How Does *N*- and *O*-Glycosylation Affect the Formation and Accumulation of Amyloid β -Peptide?

N-型および *O*-型糖鎖が $A\beta$ ペプチド形成と蓄積に与える影響

Kitazume, Shinobu

Disease Glycomics Team, RIKEN Advanced Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan

FAX: 81-48-467-9617, E-mail: shinobuk@riken.jp

(Received on May 30, 2011, accepted on June 20, 2011)

Key Words: APP, $A\beta$, Alzheimer's disease, BACE1, *O*-glycosylation

Abstract

Deposition of amyloid β ($A\beta$) in the brain is closely associated with Alzheimer's disease (AD). $A\beta$ is generated from β -amyloid precursor protein (APP) by the actions of β - and γ -secretases. APP and APP-cleaving enzymes (secretases) are membrane-bound glycoproteins. Several recent reports have shown that glycosylation deficiency causes abnormalities of the functional glycoprotein through protein instability, conformation changes, and impaired localization. Indeed, several reports have suggested that particular glycosylation changes would affect the functionality of APP or secretases to modulate $A\beta$ production. In this review, I first describe the expression pattern, metabolic pathway, and posttranslational modification of APP, and then summarize recent studies, including ours, showing that particular glycosylation changes affect the formation, accumulation, and clearance of $A\beta$.

要 約

アミロイド β ($A\beta$) の脳内蓄積は、アルツハイマー病と深い関わりがある。 $A\beta$ は、 β アミロイド前駆体タンパク質 APP から β および γ セクレターゼと呼ばれるプロテアーゼによって切断されて生じる。APP や APP の切断酵素 (セクレターゼ) は膜結合型の糖タンパク質である。最近の研究では、特異的な糖鎖構造が欠如すると機能性糖タンパク質の安定性が低下する例や、構造変化、局在変化などを引き起こして機能不全にいたる例が複数報告されている。実際、特定の糖鎖構造変化は APP やセクレターゼの機能に影響を与え、 $A\beta$ 形成量が増加するようである。この総説では、まず APP の発現、代謝経路、翻訳後修飾について触れた後に、糖鎖変化が $A\beta$ 産生、蓄積、クリアランスに与える影響について解析した、我々の研究も含めた最近の報告を紹介したい。

A. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia in the elderly. Aging is the most important risk factor for AD. Japan is well known as the most aging society in the world, and AD afflicts nearly two million people in Japan alone. By 2050, the number of AD patients could increase to 100 million people worldwide. AD patients show two pathological hallmarks in the brain, namely deposition of amyloid β peptide ($A\beta$) and neurofibrillary tangles. $A\beta$ ranges from 38 to 43 amino acid residues, and $A\beta_{42}$ is the most fibrillogenic form. Accumulation of $A\beta$ seems to be the primary driver of AD-related pathogenesis, such as neurofibrillary tangle formation, synaptic loss, and neuronal cell death (1–3). $A\beta$ is derived from proteolytic cleavage of β -amyloid precursor protein (APP), a type I membrane protein. Here, I briefly describe the expression pattern, metabolic pathway, and posttranslational modification of APP, and then summarize recent studies showing that particular glycosylation changes affect the formation, accumulation, and clearance of $A\beta$.

A. はじめに

アルツハイマー病は、最もよく見られる老人性認知症である。加齢がアルツハイマー病の最大のリスク要因である。超高齢化社会を迎えた日本では、国内に 200 万人近いアルツハイマー病患者を抱えている。2050 年までには、世界のアルツハイマー病患者は 1 億人規模に達するとされている。アルツハイマー病の典型的な病理像は、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) の脳内蓄積と神経原繊維変化の二つである。 $A\beta$ は 38 ~ 43 個のアミノ酸残基から成るペプチドであり、そのうち 42 個の $A\beta_{42}$ が最も凝集性が高いことが知られている。 $A\beta$ の蓄積が神経原繊維変化、シナプスの脱落、神経細胞死といった一連のアルツハイマー病の進行につながる最初の引き金となっているらしいことが分かっている (1–3)。 $A\beta$ は、タイプ I 型の膜タンパク質である β アミロイド前駆体タンパク質 APP がプロテアーゼで切断されることで形成される。この総説ではまず APP の発現パターン、代謝経路、翻訳後修飾について記述した後に、特定の糖鎖修飾が $A\beta$ 形成、蓄積、クリアランスに与えている影響に関する最新の知見をまとめて紹介したい。

Fig. 1. Metabolic pathway of APP. When APP is proteolytically cleaved at the β -site, subsequent proteolytic cleavage at the β -site produces neurotoxic A β . Meanwhile, when APP is alternatively cleaved at the α -site and γ -site, the non-pathogenic p3 peptide is produced.

B. APP Processing

A β is produced by sequential proteolytic cleavage of APP by β - and γ -secretases (4) (Fig. 1). β -site APP-cleaving enzyme (BACE1), a type I transmembrane aspartic protease, has been identified as β -secretase (5–8). BACE1 cuts APP first to generate the N-terminus of A β , thus producing a membrane-bound C-terminal fragment called C99 and sAPP β . Next, γ -secretase cleaves C99 within a transmembrane region to release mature A β . γ -Secretase involves four different proteins, presenilin, nicastrin, Aph-1, and Pen-2 (9–11). Inhibition of β - and γ -secretases has been considered to be a promising therapeutic strategy for AD, even though Notch-1 is another well-studied γ -secretase substrate (12), and BACE1 is also known to cleave α 2,6-sialyltransferase (ST6Gal I) (13,14), APP homolog proteins APLP1 and APLP2 (15,16), P-selectin glycoprotein ligand (PSGL)-1 (17), low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) (18), voltage-gated sodium channel (Nav1) β 2-subunit (19,20), and Neuregulin (21,22). Alternatively, when APP is cleaved by α -secretase, sAPP α and a C83 fragment are produced. γ -Secretase subsequently cleaves C83 to produce a non-pathogenic p3 peptide. Three enzymes belonging to the disintegrin and metalloproteinase (ADAM) family, ADAM9, ADAM10, and ADAM17, are putative α -secretases (23). Lower levels of sAPP α have been found in the cerebrospinal fluid (CSF) of AD patients (24), suggesting that decreased α -secretase activity may contribute to the development of AD.

C. APP expression

APP has three alternatively spliced mRNA isoforms, APP695, APP751, and APP770 (Fig. 2) (25,26). Compared with APP695, APP751 has an additional Kunitz-type protease inhibitor (KPI) domain in its extracellular domain, while APP770 contains a KPI domain plus an OX2 domain. It is

B. APP の代謝

A β は、APP から 2 種類のプロテアーゼ、 β セクレターゼと γ セクレターゼが次々に作用して形成される (4) (図 1)。BACE1 と呼ばれるタイプ I 型の膜貫通性のアスパラギン酸プロテアーゼが β セクレターゼとして最近同定された (5-8)。BACE1 が最初に APP を切断し、C99 と呼ばれる膜貫通領域を持った切断産物と sAPP β が生じる。その後、 γ セクレターゼが C99 を膜内で切断し、A β が産生される。 γ セクレターゼは、プレセニリン、ニカストリン、Aph-1 および pen-2 の 4 種類のタンパク質から構成される複合体であることが分かってきた (9-11)。 β および γ セクレターゼの阻害剤はアルツハイマー病治療薬として有望視されているが、 γ セクレターゼは Notch-1 も基質とすること (12)、また BACE1 も α 2,6-シアル酸転移酵素 (ST6Gal I) (13,14) や APP ホモログである APLP1 や APLP2 (15,16)、P-セレクチンリガンド糖タンパク質である PSGL-1 (17)、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質 (LRP) (18)、電位作動型のナトリウムチャンネル (Nav1) β サブユニット (19,20)、Neuregulin などとも切断する (21,22) ことが分かっている。一方で、APP が α セクレターゼで切断された場合、C83 断片と sAPP α が生じる。その後に γ セクレターゼが C83 を切断することで、非病原性の p3 ペプチドが形成される。 α セクレターゼ候補となっている酵素は、ADAM ファミリープロテアーゼである ADAM9、ADAM10、ADAM17 の 3 つである (23)。アルツハイマー病患者の脳脊髄液では sAPP α の量が低下していることから、 α セクレターゼ活性の低下はアルツハイマー病の進行に貢献しているかもしれない (24)。

C. APP の発現

APP mRNA には APP695, APP751, APP770 という 3 種類のスプライシングバリエーションがある (25,26) (図 2)。APP695 と比べ、APP751 は細胞外領域に Kunitz 型プロテアーゼ抑制剤 (KPI) 領域が挿入されており、APP770 はこれにさらに OX2 領域が挿入されている。APP695 はニューロン特異的に存在することが古くから知られていた (27)。私達は最

Fig. 2. Schematic diagrams of the three alternatively spliced APP isoforms: APP695, APP751 and APP770. Compared with APP695, APP751 has an additional KPI domain, while APP770 has a KPI domain plus an OX2 domain. It is well known that APP695 is specifically expressed in neurons. We recently found that endothelial cells express APP770.

well known that APP695 is most abundantly expressed in neurons (27). We recently found that brain microvascular endothelial cells express significant levels of APP770 and that Aβ40 and Aβ42 are produced from the endothelial APP770 (Fig. 3A) (28). Furthermore, immunohistochemical analyses of human cerebral cortex sections using an anti-OX2 antibody revealed that APP770 was localized in the luminal regions of the venous and venular endothelial cells (Fig. 3B). In addition, we detected sAPP770β in the CSF (Fig. 3C). A recent study showed that the level of BACE1 activity was elevated in the AD brain (29–31). Even though sAPPα/β in

近、脳血管内皮細胞が APP770 を高発現すること、血管内皮型 APP770 から Aβ40 および 42 が産生されることを明らかにした (28)(図 3A)。そして、ヒト大脳皮質の切片に対して OX2 領域に対する抗体を用いて免疫組織染色を行った結果、静脈性や細静脈性の血管内皮細胞の管腔側に APP770 が発現していることが明らかになった (図 3B)。さらに私達は脳脊髄液中に sAPP770β も見出している (図 3C)。アルツハイマー病患者脳では BACE1 活性が増加していることが最近明らかになった (29-31)。脳脊髄液中の sAPPα/β はアルツハイマー病診断で有効でないと認識されているが、BACE1 活性との相関性がある

Fig. 3. Analysis of APP770 in the human brain. A. Culture media from BMECs cultured in serum-free media were analyzed for their levels of Aβ40 and Aβ42 ($n=3$) (left). The ratios of Aβ42/Aβ40 secreted from BMECs and neurons are shown as the means±SEM ($n=4$) (right). B. Paraffin-embedded human cerebral sections were analyzed by hematoxylin-eosin staining (left) and immunostaining with an anti-OX2 antibody (right). The grey and black arrowheads show the nuclei of endothelial cells and smooth muscle cells, respectively. The arrow shows the OX2-immunoreactive endothelium. Scale bar: 20 μm. C. sAPP in human CSF samples (0.5 ml each) was pulled down with heparin-agarose (30 μl), and then analyzed by western blotting with anti-APP (22C11), anti-sAPPβ, and anti-OX2 antibodies.

the CSF are not considered to be diagnostically useful, there are positive correlations between BACE1 activity and sAPP α / β in the CSF (32,33). Therefore, sAPP α / β may be valuable for observing the effects of BACE1 inhibitors in clinical trials. Discrimination of sAPP695 α / β and sAPP770 α / β in the CSF might be useful for examining whether neuronal or endothelial damage dominates the symptoms in individual patients.

D. Posttranslational Modifications of APP

The cytoplasmic region of APP is phosphorylated almost solely at Thr668 by cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) (34,35). Although phosphorylation of APP has less impact on A β processing, it does induce structural changes in the cytoplasmic region of APP that lead to the release of an adaptor molecule, FE65, the physiological function of which remains to be clarified (36). The extracellular domain of APP is modified by two *N*-glycans and multiple *O*-glycans (Fig. 4A) (34,37). By extensive glycan analyses of recombinant APP695 expressed in Chinese hamster ovary cells, Endo *et al.* (37) showed the presence of biantennary and triantennary complex type *N*-glycans with core fucose and sialylated core 1 type *O*-glycans. The extracellular part of APP has two conserved domains, E1 and E2, both of which have binding affinity with heparin. Since the C-terminal *N*-glycan is located at the edge of the E2 domain, this particular *N*-glycosylation change possibly affects the domain conformation (38). Actually, Hashimoto *et al.* (39) found that both α 2,3- and α 2,6-sialylation of *N*-glycans on APP enhanced the production of both sAPP α and sAPP β , leading to an increase in A β

ことが分かっている (32,33)。そのため、sAPP α / β は臨床試験で BACE1 阻害剤の効果を確認する際に有効でないか、と考えられている。脳脊髄液中の sAPP695 α / β と sAPP770 α / β の区別が出来れば、ニューロンの障害と血管内皮細胞の障害の区別が可能になるかもしれない。

D. APP の翻訳後修飾

APP の細胞質領域はサイクリン依存的キナーゼ 5(Cdk5) によって Thr668(APP695 の場合)一カ所がリン酸化される (34,35)。APP のリン酸化が A β の形成自体に与える影響は小さいが、リン酸化の結果生じる細胞質領域の構造変化によってアダプター分子である FE65 が解離する。FE65 自体の機能は今後明らかにされなければならない (36)。一方で APP の細胞外領域は、*N* 型糖鎖が 2 カ所、*O* 型糖鎖が複数箇所結合している (34,37)(図 4A)。遠藤らは、CHO 細胞に発現させた APP695 の詳細な糖鎖解析を行っており、*N* 型糖鎖としてはコア 1 型の結合した 2 本または 3 本鎖構造が存在すること、*O* 型糖鎖としてはシアル酸を持つコア 1 型糖鎖の存在を報告している (37)。APP の細胞外領域は E1 および E2 と呼ばれる保存性の高いドメインが存在し、どちらもヘパリン結合性を有する。APP に結合する 2 本の *N* 型糖鎖のうち C 末側に位置する糖鎖は E2 ドメインの端に位置しているので、糖鎖構造によってはドメインの立体構造に影響を与えるかもしれない (38)。実際に橋本らは、APP 上の *N* 型糖鎖の α 2,3- 結合および α 2,6- 結合のシアル酸付加が、sAPP α および sAPP β の産生増加を促し、結果的に A β 量が増加することを示している (39)。

Fig. 4. Domain organization of APP. A. The ectodomain of APP770 consists of E1, KPI, and E2 domains (gray shading), and disordered regions (blue shading). *N*-glycans (black symbols), *O*-glycans (blue symbols), and α -, β -, and γ -cleavage sites (black triangles) are also shown. B. Three *O*-glycosylation sites found in APP770 are shown. Exact *O*-glycan sites are shown by black circles.

production. Endo *et al.* (40) further reported that wild-type APP and the Swedish type APP mutant (APP^{Sw}), which causes the familial type of AD, have different *N*-glycan structures when expressed in C17 neural cells, in that APP^{Sw} contained higher levels of core fucose and bisecting GlcNAc. The reason for such different *N*-glycosylation patterns between wild-type APP and its mutant remains to be elucidated. *O*-glycosylation sites on APP695 were recently reported (41). Subsequently, we determined additional *O*-glycosylation sites within the OX2 domain of APP770 (Fig. 4B) (28). Interestingly, all of the *O*-glycosylation sites are located within the di-threonine motif. Even though ~20 UDP-GalNAc: polypeptide α -*N*-acetylglucosaminyltransferases (ppGalNAcTs) have been found as initiating enzymes for *O*-glycosylation (42), a recent report in which each ppGalNAcT isoform was sensitive to the peptide sequence (43) indicated the involvement of a specific ppGalNAcT in APP *O*-glycosylation.

E. Glycosylation and Metabolism of APP

Several recent reports have shown that glycosylation deficiency causes abnormalities of the functional glycoprotein through protein instability, conformation changes, and impaired localization (44,45). In view of the players involved in A β formation, not only the APP substrate, but also BACE1, ADAM proteases, and the components of γ -secretase (*e.g.* nicastrin) are glycoproteins, and thus particular glycosylation changes could affect the functionality of APP or secretases to modulate A β production. When a glycosyltransferase is overexpressed or downregulated to observe the effects of its particular glycosylation on APP processing, we need to know which molecule is most likely to be influenced. Cleavage of APP by α -secretase occurs at the cell surface (46), while amyloidogenic cleavage by BACE1 depends on the lipid raft during the endocytotic pathway (47,48). Nakagawa *et al.* (39) showed that the processing of wild-type APP, but not an APP mutant lacking both *N*-glycosylation sites, was affected by increased sialyltransferase expression, indicating that sialylation of *N*-glycans on APP itself is involved in its metabolism. While our recent study showed that full-length APP770 in endothelial cell lysates contains two forms with and without *O*-glycans (28), both sAPP770 α and sAPP770 β are exclusively modified with *O*-glycans, suggesting that *O*-glycosylation and APP processing involve related pathways. Not only APP770 but also neuronal APP695 has *O*-glycans, and obviously one of our future aims will be to elucidate the roles of the *O*-glycans on APP for cellular internalization and trafficking that could modulate the disease status. Meanwhile, overexpression of *N*-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III), which is responsible for the formation of bisecting GlcNAc residues, rather enhanced the α -secretase activity, leading to a decrease in A β (49).

また、遠藤らは、原因は不明であるが、野生型 APP とスウェーデン型 APP 変異体を神経系の細胞 C17 に発現し、糖鎖構造解析を行ったところ、APP 変異型はコアフコースやバイセクティング GlcNAc 量が有意に増加していたことを示している (40)。APP695 の *O* 型糖鎖付加部位は最近明らかになった (41)。私達も APP770 の場合、さらに OX2 ドメイン内にも *O* 型糖鎖が結合することを明らかにした (28) (図 4B)。興味深いことに、APP 内の全ての *O* 型糖鎖は、ThrThr モチーフ内に存在していた。今や *O* 型糖鎖の伸張開始点を担う UDP-GalNAc: ポリペプチド α -*N*-アセチルガラクトサミン転移酵素 (ppGalNAcT) は 20 種類程度見出されている (42) が、各 ppGalNAcT は特定のペプチド配列に作用しやすい、といったことも最近分かってきており (43)、APP の *O* 型糖鎖付加に特定の ppGalNAcT が関わっているかもしれない。

E. APP の糖鎖付加と代謝

特異的な糖鎖構造が欠如すると機能性糖タンパク質の安定性が低下する例、また構造変化、局在変化などを引き起こして機能不全にいたる例が複数報告されている (44,45)。A β 形成に関わるメンバーを眺めてみると、APP のみならず、BACE1、ADAM プロテアーゼ、そして γ -セクレターゼの構成成分であるニカストリンなども糖タンパク質であることから、特定の糖鎖構造変化が APP やセクレターゼの局在を変化させ、結果的に A β 形成量も変化することが考えられる。糖転移酵素の発現を増加もしくは低下させて APP の代謝に与える効果を見ようとするならば、どの分子が影響を受けたか知る必要がある。APP の α セクレターゼでの切断は細胞表面で起きる (46) のに対し、アミロイド産生経路である BACE1 による切断はラフト内でエンドサイトーシスされる過程で起きるとされている (47,48)。中川らは、シアル酸転移酵素の発現によって野生型 APP の代謝産物は増加したものの、2カ所の *N* 型糖鎖付加部位を欠損させた APP 変異体ではそのような変化が見られなかったことから、APP 自体の *N* 型糖鎖のシアル化が APP 代謝に関わっていることを示している (39)。一方私達は血管内皮細胞のライセート中の APP770 には *O* 型糖鎖の付加したものと付加していないものの 2 種類あるにも関わらず、代謝産物である sAPP770 α および β は *O* 型糖鎖の結合したもののしか見出されなかったことから、*O* 型糖鎖修飾と APP 代謝は共通の経路に含まれているのではないかと考えている (28)。APP770 のみならずニューロンに見出される APP695 も *O* 型糖鎖を持つ。このことから私達は、APP 上の *O* 型糖鎖が細胞内へのインターナリゼーションや輸送に与える影響、ひいてはアルツハイマー病との関わりを解析していく計画である。一方で、*N*-アセチルグルコサミン転移酵素 GnT-III の過剰発現によって、バイセクティング GlcNAc を増加させると、 α セクレターゼ活性が増加し、A β 産生が結果的に減少する、といった報告もある (49)。

F. A β Accumulation and Clearance

Several reports have shown that not only A β production, but also its accumulation and clearance are affected by cellular glycosylation. Gangliosides, as sialic acid-containing glycosphingolipids, are particularly abundant in the nervous system. In the AD brain, a complex of GM1 ganglioside and A β has been found to accumulate (50). Recent reports showed that ganglioside interactions with A β in the endocytic compartments seem to mediate A β accumulation in the brain (50,51), although the precise mechanism remains to be clarified. Immune activation is considered to affect neurodegeneration as a double-edged sword, and therefore proper activation of microglia is necessary for A β clearance. Fiala *et al.* (52) showed that macrophages in AD patients lose responsiveness of GnT-III upregulation to A β stimulation and exhibit defective phagocytosis. Brain-specific glycans, which have now become increasingly recognized as participants in neural cell interactions in the developing and adult nervous system (53), could also play specific roles in neuropathological conditions. Systematic approaches using gene transgenic mice in which the neural glycan structure is modified and sensitive mass spectrometry-based glycomics approaches will enable us to clarify the involvement of glycans in AD pathogenesis.

F. A β のクリアランス

細胞の糖鎖変化によって、A β 産生のみならず、A β の蓄積やクリアランスが変化する、といった報告もある。シアル酸を含む糖脂質であるガングリオシドはもともと神経系に豊富に存在することが知られているが、アルツハイマー病患者脳において、GM1 ガングリオシドと A β の複合体が蓄積しているのが見出されている (50)。最近では、エンドサイトーシス経路でガングリオシドと A β が相互作用することで、脳への A β 蓄積が昂進するという結果も報告されている (50,51) が、詳細なメカニズムは不明である。免疫活性化は、神経変性に関しては諸刃の剣であると考えられており、ミクログリアの適度な活性化が A β のクリアランスに必要であるとされている。Fiala らは、通常は A β 刺激によってマクロファージの GnT-III 発現が増加するのに対しアルツハイマー病患者のマクロファージはそのような反応性が失われていること、そして患者由来のマクロファージはファゴサイトーシス能が低下していることを報告している (52)。近年、脳特異的な糖鎖が発生過程や成体での神経系細胞の相互作用に関わっていること、神経病理学的にも特異的な役割を果たしていることが認識されるようになってきた (53)。脳特異的な糖鎖の遺伝子改変マウスや、高感度な MS 解析によるグライコミクスのアプローチを体系的に用いることで、アルツハイマー病進行に関わる糖鎖の役割も明らかになることが期待される。

References

1. Hardy, J., and Selkoe, D. J. (2002) *Science* **297**, 353–356.
2. Selkoe, D. J. (2002) *Science* **298**, 789–791.
3. Tanzi, R. E. (2005) *Nat. Neurosci.* **8**, 977–979.
4. Selkoe, D. J., and Schenk, D. (2003) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **43**, 545–584.
5. Yan, R., Bienkowski, M. J., Shuck, M. E., Miao, H., Tory, M. C., Pauley, A. M., Brashier, J. R., Stratman, N. C., Mathews, W. R., Buhl, A. E., Carter, D. B., Tomasselli, A. G., Parodi, L. A., Heinrichson, R. L., and Gurney, M. E. (1999) *Nature* **402**, 533–537.
6. Vassar, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., Teplow, D. B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M. A., Biere, A. L., Curran, E., Burgess, T., Louis, J. C., Collins, F., Treanor, J., Rogers, G., and Citron, M. (1999) *Science* **286**, 735–741.
7. Sinha, S., Anderson, J. P., Barbour, R., Basi, G. S., Caccavello, R., Davis, D., Doan, M., Dovey, H. F., Frigon, N., Hong, J., Jacobson-Croak, K., Jewett, N., Keim, P., Knops, J., Lieberburg, I., Power, M., Tan, H., Tatsuno, G., Tung, J., Schenk, D., Seubert, P., Suomensaaari, S. M., Wang, S., Walker, D., John, V., and *et al.* (1999) *Nature* **402**, 537–540.
8. Hussain, I., Powell, D., Howlett, D. R., Tew, D. G., Meek, T. D., Chapman, C., Gloger, I. S., Murphy, K. E., Southan, C. D., Ryan, D. M., Smith, T. S., Simmons, D. L., Walsh, F. S., Dingwall, C., and Christie, G. (1999) *Mol. Cell. Neurosci.* **14**, 419–427.
9. Yu, G., Nishimura, M., Arawaka, S., Levitan, D., Zhang, L., Tandon, A., Song, Y. Q., Rogaeva, E., Chen, F., Kawarai, T., Supala, A., Levesque, L., Yu, H., Yang, D. S., Holmes, E., Milman, P., Liang, Y., Zhang, D. M., Xu, D. H., Sato, C., Rogaev, E., Smith, M., Janus, C., Zhang, Y., Aebbersold, R., Farrer, L. S., Sorbi, S., Bruni, A., Fraser, P., and St George-Hyslop, P. (2000) *Nature* **407**, 48–54.
10. Francis, R., McGrath, G., Zhang, J., Ruddy, D. A., Sym, M., Apfeld, J., Nicoll, M., Maxwell, M., Hai, B., Ellis, M. C., Parks, A. L., Xu, W., Li, J., Gurney, M., Myers, R. L., Himes, C. S., Hiebsch, R., Ruble, C., Nye, J. S., and Curtis, D. (2002) *Dev. Cell* **3**, 85–97.
11. Takasugi, N., Tomita, T., Hayashi, I., Tsuruoka, M., Niimura, M., Takahashi, Y., Thinakaran, G., and Iwatsubo, T. (2003) *Nature* **422**, 438–441.
12. Hardy, J. (1997) *Trends Neurosci.* **20**, 154–159.
13. Kitazume, S., Tachida, Y., Oka, R., Shirotani, K., Saido, T. C., and Hashimoto, Y. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 13554–13559.
14. Kitazume, S., Nakagawa, K., Oka, R., Tachida, Y., Ogawa, K., Luo, Y., Citron, M., Shitara, H., Taya, C., Yonekawa, H., Paulson, J. C., Miyoshi, E., Taniguchi, N., and Hashimoto, Y. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 8589–8595.
15. Eggert, S., Paliga, K., Soba, P., Evin, G., Masters, C. L., Weidemann, A., and Beyreuther, K. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 18146–18156.
16. Pastorino, L., Ikin, A. F., Lamprianou, S., Vacaressse, N., Revelli, J. P., Platt, K., Paganetti, P., Mathews, P. M., Harroch, S., and Buxbaum, J. D. (2004) *Mol. Cell. Neurosci.* **25**, 642–649.
17. Lichtenthaler, S. F., Dominguez, D. I., Westmeyer, G. G., Reiss, K., Haass, C., Saftig, P., De Strooper, B., and Seed, B. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 48713–48719.
18. von Arnim, C. A., Kinoshita, A., Peltan, I. D., Tangredi, M. M., Herl, L., Lee, B. M., Spoelgen, R., Hsieh, T. T., Ranganathan, S., Battey, F.

- D., Liu, C. X., Bacsikai, B. J., Sever, S., Irizarry, M. C., Strickland, D. K., and Hyman, B. T. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 17777–17785.
19. Wong, H. K., Sakurai, T., Oyama, F., Kaneko, K., Wada, K., Miyazaki, H., Kurosawa, M., De Strooper, B., Saftig, P., and Nukina, N. (2005) *J. Biol. Chem.* **280**, 23009–23017.
 20. Kim, D. Y., Carey, B. W., Wang, H., Ingano, L. A., Binshatok, A. M., Wertz, M. H., Pettingell, W. H., He, P., Lee, V. M., Woolf, C. J., and Kovacs, D. M. (2007) *Nat. Cell Biol.* **9**, 755–764.
 21. Hu, X., Hicks, C. W., He, W., Wong, P., Macklin, W. B., Trapp, B. D., and Yan, R. (2006) *Nat. Neurosci.* **9**, 1520–1525.
 22. Willem, M., Garratt, A. N., Novak, B., Citron, M., Kaufmann, S., Rittger, A., DeStrooper, B., Saftig, P., Birchmeier, C., and Haass, C. (2006) *Science* **314**, 664–666.
 23. De Strooper, B. (2010) *Physiol. Rev.* **90**, 465–494.
 24. Sennvik, K., Fastbom, J., Blomberg, M., Wahlund, L. O., Winblad, B., and Benedikz, E. (2000) *Neurosci. Lett.* **278**, 169–172.
 25. Ponte, P., Gonzalez-DeWhitt, P., Schilling, J., Miller, J., Hsu, D., Greenberg, B., Davis, K., Wallace, W., Lieberburg, I., and Fuller, F. (1988) *Nature* **331**, 525–527.
 26. Tanzi, R. E., McClatchey, A. I., Lamperti, E. D., Villa-Komaroff, L., Gusella, J. F., and Neve, R. L. (1988) *Nature* **331**, 528–530.
 27. Wertkin, A. M., Turner, R. S., Pleasure, S. J., Golde, T. E., Younkin, S. G., Trojanowski, J. Q., and Lee, V. M. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **90**, 9513–9517.
 28. Kitazume, S., Imamaki, R., Ogawa, K., Komi, Y., Futakawa, S., Kojima, S., Hashimoto, Y., Marth, J. D., Paulson, J. C., and Taniguchi, N. (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, 6515–6521.
 29. Li, R., Lindholm, K., Yang, L. B., Yue, X., Citron, M., Yan, R., Beach, T., Sue, L., Sabbagh, M., Cai, H., Wong, P., Price, D., and Shen, Y. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **101**, 3632–3637.
 30. Yang, L. B., Lindholm, K., Yan, R., Citron, M., Xia, W., Yang, X. L., Beach, T., Sue, L., Wong, P., Price, D., Li, R., and Shen, Y. (2003) *Nat. Med.* **9**, 3–4.
 31. Fukumoto, H., Cheung, B. S., Hyman, B. T., and Irizarry, M. C. (2002) *Arch. Neurol.* **59**, 1381–1389.
 32. Hampel, H., Frank, R., Broich, K., Teipel, S. J., Katz, R. G., Hardy, J., Herholz, K., Bokde, A. L., Jessen, F., Hoessler, Y. C., Sanhai, W. R., Zetterberg, H., Woodcock, J., and Blennow, K. (2010) *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**, 560–574.
 33. Zetterberg, H., Andreasson, U., Hansson, O., Wu, G., Sankaranarayanan, S., Andersson, M. E., Buchhave, P., Londos, E., Umek, R. M., Minthon, L., Simon, A. J., and Blennow, K. (2008) *Arch. Neurol.* **65**, 1102–1107.
 34. Tomita, S., Kirino, Y., and Suzuki, T. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 6277–6284.
 35. Liu, F., Su, Y., Li, B., Zhou, Y., Ryder, J., Gonzalez-DeWhitt, P., May, P. C., and Ni, B. (2003) *FEBS Lett.* **547**, 193–196.
 36. Suzuki, T., and Nakaya, T. (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 29633–29637.
 37. Sato, Y., Liu, C., Wojczyk, B. S., Kobata, A., Spitalnik, S. L., and Endo, T. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1472**, 344–358.
 38. Wang, Y., and Ha, Y. (2004) *Mol. Cell* **15**, 343–353.
 39. Nakagawa, K., Kitazume, S., Oka, R., Maruyama, K., Saido, T. C., Sato, Y., Endo, T., and Hashimoto, Y. (2006) *J. Neurochem.* **96**, 924–933.
 40. Akasaka-Manyá, K., Manyá, H., Sakurai, Y., Wojczyk, B. S., Spitalnik, S. L., and Endo, T. (2008) *Glycoconj. J.* **25**, 775–786.
 41. Perdivara, I., Petrovich, R., Allinquant, B., Deterding, L. J., Tomer, K. B., and Przybylski, M. (2009) *J. Proteome Res.* **8**, 631–642.
 42. Ten Hagen, K. G., Fritz, T. A., and Tabak, L. A. (2003) *Glycobiology* **13**, 1R–16R.
 43. Gerken, T. A., Jamison, O., Perrine, C. L., Collette, J. C., Moinova, H., Ravi, L., Markowitz, S. D., Shen, W., Patel, H., and Tabak, L. A. (2011) *J. Biol. Chem.* **286**, 14493–14507.
 44. Partridge, E. A., Le Roy, C., Di Guglielmo, G. M., Pawling, J., Cheung, P., Granovsky, M., Nabi, I. R., Wrana, J. L., and Dennis, J. W. (2004) *Science* **306**, 120–124.
 45. Ohtsubo, K., Takamatsu, S., Minowa, M. T., Yoshida, A., Takeuchi, M., and Marth, J. D. (2005) *Cell* **123**, 1307–1321.
 46. Parvathy, S., Hussain, I., Karan, E. H., Turner, A. J., and Hooper, N. M. (1999) *Biochemistry* **38**, 9728–9734.
 47. Ehehalt, R., Keller, P., Haass, C., Thiele, C., and Simons, K. (2003) *J. Cell. Biol.* **160**, 113–123.
 48. Cordy, J. M., Hussain, I., Dingwall, C., Hooper, N. M., and Turner, A. J. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **100**, 11735–11740.
 49. Akasaka-Manyá, K., Manyá, H., Sakurai, Y., Wojczyk, B. S., Kozutsumi, Y., Saito, Y., Taniguchi, N., Murayama, S., Spitalnik, S. L., and Endo, T. (2010) *Glycobiology* **20**, 99–106.
 50. Yanagisawa, K., Odaka, A., Suzuki, N., and Ihara, Y. (1995) *Nat. Med.* **1**, 1062–1066.
 51. Ariga, T., McDonald, M. P., and Yu, R. K. (2008) *J. Lipid. Res.* **49**, 1157–1175.
 52. Fiala, M., Liu, P. T., Espinosa-Jeffrey, A., Rosenthal, M. J., Bernard, G., Ringman, J. M., Sayre, J., Zhang, L., Zaghi, J., Dejbakhsh, S., Chiang, B., Hui, J., Mahanian, M., Baghaee, A., Hong, P., and Cashman, J. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **104**, 12849–12854.
 53. Kleene, R., and Schachner, M. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.* **5**, 195–208.

Profile of the Author

Shinobu Kitazume was born in Tokyo, Japan. She graduated from the University of Tokyo in 1990, and received the ph.D. in 1995, working on the structural analysis and biosynthesis of polysialic acid under the supervision of Prof. Yasuo Inoue. After she worked as a postdoc in New York and Chicago from 1995 to 1997, she returned to Japan and joined the RIKEN institute, studying pathological glycan function in Alzheimer's disease and cancer. Since 2007, she is a sub-leader in Dr. Naoyuki Taniguchi's lab in systems glycobiology group, RIKEN.