

베타 아밀로이드 형성에 관여하는 효소와 그를 응용한 알츠하이머병 치료법 개발 동향

장 창 환¹ · 정 민 환² · 목 인 희¹

아주대학교 의과대학 뇌질환연구센터¹, 의과학연구소²

Enzymes for Beta Amyloid Generation and Their Therapeutic Applications for Alzheimer's Disease

Chang-Hwan Jang · Min Whan Jung · Inhee Mook-Jung

Brain Disease Research Center, Ajou University

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is one of the most common senile dementia in elderly population. It is an age-related neurodegenerative disorder. Almost 50% of over 80 years old individuals suffer the problems with AD. Memory deficit which is resulted from degenerated neurons followed by synaptic loss is the major symptom of AD. The pathological hallmarks of AD are (1) extracellular deposit of senile plaques, (2) intracellular neurofibrillary tangles and (3) severe neuronal loss in the brain. Senile plaques consist of a central core of insoluble fibrillary amyloid β -protein ($A\beta$) surrounded by a halo of dystrophic neurites. Most of AD is sporadic form and less than 10% in AD is familial form. The mutations on the gene of amyloid precursor protein (APP), presenilin 1 (PS1) and presenilin 2 (PS2) have been found on early-onset familial AD (FAD). Apolipoprotein E is known as a risk factor on late-onset sporadic AD (SAD). Since high level of $A\beta$ deposit is appeared in the patient brains of both FAD and SAD, it is considered that $A\beta$ might be the major cause of AD. Because $A\beta$ is generated from a larger precursor protein, designated APP, understanding APP processing is important. APP is processed through at least two different pathways. The α -secretory pathway involves α - and γ -secretases, generating two secreted protein fragments, sAPP α and p3. Alternatively, the secreted fragments sAPP β and $A\beta$ are generated out of the β -secretory pathway by the actions of β - and γ -secretases. In this review, mechanism of $A\beta$ generation is discussed with focus on three secretases such as α -, β - and γ -secretases. Also, possible therapeutic approaches is discussed based on the information about basic research results of secretases.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid precursor protein, beta amyloid, secretase, presenilin

요 약: 알츠하이머병(Alzheimer's disease: AD)은 퇴행성 신경질환으로서 80세 이상 노인의 50% 정도가 고통을 받고 있는 병이다. 그 증상으로는 기억력 및 인지기능의 상실이 서서히 진행되어 나타나며 아직 정확한 병인이나 치료법은 알려지지 않고 있는 실정이다. AD의 병리학적 특징으로는 노인반점(senile plaques), 신경섬유덩어리(neurofibrillary tangles), 그리고 신경세포의 손실(neuronal loss)을 대표적으로 들 수 있다 하겠다. 노인반점의 대부분을 차지하고 있는 응집된 베타아밀로이드 단백질은 여러 가지 실험적 증거들에 의하여 AD의 주요 병인으로 생각되어지고 있다. AD는 크게 젊은 나이에 발병하는 유전성 AD(familial AD)와 원인을 알 수 없는 산발성 AD(sporadic AD)로 나눌 수 있다. 유전성 AD의 경우는 presenilin 1(PS1), presenilin 2(PS2) 혹은 아밀로이드 전구단백질(amyloid precursor protein, APP) 유전인자에 돌연변이가 일어났을 경우 100% AD로 발병하게 된다. 산발성 AD의 경우는 아포지단백질 E(apolipoprotein E)나 α -2 macroglobulin에 돌연변이가 일어났을 때 AD로 진단할 확률이 높아지는 위험인자는 밝혀져 있으나 발병의 정확한 원인은 알려진 것이 없다. 특이한 사

교신저자: 목인희

아주대학교 의과대학 뇌질환연구센터, 442-721 수원시 팔달구 원천동 산5번지

Tel: 031-219-4554

Fax: 031-216-6381

E-mail: inhee@madang.ajou.ac.kr

항은 산발성이나 유전성 AD 모두 베타아밀로이드 단백질의 과다 침착이 공통적으로 일어난다는 것으로 베타아밀로이드의 AD의 병인으로서의 가능성을 시사하고 있다. 본 논문에서는 베타아밀로이드가 형성되어지는 대사경로를 설명하고 그 중 베타아밀로이드 생성에 관여하는 β , γ secretases에 관하여 최근의 연구결과들을 중점적으로 설명할 것이다. 또한 베타아밀로이드의 생성을 저해하는 α -secretase의 후보물질들에 관한 설명과 이러한 secretases들의 조절 및 이를 이용한 치매치료법에 관한 최근 동향을 설명하고자 한다.

주요어: 알츠하이머병, 아밀로이드전구단백질, 베타아밀로이드, secretases

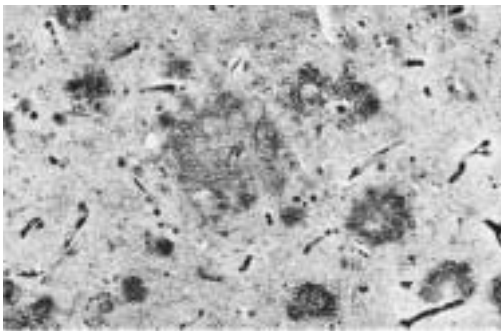
서론

나이가 들어감에 따라 나타나는 퇴행성 신경질환인 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)은 가족성 AD(familial Alzheimer's disease, FAD)와 산발성 AD(Sporadic Alzheimer's disease, SAD)로 크게 분류되어진다. 전체 AD 환자의 5~10% 정도를 차지하는 FAD의 경우 원인유전인자로 알려진 presenilin 1(PS1), amyloid precursor protein(APP), 그리고 presenilin 2(PS2)에 돌연변이가 일어났을 경우 100% AD로 진단되는 것으로 보고되었다¹. AD 환자의 대부분을 차지하는 SAD의 경우는 현재까지는 특정 유전자의 돌연변이에 의해 발병하는 경우는 발견되지 않았으며 apolipoprotein E(ApoE), α -2-macroglobulin(A2M)과 같은 위험인자는 알려져 있으나 FAD에서 보이는 것과 같은 전체의 경우를 설명할 수 있는 유전학적 근거들은 보고된 바가 없다. AD의 병리학적인 특징으로는 신경세포의 외부에 축적되어지는 노인반점(senile plaques)과 신경세포의 세포체 내에 엉켜진 실몽치처럼 보이는 신경섬유덩어리(neurofibrillary tangles)

를 들 수 있다(Fig. 1). 이러한 병리학적인 특징은 FAD와 SAD의 모든 경우에 다 나타나며 그 중 노인반점은 베타아밀로이드(A β)라는 독성단백질이 주요 구성 요소로서 밝혀졌으며 A β 의 과다 축적이 공통적인 현상으로 나타난다는 것이 보고되어졌다¹.

A β 는 APP라는 type I integral membrane protein에서부터 유래된 단백질 분해효소에 의한 대사산물로서 extracellular domain과 membrane domain으로 이루어져 있는 39~43개의 펩타이드이다(Fig. 1). A β 의 전구대사단백질인 APP는 염색체 21번에 위치하고 있으며 이 위치는 다운증후군의 21번째 염색체의 trisomy에 의한 gene dosage effect를 나타내는 위치와 overlap이 되고 있다². A β 가 AD의 발병원인으로 작용할 것이라는 베타아밀로이드 가설은 1980년대 초에 아세틸콜린의 저하가 AD의 병인이라고 생각해왔던 아세틸콜린 가설 이후에 가장 오래도록 여러 가지 실험적 증거들에 의하여 공통적으로 받아들여지고 있다. 이러한 가설을 뒷받침해 주는 실험적 증거로는 다음과 같은 것들이 있다.

① FAD 환자에서 발견되어진 APP swedish mutant 유



The Structure of Amyloid Precursor Protein

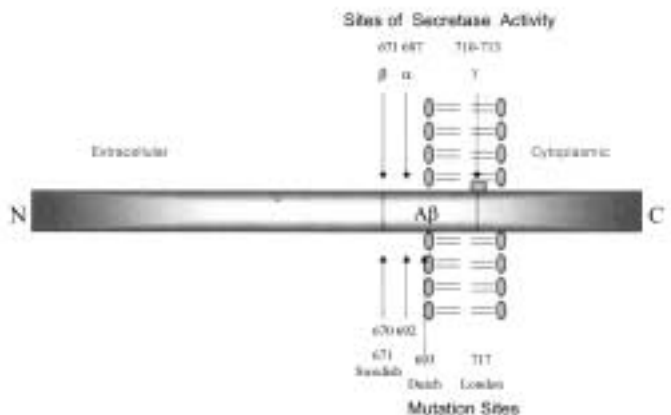


Fig. 1. Deposition of A β .

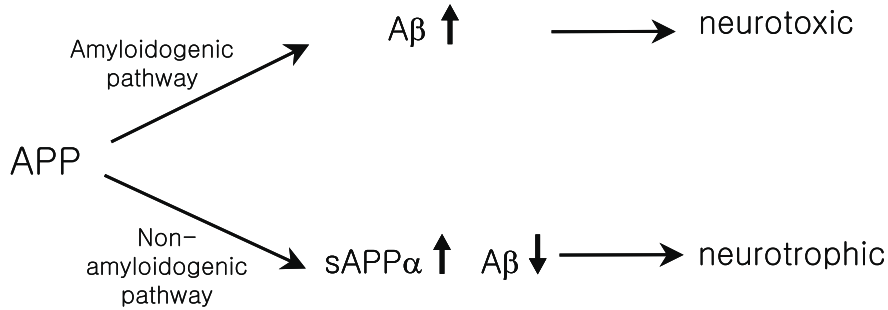


Fig. 2.

전자를 과다 발현하는 transgenic mice를 만들었을 경우 환자에게서 나타나는 것과 유사한 형태의 노인반점이 나타나며 이 때 $A\beta$ 의 과다 축적이 관찰되었고 이러한 쥐들은 공간 학습능력을 측정하는 Morris water maze 실험에서 그 능력이 정상 쥐에 비해 현저히 감소되어진 것으로 나타났다. ② 비슷한 결과로 FAD 환자에서 나타난 PS1 mutant 유전자 과다발현 transgenic mice의 경우에 $A\beta_{42}$ 의 생성이 현저히 증가하여 나타났으며 PS1 유전자의 발현을 억제시킨 knock out mice의 경우에는 그 primary neuronal culture의 medium에서 $A\beta$ 의 생성량을 측정해 본 결과 $A\beta$ level이 현저히 감소되어 나타난다는 현상이 보고되어졌다^{3, 4}. ③ $A\beta$ 를 in vitro에서 배양하는 신경세포에 처리하였을 때 신경세포사를 유도하며 그 세포사의 기전이 AD 환자에서 나타나는 apoptosis의 유형과 유사하다는 많은 보고들이 있다²⁷. 이러한 실험적 근거들을 토대로 생각하여 볼 때 AD의 발병의 원인 중의 하나로 $A\beta$ 의 과다 축적을 생각하는 것은 당연한 것이라 하겠다.

$A\beta$ 가 신경세포사를 유도하는 단계를 간단히 살펴보면 APP로부터 단계적으로 일어나는 proteolytic processing에 의하여 $A\beta$ 가 생성이 되고 이렇게 생성된 $A\beta$ 는 서로 응집하여 β -sheet를 형성하고 이러한 응집된 형태의 $A\beta$ 가 결국 신경세포사를 유도하게 된다는 것이 일반적으로 받아들여지고 있는 가설이다. 그렇다면 치료제의 개발이라는 측면에서 $A\beta$ 에 초점을 맞춘 경우 그 치료제 개발의 목표점은 $A\beta$ 생성저지, $A\beta$ 응집 저지 그리고 $A\beta$ 에 의한 독성저지로 귀결된다. 본 논문에서는 $A\beta$ 의 생성저지의 관점에서 그 원리 중 $A\beta$ 의 형성에 관여하는 secretase의 특성과 그에 근거한 치료제 개발의 접근 방법 등에 관하여 간단히 논의하여 보고자 한다.

APP processing

Integral membrane protein인 APP는 amyloidogenic pathway와 non-amyloidogenic pathway의 두 가지로 그 대사과정이 진행된다(Fig. 2). Amyloidogenic pathway는 $A\beta$ 가 생성되는 것으로서 β -secretase와 γ -secretase라는 단백질 분해효소에 의하여 $A\beta$ 가 형성되며 이 때 부수적으로 extracellular domain이 잘려서 $APP\beta$ 의 형태로 세포 밖으로 분비되어진다. 이에 반해 non-amyloidogenic pathway는 정상인에서 우세하게 나타나는 pathway로 $A\beta$ 의 형성이 안되며 α -secretase라는 단백질 분해 효소에 의하여 $A\beta$ 의 16/7번째 부분이 잘려지게 되고 이렇게 잘려진 extracellular domain은 $APP\alpha$ 의 형태로 세포 밖으로 분비되게 된다.

β -secretase에 의하여 잘려진 APP는 C99라고 불리는 cytoplasmic domain과 $sAPP\beta$ (secreted form of β -secretase derived APP)라 불리는 N-terminal domain으로 나뉘어진다. C99는 다시 γ -secretase에 의하여 4 kDa의 $A\beta$ 를 만들어내고 $sAPP\beta$ 는 그 기능은 잘 알려져 있지 않으나 90 kDa 내외의 단백질을 세포 밖으로 분비하게 된다. α -secretase의 경우 남아 있는 C83이라고 불리는 cytoplasmic domain은 다시 γ -secretase에 의하여 잘려져서 p3 라고 불리우는 3 kDa의 조각을 만들어 내게 된다(Fig. 3).

이 때 생성되어져서 분비되어진 $sAPP\alpha$ (secreted form of α -secretase derived APP)는 in vitro에서 세포의 증식과 성장을 돕는 신경영양인자와 유사한 기능을 한다는 보고가 되어졌으나 아직은 그 구체적인 작용기전이 알려져 있지는 않다³³⁻³⁵. 이렇듯 동일한 하나의 단백질에서부터 어떤 단백질 분해효소가 자르느냐에 따라

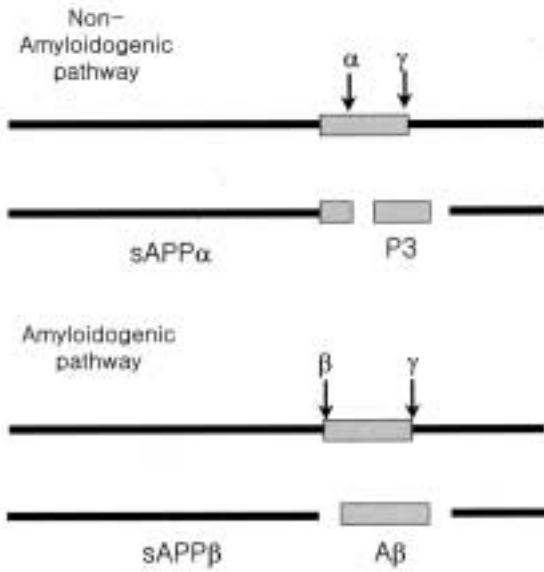


Fig. 3.

서 신경세포 독성을 갖는 Aβ를 생성하여 신경세포사를 유도하는가 하면, 신경세포의 기능을 강화할 수 있는 신경 영양인자와 같은 물질을 만들어내어 신경세포들 간의 시냅스의 기능을 증진시킬 수도 있는 정반대의 역할을 담당하게 되는 것이다.

α-secretase

Non-amyloidogenic pathway로 들어서기 위해서는 α-secretase에 의하여 APP가 잘려져야 하는데 여러 가지 실험적 증거들이 이 α-secretase는 protein kinase C (PKC)에 의하여 그 활성이 조절된다고 알려져 있다²⁸. α-secretase를 밝혀내기 위한 여러 가지 시도들이 되어져 왔으나 아직 정확한 한 개의 단백질 분해효소가 α-secretase로서 밝혀진 것은 없다. 다만, 실험적 증거들에 의하여 α-secretase는 disintegrin domain과 metalloproteinase domain을 갖는 a disintegrin and metalloproteinase domain(ADAM) family에 속하는 단백질 분해효소일 것이라는 의견이 모아지고 있다. 그 중에서도 tumor necrosis factor α cleaving enzyme (TACE)와 ADAM 10(Kuzbanian이란 다른 이름도 있음)이 α-secretase의 강력한 후보로 생각되어지고 있다²⁷. 그 실험적 증거들로는 TACE-deficient mice로부터 유래

한 embryonic fibroblasts에서는 phorbol ester에 의하여 PKC를 활성화시켜도 APPα의 생성량이 증가되지 않음을 확인하였다⁵.

ADAM 10의 경우에는 human embryonic kidney (HEK) 293 cell에 ADAM 10을 과다 발현시켰을 경우 α-secretase의 활성이 올라가는 것을 확인하였다⁷. 그러나 이러한 실험적 증거들의 대부분이 신경세포가 아닌 비신경세포들에서 이루어졌으므로 실제 생리적 조건에서 이러한 단백질 분해효소들이 α-secretase로서 작용하는가 하는 것은 더 많은 검증의 절차가 필요할 것이다. 이러한 α-secretase의 활성을 높인다면 상대적으로 Aβ를 생성하는 amyloidogenic pathway로의 진입이 줄어들 것이라는 가정하에 α-secretase의 활성제를 위한 개발이 시도되어지고 있다. 그러나 아직까지 명확한 α-secretase가 밝혀져 있지 않은 상황이므로 직접적으로 그 활성을 조절하는 물질을 찾기에는 여러 가지 실험적 제약이 있는 실정이다.

β-secretase

1999년 10월부터 2개월간에 걸쳐 β-secretase의 정체 를 밝히는 논문들이 거의 동시 다발적으로 독립적인 5개 연구팀들에 의하여 발표가 되어졌다. 이것은 APP의 대사과정을 밝힌 이후부터 오랜 기간 동안 시도해 왔던 노력의 결과로서 AD 연구 및 치료제 개발에 획기적 전환점을 마련해 주었다. 5개의 논문들은 모두 다른 방법으로 β-secretase의 후보 유전자의 정체 를 확인하였는데 그 결과는 모두 동일한 DNA sequence로 귀결되어졌다¹⁵⁻¹⁹. 그 방법들을 예를 들면 EST(expressed sequence tag) data base search, expression cloning, C.elegans 단백질에서부터 인간단백질의 homolog search, 그리고 human brain에서부터 그 저해제에 결합하는 단백질을 찾아가는 생화학적 접근 방법이 그것이다. β-secretase는 unusual aspartic protease로서 염색체 11(101q23.2)번에 위치하며 이자, 뇌 등에서 발현이 되며 세포내의 소포체와 골지체와 같이 APP가 발현되는 곳과 같은 위치에서 나타나는 것이 보고되어졌다²². 비록 이자에서 β-secretase mRNA의 발현량이 가장 높지만 효소로서의 활성도는 뇌에서 가장 높은 것으로 보고되어졌다^{16, 17}. 뇌 내에서는 hippocampus, cortex, cerebellum에서 그 발현량이 높으며, 신경세포에서 주로 발현이 되고 비신경세

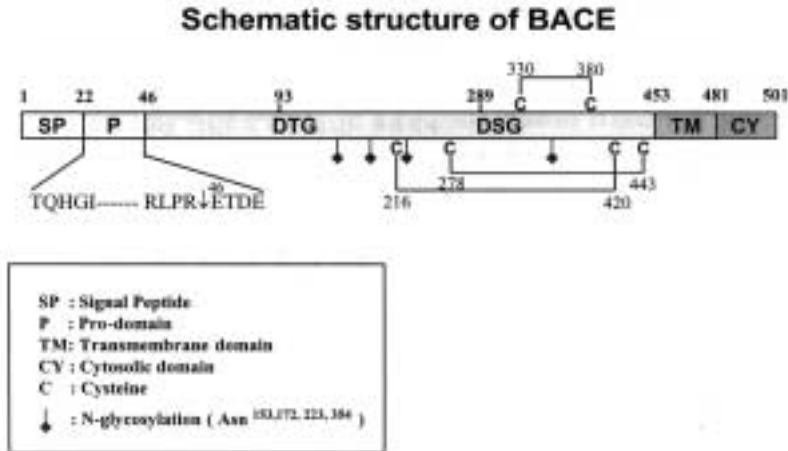


Fig. 4.

포에서는 mRNA가 존재하기는 하나 그 정도가 상당히 낮게 발현되고 있다¹⁶. β -secretase의 강력한 후보 유전자인 BACE(β -site APP cleaving enzyme)는 501개의 아미노산으로 구성되어진 type I transmembrane aspartyl protease로 분자량 70 kDa의 N-glycosylation이 되어지는 단백질로서 pro-form의 형태로 존재하다가 대사과정이 일어나면서 N-말단 부근의 45개 아미노산부분이 잘려나가게 됨으로써 pro-BACE에서 BACE로의 전환이 이루어진다(Fig. 4).

93~96번의 DTGS와 289~292번의 DSGT가 효소의 활성을 갖는 active motif로 추정되어지고 있으며 D93N 혹은 D289N의 돌연변이 단백질은 세포 내에서 APP를

자르지 못하는 것으로 보고되어졌다^{20, 21}. BACE의 발현을 억제하기 위해 BACE antisense gene을 세포 내에 삽입하였을 경우 sAPP β 와 A β 의 level이 감소한 반면 sAPP α 의 level이 증가되어지는 결과를 관찰하였다¹⁶. 또한 대사에 관련해서 BACE의 pro-peptide sequence 내에 pro-protein convertase(PC)의 인식부위가 존재하고 있음이 밝혀지고 이 부위를 PC family 중 하나인 furin이 Glu-46 부위를 자르는 실험 결과가 보고되었다²⁹.

또한 BACE의 pro-domain 부분은 BACE의 활성화에 중요한 영향을 미치지 않는 것으로 보고되어졌다^{29, 30}. 그러나 아직까지는 BACE의 이러한 pro-peptide나 C-말단 부위가 BACE의 활성화 과정 및 세포내의

Table 1. Criteria to be fulfilled for Candidate β -secretase.

Criteria for β -secretase	
Membrane associated	Yes
Present in brain	Yes
Present in A β -secreting cells	Yes
Co-localized with APP in Golgi	Yes
Cleavages APP ^{sw} more effectively than APP ^{wt}	Yes
Cleavages synthetic APP substrates	Yes
Transfection into APP-containing cells increases sAPP β and CTF β	Yes
Antisense oligos decrease sAPP β and CTF β	Yes
Acidic pH optimum	Yes
Resistance to the aspartic proteinase inhibitor pepstatin	Not determined
Cleavage full length APP	Not determined
Inhibition of proteolytic activity modulates APP processing	Not determined
Modulation of proteolytic activity by factors affecting β -site APP processing (e.g. cholesterol, ApoE)	Not determined

trafficking에 어떠한 역할을 하는지는 아직 명확하지 않은 상태이다³¹. 최근 보고에 의하면 C-말단을 잘라낸 BACE의 mutant의 경우 빠른 속도로 소포체와 골지체를 이동하는 것을 관찰할 수 있었으므로 BACE의 C-말단 부위가 세포 내 trafficking에 관여를 하는 것으로 사료되어지고 있다³². 더욱이 이러한 β -secretase는 뇌에만 존재하는 것이 아니라 인체 내 다른 조직에도 분포되어 있기 때문에 β -secretase의 정상 기능이 밝혀지는 것이 중요하며 저해제의 개발이 완료되었을 때 파생될 수 있는 가능성들을 사전에 생각하고 대처하는 것이 필요할 것이다(Table 1).

γ -secretase

$A\beta$ 형성의 rate limiting step으로 알려진 γ -secretase의 절단은 $A\beta$ 의 N-말단 부분의 형태를 40 혹은 42/43 아미노산로 결정지어 주는 중요한 과정이다. γ -secretase가 그러한 역할을 하는 단백질 분해효소로서 명명되어졌으며 그 정확한 단백질의 정체는 아직도 명확하게 밝혀지지는 않았다. 단지 FAD 환자에서 나타나는 PS1(혹은 PS2)이 γ -secretase 그 자체이거나 혹은 γ -secretase의 활성을 직접적으로 조절하는 co-factor로서 작용할 것이라는 실험적 증거들이 있다⁹. PS1과 PS2 유전인자의 발현을 동시에 막는 knock-out mice의 경우 $A\beta$ 의 형성이 거의 되어지지 않으므로 PS 단백질의 $A\beta$ 생성에서의 역할은 필수 불가결하다 하겠다²⁶. PS가 γ -secretase 그 자체일 것이라고 추론하는 근거들에는 γ -secretase inhibitor를 만들고 거기에 빛에 의해 활성화되어지는 tag를 붙인 후 세포에 처리하여 빛을 쬐어 주었을 경우 γ -secretase inhibitor가 세포 내의 PS1/2에 가서 직접 결합하는 것을 관찰하였다는 보고가 있다^{10, 11}. 또한 PS1의 sequence를 보면 지금까지 알려진 많은 일반적인 단백질 분해 효소와 sequence homology가 없어서 이것 자체가 enzyme activity를 가지지 않을 것이라고 생각하였다.

그러나 얼마전 보고에 의하면 박테리아에 존재하는 Type 4 prepilin peptidase(TFPP) family에 속하는 type 4 prepilin peptidase와 sequence homology가 있으며 PS단백질이 XGDx의 conserved 된 활성부위를 가지고 있다는 것이 보고되어졌다²⁵. γ -secretase의 경우에는 β -secretase와 다르게 APP만을 자르는 것이 아니라 발생

시기에는 신경발생에 중요한 역할을 하며 성체가 되었을 때는 혈액 형성에 중요한 역할을 하는 Notch 단백질의 proteolysis에도 관여한다는 것이 밝혀졌다^{13, 14}. 그러므로 γ -secretase inhibitor의 개발은 Notch의 기능이 매우 중요하므로 그 기능까지 차단되어지지 않는 다른 방법을 고안하지 않는 한 인체 내에서의 부작용이 상당히 클 것으로 사료된다.

결론

$A\beta$ 가 AD의 병인에 상당히 중요한 역할을 하는 것은 여러 가지 실험적 증거들에 의하여 정설로 받아들여지고 있는 것으로서 $A\beta$ 의 생성을 저해하고자 하는 근본적 원인치료제의 개발이 가까워 오고 있다. 동일한 APP라는 단백질에서부터 어떤 단백질 분해 효소가 활성화되어지느냐에 따라 amyloidogenic pathway 혹은 non-amyloidogenic pathway로 접어들 수 있을 것이다. 그러므로 노화와 산화적 스트레스 혹은 두부 손상과 같은 여러 요인들이 이러한 secretase들의 활성의 조절에 긴밀히 연관되어져 있을 것으로 사료되며 이러한 secretase의 활성을 억제 혹은 시작시키는 저해제 혹은 활성제 개발의 연구가 현재 활발히 진행되어지고 있다²³. 이러한 것들의 개발과 더불어 파생되어 질 수 있는 부작용을 사전에 대비하기 위하여는 각 secretase들의 생물학적 기능을 정확히 파악하는 기초연구도 병행되어 추진되어야 할 것이다.

감사의 글

본 논문은 한국과학재단 우수연구센터(아주대학교 뇌질환 연구센터) 지원 연구비로 진행되어진 결과물입니다.

참고문헌

1. Translating Selkoe, D.J. (1999) Cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature* 399, A23-A31
2. George-hyslop, P.H. et al. (1987) The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 235, 885-890
3. Borchelt, D.R. et al. (1996) Familial Alzheimer's-disease-

- linked presenilin-1 variants elevate A-beta-1-42/1-40 ratio in Vitro and in vivo, *Neuron* 17, 1005-1013
4. Citron, M. *et al.* (1997) Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat.Med.* 3, 67-72
 5. Buxbaum, J.D. *et al.* (1998) Evidence that tumor necrosis factor alpha converting enzyme is involved in regulated alpha-secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *J.Biol.Chem.* 273, 27765-27767
 6. Parvathy, S. *et al.* (1998) Alzheimer's amyloid precursor protein alpha-secretase is inhibited by hydroxamic acid-based zinc metalloprotease inhibitors - similarities to the angiotensin-converting enzyme secretase. *Biochemistry* 37, 1680-1685
 7. Lammich, S. *et al.* (1999) Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease *Proc.Natl.Acad.Sci.* U. S. A. 96, 3922-3927
 8. Simons, M. *et al.* (1996) Amyloidogenic processing of the human Alzheimer's amyloid precursor protein in primary cultures of rat hippocampal neurons. *J.Neurosci.* 16, 899-908
 9. Ye, Y.H. *et al.* (1999) Neurogenic phenotypes and altered Notch processing in Drosophila Presenilin mutants. *Nature* 405, 689-694
 10. Li, Y-M. *et al.* (2000) Photoactivated γ -secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature* 405, 689-694
 11. Esler, W.P. *et al.* (2000) Transition-state analogue inhibitors of γ -secretase bind directly to presenilin. *Nat. cell Biol.* 2, 428-434
 12. Wolfe, M.S. *et al.* (1999) Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma secretase activity. *Nature* 398, 513-517
 13. De Strooper, B. *et al.* (1999) A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. *Nature* 398, 518-522
 14. Varnum-Finny, B. *et al.* (1998) The notch ligand, jagged-1, influences the development of primitive hematopoietic precursor cells. *Blood* 91, 4084-4091
 15. Hussain, I. *et al.* (1999) Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as beta-secretase. *Mol.Cell. Neurosci.* 14, 419-427
 16. Vassar, R.Q. *et al.* (1999) Beta secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286, 735-741
 17. Yan, R.Q. *et al.* (1999) Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease beta-secretase activity. *Nature* 402, 533-537
 18. Sinha, S. *et al.* (1999) Purification and cloning of amyloid precursor protein beta-secretase from human brain. *Nature* 402, 537-540
 19. Lin, X.L. *et al.* (2000) Human aspartic protease memapsin 2 cleaves the beta-secretase site of beta-amyloid precursor protein. *Proc.Natl.Acad.* U. S. A. 97, 1456-1460
 20. Han, M. *et al.* (2000) Characterization of Alzheimer's beta-secretase protein BACE: a pepsin family member with unusual properties. *J.Bio.Chem.* 275, 21099-21106
 21. Capell, A. *et al.* (2000) Maturation and pro-peptide cleavage of beta-secretase. *J.Bio.Chem.* 275, 30849-30854
 22. Greenfield, J.P. *et al.* (2000) Endoplasmic reticulum and trans Golgi network generate distinct populations of Alzheimer's beta-secretase protein. *Proc.Natl.Acad.* U. S. A. 96, 742-747
 23. Dew Strooper, B. and Konig, G. (1999) Alzheimer's disease. A firm base for drug development. *Nature* 402, 471-472
 24. Nitsch, R.M. *et al.* (1993) Receptor-coupled amyloid precursor protein processing. *Ann NY Acad Sci.* 695:122-7
 25. Christian, F. *et al.* (2000) The type 4 prepilin peptidase comprise a novel family of aspartic acid proteases. *J.Bio.Chem.* 275, 1502-1510
 26. Steiner, H. *et al.* (1999) Genes and mechanisms involved in beta-amyloid generation and Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 249(6): 266-70
 27. Mattson, M.P., Partin J, Begley JG. (1998) Amyloid beta-peptide induces apoptosis-related events in synapses and dendrites. *Brain Res* 5;807(1-2):167-76
 28. Daniel, M., Skovronsky, *et al.* (2000) Protein Kinase C-dependent α -secretase competes with β -secretase for cleavage of amyloid β -precursor protein in the trans-golgi network. *J.Bio.Chem.* 275, 2568-2575
 29. Brian D. Bennett, *et al.* (2000) A furin like convertase mediates propeptide cleavage of BACE, the Alzheimer's β -secretase. *J.Bio.Chem.* 275, 37712-37717
 30. John, W.M., Creemers, *et al.* (2001) Processing of β -secretase by furin and other members of the proprotein convertase family. *J.Bio.Chem.* 276, 4211-4217

31. Huse, J.T., Pijak DS, *et al.* (2000) Maturation and endosomal targeting of beta site amyloid precursor protein-cleaving enzyme. THE ALZHEIMER'S DISEASE beta-secretase. *J.Bio.Chem.* 275, 33729-37.
32. Benjannet, S. *et al.* (2001) Post-translational processing of β -secretase(BACE) and its ectodomain shedding : the pro- and transmembrane/cytosolic domains affect its cellular activity and amyloid A β production, *J.Bio.Chem.* (in press)
33. Ohsawa, I. *et al.* (1999) Amino-terminal region of secreted form of amyloid precursor protein stimulates proliferation of neural stem cells. *Eur. J. Neurosci.* 11(6):1907-13
34. Hayashi, Y. *et al.* (1994) Alzheimer amyloid protein precursor enhances proliferation of neural stem cells from fetal rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 205, 936-943
35. Rossner, S. *et al.* (1998) The regulation of amyloid precursor protein metabolism by cholinergic mechanisms and neurotrophin receptor signaling. *Prog. Neurobiol.* 56, 541-569