

[11:20 – 11:50]

**Role of presenilin 2 mutation in neuronal cell death and differentiation:
implication in the Alzheimer's disease**

Jin Tae Hong, Ph.D.

College of Pharmacy, Chungbuk National University, 48, Gaeshin-dong,
Heungduk-gu, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

In many cases, Alzheimer's disease (AD) is associated with mutations in the genes encoding presenilin-1 (PS1) or presenilin-2 (PS2). These two proteins share a high degree of homology and are located primarily in the endoplasmic reticulum (ER). Recent findings indicate that PS plays an important role during normal brain development and neurogenesis. It has been demonstrated that the PS1 mutation increases neuronal cell death, and is associated with the attenuation of neuronal cell differentiation. In this study, alterations of neuronal cell differentiation and neuronal cell death induced by mutant PS2 were first investigated in neuronal cells expressing wild type or mutant type PS2. Progressive increases in differentiation and marker protein expression were found in neuronal cells expressing wild type PS2, whereas these processes were much perturbed in mutant type. Stably transfected PC12 cells and cortical neurons from transgenic mice expressing mutant PS2 (N141I) showed a significantly enhanced sensitivity to L-glutamate, A β ₂₅₋₃₅ and A β ₁₋₄₂ (ADDLs form) compared to cells expressing wild type PS2. Consistent with this result, much greater intracellular calcium levels and caspase-3 activity were found in PC12 cells and cortical neurons expressing mutant PS2 after treatment with L-glutamate, A β ₂₅₋₃₅ and A β ₁₋₄₂. In the next stage of study, we examined involvement of the ryanodine-receptor (RyR)-mediated disturbance of calcium homeostasis in the PS2 mutation-induced interference of neuronal cell differentiation and cell death. Double-labeling confocal micrographic and co-immunoprecipitation analyses showed that ryanodine receptor type 3 (RyR) and PS2 are colocalized in the endoplasmic reticulum (ER) in PC12 cells and in the brain of transgenic mice. The expression of RyR was much higher in neuron of cells expressing mutant PS2. Much greater intracellular calcium levels and caspase-3 activity were found in PC12 cells and cortical neurons expressing mutant PS2 after treatment with L-glutamate, A β ₂₅₋₃₅ and A β ₁₋₄₂. Moreover,

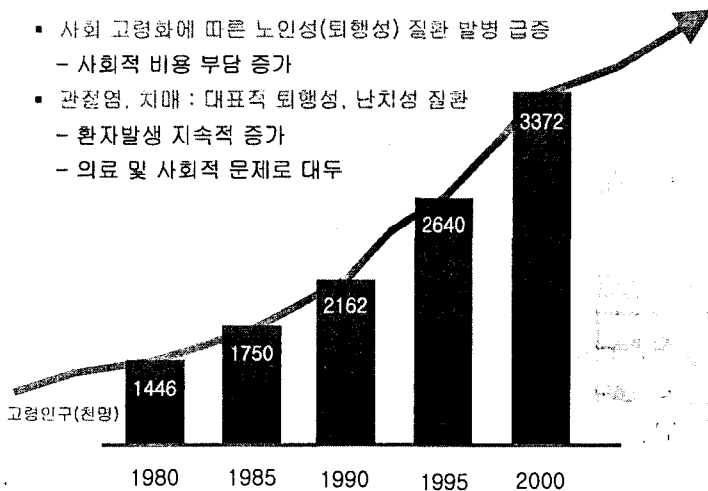
pretreatment with dantrolene, an agent that blocks calcium release from RyR, protected against the mutant PS2-enhanced neuronal cell death and caspase-3 activity as well as neuronal cell differentiation, but caffeine, an activator of RyR exacerbated PS2-mutation-induced interference with cell differentiation and cell death. Our results indicate that mutant PS2 inhibits normal neuronal cell differentiation and induces cell death, and that RyR-mediated calcium over-release may be a significant factor. The present data indicate that RyR-mediated increase of intracellular calcium levels in the neuronal cells expressing mutant PS2 may be an important neurotoxic mechanism, and thus implicate in the development and/or progress of AD.

Role of presenilin 2 mutation in neuronal cell death and differentiation: implication in the Alzheimer's disease

충북대학교 약학대학
홍진태

고령화 사회 진입

- 사회 고령화에 따른 노인성(퇴행성) 질환 발병 급증
 - 사회적 비용 부담 증가
- 관장영, 치매 : 대표적 퇴행성, 난치성 질환
 - 환자발생 지속적 증가
 - 의료 및 사회적 문제로 대두

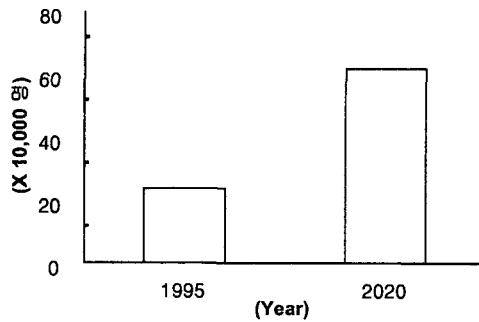


치매: 노인 인구의 증가추이



연령	2000 (고령화사회)	2002	2019 (고령사회)	2026 (초고령사회)
전체인구수	47,008	47,640	50,619	50,610
65세 이상 인구수	3,395	3,772	7,314	10,113
65세 이상 노인의 비율 (%)	7.2	7.9	14.4	20.0
노년부양비	10.1	11.1	20.2	29.7
노령화지수	34.3	38.5	102.3	155.2

치매환자수

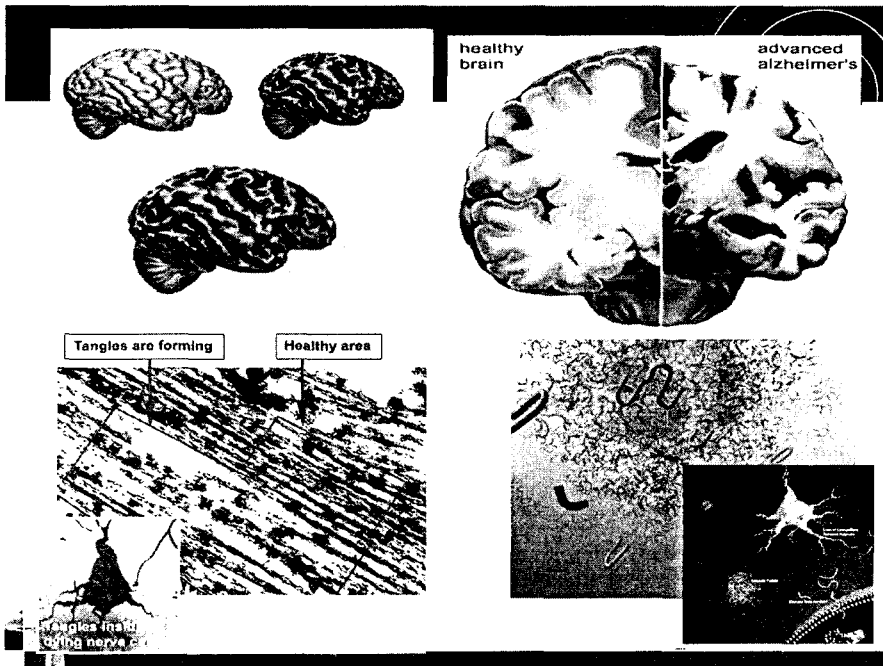


한국보건사회연구원 (1995)
(>65 old human 중)

치매



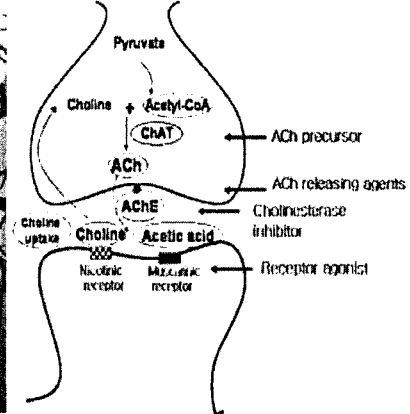
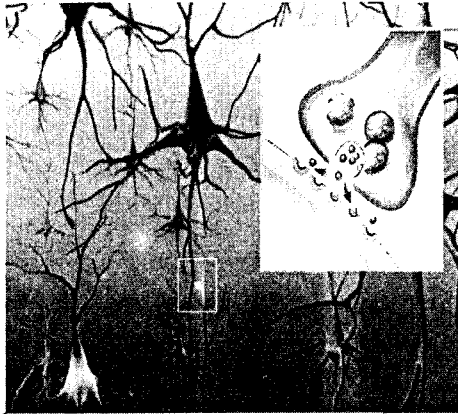
- 고령화 사회-치매환자의 급증
- 치매 유형의 60%가 알츠하이머 형(AD) 치매
- 미국 AD 치매환자 400만명 (65세 이상 10.3%)
- 의료비 지출 연간 1,000억 달러
- 국내 AD 치매 환자 : 30여만명
- 증상 완화제는 있으나 치료제가 없는 실정



Acetylcholine 결핍

□ Acetylcholine esterase synaptic cleft에서 acetylcholine을 분해하는 효소.

알츠하이머 환자의 뇌에 콜린성 신경계가 손상되어 있어 acetylcholine 농도 유지 필요



치매의 종류

• 알츠하이머병

- 퇴행성치매 중 가장 문제가 되는 것으로 이는 후기 단계까지 뚜렷한 신체적 증세없이 진행되는 전행성 신경퇴행성 질병으로 원인불명의 뇌의 전반적인 위축과 특유의 조직학적 소견을 나타낸다. 초기에는 기억력 장애만이 유일한 증세이거나 무감동, 일관성결여, 사회로부터의 은둔 등 미묘한 인격변화가 온다. 후기로 갈수록 행동과 인격이 영향을 받아 주의력 결여, 지능감퇴, 기억력과 판단력 및 추상적 사고의 장애를 보이게 되며 결국 점차 자신을 돌볼 수 없는 상태로 사망하게 된다. 이 질병은 80대에 그 발생빈도가 정점을 이루고 발병 5년 이내에 그 80%가 사망한다.

• 뇌혈관성치매

- 뇌혈관성치매는 뇌졸중이 반복되어 일어남으로써 뇌의 여러 부위에 뇌경색이 생겨 인지기능의 장애를 일으키는 것을 말한다. 고혈압, 당뇨, 신장질환, 흡연 등은 뇌혈관에 혈전증이나 색전증을 일으켜 뇌경색이 되기 쉽기 때문에 혈관성 치매의 위험요인으로 거론되고 있다. 임상적으로 알츠하이머병과는 달리 갑자기 발병하고 치매가 나타나기 전에 한 번 이상 뇌졸중을 경험한다. 뇌혈관성 치매는 가역적인 경우가 많고 예방으로 치매에 걸리지 않을 수 있다. 따라서 다른 치매보다 더욱 주의를 필요로 한다.

• 파킨슨병

- 파킨슨병은 정확한 기전은 알 수 없으나 도파민 (dopamin) 결핍상태로 나타난다고 보고되고 있다. 이 질병은 뇌의 기저핵에서 도파민이라는 신경전달물질이 저하되어 생기는 것으로 떨림 (tremor), 경직 (rigidity), 서동 (bradykinesia)을 특징적으로 보인다. 파킨슨병은 50세 이하에서는 거의 발병하지 않으나 연령이 증가함에 따라 파킨슨병의 발현율이 증가하며 이 병을 가진 환자의 25-40%에서 치매증상을 보인다.



The most common form of dementia
Acetylcholine ↓

β-Amyloid desposition ↑
presenilin 변형 ↑
Inflammatory response ↑
Disruption of Neurite ↑
Neuronal loss and synaptic changes



기억력 상실, 판단능 결여

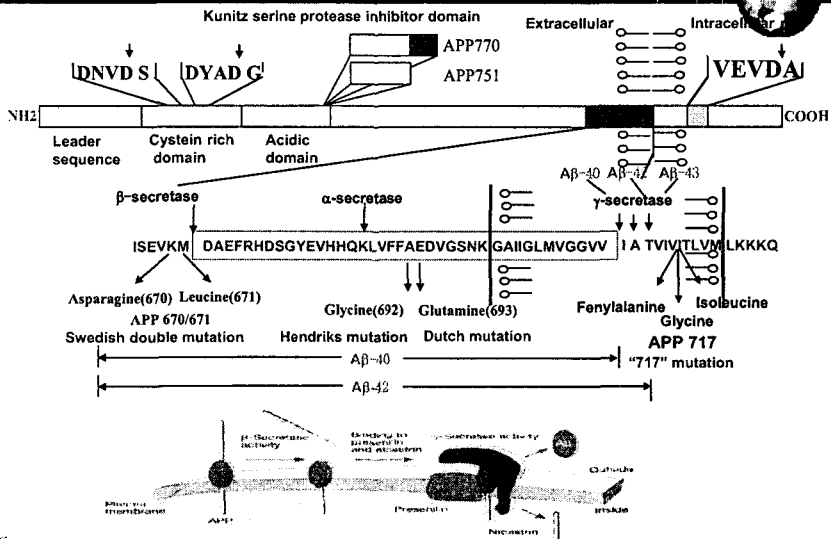
Beta-amyloid 원인



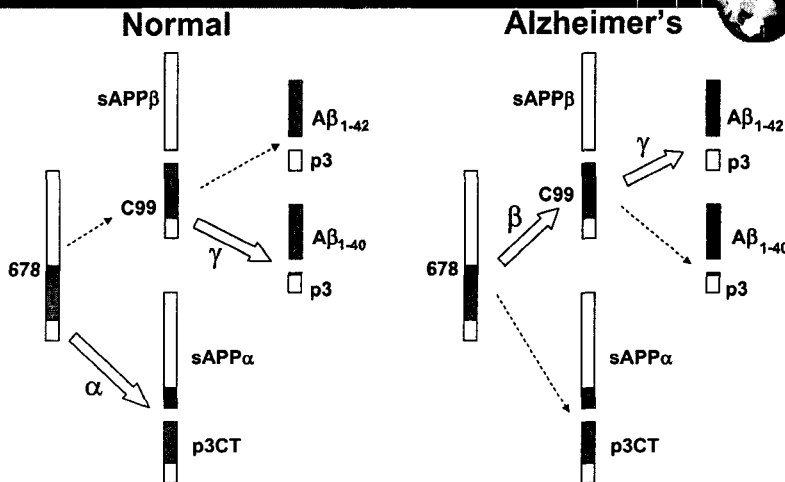
- β-amyloid deposition
 - AD 환자에서 축적
 - Amyloid precursor protein (mutation)

- β-amyloid is toxic to neuron

Schematic Representation of amyloid precursor protein (APP) and β -amyloid protein



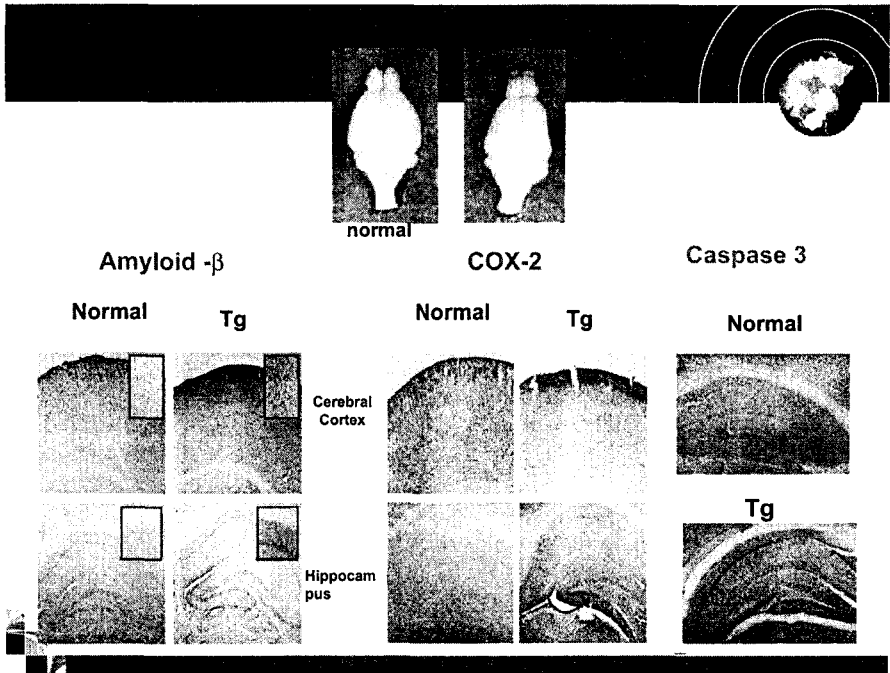
Beta amyloid 형성 기작



Genes in Alzheimer's Disease

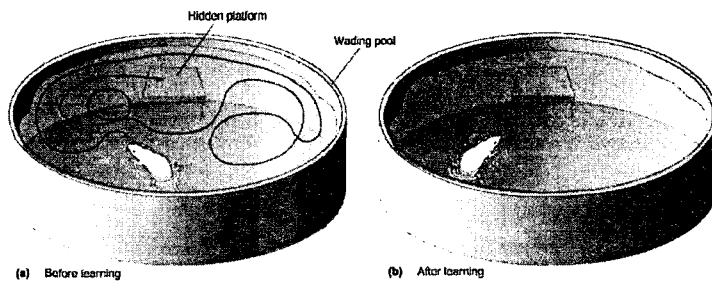
AD	Gene	%	Chromosome	Amino acid	Age of onset
Early onset	β -amyloid precursor (APP)	10	21	695 714 751 770	43-62
	Presenilin-1 (PS-1)	70-80	14	467	29-62
	Presenilin-2 (PS-2)		1	448	40-88
Late onset	Apolipoprotein (ApoE4)	50	19	299	>60

- How mutation of presenilin 2 is related with the development of AD

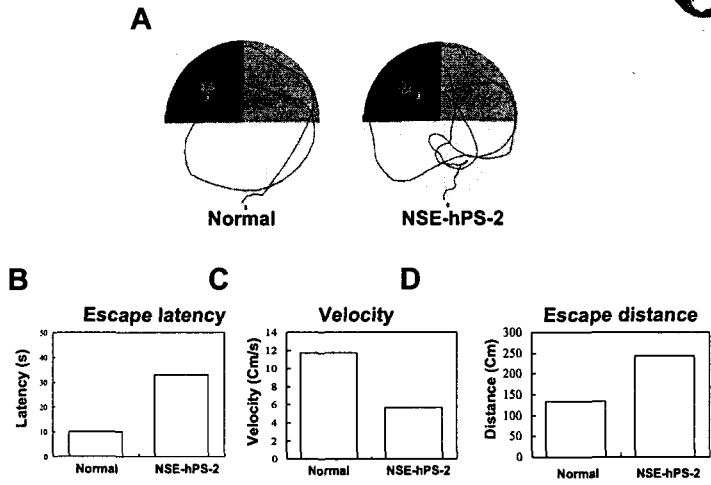


Morris Water Maze

회 훈련 후 platform에 도달할 때까지의 시간 및 거리 측정

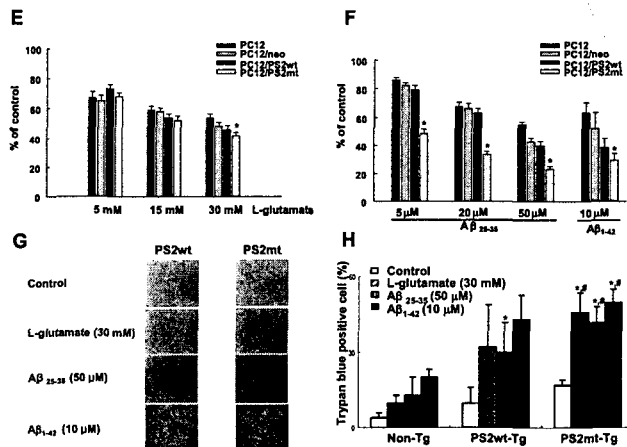


Swimming Pattern

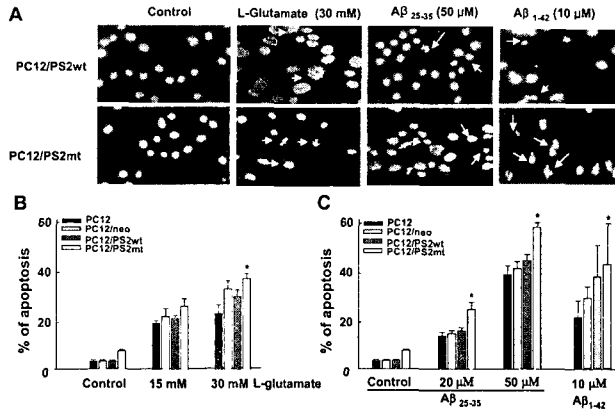


Hwang et al., 2002, FASEB, J

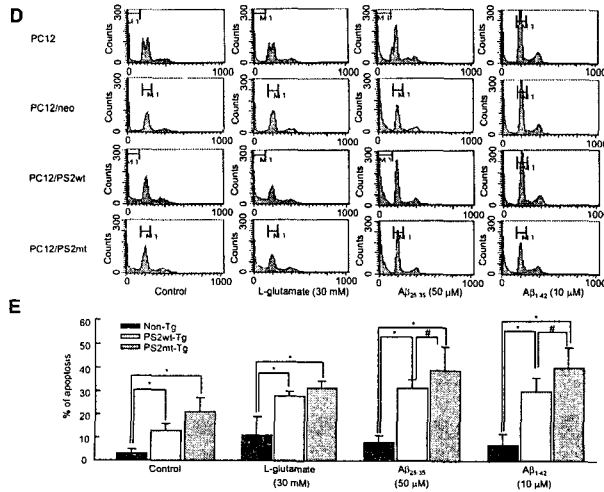
Viability of PC12, PC12/neo, PC12/PS2wt and PC12/PS2mt cells, and of cortical neurons expressing wild type and mutant PS2, after treatment with L-glutamate and A β



PC12 cells expressing mutant PS2 exhibit increased vulnerability to cell death induced by L-glutamate and A β

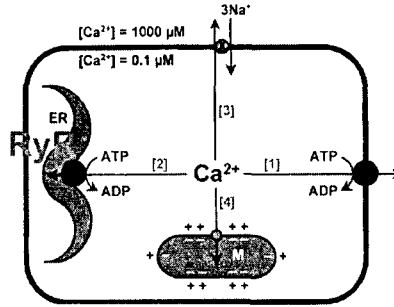


PC12 cells expressing mutant PS2 exhibit increased vulnerability to cell death induced by L-glutamate and A β



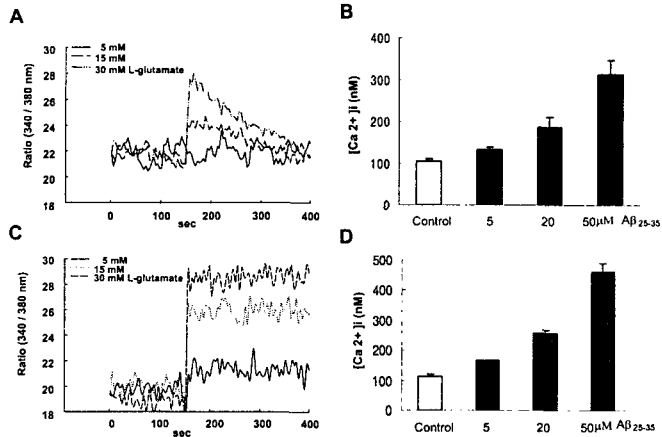
Role of PS2 in the calcium regulation by RyR

Calcium homeostasis

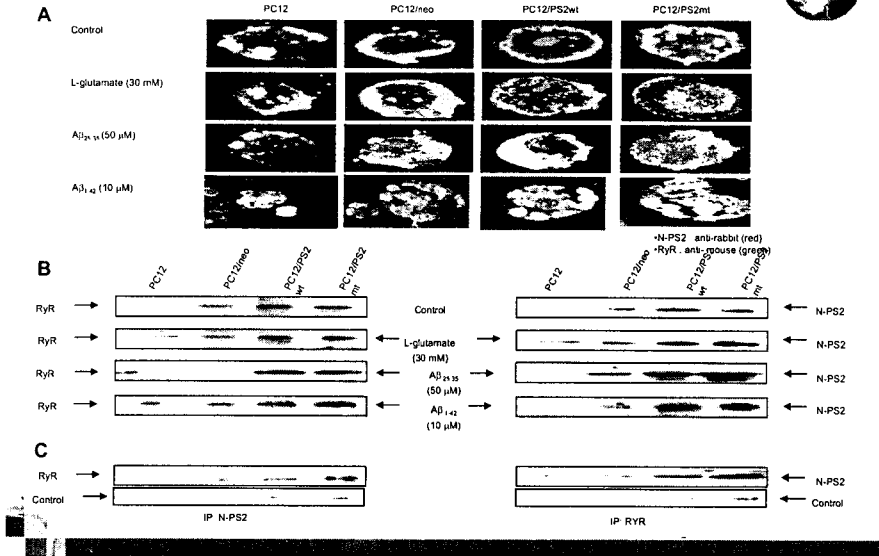


Neuronal cell death

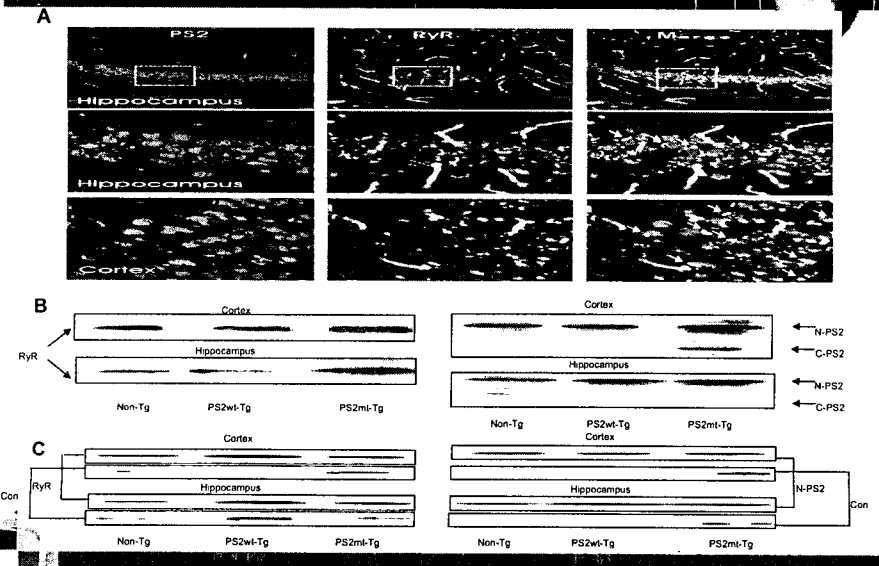
Calcium responses to L-glutamate and Aβ are significantly enhanced in PC12 cells and cortical neurons expressing mutant PS2



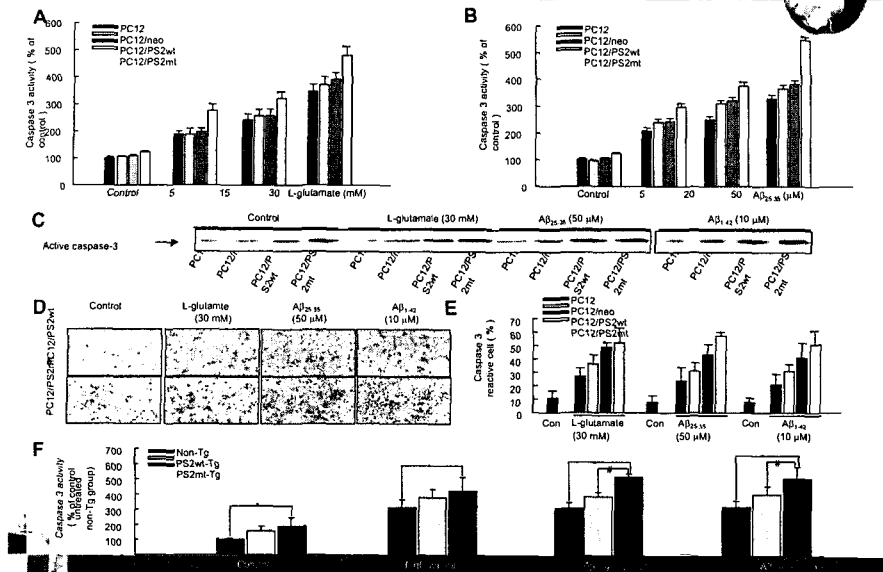
Expression of RyR protein and colocalization with PS2 in mouse brain expressing PS2



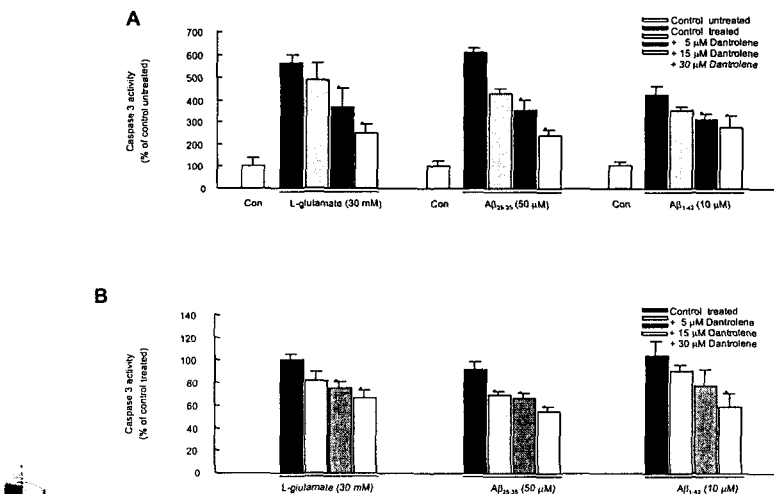
Expression of RyR protein and colocalization with PS2 in mouse brain expressing PS2



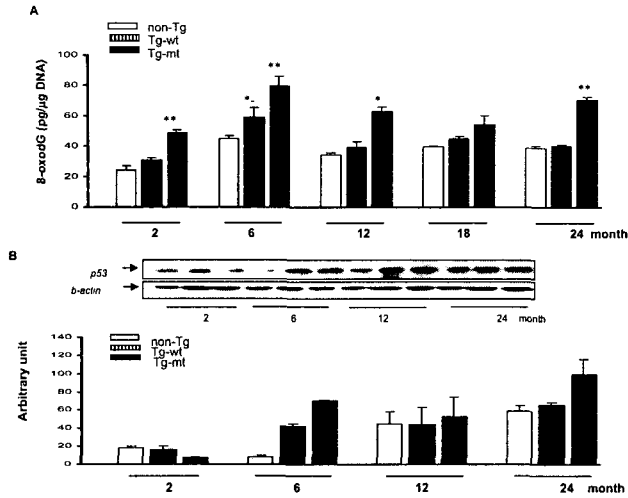
Activation of caspase 3 by PS2 mutation



Ryanodine receptor is involved in caspase-3 mediated neuronal cell death

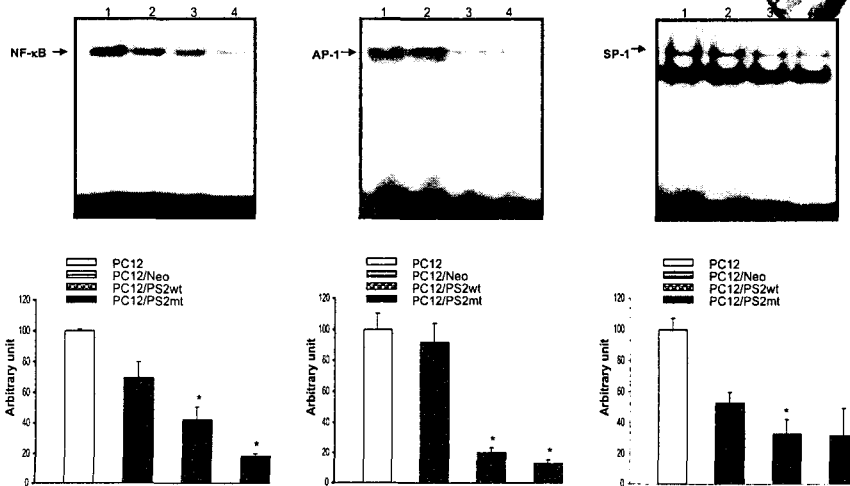


8-oxodG formation and p53 expression



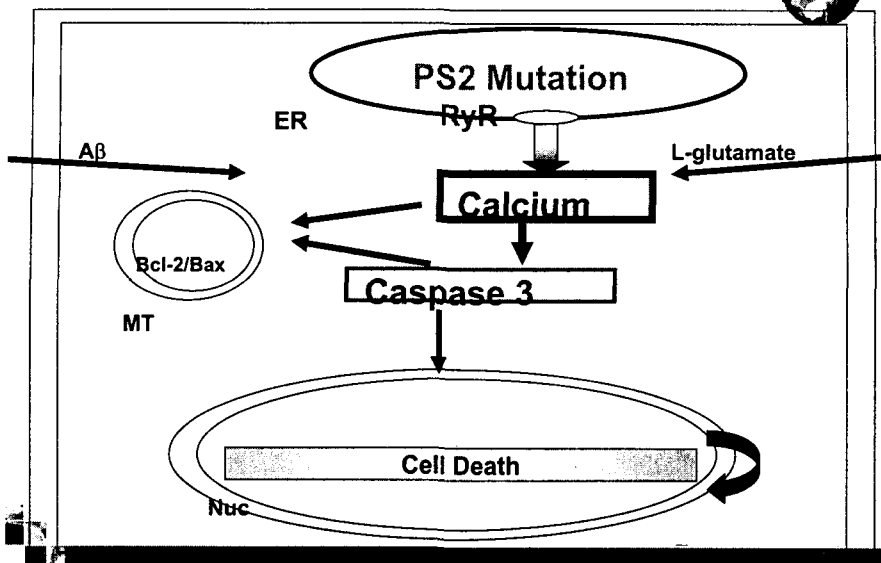
BBRC, 2006

PS2 mutation decrease activation of transcription factors



Neuroreport, 2005

Possible mechanism of PS2-mediated neuronal cell death

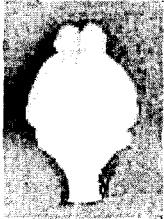


Neurotoxic mechanisms of PS2 mutation

- PS2 mutation과 AD 관계 규명
- PS2 mutation와 ryanodine receptor-mediated calcium release에 의한 caspase-3 활성화와 신경 세포 죽음 관련성 규명 (Lee et al., FASEB J, 2005)



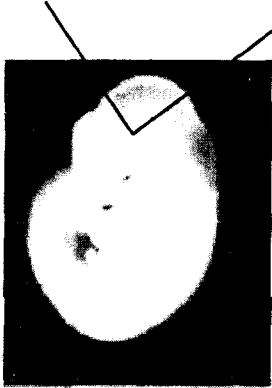
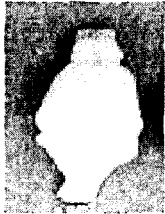
Normal



Neurogenesis ↓



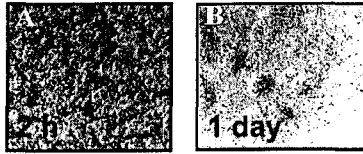
PS 2 mutant Tg



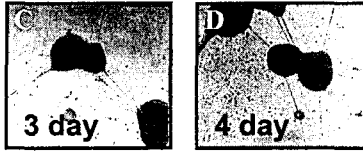
GD 18 day embryo



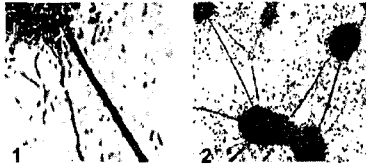
Embryonic brain cell differentiation



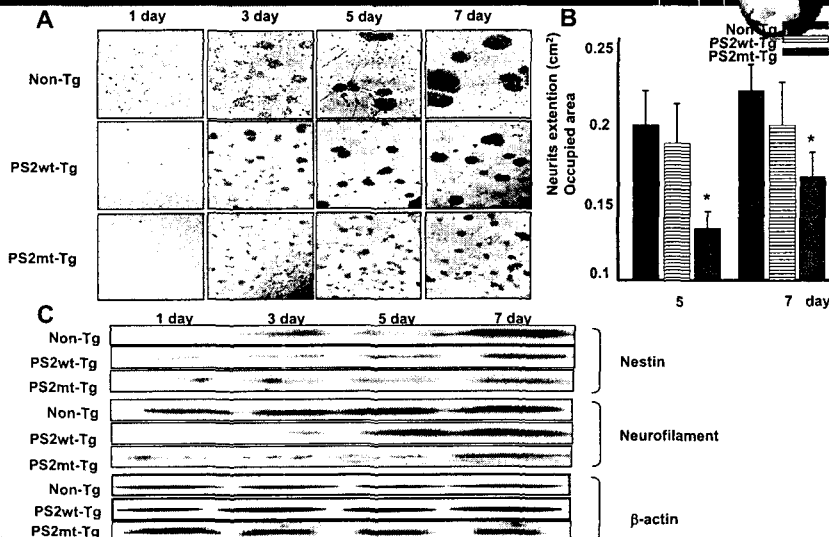
Differentiated foci

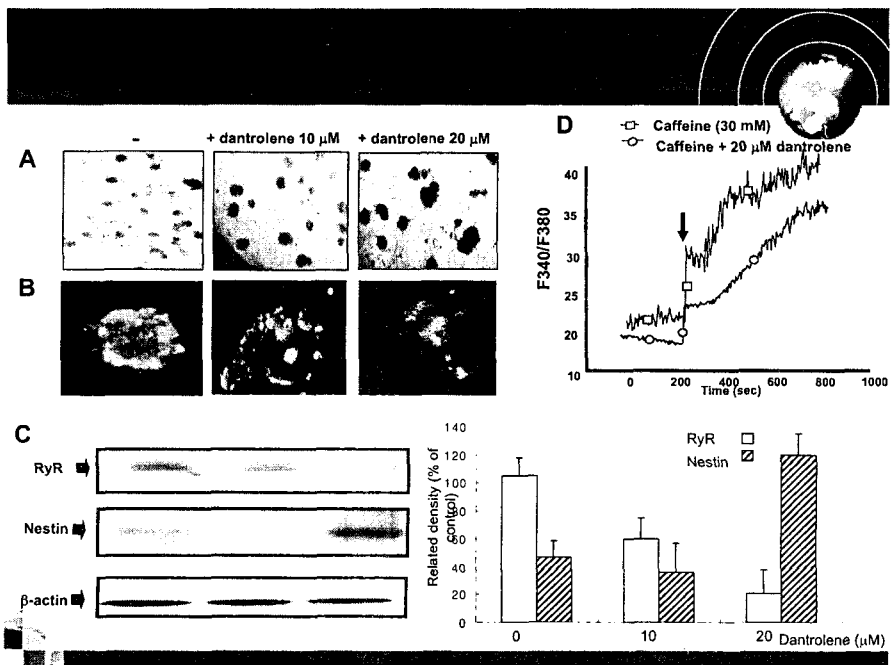
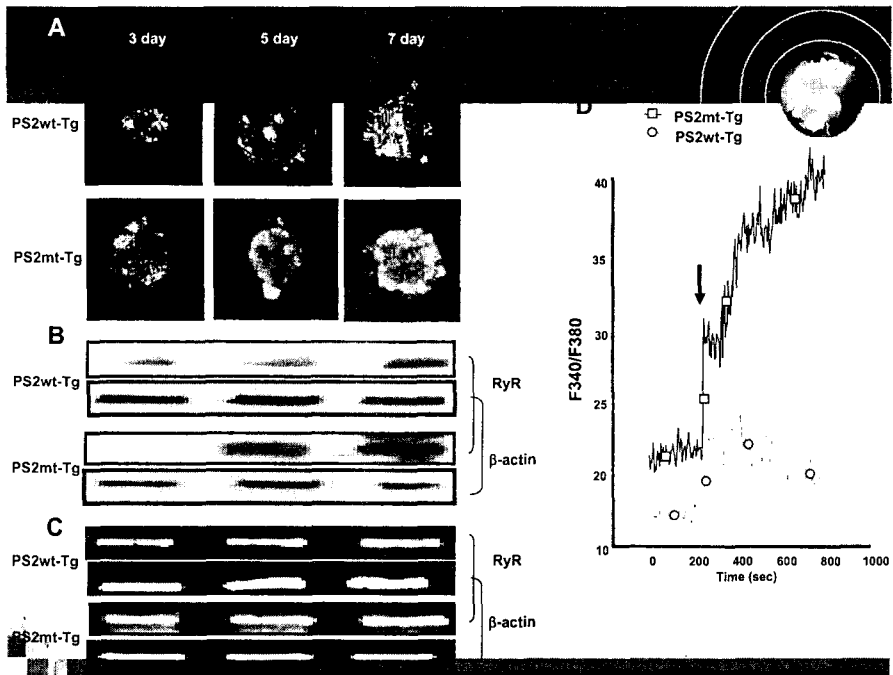


Neurofilament

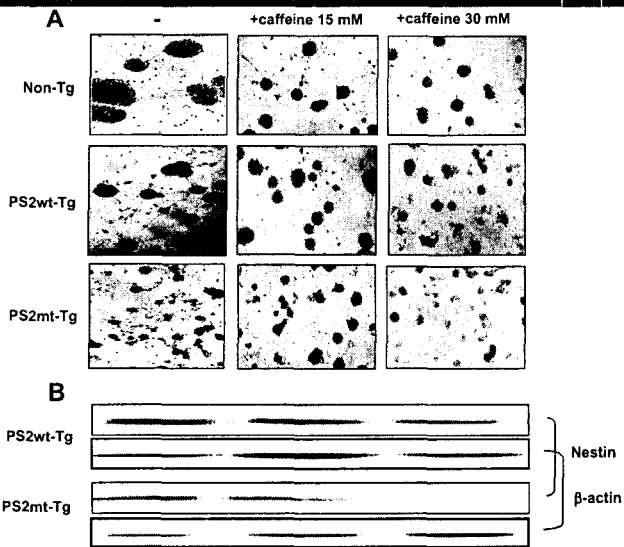


Mutation of PS2 interferes embryonic neuronal cell differentiation





Effect of caffeine



Neurotoxic mechanisms of PS2 mutation

- PS2 mutation과 AD 관계 규명
- PS2 mutation와 ryanodine receptor-mediated calcium release에 의한 neurogenesis 의 저해 (Lee et al., JNR, 2005)

이러면 치매를 의심하세요!



- 기억력이 옛날 같지 않다.
- 성폭행을 한다고??
- 다리에 기운이 빠진 걸까?
- 10년 전 일을 마치 어제 일처럼 이야기한다.
- 말씀하시는 것이 이상해졌네...
- 없는 말을 꾸며낸다.
- 집에는 어느 길로 가야 하지?
- 이상한 물건을 먹는다.
- 시도 때도 없이 집을 나가 헤맨다.
- 무엇이든 내 물건이다.
- 빨간 불이 무엇이야?
- 죽은 사람을 본다.
- 섬을 잘 못하게 된다.
- 불을 낼 뻔하였다.
- 사람이 변했어!
- 대·소변을 실수하고 대변을 똥간다.
- 동네에서는 미쳤다고 해요.



치매를 예방할 수 있는 생활 수칙



- 1) 머리를 써라. 하루 1시간 이상 바둑, 장기를 두거나 2시간 이상 책을 읽어라.
친구나 친구 이름 산이나 강의 이름을 100개 이상을 매일 3회 정도 암기하는 훈련을 하라.
- 2) 매일 일기를 써라.
- 3) 왼손과 왼발(왼손잡이는 오른손과 오른발)을 많이 사용하여 고르게 발전시켜라.
- 4) 스포츠와 같이 정신적, 육체적 긴장과 이완이 반복되는 취미생활을 즐겨하라.
- 5) 한 달에 한 번 이상 음악이나 미술 작품을 감상하라.
- 6) 하루에 3번 이상 10분씩 정신수양을 하거나 공상을 즐겨라.
- 7) 항상 웃는 표정을 지어라.
- 8) 혼자서 지내는 시간을 가급적 줄여라.
- 9) 머리에 충격이 가지 않도록 보호하라.
- 10) 알코올의 섭취를 최대한으로 줄여라.
- 11) 알루미늄으로 된 식기의 사용을 줄이고 알루미늄이 많이 함유된 제산제(위산 중화제)의 복용을 삼가라.
- 12) 산이나 호숫가, 바닷가와 같이 음이온이 풍부한 맑은 공기를 1주일에 2시간 이상 호흡하라.
- 13) 하루에 6시간 수면을 취하며 뇌를 쉬게 하라.
- 14) 세포의 산화를 방지하는 효과가 있는 비타민 A, C, E를 매일 복용하고 섬유질이 함유된 신선한 채소와 과일을 많이 섭취하라.
- 15) 고혈압, 심장병, 고지혈증, 당뇨병과 같은 성인병을 조기 발견하고 적절히 치료하라.

치매 치료제 (약물요법)

타크린

매우 심각한 간독성으로
사용금지 추세



← Acetylcholine esterase inhibitor

아리셉트

피로, 현기증, 근육경련, 구토, 설사



엑셀론

구토, 설사, 소화불량, 현기증,
초조, 마비, 발한, 진전,
호흡기와 생식기계 감염,
협심증, 위장관계 출혈, 실신



레미닐

라멘다

은행잎추출물 (타나민)

이데베는

→ 새로운 개념의 치매 치료제 도입 필요

지금까지의 치료제 개발연구 방향

- Acetylcholine의 양을 증강시키는 작용기전 이용

현재 알츠하이머 치료제로 시판되고 있는 약물인 Aricept, Cognex, Exelon, Reminyl들이 이에 해당된다. 그러나 실제 임상에서 의사들은 이들 약물의 유효성 (effectiveness)에 우려를 표하고 있고, 환자의 45%가 초기 약물치료에 실패하고 있으며, 설사 치료가 성공적이라 하더라도 이들 약물은 단지 알츠하이머병의 심각한 증상의 발현을 지연시킬 뿐 장기적으로는 효과가 없다고 평가되고 있다. 따라서 현재의 약물 치료법으로는 충족되지 않는 의료 수요를 만족시킬 새로운 획기적인 치료법이 절실한 상황이다.



- Beta amyloid plaques의 생성 억제

알츠하이머병을 치료하는데 가장 유망한 접근법은 알츠하이머병 환자의 두뇌에서 특징적으로 나타나는 베타 아밀로이드 플라그의 생성을 막는 것이다. 많은 연구자들이 이 플라그가 뉴런 신경세포 (neuronal cell)의 손실 및 치매의 발현을 유도한다는 데 동의하고 있으며, 이에 따라 두뇌에서 베타 아밀로이드 수치와 이의 축적을 감소시킴으로써 알츠하이머병의 진행을 막을 수 있다고 믿고 있다. 현재 외국의 많은 연구소에서 베타 아밀로이드 플라그의 형성을 억제할 수 있는 물질을 찾기 위한 연구를 진행 중에 있다.

치매를 주제로 한 영화 #3 : 뽀띠 마르땅 (Le Monde de Marty) 2001년 작

- 영화 제목 : 뽀띠 마르땅 (Le Monde de Marty)
- 줄거리
전직 비밀정보원 앙투안은 기억이나 거동은 물론 말조차 할 수 없는 황실대의 알츠하이머병 환자다. 매일 병문안 오는 아내는 앙투안 앞에 TV를 틀어주곤 잠들기 일쑤. "이 제나 저제나" 죽음을 기다리는 앙투안에게 어느 날 뽀띠 머리 꼬마 마르땅이 쳐들어와 TV 위의 저금통을 들고 TV 전 원까지 끈다. "저 스킨헤드족 같은 놈은 뭐야?" 앙투안은 꼬마 침입자에게 격렬하게 반항하지만 말 못하는 그에게 이 건 어디까지나 독백일 뿐이다.
뽀띠 마르땅은 늦가을에 문득 찾아온 '인디언 썸머'처럼 인생의 가장 찬란한 순간을 함께 한 노인과 꼬마의 이야기다. 알츠하이머 병을 앓고 있어 기억을 잃어버린 앙투안에게는 마르땅과 함께 울고 웃었던 하얀 병동의 추억이 전부다. 여승무원인 할머니 밑에서 자라 장난감하고만 놀아온 마르땅에게 자신을 귀찮아하지 않던(귀찮다는 표현을 할 수 없는) 앙투안은 유일한 친구. 영화의 마지막, 마르땅은 앙투안을 바닷가에 데려간다. 앙투안은 피아노를 치던 병어리 아다처럼 휠체어를 지키고 있고, 마르땅은 플로라처럼 해변에서 춤춘다. <피아노>의 모녀처럼 그들이 친구 이상으로 느껴지는 장면이다.

영롱한 꼬마의 출연!!
앙투안 인생의 비상사태!!



유쾌한 침입자
뽀띠 마르땅
Le Monde de Marty

치매를 주제로 한 영화 #2 : 뽀띠 마르땅 (Le Monde de Marty) 2001년 작





감사합니다

