

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本血栓止血学会誌 (2002.12) 13巻6号:477～484.

中枢神経系における組織plasminogen activatorとカリクレイン類

吉田成孝

中枢神経系における組織 plasminogen activator とカリクレイン類

吉 田 成 孝*

Tissue Plasminogen Activator and Kallikrein Family in the
Central Nervous System
Shigetaka YOSHIDA*

Key words : tissue plasminogen activator, kallikrein, neuropsin, brain

緒 言

神経系でのセリンプロテアーゼに関しては脳血管障害時における血液凝固・血栓溶解因子の臨床上的研究は盛んに行われてきた。しかし、近年神経系組織内にも intrinsic な多数のプロテアーゼが存在することが明らかとなってきた。特に、トロンビン, plasminogen activators およびカリクレイン類が重要な機能を果たしていることを示す多数の研究がなされてきている。本稿では組織 plasminogen activator (tPA) とカリクレイン類に関する研究の現状の一端を示すこととしたい。

tPA の神経系でのはたらき

tPA は神経系での機能が最もよく研究されている細胞外プロテアーゼである。tPA の機能は、(1) 神経系の発生時の細胞移動や軸索伸長への関与、(2) 神経可塑性に対する関与、(3) 神経細胞死における関与と大きく三つに分けられ

る。比較的多くの研究が行われている (2) と (3) について概説する。

神経可塑性に対する tPA のはたらきに関しては眼優位の変化と長期増強の二つの現象への関与が研究されている。大脳皮質の視覚野は同側の網膜からの受容を行うものと対側の網膜からの受容を行う細胞がある一定のパターンを形成している。動物の生後成長期のある一定の時期に片眼を閉じるとこのパターンが変化し、多くの細胞が開眼している網膜からの受容を行うようになる。これが脳の可塑性を示す例として有名な眼優位の変化である。片眼閉鎖により tPA の発現が上昇し¹⁾、逆に tPA に対する阻害剤の投与²⁾で眼優位の変化が阻害された。tPA ノックアウトマウスでも野生型のような眼優位の変化は生じない³⁾。神経可塑性のもう一つの典型である長期増強は海馬などに微小電極を用いて高頻度刺激 (テタヌス刺激) を行うとシナプス結合が強化される現象で、学習記憶などの高次脳機能につながるものとして重要な現象である。tPA ノックアウトマウスでは海馬の長

*1 旭川医科大学解剖学第1 [〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1-1-1]
Department of Anatomy 1, Asahikawa Medical College (Midorigaoka-higashi 2-1-1-1, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan)
Tel: 0166-68-2300 Fax: 0166-68-2309 e-mail: syoshida@asahikawa-med.ac.jp

期増強が低下し⁴⁾⁵⁾、さらに、行動実験を行うと学習能力の低下が観察された。逆に tPA を過剰発現させると長期増強が促進され、行動実験で学習能力の上昇が見られた⁶⁾。このように tPA は神経可塑性において重要な役割を果たしていることが明らかとなってきている。

以上とはおそらく別のメカニズムで神経細胞死において tPA が重要な関与をしていることを示す大きな発見がニューヨークのグループによりなされた。まず、tPA ノックアウトマウスの海馬に興奮性神経毒素であるカイニン酸を投与しても神経細胞死が生じないことが見いだされた⁷⁾。また、tPA の基質である plasminogen ノックアウトでも同様の現象が見られた。さらに、野生型マウスで細胞死が生じる際には細胞外マトリックスである laminin の消失が必須であることが明らかとされた。抗 laminin 抗体投与等の実験により tPA が活性化した plasmin (もしくは plasmin により活性化された matrix metalloproteinase 等) が laminin を分解することにより細胞死が生じていることが強く示唆されている⁸⁾ (図 1)。

ヒトカリクレインファミリーの遺伝子構造

神経系に多数のカリクレイン類が発現していることが明らかとなってきている。組織(腺性)カリクレインは元来キニンノーゲンからブラディキニンなどのキニンを切り出す酵素である。ヒトカリクレイン遺伝子は相同性が高い3種の遺伝子が以前から同定されており、KLK 1 (組織カリクレイン)、KLK 2、KLK 3 と命名された。KLK 2 と KLK 3 は共に前立腺に発現が見られる。KLK 3 がコードする蛋白質は prostate-specific antigen (PSA) であり、前立腺癌の腫瘍マーカーとして臨床応用されている。これに加えて 1994 年頃からヒト、ラットおよびマウス由来の新たなセリンプロテアーゼの cDNA クローニングの報告が相次いだ。ヒトゲノムプロジェクトの進行も相まって、これらの遺伝子が

染色体の 19q19.3-q13.4 に位置する KLK 1 の近傍にタンデムに存在することが明らかとなった (図 2)。以下本稿では、従来から知られていたようなカリクレインに相同性が 60%以上あるような遺伝子をカリクレイン型遺伝子、遺伝子座はカリクレイン遺伝子の近傍にあるが相同性は 50%以下のものをカリクレイン関連遺伝子と区別し、これらを総称してカリクレインファミリーと呼ぶこととする。2000 年にこれらのカリクレインファミリーの命名法が見直され、すべてをまとめて centromere に近い順に KLK 1-KLK 15 と割り振られることとなった (KLK 3 と KLK 15 は同定の経緯からこの順になっていない⁹⁾。また、これらの遺伝子がコードする蛋白質は hK 1-hK 15 と呼ぶこととなった。これらのプロテアーゼのアミノ酸配列の相同性を表にまとめた (図 3)。図 3 で明らかのように hK 1- hK 3 同志の相同性は 60%以上であるのに対し、hK 4- hK 15 は互いに 40-50%の相同性である。これから推察できるのは遺伝子重複などにより KLK 1 と KLK 4-KLK 15 が構成され、その後の進化で KLK 1-KLK 3 の遺伝子が作り出されたということである。

ヒトとマウスとのカリクレインファミリー遺伝子構造の相違

カリクレイン型遺伝子はヒトと齧歯類で大きな相違が見られる。ヒトカリクレイン型遺伝子は KLK 1-KLK 3 の 3 種であるのに対し、マウスにはカリクレイン型遺伝子が 26 個 (その内 10 個は偽遺伝子)、ラットには 13 個 (その内 3 個は偽遺伝子) が同じ遺伝子座に存在することがわかっていた。この中で 1991 年に命名法が決められ、マウスの遺伝子は mKlk 1-mKlk 26、蛋白質は mK 1-mK 26 と命名され、ラットについてもそれぞれ rKLK 1-rKLK 13、rK 1-rK 13 と命名されることとなった (その後 mKlk 27 が同定された。)。ところが、ヒトで同定された新たなカリクレイン関連遺伝子のマウスやラット

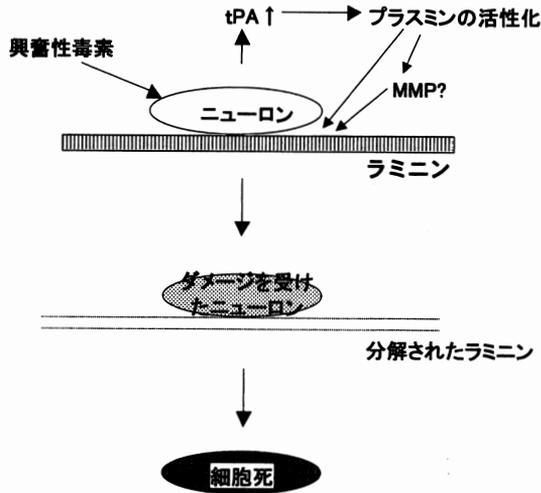


図 1 カイニン酸などの興奮性毒素による神経細胞死への tPA の関与

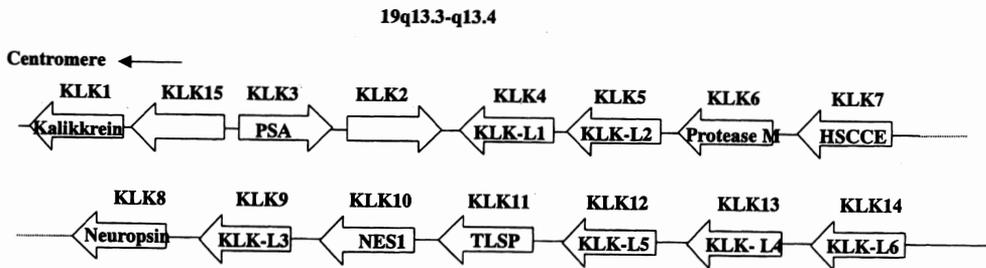


図 2 ヒトカリクレインファミリー遺伝子座

矢印の向きは遺伝子がコードする向きを表す。矢印の中の名称は決められた命名以外の trivial name.

ホモログがこれらとは別個に存在することが明らかとなった。しかも、少なくともマウスに関しては mK 1-mK 26 の近傍にこれらの遺伝子が存在する¹⁰⁾。図 4 に現在アミノ酸シーケンスが同定されているマウスカリクレイン関連プロテアーゼの相同性を示す。この表からわかるように、mK 1-mK 27 間では高い相同性を示すが、それ以外のプロテアーゼとは 40% 程度の相同性を示す。すなわち、ヒトの hK 1-hK 3 に相当するものがマウスでは mK 1-mK 27 である。さらに奇妙なことに、hK 1 のマウスホモログが mK 何番であるか、hK 2, hK 3 に相当するものが mK 何番であるかは相同性からだけでは全

く特定できない。ただし、機能的には hK 1 に相当するものが mK 1 であることだけは明らかである。この遺伝子群の構成から示唆されることは進化の過程でヒトと齧歯類に分化する前に KLK 1 と KLK 4-KLK 15 の 13 個の先祖遺伝子が作られ、ヒトと齧歯類に分化した後に KLK 1 がそれぞれの種において遺伝子重複を起こし、この際に齧歯類では多くの遺伝子重複が生じたということである。

現在の命名法の問題点

ここで一つの問題が持ち上がった。例えば neuropsin 遺伝子はヒトでは KLK 8 と命名された。しかし、このマウスホモログはどう呼ぶ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
KLK1														
KLK2	65													
KLK3	61	79												
KLK4	39	41	41											
KLK5	39	44	42	52										
KLK6	39	46	43	41	46									
KLK7	41	43	41	46	48	41								
KLK8	45	56	36	42	48	47	46							
KLK9	41	42	41	37	49	44	41	50						
KLK10	35	39	36	36	40	40	43	45	39					
KLK11	44	45	41	42	51	46	44	50	57	40				
KLK12	38	39	38	41	44	46	45	47	42	45	45			
KLK13	40	45	45	43	50	52	45	50	47	42	52	45		
KLK14	44	45	44	45	50	47	45	49	48	42	49	43	51	
KLK15	39	42	42	39	44	46	44	47	49	42	52	44	46	48

図3 ヒトカリクレイン関連プロテアーゼアミノ酸配列の相同性

上段の1-14はhK1-hK14を示す。それぞれのmature formでの比較を行った。相同性が60%以上のものを太字で示す。

のがよいのだろうか。mKlk 8という名はneuropsinとは全く別のカリクレイン型遺伝子に既に割り当てられている。すなわち、マウスとラットに関しては適当な命名法がないのが現状である。現在のところマウスやラットのカリクレイン関連遺伝子の命名法に関して具体的な動きはないので、カリクレイン関連遺伝子の命名は現在非常に複雑な状況になってしまっている。

脳での発現が多いカリクレインファミリーセリンプロテアーゼ

カリクレインファミリーセリンプロテアーゼの中でヒト、マウスもしくはラットの脳でmRNAもしくは蛋白質の発現が報告されているものはKLK 6, KLK 8, KLK 9, KLK 10, KLK 11, KLK 12, KLK 14である。

KLK 8/neuropsin の酵素活性

この中で最も検討されているのがKLK 8/neuropsinである。Neuropsinはマウス脳の海馬からcDNAクローニングされたプロテアーゼである。Neuropsinの蛋白分解酵素としての活性を様々な人工基質を用いて検討したとこ

ろ、トリプシン型の酵素活性をもつが限定した基質特異性があることがわかった。すなわち、トリプシン同様にArgやLysのC末端側を切断するが、トリプシンとは異なり基質の少なくともアミノ酸3残基が切断活性に重要であり、基質選択性が高いということである。Neuropsinも細胞外に分泌されるプロテアーゼであるので、海馬の細胞外蛋白質がneuropsinの基質となりうるかどうかを検討した。その結果、fibronectin¹¹⁾や神経接着因子L1がもっと見よい基質であることが明らかとなった(図5)。これに対し、N-CAMやラミニンに対してはほとんど切断活性を持たない。

Neuropsinの生理的機能

このような細胞外因子の切断は細胞同士の接着構造を変化させ、さらには組織構築を変化させていると考えられる。そこで、neuropsinノックアウトマウスを作成して組織構築の相違を検討した。その結果、ノックアウトマウスではシナプスの数が野生型マウスより少ないことがわかった。さらに、ノックアウトマウスではシナプス小胞を持ちながらシナプスを形成していない終末様構造が多く観察された¹²⁾。この結果はneuropsinがシナプス形成に重要な役割を果たしていることを示唆する。Neuropsinは海馬な

	mK1	mK9	mK21	mK27	EM	L2	PM	SC	NP	L3	NE	TL
mK1												
mK9	73											
mK21	75	77										
mK27	71	76	88									
mEMSP1 (EM)	37	39	37	36								
mKLK-L2 (L2)	38	40	42	39	39							
mProtease M (PM)	39	38	36	37	37	42						
mSCCE (SC)	41	43	41	43	43	43	41					
mNeuropsin (NP)	45	46	47	46	46	45	48	46				
mKLK-L3 (L3)	39	39	41	39	39	43	39	35	44			
mNES1 (NE)	33	33	33	34	34	34	36	40	39	32		
mTLSP (TL)	42	42	43	42	42	46	45	46	51	50	38	
mKLK-L5	45	45	44	43	43	46	41	43	50	41	43	50

図 4 マウスカリクレイン関連プロテアーゼアミノ酸配列の相同性

mK1-mK27 に関しては一部のみを示す。上段の名称の一部は第1列のかっこ内の略称を用いた。相同性が60%以上のものを太字で示す。

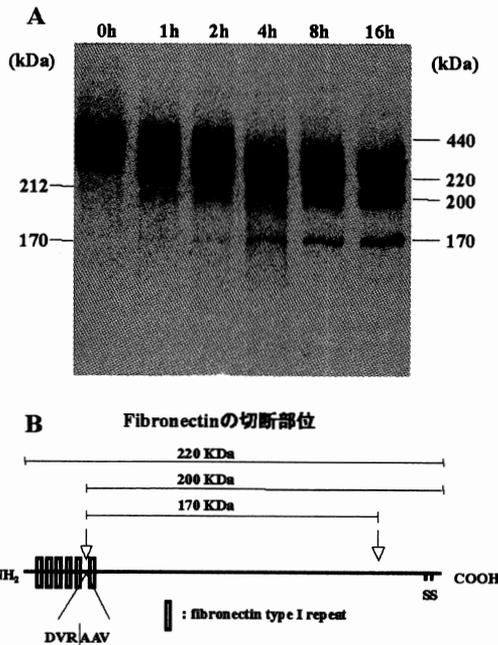


図 5 Neuropsin による fibronectin の分解

A Fibronectin をレーンの上に表示した時間 neuropsin と反応させ電気泳動を行った。

B 想定される fibronectin の切断部位。

どのニューロンに局限して発現する。海馬は上述のように長期増強が生じやすく学習や記憶に重要である。そこで、海馬の長期増強現象への neuropsin の関与を検討した。長期増強を誘発するテタヌス刺激を行うと同時に neuropsin を投与すると長期増強のさらなる強化が観察され

た¹³⁾。逆に、抗 neuropsin 抗体を投与することにより長期増強を大きく阻害することができた(図 6)。Neuropsin ノックアウトマウスは学習記憶障害を示すことから neuropsin は新たなシナプスの形成を通して神経可塑性に重要な関与をしていることが考えられる。

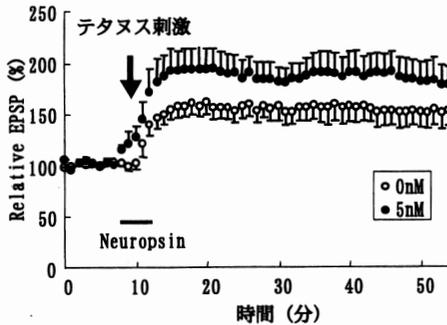


図6 Neuropsinの長期増強に対する作用
海馬スライスに対し矢印の時期にテタヌス刺激を行い、横線で示す時期に5nMのneuropsinを投与すると長期増強がさらに促進された。

Neuropsinの病態下での機能

Neuropsinは中枢神経の病態においては全く異なった機能がある。中枢神経系を損傷すると、健常時とは全く異なりオリゴデンドロサイトに新たな発現が見られるようになる¹⁴⁾¹⁵⁾(図7)。オリゴデンドロサイトはグリア細胞の一つで軸索にミエリン鞘を形成することから、neuropsinはミエリンのターンオーバーもしくはミエリン分解に関与している可能性がある。実際にneuropsinノックアウトマウスの視神経切断を行ってミエリンの変化を観察すると、このノックアウトマウスではミエリン変性に遅れが見られる。

ヒトの疾患においてもneuropsinの関与を示唆するデータがある。アルツハイマー病患者の海馬でのさまざまなカリクレイン遺伝子mRNAの発現を見てみたところ、neuropsin (KLK 8)mRNAのみがアルツハイマー病にて発現の上昇が見られた。ただし、これが病因と関連しているのかその結果なのかなどこれから解決していくべき問題である。

KLK6の中枢神経での機能

KLK 6はヒトではプロテアーゼ M¹⁶⁾, neur-
osin¹⁷⁾, zyme¹⁸⁾の三つの、ラットでMSP¹⁹⁾,
マウスでBSSP²⁰⁾, mBSP²¹⁾の二つとさまざ

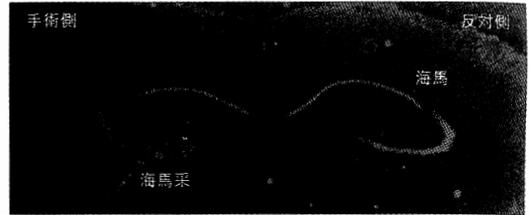


図7 海馬の出入力線維である海馬糸切断後3日のneuropsin mRNA発現。写真より前方の位置で切断した。切断側の海馬糸にmRNA発現が見られる。神経細胞でのneuropsin mRNA発現変化はない。

まな命名がされて発表された。いずれの種においても脳における発現が最も豊富で、ラットとマウスではオリゴデンドロサイトに発現が多い¹⁹⁾²²⁾。ラットとマウスのホモログでの生化学的な酵素活性の検討も行われており、細胞外基質ではgelatin, laminin, fibronectinをよく切断する²¹⁾²³⁾。また、myelin basic protein (MBP)とmyelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)といったミエリン蛋白質に対する切断活性が認められている²⁴⁾。直接的な比較は難しいがneuropsinに比べ基質選択性はやや低いようである。さらに、ラットにおいては中枢神経系の病態での発現動態が検討されている。興奮性神経毒素であるカイニン酸投与での中枢神経傷害やミエリンに対する自己免疫疾患である多発性硬化症の動物モデルにおいて、著明なKLK 6 mRNAと蛋白質の発現上昇が見られた²⁴⁾。興味深いことに、このような病態下での発現細胞はオリゴデンドロサイトだけではなく、脳に浸潤しているT細胞やマクロファージなどの免疫系の細胞にも発現が見られている。

脳に発現するその他のカリクレイン 関連プロテアーゼ

KLK 10はヒト小脳プルキンエ細胞、大脳皮質のニューロンとアストロサイトの一部に免疫陽性が見られたという報告がある²⁵⁾。KLK 11はヒトにおいてはRT-PCRで小脳に²⁶⁾, in situ

hybridization で海馬錐体細胞²⁷⁾ に発現が見られた。マウス脳での発現は northern blot により成獣よりも胎児期に多いと報告されている²⁸⁾。KLK 9, KLK 12, KLK 14 に関しては RT-PCR による mRNA の発現が報告されているのみで、その詳細についてはこれからの検討を待つ段階である。

基質とインヒビター

これらのカリクレイン関連プロテアーゼの基質に関してはこれからの検討を要するものが多い。いずれも細胞外プロテアーゼであることが予想されるので、基質は細胞外の蛋白質であることが考えられる。まず、想定される基質としては、KLK 8/neuropsin や KLK 6/プロテアーゼ M/ニューロシン/zyme のように細胞外基質や細胞接着因子が考えられる。それ以外に生理活性蛋白質の活性化因子として働いている可能性も考えられる。KLK 15 は主に前立腺で発現するプロテアーゼであるが、KLK 3/PSA の活性化因子として同定されている²⁹⁾。また、KLK 1/カリクレインがキニノーゲンからキニンへの活性化因子である点からも、他のカリクレイン関連プロテアーゼが例えば plasminogen activator のように zymogen などの細胞外因子の活性化因子である可能性も十分に考えられる。また、蛋白分解酵素はインヒビターによる活性の制御が不可欠である。1996 年に同定された neuroserpin は tPA のインヒビターであり、その変異が家族性痴呆症の原因であることが見出され注目されている³⁰⁾。KLK 8/neuropsin のインヒビターとして二つの蛋白質が同定されており、神経系でのプロテアーゼとインヒビターのバランスが細胞外環境の制御で重要であると考えられる³¹⁾。tPA, KLK 8/neuropsin, KLK 6 のように細胞外プロテアーゼは生理的な機能と病態下での機能が一見全く異なっているように見える。さまざまな状況下で異なった基質に作用し、かつ異なったインヒビ

ターによる制御を受けているのか等、神経系での細胞外のさまざまな因子の動態を検討していくことがこれからますます重要になってくると考えられる。

文 献

- 1) Mataga N, Imamura K, Shiomitsu T, Yoshimura Y, Fukamauchi K, Watanabe Y: Enhancement of mRNA expression of tissue-type plasminogen activator by L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine in association with ocular dominance plasticity. *Neurosci Lett* **218**: 149-152, 1996.
- 2) Muller CM, Griesinger CB: Tissue plasminogen activator mediates reverse occlusion plasticity in visual cortex. *Nat Neurosci* **1**: 47-53, 1998.
- 3) Mataga N, Nagai N, Hensch TK: Permissive proteolytic activity for visual cortical plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 7717-7721, 2002.
- 4) Frey U, Muller M, Kuhl D: A different form of long-lasting potentiation revealed in tissue plasminogen activator mutant mice. *J Neurosci* **16**: 2057-2063, 1996.
- 5) Huang YY, Bach ME, Lipp HP, Zhuo M, Wolfer DP, Hawkins RD, Schoonjans L, Kandel ER, Godfraind JM, Mulligan R, Collen D, Carmeliet P: Mice lacking the gene encoding tissue-type plasminogen activator show a selective interference with late-phase long-term potentiation in both Schaffer collateral and mossy fiber pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 8699-8704, 1996.
- 6) Madani R, Hulo S, Toni N, Madani H, Steimer T, Muller D, Vassalli JD: Enhanced hippocampal long-term potentiation and learning by increased neuronal expression of tissue-type plasminogen activator in transgenic mice. *EMBO J* **18**: 3007-3012, 1999.
- 7) Tsirka SE, Gualandris A, Amaral DG, Strickland S: Excitotoxin-induced neuronal degeneration and seizure are mediated by tissue plasminogen activator. *Nature* **377**: 340-344, 1995.
- 8) Chen ZL, Strickland S: Neuronal death in the hippocampus is promoted by plasmin-catalyzed degradation of laminin. *Cell* **91**: 917-925, 1997.
- 9) Diamandis EP, Yousef GM, Clements J, Ashworth LK, Yoshida S, Egelrud T, Nelson PS, Shiosaka S, Little S, Lilja H, Stenman UH, Rittenhouse HG, Wain H: New nomenclature for the human tissue kallikrein gene family. *Clin Chem* **46**: 1855-1858, 2000.
- 10) Yoshida S, Hirata A, Inoue N, Shiosaka S: Assignment of the neuropsin gene (Prss19) to mouse chromosome band 7B4 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* **88**: 97-98, 2000.
- 11) Shimizu C, Yoshida S, Shibata M, Kato K, Momota Y, Matsumoto K, Shiosaka T, Midorikawa R, Kamachi T, Kawabe A, Shiosaka S: Characterization of recombinant and brain neuropsin, a plasticity-related serine protease. *J Biol Chem* **273**: 11189-11196, 1998.
- 12) Hirata A, Yoshida S, Inoue N, Matsumoto-Miyai K, Ninomiya A, Taniguchi M, Matsuyama T, Kato K, Iizasa H, Kataoka Y, Yoshida N, Shiosaka S: Abnor-

- malities of synapses and neurons in the hippocampus of neuropsin-deficient mice. *Mol Cell Neurosci* **17**: 600-610, 2001.
- 13) Komai S, Matsuyama T, Matsumoto K, Kato K, Kobayashi M, Imamura K, Yoshida S, Ugawa S, Shiosaka S: Neuropsin regulates an early phase of schaffer-collateral long-term potentiation in the murine hippocampus. *Eur J Neurosci* **12**: 1479-1486, 2000.
 - 14) Tomizawa K, He X, Yamanaka H, Shiosaka S, Yoshida S: Injury induces neuropsin mRNA in the central nervous system. *Brain Res* **824**: 308-311, 1999.
 - 15) He XP, Shiosaka S, Yoshida S: Expression of neuropsin in oligodendrocytes after injury to the CNS. *Neurosci Res* **39**: 455-462, 2001.
 - 16) Anisowicz A, Sotiropoulou G, Stenman G, Mok SC, Sager R: A novel protease homolog differentially expressed in breast and ovarian cancer. *Mol Med* **2**: 624-636, 1996.
 - 17) Yamashiro K, Tsuruoka N, Kodama S, Tsujimoto M, Yamamura Y, Tanaka T, Nakazato H, Yamaguchi N: Molecular cloning of a novel trypsin-like serine protease (neurosin) preferentially expressed in brain. *Biochim Biophys Acta* **1350**: 11-14, 1997.
 - 18) Little SP, Dixon EP, Norris F, Buckley W, Becker GW, Johnson M, Dobbins JR, Wyrick T, Miller JR, MacKellar W, Hepburn D, Corvalan J, McClure D, Liu X, Stephenson D, Clemens J, Johnstone EM: Zyme, a novel and potentially amyloidogenic enzyme cDNA isolated from Alzheimer's disease brain. *J Biol Chem* **272**: 25135-25142, 1997.
 - 19) Scarisbrick IA, Towner MD, Isackson PJ: Nervous system-specific expression of a novel serine protease: regulation in the adult rat spinal cord by excitotoxic injury. *J Neurosci* **17**: 8156-8168, 1997.
 - 20) Meier N, Dear TN, Boehm T: A novel serine protease overexpressed in the hair follicles of nude mice. *Biochem Biophys Res Commun* **258**: 374-378, 1999.
 - 21) Matsui H, Kimura A, Yamashiki N, Moriyama A, Kaya M, Yoshida I, Takagi N, Takahashi T: Molecular and biochemical characterization of a serine proteinase predominantly expressed in the medulla oblongata and cerebellar white matter of mouse brain. *J Biol Chem* **275**: 11050-11057, 2000.
 - 22) Yamanaka H, He X, Matsumoto K, Shiosaka S, Yoshida S: Protease M/neurosin mRNA is expressed in mature oligodendrocytes. *Mol Brain Res* **71**: 217-224, 1999.
 - 23) Blaber SI, Scarisbrick IA, Bennett MJ, Dhanarajan P, Seavy MA, Jin Y, Schwartz MA, Rodriguez M, Blaber M: Enzymatic properties of rat myelencephalon-specific protease. *Biochemistry* **41**: 1165-1173, 2002.
 - 24) Scarisbrick IA, Blaber SI, Lucchinetti CF, Genain CP, Blaber M, Rodriguez M: Activity of a newly identified serine protease in CNS demyelination. *Brain* **125**: 1283-1296, 2002.
 - 25) Petraki CD, Karavana VN, Luo LY, Diamandis EP: Human kallikrein 10 expression in normal tissues by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* **50**: 1247-1261, 2002.
 - 26) Yousef GM, Scorilas A, Diamandis EP: Genomic organization, mapping, tissue expression, and hormonal regulation of trypsin-like serine protease (TLSP PRSS20), a new member of the human kallikrein gene family. *Genomics* **63**: 88-96, 2000.
 - 27) Mitsui S, Yamada T, Okui A, Kominami K, Uemura H, Yamaguchi N: A novel isoform of a kallikrein-like protease, TLSP/hippostasin, (PRSS20), is expressed in the human brain and prostate. *Biochem Biophys Res Commun* **272**: 205-211, 2000.
 - 28) Mitsui S, Okui A, Kominami K, Uemura H, Yamaguchi N: cDNA cloning and tissue-specific splicing variants of mouse hippostasin/TLSP (PRSS20). *Biochim Biophys Acta* **1494**: 206-210, 2000.
 - 29) Takayama TK, Carter CA, Deng T: Activation of prostate-specific antigen precursor (pro-PSA) by prostin, a novel human prostatic serine protease identified by degenerate PCR. *Biochemistry* **40**: 1679-1687, 2001.
 - 30) Davis RL, Shrimpton AE, Holohan PD, Bradshaw C, Feiglin D, Collins GH, Sonderegger P, Kinter J, Becker LM, Lachawan F, Krasnewich D, Muenke M, Lawrence DA, Yerby MS, Shaw CM, Gooptu B, Elliott PR, Finch JT, Carrell RW, Lomas DA: Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature* **401**: 376-379, 1999.
 - 31) Kato K, Kishi T, Kamachi T, Akisada M, Oka T, Midorikawa R, Takio K, Dohmae N, Bird PI, Sun J, Scott F, Miyake Y, Yamamoto K, Machida A, Tanaka T, Matsumoto K, Shibata M, Shiosaka S: Serine proteinase inhibitor 3 and murinoglobulin I are potent inhibitors of neuropsin in adult mouse brain. *J Biol Chem* **276**: 14562-14571, 2001.