

·综述·

反义寡核苷酸技术治疗肌萎缩侧索硬化研究进展[☆]何中慧* 张莹* 姜宏佐*[⊗]

【摘要】肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)尚无有效的治疗方法,目前已经发现多个致病基因以及修饰基因可导致ALS。反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs)是可以调节mRNA的分子工具,可以针对ALS的突变基因进行治疗。本文综述ASOs在ALS治疗中研究进展,从治疗机制、研究情况等方面进行总结,目前针对超氧化物歧化酶基因1(superoxide dismutase 1, *SOD1*)、反式激活反应-DNA-结合蛋白(transactive response DNA binding protein, *TARDBP*)、9号染色体开放阅读框72(chromosome 9 open reading frame 72, *C9ORF72*)、肉瘤融合基因(fused in sarcoma, *FUS*)的ASOs在动物实验中得到其有效的结果,多项临床试验正在进行,但在药物体内分布、药物用量把控、ALS不同类型适用性等方面的问题尚待解决,以研制出减缓疾病进展且副作用小的ASOs。

【关键词】肌萎缩侧索硬化 反义寡核苷酸 基因治疗 鞘内注射 超氧化物歧化酶1 9号染色体开放阅读框72 反式激活反应-DNA-结合蛋白 肉瘤融合基因

【中图分类号】R744.8

【文献标识码】A

Recent progress in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis with antisense oligonucleotides. HE Zhonghui, ZHANG Ying, JIANG Hongquan. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China. Tel: 0451-85555024.

【Abstract】Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease, and there is no effective treatment. Multiple pathogenic genes and modified genes have been found to cause ALS. Antisense oligonucleotide (ASOs) are molecular tools that can not only regulate target mRNA but also be used to treat mutant genes of ALS. This article will review the progress of research on the treatment of common genes in ALS using ASOs, including their therapeutic mechanisms and research processes. At present, ASOs targeting the *SOD1* gene, *TARDBP* gene, *C9ORF72* gene, and *FUS* gene have achieved effective results in animal experiments, and multiple clinical trials are ongoing. However, problems in drug distribution in vivo, drug dosage control, and applicability of different types of ALS still need to be solved. Therefore, it is urgent to develop ASOs that can slow down disease progression with minimal side effects.

【Key words】Amyotrophic lateral sclerosis Antisense oligonucleotide Gene therapy Intrathecal injection *SOD1* *C9ORF72* *FUS* *TARDBP*

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种致命的神经系统退行性疾病,发病机制尚不明确,尚无有效治疗方法。目前美国FDA批准用于治疗ALS的药物有

利鲁唑(Riluzole)、依达拉奉(Edaravone)以及最新获批的AMX0035(Relyvrio)^[1-3],治疗效果有限。ALS约10%的患者为家族型ALS(familial ALS, fALS)。目前已发现30多个fALS相关基因,常见的有超氧化物歧化酶基因1(superoxide dismutase 1, *SOD1*)、9号染色体开放阅读框72(chromosome 9 open reading frame 72, *C9ORF72*)、肉瘤融合基因(fused in sarcoma, *FUS*)、反式激活反应-DNA-结合蛋白(transactive response DNA binding protein, *TARDBP*)等基因^[4]。不同的突变基因有不同的致病机制,反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs)是经过化学修饰的短序列寡核苷酸,可以

doi:10.3969/j.issn.1002-0152.2023.05.007

[☆] 国家自然科学基金青年科学基金(编号:81601102);黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(编号:YQ2020H013);黑龙江省博士后启动基金(编号:LBH-Q19128);中国初级卫生保健基金会(编号:2022HX034)

* 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科(哈尔滨 150001)

[⊗] 通信作者(E-mail: quan@hrbmu.edu.cn)

与ALS致病基因的RNA结合从而降解这些有害基因。本文将对ASOs治疗ALS的机制以及动物研究、临床试验等研究情况进行综述与展望。

1 反义寡核苷酸概述

ASOs可以与编码RNA或非编码RNA结合,通过核糖核酸内切酶(Rnase H)介导靶mRNA降解。ASOs的分子量通常在6~10 kDa,可以通过静脉、皮下、灌肠等方式给药。ASOs已成为调节靶mRNA的重要分子工具及治疗方法,FDA已经批准鞘内注射ASO诺西那生钠(Nusinersen)治疗另一种运动神经元病,即脊肌萎缩症^[5]。对于中枢神经系统疾病,大部分ASOs不能透过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB),因此多采用鞘内注射方式给药^[6]。虽然鞘内注射与其他给药方式相比风险更高,但对治疗中枢神经系统疾病有一定优势:ASOs可以直接作用到中枢神经系统,减少使用剂量,降低成本;可以减少全身给药导致的肝毒性和免疫原性反应等副作用^[7]。

2 反义寡核苷酸在ALS中的应用

约40%~55%的fALS病例由已知的基因变异引起^[8],应用ASOs靶向作用到这些致病RNA可能是一种有效的治疗策略。针对ALS致病基因治疗的研究越来越多,本文对最常见的几种ALS致病基因应用ASOs治疗的研究进展进行介绍。

2.1 SOD1基因 SOD1基因是1993年发现的第一个与ALS相关的基因,SOD1是一种超氧化物歧化酶,具有重要的抗氧化作用^[9]。SOD1致病基因约占fALS的15%~30%,占散发型ALS 2%左右^[10]。现在普遍认为SOD1基因突变致病主要是通过功能获得性(gain-of-function, GOF)机制^[11-12]。

有研究表明,减少突变SOD1的表达可以延缓ALS小鼠的发病时间并延长其存活时间^[9],由此开发出了靶向SOD1 mRNA的ASO ISIS 333611,它可以降低SOD1-G93A转基因大鼠中SOD1 mRNA和蛋白的表达,具有剂量依赖性,可延缓SOD1-G93A转基因大鼠疾病进展,表现出良好的耐受性^[13]。ISIS 333611的1期临床试验(NCT01041222)表明使用该ASO后患者脑脊液中未发现SOD1蛋白减少,仅出现腰椎穿刺后综合征和背痛,未发现其他明显不良反应,证实鞘内注射给药是可行的^[14]。后期研究发现,快速鞘内注射ASO比连续输注效果更好^[15]。随后研究针对mRNA不同靶向区域设计出了新的ASOs BIIB067(tofersen),该ASO抑制SOD1 mRNA表达的能力比ISIS333611更强^[16]。在1~2期临

床试验 (VALOR; NCT02623699) 中受试者在12周内鞘内注射5次ASO或安慰剂,未发现严重不良事件,在低剂量tofersen组中脑脊液中SOD1的浓度降低了1%~27%,在100 mg最高剂量组的脑脊液中SOD1蛋白降低了33%,SOD1呈剂量依赖性下降^[17]。3期临床试验(NCT02623699)结果显示100 mg tofersen可以显著减少脑脊液中SOD1以及血浆神经丝轻链(neurofilament light, NFL)(神经元损伤的标志物)的浓度。遗憾的是在使用28周后,患者临床终点肌萎缩侧索硬化功能评分(ALS functional rating scale-revised, ALSFRS-R)、运动功能、肺功能没有得到改善^[18]。3期临床试验后转为非随机的开放标签扩展试验(open-label extension, OLE)(NCT03070119),52周时的结果显示患者呼吸功能和肌肉力量的下降速度较慢^[19-20]。近期研究正进行针对症状前SOD1突变ALS患者的tofersen临床试验(NCT04856982)^[21],主要研究tofersen是否可以延缓ALS的发病,其主要结局指标是治疗后12个月出现临床症状的患者占总入组者的百分比,次要结局指标是出现临床症状的时间、ALSFRS-R评分以及脑脊液中SOD1和血浆NFL的浓度,计划2027年8月完成该研究。

目前靶向SOD1的ASOs主要是针对SOD1基因,尚不能选择性地靶向作用到SOD1突变基因,故导致整体SOD1水平降低,发生功能丧失(loss-of-function, LOF)突变,引起其他疾病的发生。研究发现尽管SOD1基因敲除的小鼠并没有发生ALS表型,但出现了运动神经元的线粒体密度降低,神经肌肉接头处失神经和功能障碍等表现^[22-23]。尽管目前的临床研究沉默SOD1未发现严重的不良事件,但也要考虑可能因LOF效应导致的不良反应。

2.2 TARDBP基因 TAR-DNA结合蛋白43 (TARDNA binding protein 43, TDP-43)是由TARDBP基因编码的一种广泛表达的DNA/RNA结合蛋白,往返于细胞核和细胞质之间发挥作用^[24]。TDP-43的生理功能包括剪接pre-mRNA、运输mRNA、参与mRNA的稳态调节^[25-26]。TDP-43在脑和脊髓的神经元胞质泛素化包涵体中聚集是ALS的病理特征之一,并与患者的认知功能障碍相关。目前关于TDP-43的致病机制有GOF和LOF两种观点^[27-28]。

由于TDP-43具有重要的生理功能,所以沉默它有较多的风险。ataxin-2通过调节应激颗粒的形成促进TDP-43聚集,抑制ataxin-2蛋白可以延缓TDP-43 ALS小鼠的疾病进展,延长生存时间^[29]。向ALS患者神经元分化的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)中输注以ataxin-2为靶点的ASO,可以逆转核蛋白的细胞质错误定

位^[30]。向刚出生的 TDP-43 ALS 小鼠侧脑室一次性输注 ASO,可减少 ataxin-2 的表达,延长存活时间并改善小鼠的步态症状^[31]。表明靶向 ataxin-2 可以限制疾病的进展。目前已开展针对 ataxin-2 的 ASO BIIB105 (ION541) 1 期临床试验 (NCT04494256),该研究采用鞘内注射递增剂量的 BIIB105 来评估其安全性及药物代谢动力学^[32],预计 2026 年 7 月完成试验。虽然 TDP-43 的重要功能限制了 ASO 的应用,但可以把重点放在调控 TDP-43 的蛋白、RNA 上,在未来也可能找到合适的治疗靶点。

2.3 C9ORF72 基因 研究发现 C9ORF72 基因非编码区的六核苷酸序列 G4C2 重复扩增是欧洲 ALS 患者最常见的致病基因^[33]。在 C9ORF72-ALS 中多个信号通路功能异常,其中 RNA 错误加工是重要的致病因素。C9ORF72 一部分含有重复序列的转录本通过非标准翻译形式 (repeat associated non-AUG [RAN] translation) 翻译,产生二肽重复蛋白 (dipeptide repeat proteins, DRPs), DRPs 可以在中枢神经系统中形成包涵体,进而导致 ALS。含有重复序列的 RNA 在细胞核内聚集形成 RNA 灶,使之不能与 RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 相互作用,引起 RNA 剪切和代谢异常,导致疾病的发生^[33-34]。

为了尽量减轻 ASO 对 C9ORF72 正常功能的影响,需要根据其基因特点进行设计。C9ORF72 有 3 种转录本,转录本 1 和 3 含有较多的重复扩增序列,而转录本 2 不含重复扩增序列并且含量最多。所以设计出的 ASO 与含有 C9ORF72 重复扩增序列的 3' 端结合,可以减少含有重复序列较多的转录本 1 和 3 的表达,减弱其对 C9ORF72 正常功能的影响^[35]。在人类 iPSC 中使用该 ASO 可减少 DRPs 的产生,逆转转录本 1 和 3 的转录变化^[36]。对于含有 450 个 C9ORF72 重复序列的症状前 ALS 成年小鼠,JIANG 等^[37]将含有靶向 G4C2 重复扩增的 ASO 注射到这种小鼠中,观察到其皮质和脊髓中 RNA 病灶以及 DRPs 持续减少,并且小鼠的认知功能障碍改善^[37]。在上述研究基础上,开发出了 ASO BIIB078 并进行了 1 期临床试验 (NCT03626012),结果表明其耐受性良好,仅有轻到中度的不良反应,遗憾的是该试验没有达到任何次要疗效终点,60 mg 剂量组与安慰剂组无明显差异,90 mg 组的疾病进展比安慰组更快,因此该研究提前终止^[38]。近期开发出了一种含硫磷酸酯的立体纯 (stereopure) 寡核苷酸 WVE-004,也针对转录本 1 和 3,保留转录本 2 和 C9ORF72 蛋白^[39]。该药物正在进行 1b/2a 期临床试验 (NCT04931862),招募 42 例患者进行鞘内注射,以评估其安全性及耐受性,预计 2023 年 12 月完成试验。近期研究设计

出了一种新的经化学修饰靶向重复序列的 ASO afinersen,其疗效和耐受性更好^[40]。在 ALS 小鼠等动物模型中证明其具有安全性及有效性,可降低 C9ORF72 重复扩增的症状前标志物 poly (GP),基于此在 FDA 的授权下,研究将 afinersen 应用到 1 例 60 岁 C9ORF72 基因相关 ALS 患者的治疗中 (IND141673),患者的耐受性良好,ALSFRS 评分得到改善,目前该 ASO 正进行更大规模的临床试验^[40]。

2.4 FUS 基因 FUS 是一种与 ALS 相关的在核内广泛表达的 RBP,主要参与 DNA 修复和 RNA 代谢^[41]。FUS 的突变与早发型、青年型 ALS 有关,通常以 FUS 病理性聚集为特征^[41],GOF 为其主要致病机制,因此 ASO 疗法也有良好的应用前景。

构建 ALS-FUS 小鼠模型时,发现 FUS P525L 突变会导致渐进、年龄依赖性的运动神经元退化,同时这种毒性还与 FUS 剂量有关。向 FUS P525L 小鼠侧脑室注射靶向 FUS 第 6 内含子的 ASO ION363,发现小鼠大脑和脊髓中的突变型和野生型 FUS 减少 20%~50%,而且还减少了神经元退行性变和神经肌肉接头处神经支配的丧失^[41]。ION363 在小鼠中的阳性结果,促进了它作为“孤儿药”用于 FUS P525L 突变的 ALS 患者^[41]。近期研究报告 1 例 25 岁快速进展的 ALS-FUS 患者,患者发病 6 个月后接受 ION363 剂量递增治疗,从 20 mg 递增到 120 mg,没有发现严重不良反应,且 ALSFRS-R 评分的下降速度变慢,治疗后不到 1 年时间患者因 ALS 去世^[41]。随后 10 例 FUS ALS 患者也试验性使用 ION363。该 ASO 可以减少患者脊髓中 FUS 总量和 FUS 突变蛋白表达量,脊髓和运动皮质中也几乎没有 FUS 染色^[41]。2021 年研究招募 64 例 ALS 患者开启 ION363 (Jacifusen) 的 3 期临床试验 (NCT04768972),以确定 ION363 是否可以减缓 ALS 患者疾病的进展。研究分两部分进行:第一部分中,参与者将按照 2:1 的比例随机接受 ION363 或安慰剂治疗,采用鞘内注射的方式,为期 29 周;第二部分,所有参与者采用 ION363 治疗,为期 73 周,通过患者的 ALSFRS-R、生活质量和生存率来评估药物的有效性^[42],该试验预计 2025 年 6 月完成。

ASOs 针对 ALS 的多个致病基因都取得了巨大研究进展,多已进入临床试验阶段 (表 1),虽然尚未得到最终期待的治疗效果,但仍是 ALS 基因治疗的希望。

3 反义寡核苷酸治疗 ALS 的挑战

近年来 ASOs 技术已经取得了巨大进展,各种类别的 ASOs 已成为遗传病治疗的新希望,多个 ASOs 正进行临床

表1 ASOs针对ALS不同靶点的临床试验

药物	靶点	阶段	引用文献/试验
Tofersen (BIIB067)	<i>SOD1</i>	停止试验	NCT02623699 ^[20]
Tofersen (BIIB067)	<i>SOD1</i>	3期试验	NCT04856982
ISIS 333611	<i>SOD1</i>	停止试验	NCT01041222 ^[14]
BIIB078	<i>C9ORF72</i>	停止试验	NCT03626012
WVE-004	<i>C9ORF72</i>	1a/2b期临床试验	NCT04931862 ^[39]
afinersen	<i>C9ORF72</i>	1期临床试验	IND 141673 ^[40]
ION541 (BIIB105)	<i>ATXN2</i>	1期临床试验	NCT04494256
Jacifusen (ION363)	<i>FUS</i>	3期临床试验	NCT04768972 ^[42]

试验用于ALS治疗。但仍有很多问题需要解决:首先,药物在ALS患者体内的分布问题,鞘内注射可以通过血脑屏障,使药物广泛分布在脑和脊髓的表面,但是与腺病毒载体治疗相比,其对大脑皮质下结构的作用较差;第二,目前对于基因敲除产生的LOF效应认识还不够全面,所以对于药物的使用频次、剂量等需要更精确地把控;最后,fALS仅占ALS患者的10%,会限制ASOs的广泛应用,但在散发型ALS患者中也发现多个突变基因。相信通过对ALS发病机制的深入研究,ASOs方法的不断优化,该治疗会更加成熟,有望成为ALS的有效治疗药物。

参 考 文 献

- [1] MILLER R G, MITCHELL J D, MOORE D H. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND)[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012, 2012(3): Cd001447.
- [2] ABE K, AOKI M, TSUJI S, et al. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet Neurol, 2017, 16(7): 505-512.
- [3] PAGANONI S, MACKLIN E A, HENDRIX S, et al. Trial of Sodium Phenylbutyrate-Taurursodiol for Amyotrophic Lateral Sclerosis[J]. N Engl J Med, 2020, 383(10): 919-930.
- [4] KIM G, GAUTIER O, TASSONI-TSUCHIDA E, et al. ALS Genetics: Gains, Losses, and Implications for Future Therapies [J]. Neuron, 2020, 108(5): 822-842.
- [5] BENNETT C F, KRAINER A R, CLEVELAND D W. Antisense Oligonucleotide Therapies for Neurodegenerative Diseases[J]. Annu Rev Neurosci, 2019, 42: 385-406.
- [6] MONINE M, NORRIS D, WANG Y, et al. A physiologically-based pharmacokinetic model to describe antisense oligonucleotide distribution after intrathecal administration[J]. J Pharmacokinetic Pharmacodyn, 2021, 48(5): 639-654.
- [7] DOXAKIS E. Therapeutic antisense oligonucleotides for movement disorders[J]. Med Res Rev, 2021, 41(5): 2656-2688.
- [8] ZOU Z Y, CUI L Y, SUN Q, et al. De novo FUS gene mutations are associated with juvenile-onset sporadic amyotrophic lateral sclerosis in China[J]. Neurobiol Aging, 2013, 34(4): 1311-1318.
- [9] ABATI E, BRESOLIN N, COMI G, et al. Silence superoxide dismutase 1 (SOD1): a promising therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)[J]. Expert Opin Ther Targets, 2020, 24(4): 295-310.
- [10] ZOU Z Y, ZHOU Z R, CHE C H, et al. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2017, 88(7): 540-549.
- [11] BRUIJN L I, BECHER M W, LEE M K, et al. ALS-linked SOD1 mutant G85R mediates damage to astrocytes and promotes rapidly progressive disease with SOD1-containing inclusions[J]. Neuron, 1997, 18(2): 327-338.
- [12] GREGORY R I, YAN K P, AMUTHAN G, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs[J]. Nature, 2004, 432(7014): 235-240.
- [13] SMITH R A, MILLER T M, YAMANAKA K, et al. Antisense oligonucleotide therapy for neurodegenerative disease[J]. J Clin Invest, 2006, 116(8): 2290-2296.
- [14] MILLER T M, PESTRONK A, DAVID W, et al. An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study[J]. Lancet Neurol, 2013, 12(5): 435-442.
- [15] RIGO F, CHUN S J, NORRIS D A, et al. Pharmacology of a central nervous system delivered 2'-O-methoxyethyl-modified survival of motor neuron splicing oligonucleotide in mice and nonhuman primates[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2014, 350(1): 46-55.
- [16] MCCAMPBELL A, COLE T, WEGENER A J, et al. Antisense oligonucleotides extend survival and reverse decrement in muscle response in ALS models[J]. J Clin Invest, 2018, 128(8): 3558-3567.
- [17] MILLER T, CUDKOWICZ M, SHAW P J, et al. Phase 1-2 Trial of Antisense Oligonucleotide Tofersen for SOD1 ALS[J]. N Engl J Med, 2020, 383(2): 109-119.
- [18] MILLER T M, CUDKOWICZ M E, GENCE A, et al. Trial of Antisense Oligonucleotide Tofersen for SOD1 ALS[J]. N Engl J Med, 2022, 387(12): 1099-1110.
- [19] MULLARD A. ALS antisense drug falters in phase III[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(12): 883-885.

- [20] MILLER T M, CUDKOWICZ M E, GENG A, et al. Trial of Antisense Oligonucleotide Tofersen for SOD1 ALS[J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(12): 1099–1110.
- [21] BENATAR M, WU J, ANDERSEN P M, et al. Design of a Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial of Tofersen Initiated in Clinically Presymptomatic SOD1 Variant Carriers: the ATLAS Study[J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19(4): 1248–1258.
- [22] FISCHER L R, LI Y, ASRESS S A, et al. Absence of SOD1 leads to oxidative stress in peripheral nerve and causes a progressive distal motor axonopathy[J]. *Exp Neurol*, 2012, 233(1): 163–171.
- [23] HAYES L R, ASRESS S A, LI Y, et al. Distal denervation in the SOD1 knockout mouse correlates with loss of mitochondria at the motor nerve terminal[J]. *Exp Neurol*, 2019, 318: 251–257.
- [24] 巩亚军, 邱凯瑞, 周孝来. 神经退行性疾病的眼部病理改变[J]. *眼科学报*, 2023, 38(3): 225–238.
- [25] AYALA Y M, ZAGO P, D'AMBROGIO A, et al. Structural determinants of the cellular localization and shuttling of TDP-43[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 22): 3778–3785.
- [26] BURATTI E, BARALLE F E. The multiple roles of TDP-43 in pre-mRNA processing and gene expression regulation[J]. *RNA Biol*, 2010, 7(4): 420–429.
- [27] NEUMANN M, SAMPATHU D M, KWONG L K, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Science*, 2006, 314(5796): 130–133.
- [28] DORMANN D, HAASS C. TDP-43 and FUS: a nuclear affair[J]. *Trends Neurosci*, 2011, 34(7): 339–348.
- [29] LY C V, MILLER T M. Emerging antisense oligonucleotide and viral therapies for amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Curr Opin Neurol*, 2018, 31(5): 648–654.
- [30] ZHANG K, DAIGLE J G, CUNNINGHAM K M, et al. Stress Granule Assembly Disrupts Nucleocytoplasmic Transport[J]. *Cell*, 2018, 173(4): 958–971.e917.
- [31] AMADO D A, DAVIDSON B L. Gene therapy for ALS: A review[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(12): 3345–3358.
- [32] KIM G, NAKAYAMA L, BLUM J A, et al. Genome-wide CRISPR screen reveals v-ATPase as a drug target to lower levels of ALS protein ataxin-2[J]. *Cell Rep*, 2022, 41(4): 111508.
- [33] MEJZINI R, FLYNN L L, PITOUT I L, et al. ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1310.
- [34] SAREEN D, O'ROURKE J G, MEERA P, et al. Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(208): 208ra149.
- [35] TRAN H, ALMEIDA S, MOORE J, et al. Differential Toxicity of Nuclear RNA Foci versus Dipeptide Repeat Proteins in a *Drosophila* Model of C9ORF72 FTD/ALS[J]. *Neuron*, 2015, 87(6): 1207–1214.
- [36] DONNELLY C J, ZHANG P W, PHAM J T, et al. RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention[J]. *Neuron*, 2013, 80(2): 415–428.
- [37] JIANG J, ZHU Q, GENDRON T F, et al. Gain of Toxicity from ALS/FTD-Linked Repeat Expansions in C9ORF72 Is Alleviated by Antisense Oligonucleotides Targeting GGGGCC-Containing RNAs[J]. *Neuron*, 2016, 90(3): 535–550.
- [38] KOSS A, POLK D. Biogen and Ionis Announce Topline Phase 1 Study Results of Investigational Drug in C9orf72 Amyotrophic Lateral Sclerosis[Z/OL]. (2022-03-28)[2022-09-30]. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-and-ionis-announce-topline-phase-1-study-results>.
- [39] LIU Y, ANDREUCCI A, IWAMOTO N, et al. Preclinical evaluation of WVE-004, an investigational stereopure oligonucleotide for the treatment of C9orf72-associated ALS or FTD[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 28: 558–570.
- [40] TRAN H, MOAZAMI M P, YANG H, et al. Suppression of mutant C9orf72 expression by a potent mixed backbone antisense oligonucleotide[J]. *Nat Med*, 2022, 28(1): 117–124.
- [41] KOROBEYNIKOV V A, LYASHCHENKO A K, BLANCO-REDONDO B, et al. Antisense oligonucleotide silencing of FUS expression as a therapeutic approach in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Nat Med*, 2022, 28(1): 104–116.
- [42] CODRON P, CASSEREAU J, VOURC'H P. InFUSing antisense oligonucleotides for treating ALS[J]. *Trends Mol Med*, 2022, 28(4): 253–254.

(收稿日期:2022-09-30)

(责任编辑:肖雅妮)