

## 最近のトピックス

## アルツハイマー病の原因遺伝子産物、 プレセニリンの表と裏

### Two faces of presenilin, a genetic factor predisposing to Alzheimer's disease

新潟大学・大学院医歯学総合研究科・  
顎顔面再建学講座・硬組織病態生化学分野  
天谷 吉宏

Division of Biochemistry, Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
Yoshihiro Amaya

## はじめに

アルツハイマー病はアミロイド前駆体タンパク質 (APP) が2種類のプロテアーゼ,  $\beta$ -セクレターゼと  $\gamma$ -セクレターゼによって順次切断されて生成されるA $\beta$ ペプチドが細胞に毒性のある会合体を形成したり, アミロイド繊維を形成して蓄積することが原因で発症するものと考えられている (図1)。プレセニリンはアルツハイマー病の原因遺伝子として同定された遺伝子にコードされる膜タンパク質で, 遺伝性のアルツハイマー病では最も症例数が多い<sup>1)</sup>。プレセニリンは最近, 他の3種類の膜タンパク質, ニカストリン, Pen-2, APH-1とともに形成される  $\gamma$ -セクレターゼ複合体の活性発現に必

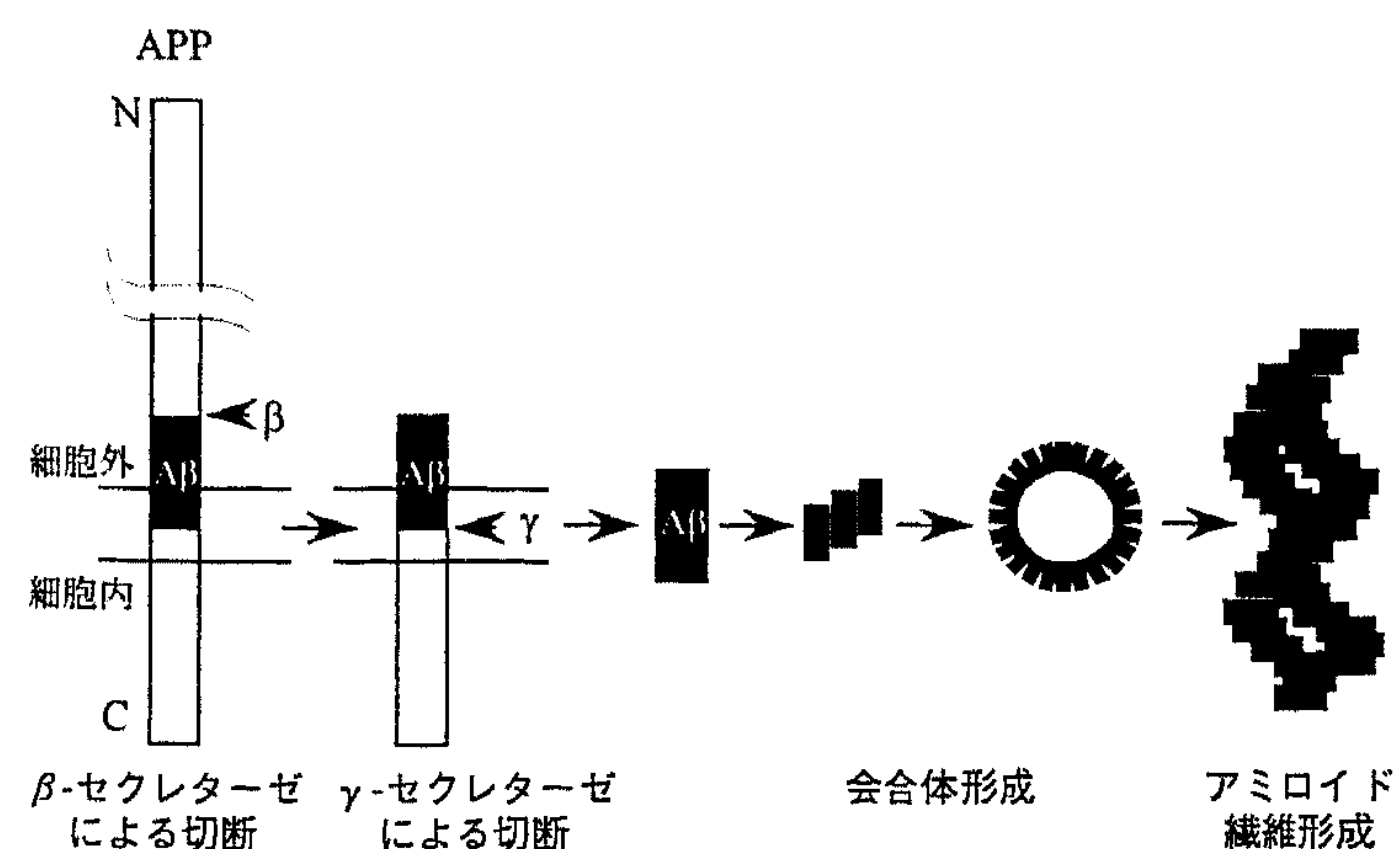


図1 アミロイド繊維の形成

$\beta$ -,  $\gamma$ -セクレターゼはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) を順次切断してA $\beta$ を産生する。A $\beta$ は会合体を形成しつつ, 最終的にアミロイド繊維を形成して組織に沈着する。最近, 比較的小さい会合体がアミロイド繊維よりも高い細胞毒性を持つという報告がある<sup>2)</sup>。

須のサブユニットであることが明らかになってきた<sup>2)</sup>。一方, プレセニリンがどのような形で膜に埋め込まれているか (膜配向性) という構造に関する問題については発見から10年近く経つ現在でもいくつかの説があり, 混乱が続いている。

## 4種類のプレセニリン膜配向モデル

プレセニリンには膜に埋め込まれる可能性のある疎水性領域が10箇所あり, その膜配向性は図2に示す4種類のモデルが提唱されている。多くの研究者に今のところ受け入れられているのはLiらの1番目から6番目と8, 9番目のあわせて8箇所の疎水性領域が膜に埋め込まれている「8回膜貫通モデル」(図2A)である<sup>3)</sup>。7番目と10番目の疎水性領域はサイトソル側に露出している。 $\gamma$ -セクレターゼ活性の発現に必要な2つのアスパラギン酸残基, Asp257とAsp385はそれぞれ6番目と8番目の疎水性領域に存在するが, このモデルではどちらも膜内に埋め込まれている。従って, 膜内で基質を加水分解してA $\beta$ を生成するという反応機構をとるものと考えられる。これに対し, 中井らのモデル<sup>5)</sup> (図2B)やLehmannらのモデル<sup>6)</sup> (図2C)では, 1番目から6番目までの疎水性領域は8回膜貫通モデルと同じ配向性で膜に埋め込まれているのに対し, C-末端半分がそれぞれのモデルによって大きく異なる。中井らは9番目の疎水性領域は膜表面に結合し, 10番目の疎水性領域が膜を貫通してC-末端は内腔側に露出しているというモデルを提唱している。Lehmannらのモデルでは7番目の疎水性領域よりC-末端側には膜貫通領域は存在せず, 活性中心のある8番目の疎水性領域を含め, すべてサイトソル側に露出している。ところが, これらのモデルとは全く異なる配向性の「7回膜貫通モデル」がDewjiらによって報告されている<sup>7)</sup> (図2D)。驚くべきことに, 疎水性領域の1番目から6番目まではこれまでの3種類のモデルと比べて表と裏が逆の向きに埋め込まれており, 活性中心のある8番目の疎水性領域は細胞外に露出している。彼らはプレセニリンがG-タンパク質にカップルした7回膜貫通タンパク質レセプターのスーパーファミリーであることを主張している。

## 異なる膜配向モデルができる原因

なぜこのような食い違いが生じるのであろうか。その原因の一つは実験方法にあると考えられる。8回膜貫通モデルや, これに準ずる中井らとLehmannらのモデル

はプレセニリンの疎水性領域を順次欠失させて、レポータータンパク質と融合させたキメラタンパク質を用いて解析している(図2E)。レポータータンパク質の酵素活性発現や糖鎖修飾、あるいは膜の外側に存在するタンパク質分解酵素への耐性を指標に、レポータータンパク質の領域が膜のどちら側に存在するかを判定することにより、膜配向性を決定するという原理に基づいてモデルを作成している。この方法は比較的容易なため、多くの膜タンパク質で配向性を決定するのに用いられてきた。しかし、レポータータンパク質のもつ性質が、近傍の疎水性領域の膜への埋め込みに影響を与える可能性がいくつかの例で指摘されてきた。事実、中井らはレポータータンパク質をリーダーペプチダーゼから成長ホルモン前駆体に変えると、プレセニリンのC-末端部の配向性が変化することを示している<sup>3)</sup>。これらのモデルに対し、Dewjiらは部位特異的な抗体を利用し、これらの抗体と細胞が本来発現している細胞表面のプレセニリンとの結合を指標に膜配向性を決定している。この方法は抗体の部位特異性に誤りがなければ最も正確に膜配向性を決定できる方法のひとつであると考えられる。彼らはN-末端、7番目の疎水性領域近傍のループ、C-末端の3種類のみで解析を行っているため、その他の領域については完全にこのモデルの通りであるかどうか不明確である。

二番目の問題点は、培養細胞などの過剰発現系や無細胞タンパク合成系とミクロソーム膜を用いた再構成系によって解析されていることである。このような実験系では膜への組込みに必要な外部の因子が融合タンパク質に対して量的に不足するため、本来の組込み過程が正しく

再現されていない可能性がある。γ-セクレターゼがプレセニリンの他にニカストリンなど他の3種類の異なる膜タンパク質によって形成される複合体である事が明らかになった現在ではきわめて重要な問題であろう。

もう一つの重要な問題は中井らやLehmannらは主に小胞体に局在するプレセニリン融合タンパク質を解析しているのに対し、Dewjiらは細胞表面に局在するプレセニリンを解析している点である。小胞体で膜に組み込まれる過程で2つの型に分配されて、一方の型は小胞体に留まり、もう一方の型は細胞膜へ輸送されて異なる機能を発現している可能性も否定できない。

### γ-セクレターゼ活性の発現と膜配向性モデルの妥当性

膜内で基質を加水分解するγ-セクレターゼ活性の反応機構を考えた場合、活性の発現に必要な6番目と8番目の疎水性領域が膜に結合している8回膜貫通モデルは矛盾が少ない。活性発現に必要な6番目と8番目の疎水性領域が基質を膜内ではさみこむ形の活性中心を形成しているものと推定する研究者が多いようである<sup>2, 8)</sup>(図3B)。膜内で加水分解反応を触媒するためには、何らかの機構により、活性中心を脂質二重層の疎水的環境から隔離して水分子を流入させなければならない<sup>8, 9)</sup>。

中井やLehmannのモデルは、8回膜貫通モデルのダイナミックな側面をあらわしているものとも考えることもできる。これらのモデルの食い違いはプレセニリンのN-末端半分は安定に膜に埋め込まれているのに対し、C-末端半分はきわめて柔軟性に富んだ構造をしているため、その配向性は近傍のレポータータンパク質の性質に影響を受けやすく、レポータータンパク質の種類によって安定な配向性が異なるためであると解釈することは可能である。プレセニリンの反応機構を考えると、分子の柔軟性は機能発現のために重要かもしれない。膜に結合して2次元方向にしか自由に分子運動できない酵素と基質の結合にはかなり大きなコンフォメーションの変化を伴わないと不可能と考えられる(図3A)。また、加水分解反応のために活性中心を親水性環境へ移動する(図3C)という機構も考えられるかも知れない。

もう一つの重要な問題点はプレセニリンとγ-セクレターゼ活性の局在の不一致である。プレセニリンは主に小胞体に局在することが報告されてきた。しかしながら、γ-セクレターゼ活性が発現する場所は細胞膜近傍かエンドソームとする報告が多い<sup>1, 2)</sup>。小胞体にγ-セクレターゼ複合体の構成因子のプールがあって、細胞膜への輸送に伴ってプレセニリンと他の3種類の異なる膜タンパク質から形成される活性型の複合体をアセンブリーしている可能性もある。

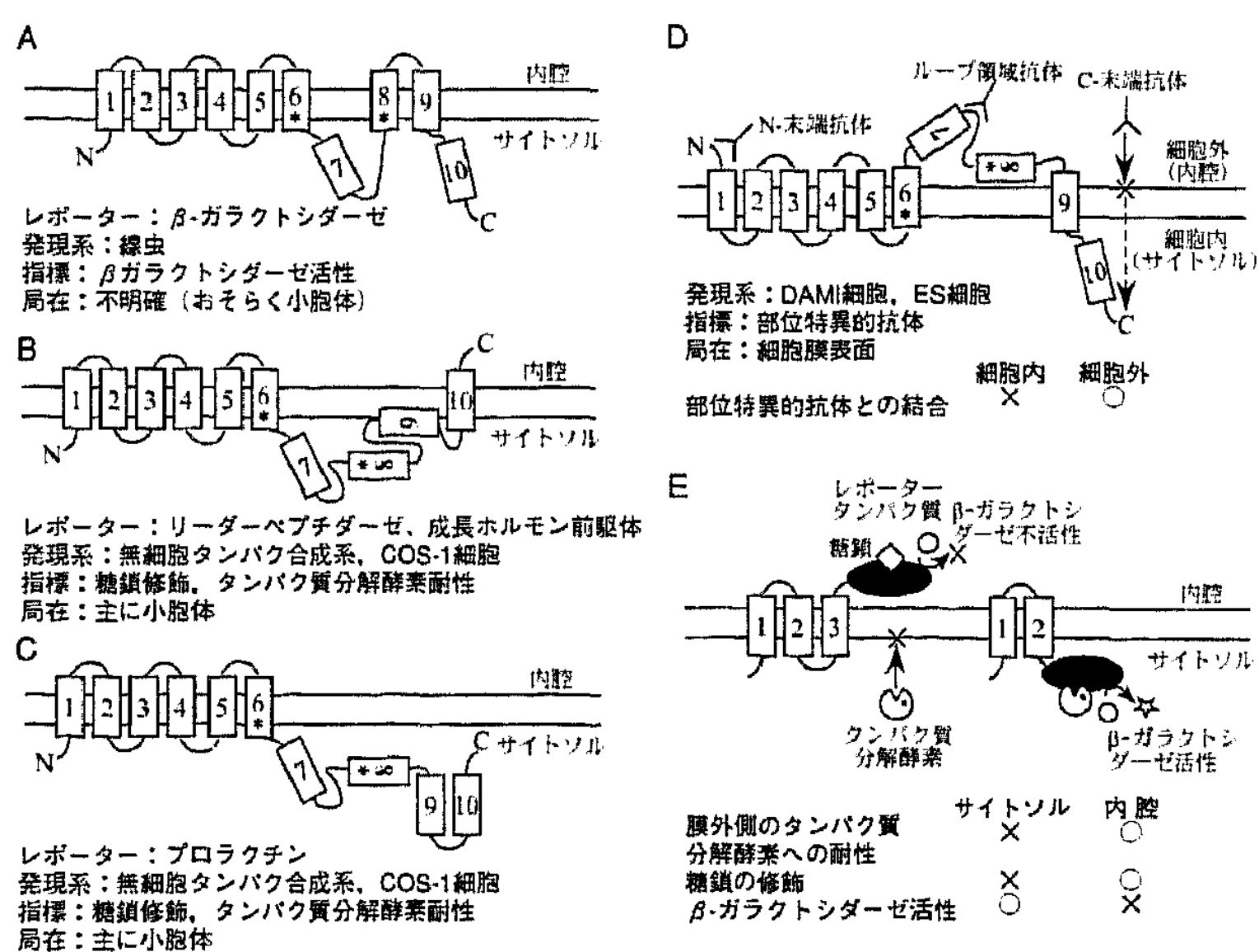


図2 プレセニリン膜配向性のモデル

現在までに提唱されているプレセニリン膜配向性のモデル10個の疎水性領域を四角で表す。活性発現に必要なアスパラギン酸の位置を\*で示す。(A) Liらの8回膜貫通モデル、(B) 中井らのモデル、(C) Lehmannらのモデル、(D) Dewjiらの7回膜貫通モデル。(E) レポータータンパク質を用いた膜配向性の決定法。

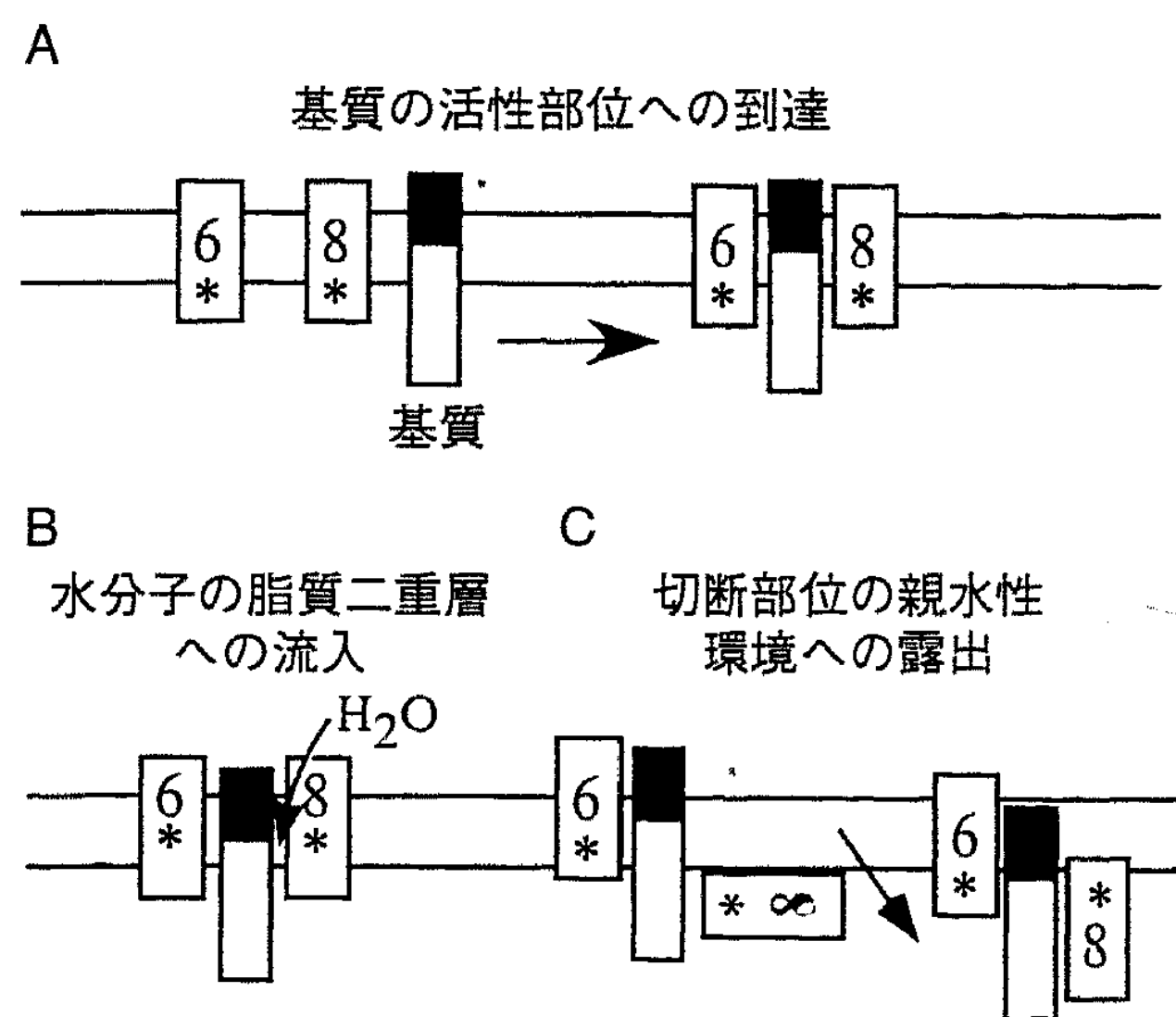


図3  $\gamma$ -セクレターゼ活性の発現に必要なと考えられる機構  
簡単にするため、活性発現に必要な6番目と8番目の疎水性領域のみ示す。(A) 酵素基質複合体の形成のために必要と考えられる機構。(B, C) 加水分解反応のために必要と考えられる機構。基質の黒い部分がA $\beta$ 領域。\*は活性中心をあらわす

一つの膜タンパク質が二つの膜配向性をとり、異なる機能を発現することができるか？

皮肉なことに、7回膜貫通モデルは最も確実な方法で活性の存在する細胞膜上での配向性を解析したにもかかわらず、活性中心のひとつである8番目の疎水性領域が細胞外に露出しているため、 $\gamma$ -セクレターゼ活性の発現機構は説明しづらい。さらに、これまでに報告されているリン酸化やプロセッシングなど、プレセニリンの修飾を説明するのは困難である。しかしながら、プレセニリンが二つの膜配向性をとり、それぞれが異なる機能を持つ可能性も否定できない。最近、分泌ホルモンが細胞内でも機能を発現する例が数多く報告されてきている<sup>11)</sup>。ごく最近、ヒトゲノム上に存在するタンパク質をコードする遺伝子の数は20,000から25,000の間であることが報告された<sup>12)</sup>。以前予想されていた数よりもかなり少ない数である。生物はこれまでの想像以上に、限られた遺伝情報資源を多様に利用しているのかもしれない。その機構のひとつとして、タンパク質が複数の高次構造をとったり複数の局在場所へ輸送されて、それぞれが異なる機能を発現する場合は意外に多いのではないだろうか。はたしてプレセニリンと結合するGタンパク質やリガンドなどは発見されるであろうか。

おわりに

紙面の都合からプレセニリンの膜配向性に話を絞ってしまったためアルツハイマー病との関係をはじめとして、活性発現に必要なと考えられるプレセニリン自身のプロセッシングやニカストリンなど他の $\gamma$ -セクレターゼ複合体の構成因子との相互作用、もうひとつの重要な基質であるNotchとの関係などの興味深い問題についてはふれることができなかった。すぐれた総説があるので、興味のある方は参照していただきたい<sup>1, 2, 9-11)</sup>。Notchは常生歯形成端の星状網にも発現している<sup>13)</sup>。今後、Notchシグナルの活性化に関与する $\gamma$ -セクレターゼと歯科領域における再生医療に接点を見出せる日が来るかもしれない。最後に、本稿には筆者の憶測や論理の飛躍が多く含まれている点をご容赦願いたい。

参考文献

- 1) Selkoe, D. J. (2001) *Physiol. Rev.* 81, 741-766.
- 2) Haass, C. and Steiner, H. (2002) *Trends Cell Biol.* 12, 556-562.
- 3) Ellis, R. J. and Pinheiro, T. J. T. (2002) *Nature* 416, 483-484.
- 4) Li, X and Greenwald, I. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 7109-7114.
- 5) Nakai, T. et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 23647-23658.
- 6) Lehmann, S. et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 12047-12051.
- 7) Dewji, N. N. et al. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 1057-1062.
- 8) Steiner, H. and Haass, C. (2000) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1, 217-224.
- 9) Wolfe, M. S. and Selkoe, D. J. (2002) *Science* 296, 2156-2157.
- 10) Xia, W. and Wolfe, M. S. (2003) *J. Cell Sci.* 116, 2839-2844.
- 11) Stein, L. D. (2004) *Nature* 431, 915-916.
- 12) 川島博行 (2003) *新潟歯学会雑誌* 33, 271-272.
- 13) 大島勇人 (2004) *新潟歯学会雑誌* 34, 53-55.