

2

Cascade amyloïde

Ce n'est que récemment que la biologie moléculaire a permis d'obtenir des avancées significatives dans la compréhension des mécanismes sous-tendant les processus de formation des lésions de la maladie d'Alzheimer. Ainsi, la description de la nature du composant majeur des plaques séniles, ces agrégats protéiques qui s'accumulent au cours de la maladie, ne date que de 1984 avec l'avènement du maintenant célèbre peptide amyloïde (peptide A β) (Glennner et Wong, 1984a et b ; Masters et coll., 1985). C'est trois ans plus tard que le précurseur de ce peptide, la β APP (*β -Amyloid Precursor Protein*), a été cloné (Goldgaber et coll., 1987 ; Kang et coll., 1987 ; Tanzi et coll., 1987). Par la suite, il est apparu que certaines formes agressives et à début précoce de maladie d'Alzheimer étaient d'origine génétique et on a identifié les loci des gènes impliqués sur les chromosomes 21, 14 et 1 (pour revues voir : Tanzi et coll., 1991 ; Mullan et Crawford, 1993 ; Schellenberg, 1995). La biologie moléculaire a permis d'identifier les protéines responsables de ces formes précoces ; la β APP et les présénilines 1 et 2 (Levy-Lahad et coll., 1995 ; Rogaeve et coll., 1995 ; Sherrington et coll., 1995 ; *Alzheimer's Disease Collaborative Group*, 1996). Ces découvertes récentes, combinées à l'analyse des phénotypes cellulaires associés aux mutations, ont permis des avancées majeures. Ainsi, il a été établi que l'expression de la β APP ou des présénilines mutées dans des cellules en culture conduit toujours à une modulation de la production du peptide A β . Le fait que des mutations distinctes, portant sur les gènes de protéines différentes et responsables de formes agressives de maladie d'Alzheimer, aient pour dénominateur commun une modulation de la production du peptide A β est un argument majeur en faveur de l'hypothèse de la cascade amyloïde qui prédit que l'accumulation de fibrilles amyloïdes conduit, selon une séquence d'événements encore discutée, à la démence caractérisant le tableau clinique terminal des malades (figure 2.1). On peut donc considérer que, même si la surproduction de peptide amyloïde n'est pas *stricto sensu* le premier déterminant étiologique de la maladie, elle y contribue en tous cas de manière certaine. Ce bilan des connaissances concernera les données récentes sur la maturation physiopathologique de la β APP et détaillera les avancées concernant les mécanismes de production et de dégradation du peptide A β .

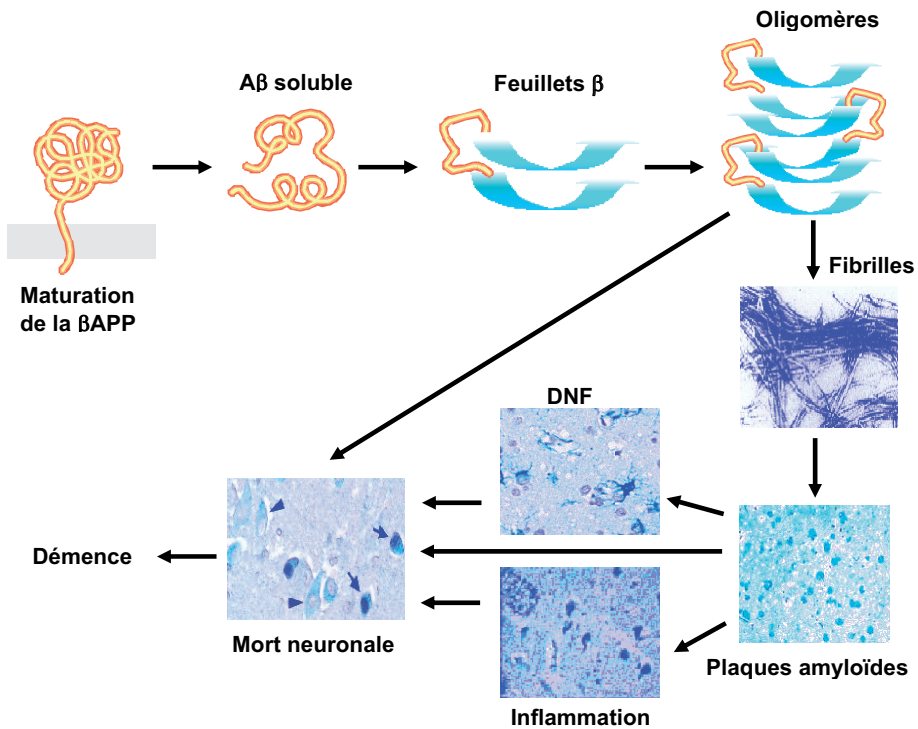


Figure 2.1 : Hypothèse de la cascade amyloïde

DNF : dégénérescence neurofibrillaire

Maturation physiopathologique du précurseur du peptide amyloïde

Le précurseur du peptide β -amyloïde (β APP) est une protéine transmembranaire de 695 à 770 acides aminés. Le peptide $A\beta$ résulte de l'action combinée de deux activités protéolytiques distinctes, la β -sécrétase et la γ -sécrétase, qui libèrent respectivement les extrémités N- et C-terminales du peptide (figure 2.2). C'est la voie dite « amyloïdogénique » de maturation de la β APP (Checler, 1995). Il faut signaler ici un aspect important de ce métabolisme : la coupure par la γ -sécrétase conditionne la nature de l'extrémité C-terminale du peptide $A\beta$ qui peut être de 40 ($A\beta_{40}$) ou de 42 ($A\beta_{42}$) acides aminés. Ceci n'est pas anodin puisque les formes de 42 acides aminés s'agrègent plus facilement (Burdick et coll., 1997) et sont généralement augmentées de manière sélective dans la maladie (pour revue voir : Selkoe, 2001). Récemment, une coupure additionnelle a été décrite (coupure ϵ) qui intervient en aval du site de la γ -sécrétase (Passer et coll., 2000 ; Gu et coll., 2001 ; Sastre et coll., 2001 ; Weidemann et coll., 2002) et libère un fragment

(ICD ou AICD pour β APP *IntraCellular Domain*) qui jouerait le rôle d'un facteur de transcription (Cao et Südhof, 2001 ; Baek et coll., 2002 ; Pardossi-Piquard et coll., 2005 ; Alves da Costa et coll., 2006). D'autre part, une coupure alternative intervient au milieu de la séquence A β par une activité α -sécrétase (figure 2.2) qui est responsable de la voie de maturation dite « non amyloïdogénique » (Checler, 1995). Non seulement cette coupure prévient la production de peptide A β mais aussi libère un fragment sécrété appelé sAPP α qui est trophique et neuroprotecteur (pour revue voir : Mattson, 1997).

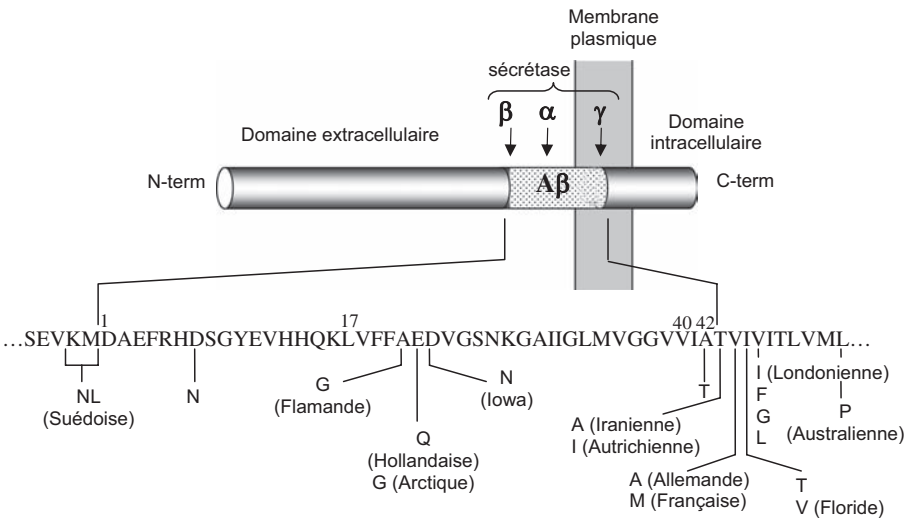


Figure 2.2 : Maturation physiopathologique de la β APP et mutations responsables de certaines formes familiales de maladie d'Alzheimer

Maturation amyloïdogénique

En préalable, il convient de souligner que la voie amyloïdogénique conduit à la production de peptide A β mais n'a pas de connotation pathogène systématique puisque le peptide peut ne pas s'agréger sous forme amyloïde. En effet, il est maintenant établi que le peptide A β est un produit de maturation physiologique de la β APP (Haass et coll., 1992 ; Shoji et coll., 1992 ; Busciglio et coll., 1993). C'est la dérégulation de cette production, conduisant soit à une exacerbation de la production de peptide A β , soit à la production de catabolites toxiques qui est associée à la pathologie. Mieux comprendre les dérèglements qui font évoluer la cellule d'une situation physiologique vers une situation pathologique constitue donc un des principaux challenges de la recherche actuelle sur la maladie d'Alzheimer. Comme indiqué ci-dessus,

certaines mutations de la β APP (figure 2.2) peuvent rendre compte dans quelques cas rares de cette perturbation physiologique et de ses conséquences. Bien d'autres facteurs peuvent affecter cette production comme le montre la figure 2.3. Un autre challenge a consisté à identifier et caractériser les enzymes « pathogènes » c'est-à-dire les β - et γ -sécrétases ainsi que l'enzyme « bénéfique », l' α -sécrétase. De plus, de nombreuses études ont cherché à mieux cerner les processus par lesquels le peptide A β est dégradé par la cellule.

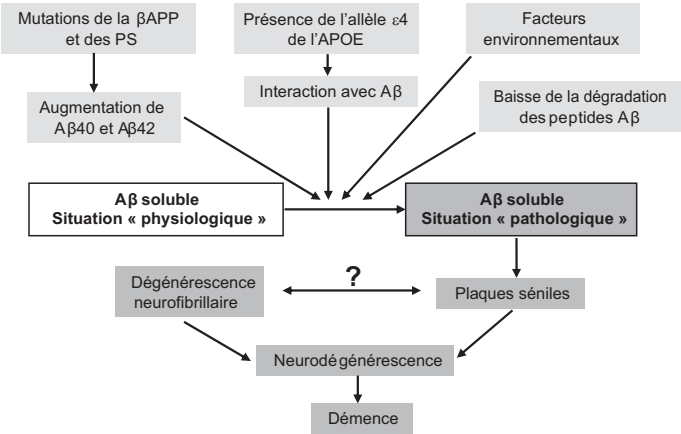


Figure 2.3 : Quelques facteurs affectant la production physiologique de peptide A β

PS : préséniline

β -sécrétase

La β -sécrétase est l'enzyme qui libère l'extrémité N-terminale du peptide amyloïde. La nature de cette enzyme est maintenant consensuelle. Il s'agit d'une protéase acide purifiée et caractérisée simultanément par 5 laboratoires, appelée BACE1 (β APP *Cleaving Enzyme* 1) ou memapsin 2 (Hussain et coll., 1999 ; Sinha et coll., 1999 ; Yan et coll., 1999 ; Lin et coll., 2000 ; Vassar, 2001). BACE1 présente un homologue appelé BACE2 qui semble peu abondant au niveau cérébral et qui ne contribue pas ou peu à la production de peptide A β . En effet, l'inactivation du gène codant pour BACE1 seul suffit à bloquer presque totalement la production de peptide A β (Cai et coll., 2001 ; Luo et coll., 2001). De manière intéressante, les souris invalidées pour BACE1 sont viables et fertiles (Luo et coll., 2001 ; Roberds et coll., 2001). Cette observation importante indique que BACE1 assure une activité enzymatique (qu'elle soit ou non confinée au clivage de l'APP), qui n'a pas de rôle majeur dans des fonctions vitales et de reproduction chez l'animal ou que ces fonctions peuvent être

assurées, chez l'animal *knock-out*, par d'autres enzymes. Des résultats récents indiquent que la β APP n'est pas le seul substrat de BACE1 qui peut notamment hydrolyser l' α 2,6-sialyltransférase, *in vitro* et *in vivo* (Kitazume et coll., 2003 et 2005) ainsi que la neureguline (Willem et coll., 2006). L'ensemble de ces résultats semble indiquer qu'une stratégie thérapeutique visant à bloquer la β -sécrétase ne se heurte pas, a priori, à des effets indésirables insurmontables qui seraient directement liés à l'inhibition de l'enzyme.

γ -sécrétase

La γ -sécrétase est l'enzyme qui libère l'extrémité C-terminale des peptides amyloïdes, engendrant les couples $A\beta_{40}/AICDC59$ et $A\beta_{42}/AICDC57$ (figure 2.4). La simple observation de la topologie de ces hydrolyses montre que la γ -sécrétase est une protéase atypique puisqu'elle clive la β APP au niveau de son insertion dans la membrane, c'est-à-dire dans un milieu hydrophobe a priori hostile au processus catalytique requérant une molécule d'eau. Il existe un autre clivage (coupure ϵ) intervenant en aval du site γ -sécrétase, proche du feuillet interne de la membrane, qui libère l'AICDC50 (figure 2.4). Le fait que les coupures aux sites γ - et ϵ - de la β APP soient dues à la même activité protéolytique est encore discuté. En effet, alors que certains auteurs suggèrent que ces deux coupures sont dues à l'activité γ -sécrétase dépendante des présénilines (Gu et coll., 2001 ; Sastre et coll., 2001 ; Weidemann et coll., 2002), des études récentes indiquent qu'il est possible de discriminer les deux types par une approche mutationnelle de la β APP ou pharmacologique grâce à des inhibiteurs de la γ -sécrétase (Levitan et coll., 1996 ; Zhang et coll., 2000a ; Chen et coll., 2002 ; Moelmann et coll., 2002).

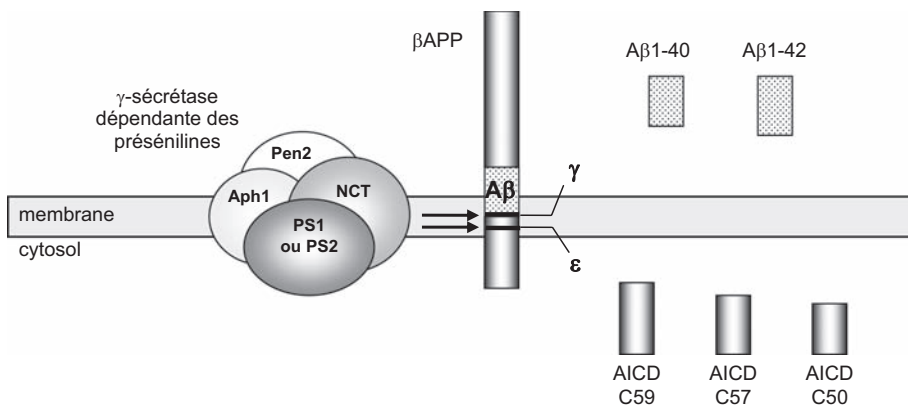


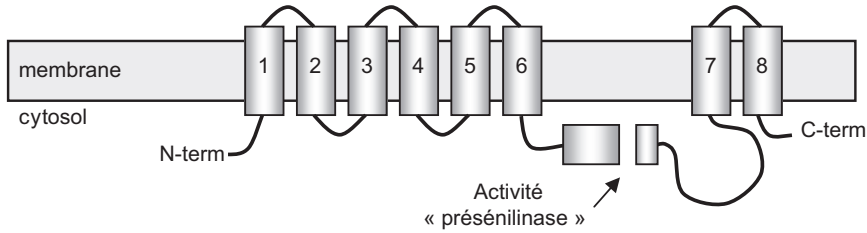
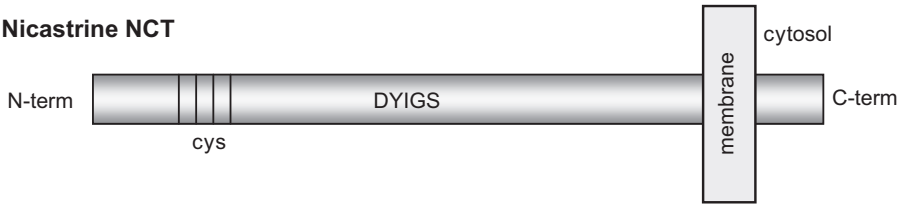
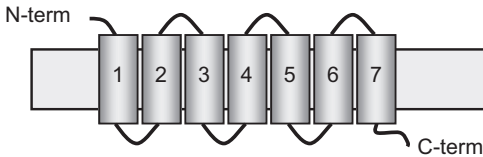
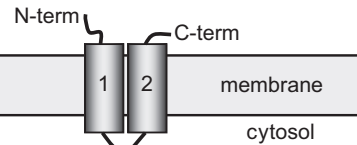
Figure 2.4 : Produits du catabolisme de la β APP par le complexe γ -sécrétase

Aph1 : Anterior pharynx defective 1 homolog ; Pen2 : Presenilin enhancer 2 ; NCT : nicastrine ; PS : préséniline ; AICD : β APP IntraCellular Domain

De nombreuses études suggèrent que les présénilines 1 et 2 (PS1 et PS2), dont les mutations sont responsables de la majorité des formes familiales de maladie d'Alzheimer, sont elles-mêmes porteuses de l'activité γ -sécrétase. L'observation empirique que les mutations portées par les PS se traduisent toujours par une modulation des taux et de la nature même du peptide A β formé, avec une incidence particulière sur la production exacerbée de A β 42 pathogène (pour revue voir : Checler, 1999a) l'a initialement laissé supposer. D'autre part, il est intéressant de noter que l'inactivation du gène codant la PS1 diminue drastiquement la production de peptides A β et que cette dernière est virtuellement abolie quand PS1 et PS2 sont déplétées (Herreman et coll., 2000 ; Zhang et coll., 2000b). Il faut souligner ici que plusieurs études ont démontré la présence d'une activité γ -sécrétase indépendante des présénilines.

Des études récentes ont établi qu'il ne fallait pas parler de γ -sécrétase mais que le terme de complexe γ -sécrétase dépendant des présénilines était vraisemblablement plus approprié. En effet, l'activité γ -sécrétase dépendante des PS apparaît portée par un complexe multiprotéique de haut poids moléculaire impliquant au moins trois autres protéines, la nicastrine (NCT), Aph-1 (*Anterior pharynx defective 1 homolog*) and Pen-2 (*Presenilin enhancer 2 homolog*) (Goutte et coll., 2000 ; Yu et coll., 2000 ; Francis et coll., 2002). Les présénilines sont des protéines transmembranaires (pour revue voir : Checler, 1999b) (figure 2.5) qui subissent une coupure par une « présénilinasé ». Les fragments N- et C-terminaux, issus de cette coupure, interagissent stochiométriquement pour former l'entité biologiquement active (Thinakaran et coll., 1996). La NCT, Aph-1 et Pen-2 sont aussi des protéines présentant un (NCT) ou plusieurs (Aph-1 et Pen-2) domaines transmembranaires (figure 2.5).

Même si l'hypothèse d'autres contributeurs protéiques au complexe γ -sécrétase ne peut être totalement écartée (il existe notamment des régulateurs de ce complexe comme TMP21 ; Chen et coll., 2006), il est notable que l'absence d'une seule des quatre protéines décrites ci-dessus affecte massivement la production de peptide A β (Edbauer et coll., 2003 ; Takasugi et coll., 2003). Ceci est dû à une interaction physique intime de ces protéines. En effet, la formation du complexe γ -sécrétase dépendant des PS est régie par une séquence d'événements maintenant bien caractérisée (figure 2.6). Ainsi, la NCT forme tout d'abord un sous-complexe avec Aph-1 vraisemblablement très tôt dans le réticulum endoplasmique puisque Aph-1 interagit avec les formes déglycosylées de NCT (Hu et Fortini, 2003 ; La Voie et coll., 2003). Après sa formation, ce sous-complexe interagit avec la PS1 ou la PS2 (Lee et coll., 2002 ; Gu et coll., 2003). Enfin, Pen-2 s'associe au complexe et promeut vraisemblablement l'hydrolyse des PS, conduisant finalement au complexe biologiquement actif (Luo et coll., 2003 ; Takasugi et coll., 2003).

Présénilines PS1 ou PS2**Nicastrine NCT****Aph1****Pen2****Figure 2.5 : Protéines du complexe γ -sécrétase**

Aph1 : Anterior pharynx defective 1 homolog

Pen2 : Presenilin enhancer 2

Le schéma ci-dessus ne traduit pas totalement la complexité de cet assemblage moléculaire. Parce qu'il existe deux présénilines, trois homologues de Aph-1 (Aph-1a, Aph-1b et Aph-1c) (Francis et coll., 2002 ; Goutte et coll., 2002 ; Ma et coll., 2005), et deux isoformes de Aph-1a (Aph-1aL et Aph-1aS) (Francis et coll., 2002 ; Goutte et coll., 2002 ; Gu et coll., 2003), différents types de complexes contenant diverses combinaisons de protéines peuvent être envisagés. Cette hypothèse a été corroborée par des travaux récents identifiant différents complexes de composition protéique spécifique (Hébert et coll., 2004 ; Shirotani et coll., 2004). Cependant, la régulation de la composition de ces complexes demeure mal comprise et il n'est pas sûr que le processus de formation du complexe γ -sécrétase dépendant des PS biologiquement actif comporte une séquence invariable d'événements. En effet, par des expériences de dissociation, par des détergents, du complexe γ -sécrétase biologiquement actif, il a été montré qu'il existait plusieurs complexes majeurs et mineurs de compositions différentes (Fraering et coll., 2004). Les complexes γ -sécrétase distincts pourraient avoir des fonctions dif-

férentes liées à la capacité d'hydrolyse de substrats spécifiques. Ces observations apportent naturellement un degré supplémentaire de difficulté dans l'optique d'une stratégie visant à bloquer l'activité γ -sécrétase dépendante des présénilines puisqu'il faudrait idéalement développer des inhibiteurs spécifiques à chacun des complexes.

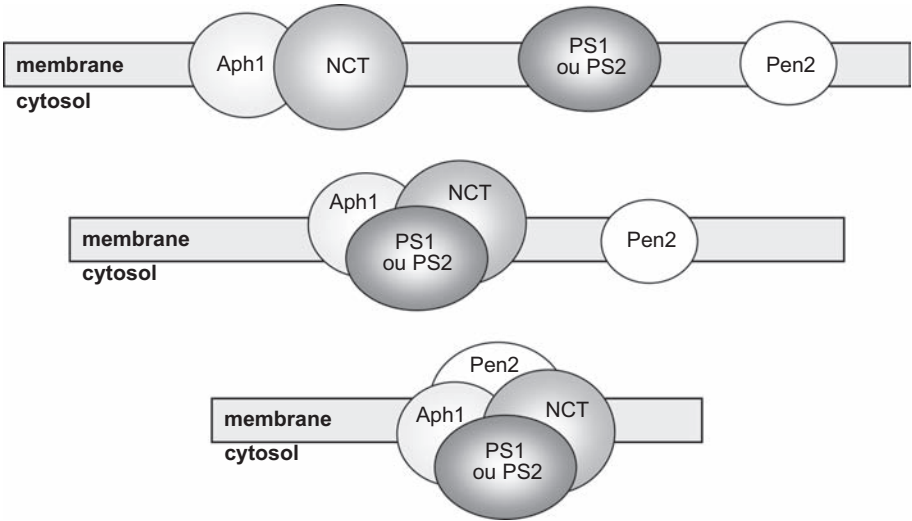


Figure 2.6 : Formation du complexe γ -sécrétase

Aph1 : Anterior pharynx defective 1 homolog ; Pen2 : Presenilin enhancer 2 ;
NCT : nicastrine ; PS : préséniline

α -sécrétase

La voie α -sécrétase est non amyloïdogénique puisque la coupure par cette enzyme intervient au milieu de la séquence A β portée par la β APP (figure 2.2). Cette coupure engendre un produit N-terminal de la β APP qui est sécrété, l'APP α . L'APP α a son propre spectre biologique et il peut notamment protéger la cellule de la toxicité médiée par le peptide A β (Mattson, 1997). Il existe deux voies α -sécrétase distinctes : l'une constitutive et l'autre régulée (pour revue voir : Checler, 1995). Brièvement, la voie sécrétoire régulée est sous le contrôle de la protéine kinase C (PKC) et elle conduit de façon concomitante à la réduction de la production de peptide A β , en accord avec l'hypothèse selon laquelle les productions d'APP α et d'A β ne seraient pas mutuellement exclusives. Ceci a été validé *in vivo* puisque diverses études ont montré que la stimulation de la voie PKC conduisait à la baisse de peptide A β chez des souris transgéniques porteuses du gène muté de l'APP comportant une séquence humanisée de l'A β

(Savage et coll., 1998). La voie α -sécrétase est aussi contrôlée par la protéine kinase A (Checler, 1995 ; Marambaud et coll., 1998). Il existe plusieurs α -sécrétases qui sont toutes des métalloprotéases qui appartiennent à la famille des disintégrines. ADAM10 (*A Disintegrin And Metalloprotease 10*) contribue aux deux voies sécrétoires, constitutive (Lammich et coll., 1999 ; Lopez-Perez et coll., 2001) et régulée, alors qu'ADAM17 (appelée aussi TACE, pour *Tumor necrosis Alpha Converting Enzyme*) est essentiellement responsable de la voie de sécrétion régulée (Buxbaum et coll., 1998). D'autres études, plus discutées, ont suggéré qu'ADAM9 pourrait aussi participer à la maturation physiologique de la β APP et jouer le rôle d' α -sécrétase (Koike et coll., 1999 ; Hotoda et coll., 2002). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a établi que la manipulation génétique d'ADAM10, se traduisant par une augmentation de son expression, réduisait la production de peptide A β et avait des effets bénéfiques sur les troubles cognitifs associés à ce peptide (Postina et coll., 2004), ce qui supporte l'hypothèse d'une stratégie thérapeutique visant à augmenter l'expression de l' α -sécrétase et donc à réduire les taux de peptide A β .

Dégradation du peptide A β

Les taux endogènes de peptides A β sont régis par la balance entre les processus de formation du peptide et ceux de sa dégradation. Il n'existe aucune étude montrant que les processus de formation des peptides amyloïdes sont altérés dans les formes sporadiques de la maladie d'Alzheimer et, notamment, aucun travail n'a établi que l'activité des β - et γ -sécrétases était augmentée. On admet généralement que les modifications se traduisant par l'augmentation des niveaux de peptide A β sont principalement post-translationnelles. Les processus de dégradation du peptide sont donc particulièrement importants pour éviter son accumulation. Dans la majorité des travaux, les protéases impliquées ont été identifiées en examinant l'influence de leur inactivation ou de leur surexpression sur les taux de peptide A β , le nombre de plaques séniles et les processus cognitifs chez les animaux « Alzheimerisés ». Ces études ont conduit à identifier la néprilysine (NEP ; Hama et coll., 2001 ; Iwata et coll., 2001 ; Hauss-Wegrzyniak et Wenk, 2002 ; Leissring et coll., 2003 ; Marr et coll., 2003 ; Hama et coll., 2004 ; Marr et coll., 2004), l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE ; Eckman et coll., 2003) et l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE ; Farris et coll., 2003). Très récemment, il a été établi que les AICD modulaient au niveau transcriptionnel l'expression et l'activité de NEP mais pas celles d'ECE et IDE. Ces résultats suggèrent un lien entre activité sécrétase et enzyme de dégradation de NEP et montrent que l'on peut moduler l'activité de la γ -sécrétase sans que cela se traduise systématiquement par une augmentation de peptide A β .

En conclusion, même si la preuve définitive de l'implication du peptide amyloïde en tant que premier déterminant étiologique de la maladie d'Alzheimer reste à apporter, le peptide amyloïde demeure au centre de la physiopathologie. L'hypothèse de la cascade amyloïde présente en outre l'avantage de cadrer des cibles très en amont de la cascade pathologique (enzymes de production, enzymes de dégradation). À terme, interférer avec ces cibles pourrait obérer le processus neurodégénératif et tous les effets délétères associés à la production de peptide amyloïde. Il est possible que l'immunisation contre le peptide A β qui réduit de façon importante son accumulation intracérébrale permette rapidement de mieux comprendre son rôle physiopathologique. D'autre part, la cascade prédit une relation directe entre l'accumulation extracellulaire de peptide A β et les accumulations intracellulaires de protéine Tau. De nombreuses hypothèses ont été formulées mais aucune n'a permis, à ce jour, de reconstituer expérimentalement des dégénérescences neurofibrillaires à partir d'une surexpression de peptide A β . Enfin, l'hypothèse de la cascade telle qu'elle a été initialement formulée faisait jouer un rôle essentiel au rôle toxique du peptide A β dans sa forme native : des données récentes suggèrent que le peptide s'assemble rapidement sous forme d'oligomères. Ces oligomères et particulièrement les trimères inhibent expérimentalement la potentialisation à long terme telle qu'elle est étudiée sur des tranches d'hippocampe. Le peptide A β pourrait donc avoir un effet fonctionnel avant de provoquer des lésions visibles.

BIBLIOGRAPHIE

ALVES DA COSTA C, SUNYACH C, PARDOSSI-PIQUARD R, SEVALLE J, VINCENT B, et coll. Presenilin-dependent γ -secretase-mediated control of p53-associated cell death in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2006, **26** : 6377-6385

ALZHEIMER'S DISEASE COLLABORATIVE GROUP. The structure of the presenilin 1 (S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. *Nature Genetics* 1996, **11** : 219-222

BAEK SH, OHGI KA, ROSE DW, KOO EH, GLASS CK, et coll. Exchange of N-CoR corepressor and Tip60 coactivator complexes links gene expression by NF- κ B and β -amyloid precursor protein. *Cell* 2002, **110** : 55-67

BURDICK D, KOSMOSKI J, KNAUER MF, GLABE CG. Preferential adsorption, internalization and resistance to degradation of the major isoform of the Alzheimer's amyloid peptide, A β 1-42, in differentiated PC12. *Brain Res* 1997, **746** : 275-284

BUSCIGLIO J, GABUZDA DH, MATSUDAIRA P, YANKNER BA. Generation of β amyloid in the secretory pathway in neuronal and non neuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, **90** : 2092-2096

BUXBAUM JD, LIU KN, LUO Y, SLACK JL, STOCKING KL, et coll. Evidence that tumor necrosis factor α converting enzyme is involved in regulated α -secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *J Biol Chem* 1998, **273** : 27765-27767

CAI H, WANG Y, MCCARTHY D, WEN H, BORCHELT DR, et coll. BACE1 is the major β -secretase for generation of A β peptides by neurons. *Nat Neurosci* 2001, **4** : 233-234

CAO X, SÜDHOF TC. A transcriptively active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase tip60. *Science* 2001, **293** : 115-120

CHECLER F. Processing of the β -amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1995, **65** : 1431-1444

CHECLER F. Presenilins: multifunctional proteins involved in Alzheimer's disease pathology. *lubmb LIFE* 1999a, **48** : 33-39

CHECLER F. Presenilins: Structural aspects and post-translational events. *Mol Neurobiol* 1999b, **19** : 255-265

CHEN F, GU Y, HASEGAWA H, RUAN X, ARAWAKA S, et coll. Presenilin 1 mutations activate γ -42-secretase but reciprocally inhibit μ -secretase cleavage of APP and S3-cleavage of Notch. *J Biol Chem* 2002, **277** : 36521-36526

CHEN F, HASEGAWA H, SCHMITT-ULMS G, KAWARAI T, BOHM C, et coll. TMP21 is a presenilin complex component that modulates γ - but not ϵ -secretase activities. *Nature* 2006, **440** : 1208-1212

ECKMAN EA, WATSON M, MARLOW L, SAMBAMURTI K, ECKMAN CB. Alzheimer's disease β -amyloid peptide (Ab) is increased in mice deficient in endothelin-converting enzyme. *J Biol Chem* 2003, **278** : 2081-2084

EDBAUER D, WINKLER E, REGULA JT, PESOLD B, STEINER H, et coll. Reconstitution of γ -secretase activity. *Nat Cell Biol* 2003, **5** : 486-488

FARRIS W, MANSOURIAN S, CHANG Y, LINDSLEY L, ECKMAN EA, et coll. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid β -protein, and the β -amyloid precursor protein intracellular domain *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, **100** : 4162-4167

FRAERING PC, LA VOIE MJ, YE W, OSTASZEWSKI BL, KIMBERLY WT, et coll. Detergent-dependent dissociation of active γ -secretase reveals an interaction between pen-2 and PS1-NTF and offers a model for subunit organization within the complex. *Biochemistry* 2004, **43** : 323-333

FRANCIS R, MCGRATH G, ZHANG J, RUDDY DA, SYM M, et coll. Aph-1 and pen2 are required for notch pathway signaling, γ -secretase cleavage of β APP and presenilin protein accumulation. *Dev cell* 2002, **3** : 85-97

GLENNER GG, WONG CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *BBRC* 1984a, **120** : 885-890

GLENNER GG, WONG CW. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *BBRC* 1984b, **122** : 1131-1135

GOLDGABER D, LERMAN MI, MCBRIDE OW, SAFFIOTTI U, GAJDUSEK DC. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987, **235** : 887-880

GOUTTE C, HEPLER W, MICKEY K, PRIESS J. aph-2 encodes a novel extracellular protein required for GLP-1-mediated signaling. *Development* 2000, **127** : 2481-2492

- GOUTTE C, TSUNOZAKI M, HALE VA, PRIESS JR. APH-1 is a multipass membrane protein essential for the Notch signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, **99** : 775-779
- GU Y, CHEN F, SANJO N, KAWARAI T, HASEGAWA H, et coll. APH-1 interacts with mature and immature forms of presenilins and nicastrin and may play a role in maturation of presenilin-nicastrin complexes. *J Biol Chem* 2003, **278** : 7374-7380
- GU Y, MISONOU H, SATO T, DOHMAE N, TAKIO K, et coll. Distinct intramembrane cleavages of the β -amyloid precursor protein family resembling γ -secretase-like cleavage of Notch. *J Biol Chem* 2001, **276** : 35235-35238
- HAASS C, SCHLOSSMACHER MG, HUNG AY, VIGO-PELFREY C, MELLON A, et coll. Amyloid β -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 1992, **359** : 322-325
- HAMA E, SHIROTANI K, MASUMOTO H, SEKINE-AIZAWA Y, AIZAWA H, et coll. Clearance of extracellular and cell-associated amyloid β peptide through viral expression of neprilysin in primary neurons. *J Biochem* 2001, **130** : 721-726
- HAMA E, SHIROTANI K, IWATA A, SAIDO TC. Effects of neprilysin chimeric proteins targeted to subcellular compartments on amyloid β peptide clearance in primary neurons. *J Biol Chem* 2004, **279** : 30259-30264
- HAUSS-WEGRZYNIAK B, WENK GL. Beta-amyloid deposition in the brains of rats chronically infused with thiorphan or lipopolysaccharide: the role of ascorbic acid in the vehicle. *Neurosci Lett* 2002, **322** : 75-78
- HÉBERT SS, SERNEELS L, DEJAEGERE T, HORRÉ K, DABROWSKI M, et coll. Coordinated and widespread expression of γ -secretase in vivo: evidence for size and molecular heterogeneity. *Neurobiol of Dis* 2004, **17** : 260-272
- HERREMAN A, SERNEELS L, ANNAERT W, COLLEN D, SCHOONJANS L, et coll. Total inactivation of γ -secretase activity in presenilin-deficient embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2000, **2** : 461-462
- HOTODA N, KOIKE H, SASAGAWA N, ISHIURA S. A secreted form of ADAM9 has an α -secretase activity for APP. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, **293** : 800-805
- HU Y, FORTINI ME. Different cofactor activities in γ -secretase assembly: evidence for a nicastrin-Aph-1 subcomplex. *J Cell Biol* 2003, **161** : 685-690
- HUSSAIN I, POWELL D, HOWLETT DR, TEW DG, MEEK TD, et coll. Identification of a novel aspartic protease (Asp2) as β -secretase. *Mol Cell Neurosci* 1999, **14** : 419-427
- IWATA N, TSUBUKI S, TAKAKI Y, SHIROTANI K, LU B, et coll. Metabolic regulation of brain A β by neprilysin. *Science* 2001, **292** : 1550-1552
- KANG J, LEMAIRE HG, UNTERBECK A, SALBAUM JM, MASTERS CL, et coll. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987, **325** : 733-736
- KITAZUME S, TACHIDA Y, OKA R, KOTANI N, OGAWA K, et coll. Characterization of α 2,6-sialyltransferase cleavage by Alzheimer's β -secretase (BACE1). *J Biol Chem* 2003, **278** : 14865-14871

KITAZUME S, NAKAGAWA K, OKA R, TACHIDA Y, OGAWA K, et coll. *In vivo* cleavage of α 2,6-sialyltransferase by Alzheimer's β -secretase. *J Biol Chem* 2005, **280** : 8589-8595

KOIKE H, TOMIOKA S, SORIMACHI H, SAIDO TC, MARUYAMA K, et coll. Membrane-anchored metalloprotease MDC9 has an alpha-secretase activity responsible for processing the amyloid precursor protein. *Biochem J* 1999, **343** : 371-375

LA VOIE MJ, FRAERING PC, OSTASZEWSKI BL, YEW, KIMBERLY WT, et coll. Assembly of the γ -secretase complex involves early formation of an intermediate sub-complex of Aph-1 and nicastrin. *J Biol Chem* 2003, **278** : 37213-37222

LAMMICH S, KOJRO E, POSTINA R, GILBERT S, PFEIFFER R, et coll. Constitutive and regulated α -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 3922-3927

LEE S-F, SHAH S, LI H, YU C, YU G. Mammalian APH-1 interacts with presenilin and nicastrin, and is required for intramembrane proteolysis of APP and Notch. *J Biol Chem* 2002, **277** : 45013-45019

LEISSRING MA, FARRIS W, CHANG AY, WALSH DM, WU X, et coll. Enhanced proteolysis of β -amyloid in APP transgenic mice prevents plaque formation, secondary pathology and premature death. *Neuron* 2003, **40** : 1087-1093

LEVITAN D, DOYLE TG, BROUSSEAU D, LEE MK, THINAKARAN G, et coll. Assessment of normal and mutant human presenilin function in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93** : 14940-14944

LEVY-LAHAD E, WASCO W, POORKAJ P, ROMANO DM, OSHIMA J, et coll. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995, **269** : 973-977

LIN X, KOELSCH G, WU S, DOWNS D, DASHTI A, et coll. Human aspartyl protease memapsin 2 cleaves the beta-secretase site of beta-amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, **97** : 1456-1460

LOPEZ-PEREZ E, ZHANG Y, FRANCK SJ, CREEMERS J, SEIDAH N, et coll. Constitutive α -secretase cleavage of the β -amyloid precursor protein in the furin-deficient LoVo cell line: involvement of the prohormone convertase 7 (PC7) and the disintegrin metalloprotease ADAM10. *J Neurochem* 2001, **76** : 1532-1539

LUO Y, BOLON B, KAHN S, BENNETT BD, BABU-KHAN S, et coll. Mice deficient in BACE1, the Alzheimer's β -secretase, have normal phenotype and abolished β -amyloid generation. *Nat Neurosci* 2001, **4** : 231-232

LUO WJ, WANG H, LI H, KIM BS, SHAH S, et coll. PEN-2 and APH-1 coordinately regulate proteolytic processing of presenilin 1. *J Biol Chem* 2003, **278** : 7850-7854

MA G, LI T, PRICE D, WONG PC. APH-1a is the principal mammalian APH-1 isoform present in γ -secretase complexes during embryonic development. *J Neurosci* 2005, **25** : 192-198

MARAMBAUD P, CHEVALLIER N, ANCOLIO K, CHECLER F. Post-transcriptional contribution of a cAMP-dependent pathway to the formation of α - and β/γ -secretases-derived products of β APP maturation in human cells expressing wild type and Swedish mutated β APP. *Mol Medicine* 1998, **4** : 715-723

MARR RA, ROCKENSTEIN E, MUKERJEE A, KINDY MS, HERSH LB, et coll. Neprilysin gene transfert reduces human amyloid pathology in transgenic mice. *J Neurosci* 2003, **23** : 1292-1296

MARR RA, GUAN H, ROCKENSTEIN E, KINDY M, GAGE FH, et coll. Neprilysin regulates amyloid β peptide levels. *J Mol Neurosci* 2004, **22** : 5-11

MASTERS CL, SIMONS G, WEINMAN NA, MULTHAUP G, MC DONALD BL, et coll. Amyloid plaque core protein in Alzheimer's Disease and Down Syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, **82** : 4245-4249

MATTSON MP. Cellular actions of β -amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiol Rev* 1997, **77** : 1081-1132

MOELHMANN T, WINKLER E, XIA X, EDBAUER D, MURRELL J, et coll. Presenilin-1 mutations of leucine 166 equally affect the generation of the notch and APP intracellular domains independent of their effect on A β 42 production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, **99** : 8025-8030

MULLAN M, CRAWFORD F. Genetic and molecular advances in Alzheimer's disease. *Trends in Neurosci* 1993, **16** : 398-403

PARDOSSI-PIQUARD R, PETIT A, KAWARAI T, SUNYACH C, ALVES DA COSTA C, et coll. Presenilin-dependent transcriptional control of the A β -degrading enzyme neprilysin by intracellular domains of β APP and APLP. *Neuron* 2005, **46** : 541-554

PASSER B, PELLEGRINI L, RUSSO C, SIEGEL RM, LENARDIO MJ, et coll. Generation of an apoptotic intracellular peptide by γ -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid β protein precursor. *J Alzheimer's Disease* 2000, **2** : 289-301

POSTINA R, SCHROEDER A, DEWACHTER I, BOHL J, SCHMITT U, et coll. A disintegrin-metalloproteinase prevents amyloid plaque formation and hippocampal defects in an Alzheimer's disease mouse model. *J Clin Invest* 2004, **113** : 1456-1464

ROBERDS SL, ANDERSON J, BASI G, BIENKOWSKI MJ, BRANSTETTER DG, et coll. BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary β -secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics. *Hum Mol Gen* 2001, **10** : 1317-1324

ROGAEV EI, SHERRINGTON R, ROGAEVA EA, LEVESQUE G, IKEDA M, et coll. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995, **376** : 775-778

SASTRE M, STEINER H, FUCHS K, CAPELL A, MULTHAUP G, et coll. Presenilin dependent γ -secretase processing of β -amyloid precursor protein at a site corresponding to the S3 cleavage of Notch. *EMBO report* 2001, **2** : 835-841

SAVAGE M, TRUSKO SP, HOWLAND DS, PINSKER LR, MISTRETT AS, et coll. Turnover of amyloid β -protein in mouse brain and acute reduction of its level by phorbol ester. *J Neurosci* 1998, **18** : 1743-1752

SCHELLENBERG GD. Genetic dissection of Alzheimer disease, a heterogeneous disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 8552-8559

SELKOE DJ. Alzheimer's disease: Genes, proteins and therapy. *Physiol Rev* 2001, **81** : 741-766

SHERINGTON R, ROGAEV EI, LIANG Y, ROGAEVA EA, LEVESQUE G, et coll. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995, **375** : 754-760

SHIROTANI K, EDBAUER D, PROKOP S, HAASS C, STEINER H. Identification of distinct γ -secretase complexes with different APH-1 variants. *J Biol Chem* 2004, **279** : 41340-41345

SHOJI M, GOLDE TE, GHISO J, CHEUNG TT, ESTUS S, et coll. Production of the Alzheimer amyloid β protein by normal proteolytic processing. *Science* 1992, **258** : 126-129

SINHA S, ANDERSON JP, BARBOUR R, BASI GS, CACCAVELLO R. Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain. *Nature* 1999, **402** : 537-540

TAKASUGI N, TOMITA T, HAYASHI I, TSURUOKA M, NIIMURA M, et coll. The role of presenilin cofactors in the γ -secretase complex. *Nature* 2003, **422** : 438-441

TANZI RE, GUSELLA JF, WATKINS PC, BRUNS GAP, ST GEORGE-HYSLOP P, et coll. Amyloid β protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987, **235** : 880-884

TANZI RE, ST GEORGE-HYSLOP P, GUSELLA JF. Molecular genetics of Alzheimer disease amyloid. *J Biol Chem* 1991, **266** : 20579-20582

THINAKARAN G, BORCHELT DR, LEE MK, SLUNT HH, SPITZER L, et coll. Endoproteolysis of presenilin 1 and accumulation of processed derivatives in vivo. *Neuron* 1996, **17** : 181-190

VASSAR R. The β -secretase, BACE. *J Mol Neurosci* 2001, **17** : 157-170

WEIDEMANN A, EGGERT S, REINHARD FBM, VOGEL M, PALIGA K, et coll. A novel ϵ -cleavage within the transmembrane domain of the Alzheimer amyloid precursor protein demonstrates homology with the Notch processing. *Biochemistry* 2002, **41** : 2825-2835

WILLEM M, GARRATT AN, NOVAK B, CITRON M, KAUFMANN S, et coll. Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science* 2006, **314** : 664-666

YAN R, BIENKOWSKI MJ, SHUCK ME, MIAO H, TORY MC, et coll. Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease β -secretase activity. *Nature* 1999, **402** : 533-537

YU G, NISHIMURA M, ARAWAKA S, LEVITAN D, ZHANG L, et coll. Nicastrin modulates presenilin-mediated *notch/glp1* signal transduction and β APP processing. *Nature* 2000, **407** : 48-54

ZHANG DM, LEVITAN D, YU G, NISHIMURA M, CHEN F, et coll. Mutation of the conserved N-terminal cysteine (Cys92) of human presenilin1 causes increased A beta secretion in mammalian cells but impaired Notch/lin-12 signalling in *C. elegans*. *Neuroreport* 2000a, **11** : 3227-3230

ZHANG Z, NADEAU P, SONG W, DONOVIEL D, YUAN M, et coll. Presenilins are required for γ -secretase cleavage of β APP and transmembrane cleavage of Notch. *Nat Cell Biol* 2000b, **2** : 463-465