総説

神経変性疾患と生体微量元素代謝

栗田 尚佳, 位田 雅俊, 保住 功

要約: 亜鉛 (Zn), 銅 (Cu), 鉄 (Fe) などの生体内微量元素は, 酵素をはじめとする多くのタンパク質の活性中心となるため, 生命活動を行う上で必要不可欠である。それぞれの元素において, 過剰症, 欠乏症が存在するため, 生体内外における適切な調節が必要である。脳内においても, これらの微量元素は, 神経系の調節に重要な役割を果たしている。したがって, 微量元素の生体内恒常性の破綻は, 脳神経系への影響を引き起こす可能性がある。これまでにアルツハイマー病 (Alzheimer's disease), パーキンソン病 (Parkinson's disease) および筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis) などの神経変性疾患の発症と, 微量元素の恒常性変化との関連が示唆されている。これらの知見を基に, 金属キレート剤についての, 疾患モデルを用いた治療研究も成されている。本総説では, 神経変性疾患と金属トランスポーターをはじめとする調節因子との関わりについて, 我々の知見を含めて, 細胞内ストレス応答および生体内微量元素代謝異常という観点から概説する。

1. はじめに

亜鉛 (Zn), 銅 (Cu), 鉄 (Fe) などの生体内微量元素は, 酵素をはじめとする多くのタンパク質の活性中心となるため, 生命活動を行う上で必要不可欠である。それぞれの元素において, 過剰症, 欠乏症が存在するため, 生体内外における適切な調節が必要である。脳内においても, これらの微量元素は, 神経系の調節に重要な役割を果たしている。例えば, Fe^{2+} はミトコンドリアの電子伝達系のチトクロム c などの補酵素としてエネルギー産生に関わり, また, ドパミンやセロトニンなどの神経伝達物質を合成する酵素の活性

図1 フェントン反応

Fe や Cu などの遷移金属の遊離イオン (Fe^{2+} , Cu^+) は内因性の過酸化水素 (H_2O_2) と反応し, 強力なフリーラジカルであるヒドロキシラジカル ($\text{OH}^\bullet$) を産生する。 $\text{OH}^\bullet$ は, 生体膜の脂質, タンパク質, DNA と反応し, 細胞毒性を引き起こす。

中心として働く。 Cu^{2+} はノルアドレナリン合成の酵素の補酵素として働く。 Zn^{2+} は海馬に多く存在し, 神経伝達の役割を果たし学習や記憶に関与する。また, 生体内の Fe と Cu はほとんどがタンパク質と結合した状態であるが, 遊離イオン (Fe^{2+} , Cu^+) として存在した場合, フェントン反応により, ヒドロキシラジカルを産生し酸化ストレス毒性を示す (図1)。したがって, 微量元素の生体内恒常性の破綻は, 脳神経系への影響を引き起こす可能性がある。これまでにアルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD), パーキンソン病 (Parkinson's disease: PD) および筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) などの神経変性疾患の発症と, 微量元素の恒常性変化との関連が示唆されている。本総説では, 神経変性疾患と金属トランスポーターをはじめとする調節因子との関わりについて, 我々の知見を含めて, 主に生体内微量元素代謝という観点から概説する。

2. アルツハイマー病

老年性の認知症には, 大きく AD, 脳血管性型認知症, Lewy 小体型認知症があり, AD は, 老年性認知症

の半分以上を占める。AD の病的特徴は、脳内における老人斑、神経原線維変化であり、これらの主要構成物はアミロイド β タンパク質 ($A\beta$)、リン酸化タウタンパク質である(1)。併せて、シナプスや神経細胞の脱落も観察される。AD の発症機序として、 $A\beta$ の異常蓄積による細胞毒性が原因であるというアミロイド・カスケード仮説が提唱されている。 $A\beta$ は主に約 40~43 アミノ酸残基からなるペプチドであり、アミロイド前駆タンパク質 (amyloid precursor protein : APP) から切り出されて分泌される。APP は膜貫通型のタンパク質であり、 $A\beta$ は APP から β -セクレターゼにより N 末端、続いて γ -セクレターゼによって細胞膜内の C 末端側が切り出されて生成される。 $A\beta$ はネプリライシンやインスリン分解酵素などのタンパク質分解酵素によって分解され排出される(2)。当初は $A\beta$ の長年の蓄積による $A\beta$ のアミロイド線維が毒性を持つと考えられていたが、その後、アミロイド線維の形成過程における、特定のサイズの多量化した水溶性 $A\beta$ オリゴマーが、アミロイド線維よりも高い細胞毒性を持つ可能性が明らかとなっている(3) (図 2)。

これまでに、 $A\beta$ の多量体化を Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} などが促進させることが報告されている(4) (図 2)。 $A\beta$ 自体も金属と結合する部位を持ち、AD 患者の老人斑では Zn、Cu、Fe などの金属蓄積が多く、 $A\beta$ と共局在する(5, 6)。AD 患者では血中や血漿中の Zn 濃度は低い、脳髄液中は高い(7)。これらのことから Zn、Cu、Fe などの金属が $A\beta$ の蓄積に重要な役割をしている可能性がある。また APP mRNA に (iron-response element : IRE) 領域が存在し、Fe が APP 発現量を調節している可能性がある(8)。興味深いことに、APP が ferroxidase 活性を持つことが報告され(9)、APP が Fe^{2+} を毒性の低い Fe^{3+} に変換し、トランスフェリン (Tf) に受け渡

すことで、酸化ストレスの軽減に働いている可能性があり、未知な APP の生理作用の一端が明らかとなった。

一方、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} がタウの凝集を促進することと(10)、培養神経細胞を用いた検討において、 Fe^{2+} がタウのリン酸化を促進することが報告されている(11)。また、AD 患者脳での神経原線維において、Fe 含有が多く(12)、 Cu^{2+} もタウの凝集を促進すること(13)、AD モデルマウスにおいて、Cu 処置によってタウリン酸化が促進されることも報告されている(14)。以上のことから、Fe や Cu の異常蓄積がタウ凝集促進による神経原線維変化を引き起こす要因となる可能性がある。

3. パーキンソン病

PD は中脳の黒質緻密部におけるドパミン神経の変性脱落によって、投射先の線条体でのドパミン作用が減弱し、それが原因となり、錐体外路症状が引き起こされると考えられている。PD では、Lewy 小体と呼ばれるタンパク質封入体が、残存する神経細胞をはじめ、脳内に認められる。Lewy 小体の主成分は α -シヌクレインと呼ばれる、シナプス前終末に多く存在する機能未知のタンパク質である。 α -シヌクレインが大脳皮質等に蓄積し認知症状を示す場合には、Lewy 小体型認知症とされる。 α -シヌクレインをコードする SNCA 遺伝子は家族性 PD の原因遺伝子の 1 つでもあり (PARK1/4)、SNCA 遺伝子変異を持つ患者剖検脳においても、 α -シヌクレインを主成分とする Lewy 小体形成が認められる(15)。Lewy 小体形成の過程は、可溶性の α -シヌクレインが凝集しオリゴマーなどの中間形成物を形成し、さらにフィラメントを形成し線維性構造物である封入体が成長していくと考えられている。Lewy 小体そのものが細胞毒性の原因に成り得るかどうかは、議論の余地があるが、その中間形成物であるオリゴマーが細

図2 Aβの多量体形成と生体内微量元素

Aβの多量体は細胞毒性を示すと考えられている。Fe²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺が多量体形成を促進する可能性がある。アルツハイマー病の老人斑ではこれら金属の蓄積が認められる。

胞毒性を示すことが報告されている(16)。

黒質では、Feの蓄積量が脳の他の部位より多く、古くからFeとPDとの関連が指摘されてきた(図3)。PD患者の黒質において、対照群に比べFeの蓄積増加が報告されている(17,18)。PD患者の黒質では Fe^{2+} などの取り込みを担うトランスポーターであるdivalent metal transporter 1 (DMT1)発現が上昇していること(19)、PD患者において生体内 Fe^{3+} 輸送に関わるTfの遺伝子多型が認められるなど(20)、PDの病因にFe代謝異常が関わっていることが示唆される。FeはLewy小体中にも検出され(21)、 Fe^{2+} や Cu^{2+} などが α -シヌクレインのC末端領域と相互作用し凝集を促進させる可能性がある(22,23)。また、Feのキレート剤により α -シヌクレイン凝集が抑制されることから(24)、Fe代謝異常が α -シヌクレイン凝集促進に関与している可能性が考えられる。また、興味深いことに Fe^{2+} が α -シヌクレイン mRNAの5'末端非翻訳領域に存在するIREへのiron regulatory protein (IRP)の結合を介して、翻訳調節を制御している(25)。そして、 α -シヌクレイン自体が Fe^{3+} を、反応性に富み酸化ストレスを引き起こす Fe^{2+} へ変換するferrireductase活性を持つという報告もあり(26)、 α -シヌクレインが生体内Feの恒常性を調節している可能性がある。

セルロプラスミン (Cp) はFe代謝を担うタンパク質の1つであり、分泌型と、細胞膜にグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカーを介して結合しているGPI結合型に分類される。体内を循環して

いる血漿中Cuの約95%は分泌型Cpと結合している。Cpは Cu^{2+} 依存的に活性化され、Feの状態を、酸化ストレスを引き起こす Fe^{2+} から Fe^{3+} へと変換するferroxidase活性を持ち、生体内フリーラジカル産生を適切に制御している。脳内では、CpはアストロサイトにGPI結合型として発現しており、フェロポーチン(Fp)と共同して細胞内から細胞外へのFeの輸送を行っている。Fpにより細胞内から排出された Fe^{2+} は細胞表面のGPI結合型Cpにより Fe^{3+} へと変換され、Tfへと受け渡される。このように、CuはFeの代謝の制御に関与している(図4)。PD患者の黒質においてFe蓄積量が増加し、Cuの蓄積量は減少していることから(18,27)、Cu蓄積量の減少がCp活性の低下を引き起こし、脳内のFe蓄積を促進させていると考えられる。

4. 筋萎縮性側索硬化症

ALSは難治性の神経変性疾患であり、運動神経細胞の特異的な変性・脱落を特徴とする。その進行は極めて早く、約半数が発症後約5年以内に呼吸筋麻痺によって死亡する。家族性の原因遺伝子としては、Cu/Zn superoxide dismutase 1 (SOD1)、TAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP43)、fused in sarcoma (FUS)などが明らかとされている。しかしながら、患者の約9割は原因が不明の孤発性である。ALSの病理組織像としては、好酸性でシスタチン陽性のグニナ小体、ユビキチンおよびTDP43陽性のLewy小体様封入体、ユビ

図3 パーキンソン病におけるFeの生体内相互作用

パーキンソン病ではDMT1発現量上昇により Fe^{2+} の細胞内取り込みが増加していると考えられる。過剰な Fe^{2+} はミトコンドリアにおいて、ROSの産生を起こし、 α -シヌクレインの多量体形成を促進する。 Fe^{2+} 自体も α -シヌクレインの産生、多量体形成を促進すると考えられる。

図4 脳内におけるFe代謝経路・神経細胞へのFe供給経路

血液中の Fe^{3+} はトランスフェリン (Tf) と結合する形で存在する。 Fe^{3+} -Tf 複合体は血管内皮細胞の Tf 受容体と結合し、エンドソームで細胞内へと取り込まれる。取り込まれた Fe は脳内へと移行するが、 Fe^{2+} として DMT1 によりエンドソームから細胞質へ放出され、フェロポーチン (Fp) によって脳内へと移行する説と、 Fe^{3+} のまま、エンドソーム内に留まりエンドソームが基底膜側まで移動し脳内へと放出される説の2つがある。移行した Fe^{2+} は、アストロサイト細胞膜に存在する GPII 結合型セロプラスミン (Cp) によって、 Fe^{3+} へと変換される。 Fe^{3+} は再び脳内で Tf と複合体を形成し、神経細胞内へ Tf 受容体によって取り込まれる。細胞内で利用されない Fe はフェリチンという形で貯蔵されている。

キチン陽性の skein-like inclusion が特徴的な封入体として運動神経細胞に観察される。これらの細胞内タンパク質異常凝集体、酸化ストレス、小胞体ストレス、ミトコンドリア機能異常などの様々な要因が運動神経細胞死に関与する可能性が示されているが、明確な発症機構は明らかではない。これまでに複数のグループから ALS の病態生理として、生体内微量金属代謝の関連が示唆されており、我々も、ALS 患者脳脊髄液中での Zn, Cu, Fe, マグネシウムの上昇を見出している (28)。したがって、ALS において Zn, Cu, Fe などの金属代謝の攪乱が引き起こされている可能性がある。

複数のグループから、ALS 患者では血清中のフェリチンが上昇し、Tf は減少していることが報告されている (29, 30)。また、ALS モデルマウスである変異 SOD1 (G93A) マウスでは、脊髄において Fe 蓄積量が増加し、 Fe^{2+} 取り込みトランスポーターの DMT1 の上昇が Fe 排出に関わるフェロポーチン、Cp の上昇に比べて大きく、細胞内への Fe 流入が優位であることが示唆されている (31)。Cu についても、ALS 患者の脳脊髄液および脊髄中での濃度が上昇しており (32, 33)、脳脊髄液中の Cp 活性が低下していた (34)。ALS モデルマウスの変異 SOD1 (G93A) マウスの脊髄でも Cu の蓄積量が認められる (35)。これら、ALS における脊髄中での過剰な Fe, Cu 蓄積と ALS 発症との関連についての、詳細なメカニズムは未だ不明であるが、Fe や Cu のキレート剤が SOD1 (G93A) マウスなどの ALS モデル

マウスの症状を改善する効果が認められることから (36, 37)、ALS の進行過程に金属代謝異常が関わっている可能性は高い。

Zn^{2+} は神経終末のシナプス小胞に多く存在し、神経伝達の役割を果たしていると考えられている。ALS 患者においても脳髄液中で Zn の濃度が上昇している (28)。SOD1 (G93A) マウスや、TDP43 (A315T) マウスなどの ALS モデルマウスの脊髄中でも、Zn の蓄積量が増加している (38, 39)。また、前述の通り、ALS 等の神経変性疾患の原因には金属の異常蓄積ならびに小胞体ストレスが考えられている (31)。Zn 代謝に深く関わるタンパク質としては、メタロチオネイン (metallothionein : MT) や、Zn transporter (ZnTs), Zrt-, Irt-like protein (ZIPs) などの Zn トランスポーターがある。これらの Zn 代謝関連タンパク質と小胞体ストレスが相互作用し、ALS 発症メカニズムに寄与する可能性がある。

ALS と小胞体ストレスとの関わりがこれまでに示唆されている。小胞体はタンパク質の高次構造形成など、タンパク質の品質管理を行う細胞小器官である。この小胞体機能の許容量を超えた場合、正しい高次構造へと変換されなかったタンパク質が異常タンパク質として蓄積し、小胞体ストレスが引き起こされる。このような小胞体ストレスに対抗するために、細胞には unfolded protein response (UPR) と呼ばれる機構が備わっている。その機構は PKR-like ER kinase (PERK)

シグナル経路を介したタンパク質合成抑制, activating transcription factor 6 (ATF6), inositol-requiring enzyme 1 (IRE1) シグナル経路を介した小胞体シャペロン誘導, および ER associated degradation (ERAD) による異常タンパク質分解である. 変異 SOD1 を導入した ALS モデルマウスおよび ALS 患者検体でも小胞体ストレスの亢進が確認されている (40, 41). 変異 SOD1 による ERAD 阻害による小胞体ストレス誘導も報告されており (42), 小胞体ストレスによる異常タンパク質蓄積も ALS 発症に起因している可能性がある. また, 小胞体ストレスと Zn および, MT や Zn トランスポーターなどの Zn 代謝関連タンパク質との関連を示唆する報告もあり, ALS における Zn 恒常性破綻と小胞体ストレスとの関係解明は, ALS 発症のメカニズム解明の一端を担うと考えられる.

MT は構成アミノ酸の約 3 分の 1 がシステインであり Zn や Cu などの金属と結合し, Zn-MT の形で組織内の Zn 貯蔵の役割を持っている. また MT は金属の代謝・調節の他に重金属毒性, 酸化ストレスや小胞体ストレス防御など, 外的因子に対する生体防御に重要な役割を持つ低分子タンパク質である. MT のアイソフォームのうち MT-I/II は全身に幅広く発現しているが, 特に MT-III は脳神経に局在する. ALS 等の神経変性疾患の原因には金属の異常蓄積ならびに小胞体ストレスが考えられており (31), MT-III は金属代謝調節, 小胞体ストレス防御などを介して, 神経変性疾患に対して防御的な働きをしていると考えられる (図 5). 実際に我々は, ALS 患者脊髄中において, MT-I/II および MT-III の発現低下を確認している (43). さらに, アデノウイルスを用いた MT-III 発現増強によって ALS

モデルマウスでの症状改善を報告している (44). その他のグループでも, MT-I が ALS モデルマウスの症状を改善していることが示唆されている (45). これらのことから, MT は ALS 発症についての防御因子として働いている可能性があり, ALS の治療標的分子の候補としても有効であると考えられる.

Zn トランスポーターは Zn^{2+} を細胞質側から細胞外, 細胞小器官へと輸送する ZnT ファミリーと, Zn^{2+} を細胞外, もしくは細胞小器官から細胞質へと輸送する ZIP ファミリーの 2 つに大別される. ZnT ファミリーは 10 種類, ZIP ファミリーは 14 種類あり, ZnT は主に細胞小器官, ZIP ファミリーは細胞膜に存在する (図 6). 細胞内が Zn 欠乏状態でも, Zn 過剰状態になっても, 小胞体ストレスが引き起こされる可能性があり (46, 47), また, 小胞体ストレス自体も Zn 代謝を変動させる可能性がある (48). 小胞体ストレスにより ZnT や ZIP などの Zn トランスポーター発現が誘導されることが, 我々を含む複数のグループから報告されている (48, 49). また, 近年, 細胞内低 Zn 状態が, 野生型の SOD1 の構造を, 変異型様の SOD1 へと変化させ, この変異型様 SOD1 が ERAD を形成する Darlin1 の機能阻害を引き起こし ERAD 阻害による異常タンパク質蓄積の一因となっている可能性が示唆された (48). この報告は, 孤発性 ALS の Zn 代謝異常の関与を支持するものである. これまでに我々は, ALS 患者の脊髄中において, ZnT3 および ZnT6 の発現量低下を報告している (50). 前述の通り, ZnT3 が小胞体ストレスによってその発現が誘導され, また ZnT3 自体が小胞体ストレスに対して防御作用を示すことも我々は明らかにしている (49). これらのことから, ALS の運動神経

メタロチオネイン (Metallothionein; MT)

- ・低分子量タンパク質 (分子量: 約 7 kDa)
- ・システイン含有が多い (33 % システイン)
- ・金属と親和性が高い
- ・4 種類のアイソフォームが存在

ヒトMTのアミノ酸配列

```
MT-I: MDPN-CSCATGGSCTCTGSCCKECKCTSCCKSCCSCPMSCAKCAQGCICKGAS-----EKCSCCA
MT-II: MDPN-CSCAAGDSCTCAGSCCKECKCTSCCKSCCSCPPVGCACAKCAQGCICKGAS-----DKCSCCA
MT-III: MDPETCPSPSGGSCCTCAGSCCKECKCTSCCKSCCSCPPAECEKCAKDCVCKGGEAAEAECSCCQ
MT-IV: MDPRECVCMSGGICMCDNCKCTTCNCKTCRKSCCPCPPGCAKCAQGCICKGGS-----DKCSCCP
```

図 5 メタロチオネインの機能

図6 細胞内における Zn トランスポーターの主な局在

細胞では ZnT3 発現が減少することで、小胞体ストレスに対する脆弱性が高まっている可能性がある (図7)。

5. おわりに

このように、Zn, Cu, Fe をはじめとする生体内微量元素代謝異常が、PD, AD, ALS などの幅広い神経変性疾患に関与することが示唆されている。これらの知見を基に、金属キレーター等、生体内金属代謝異常を標的とした治療薬の研究も進められている。これら金属代謝異常は、酸化ストレスや小胞体ストレスを引き起こす可能性もある。生体内微量元素代謝異常と、酸化ストレスや小胞体ストレスをはじめとする細胞内ストレスがどのように組み合わせたり、また相互作用し、神経変性疾患に関与していくかは、今後のさらなる研究が必要である。また、近年、酸化ストレスを生じ細胞障害性を示す可能性がある Fe^{2+} のみを、生細胞内で特異的に検出可能な選択的蛍光プローブも開発されており (51)、このような新たな技術の導入により、金属代謝異常と細胞内ストレスおよびその関連疾患の研究は、一層加速していくと考える。一方で、神経変性疾患患者の大多数は原因不明の孤発性であり、遺伝子の変異に依らない、エピジェネティクス変化の観点からの解析も、孤発性神経変性疾患の発症メカニズム解明のためには必要であろう (52)。今後、神経変性疾患の発症メカニズムの一端が微量元素代謝異常という観点から解明され、治療へと発展していくことを期待する。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

図7 ALS 発症における Zn 代謝関連分子と小胞体ストレスに関する仮説

ALS 患者脊髄中で、Zn 代謝関連分子である MT-III と ZnT3 発現量の低下を確認している。一方で MT-III と ZnT3 は小胞体ストレスに対して防御効果を持つ可能性がある。したがって、ALS の運動神経細胞において、MT-III と ZnT3 の発現・機能低下が起こり小胞体ストレスへの脆弱性が増加し、神経細胞死が引き起こされている可能性がある。

文 献

- 1) Selkoe DJ, et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2003;131:545-584.
- 2) Nalivaeva NN, et al. J Neurochem. 2012;120:167-185.
- 3) Walsh DM, et al. Biochem Soc Trans. 2005;33:1087-1090.
- 4) Bush AI, et al. Science. 1994;265:1464-1467.
- 5) Lovell MA, et al. J Neurol Sci. 1998;158:47-52.
- 6) Miller LM, et al. J Struct Biol. 2006;155:30-37.
- 7) Baum L. Biometals. 2010;23:173-179.
- 8) Roger JT, et al. Biochem Soc Trans. 2008;36:1282-1287.
- 9) Duce JA, et al. Cell. 2010;142:857-867.
- 10) Yamamoto A, et al. J Neurochem. 2002;82:1137-1147.
- 11) Lovell MA, et al. J Alzheimers Dis. 2004;6:659-671.
- 12) Smith MA, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94:9866-9868.
- 13) Soragni A, et al. Biochemistry. 2008;47:10841-10851.
- 14) Kitazawa M, et al. J Neurochem. 2009;108:1550-1560.
- 15) Guoxiang L, et al. Future Neurol. 2012;7:145-153.
- 16) Rott R, et al. J Biol Chem. 2008;283:3316-3328.

- 17) Dexter DT, et al. *J Neurochem*. 1989;52:1830-1836.
- 18) Riederer P, et al. *J Neurochem*. 1989;52:515-520.
- 19) Salazar J, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:18578-18583.
- 20) Borie C, et al. *J Neurol*. 2002;249:801-804.
- 21) Castellani RJ, et al. *Acta Neuropathol*. 2000;100:111-114.
- 22) Binolfi A, et al. *J Am Chem Soc*. 2006;128:9893-9901.
- 23) Kostka M, et al. *J Biol Chem*. 2008;283:10992-11003.
- 24) Hare D, et al. *Front Aging Neurosci*. 2013;5:34.
- 25) Cahill CM, et al. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790:615-628.
- 26) Davies P, et al. *PLoS One*. 2011;6:e15814.
- 27) Dexter DT, et al. *J Neurochem*. 1989;52:1830-1836.
- 28) Hozumi I, et al. *J Neurol Sci*. 2011;303:95-99.
- 29) Nadjar Y, et al. *PLoS One*. 2012;7:e45034.
- 30) Ikeda K, et al. *Intern Med*. 2012;51:1501-1508.
- 31) Lovejoy DB, et al. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:173.
- 32) Roos PM, et al. *Biol Trace Elem Res*. 2013;51:159-170.
- 33) Kurlander HM, et al. 1979;6:21-24.
- 34) Conti A, et al. *Proteomics Clin Appl*. 2008;2:1628-1637.
- 35) Tokuda E, et al. *Neurobiol Dis*. 2013;54:308-319.
- 36) Tokuda E, et al. *Exp Neurol*. 2008;213:122-128.
- 37) Wang Q, et al. *Neurodegener Dis*. 2011;8:310-321.
- 38) Kim J, et al. *Neurobiol Dis*. 2009;34:221-229.
- 39) Dang TN, et al. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:15.
- 40) Atkin JD, et al. *J Biol Chem*. 2006;281:30152-30165.
- 41) Kikuchi H, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:6025-6030.
- 42) Nishitoh H, et al. *Genes Dev*. 2008;22:1451-1464.
- 43) Hozumi I, et al. *Amyotroph Lateral Scler*. 2008;9:294-298.
- 44) Hashimoto K, et al. *Neuroscience*. 2011;189:293-298.
- 45) Tokuda E, et al. *Hum Mol Genet*. 2014;23:1271-1285.
- 46) Ellis CD, et al. *J Cell Biol*. 2004;166:325-335.
- 47) Kawahara M, et al. *Metallomics*. 2014;6:209-219.
- 48) Homma K, et al. *Mol Cell*. 2013;52:75-86.
- 49) Kurita H, et al. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;479:853-859.
- 50) Kaneko M, et al. *J Neorosci Res*. 2015;93:370-379.
- 51) Niwa M, et al. *Org Biomol Chem*. 2014;12:6590-6597.
- 52) Modgil S, et al. *Transl Neurodegener*. 2014;3:9.