

Title	神経変性と小胞体ストレス：新規小胞体ストレス関連疾患, Seipinopathyの神経変性分子機構
Sub Title	Neurodegeneration and endoplasmic reticulum stress: molecular pathogenesis of a novel endoplasmic reticulum stress-related disease, seipinopathy
Author	伊東, 大介(Ito, Daisuke)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2008
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.85, No.1 (2008. 4) ,p.25- 30
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	受賞記念講座(三四会奨励賞)
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20080400-0025

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

受賞記念講座 (三四会奨励賞)

神経変性と小胞体ストレス

新規小胞体ストレス関連疾患, Seipinopathy の神経変性分子機構

Neurodegeneration and endoplasmic reticulum stress:

Molecular pathogenesis of a novel endoplasmic reticulum stress-related disease, Seipinopathy

慶應義塾大学医学部神経内科

いとう だいすけ
伊東 大介

Department of Neurology, School of Medicine, Keio University

Daisuke Ito, MD, PhD

ABSTRACT

In 2004, heterozygous mutations (N88S, S90L) in the Seipin/BSCL2 gene were identified in two autosomal dominant motor neuron diseases, distal hereditary motor neuropathy type V and Silver syndrome. Recent phenotype analyses of the N88S and S90L mutations have revealed a wide spectrum of seipin-related motor neuron diseases, including Silver syndrome, distal hereditary motor neuropathy type V, variants of Charcot-Marie-Tooth disease type 2, and spastic paraplegia; therefore, we propose that seipin-related motor neuron diseases should be referred to collectively as "seipinopathies".

Seipin is a transmembrane protein that is localized in the endoplasmic reticulum (ER). Interestingly, the N88S and S90L mutations both disturb the N-glycosylation motif, suggesting that improper glycosylation of seipin is closely associated with the pathogenesis of motor neuron diseases. Our recent study demonstrated that the mutations enhance ubiquitination and degradation by ubiquitin-proteasome system, and mutants appear to be improperly folded, resulting in their accumulation in the ER. Furthermore, expression of mutant seipin in cultured cells activates ER stress signaling pathway, unfolded protein response, and induces ER stress-mediated apoptosis. Our findings suggest that seipin-related motor neuron diseases, seipinopathies are novel conformational diseases, and we propose that the pathological process of these diseases is tightly associated with ER stress. Although further studies are needed to elucidate the molecular pathogenesis of motor neuron diseases including seipin-related diseases, we could hope that control of ER stress will delay or prevent neurodegeneration in motor neuron diseases.

Key Words : Endoplasmic reticulum stress, Motor neuron disease, Ubiquitin, Proteasome, Lipodystrophy

1. はじめに

神経変性疾患は、神経内科学の中でもっとも大きな存在をしめる疾患群の一つである。その障害は神経系に局限しているにもかかわらず、きわめて複雑、多岐にわたる疾患で構成される。確実に慢性に進行し、依然、難治性で予後不良なものがほとんどである。Raymond D. Adams & Maurice Victorによれば、その特徴として、(1) 神経系は正常に発達、機能した後、加齢とともにその障害が慢性に進行する。(2) 中枢神経系の中で、ある系統が選択的に障害される。(3) 遺伝性のものが含まれる。(4) 原因不明である。と述べられている¹⁾。90年代に入り、ゲノム解析の手法の躍進とともに、遺伝性神経変性疾患の解析が進み、神経変性に関与する原因遺伝子が次々に同定されてきた。しかし、その原因遺伝子は、変性過程が起こる以前、発生初期より発現しているものが多く、その分布も変性部位に局限しておらず、中枢神経以外の組織を含めユビキタスに存在するものがある。つまり、原因遺伝子の発現は変性過程の時期、部位とも一致しないものがほとんどであることがわかった。

生化学、分子生物学を subspecialty に持つ多くの神経内科医は、上述した(1) 加齢とともに進行性で(2) 系統的な変性をおこす分子メカニズムという2つの特徴の中に、神経変性疾患を克服する鍵があるのではないかと考えている。

ここ10年の間に、神経病理学に生化学、分子生物学を導入したアプローチによりほとんどの神経変性疾患では、それぞれ特異的な蛋白質が、脳神経内に凝集、蓄積していることがわかってきた。したがって、蛋白質品質管理の破綻が、神経変性メカニズムで起こる共通な現象として注目され始めた²⁻⁴⁾。

私はこれまでに、蛋白質品質管理機能の一つを担い、種を超えて保存されたシグナル伝達機構をもつ細胞内小器官である小胞体に注目し検討を加えてきた。その過程で、常染色体優性遺伝形式をとる家族性運動ニューロン疾患、Seipinopathyが新規の小胞体ストレス関連疾患であることを見出した^{5,6)}。本論文では、Seipinopathyの臨床的特徴とその神経変性分子機構に関して我々の検討を含め考察する。

2. 小胞体ストレスでのシグナル伝達機構

小胞体 (ER: endoplasmic reticulum) は、分泌蛋白質や膜蛋白質などの翻訳、糖鎖などの修飾を行う細胞

内小器官である。さらに、小胞体内のシャペロン (例えば、Bip, calnexin, calreticulin など) の作用により正常な折りたたみ (フォールド) すなわち立体構造を形成し、ゴルジ体そして細胞膜へ輸送されるか、もしくは細胞外に分泌される。糖鎖修飾を阻害する薬剤 (tunicamycin) や DTT などの還元剤の投与、カルシウムホメオスタシスの破綻、変異タンパク質の過剰発現、低酸素負荷などのストレスは、折りたたみが不完全なタンパク質 (unfolded protein) の小胞体内蓄積を引き起こす⁷⁻¹¹⁾。これらのストレス (以下、小胞体ストレス) に対して、小胞体は unfolded protein response (UPR) と呼ばれるシグナル伝達をとおして、防御機構を作動させる。一方、小胞体ストレスが過度で持続する場合、アポトーシスが誘導されることが知られている。近年、小胞体ストレスが、アルツハイマー病やパーキンソン病や脳虚血をはじめとする多くの神経変性疾患の病態に深くかかわっていることがわかってきている^{7, 12-20)}。

小胞体内に異常蛋白質が蓄積すると IRE, PERK (PKR-like ER kinase), ATF6 といった3つのトランスデューサーが活性化する⁹⁾。種をこえて保存されているトランスデューサーである IRE は、リボヌクレアーゼ活性を持ち、小胞体ストレス時に活性化し、転写因子 XBP-1 のスプライシングを誘導、活性化し、UPR 関連遺伝子の誘導を導く。UPR 関連遺伝子には、シャペロンや蛋白輸送、分解を担う遺伝子が含まれ、異常蛋白質の除去を促す。また、リボヌクレアーゼ活性により、mRNA を分解し、新規蛋白質の翻訳を抑制し、unfolded protein のさらなる蓄積を防ぐ⁷⁻¹¹⁾。PERK は小胞体膜上に局在するカイネースであり、小胞体ストレス時にホモダイマーを形成、活性化し、eukaryotic initiation factor 2 (eIF α) をリン酸化する。eIF α はタンパク質の翻訳に直接かかわる分子であり、リン酸化されることにより新規翻訳が著しく抑制されることとなる (translational attenuation)。これにより、更なる unfolded protein の蓄積することを防ぐこととなる²¹⁾。興味深いことに、リン酸化 eIF α は、一方では転写因子 ATF4 の翻訳をむしろ活性化させ、後述する UPR 関連遺伝子の発現に関与する。ATF6 は、小胞体内に存在する転写因子であるが、小胞体ストレスではゴルジ体に輸送され、そこで site 1 protease もしくは site 2 protease により cleavage を受け、核に移動し UPR 関連遺伝子の発現に関与する。これら3つの経路は互いにクロストークしながら小胞体ストレスに関連した遺伝子群の発現に関与する。

unfolded protein の蓄積が過剰もしくは代償不可能だと、細胞死シグナルが誘導される。このシグナル伝達

にかかわる分子は多岐にわたり、複雑な経路を形成していることが報告されている。IRE は、TRAF2 を介し、activate apoptosis-signaling kinase 1 (ASK1) を活性化する^{10, 19)}。ASK1 は JNK をリン酸化し、結果として proapoptotic protein, Bim を活性化し細胞死を誘導する²²⁾。また、小胞体ストレスに特異的に関与する caspase も同定されている。小胞体に局在する caspase-4/12 (ヒトでは、caspase-4 であり、マウスでは caspase-12 が報告されている。) は、小胞体ストレス時に、calpain を介して proteolysis を受けアポトーシスを誘導する²³⁾。

一方、通常のアポトーシスの経路も関与していることが報告されている。小胞体ストレスにより、小胞体に局在する BH3 only protein, Bak/Bax の構造変化が引き起こされ、小胞体から Ca^{2+} が細胞質へ流失し、ミトコンドリアの膜電位に作用し、チトクローム c の放出を促して、通常のアポトーシスの経路を活性化する^{22, 24)}。

上述の UPR に誘導される遺伝子の中で、アポトーシスを導く分子も同定されている。小胞体ストレスのマーカーとして古くから知られている転写因子 CHOP は、アポトーシスを誘導すると考えられている。CHOP の強制発現系では Bcl-2 を介したアポトーシスが誘導され、CHOP ノックアウトマウスでは、tunicamycin (N-glycosylation 阻害剤で、小胞体ストレスを誘導する薬剤) に対する腎組織での脆弱性をしめす^{25, 26)}。さらに、CHOP は、Bcl2 の発現を低下させる一方、ERO1 (小胞体オキシダーゼ) の発現を誘導し oxygen stress を引き起こすと報告されている²⁷⁾。

3. Seipin 関連運動ニューロン疾患 (Seipinopathy)

Silver 症候群は、1966 年、英国の神経内科医 J. R. Silver により、上肢末梢の筋萎縮を伴う遺伝性痙性対麻痺としてはじめて報告された²⁸⁾。2001 年に、Patel らは本疾患の遺伝子座が 11q12-q14 に存在することを報告し、同疾患を複合型遺伝性痙性対麻痺の Spastic paraplegia 17 (SPG17) と分類した²⁹⁾。一方、遺伝性ポリニューロパチーの一型、distal Hereditary Motor Neuropathy Type V (dHMN-V) の中には、Silver 症候群と酷似した臨床像の患者が一部含まれる家系が存在することが報告されていた。オーストリアのグループは、この家系が SPG17 locus 11q12-q14 と連鎖することを見出し³⁰⁾、さらに、2004 年、ヨーロッパとブラジルの 19 家系の dHMN-V と Silver 症候群で、seipin/

BSCL2 遺伝子の変異 (N88S, S90L) を同定した³¹⁾。興味深いことに、N88S, S90L とともに、それぞれ dHMN-V と Silver 症候群を引き起こし、表現型の差異は認めていない。その後の臨床症状の検討により、同一変異、同一家系内でも、表現型は幅広く dHMN-V, Silver 症候群, CMT, 痙性対麻痺といった様々な表現型をとりうる。しかし、その障害部位は上位、下位運動神経、末梢運動神経の軸索に局限している^{32, 33)}。単一の遺伝子の変異でこれほどの幅広い表現型を示す理由は明らかではない。単純に環境因子の関与も考えられるが、他の遺伝子の変異もしくは、遺伝子多型が表現型を修飾している可能性もあり、今後検討すべき点のひとつである。著者らはこれら seipin 関連運動ニューロン疾患を、“seipinopathy” と称し、新規の疾患単位を提唱している。また、検索した限り本邦からの本疾患の報告はないが、Korea から一家系報告され、今後本邦でも検索がすすめられるものと思われる³⁴⁾。

seipin 遺伝子は、元来常染色体劣性遺伝形式をとる先天性全身性脂肪萎縮症のひとつである congenital generalized lipodystrophy type 2 (CGL2) の原因遺伝子として同定された³⁵⁾。遺伝形式から、本遺伝子の loss of function (機能欠損変異) がこの先天性疾患をきたすと考えられているが、その機能に関しては不明な点が多い。最近、酵母を用いた解析で、酵母 seipin は細胞内の脂肪滴の形成に関与することが示され CGL2 の病態との関連が指摘されている。しかし、ヒト seipin の脂肪細胞での機能解析はなされておらず、今後の検討が期待される³⁶⁾。

CGL2 の臨床的特徴は、生下時より機能的な脂肪細胞が欠損しており、脂肪は筋肉や肝臓に蓄積する。また、インスリン抵抗性を示し、青年期までに高率に糖尿病に進展する。それ以外に、高中性脂肪血症、筋過形成、拡張型心筋症、類先端巨人症など多彩な臨床像を呈する。運動ニューロンの障害は指摘されていない。一方、seipinopathy は優性遺伝形式をとり、脂肪組織の障害や耐糖能障害の合併は報告されていない。したがって、seipin の機能欠損変異のホモ接合体では、CGL2 を発症し、その多彩な症状は seipin 自体の生理機能の障害もしくは欠損 (loss of function) に起因したものと考えられる。一方、N-グリコシレーション部位の変異のヘテロ接合体では、運動ニューロン疾患といった異なった表現型をひきおこす。この変異は seipin 自体の生理機能障害というより、神経変性をひきおこすドミナントな作用 (gain of toxic property) によるものと推測される。

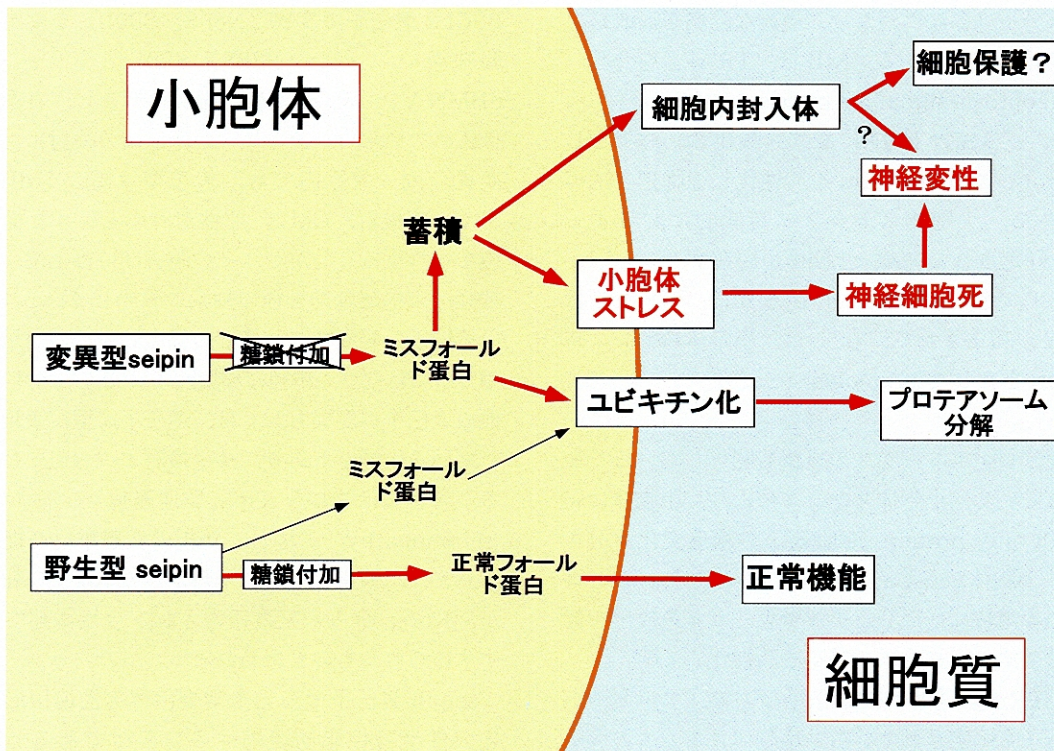


図1 Seipinopathy における神経変性分子機構

4. Seipinopathy の神経変性分子機構

Windpassenger らが同定した変異, N88S, S90L はいずれも seipin の N-グリコシレーション部位 (N-X-S/T) に存在し, 糖付加の異常を呈することが示唆されていた^{31, 37)}. 後述のごとく著者らの検討(5)においても野生型の seipin は糖付加を受けており, 変異型はそれが障害されていることがわかっている. 種々の培養細胞に seipin を強制発現して共焦点顕微鏡で解析すると, seipin は主に小胞体に局在していた. ウェスタンブロットでは, 高分子複合体が泳動上ラダーを形成しており, 免疫沈降法にてユビキチン化を検討すると, 高分子複合体はユビキチン化 seipin であることが確認された. 興味深いことに, 変異型ではより高度にユビキチン化されており, プロテアソームで分解されることがわかった. また, 野生型と変異型の電気泳動像を詳細に比較すると, seipin は泳動速度の違いを認めた. 糖鎖を取り除く酵素であるグルコシダーゼ F や N-グリコシレーションを阻害する薬剤ツニカマイシンなどで処理すると, 野生型と変異型の泳動像が同一になった. したがって, 変異型では確かに糖鎖修飾が障害されていることが確認できた.

前述のごとく, タンパク質の糖鎖付加は小胞体内での正常な折り畳みに重要な役割を担うことが知られている. 変異タンパク質のフォールディングの状態を解析するため, 小胞体シャペロンであるカルネキシンとの相互作用を免疫沈降法で検討した. その結果, 野生型と比して, 変異型はカルネキシンと共沈する割合が高いことが示された. これは, 変異型 seipin タンパク質のミスフォールディングとなったため, シャペロンであるカルネキシンに結合した状態で小胞体内に停滞, 蓄積していることを示している.

前述のように, 折り畳みが不完全なタンパク質が小胞体内で蓄積すると, 小胞体ストレスが誘導される. そこで, 変異型 seipin を強制発現した細胞で小胞体ストレスに関して検討すると, 野生型と比して変異型発現細胞は, UPR 誘導遺伝子である Bip, CHOP の発現が有意に亢進していた. さらに, Hoechst, TUNEL 染色でアポトーシスをカウントすると, 変異型を発現した細胞はより多く細胞死が誘導されていた. したがって, 変異型は, 糖鎖修飾の障害で折り畳みが不完全なタンパク質となり, 小胞体内に蓄積し, 小胞体ストレスを引き起こし, さらには細胞死を誘導すると考えられた (図1). 我々は, この分子機構が seipin 関連運動ニューロン疾

患, seipinopathy の神経変性過程に重要な役割を担っていると考えている。

5. おわりに

小胞体ストレスは、糖尿病、虚血性疾患、ウイルス感染症との関連が注目されているとともに、神経変性疾患に関する多くの検討が加えられてきた。現在パーキンソン病、アルツハイマー病、プリオン病、筋萎縮性側索硬化症などでも小胞体ストレスがその病態に関わっている可能性が示唆されている^{7, 12-20)}。しかし、小胞体ストレス単独で、もしくは、中核として神経変性疾患を誘導できることを示した報告はなく、変性過程の分子機構の一部をなしているに過ぎないとも指摘されていた。われわれの検討から、Seipinopathy は、小胞体ストレスがまさにその変性分子機構の中核をなしている重要な神経変性疾患と示唆された。本疾患のさらなる検討は、神経変性機構の解明に大きな意義を持つものと考えられる。近年 unfolded protein の蓄積を阻害する薬剤や分子³⁸⁻⁴⁰⁾、小胞体ストレス自体をコントロールする薬剤の開発⁴¹⁾が報告され、薬理的に小胞体ストレスの調整が可能となってきている。今後、神経疾患における小胞体ストレスをターゲットとした新規治療戦略の確立が期待される。

文 献

- 1) Victor M, Ropper, AH. *Adams and Victor's PRINCIPLES OF NEUROLOGY*, 7th edn. McGraw-Hill Professional New York, 2001.
- 2) Kopito RR. Aggregates, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends Cell Biol*, 10 : 524-530, 2000.
- 3) Forman MS, Trojanowski JQ, Lee VM. Neurodegenerative diseases : a decade of discoveries paves the way for therapeutic breakthroughs. *Nat Med*, 10 : 1055-1063, 2004.
- 4) Tran PB, Miller RJ. Aggregates in neurodegenerative disease : crowds and power? *Trends Neurosci*, 22 : 194-197, 1999.
- 5) Ito D, Suzuki N. Molecular pathogenesis of seipin/BSCL2-related motor neuron diseases. *Ann Neurol*, 61 : 237-250, 2007.
- 6) Ito D, Suzuki N. [Seipin/BSCL2-related motor neuron disease, seipinopathy is a novel conformational disease associated with endoplasmic reticulum stress]. *Rinsho Shinkeigaku*, 47 : 329-335, 2007.
- 7) Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8 : 519-529, 2007.
- 8) Kaufman RJ. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum : coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes Dev*, 13 : 1211-1233, 1999.
- 9) Liu CY, Kaufman RJ. The unfolded protein response. *J Cell Sci*, 116 : 1861-1862, 2003.
- 10) Urano F, Bertolotti A, Ron D. IRE1 and efferent signaling from the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*, 113 Pt 21 : 3697-3702, 2000.
- 11) Rutkowski DT, Kaufman RJ. That which does not kill me makes me stronger : adapting to chronic ER stress. *Trends Biochem Sci*, 32 : 469-476, 2007.
- 12) Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ*, 13 : 385-392, 2006.
- 13) Kopito RR, Ron D. Conformational disease. *Nat Cell Biol*, 2 : E207-209, 2000.
- 14) Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response : a stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology*, 66 : S102-109, 2006.
- 15) Ito D, Tanaka K, Suzuki S, Dembo T, et al. Up-regulation of the Ire 1-mediated signaling molecule, Bip, in ischemic rat brain. *Neuroreport*, 12 : 4023-4028, 2001.
- 16) Ito D, Walker JR, Thompson CS, Moroz I, et al. Characterization of stanniocalcin 2, a novel target of the mammalian unfolded protein response with cytoprotective properties. *Mol Cell Biol*, 24 : 9456-9469, 2004.
- 17) Imai Y, Soda M, Takahashi R. Parkin suppresses unfolded protein stress-induced cell death through its E3 ubiquitin-protein ligase activity. *J Biol Chem*, 275 : 35661-35664, 2000.
- 18) Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, et al. Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol*, 1 : 479-485, 1999.
- 19) Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, et al. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev*, 16 : 1345-1355, 2002.
- 20) Kikuchi H, Almer G, Yamashita S, Guegan C, et al. Spinal cord endoplasmic reticulum stress associated with a microsomal accumulation of mutant superoxide dismutase-1 in an ALS model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 : 6025-6030, 2006.
- 21) Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature*, 397 : 271-274, 1999.
- 22) Puthalakath H, O'Reilly LA, Gunn P, Lee L, et al. ER stress triggers apoptosis by activating BH3-only protein Bim. *Cell*, 129 : 1337-1349, 2007.
- 23) Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature*, 403 : 98-103, 2000.
- 24) Mathai JP, Germain M, Shore GC. BH3-only BIK

- regulates BAX, BAK-dependent release of Ca²⁺ from endoplasmic reticulum stores and mitochondrial apoptosis during stress-induced cell death. *J Biol Chem*, 280 : 23829-23836, 2005.
- 25) Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, *et al.* CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*, 18 : 3066-3077, 2004.
 - 26) Zinszner H, Kuroda M, Wang X, Batchvarova N, *et al.* CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum. *Genes Dev*, 12 : 982-995, 1998.
 - 27) Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, *et al.* An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*, 11 : 619-633, 2003.
 - 28) Silver JR. Familial spastic paraplegia with amyotrophy of the hands. *Ann Hum Genet*, 30 : 69-75, 1966.
 - 29) Patel H, Hart PE, Warner T, Allen I, *et al.* Silver syndrome is not linked to any of the previously established autosomal dominant hereditary spastic paraplegia loci. *Am J Med Genet*, 102 : 68-72, 2001.
 - 30) Windpassinger C, Wagner K, Petek E, Fischer R, *et al.* Refinement of the Silver syndrome locus on chromosome 11q12-q14 in four families and exclusion of eight candidate genes. *Hum Genet*, 114 : 99-109, 2003.
 - 31) Windpassinger C, Auer-Grumbach M, Irobi J, Patel H, *et al.* Heterozygous missense mutations in BSCL2 are associated with distal hereditary motor neuropathy and Silver syndrome. *Nat Genet*, 36 : 271-276, 2004.
 - 32) Auer-Grumbach M, Schlotter-Weigel B, Lochmuller H, Strobl-Wildemann G, *et al.* Phenotypes of the N88S Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 mutation. *Ann Neurol*, 57 : 415-424, 2005.
 - 33) Irobi J, Van den Bergh P, Merlini L, Verellen C, *et al.* The phenotype of motor neuropathies associated with BSCL2 mutations is broader than Silver syndrome and distal HMN type V. *Brain*, 127 : 2124-2130, 2004.
 - 34) Cho HJ, Sung DH, Ki CS. Identification of de novo BSCL2 Ser90Leu mutation in a Korean family with silver syndrome and distal hereditary motor neuropathy. *Muscle Nerve*, 36 : 384-386, 2007.
 - 35) Magre J, Delepine M, Khallouf E, Gedde-Dahl T, Jr., *et al.* Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11q13. *Nat Genet*, 28 : 365-370, 2001.
 - 36) Szymanski KM, Binns D, Bartz R, Grishin NV, *et al.* The lipodystrophy protein seipin is found at endoplasmic reticulum lipid droplet junctions and is important for droplet morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007.
 - 37) Lundin C, Nordstrom R, Wagner K, Windpassinger C, *et al.* Membrane topology of the human seipin protein. *FEBS Lett* 2006.
 - 38) Rubenstein RC, Zeitlin PL. A pilot clinical trial of oral sodium 4-phenylbutyrate (Buphenyl) in deltaF508-homozygous cystic fibrosis patients : partial restoration of nasal epithelial CFTR function. *Am J Respir Crit Care Med*, 157 : 484-490, 1998.
 - 39) Burrows JA, Willis LK, Perlmutter DH. Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant alpha 1-antitrypsin (alpha 1-AT) Z : A potential pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in alpha 1-AT deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 : 1796-1801, 2000.
 - 40) Bonapace G, Waheed A, Shah GN, Sly WS. Chemical chaperones protect from effects of apoptosis-inducing mutation in carbonic anhydrase IV identified in retinitis pigmentosa 17. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101 : 12300-12305, 2004.
 - 41) Boyce M, Bryant KF, Jousse C, Long K, *et al.* A selective inhibitor of eIF2alpha dephosphorylation protects cells from ER stress. *Science*, 307 : 935-939, 2005.