

Ciliary Neurotrophic Factor – Potenzieller Modulator der Amyotrophen Lateralsklerose

Marcus Beck, Michael Sendtner

Institut für Klinische Neurobiologie,
Universität Würzburg

Zusammenfassung

Ciliary neurotrophic factor (CNTF) wurde ursprünglich als neurotropher Faktor mit starker Überlebenswirkung auf embryonale Motoneurone entdeckt. Nach Nervenläsion und bei Tiermodellen für Motoneuronerkrankungen kann CNTF das Überleben degenerierender Motoneurone signifikant verbessern. Klinische Studien mit systemischer Applikation von CNTF scheiterten jedoch aufgrund starker nicht tolerabler Nebenwirkungen wie Gewichtsverlust und Fieber. Wie Untersuchungen in den letzten Jahren zeigten, modulieren CNTF-Genmutationen den Krankheitsbeginn bei einem Mausmodell der Amyotrophen Lateralsklerose 1 (hSOD-1Gly93Ala transgen) signifikant. Mäuse mit zusätzlichem deletierten CNTF Gen erkrankten deutlich früher als Mäuse desselben genetischen Hintergrunds mit zwei intakten CNTF Allelen. Einzelbeobachtungen an Familien mit familiärer Amyotropher Lateralsklerose (FALS) und Patienten mit sporadischer ALS (SALS) scheinen diesen Zusammenhang zu bestätigen, müssen jedoch noch anhand größerer Patientenkollektive überprüft werden, bevor eine endgültige Beurteilung möglich ist.

Schlüsselwörter: CNTF, ALS, ALS1-Modifizier, ALS1-Mausmodell

Ciliary neurotrophic factor: potential modifier of amyotrophic lateral sclerosis

Summary

Ciliary neurotrophic factor (CNTF) has originally been identified as a neurotrophic factor supporting embryonic motoneuron survival. In mouse models of motoneuron disease and after axotomy in newborn rodents, CNTF exerts a strong rescue effect on the degenerating motoneurons. However, clinical studies with systemic application of CNTF to patients with amyotrophic lateral sclerosis failed because of severe non-tolerable side effects, in particular weight loss and fever. CNTF knockout mice do not manifest any overt clinical phenotype, despite progressive postnatal motoneuron loss. However, when cross-bred with transgenic SOD1-mutant mice, CNTF deficiency significantly modulates the onset of disease. Mice transgenic for hSOD-1Gly93Ala experience an earlier onset of disease when both alleles of the CNTF gene are inactivated by homologous recombination. Observations from a familial case of ALS associated with a SOD1 gene mutation support a possible role of CNTF as a modifier of this disease, but need verification upon larger groups of patients before final conclusions about a role of CNTF as a genetic modifier of amyotrophic lateral sclerosis can be drawn.

Key words: CNTF, ALS, ALS1 modifier, ALS1 mouse model

Amyotrophe Lateralsklerose: Krankheitsbild und Pathomechanismen

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist die häufigste degenerative Motoneuronerkrankung bei Erwachsenen. Sie führt zu progressiven atropen Paresen infolge Degeneration spinaler Alpha-Motoneurone (2. Motoneuron) sowie zu spastischen Muskeltonuserhöhungen als Hinweis auf eine Degeneration kortikospinaler Bahnen (1. Motoneuron). Bei Beteiligung motorischer Hirnstammkerne oder kortikobulbärer Projektionen leiden die Patienten unter zunehmender Dysarthrie und Schluckstörungen im Sinne einer bulbären, pseudobulbären oder einer gemischten Symptomatik. Faszikulationen sind Ausdruck einer Denervierung infolge des axonalen Untergangs. Die Diagnose gründet sich nach Ausschluss differentialdiagnostisch zu erwägender Erkrankungen überwiegend auf klinische und elektrophysiologische Befunde. Die revidierten El Escorial-Kriterien bestimmen die Wahrscheinlichkeit der Diagnose anhand des Nachweises und der Verteilung atropher Paresen sowie von Zeichen einer Pyramidenbahnläsion. Das Spektrum der Krankheitssymptome ist ein Kontinuum zwischen fast ausschließlichen Zeichen der Degeneration spinaler Alpha-Motoneurone mit schlaffen, stark atropen Paresen und einer generalisierten Spastizität mit nur milden Muskelatrophien. Durchschnittlich 5 Jahre nach primärer Manifestation führt meist eine zunehmende muskuläre respiratorische Insuffizienz mit terminaler Hyperkapnie zum Tode. Die Er-

krankung kann aber auch mehrere Jahrzehnte überlebt werden. Die meisten ALS-Patienten erkrankten zwischen dem 58. und 63. Lebensjahr. Unter den Patienten, die vor ihrem 50. Lebensjahr erkrankten, finden sich mehr Männer als Frauen.

Die weit überwiegende Zahl der ALS Erkrankungen tritt sporadisch auf, d.h. in der Familie gab es zuvor noch keinen solchen Krankheitsfall. Risikofaktoren, die die Krankheitsentstehung begünstigen, und die pathophysiologischen Mechanismen, die dem vorzeitigen Zelltod (Apoptose) spinaler Alpha-Motoneurone und der Pyramidenzellen des Gyrus praecentralis sowie der prärolandischen Region zugrunde liegen, sind noch weitgehend unbekannt. Bei der sporadischen Form der ALS (SALS) werden neben exzitotoxischen Faktoren mit pathologischer Lipid- und Proteindegradation Störungen der Detoxifizierung schädlicher Sauerstoffradikale (Liochev und Fridovich, 2003) sowie prädisponierende Veränderungen der Integrität des Zytoskeletts und Störungen des axonalen Transportes diskutiert (Bruijn et al., 2004). Einerseits machen die Diversität der Verlaufcharakteristika und die Unterschiede der Progressionsdynamik grundsätzlich verschiedene Krankheitsmechanismen wahrscheinlich, die alle gleichsam in einer gemeinsamen Endstrecke münden, nämlich zur mitochondrialen Dysfunktion, zur Caspaseaktivierung, zur DNA-Degradation und schließlich zum Zelltod. Andererseits können verschiedene modifizierende Faktoren auf genomischer und auf Protein-Ebene zumindest mitverantwortlich für die Individualität der Erkrankungsverläufe sein (Giess et al., 2000; Lambrechts et al., 2003). All diese Faktoren bedingen die Komplexität der pathophysiologischen Mechanismen auf zellulärer Ebene, die diagnostisch und therapeutisch eine große Herausforderung darstellen.

Familiäre Amyotrophe Lateralsklerose (FALS): Krankheitsgene und genetische Modifikatoren

Die in 5-10 % hereditären Verläufe der ALS (FALS) sind mit einem im

Vergleich zu den sporadischen Fällen oft früherem Krankheitsbeginn (45 Jahre) assoziiert und folgen verschiedenen monogenen Erbgängen, wobei die dominanten Mutationen in der kodierenden Sequenz des Superoxid-Dismutase-1 (SOD1) Gens auf Chromosom 21q22.1 bei FALS mit angeblich 20-30% (Siddique und Deng, 1996) am häufigsten gefunden werden (ALS1). Derzeit sind über 100 Mutationen bekannt. Diese kommen in allen 5 Exonen des SOD1-Gens vor und umfassen krankheitsverursachende Genveränderungen, genetische Polymorphismen und eine große Zahl biochemisch uncharakterisierter Sequenzveränderungen. Meistens handelt es sich um Missense-Mutationen. Auch intronische Sequenzabweichungen sind beschrieben. Soweit charakterisiert, führen die pathogenetisch relevanten Mutationen meist nicht zu Funktionsverlust oder Funktionsminderung (loss of function) der im ZNS ubiquitären zytoplasmatischen SOD1, sondern zu einer Funktionsveränderung (gain of function). Als zellphysiologische Konsequenzen des veränderten Proteins werden diskutiert:

- 1) veränderte katalytische Eigenschaften der Cu/Zn-SOD,
- 2) unlösliche Proteinaggregate (Elam et al., 2003),
- 3) Akkumulation des Enzyms an Mitochondrien (Liu et al., 2004) mit mitochondrialem Funktionsverlust,
- 4) zytosolischer Calciumstrom,
- 5) ein gestörter axonaler Transport, sowie
- 6) eine erhöhte Sensitivität gegenüber proapoptotischen Stimuli (Raoul et al., 2002).

Alle diese Veränderungen führen letztendlich zum Zelltod. Die Reprimierung der Synthese mutierter SOD im transgenen ALS-Tiermodell kann das Überleben der Tiere deutlich verlängern (Ralph et al. 2005).

Eine seltene rezessive Form der FALS ist assoziiert mit einer Frameshift-Mutation im ALS2-Gen auf Chromosom 2q33. ALS2 kodiert für mehrere Isoformen des Proteins Alsln. Die 184 kDa lange Isoform enthält Domänen von Guanin-Austauschfaktoren für GTPasen. Mutationen im ALS2-Gen

führen zu vorzeitigem Stoppsignalen und vermutlich frühzeitigem Abbruch der Translation mit der Folge eines partiellen oder kompletten Verlustes der Alsln-Funktion. Weitere rezessive oder X-chromosomale ALS-Formen sind bekannt. Sie finden sich aber nur in wenigen Familien (Übersicht bei: Figlewicz und Orrell, 2003).

Genotyp-Phänotyp Beziehungen wurden für einzelne häufigere SOD1-Mutationen bei ALS1 aufgezeigt. So zeichnen sich z.B. Leu144Phe, His46 Arg und Asp90Ala durch einen langsameren Krankheitsverlauf aus, während Ala4Val mit dem Fehlen klinischer Hinweise auf eine Beteiligung der kortikalen Pyramidenzellen verknüpft zu sein scheint. Asp101Tyr in dem am häufigsten mutierten Exon 4 ist demgegenüber verbunden mit einem raschen Krankheitsverlauf und mit primär bulbärer Manifestation. Solche Berichte bestätigen zwar einen Einfluss des Mutationsortes auf die phänotypische Manifestation, aber es besteht keine Korrelation zwischen Mutationen in dem die katalytische Region kodierenden Gensegment und der Schwere der Krankheit. Zu der Modifikation des Krankheitsverlaufes könnten Polymorphismen oder Mutationen anderer Gene beitragen, die die Zellintegrität beeinflussen, ebenso Veränderungen der Expression eines krankheitsverursachenden Allels sowie posttranslationale Veränderung der beteiligten Proteine.

Ciliary Neurotrophic Factor und seine Bedeutung für Motoneurone

Neurotrophe Faktoren sind für die Reifung und das Überleben von Nervenzellen essentiell. Sie können in vitro und in vivo den vorzeitigen Zelltod von Motoneuronen verhindern. Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF) wurde aufgrund seiner Wirkung auf das Überleben von Neuronen des Ziliarganglions und von spinalen Motoneuronen embryonaler Hühner identifiziert, biochemisch gereinigt und das entsprechende Gen kloniert (Stöckli et al., 1989, Arakawa et al., 1990). CNTF wird bei adulten Säugetieren in relativ großen Mengen (im Vergleich zu Neurotrophinen) als zytosolisches Protein produziert, und zwar in Schwanzzel-

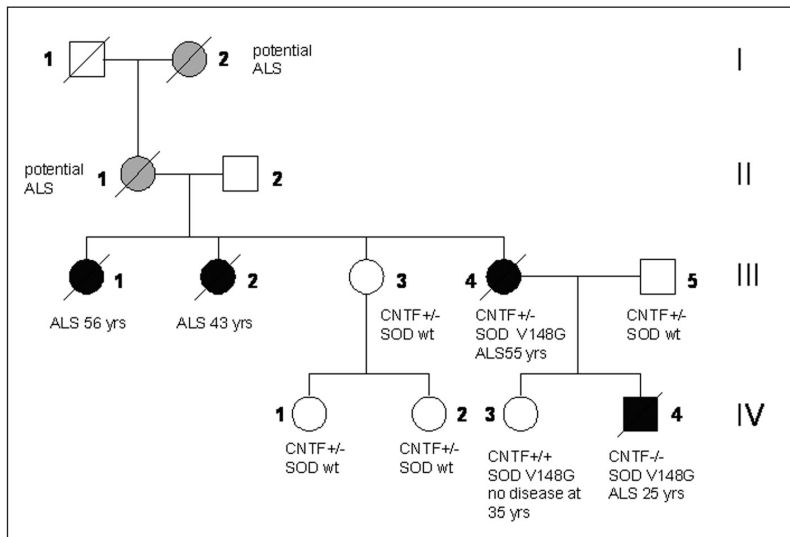


Abb 1 Der Einfluss des CNTF-/--Genotyps auf den Erkrankungsbeginn bei einer Familie mit familiärer ALS (FALS)

Rechtecke bezeichnen männliche, Kreise weibliche Familienangehörige. Querstriche durch die Symbole weisen bereits verstorbene Familienmitglieder aus. Schwarz verdeutlicht den Ausbruch einer ALS anhand klinischer Kriterien, Grau die Möglichkeit der Erkrankung anhand familienanamnestischer Daten.

(Mit Genehmigung des American Journal of Human Molecular Genetics, 2002)

len peripherer Nerven und in zentralen Gliazellen, insbesondere in Astrozyten. Während der Embryonalentwicklung ist die Expression von CNTF niedrig, spielt aber möglicherweise eine Rolle bei der Differenzierung neuronaler Stammzellen. Die Inaktivierung des CNTF-Gens durch homologe Rekombination bei Mäusen führt jedoch kaum zu phänotypischen Auffälligkeiten, was zunächst gegen eine zentrale Rolle von CNTF bei der Entwicklung des Nervensystems spricht. Das CNTF-Gen des Menschen, das dem Maus-CNTF-Gen auf Chromosom 19 entspricht, wurde auf Chromosom 11q12.2 lokalisiert (Kaupmann et al., 1991). Das CNTF-Gen kodiert ein Polypeptid aus 200 Aminosäuren. CNTF gehört wie Leukemia Inhibitory Factor (LIF) und Cardiotrophin-1 (CT-1) zu einer Familie neurotropher Zytokine, die ihre Wirkung über gp130- und LIF-Rezeptor Beta (LIF-R β) vermitteln. Die zelluläre Wirkung von CNTF ist im Gegensatz zu LIF abhängig von einer Bindung an den glycosyl-phosphatidyl-inositol-gekoppelten CNTF-R α . Der CNTF/ LIF-R β -Komplex aktiviert zyttoplasmatische JAK-Protein-Tyrosinkinasen, welche neben einer Reihe weiterer Substrate auch STAT-Transkriptionsfaktoren phosphorylieren. Untersuchungen der CNTF-Expression bei ALS Patienten auf RNA- und Protein-Ebene ergaben uneinheitliche Befunde. Aktuelle Ergebnisse einer Einzelzell-Mikroarray-Analyse spinaler Motoneurone aus Sektionsgewebe von an ALS Verstorbenen zeigten eine vermehrte Expression von CNTF, von Hepatocyte growth factor (HGF) und von Glial cell

derived growth factor (GDNF) (Jiang et al., 2005). Frühere ELISA-Untersuchungen an spinalem Gewebe hatten einen im Vergleich zum Kontrollkollektiv geringeren CNTF-Gehalt bei ALS-Patienten ergeben. Immunhistochemische Untersuchungen der CNTF-Expression im ZNS an ALS Verstorbenen zeigten keinen Unterschied im Vergleich zu Kontrollgewebe.

Mutationen im CNTF Gen des Menschen

1994 berichteten Takahashi und Mitarbeiter über einen homozygoten G zu A Basenaustausch in Position -6 der Spleißakzeptorstelle im ersten Intron des CNTF-Gens bei Menschen. Das mutierte Gen wurde aberrant gespleißt in eine mRNA, deren zweites Exon am 5'-Ende vier zusätzliche Nukleotide aufwies (frameshift) (Takahashi et al., 1994). Die aberrante mRNA sollte theoretisch in ein biologisch inaktives trunkiertes Polypeptid mit nur 62 anstelle von 200 Aminosäuren translatiert werden. Bei 1-2,3 % der gesunden Normalbevölkerung in Europa, Asien und USA findet sich diese homozygote „Nullmutation“, im Folgenden kurz als CNTF-/- Genotyp bezeichnet. Es konnte zunächst keine Korrelation mit dem Auftreten neurologischer Erkrankungen gefunden werden. Unter den Patienten mit einer Motoneuronenerkrankung ist die Häufigkeit der homozygoten Träger der CNTF-Nullmutation nicht erhöht (Giess et al., 1998).

Bei der adulten Maus führt die homozygote Deletion des CNTF-Gens durch homologe Rekombination allerdings

zum progressiven Verlust von Motoneuronen (Masu et al., 1993). Bei einer anderen Mausmutante mit klinisch rasch fortschreitender Motoneuronenerkrankung, der „progressive motoneuronopathy (pmn) Mausmutante, kann dagegen eine CNTF-Überexpression den klinischen Verlauf der Motoneuronengeneration günstig beeinflussen (Sendtner et al., 1992). Neben den in vitro Wirkungen von CNTF in der Motoneuronkultur führten die zuletzt genannten Befunde zu der Hypothese einer modifizierenden Wirkung dieses neurotrophen Faktors auf das Überleben von Motoneuronen nach Läsion. Zahlreiche weitere Untersuchungen stützten diese Vermutung (Übersicht bei: Wiese et al., 1999).

Mutationen im CNTF Gen als Modifikatoren der Amyotrophen Lateralsklerose 1

Im Jahr 2002 wurde durch Giess und Mitarbeiter über eine ALS1-Familie mit einer dominanten heterozygoten Val148Gly Mutation in Exon 5 des SOD1-Gens berichtet. Bei einem männlichen Probanden fand sich nach frühem Krankheitsbeginn im 25. Lebensjahr eine ausgeprägt rasche Krankheitsprogression. Dagegen zeigten sich bei seiner 35jährigen Schwester, bei der die gleiche SOD1-Mutation vorlag, während des Beobachtungszeitraumes keine Erkrankungszeichen. Da die Val148Gly Mutation auch bei anderen Patienten mit FALS gefunden wurde (Deng et al., 1993), handelt es sich hier nicht um einen Polymorphismus. Bei der ebenfalls betroffenen Mutter des Geschwisterpaares manifestierte sich die ALS erst

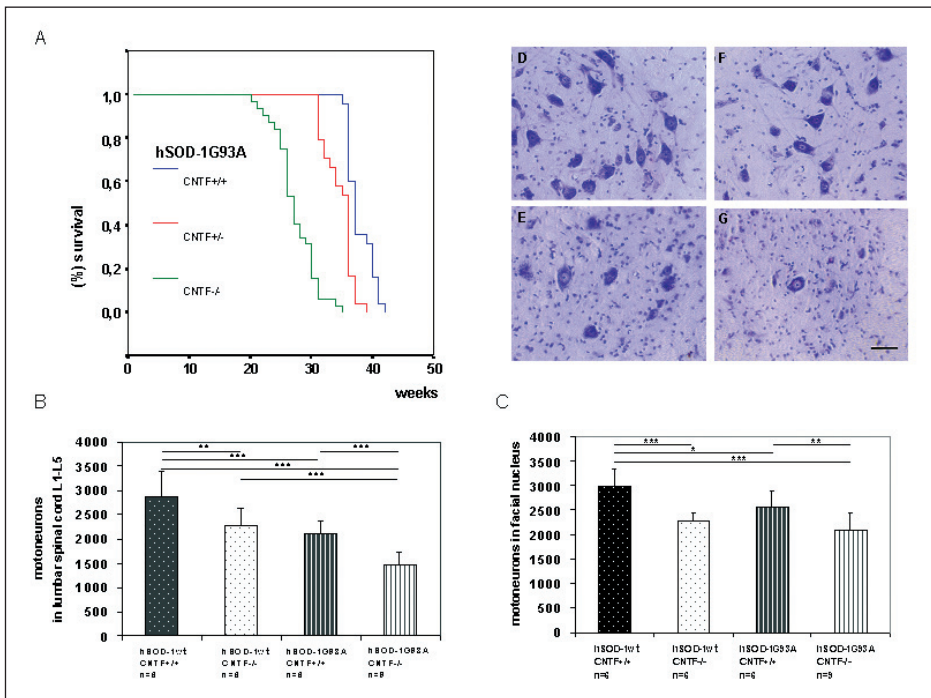


Abb 2 Modulation der Motoneuron-erkrankung im Mausmodell für familiäre ALS (G93A hSOD-1) durch einen CNTF-Gendefekt.

A. Kaplan-Meier Kurven zeigen die Unterschiede des Überlebens der Mausmutanten in Abhängigkeit vom CNTF-Genotyp.

B. und C. Zahl der Motoneurone im spinalen Rückenmark in Höhe L1-L5 (B) und im Fazialiskern (C). Mittelwerte mit Standardabweichung. Es zeigen sich signifikante Unterschiede in Abhängigkeit vom CNTF-Genotyp.

D bis G. Histologische Schnitte in Höhe des lumbalen spinalen Rückenmarks (D, E) und des Fazialiskerns (F, G) der Maus. Im Vergleich zum CNTF+/+ Genotyp findet man bei Mäusen mit CNTF-/- Genotyp einen erhöhten Verlust an Motoneuronen (mit Genehmigung des American Journal of Human Molecular Genetics, 2002).

in der mittleren Lebensphase im Alter von 54 Jahren (Abbildung 1). Eine Untersuchung auf mögliche modifizierende Gene ergab bei dem schwer und frühzeitig betroffenen Probanden einen homozygoten CNTF-/- Genotyp. Die bisher nicht betroffene Schwester und die erst später erkrankte Mutter des Patienten hingegen hatten einen heterozygoten CNTF-Genotyp. Diese Beobachtungen waren ein erster Hinweis auf eine mögliche Assoziation des CNTF-Genotyps mit dem Zeitpunkt des Krankheitsbeginns und der Progression bei autosomal dominanter ALS1.

Eine wichtige und aussagekräftige Bestätigung fand diese Vermutung nach Analyse eines hSOD-1Gly93Ala/CNTF-defizienten Mausmodells. Im Vergleich zu hSOD-1Gly93Ala/CNTF-Wildtyp-Mäusen traten die motorischen Defizite bei den hSOD-1Gly93Ala-Mäusen, bei denen zusätzlich beide Allele des CNTF Gens inaktiviert worden waren, signifikant früher auf (Abbildung 2).

Bei acht Patienten, bei denen aus einem Gesamtkollektiv von 280 typisierten ALS-Patienten mit sporadischer ALS, ein CNTF-/- Genotyp nachgewiesen werden konnte, lag das Erkrankungsalter bei 48,6 +/- 15,0 Jahren und bei 30 SALS-Kontrollpatienten mit 2 intakten CNTF Allelen bei 58,4 +/- 9,0 Jahren. Auch dieses Ergebnis ist vereinbar mit der Hypothese, dass das Fehlen von intaktem CNTF bei ALS-Patienten einen früheren Krankheitsbeginn begünstigt.

Eine Populationsstudie an 636 Patienten mit sporadischer ALS konnte hingegen keinen signifikanten Einfluss des CNTF-Genotyps auf das Erstmanifestationsalter und die Progression nachweisen. In der Subpopulation 49 skandinavischer Patienten mit sehr langsam progredienter FALS und einer Asp90Ala-Mutation des SOD1-Gens konnte ebenfalls kein Einfluss des CNTF-Genotyps auf den Krankheitsverlauf ermittelt werden. Ein wesentlicher modifizierender Einfluss der homozygoten CNTF-Nullmutation auf den Verlauf der ALS - zumindest bei der Asp90Ala Mutation im SOD1 Gen - wurde daher in Frage gestellt (Al-Chalabi et al., 2003). Allerdings lassen die Daten an Patienten noch keine abschließende Beurteilung zu. Zum einen ist die Zahl der untersuchten Individuen relativ klein, zum anderen kann der Einfluss anderer genetischer Modifikatoren nicht ausgeschlossen werden. Gerade aufgrund dieser offenen Frage fällt den Untersuchungen an Mauslinien mit stabilen Genomen (z.B. C57Bl/6) eine höhere Aussagekraft zu, sodass die Ergebnisse mit hSOD-1Gly93Ala Mäusen, die mit CNTF defizienten Mauslinien verkreuzt wurden, noch an größeren Patientenkollektiven bestätigt werden müssen.

Der augenscheinliche in vitro und in vivo-Effekt von CNTF auf das Überleben von Motoneuronen in Modellstudien macht einen modifizierenden Einfluss dieses neurotrophen Faktors auf den Verlauf degenerativer Motoneuronenerkrankungen wie der ALS wahrscheinlich. Auch andere Erkrankungen

des ZNS, bei denen ein zumindest sekundärer pathophysiologischer Mechanismus wie die Axondegeneration als Ursache einer chronisch-progredienten Symptomatik vermutet wird, zeigen in ihrem Verlauf Abhängigkeiten von der homozygoten CNTF-Nullmutation. So zeigten Untersuchungen an 288 Patienten mit chronisch progredienten Verlaufsformen einer Multiplen Sklerose einen signifikant früheren Erkrankungsbeginn bei Prädominanz motorischer neurologischer Symptome im Vergleich zu Patienten mit hinsichtlich CNTF heterozygotem oder homozygot normalem Genotyp (Giess et al. 2002). Aufgrund der oben geschilderten Gründe muss die Bedeutung von CNTF für die Prognoseeinschätzung des Manifestationsalters und die Verlaufsdynamik der familiären Formen der ALS im Rahmen der fachlich qualifizierten Humangenetischen Beratung sicher noch abgewartet werden. Insbesondere ist eine mögliche Abhängigkeit von der zugrunde liegenden SOD1-Mutation, die unter Umständen selbst phänotypische Relevanz besitzt, zu diskutieren. CNTF hätte demzufolge einen ursachenspezifischen modifizierenden Effekt auf die Erkrankungscharakteristik. Die vermutlich heterogenen und nicht genetisch bedingten pathophysiologischen Ursachen der sporadischen ALS-Formen lassen derzeit eine Einschätzung der Bedeutung des CNTF-Genotyps nur schwer zu. Ein besseres Verstehen der pathogenetischen Mechanismen der ALS ist hier sicher Voraussetzung.

Therapieversuche mit CNTF bei ALS Patienten

Die vielversprechenden Ergebnisse der tierexperimentellen Studien, insbesondere bei Mausmutanten mit autosomal rezessiver Motoneuronerkrankung, wobblers- Mäusen und pmn- Mäusen forcierten in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts klinische Therapiestudien mit CNTF bei der kausal nicht behandelbaren ALS. Die subkutane Applikation von CNTF ergab jedoch keinen positiven Effekt auf Prognose oder sekundäre Studienziele und keine Verbesserung der Muskelkraft. Vielmehr führten Nebenwirkungen durch die zytokinen Eigenschaften von CNTF zu einer Dosisbegrenzung und darüber hinaus vielfach zu einem vorzeitigen Abbruch der Therapie. Diese Ergebnisse bestätigen die Einschätzung, dass CNTF aufgrund seiner vielfältigen Wirkungen, zumindest bei systemischer Applikation, keine Bedeutung bei der Behandlung degenerativer Erkrankungen haben wird. Aufgrund der Entwicklung neuer Applikationsmethoden, z.B. mit neuartigen Lentiviren und AAV-Vektoren und neuer ermutigender Daten mit anderen Wachstumsfaktoren (Storkebaum et al. 2005) könnte es möglich sein, dass eine Anwendung von CNTF aufgrund seiner Effekte für das Zellüberleben und die Regeneration nervaler Strukturen neu diskutiert wird. Dies müsste jedoch unter Berücksichtigung der zugrunde liegenden genetischen Veränderungen und einer genaueren Kenntnis des Pathomechanismus bei den zu behandelnden Patienten im Rahmen eines integrierten Behandlungskonzeptes erfolgen.

Literatur

- Al-Chalabi A, Scheffler MD, Smith BN, Parton MJ, Cudkowicz MJ, Andersen PM, Hayden DL, Hansen VK, Turner MR, Shaw CE, Leigh PN, Brown RH (2003). Ciliary neurotrophic factor does not influence phenotype in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 54:130-134
- Arakawa Y, Sendtner M, Thoenen H (1990). Survival effect of ciliary neurotrophic factor (CNTF) on chick embryonic motoneurons in culture: Comparison with other neurotrophic factors and cytokines. *J Neurosci* 10:3507-3515
- Brujin LI, Miller TM, Cleveland DW (2004). Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. *Annu Rev Neurosci* 27:723-749
- Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, Cayabyab A, Hung WY, Getzoff ED, Hu P, Herzfeldt B, Roos RP, et al. (1993) Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu,Zn superoxide dismutase. *Science* 261:1047-1051
- Elam JS, Taylor AB, Strange R, Antonyuk S, Doucette PA, Rodriguez JA et al (2003). Amyloid-like filaments and water-filled nanotubes formed by SOD1 mutant proteins linked to familial ALS. *Nat Struct Biol* 10:461-467.
- Figlewicz DA, Orrell RW (2003) The genetics of motor neuron diseases. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 4:225-231
- Giess R, Beck M, Goetz R, Nitsch RM, Toyka KV, Sendtner M (2000) Potential role of LIF as a modifier gene in the pathogenesis in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 54: 1003-1005
- Giess R, Goetz R, Schrank B, Ochs G, Sendtner M, Toyka KV (1998) Potential implications of a ciliary neurotrophic factor gene mutation in a German population of patients with motor neuron disease. *Muscle Nerve* 21:236-238
- Giess R, Holtmann B, Braga M, Grimm T, Muller-Myhsok, Toyka KV, Sendtner M (2002) Early onset of severe familial amyotrophic lateral sclerosis with a SOD-1 mutation: potential impact of CNTF as a candidate modifier gene. *Am J Hum Genet* 70:1277-1286
- Giess R, Maurer M, Linker R, Gold R, Warmuth-Metz M, Toyka KV, Sendtner M, Riekmann P (2002) Association of a null mutation in the CNTF gene with early onset of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 59:407-9.
- Jiang YM, Yamamoto M, Kobayashi Y, Yoshihara T, Liang Y, Terao S, Takeuchi H, Ishigaki S, Katsuno M, Adachi H, Niwa J, Tanaka F, Doyu M, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G (2005) Gene expression profile of spinal motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 57:236-251
- Kaupmann K, Sendtner M, Jockusch H (1991). The gene for ciliary neurotrophic factor (Cnrf) maps to chromosome 19 of the mouse. *Mouse Gen* 89:246
- Lambrechts D, Storkebaum E, Morimoto M, Del-Favero J, Desmet F, Marklund SL, Wyns S, Thijs V, Andersson J, van Marion I, Al-Chalabi A, Bornes S, Musson R, Hansen V, Beckman L, Adolfsson R, Pall HS, Prats H, Vermeire S, Rutgeerts P, Katayama S, Awata T, Leigh N, Lang-Lazdunski L, Dewerchin M, Shaw C, Moons L, Vlietinck R, Morrison KE, Robberecht W, Van Broeckhoven C, Collen D, Andersen PM, Carmeliet P (2003) VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat Genet* 34:383-394
- Liochev SI, Fridovich I (2003). Mutant Cu,Zn superoxide dismutases and familial amyotrophic lateral sclerosis: evaluation of oxidative hypotheses. *Free Radic Biol Med* 34:1383-1389
- Liu J, Lillo C, Jonsson PA, Vande Velde CV, Ward CM, Miller TM, Subramaniam JR, Rothstein JD, Marklund S, Andersen PM, Brannstrom T, Gredal O, Wong PC, Williams DS, Cleveland DW (2004). Toxicity of familial ALS-linked SOD1 mutants from selective recruitment to spinal mitochondria. *Neuron*;43:5-17
- Masu Y, Wolf E, Holtmann B, Sendtner M, Brem G, Thoenen H (1993). Disruption of the CNTF gene results in motor neuron degeneration. *Nature* 365:27-32
- Ralph GS, Radcliffe PA, Day DM, Carthy JM, Leroux MA, Lee DC, Wong LF, Bilstrand LG, Greensmith L, Kingsman SM, Mitrophanous KA, Mazarakis ND, Azzouz M (2005). Silencing mutant SOD1 using RNAi protects against neurodegeneration and extends survival in an ALS model. *Nat Med* 11: 429-433
- Raoul C, Estevez AG, Nishimune H, Cleveland DW, deLapeyriere O, Henderson CE, Haase G, Pettmann B (2002) Motoneuron death triggered by a specific pathway downstream of Fas. potentiation by ALS-linked SOD1 mutations. *Neuron*;35:1067-1083
- Sendtner M, Schmalbruch H, Stöckli KA, Carroll P, Kreutzberg GW, Thoenen H (1992). Ciliary neurotrophic factor prevents degeneration of motor neurons in mouse mutant progressive motor neuronopathy. *Nature* 358:502-504
- Siddique T, Deng HX (1996). Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet* 5:1465-1470
- Stöckli KA, Lottspeich F, Sendtner M, Masiakowski P, Carroll P, Götz R, Lindholm D, Thoenen H (1989) Molecular cloning, expression and regional distribution of rat ciliary neurotrophic factor. *Nature* 342:920-923
- Storkebaum E, Lambrechts D, Dewerchin M, Moreno-Murciano MP, Appelmans S, Oh H, Van Damme P, Rutten B, Man WY, De Mol M, Wyns S, Manka D, Vermeulen K, Van Den Bosch L, Mertens N, Schmitz C, Robberecht W, Conway EM, Collen D, Moons L, Carmeliet P (2005). Treatment of motoneuron degeneration by intracerebroventricular delivery of VEGF in a rat model of ALS. *Nat Neurosci* 8:85-92
- Takahashi R, Yokoji H, Misawa H, Hayashi M, Hu J, Deguchi T (1994) A null mutation in human CNTF gene is not causally related to neurological diseases. *Nat Genet* 7:215
- Wiese S, Metzger F, Holtmann B, Sendtner M (1999). Mechanical and excitotoxic lesion of motoneurons: effects of neurotrophins and ciliary neurotrophic factor on survival and regeneration. *Acta Neurochir Suppl* 73:31-39

Korrespondenzadresse

Dr. med. Marcus Beck
 Institut für Klinische Neurobiologie
 Universität Würzburg
 Josef-Schneider-Strasse 11
 D-97080 Würzburg
 Tel. 0931/20149771
 Fax 0931/20149788
 beck_m@klinik.uni-wuerzburg.de