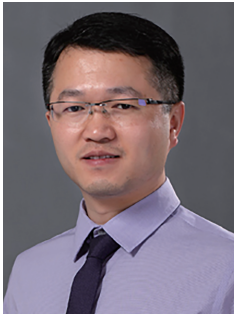


特约综述



陈实, 国家“千人计划”创新人才, “楚天学者”特聘教授, 武汉大学医学研究院PI, 武汉大学药学院教授, 博士生导师。课题组研究集中于基因组修饰及编辑、DNA骨架的磷硫酰化生理修饰、创新药物的设计与改造、神经退行性疾病的致病机理与治疗途径。以第一作者或通讯作者在Nat Chem Biol、PNAS、Nat Commun、Med Res Rev、Trends Cell Biol、Nucleic Acids Res、Chem Biol等期刊上发表多篇论文。

<http://mri.whu.edu.cn/info/1007/1731.htm>

肌萎缩侧索硬化症致病基因研究进展

周春柳 陈 实*

(武汉大学药学院, 组合生物合成与新药发现教育部重点实验室, 武汉 430071)

摘要 肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种致命性神经退行性疾病, 发病率约为0.002%。由于运动神经元发生不可逆的程序性凋亡导致全身肌肉萎缩, 患者逐渐失去运动能力, 最终因呼吸系统衰竭而窒息。ALS的致病机理尚不明确, 目前尚无有效的临床诊断方法。利鲁唑是唯一一个美国食品及药物管理局批准用于治疗ALS的药物, 但仅能延长患者几个月的生存期。约有5%的ALS呈家族聚集性, 称为家族遗传性ALS(familial ALS, FALS)。目前已发现30多种ALS相关致病基因, 一些基因突变的ALS患者可能表现出独特的临床特征, 所以致病基因的研究对于ALS的诊断和其作为潜在的药物靶点具有十分重要的意义。该综述对ALS致病基因及其功能进行总结, 并对ALS可能存在的致病机理进行了探讨。

关键词 肌萎缩侧索硬化症; 致病机理; 致病基因; ALS疾病的诊断; 基因功能

Progress in the Study of ALS Causative Genes

Zhou Chunliu, Chen Shi*

(Key Laboratory of Combinatorial Biosynthesis and Drug Discovery, Ministry of Education, School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

Abstract Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease with an incidence of approximately 0.002%. Due to the irreversible and progressive neuronal degeneration of upper motor neurons and lower motor neurons, patients gradually lose their ability to act and eventually die from respiratory failure. The pathogenesis of ALS is not clear, and there are no specific tests to be used as a basis for clinical diagnosis. Riluzole

国家自然科学基金(批准号: 31300896)资助的课题

*通讯作者。Tel: 027-68756643, E-mail: shichen@whu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31300896)

*Corresponding author. Tel: +86-27-68756643, E-mail: shichen@whu.edu.cn

网络出版时间: 2017-12-04 12:07:36

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20171204.1207.016.html>

is the only drug approved by the U.S. food and drug administration to treat ALS, however, it can only prolong the patient's survival for a few months. Approximately 5% of patients with amyotrophic lateral sclerosis are familial type, known as FALS. And more than 30 causative genes have been identified in FALS at present. Studies have shown that ALS patients with specific genetic mutations may exhibit unique clinical characteristics, so the study of causative genes is of great significance for the diagnosis of ALS and may be potential drug targets for this disease. In this review, we summarized the functions of the causative genes of ALS, and made a bold prediction of the possible pathogenesis of ALS.

Keywords amyotrophic lateral sclerosis; pathogenic mechanism; causative genes; diagnosis of ALS; gene function

1 ALS

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是致命性神经退行性疾病,年发病率约为0.002%^[1],男性患者多于女性。90%以上的ALS患者无家族病史,被称为散发性肌萎缩侧索硬化症(sporadic ALS, SALS)。家族遗传性肌萎缩侧索硬化症(familial ALS, FALS)则为同一家族中有两个以上ALS病人^[2]。SALS和FALS在临床表现和病理特征上都无明显差异,它们表现出相似的临床进程和运动神经元的功能损失^[3]。绝大多数ALS患者于中年发病,FALS发病往往早于SALS,也有少部分患者于青年发病。患者最初表现为肌束震颤和吞咽及讲话困难,随着病程快速发展,上下运动神经元不可逆的程序性凋亡导致全身肌肉萎缩,患者运动能力逐渐丧失,最终死于呼吸系统衰竭导致的窒息。相当比例的ALS患者会出现认知功能障碍,而少数患者则会出现明显的痴呆症状,有20%的患者符合额颞叶痴呆(frontotemporal dementia, FTD)的临床特征^[4]。此外,约有30%的FTD患者表现出运动系统功能障碍的迹象,在FALS中也存在ALS合并FTD的患者,揭示了ALS和FTD之间存在相当大的重叠。最近的一些研究表明,ALS可能与氧化应激、线粒体功能障碍、自身免疫、蛋白质异常聚集、RNA加工和自噬等生理过程相关,但其具体的发病机理尚不明确。随着测序技术的发展,到目前为止,已经有30多个ALS致病基因被鉴定出来^[5]。

2 ALS致病基因

FALS通常是常染色体显性遗传,很少为常染色体隐性或伴X染色体遗传^[6]。中年发病的FALS病人多为常染色体显性遗传,而青年发病的FALS病人多为常染色体隐性遗传。绝大多数ALS是

由以下几个基因的突变引起的,分别为超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, *SOD1*)基因、反式激活反应-DNA结合蛋白43(TAR DNA-binding protein43, *TDP43*)基因和9号染色体开放阅读框72(chromosome 9 open reading frame 72, *C9orf72*)基因。自1993年发现第一个ALS致病基因*SOD1*以来,ALS的病因学和遗传学进展迅速,越来越多的ALS致病基因被相继发现,数目已经超过30个,涉及至少21个染色体上的不同区域(表1)。虽然FALS只占ALS病例的5%左右,但对致病基因的研究却十分有利于我们进一步了解运动神经元凋亡机制和ALS的发病机制。

3 ALS发病机制和致病基因

3.1 蛋白质异常聚集

像其他神经退行性疾病一样,ALS的一个重要的病理特征是蛋白质的错误定位以及在运动神经元和周围细胞细胞质中的异常聚集。蛋白质是细胞内的动态分子,经历合成、适当的折叠和组装,行使功能后及时降解。蛋白酶网络负责维持这些过程的平衡。蛋白质的聚集是一种正常的生理现象,一般情况下错误折叠的蛋白质会被及时降解,避免胞质内蛋白质形成聚集或清除已经形成的聚集物。然而,ALS患者的脊髓、海马体、小脑、额叶和颞叶等组织的病变神经元和胶质细胞中可以观察到不溶性蛋白质的聚集。这些蛋白质失去原有的构象,错误折叠,在胞质内形成不溶性蛋白聚集物。至今,已发现多种ALS致病基因突变后,神经元中会形成相应突变蛋白的聚集物,这些基因突变包括*SOD1*、*UBQLN2*和*C9orf72*等。

3.1.1 *SOD1* 1993年,首个ALS的致病基因*SOD1*被确认^[7]。*SOD1*基因全长11 Kb,共有5个外显子,编

表1 不同亚型的家族性肌萎缩侧索硬化症的致病基因及功能

Table 1 Different subtypes of FALS and their causative genotype-function correlations

ALS亚型 ALS type	遗传类型 Inheritance	基因 Gene	位置 Location	发病年龄 AAO	合并FTD FTD	蛋白功能 Protein function
ALS 1	AD, AR	<i>SOD1</i>	21q22.1	Adult>juvenile	Rare	Detoxifies O ²⁻ to H ₂ O ₂ , prevents oxidative damage, associated enzymes preventing oxidative damage: catalase, glutathione peroxidase, Zn ²⁺ maintains pH stability of dismutase reaction involved in membrane-proximity activities of small GTPases
ALS 2	AR	<i>Alsin</i>	2q33.2	Juvenile	None	Related to vesicle transport & intracellular trafficking
ALS 3	AD	UN	18q21	N/A	N/A	N/A
ALS 4	AD	<i>SETX</i>	9q34	Juvenile>adult	None	Involved in RNA maturation & termination
ALS 5	AR	<i>SPG11</i>	15q21.1	Juvenile>adult	Rare	Possibly membrane associated
ALS 6	AD, AR	<i>FUS</i>	16q11.2	Adult>juvenile	Rare	DNA & RNA metabolism, implicated in tumorigenesis & RNA metabolism, FUS deficient neurons: decreased spine arborization with abnormal morphology
ALS 7	AD	UN	20p13	N/A	N/A	N/A
ALS 8	AD	<i>VAPB</i>	20q13.3	Adult>juvenile	None	Regulates membrane delivery into dendrites
ALS 9	AD	<i>ANG</i>	14q11.2	Adult>juvenile	Yes	Promotes endothelial invasiveness needed for blood vessel formation, induces vascularization of normal and malignant tissues, ribonuclease family: abolishes protein synthesis by hydrolyzing cellular tRNAs
ALS 10	AD, AR	<i>TDP43</i>	1p36.22	Adult	Yes	Binds DNA and RNA: regulates transcription & splicing, may be involved in microRNA biogenesis, apoptosis & cell division
ALS 11	AD	<i>FIG4</i>	6q21	Adult	None	Phosphatase: dephosphorylates PtdIns(3,5)P ₂ at 5th position of inositol, required for both generation & turnover of PI(3,5)P ₂
ALS 12	AD, AR	<i>OPTN</i>	10p13	Adult	Yes	Binds to ubiquitinated receptor-interacting protein, negatively regulates TNF- α induced activation of NF- κ B
ALS 13	AD	<i>ATXN2</i>	12q24	Adult>juvenile	None	Ataxin2 with expanded glutamine repeat: disrupts (disperses) Golgi apparatus & induces cell death without nuclear aggregates
ALS 14	AD	<i>VCP</i>	9p13	Adult>juvenile	Yes	Protein degradation pathways (Autophagy): regulatory role, cell cycle & membrane fusion
ALS 15	XD	<i>UBQLN2</i>	Xp11.21	Adult>juvenile	Yes	Ubiquitin-like protein family: bind to subunits of proteasome, interacts with: TDP43
ALS 16	AD	<i>SIGMAR1</i>	9p13.3	Juvenile	Rare	Ion channel modulation: through interaction with K ⁺ channels & inositol 1,3,5-triphosphate receptors (IP3Rs), lipid transport, neuronal cell differentiation, ER stress response, regulates: axon elongation, tau phosphorylation
ALS 17	AD	<i>CHMP2B</i>	3p12.1	Adult	Yes	Component of vesicle sorting complex (ESCRTIII)
ALS 18	AD	<i>PFN1</i>	17p13.2	Adult	None	Converts monomeric G-actin to filamentous F-actin, axonal integrity & axonal transport
ALS 19	AD	<i>ERBB4</i>	2q33.3-q34	Adult	None	Binds & activated by neuregulins, NRG2, NRG3, HBEGF, Cellulin & NTAK; forms homodimer or heterodimer with ErbB2 or ErbB3; activated on binding of neuregulins (NRGs) to the extracellular ligand-binding domain of ErbB4
ALS 20	AD	<i>hnRNPA1</i>	12q13.1	Adult	Yes	Packing & transport of mRNA, micRNA biogenesis, essential for assembly of ribonucleoprotein granules, tends to assemble into self-seeding fibrils: exacerbated by disease mutations, recruited to stress granules
ALS 21	AD	<i>MATR3</i>	5q31.3	Adult	Yes	Contains RNA-DNA binding motif, interacts with: TDP43
ALS 22	AD	<i>TUBA4A</i>	2q35	Adult	Yes	Component of microtubules
FTDALS 1	AD	<i>C9orf72</i>	9p21.2	Adult	Yes	Rab GTPase binding, contributes to Rab guanyl-nucleotide exchange factor activity, protein binding
FTDALS 2	AD	<i>CHCHD10</i>	22q11	Adult	Yes	Maintain the shape and function of mitochondria
FTDALS 3	AD	<i>SQSTM1</i>	5q35	Adult	Yes	Mediates protein-protein interactions by binding to phosphotyrosine, part of dynactin complex: associated with retrograde axonal transport, ubiquitin binding protein
FTDALS 4	AD	<i>TBK1</i>	12q14	Adult	Yes	IKK-kinase family, autophagy: efficient cargo recruitment in autophagy & degradation of protein aggregates, colocalizes with OPTN & SQSTM1 in autophagosomes, NF- κ B pathway

码含有153个氨基酸的蛋白质,此蛋白是一种具有清除自由基和抗氧化作用的酶。大约20%的FALS和1%的SALS与*SOD1*基因的突变有关。目前已发现近200个*SOD1*基因的突变类型与ALS相关,这些突变遍布其所有外显子^[8],其中大多为单碱基错义突变,也存在少数小片段插入或缺失^[9]。*SOD1*基因各种突变类型的分布呈现地域差异性,北美、英国和日本最常见的突变类型分别为A4V、I113T和H46R,而P90A则在世界范围内广泛存在。不同突变类型的ALS患者在临床特征、病程长度和发病年龄等方面有所差异,但总的来说,*SOD1*基因突变的ALS患者病程进展均表现十分迅速。基因突变改变了*SOD1*蛋白的构型,大量高毒性氢氧自由基积累导致了线粒体障碍^[10]、RNA代谢紊乱和DNA损伤^[11]。目前,普遍认为突变*SOD1*蛋白的神经毒性是由于其异常聚集在线粒体等细胞器表面并与之结合,影响细胞器功能,或是突变蛋白异常积聚物而产生的。

3.1.2 UBQLN2 2011年,Deng等^[12]在一个FALS家族中发现,泛素样蛋白2(ubiquilin 2,*UBQLN2*)基因是ALS的一个致病基因。*UBQLN2*基因定位于Xp11.21,编码产生的蛋白是泛素样蛋白家族中的一员。*UBQLN2*蛋白N-末端有一个泛素样结构域可与蛋白酶体亚单位结合,C-末端泛素相关结构域可以以共价键的形式结合蛋白质并通过蛋白酶体途径将蛋白质降解。除此之外,*UBQLN2*蛋白还有4个热休克蛋白结合结构域和1个富含脯氨酸的PXX重复结构域。与ALS相关的突变遍布其整个DNA序列,但以PXX重复结构域附近居多,所以此结构域可能在发病机制中有重要作用。研究发现,*UBQLN2*基因突变引起的ALS患者脊髓神经元中存在蛋白质异常聚集形成的聚集物,说明*UBQLN2*基因突变影响了泛素-蛋白酶体功能和错误折叠的蛋白的自噬。这提示,*UBQLN2*基因突变致使蛋白质代谢异常形成胞内不溶性聚集物,导致神经元凋亡。

3.1.3 C9orf72 目前,*C9orf72*基因的突变是ALS最主要的致病因素,近几年也逐渐成为研究热点。该基因表达的蛋白*C9orf72*主要和细胞自噬、内体运输和免疫功能等相关。据统计,大约34.2%的ALS患者携带有该基因的突变^[13]。大量的临床调查发现,大约700到1 600个重复的GGGGCC重复序列插入到患者的*C9orf72*基因的内含子中^[14],而该内含子位于

*C9orf72*基因的两个不翻译的可选外显子1a和1b之间。在RNA转录时,如果选择外显子1a,该序列会位于前体RNA的内含子中;如果选择外显子1b,那该段序列会位于启动子区域^[15]。综上,由于该重复片段插入的是*C9orf72*蛋白的非编码区,所以*C9orf72*蛋白并没有发生氨基酸序列上的改变。而GGGGCC重复片段插入到*C9orf72*基因的内含子后,不仅会影响原本*C9orf72*蛋白的表达量,而且还会产生出具有毒性的重复序列的RNA和蛋白。由此,可以简单地将*C9orf72*基因突变的致病原因分为以下3类:RNA翻译后二肽重复毒蛋白产物在胞质内聚集、*C9orf72*蛋白表达量下降或缺失以及GGGGCC长重复的有毒的RNA转录本。另外,*C9orf72*基因的突变同样是FTD最主要的致病基因,同时临床上也发现许多携带该基因型的患者都出现FTD与ALS联合发病的情况,也有研究发现,该基因突变与亨廷顿舞蹈症、阿尔兹海默症等其他神经退行性疾病有关^[16-17]。

3.2 DNA和RNA代谢

ALS致病基因*TDP43*和*FUS*的相继发现为ALS致病机理研究提供了新的思路。研究发现,*TDP43*和*FUS*两种蛋白都可以结合DNA和RNA,并且参与DNA的损伤修复及RNA的转录、运输、剪接和加工等过程。患者神经元胞质内的*TDP43*和*FUS*蛋白的包涵体提示我们,ALS中可能存在DNA损伤修复和RNA的代谢障碍。除了*TDP43*和*FUS*之外,其他一些ALS致病基因的功能也与RNA代谢等过程相关。

3.2.1 SETX *SETX*(senataxin)基因突变引起一种极其罕见的青年型ALS,呈常染色体显性遗传^[18]。*SETX*基因定位于9q34,全长124 Kb,含有33个外显子。此基因得名于编码的蛋白与真菌的Sen1p蛋白同源,目前共发现大约10种与ALS相关的突变,全部为单碱基错义突变。*SETX*蛋白是一种具有DNA修复和RNA产生功能的解旋酶,在细胞内广泛表达,它在RNA的转运和代谢中起调节作用。*SETX*蛋白突变后可能导致损伤的DNA不能正常修复或RNA转运和翻译异常,进而引起运动神经元凋亡。

3.2.2 FUS 肉瘤融合蛋白(fused in sarcoma,*FUS*)基因的突变导致的FALS是常染色体显性遗传型ALS,患者通常中年发病,目前是第二常见的ALS类型,约占FALS的5%和SALS的1%。*FUS*基因定位于16p11.2,共有15个外显子,目前已发现60多种ALS相

关突变,其中大多数集中在对蛋白C-端进行编辑的15号外显子。携带*FUS*基因突变的ALS患者表现出典型的ALS表型,但这些ALS病例的临床病程是多样的,甚至在携带相同突变类型的患者中也是如此。*FUS*蛋白是一种丰富表达的核蛋白,它与许多细胞内生化过程有关,包括基因表达的调控、基因组完整性的维护、mRNA/microRNA的处理和对Ca²⁺信号的应答。另外,*FUS*蛋白可以与许多异构核糖核蛋白(heterogeneous ribonuclear protein, hnRNP)结合形成稳定的复合物,并且可以结合RNA、单链DNA和双链DNA,参与RNA的拼接和DNA的修复。大量的动物实验表明,*FUS*基因缺失或发生与ALS相关的突变后,会导致运动神经元缺失^[19]、神经肌肉接头处突触传递减少^[20]、压力颗粒(stress granule)的形成^[21]和线粒体等细胞器的损伤^[22]。对*FUS*蛋白功能及其突变的动物模型研究结果提示我们:*FUS*基因突变可能是通过影响DNA损伤修复和RNA拼接来诱导运动神经元凋亡。

3.2.3 ANG 血管生成素(angiotensin, *ANG*)基因突变引发中年型常染色体显性ALS^[23]。*ANG*基因定位于14q11.2,含有3个外显子,由该基因编码的蛋白质是新血管形成的一种非常有力的调节因子。已经在ALS患者中发现了近30种*ANG*基因的突变,但是这些突变并不能完全与ALS联系起来,其中一些突变也在健康人中存在^[24]。*ANG*蛋白不仅可以诱导血管生成,它还具有核酸酶的活性,可以水解细胞内的tRNA,导致蛋白质合成减少。*ANG*蛋白的这种核酸酶活性对其蛋白功能有十分重要的意义。研究发现,降低核酸酶活性的突变的*ANG*蛋白,其促进血管生成的能力也大大减弱。*ANG*蛋白在神经细胞中大量表达,可以保护神经元免受侵害,包括兴奋性中毒、缺氧和内质网应激^[25]。鉴于*ANG*蛋白对神经元有十分重要的保护作用,其突变会对神经元产生极其严重的危害。

3.2.4 TDP43 *TDP43*基因突变引起的FALS多为常染色体显性遗传,也存在少数常染色体隐性遗传,患者中年发病。*TDP43*基因位于1p36.22,其6个外显子参与编码*TDP43*蛋白。*TDP43*基因的突变约占FALS的4%和SALS的1%,目前已发现近50种与ALS相关突变,这些突变大多集中在由6号外显子编码的蛋白C-端。尽管这些致病突变在世界范围内广泛分布,但其中一些突变依然存在区域聚集性。*TDP43*

蛋白主要定位在细胞核内,少量在细胞质内表达,可在核质中来回穿梭。它有两个高度保守的RNA识别结构域:RRM1和RRM2。这两个结构域可以介导*TDP43*蛋白与RNA和单链DNA结合,参与RNA的剪切拼接和其他RNA相关生化过程,从而在基因调控和表达中起重要作用^[26]。在ALS病程中,突变的*TDP43*蛋白会发生截断、磷酸化、泛素化和形成低聚物,并且出现核外的异常分布。突变的*TDP43*蛋白会在胞质中形成具有神经毒性的不溶性聚集物^[27]。这种*TDP43*蛋白的异常聚集并不是ALS独有的,在一些其他的神经退行性疾病中同样存在,例如FTD。最近有研究发现,*TDP43*基因突变后,其细胞定位改变,导致核内*TDP43*蛋白减少。并且突变后蛋白的功能受到影响,引起RNA剪切拼接错误^[28]。*TDP43*基因突变后,许多细胞生存所必需的蛋白错误表达,可能导致神经元凋亡。

3.2.5 hnRNPA1 异构核糖核蛋白A1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, *hnRNPA1*)基因突变可引发常染色体显性遗传的中年型ALS^[29]。*hnRNPA1*基因定位于12q13.1,含有13个外显子。此基因编码的蛋白是一种广泛表达的异构核糖核蛋白,是一种RNA结合蛋白,它与核内的前体mRNA相结合,影响mRNA的加工、代谢和运输等过程。此蛋白是hnRNP复合物中最丰富的核心蛋白之一,在选择性拼接的调控中起着关键作用。*hnRNPA1*基因与ALS间的联系仍然存在争议。

3.2.6 MATR3 基质蛋白3(matrin 3, *MATR3*)基因突变引发中年型常染色体显性遗传ALS^[30]。*MATR3*基因定位于5q31.2,编码了一种与DNA和RNA相互作用的核基质蛋白,这种蛋白质是用来稳定某些mRNA的。在先前的报道中,*MATR3*基因的突变与远端非对称肌病和声带麻痹有关。最近,*MATR3*基因的突变被发现在一个欧洲大型的家族中出现。对更多的ALS病例进行测序发现,在撒丁尼亚王国、英国、中国、意大利和法裔加拿大ALS患者中也发现了此基因的突变,但疾病的进程和发病部位在突变携带者中似乎有所不同。

3.3 自噬-溶酶体功能紊乱

自噬是细胞内重要的清除机制,而溶酶体是负责行使这一功能的主要细胞器。自噬过程中不同的自噬受体可以识别特异性底物,这种选择性降解机制为细胞提供了一种蛋白质质量控制手段并且可以

维持细胞内稳态水平。许多研究表明,自噬-溶酶体功能紊乱与神经退行性疾病相关,自噬受体OPTN和P62蛋白的突变在许多FALS中被发现,并且其他一些ALS致病基因也在自噬过程中起到重要作用。

3.3.1 *Alsin* *Alsin*基因突变引发青年型ALS,此基因全长83 Kb,含有34个外显子,编码由1 657个氨基酸组成的Alsin蛋白。*Alsin*基因突变在ALS患者中极少见,至今只发现了10种突变类型,其中8种为小片段缺失,1种无义突变和1种剪接突变。生物信息和结构分析显示,该蛋白含有3个鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF),可以特异性结合并激活小分子GTP酶RAB5,从而参与内体、自噬体的融合和运输^[31]。有文献报道,Alsin蛋白具有神经保护作用,例如抑制*SOD1*基因突变产生的神经毒性^[32]。近期另有文献报道,Alsin蛋白的缺失会影响小鼠的皮质脊和髓运动神经元的自噬^[33]。因此,Alsin蛋白可能通过调节自噬体的成熟和运输从而起到重要的神经保护作用。

3.3.2 *SPG11* *SPG11*基因突变引发一种最为常见的常染色体隐性遗传ALS,患者青年发病且病程发展缓慢,该基因也是痉挛性截瘫的致病基因。*SPG11*基因位于15号染色体,共41个外显子,编码1种潜在的跨膜蛋白质spatacsin,可以在DNA受损时被磷酸化。目前发现的ALS相关突变共12种,其中7种为单碱基错义突变^[34]。Branchu等^[35]以spatacsin蛋白敲除的小鼠为模型研究发现,其腰椎灰质中大量运动神经元发生凋亡,并且观察到神经肌肉接头明显损伤。研究发现,spatacsin蛋白缺失扰乱细胞器的清除导致溶酶体内脂质的积累,证明spatacsin蛋白在脂质代谢中起到十分重要的作用。他们的研究将溶酶体功能紊乱和脂质代谢障碍与ALS联系在一起,为ALS的病因研究提供了新的方向。

3.3.3 *VCP* 缬络胺酸蛋白(valosin-containing protein, *VCP*)基因突变引起常染色体显性遗传FALS,患者多于中年发病,少数于青年发病。*VCP*基因的许多突变已经被证明导致了多系统的蛋白病变相关疾病,包括FTD、包涵体肌病和佩吉特骨病。2010年,对神经退行性疾病患者的全外显子测序揭示了*VCP*基因突变占FALS的1%~2%^[36]。*VCP*基因定位于9p13.3,含有17个外显子。其编码产生的VCP蛋白是一种ATP酶,它与许多细胞功能相关,包括泛素蛋白酶系统、线粒体膜蛋白降解和自噬。VCP蛋

白在泛素信号的下游作用,利用ATP水解的能量从细胞结构或多蛋白复合物中提取其底物蛋白。有文献报道,*VCP*基因突变的神经元中线粒体内ADP可用率降低,导致线粒体解偶联和ATP产率降低^[37]。

3.3.4 *SQSTM1* *SQSTM1*基因定位于5q35.3,含有13个外显子,编码产生的P62蛋白是神经退行性病变中极其重要的病理蛋白。该基因突变可引起佩吉特骨病和FTDALS^[38]。P62调节泛素的结合并激活NF kappa-B信号通路。P62是一种及其重要的自噬受体,它通过与LC3/ATG8结合,将蛋白质聚集和自噬之间连接起来。*SQSTM1*基因关于ALS突变的类型为错义突变和碱基的缺失,但发病率很低。

3.3.5 *TBK1* *TBK1*基因定位于12q14.2,含有24个外显子,其编码产生的蛋白是一种丝氨酸磷酸激酶。TBK1蛋白可以磷酸化多种蛋白底物,包括OPTN和干扰素调节因子3。TBK1蛋白在多个细胞信号通路中扮演重要的角色,例如自噬、抗病毒和抗菌天然免疫。它能调节炎症介质的表达,如白介素-6、肿瘤坏死因子- α 和干扰素-b。在TBK1蛋白磷酸化的底物中,OPTN和P62与ALS有关。2015年,*TBK1*基因被鉴定为ALS的致病基因之一^[39],由于TBK1蛋白结合和磷酸化OPTN和P62,从而增强了自噬和炎症反应,因此,对*TBK1*作为ALS基因的鉴定也凸显了OPTN、P62与自噬和神经炎症反应在ALS发病机制中的作用。

3.4 内质网应激和囊泡运输障碍

囊泡运输是细胞内十分重要的生理活动,负责细胞内所有膜性细胞器间的物质传递。内质网是众多膜性细胞器中十分重要的一个。囊泡运输在各种细胞中普遍存在,囊泡运输障碍会导致多种细胞器缺陷和细胞功能紊乱。在神经元中,囊泡运输还负责神经递质的运输和释放,这对神经元的正常生理活动有重要意义。许多ALS致病基因突变会引起内质网应激或囊泡运输功能障碍,例如*VAPB*、*SIGMAR1*和*CHMP2B*等。

3.4.1 *VAPB* 突触相关膜蛋白(synaptobrevin-associated membrane protein B, *VAPB*)基因定位于20q13.32,含有7个外显子,编码产生由243个氨基酸组成的蛋白。目前共发现了6种ALS相关突变,绝大多数为点突变。2016年,Li等^[40]发现,*VAPB*基因突变引起的ALS在中国患者中同样存在,但是十分稀少。*VAPB*蛋白结构高度保守并且广泛表达。之前

的研究已经发现, VAPB作为一个膜蛋白可以定位在内质网和高尔基体等细胞器膜上, 它能促进内质网中蛋白质的折叠和降解, 并与微管相联系参与囊泡的运输^[41]。VAPB基因突变会导致运输中间产物以胞质膜聚合物的形式聚集, 影响细胞中膜的运输和分泌, 这可能会导致细胞外营养信号的丧失, 或破坏细胞间信号传递的过程, 最终导致运动神经元的凋亡。

3.4.2 FIG4 FIG4最初被报道为4J型腓骨肌萎缩疾病(Charcot-Marie-Tooth disease type 4J, CMT4J)的致病基因, 2009年, Chow等^[42]发现, FIG4基因突变也可以引起FALS。FIG4基因定位于6q21, 含有25个外显子, 与ALS相关的突变遍及各外显子, 并未集中在某一特定区域。FIG4蛋白是一种磷酸肌肽5-磷酸酶, 可以调节细胞内PI(3,5)P2的代谢。PI(3,5)P2是细胞内的一种信号脂质, 定位在晚期内体小泡的膜上, 它在晚期内体回收至反式高尔基体网络的过程中起调节作用^[43]且与自噬相关^[44]。另外, 在动物模型中发现, 缺失了FIG4蛋白的小鼠的感觉和自主神经中枢、运动皮层、纹状体以及中枢神经系统的其他区域中大量神经元退化, 并且神经元的胞体出现大量空泡^[45], 影响神经元的功能。

3.4.3 OPTN 视神经蛋白(optineurin, OPTN)基因位于10q13, 全长38.216 Kb, 包含16个外显子, 5'端非翻译区(untranslated region, UTR)的3个外显子不参与翻译蛋白, 其余13个外显子最终翻译成含有577个氨基酸、大小为66 kDa的成熟OPTN蛋白。OPTN基因的突变最早在原发性开角型青光眼(primary open angle Glaucoma, POAG)中被发现, 并被命名为视神经蛋白基因。2010年, Maruyama等^[46]对日本的一个ALS家族的基因序列分析发现, OPTN基因的突变可以导致FALS。目前已发现约30种ALS相关突变, 这些突变大多呈常染色体显性遗传。OPTN蛋白涉及细胞内的多种生化过程, 包括线粒体自噬、囊泡运输和自噬等。OPTN蛋白是线粒体自噬受体中最重要的一个, 但当其发生ALS相关突变后将失去这一功能, 扰乱线粒体自噬过程^[47]。OPTN蛋白可以通过与RAB8、亨廷顿蛋白和肌球蛋白6相互作用来参与囊泡运输并维持高尔基体的正常形态^[48]。另外, OPTN蛋白突变后会在细胞质内聚集成不溶性聚集物。目前, OPTN基因突变导致神经元凋亡的机制并不明确, 但很可能与其扰乱囊泡运输有关。

3.4.4 SIGMAR1 SIGMAR1基因突变只占ALS患者中极小的一部分^[49]。SIGMAR1基因定位于9p13.3, 编码产物为 σ -1受体。 σ -1受体早期被认为是一种阿片受体的亚型并以此命名, 现在被证明为非阿片受体。 σ -1受体作为一种分子伴侣存在于线粒体结合内质网膜(MAM)上, 通过调节内质网上的三磷酸肌醇受体(triphosphine receptor, IP3R)的稳定性来调节内质网到线粒体的 Ca^{2+} 流动。不仅如此, σ -1受体还存在于细胞膜上, 通过调节内质网的ROS水平以增加Rac-GTP来控制神经元的树突分支^[50]。 σ -1受体及其配体在 Ca^{2+} 信号转导过程中的作用机制已经被部分阐明, 但是 σ -1受体的突变如何导致家族性ALS这一致病机理尚不清楚。目前有关 σ -1受体及其配体在内质网应激和细胞凋亡过程中发挥作用的报道日渐增多, 但是具体作用及其机理仍不清楚。

3.4.5 CHMP2B 带电荷的多囊泡体蛋白2B(charged multivesicular body protein 2B, CHMP2B)基因的多种突变都与神经退行性疾病相关。CHMP2B基因定位于3p12.1, 含有7个外显子, 编码产生的蛋白是3型运输途径所需的胞内体分选复合物(endosomal sorting complex required for transport III, ESCRT-III complex)的组分, 此复合物在细胞表面受体的循环和降解中起作用, 并负责调节自噬过程和内体-溶酶体途径中膜的形成。CHMP2B蛋白突变会影响细胞内囊泡的形成, 扰乱细胞内多种生理过程。有研究发现, 神经细胞中CHMP2B蛋白突变会导致树突数目减少、突触传导信号减弱和神经棘数目改变^[51]。

3.5 线粒体功能障碍

线粒体是细胞内的ATP工厂, 直接为细胞内各种生理活动提供能量。除此之外, 线粒体还参与信息传递、细胞分化和细胞凋亡等多种重要细胞活动。近期, 越来越多的研究发现, 在神经退行性疾病中存在线粒体功能障碍^[52-53], 一些与线粒体结构和功能相关的基因也被证实是ALS的致病基因。

2014年, Sylvie等^[54]在患有线粒体相关疾病的家族中观察到了FTDALS的临床特征, 基因测序发现这些患者都携带CHCHD10基因的突变。该基因可引起线粒体DNA断裂综合征和FTDALS。CHCHD10蛋白属于一个位于膜间空间的线粒体蛋白家族, 这个蛋白家族中一些成员与OPA1蛋白有相互作用, 并参与了线粒体嵴完整性的维持和线粒体融合过程。

3.6 其他ALS致病基因

3.6.1 ATXN2 *ATXN2*基因突变引发常染色体显性遗传FALS,患者多于中年发病,少数于青年发病。*ATXN2*蛋白广泛表达,定位于内质网和高尔基体,并在许多生化过程中扮演重要角色,包括mRNA的成熟、翻译和胞吞。*ATXN2*基因敲除小鼠成年后出现肥胖,表明*ATXN2*蛋白也可能在能量代谢中起作用。最近的研究表明,*ATXN2*是一种RNA结合蛋白,突变的*ATXN2*蛋白与TDP43蛋白之间的RNA依赖相互作用可能与ALS发病机理有关^[55]。另外,该蛋白质的N-末端区域含有一段14~31个重复的谷氨酰胺的重复序列,致病性状态下这种重复可扩增至32~200。目前已经发现许多神经相关疾病与这种重复序列相关,包括亨廷顿疾病、脊髓小脑共济失调和强直性肌营养不良等。在ALS患者中,谷氨酰胺的重复为29~33,并且随着重复的增加,患病风险呈指数上升^[56]。

3.6.2 PFN1 抑制蛋白1(profilin 1, *PFN1*)基因突变引发常染色体显性遗传的中年型ALS^[57]。*PFN1*基因定位于17p13.2,含有3个外显子,编码产生的蛋白在对细胞外信号的反应中通过调节肌动蛋白的聚合在肌动蛋白动力学中起着重要的作用。但是*PFN1*蛋白调节肌动蛋白聚合的机制尚不明确。*PFN1*蛋白还参与许多其他的细胞活动,包括肌动蛋白动力学、膜结构的运输、神经元突触结构和活动等^[58]。

3.6.3 ERBB4 *ERBB4*基因定位于2q33.3-q34,含有31个外显子。该基因是酪氨酸蛋白激酶家族的成员,也是表皮生长因子受体亚科的成员。它有多个半胱氨酸丰富的结构域、一个跨膜结构域、一个酪氨酸激酶结构域、一个磷脂酰肌醇-3激酶结合位点和一个PDZ结构域结合模块。*ERBB4*蛋白与其他蛋白结合并被神经调节蛋白和其他因素激活并诱发多种细胞反应,包括有丝分裂和分化。最近,*ERBB4*基因被鉴定为FALS19的致病基因^[59],它的特点是典型的、缓慢的渐进性却无明显的认知功能障碍,但是*ERBB4*基因的突变在ALS患者中极少存在。

3.6.4 TUBA4A α 微管蛋白4A(tubulin alpha 4a, *TUBA4A*)基因突变引发中年型常染色体显性遗传FALS,发病率极低,目前只发现12个患者。*TUBA4A*基因定位于2q35,含有5个外显子。2014年,*TUBA4A*被鉴定为FALS的致病基因之一,现已发现11种突变

类型,全部为单碱基错义突变^[60]。

其他几个基因的突变被报道为罕见的ALS或类似ALS综合征的症状。*DCTN1*基因的突变目前只在一个ALS家族中存在^[61]。*DCTN1*编码的蛋白是动力蛋白激活蛋白的一个亚基。动力蛋白激活蛋白与微管和胞质动力蛋白结合,参与了多种多样的细胞功能,包括内质网-高尔基体的转运、溶酶体和内体的向心运动、纺锤体的形成、染色体的运动、核定位和轴突的生成。*TAF15*也是ALS的致病基因之一^[62],*TAF15*蛋白是FUS的同系物,是一种DNA和RNA结合蛋白。*TAF15*基因敲除或突变会影响许多基因的表达,从而影响细胞的生长,甚至导致细胞凋亡。*PRPH*基因编码了一种细胞骨架蛋白,这种蛋白在外围神经系统运动神经元和其他神经细胞中表达^[63]。该蛋白是一种第三种中间丝蛋白,与其他细胞骨架蛋白同源。另外,还有一些基因的突变也被报道与ALS相关,例如,*NEFH*、*TIA1*、*CCNF*、*GRN*、*hnRNP42B*和*EWSR1*等。这些基因的突变在ALS患者中发生频率极低,甚至有些基因作为ALS致病基因的证据还不能让人信服。

4 结语与展望

自从24年前发现第一个ALS致病基因以来,在ALS致病基因方面的研究取得了很大进展,目前已经有30多个基因的突变被确认与ALS相关,这篇综述中我们对这些基因的功能做了细致的总结(表1)。我们可以清楚地观察到,大多数FALS呈显性遗传,包括ALS1、ALS3、ALS4等,只有少数FALS呈隐性突变,如ALS2、ALS5、ALS12等。另外,从致病基因在染色体的定位来看,只有ALS15的致病基因*UBQLN2*定位在X染色体,其余ALS致病基因都定位于常染色体。对于疾病的研究,我们更关心的是其致病机制,从致病基因的功能研究我们推测,ALS的致病机制可能与几种生化过程相关(图1)。

尽管许多ALS的致病基因已经被发现,但仍然有约30%的FALS和90%的SALS患者不携带上述任何基因的突变。所以,还有很多ALS的致病基因等待着我们去发掘和研究。ALS的致病机理已然成为当今的一个热点,毫无疑问,基因组学将继续推动这个研究领域向前发展。对于越来越大的基因数据集的分析将会提高我们对神经退化的理解。尽管外显基因测序正在流行,但随着成本持续下降,全基因组

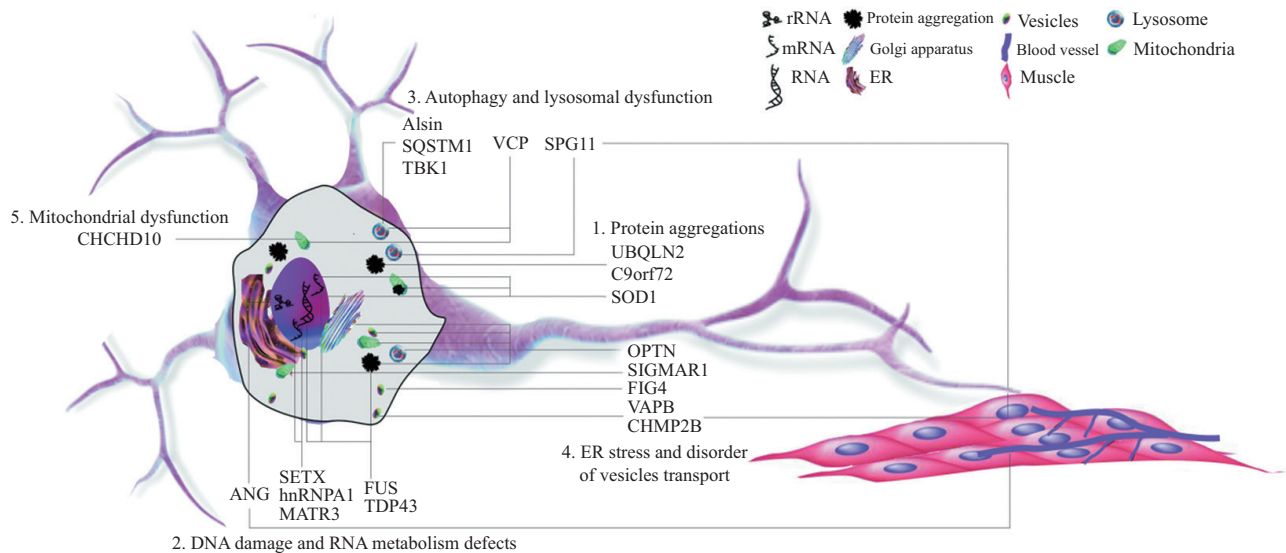


图1 ALS相关蛋白及发病机制

Fig.1 ALS related protein and pathogenesis

测序将会成为被更加广泛应用的手段。基因组测序将为ALS的遗传结构提供更深入的见解。

参考文献 (References)

- Hardiman O, van den Berg LH, Kiernan MC. Clinical diagnosis and management of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2011; 7(11): 639-49.
- Zarei S, Carr K, Reiley L, Diaz K, Guerra O, Altamirano PF, *et al.* A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int* 2015; 6: 171.
- D'Amico E, Factor-Litvak P, Santella RM, Mitsumoto H. Clinical perspective on oxidative stress in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 509-27.
- Ringholz GM, Appel SH, Bradshaw M, Cooke NA, Mosnik DM, Schulz PE. Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology* 2005; 65(4): 586-90.
- Li HF, Wu ZY. Genotype-phenotype correlations of amyotrophic lateral sclerosis. *Transl Neurodegener* 2016; 5: 3.
- Renton AE, Chiò A, Traynor BJ. State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci* 2014; 17(1): 17-23.
- Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, Cayabyab A, Hung WY, *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu, Zn superoxide dismutase. *Science* 1993; 261(5124): 1047-51.
- Tortelli R, Conforti FL, Cortese R, D'Errico E, Distaso E, Mazzei R, *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis: a new missense mutation in the SOD1 gene. *Neurobiol Aging* 2013; 34(6):1709.e3-5.
- Andersen PM, Al-Chalabi A. Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? *Nat Rev Neurol* 2011; 7(11): 603-15.
- Israelson A, Arbel N, Da Cruz S, Ilieva H, Yamanaka K, Shoshan-Barmatz V, *et al.* Misfolded mutant SOD1 directly inhibits VDAC1 conductance in a mouse model of inherited ALS. *Neuron* 2010; 67(4): 575-87.
- Penndorf D, Tadić V, Witte OW, Grosskreutz J, Kretz A. DNA strand breaks and TDP-43 mislocation are absent in murine hSOD1G93A model of amyotrophic lateral sclerosis *in vivo* and *in vitro*. *PLoS One* 2017; 12(8): e0183684.
- Deng HX, Chen W, Hong ST, Boycott KM, Gorrie GH, Siddique N, *et al.* Mutations in UBQLN2 cause dominant X-linked juvenile and adult-onset ALS and ALS/dementia. *Nature* 2011; 477(7363): 211-5.
- Van Blitterswijk M, DeJesus-Hernandez M, Rademakers R. How do C9ORF72 repeat expansions cause amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: can we learn from other noncoding repeat expansion disorders? *Curr Opin Neurol* 2012; 25(6): 689-700.
- Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, *et al.* A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011; 72(2): 257-68.
- DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, *et al.* Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 2011; 72(2): 245-56.
- Kohli MA, John-Williams K, Rajbhandary R, Naj A, Whitehead P, Hamilton K, *et al.* Repeat expansions in the C9ORF72 gene contribute to Alzheimer's disease in *Caucasians*. *Neurobiol Aging* 2013; 34(5): 1519.e5-12.
- Koutsis G, Karadima G, Kartanou C, Kladi A, Panas M. C9ORF72 hexanucleotide repeat expansions are a frequent cause of Huntington disease phenocopies in the Greek population. *Neurobiol Aging* 2015; 36(1): 547.e13-6.
- Chen YZ, Bennett CL, Huynh HM, Blair IP, Puls I, Irobi J, *et al.* DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). *Am J Hum Genet* 2004; 74(6): 1128-35.
- Sharma A, Lyashchenko AK, Lu L, Nasrabady SE, Elmaleh M, Mendelsohn M, *et al.* ALS-associated mutant FUS induces selective motor neuron degeneration through toxic gain of function. *Nat Commun* 2016; 7: 10465.

- 20 Armstrong GA, Drapeau P. Loss and gain of FUS function impair neuromuscular synaptic transmission in a genetic model of ALS. *Hum Mol Genet* 2013; 22(21): 4282-92.
- 21 Shahidullah M, Le Marchand SJ, Fei H, Zhang J, Pandey UB, Dalva MB, *et al.* Defects in synapse structure and function precede motor neuron degeneration in *Drosophila* models of FUS-related ALS. *J Neurosci* 2013; 33(50): 19590-8.
- 22 Huang C, Tong J, Bi F, Wu Q, Huang B, Zhou H, *et al.* Entorhinal cortical neurons are the primary targets of FUS mislocalization and ubiquitin aggregation in FUS transgenic rats. *Hum Mol Genet* 2012; 21(21): 4602-14.
- 23 Greenway MJ, Andersen PM, Russ C, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, *et al.* ANG mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 2006; 38(4): 411-3.
- 24 Pan LS, Deng XB, Wang Z, Leng HL, Zhu XP, Ding D. Lack of association between the Angiogenin (ANG) rs11701 polymorphism and amyotrophic lateral sclerosis risk: a meta-analysis. *Neurol Sci* 2016; 37(5): 655-62.
- 25 Kieran D, Sebastia J, Greenway MJ, King MA, Connaughton D, Concannon CG, *et al.* Control of motoneuron survival by angiogenin. *J Neurosci* 2008; 28(52): 14056-61.
- 26 Yang C, Wang H, Qiao T, Yang B, Aliaga L, Qiu L, *et al.* Partial loss of TDP-43 function causes phenotypes of amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(12): e1121-9.
- 27 Ling SC, Polymenidou M, Cleveland DW. Converging Mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and Protein Homeostasis. *Neuron* 2013; 79(3): 416-38.
- 28 Tan Q, Yalamanchili HK, Park J, De Maio A, Lu HC, Wan YW, *et al.* Extensive cryptic splicing upon loss of RBM17 and TDP43 in neurodegeneration models. *Hum Mol Genet* 2016; 25(23): 5083-93.
- 29 Kim HJ, Kim NC, Wang YD, Scarborough EA, Moore J, Diaz Z, *et al.* Mutations in prion-like domains in hnRNPA2B1 and hnRNPA1 cause multisystem proteinopathy and ALS. *Nature* 2013; 495(7442): 467-73.
- 30 Johnson JO, Pioro EP, Boehringer A, Chia R, Feit H, Renton AE, *et al.* Mutations in the Matrin 3 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 2014; 17(5): 664-6.
- 31 Kunita R, Otomo A, Mizumura H, Suzuki K, Showguchi-Miyata J, Yanagisawa Y, *et al.* Homo-oligomerization of ALS2 through its unique carboxyl-terminal regions is essential for the ALS2-associated Rab5 guanine nucleotide exchange activity and its regulatory function on endosome trafficking. *J Biol Chem* 2004; 279(37): 38626-35.
- 32 Kanekura K, Hashimoto Y, Kita Y, Sasabe J, Aiso S, Nishimoto I, *et al.* A Rac1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt3 anti-apoptotic pathway, triggered by AlsinLF, the product of the ALS2 gene, antagonizes Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) mutant-induced motoneuronal cell death. *J Biol Chem* 2005; 280(6): 4532-43.
- 33 Gautam M, Jara JH, Sekerkova G, Yasvoina MV, Martina M, Ozdinler PH. Absence of alsin function leads to corticospinal motor neuron vulnerability via novel disease mechanisms. *Hum Mol Genet* 2016; 25(6): 1074-87.
- 34 Orlacchio A, Babalini C, Borreca A, Patrono C, Massa R, Basaran S, *et al.* SPATACSIN mutations cause autosomal recessive juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2010; 133(Pt 2): 591-8.
- 35 Branchu J, Boutry M, Sourd L, Depp M, Leone C, Corriger A, *et al.* Loss of spatacin function alters lysosomal lipid clearance leading to upper and lower motor neuron degeneration. *Neurobiol Dis* 2017; 102: 21-37.
- 36 Johnson JO, Mandrioli J, Benatar M, Abramzon Y, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, *et al.* Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 2010; 68(5): 857-64.
- 37 Ludtmann MHR, Arber C, Bartolome F, de Vicente M, Preza E, Carro E, *et al.* Mutations in valosin-containing protein (VCP) decrease ADP/ATP translocation across the mitochondrial membrane and impair energy metabolism in human neurons. *J Biol Chem* 2017; 292(21): 8907-17.
- 38 Fecto F, Yan J, Vemula SP, Liu E, Yang Y, Chen W, *et al.* SQSTM1 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 2011; 68(11): 1440-6.
- 39 Freischmidt A, Wieland T, Richter B, Ruf W, Schaeffer V, Müller K, *et al.* Haploinsufficiency of TBK1 causes familial ALS and fronto-temporal dementia. *Nat Neurosci* 2015; 18(5): 631-6.
- 40 Di L, Chen H, Da Y, Wang S, Shen XM. Atypical familial amyotrophic lateral sclerosis with initial symptoms of pain or tremor in a Chinese family harboring VAPB-P56S mutation. *J Neurol* 2016; 263(2): 263-8.
- 41 Prosser DC, Tran D, Gougeon PY, Verly C, Ngsee JK. FFAT rescues VAPA-mediated inhibition of ER-to-Golgi transport and VAPB-mediated ER aggregation. *J Cell Sci* 2008; 121(Pt 18): 3052-61.
- 42 Chow CY, Landers JE, Bergren SK, Sapp PC, Grant AE, Jones JM, *et al.* Deleterious variants of FIG4, a phosphoinositide phosphatase, in patients with ALS. *Am J Hum Genet* 2009; 84(1): 85-8.
- 43 Rutherford AC, Traer C, Wassmer T, Pattni K, Bujny MV, Carlton JG, *et al.* The mammalian phosphatidylinositol 3-phosphate 5-kinase (PIKfyve) regulates endosome-to-TGN retrograde transport. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 19): 3944-57.
- 44 Ferguson CJ, Lenk GM, Meisler MH. PtdIns(3,5)P2 and autophagy in mouse models of neurodegeneration. *Autophagy* 2010; 6(1): 170-1.
- 45 Chow CY, Zhang Y, Dowling JJ, Jin N, Adamska M, Shiga K, *et al.* Mutation of FIG4 causes neurodegeneration in the pale tremor mouse and patients with CMT4J. *Nature* 2007; 448(7149): 68-72.
- 46 Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, *et al.* Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2010; 465(7295): 223-6.
- 47 Wong YC, Holzbaur EL. Optineurin is an autophagy receptor for damaged mitochondria in parkin-mediated mitophagy that is disrupted by an ALS-linked mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(42): e4439-48.
- 48 Sahlender DA, Roberts RC, Arden SD, Spudich G, Taylor MJ, Luzio JP, *et al.* Optineurin links myosin VI to the Golgi complex and is involved in Golgi organization and exocytosis. *J Cell Biol* 2005; 169(2): 285-95.
- 49 Al-Saif A, Al-Mohanna F, Bohlega S. A mutation in sigma-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Ann*

- Neurol 2011; 70(6): 913-9.
- 50 Su TP, Hayashi T, Maurice T, Buch S, Ruoho AE. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol Sci* 2010; 31(12): 557-66.
- 51 Krasniak CS, Ahmad ST. The role of CHMP2B^{Intron5} in autophagy and frontotemporal dementia. *Brain Res* 2016; 1649(Pt B): 151-7.
- 52 Hang L, Thundiyil J, Lim KL. Mitochondrial dysfunction and Parkinson disease: a Parkin-AMPK alliance in neuroprotection. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1350: 37-47.
- 53 Zhu X, Perry G, Smith MA, Wang X. Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2013; 33 Suppl 1: S253-62.
- 54 Bannwarth S, Ait-El-Mkadem S, Chausseot A, Genin EC, Lacas-Gervais S, Fragaki K, *et al.* A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through CHCHD10 involvement. *Brain* 2014; 137(Pt 8): 2329-45.
- 55 Elden AC, Kim HJ, Hart MP, Chen-Plotkin AS, Johnson BS, Fang X, *et al.* Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 2010; 466(7310): 1069-75.
- 56 Sproviero W, Shatunov A, Stahl D, Shoai M, van Rheeën W, Jones AR, *et al.* ATXN2 trinucleotide repeat length correlates with risk of ALS. *Neurobiol Aging* 2017; 51: 178.e1-9.
- 57 Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, Keagle PJ, Sapp PC, Piotrowska K, *et al.* Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2012; 488(7412): 499-503.
- 58 Lim L, Kang J, Song J. ALS-causing profilin-1-mutant forms a non-native helical structure in membrane environments. *Biochim Biophys Acta* 2017; 1859(11): 2161-70.
- 59 Takahashi Y, Fukuda Y, Yoshimura J, Toyoda A, Kurppa K, Moritoyo H, *et al.* ERBB4 mutations that disrupt the neuregulin-ErbB4 pathway cause amyotrophic lateral sclerosis type 19. *Am J Hum Genet* 2013; 93(5): 900-5.
- 60 Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp S, Kenna KP, *et al.* Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS. *Neuron* 2014; 84(2): 324-31.
- 61 Liu ZJ, Li HF, Tan GH, Tao QQ, Ni W, Cheng XW, *et al.* Identify mutation in amyotrophic lateral sclerosis cases using HaloPlex target enrichment system. *Neurobiol Aging* 2014; 35(12): 2881.e11-5.
- 62 Kapeli K, Pratt GA, Vu AQ, Hutt KR, Martinez FJ, Sundararaman B, *et al.* Distinct and shared functions of ALS-associated proteins TDP-43, FUS and TAF15 revealed by multisystem analyses. *Nat Commun* 2016; 7: 12143.
- 63 McLean JR, Smith GA, Rocha EM, Osborn TM, Dib S, Hayes MA, *et al.* ALS-associated peripherin spliced transcripts form distinct protein inclusions that are neuroprotective against oxidative stress. *Exp Neurol* 2014; 261: 217-29.