ、病態の進行に対しては傷害性と保護性という二つの顔をもつとされる[9]。運動ニューロンの死滅に対しグリア細胞がどのように関与しているのかを詳細に調べるため、モデルマウスを使用して様々な実験が行われた。

まずALSモデルマウス(除去可能な変異SOD1トランスジェニックマウス)において運動ニューロン特異的に変異SOD1の発現を抑制したところ、病気の発症は遅れるものの、発症後の進行速度は変化しないことがわかった[10, 11]。一方ミクログリアまたはアストロサイトに発現する変異SOD1を選択的に除去すると、モデルマウスの罹病期間は延長した[10, 12]。すなわちALSにおいては運動ニューロンだけが病気の進行に関与しているわけではなく、その周囲の環境を構成するミクログリアやアストロサイトも重要な役割を果たしていることが示された。

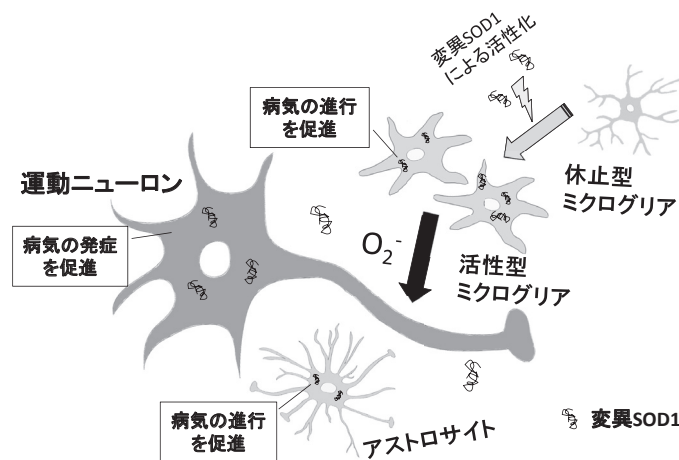


図1 非細胞自律性神経細胞死と変異SOD1の毒性

運動ニューロンとグリア細胞に存在する変異SOD1はそれぞれALSの発症と進行に関与する。また細胞外に放出された変異SOD1はミクログリアを活性化し、運動ニューロンへの傷害を増強する。

神経変性疾患における神経細胞死は、その細胞自身に原因があるとこれまで考えられてきたが、周囲の様々な細胞も神経細胞死をもたらす一因となる可能性が大きくなった。この現象は「非細胞自律性 (non-cell autonomous)」という概念として、現在重要な研究テーマとなっている (図 1)。

4) 変異 SOD1 タンパク質の伝播仮説

最近、運動ニューロンから他の細胞への病態伝播の一機序として「変異 SOD1 タンパク質の放出」という概念が新たに提唱されている [13, 14]。凝集した変異タンパク質は周囲の細胞に取り込まれ更なる凝集体を形成、そして細胞から細胞へ病気が伝播していくという考え方である。パーキンソン病では α シヌクレイン原線維が周囲の α シヌクレインを取り込みレビー小体の形成、神経変性の拡大へと繋がるのがマウスを用いた実験で既に示されている [15]。ALS においても培養細胞レベルでは変異 SOD1 タンパク質の伝播が確認されており [16, 17]、より決定的な証拠が待たれる。

3. TDP-43 (TAR DNA binding protein of 43 kD) の同定による ALS 研究の進展

1) ユビキチン陽性封入体の主要成分 TDP-43

孤発性 ALS に認められるユビキチン陽性封入体の主要成分として TDP-43 が同定されている [1, 18]。TDP-43 は不均一核内リボ核酸タンパク (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins : hnRNP) の一種で、通常は核に局在する。TDP-43 は、中央部に 2 つの RNA 認識モチーフと 1 つのグリシンに富んだ領域をもち、pre-mRNA のスプライシング調節や mRNA の輸送、転写制御に関与する [19]。1995 年に HIV-1 遺伝子の末端反復配列に結合し転写を抑制する因子として同定されていた [20]。

孤発性 ALS の剖検病理標本では、本来は核に局在するはずの TDP-43 が、残存する運動ニューロンやグリア細胞の細胞質や突起内に封入体として蓄積する。また全体から見た割合は少ないものの、TDP-43 をコードする遺伝子の変異が家族性、孤発性双方の ALS 患者から見つかっている [21, 22]。

2) FUS/TLS (fused in sarcoma/translated in liposarcoma)

TDP-43 の発見がきっかけとなり、2009 年に家族性 ALS の一型 (ALS6) で FUS/TLS 遺伝子の変異が報告された [23, 24]。FUS/TLS は FET ファミリーに属するタンパク質で、ヒト粘液性脂肪肉腫のガン化を誘導する因子として最初に同定された [25]。構造・機能的に TDP-43 とよく似ており、RGG モチーフ、RNA 認識モチーフ、Zn フィンガードメインを持ち、転写やスプライシング調節に関与することが知られている [25, 26]。また、ストレス顆粒の形成に必要なプリオン様ドメインを含むということも共通の特徴として挙げられる [27]。

TDP-43 に次いで FUS/TLS の変異が同定されたことにより、RNA 代謝の異常が ALS の病態に寄与しているのではないかという新たな概念が議論されることとなった。

3) ALS と認知症

従来から一部の ALS 患者は特有の認知機能障害を示し、病理学的に前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration : FTL D) を呈する場合と、FTL D ではないが認知行動に異常を来す場合が知られている。

FTL D は前頭葉と側頭葉の変性により特有の認知機能障害を示す神経変性疾患群である。FTL D の中には TDP-43 封入体をもつ一群が存在し [1]、その一部が運動神経疾患を合併する (FTL D-MND)。FTL D-MND では ALS は進行しないものの、大脳皮質病変に加えて下位運動ニューロン変性、黒質変性が見られており、これらは認知機能障害を伴う ALS の病理に近いといえる。すなわち ALS と FTL D は一つの病気の対極に位置する症状であると考えられる。ALS と FTL D に共通する原因遺伝子として特定された C9ORF72 (chromosome 9 open reading frame) の存在が、この考え方を臨床病理学的に裏付けるものとなった [28, 29]。

4. 新たな ALS 治療法の開発を目指した試み

これまで述べてきた通り、変異 SOD1 の発見を端緒として新たな原因遺伝子や異常分子が次々と発見され、ALS の研究は飛躍的に進歩しているように見える。しかしながら、多くの原因遺伝子や異常分子が、どのようなメカニズムで運動ニューロン変性を惹起するのか、その共通メカニズムについての統一的理解が得られる所には至っていない。ここでは、現時点で、ALS の治療を目指して進められているいくつかの取り組みについて紹介する。

1) 変異 SOD1 をターゲットとした抗体 / 遺伝子治療

病気の原因となる変異タンパク質を減らす試みは神経変性疾患治療において一つの戦略といえる。ALS においても変異 SOD1 に対する抗体、あるいは変異 SOD1 mRNA に相補的なオリゴヌクレオチドの投与が研究されており、モデルマウスを使用した実験ではいずれも病気の進行を遅延させることができた [30, 31]。現時点では、この方法は変異 SOD1 を有する遺伝性患者にのみ適用できるものであり、患者全体から見るとほんの一部にすぎないが、SOD1 が孤発性 ALS の病態にも関与していることがより明確になれば [32-34]、さらに多くの患者を対象とした治療法となる可能性がある。

2) 幹細胞を用いた再生医療

近年では神経前駆細胞や幹細胞を用いた治療が大きな関心を集めている。iPS 細胞の発見により、高齢の患者由来の細胞であっても神経細胞に再分化させられるようになったことの意義は大きい。運動ニューロンに分化可能である iPS 細胞を脊髄に注入すれば、病気の運動ニューロンと置き換わって再び筋肉と接合部を形成するのではないかという期待もあるが、実際には機能不全となったニューロンをサポートするに留まるだろうという見方のほうがより現実的である。ヒトの神経幹細胞を

ALS 患者の脊髄に移植する臨床試験が既に始められている [35]。

また ALS ではアストロサイトが運動ニューロン変性に寄与していることから、グリア前駆細胞の移植についても研究がなされている。モデルマウスのレベルではあるが、前肢の運動機能の低下が遅延するなど、病気の進行の遅延が観察されている [36]。そのため現在では、グリア前駆細胞の脊髄移植を評価する早期臨床試験も計画されている。

5. 運動ニューロン特異的 Cre 発現マウスを用いた研究

最後に、筆者らの研究を少し紹介したい。

ALS では、運動ニューロンのうちでも、骨格筋に直接投射する体性運動ニューロン (somatic motor neuron) が傷害されやすいことが知られている。一方で、自律神経節ニューロンに投射して内臓運動などを二次的に制御する内臓運動ニューロン (visceral motor neuron) は比較的長期に渡って機能が保たれるとされる。筆者らは、偶然の産物として、ALS で傷害されやすい体性運動ニューロンで特異的に遺伝子改変を誘導できるマウス (VChT-Cre) を作出し、その有用性を示してきた [12, 38, 39]。VChT-Cre は、運動ニューロンを含むコリン作動性ニューロンで特異的に発現するシナプス小胞アセチルコリントランスポーター (vesicular acetylcholine transporter; VChT) の転写ユニットを用いたトランスジェニックマウスで、脊髄や脳幹部の体性運動ニューロンの約 50% で Cre recombinase を発現する。筆者らの報告以来、VChT-Cre マウスは ALS 研究者のコミュニティに好意的に受け入れられ、国内外の多くのラボで使用され、その成果が報告されている (表 2)。

ALS の原因遺伝子や異常分子の多くは運動ニューロンだけでなく全身の細胞・臓器で発現している場合が多く、通常の (全身性の) ノックアウトマウスの手法では、発生過程や主要臓器の異常による致死・障害が顕著となり、ALS の特徴である中年・初老期に発症して運動ニューロン選択的に進行する変性過程を解析すること

は困難であった。この点を克服するために、生後の運動ニューロンの約半数 (半数の運動ニューロンが残っている個体は生存が可能) で標的遺伝子を修飾できる VChT-Cre は、有用なモデルシステムを提供することとなった。

これまでに VChT-Cre を使って、生後の運動ニューロンの生存や機能維持に、マイクロ RNA [40]、RNA 編集酵素 [41]、神経栄養因子 [42]、プロテアソーム [43]、TDP-43 [44] などが重要であると報告されている。

6. おわりに

数多くの神経変性疾患のうちでも、ALS ほど過酷な疾患は無いと言われる。ヒトは入力と出力という 2 つのルートで外界と結びついているが、出力系としては運動ニューロン機能にほぼ全面的に依存している。運動ニューロンが選択的に変性する ALS の末期では、患者ごとの個人差は大きいものの、随意運動のすべてが麻痺してコミュニケーション不能 (totally locked-in state) となる場合もあるという。このような状況でも、脳の認知機能や感覚機能、自律神経機能などは保たれ、意識は清明であると考えられている。外界とのコミュニケーションが隔絶した状態の患者本人と介護者の苦しみは計り知れない。

著者が研究の道に足を踏み入れた四半世紀前、知人の神経内科医が「ALS の研究に取り組むことは、フェルマーの最終定理に挑戦するようなものだ」と言っていたことを思い出す。これは「ほぼ解明は不可能」という意味であり、「だから敢えて高みを目指す」という決意表明でもあったと思う。ALS の研究に従事している医師や研究者は、少なからずこのような思いをもって研究に取り組んできたものと思う。ただ意外にも、それからわずか数年後 (1995 年)、360 年間も解明を拒んでいたフェルマーの最終定理が、アンドリュウ・ワイルズによって完全に証明されるという出来事が起こっている。

ここ 20 年の ALS 研究の進展にはめざましいものがある。家族性 ALS の研究成果の蓄積をもとに、孤発性 ALS の実体に迫る研究も始まっている。機は熟しつつ

表2 VChT-Cre マウスを用いた研究成果

ノックアウト遺伝子	その遺伝子の機能	特徴的な表現型	参考論文番号
Mn SOD (SOD2)	スーパーオキシドの除去 (ミトコンドリアに局在)	運動ニューロンの生存に変化なし 軸索切断後のワーラー変性の加速	39
floxed mutant SOD1 (除去可能な変異SOD1)	(除去可能な)変異SOD1を全身で発現してALS発症	ALS発症時期 (onset) の遅延 各種ALS病態マーカーの出現遅延	12
Dicer1	マイクロRNA (miRNA)のプロセッシング	運動ニューロンの遅発変性と細胞死 軸索変性、筋肉の除神経、グリア増殖	40
ADAR2	グルタミン酸受容体サブユニットGluR2のQ/Rサイト編集	運動ニューロンの遅発変性と細胞死 軸索変性、筋肉の除神経、グリア増殖	41
TrkB	BDNF受容体	生存期間の延長、病態進行の遅延 (変異SOD1マウスと掛け合わせた場合)	42
Rpt3	プロテアソームの必須サブユニット	運動ニューロンの遅発変性と細胞死、グリア増殖 ALS関連タンパク質 (TDP-43など) の局在異常	43
Atg7	オートファゴソーム形成の必須因子	正常マウスと変化なし	43
TDP-43	機能不明な核蛋白質 家族性および孤発性ALSで細胞質に凝集体形成	緩徐進行性の運動障害、運動ニューロンの萎縮 ヒトALSと類似の病理学的変化	44

体性運動ニューロン特異的に遺伝子を改変することができる VChT-Cre マウス (文献 [38]) は、ALS に関連した様々な研究で利用されている。

ある。今こそ医師と研究者が力を合わせて、この難局を突破して ALS の謎を解く時であると感じる。

参考文献

- 1) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP 43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006; 314: 130-133.
- 2) Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
- 3) Cleveland DW. From Charcot to SOD1: mechanisms of selective motor neuron death in ALS. *Neuron* 1999; 24: 515-520.
- 4) Gurney ME, Pu H, Chiu AY, et al. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu, Zn superoxide dismutase mutation. *Science* 1994; 264: 1772-1775.
- 5) Shi P, Gal J, Kwinter DM, et al. Mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Acta* 2010; 1802: 45-51.
- 6) Kikuchi H, Almer G, Nagai M, et al. Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 6025-6030.
- 7) Corona JC, Tovar-y-Romo LB and Tapia R. Glutamate excitotoxicity and therapeutic targets for amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11: 1415-1428.
- 8) Ilieva H, Polymenidou M and Cleveland DW. Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *J Cell Biol* 2009; 187: 761-772.
- 9) Philips T and Robberecht W. Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol* 2011; 10: 253-263.
- 10) Boillée S, Yamanaka K, Lobsiger CS, et al. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science* 2006; 312: 1389-1392.
- 11) Yamanaka K, Boillee S, Roberts EA, et al. Mutant SOD1 in cell types other than motor neurons and oligodendrocytes accelerates onset of disease in ALS mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 7594-7599.
- 12) Yamanaka K, Chun SJ, Boillee S, et al. Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 2008; 11: 251-253
- 13) Aguzzi A and Rajendran L. The transcellular spread of cytosolic amyloids, prions, and prionoids. *Neuron* 2009; 64: 783-790.
- 14) Goedert M, Clavaguera F and Tolnay M. The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 2010; 33: 317-325.
- 15) Luk KC, Kehm V, Carroll J, et al. Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science* 2012; 338: 949-953.
- 16) Munch C, O' Brien J and Bertolotti A. Prion-like propagation of mutant superoxide dismutase-1 misfolding in neuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 3548-3553.
- 17) Chia R, Tattum MH, Jones S, et al. Superoxide dismutase 1 and tgSOD1G93A mouse spinal cord seed fibrils suggesting a propagative cell death mechanism in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* 2010; 5: e10627.
- 18) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau- negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351:602-611.
- 19) Buratti E, Brindisi A, Giombi M, et al. TDP-43 binds heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B through its C-terminal tail: an important region for the inhibition of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator exon 9 splicing. *J Biol Chem* 2005; 280: 37572-37584.
- 20) Ou SH, Wu F, HarrichD, et al. Cloning and characterization of a novel cellular protein, TDP-43, that binds to human immunodeficiency virus type 1 TAR DNA sequence motifs. *J Virol* 1995; 69: 3584-3596.
- 21) Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, et al. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2008; 319: 1668-1672.
- 22) Kabashi E, Valdmanis PN, Dion P, et al. TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 2008; 40: 572-574.
- 23) Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, et al. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2009; 323: 1205-1208.
- 24) Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 2009; 323: 1208-1211.
- 25) Crozat A, Aman P, Mandahl N, et al. Fusion of CHOP to a novel RNA-binding protein in human myxoid liposarcoma. *Nature* 1993; 363: 640-644.

- 26) Lagier-Tourenne C, Polymenidou M and Cleveland DW. TDP-43 and FUS/TLS: emerging roles in RNA processing and neurodegeneration. *Hum Mol Genet* 2010; 19: R46-R64.
- 27) Polymenidou M and Cleveland DW. The seeds of neurodegeneration: prion-like spreading in ALS. *Cell* 2011; 147: 498-508.
- 28) DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 2011; 72: 245-256.
- 29) Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011; 72: 257-268.
- 30) Southwell AL, Skotte NH, Bennett CF, et al. Antisense oligonucleotide therapeutics for inherited neurodegenerative diseases. *J Clin Invest* 2006; 116: 2290-2296.
- 31) Gros-Louis F, Soucy G, Larivière R, et al. Intracerebroventricular infusion of monoclonal antibody or its derived Fab fragment against misfolded forms of SOD1 mutant delays mortality in a mouse model of ALS. *J Neurochem* 2010; 113: 1188-1199.
- 32) Ezzi SA, Urushitani M and Julien JP. Wild-type superoxide dismutase acquires binding and toxic properties of ALS-linked mutant forms through oxidation. *J Neurochem* 2007; 102: 170-178.
- 33) Bosco DA, Morfini G, Karabacak NM, et al. Wild-type and mutant SOD1 share an aberrant conformation and a common pathogenic pathway in ALS. *Nat Neurosci* 2010; 13: 1396-1403.
- 34) Haidet-Phillips AM, Hester ME, Miranda CJ, et al. Astrocytes from familial and sporadic ALS patients are toxic to motor neurons. *Nat Biotech* 2011; 29: 824-828.
- 35) Glass JD, Boulis NM, Johe K, et al. Lumbar intraspinal injection of neural stem cells in patients with amyotrophic lateral sclerosis: results of a phase I trial in 12 patients. *Stem Cells* 2012; 30: 1144-1151.
- 36) Lepore AC, Rauck B, Dejea C, et al. Focal transplantation-based astrocyte replacement is neuroprotective in a model of motor neuron disease. *Nat Neurosci* 2008; 11: 1294-1301.
- 37) Robberecht W and Philips T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14: 248-264.
- 38) Misawa H, Nakata K, Toda K, et al., VChT-Cre. Fast and VChT-Cre.Slow: postnatal expression of Cre recombinase in somatomotor neurons with different onset. *Genesis* 2003; 37: 44-50.
- 39) Misawa H, Nakata K, Matsuura J, et al. Conditional knockout of Mn superoxide dismutase in postnatal motor neurons reveals resistance to mitochondrial generated superoxide radicals. *Neurobiol Dis* 2006; 23: 169-177.
- 40) Haramati S, Chapnik E, Sztainberg Y, et al. miRNA malfunction causes spinal motor neuron disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 13111-13116.
- 41) Hideyama T, Yamashita T, Suzuki T, et al. Induced loss of ADAR2 engenders slow death of motor neurons from Q/R site-unedited GluR2. *J Neurosci* 2010; 30: 11917-11925.
- 42) Zhai J, Zhou W, Li J, et al. The in vivo contribution of motor neuron TrkB receptors to mutant SOD1 motor neuron disease. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 4116-4131.
- 43) Tashiro Y, Urushitani M, Inoue H, et al. Motor neuron-specific disruption of proteasomes, but not autophagy, replicates amyotrophic lateral sclerosis. *J Biol Chem* 2012; 287: 42984-42994.
- 44) Iguchi Y, Katsuno M, Niwa J, et al. Loss of TDP-43 causes age-dependent progressive motor neuron degeneration. *Brain* 2013; 136: 1372-1382.

Amyotrophic lateral sclerosis: basic research and therapeutic intervention

Mamiko Niikura, Hidemi Misawa

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Keio University

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a late-onset, fatal neurodegenerative disease that selectively affects motor neurons. Although several causative genes have been

identified in familial-type ALS (FALS) which consists of <10% of all ALS cases, very little information is available on the cause of sporadic-type ALS (SALS) which accounts for >90% of ALS cases. Currently there is no effective treatment to cure ALS. This review deals with the causative genes identified so far in several forms of FALS, and describes some therapeutic approaches that may help develop future ALS therapy. Also, we introduce a motor neuron-specific gene modification system (VChT-Cre) in which Cre is selectively expressed in ALS-susceptible somatomotor neurons in mice. By using VChT-Cre, several genes have been shown to be necessary for long-term survival of motor neurons. Current research on ALS is gradually shifting its focus from FALS to SALS, and effective therapeutic inventions are now keenly demanded.

Key words : ALS, SOD1, TDP-43, VChT-Cre, non-cell autonomous