

肌萎缩侧索硬化

肌萎缩侧索硬化分子生物学研究进展

徐仁仞, 朱 瑜, 王 丹

(南昌大学第一附属医院神经内科, 南昌 330006)



【摘 要】肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)的发病机制目前尚不明朗,多种遗传因素促使 ALS 中运动神经元变性,增加疾病的易感性。随着近年来分子生物学技术的快速发展,ALS 机制研究领域的主题也趋于多样化。因此,本文结合当前分子生物学领域最新成果和自身观点来阐述 ALS 可能的发病机制。

【关键词】肌萎缩侧索硬化;遗传;蛋白质聚集;内质网应激;轴浆运输;肌萎缩侧索硬化-变异型额颞叶痴呆

【中图分类号】R749.1*5

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-01-07

Molecular biology advances in amyotrophic lateral sclerosis

Xu Renxu, Zhu Yu, Wang Dan

(Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang University)

【Abstract】The pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis(ALS) remains unclear. Multiple genetic factors contribute to the degeneration of motor neurons and thus increase the susceptibility to ALS. With the rapid development of molecular biology techniques in recent years, there is an increasing diversity of research topics on ALS pathogenesis. Therefore, this article will illustrate the possible pathogenesis of ALS with reference to the latest achievements in the field of molecular biology and our own perspectives.

【Key words】amyotrophic lateral sclerosis; genetics; protein aggregation; endoplasmic reticulum stress; axoplasmic transport; amyotrophic lateral sclerosis(ALS)- frontotemporal dementia(FTD)

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种病因机制尚不明确的致死性神经退行性疾病,该病症首先由神经病学家 Jean-Martin Charcot 于 1874 年描述,其特征在于选择性进行性侵犯脑与脊髓运动神经元,临床症状兼有上、下运动神经元受累的表现,症状可从四肢或延髓肌肉的

轻微痉挛进展至几乎所有骨骼肌的麻痹。目前随着分子生物学技术的进步,已经鉴定了诸多生物学机制与 ALS 发病相关,其驱动 ALS 中运动神经元的变性,增加对疾病的易感性。因此,本文针对近年来 ALS 分子生物学研究领域较为关注的几个主题展开叙述与探讨。

作者简介:徐仁仞,神经科主任/主任医师(二级),教授,博士生导师。毕业于华中科技大学,2002 至 2004 年在德国乌尔姆大学/美国路易维尔大学获博士后学历。现任江西省神经病学学会主任委员、中国医师协会神经病学分会委员、中国老年学会神经科学分会常委、江西省帕金森病及运动障碍疾病学组组长、《中国老年学》杂志编委。完成国家自然科学基金 5 项,“十一五”国家科技支撑计划子项目 1 项,省厅级课题 10 余项,发表学术论文 300 余篇,SCI 论文 40 余篇。获得江西省卫生和计划生育委员会突出贡献中青年专家、赣鄱英才“555”工程领军人才、江西省百千万人才、江西省高等学校中青年学科带头人、江西省海外人才等荣誉称号。Email: xurenshi@ncu.edu.cn,研究方向:肌萎缩侧索硬化、帕金森病等神经变性疾病遗传学、发病机制及防治研究。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81360198)。

1 ALS 分子遗传学进展

随着过去 10 年外显子组测序和基因组测序技术的发展与盛行,ALS 基因发现的速度可谓令人眼花缭乱。自 1993 年报道第一个 ALS 致病基因 SOD1 的发现,目前已经发表了至少 50 多个潜在的 ALS 致病基因,尽管部分还有待功能验证,但已有 20~30 个相关基因明确与 ALS 的发病机制相关。主要涉及的生物学功能包括蛋白质质量控制与稳态的改变;干扰 RNA 稳定性;DNA 损伤与修复;自噬的失调;神经元轴突细胞骨架动力学改变等。

目前应用广泛的 DNA 测序技术的进步表明,已证实的 ALS 基因的遗传变异并不罕见。有明确家族史且多为常染色体显性遗传的家族性 ALS(fALS)大约仅占总发病人数的 10%,其中 4 种主要致病基因(SOD1、FUS、TARDBP 和 C9ORF72)约占 fALS 病例的 60%~80%。40 岁后发病的 fALS 患者约有 50%存在 C9ORF72 内含子六核苷酸序列 GGGGCC 重复扩

增,而 FUS 中的突变占该年龄之前出现的病例的 35%^[1]。而没有家族史的散发性 ALS(sALS)并不意味着缺乏遗传背景,sALS 突变基因与 fALS 的突变基因存在较大相似,因此也有学者提出 fALS 相关基因的研究可能有利于我们对 sALS 的理解^[2]。其他 ALS 基因的致病突变,包括 TARDBP、FUS、hn-RNPA1、SQSTM1、VCP、OPTN 和 PFN1,也已被确定在散发性肌萎缩侧索硬化症患者中,虽然很少见。本研究团队报道的一项针对中国汉族 sALS 患者的全基因组关联分析研究 (Genome-wide association study, GWAS) 得出 8 个新突变位点和 5 个已被证明的突变位点,包括 SOD1 和 C9ORF72 基因突变^[3],这提示 sALS 与 fALS 分子遗传学方面的差异或许并没有我们想象中的那么大。近年新发现且具有较大研究前景的 ALS 相关基因包括 TBK1、MATR3、CHCHD10、NEK1、KIF5A 等。在此针对以下基因分别简述。

1.1 TBK1

TBK1 (TANK binding kinase 1) 基因突变可能是自 C9ORF72 后 ALS 中最重要的遗传学发现。Cirulli 等^[4]纳入 2 869 名 ALS 患者和 6 405 名对照的 1 项全外显子组测序研究发现 ALS 患者的 TBK1 中发现了近 50 种变异,包括剪接位点、功能丧失 (LoF) 和错义突变。另一项全外显子组测序对 252 个 SOD1 和 C9orf72 突变^[5]呈阴性的 fALS 病例进行研究和连锁分析,在 13 个家族中发现了 8 种 TBK1 中的 LoF 突变;其中有 7 种 LoF 突变体的转录物或蛋白质产物明显减少,提示 LoF 突变会截断 TBK1,而 TBK1 单倍体不足可能是促使神经变性的原因^[6]。尽管目前尚不清楚 TBK1 功能的丧失是如何导致神经变性的,但鉴于 TBK1/OPTN 可能分别通过 PINK1-PARKIN 途径和线粒体自噬途径促进线粒体多泛素化来去除受损线粒体中的证据,TBK1 与自噬衔接子 OPTN、NDP52 和 p62 物理结合也加强了 ALS 与选择性自噬之间的联系^[7]。另外,TBK1 的低表达可能促进 RIPK1 的活化,产生 ALS 样病理变化,包括神经炎症、TDP43 的聚集、轴突变性等^[8]。最近在欧洲及亚洲人群的多个 ALS 和 (或) 额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia, FTD) 外显子组测序研究中不断发现新的 TBK1 突变,LoF 与错义突变是 TBK1 突变的主要类型,进一步阐述 TBK1 在 ALS/FTD 发病机制中所扮演的生物学角色将是今后研究热点。

1.2 MATR3

MATR3 (Matrin 3) 首先报道于一个 fALS 欧洲家系的外显子组测序研究,确定了 MATR3 基因中 F115C 错义突变^[9]。随后澳大利亚、加拿大和法国针对欧洲人群 ALS 队列的测序研究进一步确定了 MATR3 中的 3 个变体,包括 V394M 错义突变和 2 个剪接位点突变,台湾 1 项 200 例 ALS 病例的研究发现只有一个 MART3 突变 (A72T) 发生在延髓起病患者中^[10],而我国的针对 509 例 ALS 患者与 560 例健康对照的测序研究也仅发现 1 名 ALS 患者存在 MATR3 存在错义突变 (Ser610Phe)^[11]。总体而言,MATR3 突变可能占 ALS 的不到 1%。目前尚不清楚 ALS 相关 MATR3 突变如何引起疾病,有证据表明 TDP-43 和 MATR3 可能相互作用,但需要做更多的工作来确定 MATR3-ALS 是否是 TDP-43 蛋白病。

1.3 CHCHD10

Bannwarth 等通过对 1 个呈缓慢进展的 ALS、FTD、小脑共济失调、线粒体病的大型亲缘家系进行全外显子组测序,确认了 CHCHD10 (c176C>T;p.S59L) 中的错义突变^[12]。CHCHD10 (Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain-containing protein 10) 是一种线粒体蛋白,位于膜间隙,富集于嵴连接处。内源性和过表达的 CHCHD10S59L 均改变线粒体嵴超结构并导致线粒体网络的碎裂,同时伴有呼吸链缺乏,表明 CHCHD10 对维持 ATP 产生和耗氧量至关重要。随后的研究发现欧洲人群中的 CHCHD10 突变与多种疾病表型相关,主要是 ALS 和 FTD,还有 2 型腓骨肌萎缩 (Charcot-Marie-Tooth 2, CMT2) 和脊髓性肌萎缩。在这些人群中,CHCHD10 突变占 ALS 和 FTD 的不到 1%。在最近的 1 项来自 7 个国家和地区纳入 4365 例 ALS 患者和 1 832 例对照的全基因组测序研究显示,研究中展现的 3 种 CHCHD10 的突变仅有 1 种为 ALS 特异性突变,1 种为对照特异性突变^[13]。有趣的是,1 项中国的研究表明,虽然 CHSD10 突变在 ALS 中也很罕见,但它们可能是 FTD 的一个更重要的原因,可能占该人群中近 10% 的病例^[14]。

1.4 NEK1

NEK1 是 NIMA 相关激酶家族的丝氨酸/苏氨酸激酶的成员,参与早期细胞对基因毒性应激的反应,并在应对 DNA 损伤诱导的细胞凋亡中起保护作用^[15]。NEK1 的确定始于 Cirulli 全外显子组测序研究^[4]中发现 ALS 患者中 NEK1 存在 LoF 突变。随后的 1 项包含 1 022 例 fALS 和 7 315 例对照的全外显子组研究进一步证实 NEK1 LoF 突变与 ALS 疾病关联^[16],另一项中国人群 ALS 的基因组测序研究也发现 3 种新的 NEK1 LoF 突变^[17]。鉴于 NEK1 与 ALS 发病相关的具体体制研究较少,NEK1 在 ALS 疾病中扮演的角色有待后续研究中进一步考证。

1.5 KIF5A

KIF5A (kinesin family member 5A) 是参与细胞器内基于微管运输的驱动蛋白,广泛表达于神经元中,其对于维持轴突运输及线粒体转运具有重要作用。最近的 1 项史上最大规模的 ALS 遗传学研究分别进行了约 80 000 例样本的 GWAS 和超过 21 000 例样本的外显子组测序分析,发现 KIF5A 中 p.Pro986Leu 突变在 ALS 相对常见但外显率较低,而 KIF5A LoF 突变在 ALS 中相对罕见但外显率高^[18]。此外,KIF5A 突变还存在于与 ALS 症状类似的遗传性痉挛性截瘫 10 型 (hereditary spastic paraplegia type 10, SPG10) 和 CMT2。KIF5A 突变的频率和关键位点,以及其在轴突运输系统中的货运蛋白将是 KIF5A 下一步研究的主要方向。

2 ALS 发病机制的研究进展

从 ALS 中不同生物遗传学背景的角度出发,近年来 ALS 发病机制的研究也趋于多样化。虽然关于这种疾病的生物学重要机制仍未得到解决,但 ALS 基因研究已初步描述了 ALS 的发生和演变与以下 4 个主题密切相关。

表 1 ALS 相关基因及其功能

基因	基因功能	位点
SOD1	超氧化物歧化酶	21q22.1
DCTN1	动力蛋白复合体的组成	2p13
FUS	RNA结合蛋白	16p11.2
TARDBP	RNA结合蛋白	q36
OPTN	自噬衔接蛋白	10p15-p14
C9orf72	鸟嘌呤核苷酸交换因子	9p21-22
SQSTM1	自噬衔接蛋白	5q35
PFN1	肌动蛋白结合蛋白	17p13.2
HNRNPA1	RNA结合蛋白	12q13.1
MATR3	RNA结合蛋白	5q31.2
TUBA4A	微管亚基	2q36.1
CHCHD10	线粒体功能蛋白	22q11.23
TBK1	调控自噬与炎症	12q14.1
NEK1	DNA修复和维持细胞骨架功能	4q33
KIF5A	细胞器内微管运输的驱动蛋白	12q13.3

2.1 ALS 中蛋白质的异常集聚与毒性作用

ALS 中一个发人深省的事实是, 自 SOD1 突变发现以来的 25 年中, 对突变体 SOD1 的主要毒性尚且缺乏足够的了解。错误折叠的异常蛋白质的集聚可能是 ALS 中主要的毒性机制, 错误折叠的蛋白质可在 ALS 早期形成泛素化的胞浆内包涵体, 并随着疾病的进展而升高。Neumann 等于 2006 年发现 TARDBP 蛋白 (TDP-43) 是 sALS 和额颞叶变性 (frontotemporal lobe degeneration, FTL) 患者脊髓和脑中的泛素化靶点^[19]。正常条件下, TDP-43 位于细胞核中, 参与 DNA/RNA 结合、转录、RNA 剪接、miRNA 生物发生、RNA 转运和 RNA 转录稳定性。且在无义介导 RNA 衰变中具有关键作用, 可将异常 mRNA 转录物 (例如碱基对取代或截短的) 迅速降解。在 ALS 的大多数情况下, 过度磷酸化的 TDP-43 在 C' 末端结构域被片段化为 25 kD 或 35 kD 多肽结构, 且在神经元和神经胶质的胞浆中弥漫性地积聚、组装为圆形和线状包涵体; TDP-43 的这些病理形式首先在脊髓运动神经元中明显, 但随后弥漫至全脑呈散在分布^[20]。本课题组研究发现 TDP-43 在 SOD1 G93A 小鼠模型脊髓神经元和少突胶质细胞中的分布由核内向胞浆中转位, 且其表达的增加与神经元细胞死亡存在密切联系^[21]。TDP-43 现已确定为多种神经退行性疾病胞浆内包涵体的成分之一, TDP-43 从细胞核到胞浆的转位提示 TDP-43 介导的毒性可能既反映在核内的功能丧失, 又有其在胞浆内病理沉积获得性而导致毒害作用。TDP-43 和 SOD1 的在 ALS 中病理生物学机制在根本上是不同的。突变的 SOD1 导致的运动神经元死亡通常是根据突变蛋白丰度来决定的, 体内细胞功能相对不受野生型 SOD1 蛋白水平变化的影响。有研究指出 SOD1KO 小鼠晚期表现出慢性运动神经病变, 但不呈现出 ALS 样迅速进展的神经症状。相比之下, 野生型 TDP-43 蛋白水平的降低或升高都可能具有破坏性, 导致明显的运动神经元疾病^[22-23]。因此, 突变体 TDP-43 毒性似乎不太可能与其 RNA 转录物或蛋白质的表达呈简单的剂量关系。

虽然 FUS/TLS 主要在神经胶质细胞和神经元核内表达, 但在 RNA 加工过程中能够被转移到细胞质, 除转录和剪接外, FUS 还在细胞核和细胞质之间起着 mRNA 转运蛋白的作用。如同 SOD1 和 TDP-43 突变一样, 突变的 FUS 也能在不同类型的细胞内包涵体中被检测到。本课题组同样发现 FUS/TLS 在星形胶质细胞中表达增加, 且在星形胶质细胞胞质和胞核内均有分布, FUS/TLS 表达与神经元死亡呈正相关^[24]。突变的 FUS 也是 fALS 患者大脑和脊髓神经元和神经胶质中泛素和 p62 阳性的胞浆内包涵体的主要成分之一, 然而与 TDP-43 包涵体相反的是 sALS 中 FUS 阳性包涵体的则相对较少^[25]。Sharma 等^[26]在小鼠出生后再给予敲除 FUS 的研究表明, FUS 活性的丧失或过量对运动神经元或功能的存活没有影响, 这表明 FUS 突变依赖性神经变性可能是由于毒性的增加。另外, FUS 突变可能改变与蛋白质翻译密切相关的无义介导的衰变 (nonsense-mediated decay, NMD) 途径, 破坏 NMD 自动调节和导致 NMD 过度活跃, 从而影响蛋白质的生物合成, 最终导致运动神经元的死亡^[27]。

C9orf72 如今在 ALS 研究领域可谓是声名鹊起, 2011 年连续 3 个研究报道 40%~50% 的 fALS 和 8%~10% 的 sALS 病例以及 ALS-FTLD 病例是由 C9orf72 基因突变引起的^[28]。C9orf72 基因编码的蛋白质功能尚不清楚, 该基因中的独特突变是内含子六核苷酸序列 GGGGCC (G4C2) 重复扩增。在健康个体中, 序列 GGGGCC 以 2~23 重复存在, 但在 C9orf72 相关的 ALS 中可扩展至数百或数千个重复。G4C2 扩增可于 ALS-FTD 患者的脑与脊髓中产生核内 RNA 团簇和细胞质内 C9orf72 蛋白包涵体。G4C2 扩增位于 C9orf72 启动子的正常非编码区内含子内, C9orf72 可以双向转录, 形成包含正义 (GGGGCC) 或反义 (CCCCGG) RNA 转录物的团簇在受累细胞中累积。有研究指出 RNA 结合蛋白与扩增的 GGGGCC 或 GGGCCC 重复序列结合, 且观察到来自受累组织中的这几种蛋白质与 RNA 灶的罕见共定位^[29]。

除了核内 RNA 团簇异常累积外, 组织病理学研究显示 C9 ALS 中至少有 3 种类型的蛋白质包涵体。其中 2 种分别是 TDP-43 阳性和 p62 阳性的包涵体。而越来越多的证据指出, 来自 C9orf72 内含子扩增的神经元也具有第 3 种类型的包涵体: 由内含子六核苷酸重复编码的二肽重复蛋白 (dipeptide repeat proteins, DPR) 组成的胞内聚集体, 其通过非经典的重复相关的非 AUG 介导翻译途径产生。在 C9 ALS-FTD 中, RAN 翻译 DPR 蛋白是神经元细胞质和核内包涵体的原因, 它通过影响几个细胞内靶点, 如扰乱无膜细胞器、核仁的组装和功能等来产生毒性^[30]。此外, 在小鼠脑中选择性敲除 C9orf72 的并不会引起明显的运动神经元或其他神经变性表型, C9orf72 的丧失可能诱导巨噬细胞和小胶质细胞的免疫应答, 促使神经炎症的形成, 从而产生神经毒性^[31]。

2.2 ALS 中神经胶质细胞的作用

与其他神经退行性疾病的突变基因类似, ALS 的突变基因在多种神经细胞中表达。实际上, ALS 中非细胞自主机制可能是由突变基因共同损伤运动神经元及其神经胶质细胞而非单独损伤神经元的结果。本课题组研究发现 SOD1 G93A 小鼠模型脊髓中神经前体细胞会向损伤区域增殖及迁

移,进而分化为星形胶质细胞^[32]。早期运动神经元死亡过程引发神经炎症反应,募集并激活星形胶质细胞活化 NF- κ B 并驱动小胶质细胞增殖和白细胞浸润,但在疾病后期星形胶质细胞驱动的 NF- κ B 依赖性小胶质细胞激活则可引起疾病进展加速^[33]。小胶质细胞的影响可以是神经保护性的以及有毒的,由许多因素决定。另外小胶质细胞功能的紊乱也与 C9orf72 突变密切相关,C9orf72 在小鼠中的失活导致异常的小胶质细胞激活从而促使神经炎症的形成^[34]。突变的 SOD1 对发病机制的重要贡献是由少突胶质细胞驱动,这些细胞形成上下运动神经元轴突段的髓鞘。少突胶质细胞可通过单羧酸转运蛋白 1(monocarboxylate transporter 1,MCT1)的作用直接将能量代谢物乳酸盐提供给轴突来支持运动神经元功能。突变的 SOD1 损害 ALS 中少突胶质细胞表达 MCT1^[34],从而减少的能量供应而介导非细胞自主作用一致。而在早期敲低突变 SOD1 虽可改善乳酸能量供应,缓解神经毒性,但不能挽救少突胶质细胞,提示 SOD1 直接或间接参与少突胶质细胞病理改变过程中^[35]。

2.3 ALS 诱导的内质网应激

ALS 中内质网(ER)应激最初来自突变 SOD1 的研究,错误折叠的 SOD1 与 ER 整合膜蛋白 derlin-1 在细胞质表面结合,这种结合导致 ER 相关降解(ER-associated degradation,ERAD)的抑制^[36]。ERAD 是从 ER 中提取和降解错误折叠蛋白的途径,而缓解 ER 应激有助于延迟 ALS 中疾病的进展。ALS 中破坏泛素-蛋白酶体系统和自噬 2 种蛋白质间接途径可能是其发病机制的核心之一。有证据表明自噬通过消除积聚的错误折叠蛋白来改善 ER 应激^[37],ALS 中自噬相关基因的突变可能损害自噬途径,进而激活未折叠蛋白反应,持续引起 ER 应激。在神经元培养中过表达 C9orf72 基因中 ALS 相关的重复扩增,通过诱导 ER 应激导致神经元死亡后,再给予牛磺熊去氧胆酸治疗时神经元从 ER 应激介导的细胞死亡中被拯救,表明 C9orf72 的突变通过促进 ER 功能障碍而导致神经毒性^[38]。

2.4 ALS 中轴突运输损害

运动神经元的高度依赖轴突运输机制来维持正常的结构和功能。EphA4(Ephrin type-A receptor 4)可调节轴突发育生长,作为生长的分子制动器。在一项荷兰队列研究中发现 EphA4 的表达与 ALS 的发病和存活呈负相关^[39];因此有理由认为,通过减少表达或功能丧失突变来降低 EphA4 活性可增强对损伤的轴突生长。此外,多种 ALS 相关突变影响轴突运输系统组件,如负责囊泡运输的 DCTN1、驱动蛋白 KIFAP3、囊泡转运和分泌蛋白 VAPB 等。

3 ALS 与 FTD

自 2006 年病理研究首次发现 ALS 与 FTD 患者神经元中存在 TDP43 阳性泛素化包涵体后,ALS 与 FTD 之间的联系便一直备受关注。随着 ALS-FTD 致病基因 C9orf72 的发现为 ALS 与 FTD 的联系增添了铁证,越来越多的基因突变被认为既能导致 ALS 表型,又能引起 FTD 表型或同时为 ALS-FTD 表型。从而形成了独特的 ALS-FTD 疾病谱。ALS 与 FTD

存在共同的发病机制,表现为其相关突变基因的主要参与 RNA 加工或蛋白降解功能^[40]。在 ALS 或 FTD 变性神经元中均能发现 TDP43 或 FUS 的核内向胞浆转位与聚集,并可能通过影响核内 RNA 加工、胞质外 RNA 结合活性增强和异常聚集介导细胞毒性^[41]。此外,蛋白质降解途径相关基因突变,如 TNK1、OPTN、UBQLN2、SQSTM1 和 VCP 等,导致泛素-蛋白酶体系统或自噬-溶酶体途径的异常均与 ALS/FTD 或 ALS-FTD 发病相关。而蛋白降解途径的损伤还可引起蛋白质的异常聚集,导致 RNA 结合蛋白的功能障碍。但令人费解的是 SOD1 突变 ALS 患者少见额颞叶变性的病理改变,即便其也可引起 TDP43 的异常转位和聚集。另外,单纯 ALS 生物学改变中除了 RNA 加工和蛋白质降解途径失衡,还涉及轴突运输、细胞骨架等功能异常;而目前所发现 ALS-FTD 病因机制主要还是与 RNA 和蛋白质质量控制系统失衡相关。

4 展望

随着近年来神经科学领域分子生物学技术的快速发展,当前对于 ALS 发病机制的了解依旧有限,但可以肯定的是我们对于 ALS 遗传学及分子生物学的理解将持续发展。除遗传因素导致 ALS 发病的机制外,外源性非典型感染及病毒激活也是近年研究领域热点之一。ALS 与 FTD 的病因机制的联系与差异还仍需深入探讨。尽管 ALS 的治疗似乎仍未见曙光,然而新兴起的精准化治疗方案,如基因编辑、免疫治疗等,或许能为延缓 ALS 的进展提供更多的思考。

参 考 文 献

- [1] Millecamps S, Boillee S, Le Ber I, et al. Phenotype difference between ALS patients with expanded repeats in C9ORF72 and patients with mutations in other ALS-related genes[J]. J Med Genet, 2012, 49(4): 258-263.
- [2] White MA, Sreedharan J. Amyotrophic lateral sclerosis: recent genetic highlights[J]. Curr Opin Neurol, 2016, 29(5): 557.
- [3] Xie T, Deng L, Mei P, et al. A genome-wide association study combining pathway analysis for typical sporadic amyotrophic lateral sclerosis in Chinese Han populations[J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(7): 1778.e9-1778.e23.
- [4] Cirulli ET, Lasseigne BN, Petrovski S, et al. Exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis identifies risk genes and pathways[J]. Science, 2015, 347(6229): 1436-1441.
- [5] Freischmidt A, Wieland T, Richter B, et al. Haploinsufficiency of TBK1 causes familial ALS and fronto-temporal dementia[J]. Nat Neurosci, 2015, 18(5): 631-636.
- [6] Freischmidt A, Wieland T, Richter B, et al. Haploinsufficiency of TBK1 causes familial ALS and fronto-temporal dementia[J]. Nat Neurosci, 2015, 18: 631-636.
- [7] Heo JM, Ordureau A, Paulo JA, et al. The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy[J]. Mol Cell, 2015, 60: 7.

- [8] Xu D, Jin T, Zhu H, et al. TBK1 Suppresses RIPK1-Driven apoptosis and inflammation during development and in aging[J]. *Cell*, 2018, 174(6):1339–1341.
- [9] Johnson JO, Pioro EP, Boehringer A, et al. Mutations in the *Matrin 3* gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(5):664–666.
- [10] Lin K, Tsai P, Liao Y, et al. Mutational analysis of *MATR3* in Taiwanese patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(5):2005.e1–2005.e4.
- [11] Xu L, Li L, Tang L, et al. *MATR3* mutation analysis in a Chinese cohort with sporadic amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neurobiol Aging*, 2016, 38(4):218.e3–218.e4.
- [12] Bannwarth S, Aitelmkadem S, Chaussonnet A, et al. A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through *CHCHD10* involvement[J]. *Brain*, 2014, 137 (Pt8):2329–2345.
- [13] Project MinE ALS Sequencing Consortium. *CHCHD10* variants in amyotrophic lateral sclerosis: Where is the evidence?[J]. *Ann Neurol*, 2018, 84(1):110–116.
- [14] Jiao B, Xiao T, Hou L, et al. High prevalence of *CHCHD10* mutation in patients with frontotemporal dementia from China[J]. *Brain*, 2015, 139(4):e21.
- [15] Pelegri AL, Moura DJ, Brenner BL, et al. *Nek1* silencing slows down DNA repair and blocks DNA damage-induced cell cycle arrest[J]. *Mutagenesis*, 2010, 25(5):447.
- [16] Kenna KP, van Doormaal PT, Dekker AM, et al. *NEK1* variants confer susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Nat Genet*, 2016, 48:1037–1042.
- [17] Shu S, Lei X, Liu F, et al. Mutation screening of *NEK1* in Chinese ALS patients [J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 71:267.e1–267.e4
- [18] Nicolas A, Kenna KP, Renton AE, et al. Genome-wide Analyses Identify *KIF5A* as a Novel ALS Gene[J]. *Neuron*. 2018;97(6):1268–1283.e6.
- [19] Neumann M, Sampathu D, Kwong L, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Science*, 2006, 314(5796):130–133.
- [20] Lagier-Tourenne C, Polymenidou M, Cleveland DW. TDP-43 and FUS/TLS: emerging roles in RNA processing and neurodegeneration[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(R1):46–64.
- [21] Lu Y, Tang C, Zhu L, et al. The overexpression of TDP-43 protein in the neuron and oligodendrocyte cells causes the progressive motor neuron degeneration in the *SOD1 G93A* transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(9):1140–1149.
- [22] Wu LS, Cheng WC, Shen CK. Targeted depletion of TDP-43 expression in the spinal cord motor neurons leads to the development of amyotrophic lateral sclerosis-like phenotypes in mice[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(33):27335–27344.
- [23] Xu YF, Gendron TF, Zhang YJ, et al. Wild-type human TDP-43 expression causes TDP-43 phosphorylation, mitochondrial aggregation, motor deficits, and early mortality in transgenic mice[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(32):10851–10859.
- [24] Li J, Lu Y, Liang H, et al. Changes in the expression of FUS/TLS in spinal cords of *SOD1 G93A* transgenic mice and correlation with motor-neuron degeneration[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(10):1181–1190.
- [25] Deng HX, Zhai H, Bigio EH, et al. FUS-immunoreactive inclusions are a common feature in sporadic and non-*SOD1* familial amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Ann Neurol*, 2010, 67(6):739–748.
- [26] Sharma A, Lyashchenko AK, Lu L, et al. ALS-associated mutant FUS induces selective motor neuron degeneration through toxic gain of function[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:10465.
- [27] Kamelgarn M, Chen J, Kuang L, et al. ALS mutations of FUS suppress protein translation and disrupt the regulation of nonsense-mediated decay[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, pii:201810413.
- [28] Peters OM, Ghasemi M, Jr BR. Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(6):1767–79.
- [29] Lee YB, Chen HJ, Peres JN, et al. Hexanucleotide repeats in ALS/FTD form length-dependent RNA foci, sequester RNA binding proteins, and are neurotoxic[J]. *Cell Reports*, 2013, 5(5):1178–1186.
- [30] Lee KH, Zhang P, Kim HJ, et al. C9orf72 dipeptide repeats impair the assembly, dynamics and function of membrane-less organelles[J]. *Cell*, 2016, 167(3):774–788.e17.
- [31] O'Rourke J, Bogdanik L, Yanez A, et al. C9orf72 is required for proper macrophage and microglial function in mice[J]. *Science*, 2016, 351(6279):1324–1329.
- [32] Zhou Y, Lu Y, Fang X, et al. An astrocyte regenerative response from vimentin-containing cells in the spinal cord of amyotrophic lateral sclerosis-like transgenic (*G93A SOD1*) mice[J]. *Neurodegener Dis*, 2015, 15(1):1–12.
- [33] Alami NO, Schurr C, Heuvel FO, et al. NF- κ B activation in astrocytes drives a stage-specific beneficial neuroimmunological response in ALS[J]. *Embo J*, 2018, 37(16):e98697.
- [34] Lee Y, Morrison BM, Li Y, et al. Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration[J]. *Nature*, 2012, 487(7408):443–448.
- [35] Ferraiuolo L, Meyer K, Sherwood TW, et al. Oligodendrocytes contribute to motor neuron death in ALS via *SOD1*-dependent mechanism[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(42):e6496–6505.
- [36] Nishitoh H, Kadowaki H, Nagai A, et al. ALS-linked mutant *SOD1* induces ER stress- and *ASK1*-dependent motor neuron death by targeting *Derlin-1*[J]. *Gene Dev*, 2008, 22(11):1451.
- [37] Cai Y, Arikath J, Yang L, et al. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders[J]. *Autophagy*, 2016, 12(2):20.
- [38] Zhang YJ, Jansen-West K, Xu YF, et al. Aggregation-prone c9FTD/ALS poly(GA) RAN-translated proteins cause neurotoxicity by inducing ER stress[J]. *Acta Neuropathol*, 2014, 128(4):505–524.
- [39] Van Hoecke A, Schoonaert L, Lemmens R, et al. *EPHA4* is a disease modifier of amyotrophic lateral sclerosis in animal models and in humans[J]. *Nat Med*, 2012, 18(9):1418–1422.
- [40] Ito D, Hatano M, Suzuki N. RNA binding proteins and the pathological cascade in ALS/FTD neurodegeneration[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(415):eaah5436.
- [41] Thomas M, Alegre-Abarrategui J, Wade-Martins R. RNA dysfunction and aggregation at the centre of an amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia disease continuum[J]. *Brain J Neurol*. 2013; 136:1345–1360.