

博士論文

ドラッグ・リポジショニングによる筋萎縮性側索硬化症
に対する新規治療薬の探索

藤野 悟央

ドラッグ・リポジショニングによる筋萎縮性側索硬化症
に対する新規治療薬の探索

東京大学大学院医学系研究科

脳神経医学専攻 神経内科学

指導教員：戸田 達史

申請者：藤野 悟央

目次

1	略語一覧.....	3
2	要旨.....	6
3	序論.....	7
3.1	神経変性疾患の遺伝的要因.....	7
3.2	代表的な神経変性疾患の遺伝的要因と治療.....	8
3.3	ドラッグ・リポジショニングによる創薬研究.....	14
3.4	多因子疾患を対象としたゲノム創薬.....	15
3.5	本研究の目的.....	17
4	方法.....	19
4.1	<i>in silico</i> drug screening.....	19
4.2	細胞培養.....	22
4.3	刺激とスクリーニング薬の調整.....	22
4.4	MTS アッセイと LDH アッセイ.....	25
4.5	緩衝液の組成.....	27
4.6	ウエスタンブロット解析.....	27
4.7	ウエスタンブロット解析に使用した抗体.....	28
5	結果.....	30
5.1	<i>in silico</i> drug screening の解析結果.....	30
5.2	<i>in vitro</i> drug screening の解析結果.....	37
5.3	NSC-34 細胞における神経保護効果の検討.....	49
5.4	BRAF 阻害薬による神経保護効果の作用機序の検討.....	51
6	考察.....	56
6.1	<i>in silico</i> drug screening の長所と限界.....	56
6.2	BRAF 阻害薬による ERK 活性化の作用機序.....	59
6.3	ALS 治療薬として BRAF 阻害薬を選択する根拠.....	62
6.4	BRAF 阻害薬による治療の安全性に関する問題.....	65
6.5	<i>in vitro</i> の実験系の限界.....	65
6.6	今後の展望.....	67
7	結語.....	68
8	謝辞.....	69
9	引用文献.....	70
10	表.....	133

1 略語一覽

Official Symbol	Official Full Name
<i>ABCA7</i>	ATP binding cassette subfamily A member 7
<i>ABI3</i>	AP2/B3-like transcriptional factor family protein
<i>ABL1</i>	ABL proto-oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase
<i>ADRA1A</i>	adrenoceptor alpha 1A
<i>ADRA1B</i>	adrenoceptor alpha 1B
<i>ADRA1D</i>	adrenoceptor alpha 1D
<i>AGTR1</i>	angiotensin II receptor type 1
<i>ALS2</i>	alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2
<i>ANG</i>	angiogenin
<i>ANXA11</i>	annexin A11
<i>APOE</i>	apolipoprotein E
<i>ATP6V1A</i>	ATPase H ⁺ transporting V1 subunit A
<i>ATXN2</i>	ataxin 2
<i>AVPR1A</i>	arginine vasopressin receptor 1A
<i>AVPR1B</i>	arginine vasopressin receptor 1B
<i>BIN1</i>	bridging integrator 1
<i>C21orf2</i>	chromosome 21 open reading frame 2
<i>C3</i>	complement C3
<i>C4A</i>	complement C4A
<i>C4B</i>	complement C4B
<i>C9orf72</i>	chromosome 9 open reading frame 72
<i>CAMK1G</i>	calcium/calmodulin dependent protein kinase IG
<i>CAMTA1</i>	calmodulin binding transcription activator 1
<i>CASS4</i>	Cas scaffold protein family member 4
<i>CCNF</i>	cyclin F
<i>CD2AP</i>	CD2 associated protein
<i>CD33</i>	CD33 molecule
<i>CELF1</i>	CUGBP Elav-like family member 1
<i>CFTR</i>	CF transmembrane conductance regulator
<i>CHCHD10</i>	coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 10
<i>CHMP2B</i>	charged multivesicular body protein 2B
<i>CHRM1</i>	cholinergic receptor muscarinic 1
<i>CHRM3</i>	cholinergic receptor muscarinic 3
<i>CHRM5</i>	cholinergic receptor muscarinic 5
<i>CLU</i>	clusterin
<i>COQ2</i>	coenzyme Q2, polyprenyltransferase
<i>CR1</i>	complement C3b/C4b receptor 1
<i>CTSD</i>	cathepsin D
<i>DPP6</i>	dipeptidyl peptidase like 6
<i>EDN1</i>	endothelin-1
<i>EDNRA</i>	endothelin receptor type A
<i>EDNRB</i>	endothelin receptor type B
<i>ELOVL7</i>	elongation of very long-chain fatty acid 7
<i>EPHA1</i>	EPH receptor A1
<i>ERBB4</i>	erb-b2 receptor tyrosine kinase 4
<i>ESR1</i>	estrogen receptor 1
<i>EXOC3L2</i>	exocyst complex component 3 like 2
<i>FBXO47</i>	F-box protein other 47
<i>FERMT2</i>	fermitin family member 2
<i>FFAR1</i>	free fatty acid receptor 1
<i>FGR</i>	FGR proto-oncogene, Src family tyrosine kinase

<i>FIG4</i>	FIG4 phosphoinositide 5-phosphatase
<i>FUS</i>	FUS RNA binding protein
<i>FYN</i>	FYN proto-oncogene, Src family tyrosine kinase
<i>GBA</i>	glucosylceramidase beta
<i>GLUL</i>	glutamate-ammonia ligase
<i>GPX3</i>	glutathione peroxidase 3
<i>GRIA1</i>	glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 1
<i>GRIN1</i>	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 1
<i>GRIN2A</i>	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A
<i>GRIN2B</i>	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2B
<i>HLA-DRB1</i>	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1
<i>HLA-DRB5</i>	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5
<i>HNRNPA1</i>	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1
<i>HSPA8</i>	heat shock protein family A (Hsp70) member 8
<i>HTR2A</i>	5-hydroxytryptamine receptor 2A
<i>HTR2B</i>	5-hydroxytryptamine receptor 2B
<i>HTR2C</i>	5-hydroxytryptamine receptor 2C
<i>INPP5D</i>	inositol polyphosphate-5-phosphatase D
<i>JAK1</i>	Janus kinase 1
<i>JAK2</i>	Janus kinase 2
<i>JAK3</i>	Janus kinase 3
<i>JUN</i>	Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit
<i>KCNMA1</i>	potassium calcium-activated channel subfamily M alpha 1
<i>KIF5A</i>	kinesin family member 5A
<i>LCK</i>	LCK proto-oncogene, Src family tyrosine kinase
<i>LYN</i>	LYN proto-oncogene, Src family tyrosine kinase
<i>MAPK3</i>	mitogen-activated protein kinase 3
<i>MAPT</i>	microtubule associated protein tau
<i>MATR3</i>	matrin 3
<i>MEF2C</i>	myocyte enhancer factor 2C
<i>MME</i>	membrane metalloendopeptidase
<i>MS4A4A</i>	membrane spanning 4-domains A4A
<i>MS4A4E</i>	membrane spanning 4-domains A4E
<i>MS4A6A</i>	membrane spanning 4-domains A6A
<i>NEK1</i>	NIMA related kinase 1
<i>NFKB1</i>	nuclear factor kappa B subunit 1
<i>NME8</i>	NME/NM23 family member 8
<i>NTRK1</i>	neurotrophic receptor tyrosine kinase 1
<i>OPTN</i>	optineurin
<i>OXT</i>	oxytocin/neurophysin I prepropeptide
<i>OXTR</i>	oxytocin receptor
<i>PCDH11X</i>	protocadherin 11 X-linked
<i>PDGFRA</i>	platelet derived growth factor receptor alpha
<i>PFN1</i>	profilin 1
<i>PICALM</i>	phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein
<i>PLCG2</i>	phospholipase C gamma 2
<i>PLD3</i>	phospholipase D family member 3
<i>PPP2CB</i>	protein phosphatase 2 catalytic subunit beta
<i>PRNP</i>	prion protein
<i>PTGER1</i>	prostaglandin E receptor 1
<i>PTK2B</i>	protein tyrosine kinase 2 beta
<i>RAF1</i>	Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase
<i>RIN3</i>	Ras and Rab interactor 3
<i>SARM1</i>	sterile alpha and TIR motif containing 1
<i>SCFD1</i>	sec1 family domain containing 1
<i>SETX</i>	senataxin

<i>SIGMAR1</i>	sigma non-opioid intracellular receptor 1
<i>SLC24A4</i>	solute carrier family 24 member 4
<i>SLC6A2</i>	solute carrier family 6 member 2
<i>SLC6A3</i>	solute carrier family 6 member 3
<i>SLC6A4</i>	solute carrier family 6 member 4
<i>SNCA</i>	synuclein alpha
<i>SOD1</i>	superoxide dismutase 1
<i>SORL1</i>	sortilin related receptor 1
<i>SPG11</i>	SPG11, spatacsin vesicle trafficking associated
<i>SQSTM1</i>	sequestosome 1
<i>SRC</i>	SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase
<i>SUSD2</i>	sushi domain containing 2
<i>TACR1</i>	tachykinin receptor 1
<i>TARDBP</i>	TAR DNA binding protein
<i>TBK1</i>	TANK binding kinase 1
<i>TNF</i>	tumor necrosis factor
<i>TNIP1</i>	TNFAIP3 interacting protein 1
<i>TREM2</i>	triggering receptor expressed on myeloid cells 2
<i>TRHR</i>	thyrotropin releasing hormone receptor
<i>TUBA4A</i>	tubulin alpha 4a
<i>UBQLN2</i>	ubiquilin 2
<i>UNC13A</i>	unc-13 homolog A
<i>VAPB</i>	VAMP associated protein B and C
<i>VCP</i>	valosin containing protein
<i>ZCWPW1</i>	zinc finger CW-type and PWWP domain containing 1

2 要旨

有効な疾患修飾薬がない神経変性疾患である、多系統萎縮症、筋萎縮側索硬化症（ALS）、アルツハイマー病を対象に *in silico* drug screening を実施し、本手法の妥当性を確認するとともに、新規治療薬の候補として期待が可能な既存薬を複数見出した。さらに、ALS で見出した既存薬に対し、ALS 病態を模倣した実験系で *in vitro* drug screening を行い、BRAF 阻害薬が神経保護効果を有することを発見した。その作用機序として ERK の活性化を認め、BRAF 阻害薬による ERK の「Paradoxical Activation」が、ALS 治療につながる可能性を明らかにした。また、BRAF 阻害薬が有意に神経保護効果と ERK の活性化を示す至適濃度を見出し、ALS モデルマウスや ALS 患者由来 iPS 細胞を用いた試験で有効性を検討するための薬理学的な基盤を構築した。

3 序論

3.1 神経変性疾患の遺伝的要因

神経変性とは神経細胞の構造や機能が障害される病的状態であり，神経変性疾患とは慢性進行性の経過で特有の領域に選択的な神経変性・脱落をきたす疾患である^{1,2}．神経変性疾患において家族歴が見られる場合は，1つの疾患遺伝子が発症に関与する単一遺伝子疾患（遺伝性疾患）と捉えられ，その例として，ハンチントン病（Huntington's disease, HD）³や歯状核赤核・淡蒼球ルイ体萎縮症⁴などの遺伝性脊髄小脳変性症が挙げられる．一方，家族歴を有さないアルツハイマー病（Alzheimer's disease, AD），パーキンソン病（Parkinson's disease, PD），多系統萎縮症（multiple system atrophy, MSA），筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, ALS）などの孤発性疾患は，多因子疾患と捉えられ，複数の遺伝的要因や環境要因が関与すると考えられている．これまで，遺伝性疾患を対象として，疾患家系の連鎖解析・ポジショナルクローニングにより遺伝的要因（疾患遺伝子）が明らかにされてきたが，近年，マイクロアレイや次世代シーケンシング（next-generation sequencing, NGS）などのゲノム解析技術の進歩により，遺伝性疾患，孤発性疾患（多因子疾患）いずれにおいても遺伝的要因が明らかになりつつある．

多因子疾患の遺伝的要因を明らかにする研究方法の一つに、ゲノムワイド関連解析（genome-wide association study, GWAS）が挙げられる⁵。GWAS は、疾患の症例群と対照群において、それぞれゲノム全域の一塩基多型（single nucleotide polymorphism, SNP）を網羅的に解析し、両群の SNP アレル頻度を比較することで、疾患発症のリスクとなる感受性遺伝子を同定する方法である。近年では、NGS で得られたゲノムの塩基配列情報そのものを活用したレアバリエント関連解析（rare variant association study, RVAS）などにより、GWAS では検出されない、低頻度だが疾患発症リスクが高いレアバリエントを有する感受性遺伝子も同定されている⁶。このようなゲノム解析により、孤発性の神経変性疾患において複数のリスク遺伝子が報告されているが、これらの遺伝子がどのように病態に関与するのか分子機構の詳細は不明な点が多く、創薬へ直接つなげることが困難であるという課題が残されている。

3.2 代表的な神経変性疾患の遺伝的要因と治療

3.2.1 多系統萎縮症

MSA は、小脳失調、パーキンソニズム、自律神経障害を様々な組み合わせで中核症状として認め、錐体路障害、末梢神経障害、認知症なども呈する神経変性疾患である⁷。本邦の有病率は人口 10 万人あたり約 9 人、生命予後は 5–10 年で

ある⁸⁻¹¹。中枢神経系にグリア細胞質内封入体 (glial cytoplasmic inclusion, GCI) などの α シヌクレインを構成成分とする封入体を病理学的に認める^{12,13}。本疾患の大部分は孤発性であるが、コンセンサスの得られている環境要因はなく、稀ではあるが家族性を示す例も存在することから、疾患の発症には遺伝的要因も関与すると考えられている。孤発性多系統萎縮症の発症リスクとなる疾患感受性遺伝子には、*SNCA*¹⁴、*FBXO47*¹⁵、*ELOVL7*¹⁵、*EDN1*¹⁵、*MAPT*¹⁵、*GBA*¹⁶が報告されている。また、*COQ2* は、家族性および孤発性のいずれにおいても発症に関与する¹⁷。病理所見や遺伝学的知見から本疾患の病態として、 α シヌクレインの蓄積や、*COQ2* 変異によるコエンザイム Q10 の合成低下などが示唆されている。本疾患の治療として、小脳失調に対する甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導体 (Protirelin, Taltirelin)、パーキンソニズムに対する抗パーキンソン病薬、自律神経障害による起立性低血圧に対する昇圧薬、頻尿や排尿困難に対する排尿障害治療薬、痙縮に対する抗痙縮薬などが使用されているが、いずれも対症療法であり、現時点では疾患の進行や予後を改善する疾患修飾薬はない。

3.2.2 筋萎縮性側索硬化症

ALS は、上位運動ニューロンと下位運動ニューロンが進行性に変性・脱落し、全身の筋力低下・筋萎縮をきたす神経変性疾患である。約 50%の患者で認知・行動障害もみられ、ALS の 13%では前頭側頭型認知症 (behavioral variant

frontotemporal dementia, bvFTD) も合併する¹⁸. 有病率は地域差があり, 欧米では 10 万人当たり 3-5 人, 本邦では 10 万人当たり 7-10 人と推計されている¹⁹. 本患者の発症後生存期間の中央値は 20-48 ヶ月であり予後不良であるが²⁰, 10% 弱は 12 ヶ月以内に死亡する一方, 5-10%は 10 年以上の生存がみられ, 個人差がある²¹. 病理学的には, 大脳皮質運動野から脊髄, 骨格筋に至る皮質脊髄路における, 運動神経細胞の変性・脱落が特徴的であり, 変性した運動神経細胞内には, TDP-43 (97%), SOD1 (2%), FUS (1%未満) などを構成成分とする封入体を認める²²⁻²⁶.

本疾患の 5-10%は家族性 (familial ALS, FALS) であり, 25 種類以上の疾患遺伝子が報告されている. 90-95%は孤発性 (sporadic ALS, SALS) が占め, 遺伝的要因, 環境要因などが発症に関与すると考えられている^{27, 28}. ALS の病態機序は, FALS の疾患遺伝子の機能解析から, タンパク質の恒常性維持機構の破綻 (*SIGMAR1*, *CHMP2B*, *C9orf72*, *SQSTM1*, *UBQLN2*, *SOD1*, *ALS2*, *VAPB*, *OPTN*, *VCP*, *TBK1*), RNA 代謝異常 (*SETX*, *FUS*, *ANG*, *TARDBP*, *ATXN2*, *HNRNPA1*, *C9orf72*, *MATR3*), 細胞骨格・軸索の障害 (*SOD1*, *SPG11*, *TUBA4A*, *PFN1*, *KIF5A*) をはじめ, 酸化ストレス (*SOD1*, *ALS2*, *TARDBP*), グルタミン酸による興奮毒性 (*SOD1*), 細胞内カルシウムイオン濃度の上昇 (*ANXA11*), ミトコンドリア機能異常 (*SOD1*, *CHCHD10*, *TARDBP*), 核-細胞質間の輸送障害 (*C9orf72*), DNA

修復障害 (*NEK1*, *SPG11*, *FUS*), 小胞輸送障害 (*SOD1*, *ALS2*, *FIG4*, *VAPB*, *OPTN*, *CHMP2B*, *ANXA11*), グリア細胞 (ミクログリア, オリゴデンドロサイト, アストロサイト) の異常 (*SOD1*, *C9orf72*), 神経炎症 (*SOD1*, *C9orf72*, *TBK1*, *OPTN*), などが注目されており, 多岐にわたる^{18,29-34}. また, SALS を対象とした GWAS においても, 神経細胞の興奮 (*DPP6*)³⁵, 小胞輸送やグルタミン酸代謝 (*UNC13A*)³⁶ などに関与する遺伝子が報告されている. 家族歴のない孤発例で FALS の疾患遺伝子に病的バリエーションを認めることもあり, SALS と FALS で共通した病態が存在すると考えられる.

国内で承認されている ALS の治療薬は, グルタミン酸による興奮毒性を抑制し生存期間を 2-3 ヶ月延長する Riluzole と³⁷, フリーラジカルによる酸化ストレスを抑制し日常生活機能障害の進行を約 2 ヶ月延長する Edaravone のみであり³⁸, 本疾患の生命予後の悪さを考慮するといずれも効果は不十分である. そのため, より治療効果の高い新薬の創出が喫緊の課題となっている.

3.2.3 アルツハイマー病

AD は, 近似記憶障害, 見当識障害, 遂行機能障害などの認知機能障害や, 焦燥性興奮, 脱抑制, 幻覚・妄想などの認知症の行動・心理症状 (behavioral and psychological symptoms of dementia, BPSD) を呈する, 緩徐進行性の神経変性疾患である³⁹. 発症年齢から, 65 歳未満で発症する若年発症アルツハイマー病

(early-onset Alzheimer's disease, EOAD) と、65 歳以降で発症する高齢発症アルツハイマー病 (late-onset Alzheimer's disease, LOAD) に分類され、EOAD はアルツハイマー病全体の 4-5% を占める⁴⁰。アルツハイマー病は、病理学的にリン酸化タウを構成成分とする神経原線維変化や、アミロイドβ (Aβ) を構成成分とする老人斑を、大脳皮質などに広範に認める点が特徴である⁴¹。2016 年の時点で認知症の患者数は、全世界で 4380 万人、人口 10 万人あたり 712 人であり⁴²、2030 年には 7470 万人、2050 年には 1 億 3150 万人に達すると推計されている⁴³。AD は認知症の中で 50-75% を占める最も頻度の高い疾患であり、疾患の克服は極めて重要な課題である⁴⁴。

本疾患は、家族歴のない孤発例 (sporadic Alzheimer's disease, SAD) が大部分を占めるが、家族歴のある例 (familial Alzheimer's disease, FAD) も存在し、AD 全体の 1% 未満が常染色体優性遺伝を呈する⁴⁵。特に EOAD において家族性の頻度が高く、35-60% が第一度近親者の家族歴を有し、家族性 EOAD の 10-15% が常染色体優性遺伝を示す⁴⁶。EOAD は遺伝的要因の影響が大きく、LOAD では環境要因と遺伝的要因が複雑に影響すると考えられており、いずれの病型においても遺伝的要因が疾患の発症に関与している。

AD の病態機序として、病因分子である Aβ が前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein, APP) から切断され、Aβ₄₂ が異常凝集することにより、老人斑

の形成、神経原線維変化、神経細胞死に至り、認知症を発症するという、アミロイド仮説が代表的である⁴⁷。この仮説は、家族性の EOAD の疾患遺伝子として発見された *APP*⁴⁸, *PSEN1*⁴⁹, *PSEN2*^{50, 51} が $A\beta$ の産生に関与する共通した経路に存在し、これらの変異が AD 病態の増悪 ($A\beta$ 産生の亢進, $A\beta_{42}$ および $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比の増加など) に関与するという知見に基づいている⁵²⁻⁵⁵。一方、LOAD においては、*APOE* ($\epsilon 4$ アレル) が *FAD*^{56, 57} と *SAD* のいずれにおいても、強力なリスク因子として知られる^{58, 59}。*APOE* はコレステロールや脂質の輸送をはじめ、 $A\beta$ の凝集促進や神経原線維変化の形成、シナプス機能の低下、神経毒性など、広範な病態に関与する⁶⁰。また、GWAS や RVAS によって、脂質代謝 (*APOE*, *CLU*, *ABCA7*), 免疫応答 (*TREM2*, *ABCA7*, *CD33*, *CLU*, *CR1*, *MS4A6A*, *MS4A4E*, *EPHA1*, *HLA-DRB1*, *HLA-DRB5*, *INPP5D*, *MEF2C*), エンドサイトーシスや小胞輸送 (*PICALM*, *BINI*, *SORL1*, *PICALM*, *CD2AP*) などに関与する複数の感受性遺伝子が報告されており、AD 病態との関連が想定される^{61, 62}。

AD の治療には、コリンエステラーゼ阻害薬である Donepezil, Galantamine, Rivastigmine, NMDA 受容体拮抗薬である Memantine が使用されているが、いずれも対症療法的であり効果は不十分である。アミロイド仮説に基づいて開発された抗 $A\beta$ 抗体, $A\beta$ ワクチン, γ セクレターゼ阻害薬, β セクレターゼ阻害薬などの疾患修飾薬は、治験が失敗に終わっている。近年はタウの異常蓄積など、アミ

ロイド仮説以外の病態も注目され、診断および治療ともに早期の段階で介入する方向に治療戦略がシフトしている。しかし、現時点でも病態の改善や進行を十分に遅らせることが可能な疾患修飾薬は存在していないのが現状である。

3.3 ドラッグ・リポジショニングによる創薬研究

ドラッグ・リポジショニング (drug repositioning, drug repurposing) とは、すでに承認されている既存薬や開発中止となった薬物から、本来対象としていた疾患以外の疾患に対して新たに薬効を見出し、薬事承認を目指し研究開発を進める創薬手法である^{63,64}。創薬研究において、第1相試験に進んだ新規化合物が承認に至る確率は10%未満⁶⁵、新規化合物の発見から上市に至るまでには12–16年の期間、10–20億ドル (US dollar) の費用を要すると言われ、低い成功確率、長期の時間、巨額の費用、が問題となっている⁶⁶。一方、ドラッグ・リポジショニングの手法を採用した場合、上市までに要する時間と費用は、平均約6.5年間、3億ドル (US dollar) と推計されている⁶⁶。ドラッグ・リポジショニングは、新規化合物の研究開発を初めから全て行う場合と比較し、(1) 安全性や薬物動態などの情報が既に得られているため治験失敗の確率が低い、(2) 前臨床試験や安全性評価、製剤設計などが検討済みの場合があり時間を節約できる、(3) 費用を節約できる、などの利点があり、注目されている。

神経疾患領域における治療薬を例に挙げれば, Galantamine⁶⁷, Memantine は⁶⁸, それぞれ小児麻痺（ポリオ）後遺症治療薬, 抗インフルエンザ治療薬（アマンタジン）誘導体から, いずれもアルツハイマー型認知症治療薬として承認されている. 高血圧治療薬として開発が進められていた Ropinirole⁶⁹ や, 抗てんかん薬である Zonisamide⁷⁰ は, パーキンソン病治療薬として承認されている. 神経疾患領域では, 第 1 相試験, 第 2 相試験, 第 3 相試験の化合物が承認に至る確率はそれぞれ 3%, 8%, 49%であり, 他の疾患領域と比較し成功率が低いことから⁶⁵, ドラッグ・リポジショニングは有用な創薬手法である.

3.4 多因子疾患を対象としたゲノム創薬

単一遺伝子疾患を対象とした創薬の場合には, 発症の原因となる疾患遺伝子に着目し, (1) 異常タンパク質の発現抑制や, 正常に機能するタンパク質の発現促進などに作用するアンチセンス核酸, (2) 病態に関連するシグナル伝達経路を修飾する疾患修飾薬, (3) 不足する正常タンパク質そのものを補充するリコンビナントタンパク質製剤など, 病態機序に基づき治療戦略を立て, 治療薬の研究開発を進めることが可能である. 例えば, 脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy, SMA) に対する Nusinersen や, デュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy, DMD) に対する viltolarsen は, 国内で承認されているアンチ

センス核酸治療薬である。また、HD に対する Tominersen や、*SOD1* 変異 ALS に対する Tofersen は、現在、治験（Phase 3）が実施されている。一方、多因子が関与する孤発性の神経変性疾患においては、遺伝的要因が明らかになっても、病態の詳細な分子機構が依然として不明な点が多い。そのため、病態の改善が確実に期待できるような標的分子・シグナル伝達経路を見出すことができず、創薬が困難となっている。

近年、多因子疾患である関節リウマチ（rheumatoid arthritis, RA）において、GWAS で明らかになった遺伝学的要因（疾患感受性遺伝子）の情報に、タンパク質間相互作用（protein-protein interaction, PPI）データベースやドラッグデータベースなどの情報を組み合わせ、ドラッグ・リポジショニングを活用したゲノム創薬の新手法が報告された⁷¹。この手法は *in silico* drug screening と呼ばれ、多因子疾患において、ゲノム情報と複数のデータベースを活用すれば、詳細な病態機序が明らかになっていなくても創薬につながる可能性があることを示したものである。実際、Okada らはリスク遺伝子のみの情報では見出すことが困難であった RA 治療薬を、*in silico* drug screening の手法を行うことにより、見出すことに成功した。本手法は、2 型糖尿病など他の疾患においても応用されている^{72,73}。当研究室では、PD に対して本手法を実施し、B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase（BRAF）の阻害薬であり悪性黒色腫の治療薬である Dabrafenib を見出し

た⁷⁴。Dabrafenib は, *in vitro* および *in vivo* での PD モデルの実験系において神経保護効果を示し, PD の新たな疾患修飾薬の候補として期待されている。

3.5 本研究の目的

大部分が孤発例である MSA, ALS, AD には, 症状をわずかに軽減するような対症的な承認医薬品は存在するが, 効果は不十分である。そのため, 効果的に神経変性・脱落を抑制し, 疾患の進行や生命予後を大きく改善することが可能な疾患修飾薬の創出は極めて重要な課題である。本研究は, これらの疾患の発症に関与する遺伝学的要因 (ゲノム情報) と PPI データベース, ドラッグデータベースを活用した新しいゲノム創薬の手法 (*in silico* drug screening) を実施し, 効果が期待できる治療薬候補をドラッグ・リポジショニングにより探索することを目的とした。

MSA では多系統に及ぶ複数の神経系が障害され, 詳細な病態は不明な点が多い。AD では A β やタウをはじめ様々な病態が複雑に関与し, これまでに複数の治験薬が失敗に終わっている。一方, ALS は, 特異性が高く運動ニューロンが障害される疾患であり, 標的とすれば患者で有効性が期待できる病態 (グルタミン酸および活性酸素種による神経毒性) も既存の治療薬の作用機序から明らかになっている。これらの理由から, 対象疾患を ALS に絞り, *in silico* drug screening

で見出した治療薬候補に対し，ALS 病態を模倣した実験系で *in vitro* drug screening を行い，細胞レベルで有効性を示す既存の医薬品を探索することを目的とした．

4 方法

4.1 *in silico* drug screening

4.1.1 リスク遺伝子の探索

解析対象とする疾患は、MSA, ALS, AD とし、以下の方法で各疾患のリスク遺伝子を探索した。

4.1.1.1 MSA のリスク遺伝子

MSA に対するゲノム解析において、検索することができた文献 4 報で明らかとなった、以下の計 7 個のリスク遺伝子を用いて、*in silico* drug screening を実施した：*SNCA*¹⁴, *EDNI*¹⁵, *ELOLV7*¹⁵, *FBXO47*¹⁵, *MAPT*¹⁵, *GBA*¹⁶, *COQ2*¹⁷.

4.1.1.2 ALS のリスク遺伝子

家族歴のみられる FALS の疾患遺伝子は、病態に与える影響が大きいと考え、網羅的に検索し、以下の計 27 遺伝子を用いて *in silico* drug screening を実施した：
SOD1 (ALS1)⁷⁵, *ALSIN* (ALS2)^{76,77}, *SETX* (ALS4)⁷⁸, *SPG11* (ALS5)⁷⁹,
FUS (ALS6)^{80,81}, *VAPB* (ALS8)⁸², *ANG* (ALS9)⁸³, *TARDBP* (ALS10)^{84,85},
FIG4 (ALS11)⁸⁶, *OPTN* (ALS12)⁸⁷, *ATXN2* (ALS13)⁸⁸, *VCP* (ALS14)⁸⁹,
UBQLN2 (ALS15)⁹⁰, *SIGMAR1* (ALS16)^{91,92}, *CHMP2B* (ALS17)⁹³, *PFN1* (ALS18)
⁹⁴, *ERBB4* (ALS19)⁹⁵, *HNRNPA1* (ALS20)⁹⁶, *MATR3* (ALS21)⁹⁷, *TUBA4A* (ALS22)
⁹⁸, *ANXA11* (ALS23)³², *NEK1* (ALS24)³¹, *KIF5A* (ALS25)^{33,34}, *C9orf72* (FTDALS1)

^{99, 100}, *CHCHD10* (FTDALS2) ¹⁰¹, *SQSTM1/p62* (FTDALS3) ¹⁰², *TBK1* (FTDALS4)

¹⁰³. また, SALS においては, データの信頼性が高いと判断した主要な文献 (Nature Genetics, etc.) を検索し, ゲノム解析で明らかとなった以下の計 12 個のリスク遺伝子を用いて *in silico* drug screening を実施した: *DPP6* ³⁵, *UNC13A* ^{36, 104}, *CAMK1G* ¹⁰⁵, *SUSD2* ¹⁰⁵, *C21orf2* ¹⁰⁴, *MOBP* ¹⁰⁴, *SCFD1* ¹⁰⁴, *SARM1* ¹⁰⁴, *CCNF* ¹⁰⁶, *CAMTA1* ¹⁰⁷, *GPX3* ¹⁰⁸, *TNIP1* ¹⁰⁸.

4.1.1.3 AD のリスク遺伝子

データの信頼性が高いと判断した主要な文献 (Nature Genetics, etc.) を検索し, ゲノム解析で明らかとなった以下の計 31 個のリスク遺伝子を用いて *in silico* drug screening を実施した: *APOE* ⁵⁶⁻⁵⁹, *TREM2* ¹⁰⁹⁻¹¹¹, *PCDH11X* ¹¹², *CRI* ¹¹³⁻¹¹⁵, *CLU* ¹¹³⁻¹¹⁷, *PICALM* ¹¹⁵⁻¹¹⁷, *BIN1* ^{114, 115}, *CD2AP* ^{113, 115, 118}, *EPHA1* ^{113, 115, 118}, *MS4A6A* ^{113, 118}, *ABCA7* ^{113, 118, 119}, *HLA-DRB1* ¹¹⁴, *HLA-DRB5* ¹¹⁴, *PTK2B* ¹¹⁴, *SORL1* ¹¹⁴, *SLC24A4* ¹¹⁴, *RIN3* ¹¹⁴, *INPP5D* ¹¹⁴, *MEF2C* ¹¹⁴, *NME8* ¹¹⁴, *ZCWPW1* ¹¹⁴, *CELF1* ¹¹⁴, *FERMT2* ¹¹⁴, *CASS4* ¹¹⁴, *EXOC3L2* ¹¹⁷, *MS4A4A* ¹¹⁵, *CD33* ^{115, 118}, *MS4A4E* ¹¹⁸, *PLD3* ¹²⁰, *PLCG2* ¹¹¹, *ABI3* ¹¹¹. FAD の疾患遺伝子 (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*) は, 病態に与える影響が大きいと考えられるが, これらの遺伝子が関与する A β 産生経路に作用する治験薬が既に複数存在することから, *in silico* drug screening の解析対象外とした.

4.1.2 リスク遺伝子産物とタンパク質間相互作用する遺伝子の探索

Web で公開されている PPI データベースである, InWeb_InBioMap version 2016_09_12¹²¹ と PINA v2.0^{122, 123} を解析に使用した. エクセルファイル内に保存されている PPI リスト (InWeb : 615710 PPI, PINA : 166375 PPI, いずれもタンパク質名ではなく遺伝子名で登録) に対し, 文献検索で見出した各疾患のリスク遺伝子を [Ctrl] + [F] で検索し, 各リスク遺伝子が発現するタンパク質に結合するタンパク質をコードする遺伝子 (PPI 遺伝子) を同定した.

4.1.3 PPI 遺伝子産物を標的とする既存薬の探索

Web で公開されているドラッグデータベースである DrugBank 5.0¹²⁴ を解析に使用した. エクセルファイル内に保存されている, DrugBank 5.0 に登録のある遺伝子のリストに対し, PPI 遺伝子を [Ctrl] + [F] で検索し, 登録されている PPI 遺伝子 (すなわち, 既存の医薬品の標的となっているタンパク質を発現する PPI 遺伝子) を全て抽出した. そして, DrugBank Online (version 5.1.7, released 2020-07-02) の検索ボックスに, これらの PPI 遺伝子を入力し, それぞれの PPI 遺伝子産物を標的とする既存の承認医薬品を全て同定した. これらの既存薬の中から, 文献検索により, 神経保護効果, 細胞保護効果を有することが報告されている医薬品や, 細胞の生存や死, 炎症などに関与するタンパク質 (PPI 遺伝子産物)

を標的とする医薬品を，MSA，ALS，AD に対して効果が期待できるものとして見出した．

4.2 細胞培養

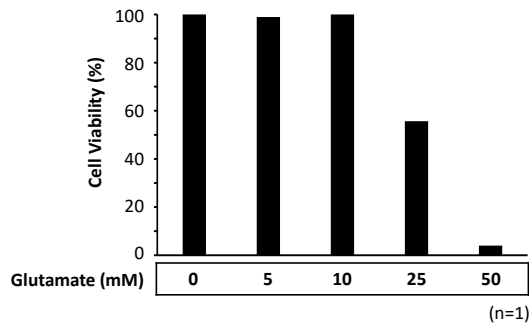
SH-SY5Y 細胞，NSC-34 細胞，Neuro-2a 細胞は，Dulbecco's modified Eagle's medium-high glucose (DMEM, glucose 4.5 mg/mL, Sigma-Aldrich) に fetal bovine serum (FBS, final 10%, Sigma-Aldrich)，ペニシリン-ストレプトマイシン溶液（ペニシリン final 100 units/mL，ストレプトマイシン final 0.1 mg/mL，Sigma）を添加したものを培養液として使用し，CO₂ インキュベーター内（37℃，5.0% CO₂）で培養を行った．MTS アッセイ，LDH アッセイ，ウエスタンブロット解析を実施する際は，DMEM (glucose 4.5 mg/mL, no glutamine, no phenol red, Thermo Fisher Scientific) に N-2 Supplement (final 1.0%, Thermo Fisher Scientific) と L-glutamine (final 2.0 mM, Thermo Fisher Scientific) を添加したアッセイ用 DMEM を用いて解析を行った．SH-SY5Y 細胞と NSC-34 細胞は，MycoAlert マイコプラズマ検出キット (Lonza) を使用し，マイコプラズマ陰性であることを定期的に確認した．

4.3 刺激とスクリーニング薬の調整

グルタミン酸刺激および H_2O_2 刺激は, L-グルタミン酸 (Sigma-Aldrich), 過酸化水素 (富士フィルム和光純薬) をそれぞれアッセイ用 DMEM で濃度調整し, 培養液に添加した. MTS アッセイおよび LDH アッセイでは, Raloxifen (Sigma), Bazedoxifene (R&D Systems), Triflusal (Sigma-Aldrich), Pranlukast (Sigma-Aldrich), Binimetinib (Cayman Chemical), Sulindac (Sigma-Aldrich), Irbesartan (Sigma-Aldrich), Azilsartan (Sigma-Aldrich), Telmisartan (Sigma-Aldrich), Sunitinib (Sigma-Aldrich), Fostamatinib (Cayman Chemical), Sorafenib (Cayman Chemical), Regorafenib (Cayman Chemical), Dabrafenib (Cayman Chemical), Encorafenib (Cayman Chemical) を Dimethyl Sulfoxide (DMSO, 富士フィルム和光純薬) に溶解後, アッセイ用 DMEM で希釈し, 培養液に添加した. ウェスタンブロット解析では, Dabrafenib および Encorafenib の DMSO 溶解液を直接培養液に添加した. 薬物の最終濃度は図中に記載した.

刺激の濃度は, 各セルライン (SH-SY5Y 細胞, NSC-34 細胞, Neuro-2a 細胞) で条件を検討し, 刺激を与えた 24 時間後に 50–90%程度の生存率が得られる濃度を採用した. Neuro-2a 細胞では, 25 mM のグルタミン酸刺激と 50–100 μM の H_2O_2 刺激を採用した (図 1). SH-SY5Y 細胞では, 15–25 mM のグルタミン酸刺激 (Neuro-2a 細胞の条件検討の結果を参考にした) と 25 μM の H_2O_2 刺激を採用した (図 2). NSC-34 細胞では, 75 μM の H_2O_2 刺激を採用した (図 3).

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種 (H_2O_2) 刺激

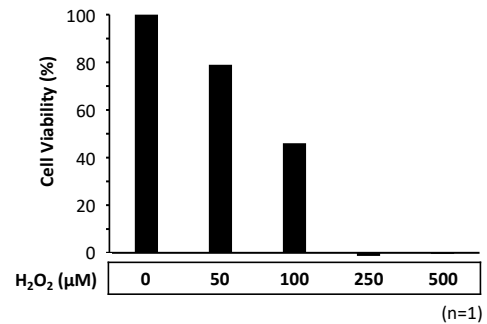


図 1 Neuro-2a 細胞における刺激の条件検討

Neuro-2a 細胞に各濃度のグルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H_2O_2) 刺激 (B) を行い, 24 時間後に MTS アッセイによる細胞生存率を測定した.

活性酸素種 (H_2O_2) 刺激

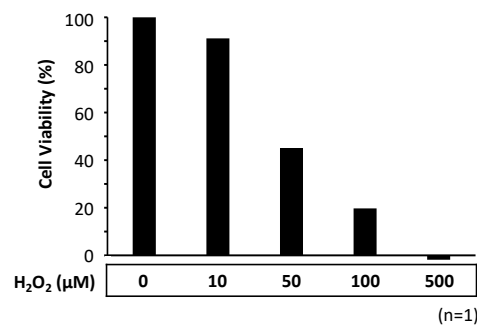


図 2 SH-SY5Y 細胞における刺激の条件検討

SH-SY5Y 細胞に各濃度の活性酸素種 (H_2O_2) 刺激を行い, 24 時間後に MTS アッセイによる細胞生存率を測定した.

活性酸素種 (H_2O_2) 刺激

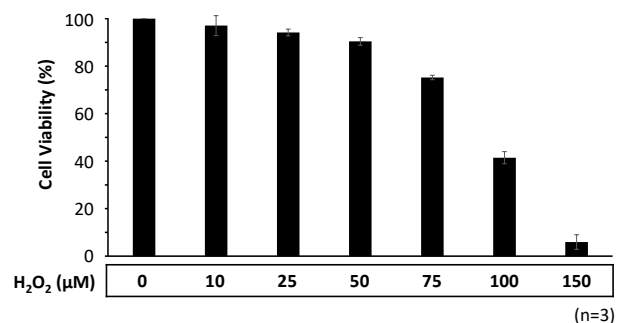


図 3 NSC-34 細胞における刺激の条件検討

NSC-34 細胞に各濃度の活性酸素種 (H_2O_2) 刺激を行い, 24 時間後に MTS アッセイによる細胞生存率を測定した. Mean \pm SEM (n=3).

4.4 MTS アッセイと LDH アッセイ

コラーゲン I コートマイクロプレート 96 well (IWAKI) に、アッセイ用 DMEM を用いて SH-SY5Y 細胞, NSC-34 細胞, Neuro-2a 細胞を播種した (1.0×10^4 cells/well). Raloxifen および Basedoxifen を用いた実験では、事前にアッセイ用 DMEM で 72 時間培養した SH-SY5Y 細胞を用いた. CO_2 インキュベーター内で 24 時間培養後、各薬剤を添加し、さらに 24 時間後にグルタミン酸もしくは H_2O_2 刺激を行い、培養を継続した. 刺激 24 時間後に、MTS アッセイ (CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay, Promega) もしくは LDH アッセイ (Cytotoxicity Detection Kit^{PLUS}, Sigma-Aldrich) をマニュアルの指示に従って実施した.

MTS アッセイでは、細胞を含むプレートの培養培地中にアッセイ用試薬を添加し、 CO_2 インキュベーター内で約 1 時間培養した後に、マイクロプレートリーダー (SpectraMax Plus 384, モレキュラーデバイス) を用いて 490 nm の吸光度を測定した. 細胞生存率 (%) は次式を用いて算出した.

$$\text{細胞生存率 (\%)} = \frac{\text{実測値}}{\text{未刺激コントロール値}} \times 100$$

MTS アッセイでは、生存細胞がマイクロプレートリーダーで 490 nm の吸光度に実測値として反映される. 細胞を播種し、72 時間培養を継続した時の生存細胞の実測値が未刺激コントロール値であり、上記計算式から細胞生存率は 100%

と算出される（実測値＝未刺激コントロール値）．細胞を播種した後に刺激（グルタミン酸および活性酸素種）を与えた場合，細胞死が生じ生存細胞が減少するため，実測値は小さくなり，細胞生存率は 100% よりも低値を示す（実測値＜未刺激コントロール値）．刺激単独の群と比較し，刺激の前にスクリーニング薬を予め投与した群において，有意に細胞生存率の上昇を認めた場合，そのスクリーニング薬は神経保護効果を有すると判定した．

LDH アッセイでは，細胞を含むプレートから培養培地のみを回収し，アッセイ用試薬を添加し，常温で約 30 分間培養した後に，マイクロプレートリーダーを用いて 490 nm の吸光度を測定した．細胞傷害性の算出は，次式を用いて算出した．

$$\text{細胞傷害性 (\%)} = \frac{\text{実測値} - \text{未処理コントロール値}}{\text{最大 LDH コントロール値} - \text{未処理コントロール値}} \times 100$$

LDH アッセイでは，死細胞から放出される LDH がマイクロプレートリーダーで 490 nm の吸光度に実測値として反映される．細胞を播種し，72 時間培養を継続した時の実測値が未処理コントロール値であり，上記計算式から細胞傷害性は 0% と算出される（実測値＝未処理コントロール値）．細胞を全て死滅させた群での実測値が最大 LDH コントロール値であり，上記計算式から細胞傷害性は 100% と算出される（実測値＝最大 LDH コントロール値）．細胞を播種した後に刺激（活性酸素種）を与えた場合，細胞死が増加するため，実測値は大きくなり，

細胞傷害性は 0%よりも高値を示す（実測値＞未処理コントロール値）。刺激単独の群と比較し、刺激の前にスクリーニング薬を予め投与した群において、有意に細胞傷害性の低下を認めた場合、そのスクリーニング薬は神経保護効果を有すると判定した。

4.5 緩衝液の組成

- RIPA buffer : 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 150 mM NaCl, 1.0% Nonidet P-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS, cOmplete Mini EDTA-free (one tablet in 10 ml RIPA buffer, Roche), PhosSTOP (one tablet in 10 ml RIPA buffer, Roche).
- TBS-T : 20 mM Tris-HCl pH 7.4, 137 mM NaCl, 0.1% Tween 20.
- 4×SDS sample buffer : 4×Laemmli Sample Buffer (Bio-Rad), 20 mM dithiothreitol (Sigma).

4.6 ウェスタンブロット解析

6 well plate (TPP) に、アッセイ用 DMEM を用いて NSC-34 細胞 (2.0×10^5 cells/well) を播種した。CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養後、DMSO, Dabrafenib, Encorafenib をそれぞれの well に添加し、30 分間培養した。その後、氷上で RIPA buffer を用いて細胞を溶解し、震盪後 (4°C, 30 分)、溶解液を遠心

(4°C, 15000 rpm, 5 分) し, 上清 (cell lysate) を回収した. 回収した cell lysate に 4×SDS sample buffer を添加し, 熱処理後 (98°C, 3 分), SDS ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) にて分離した. タンパク質マーカーには, Precision Plus Protein Dual Color Standards (Bio-Rad) を使用した. SDS-PAGE 後, 泳動したサンプルを, ゲルからフィルター孔径 0.2 μm の polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜 (Merck) に転写し, PVDF Blocking Reagent for Can Get Signal (TOYOBO) でブロッキング (室温, 1 時間) を行った後, 一次抗体によるプロービング (4°C, 12 時間以上) を行った. PVDF 膜を TBS-T で洗浄後 (室温, 15 分×3 回), 一次抗体に対する二次抗体でさらにプロービングを行い (室温, 60 分), TBS-T で洗浄した (室温, 30 分×3 回). 洗浄後, ECL Prime Western Blotting Detection Reagent (GE Healthcare) の Solution A (Luminol solution) と Solution B (Peroxide solution) の等量混合液を用時調整し, その中に PVDF 膜を浸し (1 分), 化学発光を ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare) で検出した. バンドの定量解析には, ImageQuant TL (GE Healthcare) を使用した.

4.7 ウェスタンブロット解析に使用した抗体

4.7.1 一次抗体

以下の抗体を Can Get Signal Solution 1 (TOYOBO) に希釈し、ウェスタンブロット解析の一次抗体として使用した.

- 抗 Phospho-ERK1/2 抗体 (#9106S, Cell Signaling Technology), 動物種 : mouse
- 抗 ERK1/2 抗体 (#4695S, Cell Signaling Technology), 動物種 : rabbit
- 抗 Phospho-JNK 抗体 (#4668S, Cell Signaling Technology), 動物種 : rabbit
- 抗 JNK 抗体 (#9252S, Cell Signaling Technology), 動物種 : rabbit
- 抗 Phospho-p38 抗体 (#9211S, Cell Signaling Technology), 動物種 : rabbit
- 抗 p38 抗体 (#sc-5284, Santa Cruz Biotechnology), 動物種 : mouse

4.7.2 二次抗体

以下の抗体を Can Get Signal Solution 2 (TOYOBO) に希釈し、ウェスタンブロット解析の二次抗体として使用した.

- 抗 mouse IgG 抗体, HRP-Linked whole Ab (#NA931, Cytiva)
- 抗 rabbit IgG 抗体, HRP-Linked whole Ab (#NA934, Cytiva)

5 結果

5.1 *in silico* drug screening の解析結果

5.1.1 MSA における *in silico* drug screening の解析結果

MSA のリスク遺伝子として、計 7 遺伝子を解析した。これらのリスク遺伝子が発現するタンパク質に結合するタンパク質をコードする PPI 遺伝子は、計 887 遺伝子存在した。その中で、DrugBank に登録され、既存薬の標的となるタンパク質を発現するものは、計 233 遺伝子存在した（表 1）。また、これらの PPI 遺伝子産物に作用する承認薬は、重複を含め計 1461 個（計 590 種類）存在した（表 1）。MSA における *in silico* drug screening の結果の代表例を図 4 に示す。MSA リスク遺伝子 *EDNI* に対する PPI 遺伝子である *TRHR* を標的とし、脊髄小脳変性症に対する治療薬として承認されている *Protirelin* を見出した。また、MSA 患者に対し有効性を示す対症療法として診療で実際に使用されている、ドパミンアゴニスト (*Apomorphine*, *Lisuride*, *Bromocriptine*, *Pergolide*, *Cabergoline*, *Ropinirole*) や抗コリン薬 (*Trihexyphenidyl*, *Biperiden*) などのパーキンソン病治療薬、起立性低血圧治療薬 (*Droxidopa*, *Midodrine*)、排尿障害治療薬 (*Tamsulosin*, *Silodosin*, *Bethanechol*, *Oxybutynin*, *Propiverine*, *Sorifenacin*, *Tolterodine*, *Desmopressin*) を見出した（図 4）。これらの結果から、神経変性疾患においても本スクリーニング手法が妥当であることが確認された。

一方、向精神薬（Risperidone¹²⁵, Quetiapine¹²⁶, Olanzapine¹²⁷, etc.）、抗うつ薬（Duloxetine¹²⁸, Venlafaxine¹²⁹, Escitalopram¹³⁰, Sertraline¹³¹, Imipramine¹³², Mianserin¹³³, Amitriptyline¹³⁴, etc.）、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（Losartan¹³⁵, Valsartan¹³⁶, Olmesartan¹³⁷, etc.）、心不全治療薬（Sacubitril¹³⁸）、糖尿病治療薬（Liraglutide^{139,140}, Semaglutide¹⁴¹）、慢性骨髄性白血病治療薬（Nilotinib¹⁴², Bosutinib¹⁴³, Dasatinib¹⁴⁴）、肺高血圧症治療薬（Bosentan¹⁴⁵, Macitentan¹⁴⁶）、骨粗鬆症治療薬（Alendronic acid¹⁴⁷, Etidronic acid¹⁴⁸）、ビタミン E（Vitamin E¹⁴⁹）など、神経保護効果を有することが報告されている既存薬も複数見出した（図 4）。これらの既存薬は、MSA 病態モデルの実験系で有効性を確認することができれば、新規の MSA 治療薬につながる可能性がある。

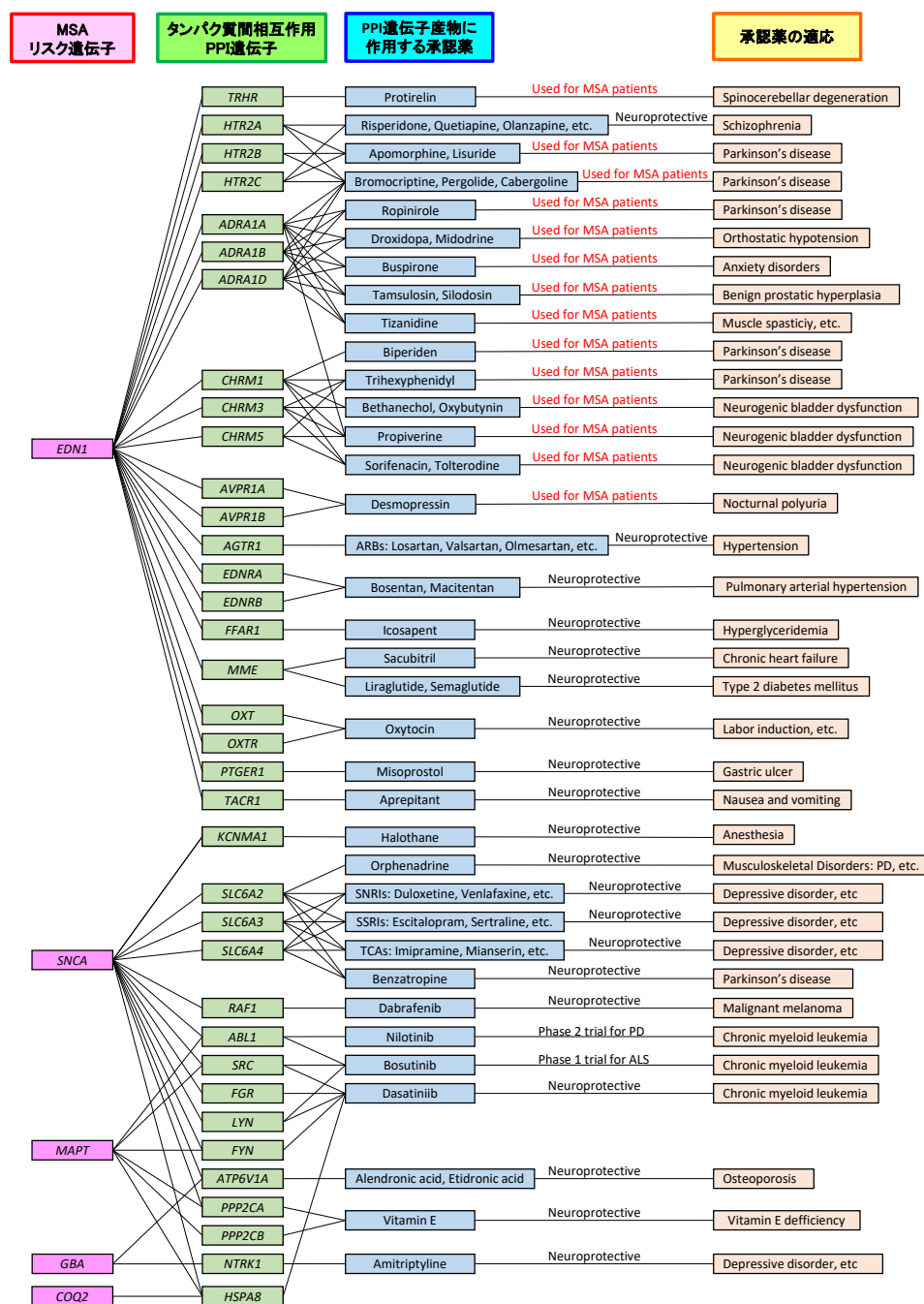


図4 MSAにおける *in silico* drug screening の解析結果の代表例

MSA 患者の診療で使用されている承認医薬品（Protirelin, パーキンソン病治療薬, 起立性低血圧治療薬, 排尿障害治療薬）をはじめ, 他の病態モデルで神経保護効果を有することが報告されている既存薬を複数見出した. ALS, amyotrophic lateral sclerosis; ARBs, angiotensin II receptor blockers; MSA, multiple system atrophy; PD, Parkinson's disease; SNRIs, serotonin norepinephrine reuptake inhibitors; SSRIs, selective serotonin reuptake inhibitors; TCAs, tricyclic antidepressants.

5.1.2 ALS における *in silico* drug screening の解析結果

ALS のリスク遺伝子として、計 39 遺伝子 (FALS : 27 遺伝子, SALS : 12 遺伝子) を解析した。これらの遺伝子産物とタンパク質間相互作用で関係する PPI 遺伝子は、計 7643 遺伝子 (FALS : 6944 遺伝子, SALS : 699 遺伝子) 存在した。その中で、DrugBank に登録され、既存薬の標的となるタンパク質を発現するものは、計 660 遺伝子 (FALS : 551 遺伝子, SALS : 109 遺伝子) 存在した (表 2, 3)。また、これらの PPI 遺伝子産物に作用する承認薬は、重複を含め FALS で計 3091 個 (計 1309 種類) (表 2), SALS で計 820 個 (計 597 種類) (表 3), FALS と SALS の合算では計 3911 個 (計 1333 種類) 存在した。

ALS における *in silico* drug screening の解析結果の代表例を図 5 に示す。ALS 患者に対し医師主導治験が行われている、抗てんかん薬の Perampanel^{150, 151} や慢性骨髄性白血病治療薬の Bosutinib^{143, 152}をはじめ、複数の ALS 治験薬 (Vitamin E, Tamoxifen, Thalidomide, Ceftriaxone) を見出した¹⁵³。一方、骨粗鬆症治療薬 (Raloxifene¹⁵⁴, Bazedoxifene¹⁵⁵), 血栓塞栓症治療薬 (Triflusal¹⁵⁶), 悪性腫瘍治療薬 (Sorafenib¹⁵⁷, Dabrafenib⁷⁴, Sunitinib^{158, 159}), アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (Irbesartan¹⁶⁰) など、神経保護効果を有することが報告されている既存薬も複数見出した (図 5)。これらの既存薬は、ALS 病態モデルの実験系で有効性を確認することができれば、新規の ALS 治療薬につながる可能性がある。

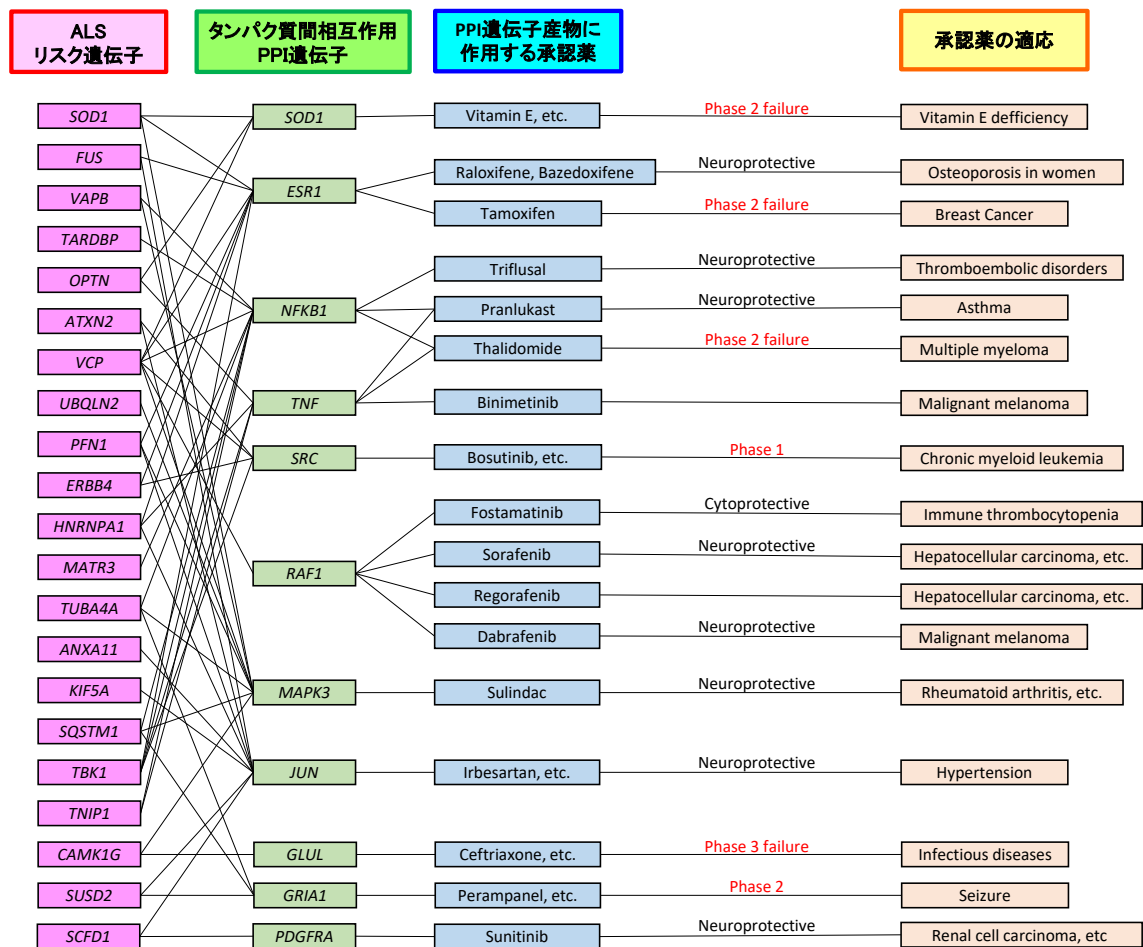


図5 ALSにおける *in silico* drug screening の解析結果の代表例

ALS 患者を対象とした治験薬（Bosutinib, Perampanel, Vitamin E, Tamoxifen, Thalidomide, Ceftriaxone）をはじめ、他の病態モデルで神経保護効果を有することが報告されている既存薬を複数見出した。

5.1.3 AD における *in silico* drug screening の解析結果

AD のリスク遺伝子として、計 31 遺伝子を解析した。これらの遺伝子産物とタンパク質間相互作用で関係する PPI 遺伝子は、計 1829 遺伝子存在した。その中で、DrugBank に登録され、既存薬の標的となるタンパク質を発現するものは、265 遺伝子存在した（表 4）。また、PPI 遺伝子産物に作用する承認薬は、重複を含め計 2125 個（計 1086 種類）存在した（表 4）。これらの結果の代表例を図 6 に示す。AD リスク遺伝子 *PTK2B* に対する PPI 遺伝子である *GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B* を標的とする医薬品として、Donepezil および Memantine を見出した。これらは AD 治療薬として承認されており、診療で実際に使用されている。また、AD 患者に対し治験が行われている複数の AD 治験薬 (Triflusal, Liraglutide, Dasatinib, Nilotinib) を見出した^{161,162}。さらに、AD 病態モデルの実験系で神経保護効果を有することが報告されている複数の既存薬 (Paclitaxel¹⁶³, Tetracycline¹⁶³, Immune globulin human¹⁶³, Pranlukast¹⁶⁴, Thalidomide¹⁶³, Sulindac¹⁶⁵, Bosutinib¹⁶⁶, Regorafenib¹⁶⁷, Imatinib¹⁶³, Insulin human¹⁶³) を見出した（図 6）。これらの既存薬は、AD 患者で有効性を確認することができれば、新規の AD 治療薬につながる可能性がある。一方、JAK 阻害薬 (Ruxolitinib, Tofacitinib, Baricitinib)¹⁶⁸⁻¹⁷⁰ や SRC ファミリー阻害薬の一部 (Nintedanib, Ponatinib, Fostamatinib)¹⁷¹⁻¹⁷³ は、他の病態モデルで神経保護や細胞保護効果を有することが報告されてお

り、AD 病態モデルの実験系で有効性が確認できれば、新たな AD 治療薬の候補となる可能性がある。

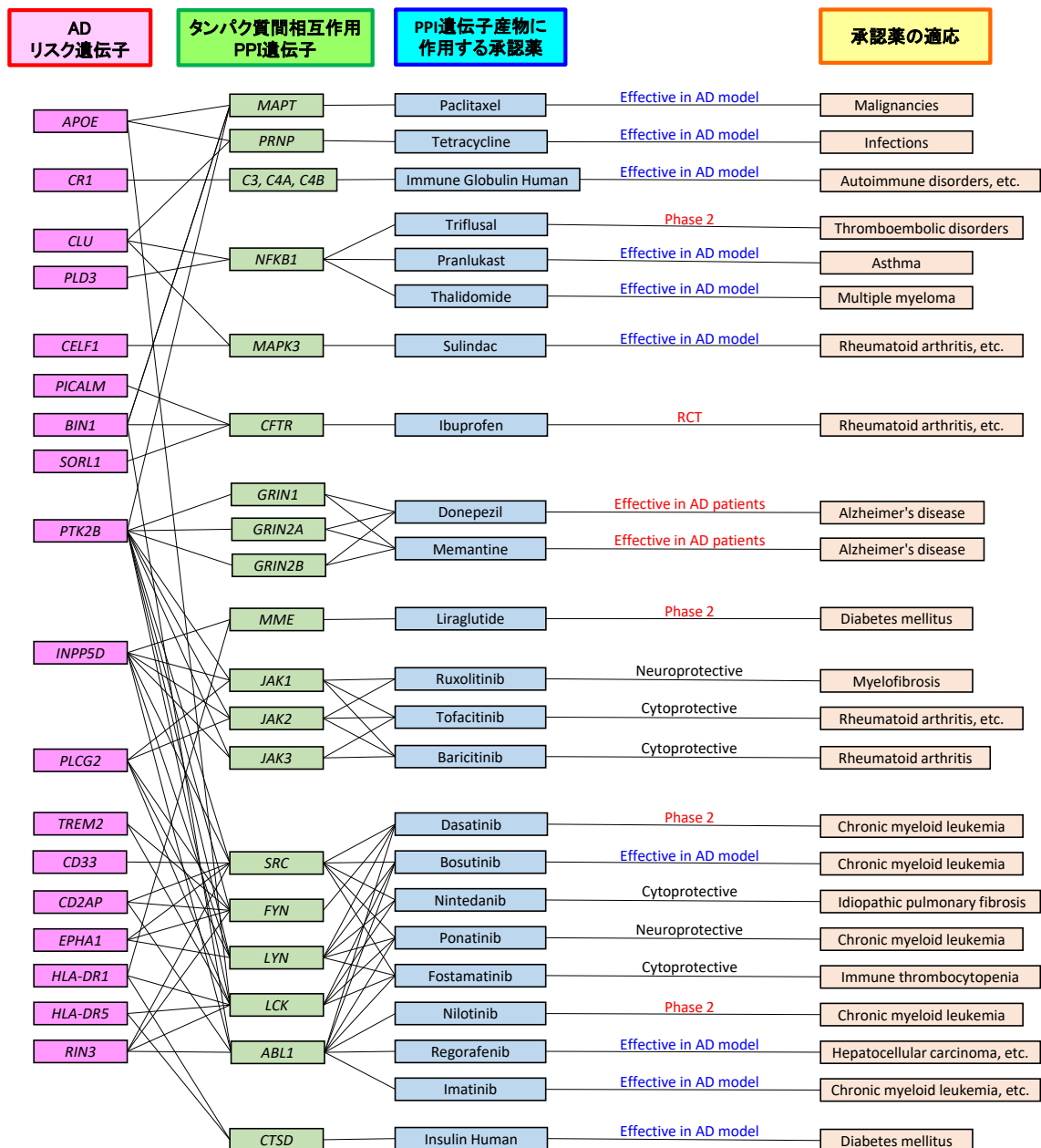


図 6 AD における *in silico* drug screening の解析結果の代表例

AD 患者の診療で使用されている承認医薬品 (Donepezil, Memantine) をはじめ、AD 患者に対する治験薬 (Triflusal, Liraglutide, Dasatinib, Nilotinib), AD や他の病態モデルの実験系で神経保護効果を有することが報告されている既存薬を複数見出した。AD, Alzheimer's disease ; RCT, randomized controlled trial.

5.2 *in vitro* drug screening の解析結果

ALS の *in silico* drug screening で見出した既存の医薬品が (図 5), ALS 病態を模倣した実験系で有効性を示すか検討するために, *in vitro* drug screening を実施した. ALS の病態は多岐に渡るが, グルタミン酸による神経毒性から保護的に作用する Riluzole と, 活性酸素種を除去する Edaravone のみが ALS 患者で有効性を認め, 治療薬として承認されている. このことから, グルタミン酸および活性酸素種によって惹起される神経毒性から神経細胞を保護することが可能な医薬品が, 実際の ALS 患者でも有効性を示す可能性が高いと考えられる. そこで, 神経系の培養細胞 (SH-SY5Y 細胞, Neuro-2a 細胞) においてグルタミン酸および活性酸素種 (H_2O_2) 刺激で誘導される神経細胞死に対し, スクリーニング薬が保護的に作用するか否かを, MTS アッセイによる細胞の生存率で評価した. スクリーニング薬として以下を用いて解析した (図 5).

- Raloxifene, Bazedoxifene : 閉経後骨粗鬆症治療薬 (選択的エストロゲン受容体調節薬). カイニン酸による海馬の神経毒性や脳梗塞モデルでの神経細胞死に対し保護効果を有する ^{154, 155}.
- Triflusal : 血小板凝集抑制薬 (COX 阻害薬). 虚血モデルにおける海馬の神経細胞障害に対し保護効果を有する ¹⁵⁶.

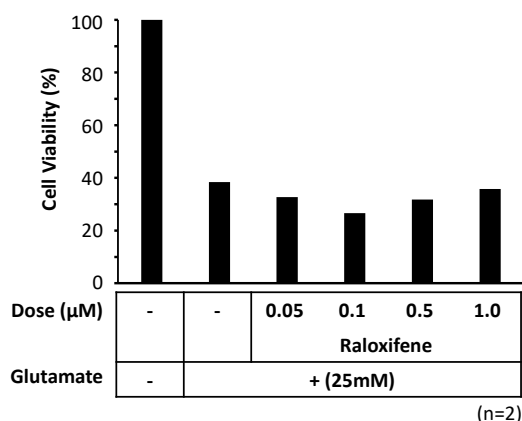
- ・ **Pranlukast** : 気管支喘息・アレルギー性鼻炎治療薬（ロイコトリエン受容体拮抗薬）。 $A\beta_{42}$ によって惹起される神経毒性や虚血モデルにおける神経細胞障害に対し保護的に作用する^{164, 174}。
- ・ **Binimetinib** : *BRAF* 遺伝子変異を有する悪性黒色腫および結腸・直腸癌の治療薬（MEK 阻害薬）。検索した限りでは神経保護効果を示す報告はない。
- ・ **Sulindac** : 関節リウマチや変形性関節症などに対する消炎・鎮痛薬（NSAIDs）。脳梗塞モデルや虚血再灌流モデルにおいて神経保護効果を示す^{175, 176}。
- ・ **Irbesartan, Azilsartan, Telmisartan** : 高血圧治療薬（アンジオテンシン II 受容体拮抗薬）。脳梗塞や AD, PD モデルなど複数の実験系で神経保護効果を示す^{160, 177–179}。
- ・ **Sunitinib** : 腎細胞癌, 消化管間質腫瘍, 膵神経内分泌腫瘍の治療薬（マルチキナーゼ阻害薬）。低カリウムや MPP 刺激, HIV 感染モデルによる神経毒性に対し保護効果を有する^{158, 159}。
- ・ **Fostamatinib** : 慢性特発性血小板減少性紫斑病 (immune thrombocytopenia, ITP) 治療薬（低分子チロシンキナーゼ阻害薬）。虚血再灌流による消化管や肺での組織障害に対し, 保護効果を有する¹⁷³。
- ・ **Sorafenib** : 腎細胞癌, 肝細胞癌, 甲状腺癌の治療薬（マルチキナーゼ阻害薬）。AD モデルマウスにおいて, ワーキングメモリの改善効果を示す¹⁵⁷。

・ Regorafenib : 結腸・直腸癌, 肝細胞癌, 消化管間質腫瘍の治療薬 (マルチキナーゼ阻害薬). AD 病態モデルの実験系で神経炎症を抑制することが報告されている¹⁶⁷.

・ Dabrafenib : *BRAF* 遺伝子変異を有する悪性黒色腫および非小細胞肺癌の治療薬 (BRAF 阻害薬). PD モデルの実験系で神経保護効果を有する⁷⁴.

in vitro drug screening の結果, Raloxifene (図 7), Bazedoxifene (図 8), Triflusal (図 9), Pranlukast (図 10), Binimetinib (図 11), Sulindac (図 12), Irbesartan (図 13), Azilsartan (図 14), Telmisartan (図 15), Sunitinib (図 16), Fostamatinib (図 17), Sorafenib (図 18), Regorafenib (図 19) は, いずれも生存率の改善を認めなかった. この中で, Raloxifene (図 7), Triflusal (図 9), Pranlukast (図 10), Binimetinib (図 11), Telmisartan (図 15), Sunitinib (図 16), Sorafenib (図 18), Regorafenib (図 19) は, 高濃度では生存率がむしろ低下する傾向を認めた.

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種 (H₂O₂) 刺激

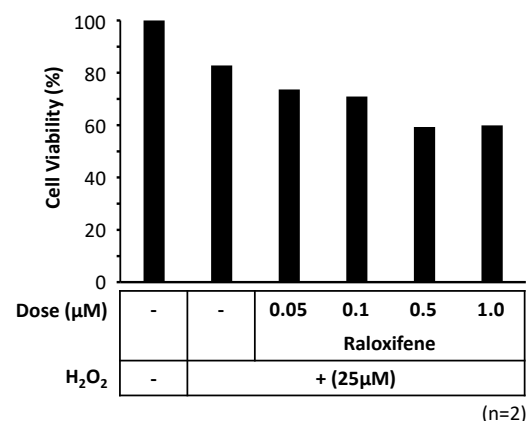
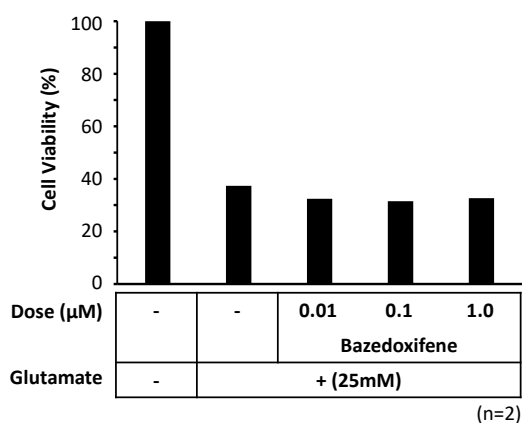


図7 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Raloxifene)

SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Raloxifene は改善効果を示さなかった。 Mean (n=2)。

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種 (H₂O₂) 刺激

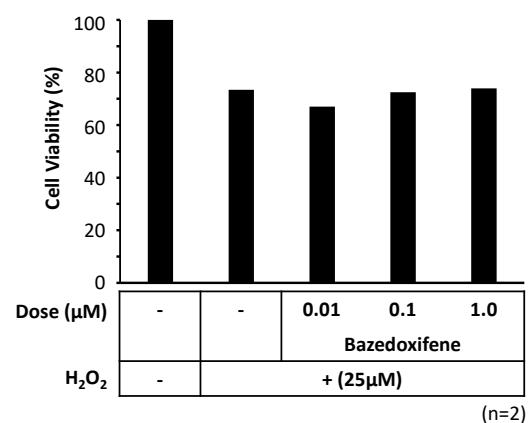
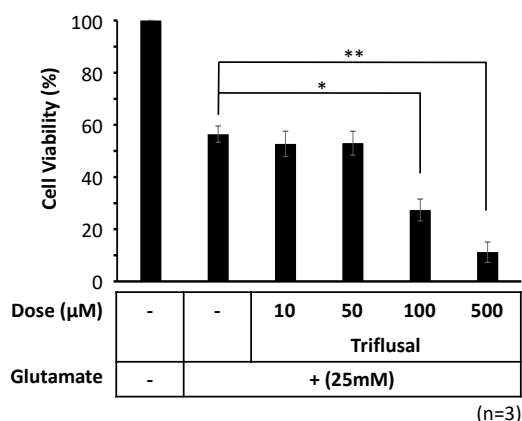


図8 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Bazedoxifene)

SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Bazedoxifene は改善効果を示さなかった。 Mean (n=2)。

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

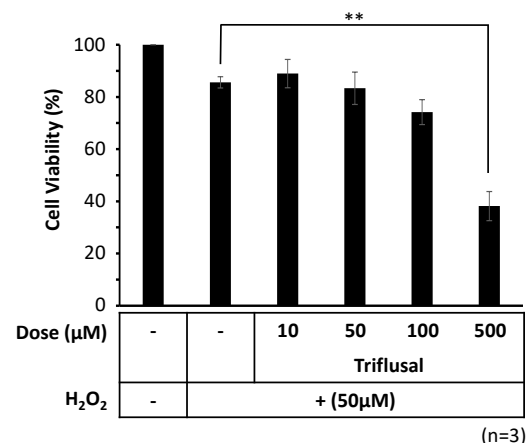
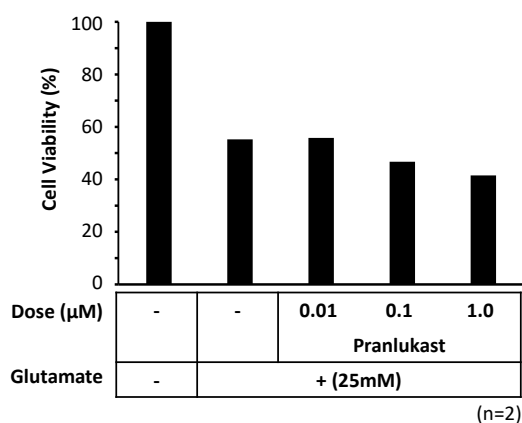


図9 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Triflusal)

Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Triflusal は改善効果を示さなかった。Mean ± SEM (n=3). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

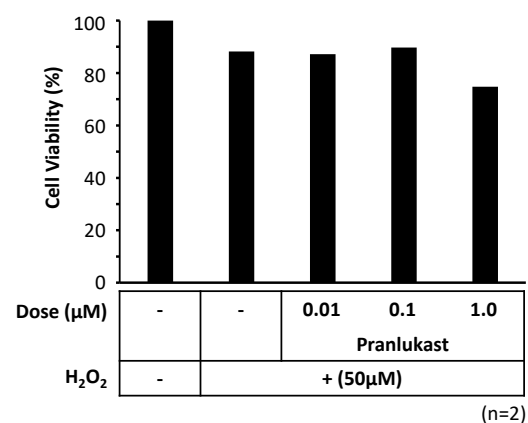
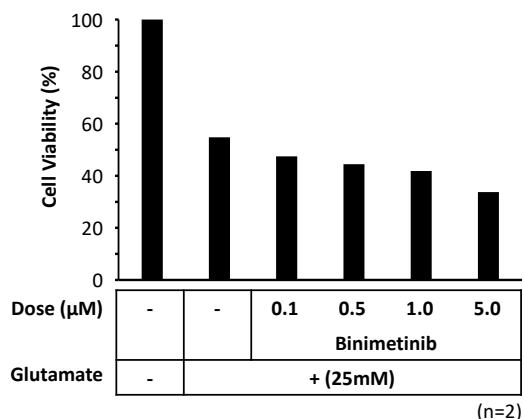


図10 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Pranlukast)

Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Pranlukast は改善効果を示さなかった。Mean (n=2).

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種 (H₂O₂) 刺激

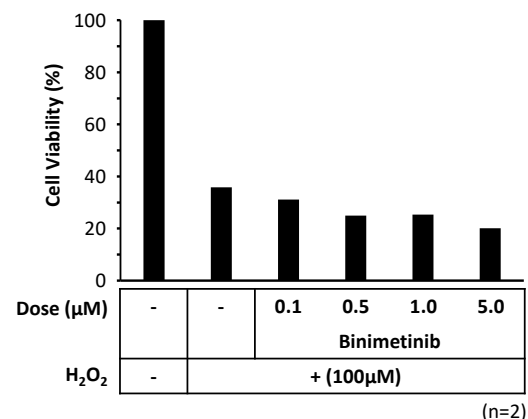
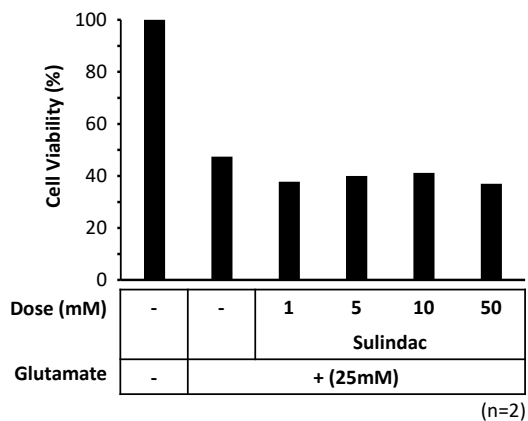


図 11 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Binimetinib)
Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Binimetinib は改善効果を示さなかった。
Mean (n=2).

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種 (H₂O₂) 刺激

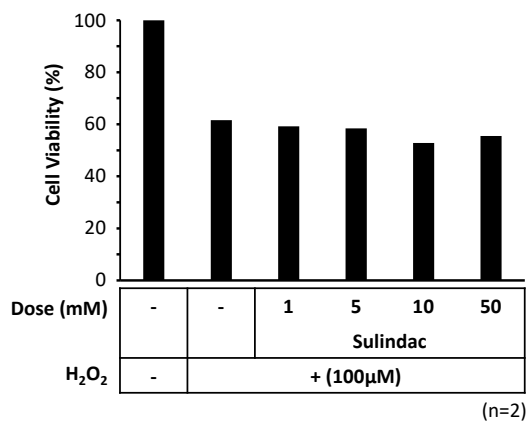
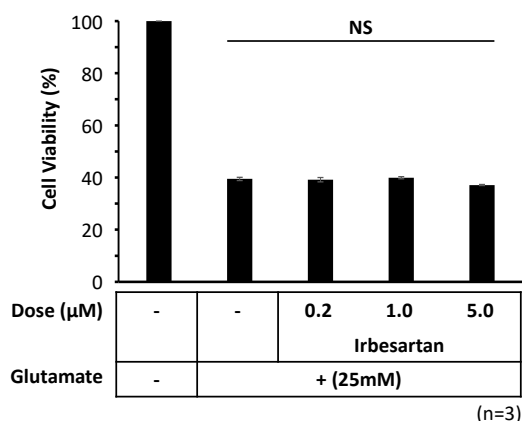


図 12 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Sulindac)
Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Sulindac は改善効果を示さなかった。
Mean (n=2).

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

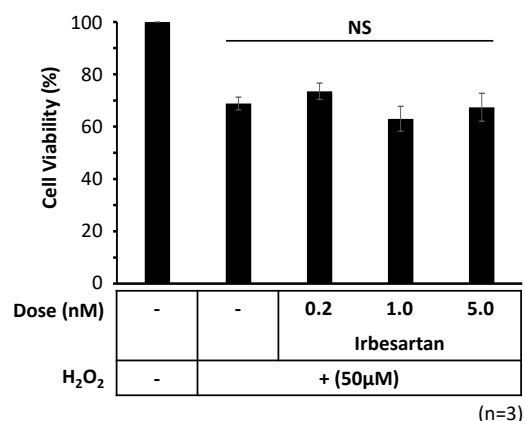
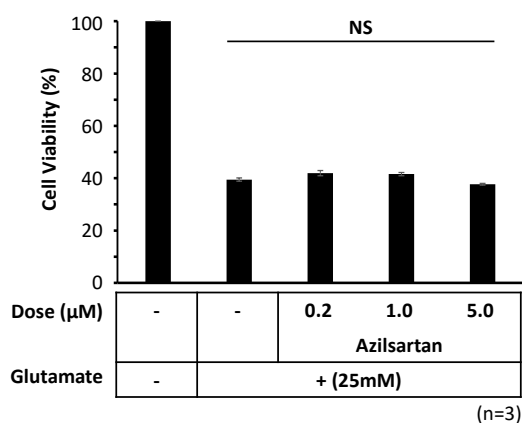


図 13 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Irbesartan)

Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Irbesartan は改善効果を示さなかった。Mean ± SEM (n=3). NS, not significant ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

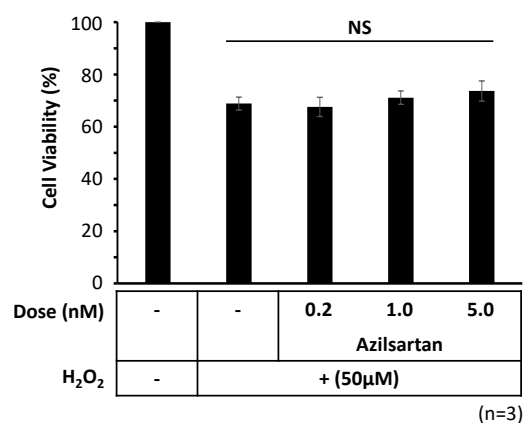
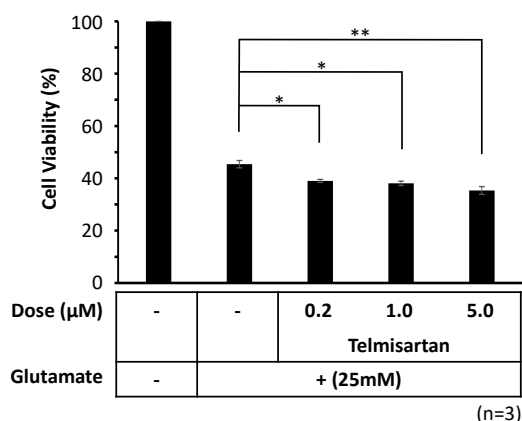
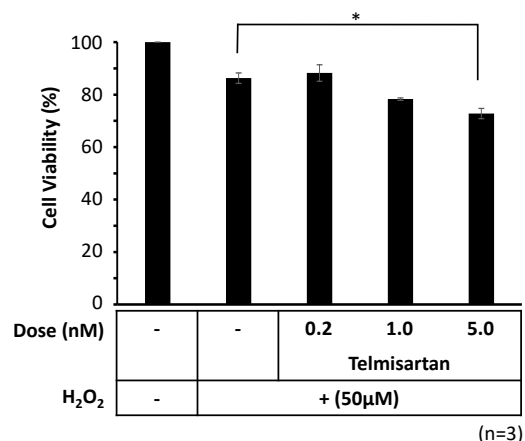


図 14 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Azilsartan)

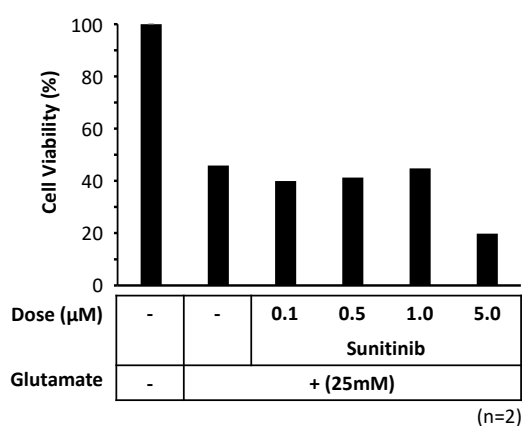
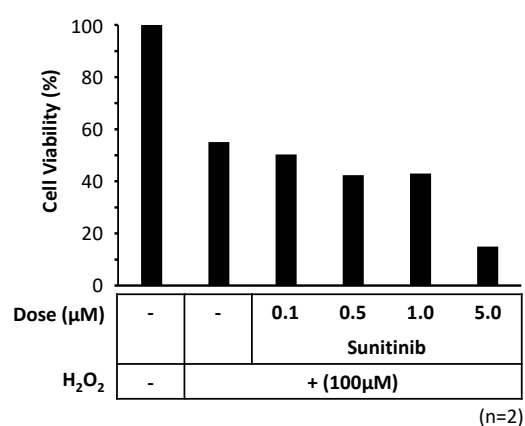
Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Azilsartan は改善効果を示さなかった。Mean ± SEM (n=3). NS, not significant ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激

(B) 活性酸素種 (H_2O_2) 刺激図 15 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Telmisartan)

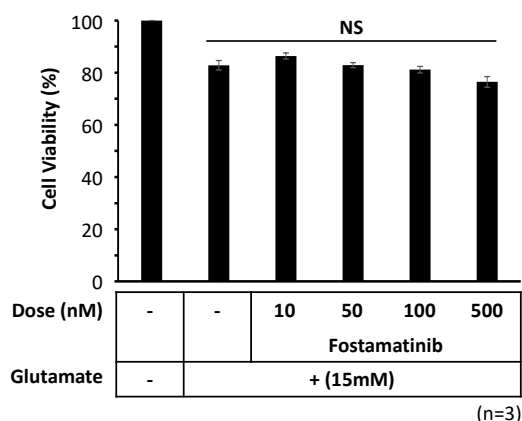
Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H_2O_2) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Telmisartan は改善効果を示さなかった。Mean \pm SEM (n=3). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激

(B) 活性酸素種 (H_2O_2) 刺激図 16 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Sunitinib)

Neuro-2a 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H_2O_2) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Sunitinib は改善効果を示さなかった。Mean (n=2).

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

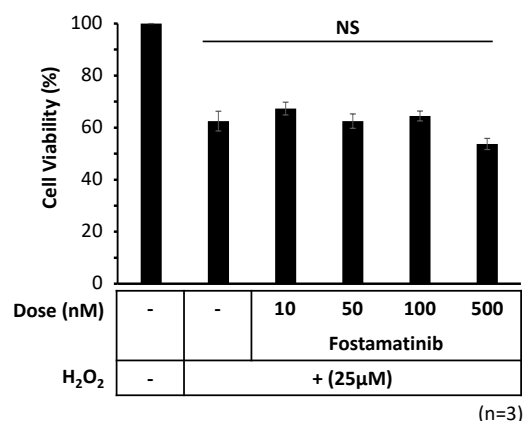
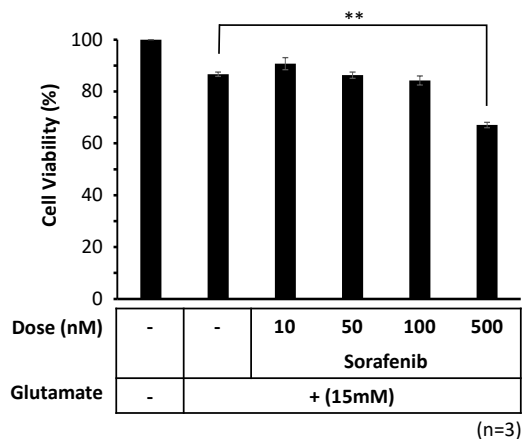


図 17 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Fostamatinib) SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Fostamatinib は改善効果を示さなかった。Mean ± SEM (n=3). NS, not significant ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

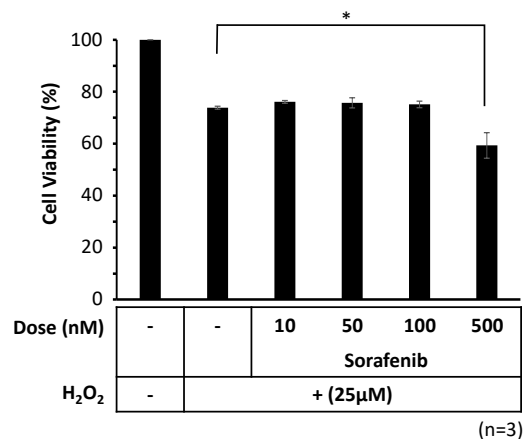
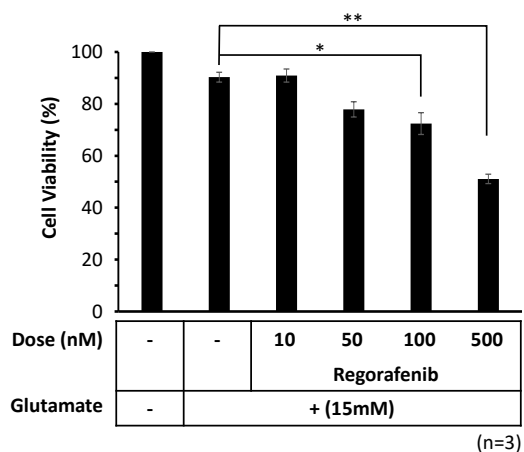


図 18 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Sorafenib) SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Sorafenib は改善効果を示さなかった。Mean ± SEM (n=3). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) グルタミン酸刺激



(B) 活性酸素種(H₂O₂)刺激

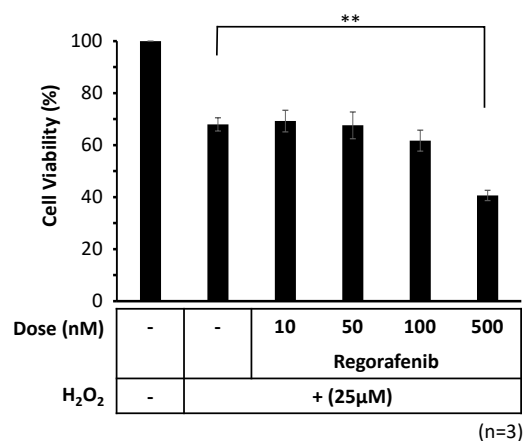


図 19 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Regorafenib)
SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Regorafenib は改善効果を示さなかった。
Mean ± SEM (n=3). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

一方、Dabrafenib のみが、グルタミン酸および活性酸素種刺激のいずれにおいても、生存率の改善効果を示した（図 20）。そこで、Dabrafenib と同種の BRAF 阻害薬であり、*BRAF* 遺伝子変異を有する悪性黒色腫や結腸・直腸癌の治療薬として承認されている Encorafenib においても検討したところ、Dabrafenib と同様に生存率の改善を認めた（図 21）。これらの結果から、ALS 病態を模倣した実験系において、BRAF 阻害薬が共通に神経保護効果を有することが確認された。

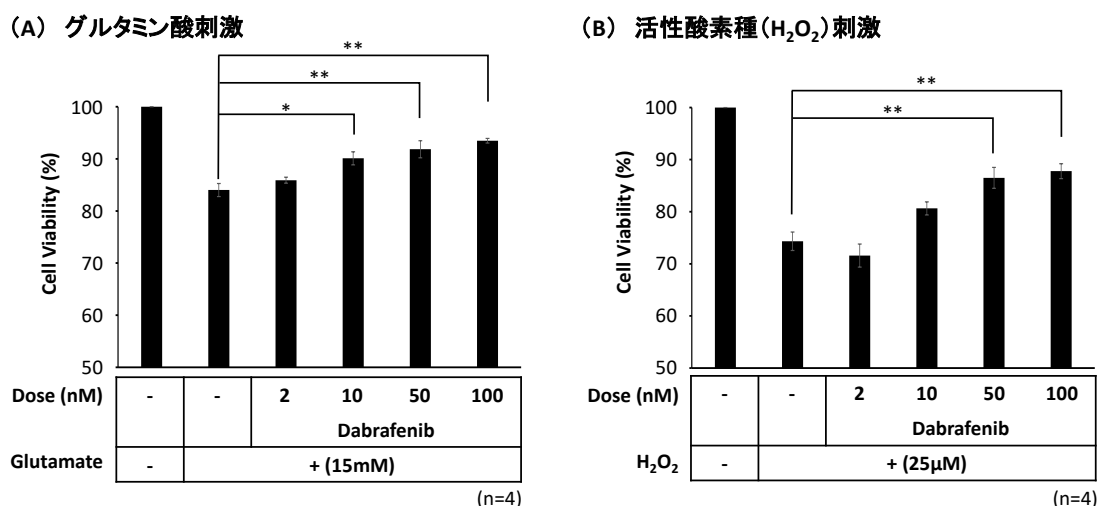


図 20 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Dabrafenib)
SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Dabrafenib は有意に改善効果を示した。
Mean ± SEM (n=4). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

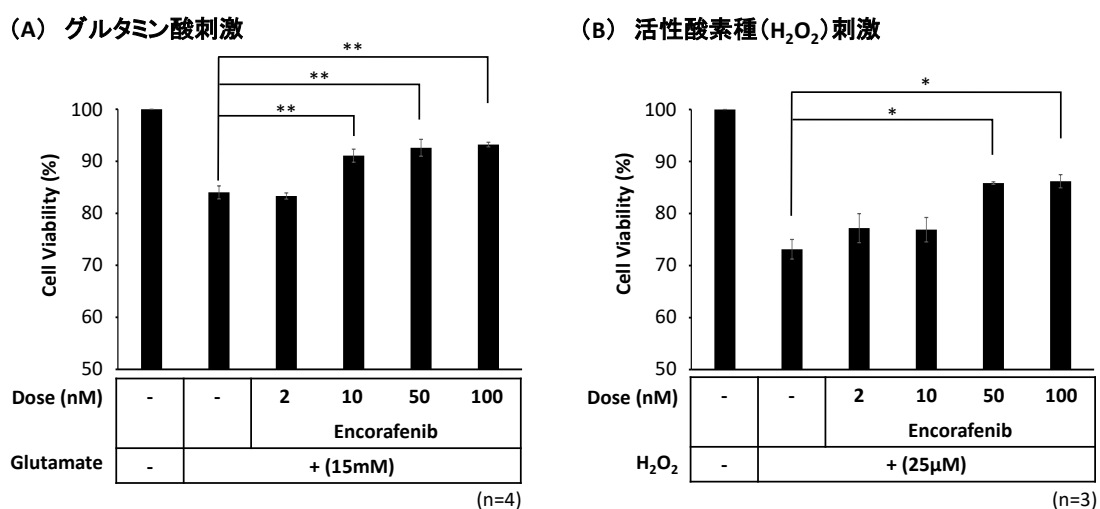
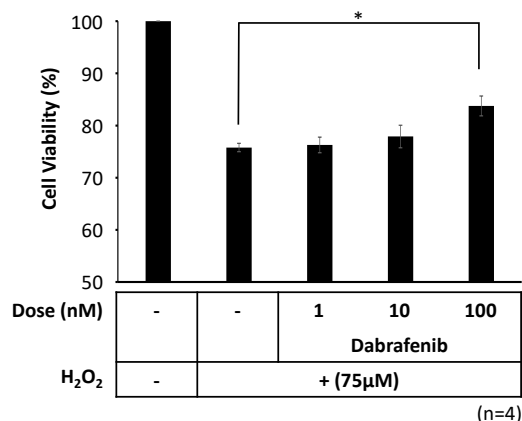


図 21 MTS アッセイによる *in vitro* drug screening の解析結果 (Encorafenib)
SH-SY5Y 細胞において、グルタミン酸刺激 (A) および活性酸素種 (H₂O₂) 刺激 (B) により低下した細胞生存率に対し、Encorafenib は有意に改善効果を示した。
Mean ± SEM (n=3-4). *, P value < 0.05 and **, P-value < 0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

5.3 NSC-34 細胞における神経保護効果の検討

ALS は運動ニューロンが選択的に障害される疾患である．そこで，より ALS に近い病態で BRAF 阻害薬の効果を検討するために，運動ニューロンと神経芽細胞腫のハイブリッドセルラインである NSC-34 細胞を用いて解析を行った．NSC-34 細胞に Dabrafenib もしくは Encorafenib を投与後，活性酸素種 (H_2O_2) 刺激を行い，細胞の生存率と傷害性をそれぞれ MTS アッセイおよび LDH アッセイで評価した．その結果，Dabrafenib (図 22)，Encorafenib (図 23)，いずれも 100 nM の濃度で有意に細胞の生存率および傷害性の改善を認めた．これらの結果から，BRAF 阻害薬は運動ニューロンのセルラインにおいても神経保護効果を有することが確認された．

(A) MTSアッセイ(活性酸素種刺激)



(B) LDHアッセイ(活性酸素種刺激)

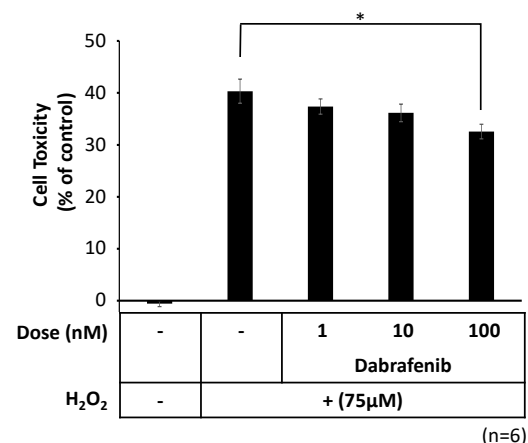
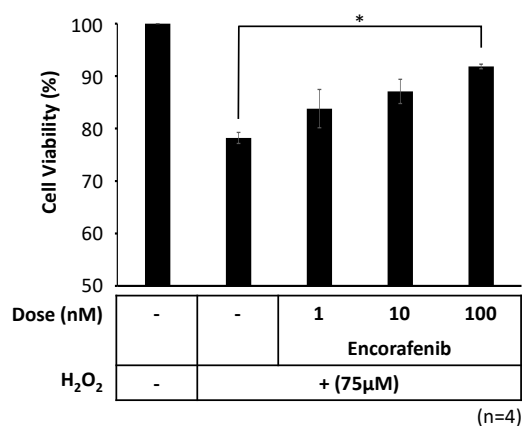


図 22 NSC-34 細胞における Dabrafenib の神経保護効果の検討

NSC-34 細胞において、活性酸素種 (H₂O₂) 刺激により低下した細胞生存率 (A) および上昇した細胞傷害性 (B) に対し、Dabrafenib は有意に改善効果を示した。Mean ± SEM (n=4–6). *, P value < 0.05 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

(A) MTSアッセイ(活性酸素種刺激)



(B) LDHアッセイ(活性酸素種刺激)

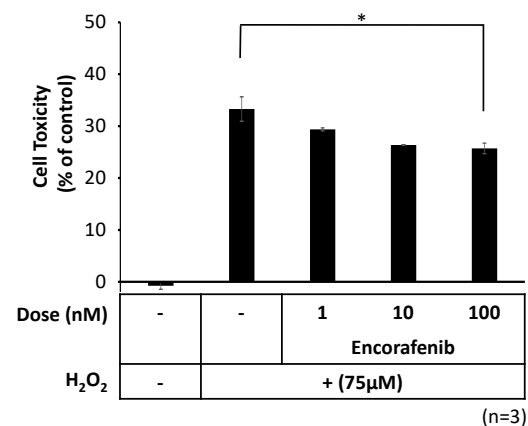
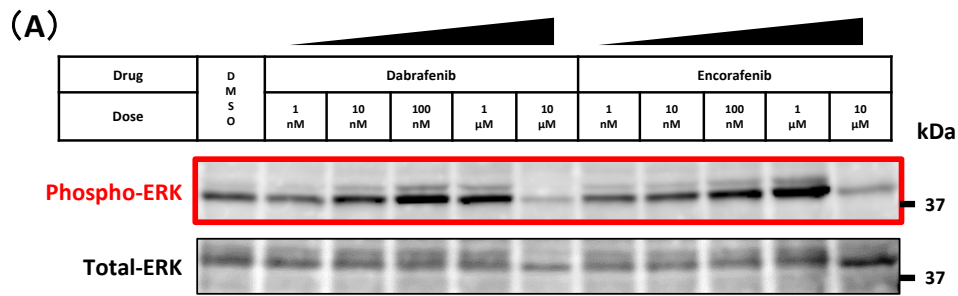


図 23 NSC-34 細胞における Encorafenib の神経保護効果の検討

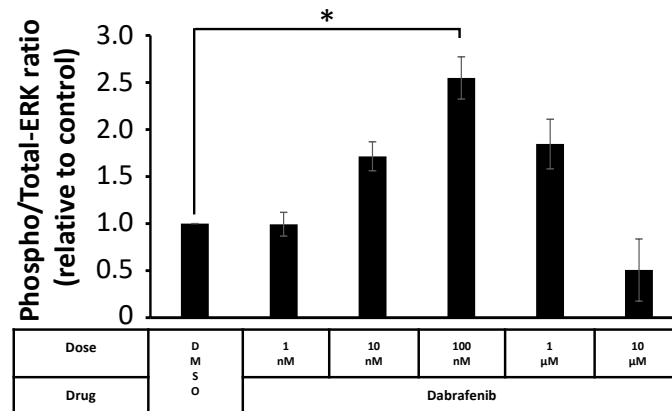
NSC-34 細胞において、活性酸素種 (H₂O₂) 刺激により低下した細胞生存率 (A) および上昇した細胞傷害性 (B) に対し、Encorafenib は有意に改善効果を示した。Mean ± SEM (n=3–4). *, P value < 0.05 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

5.4 BRAF 阻害薬による神経保護効果の作用機序の検討

BRAF 阻害薬による神経保護効果の作用機序を検討するため、NSC-34 細胞に Dabrafenib もしくは Encorafenib を投与し、標的タンパク質である BRAF が属する mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナル伝達経路の下流の活性を、ウエスタンブロット解析で検討した。その結果、Dabrafenib, Encorafenib いずれも、MTS アッセイや LDH アッセイで有意な神経保護効果を認めた濃度 (100 nM) で、extracellular signal-regulated kinase (ERK) の活性化を有意に認めた (図 24)。一方、c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) は、高濃度 (10 μ M) の Dabrafenib においてのみ有意な活性化の低下を認めたが、神経保護効果を認めた濃度 (100 nM) では、Dabrafenib, Encorafenib いずれも、有意な変化を認めなかった (図 25)。また、p38 の活性変化も認めなかった (図 26)。これらの結果から、BRAF 阻害薬による神経保護効果の作用機序として、ERK の活性化が示唆された。



(B) Phospho-ERKの定量(Dabrafenib)



(C) Phospho-ERKの定量(Encorafenib)

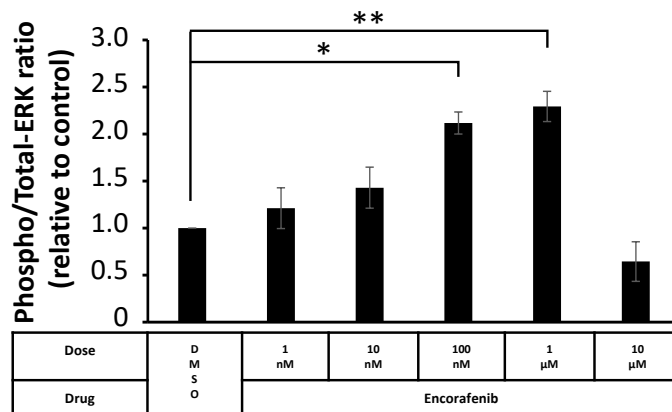
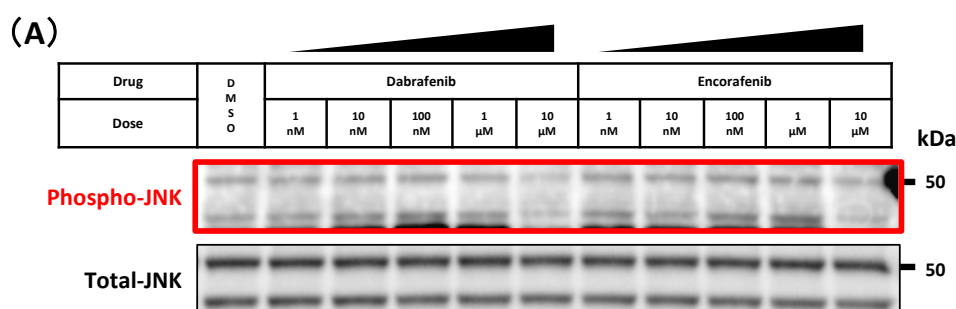
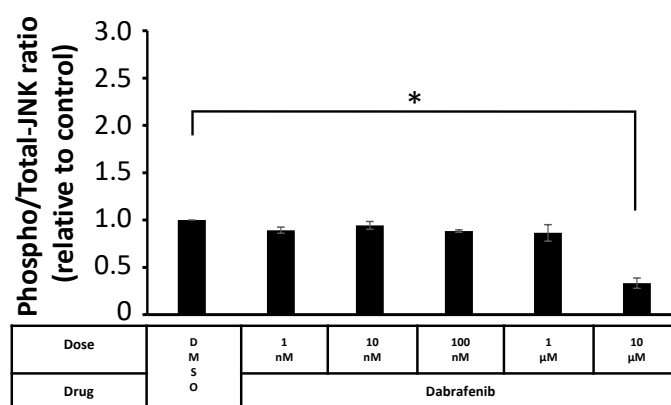


図 24 ERK 経路に対する BRAF 阻害薬の影響

NSC-34 細胞に Dabrafenib および Encorafenib を投与し、ウエスタンブロット解析にて ERK の活性化を検出した (A)．バンドを定量化 (Phospho-ERK/T-ERK) したところ、Dabrafenib (B) および Encorafenib (C) いずれも有意に ERK を活性化した．Mean±SEM (n=3)．*, P value<0.05 and **, P-value<0.01 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.



(B) Phospho-JNKの定量(Dabrafenib)



(C) Phospho-JNKの定量(Encorafenib)

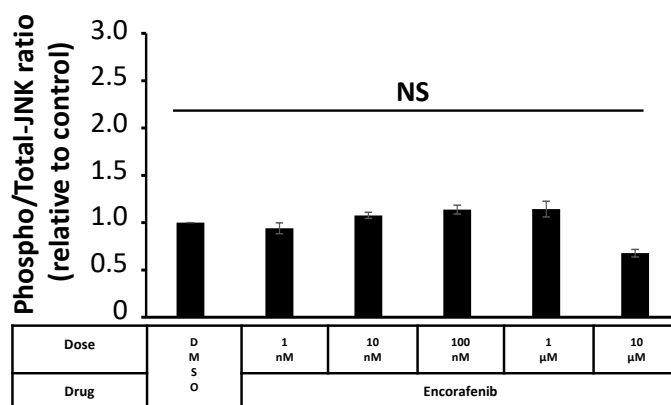
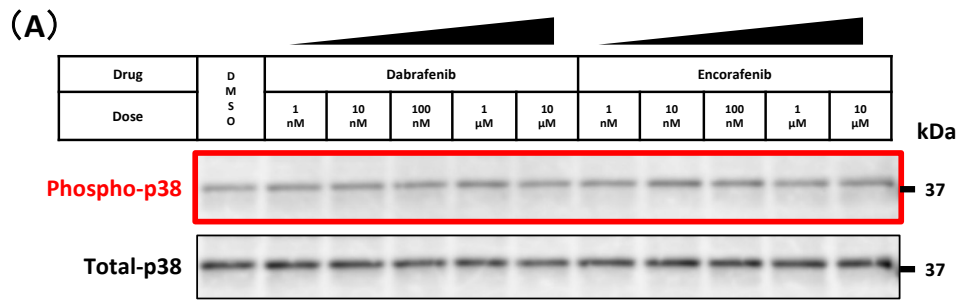
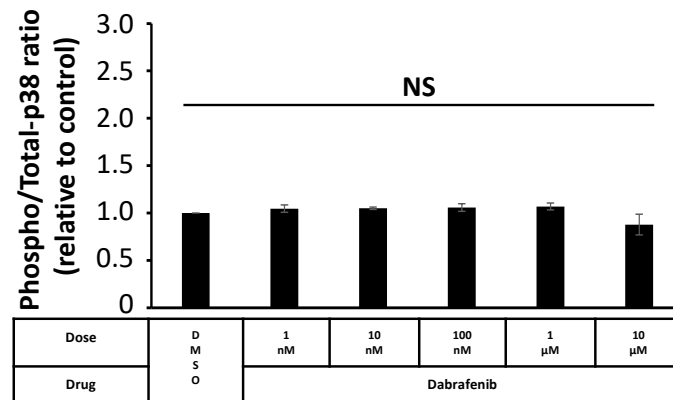


図 25 JNK 経路に対する BRAF 阻害薬の影響

NSC-34 細胞に Dabrafenib および Encorafenib を投与し、ウエスタンブロット解析にて JNK の活性化を検出した (A). バンドを定量化 (Phospho-JNK/T-JNK) したところ、10 μM の Dabrafenib のみで有意な抑制を認めた (B). Encorafenib による抑制は認めなかった (C). Mean ± SEM (n=3). NS, not significant and *, P value < 0.05 ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.



(B) Phospho-p38の定量(Dabrafenib)



(C) Phospho-p38の定量(Encorafenib)

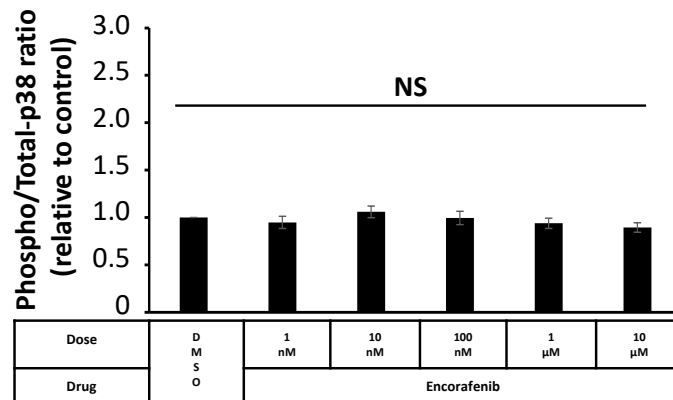


図 26 p38 経路に対する BRAF 阻害薬の影響

NSC-34 細胞に Dabrafenib および Encorafenib を投与し、ウエスタンブロット解析にて p38 の活性化を検出した (A). バンドを定量化 (Phospho-p38/T-p38) したところ, Dabrafenib (B) および Encorafenib (C) いずれにおいても p38 活性に有意な変化を認めなかった. Mean \pm SEM (n=3). NS, not significant; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

ERK の活性化は、細胞の生存や増殖に関与することが知られている¹⁸⁰。そこで、BRAF 阻害薬による NSC-34 細胞の生存率（増殖率）の変化を、MTS アッセイで検討した。その結果、Dabrafenib, Encorafenib いずれも、DMSO 投与群と比較し、有意な生存率（増殖率）の変化は認めなかった（図 27）。このことから、本実験系でみられる ERK の活性化は、細胞の増殖よりも、グルタミン酸や活性酸素種刺激に対する生存を増強する方向に作用している可能性が示唆された。

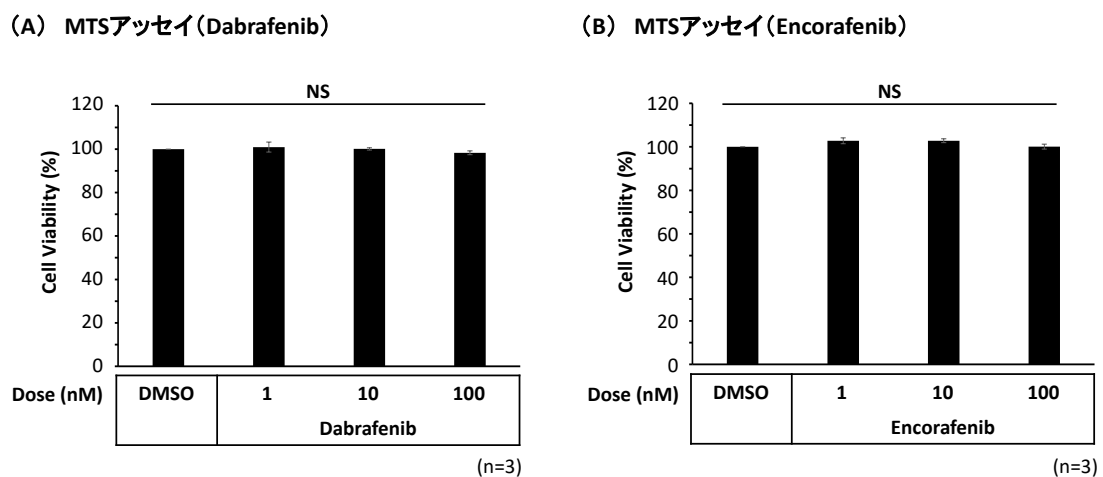


図 27 BRAF 阻害薬による生存率（増殖率）の検討

NSC-34 細胞に Dabrafenib (A) および Encorafenib (B) を投与し、MTS アッセイを実施したところ、いずれにおいても有意な生存率の増加（増殖）は認めなかった。Mean \pm SEM (n=3). NS, not significant ; one-way ANOVA with the Tukey post-hoc test.

6 考察

6.1 *in silico* drug screening の長所と限界

6.1.1 *in silico* drug screening の長所

本研究で実施した *in silico* drug screening は、これまで創薬のアプローチが困難であった多因子疾患に対し、ゲノム情報、PPI データベース、ドラッグデータベースを活用することで、効果が期待できる医薬品を効率的に抽出し、治療薬候補を見出すことが可能である。「標的タンパク質を最初に決定し、それに作用する治療薬を探索する」という直接的な方法も可能であるが、本研究では PPI データベースを用いた解析のプロセスを経ることで、疾患のリスク遺伝子という臨床に基づいた遺伝学的情報が標的タンパク質 (PPI 遺伝子産物) に付加されるため、治療薬探索を目的として標的タンパク質を選択する際に、科学的な説得力が増すものとする。また、本手法は、ドラッグデータベースに登録されている膨大な承認医薬品 (4000 種類以上) の中から、疾患のリスク遺伝子産物に結合し病態に関与する可能性が高いタンパク質 (PPI 遺伝子産物) を標的とする医薬品に絞って探索を行っており、治療薬候補を発見する事前確率を高くすることが可能であるとする。

MSA の結果からは、診療で実際に使用されている治療薬 (Protirelin, ドパミンアゴニスト, 抗コリン薬, 起立性低血圧治療薬, 排尿障害治療薬) を見出した

(図 4). AD の結果においては, AD 患者に使用されている AD 治療薬 (Donepezil, Memantine) や治験薬 (Triflusal, Liraglutide, Dasatinib, Nilotinib) をはじめ, AD 病態モデルの実験系で有効性が示されている複数の既存薬を見出した (図 6).

ALS の結果においては, ALS 患者に投与されている複数の ALS 治験薬 (Bosutinib, Perampanel, Vitamin E, Tamoxifen, Thalidomide, Ceftriaxone) を見出した (図 5).

これらの結果から, 神経変性疾患においても, *in silico drug screening* が妥当な創薬手法であることが示唆される. 一方, 他の疾患の病態モデルで神経保護効果や細胞保護効果を有することが報告されている既存薬も複数見出した. これらの既存薬は, MSA, ALS, AD, それぞれの病態モデルの実験系や, 実際の患者で有効性が認められれば, 新規治療薬につながる可能性がある.

6.1.2 *in silico drug screening* の限界

in silico drug screening により治療薬候補として見出した既存薬の中には, 既に対象疾患の病態モデルの実験系で解析・報告されているものが存在した. 特に AD では, 複数の既存薬が AD 病態モデルで既に検討され, 報告されていた (図 6). このような場合, 新規性に欠け, 特許等の問題も絡み, 治療薬として研究開発を進めることは困難である.

in silico drug screening の結果, 複数の PPI 遺伝子産物を標的とする非特異的な医薬品も存在した. これらの医薬品は, 病態に与える影響力も大きい可能性がある

るが、副作用が出現するリスクが高く、作用機序も複雑となり、解析が困難である
と考える。

従来のゲノム創薬は、患者のゲノム情報から疾患の病態機序を明らかにし、その機序に基づいて治療薬の研究開発を進めるという手順を踏む。一方、*in silico drug screening* の手法は、疾患の詳細な病態機序が明らかになっていなくても、ゲノム情報からデータベースを用いて、直接、治療薬候補を見出すことが可能である¹⁸¹。しかし、「疾患の病態機序を明らかにする」という手順を踏んでいないため、*in silico drug screening* で見出した治療薬候補が、病態モデルの実験系や患者で有効性を認めるかは不確実である。また、本研究では、ALS のリスク遺伝子である *VCP*、その PPI 遺伝子である *RAF1* から、Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase (RAF1 or CRAF) に作用する承認医薬品として DrugBank に登録されていた Dabrafenib を発見し、ALS 治療薬として BRAF 阻害薬の可能性を見出したが、ALS 病態における VCP-RAF1 (CRAF) 複合体の役割は明らかにできていない。

解析に用いるゲノム情報やデータベースの信頼性に関しても注意が必要である。疾患のリスク遺伝子においては、人種などの違いで再現性が得られない場合があり、疾患発症の確実性が高い遺伝子を選択して解析する必要がある。PPI データベースにおいては、複数のタンパク質間相互作用が登録されているが、結合

の強弱などの質的な情報がなく、相互作用の重み付けの判断が困難である。ドラッグデータベースにおいては、標的分子に作用する承認医薬品が複数登録されているが、主作用として薬効に関与するもの、本来の薬効とは異なるオフターゲット効果として作用するもの、作用機序が不明なもの、が混在している。そのため、文献検索を行い、登録されている承認医薬品が有する様々な薬効や作用機序について、詳細に把握する必要がある。

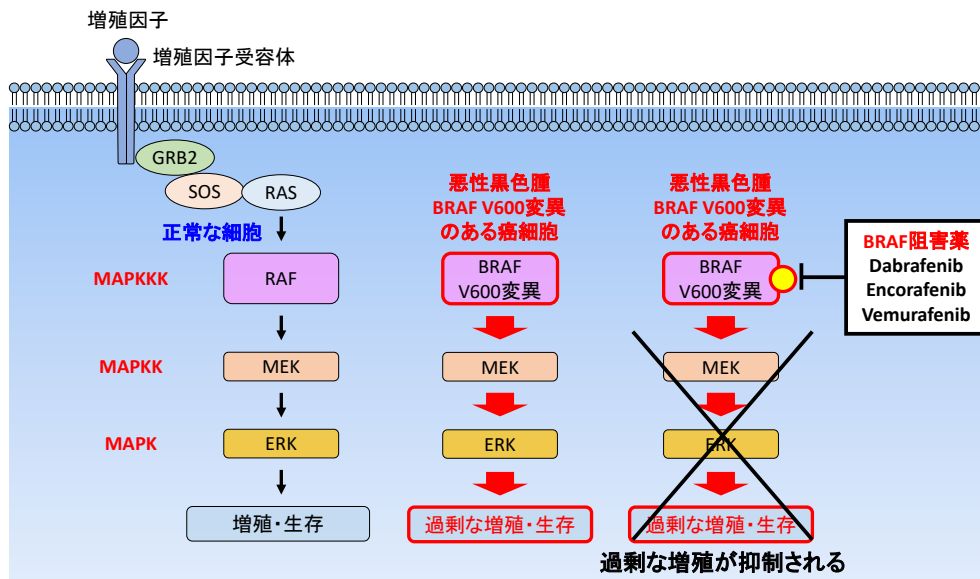
6.2 BRAF 阻害薬による ERK 活性化の作用機序

SH-SY5Y 細胞および NSC-34 細胞を用いた *in vitro* の実験系において、BRAF 阻害薬 (Dabrafenib, Encorafenib) が神経保護効果を有することを見出した (図 20–23)。神経保護効果を認めた濃度と同濃度 (100 nM) で有意な ERK の活性化を認める一方 (図 24), JNK 活性や p38 活性の変化はみられなかった (図 25, 26)。ERK の活性化により、アポトーシス促進因子である BIM, BIK, BMF, BAD や, caspase 9 が抑制され、アポトーシスが抑制されることが報告されており¹⁸⁰, BRAF 阻害薬による神経保護効果の作用機序として ERK の活性化が示唆された。

BRAF 阻害薬は、*BRAF* V600 変異のある癌細胞において、恒常的活性化型の *BRAF* V600 変異体の活性を阻害することで、増殖・生存に関与する ERK シグナルを抑制し、抗悪性腫瘍薬として効果を発揮する (図 28A)。BRAF 阻害薬が ERK

を活性化するという本研究結果は、このような知見とは矛盾するように思われる。しかし、BRAF 阻害薬は、*BRAF* V600 変異のない野生型 BRAF (BRAF WT) を発現する細胞では、ERK を活性化することが報告されており^{182,183}、本研究ではこの知見と同様の結果であった。すなわち、本研究で用いた SH-SY5Y 細胞、NSC-34 細胞は、BRAF WT を発現しているため、BRAF 阻害薬により ERK が活性化されたと考えられる。一方、BRAF 阻害薬による ERK の活性化は、RAF1 (CRAF) をノックアウトした細胞ではみられなくなる¹⁸³。これらの知見から、BRAF 阻害薬による ERK 活性化の作用機序として、「BRAF 阻害薬が BRAF WT に結合すると Scaffold タンパク質として RAF1 (CRAF) と複合体を形成し、RAF1 (CRAF) の活性化を介して ERK が活性化される」ことが提唱されている (図 25B)^{184,185}。このような現象は、BRAF 阻害薬による ERK の「Paradoxical Activation」と呼ばれている¹⁸⁴。本研究は、この「Paradoxical Activation」が、グルタミン酸や活性酸素種刺激による神経毒性に対し保護的に作用することを示し、ALS 治療薬として BRAF 阻害薬が有効である可能性を見出した (図 28B)。

(A) BRAF V600変異のある癌細胞に対するBRAF阻害薬の作用機序



(B) BRAF変異のない細胞に対するBRAF阻害薬の作用機序

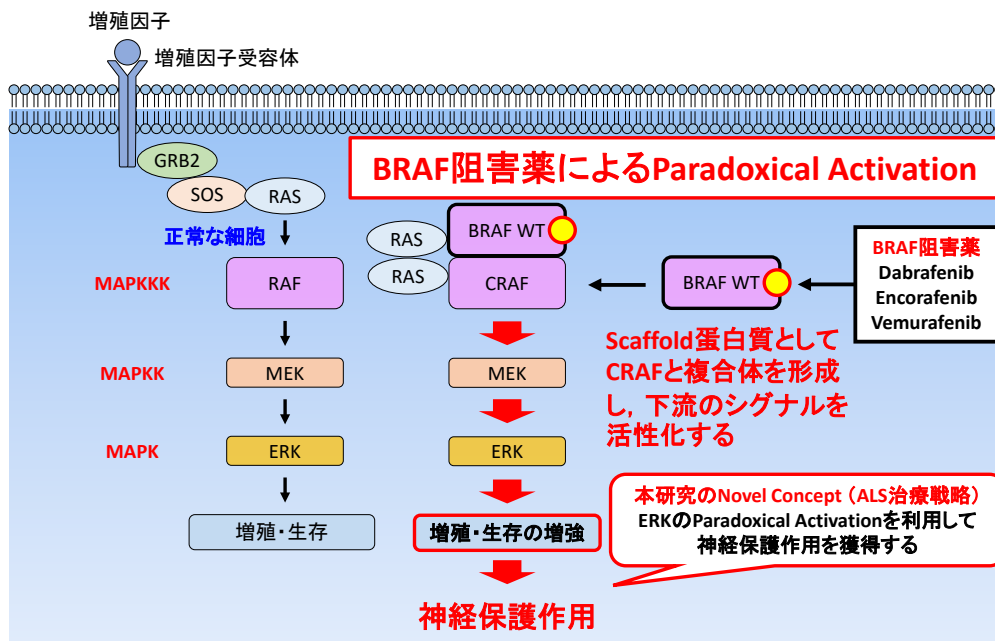


図 28 BRAF 阻害薬の作用機序

(A) BRAF V600 変異のある癌細胞に対する BRAF 阻害薬の作用機序. BRAF 阻害薬は下流の ERK シグナルを抑制する.

(B) BRAF 変異のない細胞に対する BRAF 阻害薬の作用機序^{184, 185}. BRAF 阻害薬が結合した BRAF は Scaffold タンパク質として RAF1 (CRAF) と複合体を形成し、下流の ERK シグナルを活性化する (Paradoxical Activation).

6.3 ALS 治療薬として BRAF 阻害薬を選択する根拠

RAF-ERK シグナル伝達経路の上流には、FALS (ALS19) の疾患遺伝子産物である受容体チロシンキナーゼ *erb-b2 receptor tyrosine kinase 4* (ERBB4) が存在する (図 29). FALS でみられる *ERBB4* の病的バリエントでは、リガンドである Neuregulin-1 (Nrg-1) 刺激に対して ERBB4 のリン酸化が低下していることが報告されており⁹⁵, ALS 患者において、ERK 経路をはじめとする下流のシグナル伝達経路が破綻している可能性が考えられる. また、ALS 病態モデルで ERK の活性化が、細胞死の抑制¹⁸⁶⁻¹⁸⁹ やオートファジーの破綻の抑制¹⁹⁰, モデルマウスでの生存期間の延長など¹⁹¹, 神経保護的に機能しているという報告が複数存在する¹⁹²⁻¹⁹⁴. さらに、ALS 患者に対し、肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF), 血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), インスリン様成長因子-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) などの ERK 経路や Akt 経路を活性化する複数の増殖因子で、治験が実施されている¹⁵³ (図 29). これらの増殖因子による治療は、下流の様々なシグナル伝達経路が活性化されるため、副作用のリスクとなる. また、受容体のダウンレギュレーションによる効果の減弱や、タンパク質製剤のため不安定という問題も懸念される. 以上の点から、比較的安定な化学物質であり、RAF-ERK シグナル伝達経路を選択的に活性化する BRAF 阻害薬は、新

規の ALS 治療薬として治療効果が期待できるものとする。また、BRAF 阻害薬はグルタミン酸刺激や活性酸素種刺激に対する神経毒性に対して保護効果を有する点や、BRAF 阻害薬により活性化される ERK は細胞の生存や細胞増殖に関与する分子である点を考慮すると、BRAF 阻害薬は、疾患遺伝子に病的バリエーションを有する特定の ALS 病型に限らず、孤発性を含む幅広い ALS の病型に効果が期待できる可能性があるとする。

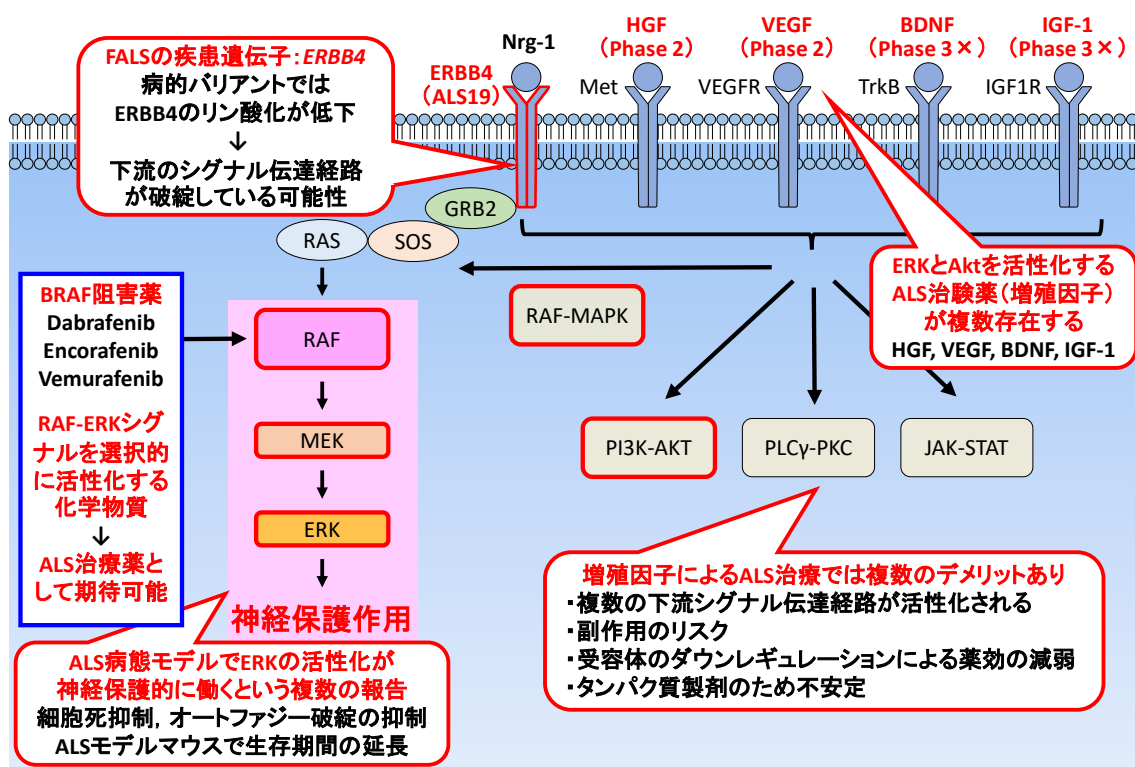


図 29 ALS 治療薬として BRAF 阻害薬を選択する根拠

RAF-ERK シグナル伝達経路の上流には, FALS の疾患遺伝子産物である ERBB4 が存在する. ERBB4 の病的バリエーションでは, Neuregulin-1 (Nrg-1) 刺激に対する ERBB4 のリン酸化が低下しており, ALS 患者において, ERK 経路をはじめとする下流のシグナル伝達経路が破綻している可能性が考えられる. また, ALS 病態モデルの実験系で, ERK の活性化が神経保護的に作用しているという報告が複数存在する. さらに, HGF, VEGF, BDNF, IGF-1 など, ERK 経路や Akt 経路を活性化する複数の増殖因子で ALS の治療が実施されている. これらの点から, ERK を選択的に活性化する BRAF 阻害薬は, ALS に対して有効である可能性が期待される.

6.4 BRAF 阻害薬による治療の安全性に関する問題

BRAF 阻害薬は、BRAF WT を発現する細胞，すなわち正常の細胞で ERK を活性化するため，全身投与した場合には，神経細胞の保護に留まらず，他の正常な細胞の増殖・生存にも影響を及ぼす可能性が想定される．悪性黒色腫をはじめ，複数の癌細胞では RAF-ERK シグナル伝達経路の恒常的な活性化がみられるため，BRAF 阻害薬の投与により発癌や癌悪性化などが懸念される．添付文書上の重大な副作用として，Dabrafenib は有棘細胞癌，悪性腫瘍（二次発癌），心障害，肝機能障害，深部静脈血栓症，脳血管障害が報告されており，Encorafenib は皮膚悪性腫瘍，眼障害，心機能障害，肝機能障害，横紋筋融解症，高血圧・高血圧クリーゼ，出血，手掌・測定発赤知覚不全症候群が報告されている．

ALS 患者の発症後生存期間の中央値は 20–48 ヶ月である．特に球麻痺発症例（25–30%）と呼吸障害発症例（1%）は，予後不良であり，前者は生存期間が約 2 年，後者は 1.4 年である^{20,195}．依然として十分な有効性を示す疾患修飾薬がない現状を考慮すると，十分な疾患の進行抑制効果・延命効果が得られる場合には，副作用のリスクを考慮した上で BRAF 阻害薬による ALS 治療の検討も必要であると考ええる．

6.5 *in vitro* の実験系の限界

6.5.1 *in vitro* の実験系の妥当性について

本研究で実施した *in vitro* での実験系では、複数の医薬品でスクリーニングを実施しなければならないという時間と労力の制約もあり、癌細胞（神経芽細胞腫）のセルラインを採用した。解析に用いた細胞が癌細胞であったために、BRAF 阻害薬による ERK の活性化がみられたという可能性も考えられる。そのため、正常な神経細胞である *primary neuron* を用いて、BRAF 阻害薬による ERK の活性化と神経保護効果がみられるか、解析を行う必要がある。また、刺激として採用したグルタミン酸および活性酸素種 (H_2O_2) に対し、それぞれ神経保護的に作用する Riluzole および Edaravone を *positive control* として検討し、本研究で採用した刺激濃度とセルラインが妥当なものであったか、確認する必要がある。さらに、ALS の病態は複数存在することから、他の ALS 病態モデルの実験系でも BRAF 阻害薬が神経保護効果を示すか、検討する必要がある。

6.5.2 BRAF 阻害薬による神経保護効果における ERK 活性化の重要性

本研究では、BRAF 阻害薬が神経保護効果を有するという結果と、BRAF 阻害薬が ERK を活性化するという結果から、BRAF 阻害薬が ERK の活性化を介して神経保護効果を示す可能性が示唆された。BRAF 阻害薬による神経保護効果に ERK の活性化が重要であることを示すためには、「MEK 阻害薬を併用投与した

場合、BRAF 阻害薬による ERK の活性化と神経保護効果がみられなくなる」ことを実験的に証明しなければならない。

6.6 今後の展望

今後、ALS モデルマウスを用いた *in vivo* 試験や、ALS 患者由来の人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cells, iPS 細胞）を用いたヒトの病態を反映した実験系において、BRAF 阻害薬による神経保護効果の有無を確認し、非臨床 proof of concept (POC) の確立、実用化を目指していきたい。

Dabrafenib, Encorafenib いずれも血液脳関門（blood-brain barrier, BBB）の透過性が悪いため、経口摂取では効果がみられず、髄腔内への投与が必要になることが想定される。そのため、将来的には、Dabrafenib, Encorafenib の化学構造式をもとに、ERK の活性化は保持されつつ BBB 透過性が良好な、患者への負担が少ない治療薬候補となる新規化合物の合成にも取り組んでいきたい。

7 結語

本研究において、有効な疾患修飾薬がない神経変性疾患である MSA, ALS, AD を対象に *in silico* drug screening を実施し、本手法の妥当性を確認するとともに、新規治療薬の候補として期待が可能な既存薬を複数見出した。さらに、既存の治療薬の作用機序から、標的とすれば患者で有効性が期待できる病態（グルタミン酸および活性酸素種による神経毒性）が明らかになっている疾患である ALS に絞り、*in vitro* drug screening を行い、BRAF 阻害薬が ALS 病態を模倣した実験系で神経保護効果を有することを発見した。その作用機序として ERK の活性化を認め、BRAF 阻害薬による ERK の「Paradoxical Activation」が、ALS 治療につながる可能性を明らかにした。また、BRAF 阻害薬が有意に神経保護効果と ERK の活性化を示す至適濃度を見出し、ALS モデルマウスや ALS 患者由来 iPS 細胞を用いた試験で有効性を検討するための薬理学的な基盤を構築した。

8 謝辞

本研究を遂行するにあたりご指導ご鞭撻を賜りました，東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 戸田 達史 教授に深謝申し上げます．

本研究において *in silico* drug screening および *in vitro* drug screening のご指導を賜りました，Stanford University School of Medicine Pathology Stem Cell Institute (XSCI) 上中 健 先生，国立循環器病センター研究所病態ゲノム医学部 Pei-Chieng Cha 先生に深謝申し上げます．

ALS モデルマウスを用いた研究のご指導を賜りました，東京医科大学病院脳神経内科 郭 伸 教授，東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学 赤松 恵 先生に深謝申し上げます．

マウスにおける薬物動態解析研究のご指導を賜りました，東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学 楠原 洋之 教授，前田 和哉 先生，道場 一祥 先生に深謝申し上げます．

9 参考文献

1. Martin JB. Molecular basis of the neurodegenerative disorders. *N. Engl. J. Med.* **340**, 1970–1980 (1999).
2. Przedborski S, Vila M, Jackson-Lewis V. Neurodegeneration: what is it and where are we? *J. Clin. Invest.* **111**, 3–10 (2003).
3. MacDonald ME, Ambrose CM, Duyao MP, Myers RH, Lin C, Srinidhi L, Barnes G, Taylor SA, James M, Groot N, MacFarlane H, Jenkins B, Anderson MA, Wexler NS, Gusella JF, Bates GP, Baxendale S, Hummerich H, Kirby S, North M, Youngman S, Mott R, Zehetner G, Sedlacek Z, Poustka A, Frischauf AM, Lehrach H, Buckler AJ, Church D, Doucette-Stamm L, O'Donovan MC, Riba-Ramirez L, Shah M, Stanton VP, Strobel SA, Draths KM, Wales JL, Dervan P, Housman DE, Altherr M, Shiang R, Thompson L, Fielder T, Wasmuth JJ, Tagle D, Valdes J, Elmer L, Allard M, Castilla L, Swaroop M, Blanchard K, Collins FS, Snell R, Holloway T, Gillespie K, Datson N, Shaw D, Harper PS. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell* **72**, 971–983 (1993).

4. Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, Tanaka H, Igarashi S, Endo K, Takahashi H, Kondo R, Ishikawa A, Hayashi T, et al. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). *Nature Genet.* **6**, 9–13 (1994).
5. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H, Sato H, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nature Genet.* **32**, 650–654 (2002).
6. Zuk O, Schaffner SF, Samocha K, Do R, Hechter E, Kathiresan S, Daly MJ, Neale BM, Sunyaev SR, Lander ES. Searching for missing heritability: designing rare variant association studies. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **111**, E455–E464 (2014).
7. Gilman S, Wenning GK, Low PA, Brooks DJ, Mathias CJ, Trojanowski JQ, Wood NW, Colosimo C, Dürr A, Fowler CJ, Kaufmann H, Klockgether T, Lees A, Poewe W, Quinn N, Revesz T, Robertson D, Sandroni P, Seppi K, Vidailhet M. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology* **71**, 670–676 (2008).
8. Ben-Shlomo Y, Wenning GK, Tison F, Quinn NP. Survival of patients with pathologically proven multiple system atrophy: a meta-analysis. *Neurology* **48**, 384–393 (1997).

9. Watanabe H, Saito Y, Terao S, Ando T, Kachi T, Mukai E, Aiba I, Abe Y, Tamakoshi A, Doyu M, Hirayama M, Sobue G. Progression and prognosis in multiple system atrophy: an analysis of 230 Japanese patients. *Brain* **125**, 1070–1083 (2002).
10. Bjornsdottir A, Gudmundsson G, Blondal H, Olafsson E. Incidence and prevalence of multiple system atrophy: a nationwide study in Iceland. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **84**, 136–140 (2013).
11. Kim HJ, Jeon BS, Lee JY, Yun JY. Survival of Korean patients with multiple system atrophy. *Mov. Disord.* **26**, 909–912 (2011).
12. Tu PH, Galvin JE, Baba M, Giasson B, Tomita T, Leight S, Nakajo S, Iwatsubo T, Trojanowski JQ, Lee VM. Glial cytoplasmic inclusions in white matter oligodendrocytes of multiple system atrophy brains contain insoluble alpha-synuclein. *Ann. Neurol.* **44**, 415–422 (1998).
13. Wakabayashi K, Yoshimoto M, Tsuji S, Takahashi H. Alpha-synuclein immunoreactivity in glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy. *Neurosci. Lett.* **249**, 180–182 (1998).
14. Scholz SW, Houlden H, Schulte C, Sharma M, Li A, Berg D, Melchers A, Paudel R, Gibbs JR, Simon-Sanchez J, Paisan-Ruiz C, Bras J, Ding J, Chen H, Traynor BJ, Arepalli S, Zonozi RR, Revesz T, Holton J, Wood N, Lees A, Oertel W, Wüllner U,

- Goldwurm S, Pellecchia MT, Illig T, Riess O, Fernandez HH, Rodriguez RL, Okun MS, Poewe W, Wenning GK, Hardy JA, Singleton AB, Del Sorbo F, Schneider S, Bhatia KP, Gasser T. SNCA variants are associated with increased risk for multiple system atrophy. *Ann. Neurol.* **65**, 610–614 (2009).
15. Sailer A, Scholz SW, Nalls MA, Schulte C, Federoff M, Price TR, Lees A, Ross OA, Dickson DW, Mok K, Mencacci NE, Schottlaender L, Chelban V, Ling H, O'Sullivan SS, Wood NW, Traynor BJ, Ferrucci L, Federoff HJ, Mhyre TR, Morris HR, Deuschl G, Quinn N, Widner H, Albanese A, Infante J, Bhatia KP, Poewe W, Oertel W, Höglinger GU, Wüllner U, Goldwurm S, Pellecchia MT, Ferreira J, Tolosa E, Bloem BR, Rascol O, Meissner WG, Hardy JA, Revesz T, Holton JL, Gasser T, Wenning GK, Singleton AB, Houlden H; European Multiple System Atrophy Study Group and the UK Multiple System Atrophy Study Group. A genome-wide association study in multiple system atrophy. *Neurology* **87**, 1591–1598 (2016).
16. Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H, Yabe I, Matsushima M, Dürr A, Brice A, Takashima H, Kikuchi A, Aoki M, Ishiura H, Yasuda T, Date H, Ahsan B, Iwata A, Goto J, Ichikawa Y, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Watanabe H, Ito M, Sobue G,

Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Tanner CM, Kukull WA, Stern MB, Lee VM, Trojanowski JQ, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Ozelius LJ, Foroud T, Tsuji S. Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* **2**, 417–426 (2015).

17. Multiple-System Atrophy Research Collaboration: Jun Mitsui, Takashi Matsukawa, Hiroyuki Ishiura, Yoko Fukuda, Yaeko Ichikawa, Hidetoshi Date, Budrul Ahsan, Yasuo Nakahara, Yoshio Momose, Yuji Takahashi, Atsushi Iwata, Jun Goto, Yorihiro Yamamoto, Makiko Komata, Katsuhiko Shirahige, Kenju Hara, Akiyoshi Kakita, Mitsunori Yamada, Hitoshi Takahashi, Osamu Onodera, Masatoyo Nishizawa, Hiroshi Takashima, Ryoza Kuwano, Hirohisa Watanabe, Mizuki Ito, Gen Sobue, Hiroyuki Soma, Ichiro Yabe, Hidenao Sasaki, Masashi Aoki, Kinya Ishikawa, Hidehiro Mizusawa, Kazuaki Kanai, Takamichi Hattori, Satoshi Kuwabara, Kimihito Arai, Shigeru Koyano, Yoshiyuki Kuroiwa, Kazuko Hasegawa, Tatsuhiko Yuasa, Kenichi Yasui, Kenji Nakashima, Hijiri Ito, Yuishin Izumi, Ryuji

Kaji, Takeo Kato, Susumu Kusunoki, Yasushi Osaki, Masahiro Horiuchi, Tomoyoshi Kondo, Shigeo Murayama, Nobutaka Hattori, Mitsutoshi Yamamoto, Miho Murata, Wataru Satake, Tatsushi Toda, Alexandra Dürr, Alexis Brice, Alessandro Filla, Thomas Klockgether, Ullrich Wüllner, Garth Nicholson, Sid Gilman, Clifford W Shults, Caroline M Tanner, Walter A Kukull, Virginia M -Y Lee, Eliezer Masliah, Phillip A Low, Paola Sandroni, John Q Trojanowski, Laurie Ozelius, Tatiana Foroud, Shoji Tsuji. Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N. Engl. J. Med.* **369**, 233–244 (2013).

18. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, Shaw PJ, Simmons Z, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Rev. Dis. Primers* **3**, 17071 (2017).
19. Chiò A, Logroscino G, Traynor BJ, Collins J, Simeone JC, Goldstein LA, White LA. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology* **41**, 118–130 (2013).
20. Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, Traynor BG; Eurals Consortium. Prognostic factors in ALS: A critical review. *Amyotroph. Lateral. Scler.* **10**, 310–323 (2009).

21. Haverkamp LJ, Appel V, Appel SH. Natural history of amyotrophic lateral sclerosis in a database population. Validation of a scoring system and a model for survival prediction. *Brain* **118**, 707–719 (1995).
22. Ling SC, Polymenidou M, Cleveland DW. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron* **79**, 416–438 (2013).
23. 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, Kretzschmar HA, Trojanowski JQ, Lee VM. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **314**, 130–133 (2006).
24. Kwong LK, Neumann M, Sampathu DM, Lee VM, Trojanowski JQ. TDP-43 proteinopathy: the neuropathology underlying major forms of sporadic and familial frontotemporal lobar degeneration and motor neuron disease. *Acta. Neuropathol.* **114**, 63–70 (2007).
25. Bosco DA, Morfini G, Karabacak NM, Song Y, Gros-Louis F, Pasinelli P, Goolsby H, Fontaine BA, Lemay N, McKenna-Yasek D, Frosch MP, Agar JN, Julien JP, Brady ST, Brown RH Jr. Wild-type and mutant SOD1 share an aberrant

- conformation and a common pathogenic pathway in ALS. *Nature Neurosci.* **13**, 1396–1403 (2010).
26. Deng HX, Zhai H, Bigio EH, Yan J, Fecto F, Ajroud K, Mishra M, Ajroud-Driss S, Heller S, Sufit R, Siddique N, Mugnaini E, Siddique T. FUS-immunoreactive inclusions are a common feature in sporadic and non-SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* **67**, 739–748 (2010).
 27. Byrne S, Walsh C, Lynch C, Bede P, Elamin M, Kenna K, McLaughlin R, Hardiman O. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **82**, 623–627 (2011).
 28. Brown RH, Al-Chalabi A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* **377**, 162–172 (2017).
 29. Taylor JP, Brown RH Jr, Cleveland DW. Decoding ALS: from genes to mechanism. *Nature* **539**, 197–206 (2016).
 30. McCauley ME, Baloh RH. Inflammation in ALS/FTD pathogenesis. *Acta Neuropathol.* **137**, 715–730 (2019).
 31. Kenna KP, van Doormaal PT, Dekker AM, Ticozzi N, Kenna BJ, Diekstra FP, van Rheenen W, van Eijk KR, Jones AR, Keagle P, Shatunov A, Sproviero W, Smith BN, van Es MA, Topp SD, Kenna A, Miller JW, Fallini C, Tiloca C, McLaughlin

RL, Vance C, Troakes C, Colombrita C, Mora G, Calvo A, Verde F, Al-Sarraj S, King A, Calini D, de Belleruche J, Baas F, van der Kooi AJ, de Visser M, Ten Asbroek AL, Sapp PC, McKenna-Yasek D, Polak M, Asress S, Muñoz-Blanco JL, Strom TM, Meitinger T, Morrison KE; SLAGEN Consortium, Lauria G, Williams KL, Leigh PN, Nicholson GA, Blair IP, Leblond CS, Dion PA, Rouleau GA, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F, Boylan KB, Van Blitterswijk M, Rademakers R, Esteban-Pérez J, García-Redondo A, Van Damme P, Robberecht W, Chio A, Gellera C, Drepper C, Sendtner M, Ratti A, Glass JD, Mora JS, Basak NA, Hardiman O, Ludolph AC, Andersen PM, Weishaupt JH, Brown RH Jr, Al-Chalabi A, Silani V, Shaw CE, van den Berg LH, Veldink JH, Landers JE. NEK1 variants confer susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **48**, 1037–1042 (2016).

32. Smith BN, Topp SD, Fallini C, Shibata H, Chen HJ, Troakes C, King A, Ticozzi N, Kenna KP, Soragia-Gkazi A, Miller JW, Sato A, Dias DM, Jeon M, Vance C, Wong CH, de Majo M, Kattuah W, Mitchell JC, Scotter EL, Parkin NW, Sapp PC, Nolan M, Nestor PJ, Simpson M, Weale M, Lek M, Baas F, Vianney de Jong JM, Ten Asbroek ALMA, Redondo AG, Esteban-Pérez J, Tiloca C, Verde F, Duga S, Leigh N, Pall H, Morrison KE, Al-Chalabi A, Shaw PJ, Kirby J, Turner MR, Talbot K,

Hardiman O, Glass JD, De Bellerocche J, Maki M, Moss SE, Miller C, Gellera C, Ratti A, Al-Sarraj S, Brown RH Jr, Silani V, Landers JE, Shaw CE. Mutations in the vesicular trafficking protein annexin A11 are associated with amyotrophic lateral sclerosis. *Sci. Transl. Med.* **9**, eaad9157 (2017).

33. Nicolas A, Kenna KP, Renton AE, Ticozzi N, Faghri F, Chia R, Dominov JA, Kenna BJ, Nalls MA, Keagle P, Rivera AM, van Rheenen W, Murphy NA, van Vugt JJFA, Geiger JT, Van der Spek RA, Pliner HA, Shankaracharya, Smith BN, Marangi G, Topp SD, Abramzon Y, Gkazi AS, Eicher JD, Kenna A; ITALSGEN Consortium, Mora G, Calvo A, Mazzini L, Riva N, Mandrioli J, Caponnetto C, Battistini S, Volanti P, La Bella V, Conforti FL, Borghero G, Messina S, Simone IL, Trojsi F, Salvi F, Logullo FO, D'Alfonso S, Corrado L, Capasso M, Ferrucci L; Genomic Translation for ALS Care (GTAC) Consortium, Moreno CAM, Kamalakaran S, Goldstein DB; ALS Sequencing Consortium, Gitler AD, Harris T, Myers RM; NYGC ALS Consortium, Phatnani H, Musunuri RL, Evani US, Abhyankar A, Zody MC; Answer ALS Foundation, Kaye J, Finkbeiner S, Wyman SK, LeNail A, Lima L, Fraenkel E, Svendsen CN, Thompson LM, Van Eyk JE, Berry JD, Miller TM, Kolb SJ, Cudkowicz M, Baxi E; Clinical Research in ALS and Related Disorders for Therapeutic Development (CReATe) Consortium, Benatar M, Taylor JP,

Rampersaud E, Wu G, Wu J; SLAGEN Consortium, Lauria G, Verde F, Fogh I, Tiloca C, Comi GP, Sorarù G, Cereda C; French ALS Consortium, Corcia P, Laaksovirta H, Myllykangas L, Jansson L, Valori M, Ealing J, Hamdalla H, Rollinson S, Pickering-Brown S, Orrell RW, Sidle KC, Malaspina A, Hardy J, Singleton AB, Johnson JO, Arepalli S, Sapp PC, McKenna-Yasek D, Polak M, Asress S, Al-Sarraj S, King A, Troakes C, Vance C, de Belleruche J, Baas F, Ten Asbroek ALMA, Muñoz-Blanco JL, Hernandez DG, Ding J, Gibbs JR, Scholz SW, Floeter MK, Campbell RH, Landi F, Bowser R, Pulst SM, Ravits JM, MacGowan DJL, Kirby J, Pioro EP, Pamphlett R, Broach J, Gerhard G, Dunckley TL, Brady CB, Kowall NW, Troncoso JC, Le Ber I, Mouzat K, Lumbroso S, Heiman-Patterson TD, Kamel F, Van Den Bosch L, Baloh RH, Strom TM, Meitinger T, Shatunov A, Van Eijk KR, de Carvalho M, Kooyman M, Middelkoop B, Moisse M, McLaughlin RL, Van Es MA, Weber M, Boylan KB, Van Blitterswijk M, Rademakers R, Morrison KE, Basak AN, Mora JS, Drory VE, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Hardiman O, Williams KL, Fifita JA, Nicholson GA, Blair IP, Rouleau GA, Esteban-Pérez J, García-Redondo A, Al-Chalabi A; Project MinE ALS Sequencing Consortium, Rogaeva E, Zinman L, Ostrow LW, Maragakis NJ, Rothstein JD, Simmons Z, Cooper-Knock J, Brice A, Goutman SA, Feldman EL, Gibson SB,

- Taroni F, Ratti A, Gellera C, Van Damme P, Robberecht W, Fratta P, Sabatelli M, Lunetta C, Ludolph AC, Andersen PM, Weishaupt JH, Camu W, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM, Brown RH Jr, van den Berg LH, Veldink JH, Harms MB, Glass JD, Stone DJ, Tienari P, Silani V, Chiò A, Shaw CE, Traynor BJ, Landers JE. Genome-wide Analyses Identify KIF5A as a Novel ALS Gene. *Neuron* **97**, 1268-1283.e6 (2018).
34. Brenner D, Yilmaz R, Müller K, Grehl T, Petri S, Meyer T, Grosskreutz J, Weydt P, Ruf W, Neuwirth C, Weber M, Pinto S, Claeys KG, Schrank B, Jordan B, Knehr A, Günther K, Hübers A, Zeller D, Kubisch C, Jablonka S, Sendtner M, Klopstock T, de Carvalho M, Sperfeld A, Borek G, Volk AE, Dorst J, Weis J, Otto M, Schuster J, Del Tredici K, Braak H, Danzer KM, Freischmidt A, Meitinger T, Strom TM, Ludolph AC, Andersen PM, Weishaupt JH; German ALS network MND-NET. Hot-spot KIF5A mutations cause familial ALS. *Brain* **141**, 688–697 (2018).
35. van Es MA, van Vught PW, Blauw HM, Franke L, Saris CG, Van den Bosch L, de Jong SW, de Jong V, Baas F, van't Slot R, Lemmens R, Schelhaas HJ, Birve A, Sleegers K, Van Broeckhoven C, Schymick JC, Traynor BJ, Wokke JH, Wijmenga C, Robberecht W, Andersen PM, Veldink JH, Ophoff RA, van den Berg LH.

Genetic variation in DPP6 is associated with susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **40**, 29–31 (2008).

36. van Es MA, Veldink JH, Saris CG, Blauw HM, van Vught PW, Birve A, Lemmens R, Schelhaas HJ, Groen EJ, Huisman MH, van der Kooi AJ, de Visser M, Dahlberg C, Estrada K, Rivadeneira F, Hofman A, Zwarts MJ, van Doormaal PT, Rujescu D, Strengman E, Giegling I, Muglia P, Tomik B, Slowik A, Uitterlinden AG, Hendrich C, Waibel S, Meyer T, Ludolph AC, Glass JD, Purcell S, Cichon S, Nöthen MM, Wichmann HE, Schreiber S, Vermeulen SH, Kiemeny LA, Wokke JH, Cronin S, McLaughlin RL, Hardiman O, Fumoto K, Pasterkamp RJ, Meininger V, Melki J, Leigh PN, Shaw CE, Landers JE, Al-Chalabi A, Brown RH Jr, Robberecht W, Andersen PM, Ophoff RA, van den Berg LH. Genome-wide association study identifies 19p13.3 (UNC13A) and 9p21.2 as susceptibility loci for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **41**, 1083–1087 (2009).
37. Miller RG, Mitchell JD, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database Syst. Rev.* **2012**, CD001447 (2012).

38. Writing Group; Edaravone (MCI-186) ALS 19 Study Group. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* **16**, 505–512 (2017).
39. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **7**, 263–269 (2011).
40. Mendez MF. Early-onset Alzheimer's disease: nonamnestic subtypes and type 2 AD. *Arch. Med. Res.* **43**, 677–685 (2012).
41. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* **82**, 239–259 (1991).
42. GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* **18**, 88–106 (2019).
43. Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prina M, Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2015: the global impact of dementia, an

analysis of prevalence, incidence, cost and trends; available at <https://www.alzint.org/u/WorldAlzheimerReport2015.pdf> (2015).

44. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2009; available at https://www.alz.org/national/documents/report_full_2009worldalzheimerreport.pdf (2009).
45. Neuner SM, Tcw J, Goate AM. Genetic architecture of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* **143**, 104976 (2020).
46. Cacace R, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimers Dement.* **12**, 733–748 (2016).
47. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**, 353–356 (2002).
48. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* **349**, 704–706 (1991).
49. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, Tsuda T, Mar L, Foncin JF, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I, Pinessi L, Nee L, Chumakov I, Pollen D, Brookes A, Sanseau P, Polinsky

- RJ, Wasco W, Da Silva HA, Haines JL, Pericak-Vance MA, Tanzi RE, Roses AD, Fraser PE, Rommens JM, St George-Hyslop PH. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* **375**, 754–760 (1995).
50. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, Holman K, Tsuda T, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* **376**, 775–778 (1995).
 51. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu CE, Jondro PD, Schmidt SD, Wang K, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* **269**, 973–977 (1995).
 52. Citron M, Oltersdorf T, Haass C, McConlogue L, Hung AY, Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Lieberburg I, Selkoe DJ. Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature* **360**, 672–674 (1992).
 53. Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L Jr, Eckman C, Golde TE, Younkin SG. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by

familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science* **264**, 1336–1340 (1994).

54. Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, Prada CM, Kim G, Seekins S, Yager D, Slunt HH, Wang R, Seeger M, Levey AI, Gandy SE, Copeland NG, Jenkins NA, Price DL, Younkin SG, Sisodia SS. Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate Abeta1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron* **17**, 1005–1013 (1996).
55. Tomita T, Maruyama K, Saido TC, Kume H, Shinozaki K, Tokuhira S, Capell A, Walter J, Grünberg J, Haass C, Iwatsubo T, Obata K. The presenilin 2 mutation (N141I) linked to familial Alzheimer disease (Volga German families) increases the secretion of amyloid beta protein ending at the 42nd (or 43rd) residue. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **94**, 2025–2030 (1997).
56. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* **261**, 921–923 (1993).
57. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid

and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA **90**, 1977–1981(1993).

58. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, *et al.* Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* **43**, 1467–1472 (1993).
59. Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* **11**, 575–580 (1993).
60. Liu CC, Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Rev. Neurol.* **9**, 106–118 (2013).
61. Guerreiro R, Brás J, Hardy J. SnapShot: genetics of Alzheimer's disease. *Cell* **155**, 968–968.e1 (2013).
62. Cuyvers E, Sleegers K. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol.* **15**, 857–868 (2016).
63. Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Rev. Drug Discov.* **3**, 673–683 (2004).

64. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, Escott KJ, Hopper S, Wells A, Doig A, Guillems T, Latimer J, McNamee C, Norris A, Sanseau P, Cavalla D, Pirmohamed M. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nature Rev. Drug Discov.* **18**, 41–58 (2019).
65. Dowden H, Munro J. Trends in clinical success rates and therapeutic focus. *Nature Rev. Drug Discov.* **18**, 495–496 (2019).
66. Nosengo N. Can you teach old drugs new tricks? *Nature* **534**, 314–316 (2016).
67. Mucke HA. The case of galantamine: repurposing and late blooming of a cholinergic drug. *Future Sci. OA* **1**, FSO73 (2015).
68. Lipton SA. Failures and successes of NMDA receptor antagonists: molecular basis for the use of open-channel blockers like memantine in the treatment of acute and chronic neurologic insults. *NeuroRx.* **1**, 101–110 (2004).
69. Hieble JP, Eden RJ, de Mey C. The role of DA1- and DA2-receptors in the control of blood pressure. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **30 Suppl 1**, 61S–68S (1990).
70. Murata M, Horiuchi E, Kanazawa I. Zonisamide has beneficial effects on Parkinson's disease patients. *Neurosci. Res.* **41**, 397–399 (2001).
71. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Yoshida S, Graham RR, Manoharan A, Ortmann W, Bhangale T, Denny JC, Carroll

RJ, Eyler AE, Greenberg JD, Kremer JM, Pappas DA, Jiang L, Yin J, Ye L, Su DF, Yang J, Xie G, Keystone E, Westra HJ, Esko T, Metspalu A, Zhou X, Gupta N, Mirel D, Stahl EA, Diogo D, Cui J, Liao K, Guo MH, Myouzen K, Kawaguchi T, Coenen MJ, van Riel PL, van de Laar MA, Guchelaar HJ, Huizinga TW, Dieudé P, Mariette X, Bridges SL Jr, Zhernakova A, Toes RE, Tak PP, Miceli-Richard C, Bang SY, Lee HS, Martin J, Gonzalez-Gay MA, Rodriguez-Rodriguez L, Rantapää-Dahlqvist S, Arlestig L, Choi HK, Kamatani Y, Galan P, Lathrop M; RACI consortium; GARNET consortium, Eyre S, Bowes J, Barton A, de Vries N, Moreland LW, Criswell LA, Karlson EW, Taniguchi A, Yamada R, Kubo M, Liu JS, Bae SC, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Raychaudhuri S, Stranger BE, De Jager PL, Franke L, Visscher PM, Brown MA, Yamanaka H, Mimori T, Takahashi A, Xu H, Behrens TW, Siminovitch KA, Momohara S, Matsuda F, Yamamoto K, Plenge RM. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* **506**, 376–381 (2014).

72. Imamura M, Takahashi A, Yamauchi T, Hara K, Yasuda K, Grarup N, Zhao W, Wang X, Huerta-Chagoya A, Hu C, Moon S, Long J, Kwak SH, Rasheed A, Saxena R, Ma RC, Okada Y, Iwata M, Hosoe J, Shojima N, Iwasaki M, Fujita H, Suzuki K, Danesh J, Jørgensen T, Jørgensen ME, Witte DR, Brandslund I, Christensen C,

Hansen T, Mercader JM, Flannick J, Moreno-Macías H, Burt NP, Zhang R, Kim YJ, Zheng W, Singh JR, Tam CH, Hirose H, Maegawa H, Ito C, Kaku K, Watada H, Tanaka Y, Tobe K, Kawamori R, Kubo M, Cho YS, Chan JC, Sanghera D, Frossard P, Park KS, Shu XO, Kim BJ, Florez JC, Tusié-Luna T, Jia W, Tai ES, Pedersen O, Saleheen D, Maeda S, Kadowaki T. Genome-wide association studies in the Japanese population identify seven novel loci for type 2 diabetes. *Nature Commun.* **7**, 10531 (2016).

73. Zhang J, Jiang K, Lv L, Wang H, Shen Z, Gao Z, Wang B, Yang Y, Ye Y, Wang S. Use of genome-wide association studies for cancer research and drug repositioning. *PLoS One* **10**, e0116477 (2015).
74. Uenaka T, Satake W, Cha PC, Hayakawa H, Baba K, Jiang S, Kobayashi K, Kanagawa M, Okada Y, Mochizuki H, Toda T. In silico drug screening by using genome-wide association study data repurposed dabrafenib, an anti-melanoma drug, for Parkinson's disease. *Hum. Mol. Genet.* **27**, 3974–3985 (2018).
75. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59–62 (1993).

76. Yang Y, Hentati A, Deng HX, Dabbagh O, Sasaki T, Hirano M, Hung WY, Ouahchi K, Yan J, Azim AC, Cole N, Gascon G, Yagmour A, Ben-Hamida M, Pericak-Vance M, Hentati F, Siddique T. The gene encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **29**, 160–165 (2001).
77. Hadano S, Hand CK, Osuga H, Yanagisawa Y, Otomo A, Devon RS, Miyamoto N, Showguchi-Miyata J, Okada Y, Singaraja R, Figlewicz DA, Kwiatkowski T, Hosler BA, Sagie T, Skaug J, Nasir J, Brown RH Jr, Scherer SW, Rouleau GA, Hayden MR, Ikeda JE. A gene encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2. *Nature Genet.* **29**, 166–173 (2001).
78. Chen YZ, Bennett CL, Huynh HM, Blair IP, Puls I, Irobi J, Dierick I, Abel A, Kennerson ML, Rabin BA, Nicholson GA, Auer-Grumbach M, Wagner K, De Jonghe P, Griffin JW, Fischbeck KH, Timmerman V, Cornblath DR, Chance PF. DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). *Am. J. Hum. Genet.* **74**, 1128–1135 (2004).
79. Orlacchio A, Babalini C, Borreca A, Patrono C, Massa R, Basaran S, Munhoz RP, Rogaeva EA, St George-Hyslop PH, Bernardi G, Kawarai T. SPATACSIN

mutations cause autosomal recessive juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* **133**, 591–598 (2010).

80. Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis EJ, Munsat T, Valdmanis 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, Brown RH Jr. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **323**, 1205–1208 (2009).
81. Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams KL, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Chalabi A, Leigh PN, Blair IP, Nicholson G, de Belleruche J, Gallo JM, Miller CC, Shaw CE. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* **323**, 1208–1211 (2009).
82. Nishimura AL, Mitne-Neto M, Silva HC, Richieri-Costa A, Middleton S, Cascio D, Kok F, Oliveira JR, Gillingwater T, Webb J, Skehel P, 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).

83. Greenway MJ, Andersen PM, Russ C, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, Patterson V, Swingle R, Kieran D, Prehn J, Morrison KE, Green A, Acharya KR, Brown RH Jr, Hardiman O. ANG mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **38**, 411–413 (2006).
84. Kabashi E, Valdmanis PN, Dion P, Spiegelman D, McConkey BJ, Vande Velde C, Bouchard JP, Lacomblez L, Pochigaeva K, Salachas F, Pradat PF, Camu W, Meininger V, Dupre N, Rouleau GA. TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **40**, 572–574 (2008).
85. Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall JC, Williams KL, Buratti E, Baralle F, de Belleruche J, Mitchell JD, Leigh PN, Al-Chalabi A, Miller CC, Nicholson G, Shaw CE. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **319**, 1668–1672 (2008).
86. Chow CY, Landers JE, Bergren SK, Sapp PC, Grant AE, Jones JM, Everett L, Lenk GM, McKenna-Yasek DM, Weisman LS, Figlewicz D, Brown RH, Meisler MH. Deleterious variants of FIG4, a phosphoinositide phosphatase, in patients with ALS. *Am. J. Hum. Genet.* **84**, 85–88 (2009).

87. Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **465**, 223–226 (2010).
88. 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, Gitler AD. Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* **466**, 1069–1075 (2010).
89. Johnson JO, Mandrioli J, Benatar M, Abramzon Y, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, Gibbs JR, Brunetti M, Gronka S, Wu J, Ding J, McCluskey L, Martinez-Lage M, Falcone D, Hernandez DG, Arepalli S, Chong S, Schymick JC, Rothstein J, Landi F, Wang YD, Calvo A, Mora G, Sabatelli M, Monsurrò MR, Battistini S, Salvi F, Spataro R, Sola P, Borghero G; ITALSGEN Consortium, Galassi G, Scholz SW, Taylor JP, Restagno G, Chiò A, Traynor BJ. Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* **68**, 857–864 (2010).

90. Deng HX, Chen W, Hong ST, Boycott KM, Gorrie GH, Siddique N, Yang Y, Fecto F, Shi Y, Zhai H, Jiang H, Hirano M, Rampersaud E, Jansen GH, Donkervoort S, Bigio EH, Brooks BR, Ajroud K, Sufit RL, Haines JL, Mugnaini E, Pericak-Vance MA, Siddique T. Mutations in UBQLN2 cause dominant X-linked juvenile and adult-onset ALS and ALS/dementia. *Nature* **477**, 211–215 (2011).
91. Luty AA, Kwok JB, Dobson-Stone C, Loy CT, Coupland KG, Karlström H, Sobow T, Tchorzewska J, Maruszak A, Barcikowska M, Panegyres PK, Zekanowski C, Brooks WS, Williams KL, Blair IP, Mather KA, Sachdev PS, Halliday GM, Schofield PR. Sigma nonopioid intracellular receptor 1 mutations cause frontotemporal lobar degeneration-motor neuron disease. *Ann. Neurol.* **68**, 639–649 (2010).
92. Al-Saif A, Al-Mohanna F, Bohlega S. A mutation in sigma-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* **70**, 913–919 (2011).
93. Parkinson N, Ince PG, Smith MO, Highley R, Skibinski G, Andersen PM, Morrison KE, Pall HS, Hardiman O, Collinge J, Shaw PJ, Fisher EM; MRC Proteomics in ALS Study; FReJA Consortium. ALS phenotypes with mutations in CHMP2B (charged multivesicular body protein 2B). *Neurology* **67**, 1074–1077 (2006).

94. Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, Keagle PJ, Sapp PC, Piotrowska K, Lowe P, Koppers M, McKenna-Yasek D, Baron DM, Kost JE, Gonzalez-Perez P, Fox AD, Adams J, Taroni F, Tiloca C, Leclerc AL, Chafe SC, Mangroo D, Moore MJ, Zitzewitz JA, Xu ZS, van den Berg LH, Glass JD, Siciliano G, Cirulli ET, Goldstein DB, Salachas F, Meininger V, Rossoll W, Ratti A, Gellera C, Bosco DA, Bassell GJ, Silani V, Drory VE, Brown RH Jr, Landers JE. Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **488**, 499–503 (2012).
95. Takahashi Y, Fukuda Y, Yoshimura J, Toyoda A, Kurppa K, Moritoyo H, Belzil VV, Dion PA, Higasa K, Doi K, Ishiura H, Mitsui J, Date H, Ahsan B, Matsukawa T, Ichikawa Y, Moritoyo T, Ikoma M, Hashimoto T, Kimura F, Murayama S, Onodera O, Nishizawa M, Yoshida M, Atsuta N, Sobue G; JaCALS, Fifita JA, Williams KL, Blair IP, Nicholson GA, Gonzalez-Perez P, Brown RH Jr, Nomoto M, Elenius K, Rouleau GA, Fujiyama A, Morishita S, Goto J, Tsuji S. ERBB4 mutations that disrupt the neuregulin-ErbB4 pathway cause amyotrophic lateral sclerosis type 19. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 900–905 (2013).
96. Kim HJ, Kim NC, Wang YD, Scarborough EA, Moore J, Diaz Z, MacLea KS, Freibaum B, Li S, Molliex A, Kanagaraj AP, Carter R, Boylan KB, Wojtas AM, Rademakers R, Pinkus JL, Greenberg SA, Trojanowski JQ, Traynor BJ, Smith BN,

- Topp S, Gkazi AS, Miller J, Shaw CE, Kottlors M, Kirschner J, Pestronk A, Li YR, Ford AF, Gitler AD, Benatar M, King OD, Kimonis VE, Ross ED, Weihl CC, Shorter J, Taylor JP. Mutations in prion-like domains in hnRNPA2B1 and hnRNPA1 cause multisystem proteinopathy and ALS. *Nature* **495**, 467–473 (2013).
97. Johnson JO, Pioro EP, Boehringer A, Chia R, Feit H, Renton AE, Pliner HA, Abramzon Y, Marangi G, Winborn BJ, Gibbs JR, Nalls MA, Morgan S, Shoai M, Hardy J, Pittman A, Orrell RW, Malaspina A, Sidle KC, Fratta P, Harms MB, Baloh RH, Pestronk A, Weihl CC, Rogaeva E, Zinman L, Drory VE, Borghero G, Mora G, Calvo A, Rothstein JD; ITALSGEN, Drepper C, Sendtner M, Singleton AB, Taylor JP, Cookson MR, Restagno G, Sabatelli M, Bowser R, Chiò A, Traynor BJ. Mutations in the Matrin 3 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Neurosci.* **17**, 664–666 (2014).
98. Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp S, Kenna KP, Scotter EL, Kost J, Keagle P, Miller JW, Calini D, Vance C, Danielson EW, Troakes C, Tiloca C, Al-Sarraj S, Lewis EA, King A, Colombrita C, Pensato V, Castellotti B, de Bellerocche J, Baas F, ten Asbroek AL, Sapp PC, McKenna-Yasek D, McLaughlin RL, Polak M, Asress S, Esteban-Pérez J, Muñoz-Blanco JL, Simpson M; SLAGEN Consortium, van Rheenen W, Diekstra FP, Lauria G, Duga S, Corti S, Cereda C,

- Corrado L, Sorarù G, Morrison KE, Williams KL, Nicholson GA, Blair IP, Dion PA, Leblond CS, Rouleau GA, Hardiman O, Veldink JH, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F, García-Redondo A, Wu Z, Glass JD, Gellera C, Ratti A, Brown RH Jr, Silani V, Shaw CE, Landers JE. Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS. *Neuron* **84**, 324–331 (2014).
99. 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, Rademakers R. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* **72**, 245–256 (2011).
100. Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, Schymick JC, Laaksovirta H, van Swieten JC, Myllykangas L, Kalimo H, Paetau A, Abramzon Y, Remes AM, Kaganovich A, Scholz SW, Duckworth J, Ding J, Harmer DW, Hernandez DG, Johnson JO, Mok K, Ryten M, Trabzuni D, Guerreiro RJ, Orrell RW, Neal J, Murray A, Pearson J, Jansen IE, Sondervan D, Seelaar H,

Blake D, Young K, Halliwell N, Callister JB, Toulson G, Richardson A, Gerhard A, Snowden J, Mann D, Neary D, Nalls MA, Peuralinna T, Jansson L, Isoviita VM, Kaivorinne AL, Hölttä-Vuori M, Ikonen E, Sulkava R, Benatar M, Wu J, Chiò A, Restagno G, Borghero G, Sabatelli M; ITALSGEN Consortium, Heckerman D, Rogaeva E, Zinman L, Rothstein JD, Sendtner M, Drepper C, Eichler EE, Alkan C, Abdullaev Z, Pack SD, Dutra A, Pak E, Hardy J, Singleton A, Williams NM, Heutink P, Pickering-Brown S, Morris HR, Tienari PJ, Traynor BJ. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* **72**, 257–268 (2011).

101. Bannwarth S, Ait-El-Mkadem S, Chaussenot A, Genin EC, Lacas-Gervais S, Fragaki K, Berg-Alonso L, Kageyama Y, Serre V, Moore DG, Verschueren A, Rouzier C, Le Ber I, Augé G, Cochaud C, Lespinasse F, N'Guyen K, de Septenville A, Brice A, Yu-Wai-Man P, Sesaki H, Pouget J, Paquis-Flucklinger V. A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through CHCHD10 involvement. *Brain* **137**, 2329–2345 (2014).
102. Fecto F, Yan J, Vemula SP, Liu E, Yang Y, Chen W, Zheng JG, Shi Y, Siddique N, Arrat H, Donkervoort S, Ajroud-Driss S, Sufit RL, Heller SL, Deng HX, Siddique

- T. SQSTM1 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol.* **68**, 1440–1446 (2011).
103. Freischmidt A, Wieland T, Richter B, Ruf W, Schaeffer V, Müller K, Marroquin N, Nordin F, Hübers A, Weydt P, Pinto S, Press R, Millecamps S, Molko N, Bernard E, Desnuelle C, Soriani MH, Dorst J, Graf E, Nordström U, Feiler MS, Putz S, Boeckers TM, Meyer T, Winkler AS, Winkelmann J, de Carvalho M, Thal DR, Otto M, Brännström T, Volk AE, Kursula P, Danzer KM, Lichtner P, Dikic I, Meitinger T, Ludolph AC, Strom TM, Andersen PM, Weishaupt JH. Haploinsufficiency of TBK1 causes familial ALS and fronto-temporal dementia. *Nature Neurosci.* **18**, 631–636 (2015).
104. van Rheenen W, Shatunov A, Dekker AM, McLaughlin RL, Diekstra FP, Pulit SL, van der Spek RA, Vösa U, de Jong S, Robinson MR, Yang J, Fogh I, van Doormaal PT, Tazelaar GH, Koppers M, Blokhuis AM, Sproviero W, Jones AR, Kenna KP, van Eijk KR, Harschnitz O, Schellevis RD, Brands WJ, Medic J, Menelaou A, Vajda A, Ticozzi N, Lin K, Rogelj B, Vrabec K, Ravnik-Glavač M, Koritnik B, Zidar J, Leonardis L, Grošelj LD, Millecamps S, Salachas F, Meininger V, de Carvalho M, Pinto S, Mora JS, Rojas-García R, Polak M, Chandran S, Colville S, Swingler R, Morrison KE, Shaw PJ, Hardy J, Orrell RW, Pittman A, Sidle K, Fratta

P, Malaspina A, Topp S, Petri S, Abdulla S, Drepper C, Sendtner M, Meyer T,
 Ophoff RA, Staats KA, Wiedau-Pazos M, Lomen-Hoerth C, Van Deerlin VM,
 Trojanowski JQ, Elman L, McCluskey L, Basak AN, Tunca C, Hamzeiy H, Parman
 Y, Meitinger T, Lichtner P, Radivojkov-Blagojevic M, Andres CR, Maurel C,
 Bensimon G, Landwehrmeyer B, Brice A, Payan CA, Saker-Delye S, Dürr A, Wood
 NW, Tittmann L, Lieb W, Franke A, Rietschel M, Cichon S, Nöthen MM, Amouyel
 P, Tzourio C, Dartigues JF, Uitterlinden AG, Rivadeneira F, Estrada K, Hofman A,
 Curtis C, Blauw HM, van der Kooi AJ, de Visser M, Goris A, Weber M, Shaw CE,
 Smith BN, Pansarasa O, Cereda C, Del Bo R, Comi GP, D'Alfonso S, Bertolin C,
 Sorarù G, Mazzini L, Pensato V, Gellera C, Tiloca C, Ratti A, Calvo A, Moglia C,
 Brunetti M, Arcuti S, Capozzo R, Zecca C, Lunetta C, Penco S, Riva N, Padovani
 A, Filosto M, Muller B, Stuit RJ; PARALS Registry; SLALOM Group; SLAP
 Registry; FALS Sequencing Consortium; SLAGEN Consortium; NNIPPS Study
 Group, Blair I, Zhang K, McCann EP, Fifita JA, Nicholson GA, Rowe DB,
 Pamphlett R, Kiernan MC, Grosskreutz J, Witte OW, Ringer T, Prell T, Stubendorff
 B, Kurth I, Hübner CA, Leigh PN, Casale F, Chio A, Beghi E, Pupillo E, Tortelli R,
 Logroscino G, Powell J, Ludolph AC, Weishaupt JH, Robberecht W, Van Damme
 P, Franke L, Pers TH, Brown RH, Glass JD, Landers JE, Hardiman O, Andersen

- PM, Corcia P, Vourc'h P, Silani V, Wray NR, Visscher PM, de Bakker PI, van Es MA, Pasterkamp RJ, Lewis CM, Breen G, Al-Chalabi A, van den Berg LH, Veldink JH. Genome-wide association analyses identify new risk variants and the genetic architecture of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **48**, 1043–1048 (2016).
105. Deng M, Wei L, Zuo X, Tian Y, Xie F, Hu P, Zhu C, Yu F, Meng Y, Wang H, Zhang F, Ma H, Ye R, Cheng H, Du J, Dong W, Zhou S, Wang C, Wang Y, Wang J, Chen X, Sun Z, Zhou N, Jiang Y, Liu X, Li X, Zhang N, Liu N, Guan Y, Han Y, Han Y, Lv X, Fu Y, Yu H, Xi C, Xie D, Zhao Q, Xie P, Wang X, Zhang Z, Shen L, Cui Y, Yin X, Cheng H, Liang B, Zheng X, Lee TM, Chen G, Zhou F, Veldink JH, Robberecht W, Landers JE, Andersen PM, Al-Chalabi A, Shaw C, Liu C, Tang B, Xiao S, Robertson J, Zhang F, van den Berg LH, Sun L, Liu J, Yang S, Ju X, Wang K, Zhang X. Genome-wide association analyses in Han Chinese identify two new susceptibility loci for amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genet.* **45**, 697–700 (2013).
106. Williams KL, Topp S, Yang S, Smith B, Fifita JA, Warraich ST, Zhang KY, Farrawell N, Vance C, Hu X, Chesi A, Leblond CS, Lee A, Rayner SL, Sundaramoorthy V, Dobson-Stone C, Molloy MP, van Blitterswijk M, Dickson DW, Petersen RC, Graff-Radford NR, Boeve BF, Murray ME, Pottier C, Don E, Winnick

- C, McCann EP, Hogan A, Daoud H, Levert A, Dion PA, Mitsui J, Ishiura H, Takahashi Y, Goto J, Kost J, Gellera C, Gkazi AS, Miller J, Stockton J, Brooks WS, Boundy K, Polak M, Muñoz-Blanco JL, Esteban-Pérez J, Rábano A, Hardiman O, Morrison KE, Ticozzi N, Silani V, de Belleruche J, Glass JD, Kwok JB, Guillemin GJ, Chung RS, Tsuji S, Brown RH Jr, García-Redondo A, Rademakers R, Landers JE, Gitler AD, Rouleau GA, Cole NJ, Yerbury JJ, Atkin JD, Shaw CE, Nicholson GA, Blair IP. CCNF mutations in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Nat. Commun.* **7**, 11253 (2016).
107. Fogh I, Lin K, Tiloca C, Rooney J, Gellera C, Diekstra FP, Ratti A, Shatunov A, van Es MA, Proitsi P, Jones A, Sproviero W, Chiò A, McLaughlin RL, Sorarù G, Corrado L, Stahl D, Del Bo R, Cereda C, Castellotti B, Glass JD, Newhouse S, Dobson R, Smith BN, Topp S, van Rheenen W, Meininger V, Melki J, Morrison KE, Shaw PJ, Leigh PN, Andersen PM, Comi GP, Ticozzi N, Mazzini L, D'Alfonso S, Traynor BJ, Van Damme P, Robberecht W, Brown RH, Landers JE, Hardiman O, Lewis CM, van den Berg LH, Shaw CE, Veldink JH, Silani V, Al-Chalabi A, Powell J. Association of a Locus in the CAMTA1 Gene With Survival in Patients With Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA Neurol.* **73**, 812–820 (2016).

108. Benyamin B, He J, Zhao Q, Gratten J, Garton F, Leo PJ, Liu Z, Mangelsdorf M, Al-Chalabi A, Anderson L, Butler TJ, Chen L, Chen XD, Cremin K, Deng HW, Devine M, Edson J, Fifita JA, Furlong S, Han YY, Harris J, Henders AK, Jeffree RL, Jin ZB, Li Z, Li T, Li M, Lin Y, Liu X, Marshall M, McCann EP, Mowry BJ, Ngo ST, Pamphlett R, Ran S, Reutens DC, Rowe DB, Sachdev P, Shah S, Song S, Tan LJ, Tang L, van den Berg LH, van Rheenen W, Veldink JH, Wallace RH, Wheeler L, Williams KL, Wu J, Wu X, Yang J, Yue W, Zhang ZH, Zhang D, Noakes PG, Blair IP, Henderson RD, McCombe PA, Visscher PM, Xu H, Bartlett PF, Brown MA, Wray NR, Fan D. Cross-ethnic meta-analysis identifies association of the GPX3-TNIP1 locus with amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Commun.* **8**, 611 (2017).
109. Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson PV, Snaedal J, Bjornsson S, Huttenlocher J, Levey AI, Lah JJ, Rujescu D, Hampel H, Giegling I, Andreassen OA, Engedal K, Ulstein I, Djurovic S, Ibrahim-Verbaas C, Hofman A, Ikram MA, van Duijn CM, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **368**, 107–116 (2013).
110. Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, Cruchaga C, Sassi C, Kauwe JS, Younkin S, Hazrati L, Collinge J, Pocock J, Lashley T,

- Williams J, Lambert JC, Amouyel P, Goate A, Rademakers R, Morgan K, Powell J, St George-Hyslop P, Singleton A, Hardy J; Alzheimer Genetic Analysis Group. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **368**, 117–127 (2013).
111. Sims R, van der Lee SJ, Naj AC, Bellenguez C, Badarinarayan N, Jakobsdottir J, Kunkle BW, Boland A, Raybould R, Bis JC, Martin ER, Grenier-Boley B, Heilmann-Heimbach S, Chouraki V, Kuzma AB, Sleegers K, Vronskaya M, Ruiz A, Graham RR, Olaso R, Hoffmann P, Grove ML, Vardarajan BN, Hiltunen M, Nöthen MM, White CC, Hamilton-Nelson KL, Epelbaum J, Maier W, Choi SH, Beecham GW, Dulary C, Herms S, Smith AV, Funk CC, Derbois C, Forstner AJ, Ahmad S, Li H, Bacq D, Harold D, Satizabal CL, Valladares O, Squassina A, Thomas R, Brody JA, Qu L, Sánchez-Juan P, Morgan T, Wolters FJ, Zhao Y, Garcia FS, Denning N, Fornage M, Malamon J, Naranjo MCD, Majounie E, Mosley TH, Dombroski B, Wallon D, Lupton MK, Dupuis J, Whitehead P, Fratiglioni L, Medway C, Jian X, Mukherjee S, Keller L, Brown K, Lin H, Cantwell LB, Panza F, McGuinness B, Moreno-Grau S, Burgess JD, Solfrizzi V, Proitsi P, Adams HH, Allen M, Seripa D, Pastor P, Cupples LA, Price ND, Hannequin D, Frank-García A, Levy D, Chakrabarty P, Caffarra P, Giegling I, Beiser AS, Giedraitis V, Hampel H, Garcia ME, Wang X, Lannfelt L, Mecocci P, Eiriksdottir G, Crane PK, Pasquier

F, Boccardi V, Henández I, Barber RC, Scherer M, Tarraga L, Adams PM, Leber M, Chen Y, Albert MS, Riedel-Heller S, Emilsson V, Beekly D, Braae A, Schmidt R, Blacker D, Masullo C, Schmidt H, Doody RS, Spalletta G, Longstreth WT Jr, Fairchild TJ, Bossù P, Lopez OL, Frosch MP, Sacchinelli E, Ghetti B, Yang Q, Huebinger RM, Jessen F, Li S, Kamboh MI, Morris J, Sotolongo-Grau O, Katz MJ, Corcoran C, Dunstan M, Braddel A, Thomas C, Meggy A, Marshall R, Gerrish A, Chapman J, Aguilar M, Taylor S, Hill M, Fairén MD, Hodges A, Vellas B, Soininen H, Kloszewska I, Daniilidou M, Uphill J, Patel Y, Hughes JT, Lord J, Turton J, Hartmann AM, Cecchetti R, Fenoglio C, Serpente M, Arcaro M, Caltagirone C, Orfei MD, Ciaramella A, Pichler S, Mayhaus M, Gu W, Lleó A, Fortea J, Blesa R, Barber IS, Brookes K, Cupidi C, Maletta RG, Carrell D, Sorbi S, Moebus S, Urbano M, Pilotto A, Kornhuber J, Bosco P, Todd S, Craig D, Johnston J, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Fox NC, Hardy J; ARUK Consortium, Albin RL, Apostolova LG, Arnold SE, Asthana S, Atwood CS, Baldwin CT, Barnes LL, Barral S, Beach TG, Becker JT, Bigio EH, Bird TD, Boeve BF, Bowen JD, Boxer A, Burke JR, Burns JM, Buxbaum JD, Cairns NJ, Cao C, Carlson CS, Carlsson CM, Carney RM, Carrasquillo MM, Carroll SL, Diaz CC, Chui HC, Clark DG, Cribbs DH, Crocco EA, DeCarli C, Dick M, Duara R, Evans DA, Faber KM, Fallon KB, Fardo DW,

Farlow MR, Ferris S, Foroud TM, Galasko DR, Gearing M, Geschwind DH, Gilbert JR, Graff-Radford NR, Green RC, Growdon JH, Hamilton RL, Harrell LE, Honig LS, Huentelman MJ, Hulette CM, Hyman BT, Jarvik GP, Abner E, Jin LW, Jun G, Karydas A, Kaye JA, Kim R, Kowall NW, Kramer JH, LaFerla FM, Lah JJ, Leverenz JB, Levey AI, Li G, Lieberman AP, Lunetta KL, Lyketsos CG, Marson DC, Martiniuk F, Mash DC, Masliah E, McCormick WC, McCurry SM, McDavid AN, McKee AC, Mesulam M, Miller BL, Miller CA, Miller JW, Morris JC, Murrell JR, Myers AJ, O'Bryant S, Olichney JM, Pankratz VS, Parisi JE, Paulson HL, Perry W, Peskind E, Pierce A, Poon WW, Potter H, Quinn JF, Raj A, Raskind M, Reisberg B, Reitz C, Ringman JM, Roberson ED, Rogaeva E, Rosen HJ, Rosenberg RN, Sager MA, Saykin AJ, Schneider JA, Schneider LS, Seeley WW, Smith AG, Sonnen JA, Spina S, Stern RA, Swerdlow RH, Tanzi RE, Thornton-Wells TA, Trojanowski JQ, Troncoso JC, Van Deerlin VM, Van Eldik LJ, Vinters HV, Vonsattel JP, Weintraub S, Welsh-Bohmer KA, Wilhelmsen KC, Williamson J, Wingo TS, Woltjer RL, Wright CB, Yu CE, Yu L, Garzia F, Golamaully F, Septier G, Engelborghs S, Vandenberghe R, De Deyn PP, Fernandez CM, Benito YA, Thonberg H, Forsell C, Lilius L, Kinhult-Ståhlbom A, Kilander L, Brundin R, Concari L, Helisalmi S, Koivisto AM, Haapasalo A, Dermecourt V, Fievet N,

Hanon O, Dufouil C, Brice A, Ritchie K, Dubois B, Himali JJ, Keene CD, Tschanz J, Fitzpatrick AL, Kukull WA, Norton M, Aspelund T, Larson EB, Munger R, Rotter JI, Lipton RB, Bullido MJ, Hofman A, Montine TJ, Coto E, Boerwinkle E, Petersen RC, Alvarez V, Rivadeneira F, Reiman EM, Gallo M, O'Donnell CJ, Reisch JS, Bruni AC, Royall DR, Dichgans M, Sano M, Galimberti D, St George-Hyslop P, Scarpini E, Tsuang DW, Mancuso M, Bonuccelli U, Winslow AR, Daniele A, Wu CK; GERAD/PERADES, CHARGE, ADGC, EADI, Peters O, Nacmias B, Riemenschneider M, Heun R, Brayne C, Rubinsztein DC, Bras J, Guerreiro R, Al-Chalabi A, Shaw CE, Collinge J, Mann D, Tsolaki M, Clarimón J, Sussams R, Lovestone S, O'Donovan MC, Owen MJ, Behrens TW, Mead S, Goate AM, Uitterlinden AG, Holmes C, Cruchaga C, Ingelsson M, Bennett DA, Powell J, Golde TE, Graff C, De Jager PL, Morgan K, Ertekin-Taner N, Combarros O, Psaty BM, Passmore P, Younkin SG, Berr C, Gudnason V, Rujescu D, Dickson DW, Dartigues JF, DeStefano AL, Ortega-Cubero S, Hakonarson H, Campion D, Boada M, Kauwe JK, Farrer LA, Van Broeckhoven C, Ikram MA, Jones L, Haines JL, Tzourio C, Launer LJ, Escott-Price V, Mayeux R, Deleuze JF, Amin N, Holmans PA, Pericak-Vance MA, Amouyel P, van Duijn CM, Ramirez A, Wang LS, Lambert JC, Seshadri S, Williams J, Schellenberg GD. Rare coding variants in PLCG2, ABI3,

and TREM2 implicate microglial-mediated innate immunity in Alzheimer's disease.

Nature Genet. **49**, 1373–1384 (2017).

112. Carrasquillo MM, Zou F, Pankratz VS, Wilcox SL, Ma L, Walker LP, Younkin SG, Younkin CS, Younkin LH, Bisceglia GD, Ertekin-Taner N, Crook JE, Dickson DW, Petersen RC, Graff-Radford NR, Younkin SG. Genetic variation in PCDH11X is associated with susceptibility to late-onset Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **41**, 192–198 (2009).
113. Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, Zelenika D, Bullido MJ, Tavernier B, Letenneur L, Bettens K, Berr C, Pasquier F, Fiévet N, Barberger-Gateau P, Engelborghs S, De Deyn P, Mateo I, Franck A, Helisalmi S, Porcellini E, Hanon O; European Alzheimer's Disease Initiative Investigators, de Pancorbo MM, Lendon C, Dufouil C, Jaillard C, Leveillard T, Alvarez V, Bosco P, Mancuso M, Panza F, Nacmias B, Bossù P, Piccardi P, Annoni G, Seripa D, Galimberti D, Hannequin D, Licastro F, Soininen H, Ritchie K, Blanché H, Dartigues JF, Tzourio C, Gut I, Van Broeckhoven C, Alperovitch A, Lathrop M, Amouyel P. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **41**, 1094–1099 (2009).

114. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, Naj AC, Sims R, Bellenguez C, DeStafano AL, Bis JC, Beecham GW, Grenier-Boley B, Russo G, Thorton-Wells TA, Jones N, Smith AV, Chouraki V, Thomas C, Ikram MA, Zelenika D, Vardarajan BN, Kamatani Y, Lin CF, Gerrish A, Schmidt H, Kunkle B, Dunstan ML, Ruiz A, Bihoreau MT, Choi SH, Reitz C, Pasquier F, Cruchaga C, Craig D, Amin N, Berr C, Lopez OL, De Jager PL, Deramecourt V, Johnston JA, Evans D, Lovestone S, Letenneur L, Morón FJ, Rubinsztein DC, Eiriksdottir G, Sleegers K, Goate AM, Fiévet N, Huentelman MW, Gill M, Brown K, Kamboh MI, Keller L, Barberger-Gateau P, McGuinness B, Larson EB, Green R, Myers AJ, Dufouil C, Todd S, Wallon D, Love S, Rogaeva E, Gallacher J, St George-Hyslop P, Clarimon J, Lleo A, Bayer A, Tsuang DW, Yu L, Tsolaki M, Bossù P, Spalletta G, Proitsi P, Collinge J, Sorbi S, Sanchez-Garcia F, Fox NC, Hardy J, Deniz Naranjo MC, Bosco P, Clarke R, Brayne C, Galimberti D, Mancuso M, Matthews F; European Alzheimer's Disease Initiative (EADI); Genetic and Environmental Risk in Alzheimer's Disease; Alzheimer's Disease Genetic Consortium; Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology, Moebus S, Mecocci P, Del Zompo M, Maier W, Hampel H, Pilotto A, Bullido M, Panza F, Caffarra P, Nacmias B, Gilbert JR, Mayhaus M, Lannefelt L, Hakonarson H, Pichler S, Carrasquillo MM, Ingelsson M, Beekly D,

Alvarez V, Zou F, Valladares O, Younkin SG, Coto E, Hamilton-Nelson KL, Gu W, Razquin C, Pastor P, Mateo I, Owen MJ, Faber KM, Jonsson PV, Combarros O, O'Donovan MC, Cantwell LB, Soininen H, Blacker D, Mead S, Mosley TH Jr, Bennett DA, Harris TB, Fratiglioni L, Holmes C, de Bruijn RF, Passmore P, Montine TJ, Bettens K, Rotter JJ, Brice A, Morgan K, Foroud TM, Kukull WA, Hannequin D, Powell JF, Nalls MA, Ritchie K, Lunetta KL, Kauwe JS, Boerwinkle E, Riemenschneider M, Boada M, Hiltunen M, Martin ER, Schmidt R, Rujescu D, Wang LS, Dartigues JF, Mayeux R, Tzourio C, Hofman A, Nöthen MM, Graff C, Psaty BM, Jones L, Haines JL, Holmans PA, Lathrop M, Pericak-Vance MA, Launer LJ, Farrer LA, van Duijn CM, Van Broeckhoven C, Moskvina V, Seshadri S, Williams J, Schellenberg GD, Amouyel P. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **45**, 1452–1458 (2013).

115. Naj AC, Jun G, Beecham GW, Wang LS, Vardarajan BN, Buross J, Gallins PJ, Buxbaum JD, Jarvik GP, Crane PK, Larson EB, Bird TD, Boeve BF, Graff-Radford NR, De Jager PL, Evans D, Schneider JA, Carrasquillo MM, Ertekin-Taner N, Younkin SG, Cruchaga C, Kauwe JS, Nowotny P, Kramer P, Hardy J, Huentelman MJ, Myers AJ, Barmada MM, Demirci FY, Baldwin CT, Green RC, Rogaeva E, St

George-Hyslop P, Arnold SE, Barber R, Beach T, Bigio EH, Bowen JD, Boxer A, Burke JR, Cairns NJ, Carlson CS, Carney RM, Carroll SL, Chui HC, Clark DG, Corneveaux J, Cotman CW, Cummings JL, DeCarli C, DeKosky ST, Diaz-Arrastia R, Dick M, Dickson DW, Ellis WG, Faber KM, Fallon KB, Farlow MR, Ferris S, Frosch MP, Galasko DR, Ganguli M, Gearing M, Geschwind DH, Ghetti B, Gilbert JR, Gilman S, Giordani B, Glass JD, Growdon JH, Hamilton RL, Harrell LE, Head E, Honig LS, Hulette CM, Hyman BT, Jicha GA, Jin LW, Johnson N, Karlawish J, Karydas A, Kaye JA, Kim R, Koo EH, Kowall NW, Lah JJ, Levey AI, Lieberman AP, Lopez OL, Mack WJ, Marson DC, Martiniuk F, Mash DC, Masliah E, McCormick WC, McCurry SM, McDavid AN, McKee AC, Mesulam M, Miller BL, Miller CA, Miller JW, Parisi JE, Perl DP, Peskind E, Petersen RC, Poon WW, Quinn JF, Rajbhandary RA, Raskind M, Reisberg B, Ringman JM, Roberson ED, Rosenberg RN, Sano M, Schneider LS, Seeley W, Shelanski ML, Slifer MA, Smith CD, Sonnen JA, Spina S, Stern RA, Tanzi RE, Trojanowski JQ, Troncoso JC, Van Deerlin VM, Vinters HV, Vonsattel JP, Weintraub S, Welsh-Bohmer KA, Williamson J, Woltjer RL, Cantwell LB, Dombroski BA, Beekly D, Lunetta KL, Martin ER, Kamboh MI, Saykin AJ, Reiman EM, Bennett DA, Morris JC, Montine TJ, Goate AM, Blacker D, Tsuang DW, Hakonarson H, Kukull WA, Foroud TM,

Haines JL, Mayeux R, Pericak-Vance MA, Farrer LA, Schellenberg GD. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **43**, 436–441 (2011).

116. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, Dowzell K, Williams A, Jones N, Thomas C, Stretton A, Morgan AR, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Morgan K, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C, Mann D, Smith AD, Love S, Kehoe PG, Hardy J, Mead S, Fox N, Rossor M, Collinge J, Maier W, Jessen F, Schürmann B, Heun R, van den Bussche H, Heuser I, Kornhuber J, Wiltfang J, Dichgans M, Frölich L, Hampel H, Hüll M, Rujescu D, Goate AM, Kauwe JS, Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC, Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C, Livingston G, Bass NJ, Gurling H, McQuillin A, Gwilliam R, Deloukas P, Al-Chalabi A, Shaw CE, Tsolaki M, Singleton AB, Guerreiro R, Mühleisen TW, Nöthen MM, Moebus S, Jöckel KH, Klopp N, Wichmann HE, Carrasquillo MM, Pankratz VS, Yunkin SG, Holmans PA, O'Donovan M, Owen MJ, Williams J. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **41**, 1088–1093 (2009).

117. Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, DeStefano AL, Gudnason V, Boada M, Bis JC, Smith AV, Carassquillo MM, Lambert JC, Harold D, Schrijvers EM, Ramirez-Lorca R, Debette S, Longstreth WT Jr, Janssens AC, Pankratz VS, Dartigues JF, Hollingworth P, Aspelund T, Hernandez I, Beiser A, Kuller LH, Koudstaal PJ, Dickson DW, Tzourio C, Abraham R, Antunez C, Du Y, Rotter JI, Aulchenko YS, Harris TB, Petersen RC, Berr C, Owen MJ, Lopez-Arrieta J, Varadarajan BN, Becker JT, Rivadeneira F, Nalls MA, Graff-Radford NR, Campion D, Auerbach S, Rice K, Hofman A, Jonsson PV, Schmidt H, Lathrop M, Mosley TH, Au R, Psaty BM, Uitterlinden AG, Farrer LA, Lumley T, Ruiz A, Williams J, Amouyel P, Younkin SG, Wolf PA, Launer LJ, Lopez OL, van Duijn CM, Breteler MM; CHARGE Consortium; GERAD1 Consortium; EADI1 Consortium. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA* **303**, 1832–1840 (2010).
118. Hollingworth P, Harold D, Sims R, Gerrish A, Lambert JC, Carrasquillo MM, Abraham R, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, Dowzell K, Jones N, Stretton A, Thomas C, Richards A, Ivanov D, Widdowson C, Chapman J, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C,

Mann D, Smith AD, Beaumont H, Warden D, Wilcock G, Love S, Kehoe PG,
 Hooper NM, Vardy ER, Hardy J, Mead S, Fox NC, Rossor M, Collinge J, Maier W,
 Jessen F, Rütther E, Schürmann B, Heun R, Kölsch H, van den Bussche H, Heuser
 I, Kornhuber J, Wiltfang J, Dichgans M, Frölich L, Hampel H, Gallacher J, Hüll M,
 Rujescu D, Giegling I, Goate AM, Kauwe JS, Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC,
 Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C,
 Livingston G, Bass NJ, Gurling H, McQuillin A, Gwilliam R, Deloukas P, Al-
 Chalabi A, Shaw CE, Tsolaki M, Singleton AB, Guerreiro R, Mühleisen TW,
 Nöthen MM, Moebus S, Jöckel KH, Klopp N, Wichmann HE, Pankratz VS, Sando
 SB, Aasly JO, Barcikowska M, Wszolek ZK, Dickson DW, Graff-Radford NR,
 Petersen RC; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, van Duijn CM, Breteler
 MM, Ikram MA, DeStefano AL, Fitzpatrick AL, Lopez O, Launer LJ, Seshadri S;
 CHARGE consortium, Berr C, Campion D, Epelbaum J, Dartigues JF, Tzourio C,
 Alperovitch A, Lathrop M; EADI1 consortium, Feulner TM, Friedrich P, Riehle C,
 Krawczak M, Schreiber S, Mayhaus M, Nicolhaus S, Wagenpfeil S, Steinberg S,
 Stefansson H, Stefansson K, Snaedal J, Björnsson S, Jonsson PV, Chouraki V,
 Genier-Boley B, Hiltunen M, Soininen H, Combarros O, Zelenika D, Delepine M,
 Bullido MJ, Pasquier F, Mateo I, Frank-Garcia A, Porcellini E, Hanon O, Coto E,

- Alvarez V, Bosco P, Siciliano G, Mancuso M, Panza F, Solfrizzi V, Nacmias B, Sorbi S, Bossù P, Piccardi P, Arosio B, Annoni G, Seripa D, Pilotto A, Scarpini E, Galimberti D, Brice A, Hannequin D, Licastro F, Jones L, Holmans PA, Jonsson T, Riemenschneider M, Morgan K, Younkin SG, Owen MJ, O'Donovan M, Amouyel P, Williams J. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nature Genet.* **43**, 429–435 (2011).
119. Reitz C, Jun G, Naj A, Rajbhandary R, Vardarajan BN, Wang LS, Valladares O, Lin CF, Larson EB, Graff-Radford NR, Evans D, De Jager PL, Crane PK, Buxbaum JD, Murrell JR, Raj T, Ertekin-Taner N, Logue M, Baldwin CT, Green RC, Barnes LL, Cantwell LB, Fallin MD, Go RC, Griffith P, Obisesan TO, Manly JJ, Lunetta KL, Kamboh MI, Lopez OL, Bennett DA, Hendrie H, Hall KS, Goate AM, Byrd GS, Kukull WA, Foroud TM, Haines JL, Farrer LA, Pericak-Vance MA, Schellenberg GD, Mayeux R; Alzheimer Disease Genetics Consortium. Variants in the ATP-binding cassette transporter (ABCA7), apolipoprotein E 4, and the risk of late-onset Alzheimer disease in African Americans. *JAMA* **309**, 1483–1492 (2013).
120. Cruchaga C, Karch CM, Jin SC, Benitez BA, Cai Y, Guerreiro R, Harari O, Norton J, Budde J, Bertelsen S, Jeng AT, Cooper B, Skorupa T, Carrell D, Levitch D, Hsu

S, Choi J, Ryten M, Sassi C, Bras J, Gibbs RJ, Hernandez DG, Lupton MK, Powell J, Forabosco P, Ridge PG, Corcoran CD, Tschanz JT, Norton MC, Munger RG, Schmutz C, Leary M, Demirci FY, Bamne MN, Wang X, Lopez OL, Ganguli M, Medway C, Turton J, Lord J, Braae A, Barber I, Brown K; Alzheimer's Research UK (ARUK) Consortium, Pastor P, Lorenzo-Betancor O, Brkanac Z, Scott E, Topol E, Morgan K, Rogaeva E, Singleton A, Hardy J, Kamboh MI, George-Hyslop PS, Cairns N, Morris JC, Kauwe JSK, Goate AM. Rare coding variants in the phospholipase D3 gene confer risk for Alzheimer's disease. *Nature* **505**, 550–554 (2014).

121. Li T, Wernersson R, Hansen RB, Horn H, Mercer J, Slodkiewicz G, Workman CT, Rigina O, Rapacki K, Stærfeldt HH, Brunak S, Jensen TS, Lage K. A scored human protein-protein interaction network to catalyze genomic interpretation. *Nature Methods*. **14**, 61–64 (2017).
122. Wu J, Vallenius T, Ovaska K, Westermarck J, Mäkelä TP, Hautaniemi S. Integrated network analysis platform for protein-protein interactions. *Nature Methods*. **6**, 75–77 (2009).

123. Cowley MJ, Pinese M, Kassahn KS, Waddell N, Pearson JV, Grimmond SM, Biankin AV, Hautaniemi S, Wu J. PINA v2.0: mining interactome modules. *Nucleic Acids Res.* **40**, D862–D865 (2012).
124. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, Sajed T, Johnson D, Li C, Sayeeda Z, Assempour N, Iynkkaran I, Liu Y, Maciejewski A, Gale N, Wilson A, Chin L, Cummings R, Le D, Pon A, Knox C, Wilson M. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Res.* **46**, D1074–D1082 (2018).
125. Wu L, Feng X, Li T, Sun B, Khan MZ, He L. Risperidone ameliorated Abeta(1-42)-induced cognitive and hippocampal synaptic impairments in mice. *Behav. Brain Res.* **322**, 145–156 (2017).
126. Yan B, Bi X, He J, Zhang Y, Thakur S, Xu H, Gendron A, Kong J, Li XM. Quetiapine attenuates spatial memory impairment and hippocampal neurodegeneration induced by bilateral common carotid artery occlusion in mice. *Life Sci.* **81**, 353–361 (2007).
127. He J, Xu H, Yang Y, Zhang X, Li XM. Neuroprotective effects of olanzapine on methamphetamine-induced neurotoxicity are associated with an inhibition of

- hyperthermia and prevention of Bcl-2 decrease in rats. *Brain Res.* **1018**, 186–192 (2004).
128. Lu Y, Zhang P, Zhang Q, Yang C, Qian Y, Suo J, Tao X, Zhu J. Duloxetine Attenuates Paclitaxel-Induced Peripheral Nerve Injury by Inhibiting p53-Related Pathways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **373**, 453–462 (2020).
 129. Zepeda R, Contreras V, Pissani C, Stack K, Vargas M, Owen GI, Lazo OM, Bronfman FC. Venlafaxine treatment after endothelin-1-induced cortical stroke modulates growth factor expression and reduces tissue damage in rats. *Neuropharmacology* **107**, 131–145 (2016).
 130. Shetty S, Hariharan A, Shirole T, Jagtap AG. Neuroprotective potential of escitalopram against behavioral, mitochondrial and oxidative dysfunction induced by 3-nitropropionic acid. *Ann. Neurosci.* **22**, 11–18 (2015).
 131. Taler M, Miron O, Gil-Ad I, Weizman A. Neuroprotective and procognitive effects of sertraline: in vitro and in vivo studies. *Neurosci. Lett.* **550**, 93–97 (2013).
 132. Shadfar S, Kim YG, Katila N, Neupane S, Ojha U, Bhurtel S, Srivastav S, Jeong GS, Park PH, Hong JT, Choi DY. Neuroprotective Effects of Antidepressants via Upregulation of Neurotrophic Factors in the MPTP Model of Parkinson's Disease. *Mol. Neurobiol.* **55**, 554–566 (2018).

133. Salzman SK, Kelly G, Chavin J, Wang L, Puniak MA, Agresta CA, Azim S. Characterization of mianserin neuroprotection in experimental spinal trauma: dose/route response and late treatment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **269**, 322–328 (1994).
134. Jang SW, Liu X, Chan CB, Weinshenker D, Hall RA, Xiao G, Ye K. Amitriptyline is a TrkA and TrkB receptor agonist that promotes TrkA/TrkB heterodimerization and has potent neurotrophic activity. *Chem. Biol.* **16**, 644–656 (2009).
135. Zhang TL, Fu JL, Geng Z, Yang JJ, Sun XJ. The neuroprotective effect of losartan through inhibiting AT1/ASK1/MKK4/JNK3 pathway following cerebral I/R in rat hippocampal CA1 region. *CNS Neurosci. Ther.* **18**, 981–987 (2012).
136. Wakai T, Yoshioka H, Yagi T, Kato T, Kinouchi H. Effects of valsartan on neuroprotection and neurogenesis after ischemia. *NeuroReport* **22**, 385–390 (2011).
137. Güler A, Sahin MA, Ucak A, Onan B, Inan K, Oztaş E, Arslan S, Uysal B, Demirkiliç U, Tatar H. Protective effects of angiotensin II type-1 receptor blockade with olmesartan on spinal cord ischemia-reperfusion injury: an experimental study on rats. *Ann. Vasc. Surg.* **24**, 801–808 (2010).

138. Davidson EP, Coppey LJ, Shevalye H, Obrosova A, Yorek MA. Vascular and Neural Complications in Type 2 Diabetic Rats: Improvement by Sacubitril/Valsartan Greater Than Valsartan Alone. *Diabetes* **67**, 1616–1626 (2018).
139. Li Y, Bader M, Tamargo I, Rubovitch V, Tweedie D, Pick CG, Greig NH. Liraglutide is neurotrophic and neuroprotective in neuronal cultures and mitigates mild traumatic brain injury in mice. *J. Neurochem.* **135**, 1203–1217 (2015).
140. Wiciński M, Socha M, Malinowski B, Wódkiewicz E, Walczak M, Górski K, Słupski M, Pawlak-Osińska K. Liraglutide and its Neuroprotective Properties-Focus on Possible Biochemical Mechanisms in Alzheimer's Disease and Cerebral Ischemic Events. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1050 (2019).
141. Zhang L, Zhang L, Li L, Hölscher C. Semaglutide is Neuroprotective and Reduces alpha-Synuclein Levels in the Chronic MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. *J. Parkinsons Dis.* **9**, 157–171 (2019).
142. Pagan FL, Hebron ML, Wilmarth B, Torres-Yaghi Y, Lawler A, Mundel EE, Yusuf N, Starr NJ, Anjum M, Arellano J, Howard HH, Shi W, Mulki S, Kurd-Misto T, Matar S, Liu X, Ahn J, Moussa C. Nilotinib Effects on Safety, Tolerability, and Potential Biomarkers in Parkinson Disease: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* **77**, 309–317 (2020).

143. Imamura K, Izumi Y, Watanabe A, Tsukita K, Woltjen K, Yamamoto T, Hotta A, Kondo T, Kitaoka S, Ohta A, Tanaka A, Watanabe D, Morita M, Takuma H, Tamaoka A, Kunath T, Wray S, Furuya H, Era T, Makioka K, Okamoto K, Fujisawa T, Nishitoh H, Homma K, Ichijo H, Julien JP, Obata N, Hosokawa M, Akiyama H, Kaneko S, Ayaki T, Ito H, Kaji R, Takahashi R, Yamanaka S, Inoue H. The Src/c-Abl pathway is a potential therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis. *Sci. Transl. Med.* **9**, eaaf3962 (2017).
144. Katsumata R, Ishigaki S, Katsuno M, Kawai K, Sone J, Huang Z, Adachi H, Tanaka F, Urano F, Sobue G. c-Abl inhibition delays motor neuron degeneration in the G93A mouse, an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* **7**, e46185 (2012).
145. Pfister LA, Tureen JH, Shaw S, Christen S, Ferriero DM, Täuber MG, Leib SL. Endothelin inhibition improves cerebral blood flow and is neuroprotective in pneumococcal meningitis. *Ann. Neurol.* **47**, 329–335 (2000).
146. Howell GR, MacNicol KH, Braine CE, Soto I, Macalinao DG, Sousa GL, John SW. Combinatorial targeting of early pathways profoundly inhibits neurodegeneration in a mouse model of glaucoma. *Neurobiol. Dis.* **71**, 44–52 (2014).

147. Zameer S, Kaundal M, Vohora D, Ali J, Kalam Najmi A, Akhtar M. Ameliorative effect of alendronate against intracerebroventricular streptozotocin induced alteration in neurobehavioral, neuroinflammation and biochemical parameters with emphasis on Abeta and BACE-1. *Neurotoxicology* **70**, 122–134 (2019).
148. Li K, Li W, Yin H, Cheong YK, Ren G, Yang Z. Pretreatment-Etidronate Alleviates CoCl₂ Induced-SH-SY5Y Cell Apoptosis via Decreased HIF-1 α and TRPC5 Channel Proteins. *Neurochem. Res.* **44**, 428–440 (2019).
149. Roghani M, Behzadi G. Neuroprotective effect of vitamin E on the early model of Parkinson's disease in rat: behavioral and histochemical evidence. *Brain Res.* **892**, 211–217 (2001).
150. Akamatsu M, Yamashita T, Hirose N, Teramoto S, Kwak S. The AMPA receptor antagonist perampanel robustly rescues amyotrophic lateral sclerosis (ALS) pathology in sporadic ALS model mice. *Sci. Rep.* **6**, 28649 (2016).
151. Yamashita T, Kwak S. Cell death cascade and molecular therapy in ADAR2-deficient motor neurons of ALS. *Neurosci. Res.* **144**, 4–13 (2019).
152. Imamura K, Izumi Y, Banno H, Uozumi R, Morita S, Egawa N, Ayaki T, Nagai M, Nishiyama K, Watanabe Y, Hanajima R, Oki R, Fujita K, Takahashi N, Ikeda T, Shimizu A, Morinaga A, Hirohashi T, Fujii Y, Takahashi R, Inoue H. Induced

pluripotent stem cell-based Drug Repurposing for Amyotrophic lateral sclerosis Medicine (iDReAM) study: protocol for a phase I dose escalation study of bosutinib for amyotrophic lateral sclerosis patients. *BMJ Open* **9**, e033131 (2019).

153. Wobst HJ, Mack KL, Brown DG, Brandon NJ, Shorter J. The clinical trial landscape in amyotrophic lateral sclerosis-Past, present, and future. *Med. Res. Rev.* **40**, 1352–1384 (2020).
154. Ciriza I, Carrero P, Azcoitia I, Lundeen SG, Garcia-Segura LM. Selective estrogen receptor modulators protect hippocampal neurons from kainic acid excitotoxicity: differences with the effect of estradiol. *J. Neurobiol.* **61**, 209–221 (2004).
155. Jover-Mengual T, Castelló-Ruiz M, Burguete MC, Jorques M, López-Morales MA, Aliena-Valero A, Jurado-Rodríguez A, Pérez S, Centeno JM, Miranda FJ, Alborch E, Torregrosa G, Salom JB. Molecular mechanisms mediating the neuroprotective role of the selective estrogen receptor modulator, bazedoxifene, in acute ischemic stroke: A comparative study with 17 β -estradiol. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **171**, 296–304 (2017).
156. Montero Domínguez M, González B, Zimmer J. Neuroprotective effects of the anti-inflammatory compound triflusal on ischemia-like neurodegeneration in mouse

- hippocampal slice cultures occur independent of microglia. *Exp. Neurol.* **218**, 11–23 (2009).
157. Echeverria V, Burgess S, Gamble-George J, Zeitlin R, Lin X, Cao C, Arendash GW. Sorafenib inhibits nuclear factor kappa B, decreases inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression, and restores working memory in APPswe mice. *Neuroscience* **162**, 1220–1231 (2009).
 158. Cui W, Zhang ZJ, Hu SQ, Mak SH, Xu DP, Choi CL, Wang YQ, Tsim WK, Lee MY, Rong JH, Han YF. Sunitinib produces neuroprotective effect via inhibiting nitric oxide overproduction. *CNS Neurosci. Ther.* **20**, 244–252 (2014).
 159. Wrasidlo W, Crews LA, Tsigelny IF, Stocking E, Kouznetsova VL, Price D, Paulino A, Gonzales T, Overk CR, Patrick C, Rockenstein E, Masliah E. Neuroprotective effects of the anti-cancer drug sunitinib in models of HIV neurotoxicity suggests potential for the treatment of neurodegenerative disorders. *Br. J. Pharmacol.* **171**, 5757–5773 (2014).
 160. Pratap R, Pillai KK, Khanam R, Islam F, Ahmad SJ, Akhtar M. Protective effect of irbesartan, an angiotensin II receptor antagonist, alone and in combination with aspirin on middle cerebral artery occlusion model of focal cerebral ischemia in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* **30**, 354–362 (2011).

161. Gómez-Isla T, Blesa R, Boada M, Clarimón J, Del Ser T, Domenech G, Ferro JM, Gómez-Ansón B, Manubens JM, Martínez-Lage JM, Muñoz D, Peña-Casanova J, Torres F; TRIMCI Study Group. A randomized, double-blind, placebo controlled-trial of triflusal in mild cognitive impairment: the TRIMCI study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **22**, 21–29 (2008).
162. Bauzon J, Lee G, Cummings J. Repurposed agents in the Alzheimer's disease drug development pipeline. *Alzheimers Res. Ther.* **12**, 98 (2020).
163. Appleby BS, Nacopoulos D, Milano N, Zhong K, Cummings JL. A review: treatment of Alzheimer's disease discovered in repurposed agents. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **35**, 1–22 (2013).
164. Tang SS, Hong H, Chen L, Mei ZL, Ji MJ, Xiang GQ, Li N, Ji H. Involvement of cysteinyl leukotriene receptor 1 in Abeta1-42-induced neurotoxicity in vitro and in vivo. *Neurobiol. Aging.* **35**, 590–599 (2014).
165. Prade E, Barucker C, Sarkar R, Althoff-Ospelt G, Lopez del Amo JM, Hossain S, Zhong Y, Multhaup G, Reif B. Sulindac Sulfide Induces the Formation of Large Oligomeric Aggregates of the Alzheimer's Disease Amyloid-beta Peptide Which Exhibit Reduced Neurotoxicity. *Biochemistry* **55**, 1839–1849 (2016).

166. Lonskaya I, Hebron ML, Selby ST, Turner RS, Moussa CE. Nilotinib and bosutinib modulate pre-plaque alterations of blood immune markers and neuro-inflammation in Alzheimer's disease models. *Neuroscience* **304**, 316–327 (2015).
167. Han KM, Kang RJ, Jeon H, Lee HJ, Lee JS, Park H, Gak Jeon S, Suk K, Seo J, Hoe HS. Regorafenib Regulates AD Pathology, Neuroinflammation, and Dendritic Spinogenesis in Cells and a Mouse Model of AD. *Cells* **9**, 1655 (2020).
168. Haile WB, Gavegnano C, Tao S, Jiang Y, Schinazi RF, Tyor WR. The Janus kinase inhibitor ruxolitinib reduces HIV replication in human macrophages and ameliorates HIV encephalitis in a murine model. *Neurobiol. Dis.* **92**, 137–143 (2016).
169. Wang H, Feng X, Han P, Lei Y, Xia Y, Tian D, Yan W. The JAK inhibitor tofacitinib ameliorates immune-mediated liver injury in mice. *Mol. Med. Rep.* **20**, 4883–4892 (2019).
170. Collotta D, Hull W, Mastrocola R, Chiazza F, Cento AS, Murphy C, Verta R, Alves GF, Gaudio G, Fava F, Yaqoob M, Aragno M, Tuohy K, Thiemermann C, Collino M. Baricitinib counteracts metaflammation, thus protecting against diet-induced metabolic abnormalities in mice. *Mol. Metab.* **39**, 101009 (2020).

171. Kim HY, Kim MS, Kim SH, Joen D, Lee K. Protective Effects of Nintedanib against Polyhexamethylene Guanidine Phosphate-Induced Lung Fibrosis in Mice. *Molecules* **23**, 1974 (2018).
172. Tian J, Guo S, Chen H, Peng JJ, Jia MM, Li NS, Zhang XJ, Yang J, Luo XJ, Peng J. Combination of Emricasan with Ponatinib Synergistically Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Brain Through Simultaneous Prevention of Apoptosis and Necroptosis. *Transl. Stroke. Res.* **9**, 382–392 (2018).
173. Pamuk ON, Lapchak PH, Rani P, Pine P, Dalle Lucca JJ, Tsokos GC. Spleen tyrosine kinase inhibition prevents tissue damage after ischemia-reperfusion. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **299**, G391–G399 (2010).
174. Yu GL, Wei EQ, Wang ML, Zhang WP, Zhang SH, Weng JQ, Chu LS, Fang SH, Zhou Y, Chen Z, Zhang Q, Zhang LH. Pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist, protects against chronic ischemic brain injury and inhibits the glial scar formation in mice. *Brain Res.* **1053**, 116–125 (2005).
175. Cosar M, Kaner T, Sahin O, Topaloglu N, Guven M, Aras AB, Akman T, Ozkan A, Sen HM, Memi G, Deniz M. The neuroprotective effect of Sulindac after ischemia-reperfusion injury in rats. *Acta. Cir. Bras.* **29**, 268–273 (2014).

176. Modi JP, Gharibani PM, Ma Z, Tao R, Menzie J, Prentice H, Wu JY. Protective mechanism of sulindac in an animal model of ischemic stroke. *Brain Res.* **1576**, 91–99 (2014).
177. Gupta V, Dhull DK, Joshi J, Kaur S, Kumar A. Neuroprotective potential of azilsartan against cerebral ischemic injury: Possible involvement of mitochondrial mechanisms. *Neurochem. Int.* **132**, 104604 (2020).
178. Tong Q, Wu L, Jiang T, Ou Z, Zhang Y, Zhu D. Inhibition of endoplasmic reticulum stress-activated IRE1 α -TRAF2-caspase-12 apoptotic pathway is involved in the neuroprotective effects of telmisartan in the rotenone rat model of Parkinson's disease. *Eur. J. Pharmacol.* **776**, 106–115 (2016).
179. Torika N, Asraf K, Cohen H, Fleisher-Berkovich S. Intranasal telmisartan ameliorates brain pathology in five familial Alzheimer's disease mice. *Brain Behav. Immun.* **64**, 80–90 (2017).
180. Lavoie H, Gagnon J, Therrien M. ERK signalling: a master regulator of cell behaviour, life and fate. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **21**, 607–632 (2020).
181. Okada Y. From the era of genome analysis to the era of genomic drug discovery: a pioneering example of rheumatoid arthritis. *Clin. Genet.* **86**, 432–440 (2014).

182. Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, Ludlam MJ, Stokoe D, Gloor SL, Vigers G, Morales T, Aliagas I, Liu B, Sideris S, Hoeflich KP, Jaiswal BS, Seshagiri S, Koeppen H, Belvin M, Friedman LS, Malek S. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature* **464**, 431–435 (2010).
183. Poulikakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature* **464**, 427–430 (2010).
184. Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, Nourry A, Niculescu-Duvas I, Dhomen N, Hussain J, Reis-Filho JS, Springer CJ, Pritchard C, Marais R. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell* **140**, 209–221 (2010).
185. Samatar AA, Poulikakos PI. Targeting RAS-ERK signalling in cancer: promises and challenges. *Nature Rev. Drug Discov.* **13**, 928–942 (2014).
186. Wang TH, Wang SY, Wang XD, Jiang HQ, Yang YQ, Wang Y, Cheng JL, Zhang CT, Liang WW, Feng HL. Fisetin Exerts Antioxidant and Neuroprotective Effects in Multiple Mutant hSOD1 Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis by Activating ERK. *Neuroscience* **379**, 152–166 (2018).

187. Noda Y, Motoyama S, Nakamura S, Shimazawa M, Hara H. Neuropeptide VGF-Derived Peptide LQEQ-19 has Neuroprotective Effects in an In Vitro Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurochem. Res.* **44**, 897–904 (2019).
188. Wang T, Cheng J, Wang S, Wang X, Jiang H, Yang Y, Wang Y, Zhang C, Liang W, Feng H. alpha-Lipoic acid attenuates oxidative stress and neurotoxicity via the ERK/Akt-dependent pathway in the mutant hSOD1 related Drosophila model and the NSC34 cell line of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res. Bull.* **140**, 299–310 (2018).
189. Lee SH, Choi NY, Yu HJ, Park J, Choi H, Lee KY, Huh YM, Lee YJ, Koh SH. Atorvastatin Protects NSC-34 Motor Neurons Against Oxidative Stress by Activating PI3K, ERK and Free Radical Scavenging. *Mol. Neurobiol.* **53**, 695–705 (2016).
190. D'Amico AG, Maugeri G, Saccone S, Federico C, Cavallaro S, Reglodi D, D'Agata V. PACAP Modulates the Autophagy Process in an In Vitro Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 2943 (2020).
191. Ono Y, Tanaka H, Takata M, Nagahara Y, Noda Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Hozumi I, Hara H. SA4503, a sigma-1 receptor agonist, suppresses motor neuron

- damage in in vitro and in vivo amyotrophic lateral sclerosis models. *Neurosci. Lett.* **559**, 174–178 (2014).
192. Lee SH, Kim S, Lee N, Lee J, Yu SS, Kim JH, Kim S. Intrathecal delivery of recombinant AAV1 encoding hepatocyte growth factor improves motor functions and protects neuromuscular system in the nerve crush and SOD1-G93A transgenic mouse models. *Acta Neuropathol. Commun.* **7**, 96 (2019).
 193. Nichols NL, Satriotomo I, Allen LL, Grebe AM, Mitchell GS. Mechanisms of Enhanced Phrenic Long-Term Facilitation in SOD1G93A Rats. *J. Neurosci.* **37**, 5834–5845 (2017).
 194. Chiricosta L, Gugliandolo A, Tardiolo G, Bramanti P, Mazzon E. Transcriptomic Analysis of MAPK Signaling in NSC-34 Motor Neurons Treated with Vitamin E. *Nutrients* **11**, 1081 (2019).
 195. Chiò A, Calvo A, Moglia C, Mazzini L, Mora G; PARALS study group. Phenotypic heterogeneity of amyotrophic lateral sclerosis: a population based study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **82**, 740–746 (2011).

MSAのリスク遺伝子 (計7種類)	DrugBankに登録のある PPI遺伝子 (計233種類)	PPI遺伝子産物に作用する承認医薬品 (計1461個) (計590種類)
COQ2	C1QB	Hyaluronic acid, Copper
EDN1	ADRA1A	Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, Ropinirole, Droxidopa, Midodrine, Bupirone, Tamsulosin, Silodosin, etc.
EDN1	ADRA1B	Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, Ropinirole, Droxidopa, Midodrine, Bupirone, Tamsulosin, Silodosin, etc.
EDN1	ADRA1D	Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, Ropinirole, Droxidopa, Midodrine, Bupirone, Tamsulosin, Silodosin, etc.
EDN1	AGT	Copper, Zinc, Zinc acetate
EDN1	AGTR1	Losartan, Valsartan, Olmesartan, Candesartan cilexetil, Eprosartan, Telmisartan, Irbesartan, Azilsartan medoxomil, etc.
EDN1	ANXA1	Amcinonide, Budesonide, Clobetasol propionate, Dexamethasone, Hydrocortisone cypionate, etc.
EDN1	AVPR1A	Desmopressin, Vasopressin, Tolvaptan, Lypressin, Conivaptan, Terlipressin, Atosiban
EDN1	AVPR1B	Desmopressin, Vasopressin, Lypressin, Terlipressin, Atosiban
EDN1	BDKRB1	Enalaprilat, Captopril, Ramipril, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate
EDN1	BDKRB2	Icatibant
EDN1	CASR	Cinacalcet, Etelcalcetide, Neomycin, Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate
EDN1	CKAR	Ceruletide, Cholecystokinin
EDN1	CKBR	Pentagastrin, Cholecystokinin
EDN1	CHRM1	Trihexyphenidyl, Bethanechol, Oxybutynin, Propiverine, Sorifenacin, Tolterodine, Biperiden, Cildinium, etc.
EDN1	CHRM3	Trihexyphenidyl, Bethanechol, Oxybutynin, Propiverine, Sorifenacin, Tolterodine, Fesoterodine, etc.
EDN1	CHRM5	Trihexyphenidyl, Propiverine, Sorifenacin, Tolterodine, Aripiprazole, Atropine, Dosulepin, Homatropine, etc.
EDN1	CYSLTR1	Montelukast, Zafirlukast, Nedocromil
EDN1	CYSLTR2	Nedocromil
EDN1	EDNRA	Bosentan, Macitentan, Ambrisentan, Sitaxentan, Acetylsalicylic acid
EDN1	EDNRB	Bosentan, Macitentan, Ambrisentan, Sitaxentan
EDN1	F2	Lepirudin, Proflavine, Dabigatran etexilate, Turoctocog alfa pegol, Bivalirudin, Argatroban, etc.
EDN1	F2R	Vorapaxar, Streptokinase, Thrombin
EDN1	F2RL3	Thrombin
EDN1	FFAR1	Icosapent
EDN1	GAST	Oxetacaine
EDN1	GCGR	Glucagon
EDN1	GHSR	Macimorelin
EDN1	GNG2	Halothane
EDN1	GNRHR	Nafarelin, Danazol, Degarelix, Goserelin, Ganirelix, Histrelin, Gestrinone, Leuprolide, Cetrorelix, Elagolix, Buserelin, etc.
EDN1	GNRHR2	Gonadorelin, Nafarelin, Danazol
EDN1	GRM1	Glutamic acid
EDN1	GRM5	Rufinamide, Acamprosate
EDN1	HCR1	Pidolic acid
EDN1	HCRTR1	Suvorexant, Lemborexant
EDN1	HCRTR2	Suvorexant, Lemborexant
EDN1	HRH1	Acrivastine, Antazoline, Azatadine, Azelastine, Bepotastine, Bromodiphenhydramine, Brompheniramine, Buclizine, etc.
EDN1	HTR2A	Risperidone, Quetiapine, Olanzapine, Apomorphine, Lisuride, Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, etc.
EDN1	HTR2B	Apomorphine, Lisuride, Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, Amoxapine, Asenapine, etc.
EDN1	HTR2C	Risperidone, Quetiapine, Olanzapine, Apomorphine, Lisuride, Bromocriptine, Pergolide, Cabergoline, etc.
EDN1	KNG1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate
EDN1	MCHR1	Haloperidol
EDN1	MLNR	Erythromycin
EDN1	MME	Sacubitril, Liraglutide, Semaglutide
EDN1	NPSR1	Halothane
EDN1	NTSR2	Levocabastine
EDN1	OXT	Oxytocin
EDN1	OXTR	Oxytocin, Atosiban, Carbetocin
EDN1	PTAFR	Rupatadine
EDN1	PTGER1	Misoprostol, Carboprost tromethamine, Dinoprostone, Bupivacaine, Alprostadil, Bimatoprost, Iloprost
EDN1	PTGFR	Travoprost, Latanoprost, Bimatoprost, Dinoprost tromethamine, Tafluprost, Latanoprostene bunod
EDN1	TAC3	Copper
EDN1	TACR1	Aprepitant, Fosnetupitant, Netupitant, Rolapitant, Tramadol, Ketamine
EDN1	TRHR	Protirelin
GBA	BMP2K	Fostamatinib
GBA	NTRK1	Amitriptyline, Cenegermin, Entrectinib, Fostamatinib, Imatinib, Larotrectinib, Pralsetinib, Regorafenib
MAPT	AOE	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate
MAPT	CASP1	Minocycline, Acetylsalicylic acid
MAPT	CASP3	Minocycline, Acetylsalicylic acid, Pamidronic acid, Glycyrrhizic acid
MAPT	CDK1	Fostamatinib
MAPT	CDK2	Bosutinib
MAPT	GSK3A	Fostamatinib
MAPT	HDAC6	Vorinostat, Romidepsin, Buprenorphine
MAPT	MAPK11	Regorafenib
MAPT	MAPK13	Fostamatinib
MAPT	MAPK14	Dasatinib, Fostamatinib
MAPT	MARK3	Fostamatinib
MAPT	MYC	Nadroparin, Acetylsalicylic acid
MAPT	P4HB	
MAPT	PHKG1	Fostamatinib
MAPT	PKN1	Fostamatinib
MAPT	PPR2CB	Vitamin E
MAPT	PRKACA	Vitamin E, Ingenol mebutate, Midostaurin, alpha-Tocopherol succinate, D-alpha-Tocopherol acetate
MAPT	PRKACB	Fostamatinib
MAPT	PRNP	Tetracycline, Copper
MAPT	RPS6KA1	Fostamatinib
MAPT	S100B	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate, Olopatadine
MAPT	SGK1	Flavin mononucleotide
MAPT	SLC6A8	Creatine
SNCA	A1BG	Copper, Zinc, Zinc acetate
SNCA	ACTA1	Sucrose
SNCA	ACTG1	Copper
SNCA	ALDOA	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate
SNCA	ALPL1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate
SNCA	ATP6V1B2	Gallium nitrate
SNCA	BCL2L1	Isosorbide
SNCA	CALR	Tenecteplase, Moroctocog alfa, Ferric cation, Melatonin, Calcium citrate, Calcium Phosphate, etc.
SNCA	CAMK2B	Fostamatinib
SNCA	CAMK2D	Fostamatinib
SNCA	CDK4	Palbociclib, Ribociclib, Abemaciclib, Fostamatinib
SNCA	COX5A	Cholic Acid
SNCA	COX6A2	Cholic Acid
SNCA	COX6B1	Cholic Acid
SNCA	CSNK2A2	Cholic Acid
SNCA	CTNNA1	Urea
SNCA	CTSD	Insulin pork
SNCA	CYCS	Minocycline
SNCA	DLG4	Guanidine
SNCA	DYRK1A	Fostamatinib

表1 MSA における *in silico* drug screening の解析結果 (1/3)

SNCA	EEF1A1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SNCA	FGR	Dasatinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	3
SNCA	GAPDH	Nifurtimox	1
SNCA	GBA	Velaglucerase alfa	1
SNCA	GLUL	L-Glutamine, Glutamic acid, Methionine, Capsaicin, Ceftriaxone, Diazoxide, Pegvisomant, Ammonia	8
SNCA	HIST1H1E	Copper	1
SNCA	HNRNPA2B1	Copper	1
SNCA	HNRNPH1	Copper	1
SNCA	HPRT1	Mercaptopurine, Tioguanine, Azathioprine, 5-O-phosphono-alpha-D-ribofuranosyl diphosphate	4
SNCA	HSD17B4	NADH	1
SNCA	HSPA5	Antihemophilic factor, Acetylsalicylic acid, Lonocetocog alfa, Morocetocog alfa, Copper	5
SNCA	HTT	Copper	1
SNCA	JARS		0
SNCA	KCNJ11	Ibutilide, Glimepiride, Diazoxide, Verapamil, Glyburide, Levosimendan, Isavuconazole, Tolazamide, Yohimbine, etc.	11
SNCA	KCNMA1	Halothane, Chlorzoxazone, Bendroflumethiazide, Hydroflumethiazide, Diazoxide, Hydrochlorothiazide, Dequalinium, etc.	10
SNCA	LCMT2		0
SNCA	LYN	Bosutinib, Ponatinib, Nintedanib, Dasatinib, Fostamatinib	5
SNCA	MAP1A	Estramustine	1
SNCA	MAP2	Estramustine, Paclitaxel, Docetaxel	3
SNCA	MAP2K1	Trametinib, Cobimetinib, Selumetinib, Bosutinib	4
SNCA	MAP4	Paclitaxel, Docetaxel	2
SNCA	MAPK1	Turpentine, Arsenic trioxide, Isoprenaline	3
SNCA	MAPK3	Sulindac, Arsenic trioxide, Cholecystokinin	3
SNCA	MAPK8IP1	Anthrakin	1
SNCA	MGST3	Glutathione	1
SNCA	MT1A	Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Nitric Oxide, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	8
SNCA	MT1E	Copper, Silver	2
SNCA	MT1X	Copper, Silver	2
SNCA	MT2A	Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	7
SNCA	MT-CO1	Cholic Acid, Cupric sulfate, Copper, Oxygen	4
SNCA	MT-CO2	Cholic Acid	1
SNCA	MT-CO3	Cholic Acid	1
SNCA	MT-ND1	NADH, Desflurane, Methoxyflurane, Halothane, Sevoflurane, Isoflurane	6
SNCA	MT-ND2	NADH	1
SNCA	MT-ND4	NADH	1
SNCA	MT-ND5	NADH	1
SNCA	NDUFA10	NADH	1
SNCA	NDUFA11	NADH	1
SNCA	NDUFA12	NADH	1
SNCA	NDUFA13	NADH	1
SNCA	NDUFA2	NADH	1
SNCA	NDUFA5	NADH	1
SNCA	NDUFA6	NADH	1
SNCA	NDUFA8	NADH	1
SNCA	NDUFA9	NADH, Flavin adenine dinucleotide	2
SNCA	NDUFB10	NADH	1
SNCA	NDUFB3	NADH	1
SNCA	NDUFB4	NADH	1
SNCA	NDUFB5	NADH	1
SNCA	NDUFB6	NADH	1
SNCA	NDUFB7	NADH	1
SNCA	NDUFB8	NADH	1
SNCA	NDUFB9	NADH	1
SNCA	NDUFC2	NADH, Carvedilol	2
SNCA	NDUFS1	NADH	1
SNCA	NDUFS2	NADH, Doxorubicin	2
SNCA	NDUFS3	NADH, Doxorubicin	2
SNCA	NDUFS4	NADH	1
SNCA	NDUFS5	NADH	1
SNCA	NDUFS7	NADH, Doxorubicin	2
SNCA	NDUFS8	NADH	1
SNCA	NDUFV2	NADH	1
SNCA	P3H1	Ascorbic acid, Succinic acid	2
SNCA	PAK3	Fostamatinib	1
SNCA	PARK7	Copper	1
SNCA	PHB2	Capsaicin	1
SNCA	PLD1	Miltefosine, Choline, Choline salicylate	3
SNCA	PLD2	Choline, Choline salicylate	2
SNCA	PLK1	Fostamatinib	1
SNCA	PLK2	Fostamatinib	1
SNCA	PLK3	Fostamatinib	1
SNCA	PPIB		0
SNCA	PRDX1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SNCA	PRKCE	Fostamatinib, Tamoxifen	2
SNCA	PRSS1	Aprotinin	1
SNCA	RAF1	Regorafenib, Sorafenib, Dabrafenib, Fostamatinib, Cholecystokinin	5
SNCA	RPS2		0
SNCA	RTCB	Sucrose	1
SNCA	SLC1A3	Fingolimod, Glutamic acid	2
SNCA	SLC25A12	Aspartic acid	1
SNCA	SLC25A13	Aspartic acid	1
SNCA	SLC25A22	Glutamic acid	1
SNCA	SLC6A2	Duloxetine, Venlafaxine, Escitalopram, Sertraline, Imipramine, Mianserin, Benzatropine, Orphenadrine, etc.	64
SNCA	SLC6A3	Duloxetine, Venlafaxine, Escitalopram, Sertraline, Imipramine, Mianserin, Benzatropine, etc.	38
SNCA	SLC6A4	Duloxetine, Venlafaxine, Escitalopram, Sertraline, Imipramine, Mianserin, Benzatropine, etc.	58
SNCA	SNAP25	Botulinum toxin type A	1
SNCA	SPTBN1		0
SNCA	SRI	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
SNCA	SYT2	Botulinum toxin type B	1
SNCA	TH	Metyrosine, Sapropterin, Tyrosine, Phenylalanine	4
SNCA	TUBA3C	Copper	1
SNCA	TUBB	Vinblastine, Colchicine, Podofilox, Colchicine, Vinorelbine, Vincristine, Copper, Vinflunine	8
SNCA	TUBB1	Cabazitaxel, Docetaxel, Eribulin, Vindesine, Paclitaxel	5
SNCA	TUBB4B	Mebendazole, Albendazole	2
SNCA	TUBG1	Vinblastine	1
SNCA	VAMP2	Botulinum toxin type B	1
SNCA	VDAC1	Cannabidiol	1
MAPT, GBA	RPS6KA3	Acetylsalicylic acid, Fostamatinib	2
SNCA, COQ2	COX5B	Cholic Acid	1
SNCA, COQ2	COX6C	Cholic Acid	1
SNCA, COQ2	NDUFV1	NADH	1
SNCA, GBA	ATP6V1A	Alendronic acid, Etidronic acid	2

表1 MSA における *in silico* drug screening の解析結果 (2/3)

SNCA, GBA	CANX	Tenecteplase, Moroctocog alfa, Antihemophilic factor, Lonoctocog alfa, Calcium citrate, Calcium Phosphate, etc.	7
SNCA, GBA	HSP90AA1	Rifabutin, Nedocromil, Copper	3
SNCA, GBA	HSP90B1	Rifabutin, Copper	2
SNCA, MAPT	ABL1	Imatinib, Regorafenib, Bosutinib, Dasatinib, Nilotinib, Ponatinib, Brigatinib, Magnesium gluconate, Fostamatinib	9
SNCA, MAPT	AKT1	Arsenic trioxide	1
SNCA, MAPT	CALM3	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
SNCA, MAPT	CAMK2A	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	CSNK1A1	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	CSNK2A1	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	EGFR	Gefitinib, Afatinib, Cetuximab, Osimertinib, Vandetanib, Brigatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Fostamatinib, Lapatinib, etc.	16
SNCA, MAPT	FYN	Dasatinib, Fostamatinib	2
SNCA, MAPT	GSK3B	Lithium citrate, Lithium carbonate, Fostamatinib	3
SNCA, MAPT	LRK2	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	MAPT	Paclitaxel, Docetaxel, Astemizole, Lansoprazole, Flortaucipir F-18	5
SNCA, MAPT	MARK1	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	MARK2	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	MARK4	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	PPP2CA	Vitamin E	1
SNCA, MAPT	PRKCD	Ingenol mebutate, Fostamatinib, Tamoxifen	3
SNCA, MAPT	PRKCG	Fostamatinib, Tamoxifen	2
SNCA, MAPT	PTK2B	Leflunomide, Baricitinib, Fostamatinib	3
SNCA, MAPT	SLC1A2	Fingolimod, Glutamic acid	2
SNCA, MAPT	SRC	Bosutinib, Nintedanib, Dasatinib, Fostamatinib, Ponatinib, Citric acid	6
SNCA, MAPT	SYK	Fostamatinib	1
SNCA, MAPT	TUBA1A	Vinblastine, Colchicine, Albendazole, Mebendazole	4
SNCA, MAPT	TUBA4A	Podofilox, Cabazitaxel, Vincristine	3
SNCA, MAPT	TUBB3	Ixabepilone	1
SNCA, MAPT	YWHAB	Copper	1
EDN1, SNCA, MAPT	APP	Florbetaben (18F), Flutemetamol (18F), Florbetapir (18F), Dimercaprol, Tromethamine, Deferoxamine, Copper, etc.	14
SNCA, COQ2, GBA	HSPD1	Copper	1
SNCA, MAPT, COQ2	HSPA8	Dasatinib, Copper	2
SNCA, MAPT, GBA	SNCA	Copper	1

表1 MSAにおける *in silico* drug screening の解析結果 (3/3)

FALSのリスク遺伝子 (計27種類)	DrugBankに登録のある PPI遺伝子 (計551種類)	PPI遺伝子産物に作用する承認医薬品	(計3091個) (計1309種類)
ANXA11	AKR1B1	Citric acid, Brexanolone, Fenofibrate, Glutathione, NADH, Sulindac	6
ANXA11	ANXA3	Diffuocortolone, Ethanolamine, Flucinolone acetoneide	3
ANXA11	ATP4A	Dexlansoprazole, Esomeprazole, Lansoprazole, Omeprazole, Pantoprazole, Rabeprazole	6
ANXA11	HGS	Citric acid	1
ANXA11	S100A6	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
ANXA11	SRI	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
CHCHD10	ATP5O		0
CHCHD10	COX5A	Cholic Acid	1
CHCHD10	COX6C	Cholic Acid	1
CHCHD10	CYB5R3	NADH, Flavin adenine dinucleotide, Copper	3
CHCHD10	MCCC1	Biotin	1
CHCHD10	NDUFA8	NADH	1
CHCHD10	SLC16A1	Acetic acid, Foscarnet, Methotrexate, Pravastatin, Taurocholic acid, Benzoic acid, Nateglinide, Valproic acid, etc.	17
CHMP2B	PAPSS1	Glycerin	1
ERBB4	ABL2	Dasatinib, Fostamatinib	2
ERBB4	EGF	Sucralfate, Cholecystokinin	2
ERBB4	ERBB4	Afatinib, Brigatinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	4
ERBB4	PTK6	Vandetanib, Fostamatinib, Zanubrutinib	3
ERBB4	STAT3B	Dasatinib	1
FUS	ABCA1	Vitamin E, Tamoxifen, Glyburide, Tocofersolan, Probuco	5
FUS	CA2	Brinzolamide, Diazoxide, Diclofenamide, Dorzolamide, Ethinamate, Methazolamide, Quinethazone, Topiramate, etc.	26
FUS	CKB	Creatine, Magnesium gluconate, Acyclovir, Tenofovir disoproxil	4
FUS	DGKA	Vitamin E, alpha-Tocopherol succinate	2
FUS	ESRRA	Diethylstilbestrol, Flavone, Troglitazone	3
FUS	FASN	Orlistat	1
FUS	GLUD1	NADH, Glutamic acid, Guanosine-5'-Triphosphate, Hexachlorophene, Aluminum chloride	5
FUS	GRIN2B	Glutamic acid, Donepezil, Memantine, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	25
FUS	GSK3B	Lithium citrate, Lithium carbonate, Fostamatinib	3
FUS	HPRT1	Mercaptopurine, Tioguanine, Azathioprine, 5-O-phosphono-alpha-D-ribofuranosyl diphosphate	4
FUS	ITK	Pazopanib, Fostamatinib, Zanubrutinib	3
FUS	LYZ	Propyl alcohol, Sucrose, Rose bengal, Aspartic acid	4
FUS	MDH1	NADH	1
FUS	MTAP	Adenine	1
FUS	PAIGS	Aspartic acid	1
FUS	RXRA	Acitretin, Adapalene, Alitretinoin, Bexarotene, Bezafibrate, Doconexent, Rosiglitazone, alpha-Linolenic acid, etc.	12
FUS	SLC1A5	Asparagine, L-Glutamine, Fluciclovine (18F)	3
FUS	SLC22A11	Bumetanide, Cefazolin, Cefotaxime, Dinoprostone, Ibuprofen, Levocetirizine, Methotrexate, Pravastatin, Zidovudine, etc.	39
FUS	THRA	Dronedrone, Levothyroxine, Liotrix, Dextrothyroxine, Liothyronine, Thyroid (porcine)	6
FUS	TP73	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
HNRNPA1	ADA	Dipyridamole, Adenosine, Edetic acid, Erdosteine, Nelarabine, Pentostatin, Theophylline, Vidarabine, etc.	10
HNRNPA1	BCL2L1	Isoorbide	1
HNRNPA1	C3	Human immunoglobulin G, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
HNRNPA1	CHUK	Sulfasalazine, Mesalazine, Aminosalicic acid, Acetylcysteine	4
HNRNPA1	CKMT1A	Creatine, Acyclovir, Tenofovir disoproxil	3
HNRNPA1	CTSD	Insulin pork	1
HNRNPA1	FARS2	Phenylalanine	1
HNRNPA1	FLNA		0
HNRNPA1	GM2A	Lauric acid	1
HNRNPA1	GRID2		0
HNRNPA1	HAL		0
HNRNPA1	HRNR	Zinc, Zinc acetate	2
HNRNPA1	KRT1	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
HNRNPA1	KRT10	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
HNRNPA1	KRT14	Zinc, Zinc acetate	2
HNRNPA1	KRT16	Zinc, Zinc acetate	2
HNRNPA1	KRT2	Anthrakin, Copper, Zinc, Zinc acetate	4
HNRNPA1	KRT5	Zinc, Zinc acetate	2
HNRNPA1	KRT6A	Zinc, Zinc acetate	2
HNRNPA1	KRT9	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
HNRNPA1	NFATC1	Pseudoephedrine	1
HNRNPA1	NNT	Xanthinol, NADH	2
HNRNPA1	PLD1	Ascorbic acid	1
HNRNPA1	PLD2	Ascorbic acid	1
HNRNPA1	PLD3	Ascorbic acid, Succinic acid	2
HNRNPA1	PNP		0
HNRNPA1	YARS2	Tyrosine	1
KIF5A	CHRNA9	Butabarbital, Nicotine, Ethanol	3
KIF5A	DDC	Pyridoxal phosphate	1
KIF5A	GLRA1	Memantine, Glycine, Desflurane, Ethanol, Enflurane, Methoxyflurane, Isoflurane, Sevoflurane, Taurine, D-Serine, etc.	20
KIF5A	KCNK1	Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine	4
KIF5A	SMN2	Nusinersen	1
MATR3	GSTK1	Glutathione	1
MATR3	PRKCE	Fostamatinib, Tamoxifen	2
MATR3	S100A9	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
MATR3	ALKBH3	Ascorbic acid	1
NEK1	HDAC7	Belinostat, Panobinostat	2
NEK1	TOP1MT	Irinotecan, Topotecan	2
NEK1	VTN	Abciximab, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
OPTN	FTH1	Ferrous ascorbate, Ferrous fumarate, Ferrous gluconate, Ferrous glycine sulfate, Ferrous succinate, Ferumoxytol, etc.	10
OPTN	GRM1	Glutamic acid	1
OPTN	PPARG	Fenofibric acid, Fenoprofen, Flufenamic acid, Ibuprofen, Mesalazine, Sulfasalazine, Curcumin, Amiodarone, etc.	29
OPTN	TFRC	Ferric cation, Ferrous ascorbate, Ferrous fumarate, Ferrous gluconate, Ferrous glycine sulfate, Ferrous succinate, etc.	13
OPTN	VWF	Efmorotocog alfa, Lonotocog alfa, Morotocog alfa, Simotocog alfa, Susotocog alfa, Turoctocog alfa pegol, etc.	9
PFN1	ATF2	Pseudoephedrine	1
PFN1	CBR1	Fenofibrate, Haloperidol, Loxoprofen, Oxcarbazepine, Curcumin, Deutetrabenazine, Doxorubicin, Lubiprostone, etc.	11
PFN1	GLRB	Memantine, Glycine, Cannabidiol, Lindane	4
PFN1	ROCK2	Netarsudil, Fostamatinib	2
SETX	CLU	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SIGMAR1	CYP51A1	Itraconazole, Miconazole, Tioconazole	3
SIGMAR1	ITPR3	Caffeine	1
SIGMAR1	KCNA2	Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine	4
SOD1	C4BPA	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1	CCS	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1	GFER	Flavin adenine dinucleotide	1
SOD1	HINT1	Sofosbuvir, Adenosine phosphate	2
SOD1	NFS1	Cysteine, Pyridoxal phosphate	2
SOD1	P3H1	Ascorbic acid, Succinic acid	2
SOD1	PGLYRP2	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1	PNPO	Flavin mononucleotide, Pyridoxal phosphate	2

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (1/8)

SOD1	PRSS1	Aprotinin	1
SOD1	YES1	Dasatinib, Fostamatinib	2
SQSTM1	CHRNA7	Galantamine, Amantadine, Dextromethorphan, Methadone, Nicotine, Tubocurarine, Phenobarbital, Varenicline, etc.	24
SQSTM1	EGLN3	Ascorbic acid	1
SQSTM1	ENPP1	Crotalus adamanteus antivenin, Polyethylene glycol 400	2
SQSTM1	GABRR1	Lindane	1
SQSTM1	GABRR2		0
SQSTM1	GABRR3		0
SQSTM1	GRIA3	Ethanol, Butabarbital, Lithium carbonate, Lithium citrate, Glutamic acid, Fluciclovine (18F)	6
SQSTM1	GRIN2A	Glutamic acid, Donepezil, Memantine, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	24
SQSTM1	KCNA5	Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine, Vernakalant, Isavuconazole	6
SQSTM1	KEAP1	Dimethyl fumarate	1
SQSTM1	KRT8	Tenecteplase, Copper	2
SQSTM1	LGALS3		0
SQSTM1	MGP		0
SQSTM1	NDUFS2	NADH, Doxorubicin	2
SQSTM1	NGF	Clenbuterol	1
SQSTM1	NOD2	Mifamurtide	1
SQSTM1	PARS2		0
SQSTM1	PDE4A	Amrinone, Dipyridamole, Dyphylline, Oxtriphylline, Roflumilast, Theophylline, Enprofylline, Drotaverine, Iloprost, etc.	11
SQSTM1	PML	Arsenic trioxide	1
SQSTM1	PRKCI	Fostamatinib, Tamoxifen	2
SQSTM1	SDHA	Carboxin, Succinic acid, Ubidecarenone	3
SQSTM1	TMLHE	Ascorbic acid	1
TARDBP	MAP4	Paclitaxel, Docetaxel	2
TBK1	BBOX1	Ascorbic acid	1
TBK1	LY96	Lauric acid, Morphine	2
TBK1	PROS1	Sodium tetradecyl sulfate, Drotrecogin alfa, Menadiene, Kappadione	4
TBK1	TLR4	Naloxone, Cyclobenzaprine, Lauric acid, Mifamurtide, Papain	5
TBK1	TLR9	Chloroquine, Hydroxychloroquine	2
TUBA4A	ARG2	Ornithine	1
TUBA4A	ASS1	Aspartic acid	1
TUBA4A	ATP2C1	Enflurane, Isoflurane, Methoxyflurane, Sevoflurane	4
TUBA4A	B4GALT1	N-Acetylglucosamine	1
TUBA4A	BTX	Ibrutinib, Dasatinib, Acalabrutinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	5
TUBA4A	CACNG2	Ethanol, Bioallethrin, Butamben, Enflurane, Ergocalciferol, Spirinolactone	6
TUBA4A	CALB2	Calcium citrate, Calcium levulinate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	4
TUBA4A	CHD1		0
TUBA4A	COX6A2	Cholic Acid	1
TUBA4A	CRYZ	Cannabidiol, Dicoumarol	2
TUBA4A	CTDSP1	Citric acid	1
TUBA4A	DPYSL2		0
TUBA4A	FECH	Cholic Acid	1
TUBA4A	GAPDHS	NADH, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
TUBA4A	GCLC	Vitamin E, alpha-Tocopherol succinate, D-alpha-Tocopherol acetate, Cysteine, Glutamic acid	5
TUBA4A	GRM7	Glutamic acid	1
TUBA4A	JAK3	Tofacitinib, Baricitinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	4
TUBA4A	KCNQ2	Imipramine, Disopyramide, Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine	6
TUBA4A	LTA	Etanercept	1
TUBA4A	MC1R	Afamelanotide, Bremelanotide	2
TUBA4A	PISD		0
TUBA4A	PKLR	Pyruvic acid	1
TUBA4A	PPP3R2	Cyclosporine	1
TUBA4A	PRG2	Chymopapain, Sargramostim	2
TUBA4A	RANBP1	Copper	1
TUBA4A	RBP3	Beta carotene, Vitamin A	2
TUBA4A	SI00A8	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
TUBA4A	SCN10A	Chloroprocaine, Dichlorobenzyl alcohol, Dyclonine, Lacosamide, Topiramate, Carbamazepine, Lamotrigine, etc.	32
TUBA4A	SDHB		0
TUBA4A	SLC25A13	Aspartic acid	1
TUBA4A	SLC25A29	Levocarnitine	1
TUBA4A	SPTLC1	Pyridoxal phosphate	1
TUBA4A	SPTLC2	Pyridoxal phosphate	1
TUBA4A	SPTLC3	Pyridoxal phosphate	1
TUBA4A	STMN4	Lomustine	1
TUBA4A	TRAPPC3	Palmitic Acid	1
TUBA4A	TYK2	Tofacitinib, Fostamatinib	2
TUBA4A	TYMS	Floxuridine, Fluorouracil, Gemcitabine, Methotrexate, Capecitabine, Pemetrexed, Pralatrexate, Raltitrexed, etc.	11
UBQLN2	C1QA	Cetuximab, Palivizumab, Bevacizumab	3
UBQLN2	HSPA13	Copper	1
UBQLN2	JTGB3	Abciximab, Tirofiban, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit), Ferric cation, Levothyroxine, Eptifibatide, etc.	8
UBQLN2	LTF	Parecoxib, Nimesulide, Lauric acid, Rose bengal	4
UBQLN2	PLAUR	Alteplase, Tenecteplase, Urokinase	3
UBQLN2	PSMB5	Bortezomib, Carfilzomib	2
VAPB	EPHA2	Regorafenib, Dasatinib, Fostamatinib	3
VAPB	MT-ND5	NADH	1
VAPB	NDUFA7	NADH	1
VAPB	NDUFB8	NADH	1
VAPB	NDUFV3	NADH, Ubidecarenone	2
VAPB	OXCT1	Succinic acid	1
VAPB	SI00A16	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
VAPB	SLC7A2	L-Lysine, Ornithine	2
VAPB	VAMP1	Botulinum Toxin Type B	1
VAPB	VAMP2	Botulinum Toxin Type B	1
VAPB	VKORC1	Dicoumarol, Kappadione, Warfarin, Acenocoumarol, Phenindione, Phenprocoumon, Menadiene	7
VCP	ABCB1	Acetaminophen, Afatinib, alpha-Tocopherol acetate, Amitriptyline, Amlodipine, Apixaban, Atorvastatin, etc.	458
VCP	ALDH18A1	Glutamic acid	1
VCP	ANPEP	Ezetimibe, Icatibant, Human calcitonin	3
VCP	AVPR2	Vasopressin, Desmopressin, Tolvaptan, Lypressin, Demeclocycline, Conivaptan, Terlipressin, Atosiban	8
VCP	CACNA1C	Amlodipine, Dronedrone, Ibutilide, Nifedipine, Nisoldipine, Verapamil, Cinnarizine, Clevidipine, Diltiazem, etc.	39
VCP	CASR	Cinacalcet, Etelcalcetide, Neomycin, Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	6
VCP	CD3D	Muromonab, Blinatumomab	2
VCP	CD3E	Muromonab, Catumaxomab	2
VCP	CHRNA3	Amantadine, Bupropion, Dextromethorphan, Methadone, Nicotine, Pentolinium, Levacetylmethadol, Varenicline, etc.	12
VCP	COMT	Entacapone, Apomorphine, Conjugated estrogens, Diethylstilbestrol, Dobutamine, Dopamine, Ethinylestradiol, etc.	18
VCP	CSK	Dasatinib, Fostamatinib	2
VCP	FBP1	Adenosine phosphate	1
VCP	FRK	Dasatinib, Fostamatinib, Regorafenib, Zanubrutinib	4
VCP	GABRA1	Amoxapine, Carisoprodol, Desflurane, Etomidate, Flumazenil, Ketazolam, Lorazepam, Lormetazepam, Methohexital, etc.	71
VCP	GPD1	Metformin, NADH	2
VCP	GSTO1	Glutathione, Vitamin E, alpha-Tocopherol succinate, D-alpha-Tocopherol acetate	4
VCP	GSTO2	Glutathione	1

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (2/8)

VCP	HLA-A	Coccidioides immitis spherule	1
VCP	IMPA1	Lithium carbonate, Lithium citrate	2
VCP	IMPA2	Lithium carbonate, Lithium citrate	2
VCP	JTG81	Antithymocyte immunoglobulin (rabbit)	1
VCP	JAK2	Ruxolitinib, Tofacitinib, Baricitinib, Fostamatinib, Fedratinib, Entrectinib, Zanubrutinib, Pralsetinib	8
VCP	LMAN1	Moroctocog alfa, Lonoctocog alfa, Antihemophilic factor (human recombinant)	3
VCP	MAP2K1	Trametinib, Cobimetinib, Selumetinib, Bosutinib	4
VCP	PDXDC1		0
VCP	PIK3R3	Isoprenaline	1
VCP	PRKAG1	Fostamatinib, Adenosine phosphate, Topiramate, Acetylsalicylic acid	4
VCP	PSMB9	Carfilzomib	1
VCP	PTGES3	Acetaminophen, Copper	2
VCP	PTGS2	Acetaminophen, Bromfenac, Fenoprofen, Glycol salicylate, Ibuprofen, Ketorolac, Loxoprofen, Mefenamic acid, etc.	82
VCP	RAF1	Regorafenib, Sorafenib, Dabrafenib, Fostamatinib, Cholecystokinin	5
VCP	RHO	Palmitic Acid, Halothane	2
VCP	RYR2	Tetracaine, Flecainide, Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	5
VCP	SERPINA1	Pentetic acid, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
VCP	SGK1	Flavin mononucleotide	1
ATXN2, VCP	ACTN1	Copper, Human calcitonin	2
CHCHD10, SQSTM1	NDUFA5	NADH	1
CHCHD10, SQSTM1	NDUFS3	NADH, Doxorubicin	2
ERBB4, SQSTM1	CD44	Hyaluronic acid	1
ERBB4, SQSTM1	PIK3CA	Alpelisib, Copanlisib, Caffeine	3
FUS, ERBB4	ABL1	Imatinib, Regorafenib, Bosutinib, Dasatinib, Nilotinib, Ponatinib, Brigatinib, Magnesium gluconate, Fostamatinib	9
FUS, HNRNPA1	CTNNB1	Urea	1
FUS, HNRNPA1	GSTP1	Glutathione, Vitamin E, alpha-Tocopherol succinate, D-alpha-Tocopherol acetate, Acetaminophen, Busulfan, etc.	18
FUS, HNRNPA1	HNRNPD		0
FUS, HNRNPA1	PPIH		0
FUS, HNRNPA1	SF3A2	Copper	1
FUS, HNRNPA1	SNRPD2		0
FUS, HNRNPA1	SRSF4		0
FUS, SIGMAR1	NSDHL	NADH	1
FUS, TARDBP	CASP3	Minocycline, Acetylsalicylic acid, Pamidronic acid, Glycyrrhizic acid	4
FUS, TBK1	LDHB	Stiripentol, NADH	2
FUS, TUBA4A	TUFM	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
FUS, VCP	ANXA5	Fluocinolone acetonide, Copper	2
FUS, VCP	F7	Anti-inhibitor coagulant complex, Coagulation Factor IX Human, Coagulation factor VIIa Recombinant Human, etc.	6
FUS, VCP	GRIN2D	Glutamic acid, Donepezil, Memantine, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	22
FUS, VCP	ITPR1	Glycerin, Thimerosal	2
HNRNPA1, MATR3	SRPK2	Adenine	1
HNRNPA1, SQSTM1	ANXA1	Amincinonide, Budesonide, Clobetasol, propionate, Dexamethasone, Dexamethasone acetate, etc.	16
HNRNPA1, SQSTM1	PRKCZ	Tamoxifen	1
HNRNPA1, TBK1	XIAP	Dequalinium	1
HNRNPA1, TUBA4A	ARG1	Manganese, Ornithine, Urea	3
HNRNPA1, TUBA4A	ICAM1	Natalizumab, Hyaluronic acid	2
HNRNPA1, TUBA4A	NR3C1	Desoximetasone, Fluticasone, Fludrocortisone, Dexamethasone, Betamethasone, Hydrocortisone, Prednisolone, etc.	61
HNRNPA1, TUBA4A	PHB2	Capsaicin	1
KIF5A, SQSTM1	JNSR	Insulin aspart, Insulin degludec, Insulin detemir, Insulin glargine, Insulin glulisine, Insulin lispro, Brigatinib, etc.	13
KIF5A, SQSTM1	NTRK2	Amitriptyline, Fostamatinib, Larotrectinib, Esketamine, Entrectinib	5
KIF5A, TBK1	NCOA2	Diethylstilbestrol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estradiol diananthate, Estradiol valerate	6
MATR3, TUBA4A	HTF7	Amitriptyline, Amoxapine, Asenapine, Cabergoline, Clozapine, Cyclobenzaprine, Cyproheptadine, Dopamine, etc.	37
MATR3, TUBA4A	CACNB4	Dronedarone, Nimodipine, Levomenthol, Topiramate, Trimebutine, Lacidipine, Enflurane, Phenytoin, Miconazole, etc.	21
OPTN, MATR3	FOS	Nadroparin	1
OPTN, TBK1	TNFRSF1A	Tasonermin	1
OPTN, VCP	CDKN1A	Arsenic trioxide	1
PEN1, HNRNPA1	GSN	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
PEN1, HNRNPA1	ROCK1	Netarsudil	1
SETX, HNRNPA1	HIST1H1E	Copper	1
SETX, UBQLN2	TF	Chromium, Cisplatin, Ferric cation, Iron, Aluminium, Copper, Zinc, Gallium nitrate, Manganese, Rose bengal, etc.	30
SETX, VCP	APOA1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SETX, VCP	RPS13		0
SIGMAR1, TUBA4A	SQLE	Butenafine, Naftifine, Terbinafine	3
SOD1, HNRNPA1	FEN1	Ferrous ascorbate, Ferrous fumarate, Ferrous gluconate, Ferrous glycine sulfate, Ferrous succinate, Iron	5
SOD1, SETX	SPTBN1		0
SOD1, SQSTM1	BCL2	Rasagiline, Dexibuprofen, Ibuprofen, Docetaxel, Eribulin, Isosorbide, Venetoclax, Glycine betaine, Paclitaxel	9
SOD1, TUBA4A	FYN	Dasatinib, Fostamatinib	2
SOD1, TUBA4A	HEXB	Chondroitin sulfate, Pyrimethamine	2
SOD1, VAPB	PPIB		0
SOD1, VCP	ACAT1	Sulfasalazine, Cannabidiol	2
SOD1, VCP	AGXT	Pyridoxal phosphate, Glycine	2
SOD1, VCP	AKR1A1	Certolizumab pegol, Copper, Doxorubicin, Ethanol, NADH	5
SOD1, VCP	AKR1C1	Acetylsalicylic acid, Fenofibrate, Lumateperone, Methylprednisolone, Nabumetone, NADH, Oxcarbazepine, etc.	9
SOD1, VCP	AKR1C2	Chenodeoxycholic acid, Fenofibrate, Glycyrrhizic acid, Lumateperone, Methylprednisolone, Nabumetone, NADH, etc.	10
SOD1, VCP	AKR1C4	Glycyrrhizic acid, Lumateperone, Methylprednisolone, Nabumetone, NADH, Norethisterone, Oxcarbazepine	7
SOD1, VCP	AKR1D1	Azelaic acid, Finasteride, Hydrocortisone, Norethisterone	4
SOD1, VCP	BCAT2	Glutamic acid, Pyridoxal phosphate	2
SOD1, VCP	CALR	Tenecteplase, Moroctocog alfa, Ferric cation, Melatonin, Calcium citrate, Calcium Phosphate, etc	11
SOD1, VCP	CTH	Cysteine, Pyridoxal phosphate	2
SOD1, VCP	FDP5	Alendronic acid, Pamidronic acid, Zoledronic acid, Ibandronate, Risedronic acid	5
SOD1, VCP	GARS	Glycine	1
SOD1, VCP	GLRX	Glutathione	1
SOD1, VCP	GLRX2	Glutathione	1
SOD1, VCP	GOT1	Adapalene, Copper, Pyridoxal phosphate, Aspartic acid, Cysteine, Glutamic acid, Maleic Acid	7
SOD1, VCP	PFAS	Glutamic acid, L-Glutamine	2
SOD1, VCP	RGN	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
SOD1, VCP	TARS	Threonine	1
SQSTM1, TBK1	TNFRSF1B	Tasonermin	1
TARDBP, HNRNPA1	DCD	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
TARDBP, HNRNPA1	KHSRP		0
TARDBP, KIF5A	ESR2	Raloxifene, Bazedoxifene, Tamoxifen, Estradiol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estriol, etc.	25
TARDBP, SQSTM1	ASPH	Aspartic acid, Succinic acid	2
TARDBP, TBK1	ATP5A1		0
TARDBP, TBK1	RPS18		0
TARDBP, UBQLN2	TP1	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
TARDBP, VCP	ADRB2	Carteolol, Orciprenaline, Terbutaline, Salmeterol, Timolol, Labetalol, Levobunolol, Metipranolol, Pirbuterol, etc.	54
TARDBP, VCP	CDK4	Palbociclib, Ribociclib, Abemaciclib, Fostamatinib	4
TUBA4A, KIF5A	SNAP25	Botulinum toxin type A	1
TUBA4A, SQSTM1	GRI1	Perampanel, Lamotrigine, Isoflurane, Sevoflurane, Desflurane, Methoxyflurane, Glutamic acid, Butabarbital, etc.	10
TUBA4A, SQSTM1	GRI2	Amobarbital, Butabarbital, Butalbital, Ethanol, Pentobarbital, Phenobarbital, Talbutal, Thiopental, Glutamic acid, etc.	15
TUBA4A, SQSTM1	MAP1A	Estramustine	1
TUBA4A, TBK1	HMMR	Hyaluronic acid	1
UBQLN2, SQSTM1	DNMT1	Azacitidine, Decitabine, Flucytosine, Procainamide, Procaine	5

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (3/8)

UBQLN2, SQSTM1	SGPL1	Pyridoxal phosphate	1
UBQLN2, TUBA4A	CASK	Fostamatinib	1
UBQLN2, TUBA4A	MTNR1B	Melatonin, Agomelatine, Ramelteon, Tasimelteon	4
VAPB, C9orf72	ESRRB	Diethylstilbestrol, Flavone	2
VAPB, CHMP2B	BMPRI1A	Dibotermis alfa	1
VAPB, ERBB4	ERBB2	Afatinib, Pertuzumab, Brigatinib, Fostamatinib, Lapatinib, Trastuzumab, Trastuzumab emtansine, Tucatinib, etc.	9
VAPB, SQSTM1	HADHA	NADH	1
VAPB, VCP	PPT1	Palmitic Acid	1
VCP, ANXA11	HLA-DRB1	Glatiramer, Coccidioides immitis spherule	2
VCP, HNRNPA1	ANXA2	Tenecteplase, Fluocinolone acetone	2
VCP, HNRNPA1	CANX	Tenecteplase, Moroctocog alfa, Lonocotocog alfa, Calcium citrate, Calcium Phosphate, etc.	7
VCP, HNRNPA1	CD4	Ibalizumab, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit)	2
VCP, HNRNPA1	HDAC5	Belinostat, Panobinostat	2
VCP, HNRNPA1	NOS2	Triflusal, Dipyrithione, Doxorubicin, Levamlodipine, Levamlodipine, Minocycline, Dexamethasone, Miconazole, etc.	8
VCP, HNRNPA1	PRKDC	Caffeine	1
VCP, KIF5A	RXRβ	Acitretin, Adapalene, Alitretinoin, Bexarotene, Bezafibrate, Doxexent, Rosiglitazone, Tazarotene, Tretinoin	9
VCP, MATR3	JARS2		0
VCP, MATR3	PRKAA1	Phenformin, Fostamatinib, Adenosine phosphate, Topiramate, Acetylsalicylic acid	5
VCP, SQSTM1	AR	Bicalutamide, Danazol, Drospirenone, Estrone, Eugenol, Methyltestosterone, Tamoxifen, etc.	50
VCP, SQSTM1	BECN1	Estradiol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estradiol diethanate, Estradiol valerate	6
VCP, SQSTM1	HIF1A	Carvedilol, Hydralazine	2
VCP, SQSTM1	LCK	Nintedanib, Dasatinib, Ponatinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	5
VCP, SQSTM1	PRKCD	Ingenol mebutate, Fostamatinib, Tamoxifen	3
VCP, TBK1	AKT1	Arsenic trioxide	1
VCP, TUBA4A	ACSL3		0
VCP, TUBA4A	ACSL4	Icosapent, Troglitazone, Rosiglitazone	3
VCP, TUBA4A	APRT	Adenosine phosphate, Adenine, Citric acid, 5-O-phosphono-alpha-D-ribofuranosyl diphosphate	4
VCP, TUBA4A	ASL		0
VCP, TUBA4A	CAD	L-Glutamine, Aspartic acid	2
VCP, TUBA4A	EARS2	Glutamic acid	1
VCP, TUBA4A	GART	Pemetrexed	1
VCP, TUBA4A	HMGCR	Atorvastatin, Fluvastatin, Pitavastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin, Cannabidiol, Lovastatin, etc.	11
VCP, TUBA4A	HSD17B7	NADH	1
VCP, TUBA4A	IDH3G	Manganese, NADH	2
VCP, TUBA4A	IMPDH1	Azathioprine, Mycophenolate mofetil, Mycophenolic acid, NADH, Ribavirin	5
VCP, TUBA4A	IMPDH2	Azathioprine, Mycophenolate mofetil, Mycophenolic acid, NADH, Ribavirin	5
VCP, TUBA4A	ISYNA1	Glycerin	1
VCP, TUBA4A	KYNU	Pyridoxal phosphate	1
VCP, TUBA4A	ME2	NADH	1
VCP, TUBA4A	OGDH	Valproic acid, Xanthinol, NADH	3
VCP, TUBA4A	OTC	Ornithine	1
VCP, TUBA4A	POLE2	Cladribine	1
VCP, TUBA4A	PYCR2	NADH	1
VCP, TUBA4A	RRM1	Cladribine, Clofarabine, Fludarabine, Gemcitabine, Hydroxyurea	5
VCP, TUBA4A	SDS	Pyridoxal phosphate	1
VCP, TUBA4A	SDSL	Pyridoxal phosphate	1
VCP, TUBA4A	SHMT1	Pyridoxal phosphate, Glycine	2
VCP, TUBA4A	SHMT2	Pyridoxal phosphate, Glycine	2
VCP, TUBA4A	SRR	Pyridoxal phosphate	1
VCP, TUBA4A	STIP1	Copper	1
VCP, TUBA4A	SUCLG1	Acyclovir	1
VCP, TUBA4A	TUBG1	Vinblastine	1
ATXN2, VCP, TUBA4A	IDH3B	NADH	1
FUS, ERBB4, TUBA4A	GRIN1	Glutamic acid, Donepezil, Memantine, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	23
FUS, HNRNPA1, MATR3	HNRNPK		0
FUS, HNRNPA1, MATR3	HNRNPL	Copper	1
FUS, HNRNPA1, MATR3	RTCB	Sucrose	1
FUS, HNRNPA1, SQSTM1	LDHA	Stiripentol, Nicotinamide, NADH, Copper	4
FUS, HNRNPA1, SQSTM1	SRSF1	Copper	1
FUS, HNRNPA1, TBK1	SFPQ	Copper, Arteminol	2
FUS, HNRNPA1, TUBA4A	SF1		0
FUS, TARDBP, CHMP2B	PHGDH	NADH	1
FUS, TARDBP, HNRNPA1	LSM6	Citric acid	1
FUS, TARDBP, VCP	HLA-B	Coccidioides immitis spherule	1
FUS, VCP, HNRNPA1	ALDOA	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
FUS, VCP, HNRNPA1	PFN1		0
FUS, VCP, TBK1	RPS8		0
FUS, VCP, TUBA4A	ACACA	Biotin	1
FUS, VCP, TUBA4A	EIF6	Copper	1
FUS, VCP, TUBA4A	HSP90B1	Rifabutin, Copper	2
FUS, VCP, TUBA4A	LARS		0
FUS, VCP, TUBA4A	PYCR1	NADH	1
OPTN, HNRNPA1, TBK1	TNF	Golimimumab, Infliximab, Adalimumab, Etanercept, Certolizumab pegol, Pomalidomide, Binimetinib, Thalidomide, etc.	17
OPTN, SQSTM1, TBK1	IKKB	Acetylcysteine, Acetylsalicylic acid, Arsenic trioxide, Auranofin, Fostamatinib, Mesalazine, Sulfasalazine	7
PFN1, ERBB4, SQSTM1	PIK3R1	Isoprenaline	1
PFN1, TUBA4A	GPHN	Propanoic acid	1
SETX, TARDBP, VCP	RPL23A		0
SOD1, ATXN2, VCP	BCAT1	Gabapentin, Glutamic acid, Pyridoxal phosphate, Valine	4
SOD1, FUS, HNRNPA1	PRDX1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1, FUS, VCP	GOT2	Pyridoxal phosphate, Aspartic acid, Cysteine, Glutamic acid	4
SOD1, VCP, ANXA11	PDGCR6	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate, Zinc, Zinc acetate	5
SOD1, VCP, TUBA4A	AADAT	Pyridoxal phosphate, Glutamic acid	2
SOD1, VCP, TUBA4A	AARS		0
SOD1, VCP, TUBA4A	ACSS1		0
SOD1, VCP, TUBA4A	ACSS2	Adenosine phosphate, Bempedoic acid, Sodium acetate	3
SOD1, VCP, TUBA4A	ADK	Ribavirin, Abacavir, Adenosine, Adenosine phosphate	4
SOD1, VCP, TUBA4A	ALDH1A1	Vitamin A, Tretinoin, NADH, Glycerin	4

表2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (4/8)

SOD1, VCP, TUBA4A	ALDH1A2	Vitamin A, Tretinoin, NADH	3
SOD1, VCP, TUBA4A	ALDH1A3	Vitamin A, NADH	2
SOD1, VCP, TUBA4A	ALDH1B1	NADH	1
SOD1, VCP, TUBA4A	ALDH2	Disulfiram, Guanidine, Amyl Nitrite, Benzyl alcohol, Nitric Oxide, Pentaerythritol tetranitrate, Nitroglycerin, etc.	9
SOD1, VCP, TUBA4A	ATP6V1B2	Gallium nitrate	1
SOD1, VCP, TUBA4A	ATP6V1G1	Thonzonium	1
SOD1, VCP, TUBA4A	CBS	Ademetionine, Cysteine, Pyridoxal phosphate	3
SOD1, VCP, TUBA4A	CS	Citric acid	1
SOD1, VCP, TUBA4A	DLAT	NADH	1
SOD1, VCP, TUBA4A	FKBP1A	Tacrolimus, Sirolimus, Pimecrolimus	3
SOD1, VCP, TUBA4A	GCH1		0
SOD1, VCP, TUBA4A	IDH3A	Copper, Manganese, NADH, Xanthinol	4
SOD1, VCP, TUBA4A	KARS	L-Lysine	1
SOD1, VCP, TUBA4A	KCNMA1	Chlorzoxazone, Bendroflumethiazide, Hydroflumethiazide, Diazoxide, Halothane, Hydrochlorothiazide, etc.	10
SOD1, VCP, TUBA4A	MAT1A	Ademetionine, Methionine	2
SOD1, VCP, TUBA4A	NPEPPS		0
SOD1, VCP, TUBA4A	PC	Biotin, Pyruvic acid	2
SOD1, VCP, TUBA4A	PDHA1	NADH	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PDHA2	NADH	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PGAM1	Copper	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PI3F	Cyclosporine	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PPP2CA	Vitamin E	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PPP2CB	Vitamin E	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PRDX2	Copper	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PRDX5	Auranofin	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PYGB	Pyridoxal phosphate	1
SOD1, VCP, TUBA4A	PYGL		0
SOD1, VCP, TUBA4A	PYGM	Pyridoxal phosphate	1
SOD1, VCP, TUBA4A	RRM2	Cladribine, Gallium nitrate	2
SOD1, VCP, TUBA4A	RRM2B	Cladribine	1
SOD1, VCP, TUBA4A	SARS		0
SOD1, VCP, TUBA4A	TPT1	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
SOD1, VCP, TUBA4A	TUBB1	Cabazitaxel, Docetaxel, Eribulin, Vindesine, Paclitaxel	5
SOD1, VCP, TUBA4A	TUBB6		0
SOD1, VCP, TUBA4A	VARS	Valine	1
SPG11, ATXN2, VCP	CD247	Muromonab	1
TARDBP, CHMP2B, HNRNPA1	JUP	Zinc, Zinc acetate	2
TARDBP, UBQLN2, SQSTM1	RPL3	Omacetaxine mepesuccinate, Xanthinol	2
TARDBP, UBQLN2, SQSTM1	RPL35		0
TARDBP, UBQLN2, SQSTM1	RPS2		0
TARDBP, VCP, HNRNPA1	DSP	Zinc, Zinc acetate	2
TARDBP, VCP, HNRNPA1	TOP1	Irinotecan, Topotecan, Trastuzumab deruxtecan, Hexylresorcinol, Sacituzumab govitecan, Sodium stibogluconate	6
TARDBP, VCP, TUBA4A	RPSA	Copper	1
UBQLN2, HNRNPA1, SQSTM1	PARP1	Olaparib, Niraparib, Rucaparib, Talazoparib, Theophylline, Nicotinamide, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	10
UBQLN2, PFN1, SQSTM1	RAC2	Dextromethorphan	1
VAPB, TUBA4A, KIF5A	MTNR1A	Melatonin, Agomelatine, Ramelteon, Tasimelteon	4
VAPB, TUBA4A, SQSTM1	SNCA	Copper	1
VAPB, VCP, TUBA4A	PCYT1A	Choline, Choline salicylate, Lamivudine	3
VAPB, VCP, TUBA4A	PCYT1B	Choline, Choline salicylate	2
VCP, MATR3, TBK1	NFKB2	Glucosamine, Donepezil, Glycyrrhizic acid, Fish oil	4
VCP, SIGMAR1, SQSTM1	CFTR	Bumetanide, Crofelemer, Glyburide, Ibuprofen, Ivacaftor, Lumacaftor, Dexibuprofen, Elexacaftor, Tezacaftor	9
VCP, SIGMAR1, TUBA4A	MSMO1	NADH	1
VCP, TUBA4A, KIF5A	PRKAA2	Fostamatinib, Adenosine phosphate, Topiramate, Acetylsalicylic acid	4
VCP, TUBA4A, SQSTM1	CSNK2A1	Fostamatinib	1
VCP, TUBA4A, SQSTM1	IDH2	Enasidenib	1
VCP, TUBA4A, SQSTM1	MAPT	Paclitaxel, Docetaxel, Astemizole, Lansoprazole, Flortaucipir F-18	5
VCP, UBQLN2, SQSTM1	EPRS	Glutamic acid	1
VCP, UBQLN2, SQSTM1	MTOR	Everolimus, Temsirolimus, Pimecrolimus, Sirolimus, Fostamatinib	5
VCP, UBQLN2, SQSTM1	VIM		0
VCP, UBQLN2, TUBA4A	MAP2K2	Trametinib, Binimetinib, Selumetinib, Bosutinib, Fostamatinib	5
VCP, UBQLN2, TUBA4A	PSMB2	Carfilzomib	1
ATXN2, VCP, ERBB4, TBK1	SRC	Bosutinib, Nintedanib, Dasatinib, Fostamatinib, Ponatinib, Citric acid	6
FUS, MATR3, SQSTM1, TBK1	RELA	Dimethyl fumarate	1
FUS, TARDBP, UBQLN2, SQSTM1	RPL14		0
FUS, TARDBP, UBQLN2, SQSTM1	RPL4		0
FUS, UBQLN2, SQSTM1, TBK1	RPS5		0
FUS, VCP, ERBB4, SQSTM1	PIK3R2	Isoprenaline	1
FUS, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	CTPS1	L-Glutamine	1
FUS, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	PGK1	Lamivudine, Copper	2
OPTN, MATR3, SQSTM1, TBK1	CALM3	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
OPTN, VCP, HNRNPA1, SQSTM1	HSPB1		0

表2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (5/8)

SETX, FUS, VCP, UBQLN2	PCNA	Liothyronine, Acetylsalicylic acid	2
SETX, TARDBP, HNRNPA1, TUBA4A	MYH9		0
SOD1, ALSN, TUBA4A, KIF5A	RAC1	Azathioprine, Dextromethorphan	2
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	AHCY	Copper	1
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	DLD	NADH, Flavin adenine dinucleotide, Glycine	3
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	MAT2A	Ademetionine, Methionine	2
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	MDH2	Xanthinol, NADH, Citric acid	3
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	MTHFD1	NADH	1
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	OAT	Ornithine, Pyridoxal phosphate	2
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A	PDIA3	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1, OPTN, VCP, SQSTM1	SOD1	Vitamin E, Alpha-Tocopherol succinate, Cannabidiol, Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Dopamine, Copper, Zinc, etc.	14
SOD1, SETX, FUS, HNRNPA1	ALB	Abiraterone, Acetaminophen, Acitretin, Acyclovir, Amitriptyline, Arbutin, Asenapine, Atenolol, Atomoxetine, etc.	380
SOD1, TARDBP, CHMP2B, CHCHD10	C1QBP	Hyaluronic acid, Copper	2
SOD1, TARDBP, VCP, KIF5A	ATIC	Methotrexate, Pemetrexed	2
SOD1, VCP, HNRNPA1, ANXA11	AKR1B10	Lumateperone, Sulindac	2
SOD1, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	ARF1	Glycerin	1
SOD1, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	PARK7	Copper	1
SOD1, VCP, PFN1, TUBA4A	ACTA1	Sucrose	1
SOD1, VCP, PFN1, TUBA4A	ACTG1	Copper	1
SOD1, VCP, PFN1, TUBA4A	NME1	Acyclovir, Dicitabine, Sofosbuvir, Tenofovir alafenamide, Adefovir dipivoxil, Lamivudine, Copper, Zinc, etc.	12
SOD1, VCP, TUBA4A, CHCHD10	SLC25A6	Clodronic acid, Etidronic acid	2
SOD1, VCP, UBQLN2, SQSTM1	JQGA1		0
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A	PGD	Gadopentetic acid, Ketotifen, Methotrexate, Dacarbazine, Ritodrine, Furosemide, Meloxicam	7
TARDBP, ATXN2, UBQLN2, SQSTM1	RPL10		0
TARDBP, HNRNPA1, C9orf72, TBK1	APP	Florbetaben (18F), Flutemetamol (18F), Florbetapir (18F), Dimercaprol, Tromethamine, Deferoxamine, Copper, etc.	14
TARDBP, VCP, UBQLN2, SQSTM1	RPS17		0
TARDBP, VCP, UBQLN2, SQSTM1	RPS6		0
VCP, HNRNPA1, SQSTM1, TBK1	NFKBIA	Acetylsalicylic acid	1
VCP, UBQLN2, KIF5A, SQSTM1	TUBA4A	Podofilox, Cabazitaxel, Vinorelbine	3
VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	HIST1H2BC	Copper	1
FUS, TARDBP, HNRNPA1, MATR3, SQSTM1	HNRNPA2B1	Copper	1
FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, SQSTM1	RPS9		0
FUS, VAPB, VCP, TUBA4A, TBK1	CCT3		0
FUS, VCP, HNRNPA1, MATR3, ANXA11	HNRNPH3	Copper	1
FUS, VCP, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	RARA	Tretinoin, Isotretinoin, Acitretin, Adapalene, Alitretinoin, Tazarotene, Trifarotene	7
FUS, VCP, UBQLN2, PFN1, HNRNPA1	MAPK11	Regorafenib	1
FUS, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	RPL18		0
OPTN, ATXN2, VCP, UBQLN2, SQSTM1	HTT	Copper	1
SOD1, ATXN2, ERBB4, TUBA4A, SQSTM1	DLG4	Guanidine	1
SOD1, FUS, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	HSPD1	Copper	1
SOD1, FUS, VCP, HNRNPA1, TUBA4A	PPIA	Cyclosporine, Copper	2
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A, SQSTM1	EIF4A1	Copper	1
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A, SQSTM1	GPI	Copper	1
SOD1, FUS, VCP, TUBA4A, SQSTM1	TKT	Copper	1
SOD1, UBQLN2, PFN1, TUBA4A, SQSTM1	GJA1	Carvedilol	1
SOD1, VCP, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	VDAC1	Cannabidiol	1
SOD1, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, TUBA4A	P4HB		0
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	DARS	Aspartic acid	1
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	FARSA	Phenylalanine	1

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (6/8)

SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	JARS		0
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	NARS	Asparagine	1
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, SQSTM1	SLC25A4	Clodronic acid, Etidronic acid	2
VCP, CHMP2B, MATR3, TUBA4A, KIF5A	ATP6V1A	Alendronic acid, Etidronic acid	2
ALSN, OPTN, VCP, MATR3, ANXA11, KIF5A	YWHA8	Copper	1
ANG, VCP, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1	TP53	Acetylsalicylic acid, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
FUS, ATXN2, ERBB4, MATR3, TUBA4A, TBK1	EGFR	Gefitinib, Afatinib, Cetuximab, Osimertinib, Vandetanib, Brigatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Fostamatinib, Lapatinib, etc.	16
FUS, TARDBP, VCP, PFN1, HNRNPA1, MATR3	FN1	Ocriplasmin, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
FUS, TARDBP, VCP, PFN1, HNRNPA1, MATR3	ITGA4	Tinzaparin, Vedolizumab, Natalizumab	3
FUS, TARDBP, VCP, PFN1, HNRNPA1, MATR3	VCAM1	Carvedilol, Ethanol, Clove oil	3
FUS, VCP, ERBB4, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A	GRB2	Pegademase	1
FUS, VCP, PFN1, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A	CDK2	Bosutinib	1
FUS, VCP, UBQLN2, PFN1, HNRNPA1, SQSTM1	MAPK14	Dasatinib, Fostamatinib	2
SOD1, FUS, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, SQSTM1	ENO1	Arteminol, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
SOD1, TARDBP, VCP, ERBB4, TUBA4A, SQSTM1	HDAC6	Vorinostat, Romidepsin, Bufexamac	3
SOD1, VAPB, VCP, PFN1, TUBA4A, SQSTM1	MAPK1	Turpentine, Arsenic trioxide, Isoprenaline	3
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, KIF5A, SQSTM1	TUBB4B	Mebendazole, Albendazole	2
VCP, UBQLN2, TUBA4A, KIF5A, SQSTM1, TBK1	TUBA3C	Copper	1
FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, MATR3, SQSTM1	HNRNPH1	Copper	1
SOD1, ALSIN, ANG, FIG4, ATXN2, UBQLN2, HNRNPA1	HNF4A	Lauric acid	1
SOD1, FUS, VCP, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A, TBK1	GAPDH	Nifurtimox	1
SOD1, FUS, VCP, PFN1, ERBB4, HNRNPA1, TBK1	ESR1	Raloxifene, Bazedoxifene, Tamoxifen, Estradiol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estriol, etc.	64
SOD1, FUS, VCP, PFN1, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A	CFL1	Copper	1
SOD1, FUS, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1	EEF1A1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SOD1, TARDBP, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1	RACK1	Copper	1
SOD1, VAPB, VCP, UBQLN2, PFN1, TUBA4A, SQSTM1	MAPK3	Sulindac, Arsenic trioxide, Cholecystokinin	3
SOD1, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, TUBA4A, KIF5A, SQSTM1	TUBB3	Ixabepilone	1
SOD1, VCP, UBQLN2, TUBA4A, KIF5A, SQSTM1, TBK1	TUBB4A		0
VAPB, TARDBP, VCP, MATR3, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	NFKB1	Triflusal, Thalidomide, Pseudoephedrine, Donepezil, Glycyrrhizic acid, Fish oil	6
FUS, VAPB, TARDBP, UBQLN2, HNRNPA1, MATR3, ANXA11, SQSTM1	DDX5		0
FUS, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A, KIF5A, SQSTM1	TUBA1A	Vinblastine, Colchicine, Albendazole, Mebendazole	4
FUS, VCP, UBQLN2, HNRNPA1, TUBA4A, NEK1, SQSTM1, TBK1	PKM	Copper, Pyruvic acid	2
SOD1, FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, TUBA4A, ANXA11, SQSTM1	SLC25A5	Clodronic acid, Etidronic acid	2

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (7/8)

SOD1, FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, PFN1, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	TUBB	Vinblastine, Colchicine, Podofilox, Colchicine, Vinorelbine, Vincristine, Copper, Vinflunine	8
SOD1, SETX, VCP, SIGMAR1, PFN1, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A, SQSTM1	MYC	Nadroparin, Acetylsalicylic acid	2
SOD1, FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, SIGMAR1, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	HSPA5	Antithemophilic factor, Acetylsalicylic acid, Lonoctocog alfa, Moroctocog alfa, Copper	5
FUS, VAPB, ANG, VCP, PFN1, ERBB4, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A, ANXA11, KIF5A	MDM2	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
FUS, VAPB, TARDBP, ATXN2, VCP, PFN1, HNRNPA1, MATR3, TUBA4A, ANXA11, KIF5A	JUN	Irbesartan, Adapalene, Vinblastine, Arsenic trioxide	4
FUS, VAPB, TARDBP, ATXN2, VCP, UBQLN2, PFN1, HNRNPA1, MATR3, ANXA11, SQSTM1, TBK1	NTRK1	Amitriptyline, Cenegermin, Entrectinib, Fostamatinib, Imatinib, Larotrectinib, Pralsetinib, Regorafenib	8
SOD1, FUS, TARDBP, FIG4, VCP, UBQLN2, SIGMAR1, PFN1, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	HSPA8	Dasatinib, Copper	2
SOD1, SETX, FUS, TARDBP, VCP, UBQLN2, ERBB4, TUBA4A, TBK1, SOD1, SETX, FUS, VCP, UBQLN2, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A, SQSTM1, TBK1	HSP90AA1	Rifabutin, Nedocromil, Copper	3

表 2 FALS における *in silico* drug screening の解析結果 (8/8)

SALSのリスク遺伝子 (計12種類)	DrugBankに登録のある PPI遺伝子 (計109種類)	PPI遺伝子産物に作用する承認医薬品	(計820個) (計597種類)
<i>C21orf2</i>	<i>ATOX1</i>	Cisplatin, Sucrose, Copper	3
<i>C21orf2</i>	<i>VTN</i>	Abciximab, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
<i>CAMK1G</i>	<i>ACACA</i>	Biotin	1
<i>CAMK1G</i>	<i>ACOX1</i>	Flavin adenine dinucleotide, Vayarin	2
<i>CAMK1G</i>	<i>ACSS1</i>		0
<i>CAMK1G</i>	<i>ACSS2</i>	Sodium acetate, Bempedoic acid, Adenosine phosphate	3
<i>CAMK1G</i>	<i>ACTA1</i>	Sucrose	1
<i>CAMK1G</i>	<i>ACTG1</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>ALDH1A1</i>	Vitamin A, Tretinoin, NADH, Glycerin	4
<i>CAMK1G</i>	<i>ALDH1A2</i>	Vitamin A, Tretinoin, NADH	3
<i>CAMK1G</i>	<i>ALDH1A3</i>	Vitamin A, NADH	2
<i>CAMK1G</i>	<i>ALDH1B1</i>	NADH	1
<i>CAMK1G</i>	<i>ALDH2</i>	Disulfiram, Guanidine, Amyl Nitrite, Benzyl alcohol, Nitric Oxide, Pentaerythritol tetranitrate, Nitroglycerin, etc.	9
<i>CAMK1G</i>	<i>AMT</i>	NADH, Glycine	2
<i>CAMK1G</i>	<i>APRT</i>	Adenosine phosphate, Adenine, Citric acid, 5-O-phosphono-alpha-D-ribofuranosyl diphosphate	4
<i>CAMK1G</i>	<i>ATP6V1B2</i>	Gallium nitrate	1
<i>CAMK1G</i>	<i>CAD</i>	L-Glutamine, Aspartic acid	2
<i>CAMK1G</i>	<i>CFL1</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>CSNK2A1</i>	Fostamatinib	1
<i>CAMK1G</i>	<i>CTNS</i>	Cystine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>CYB5A</i>	Chromium, Chromium gluconate, Chromium nicotinate, Chromic nitrate, Chromous sulfate	5
<i>CAMK1G</i>	<i>EEF1A1</i>	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
<i>CAMK1G</i>	<i>FARSB</i>	Phenylalanine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>FDPS</i>	Alendronic acid, Pamidronic acid, Zoledronic acid, Ibandronate, Risedronic acid	5
<i>CAMK1G</i>	<i>GAPDH</i>	Nifurtimox	1
<i>CAMK1G</i>	<i>GLUL</i>	L-Glutamine, Glutamic acid, Methionine, Capsaicin, Ceftriaxone, Diazoxide, Pegvisomant, Ammonia	8
<i>CAMK1G</i>	<i>GPI</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>HSD17B4</i>	NADH	1
<i>CAMK1G</i>	<i>HSP90AA1</i>	Rifabutin, Nedocromil, Copper	3
<i>CAMK1G</i>	<i>HSP90AB1</i>		0
<i>CAMK1G</i>	<i>HSPD1</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>JARS</i>		0
<i>CAMK1G</i>	<i>MAPK3</i>	Sulindac, Arsenic trioxide, Cholecystokinin	3
<i>CAMK1G</i>	<i>NME1</i>	Acyclovir, Decitabine, Sofosbuvir, Tenofovir alafenamide, Adefovir dipivoxil, Lamivudine, Copper, Zinc, etc.	12
<i>CAMK1G</i>	<i>PGAM1</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PHGDH</i>	NADH	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PPIA</i>	Cyclosporine, Copper	2
<i>CAMK1G</i>	<i>PPIF</i>	Cyclosporine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PPP3R2</i>	Cyclosporine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PRDX2</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PRDX6</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>PSAT1</i>	Pyridoxal phosphate, Glutamic acid	2
<i>CAMK1G</i>	<i>RACK1</i>	Copper	1
<i>CAMK1G</i>	<i>SOD1</i>	Vitamin E, Alpha-Tocopherol succinate, Cannabidiol, Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Dopamine, Copper, Zinc, etc.	14
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB</i>	Vinblastine, Colchicine, Podofilox, Colchicine, Vinorelbine, Vincristine, Copper, Vinflunine	8
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB1</i>	Cabazitaxel, Docetaxel, Eribulin, Vindesine, Paclitaxel	5
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB3</i>	Ixabepilone	1
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB4A</i>		0
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB4B</i>	Mebendazole, Albendazole	2
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBB6</i>		0
<i>CAMK1G</i>	<i>TUBG1</i>	Vinblastine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>VARS</i>	Valine	1
<i>CAMK1G</i>	<i>WARS</i>	Tryptophan	1
<i>CAMTA1</i>	<i>ALB</i>	Abiraterone, Acetaminophen, Acitretin, Acyclovir, Amitriptyline, Arbutin, Asenapine, Atenolol, Atomoxetine, etc.	380
<i>CCNF</i>	<i>RRM1</i>	Cladribine, Clofarabine, Fludarabine, Gemcitabine, Hydroxyurea	5
<i>CCNF</i>	<i>RRM2</i>	Cladribine, Gallium nitrate	2
<i>DPP6</i>	<i>KCNQ2</i>	Imipramine, Disopyramide, Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine	6
<i>DPP6</i>	<i>PRNP</i>	Tetracycline, Copper	2
<i>GPX3</i>	<i>GPX1</i>	Glutathione, Hydrogen peroxide, Thimerosal, Cannabidiol, Selenious acid	5
<i>GPX3</i>	<i>GPX2</i>	Glutathione	1
<i>GPX3</i>	<i>GPX4</i>	Glutathione	1
<i>GPX3</i>	<i>GPX6</i>	Glutathione	1
<i>GPX3</i>	<i>HSD17B10</i>	NADH, Omega-3-carboxylic acids	2
<i>GPX3</i>	<i>KCNMA1</i>	Chlorzoxazone, Bendroflumethiazide, Hydroflumethiazide, Diazoxide, Halothane, Hydrochlorothiazide, etc.	10
<i>MOBP</i>	<i>APP</i>	Florbetaben (18F), Flutemetamol (18F), Florbetapir (18F), Dimercaprol, Tromethamine, Deferoxamine, Copper, etc.	14
<i>SARM1</i>	<i>ATP1A3</i>	Rubidium Rb-82, Ouabain	2
<i>SARM1</i>	<i>LY96</i>	Lauric acid, Morphine	2
<i>SARM1</i>	<i>TLR4</i>	Naloxone, Cyclobenzaprine, Lauric acid, Mifamurtide, Papain	5
<i>SCFD1</i>	<i>BEGN1</i>	Estradiol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estradiol dianthate, Estradiol valerate	6
<i>SCFD1</i>	<i>EGFR</i>	Gefitinib, Afatinib, Cetuximab, Osimertinib, Vandetanib, Brigatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Fostamatinib, Lapatinib, etc.	16
<i>SCFD1</i>	<i>F5</i>	Human thrombin, Protein C, Protein S human, Thrombomodulin alfa, Drotrecogin alfa, etc.	9
<i>SCFD1</i>	<i>F8</i>	Human thrombin, Protein C, Albutrepenonacog alfa, Coagulation Factor IX Human, etc.	14
<i>SCFD1</i>	<i>FOLR1</i>	Methotrexate, Folic acid	2
<i>SCFD1</i>	<i>GRIA1</i>	Perampanel, Lamotrigine, Isoflurane, Sevoflurane, Desflurane, Methoxyflurane, Glutamic acid, Ethanol, etc.	10
<i>SCFD1</i>	<i>HNF4A</i>	Lauric acid	1
<i>SCFD1</i>	<i>LMAN1</i>	Moroctocog alfa, Lonococog alfa, Antihemophilic factor (human recombinant)	3
<i>SCFD1</i>	<i>MCFD2</i>	Moroctocog alfa, Lonococog alfa, Antihemophilic factor (human recombinant)	3
<i>SCFD1</i>	<i>OGDH</i>	Valproic acid, Xanthinol, NADH	3
<i>SCFD1</i>	<i>PDGFRA</i>	Sunitinib, Imatinib, Nintedanib, Pazopanib, Regorafenib, Ripretinib, Becaplermin, Erdafitinib, Lenvatinib, etc.	15
<i>SCFD1</i>	<i>PPBP</i>	Copper	1
<i>SCFD1</i>	<i>SERPINA1</i>	Pentetic acid, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
<i>SCFD1</i>	<i>SNAP25</i>	Botulinum toxin type A	1
<i>SCFD1</i>	<i>TRAPPC3</i>	Palmitic Acid	1
<i>SCFD1</i>	<i>VAMP2</i>	Botulinum Toxin Type B	1
<i>SUSD2</i>	<i>ATF2</i>	Pseudoephedrine	1
<i>SUSD2</i>	<i>DLG4</i>	Guanidine	1
<i>SUSD2</i>	<i>LGALS1</i>		0
<i>TNIP1</i>	<i>CDKN1A</i>	Arsenic trioxide	1
<i>TNIP1</i>	<i>EHHADH</i>	NADH	1
<i>TNIP1</i>	<i>ESR1</i>	Raloxifene, Bazedoxifene, Tamoxifen, Estradiol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estriol, etc.	64
<i>TNIP1</i>	<i>NFKB1</i>	Triflusal, Thalidomide, Pseudoephedrine, Donepezil, Glycyrrhizic acid, Fish oil	6
<i>TNIP1</i>	<i>NFKB2</i>	Glucosamine, Donepezil, Glycyrrhizic acid, Fish oil	4
<i>TNIP1</i>	<i>PIK3CD</i>	Caffeine, Idelalisib, Copanlisib, Fostamatinib, Duvelisib	5
<i>TNIP1</i>	<i>PIK3R1</i>	Isoprenaline	1
<i>TNIP1</i>	<i>RARA</i>	Tretinoin, Isotretinoin, Acitretin, Adapalene, Aitretinoin, Tazarotene, Trifarotene	7
<i>TNIP1</i>	<i>RARG</i>	Tretinoin, Isotretinoin, Acitretin, Adapalene, Aitretinoin, Tazarotene, Trifarotene	7
<i>TNIP1</i>	<i>SI00B</i>	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate, Olopatadine	4
<i>TNIP1</i>	<i>TNF</i>	Golimumab, Infliximab, Adalimumab, Etanercept, Certolizumab pegol, Pomalidomide, Binimetinib, Thalidomide, etc.	17

表3 SALSにおける *in silico* drug screening の解析結果 (1/2)

UNC13A	DNPEP	Glutamic acid	1
UNC13A	SHMT2	Pyridoxal phosphate, Glycine	2
CAMK1G, SARM1	SLC25A4	Clodronic acid, Etidronic acid	2
CAMK1G, SARM1	SLC25A5	Clodronic acid, Etidronic acid	2
CAMK1G, SARM1	SLC25A6	Clodronic acid, Etidronic acid	2
CAMK1G, SCFD1	ENO1	Arteminol, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
CAMK1G, SCFD1	HSPA8	Dasatinib, Copper	2
CAMK1G, TNIP1	MAPK1	Turpentine, Arsenic trioxide, Isoprenaline	3
SCFD1, SARM1	NTRK1	Amitriptyline, Cenegermin, Entrectinib, Fostamatinib, Imatinib, Larotrectinib, Pralsetinib, Regorafenib	8
SUSD2, SCFD1	JUN	Irbesartan, Adapalene, Vinblastine, Arsenic trioxide	4
UNC13A, SCFD1	VAMP1	Botulinum Toxin Type B	1

表3 SALS における *in silico* drug screening の解析結果 (2/2)

ADのリスク遺伝子 (計31種類)	DrugBankに登録のある PPI遺伝子 (計265種類)	PPI遺伝子産物に作用する承認医薬品	(計2125個) (計1086種類)
ABCA7	HNRNPD		0
APOE	A2M	Bacitracin, Becaplermin, Cisplatin, Mangafodipir, Ocriclasmin, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, etc.	11
APOE	ACTG1	Copper	1
APOE	ALB	Abiraterone, Acetaminophen, Acitretin, Acyclovir, Amitriptyline, Arbutin, Asenapine, Atenolol, Atomoxetine, etc.	380
APOE	APOA2	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
APOE	APOA4	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
APOE	APOC2	Copper	1
APOE	APOC3	Copper, Volanesorsen	2
APOE	GCDH	Flavin adenine dinucleotide	1
APOE	GRID2		0
APOE	HSPG2	Palifermin	1
APOE	KCNMA1	Halothane, Chlorzoxazone, Bendroflumethiazide, Hydroflumethiazide, Diazoxide, Hydrochlorothiazide, Dequalinium, etc.	10
APOE	LPL	Tyloxapol, Semaglutide, Omega-3-carboxylic acids, Glycyrhizic acid	4
APOE	MAP2	Estramustine, Paclitaxel, Docetaxel	3
APOE	NOS3	Pentaerythritol tetranitrate, Doxorubicin, Levamlodipine, Sapropterin, Miconazole	5
APOE	PRDX2	Copper	1
APOE	RPL4		0
APOE	SCARB1	Vitamin E, Tocopherol, alpha-Tocopherol acetate, Tocofersolan	4
APOE	SDC2	Sargramostim	1
APOE	VDAC1	Cannabidiol	1
BIN1	ACTA1	Sucrose	1
BIN1	CACNA1C	Amlodipine, Dronedrone, Ibutilide, Nifedipine, Nisoldipine, Verapamil, Cinnarizine, Clevidipine, Diltiazem, etc.	39
BIN1	ENO1	Artenimol, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
BIN1	FBP1	Adenosine phosphate	1
BIN1	PDE4D	Dyphylline, Roflumilast, Crisaborole, Ilprost, Adenosine phosphate	5
BIN1	PDE6G	Sildenafil, Vardenafil	2
BIN1	RYR1	Dantrolene, Tetracaine, Caffeine, Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	6
BIN1	SHMT2	Pyridoxal phosphate, Glycine	2
BIN1	TP73	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
CD2AP	BRCC3	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
CD2AP	CASK	Fostamatinib	1
CD2AP	CD2	Alefacept	1
CD2AP	IQGAP1		0
CD2AP	ITPR3	Caffeine	1
CD2AP	NDUFS5	NADH	1
CD2AP	NOLC1	Doxorubicin	1
CD2AP	PTGES3	Acetaminophen, Copper	2
CD2AP	PTK2B	Leflunomide, Baricitinib, Fostamatinib	3
CD2AP	RET	Imatinib, Erdafitinib	2
CELF1	HNRNP1	Copper	1
CELF1	PPBP	Copper	1
CLU	ACTN1	Copper, Human calcitonin	2
CLU	AIFM1	Flavin adenine dinucleotide	1
CLU	ATF2	Pseudoephedrine	1
CLU	C5	Eculizumab, Ravulizumab, Human immunoglobulin G, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	8
CLU	C8A	Zinc, Zinc acetate	2
CLU	C8B	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
CLU	C8G	Zinc, Zinc acetate, Lauric acid, Citric acid	4
CLU	C9	Copper	1
CLU	CHUK	Sulfasalazine, Mesalazine, Aminosalicilic acid, Acetylcysteine	4
CLU	CYP2E1	Acetaminophen, Aldesleukin, Aminophylline, Azelastine, Benzyl alcohol, Bupropion, Caffeine, Capsaicin, etc.	123
CLU	ELN	Rofecoxib	1
CLU	FOS	Nadroparin	1
CLU	HBA1	Ferric derisomaltose, Ferrous ascorbate, Ferrous fumarate, Ferrous gluconate, Ferrous glycine sulfate, etc.	20
CLU	HSP90B1	Rifabutin, Copper	2
CLU	HSPA5	Antihemophilic factor, Acetylsalicylic acid, Lonocotocog alfa, Morocotocog alfa, Copper	5
CLU	IGHA1	Zinc, Zinc acetate	2
CLU	LALBA	Palmitic Acid	1
CLU	LEPR	Metreleptin	1
CLU	LTF	Parecoxib, Lauric acid, Rose bengal, Nimesulide	4
CLU	LYZ	Propyl alcohol, Sucrose, Rose bengal, Aspartic acid	4
CLU	MAPK1	Turpentine, Arsenic trioxide, Isoprenaline	3
CLU	MMP25	Fenofibrate, Fenofibric acid	2
CLU	NFKBIA	Acetylsalicylic acid	1
CLU	NUCB2	Calcium citrate, Calcium Phosphate, Calcium phosphate dihydrate	3
CLU	PDGFRA	Imatinib, Nintedanib, Pazopanib, Regorafenib, Ripretinib, Becaplermin, Erdafitinib, Fostamatinib, Sorafenib, etc.	15
CLU	PDI3	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
CLU	PONI	Cefazolin, Drospirenone, Edetate calcium disodium anhydrous, Edetate disodium anhydrous, etc.	10
CLU	PPARG	Fenofibric acid, Fenoprofen, Flufenamic acid, Ibuprofen, Mesalazine, Sulfasalazine, Curcumin, Amiodarone, etc.	29
CLU	SEMG1	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
CLU	SRPK2	Adenine	1
CLU	TGFB2	Fostamatinib, Foreskin fibroblast (neonatal), Foreskin keratinocyte (neonatal)	3
CLU	TNF	Golimumab, Infliximab, Adalimumab, Etanercept, Certolizumab pegol, Pomalidomide, Binimetinib, Thalidomide, etc.	17
CLU	TTR	Tafamidis, Flufenamic acid, Levothyroxine, Liotrix, Diethylstilbestrol, Diclofenac, Dimethyl sulfoxide, Liothyronine, etc.	15
CLU	TUBB6		0
CLU	TUFM	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
CR1	C1QA	Cetuximab, Palivizumab, Bevacizumab	3
CR1	C3	Human immunoglobulin G, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
CR1	C4A	Human immunoglobulin G	1
CR1	C4B	Human immunoglobulin G, Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	6
EPHA1	ALK	Crizotinib, Ceritinib, Alectinib, Brigatinib, Lorlatinib, Gilteritinib, Fostamatinib	7
EPHA1	EPHA2	Regorafenib, Dasatinib, Fostamatinib	3
EPHA1	EPHA5	Dasatinib, Fostamatinib	2
EPHA1	EPHB4	Dasatinib, Fostamatinib	2
FERMT2	ALDH7A1	NADH	1
FERMT2	CTNNA1	Urea	1
FERMT2	GSK3B	Lithium citrate, Lithium carbonate, Fostamatinib	3
FERMT2	ITGB1	Antithymocyte immunoglobulin (rabbit)	1
FERMT2	SCLY	Pyridoxal phosphate, Selenium	2
FERMT2	ZYX		0
HLA-DRB1	PHOSPHO1	Choline	1
INPP5D	BCR	Imatinib, Bosutinib, Ponatinib, Dasatinib	4
INPP5D	CD22	Inotuzumab ozogamicin, Moxetumomab Pasudotox	2
INPP5D	CSF2RA	Sargramostim, Clove oil, Foreskin fibroblast, Foreskin keratinocyte	4
INPP5D	CSF2RB	Sargramostim	1
INPP5D	CSF3R	Pegfilgrastim, Filgrastim, Lenograstim, Lippegfilgrastim	4
INPP5D	FCGR2B	Abciximab, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit), Alemtuzumab, Bevacizumab, Etanercept, etc.	9
INPP5D	FGR	Dasatinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	3
INPP5D	FLT3	Nintedanib, Brigatinib, Fedratinib, Fostamatinib, Gilteritinib, Midostaurin, Pexidartinib, Ponatinib, Sorafenib, etc.	11

表 4 AD における *in silico* drug screening の解析結果 (1/4)

INPP5D	IL2	Cefazolin, Pseudoephedrine, Keyhole limpet hemocyanin	3
INPP5D	IL2RA	Aldesleukin, Basiliximab, Denileukin difitox	3
INPP5D	IL2RB	Aldesleukin, Basiliximab, Denileukin difitox	3
INPP5D	IL2RG	Aldesleukin, Denileukin difitox	2
INPP5D	IL3	Amlexanox, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
INPP5D	IL3RA	Sargramostim, Tagraxofusp	2
INPP5D	IL4R	Dupilumab	1
INPP5D	IL5	Mepolizumab, Reslizumab	2
INPP5D	IL5RA	Benralizumab	1
INPP5D	MS4A2	Omalizumab	1
INPP5D	SLAMF7	Elotuzumab	1
INPP5D	TNFRSF1A	Tasonermin	1
INPP5D	XIAP	Dequalinium	1
MEF10C	PHB2	Capsaicin	1
MEF11C	SIRT5	Nicotinamide	1
MEF2C	HDAC4	Belinostat, Panobinostat, Romidepsin, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	7
MEF3C	HDAC5	Belinostat, Panobinostat	2
MEF4C	HDAC7	Belinostat, Panobinostat	2
MEF5C	HDAC9	Valproic acid, Belinostat, Panobinostat	3
MEF7C	MAPK11	Regorafenib	1
MEF8C	MAPK14	Dasatinib, Fostamatinib	2
MEF9C	NCOA2	Diethylstilbestrol, Estradiol acetate, Estradiol benzoate, Estradiol cypionate, Estradiol dieneanthate, Estradiol valerate	6
PICALM	ABCC2	Sulfipyrazone, Indocyanine green acid form, Azithromycin, Belantamab mafodotin, Canagliflozin, Cisplatin, etc.	84
PICALM	CASP3	Minocycline, Acetylsalicylic acid, Pamidronic acid, Glycyrrhizic acid	4
PICALM	TPM1		0
PICALM	VAMP1	Botulinum Toxin Type B	1
PLCG2	AR	Bicalutamide, Danazol, Drospirenone, Estrone, Eugenol, Methyltestosterone, Tamoxifen, Testosterone cypionate, etc.	50
PLCG2	CFL1	Copper	1
PLCG2	CLEC4E	Cholesterol	1
PLCG2	ESD	Glutathione	1
PLCG2	FCER1G	Benzylpenicilloyl polylysine	1
PLCG2	FCGR1A	Atomoxetine, Cetuximab, Alemtuzumab, Bevacizumab, Etanercept, Human immunoglobulin G, Natalizumab, etc.	13
PLCG2	FCGR2A	Cetuximab, Alemtuzumab, Abciximab, Etanercept, Human immunoglobulin G, Sarilumab, Bevacizumab, Catumaxomab	8
PLCG2	FCGR3A	Cetuximab, Alemtuzumab, Benralizumab, Bevacizumab, Etanercept, Human immunoglobulin G, Palivizumab, etc.	11
PLCG2	IGHG4	Copper	1
PLCG2	IGHM	Zinc, Zinc acetate	2
PLCG2	IGKV1-17	Zinc, Zinc acetate	2
PLCG2	IGLC1	Pidolic acid	1
PLCG2	IGLV3-21	Zinc, Zinc acetate	2
PLCG2	ITK	Pazopanib, Fostamatinib, Zanubrutinib	3
PLCG2	PAICS	Aspartic acid	1
PLCG2	PFN1		0
PLCG2	PRKCA	Vitamin E, alpha-Tocopherol succinate, D-alpha-Tocopherol acetate, Midostaurin, Ingenol mebutate, Tamoxifen	6
PLCG2	RAC2	Dextromethorphan	1
PLD3	GJA1	Carvedilol	1
PLD3	HGS	Citric acid	1
PTK2B	CCR5	Maraviroc, Ibalizumab	2
PTK2B	FGFR2	Nintedanib, Palifermin, Regorafenib, Erdafitinib, Fostamatinib, Heparin, Lenvatinib, Pemigatinib, Ponatinib, etc.	14
PTK2B	FGFR3	Nintedanib, Pazopanib, Erdafitinib, Fostamatinib, Lenvatinib, Pemigatinib, Ponatinib, Selpercatinib	8
PTK2B	GRN1	Donepezil, Memantine, Glutamic acid, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	23
PTK2B	GRN2A	Donepezil, Memantine, Glutamic acid, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	24
PTK2B	GRN2B	Donepezil, Memantine, Glutamic acid, Atomoxetine, Acamprosate, Acetylcysteine, Aripiprazole, Methadone, etc.	25
PTK2B	JTGAV	Levothyroxine, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit)	2
PTK2B	JTGB2		0
PTK2B	JTGB3	Abciximab, Tirofiban, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit), Ferric cation, Levothyroxine, Ferric maltol, etc.	8
PTK2B	KCNA2	Dalfampridine, Enflurane, Miconazole, Promethazine	4
PTK2B	PDPK1	Celecoxib, Fostamatinib	2
PTK2B	PIK3CD	Caffeine, Idelalisib, Copanlisib, Fostamatinib, Duvelisib	5
PTK2B	PRKCE	Fostamatinib, Tamoxifen	2
PTK2B	SLC2A1	Etomidate, Butabarbital, Carboxymethylcellulose, D-glucose, Ascorbic acid, Dextrose, Fludeoxyglucose (18F)	7
PTK2B	SNCA	Copper	1
PTK2B	VEGFA	Bevacizumab, Brolucizumab, Ranibizumab, Aflibercept, Vandetanib, Pegaptanib, Dalteparin, Gliclazide, Minocycline, etc.	13
RIN3	MT2A	Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	7
SORL1	APOE	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
SORL1	DLD	NADH, Flavin adenine dinucleotide, Glycine	3
SORL1	FURIN		0
TREM2	NRP1		0
ABI3, APOE	FARSA	Phenylalanine	1
APOE, CLU	MMP3		0
APOE, CLU	PRNP	Tetracycline, Copper	2
APOE, MEF2C	GSNK2A1	Fostamatinib	1
APOE, RIN3	CYP2C8	Abiraterone, Amitriptyline, Amlodipine, Apixaban, Atorvastatin, Azelastine, Benzyl alcohol, Bosutinib, Budesonide, etc.	245
APOE, SORL1	LRP1	Tenecteplase, Coagulation Factor IX Human, Antihemophilic factor (human recombinant), Lonococog alfa, etc.	6
BIN1, CD2AP	ATP6V1A	Alendronic acid, Etidronic acid	2
BIN1, PICALM	ADRB2	Carteolol, Orciprenaline, Terbutaline, Salmeterol, Timolol, Labetalol, Levobunolol, Metipranolol, Pirbuterol, etc.	54
BIN1, PICALM	EGF	Sucralfate, Cholecystokinin	2
BIN1, PICALM	IGF2R	Mecasermin rinfabate, Mecasermin, Cerliponase alfa	3
BIN1, PICALM	M6PR	Alglucosidase alfa, Agalsidase alfa, Agalsidase beta	3
BIN1, PICALM	SYT2	Botulinum toxin type B	1
BIN1, PICALM	TF	Chromium, Cisplatin, Ferric cation, Iron, Aluminum nitrate, Copper, Zinc, Gallium nitrate, Manganese, Rose bengal, etc.	30
BIN1, PICALM	TFFC	Ferric cation, Ferrous ascorbate, Ferrous fumarate, Ferrous gluconate, Ferrous glycine sulfate, etc.	13
BIN1, PICALM	VAMP2	Botulinum Toxin Type B	1
BIN1, PLCG2	PLD1	Miltefosine, Choline, Choline salicylate	3
BIN1, PTK2B	PLD2	Choline, Choline salicylate	2
CASS4, EPHA1	HNF4A	Lauric acid	1
CD2AP, CLU	KEAP1	Dimethyl fumarate	1
CD2AP, CLU	NR3C1	Desoximetasone, Fluticasone, Fludrocortisone, Dexamethasone, Betamethasone, Hydrocortisone, Prednisolone, etc.	61
CD2AP, EPHA1	YES1	Dasatinib, Fostamatinib	2
CD2AP, PICALM	EEF1A1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
CD2AP, PICALM	JTGA4	Tinzaparin, Vedolizumab, Natalizumab	3
CD2AP, PLCG2	FLNA		0
CD2AP, PLD3	ATP6V1B2	Gallium nitrate	1
CD2AP, TREM2	PIK3CA	Alpelisib, Copanlisib, Caffeine	3
CD2AP, TREM2	PIK3R2	Isoprenaline	1
CELFI, CLU	MAPK3	Sulindac, Arsenic trioxide, Cholecystokinin	3
CELFI, CLU	MDM2	Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	4
CELFI, PICALM	MYH9		0
CLU, APOE	VLDR	Tocopherol, alpha-Tocopherol acetate, Ubidecarenone, Beta carotene, Lauric acid	5
CLU, MEF6C	JUN	Iribesartan, Adapalene, Vinblastine, Arsenic trioxide	4
CLU, PLCG2	HSPD1	Copper	1
CLU, PLCG2	IGHG1	Copper	1
CLU, PLD3	BCL2L1	Isosorbide	1

表 4 AD における *in silico* drug screening の解析結果 (2/4)

CLU, PLD3	NFKB1	Donepezil, Triflusal, Thalidomide, Pseudoephedrine, Glycyrrhizic acid, Fish oil	6
CLU, PTK2B	DLG4	Guanidine	1
CR1, PICALM	CD55	Chloramphenicol	1
CR1, PLCG2	CD19	Axicabtagene ciloleucel, Brexucabtagene autoleucel, Blinatumomab, Tisagenlecleucel, Inebilizumab, Tafasitamab	6
EPHA1, PLCG2	RAC1	Azathioprine, Dextromethorphan	2
HLA-DRB1, HLA-DRB5	ARF1	Glycerin	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5	CD274	Atezolizumab, Avelumab, Durvalumab	3
HLA-DRB1, HLA-DRB5	CD3E	Muromonab, Catumaxomab	2
HLA-DRB1, HLA-DRB5	CTSD	Insulin pork	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5	HLA-A	Coccidioides immitis spherule	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5	HLA-DQA2	Insulin pork	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5	HLA-DQB1	Insulin pork	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5	MS4A1	Rituximab, Ofatumumab, Ibritumomab tiuxetan, Obinutuzumab, Ocrelizumab, Tositumomab, etc.	7
HLA-DRB1, HLA-DRB5	PDCD1	Nivolumab, Pembrolizumab, Cemiplimab	3
HLA-DRB1, HLA-DRB5	PRKCG	Fostamatinib, Tamoxifen	2
HLA-DRB1, INPP5D	MME	Liraglutide, Sacubitril, Semaglutide	3
INPP5D, PLCG2	CSF1R	Imatinib, Sunitinib, Fostamatinib, Erdafitinib, Pexidartinib	5
INPP5D, PLCG2	EPOR	Erythropoietin, Methoxy polyethylene glycol-epoetin beta, Darbepoetin alfa, Peginesatide	4
INPP5D, PLCG2	KIT	Imatinib, Pazopanib, Regorafenib, Ripretinib, Avapritinib, Dasatinib, Erdafitinib, Fostamatinib, Lenvatinib, etc.	16
INPP5D, PLCG2	MET	Crizotinib, Cabozantinib, Brigatinib, Fostamatinib, Capmatinib	5
INPP5D, PTK2B	JAK3	Tofacitinib, Baricitinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	4
INPP5D, PTK2B	PRKCD	Ingenol mebutate, Fostamatinib, Tamoxifen	3
PICALM, BIN1	AVPR2	Vasopressin, Desmopressin, Tolvaptan, Lypressin, Demeclocycline, Conivaptan, Terlipressin, Atosiban	8
PICALM, BIN1	CHRM2	Acidinium, Anisotropine methylbromide, Atropine, Bethanechol, Brompheniramine, Carbamoylcholine, Clozapine, etc.	82
PICALM, PLCG2	FN1	Ocriplasmin, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
PLCG2, PTK2B	ERBB2	Afatinib, Pertuzumab, Brigatinib, Fostamatinib, Lapatinib, Trastuzumab, Trastuzumab emtansine, Tucatinib, etc.	9
PLCG2, PTK2B	KDR	Pazopanib, Regorafenib, Nintedanib, Ripretinib, Sorafenib, Sunitinib, Midostaurin, Axitinib, Cabozantinib, Ponatinib, etc.	15
PLCG2, TREM2	B2M	Opium, Copper	2
ABCA7, APOE, CLU	APOA1	Copper, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
APOE, BIN1, PICALM	LDLR	Porfimer sodium, Ubidecarenone, Tocopherol, alpha-Tocopherol acetate	4
APOE, BIN1, PTK2B	MAPT	Paclitaxel, Docetaxel, Astemizole, Lansoprazole, Flirtaucipir F-18	5
APOE, CD2AP, PICALM	VCAM1	Carvedilol, Ethanol, Clove oil	3
BIN1, PICALM, CD2AP, INPP5D, PLCG2	CFTR	Bumetanide, Crofelemer, Glyburide, Ibuprofen, Ivacaftor, Lumacaftor, Dexibuprofen, Elexacaftor, Tezacaftor	9
CD2AP, MEF12C, PLCG2	HCK	Bosutinib, Fostamatinib	2
CD2AP, PLCG2, PTK2B	SPTBN1		0
CD2AP, PLCG2, PTK2B	FLT1	Nintedanib, Pazopanib, Regorafenib, Axitinib, Fostamatinib, Lenvatinib, Selpercatinib, Sorafenib, Sunitinib, etc.	10
CD2AP, PLCG2, PTK2B	GSN	Copper, Zinc, Zinc acetate	3
CD2AP, PTK2B, TREM2	PIK3CB	Caffeine	1
CLU, HLA-DRB1, HLA-DRB5	CANX	Tenecteplase, Morocotocog alfa, Antihemophilic factor, Lonoctocog alfa, Calcium citrate, Calcium Phosphate, etc.	7
CR1, PLCG2, PTK2B	TP53	Acetylsalicylic acid, Zinc, Zinc acetate, Zinc chloride, Zinc sulfate	5
FERMT2, PICALM, PLD3	NTRK1	Amitriptyline, Cenegermin, Entrectinib, Fostamatinib, Imatinib, Larotrectinib, Pralsetinib, Regorafenib	8
HLA-DRB1, HLA-DRB5, PLCG2	CD247	Muromonab	1
HLA-DRB1, HLA-DRB5, PLCG2	CSK	Dasatinib, Fostamatinib	2
INPP5D, PLCG2, PTK2B	JAK1	Ruxolitinib, Tofacitinib, Baricitinib, Fostamatinib, Fedratinib, Upadacitinib, Pralsetinib, Filgotinib	8
INPP5D, PLCG2, PTK2B	JAK2	Ruxolitinib, Tofacitinib, Baricitinib, Fostamatinib, Fedratinib, Entrectinib, Zanubrutinib, Pralsetinib	8
INPP5D, PLCG2, TREM2	BTK	Ibrutinib, Dasatinib, Acalabrutinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	5
APOE, BIN1, CLU, PICALM	LRP2	Cyanocobalamin, Gentamicin, Urokinase, Insulin pork	4
BIN1, CD2AP, RIN3, INPP5D	ABL1	Imatinib, Regorafenib, Bosutinib, Dasatinib, Nilotinib, Ponatinib, Brigatinib, Magnesium gluconate, Fostamatinib	9
BIN1, EPHA1, HLA-DRB1, HLA-DRB5	PKM	Copper, Pyruvic acid	2
BIN1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PICALM	CD3D	Muromonab, Blinatumomab	2
BIN1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PICALM	CD4	Ibalizumab, Antithymocyte immunoglobulin (rabbit)	2
BIN1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PICALM	HSPA8	Dasatinib, Copper	2
EPHA1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PTK2B	HSP90AA1	Rifabutin, Nedocromil, Copper	3
EPHA1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PTK2B	HSP90AB1		0
EPHA1, INPP5D, PLCG2, PTK2B	LYN	Bosutinib, Ponatinib, Nintedanib, Dasatinib, Fostamatinib	5
ABI3, BIN1, CD2AP, CR1, RIN3	MYC	Nadroparin, Acetylsalicylic acid	2
BIN1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PICALM, PLCG2	CD3G	Muromonab	1
CD2AP, INPP5D, PLCG2, PTK2B, TREM2	PIK3R1	Isoprenaline	1
CD2AP, CD33, EPHA1, INPP5D, PTK2B, RIN3	SRC	Bosutinib, Nintedanib, Dasatinib, Fostamatinib, Ponatinib, Citric acid	6
CD2AP, EPHA1, PLCG2, PTK2B, RIN3, TREM2	FYN	Dasatinib, Fostamatinib	2

表 4 AD における *in silico* drug screening の解析結果 (3/4)

<i>APOE, BIN1, CELF1, CLU, FERMT2, NME8, SORL1</i>	<i>APP</i>	Florbetaben (18F), Flutemetamol (18F), Florbetapir (18F), Dimercaprol, Tromethamine, Deferoxamine, Copper, etc.	14
<i>APOE, HLA-DRB1, HLA-DRB5, PLCG2, PTK2B, RIN3, TREM2</i>	<i>LCK</i>	Nintedanib, Dasatinib, Ponatinib, Fostamatinib, Zanubrutinib	5
<i>BIN1, CD2AP, CLU, PICALM, PLCG2, PLD3, PTK2B</i>	<i>EGFR</i>	Gefitinib, Afatinib, Cetuximab, Osimertinib, Vandetanib, Brigatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Fostamatinib, Lapatinib, etc.	16
<i>ABI3, BIN1, CD2AP, CLU, INPP5D, PICALM, PLCG2, PTK2B, RIN3, TREM2</i>	<i>GRB2</i>	Pegademase	1

表 4 AD における *in silico* drug screening の解析結果 (4/4)