

【総 説】

β アミロイドによるcalsyntenin-3の誘導と神経変性

内田 洋子

東京都健康長寿医療センター研究所・老化制御チーム

要約

アルツハイマー病の原因物質は β アミロイド (A β) oligomerであり、その最初期病変はシナプス機能障害であることが確認されつつある。しかし、A β によるシナプス機能障害の分子機構については、不明な点が多い。私たちは、A β oligomerによる遺伝子発現誘導を網羅的に検索し、シナプス蛋白の遺伝子calsyntenin-3を同定した。Calsyntenin-3はアルツハイマー病で脆弱なニューロンに主として分布することから、A β と神経変性を結びつける重要な分子の一つと考えている。本稿では、calsyntenin-3のシナプス機能障害への関与について、私たちの研究を中心に紹介する。

キーワード：アルツハイマー病、 β アミロイド、Calsyntenin-3、 γ -secretase

はじめに

アルツハイマー病は、原因不明の進行性の認知症で、大脳皮質や皮質下に老人斑や神経原線維変化が出現し、ニューロンが脱落する。老人斑は、 β アミロイド (A β) がニューロン外に沈着したものであり、神経原線維変化は、主としてリン酸化されたタウ蛋白から成るPHF(paired helical filament)がニューロン内に蓄積したものである。そして、多数の剖検脳の観察から、最初に老人斑が出現し、それから長い年月を経て、神経原線維変化や神経細胞の脱落が見られるようになると推測されてきた。しかも、認知障害のない老人の脳にも多数の老人斑が出現していることや、認知機能の低下と老人斑密度は必ずしも相関しないことから、A β の沈着が直接アルツハイマー病の発症を引き起こすという仮説には疑問が投げかけられていた。

アルツハイマー病のなかには特定の遺伝子に変異が認められる家族性アルツハイマー病があり、これまでに3種類の原因遺伝子(amyloid precursor protein, APP; presenilin-1, PS1; presenilin-2, PS2)が同定された。APPはA β の前駆体蛋白であり、PS1やPS2はA β を前駆体から切り出す酵素 (γ -secretase) の構成蛋白である。そして、それらの点突然変異は、いずれもA β 1-42の合成・分泌を促進することがわかった[1]。さらに、APPやPS1に変異を持つモデル動物 (マウス) が作製され、変異APPマウスの脳内にA β 斑 (老人斑) ができることや[2-5]、変異PS1の導入によって早期にA β 斑が出現することが確かめられた[6,7]。さらに、どのような順番で病変が現れるかを調べられるようになり、次のような順で病変が現れることがわかった[8] (図1)。① 可溶性のA β

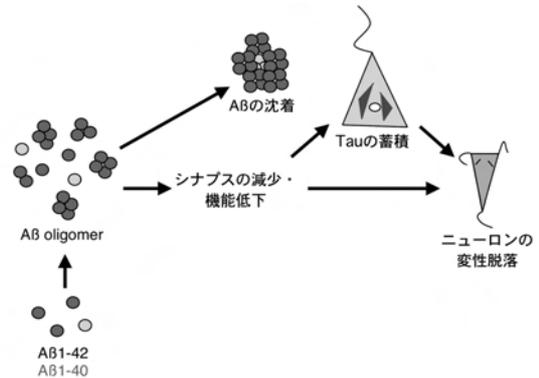


図1. ADマウスモデルから推測されるAD病変の経時変化 (文献8より改変)

oligomer (β アミロイド斑ではない)が増加する→②シナプスの数が減少し、その機能が低下する→③A β が沈着する (アミロイド斑の出現) という順に病変が現れる。そして、アルツハイマー病患者脳にもA β oligomerが存在することがわかり、認知機能の低下は、老人斑の密度ではなく、A β oligomer量と相関することが明らかとなった[9,10]。つまり、A β oligomerによるシナプス機能低下が、最初期病変であることが示唆されるに至った。それでは、(1)A β がどのような機構でシナプスの変性を引き起こすのか? (2) A β は大脳皮質全体に分布するのに対し、なぜ、特定の領域のニューロンだけが変性するのか?

この問いに答えるため、私たちは、可溶性のA β oligomerが、どのような遺伝子の発現を変化させるのかを網羅的に検索した。その結果、A β oligomerによって発現誘導される遺伝子として、アルツハイマー病で脆弱なニューロンに多く分布するシナプス蛋白の遺伝子、calsyntenin-3を同定した。

連絡先：〒173-0015 板橋区栄町35-2
Phone: 03-3964-3241 ex 3050
Fax: 03-3579-4776
e-mail: 57uchida@tmig.or.jp

1. Aβ oligomerによるcalsyntenin-3の選択的発現誘導と大脳ニューロンの脆弱性

(1) Calsyntenin-3はAβ oligomerによって選択的に発現誘導される

Calsyntenin familyは、cadherin superfamilyに属するtype I膜貫通蛋白で、脳のシナプス膜に存在する[11]。Calsyntenin familyとして3種類(calsyntenin-1, calsyntenin-2, calsyntenin-3)が同定されており[12]、いずれのC-末端にもWDDS motifが存在し、kinesin-1 light chainに結合すると考えられている[13] (図2A)。

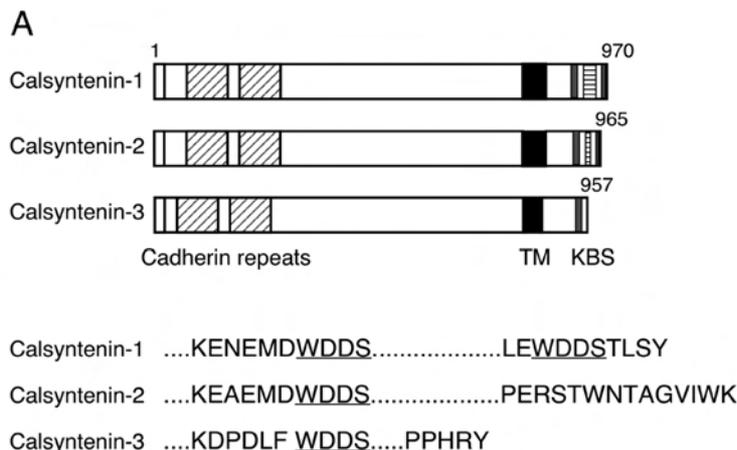
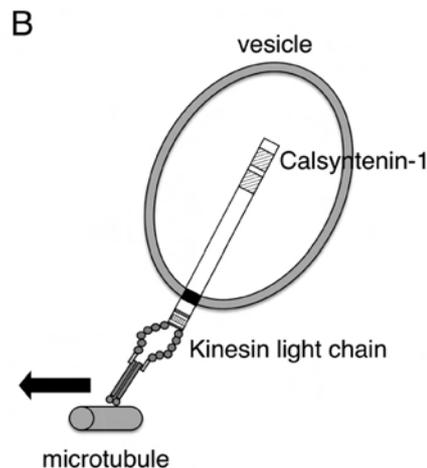


図2.

(A) Calsyntenin familyの分子構造 KBS (kinesin light chain 1 binding segment) (文献12, 13より改変)
 (B) Calsyntenin-1のcargo-docking proteinとしての役割の模式図 (文献13, 14より改変)

個々のcalsyntenin蛋白がそれぞれどのような機能を担っているのかは、わかっていない。Calsyntenin-1に関しては、kinesin-1を介した膜小胞の輸送の際に、cargo-docking proteinとして働くこと[13,14] (図2B)、また、線虫ではcalsyntenin-1のorthologであるCAS-1が学習・記憶に重要な役割を果たしていることがわかっている[15,16]。Calsyntenin-2, とcalsyntenin-3について明らかとなっているのは、アミノ酸配列と代謝切断部位、そして、脳内における局在のみである[12,17]。

そこで、私たちは、Aβ oligomerによって発現誘導さ



れるのは、calsyntenin-3だけなのか、それとも、すべてのcalsynteninが発現誘導されているのかを、Aβ処理した培養大脳ニューロンとADマウスモデル (APP670/671に変異の入ったAPPを持つTgマウス, Tg2576)の大脳皮質で調べた。その結果、*in vitro*, *in vivo*共に、calsyntenin-3 mRNAの発現のみがAβによって誘導されていることがわかった[18] (図3)。さらに、calsyntenin-3の発現を誘導するのは、Aβ oligomerなのかAβ fibrilなのかを培養大脳ニューロンを用いて調べたところ、Aβ fibrilよりもAβ oligomerによってcalsyntenin-3は発現誘導されることがわかった[18]。

(2) 大脳皮質では、calsyntenin-3は第2/3層と第5層のニューロン以外にAβ斑周囲の変性突起にも分布する[18]

Calsyntenin familyの脳内分布は、それぞれの蛋白により異なる。例えば、大脳皮質では、calsyntenin-1はどのニューロンにもほぼ均一に分布するのに対し、calsyntenin-2は、第5、6層のニューロンに多く、calsyntenin-3は第2/3層と第5層のニューロンに多く分布することが知られている[12]。それでは、ADマウスモデルであるTg2576では、どの部分でcalsyntenin-3が増加しているのか？

私たちはcalsyntenin-3のC-末端部分のペプチドに対する抗体を作製し、immunofluorescenceを行った。老

齢の野生型マウスでは、calsyntenin-3は大脳皮質第2-3層と第5層ニューロンに中程度の蛍光が認められるのに対し、老齢Tg2576マウスでは、第2-3、5層ニュー

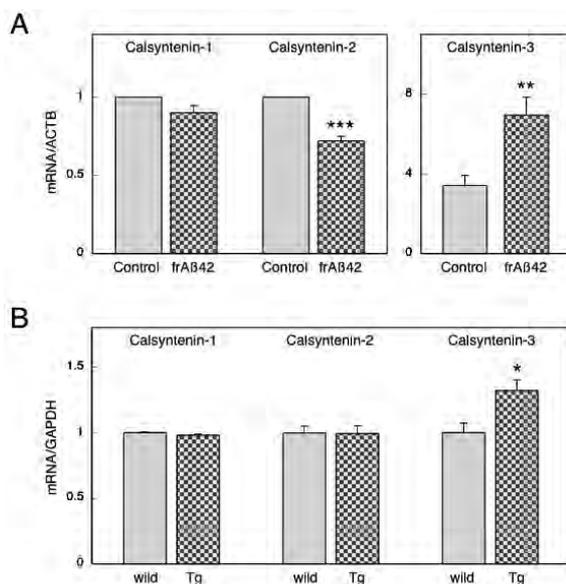


図3. Aβによるcalsyntenin-3の選択的誘導

(A) Aβ oligomer添加による培養大脳ニューロンでのcalsyntenin family mRNAsの発現変化
 (B) 24ヵ月令のADマウスモデルでのcalsyntenin family mRNAsの発現変化 (文献18より改変)

ロン以外に、A β 斑周囲の変性突起にも強い蛍光が認められた (図4)。A β 斑周囲の変性突起でのcalsyntenin-3の染色パターンは、リン酸化タウの蛍光パターンとは異なり、むしろ、A β 斑形成初期に現れるリン酸化APP (T668)の染色パターンと類似していた。

A β 斑周囲の変性突起にcalsyntenin-3が沈着することは、培養系での実験結果 (calsyntenin-3の発現を誘導するのは、A β fibrilではなくA β oligomerであること) と矛盾するように見える。しかし、A β oligomerはA β 斑 (core) 周囲に大量に存在することがわかっているため[19]、A β 斑周囲に突起を伸ばしているニューロンに、A β oligomerがcalsyntenin-3を誘導させ、突起内に蓄積させると考えても矛盾はない。

(3) Calsyntenin-3の過剰発現は培養大脳ニューロンを脆弱にする[18]

それでは、A β oligomerによるcalsyntenin-3の過剰発現は、大脳ニューロンにどのような影響をあたえるのか？ Calsyntenin-3が、アルツハイマー病で変性しやすいニューロンに多く存在することと、A β 斑周囲の変性突起にcalsyntenin-3が蓄積していることから、

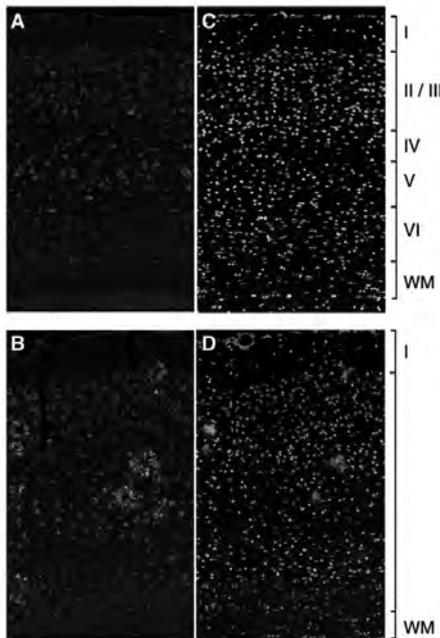


図4. Calsyntenin-3の局在 (AとB)

(AとC) 21ヵ月令の野生型マウス大脳では、calsyntenin-3は皮質第2/3層と第5層のニューロンに主として分布する。

(BとD) 21ヵ月令のADマウスモデル大脳では、calsyntenin-3は第2/3層と第5層のニューロンへの局在に加え、A β 斑周囲の変性突起に蓄積している。CとDは、Hoechst33342による核染色。

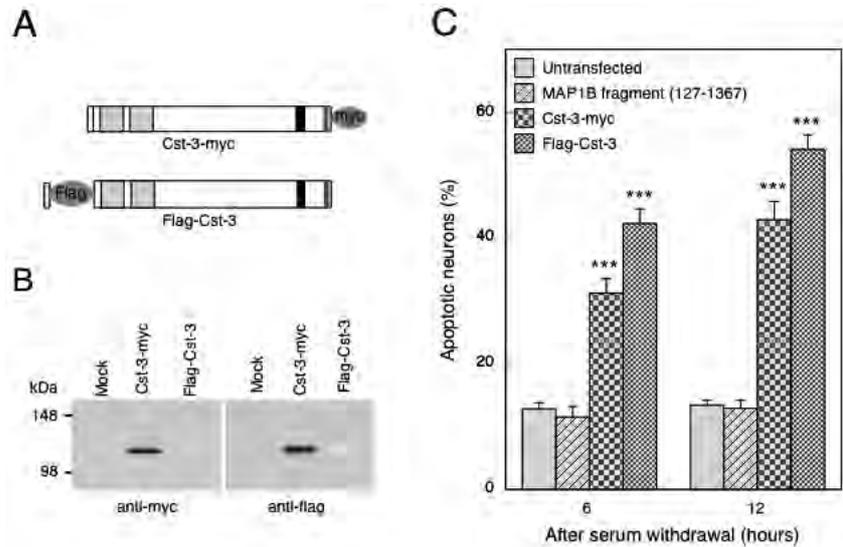


図5. Calsyntenin-3の過剰発現は培養大脳ニューロンを脆弱にする

(A) 使用した2種類のcalsyntenin-3 constructs

(B) Myc-tag付加したcalsyntenin-3とflag-tag付加したcalsyntenin-3の培養大脳ニューロンでの発現をWestern blottingで確認。

(C) Calsyntenin-3遺伝子導入による大脳ニューロン脆弱性の変化。培養大脳ニューロンにcalsyntenin-3遺伝子を導入し、血清除去により細胞死を誘導した。細胞死の指標として、核が濃縮・断片化したmyc-tagおよびflag-tag陽性ニューロンの数を数えた。

calsyntenin-3の過剰発現は、ニューロンの脆弱性を高めることが想像される。そこで、私たちは、myc-またはflag-tagをつけた calsyntenin-3 constructsを作製し、培養大脳ニューロンに導入し、その後、培地からの血清除去によって、細胞死を誘導させた。細胞死の指標として、Myc-またはflag-tagの付いたニューロンのうち、核が濃縮・断片化した細胞を数えた。その結果、calsyntenin-3を過剰発現したニューロンは、血清除去による細胞死に対し、脆弱であることが明らかとなった (図5)。

アルツハイマー病では、A β 斑は大脳皮質全体に沈着するのに対し、ニューロンの変性は、第2/3層と第5層 (錐体細胞) に出現する。これは、ニューロンによってA β に対する感受性が異なり、大脳皮質第2/3層と第5層のニューロンはA β 感受性が高いためではないかと推測される。そして、この感受性の違いは、ニューロン内の遺伝子発現の違いによって規定される可能性がある。Calsyntenin-3は、他のcalsynteninとは異なり、大脳皮質では第2/3層と第5層のニューロンに多く分布することから、calsyntenin-3を多く発現するニューロンがアルツハイマー病で変性しやすくなると考えてもおかしくはない。実際に、培養ニューロンでのcalsyntenin-3の過剰発現はニューロンの脆弱性を増加させ、また、ADマウスモデルでは、A β 斑周囲のニューロンの突起にcalsyntenin-3が蓄積していて、変性突起を形成していることは、この仮説の裏付けとなっていると考える。

2. Calsyntenin-3の代謝とその代謝産物の作用

Calsyntenin-3は他のcalsynteninと同様に、APPと類似した2段階の蛋白代謝を受けることが知られている (図6A) [17]。すなわち、 α -secretaseによって、まず、

細胞外ドメイン (N-末端側) sCst-3と、膜貫通部分を含むN-末端側断片 CTFに分解され、さらに、CTFは γ -secretaseによって、p3ペプチドと細胞内ドメインICDに分解される。sCst-3とp3ペプチドは細胞外(脳脊髄液中)に分泌され、CTFとICDは細胞内に残る。それでは、AB斑周囲の変性突起に沈着したcalsyntenin-3は、全長蛋白なのか、それとも、代謝産物CTFやICDなのか?さらに、calsyntenin-3の代謝産物も全長蛋白と同様に、その過剰発現によって、大脳ニューロンの脆弱性を増加させるのか?

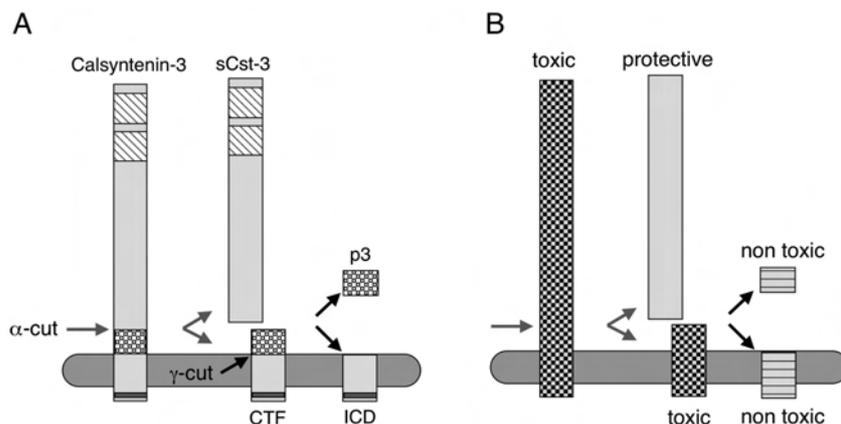


図6. Calsyntenin-3の代謝様式とその代謝産物の生理作用

(A) Calsyntenin-3の代謝様式 (文献17より改変)

(B) Calsyntenin-3の代謝産物の生理作用

(1) ADマウスモデルにおけるCalsyntenin-3の代謝[20]

私たちは、まず、マウス大脳でのcalsyntenin-3代謝をC-末端抗体を用いたWestern blottingによって調べた。若齢から老齢の近交系マウスC57B6では、全長calsyntenin-3量に加齢変化はないのに対し、CTF量は加齢に伴い減少していた。ICDに相当する位置にはバンドは認められなかった。そして、老齢Tg2576と老齢野生型マウスでのCTF量を比較したところ、Tg2576マウスではCTF量が有意に増加していることがわかった。全長calsyntenin-3量はTg2576と野生型との間で差はなかった。

次に、calsyntenin-3のN-末端細胞外ドメインを認識する抗体を入手し、老齢Tg2576と老齢野生型マウスに対し、immunofluorescenceを行った。この抗体は、C-末端部分の抗体とは異なり、野生型およびTg2576マウスの大脳皮質第2/3層と第5層のニューロンを染めるが、Tg2576マウスに見られるAB斑周囲の変性突起を染めないことがわかった。

以上の結果は、老齢Tg2576の大脳では、全長のcalsyntenin-3が増加しているのではなく、代謝産物CTFが、特に、AB斑周囲の変性突起で蓄積していることを示唆した。

(2) Calsyntenin-3の α -代謝産物、CTFの蓄積は、大脳ニューロンの脆弱性を増加させるが、CTFの γ -代謝産物は、大脳ニューロンの脆弱性を増加させない[20]

老齢Tg2576の大脳、特にAB斑周囲の変性突起にCTFが蓄積していることから、CTFがシナプスなどニューロンの突起を変性させている可能性がある。そこで私たちは、この点を確認するために、CTF constructやICD constructを作製し、EYFP vectorと共発現させ、それらの過剰発現が培養大脳ニューロンの脆弱性を増加させるかどうかを調べた。CTFの過剰発現は、全長calsyntenin-3のそれと同様に大脳ニューロンの脆弱性を増加させたが、ICDの過剰発現は、ニューロンの脆弱性を増加させなかった。また、p3 peptideを培地に添加して、神経毒性を調べたが、0.2~5 μ Mのp3 peptideに

は神経毒性は見られなかった (図 6B)。

以上の結果は、AB斑周囲のニューロンの突起に蓄積するCTFには神経毒性があり、それが変性突起を誘導することを示唆した。また、CTFを γ -切断すると神経毒性がみられなくなることから、障害からニューロンをrescueするためには、 γ -切断を促進することが必要であると考えた。

(3) Calsyntenin-3の α -代謝産物、sCst-3にはニューロンへの保護作用があり、CTFを過剰発現したニューロンの脆弱性を減少させる[20]。

それでは、Calsyntenin-3のもう一つの α -代謝産物、sCst-3にも神経毒性があるのか?私たちはCOS7細胞に発現させたsCst-3を精製し、培養大脳ニューロンを使い、その毒性を調べた。sCst-3には、5 nM以上の濃度で、

MTT還元能を上昇させ、ニューロン死を抑制することがわかった (図 6B)。さらに、全長calsyntenin-3やCTFを過剰発現したニューロンの脆弱性を減少させることも明らかとなった。

これらの結果は、APPの細胞外ドメインsAPPに神経保護作用があること[21-26]や、CASY-1の細胞外ドメインが学習記憶に必要であること[16]と、共通しており、興味深い。

3. おわりに

アルツハイマー病の最初期病変は、AB oligomerによるシナプス機能障害であることが確認されつつある。それでは、どのような分子機構で、シナプス機能障害がおこるのか?答えは、まだよくわかっていない。しかし、私たちが述べてきた、「AB oligomerによるcalsyntenin-3の選択的発現誘導があり、その代謝産物の蓄積がニューロンの突起を変性させる」という仮説が、AB oligomerによるシナプス機能障害を説明できるかもしれない。特に、calsyntenin-3が、アルツハイマー病で変性しやすいニューロンに多いことは、神経変性のregional specificityを説明できる可能性が高い。私たちはあえて、アルツハイマー病患者脳を研究対象とせず、変異

APPマウス脳を使い研究を進めてきた。このマウスではAB産生の増加とAB斑の出現、学習記憶障害が認められるものの、神経原線維変化やニューロンの脱落は見られない。そのため、「神経原線維変化を無視しているのは、けしからん」というお叱りを受けるかもしれない。しかし、神経原線維変化の出現より前に、すでに、シナプス機能の障害が起きており、その分子機構を探ることの方が重要と考えている。また、私たちが最初期病変にこだわったのは、後発病変の分子機構を探ろうとすると、得られた実験結果が、ある現象の原因なのか結果なのか判断に窮することが多いためでもある。

我々が使用した変異APPマウスでは、神経変性はAB斑周囲に限局している。そして、ABは、AB斑周囲のニューロンの突起に直接作用して毒性を発揮する[27]とされていることから、病変は次のような時系列でAB斑周囲のニューロンの突起に起きると考えられる。まず、AB斑周囲のニューロンでcalsyntenin-3が増加する→ α -secretaseによってcalsyntenin-3が代謝され、細胞内にCTFが残る→何らかの理由で γ -secretase活性が抑えられているため、ICDへの代謝が進まず、CTFが細胞内に蓄積する→CTFの蓄積がニューロンの突起を変性させる。この仮説は、「ニューロンの突起変性を阻止するためには、 α -secretaseと γ -secretaseを活性化させる必要がある」ことを示唆しており、これまでのアルツハイマー病治療薬の探索・開発に注意を喚起することになると思われる。

アルツハイマー病の根本治療薬として、 γ -secretase阻害剤 (GSI, ABの生成を抑制) が注目されて久しい。 γ -secretaseはAPPのみならずNotchの切断も阻害することから、GSIの副作用には注意が払われてきた。しかし、著明な副作用のないGSIとして期待が集まっていたSemagacestatは、第III相治験途中、病気の進行を遅らせることはできず、かえって認知機能の低下を引き起こすことがわかり、開発が中止された。ABの生成を抑制する薬物として γ -secretase阻害剤を探索することは理にかなっているのかもしれない。しかし、 γ -secretaseはAPPやNotchだけではなく、calsyntenin familyを含め、かなり多くの蛋白を基質としているため、 γ -secretaseがAPPを切断する場合にのみ働く γ -secretase modulatorでないという意味が無いと言える。そのためにも、APPやその類似蛋白 (calsyntenin familyを含む)の代謝調節機構全容の解明が待たれる。

引用文献

- 1 Hardy J: Amyloid, the presenilins and alzheimer's disease. Trends Neurosci 1997;20:558-559.
- 2 Chishti MA, Yang DS, Janus C, Phinney AL, Horne P, Pearson J, Strome R, Zuker N, Loukides J, French J, Turner S, Lozza G, Grilli M, Kunicki S, Morissette C, Paquette J, Gervais F, Bergeron C, Fraser PE, Carlson GA, George-Hyslop PS, Westaway D: Early-on-

set amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. J Biol Chem 2001;276:21562-21570.

- 3 Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, Carr T, Clemens J, Donaldson T, Gillespie F, et al.: Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing v717f beta-amyloid precursor protein. Nature 1995;373:523-527.
- 4 Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G: Correlative memory deficits, abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. Science 1996;274:99-102.
- 5 Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold KH, Mistl C, Rothacher S, Ledermann B, Burki K, Frey P, Paganetti PA, Waridel C, Calhoun ME, Jucker M, Probst A, Staufenbiel M, Sommer B: Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with alzheimer disease-like pathology. Proc Natl Acad Sci U S A 1997;94:13287-13292.
- 6 Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez-tur J, Hutton M, Buee L, Harigaya Y, Yager D, Morgan D, Gordon MN, Holcomb L, Refolo L, Zenk B, Hardy J, Younkin S: Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. Nature 1996;383:710-713.
- 7 Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, Wright K, Saad I, Mueller R, Morgan D, Sanders S, Zehr C, O'Campo K, Hardy J, Prada CM, Eckman C, Younkin S, Hsiao K, Duff K: Accelerated alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. Nat Med 1998;4:97-100.
- 8 Selkoe DJ: Alzheimer's disease is a synaptic failure. Science 2002;298:789-791.
- 9 Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, Beach T, Kurth JH, Rydel RE, Rogers J: Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in alzheimer's disease. Am J Pathol 1999;155:853-862.
- 10 McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL: Soluble pool of abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in alzheimer's disease. Ann Neurol 1999;46:860-866.

- 11 Vogt L, Schrimpf SP, Meskenaite V, Frischknecht R, Kinter J, Leone DP, Ziegler U, Sonderegger P: Calsyntenin-1, a proteolytically processed postsynaptic membrane protein with a cytoplasmic calcium-binding domain. *Mol Cell Neurosci* 2001;17:151-166.
- 12 Hintsch G, Zurlinden A, Meskenaite V, Steuble M, Fink-Widmer K, Kinter J, Sonderegger P: The calsyntenins—a family of postsynaptic membrane proteins with distinct neuronal expression patterns. *Mol Cell Neurosci* 2002;21:393-409.
- 13 Konecna A, Frischknecht R, Kinter J, Ludwig A, Steuble M, Meskenaite V, Indermuhle M, Engel M, Cen C, Mateos JM, Streit P, Sonderegger P: Calsyntenin-1 docks vesicular cargo to kinesin-1. *Mol Biol Cell* 2006;17:3651-3663.
- 14 Araki Y, Kawano T, Taru H, Saito Y, Wada S, Miyamoto K, Kobayashi H, Ishikawa HO, Ohsugi Y, Yamamoto T, Matsuno K, Kinjo M, Suzuki T: The novel cargo alcadein induces vesicle association of kinesin-1 motor components and activates axonal transport. *Embo J* 2007;26:1475-1486.
- 15 Hoerndli FJ, Walser M, Frohli Hoier E, de Quervain D, Papassotiropoulos A, Hajnal A: A conserved function of *c. Elegans* casy-1 calsyntenin in associative learning. *PLoS One* 2009;4:e4880.
- 16 Ikeda DD, Duan Y, Matsuki M, Kunitomo H, Hutter H, Hedgecock EM, Iino Y: Casy-1, an ortholog of calsyntenins/alcadeins, is essential for learning in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:5260-5265.
- 17 Hata S, Fujishige S, Araki Y, Kato N, Araseki M, Nishimura M, Hartmann D, Saftig P, Fahrholz F, Taniguchi M, Urakami K, Akatsu H, Martins RN, Yamamoto K, Maeda M, Yamamoto T, Nakaya T, Gandy S, Suzuki T: Alcadein cleavages by amyloid beta-precursor protein (app) alpha- and gamma-secretases generate small peptides, p3-als, indicating Alzheimer disease-related gamma-secretase dysfunction. *J Biol Chem* 2009;284:36024-36033.
- 18 Uchida Y, Nakano S, Gomi F, Takahashi H: Up-regulation of calsyntenin-3 by beta-amyloid increases vulnerability of cortical neurons. *FEBS Lett* 2011;585:651-656.
- 19 Koffie RM, Meyer-Luehmann M, Hashimoto T, Adams KW, Mielke ML, Garcia-Alloza M, Micheva KD, Smith SJ, Kim ML, Lee VM, Hyman BT, Spires-Jones TL: Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:4012-4017.
- 20 Uchida Y, Nakano S, Gomi F, Takahashi H: α - and γ -cleavage of calsyntenin-3 attenuates neurotoxicity of calsyntenin-3 overexpression by β -amyloid. 投稿中
- 21 Araki W, Kitaguchi N, Tokushima Y, Ishii K, Aratake H, Shimohama S, Nakamura S, Kimura J: Trophic effect of beta-amyloid precursor protein on cerebral cortical neurons in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:265-271.
- 22 Goodman Y, Mattson MP: Secreted forms of beta-amyloid precursor protein protect hippocampal neurons against amyloid beta-peptide-induced oxidative injury. *Exp Neurol* 1994;128:1-12.
- 23 Mattson MP, Cheng B, Culwell AR, Esch FS, Lieberburg I, Rydel RE: Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the beta-amyloid precursor protein. *Neuron* 1993;10:243-254.
- 24 Roch JM, Masliah E, Roch-Leveq AC, Sundsmo MP, Otero DA, Veinbergs I, Saitoh T: Increase of synaptic density and memory retention by a peptide representing the trophic domain of the amyloid beta/a4 protein precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:7450-7454.
- 25 Smith-Swintosky VL, Pettigrew LC, Craddock SD, Culwell AR, Rydel RE, Mattson MP: Secreted forms of beta-amyloid precursor protein protect against ischemic brain injury. *J Neurochem* 1994;63:781-784.
- 26 Stein TD, Anders NJ, DeCarli C, Chan SL, Mattson MP, Johnson JA: Neutralization of transthyretin reverses the neuroprotective effects of secreted amyloid precursor protein (app) in appsw mice resulting in tau phosphorylation and loss of hippocampal neurons: Support for the amyloid hypothesis. *J Neurosci* 2004;24:7707-7717.
- 27 Meyer-Luehmann M, Spires-Jones TL, Prada C, Garcia-Alloza M, de Calignon A, Rozkalne A, Koenigsknecht-Talboo J, Holtzman DM, Bacskai BJ, Hyman BT: Rapid appearance and local toxicity of amyloid-beta plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature* 2008;451:720-724.

Possible role of calsyntenin-3 accumulation in layer-specific vulnerability of cortical neurons in Alzheimer's disease.

Yoko Uchida

Molecular Neurobiology, Research Team for Functional Biogerontology,
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

Abstract

β -amyloid (A β) may play an important role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. However, a causal relationship between A β oligomers and layer-specific neurodegeneration has not been clarified. Here we review possible role of calsyntenin-3 in layer-specific vulnerability of cortical neurons in Alzheimer's disease. Calsyntenin-3 was cloned as a homolog of calsyntenin-1, which is type 1 transmembrane protein of cadherin superfamily and is found in the synaptic membrane in the adult brain. Little was known about the function and the regulation of calsyntenin-3, except its distribution in brain: calsyntenin-3 is distributed in large neurons in layers 2-3 and 5 of the cerebral cortex. Recently, we found that calsyntenin-3 is selectively up-regulated in cultured neurons treated with A β oligomers and in Tg2576 mice. Calsyntenin-3 immunoreactivity is accumulated in dystrophic neurites surrounding A β -plaques in Tg2576 mice. Overexpression of calsyntenin-3 in cultured cortical neurons increases in vulnerability of neurons. Calsyntenin-3 undergoes two-step proteolytic processing like amyloid precursor protein: The primary cleavage with α -secretase generates a N-terminal ectodomain and a C-terminal fragment. The C-terminal fragment is subsequently cleaved into p3 peptide and an intracellular domain by γ -secretase. We found that the C-terminal fragment increased in Tg2576 mouse brain, especially in dystrophic neurites surrounding A β plaques. Transfection experiments with calsyntenin-3 fragments revealed that the overexpression of the C-terminal fragment but not of the intracellular domain in cortical neurons resulted in the acceleration of neuronal death. The addition of p3 peptide to the culture medium did not accelerate neuronal death. Moreover, purified N-terminal ectodomain attenuated death of cortical neurons overexpressing the full length or C-terminal fragment of calsyntenin-3. These findings suggest that accumulation of neurotoxic C-terminal fragment in neurites surrounding A β plaques may lead to synaptic dysfunction. Proteolytic processing of calsyntenin-3 by α - and γ -secretase may attenuate neuronal dysfunction by A β .

Keywords: calsyntenin-3, β -amyloid, gene expression, neurotoxicity