

CADASIL: eine Angiopathie verursacht durch *NOTCH3*-Mutationen

Andreas Fischer

Physiologische Chemie I, Biozentrum,
Universität Würzburg

Korrespondenzadresse

Dr. med. Andreas Fischer
Physiologische Chemie I
Theodor-Boveri-Institut für Biowissenschaften
(Biozentrum)
Universität Würzburg, Am Hubland
D-97074 Würzburg, Germany
Tel. +49-(0)931-888-4158
FAX +49-(0)931-888-4150
a.fischer@biozentrum.uni-wuerzburg.de

Zusammenfassung

Zerebrale autosomal dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukoencephalopathie (CADASIL) stellt die häufigste hereditäre Ursache von Schlaganfällen dar. Die Erkrankung beginnt meist bereits im mittleren Lebensalter mit Migräneanfällen, rezidivierenden transienten ischämischen Attacken, denen lakunäre Infarkte folgen. Langfristig kommt es zu neuropsychiatrischen Störungen und Demenz. Die Pathogenese beruht auf einer Angiopathie, die v.a. glatte Gefäßmuskelzellen in kleinen und mittleren Arterien betrifft. Es kommt zu degenerativen Veränderungen und Infiltrationen der Gefäßwand mit konsekutiver Einengung des Lumens. CADASIL wird verursacht durch Mutationen im *NOTCH3*-Gen. Das Gen kodiert für einen transmembranären Rezeptor, dessen Hauptfunktion die Regulation von Proliferation und Apoptose glatter Gefäßmuskelzellen zu sein scheint. Die Diagnose kann durch Magnetresonanztomographie, Hautbiopsie oder Mutationsnachweis geführt werden. Eine kausale Therapie gibt es bisher nicht.

Schlüsselwörter

CADASIL, *NOTCH3*, Demenz, Schlaganfall

Summary

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is the most common cause for inherited cases of stroke. The symptoms include migraine, recurrent ischemic events followed by episodes of lacunar stroke with onset in mid-adulthood. This results in neuropsychiatric disorders and dementia. The disease is caused by an angiopathy which affects mainly vascular smooth muscle cells of small and mid-sized arteries leading to degeneration and infiltration of the vascular wall with a consecutive narrowing of the lumen. CADASIL is caused by *NOTCH3* mutations. This gene encodes a transmembrane receptor, which regulates proliferation and apoptosis in vascular smooth muscle cells. Magnetic resonance imaging, skin biopsy and mutation screening are sensitive diagnostic tools. There is no causative therapy up to now.

Key words

CADASIL, *NOTCH3*, dementia, stroke

Klinik, Pathologie und Diagnose

Das CADASIL-Syndrom (Cerebrale autosomal dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukoencephalopathie) ist die häufigste erbliche Ursache von früh auftretenden Schlaganfällen, die zu einer Demenz führen (OMIM 125310). Die Erkrankung, die auch als hereditäre Multiinfarkt-Demenz beschrieben wurde, beginnt häufig im dritten Lebensjahrzehnt (Erstmanifestationsalter 5–40 Jahre) mit dem Frühsymptom Migräne mit Aura. Typischerweise kommt es durch rezidivierende zerebrale Durchblutungsstörungen zu transienten ischämischen Attacken (TIA), denen ischämische, lakunäre Infarkte folgen. Langfristig resultieren neurologische und psychiatrische Störungen, insbesondere Depressionen sowie eine Demenz (Louvi, 2006) (Tab. 1).

Die Häufigkeit dieses Syndroms ist nicht eindeutig geklärt (Kalaria, 2004), für eine Region im Westen Schottlands wurde die Prävalenz auf ca. 4:100.000 Einwohnern geschätzt (Razvi, 2005). Die Erkrankung ist in der Ärzteschaft noch relativ unbekannt. Es ist davon auszugehen, dass angesichts der Häufigkeit von Migräne, CADASIL deutlich unterdiagnostiziert wird.

CADASIL beruht auf einer Angiopathie, die vor allem kleine Arterien wie z.B. die penetrierenden Markarterien im Gehirn betrifft. Es kommt zu Verdickungen und Infiltrationen der Gefäßwand und einer Einengung des Lumens. Diese Prozesse sind weder durch arteriosklerotische, entzündli-

Tab 1 Symptome und Verlauf von CADASIL (Chabriat, 1995)

	Mittleres Alter	Häufigkeit
Beginn der Symptomatik	45,1	
Migräne mit Aura	38,1	22 %
TIA/Schlaganfälle	49,3	84 %
Depressive Störungen		20 %
Subkortikale Demenz		31 %
Tod	64,5	

Tab 2 CADASIL-Stadieneinteilung nach Verin (1995)

	Alter	Symptome
Stadium I	20 - 40 J.	Migräne mit Aura, abgegrenzte Läsion in der weißen Hirnsubstanz (MRT)
Stadium II	40 - 60 J.	Schlaganfälle, psychiatrische Störungen, größere Läsionen in Marklager und Basalganglien (MRT)
Stadium III	> 60 J.	subkortikale Demenz, Pseudobulbärparalyse, Leukenzephalopathie, ausgeprägte Veränderungen in den Basalganglien (MRT)

che oder thrombotische Prozesse, noch durch Bluthochdruck bedingt. Vielmehr ist die Krankheitsursache eine progressive Degeneration von glatten Gefäßmuskulzellen. Pathognomonisch ist dabei die extrazelluläre Ansammlung von elektronenmikroskopisch granulärem osmiophilem Material (GOM) im Bereich der glatten Muskelzellen und Perizyten (Abb. 1). GOMs wurden bereits im zentralen Nervensystem von jungen, an schwerer Demenz erkrankten Menschen beschrieben, noch bevor CADASIL seinen Namen erhalten hatte (Estes, 1991). Die Entstehungsmechanismen von GOM, sowie seine Beteiligung an der Pathogenese sind noch immer nicht geklärt; es gibt widersprüchliche Untersuchungen, ob z.B. die extrazelluläre Domäne von NOTCH3 (s.u.) daran beteiligt ist (Joutel, 2000; Ishiko, 2006).

Entgegen dem ursprünglich beschriebenen Schwerpunkt der Pathogenese im zentralen Nervensystem, finden sich typische Arterienveränderungen, generalisiert auch in inneren Organen und der Haut. Dadurch ist das Risiko für weitere vaskuläre Erkrankungen deutlich erhöht. In einer niederländischen Studie waren fast 25 % aller CADASIL-Patienten von Herzinfarkten betroffen. Das mittlere Alter bei akuten Myokardinfarkten beträgt dabei 39,6 Jahre (Lesnik Oberstein, 2003).

Wegweisend für die Diagnose im Stadium I sind Migräneanfälle, verbunden mit einer positiven Familienanamnese und typischen Hinweisen in der Magnetresonanztomographie (siehe unten).

Während im Stadium II rezidivierende Schlaganfälle mit neuropsychiatrischen Auffälligkeiten und Läsionen in der weißen Hirnsubstanz sowie den Basalganglien im Vordergrund stehen, finden sich im Endstadium Demenz, Pseudobulbärparalyse sowie eine Leukenzephalopathie (Verin, 1995) (Tab. 2).

Entscheidend für die sichere Diagnose ist neben dem molekulargenetischen Nachweis die Magnetresonanztomographie (MRT). Sie erlaubt das frühe Erkennen von Veränderungen im Marklager und Hirnstamm, während die Hirnrinde typischerweise nicht betroffen ist (Chabriat, 1998). Charakteristisch sind dabei Hyperintensitäten in T2-gewichteten Aufnahmen. Größere Infarkte und Hirnblutungen gehören nicht zum Krankheitsbild. Messungen der zerebralen Blutflüsse zeigten, dass diese mit zunehmendem Fortschreiten der Krankheit deutlich reduziert sind (Bruening, 2001). Schließlich ist eine histopathologische Diagnosestellung auch an Hautbiopsien möglich (Joutel, 2001). Die Sensitivität dieser Methode beträgt allerdings nur ca. 45 %, die Spezifität ist aber sehr hoch (Markus, 2002).

Genetische Grundlagen

Nachdem die Konstellation der Krankheitssymptome 1977 erstmals beschrieben wurde (Sourander and Walinder 1977; Stevens, 1977), häuften sich ähnliche Berichte, bis 1993 durch Kopplungsanalyse eine Region auf Chromosom 19 als Ort des Gendefektes eingegrenzt (Tournier-Lasserre, 1993) und drei Jahre später

das verantwortliche Gen *NOTCH3* auf Chromosom 19p13.2-13.1 identifiziert werden konnte (Joutel, 1996). Die Erkrankung wird autosomal-dominant vererbt und betrifft beide Geschlechter in etwa gleich häufig. Die Penetranz ist sehr hoch, während die Ausprägung sowohl inner- als auch interfamiliär variiert. Nahezu alle bisher beschriebenen Patienten weisen heterozygote *NOTCH3*-Mutationen auf.

Das *NOTCH3*-Gen umfasst 33 Exons und kodiert für ein Protein mit 2321 Aminosäuren, das als Rezeptor auf der Zellmembran fungiert (siehe unten). Bisher konnten über 70 verschiedene Mutationen gefunden werden, die überraschender Weise sehr stereotypisch sind. Fast immer handelt es sich um einzelne Basenaustausche, selten um kleine *in-frame*-Mikrodeletionen, die dazu führen, dass die extrazelluläre Domäne eine ungerade Anzahl von Cysteinen enthält. Eine Studie mit 125 deutschen, nicht-verwandten CADASIL-Patienten ergab, dass ca. 58 % aller Mutationen im Exon 4 und 86 % in den Exons 2-6 lokalisiert waren. Ähnliche Verteilungsraten wurden auch in einer britischen Studie gefunden, während in französischen und niederländischen Kohorten relativ viele Mutationen im Exon 11 identifiziert werden konnten (Peters, 2005). Für die Diagnostik ist daher meist die initiale Sequenzierung der Exons 3-4 bzw. 2-6 ausreichend. Bei negativem Ergebnis kann die Mutationssuche auf weitere Exons (z.B. 8, 11, 19) ausgedehnt werden, die Reihenfolge richtet sich dabei nach

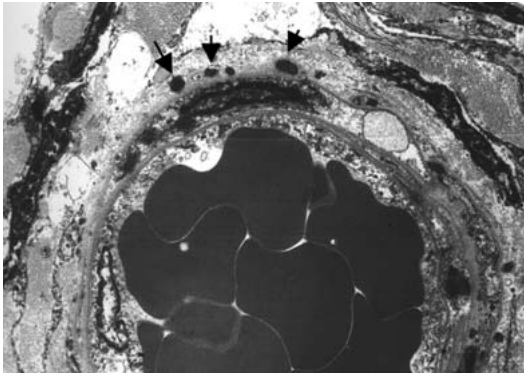


Abb 1 Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 2750-fach) einer kleinen Hirnarterie einer 70-jährigen CADASIL-Patientin mit nachgewiesener *NOTCH3*-Mutation (C1261R)

Die typischen degenerativen Veränderungen der glatten Gefäßmuskelzellen sind begleitet von der Ablagerung von granulärem osmiophil-em Material (s. Pfeile).

Die Aufnahme wurde freundlicherweise von Dr. Anne Joutel (INSERM, Paris, Frankreich) zur Verfügung gestellt.

der ethnischen Herkunft des Patienten. Es ist allerdings darauf hinzuweisen, dass in seltenen Fällen auch die vollständige Sequenzierung der Exons 1-24 zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann. Zur Diagnosesicherung ist in einem solchen Fall eine Hautbiopsie anzuraten (Peters, 2005).

NOTCH-Signaltransduktion

Die *NOTCH*-Genfamilie umfasst beim Menschen vier Mitglieder (*NOTCH1-4*), die alle für Rezeptoren der Zelloberfläche kodieren. Während die extrazelluläre Domäne der Interaktion mit Liganden dient, leitet die intrazelluläre das Signal weiter. Bisher konnten fünf verschiedene Liganden der JAGGED- und DELTA-Familien (JAG1, JAG2, DLL1, DLL3, DLL4) charakterisiert werden, die selbst Transmembranproteine darstellen. Kommt es zwischen zwei benachbarten Zellen zu einer Interaktion zwischen einem NOTCH-Rezeptor und Liganden, führt dies zu einer komplexen, zweifachen proteolytischen Spaltung des NOTCH-Rezeptors, an der unter anderem der gamma-Sekretase-Komplex beteiligt ist, der auch das Amyloid-Vorläuferprotein bei der Alzheimer-Erkrankung prozessiert. Die dadurch freigesetzte intrazelluläre Domäne (NOTCH-ICD) wandert von der Membran in den Zellkern und aktiviert dort ein DNA-bindendes Protein (RBP-J κ), was zur Transkription der primären NOTCH-Zielgene der *HES*- und *HEY*-Genfamilien führt (Fischer and Gessler 2003). Diese ungewöhnliche Art der Signaltransduktion führte auch zur Bezeichnung „NOTCH: ein membrangebunde-

ner Transkriptionsfaktor“ (Abb. 2). Die NOTCH-Signalkaskade wurde während der Evolution hoch konserviert und gehört zu den wichtigsten Regulatoren der Embryonalentwicklung überhaupt. Schon die klassischen Untersuchungen in der Fliege *Drosophila melanogaster* und später in der Maus demonstrierten eindrucksvoll, dass NOTCH in vielfältiger Weise in die Regulation des Zellschicksals eingreift. Beispiele sind die Differenzierungen zwischen T- und B-Lymphozyten, Neuronen und Glia, Stammzellen und differenzierenden Zellen oder Arterien und Venen. Es gibt wohl fast kein Organ oder Gewebe, dessen Entwicklung nicht entscheidend durch NOTCH beeinflusst wird (Artavanis-Tsakonas, 1999). Interessant ist dabei, dass oft bereits Haploinsuffizienz, aber auch erhöhte Gendosis von NOTCH-Liganden oder Rezeptoren einen pathologischen Phänotyp bewirken.

Während *NOTCH1* in sehr vielen Geweben exprimiert wird und zahlreiche Funktionen erfüllt, wird *NOTCH3* fast nur in der glatten Gefäßmuskulatur von kleinen und mittleren Arterien gefunden. Das Expressionsmuster von *NOTCH3* deckt sich daher sehr gut mit dem der betroffenen Gefäße von CADASIL-Patienten (Prakash, 2002). Dass NOTCH-Signale nicht nur für die Embryonalentwicklung, sondern auch für die lebenslange Homöostase wichtig sind, wird gerade erst verstanden. Tatsächlich war die Erforschung der NOTCH3-Funktion zur CADASIL-Pathogenese der erste Schritt hierfür.

Konsequenzen der *NOTCH3*-Mutationen

Wie bereits erwähnt, sind die *NOTCH3*-Mutationen sehr stereotypisch und führen letztendlich dazu, dass die extrazelluläre Domäne (die aus 34 EGF-ähnlichen Wiederholungen besteht) eine ungerade Anzahl von Cysteinen enthält. Wie kann ein zusätzliches oder fehlendes Cystein im NOTCH3-Rezeptor eine Angiopathie verursachen? Klar ist, dass das ungepaarte Cystein eine reaktive Sulfhydrylgruppe besitzt, die Disulfidbrücken mit anderen Proteinen ausbilden und auf diesem Wege vermutlich die Proteinfaltung, den Transport oder die Interaktion mit Liganden beeinflussen kann (Bianchi, 2006). Führen diese Mutationen nun zu einem gain-of-function oder loss-of-function? Diese Frage ist bisher nicht beantwortet. Wahrscheinlich kann – je nach Mutationslokalisierung – beides zutreffen. Analysen in Zellkultur zeigten, dass manche Mutationen die posttranslationale Prozessierung oder den Einbau des Rezeptors in die Zellmembran stören (R142C, C542Y, R133C, C183R, C455R), während andere die Ligandenbindung hemmen (C418S, C455R). Etliche weitere Mutationen wiederum beeinflussen diese Prozesse gar nicht. Es wurde spekuliert, dass diese Mutationen den Rezeptor hyperreaktiv werden lassen oder seine Entfernung von der Membran verhindern. Letzteres würde zu einer Akkumulation führen, die möglicherweise die Entstehung der GOMs bewirkt und dominant-negativ auf den wildtypischen Rezeptor wirkt.

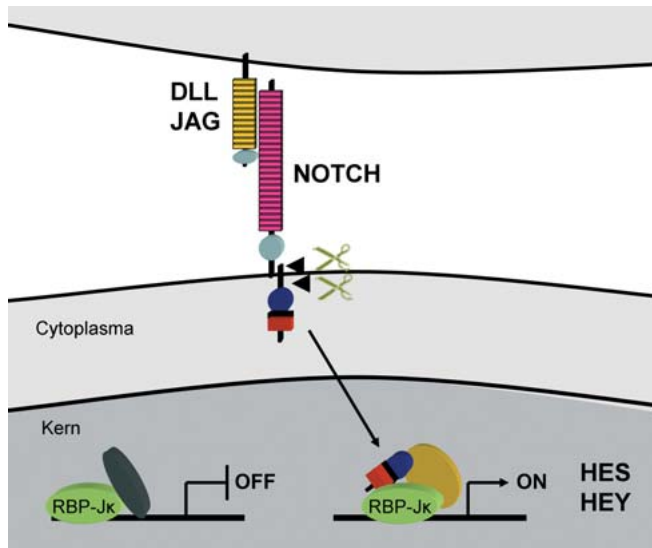


Abb 2 Übersicht über den NOTCH-Signaltransduktionsweg

Die Interaktion mit einem Liganden führt zur proteolytischen Spaltung (Pfeilspitzen) des NOTCH-Rezeptors. Die intrazelluläre Domäne transloziert in den Zellkern, wo sie an RBP-Jκ bindet und die Transkription von Zielgenen (z.B. *HES*- und *HEY*-Gene) bewirkt.

Überraschenderweise gibt es, mit sehr wenigen Ausnahmen, keine gute Genotyp-Phänotyp-Korrelation (Louvi, 2006). In diesem Zusammenhang ist es nochmals wichtig zu betonen, dass viele Gewebe extrem sensitiv auf die Gendosis von NOTCH-Rezeptoren und -Liganden reagieren, und sowohl zu starke als auch zu schwache Signaltransduktion zu sehr ähnlichen Fehlbildungen führen können (Artavanis-Tsakonas, 1999).

Funktion der NOTCH3-Signalkaskade

Im erwachsenen Menschen wird *NOTCH3* fast ausschließlich in glatten Gefäßmuskelzellen kleinerer und mittlerer Arterien exprimiert (Joutel, 2000). Interessant ist die selektive Expression in Arterien, während in Venen nie NOTCH-Aktivität beobachtet werden kann. Inzwischen konnte in der Maus gezeigt werden, dass *Notch1* und seine Zielgene *Hey1* und *Hey2* die frühesten Regulatoren der arteriellen Differenzierung aus endothelialen Vorläufern sind (Fischer, 2004). Dagegen ist *Notch3* für die arterielle Differenzierung von glatten Gefäßmuskelzellen verantwortlich (Domenga, 2004). Was sind die molekularen Funktionen von NOTCH3 in glatten Gefäßmuskelzellen? Etliche Studien legen nahe, dass NOTCH3 sowohl für die Regulation der Zellproliferation als auch für das Überleben dieser Zellen verantwortlich ist. Der genaue Mechanismus ist jedoch noch unbekannt.

Mausmodelle für CADASIL

Tiermodelle können für das Verständnis von Krankheiten und manchmal auch für die Erprobung von therapeutischen Interventionen äußerst hilfreich sein. Eine *Notch3*-Nullmutation in der Maus ist lebensfähig, führt aber zu Reifungsstörungen von glatten Gefäßmuskelzellen in kleinen und mittleren Arterien. Diese Gefäße verlieren ihre arteriellen Eigenschaften und besitzen keine Regulation des Gefäßtonus mehr. Die für CADASIL typischen GOM fehlen allerdings (Domenga, 2004).

Ein besseres Modell stellt eine transgene Mauslinie dar, die in glatter Muskulatur das humane *NOTCH3* mit der R90C-Mutation exprimiert. Diese Tiere entwickeln im Alter die CADASIL-typischen Gefäßveränderungen mit reduzierter Vasoreaktivität einschließlich der GOM. Sie könnten somit in Zukunft ein Modell für die Erprobung von neuen Substanzen gegen CADASIL darstellen (Ruchoux, 2003).

Therapie

Leider gibt es bis heute noch keine kausale Therapie, so dass die Indikation einer prädiktiven genetischen Diagnostik streng zu stellen ist. Betroffenen Patienten sollte eine Migränephylaxe angeboten werden. Depressionen und andere psychiatrische Folgen sollten durch regelmäßige Untersuchungen rasch erkannt und behandelt werden. Sehr wichtig ist es, kardiovaskuläre Risikofaktoren zu minimieren; insbesondere ist eine anti-hypertensive Therapie zu emp-

fehlen, da Bluthochdruck das zerebrale Blutungsrisiko aus den fragilen Arterien erhöht. Kontraindiziert ist dagegen eine Angiographie, da diese Untersuchung mit sehr hohen Komplikationsraten bei CADASIL-Patienten verbunden ist (Dichgans and Petersen 1997). Weiterhin sollte die Gabe von vasokonstriktorischen Medikamenten, wie z.B. Triptane beim akuten Migräneanfall, vermieden werden.

Andere NOTCH-assoziierte Erkrankungen

Neben dem CADASIL-Syndrom sind inzwischen noch eine Reihe weiterer Erkrankungen identifiziert worden, die durch Mutationen in der NOTCH-Signalkaskade ausgelöst werden. Am bekanntesten dürfte hierbei das Alagille-Syndrom sein (OMIM 118450), das zu mannigfachen Fehlbildungen führt. Betroffen sind unter anderem Leber, Niere, Auge, Skelett sowie das Herz. Das verantwortliche Gen wurde 1997 entdeckt, es kodiert den NOTCH-Liganden JAG1 (Li, 1997; Oda, 1997). Vor kurzem konnten *NOTCH1*-Mutationen für hereditäre Formen der Aortenklappenkalzifizierung (Garg, 2005) nachgewiesen werden. Überraschenderweise kann *NOTCH1* auch als Onkogen agieren. So werden ca. 50% aller akuten lymphoblastischen T-Zell-Leukämien (T-ALL) durch *NOTCH1*-Mutationen ausgelöst (Weng, 2004). Schließlich wird auch eine Form der spondylokalalen Dysostose (OMIM 277300) durch Mutationen des NOTCH-Liganden DLL3 verursacht (Bulman, 2000).

Ausblick

Wenn man sich die zahlreichen, durch *NOTCH*-Mutationen ausgelösten Entwicklungsdefekte in Modellorganismen vor Augen führt, ist davon auszugehen, dass in Zukunft noch mehr humane Fehlbildungssyndrome mit *NOTCH*-assoziierten Mutationen in Verbindung gebracht werden. Leider gibt es bis heute nur wenige kausale Therapieoptionen. Dies liegt nicht zuletzt daran, dass sowohl übermäßige Aktivierung als auch Suppression der *NOTCH*-Signalkaskade zu pathologischen Zuständen führen kann. Zum anderen ist *NOTCH*-Aktivität für sehr viele Gewebe essentiell, so dass eine Hemmung, z.B. mit gamma-Sekretase-Inhibitoren, mit zahlreichen unerwünschten Nebenwirkungen verbunden ist (van Es, 2005). Zur Entwicklung spezifischer Behandlungsstrategien wird es daher notwendig sein, zunächst einmal die genauen Signalwege zu erforschen, die durch *NOTCH*-Aktivierung ausgelöst werden.

Weiterführende Informationen

Eine gute Übersicht über die Erkrankung bietet die englischsprachige Internetseite <http://www.cadasilfoundation.org> sowohl für Ärzte als auch Patienten.

Literatur

Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ (1999) Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 284: 770-776.

Bianchi S, Dotti MT, Federico A (2006) Physiology and pathology of notch signalling system. *J Cell Physiol* 207: 300-308.

Bruening R, Dichgans M, Berchtenbreiter C, Yousry T, Seelos KC, Wu RH, Mayer M, Brix G, Reiser M (2001) Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: decrease in regional cerebral blood volume in hyperintense subcortical lesions inversely correlates with disability and cognitive performance. *AJNR Am J Neuroradiol* 22: 1268-1274.

Bulman MP, Kusumi K, Frayling TM, McKeown C, Garrett C, Lander ES, Krumlauf R, Hattersley AT, Ellard S, Turnpenny PD (2000) Mutations in the human delta homologue, *DLL3*, cause axial skeletal defects in spondylocostal dysostosis. *Nat Genet* 24: 438-441.

Chabriat H, Levy C, Taillia H, Iba-Zizen MT, Vahedi K, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Boussier MG (1998) Patterns of MRI lesions in CADASIL. *Neurology* 51: 452-457.

Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Joutel A, Nibbio A, Nagy TG, Krebs MO, Julien J, Dubois B, Ducrocq X, et al. (1995) Clinical spectrum of

CADASIL: a study of 7 families. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Lancet* 346: 934-939.

Dichgans M, Petersen D (1997) Angiographic complications in CADASIL. *Lancet* 349: 776-777.

Domenga V, Fardoux P, Lacombe P, Monet M, Maciazek J, Krebs LT, Klonjowski B, Berrou E, Mericskay M, Li Z, Tournier-Lasserre E, Gridley T, Joutel A (2004) Notch3 is required for arterial identity and maturation of vascular smooth muscle cells. *Genes Dev* 18: 2730-2735.

Estes ML, Chimowitz MI, Awad IA, McMahon JT, Furlan AJ, Ratliff NB (1991) Sclerosing vasculopathy of the central nervous system in nonelderly demented patients. *Arch Neurol* 48: 631-636.

Fischer A, Gessler M (2003) Hey genes in cardiovascular development. *Trends Cardiovasc Med* 13: 221-226.

Fischer A, Schumacher N, Maier M, Sendtner M, Gessler M (2004) The Notch target genes *Hey1* and *Hey2* are required for embryonic vascular development. *Genes Dev* 18: 901-911.

Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, Grossfeld PD, Srivastava D (2005) Mutations in *NOTCH1* cause aortic valve disease. *Nature* 437: 270-274.

Ishiko A, Shimizu A, Nagata E, Takahashi K, Tabira T, Suzuki N (2006) Notch3 ectodomain is a major component of granular osmiophilic material (GOM) in CADASIL. *Acta Neuropathol (Berl)* 112: 333-339.

Joutel A, Andreux F, Gaulis S, Domenga V, Cecillon M, Battail N, Piga N, Chapon F, Godfrain C, Tournier-Lasserre E (2000) The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *J Clin Invest* 105: 597-605.

Joutel A, Corpechot C, Ducros A, Vahedi K, Chabriat H, Mouton P, Alamowitch S, Domenga V, Cecillon M, Marechal E, Maciazek J, Vayssiere C, Cruaud C, Cabanis EA, Ruchoux MM, Weisenbach J, Bach JF, Boussier MG, Tournier-Lasserre E (1996) Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 383: 707-710.

Joutel A, Favrole P, Labauge P, Chabriat H, Lescoat C, Andreux F, Domenga V, Cecillon M, Vahedi K, Ducros A, Cave-Riant F, Boussier MG, Tournier-Lasserre E (2001) Skin biopsy immunostaining with a Notch3 monoclonal antibody for CADASIL diagnosis. *Lancet* 358: 2049-2051.

Kalaria RN, Viitanen M, Kalimo H, Dichgans M, Tabira T (2004) The pathogenesis of CADASIL: an update. *J Neurol Sci* 226: 35-39.

Lesnik Oberstein SA, Jukema JW, Van Duinen SG, Macfarlane PW, van Houwelingen HC, Breuning MH, Ferrari MD, Haan J (2003) Myocardial infarction in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *Medicine (Baltimore)* 82: 251-256.

Li L, Krantz ID, Deng Y, Genin A, Banta AB, Collins CC, Qi M, Trask BJ, Kuo WL, Cochran J, Costa T, Pierpont ME, Rand EB, Piccoli DA, Hood L, Spinner NB (1997) Alagille syndrome is caused by mutations in human *Jagged1*, which encodes

a ligand for Notch1. *Nat Genet* 16: 243-251.

Louvi A, Arboleda-Velasquez JF, Artavanis-Tsakonas S (2006) CADASIL: a critical look at a Notch disease. *Dev Neurosci* 28: 5-12.

Markus HS, Martin RJ, Simpson MA, Dong YB, Ali N, Crosby AH, Powell JF (2002) Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 59: 1134-1138.

Oda T, Elkahoulou AG, Pike BL, Okajima K, Krantz ID, Genin A, Piccoli DA, Meltzer PS, Spinner NB, Collins FS, Chandrasekharappa SC (1997) Mutations in the human *Jagged1* gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet* 16: 235-242.

Peters N, Opherck C, Bergmann T, Castro M, Herzog J, Dichgans M (2005) Spectrum of mutations in biopsy-proven CADASIL: implications for diagnostic strategies. *Arch Neurol* 62: 1091-1094.

Prakash N, Hansson E, Betsholtz C, Mitsiadis T, Lendahl U (2002) Mouse Notch 3 expression in the pre- and postnatal brain: relationship to the stroke and dementia syndrome CADASIL. *Exp Cell Res* 278: 31-44.

Razvi SS, Davidson R, Bone I, Muir KW (2005) The prevalence of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in the west of Scotland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76: 739-741.

Ruchoux MM, Domenga V, Brulin P, Maciazek J, Limol S, Tournier-Lasserre E, Joutel A (2003) Transgenic mice expressing mutant Notch3 develop vascular alterations characteristic of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Am J Pathol* 162: 329-342.

Sourander P, Walinder J (1977) Hereditary multi-infarct dementia. Morphological and clinical studies of a new disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 39: 247-254.

Stevens DL, Hewlett RH, Brownell B (1977) Chronic familial vascular encephalopathy. *Lancet* 1: 1364-1365.

Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, Weisenbach J, Lathrop GM, Chabriat H, Mas JL, Cabanis EA, Baudrimont M, Maciazek J, et al. (1993) Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nat Genet* 3: 256-259.

van Es JH, van Gijn ME, Riccio O, van den Born M, Vooijs M, Begthel H, Cozijnsen M, Robine S, Winton DJ, Radtke F, Clevers H (2005) Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature* 435: 959-963.

Verin M, Rolland Y, Landgraf F, Chabriat H, Bompais B, Michel A, Vahedi K, Martinet JP, Tournier-Lasserre E, Lemaitre MH, et al. (1995) New phenotype of the cerebral autosomal dominant arteriopathy mapped to chromosome 19: migraine as the prominent clinical feature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 59: 579-585.

Weng AP, Ferrando AA, Lee W, Morris JPT, Silverman LB, Sanchez-Irizarry C, Blacklow SC, Look AT, Aster JC (2004) Activating mutations of *NOTCH1* in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 306: 269-271.