

タンパク質膜内配列切断の制御と機能

富田 泰輔

通常であれば疎水性環境下に存在する膜貫通領域は、加水分解を受けないものとして考えられてきた。しかし近年、膜貫通領域を基質とし、脂質二重膜内に存在することが推定されるペプチド鎖を切断する「膜内配列切断酵素」が、古細菌から原核・真核生物に至るすべての生物種に保存されており、多様な生理機能に関与していることが明らかとなってきた。特にその一つである γ セクレターゼの活性中心サブユニットであるプレセニリンは家族性アルツハイマー病の原因遺伝子として同定され、その活性を特異的に制御する低分子化合物の開発も精力的に進められている。そして膜タンパク質のX線結晶構造解析法の技術進歩とともにこれらの膜内配列切断酵素の構造が明らかとなり、その切断機構も徐々に解明されつつある。本稿においては、これら膜内配列切断酵素に関して、特に神経系における機能との関連、そしてその切断機構にまつわる構造活性相関について、最近の知見を述べる。

1. はじめに

プロテアーゼはさまざまな生理現象に深く関与しているペプチドやタンパク質のペプチド結合の加水分解を担う酵素である。触媒部位に存在する活性中心残基の違いに基づき、セリン、システイン、メタロそしてアスパラギン酸プロテアーゼの4種類に大別されているが、近年はグルタミン酸やアスパラギンなどを活性中心アミノ酸とするプロテアーゼも同定されている。その切断特性についても、タンパク質をアミノ酸にまで非選択的に分解するものや、基質の特定のアミノ酸配列や立体構造を認識して限定的に切断するものなど、多様である。しかし基本的にプロテアーゼによるペプチド鎖の切断は加水分解反応であり、その反応機構に水分子を必要とする。したがって膜タンパク質の膜貫通領域のように、脂質二重膜内に埋没し、かつ α ヘリックス構造をとっている部分はプロテアーゼによる切断を受けないものとされていた。その一方で、1990年代初頭から、膜貫通領域を持った転写因子が存在し、シグナル依存性に膜内配列に相当するペプチド結合において切断を受け、核へと移行するという現象が報告されるようになった¹⁾。さらに並行してアルツハイマー病 (Alzheimer dis-

ease : AD) の研究からも、膜内配列の切断が示唆されていた²⁾。しかし「膜貫通領域は加水分解されない」という誤った理解により、酵素学的なアプローチはほとんどなされていなかった。これらの責任酵素は、1990年代後半から2000年前後に大きく進み始めていたゲノム計画と分子遺伝学的な解析、そして低分子化合物を利用するケミカルバイオロジーによって同定され、大きな広がりを見せることとなった。

2. γ セクレターゼとアルツハイマー病

AD患者脳に蓄積する老人斑、神経原線維変化の主要構成成分はアミロイド β タンパク質 (amyloid- β peptide : A β) および、タウである。遺伝学・生化学的解析から、A β 産生および蓄積の過程がAD発症の契機となりうること、一方タウタンパク質蓄積が神経変性過程に深く関与していることが示唆され、AD発症機序におけるアミロイド仮説として広く受け入れられている³⁾。A β は前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein : APP) の一部分であり、BACE1 (β セクレターゼ) および γ セクレターゼにより神経細胞から常に産生・細胞外に分泌される (図1)。A β には大きく分けてC末端長が2アミノ酸異なるA β 40と、A β 42の二つの分子種が知られており、特にA β 42の凝集性が著しく高いこと、またAD患者脳においてA β 42が優位に早期から蓄積を開始することが明らかとなっていた⁴⁾。このC末端長を決定するのが γ セクレターゼと呼ばれるプロテアーゼである。遺伝学的な解析により、大部分の優性遺伝形式を示す家族性AD (familial AD : FAD) が、プレセニリン (presenilin : PS) 1遺伝子上の点突然変異に連鎖する

東京大学大学院薬学系研究科臨床薬学教室 (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

Modulation of intramembrane proteolysis and its biological function

Taisuke Tomita (Department of Neuropathology and Neuroscience, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

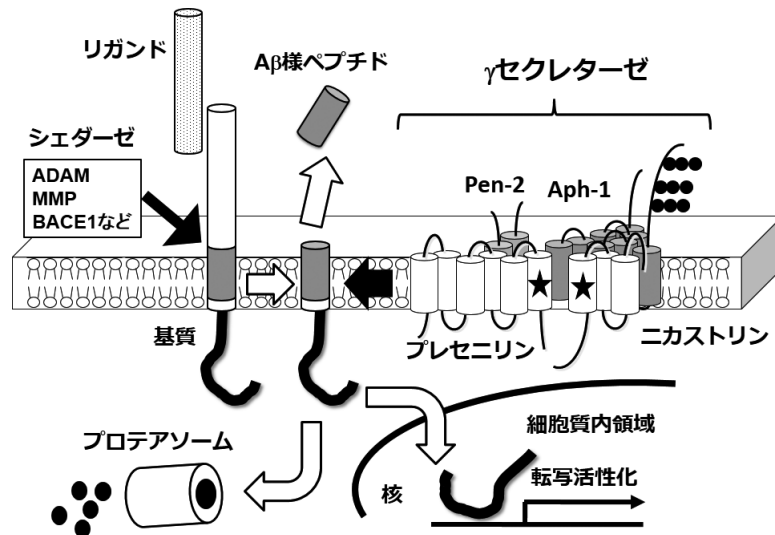


図1 γセクレターゼによる膜内配列切断システム

ほぼすべてのγセクレターゼ基質は1回膜貫通型タンパク質であり、細胞外領域でシェディングを受けて生じるC末端断片がγセクレターゼによって切断を受ける。その結果Aβ様ペプチドが細胞外へ、細胞質内領域が膜から放出され、分解もしくは生理機能を発揮する。γセクレターゼはプレセニリン、ニカストリン、Aph-1、Pen-2の四つの膜タンパク質を基本構成因子とする膜タンパク質複合体である。活性中心のアスパラギン酸を星印で示した。

こと⁵⁾、またほぼすべての変異がAβ42産生を促進し、患者においても血中Aβ42量の上昇や老人斑蓄積が亢進していること、そしてAβ42産生量と発症年齢の間に相関があることなどが明らかとなった⁶⁻¹²⁾。その後PS1のファミリー分子であるPS2もFAD遺伝子として同定され^{13,14)}、PS1同様にAβ42産生を上昇させることが示された¹⁵⁾。すなわちPS遺伝子上の変異によりγセクレターゼによる切断が変化し、その結果生じるAβ42産生上昇がFAD発症の原因であることが強く示唆された。しかしPS1ノックアウトマウスにおいてはAβ産生が9割程度消失すると同時に^{16,17)}、β切断によって生じるC末端断片の蓄積が観察され、γセクレターゼ活性が抑制されていることが示された。興味深いことに、PS2ノックアウトマウスではこのような影響はほとんど観察されなかったが¹⁸⁻²⁰⁾、PS1およびPS2をとともに欠失した細胞においては完全にγセクレターゼ活性が失われていた^{21,22)}。すなわち、PSはγセクレターゼ活性に必須な分子であるが、FAD変異は機能欠失型変異ではないこと、また哺乳類においてはPS1が主要なγセクレターゼ必須分子であると考えられた。

さらにノックアウトマウスの解析は、PSの機能について新たな一面を導き出した。マウス^{23,24)}のみならず線虫^{25,26)}、ショウジョウバエ^{27,28)}におけるPS遺伝子欠損個体において、いずれもNotchシグナリングの欠損による発生異常が検出されたのである。はからずも前後してワシントン大学セントルイス校のRaphael Kopanが、1回膜貫通型タンパク質であるNotchがシェディングと呼ばれる細胞外領域の切断をリガンドとの結合依存性に受け、続いて膜に残存するC末端断片が膜内配列中で切断を受け、細胞膜から放出された細胞質内領域(Notch intracellular domain:

NICD)が直接核へ移行して転写因子として機能することを報告し²⁹⁻³¹⁾、そのシグナル活性化にタンパク質限定分解が必要であることを示していた(図1)。当時このような考え方はシグナル伝達、特に転写因子の機能としてはきわめて異例であったが、後述するSREBPシグナル経路の解析とあいまって、徐々に受け入れられるようになった¹⁾。そしてPSの欠損によってAPP同様Notchの切断も阻害されること³²⁾、また膜内配列中に存在する切断部位に変異を導入したノックインマウスではNotchシグナルが抑制されることが相次いで報告され³³⁾、PSはNotchシグナリングの必須コンポーネントであり、膜内配列切断によってシグナルを伝えていることが明らかとなった。しかしPSがいわゆる典型的なアスパラギン酸プロテアーゼモチーフであるD(S/T)Gモチーフを持っていないことから、プロテアーゼとしての機能はまったく想定されていなかった³⁴⁾。

3. γセクレターゼのケミカルバイオロジー研究

一方、並行して進められていたγセクレターゼ阻害剤(γ-secretase inhibitor: GSI)の同定とケミカルバイオロジー研究により、γセクレターゼ研究は急速な展開を遂げた。AD治療薬という観点から、多くの製薬企業が細胞レベルでのGSIスクリーニングを行っていた。そしてMerck社によりL-685,458(図2A)が強力なGSIとして報告された³⁵⁾。L-685,458はアスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤として特徴的なヒドロキシエチレン同配体(hydroxyethylene isostere)構造を持つことから、γセクレターゼ活性を担う酵素はアスパラギン酸プロテアーゼであると考えられた。またほぼ同時期にハーバード大学のグループはやはりペプ

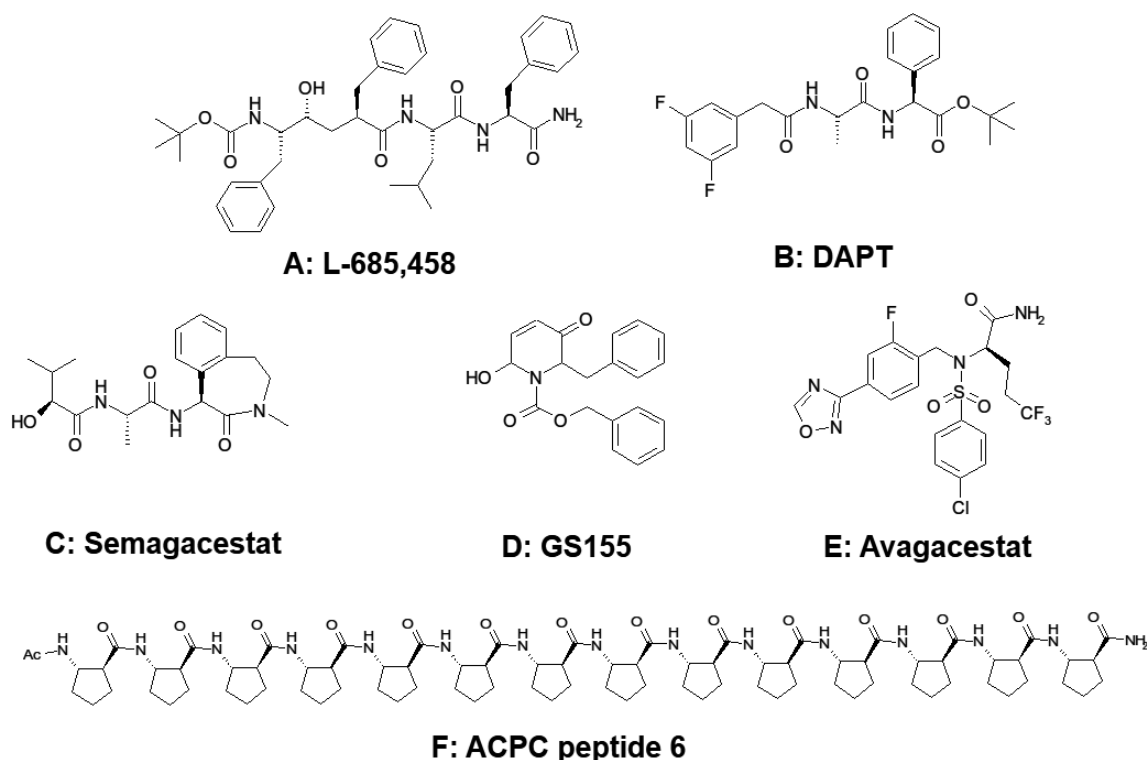


図2 γ セクレターゼ阻害剤 (GSI) の化学構造式

チド性 GSI の開発に成功して同様の結論に達し³⁶⁾, PS の一次配列を丹念に検討したところ, 第6および第7膜貫通領域に存在する二つのアスパラギン酸とその近傍のアミノ酸配列が高度に保存されていることに気がついた. そこでこれらのアスパラギン酸に変異を導入したところ, γ セクレターゼ活性が失われたこと^{18, 37)}から, PS が新規膜結合型アスパラギン酸プロテアーゼであるという, 大胆な仮説を提唱するに至った. この考え方は多くの議論を呼び起こしたが, 上記阻害剤を用いたケミカルバイオロジー解析が決定的な結論を導いた. 両グループは独自に阻害剤の改変を行い, 光親和性標識とストレプトアビジン・ビオチンキャッチ法³⁸⁾を用いて阻害剤の標的分子の同定を進め, いずれも PS との直接結合が確認されたのである^{39, 40)}. その後我々も同様の戦略により, 異なる骨格を持つジペプチド型 GSI である DAPT (図 2B) や Compound E も PS に直接結合することを報告した^{41, 42)}. ひき続いて膜タンパク質型プロテアーゼである type 4 prenilin/preflagellin peptidase (TFPP) ファミリーが細菌から同定された⁴³⁾. TFPP は PS との一次配列やトポロジーの類似性は認められないが, やはり膜内に存在する疎水性ペプチドであるリーダーペプチドを切断する. 変異体解析から, TFPP がアスパラギン酸プロテアーゼであること, さらにその活性に必要なアスパラギン酸近傍のアミノ酸配列の類似性から, TFPP と PS は「GxGD プロテアーゼ」ファミリーに属しているのではないかと考えられるようになった^{44~46)}.

PS がプロテアーゼであるという仮説に対しては, PS 単独の過剰発現が A β 産生に大きな影響を与えないこともあり, 大きな議論点となった. しかし生化学的解析により γ

セクレターゼ活性が PS とともに高分子量画分に分画されたこと⁴⁰⁾, 変異体解析からこの PS の高分子量化が γ セクレターゼ活性発揮に必須であることが明らかとなったことから^{47~51)}, PS がさまざまな構成因子と結合して機能していることが示唆された. そこで酵母 2 ハイブリッド法やプロトミクスなどが進められ, さまざまな PS 結合タンパク質が同定された. しかし膜タンパク質複合体を扱う困難さ, そして界面活性剤に対する感受性などさまざまな問題点があり, 最終的に最も大きな力を発揮したのは, 主に線虫を用いた Notch シグナリング関連分子のスクリーニング, すなわち機能・活性を指標としたアッセイであった. そしてこれらの手法から同定されたニカストリン^{52, 53)}, Aph-1^{54, 55)}, Pen-2⁵⁴⁾を PS と同時に発現させることで γ セクレターゼ活性が再構成されたことから^{56~59)}, この膜タンパク質複合体が γ セクレターゼそのものであることが示された (図 1). これら 4 分子は基本構成因子であり, いずれも生体内で Notch シグナル経路における NICD 産生, すなわち γ セクレターゼ活性に必要であることが遺伝学的に示された. 以上より, γ セクレターゼ複合体は膜貫通領域を切断する新奇アスパラギン酸プロテアーゼであり, そのなかでも PS は触媒サブユニットであることが予測された. そして, ニカストリンは γ セクレターゼの中で唯一巨大な細胞外領域を持ち, この領域が基質分子のアミノ末端と結合し, 基質結合部位として機能していると考えられている^{60~62)}. また Aph-1 は γ セクレターゼ複合体の足場タンパク質としてその安定性や基質選択性に寄与している可能性が示唆されている^{63~65)}. さらに Pen-2 は γ セクレターゼ複合体形成過程において最終的に必要とされる分子であり,

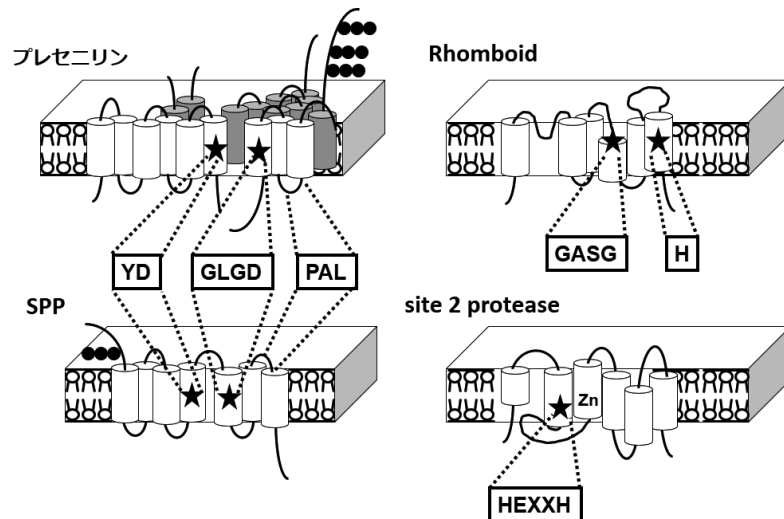


図3 膜内配列切断酵素群

現在までに知られている膜内配列切断酵素ファミリーの模式図。星印は活性中心残基の位置を、四角内は活性中心モチーフを示す。黒丸は糖鎖修飾を表す。

PSの第4膜貫通領域に直接結合して酵素活性を制御する因子として考えられている^{56, 66, 67}。引き続き、さまざまな膜タンパク質由来のシグナル配列を基質とする酵素 signal peptide peptidase (SPP)が、特異的阻害剤を固相化したビーズを用いて精製・同定され、やはり GxGD モチーフを持つことが示された⁶⁸(図3)。興味深いことに、PSとSPPの間では活性中心モチーフと考えられる YD, GxGD そして PAL モチーフ⁶⁹が完全に保存され、遷移状態模倣型 GSI が SPP 活性に対して交叉抑制を示す^{70~72}。しかし全体の膜貫通トポロジーは PS と真逆で、さらに基質となるシグナル配列も γ セクレターゼ基質と反対のトポロジーを持つ(図3)。これらの結果は、PS/ γ セクレターゼと SPP は非常に類似した活性中心構造を有するにも関わらず、基質の膜配向性を見分けているがゆえにまったく異なる生理的機能を持つプロテアーゼとして働いていることを示しており、これらタンパク質が膜内配列切断活性に必要な GxGD モチーフを持つアスパラギン酸プロテアーゼファミリーとして認識されるようになった。さらに最近では、PS 分子単独でも可溶化された状態であれば短い疎水性ペプチドを切断することができることが示された(Takeo ら、投稿準備中)⁷³。以上のように、膜内配列を切断するというこれまでのプロテアーゼ反応における非常識を打ち破る経緯においては、阻害剤を単なる「薬」としてだけみるのではなく、タンパク質の機能を検討する「分子標的プローブ」として、ケミカルバイオロジー的に利用がなされたことが大きな力を発揮したといえよう。

4. site 2 protease と Rhomboid

γ セクレターゼ研究と相まって膜内配列切断酵素の研究を大きく展開させた分子は、site 2 protease (S2P) と Rhomboid であった⁷⁴(図3)。S2P は膜結合型転写因子である

sterol regulatory element-binding protein (SREBP) のシグナル経路において必須コンポーネントとして同定された膜内配列を切断するメタロプロテアーゼである⁷⁵。SREBP は通常小胞体膜上に存在するが、細胞内コレステロール量が低下するとゴルジ体へと輸送され、連続した二段階の限定分解を受け、転写因子領域を細胞質に放出する。この二段階目の切断を担っているのが S2P であり、典型的なメタロプロテアーゼ活性中心モチーフである HEXXH を持つ、複数回膜貫通型タンパク質である⁷⁶。一方、Rhomboid はショウジョウバエ EGF である Spitz の分泌に関わる分子として同定された複数回膜貫通型セリンプロテアーゼである⁷⁷。Spitz は膜貫通領域を含んだ状態で生合成されるが、膜内配列において Rhomboid による切断を受けて細胞外に分泌される⁷⁸。そして大腸菌 Rhomboid ホモログ GlpG の構造解析により膜貫通領域中の GASG モチーフが触媒部位を形作っていること、さらにこれらの活性中心残基が膜内親水性キャビティ構造に面して存在していることが明らかとなった^{79, 80}。すなわち、膜内配列切断は脂質二重膜内ではなく、酵素そのものが作り出す脂質内の親水性環境で行われていることが明示されたのである。このような構造はその後、メタン生成古細菌の S2P ホモログにおいても見いだされ⁸¹、膜内配列切断酵素に共通する構造的性質と考えられた⁸²。しかしそれぞれが明確に異なる基質特異性を持ち、遺伝学的にも別個のシグナルに関わる酵素であり、特に S2P や Rhomboid は APP を切断することではなく、 γ セクレターゼがこれらの基質を切断することもない^{83, 84}。すなわち、「膜内配列を切断する」活性を持つプロテアーゼは複数種類存在し、通常のプロテアーゼと同様に、活性中心残基の違いによって分類されること、またこれらのプロテアーゼ活性は広くほぼすべての生物にみられ、関与する生物現象は実に多様であることが確定的となった。

5. 膜内配列切断酵素の活性制御機構

この切断システムでは、膜結合型の基質が何らかの刺激に応じて切断を受けることで機能発揮（エフェクター）ドメインである細胞外もしくは細胞内領域が膜から放出され、新たな生体応答を惹起する、もしくは基質の分解を導く、という流れが基本的である。特に Notch の場合は、隣接する細胞に発現しているリガンドが Notch と結合してエンドサイトーシスされることにより Notch の膜近傍領域が構造変化し、まず細胞表面膜上で膜結合型メタロプロテアーゼの一つ ADAM10 によって細胞外領域がシェディングを受け、後に残った膜結合型 C 末端断片 NEXT がエンドソームもしくはリソソーム近傍で γ セクレターゼによって切断されて NICD 放出に至る、というシステムが考えられている⁸⁵⁾。S2P や Rhomboid においても基質の細胞内小胞輸送が切断反応に重要であることが明らかとなっている。すなわち基質が膜内配列切断酵素の存在する膜オルガネラへ輸送されることで切断反応を起こす、という点で細胞内小胞輸送と共役した限定分解・シグナル伝達機構といえる⁸⁶⁾。そのため特殊な輸送制御を受けない基質の場合には、恒常的に膜内配列切断を受けることが多い。特に APP は産生後分泌経路によって表面膜へ輸送され、エンドサイトーシスによって取り込まれた後にある程度リサイクリングを受けてリソソームで分解されることがわかっている⁸⁷⁾。この輸送形態の中で $A\beta$ 産生過程の第一段階である β 切断が初期エンドソームで BACE1 によって行われると、ひき続いて C 末端断片がエンドソームからリソソーム近辺で γ セクレターゼにより切断を受け、 $A\beta$ が産生されると考えられている。いずれにせよ、どの膜内配列酵素も切断を行うオルガネラにおいては基本的にはアクティブである。しかし γ セクレターゼの切断活性はその微妙な細胞内局在の違いによって変化し⁸⁸⁾、細胞表面に近いほど $A\beta_{40}$ 産生優位の活性を示し、リソソームに近いほど $A\beta_{42}$ 産生が増加すること、遺伝学的 AD リスク因子である phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein (PICALM) がこのプロセスを制御していることを我々は見だしている (Kanatsu ら, in press)。また γ セクレターゼと Rhomboid については、酵素周囲の脂質環境が酵素そのものの活性に影響することも示されている^{89,90)}。さらに最近神経細胞においては神経活動に連動して PS の構造変化が生じ、 $A\beta_{40/42}$ 産生比率が変化することも報告され⁹¹⁾、活性制御システム機構の全容解明が待たれている。

6. 膜内配列切断酵素の神経系における機能

γ セクレターゼについては元来 AD 関連分子として解析が進められたこと、非常に多くの膜タンパク質が基質として同定されたこともあり、非常にさまざまな生理的意義が示唆されている。特に γ セクレターゼの主要な基質である

Notch は、ショウジョウバエにおいて「Neurogenic」遺伝子として同定された神経幹細胞の維持に必要な分子であり、非対称分裂において娘細胞の運命を決定する⁹²⁾。そのため、Notch 遺伝子に変異がある個体においては発生初期における神経細胞数の亢進と、引き続き異常神経細胞死の増加が観察される。同様の表現型は PS やほかの γ セクレターゼ構成因子を欠損したショウジョウバエやマウスの神経系においても観察され^{23,93,94)}、 γ セクレターゼが Notch シグナルに必須な因子であることを明示している。またコンディショナルノックアウトマウスを用いた解析から、Notch シグナルは発生が終了した個体においてもさまざまな臓器における幹細胞維持や細胞運命決定に必要なシグナル経路であることが明らかとなっている。特に血球系細胞の分化に大きく寄与しており、 γ セクレターゼ構成因子のノックアウトマウスにおいても脾臓などで異常が観察されているほか、ヘテロノックアウトマウスにおいても、12~15 か月齢以上の個体では脾腫 (splenomegaly) などが観察されることが報告されている⁹⁵⁾。

一方、発生終了後の個体における神経系機能という観点では、CamKII-Cre マウスなどを用いた神経細胞特異的コンディショナル PS ノックアウトマウスにおいてシナプス可塑性の低下や認知機能の障害、そして加齢依存性の神経変性が観察されている。また同モデルを用いて、PS がシナプスにおいて神経伝達物質の放出に必要であることも示された^{96~98)}。しかし Notch の神経細胞特異的ノックアウトを行っても類似した表現型は認められていない⁹⁹⁾。したがって Notch 以外の γ セクレターゼ基質がこれらの神経機能に重要である可能性が考えられる。これまでにシナプスに関連する γ セクレターゼ基質だけでもすでに 50 を超え、さまざまな生理機能に関与していることが示唆されている¹⁰⁰⁾。興味深いのは、ほぼすべての γ セクレターゼ基質は I 型膜貫通タンパク質のトポロジーを有し、多くの場合リガンドが膜結合型分子であり、接着分子としての機能が示されている分子である。その中には N-cadherin のようにホモフィリック (同種親和性) な接着分子が基質である場合もあれば、EphB2 や EphA4 のようにリガンドが異なる分子 (これらの場合は ephrin B) であることもある。しかしいずれの分子も γ セクレターゼで切断を受けるためには Notch のように細胞外領域でシェディングを受けることが必要であり (図 1)、シェディングの可否の段階で制御を受けている。一方、 γ セクレターゼ切断そのものにはリガンド依存・非依存性などの特質は観察されない。この接着分子の切断に関わるという特徴は、ほかの膜内配列切断酵素と異なり、 γ セクレターゼが異細胞間相互作用を必要とする多細胞生物においてのみ観察されることと関係があるのかもしれない。我々はこれらの共通性に注目してスクリーニングを行い、ephrin B1¹⁰¹⁾ や Neuroligin¹⁰²⁾ が γ セクレターゼ基質となることを報告している。特に Neuroligin 1 は ADAM10 によるシェディングを受けた後に γ セクレターゼによる切断を受けること、特に興奮性刺激に応じて

切断を受け、シナプス膜からの Neuroligin 1 タンパク質の消失に必要なこと、この切断プロセスを抑制することでシナプス形成が亢進することなどを報告した。この場合は γ セクレターゼによる切断は Neuroligin 1 機能の抑制に関与していると考えられる。Neuroligin 1 の機能亢進は自閉症との関連が示唆されており¹⁰³⁾、ADAM10/ γ セクレターゼによる切断異常が自閉症と関連する可能性がある。また γ セクレターゼ活性の変化によるシナプス可塑性異常が Neuroligin の切断様式の変化によって説明できる可能性があり、検討を進めている。いずれにせよ多くの γ セクレターゼ基質が神経機能に複合的に関係しており、今後も各基質の神経細胞における機能を明確にすることは重要であろう。

7. γ セクレターゼ活性を制御する低分子化合物

このようにこれら Notch シグナルを介した γ セクレターゼ活性の分化への影響から単純な GSI に関しては副作用が予見され、実際に GSI を投与したマウスやラットにおいて血球系分化障害や腸管への影響が観察されていた¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾。そのためできるだけ末梢臓器に大きな影響を与えない化合物の探索が進められ、Eli Lilly 社によって Semagacestat (図 2C) の開発に至り、第三相治験まで行われた。しかし残念なことに副作用がみられたことから 2010 年に中止となった¹⁰⁸⁾。主たる副作用は高濃度投与群における認知機能の低下と、皮膚がんなどの発症率の亢進と報告されている。特に認知機能の低下については、投与終了後も回復しなかったことから、慢性的な GSI 投与は中枢神経系に不可逆的な障害を与えたと考えられている。いずれにせよ、慢性的な γ セクレターゼ活性の抑制が生体にもたらす異常の分子の解明は重要であると考えられる。そこでさまざまなライブラリーから多様な骨格を持つ GSI の探索が行われ¹⁰⁹⁾、特に Notch シグナルを抑制せずに A β 産生のみを抑制する、Notch-sparing GSI と呼ばれる化合物の開発が進められた^{107, 110, 111)}。特にスルホンアミド骨格を含んだ化合物がそのような特性を持っていたことから精力的に開発され¹⁰⁵⁾、その一つである Avagacestat (図 2E) は第二相臨床治験にまで至った。興味深いことに、細胞レベルの検討においてはこれらの化合物には Notch-sparing 効果がありみられないが^{112, 113)}、個体においては末梢臓器での Notch シグナル抑制はあまり観察されない。その理由としては薬物動態による影響のほか、Notch-sparing GSI は PS1 を含む γ セクレターゼに優位に阻害活性を示すことが明らかとなっており、PS2 活性が残存するためにこれらの副作用が生じない可能性が考えられている^{114, 115)}。しかしヒトにおいては、高濃度群においては Semagacestat と類似した副作用をみせ、中～低濃度群においては薬効が観察されなかったことから、開発は中止された。

そのような経緯から、現在は AD 治療薬としての γ セクレターゼ活性制御法は γ セクレターゼモジュレーター (γ -

secretase modulator : GSM) へと移行している^{107, 116)}。そもそも GSM の発見は、AD 発症リスクを低下させる非ステロイド性抗炎症剤 (NSAIDs) の一部が、 γ セクレターゼ活性を直接制御し、特に凝集性の高い A β 42 産生のみを特異的に阻害する一方で、C 末端長の短い A β 38 の産生を上昇させ、NICD 産生に影響を与えない、すなわち Notch シグナルを遮断しないことが報告されたことに端緒を発する^{117, 118)}。特に NSAIDs のカルボン酸が重要であり、この部分の改変は逆に A β 42 産生上昇・A β 38 産生低下を招く、inverse GSM となることも示されている¹¹⁹⁾。その後 NSAIDs の誘導体である Tarenflurbil (図 4A) が治験に至ったが、第 III 相治験において有意な治療効果がみられず、開発中止となった。その原因としては脳移行性が著しく悪かったためと予測されている。しかしこの NSAIDs 型 GSM の発見は、「低分子化合物によって凝集性の高い A β 42 産生を特異的に制御できる」、という新しいパラダイムをもたらした。最近では強力な薬理活性を示し脳へも十分移行する GSM として、フェニルピペリジン型 GSM である GSM-I^{120, 121)} (図 4B) に加え、NGX 化合物¹²²⁾ (図 4C)、E2012^{123, 124)} (図 4D) や RO-57¹²⁵⁾ (図 4E) などが開発されている。興味深いことに、図 4C～E の GSM はフェニルイミダゾール骨格を持つことを特徴とし、A β 42 のみならず A β 40 産生も低下させ、同時に A β 37 と A β 38 産生を亢進させる。すなわち、現在見いだされる GSM としては、大きく分けて、NSAIDs に始まる A β 38/42 に影響を与えるフェニルピペリジン型 GSM シリーズと、A β 37/38/40/42 に影響を与えるフェニルイミダゾール型 GSM に分類される。これらの化合物の投与は少なくとも AD モデルマウスのアミロイド斑蓄積を抑制することが示されており、一部のフェニルイミダゾール型 GSM については治験へと開発が進められている。

8. プレセニリンの構造機能連関

PS がプロテアーゼそのもののだとしても、依然として疎水性の高い膜内配列を加水分解する分子機構については謎であった。特に S2P や Rhomboid が基質の膜貫通領域の比較的親水性領域に近いペプチド結合を切断するのに対して、 γ セクレターゼによる切断部位に相当する A β の C 末端はほぼ膜内配列の中央に相当する。また活性中心とされるアスパラギン酸も膜貫通領域のほぼ中央に存在すると予測されていた。そこでチャンネルやボアのような構造を仮定し、その中央部に活性中心アスパラギン酸が面し、触媒構造を作っている、という仮説を考えた。その検証のため、我々は substituted cysteine accessibility method (SCAM) もしくは cysteine scanning mutagenesis と呼ばれる生化学的構造解析を行った^{126, 127)}。この方法はスルフヒドリル (-SH) 基を持つアミノ酸がシステインのみであるということ、そしてこのスルフヒドリル基に特異的に反応するマレイミドやメタンチオスルホン酸を利用してアミノ酸レベルで特異

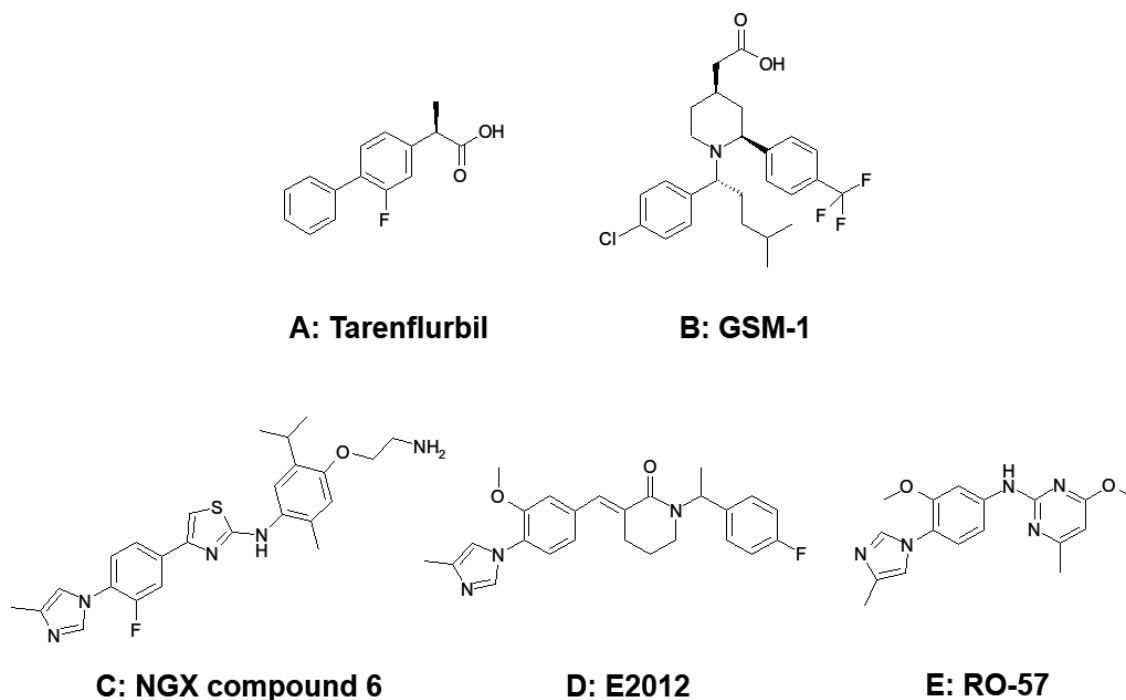
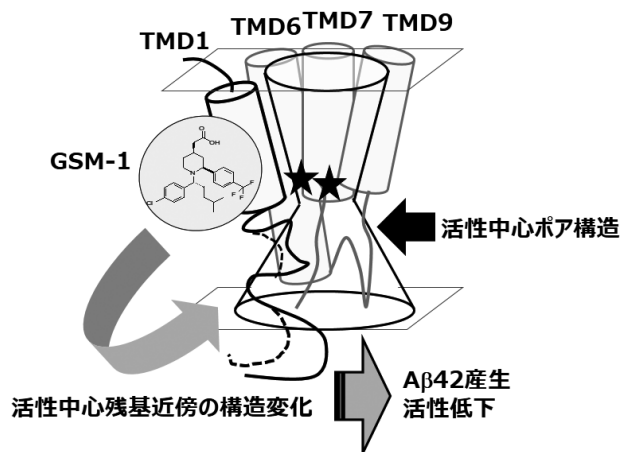


図4 γ セクレターゼモジュレーター (GSM) の化学構造式

的に標識を入れることが可能であることを利用し、ビオチン基やポリエチレングリコールなどの部位特異的導入や、クロスリンク実験によってトポロジーや親水性環境、アミノ酸間距離を推定する解析手法である。特に膜タンパク質に関しては、親水性環境においてのみこれらの試薬が反応することを利用し、バクテリオロドプシンやアセチルコリン受容体において先駆的に用いられ¹²⁸⁾、その後カリフォルニア大学ロサンゼルス校の Ronald Kaback による大腸菌の Lac パーミアーゼ¹²⁹⁾、トロント大学の David M. Clarke による P-糖タンパク質¹³⁰⁾の解析に利用されるなど、さまざまな膜タンパク質のトポロジー解析に用いられている。我々はこの手法を用いて PS の各残基についてシステイン変異体を作製し MTS 試薬との反応性を観察すると同時に、遷移状態模倣型 GSI による競合実験を加えることで、活性中心構造を作っているアミノ酸残基のマッピングを試みた。その結果、PS の複数の膜貫通領域によって脂質二重膜内に親水性環境を含むボア様構造が形成され、その環境に第6および第7膜貫通領域のアスパラギン酸が直接面し加水分解を行う「活性中心ボア構造」モデルを提唱するに至った^{126, 131, 132)} (図5)。類似した結果は、ほかのグループからも報告された^{133, 134)}。

SCAM の優れている点は、標識の変化によってそのアミノ酸残基近傍の構造変化を検出できることである。我々はこの手法を適用し、GSM の作用機序について検討した⁵⁹⁾。GSM は基質である APP に直接作用する可能性が示されていたが、その結合は非特異的ではないかという指摘もなされていた^{135, 136)}。また蛍光顕微鏡を用いた分子イメージング解析から各種 GSM が PS の全体構造を変化させることも示されていた¹³⁷⁾。我々は IC₅₀ として nM オーダー



の高い活性を示すフェニルピペリジン型化合物 GSM-1 について各種改変体を作製し、光親和性標識プローブ化を行った¹²¹⁾。そしてこのプローブが PS の N 末端側の第1膜貫通領域 (TMD1) に直接結合し、活性中心構造を変化させることを見だし、GSM-1 の薬理効果は直接結合を介した PS の構造変化によるものであることを明らかにした (図5)。TMD1 の細胞質側領域は触媒構造の一部を形成し¹³²⁾、切断過程においてピストン様の構造変化を引き起こし¹³⁸⁾、活性中心ボアの一部を形成する重要な膜貫通領域 (TMD) の一つである。また最近、フェニルイミダゾール型 GSM についても同様の解析を行い、これらの化合物が PS の細胞外に存在する第一ループに結合し、やはりボア構造に影響を与えていることを明らかにした (Takeo ら、投稿中)。いずれにせよ PS の活性中心ボア構造は、A β 産

生過程においてそのC末端長の制御に直接的に関係していることが明らかとなった。

またGSI, GSMを用いた酵素学的解析は, γ セクレターゼによる膜内配列切断プロセスについてさらに多くの示唆を与えた。まず α ヘリックス構造をとる膜貫通領域を基質とすることに注目し, WolfeらはAPPのアミノ酸配列内に2-アミノイソ酪酸を挿入してヘリックス構造を固定化したペプチドが強力なGSIとなること¹³⁹⁾, またその結合部位がPS内ではあるが活性中心部位と異なることを見だし, γ セクレターゼには initial substrate binding site と呼ばれる基質認識部位が存在することを明らかにした¹⁴⁰⁾。近年, DNA のらせん構造のようにモノマー間の分子間相互作用で自律的に高次構造を形成するオリゴマーは「フォルダマー」と呼ばれ注目を集めている。我々は膜貫通領域が α ヘリックス構造をとる天然のフォルダマーであることに着目し, 固定化されたヘリックス構造を自律的に形成する β アミノ酸である *trans*-2-アミノシクロペンタンカルボン酸からなるフォルダマーがやはりGSIとなることを明らかにした¹⁴¹⁾(図2F)。一方膜貫通領域の α ヘリックス構造はアミノ酸配列に依存するため側鎖の改変は容易ではないが, このフォルダマーは主鎖上の相互作用によってヘリックス構造をとるためヘリックス面に存在する側鎖を改変することが可能である。そこで我々は種々の β アミノ酸を挿入, 検討することでAPPを優位に阻害するペプチドの開発に成功した¹⁴²⁾。また initial substrate binding site には第1ループ, 第2, 第6膜貫通領域とC末端が関連していることを見だしている¹⁴³⁾(Takagi, Sasakiら, 投稿準備中)。

基質が捕捉された後の切断機構については, まずAPPの膜貫通領域の細胞質近傍においてエンドプロテアーゼ活性によって ϵ 切断が行われ, $A\beta$ よりもC末端長の長い $A\beta$ が生じた後に, カルボキシペプチダーゼ活性によってC末端側から3~4アミノ酸ごとにトリミング(ζ , γ 切断と呼ばれている)を受ける形で $A\beta$ が生じる, Processive/Successive cleavage モデルが井原らにより提唱されている¹⁴⁴⁾(図6)。この ϵ , ζ , γ 切断のいずれも γ セクレターゼによって行われている。またこのプロセッシングは初めの ϵ 切断の位置に応じてその後続く切断産物の種類が決定づけられており, 主要には $A\beta_{49} \rightarrow A\beta_{46} \rightarrow A\beta_{43} \rightarrow A\beta_{40} \rightarrow A\beta_{37}$ の産生経路が起き, マイナーな切断経路として $A\beta_{48} \rightarrow A\beta_{45} \rightarrow A\beta_{42} \rightarrow A\beta_{39/38}$ が生じることが示されている¹⁴⁵⁾。これは基質となる膜貫通領域のヘリックス面に沿って連続した切断が起こっているためであると考えられている。このモデルは分泌 $A\beta$ のC末端長に多様性が存在していることや, APPの細胞質側断片のN末端のアミノ酸が $A\beta$ と合致しないこと, またGSMによっては $A\beta_{40}$ 産生には影響を与えず, $A\beta_{38}$ や $A\beta_{42}$ 産生のみ変化させる化合物が存在することなどを説明できるモデルとなっている。そしてGSMはこのProcessive cleavageの効率を亢進させることで, 短い $A\beta$ 分子種の作製を促進していると考えられて

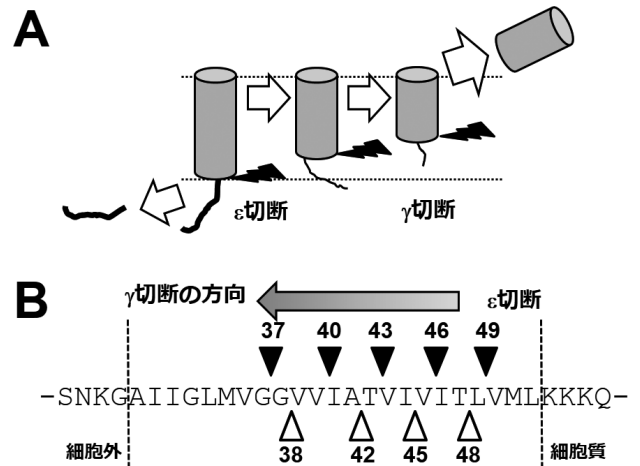


図6 γ セクレターゼによるProcessive/Successive cleavageモデル
 γ セクレターゼによる連続した膜内配列切断様式。Aに概略を, BにAPPの一次配列に基づいた切断パターンを示す。

いる。

9. GxGD プロテアーゼのX線結晶構造解析

現在までに, 我々を含めた複数のグループが精製 γ セクレターゼ複合体の単粒子構造解析を報告している^{146~149)}。しかし残念ながら, その解像度はまだ切断メカニズムの理解に至るものではない。最近になり二つのGxGDプロテアーゼ, FlaKおよびpresenilin/SPP homologue (PSH)のX線結晶構造解析が報告され, 大きな注目を浴びている^{150, 151)}。S2Pと同様いずれもメタン生成古細菌由来のプロテアーゼであり, ゲノム解析技術と膜タンパク質構造解析技術の革新的進歩が大きく寄与しているといえよう。特にPSHはPSと同様に9回膜貫通型タンパク質であり, その構造はヒトPSに類似している可能性が示唆されている(図7)。共にGxGDモチーフを持ち, 二つのアスパラギン酸がプロテアーゼ活性に必要であること, そして脂質二重層内に相当する位置に親水性環境を構成し, これらのアスパラギン酸が直接面していることが推測された。すなわ

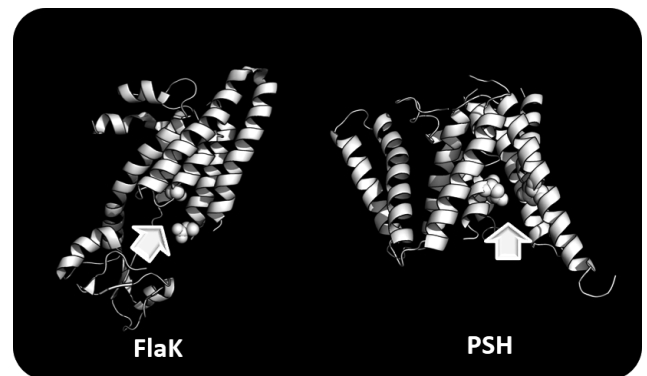


図7 FlaKおよびPSHのX線結晶構造

FlaK (Protein Data Bank code 3S0X, molecule A) および PSH (code 4HYG, molecule A) の構造と活性中心アスパラギン酸 (Sphere), 膜内親水性キャビティへのアクセス (矢印) を示す。本モデルはPymolにて作成した。

ち、先の S2P や Rhomboid と同様の脂質内親水性キャビティがまったく異なる膜内配列切断酵素である GxGD プロテアーゼにも存在することが明らかとなった。一方で我々がヒト PS1 で示唆したようなボア構造のような、細胞内外をつなぐ親水性構造は見いだされていない。これにはいくつかの可能性が残されている。まず現在報告されている FlaK, PSH の構造は二つのアスパラギン酸が離れた不活性型構造であるため、活性発揮時には異なる構造をとる可能性がある。そして FlaK, PSH ともに単独で酵素活性を発揮するプロテアーゼであるのに対して、PS/ γ セクレターゼはほかの構成因子を必要とするプロテアーゼであることも大きく異なる。実際、我々は PS が γ セクレターゼ複合体を形成する過程において、活性中心ボア構造に大きな構造変化が生じることを見いだしており¹⁵²⁾、複合体であるがゆえに特殊な構造をしている可能性がある。さらに γ セクレターゼのような ϵ から γ 切断に至る連続した切断様式は FlaK や PSH, そして S2P, Rhomboid においても認められない。すなわち γ セクレターゼの切断機構は非常に巧妙かつ複雑なプロセスによって行われており、それに伴った構造が存在すると考えられている。これらのメカニズムの完全な理解のためには、やはり PS そのものの構造の理解と、GSI や GSM 存在下での PS/ γ セクレターゼ複合体の構造を理解することが必須であろう。

10. おわりに

Alois Alzheimer が最初の患者を報告してから 100 年を経て、AD 発症機序において A β が深く関与していると広く認識されるようになった。その過程においては FAD 遺伝子としての PS の同定と A β 42 産生への寄与、そして γ セクレターゼとしての機能の発見は大きいものであった。しかし γ セクレターゼ活性を直接抑制する薬剤 Semagaestat, Avagacestat の治験が失敗に終わるなど、残念な結果となった。最近では大規模臨床観察研究の解析から、抗 A β 療法については早期診断に基づく先制医療としての利用が適切であると考えられており、長期にわたる服用の必要性が推測される。そのような意味でも、今後の AD 治療薬としての GSM 開発に大いに期待がかかっている。また γ セクレターゼ研究により、「膜貫通領域を加水分解する」という新しい膜内配列切断酵素パラダイムの確立と、膜結合型エフェクターの生物学的意義の解明が一気に進んだ。我々も含めて多くの研究者が「 α ヘリックス構造をとる膜貫通領域は安定である」「プロテアーゼのモチーフ配列を持たない PS は酵素ではない」という誤った方向性を頑なに信じていた中で、モデル生物を用いた遺伝学と、ケミカルバイオロジーを利用した阻害剤の活用は大きな衝撃を与えた。しかし最終的には膜タンパク質に対するハードコアな生化学と酵素学によって実証され、特異的な阻害剤の開発と X 線結晶構造解析によってそのメカニズムに迫りつつある。 γ セクレターゼ研究とほぼ同時期にメタロプロテ

アーゼである S2P とセリンプロテアーゼである Rhomboid が同定されたことは決して偶然ではなく、それぞれの分野における技術革新と、複数の分野にまたがって俯瞰する、学際的な研究姿勢が実を結んだといえよう。さらに最近では、 γ セクレターゼの非プロテアーゼ機能としてのカルシウムイオン濃度調節¹⁵³⁾、プロテアーゼ活性が存在しない Rhomboid ファミリー分子 iRhomboid の機能解明¹⁵⁴⁾ など、多様な展開が進みつつある。このように疾患・創薬研究を契機とした γ セクレターゼ研究は、古典的な酵素学から分子生物学、遺伝学そしてケミカルバイオロジーを包含しながら新たなバイオロジーの世界をもたらしてきた。今後ますます新しい酵素学としての展開が期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究は、筆者が東京大学大学院薬学系研究科臨床薬学教室にて実施したものです。学生時代より一貫してご指導を賜りました岩坪威教授（東京大学大学院医学系研究科）に心より感謝申し上げます。また本研究を推進するにあたり、非常に多くの共同研究社の先生方、大学院生、学部学生ならびに研究補助員の方々にご協力、ご参画いただきました。この場をお借りして心より御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Brown, M.S., Ye, J., Rawson, R.B., & Goldstein, J.L. (2000) *Cell*, 100, 391–398.
- 2) Steiner, H. & Haass, C. (2000) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 1, 217–224.
- 3) Holtzman, D.M., Morris, J.C., & Goate, A.M. (2011) *Sci. Transl. Med.*, 3, 77sr71.
- 4) Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N., & Ihara, Y. (1994) *Neuron*, 13, 45–53.
- 5) Sherrington, R., Rogaev, E.I., Liang, Y., Rogaeva, E.A., Levesque, G., Ikeda, M., Chi, H., Lin, C., Li, G., Holman, K., Tsuda, T., Mar, L., Foncin, J.F., Bruni, A.C., Montesi, M.P., Sorbi, S., Rainero, I., Pinessi, L., Nee, L., Chumakov, I., Pollen, D., Brookes, A., Sanseau, P., Polinsky, R.J., Wasco, W., Da Silva, H.A., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., Tanzi, R. E., Roses, A.D., Fraser, P.E., Rommens, J.M., & St George-Hyslop, P.H. (1995) *Nature*, 375, 754–760.
- 6) Scheuner, D., Eckman, C., Jensen, M., Song, X., Citron, M., Suzuki, N., Bird, T.D., Hardy, J., Hutton, M., Kukull, W., Larson, E., Levy-Lahad, E., Viitanen, M., Peskind, E., Poorkaj, P., Schellenberg, G., Tanzi, R., Wasco, W., Lannfelt, L., Selkoe, D., & Younkin, S. (1996) *Nat. Med.*, 2, 864–870.
- 7) Borchelt, D.R., Thinakaran, G., Eckman, C.B., Lee, M.K., Davenport, F., Ratovitsky, T., Prada, C.M., Kim, G., Seekins, S., Yager, D., Slunt, H.H., Wang, R., Seeger, M., Levey, A.I., Gandy, S.E., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., Price, D.L., Younkin, S.G., & Sisodia, S.S. (1996) *Neuron*, 17, 1005–1013.
- 8) Duff, K., Eckman, C., Zehr, C., Yu, X., Prada, C.M., Perez-tur, J., Hutton, M., Buee, L., Harigaya, Y., Yager, D., Morgan, D., Gordon, M.N., Holcomb, L., Refolo, L., Zenk, B., Hardy, J., & Younkin, S. (1996) *Nature*, 383, 710–713.
- 9) Lemere, C.A., Lopera, F., Kosik, K.S., Lendon, C.L., Ossa, J., Saido, T.C., Yamaguchi, H., Ruiz, A., Martinez, A., Madrigal, L., Hincapié, L., Arango, J.C., Anthony, D.C., Koo, E.H.,

- Goate, A.M., & Selkoe, D.J. (1996) *Nat. Med.*, 2, 1146–1150.
- 10) Murayama, O., Murayama, M., Honda, T., Sun, X., Nihonmatsu, N., & Takashima, A. (1999) *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry*, 23, 905–913.
 - 11) Mann, D.M., Iwatsubo, T., Cairns, N.J., Lantos, P.L., Nochlin, D., Sumi, S.M., Bird, T.D., Poorkaj, P., Hardy, J., Hutton, M., Prihar, G., Crook, R., Rossor, M.N., & Haltia, M. (1996) *Ann. Neurol.*, 40, 149–156.
 - 12) Kumar-Singh, S., Theuns, J., Van Broeck, B., Pirici, D., Venekens, K., Corsmit, E., Cruts, M., Dermaut, B., Wang, R., & Van Broeckhoven, C. (2006) *Hum. Mutat.*, 27, 686–695.
 - 13) Levy-Lahad, E., Wasco, W., Poorkaj, P., Romano, D.M., Oshima, J., Pettingell, W.H., Yu, C.E., Jondro, P.D., Schmidt, S.D., Wang, K., & et al. (1995) *Science*, 269, 973–977.
 - 14) Rogaev, E.I., Sherrington, R., Rogaeva, E.A., Levesque, G., Ikeda, M., Liang, Y., Chi, H., Lin, C., Holman, K., Tsuda, T., & et al. (1995) *Nature*, 376, 775–778.
 - 15) Tomita, T., Maruyama, K., Saido, T.C., Kume, H., Shinozaki, K., Tokuhira, S., Capell, A., Walter, J., Grunberg, J., Haass, C., Iwatsubo, T., & Obata, K. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 2025–2030.
 - 16) De Strooper, B., Saftig, P., Craessaerts, K., Vanderstichele, H., Guhde, G., Annaert, W., Von Figura, K., & Van Leuven, F. (1998) *Nature*, 391, 387–390.
 - 17) Naruse, S., Thinakaran, G., Luo, J.J., Kusiak, J.W., Tomita, T., Iwatsubo, T., Qian, X., Ginty, D.D., Price, D.L., Borchelt, D.R., Wong, P.C., & Sisodia, S.S. (1998) *Neuron*, 21, 1213–1221.
 - 18) Steiner, H., Duff, K., Capell, A., Romig, H., Grim, M.G., Lincoln, S., Hardy, J., Yu, X., Picciano, M., Fechteler, K., Citron, M., Kopan, R., Pesold, B., Keck, S., Baader, M., Tomita, T., Iwatsubo, T., Baumeister, R., & Haass, C. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 28669–28673.
 - 19) Herreman, A., Hartmann, D., Annaert, W., Saftig, P., Craessaerts, K., Serneels, L., Umans, L., Schrijvers, V., Checler, F., Vanderstichele, H., Baekelandt, V., Dressel, R., Cupers, P., Huylebroeck, D., Zwijsen, A., Van Leuven, F., & De Strooper, B. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 11872–11877.
 - 20) Donoviel, D.B., Hadjantonakis, A.K., Ikeda, M., Zheng, H., Hyslop, P.S., & Bernstein, A. (1999) *Genes Dev.*, 13, 2801–2810.
 - 21) Herreman, A., Serneels, L., Annaert, W., Collen, D., Schoonjans, L., & De Strooper, B. (2000) *Nat. Cell Biol.*, 2, 461–462.
 - 22) Zhang, Z., Nadeau, P., Song, W., Donoviel, D., Yuan, M., Bernstein, A., & Yankner, B.A. (2000) *Nat. Cell Biol.*, 2, 463–465.
 - 23) Shen, J., Bronson, R.T., Chen, D.F., Xia, W., Selkoe, D.J., & Tonegawa, S. (1997) *Cell*, 89, 629–639.
 - 24) Wong, P.C., Zheng, H., Chen, H., Becher, M.W., Srinathsinghji, D.J., Trumbauer, M.E., Chen, H.Y., Price, D.L., Van der Ploeg, L.H., & Sisodia, S.S. (1997) *Nature*, 387, 288–292.
 - 25) Li, X. & Greenwald, I. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 12204–12209.
 - 26) Levitan, D. & Greenwald, I. (1995) *Nature*, 377, 351–354.
 - 27) Struhl, G. & Greenwald, I. (1999) *Nature*, 398, 522–525.
 - 28) Ye, Y., Lukinova, N., & Fortini, M.E. (1999) *Nature*, 398, 525–529.
 - 29) Kopan, R., Schroeter, E.H., Weintraub, H., & Nye, J.S. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 1683–1688.
 - 30) Schroeter, E.H., Kisslinger, J.A., & Kopan, R. (1998) *Nature*, 393, 382–386.
 - 31) Jarriault, S., Brou, C., Logeat, F., Schroeter, E.H., Kopan, R., & Israel, A. (1995) *Nature*, 377, 355–358.
 - 32) De Strooper, B., Annaert, W., Cupers, P., Saftig, P., Craessaerts, K., Mumm, J.S., Schroeter, E.H., Schrijvers, V., Wolfe, M.S., Ray, W.J., Goate, A., & Kopan, R. (1999) *Nature*, 398, 518–522.
 - 33) Huppert, S.S., Le, A., Schroeter, E.H., Mumm, J.S., Saxena, M.T., Milner, L.A., & Kopan, R. (2000) *Nature*, 405, 966–970.
 - 34) Sisodia, S.S., Annaert, W., Kim, S.H., & De Strooper, B. (2001) *Trends Neurosci.*, 24, S2–6.
 - 35) Shearman, M.S., Beher, D., Clarke, E.E., Lewis, H.D., Harrison, T., Hunt, P., Nadin, A., Smith, A.L., Stevenson, G., & Castro, J.L. (2000) *Biochemistry*, 39, 8698–8704.
 - 36) Wolfe, M.S., Citron, M., Diehl, T.S., Xia, W., Donkor, I.O., & Selkoe, D.J. (1998) *J. Med. Chem.*, 41, 6–9.
 - 37) Wolfe, M.S., Xia, W., Ostaszewski, B.L., Diehl, T.S., Kimberly, W.T., & Selkoe, D.J. (1999) *Nature*, 398, 513–517.
 - 38) Hofmann, K. & Kiso, Y. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 3516–3518.
 - 39) Esler, W.P., Kimberly, W.T., Ostaszewski, B.L., Diehl, T.S., Moore, C.L., Tsai, J.Y., Rahmati, T., Xia, W., Selkoe, D.J., & Wolfe, M.S. (2000) *Nat. Cell Biol.*, 2, 428–434.
 - 40) Li, Y.M., Xu, M., Lai, M.T., Huang, Q., Castro, J.L., DiMuzio-Mower, J., Harrison, T., Lellis, C., Nadin, A., Neduvellil, J.G., Register, R.B., Sardana, M.K., Shearman, M.S., Smith, A.L., Shi, X.P., Yin, K.C., Shafer, J.A., & Gardell, S. J. (2000) *Nature*, 405, 689–694.
 - 41) Morohashi, Y., Kan, T., Tominari, Y., Fuwa, H., Okamura, Y., Watanabe, N., Sato, C., Natsugari, H., Fukuyama, T., Iwatsubo, T., & Tomita, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 14670–14676.
 - 42) Fuwa, H., Takahashi, Y., Konno, Y., Watanabe, N., Miyashita, H., Sasaki, M., Natsugari, H., Kan, T., Fukuyama, T., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2007) *ACS Chem. Biol.*, 2, 408–418.
 - 43) LaPointe, C.F. & Taylor, R.K. (2000) *J. Biol. Chem.*, 275, 1502–1510.
 - 44) Steiner, H., Kostka, M., Romig, H., Basset, G., Pesold, B., Hardy, J., Capell, A., Meyn, L., Grim, M.L., Baumeister, R., Fechteler, K., & Haass, C. (2000) *Nat. Cell Biol.*, 2, 848–851.
 - 45) Yu, G., Chen, F., Nishimura, M., Steiner, H., Tandon, A., Kawarai, T., Arawaka, S., Supala, A., Song, Y.Q., Rogaeva, E., Holmes, E., Zhang, D.M., Milman, P., Fraser, P.E., Haass, C., & George-Hyslop, P.S. (2000) *J. Biol. Chem.*, 275, 27348–27353.
 - 46) Haass, C. & Steiner, H. (2002) *Trends Cell Biol.*, 12, 556–562.
 - 47) Tomita, T., Takikawa, R., Koyama, A., Morohashi, Y., Takasugi, N., Saido, T.C., Maruyama, K., & Iwatsubo, T. (1999) *J. Neurosci.*, 19, 10627–10634.
 - 48) Saura, C.A., Tomita, T., Soriano, S., Takahashi, M., Leem, J. Y., Honda, T., Koo, E.H., Iwatsubo, T., & Thinakaran, G. (2000) *J. Biol. Chem.*, 275, 17136–17142.
 - 49) Saura, C.A., Tomita, T., Davenport, F., Harris, C.L., Iwatsubo, T., & Thinakaran, G. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 13818–13823.
 - 50) Tomita, T., Tokuhira, S., Hashimoto, T., Aiba, K., Saido, T. C., Maruyama, K., & Iwatsubo, T. (1998) *J. Biol. Chem.*, 273, 21153–21160.
 - 51) Morohashi, Y., Hatano, N., Ohya, S., Takikawa, R., Watabiki, T., Takasugi, N., Imaizumi, Y., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 14965–14975.
 - 52) Yu, G., Nishimura, M., Arawaka, S., Levitan, D., Zhang, L., Tandon, A., Song, Y.Q., Rogaeva, E., Chen, F., Kawarai, T., Supala, A., Levesque, L., Yu, H., Yang, D.S., Holmes, E.,

- Milman, P., Liang, Y., Zhang, D.M., Xu, D.H., Sato, C., Rogaev, E., Smith, M., Janus, C., Zhang, Y., Aebersold, R., Farrer, L.S., Sorbi, S., Bruni, A., Fraser, P., & St George-Hyslop, P. (2000) *Nature*, 407, 48–54.
- 53) Levitan, D., Yu, G., St George Hyslop, P., & Goutte, C. (2001) *Dev. Biol.*, 240, 654–661.
 - 54) Francis, R., McGrath, G., Zhang, J., Ruddy, D.A., Sym, M., Apfeld, J., Nicoll, M., Maxwell, M., Hai, B., Ellis, M.C., Parks, A.L., Xu, W., Li, J., Gurney, M., Myers, R.L., Himes, C.S., Hiebsch, R., Ruble, C., Nye, J.S., & Curtis, D. (2002) *Dev. Cell*, 3, 85–97.
 - 55) Goutte, C., Tsunozaki, M., Hale, V.A., & Priess, J.R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 775–779.
 - 56) Takasugi, N., Tomita, T., Hayashi, I., Tsuruoka, M., Niimura, M., Takahashi, Y., Thinakaran, G., & Iwatsubo, T. (2003) *Nature*, 422, 438–441.
 - 57) Kimberly, W.T., LaVoie, M.J., Ostaszewski, B.L., Ye, W., Wolfe, M.S., & Selkoe, D.J. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 6382–6387.
 - 58) Edbauer, D., Winkler, E., Regula, J.T., Pesold, B., Steiner, H., & Haass, C. (2003) *Nat. Cell Biol.*, 5, 486–488.
 - 59) Hayashi, I., Urano, Y., Fukuda, R., Isoo, N., Kodama, T., Hamakubo, T., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 38040–38046.
 - 60) Shah, S., Lee, S.F., Tabuchi, K., Hao, Y.H., Yu, C., LaPlant, Q., Ball, H., Dann, C.E., 3rd, Sudhof, T., & Yu, G. (2005) *Cell*, 122, 435–447.
 - 61) Hayashi, I., Takatori, S., Urano, Y., Miyake, Y., Takagi, J., Sakata-Yanagimoto, M., Iwanari, H., Osawa, S., Morohashi, Y., Li, T., Wong, P.C., Chiba, S., Kodama, T., Hamakubo, T., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2012) *Oncogene*, 31, 787–798.
 - 62) Zhang, X., Hoey, R.J., Lin, G., Koide, A., Leung, B., Ahn, K., Dolios, G., Paduch, M., Ikeuchi, T., Wang, R., Li, Y.M., Koide, S., & Sisodia, S.S. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 8534–8539.
 - 63) Niimura, M., Isoo, N., Takasugi, N., Tsuruoka, M., Ui-Tei, K., Saigo, K., Morohashi, Y., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 12967–12975.
 - 64) Chen, A.C., Guo, L.Y., Ostaszewski, B.L., Selkoe, D.J., & LaVoie, M.J. (2010) *J. Biol. Chem.*, 285, 11378–11391.
 - 65) Serneels, L., Van Biervliet, J., Craessaerts, K., Dejaegere, T., Horre, K., Van Houtvin, T., Esselmann, H., Paul, S., Schafer, M.K., Berezovska, O., Hyman, B.T., Sprangers, B., Sciot, R., Moons, L., Jucker, M., Yang, Z., May, P.C., Karran, E., Wiltfang, J., D'Hooge, R., & De Strooper, B. (2009) *Science*, 324, 639–642.
 - 66) Isoo, N., Sato, C., Miyashita, H., Shinohara, M., Takasugi, N., Morohashi, Y., Tsuji, S., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 12388–12396.
 - 67) Watanabe, N., Tomita, T., Sato, C., Kitamura, T., Morohashi, Y., & Iwatsubo, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 41967–41975.
 - 68) Weihofen, A., Binns, K., Lemberg, M.K., Ashman, K., & Martoglio, B. (2002) *Science*, 296, 2215–2218.
 - 69) Tomita, T., Watabiki, T., Takikawa, R., Morohashi, Y., Takasugi, N., Kopan, R., De Strooper, B., & Iwatsubo, T. (2001) *J. Biol. Chem.*, 276, 33273–33281.
 - 70) Weihofen, A., Lemberg, M.K., Friedmann, E., Rueeger, H., Schmitz, A., Paganetti, P., Rovelli, G., & Martoglio, B. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 16528–16533.
 - 71) Sato, T., Ananda, K., Cheng, C.I., Suh, E.J., Narayanan, S., & Wolfe, M.S. (2008) *J. Biol. Chem.*, 283, 33287–33295.
 - 72) Kornilova, A.Y., Das, C., & Wolfe, M.S. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 16470–16473.
 - 73) Ahn, K., Shelton, C.C., Tian, Y., Zhang, X., Gilchrist, M.L., Sisodia, S.S., & Li, Y.M. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 21435–21440.
 - 74) Urban, S. & Freeman, M. (2002) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 12, 512–518.
 - 75) Rawson, R.B., Zelenski, N.G., Nijhawan, D., Ye, J., Sakai, J., Hasan, M.T., Chang, T.Y., Brown, M.S., & Goldstein, J.L. (1997) *Mol. Cell*, 1, 47–57.
 - 76) Rawson, R.B. (2013) *Biochim. Biophys. Acta*, 1828, 2801–2807.
 - 77) Bergbold, N. & Lemberg, M.K. (2013) *Biochim. Biophys. Acta*, 1828, 2840–2848.
 - 78) Urban, S., Lee, J.R., & Freeman, M. (2001) *Cell*, 107, 173–182.
 - 79) Wu, Z., Yan, N., Feng, L., Oberstein, A., Yan, H., Baker, R. P., Gu, L., Jeffrey, P.D., Urban, S., & Shi, Y. (2006) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 13, 1084–1091.
 - 80) Zhang, Y., Zhang, Y., & Ha, Y. (2006) *Nature*, 444, 179–180.
 - 81) Feng, L., Yan, H., Wu, Z., Yan, N., Wang, Z., Jeffrey, P.D., & Shi, Y. (2007) *Science*, 318, 1608–1612.
 - 82) Urban, S. & Shi, Y. (2008) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 18, 432–441.
 - 83) Tomita, T., Chang, T.Y., Kodama, T., & Iwatsubo, T. (1998) *Neuroreport*, 9, 911–913.
 - 84) Urban, S. & Wolfe, M.S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 1883–1888.
 - 85) Kopan, R. (2012) *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 4, a011213.
 - 86) Morohashi, Y. & Tomita, T. (2013) *Biochim. Biophys. Acta*, 1828, 2855–2861.
 - 87) Haass, C., Kaether, C., Thinakaran, G., & Sisodia, S. (2012) *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2, a006270.
 - 88) Fukumori, A., Okochi, M., Tagami, S., Jiang, J., Itoh, N., Nakayama, T., Yanagida, K., Ishizuka-Katsura, Y., Morihara, T., Kamino, K., Tanaka, T., Kudo, T., Tanii, H., Ikuta, A., Haass, C., & Takeda, M. (2006) *Biochemistry*, 45, 4907–4914.
 - 89) Osenkowski, P., Ye, W., Wang, R., Wolfe, M.S., & Selkoe, D.J. (2008) *J. Biol. Chem.*, 283, 22529–22540.
 - 90) Bondar, A.N., del Val, C., & White, S.H. (2009) *Structure*, 17, 395–405.
 - 91) Dolev, I., Fogel, H., Milshtein, H., Berdichevsky, Y., Lipstein, N., Brose, N., Gazit, N., & Slutsky, I. (2013) *Nat. Neurosci.*, 16, 587–595.
 - 92) Wharton, K.A., Johansen, K.M., Xu, T., & Artavanis-Tsakonas, S. (1985) *Cell*, 43, 567–581.
 - 93) Li, T., Ma, G., Cai, H., Price, D.L., & Wong, P.C. (2003) *J. Neurosci.*, 23, 3272–3277.
 - 94) Ma, G., Li, T., Price, D.L., & Wong, P.C. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 192–198.
 - 95) Li, T., Wen, H., Brayton, C., Laird, F.M., Ma, G., Peng, S., Placanica, L., Wu, T.C., Crain, B.J., Price, D.L., Eberhart, C. G., & Wong, P.C. (2007) *J. Neurosci.*, 27, 10849–10859.
 - 96) Saura, C.A., Choi, S.Y., Beglopoulos, V., Malkani, S., Zhang, D., Shankaranarayana Rao, B.S., Chattarji, S., Kelleher, R.J., 3rd, Kandel, E.R., Duff, K., Kirkwood, A., & Shen, J. (2004) *Neuron*, 42, 23–36.
 - 97) Saura, C.A., Chen, G., Malkani, S., Choi, S.Y., Takahashi, R. H., Zhang, D., Gouras, G.K., Kirkwood, A., Morris, R.G., & Shen, J. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 6755–6764.
 - 98) Yu, H., Saura, C.A., Choi, S.Y., Sun, L.D., Yang, X., Handler, M., Kawarabayashi, T., Younkin, L., Fedeles, B., Wilson, M.A., Younkin, S., Kandel, E.R., Kirkwood, A., & Shen, J. (2001) *Neuron*, 31, 713–726.
 - 99) Zheng, J., Watanabe, H., Wines-Samuelson, M., Zhao, H., Gridley, T., Kopan, R., & Shen, J. (2012) *J. Biol. Chem.*, 287, 20356–20368.

- 100) McCarthy, J.V., Twomey, C., & Wujek, P. (2009) *Cell Mol. Life Sci.*, **66**, 1534–1555.
- 101) Tomita, T., Tanaka, S., Morohashi, Y., & Iwatsubo, T. (2006) *Mol. Neurodegener.*, **1**, 2.
- 102) Suzuki, K., Hayashi, Y., Nakahara, S., Kumazaki, H., Prox, J., Horiuchi, K., Zeng, M., Tanimura, S., Nishiyama, Y., Osawa, S., Sehara-Fujisawa, A., Saftig, P., Yokoshima, S., Fukuyama, T., Matsuki, N., Koyama, R., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2012) *Neuron*, **76**, 410–422.
- 103) Sudhof, T.C. (2008) *Nature*, **455**, 903–911.
- 104) Searfoss, G.H., Jordan, W.H., Calligaro, D.O., Galbreath, E.J., Schirtzinger, L.M., Berridge, B.R., Gao, H., Higgins, M.A., May, P.C., & Ryan, T.P. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 46107–46116.
- 105) Milano, J., McKay, J., Dagenais, C., Foster-Brown, L., Pognan, F., Gadiant, R., Jacobs, R.T., Zacco, A., Greenberg, B., & Ciaccio, P.J. (2004) *Toxicol. Sci.*, **82**, 341–358.
- 106) Wong, G.T., Manfra, D., Poulet, F.M., Zhang, Q., Josien, H., Bara, T., Engstrom, L., Pinzon-Ortiz, M., Fine, J.S., Lee, H.J., Zhang, L., Higgins, G.A., & Parker, E.M. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 12876–12882.
- 107) Tomita, T. (2009) *Exp. Rev. Neurother.*, **9**, 661–679.
- 108) Exstane, A. (2010) *Nat. Rev. Drug Discov.*, **9**, 749–751.
- 109) Takahashi, Y., Fuwa, H., Kaneko, A., Sasaki, M., Yokoshima, S., Koizumi, H., Takebe, T., Kan, T., Iwatsubo, T., Tomita, T., Natsugari, H., & Fukuyama, T. (2006) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 3813–3816.
- 110) Kreft, A.F., Martone, R., & Porte, A. (2009) *J. Med. Chem.*, **52**, 6169–6188.
- 111) Kurosumi, M., Nishio, Y., Osawa, S., Kobayashi, H., Iwatsubo, T., Tomita, T., & Miyachi, H. (2010) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 5282–5285.
- 112) Crump, C.J., Castro, S.V., Wang, F., Pozdnyakov, N., Ballard, T.E., Sisodia, S.S., Bales, K.R., Johnson, D.S., & Li, Y.M. (2012) *Biochemistry*, **51**, 7209–7211.
- 113) Chavez-Gutierrez, L., Bammens, L., Benilova, I., Vandersteen, A., Benurwar, M., Borgers, M., Lismont, S., Zhou, L., Van Cleynenbreugel, S., Esselmann, H., Wiltfang, J., Serneels, L., Karran, E., Gijzen, H., Schymkowitz, J., Rousseau, F., Broersen, K., & De Strooper, B. (2012) *EMBO J.*, **31**, 2261–2274.
- 114) Borgegard, T., Gustavsson, S., Nilsson, C., Parpal, S., Klinterberg, R., Berg, A.L., Rosqvist, S., Serneels, L., Svensson, S., Olsson, F., Jin, S., Yan, H., Wanjgren, J., Jureus, A., Ridderstad-Wollberg, A., Wollberg, P., Stockling, K., Karlstrom, H., Malmberg, A., Lund, J., Arvidsson, P.I., De Strooper, B., Lendahl, U., & Lundkvist, J. (2012) *J. Neurosci.*, **32**, 17297–17305.
- 115) Lee, J., Song, L., Terracina, G., Bara, T., Josien, H., Asberom, T., Sasikumar, T.K., Burnett, D.A., Clader, J., Parker, E.M., & Zhang, L. (2011) *Biochemistry*, **50**, 4973–4980.
- 116) Oehlrich, D., Berthelot, D.J., & Gijzen, H.J. (2011) *J. Med. Chem.*, **54**, 669–698.
- 117) Weggen, S., Eriksen, J.L., Das, P., Sagi, S.A., Wang, R., Pietrzik, C.U., Findlay, K.A., Smith, T.E., Murphy, M.P., Bulter, T., Kang, D.E., Marquez-Sterling, N., Golde, T.E., & Koo, E.H. (2001) *Nature*, **414**, 212–216.
- 118) Takahashi, Y., Hayashi, I., Tominari, Y., Rikimaru, K., Morohashi, Y., Kan, T., Natsugari, H., Fukuyama, T., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 18664–18670.
- 119) Kukar, T., Murphy, M.P., Eriksen, J.L., Sagi, S.A., Weggen, S., Smith, T.E., Ladd, T., Khan, M.A., Kache, R., Beard, J., Dodson, M., Merit, S., Ozols, V.V., Anastasiadis, P.Z., Das, P., Fauq, A., Koo, E.H., & Golde, T.E. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 545–550.
- 120) Page, R.M., Gutsmedl, A., Fukumori, A., Winkler, E., Haass, C., & Steiner, H. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 17798–17810.
- 121) Ohki, Y., Higo, T., Uemura, K., Shimada, N., Osawa, S., Berezovska, O., Yokoshima, S., Fukuyama, T., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2011) *EMBO J.*, **30**, 4815–4824.
- 122) Kounnas, M.Z., Danks, A.M., Cheng, S., Tyree, C., Ackerman, E., Zhang, X., Ahn, K., Nguyen, P., Comer, D., Mao, L., Yu, C., Pleynt, D., Digregorio, P.J., Velicelebi, G., Stauderman, K.A., Comer, W.T., Mobley, W.C., Li, Y.M., Sisodia, S.S., Tanzi, R.E., & Wagner, S.L. (2010) *Neuron*, **67**, 769–780.
- 123) Pozdnyakov, N., Murrey, H.E., Crump, C.J., Pettersson, M., Ballard, T.E., Am Ende, C.W., Ahn, K., Li, Y.M., Bales, K.R., & Johnson, D.S. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 9710–9720.
- 124) Borgegard, T., Jureus, A., Olsson, F., Rosqvist, S., Sabirsh, A., Rotticci, D., Paulsen, K., Klinterberg, R., Yan, H., Waldman, M., Stromberg, K., Nord, J., Johansson, J., Regner, A., Parpal, S., Malinowsky, D., Radesater, A.C., Li, T., Singh, R., Eriksson, H., & Lundkvist, J. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 11810–11819.
- 125) Ebke, A., Luebbbers, T., Fukumori, A., Shirotni, K., Haass, C., Baumann, K., & Steiner, H. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 37181–37186.
- 126) Sato, C., Morohashi, Y., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 12081–12088.
- 127) Tomita, T. & Iwatsubo, T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 14673–14680.
- 128) Karlin, A. & Akabas, M.H. (1998) *Methods Enzymol.*, **293**, 123–145.
- 129) Kaback, H.R., Sahin-Toth, M., & Weinglass, A.B. (2001) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2**, 610–620.
- 130) Loo, T.W. & Clarke, D.M. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 35388–35392.
- 131) Sato, C., Takagi, S., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2008) *J. Neurosci.*, **28**, 6264–6271.
- 132) Takagi, S., Tominaga, A., Sato, C., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2010) *J. Neurosci.*, **30**, 15943–15950.
- 133) Tolia, A., Chavez-Gutierrez, L., & De Strooper, B. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 27633–27642.
- 134) Tolia, A., Horre, K., & De Strooper, B. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 19793–19803.
- 135) Kukar, T.L., Ladd, T.B., Bann, M.A., Fraering, P.C., Narla-war, R., Maharvi, G.M., Healy, B., Chapman, R., Welzel, A. T., Price, R.W., Moore, B., Rangachari, V., Cusack, B., Eriksen, J., Jansen-West, K., Verbeeck, C., Yager, D., Eckman, C., Ye, W., Sagi, S., Cottrell, B.A., Torpey, J., Rosenberry, T. L., Fauq, A., Wolfe, M.S., Schmidt, B., Walsh, D.M., Koo, E. H., & Golde, T.E. (2008) *Nature*, **453**, 925–929.
- 136) Beel, A.J., Barrett, P., Schnier, P.D., Hitchcock, S.A., Bagal, D., Sanders, C.R., & Jordan, J.B. (2009) *Biochemistry*, **48**, 11837–11839.
- 137) Uemura, K., Farner, K.C., Hashimoto, T., Nasser-Ghods, N., Wolfe, M.S., Koo, E.H., Hyman, B.T., & Berezovska, O. (2010) *Nat. Commun.*, **1**, 130.
- 138) Takagi-Niide, S., Osawa, S., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2013) *Biochemistry*, **52**, 61–69.
- 139) Das, C., Berezovska, O., Diehl, T.S., Genet, C., Buldyrev, I., Tsai, J.Y., Hyman, B.T., & Wolfe, M.S. (2003) *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 11794–11795.
- 140) Kornilova, A.Y., Bihel, F., Das, C., & Wolfe, M.S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 3230–3235.
- 141) Imamura, Y., Watanabe, N., Umezawa, N., Iwatsubo, T., Kato, N., Tomita, T., & Higuchi, T. (2009) *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 7353–7359.
- 142) Imamura, Y., Umezawa, N., Osawa, S., Shimada, N., Higo, T., Yokoshima, S., Fukuyama, T., Iwatsubo, T., Kato, N., Tomita, T., & Higuchi, T. (2013) *J. Med. Chem.*, **56**,

- 1443-1454.
- 143) Watanabe, N., Takagi, S., Tominaga, A., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 19738-19746.
 - 144) Qi-Takahara, Y., Morishima-Kawashima, M., Tanimura, Y., Dolios, G., Hirotsu, N., Horikoshi, Y., Kametani, F., Maeda, M., Saido, T.C., Wang, R., & Ihara, Y. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 436-445.
 - 145) Sato, T., Dohmae, N., Qi, Y., Kakuda, N., Misonou, H., Mitsumori, R., Maruyama, H., Koo, E.H., Haass, C., Takio, K., Morishima-Kawashima, M., Ishiura, S., & Ihara, Y. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 24294-24301.
 - 146) Ogura, T., Mio, K., Hayashi, I., Miyashita, H., Fukuda, R., Kopan, R., Kodama, T., Hamakubo, T., Iwatsubo, T., Tomita, T., & Sato, C. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **343**, 525-534.
 - 147) Osenkowski, P., Li, H., Ye, W., Li, D., Aeschbach, L., Fraering, P.C., Wolfe, M.S., & Selkoe, D.J. (2009) *J. Mol. Biol.*, **385**, 642-652.
 - 148) Renzi, F., Zhang, X., Rice, W.J., Torres-Arancibia, C., Gomez-Llorente, Y., Diaz, R., Ahn, K., Yu, C., Li, Y.M., Sisodia, S.S., & Ubarretxena-Belandia, I. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 21440-21449.
 - 149) Lazarov, V.K., Fraering, P.C., Ye, W., Wolfe, M.S., Selkoe, D.J., & Li, H. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 6889-6894.
 - 150) Hu, J., Xue, Y., Lee, S., & Ha, Y. (2011) *Nature*, **475**, 528-531.
 - 151) Li, X., Dang, S., Yan, C., Gong, X., Wang, J., & Shi, Y. (2013) *Nature*, **493**, 56-61.
 - 152) Takeo, K., Watanabe, N., Tomita, T., & Iwatsubo, T. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 25834-25843.
 - 153) Ho, A. & Shen, J. (2011) *Trends Mol. Med.*, **17**, 617-624.
 - 154) Buckland, J. (2013) *Nat. Rev. Rheumatol.*, **9**, 136.

著者寸描

●富田泰輔 (とみた たいすけ)



東京大学大学院薬学系研究科准教授。博士 (薬学)。

■略歴 1973年京都府に生る。95年東京大学薬学部卒業。97年同大学院薬学系研究科博士課程中退。同年同大学院薬学系研究科助手。2000年学位取得。03年同研究科講師。04～05年日本学術振興会海外特別研究員 (米国ワシントン大学セントルイス校)。06年より現職。

■研究テーマと抱負 神経精神疾患の分子病態の理解と治療法開発。膜近傍で生じるタンパク質切断のメカニズム解明と機能解析。疾患研究を通じて患者様に希望を届けると同時に新しい基礎生物学を切り拓きたい。他人に何度もひっくり返されてきた常識を、ひっくり返す側になりたい。

■ホームページ <http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~neurops/>

■趣味 情眠、飲み会、ゴルフ13。