

## 副腎白質ジストロフィーの分子病態の解明と治療薬開発

守田 雅志

**Adrenoleukodystrophy: Molecular Pathogenesis and Development of Therapeutic Agents**

Masashi MORITA

*Department of Biological Chemistry, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences,  
University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama City 930-0194, Japan*

(Received April 6, 2007)

Adrenoleukodystrophy (ALD) is an inherited disorder characterized by progressive demyelination of the central nervous system and adrenal dysfunction. The biochemical characterization is made based on the accumulation of pathognomonic amounts of saturated very long chain fatty acid (VLCFA, >22) in all tissues, including brain white matter and adrenal glands. The accumulation of VLCFA is linked to a mutation in the *ABCD1* gene that encodes ABCD1/ALDP, a peroxisomal ABC protein. ABCD1/ALDP is thought to be involved in the active ATP-driven transport of VLCFA-CoA from the cytoplasm into the peroxisomes. However, the precise function of ABCD1/ALDP is still unclear. The accumulation of VLCFA is caused by reducing peroxisomal VLCFA  $\beta$ -oxidation and/or increasing fatty acid elongation. Since the reduction of accumulated VLCFA in the brain is thought to be crucial for preventing the progression of neurologic symptoms in X-ALD, compounds that can cross the blood-brain barrier and decrease the VLCFA levels in the brain would be a highly attractive candidate for effective treatment of ALD patients. We found that baicalein 5,6,7-trimethyl ether, a flavonoid derivative, decreased the VLCFA level in X-ALD fibroblasts, possibly by activating peroxisomal fatty acid  $\beta$ -oxidation. Continued pharmacologic studies of flavonoids and chemically modified derivatives may lead to major advances in the pharmacologic therapy for X-ALD.

**Key words**—adrenoleukodystrophy; ATP-binding cassette protein; flavonoid; very long chain fatty acid

**1. はじめに**

副腎白質ジストロフィー (X-linked adrenoleukodystrophy; ALD) は、男児 1 万 5 千人から 3 万人に一人の割合で発病する X 連鎖劣性遺伝子疾患<sup>1)</sup>で、中枢神経系の進行性脱髄と副腎不全を呈する神経変性疾患である。この疾患はペルオキシソーム膜上に存在する ATP-Binding Cassette (ABC) タンパク質の 1 つである ABCD1/ALDP の機能不全により引き起こされる。ペルオキシソームは、真核細胞に普遍的に存在するオルガネラで、脂肪酸 (特に炭素数 22 以上の極長鎖脂肪酸や分岐脂肪酸など) の  $\beta$  酸化、エーテルリン脂質の合成、胆汁酸の生合成など、多くの重要な代謝を担っている。ペルオキシ

ソームの機能不全は様々な脂質代謝異常症 (ペルオキシソーム病) を引き起こす。ALD はペルオキシソーム病の中で最も患者数の多い疾患で、様々な臨床型に分類されるが、小児大脳型 ALD と adrenomyeloneuropathy (AMN) で全体の約 80% を占める。小児大脳型 ALD の発症年齢は 5 から 12 歳くらいで、行動異常、知能低下、性格変化、痙性麻痺、視力低下などを示し、数年で死に至る。現在この疾患に対しては骨髄移植 (造血幹細胞移植) の有効性が認められているが、神経症状が進行した患者には無効で、移植時期が限られている。これには ALD と診断されるまでや、診断から移植までに長時間を要し、その間にも神経症状が進行してしまうことが問題点として挙げられる。このような状況下、神経症状の発病や進行を抑える薬物の開発が望まれている。本稿ではこの疾患に対する治療薬開発の現状とともに、筆者がこれまで行ってきた ALD の分子病態の解明、及び治療薬開発の試みについて

富山大学大学院医学薬学研究部分子細胞機能学研究室  
(〒930-0194 富山市杉谷 2630)

e-mail: masa@pha.u-toyama.ac.jp

本総説は、平成 18 年度日本薬学会北陸支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

紹介する。

## 2. ABCD1/ALDP の構造と機能

**2-1. 構造と存在様式** ALD の原因遺伝子 *ABCD1* は ABC タンパク質サブファミリー D に属するアミノ酸 745 個からなるペルオキシソーム膜タンパク質 ABCD1/ALDP をコードしている。ABCD1/ALDP はペルオキシソーム膜を 6 回貫通する疎水性領域と親水性の高い C 末端側を細胞質側に露出するヌクレオチド結合領域 (nucleotide binding domain; NBD) からなるトポロジーを取っていると推定されている (Fig. 1).<sup>2)</sup> ペルオキシソーム ABC タンパク質はハーフサイズの ABC タンパク質であり、機能発現にはダイマー形成が必要である。現在、哺乳類ペルオキシソーム膜上には ABCD1/ALDP のほかに 70 kDa peroxisomal protein (ABCD3/PMP70),<sup>3)</sup> ALDP-related protein (ABCD2/ALDRP)<sup>4)</sup> 及び PMP70 related protein (ABCD4/P70R)<sup>5)</sup> の合計 4 種類の ABCD タンパク質が同定されており、それぞれホモダイマーとして機能していると考えられる (Fig. 1)。その根拠として、各組織・細胞間で発現パターンが異なっていること、<sup>6)</sup> ALDP/ABCD1 以外の ABCD2/ALDRP 若しくは ABCD3/PMP70 の遺伝子異常が ALD 患者ではみつかっていないことが挙げられる。われわれはラット肝臓ペルオキシソームのペルオキシソーム膜からトリプシン処理で遊離した ABCD3/PMP70 の NBD がホモダイマーとして存在していることを確認した。<sup>7)</sup> これらの結果は、ABCD3/PMP70 や ABCD1/ALDP が大部分ホモダイマーとして存在していることを示しており、Guimaraes らの最近の報告とも一致する。<sup>8)</sup>

**2-2. 機能** ABC タンパク質は、その膜貫通ドメインが ATP の結合・加水分解のサイクルにより構造変化を起こし、基質結合部位の親和性を変化させることにより、基質を排泄若しくは取り入れていると考えられている。われわれはラット肝臓ペルオキシソームを用いて、ABCD3/PMP70 や ABCD1/ALDP が ATP を結合し加水分解すること、<sup>9)</sup> また ATP 結合・加水分解に伴って ABCD3/PMP70 の NBD の helical domain の構造が大きく変化することを報告した。<sup>7)</sup> 最近われわれは、昆虫細胞発現系を構築し、ABCD1/ALDP 及び ABCD2/ALDRP が ATPase 活性及び ATP 結合活性を持つことを確

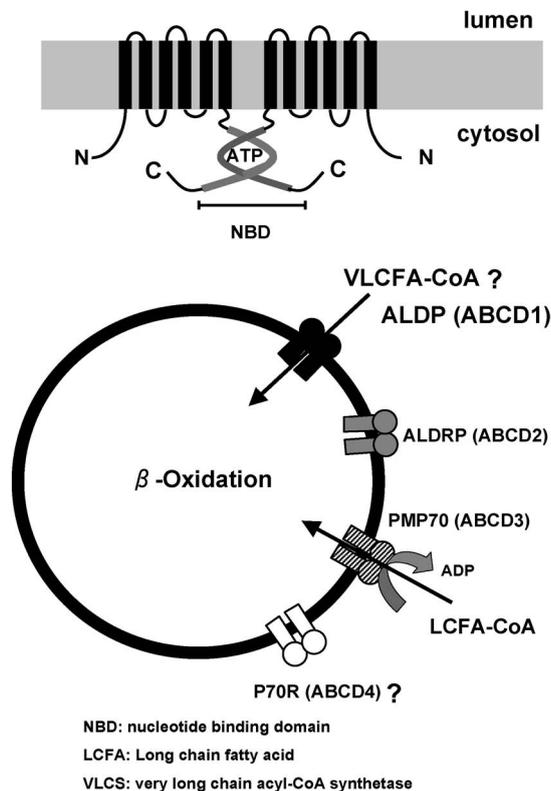


Fig. 1. A Putative Secondary Structure of ABCD1/ALDP and Function of Peroxisomal ABC Proteins

A: Six transmembrane domains (TMDs) are located in the NH<sub>2</sub>-terminal half of the protein, and a nucleotide binding domain (NBD) including Walker A, B and ABC signature sequence are located in COOH-terminal half of the protein. B: In mammalian, 4 ABC proteins are known to be in peroxisomes, ABCD1/ALDP, ABCD2/ALDRP, ABCD3/PMP70 and ABCD4/P70R. Among them, ABCD3/PMP70 has been reported to involve in the active ATP-driven transport of LCFA-CoA from the cytoplasm into the peroxisomes. ABCD1/ALDP is thought to involve in the transport of VLCFA-CoA but the precise function has not yet been elucidated.

認しており、<sup>10)</sup> ABCD1/ALDP 及び ABCD2/ALDRP の場合も、ATP の結合・加水分解による NBD の構造変化がペルオキシソーム内へ基質を輸送する駆動力となっていると考えている。

この ABCD1/ALDP が何を基質として輸送しているかについてはまだ分かっていないが、酵母のペルオキシソーム ABC タンパク質 Pxa1p/Pxa2p や ABCD3/PMP70<sup>11)</sup> が、長鎖脂肪酸 CoA エステル (主に炭素数 12 から 20) のペルオキシソーム内への輸送に関連していることから、これらとアミノ酸相同性の高い ABCD1/ALDP は極長鎖脂肪酸 CoA エステル (炭素数 22 以上) を輸送していると予想される。しかし、これらは極長鎖脂肪酸の代謝系を指標にした間接的な実験によるものであり、実際に何を輸送しているかについては、大量精製した ABCD1/ALDP をリポソームに組み込んだプロテ

オリボソーム系での解析が必要である。

### 3. ALDの脂質代謝異常と治療薬開発

**3-1. 脂質代謝異常** ALDにおける脂質代謝異常を最初に報告したのは、1976年に五十嵐らが患者の脳や副腎に極長鎖脂肪酸がエステル化したコレステロールエステルが多く存在することを示した論文である。<sup>12)</sup>その後、ALD患者線維芽細胞で極長鎖脂肪酸の $\beta$ 酸化活性が減少し、極長鎖脂肪酸含量が増加していたことから、ペルオキシソームでの極長鎖脂肪酸 $\beta$ 酸化活性の低下が極長鎖脂肪酸蓄積の主な原因であると考えられている。<sup>13)</sup>実際、 $[1-^{14}\text{C}]$ リグノセリン酸の $\beta$ 酸化活性は正常の約30%まで減少し、C26:0の含量は約10倍増加していることを確認している。<sup>14)</sup>しかし最近、組織では極長鎖脂肪酸の蓄積とペルオキシソームの $\beta$ 酸化活性の減少には関連性がないことが報告された。<sup>15,16)</sup>培養細胞系と組織での違いが何に起因するか分からないが、極長鎖脂肪酸の蓄積にはペルオキシソームでの $\beta$ 酸化活性の減少以外の要因も考えられる。1984年に辻らはALD患者由来線維芽細胞で脂肪酸延長反応の亢進が起こっていることを報告している。<sup>17)</sup>最近Kempらは、重水素で標識したリグノセリン酸(C24:0)を用いて*de novo*で合成されたC26:0の中性脂質やガングリオシドへの取り込みがALD患者由来線維芽細胞で数倍に上昇していること、さらに正常細胞にC24:0を負荷すると、C26:0とC28:0の含量の増加は2-3日で定常状態に達するのに対して、ALD患者由来線維芽細胞では一週間後も続いて起こることを示した。<sup>18)</sup>このことから、単にペルオキシソーム $\beta$ 酸化の減少による基質の増加だけでなく、なんらかの付加的な効果が脂肪酸延長反応の亢進を引き起こしている可能性が考えられる。われわれはALDノックアウトマウス由来アストロサイトでC24:0からC26:0への変換が野生型に比べ増加していることを最近確認している。極長鎖脂肪酸の分解と合成のバランスの崩れが、結果として極長鎖脂肪酸の蓄積を引き起こしているのかもしれない。

極長鎖脂肪酸の異常蓄積がどのようなメカニズムで神経変性を引き起こすのか今のところよく分かっていない。極長鎖脂肪酸(特に飽和若しくは一価不飽和脂肪酸)は、正常な脳にも存在しているが、ALD患者の脳では極長鎖脂肪酸がエステル化した

コレステロールエステルが多く認められる。また、副腎では極長鎖脂肪酸を含むコレステロールエステルが異常集積した層状構造物が観察される。われわれはALD患者由来線維芽細胞では $[1-^{14}\text{C}]$ リグノセリン酸のコレステロールエステル画分への取り込みが正常細胞の2-3倍程度増加していることを示した。<sup>14)</sup>極長鎖脂肪酸がエステル化したコレステロールエステルは加水分解され難く、ステロイド合成の前駆体として利用され難いことが知られている。実際、ALD患者のほとんどで副腎機能の低下が認められ、dehydroepiandrosterone (DHEA)とその硫酸化体の産生低下が報告されている。神経ステロイドとして脳にも存在するDHEAはミエリン合成に重要であることから、極長鎖脂肪酸蓄積によるステロイドホルモン代謝異常がこの疾患と関連しているのかもしれない。またCiminiらは、ミエリン膜ラフト構造が異常な極長鎖脂肪酸により不安定化し、遊離したミエリン膜断片がミクログリアやアストロサイトを活性化することにより炎症反応を引き起こされ、結果として脱ミエリン化が起こるのではないかと考えている。<sup>19)</sup>極長鎖脂肪酸の蓄積量と発病時期にはかならずしも相関性はないが、中枢神経系における極長鎖脂肪酸の異常蓄積は神経変性の要因になっていると考えられる(Fig. 2)。

**3-2. 治療薬開発** ALDの治療薬としては、ABCD1/ALDPの機能を代替できるタンパク質の発現を誘導するか、ALDP機能減少に伴う脂質代謝異常を正常化する薬物がある候補になると考えられる。前者は主にABCD1/ALDPとアミノ酸相同性の高いABCD2/ALDRPの発現誘導を指標にして、後者は主に極長鎖脂肪酸の分解系を促進するか合成系を抑制することによる極長鎖脂肪酸含量の低下を指標にした化合物の探索が考えられる。これまで甲状腺ホルモン、フェノフィブラート、4フェニルブチレート、ロバスタチン<sup>20)</sup>などがALD患者線維芽細胞のABCD2/ALDRP遺伝子の発現を誘導し、脂質代謝異常を改善することが報告されている。しかし、フェノフィブラートは血液脳関門を通過できないため、脳でのABCD2/ALDRPの発現誘導は認められず、残念ながら脳での効果は期待できない。<sup>21)</sup>それに対して4フェニルブチレートは、ALDノックアウトマウスの脳や副腎において極長鎖脂肪酸代謝異常に改善が認められている。4フェ

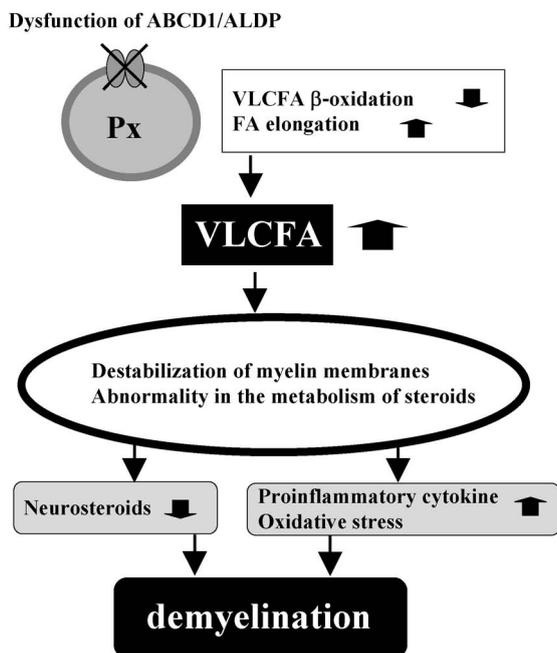


Fig. 2. A Putative Mechanism of Neurodegeneration in X-ALD

Abnormal accumulation of VLCFA, which is caused by reducing peroxisomal VLCFA  $\beta$ -oxidation and/or inducing fatty acid elongation, might result in the destabilization of myelin membranes. The myelin membrane fragments activate the astrocyte and/or microglia, which lead to the inflammatory reaction in central nerve system. Proinflammatory cytokines are known to have negative effects on oligodendrocyte. Disruption of steroid metabolisms in central nerve system might also involve in the demyelination.

ニルブチレートは肝臓において速やかに分解されてしまうため、メチル基を導入した誘導体の効果が今後期待される。<sup>22)</sup> しかしながら、中枢神経系各細胞でのこれら薬物に対する反応性には違いが認められ、今後、個々の細胞について *ABCD2/ALDRP* 遺伝子の転写調節の仕組みを解明することが必要であろう。一方、コレステロール低下薬であるロバスタチンの ALD ノックアウトマウスへの投与実験では、脳における極長鎖脂肪酸含量は逆に増加する結果が報告されており、<sup>23)</sup> 治療薬としての有効性はいまだ確認されていない。

われわれは、多くの生物活性を示すことが知られている植物由来フラボノイドに着目してペルオキシソーム脂肪酸  $\beta$  酸化の活性化や脂肪酸延長反応の抑制を指標にして、ALD 治療薬となり得る化合物の探索を行っている。ALD 患者由来線維芽細胞のリグノセリン酸の  $\beta$  酸化の活性化を指標にして約 100 種類のフラボノイド及びその誘導体について検討した結果、diosmetin, quercetin, genistein, baicalein-5,6,7-trimethyl ether (以下 BTM), diosmetin

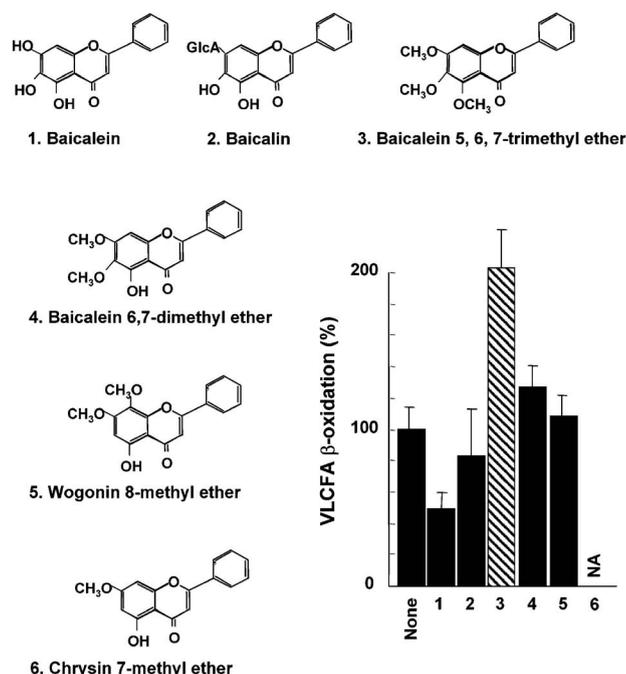


Fig. 3. Chemical Formulas of the Baicalein Derivatives and Their Effects on VLCFA  $\beta$ -oxidation

X-ALD fibroblasts were cultivated in the presence of each baicalein derivative for three days.  $\beta$ -Oxidation activities were expressed as percentage of control. NA: not analyzed.

7-glucoside, isorhamnetin 及び quercetin 5,7,3',4'-methyl ether に有意な活性化効果が認められた。<sup>14)</sup> この中でも、細胞毒性が低く、また最も高い活性化効果を示した BTM は、ALD 患者線維芽細胞の極長鎖脂肪酸 (C26:0) 含量を有意に減少し、また極長鎖脂肪酸のコレステロールエステルへの取り込みも濃度依存的に低下することを見出した。この BTM は baicalein の 5, 6, 7 位の水酸基がメトキシ基に置換した構造を持っており、一方、baicalin は baicalein の 7 位の水酸基にグルクロン酸が結合した構造をしている (Fig. 3)。オウゴンに含まれる baicalin や baicalein では極長鎖脂肪酸  $\beta$  酸化活性化効果は低く、さらに baicalein-6,7-dimethyl ether, chrysin 7-methyl ether, wogonin 8-methyl ether では効果が認められなかったことからメトキシ基、特に 5 位のメトキシ基が活性の発現に必須であることが推察された。BTM による効果は健常者由来線維芽細胞でも認められた。さらに、*ABCD2/ALDRP* や *ABCD3/PMP70* の発現は誘導しないこと、アシル CoA 合成酵素を活性化していること、ミトコンドリアの脂肪酸  $\beta$  酸化系は活性化せず、ペルオキシソームの脂肪酸  $\beta$  酸化系を活性化していることを

確認している。今後、BTM 及びその構造類似体について、溶解性やバイオアベイラビリティを考慮に入れて個体レベルでの検討を行う予定である。

1993 年に日本でも上映された映画「ローレンツのオイル」は、銀行員の父親が ALD と診断された息子ローレンツを救うため勉強を重ね、オレイン酸とエルカ酸の混合液（ローレンツのオイルと名付けられた）が血清中の極長鎖脂肪酸含量を低下させることを発見した実話を基にした映画である。これは Rizzo らが、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸やエルカ酸が飽和脂肪酸の延長反応を競合阻害することにより ALD 患者線維芽細胞の飽和極長鎖脂肪酸含量を低下させることを示した知見に基づいている。<sup>24)</sup> しかし、「ローレンツのオイル」は血清中の極長鎖脂肪酸含量を劇的に改善するにも係わらず、神経変性の進行を抑える効果は認められない。これは不飽和脂肪酸が血液脳関門を通過できないためと考えられる。一方で、食事制限と「ローレンツのオイル」による治療は現在も臨床で行われており、神経症状を呈していない患者には有効である可能性が最近報告されている。<sup>25)</sup> 血液脳関門を通過し、極長鎖脂肪酸への延長反応を抑制する化合物は、今後治療薬として期待される。フラボノイド類の中にこのような効果を持つ化合物があるかどうかについても今後検討する予定である。

一方、われわれは変異 ABCD1/ALDP そのものの機能回復に基づいた治療薬の可能性についても検討している。ALD 患者全体の 60% 以上を占めるミスセンス変異の約 7 割で ABCD1/ALDP が検出されないことに着目し、この変異 ABCD1/ALDP がどのようなメカニズムで分解されるか検討を行った。<sup>26)</sup> その結果、ミスセンス変異 ABCD1/ALDP の多くはプロテアソームで選択的に分解されていることを見出した。ABCD1/ALDP の変異箇所が機能発現に必須なドメイン以外の箇所である場合、患者によっては変異 ABCD1/ALDP の分解を抑制することによって ALDP の機能をある程度回復させることが可能かもしれない。

#### 4. 今後の展望

これまでいくつかの化合物について、ALD 治療薬としての可能性が報告されてきたが、まだ有効な治療薬はみつかっていない。脳において ABCD2/ALDRP の発現を誘導、若しくは極長鎖脂肪酸含量

を低下させる化合物は、今後 ALD 治療薬の有効な候補となる。そのためには、中枢神経系における極長鎖脂肪酸蓄積のメカニズムを解明するとともに、血液脳関門の問題を解決しなければならない。最近、あるフラボノイドが血液脳関門を通過し、中枢神経系で作用を示す例が報告されている。われわれは現在、中枢神経系細胞における ABCD1/ALDP と ABCD2/ALDRP の機能、及び極長鎖脂肪酸蓄積のメカニズムの解析を進めており、今後これらの知見を基に、多様な生理活性を示す植物由来フラボノイドや漢方方剤の中から、ALD 治療薬として有効な化合物の探索を行っていききたい。

**謝辞** 紹介した内容は、富山大学大学院医学薬学研究部分子細胞機能学研究室で、今中常雄教授の指導の下に、柏山恭範助手を始め当研究室に在籍した多くの学生とともに行った実験結果をまとめたものである。本研究に携わったすべての方々に感謝致します。

#### REFERENCES

- 1) Takemoto Y., Suzuki Y., Tamakoshi A., Onodera O., Tsuji S., Hashimoto T., Shimozawa N., Orii T., Kondo N., *J. Hum. Genet.*, **47**(11), 590–593 (2002).
- 2) Contreras M., Sengupta T. K., Sheikh F., Aubourg P., Singh I., *Arch. Biochem. Biophys.*, **334**(2), 369–379 (1996).
- 3) Kamijo K., Kamijo T., Ueno I., Osumi T., Hashimoto T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1129**(3), 323–327 (1992).
- 4) Lombard-Platet G., Savary S., Sarde C. O., Mandel J. L., Chimini G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**(3), 1265–1269 (1996).
- 5) Holzinger A., Kammerer S., Roscher A. A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **237**(1), 152–157 (1997).
- 6) Troffer-Charlier N., Doerflinger N., Metzger E., Fouquet F., Mandel J. L., Aubourg P., *Eur. J. Cell. Biol.*, **75**(3), 254–264 (1998).
- 7) Kashiwayama Y., Morita M., Kamijo K., Imanaka, T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **291**(5), 1245–1251 (2002).
- 8) Guimaraes C. P., Domingues P., Aubourg P., Fouquet F., Pujol A., Jimenez-Sanchez G., Sa-Miranda C., Azevedo J. E., *Biochim.*

- Biophys. Acta*, **1689**(3), 235–243 (2004).
- 9) Tanaka A. R., Tanabe K., Morita M., Kurisu M., Kasiwayama Y., Matsuo M., Kioka N., Amachi T., Imanaka T., Ueda K., *J. Biol. Chem.*, **277**(42), 40142–40147 (2002).
  - 10) Morita M., Kurisu M., Kashiwayama Y., Yokota S., Imanaka T., *Biol. Pharm. Bull.*, **29**(9), 1836–1842 (2006).
  - 11) Imanaka T., Aihara K., Takano T., Yamashita A., Sato R., Suzuki Y., Yokota S., Osumi T., *J. Biol. Chem.*, **274**(17), 11968–11976 (1999).
  - 12) Igarashi M., Schaumburg H. H., Powers J., Kishimoto Y., Kolodny E., Suzuki K., *J. Neurochem.*, **26**(4), 851–860 (1976).
  - 13) Singh I., Moser A. E., Goldfischer S., Moser H. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**(13), 4203–4207 (1984).
  - 14) Morita M., Takahashi I., Kanai M., Okafuji F., Iwashima M., Hayashi T., Watanabe S., Hamazaki T., Shimozawa N., Suzuki Y., Furuya H., Yamada T., Imanaka T., *FEBS Lett.*, **579**(2), 409–414 (2005).
  - 15) McGuinness M. C., Lu J. F., Zhang H. P., Dong G. X., Heinzer A. K., Watkins P. A., Powers J., Smith K. D., *Mol. Cell. Biol.*, **23**(2), 744–753 (2003).
  - 16) Heinzer A. K., Watkins P. A., Lu J. F., Kemp S., Moser A. B., Li Y. Y., Mihalik S., Powers J. M., Smith K. D., *Hum. Mol. Genet.*, **12**(10), 1145–1154 (2003).
  - 17) Tsuji S., Ohno T., Miyatake T., Suzuki A., Yamakawa T., *J. Biochem.*, (Tokyo) **96**(4), 1241–1247 (1984).
  - 18) Kemp S., Valianpour F., Denis S., Ofman R., Sanders R. J., Mooyer P., Barth P. G., Wanders R. J., *Mol. Genet. Metab.*, **84**(2), 144–151 (2005).
  - 19) Cimini A., Bernardo A., Cifone M. G., Di Marzio L., Di Loreto S., *Glia*, **41**(1), 3–14 (2003).
  - 20) Singh I., Pahan K., Khan M., *FEBS Lett.*, **426**(3), 342–346 (1998).
  - 21) Berger J., Albet S., Bentejac M., Netik A., Holzinger A., Roscher A. A., Bugaut M., Forss-Petter S., *Eur. J. Biochem.*, **265**(2), 719–727 (1999).
  - 22) Kemp S., Wanders R. J., *Mol. Genet. Metab.*, **90**(3), 268–276 (2007).
  - 23) Yamada T., Shinnoh N., Taniwaki T., Ohyagi Y., Asahara H., Horiuchi I., Kira J., *J. Inherit. Metab. Dis.*, **23**(6), 607–614 (2000).
  - 24) Rizzo W. B., Watkins P. A., Phillips M. W., Cranin D., Campbell B., Avigan J., *Neurology*, **36**(3), 357–361 (1986).
  - 25) Moser H. W., Raymond G. V., Lu S. E., Muenz L. R., Moser A. B., Xu J., Jones R. O., Loes D. J., Melhem E. R., Dubey P., Bezman L., Brereton N. H., Odone A., *Arch. Neurol.*, **62**(7), 1073–1080 (2005).
  - 26) Takahashi N., Morita M., Maeda T., Harayama Y., Shimozawa N., Suzuki Y., Furuya H., Sato R., Kashiwayama Y., Imanaka T., *J. Neurochem.* (in press).