

出國報告（出國類別：國際會議）

參加第 29 屆肌萎縮性脊髓側索硬化症

暨運動神經元疾病國際研討會

(29th International symposium on

ALS/MND) 心得報告

服務機關：臺北榮總神經醫學中心

姓名職稱：主治醫師李宜中

派赴國家：英國

出國期間：2018/12/6-2018/12/11

報告日期：2018/12/26

摘要

感謝科技部的補助及臺北榮民總醫院的支持，讓我們有機會參加 2018 年 12 月 7 日至 12 月 9 日在英國蘇格蘭 Glasgow 由 Motor Neuron Disease Association 及 International Alliance of ALS/MND associations 所舉辦的第二十九屆肌萎縮性脊髓側索硬化症及運動神經元疾病國際學術研討會(29th International Symposium on ALS/MND)。這個會議延續過去高品質與主題內容豐富多元的傳統，除了開幕與閉幕的 joint sessions 外，在三天同步在三個會議場內分別舉行 8 個 Scientific Sessions 以及 11 個 Clinical Sessions。我們所參加的 Scientific Sessions 的主題項目包含 Stem cell models、Cell biology and pathology、Axonal degeneration、Genetics and genomes、Non-neuronal cells、以及 RNA and protein processing，都是各領域在 ALS/MND 主題中近一年的新發現；所參加的 Clinical Sessions 主題包括 Information, autonomy and decision making 與 Clinical trials and trial design。我同時也以學術壁報的形式發表了我們臺灣族群 ALS 病患的臨床致病基因的研究結果，主題為 Mutational analysis of ANXA11 in ALS patients in Taiwan，由於 ANXA11 基因是去年才被發現會造成 ALS，我們的研究在這系列主題的研究中算是較早完成的，因而引起部分神經基因研究同好的興趣與討論。整體而言，本次會議內容新穎精彩，有許多地方值得國內神經學界參考。

關鍵字: 肌萎縮性脊髓側索硬化症、運動神經元疾病、ALS、ANXA11

目次

一、 目的	第 4 頁
二、 過程	第 6 頁
三、 心得	第 10 頁
四、 建議事項（包括改進作法）	第 13 頁
附錄（發表海報摘要）	第 14 頁

一、 目的

肌萎縮性脊髓側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis; ALS)是由於中樞神經系統中運動神經元漸進且廣泛性的退化而產生的疾病，會導致病患表現出全身肌肉漸進性萎縮無力。ALS 的早期徵狀可以從四肢開始，也可能從口咽肌肉開始，即以說話障礙或吞嚥困難為主要表現，然而病患最後都會因肌肉無力而導致吞嚥、咳痰、以及呼吸困難，最終無法維持生存。除了少部分病患會併發額顳型失智症 (frontotemporal dementia; FTD) 外，大部分病患的認知以及感覺功能都能維持正常，也就意味著病患必須清醒地面對病情的惡化與折磨。ALS 疾病的病程相當快，發病後平均餘命為兩至三年，約五分之一的病患存活超過 5 年，而僅有約十分之一的病患存活超過 10 年，目前 ALS 尚無能逆轉病情的藥物，也因為其病徵的悲劇性，又曾在一些名人身上發生，例如著名的美國大聯盟棒球選手 Lou Gehrig 以及物理學家史蒂芬霍金，加之 2014 年冰桶挑戰影片在網際網路上傳播，更提高了大眾與學術界對 ALS 的認識與關注，因此歐美及日本對 ALS 的研究相當的興盛投入，遠遠超過其他與其發生率 (約每十萬人中 1 到 3 人) 相當的罕見疾病。

我個人最早的研究興趣是遺傳性運動感覺神經病變 (Charcot-Marie-Tooth disease; CMT) 的致病基因研究，而 CMT 中有一類罕見的亞型為遺傳性運動神經病變 (Hereditary Motor Neuropathy; HMN)，HMN 的病患只有運動神經受影響而感覺神經是正常的，臨床表現也僅有肌肉萎縮無力的症狀，與 MND (運動神經元疾病) 相似但症狀較輕。由此關聯，我從大約八年前也開始對 ALS/MND 相關主題的各類訊息以及基因研究感到興趣並開始密切關注。ALS 的研究在近年來有連續的重大突破，幾乎每年都有新的致病基因被發現，如 *TARDBP*

(2008)、*FUS* (2009)、*C9ORF72* (2011 年底)、和 *TBKI* (2015)、*CCNF* (2016) 和 *ANXA11* (2017) 等基因，而致病基因的陸續發現，不僅有助於進一步瞭解 ALS 的分子病理機制，同時也可能提供家族性 ALS 病患確切的基因診斷。我們在近幾年內，也跟隨著國際間 ALS 基因研究進展的腳步，對我們臺灣族群 286 位彼此間不具有親屬關聯的 ALS 病友進行 *SOD1*, *C9ORF72*, *TARDBP*, *FUS*, *ATXN2*, *OPTN*, *VCP*, *UBQLN2*, *SQSTM1*, *PFN1*, *HNRNPA1*, *HNRNPA2B1*, *MATR3*, *CHCHD10*, *TUBA4A*, *TBKI*, *CCNF* 以及 *ANXA11* 等基因的突變分析；其中，54 位 ALS 病友 (約佔所有 ALS 病友的百分之十九) 的致病突變都能被明確地找出來。我們這一系列的 ALS 基因研究在世界各族群同領域的研究中都算是較早完成的，因而能在 2011 到 2018 年間陸續發表七篇研究論文於神經醫學及老年醫學領域中頗負聲名的 *Neurobiology Aging* 雜誌上。

我們從基因的角度出發，卻也深刻感受到近年來國際間 ALS 相關研究的熱度與突飛猛進，我們研究團隊既已計畫未來投注更多心力在此一研究領域，就必須更積極的自我充實、自我拓展。因此藉由參加 ALS 專題的國際研討會，了解此疾病在基礎研究、臨床、以及治療等各大方向的最新思維與研發進展，除了能拓展視野、更新資訊以外，也能刺激出更多研究動力、激盪出更多研究想法，甚至也有機會與其他國際間的與會者有更多醫學以及研究上的交流合作。

二、 過程

感謝科技部的補助及臺北榮總的支持，讓我有機會參加 2018 年 12 月 7 日至 12 月 9 日在英國蘇格蘭 Glasgow (格拉斯哥) 由 Motor Neuron Disease Association 及 International Alliance of ALS/MND associations 所組織的第二十九屆肌萎縮性脊髓側索硬化症及運動神經元疾病國際學術研討會 (29th International Symposium on ALS/MND)。主辦單位為 MND Scotland，在研討會之前二到三天是國際 ALS 病友大會，現場有很多病友與家屬的參與，緊接著是我們所參與的、以臨床及基礎研究為主要內容的 ALS/MND 國際學術研討會。歐美地區的 ALS 病友會都非常活躍，並有著非常不錯的募款能力，不僅能主辦大型國際會議，還能設立獎項並提供研究經費鼓勵各項 ALS 研究，今年主辦方還邀請到英國皇室安妮長公主 (HRH The Princess Royal) 蒞臨開場並頒發 ALS 臨床與研究獎項。此會議延續過去高品質與主題內容豐富多元的傳統，除了開幕與閉幕的 joint sessions 外，在三天同步在三個會議場內分別舉行 8 個 Scientific Sessions 以及 11 個 Clinical Sessions。並且鼓勵與會者下載大會 Guidebook App，除了可以隨時查詢議程、各個演講以及學術壁報發表者基本資料、發表大綱與指引地圖，還具備有趣的互動功能，可以對每一場演講的講者或是每一張學術壁報進行評分；在開場不久有一場關於如何定義 ALS/MND 的學術辯論 (The big debate) 中，App 也開放現場投票與提問的功能，讓台下聽眾與辯論正反方學者以及主持人進行回饋與互動。而登入 App 的與會人員都會出現在聯絡人的名單內，可以相互傳訊，方便彼此的交流與意見聯繫。

我們所參加的 Scientific Sessions 的主題項目包含 Stem cell models、Cell biology and pathology、Axonal degeneration、Genetics and genomes、Non-

neuronal cells、以及 RNA and protein processing；我們所參加的 Clinical Sessions 主題包括 Information, autonomy and decision making 與 Clinical trials and trial design。每個議題都是邀請該領域的專家做一到兩場的 Plenary lecture，之後緊接著醫師或研究學者的口頭發表，內容都是各領域在 ALS/MND 主題中近一年的新發現。中午的大會休息時間，我們也參與了 International Conference on Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS (PACTALS) 所舉辦的會中會 (Satellite meeting)，聽取泛亞地區(包括澳洲)多國 ALS 研究團隊進行的最新研究進展報告，並與各國的與會者進行交流，加強與亞洲鄰近國家研究團隊的聯繫。

我個人認為特別精彩的演講如下：

1. Defining ALS/MND: The Big Debate. 由美國 Dr. J Rosenfeld 擔任主持人。辯論者為英國 Dr. A Al-Chalabi、愛爾蘭 Dr. O Hardiman、澳洲 Dr. M Kierman 以及美國 Dr. R Miller。辯論現今 ALS 診斷標準以及臨床試驗的設計上，應該針對個別表現型去詳細分類並分開處置，還是著眼於較下游的、共通的特點去進行發展？(現場投票的結果是：將病人分類進行個別化的處置或試驗獲得較高票數)。
2. Modeling ALS using induced pluripotent stem cells combined with organ-on-chip technology. 由美國 Dr. C Svendsen 主講。主要介紹他參與的美國「Answer ALS」計畫 (<https://www.answerals.org/>)，鼓勵更多臨床單位共襄盛舉。計畫預計收集 1000 個以上 ALS 病患詳細的臨床資料與追蹤紀錄，每個病患都製作並儲存 iPSC lines，然後個別分化成運動神經元後，再進行所謂的”multi-omics”分析，包括 Genomics，

Epigenomics, RNAseq, Proteomics 以及 Cellular metabolomics。最後整合所有臨床與 omics 資訊，利用大數據分析與人工智慧，希望達到「Answer ALS」的終極目標。

3. The microbiome, the immune system and brain function. 由愛爾蘭的 Dr. J.F. Cryan 主講。回顧最近熱門的 Gut-Microbiota-Brain axis (腸-菌-腦軸線) 在神經相關疾病 (例如: 阿茲海默症、帕金森氏症、多發性硬化症、自閉症、中風、癲癇等) 上的研究發現，以及近來在 ALS 研究上的一些開端。
4. Mechanisms of axon degeneration and their relevance to ALS/MND. 由英國 Dr. M.P. Coleman 主講。講述 ALS 與其他神經退化性疾病一樣都具有軸索退化的病徵，因此可以透過基因或是藥物的策略阻斷軸索退化的信息傳導，減緩軸索退化的情形，是一個有潛力的治療標的。
5. Discovery and characterization of a novel genetics variant of ALS. 由英國 Dr. Tobias 主講。他們報告了一個新發現的 ALS 新穎致病基因 (尚未發表)，他們蒐集到了多種種族的病患家系以及一些個別病例都分別帶有這個基因的突變，基因學上的證據充分而且具備 *in vitro* 與 *in vivo* 的突變基因功能驗證，真實性非常高。

而我同時也以學術壁報的形式發表了我們臺灣族群 ALS 病患的臨床致病基因的研究結果，主題為 Mutational analysis of ANXA11 in ALS patients in Taiwan, 由於 ANXA11 基因是去年才被發現會造成 ALS，我們的研究在這系列主題的研究中算是較早完成的，因而引起部分神經基因研究同好的興趣與討論。這篇論文我們投稿給此 ALS/MND 學術研討會後不久，就被 Neurobiology Aging 雜誌

接受並在今年 12 月刊登。整體而言，本次會議內容新穎豐富，有許多地方值得國內神經學界參考。

三、心得

近十年神經醫學領域進步相當的神速，這個國際ALS/MND會議每年提供一個豐富多元的平台，讓全世界各地對ALS/MND有興趣的臨床醫師與研究學者分享最新的臨床診斷建議與醫療處置，還有疾病的分子病理特徵與機制、治療策略等研究的最新進展，以及臨床試驗參考 Guideline (今年在大會也發佈了新的 ALS clinical trial guideline，也同步刊登在 Neurology 雜誌)，我們非常慶幸有參加此次會議，聽到許多令人欽佩的研究論文與整合性的策略報告，也了解到國際間許多正在進行的ALS相關研究與臨床方面的構想與進度。經過這次會議的學習，我對於ALS有更深刻的瞭解與新的認識，其中之一就是如何去更清楚的定義ALS，這個主題在連續幾屆ALS/MND會議的開場Joint session都是第一順位的討論話題。ALS實際上就是一群因不完全相同的病因與機制所造成的疾病的集合體，它的診斷目前是根據漸進性上下運動神經元退化所造成的臨床徵象，包括漸進廣泛性的肌肉萎縮無力、肌腱反射增強、痙攣等。但是在臨床觀察上，符合診斷條件的ALS病人彼此間的臨床表現 (phenotype) 仍可有非常顯著的差異，舉例而言，有些病人是以顯著的上運動神經元病徵為主、有些病人是以顯著的下運動神經元病徵為主、有些病人是以顯著的口咽病徵為主，而有些病人合併有額顳型失智症等認知功能障礙。這些臨床病症表現 (phenotype) 的異質與多樣性 (heterogenous) 也反映出ALS病因以及背後致病機制的複雜性，如果忽略這些而把ALS簡單劃分為單一疾病個體，在發展治療策略上必定會遭受挫折，這也是近幾年來很多ALS新藥臨床試驗失敗止步的原因。因此對於ALS的再分類，有其在臨床處置與研究上的必要性。Dr. J Rosenfeld建議ALS的臨床分類可根據上運動神經元病徵、下運動神經元病徵、口咽病徵、以及併發

認知功能障礙等四個面相，每個面相依其嚴重程度從輕到重定義為A、B、C、D等四個等級來進行ALS的臨床分類。而從基因型 (genotype) 的角度，可根據是否帶有ALS致病突變，以及何種基因突變來做分類。也有很多與會學者致力地在尋找生化、代謝以及non-coding RNA等方面的 Biomarker 來對ALS進行分類與描述，這些努力都飽含著現代精準醫學的精神，大家共同的目標都是希望能發展出ALS sub-population specific 的有效治療策略。

另一個心得是感受到遺傳性神經退化疾病的基因治療時代來臨了。反義寡核苷酸 (Antisense oligonucleotides, ASOs) 等基因治療方法已逐漸成熟。經過過去近二十年的努力，運用藥物化學修飾技術，現今的ASOs藥物可以經 intrathecal 給予進入CSF space後，廣泛且持久地作用於中樞神經系統，單一注射的效果甚至可以持續到4至13週以上。第一個有效並用來治療遺傳性脊髓性肌肉萎縮症患者(spinal muscular atrophy, SMA) 的藥物，是Biogen與Ionis製藥公司合作開發的Spinraza® (nusinersen)，在2016年12月被美國FDA所批准。Ionis是專門研究ASO治療的公司。除了已上市的Spinraza®，目前其他進行到Phase II clinical trial以上的ASO藥物標的包括了轉甲狀腺素基因 (TTR; 家族性澱粉樣多發性神經病變FAP的致病基因)、亨丁頓蛋白基因 (HTT; 亨丁頓氏症HD致病基因)、超氧化物歧化酶基因 (SOD1; ALS其中一種致病基因)、與MAPT (Tau蛋白的基因)。也就是說，在不久的未來，這些蛋白質相關的疾病(proteinopathy)，都有治療的可能。這次會議的與會者也分享了ASO在C9ORF72 (另一個病患族群相當大的 ALS 致病基因)上的*in vivo*研究，以及以腺相關病毒 (adeno-associated virus, AAV) 載體引入Antisense RNA的方式來治療SOD1突變的ALS之*in vivo*研究。此外，也看到不少ALS治療抗體的研究，治療抗體與目標蛋白 (例

如TDP43, RAN等) 結合，可以有效減少其異常推疊或是干擾它與致病途徑的信息傳導因子的結合，可以有效的避免病情惡化。這是一個新的藥物治療時代的開始，相同的治療概念在將來勢必會衍生出各式各樣的臨床應用，我們應該要積極熟悉這個領域，才能更理想的幫助病人。

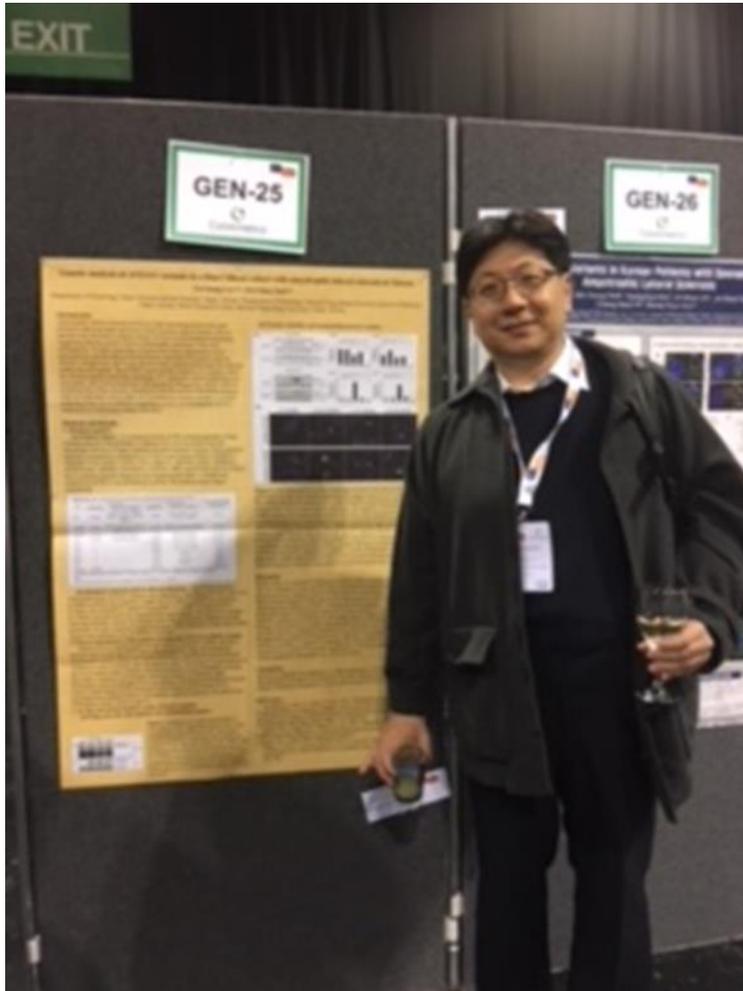
四、 建議事項（包括改進作法）

ALS 雖然是罕見疾病，但是在這次第 29 屆肌萎縮性脊髓側索硬化症暨運動神經元疾病國際研討會中，參與者超過 1200 人，但臺灣的參與者僅有本研究團隊的兩人，而鄰近的中國卻有超過三十位以上的與會者，發表的臨床研究也都頗具規模，這對我們來說是一個很大的警訊。建議政府應擴大鼓勵獎助醫師出國參加學術會議，增進專業涵養並拓展視野；而醫院也可考慮把出國參加學術會議當作重要的醫師在職教育的一環，其本質應為鼓勵而非個人研究做得好的獎勵。

雖然政府及民間媒體經常強調臺灣的醫療水準是非常傑出優越的，然而身為臨床醫療專業的我們應該深知，尤其在尖端醫學的研究上，我們與歐美仍有相當大的落差。醫學如逆水行舟，也需要持續不斷的努力來保持卓越。研究更是如此，不能欠缺自我察覺，必須抬頭看看這世界的樣貌，可能艱鉅、可能非一蹴可及，然而千里之行始於足下，即使困難也還是要堅持努力、朝理想的方向發展。

附錄（會議相關相片紀錄及所發表的學術海報摘要）

以學術壁報的形式發表了我們族群 ALS 病患的臨床突變基因的研究結果，主題為 Mutational analysis of ANXA11 in ALS patients in Taiwan，英文摘要於下頁：



Mutational analysis of *ANXA11* in ALS patients in Taiwan

Yi-Chung Lee, Pei-Chien Tsai, Yi-Chu Liao

Department of Neurology, Taipei Veterans General Hospital, Taipei, Taiwan
Department of Neurology, National Yang-Ming University School of Medicine,
Taipei, Taiwan

Background

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a devastating neurodegenerative disorder primarily affecting upper and lower motor neurons. The genetic contributions to ALS etiology are clearly evidenced by that about 10% of ALS cases are familial. Recently, mutations in the annexin A11 gene (*ANXA11*) have been identified in British or Italian patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and their role in ALS in other ethnic populations remains unclear.

Objectives

To investigate the frequency and spectrum of *ANXA11* mutations in a Taiwanese ALS cohort of Han Chinese origin.

Methods

A continuous series of 286 unrelated patients of Han-Chinese origin with probable or definite ALS was recruited from the Neurology Service of Taipei Veterans General Hospital, Taiwan. These patients had been screened for mutations in 17 ALS causal genes (*SOD1*, *C9ORF72*, *TARDBP*, *FUS*, *ATXN2*, *OPTN*, *VCP*, *UBQLN2*, *SQSTM1*, *PFN1*, *HNRNPA1*, *HNRNPA2B1*, *MATR3*, *CHCHD10*, *TUBA4A*, *TBK1* and *CCNF*) and 54 of them have a positive genetic diagnosis. Mutational analysis of *ANXA11* was performed in all the 286 patients using Sanger sequencing.

Results

Eight heterozygous nonsynonymous *ANXA11* variants were identified, including p.P31R (c.92C>G), p.G89S (c.265G>A), p.Q97X (c.289C>T), p.V208L (c.622G>C), p.T321N (c.962C>A), p.Q362L (c.1085A>T), p.A367V (c.1100C>T) and p.I457V (c.1369A>G), and each was found in one single patient. Among these variants, only the p.Q362L variant was absent in the Taiwan Biobank database and the gnomAD. Polyphen2, SIFT, Mutation Taster and CADD programs support the pathogenicity of the *ANXA11* p.Q362L variant. However, this variant was found in one patients with sporadic ALS. Because of no further strong evidence available to support its pathogenicity, the p.Q362L variant is classified as a variant of uncertain significance (VUS) according to the American College of Medical Genetics (ACMG) guidelines

Discussion

We screened a Taiwanese cohort of 286 unrelated patients with ALS for mutations in the *ANXA11* gene and identified eight heterozygous nonsynonymous variants. Seven of them may be considered as a benign or likely benign variant because of their presence in the population databases. The remaining one variant, p.Q362L, is absent from the population databases and predicted to have a deleterious effect by *in silico* analyses, which meet the criteria of moderate and supporting evidence of pathogenicity in the ACMG guidelines. However, combining these two evidences is not sufficient to support the p.Q362L as a pathogenic or likely pathogenic variant. Therefore, it is classified as a VUS currently.

In conclusion, we did not identify any pathogenic or likely pathogenic *ANXA11* mutation in 286 unrelated Taiwanese ALS patients. Our data indicates that pathogenic *ANXA11* mutations are absent or rare in ALS patients in Taiwan.