

应激颗粒，FUS相关肌萎缩侧索硬化症的治疗新靶点

周钰林，宋 振，金志刚*

浙江师范大学，化学与生命科学学院，浙江 金华

收稿日期：2022年1月11日；录用日期：2022年2月18日；发布日期：2022年2月23日

摘 要

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种引起上、下运动神经元退化的神经退行性疾病，其病理学的确切机制尚不清楚。与ALS相关的病理过程包括线粒体功能障碍、蛋白质稳态失衡和RNA代谢缺陷。在ALS患者退化的运动神经元中FUS蛋白形成了不溶性聚集体，而ALS相关的FUS突变加速了该过程。近年来很多研究表明，应激颗粒(stress granules, SGs)在FUS突变引起蛋白病变并驱动ALS进展的过程中发挥了重要作用。SGs是真核细胞响应压力形成的一种动态无膜细胞器，主要包含暂停翻译的mRNA和RNA结合蛋白。SGs通过招募mRNA调控了翻译，通过招募信号分子调控了信号通路，从而促进了细胞在压力下的适应和存活。然而，多种慢性压力诱导的SGs具有致病作用。SGs被认为在很多神经退行性疾病病理性蛋白质聚集体的产生过程中发挥了“成核种子”的作用，包括FUS突变引起的蛋白质聚集体。本文主要就SGs在FUS相关ALS病理发生中的作用及其靶向治疗策略做一简要概述和讨论。

关键词

应激颗粒，FUS，肌萎缩侧索硬化，神经退行性疾病

Stress Granules, a Novel Therapeutic Target of FUS-Related Amyotrophic Lateral Sclerosis

Yulin Zhou, Zhen Song, Zhigang Jin*

College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang

Received: Jan. 11th, 2022; accepted: Feb. 18th, 2022; published: Feb. 23rd, 2022

*通讯作者。

文章引用：周钰林，宋振，金志刚. 应激颗粒，FUS 相关肌萎缩侧索硬化症的治疗新靶点[J]. 生物医学, 2022, 12(2): 55-65. DOI: 10.12677/hjbm.2022.122007

Abstract

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease that causes degeneration of upper and lower motor neurons. The exact mechanisms underlying the pathogenesis of ALS remain elusive. Many pathological processes are associated with ALS, including mitochondrial dysfunction, loss of proteostasis and defect in RNA metabolism. FUS protein develops insoluble aggregation in degenerated motor neurons of ALS patients, which is accelerated by ALS-linked FUS mutations. Recently, many studies have shown that stress granules (SGs) play an important role in proteinopathy of mutated FUS that drives ALS progression. SGs are stress-induced dynamic membraneless organelle in eukaryotic cells, containing translation-stalled mRNAs and RNA binding proteins. SGs regulate mRNA translation and signaling pathways by recruitment of mRNAs and signaling proteins respectively, leading to stress adaption and cell survival. However, SGs induced by some chronic stress exert pathological outcomes and are believed to act as a seed for the formation of pathological protein aggregation in many neurodegenerative diseases, including FUS mutations-induced protein aggregation. Here we briefly summarized and discussed the role of SGs in the pathogenesis of FUS-related ALS and the therapeutic strategy targeting SGs.

Keywords

Stress Granules, FUS, Amyotrophic Lateral Sclerosis, Neurodegenerative Disease

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. FUS 相关 ALS

1.1. ALS 致病基因

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种神经退行性疾病。发病者由局部肌无力、抽搐和疼痛开始,逐渐扩散至全身骨骼肌肉群。ALS 的发病年龄、发病部位和疾病进展具有高度的可变性,大多患者在诊断后 3~5 年因瘫痪扩散到隔膜导致的呼吸衰竭而死[1]。尽管有些药物能够缓解 ALS 症状,但目前尚未有彻底治愈 ALS 的有效疗法[2]。

大约 10%的 ALS 病例为家族性 ALS,大多数家族性 ALS 为常染色体显性遗传,另外约 90%的 ALS 病例为无家族病史且病因不明的散发性 ALS。最近报道大约有 147 种基因突变能够导致 ALS 发病[3]。其中 *C9orf72* 重复扩增以及 *SOD1* (superoxide dismutase 1), *TARDBP* (TAR DNA-binding protein), *FUS* (fused in sarcoma)和 *TBK1* (TANK-binding kinase 1)的基因突变占据了 15%的 ALS 总病例[4]。这些基因与疾病的多个不同的生理过程相关,包括轴突运输、内质网应激、自噬、核质运输和 RNA 代谢等[1]。*C9orf72* 重复扩增和 *SOD1* 突变是导致 ALS 的最普遍的遗传原因, *C9orf72* 重复扩增突变会导致功能丧失引起的神经变性和功能获得引起的神经兴奋性毒性[5]。*SOD1* 突变会使超氧化物清除能力丧失,影响线粒体功能,并改变神经胶质细胞的功能[6] [7]。虽然 *FUS* 突变和 *TARDBP* 基因编码的 TDP-43 突变略少于 *C9orf72* 和 *SOD1*,但是 TDP-43 的异常亚细胞定位在家族性和散发性 ALS 中很常见,而不局限于 TDP-43 突变引起的 ALS。97%的散发性 TDP-43 突变导致其突变蛋白错定位,并且损伤线粒体功能[8] [9]。迄今为止,由 *FUS* 的基因突变引发的 ALS 约占 5%家族性 ALS 和 1%散发性 ALS。家族性 ALS 中,已发现的 50 多

种 FUS 突变大多集中于 C 末端的脯氨酸 - 酪氨酸核定位信号(proline-tyrosine nuclear localization signal, PY-NLS) [10]。这些 FUS 突变导致其突变蛋白错定位于神经元细胞质、轴突和树突而导致神经毒性 [11]。最近的研究指出, ALS 患者中 FUS 的错定位或许是个新的分子诊断标志[12] [13]。

1.2. FUS 与 ALS

FUS 基因突变是仅次于 SOD1 的常见 ALS 基因突变。FUS 最初在研究粘液样脂肪肉瘤中的嵌合癌蛋白时,发现其属于 FET 家族蛋白[14]。组成 FUS 蛋白的结构域从 N 端到 C 端分别为谷氨酰胺 - 甘氨酸 - 丝氨酸 - 酪氨酸富集区域(QGSY-rich domain)、精氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸富集结构域 1 (arginine-glycine-glycine rich domains 1, RGG1)、RNA 识别结构域(RNA-recognition motifs, RRM)、RGG2、RGG3 和 PY-NLS。QGSY 结构域和 RGG1 组成的低复杂性的保守 N 端区域,主要驱动液 - 液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)并介导蛋白质 - 蛋白质相互作用[15]。FUS 蛋白的 C 端负责识别并结合 RNA [16]。最后 29 个氨基酸组成 PY-NLS,调控 FUS 的入核[17]。FUS 蛋白可通过结合 mRNA 3'UTR 调控 300 多种 mRNA 的稳定性,并在 RNA 转录、剪接、转运和翻译以及 DNA 损伤修复等多个过程中发挥作用[18] [19]。FUS 突变集中于 PY-NLS 附近,并且会引起正常功能的丧失以及功能获得细胞毒性。虽然两者均是导致 ALS 的重要因素,但目前研究表明细胞毒性的功能获得可能是 FUS 相关 ALS 病理发生中的主导因素[11]。

FUS 突变可导致蛋白翻译受损,并激活无义介导的 mRNA 降解(nonsense-mediated decay, NMD)相关蛋白的活性,最终导致 NMD 相关因子的失调[20]。能量代谢与 ALS 的发生、发展有关,FUS 突变导致线粒体 ATP 合成受损并诱导神经变性,但与代谢的关系研究还是处于起步阶段[21] [22]。过表达 FUS 突变会引起显性负效应(dominant negative effect),将过表达的野生型 FUS 一同隔离,共同形成蛋白质聚集体,会导致野生型 FUS 的功能丧失并引起细胞毒性[23] [24]。但相反的是,最近研究指出野生型 FUS 也会将突变 FUS 滞留在细胞核,但无法确定突变 FUS 的核滞留是保护性的还是有害的[25] [26],这种现象提示了 FUS 突变可能导致野生型 FUS 定位逐渐从细胞核转向细胞质,这可能与 FUS 的突变位点和蛋白质聚集体的进展阶段相关。值得注意的是,过表达野生型 FUS 足以降低细胞活力,使细胞周期调控异常 [27]。与 TDP-43 类似,与 FUS 突变无关的 ALS 患病模型中也观察到了 FUS 蛋白的明显错定位,错定位的 FUS 会丧失与细胞核 mRNA 前体的结合能力,进而导致神经变性。因此,FUS 蛋白的错定位可以作为一个新的分子诊断标志[12] [13]。

2. 应激颗粒与 ALS

2.1. ALS 的蛋白病特征

神经元的非分裂及寿命较长等特性导致神经元更容易受到病理性聚集体的影响,这些病理性聚集体包含了许多 RNA 结合蛋白(RNA-binding proteins, RBPs),如 TDP-43、FUS 和 hnRNP A1 等,这些 RBPs 同时也是应激颗粒(stress granules, SGs)的蛋白组分。RBPs 突变会导致蛋白在神经元中的长期积累并引发不溶性聚集体及细胞毒性,从而促进神经元变性和凋亡[28]。因此,ALS 是一种典型的蛋白病(proteinopathy)。SGs 的动态变化与 ALS 的发生和发展密切相关,近年来与其相关的研究正逐渐增加。

2.2. SGs 及其与 ALS 的关联

当真核细胞暴露于不利生长条件时,暂停翻译的 RNA 和蛋白质会发生 LLPS,在细胞质中组装形成生物大分子凝聚体,即 SGs。通常,SGs 的发生伴随着翻译起始因子 2 α (eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α) 的磷酸化和总体翻译的停滞。eIF2 α 的磷酸化由 4 种蛋白激酶负责,包括 HRI (heme-regulated eIF2 α kinase)、

PKR (protein kinase R)、GCN2 (general control nonderepressible 2)和 PERK (PKR-like endoplasmic reticulum kinase)。此外,抑制 eIF4A、eIF4E 和 eIF4G 形成复合物 eIF4F 也能以不依赖于 eIF2 α 磷酸化的方式来诱导 SGs 形成[29]。SGs 是一种瞬时动态结构,这种动态与 SGs 成核蛋白的内在无序区(intrinsic disordered regions, IDRs)特性相关,一些 SGs 成核蛋白(如 G3BP1、TIA-1、和 Caprin1 等 RBPs)和 RNAs 组成蛋白浓度较高的 SGs 核心,而低浓度、高动态的蛋白质形成 SGs 外壳并包裹着 SGs 内核,进而形成一种与邻近 SGs 胞浆中蛋白质和 mRNA 动态交换的平衡状态,这构成了 SGs 快速、短暂和可逆地响应压力的基础,有利于细胞在压力来临时快速组装 SGs 以及适应或消除压力后可逆地解聚 SGs [30]。

SGs 性质取决于细胞的能量状态、翻译重新起始速率、蛋白质翻译后修饰、RNA 修饰、分子伴侣和自噬清除等[30] [31] [32]。SGs 蛋白募集和交换速率是能量依赖的,抑制 ATP 相关酶活性会影响其动力学[31]。哺乳动物 SGs 组分中 Hsp70 和 Hsp40 是分子伴侣,可调节颗粒的形成和分离[30]。研究发现,位于 SGs 成核蛋白 IDRs 附近的多种修饰会影响 SGs 组装[32],例如去甲基化的 G3BP1 可以促进 SGs 组装[33]。在自噬缺陷细胞中,SGs 解聚受损并影响衰老的神经细胞 SGs 数量[34]。总而言之,SGs 是一个动态的过程,这种过程的异常会引发一系列的疾病。

通常生理疾病会使细胞面对热休克、化学刺激等急性应激,这种急性压力较容易补偿,而持续的蛋白质稳态失衡、低浓度毒素刺激或病毒感染等慢性压力对细胞的影响可能更加严重。在 FUS 相关 ALS 中,慢性压力使细胞形成较小的 FUS 蛋白颗粒,这种不溶性颗粒可能与 SGs 重合,也可能独立于 SGs,但颗粒的发展均与 SGs 相关。ALS 患者脑组织中常见的病变特征是 RBPs 因突变从核内转变为细胞质聚集性表达,聚集体逐渐纤维化并影响神经细胞活性和神经传导等[35]。在神经细胞中一些 SGs 蛋白具有细胞特异性和压力特异性。例如,Profilin 1 是一种定位于神经细胞但不定位于外周细胞 SGs 中的肌动蛋白结合蛋白,而 FMR1 (FMRP translational regulator 1)特异性定位于神经细胞中的 SGs [36]。在神经细胞中,SGs 组分的不同是否是 ALS 突变造成不同毒性的原因还值得探究。目前研究表明 SGs 与 ALS 的关联主要体现在:一方面,SGs 作为“成核种子”起始了蛋白质聚集体的形成过程,导致蛋白质正常功能的丧失及其细胞毒性的功能获得;另一方面,蛋白质聚集体形成后促进了动态可逆的正常 SGs 转变为持续不可逆的异常 SGs,导致了 SGs 具有的细胞保护性功能的丧失。

3. SGs 与 FUS 相关 ALS

3.1. FUS 突变体错定位于 SGs

野生型 FUS 定位于细胞核中, *Importins* 和 *TNPO1* 基因编码的 Kap β 2 蛋白通过结合 FUS 蛋白 C 末端的 PY-NLS 促进了 FUS 的核定位。ALS 患者中, FUS 突变主要发生于 PY-NLS,从而导致了 FUS 蛋白的错定位(图 1)。这种错定位影响了蛋白间的相互作用、核质转运以及 FUS 蛋白参与的 mRNA 剪接与合成等过程,并逐渐产生神经毒性[37] [38] [39]。FUS 主要结合细胞核中未成熟的 mRNA,由于 FUS 突变导致的错定位, FUS 与胞质中成熟 mRNA 异常结合,导致 mRNA 的稳定性及转运的异常[40] [41]。有研究报道, FUS 突变与 snRNA 异常的相互作用影响了相关 mRNA 剪接调节机制[42]。在果蝇模型中,抑制 FUS 出核可以降低突变 FUS 在胞质中功能获得的细胞毒性[43]。

细胞在受到热休克、亚砷酸钠或山梨糖醇等压力时,整体蛋白质合成被抑制, FUS 突变体错定位于 SGs。目前, FUS 突变体在急性应激诱导的 SGs 中的错定位已经得到了验证,但是对于慢性压力诱导的 SGs 研究较少[44]。急性和慢性 SGs 的蛋白质组成略有不同,但却导致了极大的功能差异。急性 SGs 包含翻译暂停的 mRNA、40S 核糖体和翻译起始因子,保留了 mRNA 在压力消除后返回多聚核糖体重启翻译的能力,急性 SGs 还招募了细胞凋亡相关信号通路的信号分子并抑制压力诱导的细胞凋亡。因此,急

性 SGs 具有促进压力下细胞存活的功能。相比之下,慢性 SGs 具有静态结构,包含不同的蛋白质组分并具有促凋亡功能。ALS 患者发病通常持续 3~6 年,这种慢性压力会导致细胞 RNA 代谢脆弱性并使 RBPs 在 SGs 中产生病理性聚集[45]。SGs 作为 RBPs 的富集中心,加剧了 FUS 突变体的在慢性压力下的毒性作用,并成为 ALS 的分子标志[13] [46]。

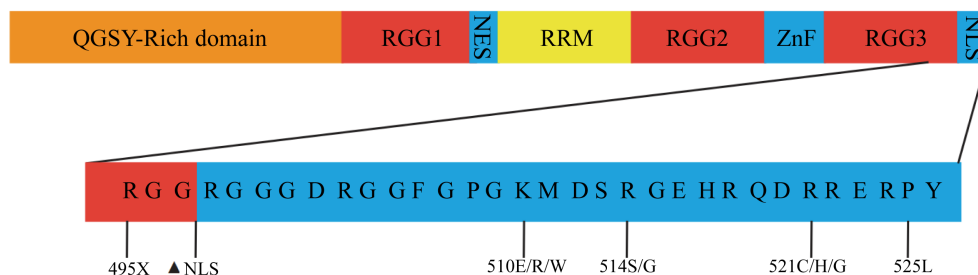


Figure 1. The most frequent FUS mutations associated with ALS patients occur within or close to C-terminal PY-NLS

图 1. ALS 患者中的常见 FUS 突变发生于 C 末端的 PY-NLS 及其邻近区域

3.2. SGs 与 FUS R521 突变

FUS 蛋白 521 位的精氨酸(R521)是常见的 FUS 突变位点,通常突变为半胱氨酸(R521C)、组氨酸(R521H)或甘氨酸(R521G)。研究发现,R521H 可诱导 DNA 损伤[47]。在运动神经元中加入表达 R521G 的星形胶质细胞产生的条件培养基可导致神经元产生广泛的分支和较短的轴突[48]。有趣的是,研究发现内源 R521G 突变可以与过表达的野生型 FUS 形成异二聚体并滞留在细胞核,提示过表达的野生型 FUS 可减弱 FUS 突变引起的细胞质毒性[26]。在应激条件下,R521C 和 R521H 主要定位于细胞核,部分定位于 SGs [47] [49]。FUS 突变引起的错定位改变 SGs 的大小、组分和动态,最终引起神经元凋亡。例如,R521C 诱导了 TIA-1 错误加工,增强了神经毒性[50]。R521C 通过将 RPMT1 (protein arginine methyltransferase 1)隔离在 SGs 中或将 ELAVL4 (ELAV like RNA binding protein 4)隔离在 FUS 阳性包涵体中,导致细胞稳态发生变化并诱导了神经退化[40] [51]。FUS 突变聚集体还可以隔离核编码呼吸链复合体 mRNA,并引起线粒体功能障碍[41]。在自噬缺陷细胞中,SGs 解聚受损,R521C 阳性颗粒增多,诱导相关 ALS 病变[52]。在动物模型中,R521C 或 R521H 突变后的 8 个月,小鼠发生了年龄依赖性的神经病变[37]。进一步研究发现,在敲入 R521C 的动物模型中,小鼠运动能力受损,大鼠产生睡眠障碍和昼夜节律失调[50] [53]。有趣的是,R521H 突变在遗传矫正为 R521R 后拯救了 R521H 突变的负面影响,表明单突变及其纠正足以引起和治愈该疾病[54]。

3.3. SGs 与 FUS P525 突变

第 525 位脯氨酸突变为亮氨酸(P525L),也是 ALS 患者中的常见 FUS 突变。因该突变发生于 PY-NLS 中的关键氨基酸,P525L 存在比 R521 突变更强烈的细胞质定位,核转运蛋白 Kap β 2 无法将其定位于核内[55] [56]。与 R521 突变类似的是,P525L 与 ELAVL4 共定位,能够诱导 DNA 损伤[40] [47] [51]。很多研究报导了 P525L 产生的其他病理效应,如 P525L 损害了运动神经元中 miRNA-375 表达,进而影响下游靶基因 ELAVL4 [51]。P525L 诱导了 DNA 损伤并引起神经变性[57]。P525L 的表达阻止细胞增殖并促进神经胶质细胞分化[27]。研究者将野生型 FUS 锚定在细胞质后发现,野生型 FUS 并不定位于 SGs,但 P525L 与 SGs 共定位,提示胞质错位可能只是 FUS 错定位于 SGs 的其中一环[56]。在应激条件下,对比与其他散发性 ALS,P525L 胞质颗粒数量更多且持续时间更长[58]。细胞经紫外照射后,P525L 无法进

入 DNA 损伤位点, 提示 P525L 的错定位位于 ALS 病变的上游[57]。P525L 突变减弱与 ALS 相关蛋白的结合和降低 ALS 蛋白的表达, 并加速了 FUS 蛋白的病理性聚集[46]。P525L 突变抑制了运动神经元中 FMR1 的翻译, 并增强 FMR1 在细胞中的 LLPS [59]。

3.4. SGs 与 FUS 其它突变

在神经元中, 第 514 位精氨酸突变为甘氨酸(R514G)破坏了神经肌肉接头的形成, 并且改变了与线粒体蛋白的互作[60]。R514G 转基因小鼠在 12 月之后出现异常的运动表现和认知缺陷, 进一步发现 R514G 使 NMD、蛋白质稳态和线粒体功能均受到影响[61] [62]。第 495 位精氨酸突变为终止密码子(R495X), R495X 因为缺少 PY-NLS 序列而出现了强烈的细胞质定位以及与胞质中成熟的 mRNA 异常结合, 并在压力条件下与 SGs 共定位[63] [64] [65]。FUS- Δ NLS 的突变破坏了神经肌肉接头的形成, 并显著减少了线粒体数量及面积($p < 0.01$) [60]。在 FUS- Δ NLS 转基因小鼠中, FUS 错定位于胞质并引起皮质神经元过度活跃、抑制性突触缺陷和 RNA 水平失调等, 这些病理效应与 SGs 形成、内质网应激神经元损伤和蛋白质病联系紧密[66] [67] [68] [69]。缺失了 C 端最后 25 个氨基酸的 FUS 1-501 突变在线虫中抑制了突触后电流的减少, 并错定位于细胞质中[70]。最近研究指出, FUS N 端 IDR 区的突变具有两种倾向, 甘氨酸突变(第 165 位的甘氨酸突变为谷氨酸、第 178 位的甘氨酸突变为丝氨酸以及第 165 位的甘氨酸突变为缬氨酸)更倾向于自聚集, 与野生型 FUS 结合能力降低, 且竞争性结合同一 RNA。精氨酸突变(第 244 位精氨酸突变为半胱氨酸、第 216 位精氨酸突变为半胱氨酸以及第 521 位精氨酸突变为甘氨酸)更倾向于与野生型 FUS 形成异二聚体并改善其突变缺陷[71]。有趣的是, FUS 野生型并不定位于 SGs, 但是 FUS 的 LLPS 突变缺陷株可以抑制 SGs 形成, 提示 FUS 的 LLPS 突变异常隔离了 SGs 成核蛋白, 并可能破坏了正常 SGs 形成后具有的神经保护功能[72]。本文总结了 FUS 突变对其定位以及神经元功能的影响(图 2)。

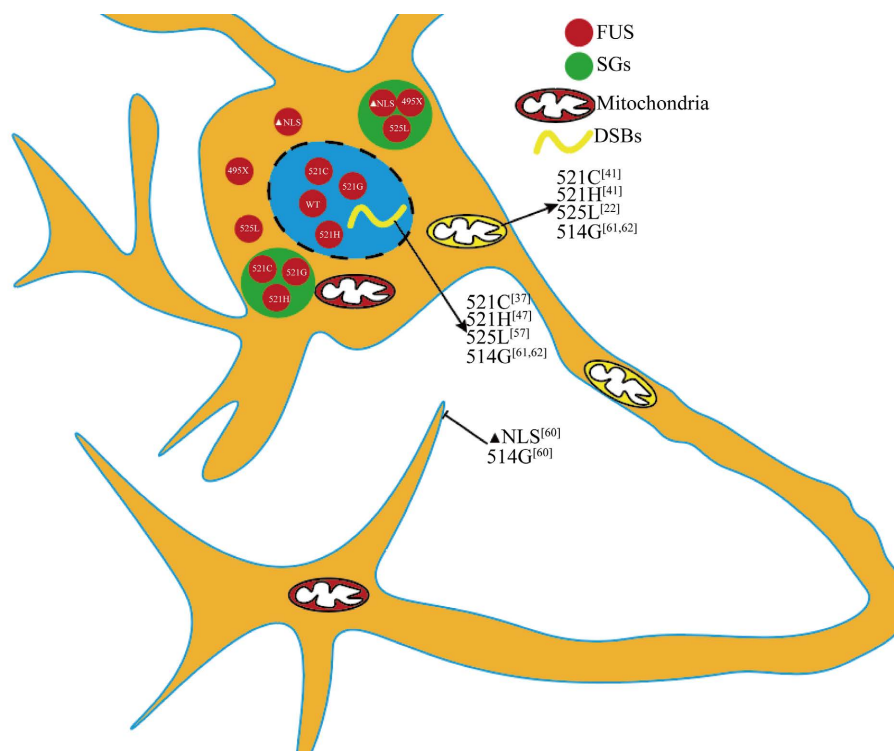


Figure 2. Subcellular localization and pathological function of ALS-linked FUS mutants in neuron
图 2. ALS 相关 FUS 突变体在神经元中的亚细胞定位及其病理功能

4. FUS 相关 ALS 的治疗新靶点

在 1980 年代末和 90 年代初, 研究者第一次发现 ALS 患者中的谷氨酸稳态受损, 过度、有害的谷氨酸信号引起的兴奋性毒性被认为是 ALS 运动神经元病变的基础或促成因素[73]。因此, 许多的治疗工作都集中在过度兴奋的神经元上。直到如今, 利鲁唑是唯一被证明有效的抗兴奋剂疗法[74]。依达拉奉作为一种自由基清除药物, 是唯一抗氧化治疗 ALS 的药物[75]。这两种药物由于其广谱性, 可用治疗家族性和散发性 ALS, 但是探寻这种优秀的药物很难, 几十年的 ALS 药物研发依旧未能找到治疗效果优于利鲁唑和依达拉奉的药物。于是部分研究者将注意力转移到家族性 ALS 上, 寻找精准治疗家族性 ALS 的策略。TDP-43 和 FUS 都是通常存在于细胞核中的 RBPs, 尽管它们经常在细胞核和细胞质之间穿梭。ALS 相关的 FUS 和 TDP-43 突变导致这种平衡的转变, 从而导致 FUS 和 TDP-43 错定位到细胞质中, 蛋白质的错定位是 ALS 诱发的一大关键病因, 也是与 ALS 患病紧密联系的前因。

最近, 研究者发现了以 FUS 为靶点的治疗药物。ALS 患者中的 HAT/HDAC 稳态发生改变, ALS 患者中的 FUS K510 出现乙酰化异常增加并定位于 SGs [76]。乙酰转移酶 CBP/p300 抑制剂 A-485 可以显著减少 FUS K510 的乙酰化, 并降低细胞毒性, 但对 ALS 的疗效还需进一步研究[76]。

最近研究揭示的 SGs 与 FUS 相关 ALS 的密切关联以及 SGs 在 FUS 相关 ALS 病理发生中的重要作用, 提示靶向 SGs 与 FUS 突变体的联系, 从而阻止 FUS 突变体错定位于 SGs, 可能会成为 FUS 相关 ALS 的一种新治疗策略。事实上, 最新的研究成果显示, 在应激条件下, Kap β 2 被招募到 SGs, 过表达 Kap β 2 并不影响 SGs 的形成, 但抑制了 FUS 在 SGs 中的积累, 改善了 FUS 相关 ALS 果蝇模型的运动能力[55]。在靶向 SGs 的小分子化合物的高通量筛选中发现, Cycloheximide、WS3、Quinacrine、Anisomycin、Mitoxantrone 和 Digitoxin 均可通过抑制 SGs 形成从而抑制运动神经元中 FUS 聚集体的形成, 降低了 FUS 错定位引起的神经毒性[77]。

5. 总结与展望

尽管我们在了解 ALS 的病理特征方面进行了广泛的研究并取得了很大进展, 但神经变性的确切机制和治疗方案仍然难以捉摸。蛋白质稳态受损和有毒蛋白质聚集是一种常见的病理特征, 它将许多神经退行性疾病结合在一起, 更好地了解这种蛋白质失衡背后的分子机制可能有助于我们了解 ALS 疾病生物学并确定治疗新靶点。在神经细胞中, RNA 剪接活动发生频繁, 而 RBPs 在其中扮演的角色还不得而知。目前大多数研究都集中在功能失调的蛋白质 - 蛋白质相互作用和相分离上。未来的研究可能需要关注聚集体动力学或 SGs 中的非必需成分的改变, 以期从其他角度揭示病理性 SGs 作为有毒蛋白质聚集体的“成核种子”的潜在分子途径。我们在本文中简要探讨了 SGs 在 FUS 相关 ALS 中的作用并列举了常见 FUS 突变的病理效应, 但还需进一步研究来解释为什么 ALS 相关蛋白的单一突变就足以引起 ALS。在 ALS 动物模型中, FUS 突变研究集中于其细胞质功能获得, 而细胞核功能丧失研究较少。ALS 患病原因多种, ALS 研究者普遍使用 SOD1 第 93 位的甘氨酸突变成丙氨酸(G93A)突变小鼠作为 ALS 模型, 导致药物临床进展缓慢。不同的 ALS 突变在病理发生中具有共性和个性的作用机制, 但容易忽略突变的个性机制。因此建立 ALS 多种突变的不同动物模型有助于我们了解不同突变的确切机制, 并进一步实现精准治疗。综上所述, 针对 SGs 与 FUS 相关 ALS 发病机制的深入研究并探索靶向 SGs 与 FUS 联系的治疗策略, 可能会在 FUS 相关 ALS 的药物研发中取得突破。

基金项目

国家自然科学基金(31970755), 浙江省自然科学基金(LY21C120001)。

参考文献

- [1] Dudman, J. and Qi, X. (2020) Stress Granule Dysregulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **14**, Article ID: 598517. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.598517>
- [2] Jaiswal, M.K. (2019) Riluzole and Edaravone: A Tale of Two Amyotrophic Lateral Sclerosis Drugs. *Medicinal Research Reviews*, **39**, 733-748. <https://doi.org/10.1002/med.21528>
- [3] Dervishi, I., Gozutok, O., Murnan, K., Gautam, M., Heller, D., Bigio, E. and Ozdinler, P.H. (2018) Protein-Protein Interactions Reveal Key Canonical Pathways, Upstream Regulators, Interactome Domains, and Novel Targets in ALS. *Scientific Reports*, **8**, Article ID: 14732. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32902-4>
- [4] Masrori, P. and van Damme, P. (2020) Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Clinical Review. *European Journal of Neurology*, **27**, 1918-2199. <https://doi.org/10.1111/ene.14393>
- [5] Shi, Y., Lin, S., Staats, K.A., Li, Y., Chang, W.H., Hung, S.T., *et al.* (2018) Haploinsufficiency Leads to Neurodegeneration in C9ORF72 ALS/FTD Human Induced Motor Neurons. *Nature Medicine*, **24**, 313-325. <https://doi.org/10.1038/nm.4490>
- [6] Song, W., Song, Y., Kincaid, B., Bossy, B. and Bossy-Wetzel, E. (2013) Mutant SOD1^{G93A} Triggers Mitochondrial Fragmentation in Spinal Cord Motor Neurons: Neuroprotection by SIRT3 and PGC-1 α . *Neurobiology of Disease*, **51**, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.07.004>
- [7] Bravo-Hernandez, M., Tadokoro, T., Navarro, M.R., Platoshyn, O., Kobayashi, Y., Marsala, S., *et al.* (2020) Spinal Subpial Delivery of AAV9 Enables Widespread Gene Silencing and Blocks Motoneuron Degeneration in ALS. *Nature Medicine*, **26**, 118-130. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0674-1>
- [8] Brown, R.H.J. and Al Chalabi, A. (2017) Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, **377**, Article No. 1602. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1710379>
- [9] Prasad, A., Bharathi, V., Sivalingam, V., Girdhar, A. and Patel, B.K. (2019) Molecular Mechanisms of TDP-43 Misfolding and Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **12**, Article No. 25. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00025>
- [10] Deng, H., Gao, K. and Jankovic, J. (2014) The Role of FUS Gene Variants in Neurodegenerative Diseases. *Nature Reviews Neurology*, **10**, 337-348. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.78>
- [11] Sharma, A., Lyashchenko, A.K., Lu, L., Nasrabady, S.E., Elmaleh, M., Mendelsohn, M., *et al.* (2016) ALS-Associated Mutant FUS Induces Selective Motor Neuron Degeneration through Toxic Gain of Function. *Nature Communications*, **7**, Article No. 10465. <https://doi.org/10.1038/ncomms10465>
- [12] Tyzack, G.E., Luisier, R., Taha, D.M., Neeves, J., Modic, M., Mitchell, J.S., *et al.* (2019) Widespread FUS Mislocalization Is a Molecular Hallmark of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain*, **142**, 2572-2580. <https://doi.org/10.1093/brain/awz217>
- [13] Harley, J., Hagemann, C., Serio, A. and Patani, R. (2020) FUS Is Lost from Nuclei and Gained in Neurites of Motor Neurons in a Human Stem Cell Model of VCP-Related ALS. *Brain*, **143**, e103. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa339>
- [14] Crozat, A., Aman, P., Mandahl, N. and Ron, D. (1993) Fusion of CHOP to a Novel RNA-Binding Protein in Human Myxoid Liposarcoma. *Nature*, **363**, 640-644. <https://doi.org/10.1038/363640a0>
- [15] Kato, M., Han, T.W., Xie, S., Shi, K., Du, X., Wu, L.C., *et al.* (2012) Cell-Free Formation of RNA Granules: Low Complexity Sequence Domains form Dynamic Fibers within Hydrogels. *Cell*, **149**, 753-767. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.017>
- [16] Loughlin, F.E., Lukavsky, P.J., Kazeeva, T., Reber, S., Hock, E.M., Colombo, M., *et al.* (2019) The Solution Structure of FUS Bound to RNA Reveals a Bipartite Mode of RNA Recognition with Both Sequence and Shape Specificity. *Molecular Cell*, **73**, 490-504.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.11.012>
- [17] Dormann, D., Rodde, R., Edbaue, R.D., Bentmann, E., Fischer, I., Hruscha, A., *et al.* (2010) ALS-Associated Fused in Sarcoma (FUS) Mutations Disrupt Trans portin-Mediated Nuclear Import. *EMBO Journal*, **29**, 2841-2757. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.143>
- [18] Kapeli, K., Pratt, G.A., Vu, A.Q., Hutt, K.R., Martinez, F.J., Sundararaman, B., *et al.* (2016) Distinct and Shared Functions of ALS-Associated Proteins TDP-43, FUS and TAF15 Revealed by Multisystem Analyses. *Nature Communications*, **7**, Article No. 12143. <https://doi.org/10.1038/ncomms12143>
- [19] Sama, R.R., Ward, C.L. and Bosco, D.A. (2014) Functions of FUS/TLS from DNA Repair to Stress Response: Implications for ALS. *ASN Neuro*, **6**, 1-18. <https://doi.org/10.1177/1759091414544472>
- [20] Kamelgarn, M., Chen, J., Kuang, L., Jin, H., Kasarskis, E.J. and Zhu, H. (2018) ALS Mutations of FUS Suppress Protein Translation and Disrupt the Regulation of Nonsense-Mediated Decay. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**, E11904-E13. <https://doi.org/10.1073/pnas.1810413115>
- [21] Vandoorne, T., Veys, K., Guo, W., Sicart, A., Vints, K., Swijsen, A., *et al.* (2019) Differentiation but Not ALS Mutations

- in FUS Rewires Motor Neuron Metabolism. *Nature Communications*, **10**, Article No. 4147. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12099-4>
- [22] Deng, J., Wang, P., Chen, X., Cheng, H., Liu, J., Fushimi, K., *et al.* (2018) FUS Interacts with ATP Synthase Beta Subunit and Induces Mitochondrial Unfolded Protein Response in Cellular and Animal Models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**, E9678-E9686. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806655115>
- [23] Sabatelli, M., Moncada, A., Conte, A., Lattante, S., Marangi, G., Luigetti, M., *et al.* (2013) Mutations in the 3' Untranslated Region of FUS Causing FUS Overexpression Are Associated with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Human Molecular Genetics*, **22**, 4748-4755. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt328>
- [24] Vance, C., Scotter, E.L., Nishimura, A.L., Troakes, C., Mitchell, J.C., Kathe, C., *et al.* (2013) ALS Mutant FUS Disrupts Nuclear Localization and Sequesters Wild-Type FUS within Cytoplasmic Stress Granules. *Human Molecular Genetics*, **22**, 2676-88. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt117>
- [25] An, H., Skelt, L., Notaro, A., Highley, J.R., Fox, A.H., La, B.V., *et al.* (2019) ALS-Linked FUS Mutations Confer Loss and Gain of Function in the Nucleus by Promoting Excessive Formation of Dysfunctional Paraspeckles. *Acta Neuropathologica Communications*, **7**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0658-x>
- [26] Don, E.K., Maschirow, A., Radford, R.A.W., *et al.* (2021) *In Vivo* Validation of Bimolecular Fluorescence Complementation (BiFC) to Investigate Aggregate Formation in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Molecular Neurobiology*, **58**, 2061-2074. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02238-0>
- [27] Stronati, E., Biagioni, S., Fiore, M., Giorgi, M., Poiana, G., Toselli, C., *et al.* (2021) Wild-Type and Mutant FUS Expression Reduce Proliferation and Neuronal Differentiation Properties of Neural Stem Progenitor Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No.7566. <https://doi.org/10.3390/ijms22147566>
- [28] Ryan, V.H. and Fawzi, N.L. (2019) Physiological, Pathological, and Targetable Membraneless Organelles in Neurons. *Trends in Neurosciences*, **42**, 693-708. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.08.005>
- [29] Advani, V.M. and Ivanov, P. (2020) Stress Granule Subtypes: An Emerging Link to Neurodegeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **77**, 4827-4845. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03565-0>
- [30] Protter, D.S.W. and Parker, R. (2016) Principles and Properties of Stress Granules. *Trends in Cell Biology*, **26**, 668-679. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.05.004>
- [31] Jain, S., Wheeler, J.R., Walters, R.W., Agrawal, A., Barsic, A. and Parker, R. (2016) ATPase-Modulated Stress Granules Contain a Diverse Proteome and Substructure. *Cell*, **164**, 487-498. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.038>
- [32] Panas, M.D., Ivanov, P. and Anderson, P. (2016) Mechanistic Insights into Mammalian Stress Granule Dynamics. *The Journal of Cell Biology*, **215**, 313-323. <https://doi.org/10.1083/jcb.201609081>
- [33] Tsai, W.C., Gayatri, S., Reineke, L.C., Sbardella, G., Bedford, M.T. and Lloyd, R.E. (2016) Arginine Demethylation of G3BP1 Promotes Stress Granule Assembly. *The Journal of Biological Chemistry*, **291**, 22671-22685. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.739573>
- [34] Omer, A., Patel, D., Moran, J.L., Lian, X.J., Di, M.S. and Gallouzi, I.E. (2020) Autophagy and Heat-Shock Response Impair Stress Granule Assembly during Cellular Senescence. *Mechanisms of Ageing and Development*, **192**, Article ID: 111382. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111382>
- [35] Janssens, J., Wils, H., Kleinberger, G., Joris, G., Cuijt, I., Ceuterick-de, G.C., *et al.* (2013) Overexpression of ALS-Associated p.M337V Human TDP-43 in Mice Worsens Disease Features Compared to Wild-Type Human TDP-43 Mice. *Molecular Neurobiology*, **48**, 22-35. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8427-5>
- [36] Hensel, N. and Claus, P. (2018) The Actin Cytoskeleton in SMA and ALS: How Does It Contribute to Motoneuron Degeneration? *Neuroscientist*, **24**, 54-72. <https://doi.org/10.1177/1073858417705059>
- [37] Lopez-Erauskin, J., Tadokoro, T., Baughn, M.W., Myers, B., McAlonis-Downes, M., Chillon-Marinias, C., *et al.* (2018) ALS/FTD-Linked Mutation in FUS Suppresses Intra-Axonal Protein Synthesis and Drives Disease without Nuclear Loss-of-Function of FUS. *Neuron*, **100**, 816-830.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.044>
- [38] Groen, E.J., Fumoto, K., Blokhuis, A.M., Engelen-Lee, J., Zhou, Y., Heuvel, D.M., *et al.* (2013) ALS-Associated Mutations in FUS Disrupt the Axonal Distribution and Function of SMN. *Human Molecular Genetics*, **22**, 3690-3704. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt222>
- [39] Lin, Y.C., Kumar, M.S., Ramesh, N., Anderson, E.N., Nguyen, A.T., Kim, B., *et al.* (2021) Interactions between ALS-linked FUS and Nucleoporins Are Associated with Defects in the Nucleocytoplasmic Transport Pathway. *Nature Neuroscience*, **24**, 1077-1088. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00859-9>
- [40] Jun, M.H., Ryu, H.H., Jun, Y.W., Liu, T., Li, Y., Lim, C.S., *et al.* (2017) Sequestration of PRMT1 and Ndl-L mRNA into ALS-linked FUS Mutant R521C-Positive Aggregates Contributes to Neurite Degeneration upon Oxidative Stress. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 40474. <https://doi.org/10.1038/srep40474>

- [41] Tsai, Y.L., Coady, T.H., Lu, L., Zheng, D., Alland, I., Tian, B., *et al.* (2020) ALS/FTD-Associated Protein FUS Induces Mitochondrial Dysfunction by Preferentially Sequestering Respiratory Chain Complex mRNAs. *Genes & Development*, **34**, 785-805. <https://doi.org/10.1101/gad.335836.119>
- [42] Jutzi, D., Campagne, S., Schmidt, R., Reber, S., Mechttersheimer, J., Gypas, F., *et al.* (2020) Aberrant Interaction of FUS with the U1 snRNA Provides a Molecular Mechanism of FUS Induced Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Communications*, **11**, Article No. 6341. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20191-3>
- [43] Steyaert, J., Scheveneels, W., Vanneste, J., Van, D.P., Robberecht, W., Callaerts, P., *et al.* (2018) FUS-Induced Neurotoxicity in *Drosophila* Is Prevented by Downregulating Nucleocytoplasmic Transport Proteins. *Human Molecular Genetics*, **27**, 4103-4116. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy303>
- [44] Reineke, L.C. and Neilson, J.R. (2019) Differences between Acute and Chronic Stress Granules, and How These Differences May Impact Function in Human Disease. *Biochemical Pharmacology*, **162**, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.10.009>
- [45] Wolozin, B. and Ivanov, P. (2019) Stress Granules and Neurodegeneration. *Nature Reviews Neuroscience*, **20**, 649-666. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0222-5>
- [46] Marrone, L., Drexler, H.C.A., Wang, J., Tripathi, P., Distler, T., Heisterkamp, P., *et al.* (2019) FUS Pathology in ALS is Linked to Alterations in Multiple ALS-Associated Proteins and Rescued by Drugs Stimulating Autophagy. *Acta Neuropathologica*, **138**, 67-84. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01998-x>
- [47] Wang, H., Guo, W., Mitra, J., Hegde, P.M., Vandoorne, T., Eckelmann, B.J., *et al.* (2018) Mutant FUS Causes DNA Ligation Defects to Inhibit Oxidative Damage Repair in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Communications*, **9**, Article No. 3683. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06111-6>
- [48] Kia, A., Mcavoy, K., Krishnamurthy, K., Trotti, D. and Pasinelli, P. (2018) Astrocytes Expressing ALS-Linked Mutant FUS Induce Motor Neuron Death through Release of Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Glia*, **66**, 1016-1033. <https://doi.org/10.1002/glia.23298>
- [49] Lenzi, J., De Santis, R., De Turre, V., Morlando, M., Laneve, P., Calvo, A., *et al.* (2015) ALS Mutant FUS Proteins Are Recruited into Stress Granules in Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Motoneurons. *Disease Models & Mechanisms*, **8**, 755-766. <https://doi.org/10.1242/dmm.020099>
- [50] Zhang, X., Wang, F., Hu, Y., Chen, R., Meng, D., Guo, L., *et al.* (2020) *In Vivo* Stress Granule Misprocessing Evidenced in a FUS Knock-In ALS Mouse Model. *Brain*, **143**, 1350-1367. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa076>
- [51] De Santis, R., Alfano, V., De Turre, V., Colantoni, A., Santini, L., Garone, M.G., *et al.* (2019) Mutant FUS and ELAVL4 (HuD) Aberrant Crosstalk in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cell Reports*, **27**, 3818-3831.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.05.085>
- [52] Ryu, H.H., Jun, M.H., Min, K.J., Jang, D.J., Lee, Y.S., Kim, H.K., *et al.* (2014) Autophagy Regulates Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Fused in Sarcoma-Positive Stress Granules in Neurons. *Neurobiology of Aging*, **35**, 2822-2831. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.026>
- [53] Zhang, T., Jiang, X., Xu, M., Wang, H., Sang, X., Qin, M., *et al.* (2018) Sleep and Circadian Abnormalities Precede Cognitive Deficits in R521C FUS Knockin Rats. *Neurobiology of Aging*, **72**, 159-170. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.08.025>
- [54] Guo, W., Naujock, M., Fumagalli, L., Vandoorne, T., Baatsen, P., Boon, R., *et al.* (2017) HDAC6 Inhibition Reverses Axonal Transport Defects in Motor Neurons Derived from FUS-ALS Patients. *Nature Communications*, **8**, Article No. 861. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00911-y>
- [55] Guo, L., Kim, H.J., Wang, H., Monaghan, J., Freyermuth, F., Sung, J.C., *et al.* (2018) Nuclear-Import Receptors Reverse Aberrant Phase Transitions of RNA-Binding Proteins with Prion-Like Domains. *Cell*, **173**, 677-692.e20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.002>
- [56] Hofweber, M., Hutten, S., Bourgeois, B., Spreitzer, E., Niedner-Boblenz, A., Schifferer, M., *et al.* (2018) Phase Separation of FUS Is Suppressed by Its Nuclear Import Receptor and Arginine Methylation. *Cell*, **173**, 706-719.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.004>
- [57] Naumann, M., Pal, A., Goswami, A., Lojewski, X., Japtok, J., Vehlou, A., *et al.* (2018) Impaired DNA Damage Response Signaling by FUS-NLS Mutations Leads to Neurodegeneration and FUS Aggregate Formation. *Nature Communications*, **9**, Article No. 335. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02299-1>
- [58] Lo Bello, M., Di Fini, F., Notaro, A., Spataro, R., Conforti, F.L. and La, B.V. (2017) ALS-Related Mutant FUS Protein Is Mislocalized to Cytoplasm and Is Recruited into Stress Granules of Fibroblasts from Asymptomatic FUS P525L Mutation Carriers. *Neurodegenerative Diseases*, **17**, 292-303. <https://doi.org/10.1159/000480085>
- [59] Birsa, N., Ule, A.M., Garone, M.G., Tsang, B., Mattedi, F., Chong, P.A., *et al.* (2021) FUS-ALS Mutants Alter FMRP Phase Separation Equilibrium and Impair Protein Translation. *Science Advances*, **7**, Article No. eabf8660. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abf8660>

- [60] Salam, S., Tacconelli, S., Smith, B.N., Mitchell, J.C., Glennon, E., Nikolaou, N., *et al.* (2021) Identification of a Novel Interaction of FUS and Syntaphilin May Explain Synaptic and Mitochondrial Abnormalities Caused by ALS mutations. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 13613. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93189-6>
- [61] Ling, S.C., Dastidar, S.G., Tokunaga, S., Ho, W.Y., Lim, K., Ilieva, H., *et al.* (2019) Overriding FUS Autoregulation in Mice Triggers Gain-of-Toxic Dysfunctions in RNA Metabolism and Autophagy-Lysosome Axis. *eLife*, **8**, e40811. <https://doi.org/10.7554/eLife.40811>
- [62] Ho, W.Y., Agrawal, I., Tyan, S.H., Sanford, E., Chang, W.T., Lim, K., *et al.* (2021) Dysfunction in Nonsense-Mediated Decay, Protein Homeostasis, Mitochondrial Function, and Brain Connectivity in ALS-FUS Mice with Cognitive Deficits. *Acta Neuropathologica Communications*, **9**, Article No. 9. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-01111-4>
- [63] Baron, D.M., Matheny, T., Lin, Y.C., Sanford, E., Chang, W.T., Lim, K., *et al.* (2019) Quantitative Proteomics Identifies Proteins that Resist Translational Repression and Become Dysregulated in ALS-FUS. *Human Molecular Genetics*, **28**, 2143-2160. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz048>
- [64] Nakaya, T. and Maragkakis, M. (2018) Amyotrophic Lateral Sclerosis Associated FUS Mutation Shortens Mitochondria and Induces Neurotoxicity. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 15575. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33964-0>
- [65] Kawahara, D., Suzuki, T. and Nakaya, T. (2021) Cytoplasmic Granule Formation by FUS-R495X Is Attributable to Arginine Methylation in All Gly-Rich, RGG1 and RGG2 Domains. *Genes to Cells*, **26**, 190-197. <https://doi.org/10.1111/gtc.12827>
- [66] Shiihashi, G., Ito, D., Yagi, T., Nihei, Y., Ebine, T. and Suzuki, N. (2016) Mislocated FUS Is Sufficient for Gain-of-Toxic-Function Amyotrophic Lateral Sclerosis Phenotypes in Mice. *Brain*, **139**, 2380-2394. <https://doi.org/10.1093/brain/aww161>
- [67] Picchiarelli, G., Demestre, M., Zuko, A., Been, M., Higelin, J., Dieterle, S., *et al.* (2019) FUS-Mediated Regulation of Acetylcholine Receptor Transcription at Neuromuscular Junctions Is Compromised in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Neuroscience*, **22**, 1793-1805. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0498-9>
- [68] Scekic-Zahirovic, J., Sanjuan-Ruiz, I., Kan, V., Megat, S., De Rossi, P., Dieterle, S., *et al.* (2021) Cytoplasmic FUS Triggers Early Behavioral Alterations Linked to Cortical Neuronal Hyperactivity and Inhibitory Synaptic Defects. *Nature Communications*, **12**, Article No. 3028. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23187-9>
- [69] Sahadevan, S., Hembach, K.M., Tantardini, E., Perez-Berlanga, M., Hruska-Plochan, M., Megat, S., *et al.* (2021) Synaptic FUS Accumulation Triggers Early Misregulation of Synaptic RNAs in a Mouse Model of ALS. *Nature Communications*, **12**, Article No. 3027. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23188-8>
- [70] Markert, S.M., Skoruppa, M., Yu, B., Mulcahy, B., Zhen, M., Gao, S., *et al.* (2020) Overexpression of an ALS-Associated FUS Mutation in *C. elegans* Disrupts NMJ Morphology and Leads to Defective Neuromuscular Transmission. *Biology Open*, **9**, Article No. bio055129. <https://doi.org/10.1242/bio.055129>
- [71] Rhine, K., Makurath, M.A., Liu, J., Skanchy, S., Lopez, C., Catalan, K.F., *et al.* (2020) ALS/FTLD-Linked Mutations in FUS Glycine Residues Cause Accelerated Gelation and Reduced Interactions with Wild-Type FUS. *Molecular Cell*, **80**, 666-681.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.014>
- [72] Reber, S., Jutzi, D., Lindsay, H., Devoy, A., Mechttersheimer, J., Levone, B.R., *et al.* (2021) The Phase Separation-Dependent FUS Interactome Reveals Nuclear and Cytoplasmic Function of Liquid-Liquid Phase Separation. *Nucleic Acids Research*, **49**, 7713-7731. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab582>
- [73] Plaitakis, A. and Caroscio, J.T. (1987) Abnormal Glutamate Metabolism in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology*, **22**, 575-579. <https://doi.org/10.1002/ana.410220503>
- [74] Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II, Lacomblez, L., Bensimon, G., Leigh, P.N., Guillet, P. and Meininger, V. (1996) Dose-Ranging Study of Riluzole in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Lancet*, **347**, 1425-1431. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)91680-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)91680-3)
- [75] Watanabe, T., Yuki, S., Egawa, M. and Nishi, H. (1994) Protective Effects of MCI-186 on Cerebral Ischemia: Possible Involvement of Free Radical Scavenging and Antioxidant Actions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **268**, 1597-1604.
- [76] Arenas, A., Chen, J., Kuang, L., Barnett, K.R., Kasarskis, E.J., Gal, J., *et al.* (2020) Lysine Acetylation Regulates the RNA Binding, Subcellular Localization and Inclusion Formation of FUS. *Human Molecular Genetics*, **29**, 2684-2697. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa159>
- [77] Fang, M.Y., Markmiller, S., Vu, A.Q., Javaherian, A., Dowdle, W.E., Jolivet, P., *et al.* (2019) Small-Molecule Modulation of TDP-43 Recruitment to Stress Granules Prevents Persistent TDP-43 Accumulation in ALS/FTD. *Neuron*, **103**, 802-819.e11. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.048>