

筋萎縮性側索硬化症と近縁疾患の病理所見: TDP - 43 proteinopathy のひろがりについて

豊 島 靖 子

新潟大学脳研究所病理学分野

TDP - 43 proteinopathies: Pathological Features in ALS and Other Neurodegenerative Diseases

Yasuko TOYOSHIMA

Department of Pathology, Brain Research Institute, Niigata University

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal and incurable neurodegenerative disorder. One of the neuropathological hallmarks of ALS is the presence of ubiquitinated neuronal cytoplasmic inclusions (NCIs) in lower motor neurons. Recently, the 43kDa TAR DNA-binding protein (TDP - 43) has been identified as the major component of NCIs in sporadic ALS. While initially thought to be relatively specific to ALS and fronto-temporal lobar degeneration (FTLD) - TDP, TDP - 43 pathology has now been detected in a number of other neurodegenerative diseases, many associated with tau pathology, including Alzheimer's disease (AD). However, in these diseases, TDP - 43 related neurodegenerative process may occur in association with other distinct pathologic processes (i.e. secondary TDP - 43 proteinopathies). We recently reported TDP - 43 pathology in a patient of spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2), which is one of the polyglutamine diseases. Recently, intermediate-length polyglutamine (polyQ) expansions (27 - 33 Qs) in ataxin 2 (candidate gene of SCA2) is reported as a genetic risk factor for sporadic ALS.

We discussed about the relations of ALS and other neurodegenerative diseases, from the pathological findings in TDP - 43 proteinopathy.

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, TDP - 43, neurodegenerative disease, polyglutamine disease

Reprint requests to: Yasuko TOYOSHIMA
Department of Pathology Brain Research Institute
Niigata University
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951 - 8585 Japan

別刷請求先: 〒951 - 8585 新潟市中央区旭町通 1 - 757
新潟大学脳研究所病理学分野 豊島靖子

はじめに

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は運動ニューロンを冒す神経変性疾患である。近年その原因分子のひとつのTARDNA-binding protein 43(TDP-43)が発見され、ALSの中樞神経系に特徴的な構造物を形成することがわかってきた。TDP-43は前頭側頭型認知症でも異常な構造物を形成し、これらの疾患はTDP-43の異常を伴う点が共通しており、TDP-43 proteinopathyという概念でとらえられている。ALSおよび関連疾患について、病理組織学的な観点から現在までの動きをたどってみたい。

ALSと関連疾患

ALSは1869年Charcotらが報告した神経変性疾患であるが、10万人に5人前後の有病率で、中高年での発症が多い。基本的に上位・下位運動ニューロンの脱落のため徐々に運動機能の低下をきたし、最終的に呼吸不全で死亡する。レスピレーターなどの呼吸補助を用いない場合、3年足らずで死亡に至ることが多い。感覚は保たれたまま身動きが制限される患者はもちろんのこと、介護者にとっても負担の大きい難病である。多くは孤発性であるが、患者全体の5~10%に常染色体優性遺伝を示す家族性ALSがあり、病理組織学的に孤発性ALSと同様の病理所見をしめすものと、脊髄前角、側索に加え、後索のmiddle root zoneに変性を認める後索型ALSがある。遺伝子変異によって発症するALSの原因蛋白はCu/Zn superoxide dismutase (SOD1)¹⁾、Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS)²⁾、Vesicle-associated membrane protein-associated protein B/C³⁾などがわかっているが、つい最近9番染色体上の*C9orf72 gene*のGGGGCCリピート伸長が原因⁴⁾となるALSが報告された。

病理組織学的には、上位運動ニューロン(運動野皮質神経細胞)、下位運動ニューロン(脳幹運動神経核細胞、脊髄前角神経細胞)の両者が徐々に脱落し、下位運動ニューロンの支配筋の萎縮を

みる。変性しつつある下位運動ニューロンの中にヘマトキシリン-エオジン染色で好酸性の小さい封入体を観察することがあるが、この封入体はBunina小体⁵⁾と呼ばれ、孤発性ALSに特異的な所見である(図1a)。このBunina小体のほかに、1988年Loweら⁶⁾によって、ユビキチン陽性封入体が脊髄前角神経に見いだされた(図1b)。ユビキチン陽性封入体は、細胞質内に糸くず状に見えることが多く、Skein-like inclusionと呼ばれている。ユビキチンは選択的蛋白分解の際不要な蛋白に重合するものであるが、封入体がユビキチン化されていることは、何らかの不要構造物が処理されずに細胞内に残っていることを示し、細胞機能に障害を来していることが示唆される。この封入体は孤発性ALSのほぼ全例で下位運動ニューロン中に認められる。

一方、湯浅ら、三山らが、ALSの症例で、認知症を呈する群があることを報告⁷⁾⁸⁾し、ALSが運動ニューロン以外の部分にも障害を受けることを明らかにした。この一群は、臨床的に性格変化、脱抑制など前頭葉機能の低下が強く、前頭側頭型認知症(FTD)といわれる認知症を呈する。このタイプはALS-dementia (ALS-D)と呼ばれ、日本では三山型ALSとも言われている。病理組織学的には、一般的なALSの組織所見のほかに、側頭葉に病変を伴うことが多い。その所見は、1. 側頭葉極背内側部の神経細胞脱落とグリオーシス、2. 海馬CA1~支脚部の変性、3. 扁桃体の変性である⁹⁾。さらに、海馬顆粒細胞層や、皮質の神経細胞の細胞室内にユビキチン陽性の封入体を観察する。このことはユビキチン陽性封入体が運動神経系を超えて出現しうることが示し、ユビキチン化されている蛋白本体が何かということが世界的に注目されていた。

我々のALS剖検例の検討で、臨床的に認知症が指摘されていない症例のなかにALS-Dと同様の側頭葉病変や、ユビキチン陽性封入体を観察する群が少なからずあることがわかった(図1c)¹⁰⁾。我々のデータでは、このような例はALSの剖検例全体の20%弱であり、病型では高齢発症の症例が多く、病理組織学的には2次運動ニューロン優

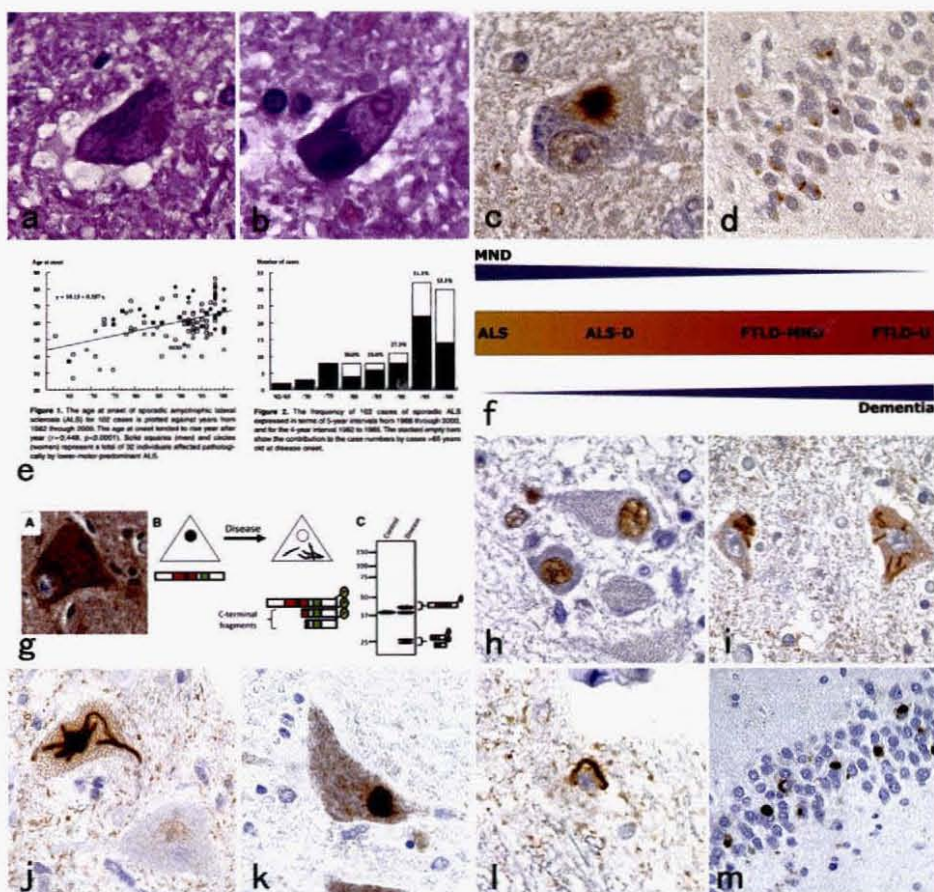


図1 a, b) 孤発性 ALS 患者脊髄前角細胞の胞体に認められた Bunina 小体 (矢印)。c) 顔面神経核ニューロン内のユビキチン陽性 skein-like inclusion. d) 海馬顆粒神経細胞内のユビキチン陽性封入体。e) 孤発性 ALS の発症年齢が高齢化しているとともに 2 次運動ニューロン変性優位型の比率が高くなっている (文献 10 より)。f) ユビキチン陽性の封入体を有する疾患は ALS から FTLD-U まで連続するスペクトラムを形成している (文献 12 より)。g) TDP-43 は平常時核内で転写の調節をしているが、ALS ではリン酸化、分断化され、核外で凝集する (FEBS Journal 278 (2011) 3539-3549 より)。h, i) 正常神経細胞は核が TDP-43 抗体で染色される (h) が、ALS では核の染色はなくなり、胞体内に封入体を認める (i)。神経細胞内封入体は skein-like inclusion (j)、球形 (k) など形態は様々で、oligodendrocyte 内 (l)、海馬顆粒神経 (m) にも封入体は認められる。

a, b: H & E, c, d: 抗ユビキチン抗体免疫染色, h, i: 抗 TDP-43 抗体免疫染色, j-m: 抗リン酸化 TDP-43 免疫染色

位の障害を呈していた。近年、このタイプの ALS の比率が高くなっていることがわかり、人口の高齢化により、働き盛りに多く発症すると言われていた ALS の病型が多少変わってきていることが示唆された。これに関係して、臨床的に運動ニューロンの症状が指摘されず、FTD のみが認められ

る群もあることがわかってきた。これらの症例では、タウやアミロイド、シヌクレインなどの認知症に関連するほかの蛋白の蓄積は認められず、ユビキチン (ubiquitin) 化封入体が出現することから、FTD-U と呼ばれている¹¹⁾。ALS, ALS-D, FTD-U などの疾患はユビキチン化封入体を有す

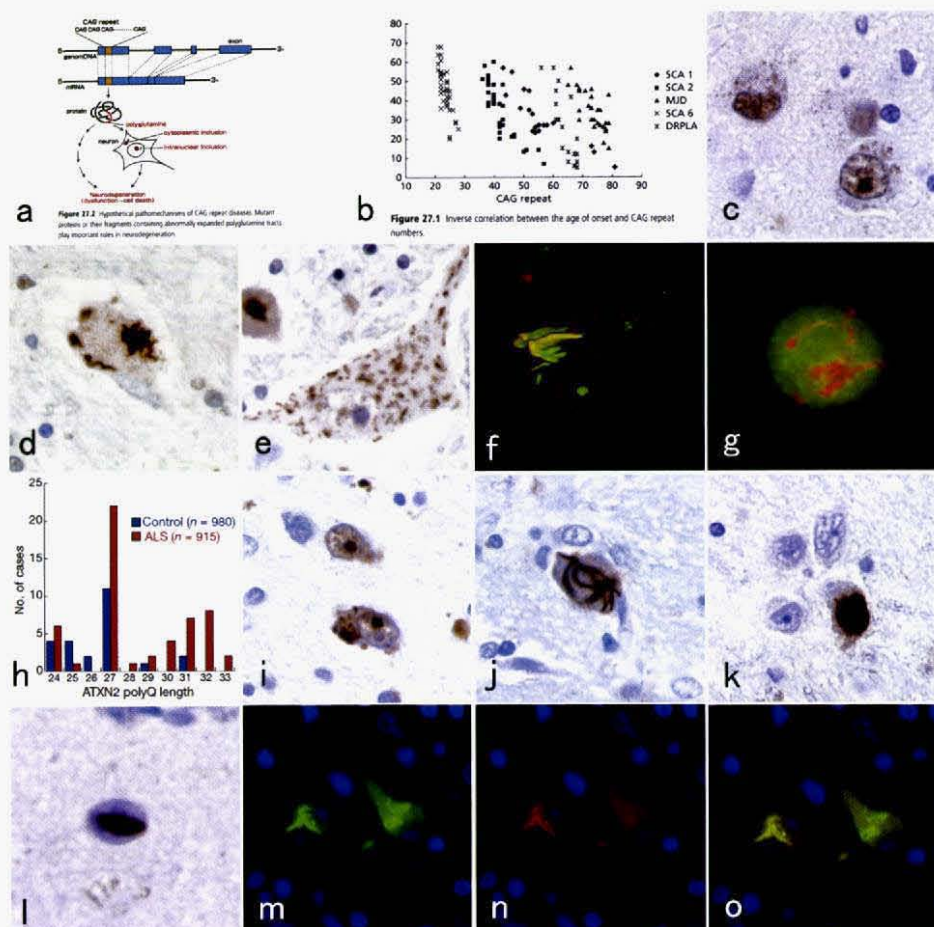


図2 a) ポリグルタミン病は原因蛋白のグルタミン鎖が異常に伸長することで、凝集体を作りやすい三次構造となり、核内や胞体内に封入体を形成する。b) ポリグルタミン鎖の伸長が長くなるほど発症は速まり、重症化する(文献20より)。c) SCA3 (Machado-Joseph病)の橋核で認められた核内封入体。d, e) SCA3患者の脊髄前角で認められたTDP-43陽性封入体。f) SCA3患者でのTDP-43(緑)と抗ユビキチン抗体(赤)の二重蛍光免疫染色。TDP-43陽性封入体の一部がユビキチン化されている(黄色)。g) SCA3患者でのTDP-43とポリグルタミン抗体での二重蛍光免疫染色。TDP-43陽性封入体(赤)はポリグルタミン凝集(緑)と共局在しない(文献21より)。h) SCA2の原因遺伝子ATXN2のpolyQ intermediate expansionsは孤発性ALS患者に有意に多い(文献22より)。i) SCA2患者橋核の核内および胞体内polyQ陽性封入体。j-l) SCA2患者中枢神経内で認められた封入体。Skein-like inclusions(j), dens body(k), 核内封入体(l)。m-o) TDP-43(緑)とp62(赤)の二重蛍光免疫染色。一部の封入体はp62陽性である(矢印)(文献25より)。

c, i: 抗polyQ抗体(1C2)免疫染色。d, e: 抗TDP-43抗体免疫染色。j-l: リン酸化TDP-43抗体免疫染色。

る点で、一連の連続する疾患群であるという考え方が広まり、ユビキチン化されている基質の蛋白は、ALSのみならずFTDの原因にも大きく関与

することが予想され、それが何であるかは世界中の注目を集めていた(図1d)¹²⁾。

ALS 関連分子 TDP-43 の同定

2006 年, Neumann ら¹³⁾ は孤発性 ALS 患者とユビキチン陽性封入体を伴う FTD 患者の脳組織から蛋白を抽出し, その不溶分画 (封入体を多く含む分画) に, TARDNA-binding protein 43 (TDP-43) という分子が含まれ, これがユビキチン化されて封入体を形成していることを見いだした. Neumann らの作製した抗 TDP-43 抗体はこれまでユビキチン抗体で染め出されていた skein-like inclusion や, 海馬顆粒細胞の封入体を同じように染めることがわかった. TDP-43 は核内で転写の調節に関わる分子であり, TDP-43 抗体でも正常な神経は核が染色される. ALS においては, TDP-43 がリン酸化され, さらに C-末側で分断化されたものが認められ, それらが核の外に出て封入体を形成している. 封入体を形成した神経細胞では核が染色されなくなることは, TDP-43 が核の中での本来の働きを失っていることを示し, 細胞機能が正常に保たれなくなっていることが考えられる. ALS 患者の中樞神経には, 比較的広くユビキチン陽性封入体が出現することが知られていたが, TDP-43 抗体を用いて封入体の分布を詳細に調べてみると, 大きく二つのパターンがあることがわかり西平らが報告した¹⁴⁾. 1 つは運動ニューロンを超えて視床, 被殻, 赤核などに分布するが, 運動野以外の大脳皮質にひろがらないような群 (タイプ 1), もう 1 つは大脳皮質を含めて非常に広範に封入体を伴う群 (タイプ 2) である. この 2 つの群は臨床経過の長短にかかわらず認められ, もともと ALS の一部に広範な細胞病理を伴うものがあるということを示している. しかし, TDP-43 陽性封入体が多く認められるにも関わらず, 明らかな神経細胞の脱落をみない部位 (視床, 赤核など) もあり, 封入体の形成と神経細胞の変性との関係はまだ不明な点が多い.

TDP-43 の発見で, まだ原因のわかっていなかった家族性 ALS の一部がその遺伝子変異によるものではないかと多くの施設で検索された. 本研究でも調べられ, 横関ら¹⁵⁾ によって, 遺伝子変異のある家系が報告された. この家系の剖検例

の病理組織学的検索では, 下位運動ニューロン中に Bunina body が存在し, TDP-43 陽性の skein-like inclusion もあり, 孤発性 ALS と全く同じ所見が認められた. 現在までに 30 を超える遺伝子変異が報告され, その大部分が分子の C-末側に集中している. 今後 TDP-43 の分子機能の解明により, ALS の発症にどのように関わるのか研究が進むことが期待される.

他の変性疾患と TDP-43

TDP-43 の発見は非常にエキサイティングで, この分子が ALS に関連していることに異論はないと思われるが, 他の変性疾患での動態が注目され多くの知見が報告された. それらの報告はアルツハイマー病¹⁶⁾, パーキンソン病¹⁷⁾, 大脳基底核変性症¹⁸⁾, 進行性核上性麻痺¹⁹⁾ などの, タウやシヌクレインなどのタンパクの異常凝集をみる疾患で, 少数ながら TDP-43 陽性の封入体を主に辺縁系に観察することがあるとしている. TDP-43 を含めていずれも, リン酸化されたタンパクの異常凝集という共通の細胞病理があり, その過程で何らかの影響を受けあっていることが考えられる. しかし, ALS 以外の疾患では TDP-43 陽性封入体は少なく, 出現する部位も限定的なので, これらの疾患の病態そのものに TDP-43 が関連しているかについては疑問が残る.

ポリグルタミン病²⁰⁾ は, 原因タンパクの中のグルタミン鎖が異常に伸長するため高次構造に変化を来して凝集体を作りやすくなり, その凝集体が細胞質や核内に封入体を形成する遺伝性の疾患である. これまで, 11 疾患が知られている. 多くは小脳症状を伴い, spinocerebellar ataxia (SCA) と称されて, SCA1, 2, 3, 6, 7, 8, 12, 17 が含まれる. 日本に多い SCA3 は以前より Machado-Joseph 病と呼ばれる疾患である. この疾患は, 多系統に変性を来し下位運動ニューロンも冒される. 我々の教室では SCA3 症例の多数例を用いて TDP-43 陽性封入体が出現するかを検討した²¹⁾. その結果, SCA3 例ではすべての症例で下位運動ニューロンの胞体に TDP-43 陽性封入体が出現

することがわかった。この封入体は形態もALSのものと同様で、ユビキチン化を受けている。ポリグルタミン鎖を認識する抗体とTDP-43抗体で二重蛍光免疫染色を行ったところ、TDP-43陽性封入体はポリグルタミンと重ならず、これらの二つの分子は共局在していないことがわかった。コントロールで、やはり下位運動ニューロンが障害されるポリグルタミン病の球脊髄性筋萎縮症を用いたが、これらには全くTDP-43陽性封入体は認められなかった。ALSとSCA3では、下位運動ニューロンの障害にTDP-43機能異常が共通していることが示唆され、同じポリグルタミン病でもTDP-43陽性封入体の出現は疾患によって異なることが示された。

ポリグルタミン病とALSの関係では、ごく最近興味深い事実が相次いで報告された。一般的にポリグルタミン病は、原因タンパクのポリグルタミン鎖が一定以上に伸長しないと発症しないという特徴があり、発症者と健常者の間にポリグルタミン鎖長のかぶりがない。しかし、一部の疾患では、発症に満たないポリグルタミン鎖の伸長(intermediate expansions)が問題になることがある。SCA2は日本にはまれな疾患で、多系統が障害される。この疾患は原因タンパク ataxin 2 (ATX2)のポリグルタミン鎖34リピート以上で発症するが、それ以下のいわゆる intermediate expansions が孤発性ALS患者に有意に多いということが2010年に報告された²²⁾。欧米ではこの結果の追試が行われ、いずれも同様の結果が得られている²³⁾²⁴⁾。ATX2 intermediate expansions を有する患者のほうが早く発症する傾向があるということは非常に興味深い結果で、これまで他の変性疾患で言われていたように、二次的にALS関連分子のTDP-43陽性封入体出現する、ということではなく、ATX2のポリグルタミン鎖軽度伸長が本来の疾患と全く異なるALSの発症に明らかな影響を与えている可能性があるということである。

それでは、SCA2患者においてTDP-43病理がどうなっているのかが知りたいところであったが、SCA2患者の剖検を最近経験し、ひろくpTDP-43で染色を行い興味深い結果を得ること

ができた²⁵⁾。SCA2患者では、SCA3と異なり、比較的広い範囲でpTDP-43陽性構造物を観察した。形態はやはりALSと同様で、pTDP-43陽性封入体はポリグルタミン鎖に対する抗体では認識されなかった。また、運動野皮質、内包には多数の封入体があったにもかかわらず、不思議なことに下位運動ニューロンの中には封入体を認めなかった。封入体の分布は、西平らが以前孤発性ALS多数例でTDP-43陽性封入体の出現部位をまとめた報告¹⁴⁾の中のタイプ1(運動ニューロンを超えて視床、被殻、赤核などに分布するが、運動野以外の大脳皮質にひろがらない)によく似ており、下位運動ニューロン以外では、ALSで封入体が観察される部位にやはり多い傾向があった。この結果をSCA2とALSの関係で考察するのは難しいが、今回の症例のようにATX2のポリグルタミン鎖高度伸長例でTDP-43陽性封入体が認められたことは、ポリグルタミン鎖はTDP-43の細胞障害性を強調する可能性があることを示している。このことから、ALS発症に関わるTDP-43の病態を intermediate expansions が多少なりとも増強して、ALSの発症を早めているのではないかと考えられる。今後症例の蓄積とともに、これらの疾患の関連についてさらに研究が進むものと思われる。

おわりに

近年の分子生物学的手法の進歩によりTDP-43をはじめ、ALSの原因と考えられる分子の発見が相次いでいる。ALSのような強敵を倒すにはまだまだ時間がかかると思われるが、私が神経病理を始めた頃のことを考えると、病理組織学的な知見はずいぶん進んでいると感じる。病理は病気の結果を見ることと考えられがちであるが、その中に疾患に関わる多くのヒントが隠されている。そのヒントをできるだけ多く見つけ出して疾患に苦しむ人たちに返してゆけるよう研究を続けたいと思っている。

文 献

- 1) Shaw CE, Enayat ZE, Chioza BA, Al - Chalabi A, Radunovic A, Powell JF and Leigh PN: Mutations in all five exons of SOD - 1 may cause ALS. *Ann Neurol* 43: 390 - 394, 1998.
- 2) Kwiakowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis EJ, Munsat T, Valdmans P, Rouleau GA, Hosler BA, Cortelli P, de Jong PJ, Yoshinaga Y, Haines JL, Pericak - Vance MA, Yan J, Ticozzi N, Siddique T, McKenna - Yasek D, Sapp PC, Horvitz HR, Landers JE and Brown RH Jr: Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 323: 1205 - 1208, 2009.
- 3) Nishimura AL, Mitne - Neto M, Silva HC, Richieri - Costa A, Middleton S, Cascio D, Kok F, Oliveira JR, Gillingwater T, Webb J, Skehel P and Zatz M: A mutation in the vesicle - trafficking protein VAPB causes late - onset spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hum Genet* 75: 822 - 831, 2004.
- 4) DeJesus - Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, Nicholson AM, Finch NA, Flynn H, Adamson J, Kouri N, Wojtas A, Sengdy P, Hsiung GY, Karydas A, Seeley WW, Josephs KA, Coppola G, Geschwind DH, Wszolek ZK, Feldman H, Knopman DS, Petersen RC, Miller BL, Dickson DW, Boylan KB, Graff - Radford NR and Rademakers R: Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p - linked FTD and ALS. *Neuron* 72: 245 - 256, 2011.
- 5) Tomonaga M, Saito M, Yoshimura M, Shimada H and Tohgi H: Ultrastructure of the Bunina bodies in anterior horn cells of amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 42: 81 - 86, 1978.
- 6) Leigh PN, Whitwell H, Garofalo O, Buller J, Swash M, Martin JE, Gallo JM, Weller RO and Anderton BH: Ubiquitin - immunoreactive intraneuronal inclusions in amyotrophic lateral sclerosis. Morphology, distribution, and specificity. *Brain* 114: 775 - 788, 1991.
- 7) Yuasa R: Amyotrophic lateral sclerosis with organic dementia. Report a case. *Clin Neurol* 4: 529 - 534 (In Japanese) 1964.
- 8) Mitsuyama Y and Takamiya S: Presenile dementia with motor neuron disease in Japan. A new entity? *Arch Neurol* 36: 592 - 593, 1979.
- 9) Yoshida M: Amyotrophic lateral sclerosis with dementia: the clinicopathological spectrum. *Neuropathology* 24: 87 - 102, 2004.
- 10) Piao YS, Wakabayashi K, Kakita A, Yamada M, Hayashi S, Morita T, Ikuta F, Oyanagi K and Takahashi H: Neuropathology with clinical correlations of sporadic amyotrophic lateral sclerosis: 102 autopsy cases examined between 1962 and 2000. *Brain Pathol* 13: 10 - 22, 2003.
- 11) Josephs KA, Holton JL, Rossor MN, Godbolt AK, Ozawa T, Strand K, Khan N, Al - Sarraj S and Revesz T: Frontotemporal lobar degeneration and ubiquitin immunohistochemistry. *Neuropathol Appl Neurobiol* 30: 369 - 373, 2004.
- 12) Geser F, Martinez - Lage M, Kwong LK, Lee VM and Trojanowski JQ: Amyotrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia and beyond: the TDP - 43 diseases. *J Neurol* 256: 1205 - 1214, 2009.
- 13) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretschmar HA, Trojanowski JQ and Lee VM: Ubiquitinated TDP - 43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314: 130 - 133, 2006.
- 14) Nishihira Y, Tan CF, Onodera O, Toyoshima Y, Yamada M, Morita T, Nishizawa M, Kakita A and Takahashi H: Sporadic amyotrophic lateral sclerosis: two pathological patterns shown by analysis of distribution of TDP - 43 - immunoreactive neuronal and glial cytoplasmic inclusions. *Acta Neuropathol* 116: 169 - 182, 2008.
- 15) Yokoseki A, Shiga A, Tan CF, Tagawa A, Kaneko H, Koyama A, Eguchi H, Tsujino A, Ikeuchi T, Kakita A, Okamoto K, Nishizawa M, Takahashi H

- and Onodera O: TDP - 43 mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 63: 538 - 542, 2008.
- 16) Amador - Ortiz C, Lin WL, Ahmed Z, Personett D, Davies P, Duara R, Graff - Radford NR, Hutton ML and Dickson DW: TDP - 43 immunoreactivity in hippocampal sclerosis and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 61: 435 - 445, 2007.
 - 17) Nakashima - Yasuda H, Uryu K, Robinson J, Xie SX, Hurtig H, Duda JE, Arnold SE, Siderowf A, Grossman M, Leverenz JB, Woltjer R, Lopez OL, Hamilton R, Tsuang DW, Galasko D, Masliah E, Kaye J, Clark CM, Montine TJ, Lee VM and Trojanowski JQ: Co - morbidity of TDP - 43 proteinopathy in Lewy body related diseases. *Acta Neuropathol* 114: 221 - 229, 2007.
 - 18) Uryu K, Nakashima - Yasuda H, Forman MS, Kwong LK, Clark CM, Grossman M, Miller BL, Kretzschmar HA, Lee VM, Trojanowski JQ and Neumann M: Concomitant TAR - DNA - binding protein 43 pathology is present in Alzheimer disease and corticobasal degeneration but not in other tauopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 67: 555 - 564, 2008.
 - 19) Yokota O, Davidson Y, Bigio EH, Ishizu H, Terada S, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Sikkink S, Pickering - Brown S and Mann DM: Phosphorylated TDP - 43 pathology and hippocampal sclerosis in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol* 120: 55 - 66, 2010.
 - 20) Mizusawa H, Clark HB and Koeppen AH: Spinocerebellar ataxias in *Neurodegeneration: the molecular pathology of dementia and movement disorders*. Dickson DW (volume editor) ISN Neuropath Press: Switzerland pp 242 - 256, 2003.
 - 21) Tan CF, Yamada M, Toyoshima Y, Yokoseki A, Miki Y, Hoshi Y, Kaneko H, Ikeuchi T, Onodera O, Kakita A and Takahashi H: Selective occurrence of TDP - 43 - immunoreactive inclusions in the lower motor neurons in Machado - Joseph disease. *Acta Neuropathol* 118: 553 - 560, 2009.
 - 22) Elden AC, Kim HJ, Hart MP, Chen - Plotkin AS, Johnson BS, Fang X, Armakola M, Geser F, Greene R, Lu MM, Padmanabhan A, Clay - Falcone D, McCluskey L, Elman L, Juhr D, Gruber PJ, Rüb U, Auburger G, Trojanowski JQ, Lee VM, Van Deerlin VM, Bonini NM and Gitler AD: Ataxin - 2 intermediate - length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 466: 1069 - 1075, 2010.
 - 23) Lee T, Li YR, Ingre C, Weber M, Grehl T, Gredal O, de Carvalho M, Meyer T, Tysnes OB, Auburger G, Gispert S, Bonini NM, Andersen PM and Gitler AD: Ataxin - 2 intermediate - length polyglutamine expansions in European ALS patients. *Hum Mol Genet* 20: 1697 - 1700, 2011.
 - 24) Van Damme P, Veldink JH, van Blitterswijk M, Corveleyn A, van Vught PW, Thijs V, Dubois B, Matthijs G, van den Berg LH and Robberecht W: Expanded ATXN2 CAG repeat size in ALS identifies genetic overlap between ALS and SCA2. *Neurology* 76: 2066 - 2072, 2011.
 - 25) Toyoshima Y, Tanaka H, Shimohata M, Kimura K, Morita T, Kakita A and Takahashi H: Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) is associated with TDP - 43 pathology. *Acta Neuropathol* 122: 375 - 378, 2011.
-