

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/68 (2006.01)
G01N 33/94 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200380110515.7

[43] 公开日 2006年11月8日

[11] 公开号 CN 1860369A

[22] 申请日 2003.12.8
 [21] 申请号 200380110515.7
 [30] 优先权
 [32] 2003. 8. 12 [33] US [31] 60/494,686
 [86] 国际申请 PCT/US2003/039202 2003. 12. 8
 [87] 国际公布 WO2005/019830 英 2005. 3. 3
 [85] 进入国家阶段日期 2006. 4. 10
 [71] 申请人 种族医学学会
 地址 美国犹他州
 [72] 发明人 P·A·科克斯 S·巴纳克
 S·穆尔奇

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
 代理人 张轶东 王景朝

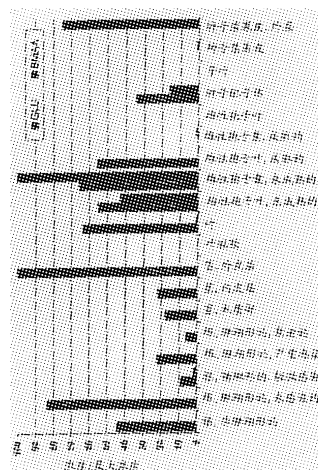
权利要求书 4 页 说明书 35 页 附图 1 页

[54] 发明名称

与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物

[57] 摘要

公开了筛选神经障碍的方法。特别是，公开了通过分析从受试者中获得的组织样品中水平提高的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在，在受试者中筛选神经障碍的方法。具体地，公开了通过测定从受试者中获得的组织样品中 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA)的水平，在受试者中诊断神经障碍，或者在受试者中预测发展成神经障碍的可能性的方法。公开了筛选与神经障碍相关的环境因素的方法。公开了抑制、治疗或预防神经障碍的方法。



1.一种筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的方法，其包括分析受试者的组织样品以确定与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在。

5 2.权利要求1的方法，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

3.权利要求2的方法，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的丙氨酸。

10 4.权利要求3的方法，其中所述甲基化的丙氨酸是 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA)。

5.权利要求4的方法，其中分析蛋白结合的BMAA。

6.权利要求5的方法，其中也分析游离的BMAA。

7.权利要求1的方法，其中所述受试者具有神经障碍的症状。

8.权利要求1的方法，其中所述受试者无神经障碍的症状。

15 9.权利要求1的方法，其中所述受试者已被鉴定为具有发展成神经障碍的风险。

10.权利要求1的方法，其中可检测到水平的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在表明患有神经障碍。

20 11.权利要求1的方法，其中所述神经障碍是神经原纤维缠结障碍(NFT障碍)。

12.权利要求11的方法，其中所述神经障碍是肌萎缩性侧索硬化症-帕金森痴呆复征(ALS-PDC)。

13.权利要求11的方法，其中所述神经障碍是阿尔茨海默病。

14.权利要求11的方法，其中所述神经障碍是进行性核上麻痹。

25 15.权利要求1的方法，其中所述神经障碍是运动障碍。

16.权利要求15的方法，其中所述运动障碍是帕金森病。

17.权利要求1的方法，其中所述神经障碍是运动神经元病。

18.权利要求17的方法，其中所述运动神经元病是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。

30 19.权利要求1的方法，其中所述筛选方法预测发展成神经病的可能性。

20.权利要求19的方法，其中所述方法进一步预测神经障碍发作

前的潜伏期。

21.权利要求 1 的方法，其中所述筛选方法预测神经障碍的严重性。

22.权利要求 1 的方法，其中所述组织样品是神经组织。

5 23.权利要求 22 的方法，其中所述神经组织是与中枢神经系统(CNS)有关的组织。

24.权利要求 23 的方法，其中所述组织是脑组织。

25.权利要求 23 的方法，其中所述组织是脑脊液(CSF)。

10 26.权利要求 22 的方法，其中所述神经组织是与周围神经系统(PNS)有关的组织。

28.权利要求 1 的方法，其中所述组织是非神经组织。

29.权利要求 28 的方法，其中所述组织是角质组织。

30.权利要求 29 的方法，其中所述组织是毛发。

31.权利要求 29 的方法，其中所述组织是皮肤。

15 32.权利要求 29 的方法，其中所述组织是指甲。

33.权利要求 32 的方法，其中所述指甲是手指甲。

34.权利要求 32 的方法，其中所述指甲是脚趾甲。

35.权利要求 29 的方法，其中所述组织是羽毛。

36.权利要求 29 的方法，其中所述组织是爪。

20 37.权利要求 29 的方法，其中所述组织是蹄。

38.权利要求 29 的方法，其中所述组织是角。

39.权利要求 28 的方法，其中所述组织是非角质组织。

40.权利要求 39 的方法，其中所述组织是血液。

41.权利要求 40 的方法，其中所述组织是血清。

25 42.权利要求 39 的方法，其中所述组织是唾液。

43.权利要求 39 的方法，其中所述组织是尿液。

44.一种筛选环境样品以确定环境样品是否与神经障碍相关的方法，其包括分析环境样品以确定与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在。

30 45.权利要求 44 的方法，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

46.权利要求 45 的方法，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的

丙氨酸。

47.权利要求 46 的方法，其中所述甲基化的丙氨酸是 BMAA。

48.权利要求 44 的方法，其中所述环境样品是水。

49.权利要求 44 的方法，其中所述环境样品是食物产品。

5 50.一种筛选环境样品以确定所述样品是否与神经障碍相关的方法，其包括检测环境样品中产生神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的蓝细菌。

51.权利要求 50 的方法，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

10 52.权利要求 51 的方法，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的丙氨酸。

53.权利要求 52 的方法，其中所述甲基化的丙氨酸是 BMAA。

54.权利要求 50 的方法，其中所述蓝细菌来自念珠藻属。

55.权利要求 50 的方法，其中所述蓝细菌来自鱼腥藻属。

15 56.权利要求 50 的方法，其中所述环境样品是水。

57.权利要求 50 的方法，其中所述环境样品是食物产品。

58.一种在受试者中抑制神经障碍的方法，其包括降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平。

20 59.权利要求 58 的方法，其中从受试者中的内源贮池中释放神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。

60.权利要求 59 的方法，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

61.权利要求 60 的方法，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的丙氨酸。

25 62.权利要求 61 的方法，其中所述甲基化的丙氨酸是 BMAA。

63.一种在受试者中抑制神经障碍的方法，其包括提高神经保护剂化合物的细胞浓度，所述化合物阻断与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物与靶分子之间的相互作用。

30 64.权利要求 63 的方法，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

65.权利要求 64 的方法，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的丙氨酸。

66.权利要求 65 的方法，其中所述甲基化的丙氨酸是 BMAA。

67.权利要求 63 的方法，其中所述神经保护剂化合物是谷氨酸。

68.权利要求 63 的方法，其进一步包括施用神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的结合剂。

5 69.权利要求 63 的方法，其进一步包括施用螯合剂。

70.一种筛选患有或者有患神经障碍风险的受试者的试剂盒，其包括分析组织样品以确定与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在工具。

10 71.权利要求 70 的试剂盒，其中所述神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是谷氨酸受体激动剂。

72.权利要求 71 的试剂盒，其中所述谷氨酸受体激动剂是甲基化的丙氨酸。

73.权利要求 72 的试剂盒，其中所述甲基化的丙氨酸是 BMAA。

74.权利要求 70 的试剂盒，其中测定蛋白结合的 BMAA。

15 75.权利要求 70 的试剂盒，其中测定游离的 BMAA。

76.权利要求 70 的试剂盒，其进一步包括用作对照的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物样品。

与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物

本申请要求 2003 年 8 月 12 日申请的美国临时专利申请系列号
5 No. 60/494,686 的优先权。

发明领域

本发明涉及筛选神经障碍。具体地，本发明涉及通过分析受试者的组织样品，确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，来在受试者中筛选神经障碍。特别是，本发明涉及通过测定从受试者中获得的组织样品中的 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA)或其神经毒性衍生物的水平，在受试者中诊断患神经障碍，或者预测受试者发展成神经障碍的可能性的方法。进一步地，本发明涉及筛选环境样品中与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。进一步地，本发明涉及抑制神经障碍。

发明背景

一种最初由 Kurland 和 Mulder (1954)在关岛的查莫罗人 (Chamorro) 中鉴定的独特的神经疾病的特征是一些症状的组合，包括弯腰体位、空白无表情的面容、痴呆、缓慢的拖曳运动、故意行动后停止的休息性震颤、行动缓慢、以及导致手上的肌肉下倾的肌肉萎缩。在一些临床表现中，患者具有不易与肌萎缩性侧索硬化症(ALS)区分的临床症状。其它患者具有合并痴呆的帕金森综合征特征(帕金森痴呆复征，PDC)。在另外的其它人中，仅观察到痴呆。一些患者既有 ALS 又有 PDC。在神经病理学中，该病的所有临床类型都导致特殊特征，在皮层和在脊髓中发现的神经原纤维缠结。因为该病具有类似肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、帕金森病(PD)和阿尔茨海默病(AD)的方面，所以该病被称作关岛肌萎缩性侧索硬化症-帕金森痴呆复征 (ALS-PDC)，且也称作 lytico-bodig。

发明概述

本发明提供通过分析受试者的组织样品，确定是否存在与神经障

碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，来筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的方法。神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可以是谷氨酸受体激动剂，如 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA)或 β -N-草酰氨基-L-丙氨酸(BOAA)。在组织样品中，可分析蛋白结合的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物、可分析游离的(未结合的)神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，或者可分析样品中蛋白结合的和游离的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物两者。在组织样品中，可分析蛋白结合的 BMAA、游离的 BMAA 或者蛋白结合的 BMAA 和游离的 BMAA 两者。受试者可能具有神经障碍的症状、或者可能无神经障碍的症状、或者可能已被鉴定为有发展成神经障碍的风险。神经毒性衍生物可能是具有神经毒性活性的任何衍生物，如氨基甲酸酯加合物或神经毒性氨基酸的代谢物。

本发明提供通过分析受试者的组织样品，确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，来筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的方法，其中存在可检测水平的神经毒性氨基酸或其神经毒性氨基酸衍生物则表明患神经障碍。可使用本发明的方法检测神经障碍，包括神经原纤维缠结障碍(NFT障碍)如肌萎缩性侧索硬化症-帕金森痴呆复征(ALS-PDC)、阿尔茨海默病、或进行性核上麻痹(PSP)，运动障碍如帕金森病，或者运动神经元病如肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。

本发明提供通过分析受试者的组织样品，确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，来筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的方法，其中该方法可用于预测发展为神经疾病的可能性、和/或预测神经障碍发作前的潜伏期、和/或预测神经障碍的严重程度。可使用包括，但不限于，神经组织或非神经组织的组织样品实施本发明的方法。神经组织可能是与中枢神经系统(CNS)有关的组织，包括脑组织或脑脊液(CSF)，或者可能是与周围神经系统(PNS)有关的组织。非神经组织可以是角质组织，包括，但不限于，毛发、皮肤、指甲(包括手指甲或脚趾甲)、羽毛、爪、蹄或角。非神经组织可以是非角质组织，包括，但不限于，血液、血清、唾液或尿液。

本发明提供筛选环境样品以确定环境样品是否与神经障碍有关的方法，其通过分析环境样品以确定是否存在与神经障碍相关的神经

毒性氨基酸或其神经毒性衍生物来实现。神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可以是谷氨酸受体激动剂，如甲基化丙氨酸，特别是 BMAA。合适的环境样品包括水和/或食物产品或来源。

5 本发明提供筛选环境样品以确定该样品是否与神经障碍相关的方法，其通过检测环境样品中产生神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的蓝细菌来实现。神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可以是谷氨酸受体激动剂，如甲基化丙氨酸，特别是 BMAA。本发明的方法适于检测产生神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的蓝细菌，包括念珠藻属 (*Nostoc*) 和/或鱼腥藻属 (*Anabena*) 的蓝细菌。
10 合适的环境样品包括水和/或食物产品或来源。

本发明提供通过降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平，在受试者中抑制神经障碍的方法，特别是通过将神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物从内源贮池(reservoir)中释放。神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可以是谷氨酸受体激动剂如
15 甲基化丙氨酸，特别是 BMAA。

本发明提供通过提高神经保护剂化合物的细胞浓度在受试者中抑制神经障碍的方法，所述化合物阻断与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物与靶分子的相互作用。神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可以是谷氨酸受体激动剂如甲基化丙氨酸，特别是
20 BMAA。神经保护剂化合物可以是谷氨酸。可包括结合或螯合神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的试剂。

本发明进一步提供用于筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的试剂盒，其中该试剂盒包括从受试者中获得组织样品的工具和分析组织样品以确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的工具。该试剂盒可包括测定是否存在谷氨酸受体激动剂如甲基化丙氨酸，特别是 BMAA 的工具。该试剂盒可包括用于分析样品中蛋白结合的 BMAA、游离 BMAA、或者蛋白结合的 BMAA 和游离的 BMAA 两者的工具。该试剂盒可包括获取并分析受试者的多个组织样品的工具。该组织样品可包括已知累积神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的组织样品以及已知不累积神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的组织样品。组织样品可包括至少两个已知累积神经
25 毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的不同组织的样品。试剂盒可包括进
30

行重复筛选受试者的工具。

附图简述

5 图 1 显示 *Cycas micronesia* Hill 中 BMAA 和谷氨酸(GLU)的浓度，通过除每种氨基酸的最大浓度进行归一化，其允许比较整个植物的相对丰度；9 $\mu\text{g/g}$ 以下的值由于相对于最大浓度太小而不能在本图中见到。

表 1 显示 *Cycas micronesia* Hill 的各种组织中的 BMAA 和 GLU 的浓度；浓度表示为 $\mu\text{g/g}$ 。

10 表 2 显示苏铁科植物组织、苏铁科植物粉和蝙蝠组织样品中的 BMAA 浓度。

表 3 显示查莫罗人和加拿大人群体患者的额上回组织样品中游离的和蛋白结合的 BMAA 水平。

15 发明详述

本发明公开内容提供筛选神经障碍的方法。可使用这里所提供的方法在受试者中诊断或预测神经障碍，筛选与神经障碍相关的环境因素，以及在受试者中抑制神经障碍。

20 本发明提供通过分析受试者的组织样品以确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，来筛选患神经障碍的受试者的方法。本发明进一步提供筛选环境样品以确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的方法。短语“以确定是否存在神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物”或“确定是否存在神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物”或类似短语，不仅包括
25 确定存在或不存在可检测水平的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，而且也包括定量样品中所检测到的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平。因此，在具体的实施方案中，在样品中“确定是否存在神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物”可包括测定神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平，以及可进一步包括确定样品中的神经毒性
30 氨基酸或其神经毒性衍生物的水平与其它样品中所检测的水平相比，是提高还是降低。

筛选包括但不限于，通过分析受试者的组织样品在受试者中诊断

或预测神经障碍。筛选可在患有神经障碍的受试者上进行，或者可在有患神经障碍风险的受试者上进行，或者可在没有已知的患神经障碍风险的受试者上进行。筛选进一步包括分析环境样品以确定受试者实际上或潜在地接触与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。

如这里所提供的，与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物包括，但不限于，非蛋白氨基酸、兴奋性氨基酸、氨基酸类似物、氨基酸代谢物、氨基酸的氨基甲酸酯加合物以及氨基酸的缀合物。在一个实施方案中，通过测定从受试者中获得的组织样品中是否存在 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA)，可在受试者中筛选一个或多个神经障碍。在另一个实施方案中，通过测定从受试者中获得的组织样品中是否存在(S)-2-氨基-3-(3-羟基-5-甲基异噁唑-4-基)丙酸(AMPA)，可筛选一个或多个神经障碍。在另一个实施方案中，通过测定从受试者中获得的组织样品中是否存在 β -N-草酰-氨基-L-丙氨酸(BOAA，也描述为S-(-)- β -N-草酰-, β -二氨基丙酸)，可在受试者中筛选一个或多个神经障碍。应当理解的是，测定神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的方法包括，当必需时，区分相同化合物的神经毒性异构体和非神经毒性异构体的方法，例如，区分神经毒性L-BOAA和非神经毒性D-BOAA的方法。

本发明的神经毒性氨基酸可以是非蛋白氨基酸包括，但不限于， β -丙氨酸(3-丙氨酸)、4-氨基丁酸(GABA)、3-氰丙氨酸(β -氰丙氨酸)、2-氨基丁酸、2-亚甲基-4-氨基丁酸、3-亚甲基-4-氨基丁酸、2-氨基异丁酸、5-氨基酮戊酸、2-氨基-4-甲基己酸(高异亮氨酸)、2-氨基-4-甲基己-4-烯酸、2-氨基-4-甲基己-5-炔酸、2-氨基-3-甲基戊酸、2-氨基己二酸、4-亚乙基谷氨酸、3-氨基戊二酸、2-氨基庚二酸、N4-乙基天冬酰胺、N4-甲基天冬酰胺、赤型-4-甲基谷氨酸、4-亚甲基谷氨酸、4-亚甲基谷氨酰胺、N5-甲基谷氨酰胺、N5-乙基谷氨酰胺(茶氨酸)、N5-异丙基谷氨酰胺、2-氨基-4-(氨氧基(aminoxy))丁酸(副刀豆氨酸)、2,4-二氨基丁酸、N4-乙酰-2,4-二氨基丁酸、N4-乳酰-2,4-二氨基丁酸、N4-草酰-2,4-二氨基丁酸、2,3-二氨基丙酸、N3-乙酰-2,3-二氨基丙酸、N3-甲基-2,3-二氨基丙酸、N3-草酰-2,3-二氨基丙酸、N6-乙酰赖氨酸、N6-甲基赖氨酸、N6-三甲基赖氨酸(昆布氨酸)、鸟氨酸

(2,5-二氨基戊酸)、酵母氨酸(N6-(2'-谷氨酰)赖氨酸、2,6-二氨基庚二酸、N4-(2-羟乙基)天冬酰胺、赤型-3-羟基天冬氨酸、4-羟基精氨酸、4-羟基瓜氨酸、苏型-4-羟基谷氨酸、3,4-二羟基谷氨酸、3-羟基-4-甲基谷氨酸、3-羟基-4-亚甲基谷氨酸、4-羟基-4-甲基谷氨酸、4-羟基-5-谷氨酰胺、N5-(2-羟乙基)谷氨酰胺、5-羟基正亮氨酸、苏型-4-羟基高精氨酸、高丝氨酸、O-乙酰高丝氨酸、O-草酰高丝氨酸、O-磷酸高丝氨酸、4-羟基异亮氨酸、5-羟甲基高半胱氨酸、苏型-3-羟基亮氨酸、5-羟基亮氨酸、2-羟基赖氨酸、4-羟基赖氨酸、5-羟基赖氨酸、N6-乙酰-5-羟基赖氨酸、N6-三甲基-5-羟基赖氨酸、4-羟基鸟氨酸、含羞草氨酸、4-羟基正缬氨酸、5-羟基正缬氨酸、2-氨基-4,5-二羟基戊酸、2-氨基-4-羟基庚二酸、4-羟基缬氨酸、O-乙酰丝氨酸、O-磷酸丝氨酸、哌啶酸(哌啶-2-羧酸)、3-羟基哌啶酸、反-4-羟基哌啶酸、反-5-羟基哌啶酸、5-羟基-6-甲基哌啶酸、4,5-二羟基哌啶酸、反-3-羟基脯氨酸、反-4-羟基脯氨酸、反-4-羟甲基脯氨酸、铃兰氨酸、N-(3-氨基-3-羧基丙基)铃兰氨酸、4,5-脱氢哌啶酸(蓓豆氨酸)、3-氨基-3-羧基吡咯烷酮(南瓜子碱)、2-(环戊-2'-烯基)甘氨酸、5-羟基色氨酸、合欢氨酸(2-氨基-3-脲基丙酸)、精氨酸琥珀酸、刀豆氨酸琥珀酸、瓜氨酸、高精氨酸、高瓜氨酸、穗花木兰氨酸、O-脲基高丝氨酸、6-羟基犬尿氨酸、3-(4-氨基苯基)丙氨酸、3-(3-氨基甲基苯基)丙氨酸、3-(3-羧苯基)丙氨酸、3-羧基酪氨酸、3-(3-羟甲基苯基)丙氨酸、3-(3-羟苯基)丙氨酸、3-(3,4-二羟苯基)丙氨酸(L-DOPA)、2-(苯基)甘氨酸、2-(3-羧苯基)甘氨酸、2-(3-羧基-4-羟苯基)甘氨酸、2-(3-羟苯基)甘氨酸、2-(3,5-二羟苯基)甘氨酸、4-氨基哌啶酸、四氢烟酸、2-氨基-4-(异噁唑-5-酮)-2-基)丁酸、黧豆素或四氢黧豆素。(Spencer 和 Berman, 2003, *Plant Toxins and Human Health*, CABI, pp 1-23)。本公开内容为本领域技术人员提供充分的指导以鉴定本发明的神经毒性非蛋白氨基酸。

非蛋白氨基酸的神经毒性衍生物包括但不限于代谢物、氨基甲酸酯加合物、类似物以及具有神经毒性活性的其它氨基酸。根据一个方面，神经毒性衍生物是神经毒性氨基酸的氨基甲酸酯加合物(氨基甲酸酯)。在一个实施方案中，本发明的神经毒性衍生物是 BMAA 的氨基甲酸酯加合物，包括 α -N-羧基- β -N-甲氨基-L-丙氨酸(BMAA- α -NCO₂)和/或 β -(N-羧基-N-甲基)-氨基-L-丙氨酸(BMAA- β -NCO₂)，

(Brownson 等,2002, *J Ethnopharmacol* 82: 159-167; Myers 和 Nelson,1990,*J Biol Chem* 265: 10193-10195)。根据另一个方面,神经毒性衍生物包括神经毒性氨基酸的神经毒性异构体,尽管可选择地被理解为神经毒性异构体是具体实施方案中的神经毒性氨基酸。神经毒性衍生物也可能是甲基化的、氨甲酰化的或羟基化的代谢物,或者与糖、脂质或蛋白缀合的代谢物。应当理解的是这里所提供的方法适于测定与神经障碍相关的神经毒素,并且甚至当测量的化合物不必是在特定受试者体内起作用的一种或多种化合物时也可提供对神经毒素的有力测量。在一个实施方案中,本公开内容提供测定组织样品和环境样品中 BMAA 水平的方法,并且这些方法产生有力的结果,甚至当这些方法不能区分在具体实施方案中是 BMAA 还是衍生物如 BMAA 的氨基甲酸酯加合物(例如, (BMAA- α -NCO₂ 或 β -(*N*-羧基-*N*-甲基)-氨基-L-丙氨酸(BMAA- β -NCO₂)是最有活性的化合物时。这里提出的方法是有力的,并且可由本领域技术人员根据具体实施方案的具体情况进一步改进。

根据另一个方面,本发明提供筛选环境样品中与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的方法。筛选环境样品中神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物包括,但不限于,进行筛选以确定受试者实际上或潜在地接触与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物,以及进行筛选以鉴定受与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物污染的环境样品。在一个实施方案中,本发明提供测定包括水样品或食物产品的环境样品中 BMAA 水平的方法。

根据另一个方面,本发明提供通过降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平来在受试者中抑制神经障碍的方法,例如,通过排尽神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的内源性贮池。抑制包括,但不限于,治疗已存在的神经障碍或者预防神经障碍。在一个实施方案中,本发明提供在受试者中排尽 BMAA 或其衍生物的内源性贮池的方法。

根据另一个方面,本发明提供通过干扰神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物和其靶分子之间的相互作用,在受试者中抑制神经障碍的方法。具体地,本发明提供通过提高神经保护剂化合物的细胞浓度,来抑制神经障碍的方法,所述化合物阻断神经毒性氨基酸或其神经毒

性衍生物与靶分子的相互作用。在一个实施方案中，神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物是 BMAA 或 BMAA 衍生物，且神经保护剂化合物是谷氨酸或谷氨酸类似物。可包括结合神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的试剂以便整合从内源性贮池中释放的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。可包括当神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物从内源性贮池中释放时，整合释放的金属离子的螯合剂。

如这里所提供的，受试者可以是适合实施本发明方法的任何生物。具体地，受试者是哺乳动物，更具体地是灵长类，甚至更具体的是人。在一个实施方案中，受试者是暴露于与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的实验动物。这种实验动物包括，但不限于，小鼠、兔子、大鼠、蝙蝠、猪、羊、母牛、猴子、猿或适于研究神经障碍的其它动物。在一个实施方案中，使用存在一种或多种神经疾病动物模型的实验动物实施本发明的方法。在另一个实施方案中，使用作为开发一种或多种神经疾病动物模型一部分的实验动物实施本发明的方法。在另一个实施方案中，使用实验动物实施本发明的方法，其中通过大脑的化学、结构或功能的研究，测量暴露于与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的效果。在一个实施方案中，受试者是人。在另一个实施方案中，受试者是患一种或多种神经障碍的人。在另一个实施方案中，受试者是无一种或多种神经障碍症状的人。在另一个实施方案中，受试者是已鉴定为有发展成神经障碍风险的人。在另一个实施方案中，受试者是已知或被怀疑已经接触至少一种与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的人。

根据本发明的一个方面，提供用于分析受试者组织样品或在环境筛选中所使用的环境样品中一种或多种形式的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的方法。方法包括分析游离（例如，未结合的、胞质的、循环的）形式的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物、蛋白结合形式的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物（例如，结合到蛋白或掺入到蛋白内）、或者缀合形式的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物（例如，与糖或脂质缀合）。本领域技术人员可测定样品中存在哪种形式的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，并可进一步测

定对于给定的实施方案而言哪种是诊断或预测感兴趣的形式。在一个实施方案中，分析组织样品中一种或多种形式的 BMAA。在组织中 BMAA 可以以游离的（未结合的）形式存在，或者可以以蛋白结合的形式存在，其中 BMAA 可整合到蛋白内或者其可以以其它方式与蛋白结合。在一个实施方案中，测定游离的和蛋白结合的 BMAA 水平两者。在另一个实施方案中，仅测定游离的 BMAA 水平。在另一个实施方案中，仅检测蛋白结合的 BMAA 水平。

根据另一个方面，可使用从受试者中获得的任何组织样品实施本发明的方法，前提是分析该组织样品便可确定是否存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。在一个实施方案中，可分析组织样品以确定是否存在 BMAA，且如果存在 BMAA，则测定 BMAA 的量。根据组织样品的性质以及在具体实施方案中将要回答的问题，可定量游离的 BMAA 和/或蛋白结合的 BMAA 的量。在一些实施方案中，可能期望测定游离的和蛋白结合的 BMAA 水平两者。在其它实施方案中，可能期望仅测定游离的 BMAA 水平。在其它的实施方案中，可能期望仅测定蛋白结合的 BMAA 水平。组织样品可从有生命的受试者中获得，或者可从保存的标本中获得，所述标本包括贮藏的组织、活组织检查和/或尸体解剖样品或者博物馆标本。贮藏的组织可以是冷冻的组织、组织学标本、在固体贮藏介质上干燥的组织或者其它形式的贮藏组织。合适的组织样品包括但不限于神经组织或者非神经组织。神经组织可能是与中枢神经系统(CNS)有关的组织，包括脑组织或者脑脊液(CSF)，或者可能是与周围神经系统(PNS)有关的组织。非神经组织可以是角质组织，包括，但不限于，毛发、皮肤、指甲（包括手指甲或脚趾甲）、羽毛、爪、蹄或角。非神经组织可以是非角质组织，包括，但不限于，血液、血清、唾液或尿液。在一个实施方案中，分析毛发样品以测定蛋白结合的 BMAA 的水平。在另一个实施方案中，分析皮肤以测定 BMAA 的水平。在一个实施方案中，分析皮肤以测定游离的 BMAA 水平和蛋白结合的 BMAA。在另一个实施方案中，分析皮肤，仅测定游离的 BMAA 水平。在另一个实施方案中，分析皮肤，仅测定蛋白结合的 BMAA 水平。在另一个实施方案中，分析脑组织以测定 BMAA 水平。在另一个实施方案中，分析脑脊液(CSF)样品以测定 BMAA 水平。可分析脑

或 CSF 组织以测定蛋白结合的 BMAA、游离的 BMAA，或者蛋白结合的和游离的 BMAA 两者的水平，其中蛋白结合的 BMAA 可能结合神经蛋白或结合其它蛋白。

筛选神经障碍

5 本发明提供筛选神经障碍的方法。如这里所提供的，神经障碍(也称作神经障碍(neurologic disorder)，或神经病，或神经病(neurologic disease))是涉及中枢神经系统(脑、脑干和小脑)、周围神经系统(包括脑神经)以及自主神经系统(其部分位于中枢和周围神经系统两者中)的障碍。应当理解的是神经障碍可能具有复杂的病因，从而一种
10 或多种环境或遗传因素可能在受试者中有助于发展神经障碍。神经障碍包括充分描述的障碍或综合征如阿尔茨海默病或帕金森病，或者可以是在多个障碍中观察到的病征(例如失语症)或症状(例如，震颤)。进一步应当理解的是，在受试者中发展神经障碍可能归因于一种因素或多种因素的组合。同样地，应当理解的是，在受试者中具体的神经
15 障碍可能归因于不同因素或者是在其它受试者中导致相同神经障碍的因素的不同组合。这里所提供的筛选方法适合筛选一种或多种环境的或者遗传的因素可能起作用的神

20 筛选的方法包括，但不限于，在受试者中诊断一种或多种神经障碍的方法、在受试者中预测发展一种或多种神经障碍的可能性的方法、在受试者中预测神经障碍严重性的方法以及测定受试者是否接触与发展神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的方法。本发明的方法包括进行重复检验以产生关于受试者中神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在及其水平，和/或环境样品中神经毒性氨基酸或神经毒性衍生物的存在及其水平的时序数据的方法。

25 根据一个方面，提供在受试者中诊断一种或多种神经障碍的方法。方法包括将在受试者的组织样品中存在或不存在神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物和与评估神经障碍有关的其它体格或心理测定联系起来。方法进一步包括将在受试者的一个或多个组织样品中所测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平和与评估神经障碍
30 有关的其它体格或心理测定联系起来。在一个实施方案中，从诊断为患神经障碍的受试者中获取组织样品，测定 BMAA 水平，并将这些结果与受试者的其它体格或心理测量值进行比较，作为诊断一种或多

种神经障碍方法的一部分。可同样地实施本发明的方法以改进或证实一种或多种神经障碍的诊断，或者排除其它可能的诊断。

5 在一个实施方案中，从怀疑患神经障碍的受试者中获得组织样品，测定 BMAA 水平，并将这些结果与受试者的其它体格或心理测量值进行比较，作为诊断一种或多种神经障碍方法的一部分。如在下面实施例 4 和表 3 中所公开的，发现在 6 个患 ALS-PDC (lytico-bodig) 的查莫罗人死亡时的脑组织中，BMAA 水平提高。如在实施例 4 中进一步公开的，也发现在诊断为患阿尔茨海默病(AD)的加拿大人患者死亡时的脑组织中，BMAA 水平提高。

10 在另一个实施方案中，测量当前无一种或多种神经障碍症状的受试者的组织样品中的 BMAA 水平。如在下面实施例 4 和表 3 中所公开的，发现在无 ALS-PDC 症状的查莫罗人患者死亡时的脑组织中，BMAA 水平提高。在另一个实施方案中，测量当前无一种或多种神经障碍症状的受试者的组织样品中的 BMAA 水平，作为鉴定受试者有发展成神经障碍风险的方法的一部分，其可能需要另外的监控。

15 根据另一个方面，提供在受试者中测定一种或多种神经障碍严重性的方法。不希望受这种理论限制，神经障碍的严重性的一个指标是受试者组织样品中所测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平。在一个实施方案中，测量诊断为患有，或者怀疑患有的一种或多种神经障碍的受试者的组织样品中的 BMAA 水平，其中更高的 BMAA 水平与更严重的神经障碍相关。

20 根据另一个方面，提供预测发展成为神经病的可能性的方法。方法包括将在一种或多种组织样品中所测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平和与评估神经障碍有关的其它体格或心理测定联系起来。本发明的方法进一步包括将在受试者的一种或多种组织样品中所测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平 and 受试者的遗传分析联系起来，以确定发展成为神经病的可能性。遗传分析包括分析家族史和/或区分组织样品的基因型，作为确定发展成为神经病的可能性的方法的一部分。不希望受这种理论限制，受试者发展成神经障碍的可能性显示，与在受试者组织样品中测得的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物正相关。如在下面实施例 4 中公开的，发现在六名患 ALS-PDC (lytico-bodig) 的查莫罗人的脑组织中，BMAA

的水平提高。如进一步在实施例4中所公开的，也发现在死于阿尔茨海默病的个体的脑组织中，BMAA的水平提高。因此，在一个实施方案中，在具有一种或多种神经障碍症状的受试者的组织样品中测定BMAA水平。在另一个实施方案中，在无神经障碍症状的受试者的组织样品中测定BMAA水平。

根据另一个方面，提供在被认为有发展成一种或多种神经障碍风险的受试者中，预测神经病的严重性的方法。不希望受这种理论限制，受试者组织样品中的BMAA水平应当理解为一旦在受试者中发展神经障碍，则与神经障碍的严重性正相关。本发明的方法因此包括将在一种或多种组织样品中测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平与与预测神经障碍的严重性有关的其它体格或心理测定联系起来。本发明的方法进一步包括将在受试者的一种或多种组织样品中所测量的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平与受试者的遗传分析联系起来，以在被认为可能发展成一种或多种神经障碍的受试者中预测神经病的严重性。遗传分析包括分析家族史和/或区分组织样品的基因型。

根据另一个方面，提供纵向研究神经障碍的方法，其通过在一段时间内在重复的时间间隔采集组织样品并且测定每个组织样品中的BMAA水平，从而提供用于纵向研究的关于BMAA水平的时序数据。随时间推移测量患进行性核上麻痹(PSP)的受试者的BMAA水平。在另一个实施方案中，为了测定随时间推移的BMAA释放的水平，在一段时间期间内重复测量受试者组织样品中的BMAA水平，从而提供用于预测未来一种或多种神经障碍发作的可能性和/或定时和/或严重性的数据。

本发明提供筛选神经障碍的方法，所述神经障碍包括，但不限于，帕金森病(PD)、阿尔茨海默病(AD)、进行性核上麻痹(PSP)、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)以及称作ALS-PDC(或，lytico-bodig病)的神经病理学疾病。本发明公开内容的教导为对鉴定其它神经障碍提供了充分的指导，本发明提供了对所述其它神经障碍的筛选方法：本领域技术人员可实施本发明的方法，以测定受试者组织样品中的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平，然后将这些水平与受试者中神经病的其它标记进行比较，并确定神经毒性氨基酸或其神经毒性衍

生物的水平 and 特定神经病的标记之间是否相关。

根据一个方面，这里所提供的方法适于筛选具有神经原纤维缠结的神经变性病（称作神经原纤维缠结病或 NFT 病），包括但不限于嗜银颗粒病、阿尔茨海默病、关岛 ALS-PDC、皮层基底变性、强直性肌营养不良、Pick 氏病、脑炎后帕金森综合征、原发性进行性失语症、进行性核上麻痹(PSP)以及亚急性硬化性全脑炎。通常这些障碍的特征是导致病理 tau 蛋白在神经元内累积形成异常纤丝的神经原纤维变性 (NFD)，有时称作“tauopathies”。不同的 NFT 障碍具有不同的 tau 病理学（即，tau 蛋白同工型和在脑中的分布）。根据本发明的一个方面，测量已知或者怀疑患 NFT 障碍的受试者组织样品中的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，例如 BMAA 的水平。根据另一个方面，测量无 NFT 障碍症状的受试者组织样品中的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，例如，BMAA 的水平。根据另一个方面，测量受试者组织样品中的修饰的酸，例如，BMAA 的水平，其中受试者无 NFT 障碍的症状但被认为有发展成 NFT 障碍的风险，例如基于 NFT 障碍的家族史，或者基于已知的或怀疑接触与 NFT 障碍相关的环境因素。根据本发明的方法，脑组织的分析允许将 BMAA 水平和其它因素进行比较，包括但不限于，鉴定是否存在 NFTs、鉴定存在哪种 tau 蛋白同工型以及研究 tau 蛋白和/或 NFTs 在受试者脑中的分布模式。

在一个实施方案中，测量已知或者怀疑患 ALS-PDC 的受试者脑组织中的 BMAA 水平，该病具有不同于其它 NFT 障碍的 tau 病理学。在另一个实施方案中，测量已知或者怀疑患阿尔茨海默病的受试者脑组织中的 BMAA 水平，该病具有不同于其它 NFT 障碍的 tau 病理学。在另一个实施方案中，测量已知或者怀疑患进行性核上麻痹(PSP)和/或皮层基底变性的受试者脑组织中的 BMAA 水平，所述病具有不同于其它 NFT 障碍的 tau 病理学。在另一个实施方案中，测量已知或者怀疑患 Pick 氏病的受试者脑组织中的 BMAA 水平，该病具有不同于其它 NFT 障碍的 tau 病理学。在另一个实施方案中，测量已知或者怀疑患强直性肌营养不良的受试者脑组织中的 BMAA 水平，该病具有不同于其它 NFT 障碍的 tau 病理学。

在一个实施方案中，根据本发明的方法测定诊断为患阿尔茨海默

病受试者的组织样品中的 BMAA 水平。在另一个实施方案中，测定无阿尔茨海默病症状的受试者的组织样品中的 BMAA 水平。在另一个实施方案中，根据本发明的方法测定无阿尔茨海默病症状，但怀疑有发展成阿尔茨海默病风险的受试者的组织样品中的 BMAA 水平。

5 根据另一方面，这里所提供的方法可用于区分神经障碍和/或筛选患神经障碍的个体是否还患有另外的神经障碍。在一个实施方案中，筛选患唐氏综合征的个体中如这里所提供的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，所述唐氏综合征为一种由 21 染色体三体性导致并且其特征为具有包括 NFTs 的症状的神经障碍。在一个实施方案中，
10 在患唐氏综合征的受试者中检测是否存在 BMAA，可用于鉴定有发展成与神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物相关的神经障碍风险的受试者。在另一个实施方案中，在患唐氏综合征的受试者中检测是否存在 BMAA，可用于在受试者中区分多种神经障碍。在另一个实施方案中，在患唐氏综合征的受试者中检测是否存在 BMAA，可用于
15 辨别神经障碍的体征或症状的可能原因（病因学）。

根据另一个方面，这里所提供的方法可用于筛选痴呆，包括但不限于阿尔茨海默病(AD)、雷维小体（Lewy body）痴呆（LBD，也称作具有雷维小体的痴呆(DLB)）和血管性痴呆。根据另一个方面，这里所提供的方法可用于筛选运动障碍，包括，但不限于，帕金森病
20 (PD)、张力障碍（持续的不随意肌收缩）、亨廷顿舞蹈病（亨廷顿舞蹈症）、多系统萎缩、进行性核上麻痹、皮层基底变性、运动障碍、特发性震颤、遗传性痉挛性截瘫、肌阵挛、下肢不宁综合征、Rett 综合征、痉挛状态、小舞蹈病、Tourette 氏综合征以及 Wilson 氏病。根据另一个方面，这里所提供的方法可用于筛选运动神经元病(MND)
25 包括，但不限于，肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、进行性肌萎缩（肌营养不良（MD））和脊髓灰质炎后综合征。根据另一个方面，这里所提供的方法可用于筛选关岛肌萎缩性侧索硬化症/帕金森 - 痴呆复征（ALS/PDC，也称作 lytico-bodig）。

应当理解的是这里所提供的方法适于筛选神经障碍，而不管是否存在神经障碍的任何病征或症状。如在下面实施例 4 中所公开的，发现在一名无 ALS-PCD 症状的查莫罗人的脑组织中 BMAA 的水平提高，而另一名无症状的查莫罗人没有可检测到的 BMAA 水平。该结
30

果与在不表现 ALS-PDC 症状的某个查莫罗人的脑组织中观察到神经原纤维缠结的观察一致。

进一步应当理解的是这里所提供的方法适于筛选神经障碍，而不管是否可诊断特定的神经障碍。因为不同的障碍常常具有相似的病征和症状（例如，震颤、痴呆、失语），所以本发明的方法可适于作为初筛神经病的一部分，其中依赖初筛的结果来确定对于整个评估来说是否需要另外的检验。例如，患 ALS-PDC 的受试者可能具有类似阿尔茨海默病或帕金森病，或者两种疾病的症状，且尽管 ALS-PDC 被认为是一种独立的障碍，但是患 ALS-PDC 的受试者也可能患阿尔茨海默病或帕金森病。因此，受试者中 BMAA 水平的测量值可能有助于鉴定存在的哪种神经障碍导致在受试者中所观察到的病征和症状。

神经障碍包括，但不限于：获得性癫痫样失语；急性播散性脑脊髓炎；肾上腺脑白质营养不良；胼胝体发育不全；失认症；Aicardi 综合征；亚历山大病；Alpers 氏病；交叉性偏瘫；阿尔茨海默病(AD)；肌萎缩性侧索硬化症(ALS)；关岛肌萎缩性侧索硬化症/帕金森-痴呆复征(ALS/PDC)；无脑畸形；Angelman 综合征；血管瘤病；缺氧症；失语症；失用症；蛛网膜囊肿；蛛网膜炎；Arnold-Chiari 畸形；动静脉畸形；Asperger 综合征；共济失调毛细血管扩张症；注意力不集中的过度反应症；孤独症；自主功能障碍；Batten 病；Behcet 氏病；Bell 氏麻痹；良性自发性睑痉挛；良性局灶性肌萎缩；良性颅内高血压；Binswanger 氏病；睑痉挛；Bloch-Sulzberger 综合征；臂丛损伤；脑脓肿；脑损伤；脑肿瘤；脊髓肿瘤；Brown-Sequard 综合征；Canavan 病；腕管综合征(CTS)；灼痛；中枢性痛综合征；脑桥中央髓鞘溶解；头部障碍 (cephalic disorder)；脑动脉瘤；脑动脉硬化；脑萎缩；大脑性巨人症；大脑性瘫痪；Charcot-Marie-Tooth 病；Chiari 畸形；舞蹈病；慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)；慢性疼痛，慢性局部疼痛综合征；Coffin Lowry 综合征；昏迷，包括持续植物性状态；先天性面瘫；皮层基底变性；颅动脉炎；颅缝早闭；Creutzfeldt-Jakob 病；累积性创伤障碍 (cumulative trauma disorders)；Cushing 氏综合征；巨细胞包涵体病(CIBD)；巨细胞病毒感染；舞蹈眼-舞蹈脚综合征 (dancing eyes-dancing feet syndrome)；Dandy-Walker 综合征；

Dawson 病; De Morsier 氏综合征; Dejerine-Klumpke 麻痹; 痴呆;
皮炎; 糖尿病性神经病; 弥漫性硬化; 自主神经功能异常; 书写困
难; 诵读困难; 张力障碍; 早期幼儿癫痫性脑病; 空蝶鞍综合征; 脑
炎; 脑膨出; 脑三叉神经血管瘤病; 癫痫; Erb 氏麻痹; 特发性震颤;
 5 **Fabry 氏病; Fahr 氏综合征; 晕厥; 家族性痉挛性麻痹; 热性癫痫发**
作; Fisher 综合征; Friedreich 氏共济失调; Gaucher 氏病; Gerstmann
氏综合征; 巨细胞性动脉炎; 巨细胞包涵体病; 球样细胞脑白质营养
不良; Guillain-Barre 综合征; HTLV-1 相关性脊髓病;
 10 **Hallervorden-Spatz 病; 头部损伤; 头痛; 半侧面肌痉挛; 遗传性痉**
挛性截瘫; 遗传性共济失调性多发性神经炎样病; 耳带状疱疹; 带状
疱疹; Hirayama 综合征; 前脑无裂畸形; 亨廷顿舞蹈病; 积水性无
脑畸形; 脑积水; 皮质醇增多症; 缺氧; 免疫介导的脑脊髓炎; 包涵
体肌炎; 色素失禁(incontinentia pigmenti); 婴儿植烷酸贮积病; 婴
儿 Refsum 病; 婴儿痉挛; 炎性肌病; 颅内囊肿; 颅内高压; Joubert
 15 **综合征; Kearns-Sayre 综合征; Kennedy 病; Kinsbourne 综合征;**
Klippel Feil 综合征; Krabbe 病; Kugelberg- Welander 病; 库鲁症
(kuru); Lafora 病; Lambert-Eaton 肌无力综合征; Landau- Kleffner
综合征; 侧髓(Wallenberg)综合征; 学习能力缺失; Leigh 氏病;
Lennox-Gastaut 综合征; Lesch-Nyhan 综合征; 脑白质营养不良; 雷
 20 **维小体痴呆; 无脑回; 闭锁综合征; Lou Gehrig 氏病(ALS); 腰椎间**
盘疾病; Lyme 病, 神经后遗症; Lytico-Bodig 综合征(ALS-PCD);
Machado-Joseph 病; 巨脑; 巨脑; Melkersson-Rosenthal 综合征;
Menieres 病, 脑膜炎; Menkes 病; 异染性脑白质营养不良; 小头畸
 25 **形; 偏头痛; Miller Fisher 综合征; 小中风(mini-stroke); 线粒体肌**
病; Mobius 综合征; 单肢肌萎缩; 运动神经元病; Moyamoya 病;
粘多糖贮积症; 多发梗塞性痴呆; 多病灶性运动神经病; 多发性硬化;
具有体位性低血压的多系统萎缩; 肌营养不良; 重症肌无力; 髓鞘破
坏性弥漫性硬化; 婴儿肌阵挛性脑病; 肌阵挛; 肌病; 先天性肌强直;
发作性睡病; 神经纤维瘤病; 精神阻滞剂恶性综合征; AIDS 的神经
 30 **表现; 狼疮的神经后遗症; Lyme 病的神经后遗症; 神经肌强直; 神**
经元蜡样脂褐质沉积症; 神经元迁移障碍; Niemann-Pick 病;
O'Sullivan-McLeod 综合征, 枕神经痛; 隐性脊柱神经管闭合不全序

列征; Ohtahara 综合征; 橄榄体脑桥小脑萎缩; 斜视眼阵挛肌阵挛; 视神经炎; 直立性低血压; 过度使用综合征; 感觉异常; 帕金森病 (PD); 先天性肌强直病; 副肿瘤病; 阵发性发作; Parry Romberg 综合征; Pelizaeus-Merzbacher 病; 周期性麻痹; 周围神经病; 持续植
 5 物性状态; 全身性发育迟缓; 感光喷嚏反射 (photic sneeze reflex); 植烷酸贮积病; Pick 氏病; 挤压的神经; 垂体瘤; 多发性肌炎; 脑穿通畸形; 脊髓灰质炎后综合征; 带状疱疹后神经痛; 感染后脑脊髓炎; 体位性低血压; Prader-Willi 综合征; 原发性侧索硬化; 朊病毒病; 进行性半面萎缩; 进行性多病灶脑白质病; 进行性硬化性灰质营养不
 10 良; 进行性核上麻痹(PSP); 脑假瘤; Ramsay-Hunt 综合征; I 型 Ramsay Hunt 综合征; II 型 Ramsay Hunt 综合征; Rasmussen 氏脑炎; 反射性交感神经营养不良综合征; 婴儿 Refsum 病; Refsum 病; 重复性运动障碍; 重复性应激损伤; 下肢不宁综合征; 逆转录病毒相关的脊髓病; Rett 综合征; Reye 氏综合征; 舞蹈病; Sandhoff 病; Schilder
 15 氏病; 脑裂畸形; 鼻中隔-眼发育不良; 带状疱疹; Shy-Drager 综合征; Sjogren 氏综合征; Soto 氏综合征; 痉挛状态; 脊柱裂; 脊髓损伤; 脊髓肿瘤; 脊髓性肌萎缩; Stiff- Person 综合征; 中风; Sturge-Weber 综合征; 亚急性硬化性全脑炎; 皮层下动脉硬化性脑病; Sydenham 舞蹈病; 晕厥; 脊髓空洞症; 迟发性运动障碍; Tay-
 20 Sachs 病; 颞动脉炎; 脊髓栓系综合征; Thomsen 病; 胸出口综合征; 痛性痉挛; Todd 氏麻痹; Tourette 氏综合征; 短暂性缺血发作; 传染性海绵状脑病; 横贯性脊髓炎; 创伤性脑损伤; 震颤; 三叉神经痛; 热带痉挛性下肢轻瘫; 结节性硬化; 包括颞动脉炎的结节性脉管炎; Von Hippel-Lindau 病 (VHL); Wallenberg 氏综合征; Werdnig-
 25 Hoffman 病; West 综合征; Williams 综合征; Wilson 氏病; Zellweger 综合征。

筛选与神经障碍相关的环境因素

根据一个方面, 提供筛选与神经障碍相关的环境因素的方法。与神经障碍相关的环境因素包括, 但不限于, 神经毒性氨基酸或其神经
 30 毒性衍生物, 例如, BMAA。这里所提供的筛选包括, 但不限于, 检验环境样品以确定受试者是否实际上或潜在地接触与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。环境样品可来自被摄取的材

料，例如水样品或食物样品。环境样品可以是故意摄取的材料，例如喝的水，或者是食物供应或食物链一部分的植物或动物。可选择地，环境样品可来自偶然摄取的材料，例如，从其内含物或分泌物与其它被摄入的材料有关的生物中获得的材料，如在用作食物的植物中存在的蓝细菌的共生生物，或者洗涤或饮用水中的蓝细菌。

5 在一个实施方案中，测量环境样品中的 BMAA 水平以确定受试者是否实际上或潜在地接触 BMAA。环境样品中 BMAA 水平的测量导致确定是否潜在地或实际上接触 BMAA，且这些测量可用于在接触这些环境样品的受试者中预测将发展成神经障碍的可能性。应当理解的是，苏铁科植物组织和其它植物组织中的 BMAA，是由蓝细菌的共生生物产生并被苏铁科植物和以苏铁科植物为食物的其它生物摄入的（实施例 3）。已检验蓝细菌档案中的许多样品产生 BMAA 的能力，且几乎所有被检验的菌株都产生 BMAA。根据发现共生的蓝细菌是苏铁科植物中 BMAA 的来源（实施例 3），结合土壤和水中几乎普遍存在的蓝细菌，以及许多蓝细菌株产生 BMAA 的发现，提出在许多环境中可能存在 BMAA。因此，本发明的方法除了筛选特定因素如 BMAA 外，可能还进一步包括筛选环境样品中蓝细菌的存在。

20 根据另一个方面，环境样品是已知含有蓝细菌的水。在另一个实施方案中，环境样品是被怀疑含有蓝细菌的水。在另一个实施方案中，环境样品是其内含物未知的水。在另一个实施方案中，环境样品可能是摄取含有蓝细菌的水的食物动物，例如鱼、鸟、鹿或家畜。在另一个实施方案中，环境样品可能是含有蓝细菌或者与蓝细菌共生的地衣或藓类或苔类。

25 在另一个实施方案中，环境样品可能是含有蓝细菌或者与蓝细菌共生的海洋的或淡水的藻类或者海洋的或淡水的真菌。在另一个实施方案中，环境样品可能是含有蓝细菌或者与蓝细菌共生的海洋的或淡水的无脊椎动物。在另一个实施方案中，环境样品可能是由蓝细菌留下的叠层石，或石油化学沉积物，或矿物沉积物。在另一个实施方案中，环境样品可能是摄取含有蓝细菌或者由蓝细菌留下的叠层石、石油化学沉积物或矿物沉积物的植物、地衣、藓类、藻类、海洋无脊椎动物的食物动物，例如，驯鹿、北美驯鹿、鹿、驼鹿、海洋或淡水鱼、

鸟、爬行动物或家畜。

根据另一个方面，筛选环境样品以确定样品是否与神经障碍相关，这通过检测环境样品中是否存在产生神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的蓝细菌实现。通过筛选环境样品以检测产生神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的蓝细菌，可能确定受试者是否实际上或潜在地接触与神经障碍相关的环境因素。已在许多属包括，但不限于，念珠藻属和鱼腥藻属的蓝细菌菌株中发现了神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，例如，BMAA。

根据另一个方面，在整个食物链的不同水平检测多个环境样品以确定与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平。不希望受这种理论限制，通过因素在不同营养水平的生物组织中的累积，可发生与神经障碍相关因素，例如，BMAA 的生物放大作用，结果，消费更高营养水平的生物可导致比消费更低营养水平的生物更多地接触神经毒素。在一个实施方案中，检测食物链中的多个环境样品，包括苏铁科植物珊瑚形根、苏铁科植物叶、苏铁科植物种子，以及已知食用苏铁科植物种子的蝙蝠（蝙蝠）的组织样品。在另一个实施方案中，检测食物链中的多个环境样品，包括水、水生植物、摄取水或水生植物的食物动物，例如鱼、鸟、野生动物或家畜，以及摄取植食动物的食肉动物。在一个实施方案中，可检验多个环境样品以确定是否在特定的食物链中发现了因素如 BMAA。检验多个环境样品后，可比较神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平并分析食物链中累积或生物放大作用的证据。

根据另一个方面，除了检验环境样品中与神经病相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物外，也检验受试者的组织样品。这提供测定食物链中环境因素（神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物）的累积或生物放大作用，以及将食物链每一步中的这些环境因素的水平与在消费食物链各种营养水平的材料的受试者中神经障碍的频率或严重性联系起来的方法。在一个实施方案中，检验有神经障碍的症状或诊断为神经障碍的受试者的组织样品中与神经病相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。在另一个实施方案中，检验无神经障碍症状的受试者的组织样品中与神经病相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物。本发明的这个方面提供一种有力的工具，用于将神经障碍

与接触已知的或怀疑与神经障碍相关的环境因素联系起来。如在下面
实施例 4 中所示, 在已知接触已知的或怀疑含有 BMAA 的食物来源
后, 在死于 ALS-PDC 的受试者的脑组织中检测到 BMAA 水平提高 -
即, 死于 ALS-PDC 的受试者是在他们一生中的某些时间食用传统查
5 莫罗人饮食的查莫罗人。不希望受这种理论限制, 这些结果与下面实
施例 2 中所描述的结果一致, 显示在狐蝠, 即一种传统查莫罗人食物
的标本中 BMAA 的浓度很高, 从而导致发明人预测消费一只狐蝠将
导致 BMAA 的剂量等同于食用 174-1,014 kg 加工过的苏铁科植物粉
所获得的剂量。另外, 在一名无 ALS-PDC 症状并死于其它原因的查
10 莫罗人受试者中检测到 BMAA 水平提高。不希望受这种理论限制,
应当注意到这种结果与 Forman 等关于 30 名查莫罗人的研究(Forman
等, 2002, *Am J Pathol* 160 : 1725-1731)的报道一致, 其在患病(ALS-
PDC) 和未患病(无症状)的查莫罗人的脑组织中都发现了神经原纤
维缠结。相反, 另一名无 ALS-PDC 症状并死于其它原因的查莫罗人
15 受试者, 在脑组织中没有可检测到的 BMAA 水平。

本发明的另一个方面提供检测由与神经障碍相关的环境因素导
致的环境污染的方法。令人惊奇地是, 在患阿尔茨海默病的非查莫罗
人(加拿大人)受试者的脑组织中(见, 下面的实施例)和在患进行
性核上麻痹(PSP)的非查莫罗人(加拿大人)中发现 BMAA 水平
20 提高。根据本发明的这个方面, 在这些阿尔茨海默病患者的脑组织中
BMAA 提高, 以及在 PSP 患者的组织样品中 BMAA 提高, 表明这些
受试者在他们一生中的某些时间已接触 BMAA 的环境来源。这些结
果提示可能通过其它地区的不同食物链发生蓝细菌 BMAA 的生物累
积。由于在暴露于神经毒素的人群中疾病的频率是剂量的函数, 所以
25 甚至渐进的神经障碍的低水平也可能与接触受蓝细菌污染的水供应
中低浓度的 BMAA 有关。因此, 可进行这里所提供的环境筛选, 以
调查 BMAA 或与神经障碍相关的其它环境因素的可能的环境来源。
可进行这里所提供的环境筛选, 以预防或者将其它受试者接触 BMAA
或与神经障碍相关的其它环境因素降到最低, 因而降低发展与 BMAA
30 或其它因素相关的神经障碍的风险。

根据另一个方面, 通过开发用于这种因素的测定和测定试剂盒,
本发明可用于保护受试者不接触与神经障碍相关的环境因素。在一个

实施方案中，提供检测食物样品，包括植物或动物物质中的 BMAA 的测定。在另一个实施方案中，提供检测水供应中 BMAA 的测定。在另一个实施方案中，提供用于筛选环境中 BMAA 的测定试剂盒，其中试剂盒包括实施本发明检测水供应、食物供应以及其它环境样品的材料，以保护受试者不接触 BMAA。根据另一个方面，可将对于 BMAA 的测定和测定试剂盒用于公共健康目的，例如，指示水供应或食物来源是否受产生 BMAA 的蓝细菌污染。

与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的贮池

神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物可在受试者内的一个或多个内源贮池中累积。BMAA 是自然来源的，不同于与神经障碍相关的某些其它环境因素，例如，汞或 PCBs。已在各种组织中发现了蛋白结合的 BMAA，提示可能在蛋白合成期间掺入或通过载体蛋白结合。更早的报道指出 90% 注射的 BMAA 不能从大鼠的尿或粪便中被清除，提示 BMAA 在受试者中，特别是在哺乳动物中累积。这些发现，结合与 ALS-PDC 有关的潜伏期的流行病学观察，提示可随时间推移释放 BMAA 的内源性神经毒性贮池，可能作为蛋白代谢的结果。不希望受这种理论束缚，BMAA 贮池可能在受试者中通过至少五种不同的可能的神经病理学途径起导致损害的“慢性毒素”的作用：(1) 非-蛋白氨基酸如 BMAA 的掺入可能改变神经蛋白的三级折叠，从而改变它们的生物活性；(2) 蛋白结合的 BMAA 可能形成共价结合金属离子的二聚体，其将导致蛋白被反应性非蛋白氨基酸复合物打断，其改变神经元细胞中的离子平衡，产生自由基，或者甚至催化有害的化学过程；(3) 通过 BMAA 复合物，金属离子如 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 或 Ca^{2+} 的捕获和释放可能干扰 NMDA 和 AMPA 受体的正当功能；(4) BMAA 掺入可能在完成合成前截短蛋白或在从核糖体释放后折拢蛋白，其中蛋白合成的这种截短是许多 tauopathies(NFT 障碍)的特征；以及(5) BMAA 可在脑中通过蛋白代谢以游离型缓慢释放，从而作为 AMPA、NMDA 和其它神经受体的激动剂。后一种活性可有效地将一次摄取的或偶尔摄取的 BMAA 转化成在额上回内 BMAA 长时间的、恒定的低水平接触，从而可能通过兴奋性中毒导致神经元死亡。在病因学上，这种长时间的低水平接触可能不产生急性疾病，如已经在动物模型中观察到的，但是相反可能导致查莫罗人群中以

ALS-PDC 为代表的潜伏性和渐进性的性质。内源贮池中蛋白结合的 BMAA 可能因此是假定的 ALS-PDC 的“慢性毒素”。

5 进行研究以确定 BMAA 是否与食物链中的蛋白有关。如在下面的实施例中所示，通过从蓝细菌、苏铁科植物种子组织、狐蝠（蝙蝠）毛发和皮肤以及人脑组织的样品中除去所有游离氨基酸，来测量蛋白结合的 BMAA。除去所有游离氨基酸后，水解蛋白级分。然后检测经水解的蛋白的 BMAA。在所有检测的组织中都发现了蛋白结合的 BMAA。不希望受这种理论限制，在所有组织中都发现蛋白结合的 BMAA 的这种发现提示可能在蛋白合成期间掺入，或者通过与载体蛋白结合。

10 这里所公开的结果表明来源于蓝细菌的 BMAA 在是食物链一部分的植物和动物组织中累积。具体地，这些结果显示蓝细菌来源的 BMAA 在关岛食物链中累积，其中其通过消费含 BMAA 的苏铁科植物种子并累积 BMAA 的狐蝠被生物放大，且当查莫罗人食用含有大量 BMAA 的狐蝠时可能被进一步生物放大，结果脑组织中 BMAA 累积与查莫罗人中的 ALS-PDC 神经障碍有关。

20 检测到 BMAA 的脑组织显示细胞内的神经原纤维缠结、细胞外神经原纤维缠结和细胞丧失。在一名 Lytico-Bodig (ALS-PDC) 患者中，在脑组织中没有发现未结合的 BMAA，但是从蛋白结合的级分回收到超过 1 mg/g 的 BMAA。在所有其它患者中，有大约为从游离氨基酸池中回收的 BMAA（游离 BMAA）的 60-130 倍量的蛋白结合的 BMAA。这提示在个体之间蛋白结合的 BMAA 和游离 BMAA 之间氨基酸流出率有变化，且可能受营养状态、遗传倾向、年龄、内分泌功能或自发性差异的支配。不希望受这种理论限制，蛋白结合的 BMAA 代表受试者的 BMAA 贮池，且可能在筛选神经障碍中是更有力的指标。应当将蛋白结合型（例如，在“内源神经毒性贮池”中）和游离氨基酸池中未结合型的 BMAA 的相对量与神经障碍的临床表现进行比较，以确定剂量/持续时间关系。

30 在加拿大人阿尔茨海默病患者的脑组织中蛋白结合的 BMAA 的发现，支持在世界的其它地区中蓝细菌 BMAA 的生物累积的另外途径的可能性。如在表 3 中所示，在所有六名死于 ALS-PDC 的查莫罗人患者的额皮质组织中都发现了高水平的蛋白结合的 BMAA(149-

1190 $\mu\text{g/g}$)。在六名死于 ALS-PDC 的查莫罗人患者中，五名患者的额皮质组织中也具有高水平的游离 BMAA(3-10 $\mu\text{g/g}$)。另外，在一名无症状的，不是死于 ALS-PDC 的查莫罗人患者中发现了大量游离的和蛋白结合的 BMAA，与以前显示无 ALS-PCD 的临床表现，但是当尸体解剖时显示显著的神经解剖病理学的查莫罗人的发现一致。在两名诊断为患阿尔茨海默病的加拿大人患者死亡时，在脑皮层的额回中发现了显著浓度的 BMAA。在同样的研究中，没有诊断为阿尔茨海默病并死于其它原因的十三名加拿大人患者的脑组织，没有可检测到水平的 BMAA。在患阿尔茨海默病的加拿大人患者中 BMAA 的意外发现，提示 BMAA 存在于其它食物链中并且可能累积，最后在受试者中在可随时间推移释放 BMAA 的贮池中累积，其中阿尔茨海默病是具有不同于 ALS-PDC 的 tau 病理学的障碍。由于没有加拿大人阿尔茨海默病患者曾在关岛居住或者消费查莫罗人饮食的迹象，所以必须将在他们脑中发现的 MDAA 最后追踪到非苏铁科植物来源。因此，本发明提供确定接触与神经障碍相关的环境因素和所述环境因素的生物放大的方法，包括鉴定生物放大载体的方法。

抑制神经障碍：治疗和/或预防

根据另一个方面，本发明提供在受试者中抑制神经障碍的方法。根据一个方面，通过降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平来抑制神经障碍。根据另一个方面，通过降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物毒性作用来抑制神经障碍。根据一个方面，通过干扰神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物与靶分子的相互作用，来抑制神经障碍。应当理解的是，可通过治疗一种或多种存在的障碍，或者通过治疗障碍的早期症状或病征，或者通过预防一种或多种障碍的发作，或者通过预防一种或多种障碍的进展（恶化）来抑制神经障碍。

根据一个方面，通过从受试者体内内源贮池中释放神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物，可降低神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的水平。本发明进一步提供将由从内源贮池中释放神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物造成的损害减少到最小的方法，其包括，但不限于，提供神经保护剂化合物，其干扰神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物与靶分子相互作用，或者提供化合物结合并使神经毒性氨基酸或

神经毒性衍生物失活。在一个实施方案中，可通过从内源贮池中释放（“排出”）BMAA，来抑制神经障碍以预防在受试者中累积。在一个实施方案中，当 BMAA 从贮池中释放时，向受试者输注抗 BMAA 的单克隆抗体。在另一个实施方案中，当 BMAA 从贮池中释放时，向受试者输注作为神经保护剂化合物的谷氨酸。在另一个实施方案中，当 BMAA 从贮池中释放时，向受试者输注金属螯合剂化合物以吸收释放的金属离子。

根据另一方面，通过添加干扰神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物与靶分子相互作用的神经保护剂化合物，来降低与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的毒性效应，借此稀释神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的有效水平。在一个实施方案中，通过增加谷氨酸（可能离子化成谷氨酸盐）或谷氨酸同系物的细胞内水平，来降低 BMAA 的毒性效应，从而稀释 BMAA 的有效池并且保护靶分子。在这个实施方案中，谷氨酸或谷氨酸盐作为神经保护剂化合物起作用。在另一个实施方案中，添加螯合剂。

筛选神经毒性氨基酸或其衍生物的试剂盒

本发明进一步提供筛选患有或有患神经障碍风险的受试者的试剂盒，其中该试剂盒包括从受试者中获得组织样品的工具和分析组织样品以确定存在与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的工具。现有技术中已知获得组织样品的工具。现有技术中已知分析组织样品以确定存在神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的工具；这里公开了不受限制的实施方案。试剂盒可包括测定存在谷氨酸受体激动剂如甲基化丙氨酸，特别是 BMAA 的工具。试剂盒可包括分析样品中蛋白结合的 BMAA、游离的 BMAA，或者蛋白结合的 BMAA 和游离的 BMAA 两者的工具。根据一个方面，本发明的试剂盒包括一个或多个被测定的神经毒性氨基酸的“对照”样品，以便于样品中被测定的每种神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的检测和定量。在一个实施方案中，试剂盒包括薄层层析（TLC）板，这样组织样品和对照样品可被点样在板上，通过溶剂迁移分离以及测定。

根据本发明的一个方面，试剂盒可包括分析受试者的多个组织样品的工具。在一个实施方案中，组织样品可包括已知累积神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的组织样品以及已知不累积神经毒性氨基

酸或其神经毒性衍生物的组织样品，因此允许确定神经毒性氨基酸是否已在某种组织中累积。在另一个实施方案中，组织样品可包括至少两个已知累积神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的不同组织的样品，从而允许确定不同组织中相对的累积水平。根据本发明的另一个方面，试剂盒可包括进行重复筛选受试者的工具。在一个实施方案中，在可延续几天、几个月或者几年的重复的时间间隔筛选受试者。可在上述纵向研究中使用本发明的试剂盒。

实施例

10 实施例 1 *Cycas micronesica* Hill 中 BMAA 的分布

测量不同苏铁科植物的组织中的 BMAA 和谷氨酸 (GLU) 的浓度。也测量其它已知的含氮神经毒素，包括氨基甲酸酯前体 DAB、DAP 和 ODAP (也称作 BOAA)。

15 测量从关岛收集的 *Cycas micronesica* Hill 的野生种子，以及已知原产于 Fairchild Tropical Garden, Montgomery Botanical Center 和 National Tropical Botanical Garden 的 *Cycas micronesica* Hill 活标本的各种组织中的 BMAA、GLU、DAB、DAP 和 ODAP (BOAA)。因为已经发现 BMAA 在很老的干燥的哺乳动物标本中很稳定 (Banack & Cox, 2003)，所以也分析 National Tropical Botanical Garden 的蜡叶标本组织。

20 根据 Kisby, Roy & Spencer (1988) 的技术，稍作修改，定量苏铁科植物组织游离的氨基酸提取物中的 BMAA 和 GLU。根据标准方案 (Cohen & Michaud, 1993)，用 6-氨基喹啉基-N-羧基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯 (ACQ) 衍生化水性的或三氯乙酸样品提取物。在 37°C，在梯度 HPLC 系统 (Waters 717 自动注射器，Waters 1525 二元溶剂递送系统 25 和 Waters Nova-Pak C18 柱，300 mm x 3.9 mm) 上通过反相分离法分离游离氨基酸。用 140 mM 醋酸钠、5.6 mM 三乙胺，pH 5.2 和 60% 乙腈的梯度洗脱从柱中洗脱单个化合物 (Cohen & Michaud, 1993)。BMAA 峰和 GLU 峰的性质通过比较经过鉴定的标准进一步证实 30 并且通过经过修改的梯度洗脱再次证实。通过在 250 nm 激发和在 395 nm 发射的荧光检测 (Waters 2487 Dual-1 荧光检测仪) 与同时在 254 nm 进行的 UV 检测 (Waters 2488 W 检测仪)，测定样品中 BMAA

和 GLU 的浓度。ACQ 衍生的 BMAA 的检测取决于浓度以及等量 BMAA 和导致平均反应为 51.2% 的正亮氨酸内标的比较。这些数据可能表示衍生物的内淬灭,但是由于在可定量的浓度范围内百分比反应一致,所以并不显著影响样品定量。通过经鉴定的标准(Sigma
5 Chemical Co., St. Louis, MO)的浓度梯度,确定检测的极限(LOD)和定量的极限(LOQ)。对于所有测定每次注射的 LOD 和 LOQ 分别是 0.00013 微摩尔和 0.013 微摩尔。如在下面表 1 中所示,为了数据解释的目的,在 LOQ 的范围内对所有样品分析进行定量,或者报告为不存在。也使用对于 DAB(2,4-二氨基丁酸)、DAP(2,3-二氨基丙酸)
10 和 BOAA(β -N-草酰-氨基-L-丙氨酸)的经鉴定的标准来鉴定对应的 HPLC 峰中是否存在或不存在这些化合物,但是不尝试定量它们的浓度。使用 Breeze 科学软件(Trinity Consultants Inc., Dallas TX)控制系统操作和采集并分析数据。

如在表 1 中所示,在各种苏铁科植物组织中存在 BMAA 和 GLU,
15 也存在对应于神经毒素 DAB、DAP 和 BOAA 的化合物。在所有组织中都发现 GLU 的量大大高于 BMAA。

组织	样品大小	BMAA 平均值 ($\mu\text{g/g}$)	GLU 平均值 ($\mu\text{g/g}$)	BOAA	DAP	DAB
根, 非珊瑚形的	3	-	45,922	†		
根, 珊瑚形的, 未感染的	2	-	86,900	†		
根, 珊瑚形的, 轻微感染	2	37	9,449	†		
根, 珊瑚形的, 严重感染	2	2	22,988	†	†	
根, 珊瑚形的, 衰老的感染 衰老的	1	-	6,435	-		
茎, 内皮层	3	-	22,781	-		
茎, 外皮层	1	-	103,919	-		
茎, 木质部	3	-	18,323	-		
叶	3	13	65,953	†		†
叶粘胶	1	-	-	-		
雄性孢子叶, 未成熟的	1	663	57,334	-		
雄性孢子叶, 成熟的	1	-	57,819	-		
雄性孢子囊, 未成熟的	2	1546	68,202	†		
雄性孢子囊, 成熟的	2	11	-	†	†	†

雌性孢子叶	2	-	-	-		†
种子浆果皮	3	9	-	-	-	-
种子浆果皮, 外珠被层	3	1161	-	†	-	-
种子配子体	3	240	35,700	†	-	-
样品通过 HPLC 分析并与氨基酸标准比较						
图例:						
† = 痕量						
- = 不可检测的						

为了比较的目的, 通过将每个分子的浓度除以发现的最大浓度, 使 BMAA 和 GLU 的相对浓度归一化 (图 1)。在植物生殖组织中发现 BMAA 的浓度最高。在所有检测的组织中 GLU 的浓度相似, 并且

显示没有清楚的分布模式。尽管 GLU 似乎分布于整个植物中而没有任何明显的模式，但是 BMAA 集中于雄性和雌性的生殖组织中，其可能作为食草的拒食剂。浆果皮外层中高浓度的 BMAA 表明以苏铁科植物浆果皮为饲料的动物（例如狐蝠）随着时间的推移将接触高累积剂量的 BMAA。在苏铁科植物组织的多个部分检测到包括 BOAA、DAB、DAP 的其它神经毒性化合物，但没有定量（表 1）。

实施例 2 关岛狐蝠（蝙蝠）中苏铁科植物神经毒素的生物放大作用

测量关岛 *Cycas micronesica* Hill 组织、以及马里亚那狐蝠 (*Pteropus mariannus mariannus*) (一种关岛本地的狐蝠(蝙蝠)) 组织中的 BMAA 水平。由于马里亚那狐蝠现在濒临灭绝，所以测量三只狐蝠的博物馆标本的皮肤组织的 BMAA 水平，其是五十年前在关岛收集的，作为干燥的研究皮肤保藏的，并且储藏在 University of California, Berkeley 脊椎动物学博物馆(Museum of Vertebrate Zoology)(MVZ)。

分析从关岛收集的 *Cycas micronesica* Hill 种子，以及从关岛收集的经过加工的(洗涤过的，去毒的)苏铁科植物粉标本(Dr. J. C. Steele, 1987-1988)的样品中的 BMAA 含量。查莫罗人对苏铁科植物粉的传统制备方法包括将 *Cycas Micronesia* Hill 种子的配子体浸泡约 3 周，每 2-3 天换一次水。

使用高效液相层析 (HPLC) 检测 BMAA，且结果用薄层层析 (TLC) 和气相层析-质谱分析法 (GC-MS) 证实。对于 BMAA 分析，制备狐蝠和苏铁科植物组织的游离氨基酸提取物。将组织样品用水或三氯乙酸再水化 30 分钟 (平均组织制剂 80 mg/ml \pm 32 SD)、浸软以及过滤。根据标准方案用 6-氨基喹啉基-N-羧基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯(ACQ)衍生化提取物。在 37°C，在梯度 HPLC 系统(Waters 717 自动注射器，Waters 1525 二元溶剂递送系统和 Waters Nova-Pak C18 柱，300 mm x 3.9 mm)上通过反相分离法分离游离氨基酸。用 140 mM 醋酸钠、5.6 mM 三乙胺，pH 5.2 (流动相 A)和 60% 乙腈(流动相 B)的梯度洗脱，以 1.0 ml/分钟的流速从柱中洗脱单个化合物。9 个梯度条件如下：最初= 100% A, 2.0 分钟 90% A 曲线 11, 5.0 分钟= 86% A 曲线 11, 10.0 分钟= 86% A 曲线 6, 18.0 分钟=73% A 曲线 6, 30.0 分钟= 60% A 曲线 10, 35.0 分钟= 40% A 曲线 6, 39.0 分钟=10%

A 曲线 6, 随后用 100% B 洗涤 5 分钟并用 100% A 再次平衡 5 分钟。BMAA 峰的特征通过与商业标准(Sigma B-107; >94%纯度)进行比较进行证实并通过经修改的梯度洗脱再次证实。使用 Waters 2487 Dual-1 荧光检测仪, 在 250 nm 激发和在 395 nm 发射, 通过荧光标签测定样品中 BMAA 的浓度。ACQ 衍生化的 BMAA 的检测取决于浓度, 并通过将等量 BMAA 和导致平均反应为 51.2%的正亮氨酸内标(代表一个中间范围的浓度)进行比较, 来完成定量。这些数据表示几个试验值的平均反应并且描述衍生化方案的效率以及 BMAA 和内标之间的相对比率。结果可能表示所衍生化的化合物的淬灭, 但是由于百分比反应在可定量的浓度范围内一致, 所以不显著影响样品定量。通过经鉴定的标准(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)的浓度梯度, 测定检测的极限(LOD, 定义为样品中尽管不必定量但可被检测到的分析物的最小浓度)和定量的极限(LOQ, 将吸光度与浓度联系起来的校准曲线的线性范围内的浓度)。对于所有分析, 每次注射 LOD 是 0.00013 微摩尔, 每次注射 LOQ 是 0.013 微摩尔。为了数据解释, 将所有的样品分析在 LOQ 的范围内定量或者报告为没有检测到(ND)(表 1)。使用 Breeze 科学软件(Trinity Consultants Inc., Dallas TX)控制系统操作以及收集并分析数据。

为了证实 HPLC 级分中 BMAA 的特征, 使用 HPLC 级分和 BMAA 标准(BMAA, Sigma B-107; Methionine, Aldrich 15,169-6)进行 TLC。简单地说, 收集并汇集经衍生化的标准和组织样品的 0.5 分钟 HPLC 级分, 然后在 Savant speed-vac 浓缩器中浓缩并在 TLC 板的槽上点样。使用玻璃支持的 250 μ m 分析层硅胶板(20 x 20 cm), 60 ml 丁醇: 15 ml 冰醋酸: 25 ml 0.5 N NaCl 的流动相进行 TLC。干燥后, 用 365 nm 紫外光显现板上的 BMAA。最后, 对于 Sigma 标准化合物和从狐蝠(蝙蝠)组织(MVZ 114607)中分离的样品, 含有鉴定为 BMAA 峰的 HPLC 级分的 GC-MS 证实存在 02.1 m/z 的 BMAA。

表2: 苏铁科植物, 苏铁科植物粉和狐蝠样品中的BMAA

物种	样品	浓度 ($\mu\text{g/g}$)			
		配子体	浆果皮		
<i>Cycas micronesica</i>	配子体	240			
	浆果皮	9			
	浆果皮的外珠被	2,657			
		浓度 ($\mu\text{g/g}$)*			
		基于Kisby等, 1992年	基于Duncan等, 1990年		
苏铁科植物种子粉	Merizo 村	3	18	73	
	Agat 村	8	1	4	
	Yigo 村	ND	5	8	
		每公斤苏铁科植物粉中的当量平均剂量			
		基于Kisby等, 1992年	基于Duncan等, 1990年	当前的计算	
马利亚那狐蝠 (干皮肤)	114607	7,502	690	104	1,014
	114606	1,879	173	26	254
	114609	1,287	118	18	174

* 报道的平均浓度, 基于在Kisby等1992, *Neurology*, 42: 1336: 1340和Duncan等, 1990, *Neurology* 40: 767-772中发现的公布的值, 报道的样品大小为1到4

如在表 2 中所示, 狐蝠皮肤组织所含 BMAA 的量提高 (1,287 到 7,502 $\mu\text{g/g}$), 相反苏铁科植物种子浆果皮中的平均 BMAA 浓度为 9 $\mu\text{g/g}$ 。然而, 种子的最外层珠被具有最多达 2,657 $\mu\text{g/g}$ 的特别高浓度的 BMAA。这些结果显示在狐蝠 (蝙蝠) 组织的 50 年长的博物馆标本中 BMAA 很丰富, 证明消费这种曾很丰富的狐蝠物种的查莫罗人不知不觉地摄入了高剂量的 BMAA。例如, 消费 MVZ 狐蝠标本 #114607, 假设鲜重 500 克并且 BMAA 在整个标本中均匀分布, 导致摄入 3,751 毫克 BMAA, 其相当于消费 1,014 kg 经过加工的苏铁科植物粉。表 2 进一步显示苏铁科植物粉样品中 BMAA 浓度与所公开报道的比较值。表 2 中值的差异反映不同的提取方法, 分析方法学中的差异以及对于 BMAA 回收的效率不做调整的值。

实施例3 蓝细菌神经毒素: BMAA 的蓝细菌来源

定量 200 毫克从 *Cycas micronesia* Hill 的感染的珊瑚形的根、苏铁科植物组织; 满江红属 (*Azolla*) 植物 (在 Hanapepe, Kauai 附近收集的); 根乃拉草属 (*Gunnera*) 植物 (从 Mt. Wailaleale, Kauai 收集的) 中分离的活跃生长的蓝细菌样品中的 BMAA。将所有样品在 0.1 N 三氯醋酸中匀浆两次并以 15,800 x g 离心 3 分钟以沉淀蛋白并提取游离氨基酸。在氮气下, 通过将沉淀物在 6N HCl 中水解 24 小时, 释放蛋白结合的 BMAA, 随后通过离心和超滤除去沉淀。然后冷冻干燥水解提取物的等分试样以使其完全干燥, 并在 20 mM HCl 中重悬用于衍生化。将样品提取物用 6-氨基喹啉基-N-羧基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯衍生化, 并通过上述 HPLC 分离法对氨基酸进行定量。

通过液相层析质谱分析法 (LC-MS), 其中使用偶联可变波长二极管阵列检测仪(DAD), 以及使用电喷射离子化界面(ESI)具有气压流电离源(API)的 SL 单一四极 MS 的 Agilent 1100 HPLC, 来证实样品中存在 BMAA, 以及 HPLC 级分中 BMAA 峰的特征和纯度。将化合物在于 30°C 加热的 Waters SymetryShield RP 18 柱上, 用溶于水的 CH₃CN 的线性梯度洗脱(10 40%)进行分离。将氮气纯化并提供到具有雾化压为 35 磅/英寸² (psi) 的 ESI 界面, 并使用两种不同模式检测 MS 内的化合物。DAD 使用具有 200 600 nm 的全部光谱扫描和在半微量流动室内 0.5 nm 分辨率在 254 nm 检测化合物。在具有 100 600 Da 范围, 50V 碰撞解离 (fragmentor) 电压, 增益为 1.0 V 的阳性扫描模式中, 测定最初的信号。在具有停留时间为 45 毫秒和 70 V 碰撞解离电压的阳性离子模式中, 通过选择性离子监控 (SIM) 鉴定 BMAA。对于两种信号, 毛细管电压是 4 kV, 电子倍增器电压增益是 4 V。周期时间是 0.82 秒/周期, 对两个 MS 信号中的每一个分离 50%。

BMAA 的蓝细菌来源

从在 National Tropical Botanical Garden, Kalaheo, Kauai 中生长的三个登记的标本 (已知原产地的凭证标本) 中收获的, *Cycas micronesica* Hill 的感染的珊瑚形根中分离蓝细菌的共生生物, 并将其培养成具有重复传代的纯性培养物。为了分析受蓝细菌的共生生物感

染的苏铁科植物根组织，通过将表面灭菌的根浸在 70 % 的乙醇溶液中 3 分钟，随后在含有两滴表面活性剂的 1.6 % 次氯酸钠中浸 30 分钟以及用无菌去离子水顺序洗涤 3 次，从 *Cycas micronesica* Hill 的根组织中除去土壤传播的细菌。切除表面灭菌的根外植体 (1-2 cm 长) 并在 pH 7.1, 用 gellan 胶(Sigma)凝固的标准 BG-11 培养基上培养。在具有 16 小时光周期，光强度为 35-45 $\mu\text{mole/m}^2/\text{s}$ 以及温度为 25-30 $^{\circ}\text{C}$ 的受控环境室中培养根外植体培养物。培养 7-10 天后，清楚可见根外植体的蓝细菌共生生物群体的增殖。单个蓝细菌群体的连续传代培养确保根组织不存在残余的 BMAA。为了评价氨基酸对蓝细菌生长的影响，向 BG-11 培养基补充谷氨酸或谷氨酰胺(0、126、或 250 $\mu\text{mol/L}$)；通过补充了这些氨基酸，蓝细菌的生长增加了两倍。在化学分析前进行培养物纯度的组织学验证。蓝细菌群体似乎普遍缺乏异形囊胞，并且观察到繁殖性丝状生长。

结果. 在无感染的苏铁科植物根中没有检测到 BMAA，但是 BMAA 在受蓝细菌共生生物念珠藻属感染的珊瑚形根中很丰富，其中轻微感染的珊瑚形的根具有 37 $\mu\text{g/g}$ BMAA，而严重感染的珊瑚形根具有 2 $\mu\text{g/g}$ BMAA。发现从珊瑚形根分离的念珠藻属的纯性培养物具有 0.3 $\mu\text{g/g}$ 的 BMAA。在无根苏铁科植物组织中，BMAA 集中在苏铁科植物种子中（其被狐蝠食用），在肉质浆果皮中 BMAA 为 9 $\mu\text{g/g}$ ，而在浆果皮的外珠被层中 BMAA 最多达 2,657 $\mu\text{g/g}$ 。也见表 1 中的结果。

对两种具有蓝细菌共生生物的不相关的植物物种进行另外的研究以确定蓝细菌共生生物是否是植物宿主中 BMAA 的来源。细叶满江红 (*Azolla filiculoides*)，一种有蓝细菌共生生物的稻田中的漂浮蕨类，具有 2 $\mu\text{g/g}$ BMAA。 *Gunnera kauaiensis*，一种有蓝细菌共生生物的大叶被子植物，在叶柄组织中具有 4 $\mu\text{g/g}$ BMAA。蛋白沉淀中 BMAA 的水平（蛋白结合的 BMAA）为定量为游离氨基酸的 BMAA 的水平约 240 倍。这些结果进一步证实可在许多环境中发现蓝细菌来源的 BMAA，并且其可能在许多食物链中被摄取。

30 实施例 4 脑组织中的 BMAA

测量八 (8) 名关岛查莫罗人患者和十五 (15) 名加拿大人患者的大脑额上回的 200 mg 样品中的 BMAA 水平。组织由 University of

British Columbia, Vancouver, B. C., 加拿大的 Patrick McGeer 博士提供。在 15% 缓冲的蔗糖维持溶液中贮藏前, 将患者的尸体解剖组织在低聚甲醛中固定, 其中死亡和尸体解剖之间的时间间隔从 4 小时到 5 天不等。以前已经公开了查莫罗人患者的家族关系、临床病史以及组织化学特征(McGeer 等, 1997, *Neurology* 49,400-409)。另外, 提供加拿大人患者的尸体解剖组织, 其包括两 (2) 名死前临床诊断为阿尔茨海默病的加拿大人患者, 以及十三 (13) 名死于自然原因而不是进行性神经变性病的加拿大人患者的两个样品。

将组织在 0.1 N 三氯醋酸中匀浆两次并以 15,800 x g 离心 3 分钟, 以沉淀蛋白并提取游离氨基酸。通过将沉淀在持续沸腾的 6N HCl 中在 110°C 水解 24 小时, 释放蛋白结合的 BMAA。在 15,800 x g 通过超滤(Ultrafree- MC, Millipore Corp.)从 500 μ l 等分试样中除去微粒物质, 并将得到的提取物进行冷冻干燥。将氨基酸在 20 mM HCl 中重悬, 加到用 100% 甲醇、溶于水的 50% 甲醇以及增长量为 20% 的硼酸盐缓冲液: 乙腈 (0.5 M 硼酸盐: 0 - 60% CH_3CN) 梯度的顺序洗涤平衡的 Sep-Pac C_{18} 柱体上。根据标准方案用 6-氨基喹啉基-N-羧基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯衍生化样品提取物中的 BMAA(Banack 等, 2003, *Neurology* 61: 387-389)。氨基酸通过上述 HPLC 分离法 (实施例 3) 定量。通过液相层析质谱分析法 (LC-MS), 其中使用偶联可变波长二极管阵列检测仪(DAD), 以及使用电喷射离子化界面(ESI) 具有气压流电离源(API)的 SL 单一四级 MS 的 Agilent 1100 HPLC, 来证实样品中存在 BMAA, 以及 HPLC 级分中 BMAA 峰的特征和纯度。将化合物在于 30°C 加热的 Waters SymetryShield RP 18 柱上, 用溶于水的 CH_3CN 的线性梯度洗脱(10 40%)进行分离。将氮气纯化并提供到具有雾化压为 35 磅/英寸² 的 ESI 界面, 并使用两种不同模式检测 MS 内的化合物。DAD 使用具有 200 600 nm 全部光谱扫描和在半微量流动室内 0.5 nm 分辨率在 254 nm 检测化合物。在 50V 碰撞解离电压具有 100 600 Da 范围的阳性扫描模式中, 测定最初的信号。使用已证实分子的离子峰的提取的离子层析谱鉴定 BMAA。

结果.如在表 3 中所示,在所有六名死于 ALS- PDC 的查莫罗人患者的额皮质组织中都发现高水平的蛋白结合的 BMAA(149-1190 μ g/g)。在六名死于 ALS- PDC 的查莫罗人患者中, 五名患者的额皮质

组织也具有高水平的游离 BMAA(3-10 $\mu\text{g/g}$)。另外，在一名不是死于 ALS- PDC 的无症状的查莫罗人患者中发现了显著量的游离的和蛋白结合的 BMAA，与不表现 ALS- PDC 的临床表现，但是当尸体解剖时显示显著神经解剖病理学的查莫罗人的先前发现一致。在两名

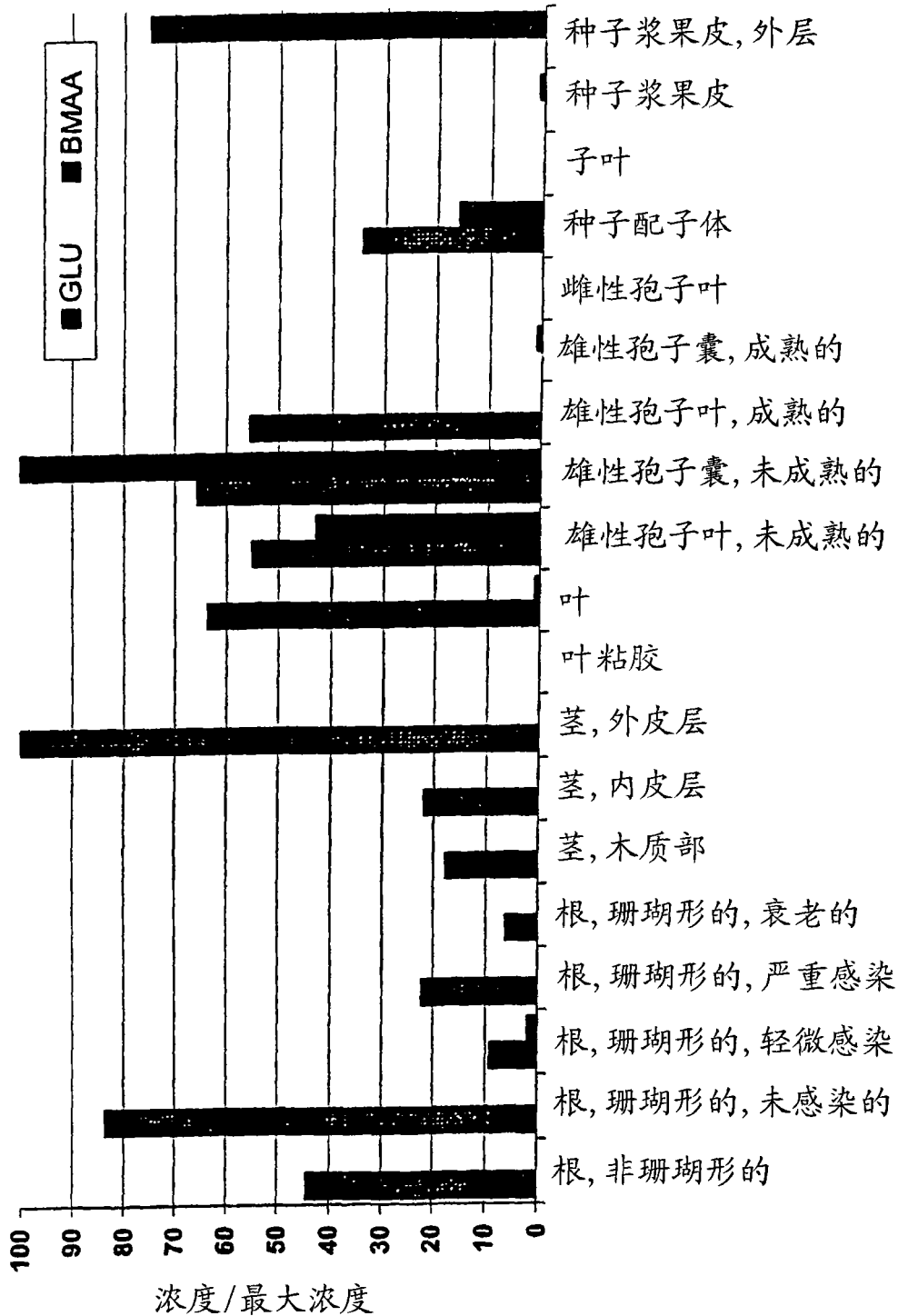
5 诊断为死于阿尔茨海默病的加拿大人患者的脑皮层额回中发现了高浓度的 BMAA。其它所有死于其它原因的 13 名加拿大人患者的额皮层组织中没有可检测到水平的 BMAA。

表3. 定量查莫罗人和加拿大人患者的额上回组织中游离的和蛋白结合的BMAA

死亡时的临床诊断	国籍	死亡年龄	性别	游离的 BMAA ($\mu\text{g/g}$)	蛋白结合的 BMAA ($\mu\text{g/g}$)
PDC (Lytico-bodig)	查莫罗人	60	M	ND	1190
PDC (Lytico-bodig)	查莫罗人	69	M	6.7	644
ALS (Lytico-bodig)	查莫罗人	68	F	10.1	610
PDC (Lytico-bodig)	查莫罗人	77	M	7.0	736
PDC (Lytico-bodig)	查莫罗人	60	M	9.1	149
PDC (Lytico-bodig)	查莫罗人	67	F	3.3	433
无症状	查莫罗人	41	M	4.8	82
无症状	查莫罗人	61	M	ND	ND

阿尔茨海默病	加拿大人	-	-	3.4	220
阿尔茨海默病	加拿大人	-	-	9.7	264
转移癌	加拿大人	39	F	ND	ND
心衰竭	加拿大人	62	M	ND	ND
食管癌	加拿大人	69	M	ND	ND
慢性阻塞性肺部疾病	加拿大人	80	M	ND	ND
淋巴瘤	加拿大人	60	F	ND	ND
甲状腺癌	加拿大人	86	F	ND	ND
心衰竭	加拿大人	89	M	ND	ND
胰腺癌	加拿大人	76	M	ND	ND
慢性阻塞性肺部疾病	加拿大人	89	M	ND	ND
心衰竭	加拿大人	71	F	ND	ND
急性心脏病发作	加拿大人	80	F	ND	ND
慢性心衰竭	加拿大人	87	F	ND	ND
主动脉瘤	加拿大人	85	F	ND	ND

可不偏离所附权利要求中所定义的本发明的精神和范围，对优选的实施方案进行各种修改。



一
四

专利名称(译)	与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物		
公开(公告)号	CN1860369A	公开(公告)日	2006-11-08
申请号	CN200380110515.7	申请日	2003-12-08
[标]申请(专利权)人(译)	种族医学学会		
申请(专利权)人(译)	种族医学学会		
当前申请(专利权)人(译)	种族医学学会		
[标]发明人	PA科克斯 S巴纳克 S穆尔奇		
发明人	P·A·科克斯 S·巴纳克 S·穆尔奇		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/567 G01N33/94		
CPC分类号	G01N33/6896 G01N33/6812 G01N33/94 G01N2410/00 G01N2550/00 G01N2800/28 Y02A50/57		
代理人(译)	王景朝		
优先权	60/494686 2003-08-12 US		
其他公开文献	CN100595588C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

公开了筛选神经障碍的方法。特别是，公开了通过分析从受试者中获得的组织样品中水平提高的与神经障碍相关的神经毒性氨基酸或其神经毒性衍生物的存在，在受试者中筛选神经障碍的方法。具体地，公开了通过测定从受试者中获得的组织样品中β - N - 甲基 - L - 丙氨酸(BMAA)的水平，在受试者中诊断神经障碍，或者在受试者中预测发展成神经障碍的可能性的方法。公开了筛选与神经障碍相关的环境因素的方法。公开了抑制、治疗或预防神经障碍的方法。

