



오기욱·오성일^a·김승현

한양대학교 의과대학 신경과학교실, 인제대학교 의과대학 부산백병원 신경과^a

Recent Clinical Trials for Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Update for Therapeutic Trials

Ki-Wook Oh, MD, Seong-il Oh, MD^a, Seung Hyun Kim, MD, PhD

Department of Neurology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea, Department of Neurology^a, Busan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Busan, Korea

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most frequently occurring of the neuromuscular degenerative disorders, with a median survival time of 3-5 years. The underlying pathophysiological mechanisms of the disease remain unclear and complex, and there is no curative treatment in spite of many efforts using various neuroprotective agents until now. Numerous new strategies have been developed for the treatment of ALS. Pathophysiological insights have suggested novel therapeutic approaches, including stem cell and genetics-based strategies, providing hope for feasible treatment of ALS. We discuss the recent therapeutic trials for practical purposes.

Key Words: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS); Clinical trials; Stem cell therapy; Therapy; Motor neuron disease

서 론

운동신경원병(motor neuron disease)은 운동신경세포에 퇴행성 변화가 생겨 근육 쇠약 및 위축을 일으키는 하나의 질환 스펙트럼(disease spectrum)으로 상위운동원징후(Upper motor neuron sign)과 하위운동원징후(lower motor neuron sign)가 동시에 나타나는 근위축성측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS, Lou Gehrig's disease, 또는 Charcot disease)이 가장 흔하며 하위운동원징후만 나타나는 PMA (progressive muscular atrophy), SMA (spinal muscular dystrophy), Spinobulbar muscular atrophy (Kennedy's disease) 등과 같은 lower motor neuron syndrome과 상위운동원징후만 나타나는 PLS (primary lateral sclerosis)와 HSP (hereditary spastic paralysis), 구마비 증상만 한정적으로 나타나는 pro-

gressive bulbar palsy (PBP) 등 다양한 표현형이 존재한다.^{1,2} 이중 ALS가 가장 흔하며 발병률이 10만 명당 1-2명, 유병률은 4-6명 정도이며 증상 발생 후 3-5년 이내에 사망하는 치명적인 질환이다.³ 1993년 가족성 ALS에서 SOD1 유전자가 원인으로 처음 발견된 이래⁴ 2011년에는 C9ORF72가 원인 유전자로 밝혀지고^{5,6} 이를 바탕으로 병리기전에 대한 활발한 연구가 진행 되고 있다. 25년간 약 50여 개의 임상시험이 진행 되었으나 대부분 유효성을 밝히는데 실패하였고 riluzole만이 FDA에서 승인된 유일한 약제이다. 하지만 3-6개월 정도의 생존기간 연장 효과만 있어 새로운 치료제의 개발에 대한 요구가 늘어나고 있다.

EFNS task force team에서 가정용 인공호흡기, 위루술 등과 같은 증상완화 치료(palliative therapy)와 다학제적 팀접근(multidisciplinary team approach)을 통한 ALS환자 관리를 추천하고 있으나⁷ ALS 치료에 있어 궁극적인 목표는 질환의 발생을 늦추고 병의 진행을 늦추는 치료법(disease modifying therapy)의 개발일 것이다. 본 고에서는 운동신경원병 중 가장 흔한 ALS에서 약물치료를 초점을 맞추어 최근 몇 년간 완료된 중요한 임상시험과 현재 진행 중인 임상

Seung Hyun Kim, MD, PhD

Department of Neurology, College of Medicine, Hanyang University, 17 Haengdang-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-792, Korea
TEL: +82-2-2290-8371 FAX: +82-2-2296-8370
E-mail: kimsh1@hanyang.ac.kr

시험에 대해 기술하고 앞으로 새로운 치료제 개발의 방향에 대해 논의 하고자 한다.

본 론

1. 완료된 임상시험

1) Lithium

리튬은 2007년 동물모델을 포함한 여러 세포모델 연구를 통해 자가포식(autophagy)과 연관된 신경보호작용이 있음이 밝혀져 있다.⁸ 비정상적인 사립체와 단백질 응집을 제거하며 아교세포 증식 억제, 그리고 신경세포 분화에 관여하는 것으로 알려져 있다. 긍정적인 전임상연구를 바탕으로 임상시험을 시작하였으며, 44명의 소규모 임상시험에서 12개월과 15개월의 생존율에 유의한 효과가 발견되었고 riluzole 단독 그룹에 비해 리튬과 riluzole 복합 그룹에서 질병 진행이 느려짐을 확인되었다.⁹ 그러나 이후에 진행된 임상시험에서는 효과를 확인할 수 없었다. 2009년에 진행된 대규모 임상시험은 6개월 관찰 기간의 첫 번째 중간 분석에서 질병의 진행에 효과가 발견되지 않아 임상시험이 중단되기도 하였다.¹⁰ 또한 리튬 용량조절 시험¹¹ 과 107명의 리튬 투여군과 249명의 과거 대조군과의 비교 연구(phase II) , 2012년에 발표된 66명 리튬 투여군과 67명 위약군과의 무작위배정 이중눈가림 임상시험(phase IIb)에서도 효과가 없었다.¹² 최근 발표된 2013년 결과에서도 107명의 투여군과 107명의 대조군 연구(phase III)에서 생존율에 차이가 나

지 않았다.¹³

2) Dexamipexole

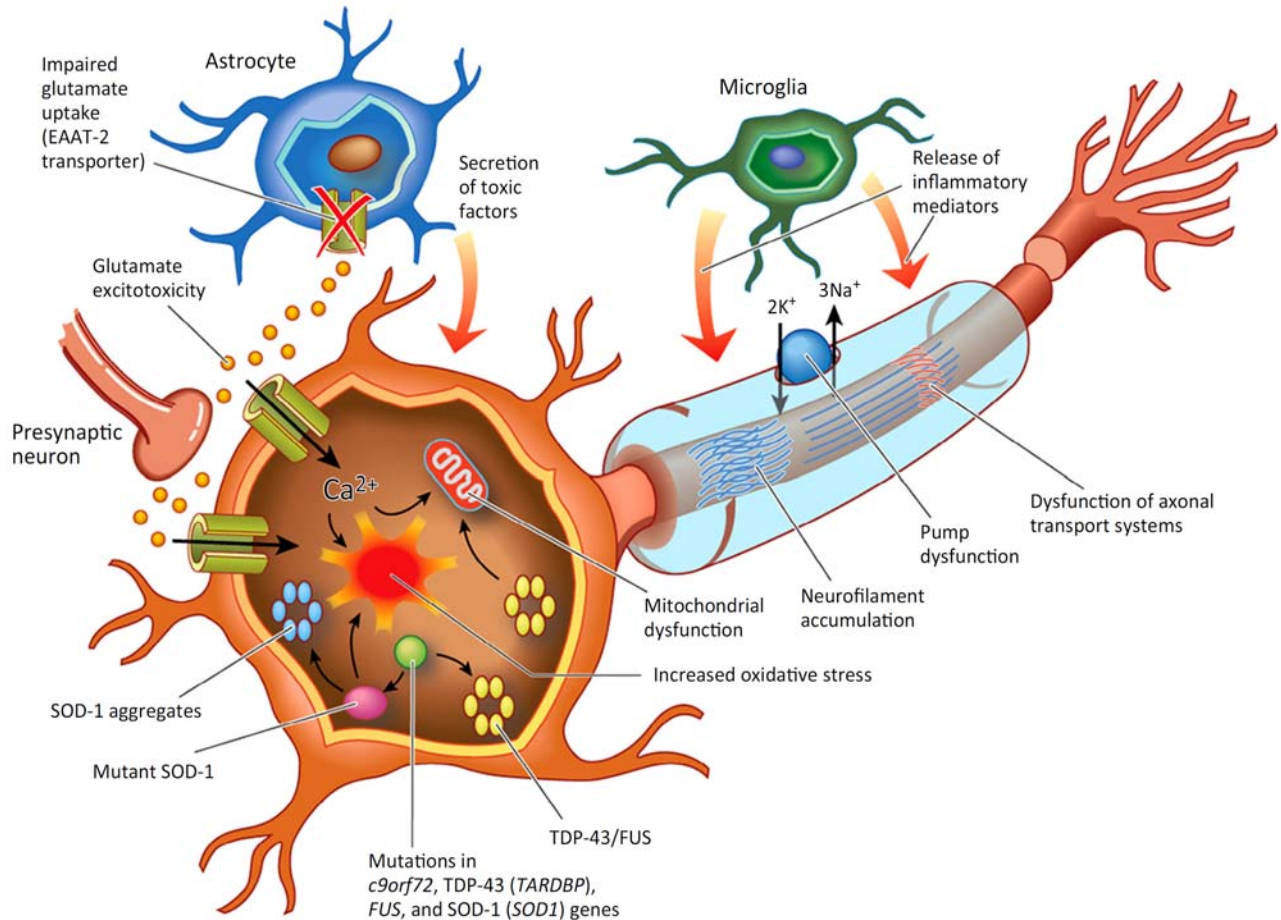
Pramipexole의 R(+) 이성질체(enantiomer)로 사립체에 작용하여 산화인산화 효율을 증가시킴으로써 신경보호 효과를 가지고 있다.¹⁴ SOD1 마우스 모델에서 dexamipexole은 생존시간을 연장시키고 운동기능을 보존하였다.¹⁵ 2011년 보고를 통해 첫 임상시험을 통해 ALS환자에서 안전성(safety)과 내약성(tolerability)을 확인된 바가 있다.¹⁶ 2011년 보고된 phase II 무작위배정, 이중눈가림 임상시험에서는 2 단계로 구성되어 102명의 환자(part I)와 92명의 환자(part II)에서 실시되었고, Part I에서는 용량 의존적으로 기능점수(ALSFRS-R) 감소가 작게 나타났으며, Part II에서는 joint rank 분석을 통해 ALSFRS-R 점수와 사망률에서 유의한 차이가 있었고, 고농도에서 더 효과적이었다.¹⁷ 이후 phase III 임상시험(EMPOWER)가 진행되었으며, 2013년 발표에서는 474명의 투여군(300 mg/d)과 468명의 대조군(위약)에서 12개월째 ALSFRS-R 점수의 변화와 생존시간의 차이가 없었다.¹⁸

3) Talampanel-AMPA receptor antagonists: anti-inflammatory effects

과다한 Glutamate 농도로 인한 흥분독성은 ALS의 병리기전 중 중요한 부분이며 이와 관련되어 AMPA 수용체에 대한 길항제가 G93-SOD1 마우스 모델에서 악력의 호전과 생

Supplement 1. Phases of Clinical Research (http://en.wikipedia.org/wiki/Phases_of_clinical_research)

Phase	Primary goal	Dose	Typical number	Notes
Preclinical	Testing of drug in non-human subjects, to gather efficacy, toxicity and pharmacokinetic information	unrestricted	<i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> only	
Phase 0	Pharmacodynamics and Pharmacokinetics particularly oral bioavailability and half-life of the drug	very small, subtherapeutic	10 people	often skipped for phase I
Phase I	Testing of drug on healthy volunteers for dose-ranging	often subtherapeutic, but with ascending doses	20-100	determines whether drug is safe to check for efficacy
Phase II	Testing of drug on patients to assess efficacy and safety	therapeutic dose	100-300	determines whether drug can have any efficacy
Phase III	Testing of drug on patients to assess efficacy and safety	therapeutic dose	1000-2000	determines a drug's therapeutic effect
Phase IV	Postmarketing surveillance-watching drug use in public	therapeutic dose	anyone seeking treatment from their physician	watch drug's long term effects
Phase V	translational research	no dosing	all reported use	research on data collected



Supplement 2. Pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). The pathophysiological mechanisms underlying neurodegeneration in ALS appear to be multifactorial with evidence of a complex interplay between molecular and genetic pathways. Dysfunction of the astrocytic excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) results in reduced uptake of glutamate from the synaptic cleft and thereby glutamate excitotoxicity. Glutamate-induced excitotoxicity results in increased influx of Na^+ and Ca^{2+} ions and ultimately neurodegeneration through activation of Ca^{2+} -dependent enzymatic pathways. In addition, glutamate excitotoxicity results in the generation of free radicals which in turn contribute to neurodegeneration. Mutations in *c9orf72*, TDP-43 (TARDBP) and FUS result in dysregulated RNA metabolism that ultimately leads to the formation of intracellular aggregates which are harmful to neurons. Of further relevance, mutant SOD-1 enzymes increase oxidative stress, induce mitochondrial dysfunction, form intracellular aggregates, and adversely affect neurofilament and axonal transport processes. Activation of microglia results in secretion of proinflammatory cytokines, producing further toxicity. Abbreviations: *c9orf72*, chromosome 9 open reading frame 72; FUS, fused in sarcoma; SOD-1, superoxide dismutase 1 (SOD1); TDP-43, TAR DNA-binding protein 43 (TARDBP) (Vucic, 2014, Trends in neurosciences).

존을 연장시킨다는 연구가 발표되었다.¹⁹ AMPA 수용체 길항제 중에서 Talapanel은 항경련, 항염증 작용으로 항경련 효과를 통한 난치성 간질에 연구된 약물이다.²⁰ 근위축성측삭경화증에서는 Phase II 59명의 환자를 대상으로 40명의 투여군과 19명의 대조군 연구에서 근력과 ALSFRS 점수의 감소가 느려짐을 확인할 수 있었으나 사망률과 중단을에서 차이가 없었다.²¹ 이러한 결과를 바탕으로 유효성 확인을 위해 Phase III 임상시험이 진행되었으나, 현재 문헌보고가 되어 있지 않으며 효과가 없는 것으로 알려져 있다.

4) Ceftriaxone-reducing glutamate excitotoxicity

Ceftriaxone은 Glutamate 흥분독성을 감소시킴으로써 운동신경세포를 보호하는 것으로 알려져 있다.²² G93-SOD1 마우스 모델에서 ceftriaxone 투여군에서 운동신경세포의 소실을 감소시키고, 근력을 유지하며, 생존율을 증가시켰다.²³ 이러한 결과를 바탕으로 획기적인 방법으로 Phase I, II, III의 임상시험을 같이 진행하였다.²⁴ 1단계에서는 66명의 ALS 환자에서 위약, 2 g/d, 4 g/d의 ceftriaxone으로 투여하며 혈청과 뇌척수액의 약동학(pharmacokinetics)을 확

인하고, 2단계에서는 지속적으로 치료를 유지하는 가운데 20주 투여 시 안전성과 내약성을 확인하였으며, 1단계와 2단계에서 ceftriaxone의 약동학 및 단계별 목적, 그리고 매일 4 g 까지 가능한 안전성과 내약성을 확인할 수 있었기 때문에 3단계에서는 4 g으로 용량을 결정하고 514명의 ALS 환자에게 phase III 연구를 진행하였다. 그러나 2012년 중간 분석 후 투여군과 대조군과의 비교에서 생존율과 기능의 감소 모두에서 차이를 보이지 않아 중단되었다.

2. 진행중/예정인 임상시험

1) NP001

대식세포(macrophage)의 활성화를 조절하는 물질로, ALS의 병리 기전에서 비정상적인 대식세포 활성화가 관계된다는 가정을 통해 NP001가 활성화 또는 염증상태의 대식세포를 정상 기능으로 회복시켜 운동신경세포의 손상을 줄일 수 있다고 가정하였다.²⁵ 136명의 Phase II 무작위배정, 이중눈가림 임상시험이 최근 종료되었으며, 아직 문헌보고는 없지만 2013년 AAN Annual meeting과 ALS/MND symposium에서 발표한 바에 따르면 안전하고 내약성이 좋으며, 질병의 진행을 느리게 하는 경향(13-19%)이 있지만 통계적 유의성은 없었다. 그러나 사후 연구(post hoc analysis)에 의하면 고용도투여군(2mg/kg)에서 대조군과 비교하여 6개월간의 질병 진행이 중단되었고 통계적으로도 유의한 결과를 도출할 수 있었다. 이 결과를 바탕으로 Neuraltus에서는 2014년에 Phase III를 계획하고 있다.

2) Arimoclomol in SOD1

Hydroxylamine 유도체(derivative)로 미국의 CytRx 사에서 합성한 물질이다. 세포의 스트레스상황에서만 heat shock response (세포보호 기전)의 co-inducer처럼 작용한다.²⁶ 따라서 ALS와 같이 세포가 사멸할 때 heat shock protein을 증가시켜 치료효과를 가져올 것으로 예상된다.²⁷ SOD1 G93A 마우스모델에서 근육기능과 생존증가를 보여주었다.²⁸ Phase II 임상시험에서(100 mg three t.i.d) 안전성을 확인하고²⁹ 고용량(400 mg t.i.d)에서의 임상시험(ClinicalTrials.gov NCT00561366)은 제조회사가 약물을 팔아 중단된 상태이다. 200 mg t.i.d. 에서의 phase II/III 임상시험(NCT 00706147)은 SOD1 변이가 확인된 가족형 ALS환자를 대상으로 시험을 진행 중이고 2016년 종료 예정이다.

3) Mexiletine

Sodium channel blocker로 심부정맥과 당뇨병 신경통증에서 FDA승인 받은 약제이다. SOD1 G93A 마우스모델에서 운동신경세포의 사멸을 줄이고 생존을 연장한다는 보고³⁰ 이후 Phase II 임상시험이(ClinicalTrials.gov NCT01849770) 진행 중이고 ALS환자에서 근경련 치료에 대한 임상 시험도(ClinicalTrials.gov NCT01811355) 진행 중이다.

4) Neurite outgrowth inhibitor (Nogo-A)

Nogo-A는 축삭재생을 막는 단백질로 SOD1 마우스 모델에서 발현이 증가가 되고 산발형 ALS환자에서도 발현 증가가 운동기능 악화의 중증도와 연관이 있다고 알려져 있다.^{31,32} Nogo-A유전자가 제거된 ALS마우스 모델에서 근육의 탈신경 감소와 생존 연장되는 반면 과발현된 동물모델에서는 시냅스이후 위축(postsynaptic shrinkage) 과 시냅스이전 신경종말의 수축(presynaptic motor ending retraction)이 확인 되었다.³³ 이런 전임상 결과를 통해 Nogo-A의 발현억제가 ALS 환자의 근육에서 motor nerve terminal을 안정시키고 축삭의 “dying back”을 막아줄 것을 기대하였다. GSK에서 개발된 Ozanezumab은 Nogo-A 단백질을 목표로 하는 단일항체로 ALS환자에서 질환의 속도를 늦추는 것을 목표로 phase I 임상시험을 통해 76명을 대상으로 내약성과 안전성을 확인하고 2015년 완료를 목표로 Phase II 임상시험을 진행 중이다(Clinicaltrials.gov NCT01753076).

5) Fingolimod (brand name Gilenya, Novartis Pharmaceuticals)

Fingolimod는 재발-완화반복성 다발성경화증(relapsing-remitting multiple sclerosis)에서 FDA 승인된 경구약제이다. fingolimod-phosphate로 대사되어 sphingosine 1-phosphate receptor에 작용하여 2차 임파기관에 림프구를 격리시켜 말초혈액의 림프구를 감소시킨다.^{34,35} ALS 전임상 연구에서 면역활성이 증가하는 보고가 늘고 있다. SOD1 G93A 마우스모델에서 활성화된 대식세포가 좌골신경에 침윤하여 운동신경세포의 퇴행에 관여할 수 있는 연구가 있고³⁶ macrophage colony stimulating factor가 질환을 악화시킨다는 연구도³⁷ 있다. 염증성 단백질이 활성화되면서 척수로 동원되는 것은 신경손상과 연관되어있고 miRNA를 이용하여 염증성 단백질을 처리하면 ALS 마우스에서 생존기간이 늘어난다는 연구가 있다.³⁸ 이와 같은 면역조절 기전

때문에 Fingolimod의 신경보호효과가 예상되어 현재 Phase IIa 임상시험이 진행 중이다(Clinicaltrials.gov NCT 01786174).

6) Rasagiline

monoamine-oxide inhibitor로 파킨슨병에서 증상치료제로 FDA승인을 받은 약제이다. 사립체에 작용하여 허혈성질환³⁹, 두부외상⁴⁰, 다계통위축(multiple system atrophy),⁴¹ 그리고 ALS 동물모델에서⁴² 신경보호 작용이 있을 것으로 보고 있다. SOD1 G93A 마우스에서 rasagiline 단독 또는 riluzole과 병용 투여 시 대조군에 비해 운동기능 향상과 생존기간의 연장을 보였다.⁴² 이스라엘에서 진행된 소규모 임상시험에서 riluzole과 병용 투여시 riluzole 단독투여 보다 ALSFRS-R의 감소가 적었다. 80명을 대상으로 하는 Phase II 임상시험이 진행 중이다(Clinicaltrials.gov NCT01786603).

7) Antisense oligonucleotide against SOD1 (ASOs SOD1)

SOD1 유전자돌연변이는 가족성 ALS에서 중요한 유전자 중 하나이며 antisense oligonucleotides (ASO)으로 비정상 SOD1 단백질의 농도를 줄임으로써 SOD1의 독성능력 획득(toxic gain of function)을 조절할 것으로 기대된다. ASO는 짧은 합성 핵산으로 특정 목표 mRNA와 결합하여 RNase 효소의 활성화를 통해 mRNA가 분해를 일으킬 수 있다.^{43,44} SOD1 동물모델에서 뇌실 내로 ASO를 주입 시에 SOD1 단백질이 감소되고, 뇌와 척수의 mRNA 수치가 감소되며, 생존율이 증가되었다. 2013년에 발표된 Phase I 임상시험은 중추신경계질환에서 척수강 내로 투입한 첫 번째 임상시험으로써, SOD1 유전자돌연변이를 가지고 있는 22명의 가족성 ALS 환자의 척수강 내로 ASO 제제(ISIS 333611)를 투여하였을 때, 내약성이 좋고 심각한 부작용은 없었다.⁴⁵ 이에 현재 phase II 임상시험이 계획 중에 있다. ISIS 333611를 개발한 ISIS와 Biogen은 이후의 가족성 ALS 환자의 안티센스(antisense) 전략에서 SOD1 유전자돌연변이를 가진 환자들의 임상적 다양성에 대한 자료를 광범위한 돌연변이 양성 환자군에서 수집하고 독성을 최소화하는데 중점을 두고 있다.

Transactive-region DNA-binding protein gene (TARBDP), fused-in-sarcoma (FUS), ubiquilin-2 gene (UBQLN2), 2011년 발견된 C9ORF72 유전자는 RNA-processing에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁴⁶ 이와 같은 유전자를 목표로 antisense oligonucleotide를 이용한 유전자 치료도 가능할 것으로 보이나 아시아인에서는 C9ORF72 유전자 이상이

거의 없는 등 인종 또는 지역에 따른 유전자의 차이가 있다는 보고가⁴⁷⁻⁵¹ 있어 한국인을 대상으로 한 연구에 한계점이 있을 것으로 보인다.

8) Stem-cell therapy

줄기세포란 분화(differentiation)되지 않은 세포로서, 증식(proliferation)되고, 분화되어 어떤 특정 조직이나 기관을 형성할 수 있는 능력을 가진 세포를 말한다. 줄기세포는 ALS동물모델에서 성장인자(growth factor) 분비, 면역조절(immunomodulation), 미세아교세포의 항염증 작용 또는 운동신경 세포의 대체 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.⁵²⁻⁵⁸ 그래서 줄기세포 치료는 병의 진행을 늦추거나 멈출 수 있을 것으로 기대하고 있고 미래의 ALS치료제로 각광을 받고 있다.

줄기세포는 다양한 신체조직에서 얻을 수 있는데 골수, 신경 줄기세포(neural stem cells), 중간엽줄기세포(mesenchymal stem cells, MSCs), 별아교세포전구세포(astrocyte precursor cells), 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPS), 배아줄기세포(embryonic stem cell) 등이 있다. 배아 줄기세포는 전분화능(pluripotency)을 가지나 종양형성이 많고 윤리적 문제가 있어 아직 까지 사람에서 사용에 제한이 많은 반면 성체줄기세포는 이와 같은 문제점에서 좀더 자유로우나 전분화능이 떨어지는 단점이 있다. iPS는 배아 줄기세포와 비슷한 전분화능을 가지나 iPS 제작 시 viral vector를 사용하고 발암유전자를 포함하는 역분화 인자를 사용한다는 단점이 있어 임상시험에는 제한이 있지만 2014년 9월 세계최초로 일본에서 노인성 황반변성(age-related macular degeneration) 환자 1명을 대상으로 망막색소상피세포를 이식하여 앞으로 ALS에서의 적용이 기대 된다. 그러나 아직까지는 어떤 종류의 줄기세포가 더 안전하고 효과가 있을지는 향후 연구가 필요하다.

다른 질환에서와 마찬가지로 ALS에서의 줄기세포치료도 아직 초기단계이며, 줄기세포가 운동신경세포를 대체하는 것이 이상적이지만, 현 단계에서의 줄기세포치료의 목적은 신경보호작용을 통한 질환의 진행을 늦추는 것이다. 국내 연구진을 통해 ALS 환자를 대상으로 골수에서 유래한 중간엽줄기세포를 분리, 체외 배양하여 척수강 내로 주입하는 Phase I/II 임상시험을(clinicaltrials.gov NCT01363401) 완료하고 2014년 7월 식약처에서 신약시판허가를 받았다.

ALS동물 모델을 사용한 많은 전임상 연구에서 줄기세포 치료를 통하여 운동기능과 생존기간 연장이 보고되고 있

다.^{55,56,59-72} 또한 줄기세포 투여 후 다른 세포로 분화할 수 있다는 것이 여러 연구를 통해 입증되어 세포 치료제로서의 가능성을 더욱 높이고 있다.

ALS에서 줄기세포 치료 시 고려되어야 할 사항은 투여경로, 용량 등이 있다. ALS는 임상시험에서 사용할 수 있는 투여경로로는 정맥 내, 동맥 내, 척수강내, 척수 내, 뇌 등이 있다. 각 투여경로 별로 장단점이 존재하는데 아직까지는 최적의 투여경로에 대해서는 연구가 필요하다. 용량은 줄기세포 배양기술이 아직까지 제한이 있어 한번에 많은 양을 투여하기 어려우며 많은 양을 투여 시 종양생성의 문제가 있기 때문에 이에 대해서도 추가 연구가 필요하다.

줄기세포의 효용성은 직접적인 치료제 개발에 국한되지 않고 ALS의 병태생리를 연구하고 약물스크리닝(drug screening)에 활용 될 수 있다는 점에서 추가적인 이점이 있다.

결론

ALS 치료제 개발을 위한 임상시험이 지난 20여년간 활발하게 이루어졌지만 대부분이 실패하였다. 이는 ALS의 원인과 병리기전이 복잡하기 때문에 아직 병에 대한 정확한 이해가 되지 않고 대부분의 약제들이 한 두 가지 병리기전을 목표로 했기 때문으로 추측된다. 또한 ALS환자마다 병의 진행이나, 첫 증상 발생 부위 등과 같은 임상양상이 다양하기 때문에 환자 모집과 대상의 동질성을 유지하는데 어렵고, 병의 진행을 잘 예측할 수 있는 생체표지자(biomarker)가 부족하기 때문에 임상시험의 평가변수(outcome)을 정하기가 힘들며, 병이 빠르게 진행하여 탈락(drop out)이 많기 때문에 실제 임상시험을 진행하는데 제한 점으로 작용할 것이다. 그러나 새롭게 밝혀지고 있는 유전적 원인, 병리기전 등을 통해 병에 대한 이해를 넓히고 실패한 임상시험을 통해 교훈을 얻는다면 향후 ALS 치료제의 개발을 기대해 볼 수 있을 것이다.

References

- Cleveland DW, Rothstein JD. From Charcot to Lou Gehrig: deciphering selective motor neuron death in ALS. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001;2(11):806-819.
- Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic lateral sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2001;344(22):1688-1700.
- Al-Chalabi A, Hardiman O. The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat. Rev. Neurol.* 2013;9(11):617-628.
- Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362(6415):59-62.
- DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IRR, Boeve BFF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 2011;72(2):245-256.
- Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 2011;72(2):257-268.
- Andersen PM, Abrahams S, Borasio GD, et al. EFNS guidelines on the clinical management of amyotrophic lateral sclerosis (MALS)--revised report of an EFNS task force. *Eur. J. Neurol.* 2012;19(3):360-75.
- Fornai F, Longone P, Ferrucci M, et al. Autophagy and amyotrophic lateral sclerosis: The multiple roles of lithium. *Autophagy* 2008;4(4):527-30.
- Fornai F, Longone P, Cafaro L, et al. Lithium delays progression of amyotrophic lateral sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2008;105(6):2052-7.
- Aggarwal SP, Zinman L, Simpson E, et al. NIH Public Access. 2011;9(5):481-488.
- Chiò a, Borghero G, Calvo a, et al. Lithium carbonate in amyotrophic lateral sclerosis: lack of efficacy in a dose-finding trial. *Neurology* 2010;75(7):619-25.
- Verstraete E, Veldink JH, Huisman MHB, et al. Lithium lacks effect on survival in amyotrophic lateral sclerosis: a phase IIb randomised sequential trial. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2012;83(5):557-564.
- Morrison KE, Dhariwal S, Hornabrook R, et al. Lithium in patients with amyotrophic lateral sclerosis (LiCALS): a phase 3 multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2013;12(4):339-45.
- Alavian KN, Dworetzky SI, Bonanni L, et al. Effects of dextropramipexole on brain mitochondrial conductances and cellular bioenergetic efficiency. *Brain Res.* 2012;1446:1-11.
- Danzeisen R, Schwalenstoecker B, Gillardon F, et al. Targeted antioxidative and neuroprotective properties of the dopamine agonist pramipexole and its nondopaminergic enantiomer SND919CL2x [(+)-2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-6-L-propylamino-benzothiazole dihydrochloride]. Targeted Antioxidative and Neuroprotective Properties of the Dopamine Agonist Pramipexole and Its Nondopaminergic. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;316(1):189-199.
- Bozik ME, Mather JL, Kramer WG, et al. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of KNS-760704 (dextropramipexole) in healthy adult subjects. *J. Clin. Pharmacol.* 2011;51(8):1177-85.
- Cudkowicz M, Bozik ME, Ingersoll EW, et al. The effects of dextropramipexole (KNS-760704) in individuals with amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Med.* 2011;17(12):1652-1656.
- Cudkowicz ME, van den Berg LH, Shefner JM, et al. Dextropramipexole versus placebo for patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2013;12(4):339-45.

- trophic lateral sclerosis (EMPOWER): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2013;12(11):1059-1067.
19. Van Den Bosch L, Robberecht W. Crosstalk between astrocytes and motor neurons: what is the message? *Exp. Neurol.* 2008;211(1):1-6.
20. Chappell A S, Sander JW, Brodie MJ, et al. A crossover, add-on trial of talampanel in patients with refractory partial seizures. *Neurology* 2002;58(11):1680-2.
21. Pascuzzi RM, Shefner J, Chappell AS, et al. A phase II trial of talampanel in subjects with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2010;11(3):266-71.
22. Hedlund E. The protective effects of β -lactam antibiotics in motor neuron disorders. *Exp. Neurol.* 2011;231(1):14-8.
23. Rothstein JD, Patel S, Regan MR, et al. Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature* 2005;433(7021):73-7.
24. Berry JD, Shefner JM, Conwit R, et al. Design and initial results of a multi-phase randomized trial of ceftriaxone in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* 2013;8(4):e61177.
25. Miller RG, Zhang R, Block G, et al. NP001 regulation of macrophage activation markers in ALS: A phase I clinical and biomarker study. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener.* 2014;1-9.
26. Hargitai J, Lewis H, Boros I, et al. Bimoclomol, a heat shock protein co-inducer, acts by the prolonged activation of heat shock factor-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003;307(3):689-695.
27. Kalmar B, Lu C-H, Greensmith L. The role of heat shock proteins in Amyotrophic Lateral Sclerosis: The therapeutic potential of Arimoclomol. *Pharmacol. Ther.* 2014;141(1):40-54.
28. Kieran D, Kalmar B, Dick JRT, et al. Treatment with arimoclomol, a coinducer of heat shock proteins, delays disease progression in ALS mice. *Nat. Med.* 2004;10(4):402-5.
29. Cudkowicz ME, Shefner JM, Simpson E, et al. Arimoclomol at dosages up to 300 mg/day is well tolerated and safe in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2008;38(1):837-44.
30. Fritz E, Izaurieta P, Weiss A, et al. Mutant SOD1-expressing astrocytes release toxic factors that trigger motoneuron death by inducing hyperexcitability. *J. Neurophysiol.* 2013;109(11):2803-14.
31. Dupuis L. Nogo Provides a Molecular Marker for Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 2002;10(3):358-365.
32. Jokic N, Gonzalez de Aguilar J-L, Pradat P-F, et al. Nogo expression in muscle correlates with amyotrophic lateral sclerosis severity. *Ann. Neurol.* 2005;57(4):553-6.
33. Jokic N, Gonzalez de Aguilar J-L, Dimou L, et al. The neurite outgrowth inhibitor Nogo-A promotes denervation in an amyotrophic lateral sclerosis model. *EMBO Rep.* 2006;7(11):1162-7.
34. Cohen J a, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2010;362(5):402-15.
35. Mandala S, Hajdu R, Bergstrom J, et al. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine-1-phosphate receptor agonists. *Science* 2002;296(5566):346-9.
36. Kano O, Beers DR, Henkel JS, Appel SH. Peripheral nerve inflammation in ALS mice: cause or consequence. *Neurology* 2012;78(11):833-5.
37. Gowing G, Lalancette-Hébert M, Audet J-N, et al. Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) exacerbates ALS disease in a mouse model through altered responses of microglia expressing mutant superoxide dismutase. *Exp. Neurol.* 2009;220(2):267-75.
38. Butovsky O, Siddiqui S, Gabriely G, et al. Modulating inflammatory monocytes with a unique microRNA gene signature ameliorates murine ALS. *J. Clin. Invest.* 2012;122(9):3063-87.
39. Speiser Z, Mayk a, Eliash S, Cohen S. Studies with rasagiline, a MAO-B inhibitor, in experimental focal ischemia in the rat. *J. Neural Transm.* 1999;106(7-8):593-606.
40. Huang W, Chen Y, Shohami E, Weinstock M. Neuroprotective effect of rasagiline, a selective monoamine oxidase-B inhibitor, against closed head injury in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 1999;366(2-3):127-35.
41. Stefanova N, Poewe W, Wenning GK. Rasagiline is neuroprotective in a transgenic model of multiple system atrophy. *Exp. Neurol.* 2008;210(2):421-7.
42. Waibel S, Reuter A, Malessa S, et al. Rasagiline alone and in combination with riluzole prolongs survival in an ALS mouse model. *J. Neurol.* 2004;251(9):1080-4.
43. Miller TM, Smith RA, Kordasiewicz H, Kaspar BK. Gene-targeted therapies for the central nervous system. *Arch. Neurol.* 2008;65(4):447-51.
44. Bennett CF, Swayze EE. RNA targeting therapeutics: molecular mechanisms of antisense oligonucleotides as a therapeutic platform. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2010;50:259-93.
45. Miller TM, 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. *Lancet. Neurol.* 2013;12(5):435-42.
46. Turner MR, Hardiman O, Benatar M, et al. Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol.* 2013;12(3):310-322.
47. Kim H-J, Kwon M-J, Choi W-J, et al. Mutations in UBQLN2 and SIGMAR1 genes are rare in Korean patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Aging* 2014;35(8):1957.e7-8.
48. Kwon M-J, Baek W, Ki C-S, et al. Screening of the SOD1, FUS, TARDBP, ANG, and OPTN mutations in Korean patients with familial and sporadic ALS. *Neurobiol. Aging* 2012;33(5):1017.e17-23.
49. Xie T, Deng L, Mei P, et al. A genome-wide association

- study combining pathway analysis for typical sporadic amyotrophic lateral sclerosis in Chinese Han populations. *Neurobiol. Aging* 2014;35(7):1778.e9-1778.e23.
50. Zou Z-Y, Li X-G, Liu M-S, Cui L-Y. Screening for C9orf72 repeat expansions in Chinese amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurobiol. Aging* 2013;34(6):1710.e5-6.
51. Jang J-H, Kwon M-J, Choi WJ, et al. Analysis of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in Korean patients with familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Aging* 2013;34(4):1311.e7-9.
52. Kwon M-S, Noh M-Y, Oh K-W, et al. The immunomodulatory effects of human mesenchymal stem cells on peripheral blood mononuclear cells in ALS patients. *J. Neurochem.* 2014;1-13.
53. Kim HY, Kim H, Oh K-W, et al. Biological markers of Mesenchymal Stromal Cells as Predictors of response to Autologous Stem Cell Transplantation in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis; an Investigator-Initiated Trial and in Vivo Study. *Stem Cells* 2014;32(10):2724-2731.
54. Hargus G, Ehrlich M, Hallmann A-L, Kuhlmann T. Human stem cell models of neurodegeneration: a novel approach to study mechanisms of disease development. *Acta Neuropathol.* 2014;127(2):151-173.
55. Lunn JS, Sakowski SA, Feldman EL. Concise review: Stem cell therapies for amyotrophic lateral sclerosis: recent advances and prospects for the future. *Stem Cells* 2014;32(5):1099-1109.
56. Meamar R, Nasr-Esfahani MH, Mousavi SA, Basiri K. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Clin. Neurosci.* 2013;20(12):1659-1663.
57. Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switches of inflammation. *Cell Stem Cell* 2013;13(4):392-402.
58. Koh S, Baik W, Noh MY, et al. The functional deficiency of bone marrow mesenchymal stromal cells in ALS patients is proportional to disease progression rate. *Exp. Neurol.* 2012;233(1):472-480.
59. Feldman EL, Boulis NM, Hur J, et al. Intraspinal neural stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: Phase 1 trial outcomes. *Ann. Neurol.* 2014;75(3):363-373.
60. Moviglia GA, Moviglia-Brandolino MT, Varela GS, et al. Feasibility, safety, and preliminary proof of principles of autologous neural stem cell treatment combined with T-cell vaccination for ALS patients. *Cell Transplant.* 2012;21 Suppl 1:S57-63.
61. Blanquer M, Moraleda JM, Iniesta F, et al. Neurotrophic bone marrow cellular nests prevent spinal motoneuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis patients: a pilot safety study. *Stem Cells* 2012;30(6):1277-1285.
62. Chen L, Chen D, Xi H, et al. Olfactory ensheathing cell neurorestoration therapy for amyotrophic lateral sclerosis patients: benefits from multiple transplantations. *Cell Transplant.* 2012;21 Suppl 1:S65-77.
63. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al. Mesenchymal stromal cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: a long-term safety study. *Cytotherapy* 2012;14(1):56-60.
64. Prabhakar S, Marwaha N, Lal V, et al. Autologous bone marrow-derived stem cells in amyotrophic lateral sclerosis: A pilot study. *Neurol. India* 2012;60(5):465-469.
65. Glass JD, Boulis NM, Johe K, et al. Lumbar intraspinal injection of neural stem cells in patients with amyotrophic lateral sclerosis: results of a phase I trial in 12 patients. *Stem Cells* 2012;30(6):1144-1151.
66. Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol.* 2010;67(10):1187-1194.
67. Mazzini L, Ferrero I, Luparello V, et al. Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial. *Exp. Neurol.* 2010;223(1):229-237.
68. Kim HY, Paek J, Park HK, et al. Efficacy and Safety of Autologous Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell Treatment in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Korean Neurol Assoc* 2009;27(2):163-169.
69. Cashman N, Tan L-Y, Krieger C, et al. Pilot study of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Muscle Nerve* 2008;37(5):620-625.
70. Huang H, Chen L, Xi H, et al. Fetal olfactory ensheathing cells transplantation in amyotrophic lateral sclerosis patients: a controlled pilot study. *Clin. Transplant.* 2008;22(6):710-718.
71. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, et al. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2003;4(3):158-161.
72. Janson CG, Ramesh TM, During MJ, et al. Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 2001;10(6):913-915.