Pentti Tienari, Anna Kiviharju, Miko Valori, Dan Lindholm ja Hannu Laaksovirta

Amyotrofisen lateraaliskleroosin ja otsalohkodementian patogeneesi avautuu:

Tumapatologia ja glutamaattiherkkyys

Hermoston rappeumasairauksien mekanismit ovat kantasolututkimuksen menetelmien kehityksen myötä alkaneet avautua. *C9orf72*-geenin toistojaksopidentymä tunnistettiin vuonna 2011 sekä amyotrofisen lateraaliskleroosin että otsalohkodementian yleisimmäksi geneettiseksi syyksi. Vain muutamaa vuotta myöhemmin tämän mutaation aiheuttamat erilaiset mekanismit ovat paljastumassa, ja hoitokokeitakin on jo tehty ihmisen kantasoluista erilaistetuissa hermosoluissa. Esittelemme *C9orf72*-geenin toistojaksopidentymän roolia sairauksien epidemiologiassa ja sen aiheuttamia häiriöitä hermosolujen toiminnan kannalta.

Amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS) on liikehermot tuhoava motoneuronisairaus, jonka syy on askarruttanut tutkijoita vuosikymmeniä. Tauti alkaa tyypillisesti 50–60-vuotiaana ja johtaa tahdonalaisen lihaksiston surkastuessa kuolemaan keskimäärin neljän vuoden kuluttua diagnoosista. Suomessa todetaan vuosittain vajaat 200 uutta tapausta. Suomessa noin 10 % tapauksista on suvuittaisia eli familiaalisia, mutta taudin syy voi olla geneettinen, vaikka selvää sukutaustaa ei tulisikaan ilmi.

Familiaalisen ALS:n taustalta on löydetty useita geenivirheitä. Vuonna 1993 kuvattiin ensimmäiset mutaatiot kromosomin 21 *SOD1*-geenissä (superoxide dismutase-1), josta on sittemmin löydetty yli 150 mutaatiota. SOD1-mutaatioiden tautimekanismit ovat kuitenkin edelleen epäselviä. Erityinen skandinaavinen peittyvästi periytyvä SOD1-mutaatio (D90A) on kuvattu vuonna 1995, ja se on Suomessa melko yleinen. Noin 10 %:lla suomalaisista ALS-potilaista on tämä tautimuoto. Siihen liittyy alaraajoista alkava, klassisesta ALS:sta poikkeava, hyvin hitaasti etenevä tautimuoto. ALS:n taustalta on löydetty *SOD1*:n lisäksi mutaatioita myös eräistä muista geeneistä (muun muassa *TARDBP, FUS*), mutta nämä selittävät vain pienen osan ALS:n geneettisestä taustasta.

Vuonna 2011 löydettiin kansainvälisten konsortioiden voimin ALS:n yleisin geneettinen syy. Kyseessä on kromosomissa 9 sijaitseva *C9orf72*-geenin (chromosome 9 open reading frame 72) ei-koodaavan alueen GGGGCC-toistojakson valtava monistuma (1, 2). Kyseinen mutaatio voi aiheuttaa ALS:n lisäksi myös otsa-ohimolohkodementiaa (frontotemporaalidementia) sekä näiden yhdistelmää. Otsa-ohimolohkodementia on toiseksi yleisin nuorella iällä alkava dementoiva ja kuolemaan johtava sairaus. Myös sen keskimääräinen alkamisikä on 50–60 vuotta.

C9orf72-mutaatio on erityisen yleinen Suomessa ja muissa pohjoiseurooppalaisperäisissä väestöissä. Suomalaisista familiaalisista ALS-potilaista 46 % ja sporadisista (ei sukutaustaa) 21 % kantaa tätä mutaatiota, vastaavasti familiaalisista otsa-ohimolohkodementiapotilaista mutaatiota kantaa 48 % ja sporadisista 19 % (1, 3). Muualta Euroopasta ja Yhdysvalloista kerätyiltä familiaalisilta ALS-potilailta mutaatio löytyy 39 %:lta ja sporadisista 7 %:lta. Vastaavat luvut otsa-ohimolohkodementian osalta ovat 25 % ja 6 % (3, 4).

C9orf72-tautien piirteet

On epäselvää, miksi sama mutaatiotyyppi johtaa joillakin ALS:iin ja toisilla otsa-ohimolohkodementiaan. Kliinisesti C9orf72-mutaation aiheuttama tauti (C9-ALS) ei eroa selvästi muusta klassisesta ALS:sta. Otsa-ohimolohkodementia ilmenee C9-ALS:n liitännäissairautena 15–20 %:lla. C9-ALS:n kliiniseen kuvaan voi liittyä raajojen rigiditeettiä, ja lisäksi bulbaarinen alku hieman useammin kuin ALS:ssa yleensä. C9-otsa-ohimolohkodementia alkaa tyypillisesti käyttäytymisen muutoksilla ja harhaluuloisuudella (5). C9orf72-mutaatio saattaa aiheuttaa satunnaisesti myös muita neurodegeneratiivisia tiloja siten, että kliinisenä diagnoosina on Alzheimerin tauti, Creutzfeldt–Jakobin tauti, Huntingtonin taudin kaltainen sairaus tai Parkinsonin tauti (6, 7). Neuropatologisisesti C9orf72-mutaation on havaittu johtavan *TARDBP*-geenin koodittaman TDP43-proteiinin sytoplasmisiin kertymiin motoneuroneissa ja pikkuaivojen granulosyyttien tumien p62-proteiinin kertymiin. TDP43 sijaitsee normaalisti tumassa, jossa se sitoutuu DNA:han ja RNA:han ja säätelee muun muassa geenien transkriptiota ja silmukointia. p62 sitoutuu ubikitinoituneihin proteiineihin ja säätelee niiden kuljetusta autofagosomeihin.

Geenitestauksesta

Diagnostisen geenitestauksen tulee olla erittäin perusteellisesti harkittua, sillä C9-ALS on yleensä kliinisesti selkeäoireinen ja diagnoosiin päästään lähes aina ilman geenitestiäkin. Tässä on selvä ero peittyvästi periytyvään SOD1*D90A-mutaatioon, jonka aiheuttaman ALS:n diagnosointi on alkuvaiheessa vaikeaa ilman geenitestausta. *C9orf72*-geenitesti on saatavana Suomessa Turun ja Tampereen yliopistoissa. Geenitestauksen ongelmana on positiivisen testituloksen merkitys potilaan sukulaisille: tällöin ei ainoastaan diagnosoida yhden yksilön tautia, vaan herätetään perinnöllisen sairauden pelko sukulaisissa. Koska geenitesti ei yleensä ole välttämätön diagnoosiin pääsemiseksi, on geenitestaus mielestämme perusteltua vain diagnostisesti ongelmallisissa tapauksissa, kun tehdään rajanvetoa psykiatrisen ja neurodegeneratiivisen sairauden (otsa-ohimolohkodementia) välillä sekä epätyypillisissä ALS-epäilyissä (joita on vain pieni osa C9-ALS-tapauksista). Terveiden sukulaisten testauksesta on syytä pidättäytyä toistaiseksi kokonaan huomioiden älä vahingoita -periaate (primum est non nocere).

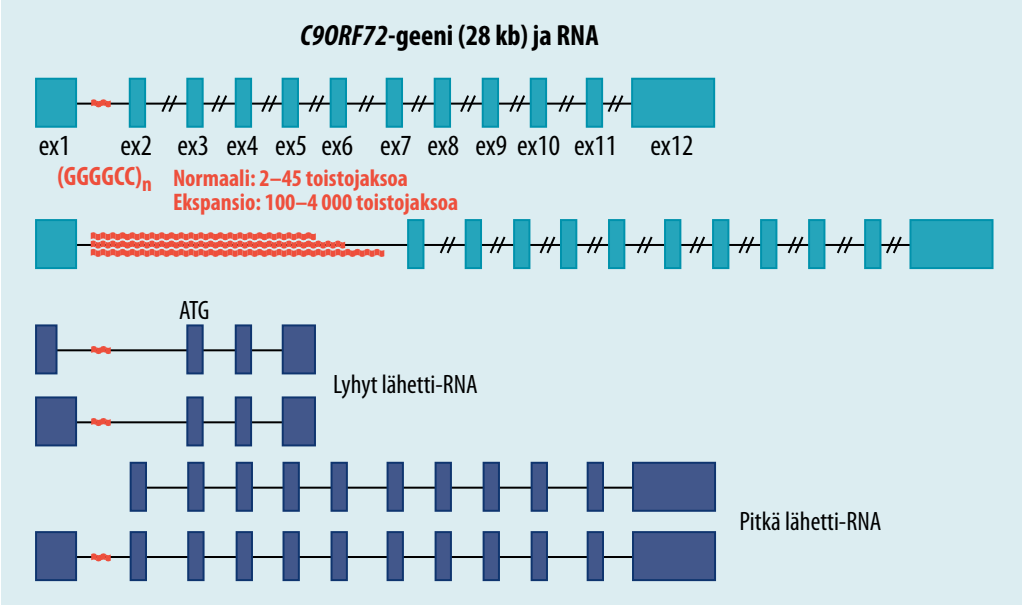
C9orf72-mutaation erityispiirteet

Tähän GGGGCC-toistojakson mutaatioon (KUVA 1) liittyy useita erityispiirteitä, jotka luonnehdimme seuraavassa lyhyesti.

Mutaation osoittamisen vaikeus. Toistojaksopidentymää ei ole vielä pystytty sekvensoimaan eikä monistamaan polymeraasiketjureaktiolla (PCR). Mutaatio voidaan osoittaa melko vaativalla Southern blot -menetelmällä, jossa toistojakson monistuma näkyy selkeän juovan sijasta pilvenä, joka edustaa eri soluissa esiintyviä vaihtelevan kokoisia toistojaksoja. Toinen menetelmä on niin sanottu RP-PCR (repeat-primed PCR), jossa saadaan pitenevä sarja PCR-tuotteita, kunnes monistuminen vähitellen hiipuu. Tätä menetelmää käytetään nykyisin geenidiagnostiikassa, mutta siihen liittyy vielä runsaasti epävarmuustekijöitä (esimerkiksi normaalivaihtelun laajuus), ja eri laboratorioiden tuloksissa on kiusallisen paljon eroja.

Mosaikismi eli monistuman koon vaihtelu eri soluissa. Mosaikismin vuoksi mutaatio näkyy Southern blotissa pilvenä eikä juovana. Mosaikismi saattaa olla yksi syy mutaation vaihtelevaan ilmiasuun. Tämän hypoteesin mukaan joillekin tulee ALS, toisille otsa-ohimolohkodementia ja joskus harvoin jokin muu neurodegeneratiivinen tila sen mukaan, millainen toistojaksopidentymä kuhunkin solupopulaatioon päätyy sikiönkehityksen aikana.

Penetranssi ei ole täydellinen eikä monistuman normaalivaihtelua vielä tunneta. Väestössä yli 90 % GGGGCC-toistojakson alleeleista sisältää 2–10 toistojaksoa. Kolmeakymmentä toistojaksoa on alustavasti pidetty normaalivaihtelun ylärajana, mutta tämä raja perustuu lähinnä RP-PCR-menetelmään liittyviin rajoitteisiin. Mutatoituessaan *C9orf72*-geenin toistojakso monistuu valtavaksi satoja



KUVA 1. *C9orf72*-geenin organisoituminen ja heksanukleotiditoistojakson ekspansio, joka aiheuttaa toistojakson pitenemisen ja kolmiulotteisen rakenteen muutoksen. Toistojakso tulee osaksi pre-lähetti-RNA:ta useimmissa transkripteissa.

tai tuhansia toistojaksoja käsittäväksi toistojaksopidentymäksi (KUVA 1). Mutaation kantajien esiintymistiheys on Suomessa noin 0,2 % (Anna Kiviharju ym., julkaisematon tieto). Brittiläisessä vuoden 1958 syntymäkohortissa se oli 0,15 % (6). Se on siten yleisimpiä vallitsevia tautimutaatioita, mutta onneksi sen penetranssi ei ole täydellinen.

On esitetty, että niin sanotut keskipitkät toistojaksoalleelit (yli 20 toistojaksoa) olisivat mahdollisesti patogeenisia, mutta tämän teorian tueksi ei kuitenkaan ole vielä riittävästi todisteita (8). Samankokoisia toistojaksopidentymiä on löydetty ikääntyneiltä yksilöiltä ilman neurologista sairautta, ja esimerkiksi Suomessa 20–45 toistojakson kantajien esiintymistiheys on ikääntyneessä väestössä noin 1,6 % (Kiviharju ym., julkaisematon tieto). Näiden havaintojen perusteella vielä 45 toistojaksoa saattaa kuulua normaalivaihteluun, sillä selvään neurologiseen sairauteen (kuten ALS ja otsa-ohimolohkodementia) niillä ei näytä olevan yhteyttä. Yhteys lievempiin neurologisiin tai psyykkisiin oireisiin vaatii vielä lisätutkimuksia.

Perustajavaikutus. Kaikilla tutkituilla potilailla eri puolilla maailmaa monistuma esiintyy samankaltaisessa haplotyyppitaustassa (”suomalainen haplotyyppi”). Haplotyyppien rakenteen perusteella mutaation arvioidaan syntyneen muutamia tuhansia vuosia sitten (3, 4, 9). Maantieteellisen jakauman perusteella se on yleisin Euroopan pohjoisosissa ja Sardiniassa ja hyvin harvinainen Itä-Aasiassa (Japani, Kiina, Korea).

Poikkeavaa RNA:ta ja proteiinia syntyy toistojaksopidentymästä. Vaikka kyseessä on introninen toistojakso, toistojaksopidentymä muuttaa DNA:n rakennetta niin, että lähetti-RNA:n silmukointi ja proteiinin tuottaminen siitä mahdollistuu. Tämä perustuu DNA:n ja RNA:n kolmiulotteiseen rakenteeseen, josta käytetään nimitystä G-quadruplex. Muodostuvista lähetti-RNA-molekyyleistä syntyy niin sanottuja abortiivisia transkripteja, eli niistä muodostuu lähetti-RNA-pätkiä niin pitkälle kuin RNA-polymeraasi pystyy lähetti-RNA:ta kustakin toistojaksoalleelista rakentamaan. Nämä lähetti-RNA:t kulkeutuvat tuman ulkopuolelle, jossa ribosomit tuottavat niistä polypeptidejä. Ne ovat varsin monotonisia, sillä ne muodostuvat ainoastaan kodonipareista GGG-GCC (Gly-Ala), GGG-CCG (Gly-Pro), GGC-CGG (Gly-Arg) ja niitä vastaavista antisense-

kodoneista CCC-CGG (Pro-Arg), GCC-CCG (Gly-Pro), GGC-CCC (Gly-Pro). Näitä vaihtelevan pituisia dipeptidiproteiineja on pystytty osoittamaan C9-ALS- ja C9-otsa-ohimolohkodementiapotilaiden neuronien sytoplasmasta (10, 11, 12). Samanlainen proteiinisynteesi-ilmiö on aiemmin kuvattu spinoserebellaarisen ataksian 8 ja tyypin 1 myotonisen dystrofian ei-koodaavan alueen trinukleotidimonistumissa. Ilmiötä kutsutaan termillä RAN-translaatio (repeat-associated non-atg translation) (13).

DNA:n ja RNA:n G-quadruplex-rakenne

Neljä guaniini- eli G-nukleotidia pystyvät liittymään toisiinsa vetysidoksin siten, että muodostuu joko saman DNA- tai RNA-säikeen molekyylinsisäisiä sekundaarirakenteita tai useamman säikeen muodostamia molekyylienvälisiä sekundaarirakenteita. C9orf72-GGGGCC-toistojakson pidentymä saa siis aikaan uudenlaisia rakenteita, eräänlaisia nukleotideista muodostuvia sykkyröitä, joita voi muodostua DNA:sta, RNA:sta ja DNA-RNA-hybrideistä. Nämä rakenteet johtavat poikkeavan lähetti-RNA:n ja proteiinin muodostumiseen ei-koodaavalla alueella, vähentävät normaalin C9orf72-lähetti-RNA:n muodostumista ja synnyttävät uusia sitoutumispaikkoja tumaproteiineille.

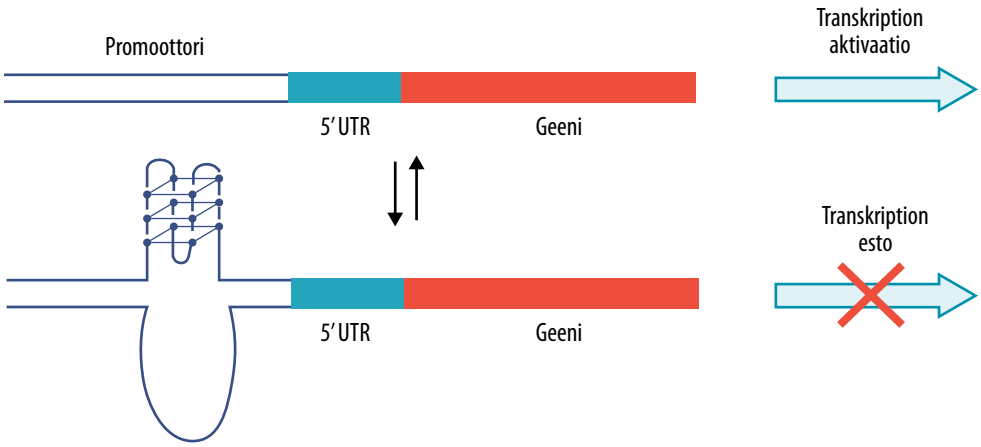
G-quadruplex-rakenteita esiintyy ihmisen genomissa muuallakin, ja niillä arvellaan olevan fysiologinen rooli geenin transkription jarruttamisessa (KUVA 2). Niitä muodostavat sekvenssit ovat säilyneet eri lajien välillä ja sijaitsevat usein toiminnallisilla alueilla, kuten transkription aloituskohdissa (14).

C9orf72-proteiini

Geenin proteiinituotteen C9orf72 toimintaa tunnetaan vielä huonosti. Vaihtoehtoisen silmukoinnin kautta geeni tuottaa ainakin kahta erikokoista proteiinin isoformia (25 kDa ja 55 kDa). Kyseessä on kaikissa kudoksissa ilmenevä evoluutiossa säilynyt liukoinen proteiini, joka alustavien tulosten perusteella paikantuu soluissa pääosin tumaan ja solulimaan ja jota mahdollisesti myös erittyy solun ulkopuolelle (1, 15). C9orf72-proteiini saattaa säädellä solun endosytoosia ja autofagiaa (15). C9orf72-proteiinin toiminnan selvittämiseksi tarvitaan vielä paljon lisätutkimuksia.

Patogeneesi

Helsingissä Biomedicumin kantasolukeskuksessa alettiin jo vuonna 2010, ennen C9orf72-mutaation paljastumista, tehdä indusoituja pluripotentteja kantasoluja (iPS) suomalaisten



KUVA 2. Esimerkki G-quadruplex-rakenteen normaalista fysiologisesta toiminnasta. Geenin säätelyalueella olevan G-quadruplexin välittämä geenin transkription hiljentäminen. G-quadruplexia stabiloivat proteiinit tehostavat geenin hiljentämistä (esimerkiksi nukleloliinin sitoutuminen *c-myc*-geenin promoottorin G-quadruplexiin).

ALS-potilaiden ihon fibroblasteista. Todennäköiset mutaation kantajat pystyttiin tunnistamaan kromosomin 9 haplotyyppirakenteen perusteella (16). Yhteistyössä Jeffrey D. Rothsteinin ryhmän kanssa Johns Hopkins -yliopistossa ja sen yhteydessä toimivassa Packard Institute of ALS Research -tutkimuslaitoksessa näistä iPS-soluista tehtiin motoneuroneita (C9-iPS-neuroneita) ja astrosyyttejä, joissa patogeneesia mallinnettiin (17). Tumapatologioiden ilmentymiä on useita, ja niillä kaikilla voi olla oma merkityksensä taudin edetessä (**KUVA 3**).

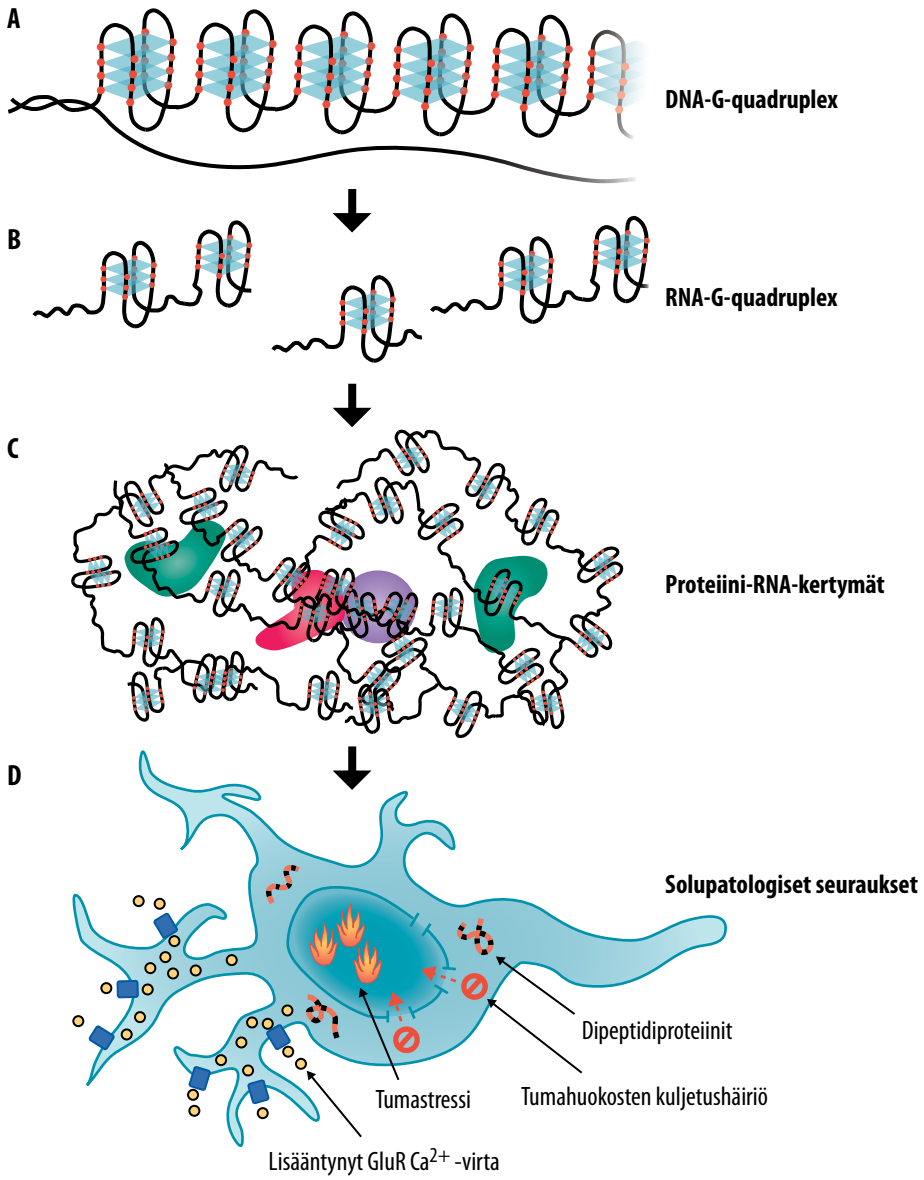
Glutamaattiherkkyys. C9-iPS-neuronit osoittautuivat herkistyneiksi glutamaatille. Jo 10 µM:n glutamaattipitoisuus johti 50 %:n solukuolemaan, kun verrokki-iPS-neuroneista noin 10 % kuoli. Tämän glutamaattiherkkyyden syy paljastui iPS-neuroneista ja ALS-vainajien neuropatologisista näytteistä tehdyillä kokeilla. Mutaation aiheuttama (GGGGCC)n-RNA kertyy saarekkeeksi tumaan ja sitoo itseensä useita tumaproteiineja. Useat ribonukleoproteiinit sitoutuvat toistojaksoja sisältäviin transkripteihin ja herkistävät solut kroonisille vaurioille. Yksi näistä proteiineista on ADARB2, joka on AMPA-tyypin glutamaattireseptorin GluR2-alayksikköä editoiva entsyymi. Editointi vaikuttaa lähetti-RNA:ssa, ja siinä tapahtuu kodonin muutos siten, että Q607 muuttuu R607:ksi. Aivojen kehityksen aikana esiintyy GluR2:n editoitumatonta versiota, Q607:ää, joka on herkemmin kalsiumioneja läpäisevä. Aikuisilla taas lähes kaikki GluR2-alayksiköt ovat editoitua ja vähemmän kalsiumia läpäisevää R607-muotoa. Näyttää siis siltä, että mutaation yksi vaikutus on eräänlainen ”adaropatia” eli ADARB2:n toiminnanvajaus ja GluR2:n editointivaje (17). Tähän sopii hyvin aiemmin kuvattu ADARB2-poistogeenisten hiirten motoneuronien surkastuminen, joka johtui editoimattomasta GluR2-alayksiköstä ja lisääntyneestä kalsiumin määrästä solussa (18).

Tumapatologia. Tumakuljetuksen muutokset ovat patogeneesin toinen keskeinen piirre. Kahdessa tuoreessa artikkelissa osoitettiin banaanikärpäsmallissa, että C9orf72 (GGGGCC) n-RNA:n toksisuutta säätelivät useat proteiinit, jotka toiminnaltaan liittyivät tumaliikenteeseen (tumasta ulos tai tumaan sisään) (19, 20). Yksi näistä oli RanGAP-proteiini, joka sitoutuu solulimassa C9orf72-(GGGGCC)n-RNA:n muodostamiin G-quadruplex-rakenteisiin ja estää RanGAP-kuljetuksesta riippuvaisten proteiinien kulkeutumisen solulimasta tumaan tumahuokosten kautta. Tämä ilmiö on vahvistettu banaanikärpäsen lisäksi C9-ALS-potilaiden soluista tehdyissä iPS-neuroneissa. RanGAP-proteiini kertyy perinukleaariseen tilaan, ja näitä kertymiä havaitaan iPS-neuroneiden lisäksi ALS- ja otsa-ohimolohkodementiapotilaiden aivokudoksessa (19). Laajempaakin tuman toimintahäiriötä on kuvattu. Tumajyväsen keskeinen proteiini nukleoliini sitoutuu G-quadruplex-rakenteisiin, mikä johtaa tumajyväsen rakenteen muutoksiin ja ribosomien tuotannon häiriintymiseen (21).

Yhteys TDP-43-proteiiniin. Äskettäin on osoitettu, että ADARB2:n ja GluR2:n editointi liittyy myös toisen paljon tutkitun familiaalisen ALS-tekijän TDP-43-proteiinin toimintaan. Lisääntynyt kalsiumin määrä aktivoi hermosolun sisäisiä proteinaaseja, kuten kalpaiinia, joka pilkkoo proteiinia TDP-43 (22). Sytoplasmiset

Ydinasiat

- *C9orf72*-geenin mutaation tutkimus on paljastunut useita hermosolun RNA:han kohdistuvia muutoksia.
- Mutaatio on ei-koodaavan alueen toistojakson monistuma, joka synnyttää erikoisen kolmiulotteisen rakenteen, josta muodostuu lähetti-RNA:ta.
- Mutantti lähetti-RNA sitoutuu tumassa ja tuman ulkopuolella poikkeavasti useaan proteiinin ja estää niiden normaalia toimintaa.
- Seurauksena on muun muassa glutamaattireseptorin yliaktiivisuus ja hermosolujen herkistyminen glutamaatin toksisille vaikutuksille sekä TDP43-proteiinin tumaan kuljetuksen estyminen.
- Lisäksi mutaatiosta muodostuva lähetti-RNA muuntuu poikkeavaksi proteiiniksi, jolla saattaa olla toksisia vaikutuksia.



KUVA 3. A) *C9orf72*-geenin GGGGCC-toistojaksoalue laskostuu G-quadruplex-sekundaarirakenteiksi, joissa saman DNA-juosteen guaniininukleotidit sitoutuvat toisiinsa vetysidoksilla. **B)** Toistojakson läsnäolo saa aikaan ennenaikaisesti päättyviä RNA-transkripteja, joissa toistojaksoalue laskostuu DNA:n tapaan G-quadruplex-rakenteiksi. **C)** RNA:ta sitovat proteiinit, kuten ADARB2 tumassa ja RanGAP sytoplasman puolella, sitoutuvat toistojakso-RNA:han, jolloin niiden normaali toiminta häiriintyy. **D)** Toistojakso-RNA aiheuttaa lukuisia ongelmia motoneuroneissa.
Glutamaattiherkkyys: ADARB2-proteiinin toimintahäiriö aiheuttaa kalsiumia herkemmin läpäisevän AMPA-reseptorimuodon ilmentymisen, mikä altistaa solut glutamaatin eksitotoksisuudelle. **Tumastressi:** myös muita proteiineja sitoutuu poikkeavasti toistojakso-RNA:han, muun muassa nukleoliini, minkä vuoksi tumajyväsen ribosomituotanto häiriintyy. **Tumakuljetuksen häiriöt:** C9orf72-RNA:n sitoutuessa RanGAP-proteiiniin useat hermosolun toiminnalle tärkeät proteiinit (muun muassa TDP43) eivät kulkeudu tumaan vaan kertyvät sytoplasmaan. **Dipeptidiproteiinit:** toistojakso-RNA:n G-quadruplex-rakenne indusoi aloituskodonista riippumattoman proteiinitranslaation, jonka seurauksena soluun kertyy toistojaksoa vastaavia toksisia dipeptidiproteiineja.

TDP-43-kertymät ovat yksi C9-ALS:n ja C9-otsa-ohimolohkodementian histopatologisista tunnusmerkeistä. TDP43 on DNA:han ja RNA:han sitoutuva proteiini, jonka tiedetään säätelevän eräiden lähetti-RNA:iden silmukoitumista, stabiiliutta ja kuljetusta. TDP-43-proteiinin kuljetus tuman sisälle on RanGAP-välitteistä. RanGAP-proteiinin sitoutuminen C9orf72-(GGGGCC)n-RNA:han solulimassa estää tumahuokosten kautta tapahtuvaa kuljetusta ja aiheuttaa TDP-43-proteiinin kertymisen sytoplasmaan, mikä on C9-ALS:n ja otsa-ohimolohkodementian patologinen tunnusmerkki. Samaa ilmiötä on havaittu eräissä muissakin hermoston rappeumataudeissa, mikä viittaa siihen, että kyseessä on jokin yleisempi patologinen prosessi, joka yhdistää eri sairauksia.

Dipeptidiproteiinit. Patologisten RNA-saarekkeiden lisäksi on äskettäin saatu viitteitä siitä, että myös lisääntynyt toistojakso-RNA:sta syntetisoitujen dipeptidiproteiinien määrä voi johtaa neurotoksisuuteen. Tämä kävi ilmi kokeissa, joissa ilmennettiin glysiini-arginiini- tai proliini-arginiinipeptidejä banaanikärpäsen silmän soluissa, mikä johti silmän surkastumiseen ja eläimen kuolemaan (23). Tarkemmat tulokset osoittivat, että juuri emäksinen arginiinia sisältävä toistopeptidi aiheuttaa solutoksisuuden tavalla, joka on vielä tuntematon. Nämä kokeet tehtiin banaanikärpäsillä, ja tulevaisuus näyttää, ovatko samat mekanismit vallalla myös ihmisen soluissa ja etenkin motoneuroneissa. Nämä viimeaikaiset tulokset puhuvat kuitenkin sen puolesta, että sekä emäksiset arginiinitoistopeptidit että tuman RNA-saarekkeet voivat kummatkin johtaa neurotoksisuuteen ja siten mahdollisesti vahvistaa toistensa vaikutuksia.

Hoito

Uuden tiedon valossa on mahdollista kohdistaa hoito vielä enemmän taudin perussyihin, ja erityisen mielenkiintoinen vaikutuskohta on itse toistojaksopidentymä. iPS-neuroneilla on tehty kokeita pidentymään kiinnittyvillä antisense-oligonukleotideilla (ASO). ASO:ihin liitettiin RNA:ta hajottava entsyymi (RNase H), ja näin onnistuttiin vähentämään RNA-saarekkeiden määrää ja parantamaan glutamaatin sietoa noin 30 % (17). Ihmisten ASO-hoitoa on jo kokeiltu (erästä SOD1-mutaatiota kohtaan) antamalla sitä intratekaalisesti ALS-potilaille. Tässä toksisuustutkimuksessa ei ilmennyt vakavia haittavaikutuksia (24). Farmakologisia vaikutuskeinoja saattaa olla muitakin. Myös porfyriinijohdoksella (TMPyP4) on pystytty hillitsemään RNA-G-quadruplex-rakenteiden määrää, ja toisaalta tumakuljetusta säätelevällä aineella (KPT-276) on pystytty vähentämään toksisuutta banaanikärpäsmallissa (19).

Yksi mahdollinen terapian vaikutuskohta on itse glutamaattireseptori ja sen lisääntynyt aktiivisuus hermosoluissa. Ionien läpäisevyyttä sääteleviä (ionotrooppisia) glutamaattireseptoreita ovat AMPA-, kainaatti- ja NMDA-reseptorit, jotka aktivoituessaan päästävät muun muassa natrium- ja kalsiumioneja solun sisään. ALS:n hoidossa on käytetty rilutsolia jo parinkymmenen vuoden ajan, ja sen vaikutusmekanismin arvellaan perustuvan muun muassa glutamaatin vapautumisen estoon hermosoluista ja NMDA-tyypin glutamaattireseptorin osittaiseen salpaamiseen ja siten juuri solun kalsiumin määrän säätelyyn (25). C9orf72-toistojaksopidentymä vaikuttaa nimenomaan AMPA-reseptorin aktiivisuuden lisääntymiseen, mikä tämän tiedon valossa näyttäytyy keskeisenä vaikutuskohteena glutamaatin aiheuttaman hermosoluvaurion eli niin sanotun eksitoksisuuden hillitsemisessä. Pitää kuitenkin muistaa, että glutamaattireseptoreita on aivoissa viljalti, eikä voitane ajatella niiden täydellistä estämistä ilman vakavia haittavaikutuksia. Näkyvissä häämöttääkin ajatus multiterapiasta, jossa hoito kohdistettaisiin glutamaattireseptoreiden lisäksi myös tumapatologiaan ja tumakuljetuksen häiriöihin. C9orf72-positiivisten ALS- ja otsa-ohimolohkodementiapotilaiden iPS-neuronit ovat lupaavia solumalleja näille tutkimuksille ja antavat mahdollisuuden löytää uusia lääkeaineita näihin vaikeisiin tauteihin.

Lopuksi

C9orf72-geenin toistojaksopidentymän löytyminen ja sen vaikutusmekanismien ymmärtäminen on esimerkki tieteen nopeasta etene-

misestä. Geenivirhe löydettiin vuonna 2011, ja jo kaksi vuotta tämän jälkeen patogeneesi alkoi valottua. Patogeneesin ytimessä on toistojaksopidentymän synnyttämä toksinen RNA, joka johtaa glutamaattireseptorin säätelyhäiriöön, laaja-alaiseen tuman kuljetusjärjestelmien pettämiseen sekä dipeptidiproteiinien muodostumiseen solulimaan. Taudin alkaminen vasta 50–60-vuotiaana viittaa siihen, että solut pystyvät kompensoimaan näitä prosesseja hyvinkin pitkään, mikä on hoidon kannalta mielenkiintoista. Patogeneesin vielä tarkemmaksi ymmärtämiseksi tarvitaan voimakasta satsausta perustutkimukseen, ja samalla on seulottava lääkeaineita, jotka kykenevät säätelemään jo havaittuja patologisia prosesseja. Jos tutkimuksen vauhti jatkuu, niin *C9orf72*-geenin toistojaksopidentymästä johtuvat taudit saattavat jo lähitulevaisuudessa olla perusmekanismeihin perustuvan hoidon ulottuvissa. ■

PENTTI TIENARI, LT, professori, osastonylilääkäri
MIKO VALORI, FM
HANNU LAAKSOVIRTA, LL, osastonlääkäri
Neurologian klinikka, HYKS
Helsingin yliopisto, molekyylineurologia, tutkimusohjelmayksikkö

ANNA KIVIHARJU, FM
Helsingin yliopisto, molekyylineurologia, tutkimusohjelmayksikkö

DAN LINDHOLM, LKT, professori
Helsingin yliopisto, biokemia ja kehitysbiologia, biolääketieteen laitos

SIDONNAISUUDET

Pentti Tienari: Apuraha (American ALS Foundation, Merck, Microsoft Research Foundation, Sigrid Juséliuksen säätiö), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Beyer-Schering, Biogen, Genzyme, Merck), luentopalkkio (Beyer-Schering, Biogen, Genzyme, Merck), patentti (C9ORF72 gene, diagnosing neurodegenerative disease)

Anna Kiviharju: Apuraha (Sigrid Juséliuksen säätiö)

Miko Valori: Apuraha (Sigrid Juséliuksen säätiö)

Dan Lindholm, Hannu Laaksovirta: Ei sidonnaisuuksia

SUMMARY

The pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis and frontal lobe dementia is unraveling: pathology of the nucleus and glutamate sensitivity

The mechanisms of neurodegenerative diseases have begun to become unraveled, thanks to the progress in stem cell research. The repeat expansion in the C9ORF72 gene was identified in 2011 as the most common genetic cause of both ALS and frontal lobe dementia. Only over a couple of years the disease mechanisms of this mutation have been revealed and treatment trials have already been conducted in nerve cell cultures differentiated from patients' stem cells. We discuss the role of the repeat expansion in the C9ORF72 gene in the epidemiology of the diseases and the resulting disturbances in nerve cell function.

KIRJALLISUUTTA

1. Renton AE, Majounie E, Waite A, ym. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. Neuron 2011;72: 257–68.
2. DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, ym. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. Neuron 2011;72:245–56.
3. Majounie E, Renton AE, Mok K, ym. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. Lancet Neurol 2012;11:323–30.
4. Smith BN, Newhouse S, Shatunov A, ym. The C9ORF72 expansion mutation is a common cause of ALS+/-FTD in Europe and has a single founder. Eur J Hum Genet 2013;21:102–8.
5. Kaivorinne AL, Bode MK, Paavola L, ym. Clinical characteristics of C9ORF72-linked frontotemporal lobar degeneration. Dement Geriatr Cogn Dis Extra 2013;3:251–62.
6. Beck J, Poulter M, Hensman D, ym. Large C9orf72 hexanucleotide repeat expansions are seen in multiple neurodegenerative syndromes and are more frequent than expected in the UK population. Am J Hum Genet 2013;92:345–53.
7. Lesage S, Le Ber I, Condroyer C, ym. C9orf72 repeat expansions are a rare genetic cause of parkinsonism. Brain 2013; 136(Pt 2):385–91.
8. Byrne S, Heverin M, Elamin M, Walsh C, Hardiman O. Intermediate repeat expansion length in C9orf72 may be pathological in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2014;15:148–50.
9. Mok K, Traynor BJ, Schymick J, ym. Chromosome 9 ALS and FTD locus is probably derived from a single founder. Neurobiol Aging 2012;33:209.
10. Mori K, Weng SM, Arzberger T, ym. The C9orf72 GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTLD/ALS. Science 2013;339:1335–8.
11. Ash PE, Bieniek KF, Gendron TF, ym. Unconventional translation of C9ORF72 GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. Neuron 2013;77:639–46.
12. Zu T, Liu Y, Bañez-Coronel M, ym. RAN proteins and RNA foci from antisense transcripts in C9ORF72 ALS and frontotemporal dementia. Proc Natl Acad Sci U S A 2013;110:E4968–77.
13. Zu T, Gibbens B, Doty NS, ym. Non-ATG–initiated translation directed by microsatellite expansions. Proc Natl Acad Sci U S A 2011;108:260–5.
14. Bochman ML, Paeschke K, Zakian VA. DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures. Nat Rev Genet 2012;13:770–80.
15. Farg MA, Sundaramoorthy V, Sultana JM, ym. C9ORF72, implicated in amytrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia, regulates endosomal trafficking. Hum Mol Genet 2014;23:3579–95.
16. Laaksovirta H, Peuralinna T, Schymick JC, ym. Chromosome 9p21 in amyotrophic lateral sclerosis in Finland: a genome-wide association study. Lancet Neurol 2010;9:978–85.
17. Donnelly CJ, Zhang PW, Pham JT, ym. RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention. Neuron 2013;80:415–28.
18. Hideyama T, Yamashita T, Suzuki T, ym. Induced loss of ADAR2 engenders slow death of motor neurons from Q/R site-unedited GluR2. J Neurosci 2010;30: 11917–25.
19. Zhang K, Donnelly CJ, Haeusler AR, ym. The C9orf72 repeat expansion disrupts nucleocytoplasmic transport. Nature 2015;525:56–61.
20. Freibaum BD, Lu Y, Lopez-Gonzalez R, ym. GGGGCC repeat expansion in C9orf72 compromises nucleocytoplasmic transport. Nature 2015;525:129–33.
21. Haeusler AR, Donnelly CJ, Periz G, ym. C9orf72 nucleotide repeat structures initiate molecular cascades of disease. Nature 2014;507:195–200.
22. Yamashita T, Hideyama T, Hachiga K, ym. A role for calpain-dependent cleavage of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis pathology. Nat Commun 2012;3:1307.
23. Mizielinska S, Grönke S, Niccoli T, ym. C9orf72 repeat expansions cause neurodegeneration in Drosophila through arginine-rich proteins. Science 2014;345: 1192–4.
24. Miller TM, Pestronk A, David W, ym. An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study. Lancet Neurol 2013;12:435–42.
25. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole study group. N Engl J Med 1994;330:585–91.