

アミロイド β 43 によるアルツハイマー病の病態発症・促進機構

齊藤 貴志

アルツハイマー病 (AD) の病理形成機構は、加齢に伴うアミロイド β ペプチド ($A\beta$) の脳内での凝集・蓄積に起因し、タウタンパク質の凝集・蓄積、そして神経変性・細胞死へと至る“アミロイドカスケード仮説”が広く支持されている。このカスケードの上流にある $A\beta$ 蓄積は、AD を発症する数十年も前から始まっており、このことが AD の予防・治療を困難にしている要因の一つである。我々は、これまで見過ごされてきた $A\beta$ 43 が、AD 病理の形成に重要な役割を担っていることを明らかにした。今後、これまで標的とされてきた $A\beta$ 種だけでなく、 $A\beta$ 43 も標的とすることで AD の根本治療・予防法の開発へ発展することが期待される。また $A\beta$ 43 の産生能が、AD 発症年齢と高い相関を示す可能性を示したことから、AD 早期診断法の確立へ発展することも期待される。

1. はじめに

認知症は、少子高齢化の進む我が国において、今後益々深刻な問題を呈することが容易に予想される大きな社会問題である。すでに患者数が300万人を超えたとの推計もあり、一刻の猶予も許されないとまで迫っている。老人性認知症のなかでもとりわけ患者数が多いのがアルツハイマー病 (AD) であり、予防・治療法の確立が切望されている。一昨年まで我が国で認められていた AD 治療薬は、ドネペジル (アリセプト) のみであったが、他の先進国から10年ほど遅れて新薬が承認された。ガランタミン (レミニール) とリバスチグミン (リバスタッチパッチ) は、ドネペジルと同じくアセチルコリンエステラーゼ阻害作用を示し、患者の症状に合わせた処方選択性が向上した。またメマンチン (メマリー) は NMDA (*N*-メチル-D-アスパラギン酸) 受容体拮抗薬で、AD 症状の中度～重度の患者を対象とした薬剤である。しかしながらこれらは、1～2

年で効果が得られなくなるような対症療法に留まっているのが現状である。世界規模で見ても、数々の臨床試験・治療が失敗や中止になっており、AD 根本治療薬の創出はいまだにほど遠く、根本治療に直結する新規創薬標的を見いだすことが重要な鍵となっている。

2. AD 病理とアミロイドカスケード仮説

AD 患者の剖検脳では、2大病理として“老人斑”と“神経原線維変化”が共通して観察される。それぞれの構成成分の主体は、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) および、過剰リン酸化タウタンパク質の凝集体である。すなわち、 $A\beta$ やタウの凝集・蓄積をいかに抑制するかという方法が、AD に対する予防・治療法として重要視されている。多くの病理学的解析から、 $A\beta$ の凝集・蓄積は神経細胞外 (脳実質)、タウの凝集・蓄積は神経細胞内で認められていて、AD 発症の数十年前から蓄積が始まっていることが知られている。また、家族性 AD の原因遺伝子変異が、 $A\beta$ の前駆体タンパク質 (APP) の遺伝子や、APP から $A\beta$ を産生する際に関与する γ -セクレターゼ複合体の酵素本体であるプレセニリン遺伝子から相次いで同定されている。このことは、 $A\beta$ の蓄積が、AD 発症の引き金である可能性を示しており、アミロイドカスケード仮説として広く支持されている。すなわち、 $A\beta$ の蓄積 (老人斑の形成) からタウの蓄積 (神経原線維変化)、次いで神経変性・神経細胞死へ至るという時系列である。

理化学研究所 脳科学総合研究センター 神経蛋白制御研究チーム (〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1)

Amyloidogenicity and pathogenicity of $A\beta$ 43 in Alzheimer's disease

Takashi Saito (Laboratory for Proteolytic Neuroscience, RIKEN Brain Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako-shi, 351-0198 Saitama, Japan)

本総説は 2013 年度奨励賞を受賞した。

A β は、その前駆体 APP から β -セクレターゼと γ -セクレターゼによる2段階のプロセッシングを受け、生理的な状態でも産生されている(図1A)。また主な A β として、40 アミノ酸からなる A β 40 と、さらに疎水性アミノ酸が2残基多く A β 40 よりもはるかに神経毒性が高い A β 42 の2種類が存在することが知られている¹⁾。このため AD 研究は、この2種類の A β を中心に展開されてきた。しかし、A β 40 や A β 42 だけを標的とした治療法では、AD の進行を食い止めることが難しいのが現状である。一方で、A β の産生機構が明らかになりつつあり^{2,3)}、A β 42 よりも C 末端のアミノ酸残基が長い“longer A β ”種 (A β 43~A β 49) が見いだされている^{4~9)}(図1B)。しかし、longer A β 種の病理学的役割は全く明らかとなっていない。なぜなら、longer A β は、 γ -セクレターゼの作用により A β 40 や A β 42

が産生される際の中間体として細胞膜に留まっていると考えられること、また longer A β 種は、疎水性が強いいため各 A β 種の検出が困難であったことも一因と考えられる。我々は、A β 43 が可溶性画分に分泌されていることを見いだし、A β 43 に特異的な抗体を用いて、AD 病理切片を用いた解析を行った。その結果、A β 43 は、A β 40 よりも高頻度で老人斑として蓄積していることを明らかにした¹⁰⁾(図2)。

3. γ -セクレターゼ/プレセニリン1変異と A β 43 産生マウスの作製

A β 配列の C 末端の長さを規定しているのが γ -セクレターゼ複合体であり、その主要構成成分であるプレセニリン-1 (PS1) に、家族性 AD 変異の多くが見いだされてい

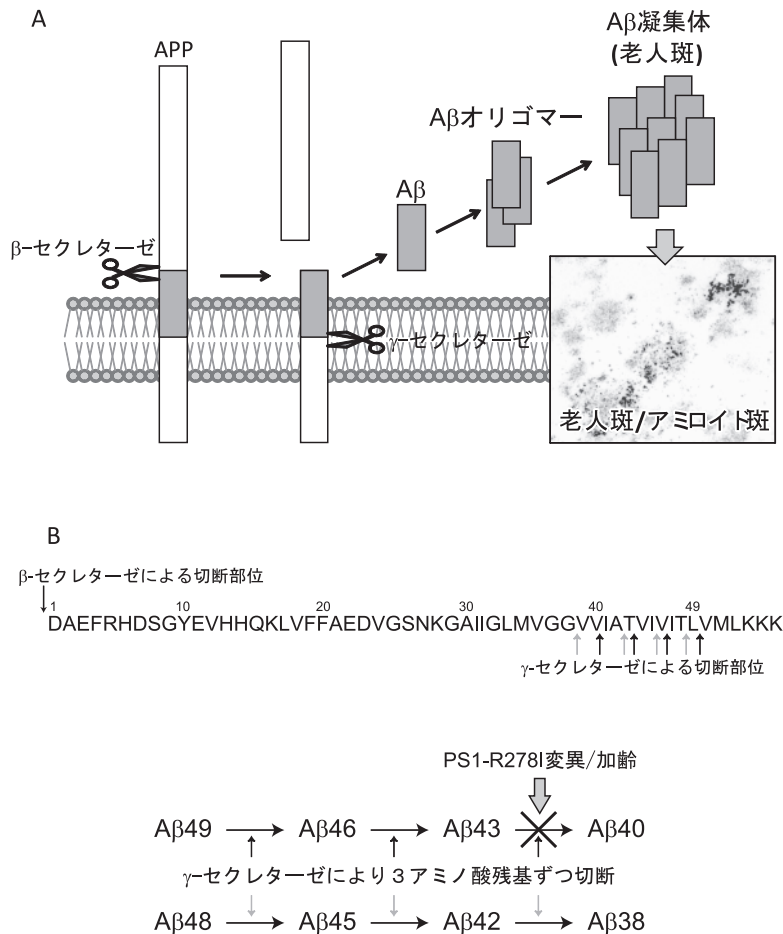


図1 A β 産生機構

(A) A β は、最初に β -セクレターゼ、次いで γ -セクレターゼの作用によりアミロイド前駆体タンパク質 (APP) から切断され細胞外へ分泌され、最終的に A β 凝集体として老人斑 (アミロイド斑) の形成に至る。(B) A β のアミノ酸配列とプロセッシング部位。A β は、3 残基セオリーに則り産生されていると考えられ、longer A β 種として A β 43~A β 49 の存在が見いだされている。PS1-R278I 変異や加齢の影響により A β 43 から A β 40 へのプロセッシングが抑制されている可能性が示された。

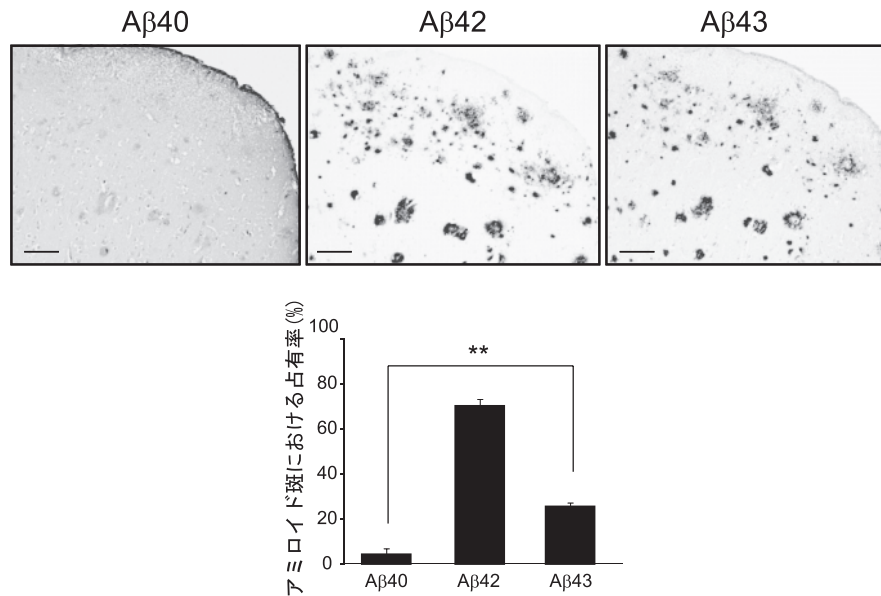


図2 AD 剖検脳のアミロイド斑

AD 患者の剖検脳の連続切片に対して、各 Aβ に特異的な抗体を用いて免疫染色を行った。画像解析の結果、Aβ43 は、Aβ40 よりも有意に高い頻度で蓄積していることが明らかとなった (**P<0.01, One-way ANOVA, Scheffe's F 検定)。スケールバー：100 μm。

る。家族性 PS1 変異の大部分は、Aβ42 の産生量もしくは Aβ40 に対する Aβ42 の存在比 (Aβ42/Aβ40) を増加させる性質があるとして捉えられていたが、中矢らにより、PS1-R278I 変異に Aβ43 産生能があることが報告された¹¹⁾。そこで我々は、AD における Aβ43 の病理学的な役割を *in vivo* で検証するために、Aβ43 産生能をもつマウス：PS1-R278I ノックインマウス (KI) の作製を行った。PS1 遺伝子への点変異の導入を定法に従って行い、当該マウスの作出に成功した。しかし想定外なことに、PS1-R278I KI のホモ接合体 (R278I/R278I) は、胎生致死を示した (図 3A)。この表現型は、脳内出血、四肢形成不全、短尾など PS1 ノックアウトマウス (KO) や Notch1 変異関連マウスと酷似していた^{12,13)}。また、PS1-R278I KI ホモ接合体の胎生致死は、PS1-KO 同様に Notch1 のプロセッシング不全であることも示唆された (図 3B)。PS1-R278I KI ホモ接合体の成体マウスが使用できないため、若齢 (3 ヶ月齢) の PS1-R278I KI ヘテロ接合体 (R278I/wt) での脳内 Aβ の定量を行ったところ、Aβ40 の有意な低下は認められたものの Aβ43 の検出には至らなかった (図 3C)。一方、老齢 (24 ヶ月齢) の PS1-R278I KI ヘテロ接合体では、Aβ43 が検出されたものの、老齢野生型マウスでも Aβ43 を検出することができた (図 3D)。この結果から、Aβ43 は加齢により産生されることが示唆されたが、Aβ43 の *in vivo* での役割を解析するという当初の目的はいきなり座礁に乗り上げた。

4. Aβ 産生の 3 残基セオリーと PS1-R278I 変異

Aβ の産生において、Aβ の C 末端を規定する γ-セクレターゼの作用機序が徐々に明らかとなっている。特に 3 残基セオリーは、緻密な解析から支持される有力な機序であると考えられる³⁾。このセオリーでは、Aβ40 は、Aβ49 から Aβ46、Aβ43 を経て産生され、Aβ38 は、Aβ48 から Aβ45、Aβ42 を経て産生される (図 1B)。このように、各 Aβ 種は、γ-セクレターゼの作用により 3 アミノ酸残基ずつプロセッシングを受けて産生されていると考えられる。ではなぜ、PS1-R278I KI ヘテロ接合体では、Aβ43 量が増加しないのだろうか？ この疑問を解決するために、PS1-R278I KI からマウス胎仔線維芽細胞 (MEF) の単離を行い、*in vitro* での解析を行った。PS1-R278I KI 由来 MEF 培養上清中の Aβ 濃度を測定した結果、*in vivo* 同様にヘテロ接合体由来 (R278I/wt) では、Aβ43 は検出できなかったが、ホモ接合体由来 (R278I/R278I) では高濃度の Aβ43 を検出し、逆に Aβ40 の有意な低下を認めた (図 4A)。さらに PS1-R278I と PS1-KO マウスを交配させた産仔 (R278I/KO) 由来の MEF においても Aβ43 を検出することができた。すなわち、R278I/wt では野生型 PS1 が残存しているため、その活性で Aβ43 から Aβ40 へプロセッシングが進むのだらうと推察された。また、PS1-R278I 変異は、Aβ42 の産生には影響を与えていないことから、PS1-R278I 変異が、Aβ43 から Aβ40 への部分的なプロセッシング阻害を引き起こしていると考えられた。そのため、Aβ40 へのプロセッシングが進まずに、Aβ43 が分泌・蓄

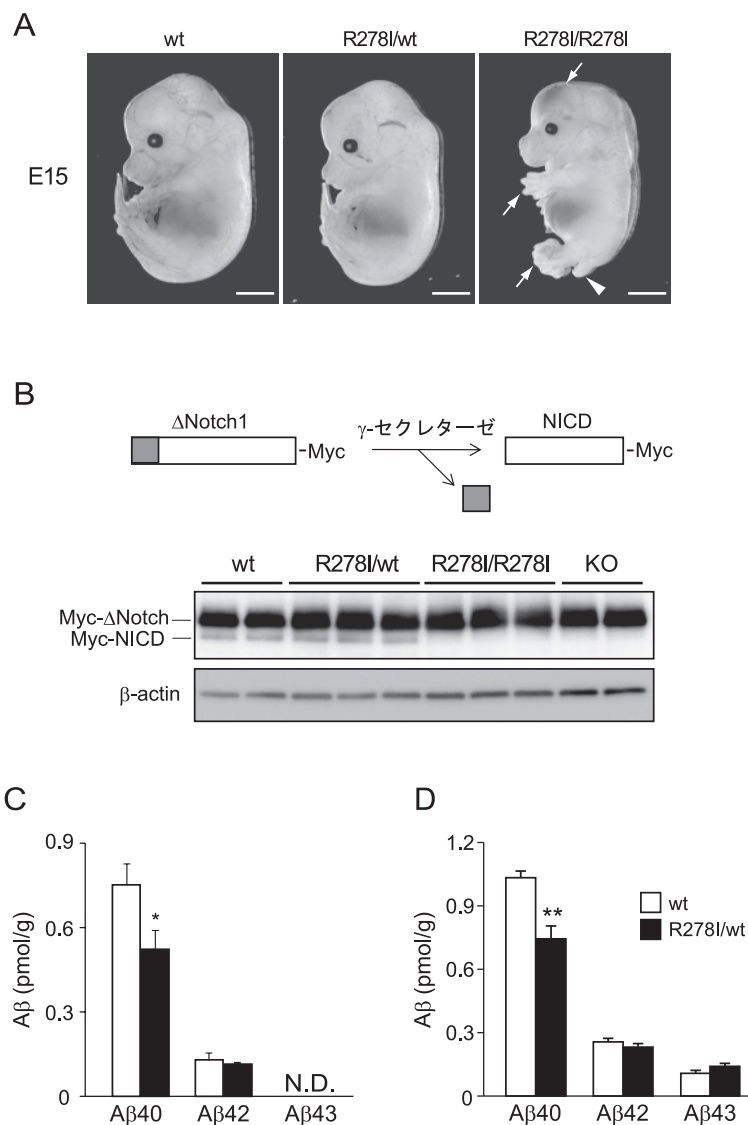


図3 PS1-R278I KIマウスの作製とその表現型

(A) PS1-R278I KIのホモ接合体 (R278I/R278I) は、胎生 E15 頃胎生致死を示した。その表現型は矢印で示した部位のように、脳内出血、四肢形成不全、短尾などを呈していた。スケールバー：2 mm。(B) Notch1 切断に対する PS1-R278I 変異の影響について検討を行った。PS1-R278I KI および PS1-KO から MEF を単離・培養し、 Δ Notch1 コンストラクトを発現させた。R278I/R278I および PS1-KO では、Notch1 細胞内ドメイン (NICD) の産生が阻害されていた。(C, D) PS1-R278I KI ヘテロ接合体 (PS1-R278I/wt) の脳内 A β レベルの定量を行った。(C) 若齢 (3 ヶ月齢) では野生型に対し有意な A β 40 の減少を示したが、A β 43 は検出できなかった (* P < 0.05, Student-t 検定)。一方、(D) 老齢 (24 ヶ月齢) では、A β 43 が検出できたが、野生型でも検出可能であった。また、若齢同様に野生型に対し有意な A β 40 の減少を示した (** P < 0.01, Student-t 検定)。

積されることになる。これらの結果から、A β 産生機構について一つの仮説が考えられた。図 4B に示すように、PS1-R278I KI のヘテロ接合体では、A β 43 に留まらず A β 40 までプロセッシングが進んでいることから、野生型 PS1 と PS1-R278I との分子間で基質となる A β 43 が受け渡

され、野生型 PS1 により A β 40 へとプロセッシングされている可能性が高い。すなわち、A β 産生機構には、PS1 分子間で基質を受け渡ししながら、3 アミノ酸残基ずつプロセッシングを行うような機構が存在するのではないかと推察された。

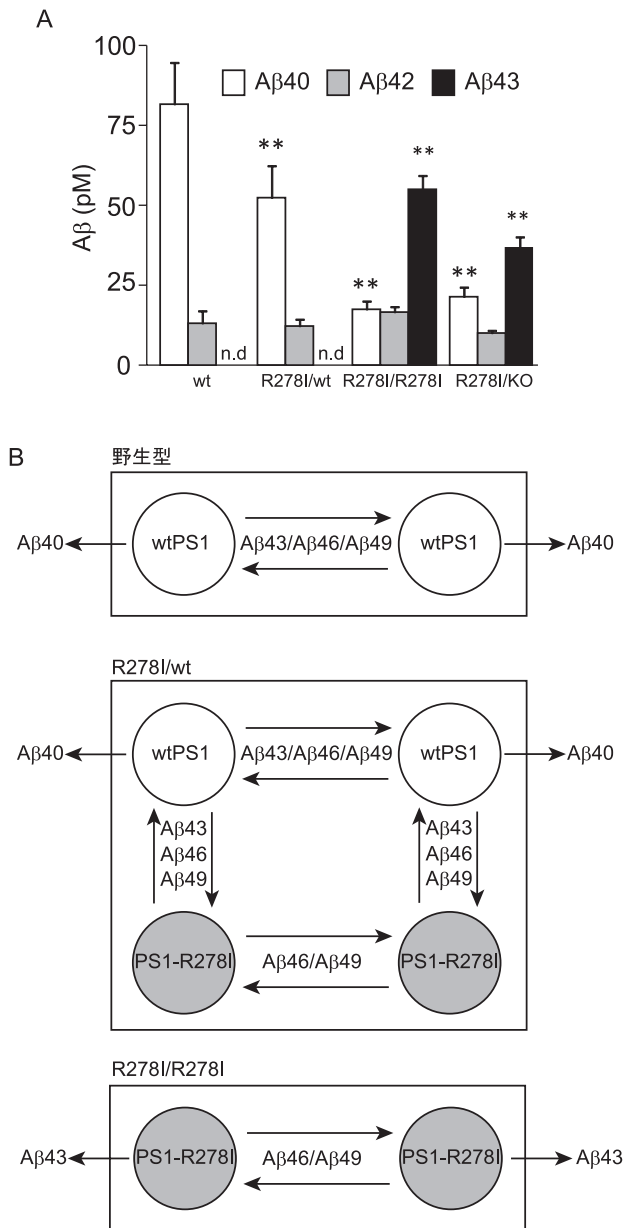


図4 PS1-R278IによるAβ産生機構
(A) PS1-R278I KIおよびPS1-R278I×PS1-KOからMEFを単離・培養し、その培養上清中のAβレベルを定量した。PS1-R278I KI (R278I/R278I) およびPS1-R278I KI×PS1-KOの交配系統(R278I/KO)では、野生型に対して、有意に高いAβ43の産生が認められた (**P<0.01, One-way ANOVA, Scheffe's F検定)。
(B) PS1-R278I変異の効果から推察されるAβ産生機構の仮説。

5. PS1-R278I変異によるアミロイド病理形成の加速

PS1-R278I KIヘテロ接合体由来MEFにAPPを強制発現させた結果、その培養上清中にAβ43が検出されることが確認された。そこで、PS1-R278Iヘテロ接合体を用いて *in vivo* でAβ43産生が認められることを期待してADモデル

マウスの一つAPPトランスジェニックマウス (APP Tg) との交配を行った¹⁴⁾。APP Tg×PS1-R278I KIマウスは、6ヶ月齢からアミロイド斑の蓄積を示し、加齢依存的な蓄積の増加を呈した。一方、APP Tg単独では、9ヶ月齢でもまだアミロイド斑の蓄積は認められなかった(図5A, B)。すなわち、PS1-R278I KIと交配することでAPP Tgのアミロイド斑の形成が加速したのである。これらマウスの脳内Aβ量を測定した結果、APP Tg×PS1-R278I KIではAPP Tgと比較して、3ヶ月齢からAβ43が有意に増加しており、アミロイド斑の出現以前から高いレベルを示していた(図5B, C)。一方、Aβ40, Aβ42の量には有意差は認められなかった。更に、APP Tg×PS1-R278I KIは、3~4ヶ月齢で行動学的な異常を呈した(図5D)。これらの結果から、PS1-R278I変異は、APP Tg脳内でAβ43産生を高め、高次機能に影響を与え、アミロイド斑の形成を促進させると考えられる。

6. Aβ43の毒性と凝集性

これまでのAD研究では、Aβ42が高い凝集性と神経毒性を示す毒性主体だと考えられてきた¹⁾。そこで、Aβ43の神経毒性および凝集性について他のAβとの比較検討を行った。初代培養神経細胞を単離して、各Aβを1~10 μMで添加した結果、Aβ43が濃度依存的に、Aβ42よりも有意に高い細胞毒性を示した(図6A)。また、チオフラビンTの取込を指標とした凝集実験においても、Aβ43が最も高い凝集性を示し(図6B)、Aβ43が少量でも存在すれば、Aβ凝集を加速することも明らかとなった(図6C)。この凝集性の高さは、APP Tg×PS1-R278I KIマウス脳内において、Aβ43がアミロイド斑の凝集核を形成していることから支持され(図6D)、更にAD患者脳においても同様にAβ43がアミロイド斑の凝集核を形成していることが明らかとなった(図6E)。以上の結果を受け、再度APP Tgマウス単独でのAβ43の存在について再確認したところ、APP Tgマウス脳でアミロイド斑が出現する12ヶ月齢に先行して、9ヶ月齢頃からAβ43レベルが加齢依存的に増加していたことが明らかとなった(図7)。すなわち、Aβ43は、これまでのAD研究では見過ごされていた毒性因子であり、Aβ43レベルの増加が記憶学習能に影響を及ぼし、アミロイド斑の形成を促進させるという、AD病理形成に極めて重要な役割を担った因子であると言える。AD患者の剖検脳では、Aβ42の存在量がAβ43よりも多いため(図2)、Aβ43の毒性が見過ごされてきたが、今後は、Aβ43も治療のための標的にする必要があるだろう。例えば、Aβ43を標的とした抗体療法や¹⁵⁾、Aβ43からAβ40へのプロセッシングを亢進させる方法も一案かもしれない¹⁶⁾。

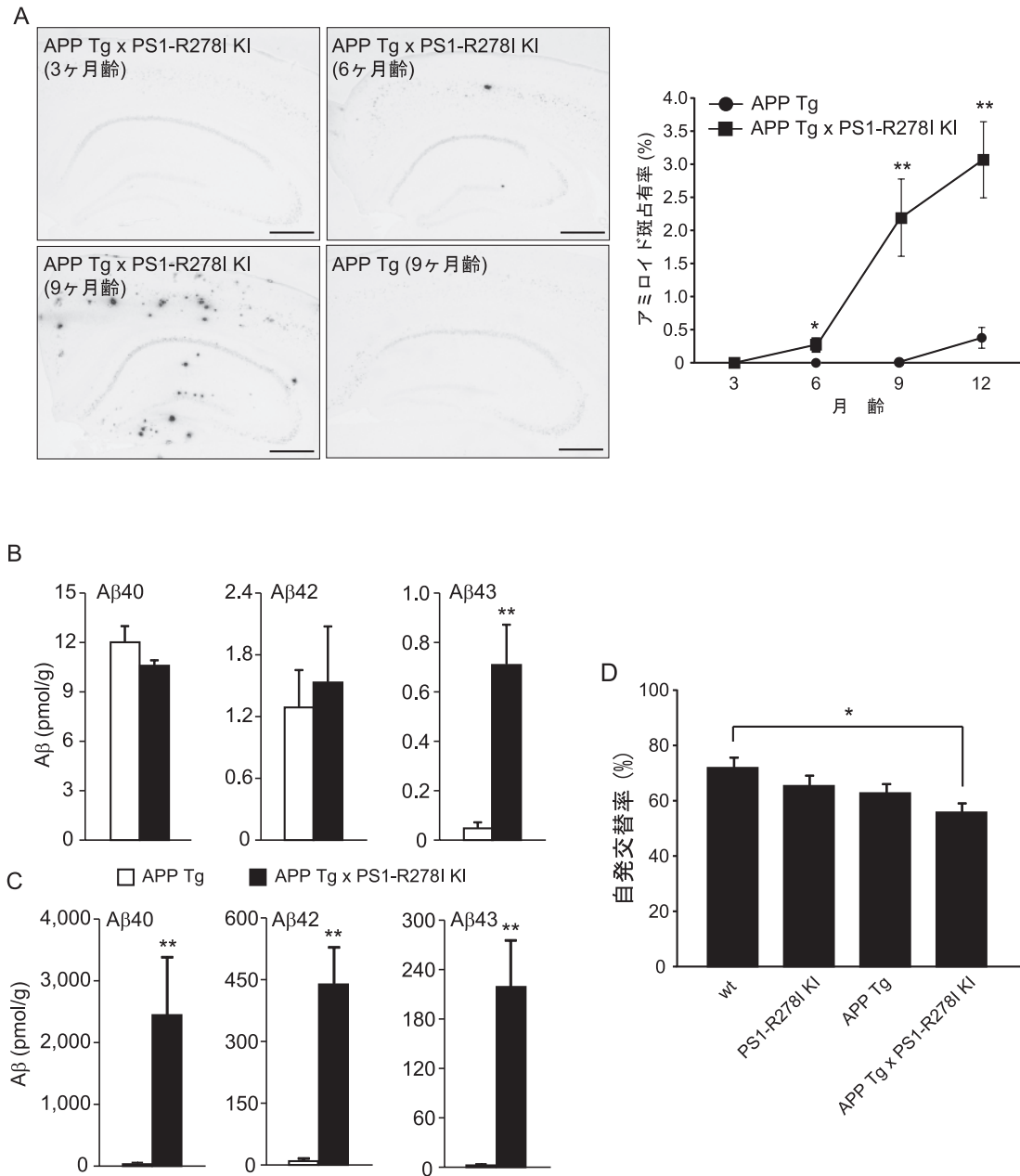


図5 APP Tg における PS1-R278I 変異の効果

(A) 各月齢のマウス脳切片に対し、抗 Aβ 抗体を用いて免疫染色を行い画像解析を行った。APP Tg×PS1-R278I KI は、APP Tg に対してアミロイド斑の蓄積が各月齢で増加していた。スケールバー：500 μm。

(B, C) APP Tg および APP Tg×PS1-R278I KI 脳内の Aβ レベルの定量を行った (**P<0.01, Student-t 検定)。APP Tg×PS1-R278I KI の 3 ヶ月齢ではアミロイド斑の蓄積は認められていないが、Aβ43 は APP Tg に対して有意に高い値を示していた (B)。APP Tg×PS1-R278I KI の 9 ヶ月齢では、APP Tg に対して有意なアミロイド斑の形成が認められており、APP Tg に対して、各 Aβ 全てが有意に高い値を示した (C)。

(D) Y 迷路テストによる行動学的解析を行った。3~4 ヶ月齢の各マウスではまだアミロイド斑の形成に先行して、APP Tg×PS1-R278I KI のみが、野生型に対して有意な記憶学習能の低下を示した (*P<0.05, One-way ANOVA, Scheffe's F 検定)。

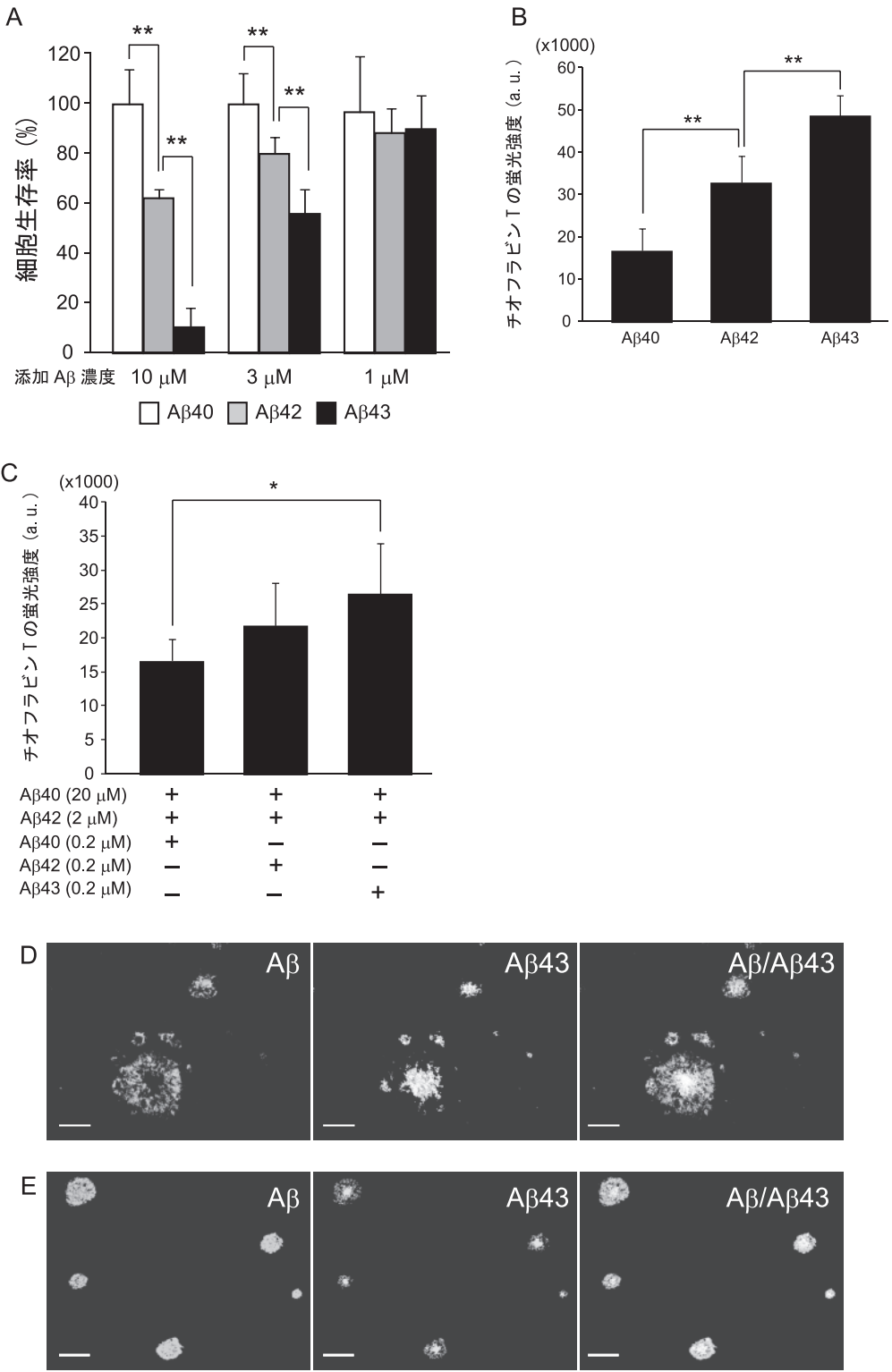


図6 Aβ43の神経毒性と凝集性
(A) 初代培養神経細胞に対して、1~10 μMの各Aβを添加し、48時間後の細胞生存率を測定した。Aβ43は、濃度依存的にAβ42よりも有意に高い神経毒性を示した (**P<0.01, One-way ANOVA, Scheffe's F検定)。(B) Aβの凝集性をチオフラビンTの取込により測定した。各Aβ (20 μM) を24時間37℃でインキュベートした結果、Aβ43が最も高い凝集性を示した (**P<0.01, One-way ANOVA, Scheffe's F検定)。(C) Aβ40およびAβ42をそれぞれ20 μM、2 μMで準備し、そこへさらに1/10低濃度の各Aβを添加し、24時間37℃でインキュベート後、チオフラビンTの取込を測定した。0.2 μMのAβ43が最も高いAβの凝集能を示した (*P<0.05, One-way ANOVA, Scheffe's F検定)。(D) APP Tg×PS1-R278I KIの9ヶ月齢の脳切片を用いて抗Aβ抗体とAβ43特異的の抗体とで二重染色を行った。アミロイド斑の凝集核にAβ43が局在していた。スケールバー：50 μm。(E) AD患者の剖検脳の切片を用いて抗Aβ抗体とAβ43特異的の抗体とで二重染色を行った。APP Tg×PS1-R278I KI同様に、AD患者においてもAβ43がアミロイド斑の凝集核に局在していることを示した。スケールバー：25 μm。

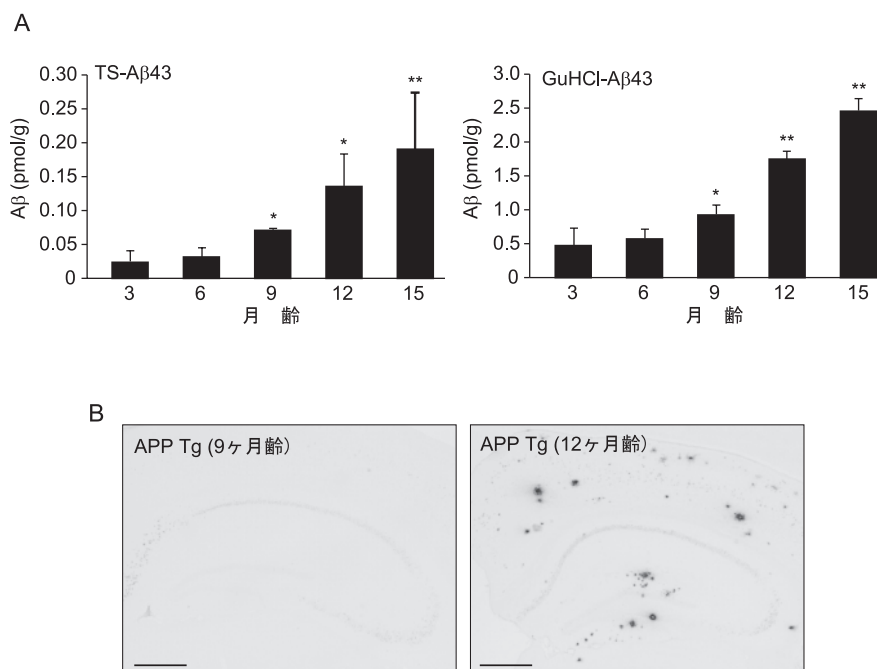


図7 APP Tg 単独における Aβ43

(A) 各月齢の APP Tg の脳内 Aβ43 レベルの定量を行った。可溶性画分 (TS) およびグアニジン塩酸抽出画分 (GuHCl) とともに、9 ヶ月齢頃から加齢依存的な Aβ43 の増加を示していた。(B) APP Tg の 9 および 12 ヶ月齢の脳切片を用いて抗 Aβ 抗体で免疫染色を行った。アミロイド斑は、12 ヶ月齢頃から出現しており、Aβ43 はそれに先行して 9 ヶ月齢頃から増加していた。すなわち、アミロイド斑の形成に先行して Aβ43 の増加が始まっていた。

7. Aβ43 を指標とした AD 診断の可能性

これまで見いだされている PS1 の家族性 AD 変異は、Aβ42 の存在量・比を増加させると考えられてきたが¹⁷⁾、Aβ43 への存在量・比への影響についても再確認を行った。家族性 AD 変異として見つかった種々の PS1 変異のベクターを細胞に発現させ、その培養上清中の Aβ43 濃度の測定を行ったところ、PS1-R278I 変異以外の PS1 変異でも、Aβ42 に加えて Aβ43 の産生能が高まる変異が存在していた (図 8A, C)。また、それら変異による家族性 AD の発症年齢と Aβ43 濃度をプロットしたところ、Aβ42 同様に、発症年齢が早い変異ほど Aβ43 産生能が高いという相関が認められた (図 8B, D)。出生時から生理的に産生される Aβ40 や Aβ42 とは異なり、Aβ43 は加齢依存的に産生されることから (図 3C, D および図 7)、Aβ43 が有用な加齢マーカー、AD 診断マーカーになる可能性が示された。実際、AD 患者の血液中の Aβ43 比率が増加傾向にあることも明らかとなっている¹⁸⁾。今後、Aβ43 の高感度検出法の確立とヒトサンプル (血液サンプルや脳脊髄液等) を用いた評価を行う必要があるだろう。

8. お わ り に

先進国の中でも特に日本は、少子高齢化の進行が突出しており、今後急速に社会・経済の疲弊をもたらすと警鐘が鳴らされている。逆に言えば、いかにこの局面を乗り切ることが世界のモデルケースとして注目を受けている。そんな超高齢化社会における負のスパイラルを断ち切るために必要な要素はいくつか挙げられるだろうが、いかに認知症を克服するかは、我々が取り組める最大の課題の一つである。アルツハイマー病の根本に近づき、予防・治療を行えるようにする、もしくは発症を数年でも遅延させることができれば健やかに長寿を全うするという人類最大の望みに貢献するだけでなく、その社会保障を賄う大きな経済効果をもたらすことは自明の理である。さらに、介護が不要になることで、介護に携わっていた患者の家族の社会貢献度の回復をもたらす、また認知症から回復した人自身の社会貢献への復帰も見込まれるなど、正のスパイラルへの変遷を誘導できることは間違いない。

謝辞

本稿で紹介した筆者の研究は、理化学研究所・脳科学総合研究センター・神経蛋白質制御研究チームで行われたもの

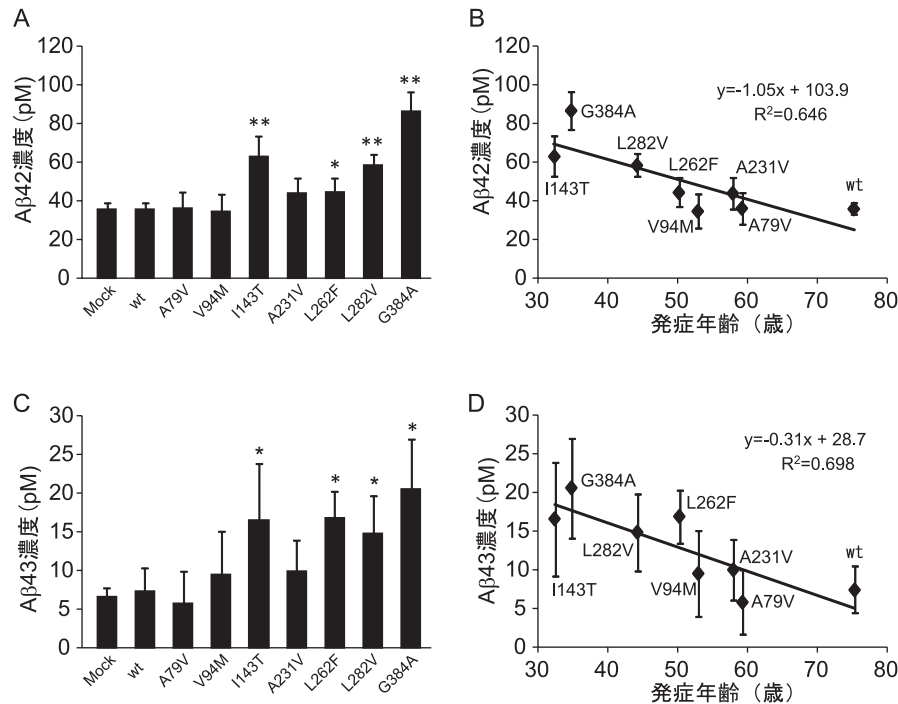


図8 家族性ADの発症年齢とAβ43産生能

PS1の家族性変異を組み込んだ各ベクターを培養細胞へ発現させ、その培養上清中のAβ濃度を測定した(A, C)。そのAβ濃度とAD発症年齢をプロットした(B, D)。その結果、Aβ42産生量・比を増加させることが知られていた家族性PS1変異でもAβ43産生能を有しており、Aβ43産生能が高い家系ほど早い発症年齢を示すという高い相関関係が認められた。

で、本研究に一貫してご指導を賜りました西道隆臣シニアチームリーダーに心より感謝申し上げます。また、共同研究および試薬等の提供を行っていただいた、同志社大学の井原康夫先生、舟本聡先生、滋賀医科大学の西村正樹先生、長寿医療研究センターの高島昭彦先生、ベルギーアントワープ大学のChristine Van Broeckhoven先生、ペンシルバニア大学のJohn Q. Trojanowski先生、Virginia M.-Y. Lee先生、University College LondonのMartin N. Rossor先生、ワシントン大学のRaphael Kopan先生に厚く御礼申し上げます。最後に、本研究は、三平尚美氏、松葉由紀夫氏をはじめ、当研究室の皆様を支えられて進めることができました。この場を借りて深く感謝致します。

文 献

- 1) Blennow, K., de Leon, M.J., & Zetterberg, H. (2006) *Lancet*, 368, 387–403.
- 2) Qi-Takahara, Y., Morishima-Kawashima, M., Tanimura, Y., Dolios, G., Hirokoshi, N., Horikoshi, Y., Kametani, F., Maeda, M., Saido, T.C., Wang, R., & Ihara, Y. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 436–445.
- 3) Takami, M., Nagashima, Y., Sano, Y., Ishihara, S., Morishima-Kawashima, M., Funamoto, S., & Ihara, Y. (2009) *J. Neurosci.*, 29, 13042–13052.
- 4) Miravalle, L., Calero, M., Takao, M., Roher, A.E., Ghetti, B., & Vidal, R. (2005) *Biochemistry*, 44, 10810–10821.
- 5) Van Vickle, G.D., Esh, C.L., Kalback, W.M., Patton, R.L., Luehrs, D.C., Kokjohn, T.A., Fifield, F.G., Fraser, P.E., Westaway, D., McLaurin, J., Lopez, J., Brune, D., Newell, A.J., Poston, M., Beach, T.G., & Rphar, A.E. (2007) *Biochemistry*, 46, 10317–10327.
- 6) Iizuka, T., Shoji, M., Harigaya, Y., Kawarabayashi, T., Watanabe, M., Kanai, M., & Hirai, S. (1995) *Brain Res.*, 702, 275–278.
- 7) Parvathy, S., Davies, P., Haroutunian, V., Purohit, D.P., Mohs, R.C., Park, H., Moran, T.M., Chan, J.Y., & Buxbaum, J.D. (2001) *Arch. Neurol.*, 58, 2025–2032.
- 8) Welander, H., Franberg, J., Graff, C., Sundstrom, E., Winblad, B., & Tjernberg, L.O. (2009) *J. Neurochem.*, 110, 697–706.
- 9) Keller, L., Welander, H., Chiang, H.H., Tjernberg, L.O., Nennesmo, I., Wallin, A.K., & Graff, C. (2010) *Euro. J. Hum. Genet.*, 18, 1202–1208.
- 10) Saito, T., Suemoto, T., Brouwers, N., Slegers, K., Funamoto, S., Mihira, N., Matsuba, Y., Yamada, K., Nilsson, P., Takano, J., Nishimura, M., Iwata, N., Van Broeckhoven, C., Ihara, Y., & Saido, T.C. (2011) *Nat. Neurosci.*, 14, 1023–1032.
- 11) Nakaya, Y., Yamane, T., Shiraishi, H., Wang, H.Q., Matsubara, E., Sato, T., Dolios, G., Wang, R., De Strooper, B., Shoji, M., Komano, H., Yanagisawa, K., Ihara, Y., Fraser, P., St George-Hyslop, P., & Nishimura, M. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 19070–19077.
- 12) Shen, J., Bronson, R.T., Chen, D.F., Xia, W., Selkoe, D.J., & Tonegawa, S. (1997) *Cell*, 89, 629–639.

- 13) Wong, P.C., Zheng, H., Chen, H., Becher, M.W., Sirinathsinghji, D.J., Trumbauer, M.E., Chen, H.Y., Price, D.L., Van der Ploeg, L.H., & Sisodia, S. (1997) *Nature*, **387**, 288–292.
 - 14) Sturchler-Pierrat, C., Abramowski, D., Duke, M., Wiederhold, K.H., Mistl, C., Rothacher, S., Ledermann, B., Burki, K., Frey, P., Paganetti, P.A., Waridel, C., Calhoun, M.E., Jucker, M., Probst, A., Staufenbiel, M., & Sommer, B. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 13287–13292.
 - 15) Mouri, A., Noda, Y., Hara, H., Mizoguchi, H., Tabira, T., & Nabeshima, T. (2007) *FASEB J.*, **21**, 2135–2148.
 - 16) Zou, K., Liu, J., Watanabe, A., Hiraga, S., Liu, S., Tanabe, C., Maeda, T., Terayama, Y., Takahashi, S., Michikawa, M., & Komano, H. (2013) *Am. J. Pathol.*, in press.
 - 17) Kumar-Singh, S., Theuns, J., Van Broeck, B., Pirici, D., Vennekens, K., Corsmit, E., Cruts, M., Dermaut, B., Wang, R., Van Broeckhoven, C. (2006) *Human Mutation*, **27**, 686–695.
 - 18) Zou, K., Liu, S., Liu, J., Tanabe, C., Maeda, T., Terayama, Y., Takahashi, S., & Komano, H. (2011) *Trans. Medic.*, **1**, 103.
-