

## FUS 変異による ALS 臨床病理と病態

青木 正志<sup>1)</sup>

要旨：16番染色体に連鎖する家族性 ALS (ALS6) の責任遺伝子が FUS/TLS であることが報告された。FUS/TLS は家族性 ALS の原因遺伝子として、わが国では SOD1 に次いで頻度が高い遺伝子と考えられて、これまでに東北大学神経内科では解析した 10 家系に同遺伝子変異をみとめた。FUS/TLS 変異をともなう ALS 全体の臨床病型としては、比較的若年発症で、経過も 2 年程度と進行速度が速い経過であった。5 世代にわたって臨床像の詳細を知ることができた FUS/TLS 遺伝子の p.R521C 変異にともなう大家系では 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100%と考えられた。剖検では神経細胞内に好塩基性封入体をとめ、これはユビキチン陽性、TDP-43 陰性、FUS 陽性であった。

(臨床神経 2013;53:1080-1083)

Key words：筋萎縮性側索硬化症、家族性、FUS、好塩基性封入体

## 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の責任遺伝子

ALS 発症者の 5～10% は家族性で発症がみられ、家族性 ALS とよばれる。多くは常染色体優性遺伝形式をとることが報告されてきた。遺伝学的解析法の進歩により、1993 年に家族性 ALS においてその一部の原因遺伝子が Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) であることが明らかになった。その後の研究の進歩により常染色体優性遺伝形式をとる家族性 ALS の原因遺伝子として、angiogenin, vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membrane protein B (VAPB), TAR DNA-binding protein (TDP-43), fused in sarcoma/ translated in liposarcoma (FUS/TLS), optineurin, C9orf72, profilin 1 遺伝子などが報告されている。これらの明らかとなった原因遺伝子からの ALS 病態へのアプローチが盛んに行われている。

## ALS6 の原因遺伝子

2009 年に 16 番染色体に連鎖する家族性 ALS (ALS6) の責任遺伝子が FUS/TLS であることが米国ボストンの Robert Brown および英国ロンドンの Christopher Shaw のグループから報告された<sup>1) 2)</sup>。FUS/TLS は家族性 ALS の原因遺伝子として、わが国では SOD1 に次いで頻度が高い遺伝子と考えられている。元々 FUS/TLS は肉腫の病態にかかわるがん遺伝子として発見されたものであるが、先に明らかとなった ALS10 の責任遺伝子である TARDBP (TDP-43) に良く似た構造を持ち、そのいずれも DNA および RNA 代謝にかかわる。さらには報告された ALS 患者における遺伝子変異も共に遺

伝子の C 末端に集中していることは、両者がある共通した機序で ALS 病態にかかわっている可能性が高いことを示唆している<sup>3)</sup>。

## FUS/TLS の構造と機能

FUS/TLS は 526 個のアミノ酸からなる RNA 結合蛋白であり、粘性性脂肪肉腫の癌化を誘導する因子として同定された。N 末端から順に Glutamine-Glycine-Serine-Tyrosine (QGSY) rich ドメイン、Glycine-rich ドメイン、RNA 認識モチーフ (RRM)、Arginine-Glycine-Glycine (RGG) rich ドメイン、zinc-finger モチーフ、そして核局在シグナルをふくむ高度に保存された C 末端を持っている<sup>3)</sup>。FUS/TLS は核と細胞質の両方に局在を持ち、細胞増殖、転写制御、RNA およびマイクロ RNA のプロセッシングなど多くの細胞内プロセスにかかわると考えられている。FUS/TLS のエクソン 12 を欠損させたマウスではニューロンの可塑性や局所的な蛋白翻訳のための樹状突起へのメッセンジャー RNA の輸送も障害され、マウス由来の海馬神経細胞を培養すると樹状突起の形態異常がおこることが示されている。

## FUS/TLS 遺伝子異常をともなう ALS

私たちは SOD1 などの既知の遺伝子に異常のない日本人の家族性 ALS 家系において FUS/TLS 遺伝子スクリーニングしたところ、ALS 10 家系に遺伝子変異を同定した。これは検索した家系の約 9% にあたり、わが国においては SOD1 について 2 番目に頻度の高い原因遺伝子と考えられている (Fig. 1)。同遺伝子に R521C 変異を持つ宮城県の大家系では構成員 46

<sup>1)</sup> 東北大学大学院医学系研究科神経内科 [〒 980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町 1-1]  
(受付日：2013 年 5 月 30 日)

人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100% と考えられた<sup>4)</sup>。平均 35.3 歳で筋力低下を発症し、平均死亡年齢は 37.2 歳であり病期の進行は非常に急速であった。典型例の剖検所見では運動ニューロンの変性のみならず脳幹被蓋部の著明な萎縮をみとめ、さらに脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体をみとめている<sup>4)</sup>。さらには本家系内の上記をふくめた 3 剖検例(それぞれ発症後 1 年, 3 年, 9 年) に関する病理学的解析を詳細におこなった。もっとも神経細胞脱落が顕著なのは脊髄運動ニューロンだったが、病期が長くなるにつれ、好塩基性封入体、神経細胞内封入体およびグリア細胞内封入体の分布は運動系以外にも広がっていった<sup>5)</sup>。発症 1 年の時点において、封入体は脊髄前角以外に黒質にも観察された。グリア細胞内封入体は神経細胞内封入体よりも広範に、発症後早期からみられている (Fig. 2)。近年、神経変性疾患において細胞間の病態の伝達機構が注目されており、同一変異・同一家系内の症例間で病期による病変分布を検討することは細胞・動物モデルでの理論構築に大きな示唆を与えると考えている。さらには、同 p.R521C 変異例は九州大学<sup>6)</sup>、弘前大学、群馬大学からも報告されて、

いずれの病理でも好塩基性封入体をみとめている。

FUS/TLS 蛋白蓄積と神経変性の病態機序の理解はこれからの課題である。C 末端にミスセンス変異や欠失変異を持つ

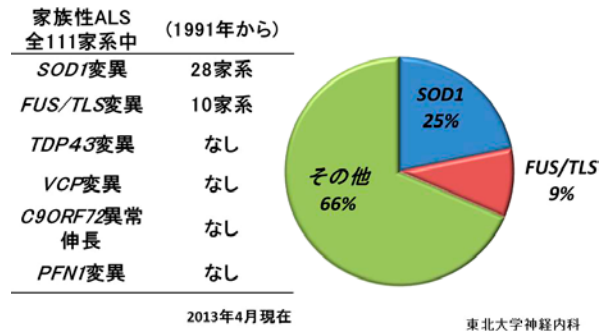
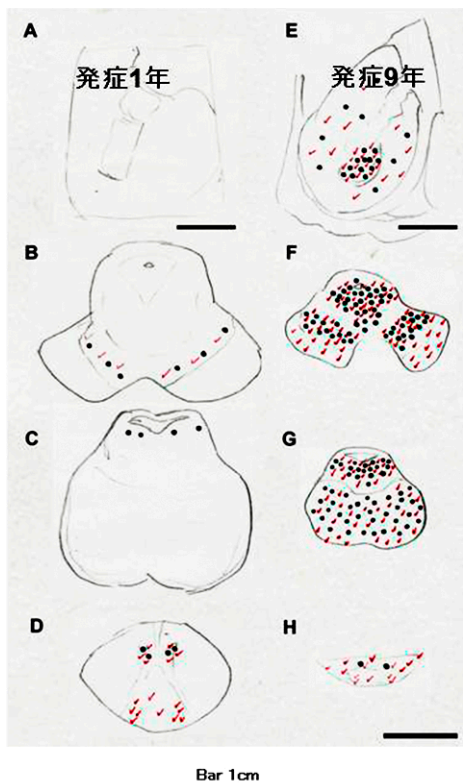
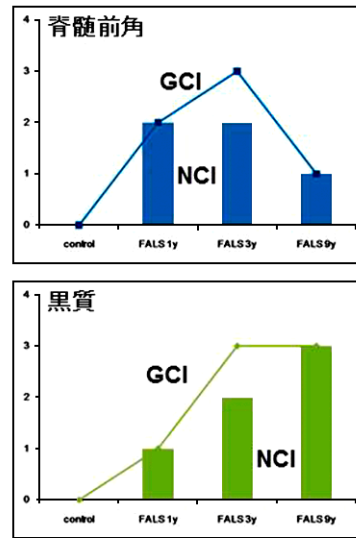


Fig. 1 東北大学神経内科における家族性 ALS の遺伝子解析。常染色体優性遺伝形式がうたがわれる日本人の家族性 ALS 111 家系の解析をおこない、28 家系において *SOD1* 遺伝子変異、10 家系に *FUS/TLS* 遺伝子変異を同定している。その他 3 分の 2 の家系が原因遺伝子不明であるが、次世代シーケンサーをもちいた解析を進めている。



NCI/GCIの半定量的変化



FUS/TLS-immunoreactive cytoplasmic inclusion: None (0), rare (1), occasional (2), common (3) or numerous (4)

FUS/TLS-immunoreactive  
 ● Neuronal cytoplasmic inclusion (NCI)  
 ▼ Glial cytoplasmic inclusion (GCI)

Suzuki N et al. J Neuropathol Exp Neurol 71; 779-88, 2012

Fig. 2 FUS/TLS 染色陽性封入体の空間的・時間的分布 (文献 5)。

R521C 変異を持つ宮城県の大家系内での 1 年, 3 年, 9 年と経過年数のことなる病理像を検討した。発症後 1 年後の剖検例では好塩基性封入体、神経細胞内封入体およびグリア細胞内封入体の分布は脊髄前角および黒質の一部に局限している。一方、発症 9 年後の剖検例では淡蒼球、黒質、中脳水道周囲、橋核などより広範に封入体が分布している。封入体数の定量的な評価では (右側)、脊髄前角では神経細胞の脱落が顕著なため 9 年後の症例では 3 年後よりもむしろ封入体の数は減少している。その一方で黒質ではリニアに封入体が増加していた。

FUS/TLS を *in vitro* で発現させると核局在シグナルが破壊されることにより細胞質に存在する FUS/TLS の割合が上昇することがわかってきた。FUS/TLS の核移行が障害されることが神経細胞変性にどのように結びつくかは未だ明らかではないが、*in vitro* での核移行の障害実験によりストレス顆粒内に FUS/TLS が蓄積することから、ストレス顆粒の生成が病態過程でかかわっていることが指摘されている<sup>7)~9)</sup>。

#### おわりに

TDP-43 と FUS/TLS という二つの分子の発見は ALS や FTLD の病態解明研究における重要な転機といえる。さらに新たな常染色体劣性遺伝形式を取る家族性 ALS の原因遺伝子である optineurin が TDP-43 や FUS/TLS 蛋白と相互作用する<sup>10)</sup> ことも新たな ALS 病態解明の鍵となる。FUS/TLS の翻訳後修飾の解析、マイクロ RNA や mRNA レベルの患者剖検例での解析が FUS/TLS 変異を持つ ALS の病態の全体像を把握するのに重要となると考える。

謝辞：鳥取大学医学部の加藤信介先生、加藤雅子先生、東北大学神経内科の鳥倉奈緒子さん、解析に協力していただいた患者さんに感謝いたします。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

#### 文献

- 1) 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.
- 2) Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 2009;323:1208-1211.
- 3) Lagier-Tourenne C, Cleveland DW. Rethinking ALS: the FUS about TDP-43. *Cell* 2009;136:1001-1004.
- 4) Suzuki N, Aoki M, Warita H, et al. FALS with FUS mutation in Japan, with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet* 2010;55:252-254.
- 5) Suzuki N, Kato S, Kato M, et al. FUS/TLS-Immunoreactive neuronal and glial cell inclusions increase with disease duration in familial amyotrophic lateral sclerosis with an R521C FUS/TLS mutation. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012;71:779-788.
- 6) Tateishi T, Hokenohara T, Yamasaki R, et al. Multiple system degeneration with basophilic inclusions in Japanese ALS patients with FUS mutation. *Acta Neuropathol* 2010;119:355-364.
- 7) Dormann D, Rodde R, Edbauer D, et al. ALS-associated fused in sarcoma (FUS) mutations disrupt Transportin-mediated nuclear import. *EMBO J* 2010;29:2841-2857.
- 8) Polymenidou M, Lagier-Tourenne C, Hutt KR, et al. Long pre-mRNA depletion and RNA missplicing contribute to neuronal vulnerability from loss of TDP-43. *Nat Neurosci* 2011;14:459-468.
- 9) Lagier-Tourenne C, Polymenidou M, Hutt KR, et al. Divergent roles of ALS-linked proteins FUS/TLS and TDP-43 intersect in processing long pre-mRNAs. *Nat Neurosci* 2012;15:1488-1497.
- 10) Ito H, Fujita K, Nakamura M, et al. Optineurin is co-localized with FUS in basophilic inclusions of ALS with FUS mutation and in basophilic inclusion body disease. *Acta Neuropathol* 2011;121:555-557.

**Abstract****Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) with the mutations in the fused in sarcoma/translocated in liposarcoma gene**Masashi Aoki, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Neurology, Tohoku University School of Medicine

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an adult onset neurodegenerative disorder characterized by the death of upper and lower motor neurons. Mutations in the fused in sarcoma/translocated in liposarcoma (FUS/TLS) gene have been discovered to be associated with familial ALS. In a Japanese family with familial ALS, we found the R521C FUS/TLS mutation, which has been reported to be found in various ethnic backgrounds. The family history revealed 23 patients with ALS among 46 family members, suggesting a 100% penetrance rate. They developed muscle weakness at an average age of 35.3 years, and the average age of death was 37.2 years.

Neuropathological examination revealed remarkable atrophy of the brainstem tegmentum characterized by cytoplasmic basophilic inclusion bodies in the neurons of the brainstem. We used immunohistochemistry to analyze 3 autopsy cases with the R521C mutation. As the disease duration becomes longer, there were broader distributions of neuronal and glial FUS/TLS-immunoreactive inclusions.

(Clin Neurol 2013;53:1080-1083)

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis, basophilic inclusion bodies, familial, fused in sarcoma/translocated in liposarcoma

---