

Heiko Runz
Dr. med.

Einfluss der subzellulären Verteilung von Cholesterin auf die Prozessierung des Alzheimer Amyloid-Vorläuferproteins

Geboren am 18.01.1975 in Heidelberg
Staatsexamen am 27.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. F. G. Wieland

Die Alzheimer Krankheit ist eine häufige neurodegenerative Erkrankung, die bevorzugt im Alter auftritt und mit einem zunehmendem Verlust von Gedächtnisfunktionen und kognitiven Fähigkeiten einhergeht. Von zentraler Bedeutung für die Pathogenese ist eine veränderte proteolytische Freisetzung von Amyloid- β ($A\beta$) aus dem Amyloid-Vorläufer Protein (APP), für die die Aktivitäten zweier Proteasen, β - und γ -Sekretase, erforderlich sind. Starke Evidenzen sprechen für eine Beeinflussung der Sekretaseaktivitäten durch Cholesterin. Die zellulären Mechanismen, wie Cholesterin die $A\beta$ -Bildung beeinflusst, sind bisher jedoch ungeklärt.

Die Arbeitshypothese der vorliegenden Arbeit war, dass Veränderungen subzellulärer Cholesterin-Pools für den Zusammenhang zwischen Cholesterin und der Entstehung von $A\beta$ verantwortlich sein könnten. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die intrazelluläre Verteilung von Cholesterin einen erheblichen Einfluss sowohl auf die Prozessierung von APP, als auch auf die subzelluläre Lokalisation der γ -Sekretase-assoziierten Preseniline (PS) ausübt. Sie bestätigen frühere Befunde einer bedeutenden Rolle des zellulären Cholesterin-Haushalts auf die Bildung von $A\beta$ und beschreiben erstmals einen Zusammenhang zwischen PS, der Prozessierung von APP und dem intrazellulären Cholesterin-Transport.

In neuronalen Zellen war nur ein geringer Anteil an zellulärem APP, dem β -Sekretaseprodukt und Substrat für die $A\beta$ -Bildung C99/ β CTF oder intrazellulärem $A\beta$ mit cholesterin- und sphingolipidreichen Membransubdomänen (sog. „Lipid Rafts“) assoziiert. Dagegen wiesen PS-defiziente Fibroblasten signifikante Veränderungen im zellulären Sphingolipidstoffwechsel auf, die mit der Expression von PS korrelierten. Der Sphingolipidgehalt zellulärer Membranen geht mit erheblichen Auswirkungen auf die intrazelluläre Verteilung von internalisiertem Cholesterin einher. In der vorliegenden Arbeit wurde daher insbesondere ein möglicher Zusammenhang zwischen der Prozessierung von APP und einem gestörten Cholesterintransport von spät-endosomalen/lysosomalen Kompartimenten zum Endoplasmatischen Retikulum (ER) untersucht. Die Behandlung von neuronalen Zellen mit Cholesterintransport-hemmenden Substanzen wie U18666A und Imipramin führte zu einer deutlichen Inhibition der β -Spaltung von APP. Im Gegensatz dazu war die γ -Sekretaseaktivität an APP-carboxyterminalen Fragmenten signifikant erhöht, was bei inhibiertem Cholesterintransport in einer dramatisch gesteigerten Bildung von $A\beta$ 40 und $A\beta$ 42 resultierte. Überraschenderweise erfolgte unter diesen Bedingungen eine zelluläre Umverteilung von PS1 und PS2 in Rab7-positive vesikuläre Strukturen, die sich den Cholesterin-gefüllten, Lamp1- und LBPA-haltigen Späten Endosomen unmittelbar anlagerten.

Eine subzelluläre Umverteilung von PS erfolgte sowohl in NPC1-defizienten CHO-Zellen mit einem inhibierten Cholesterintransport, als auch in Neuroblastomzellen und hippocampalen Neuronen, die mit der transportinhibierenden Substanz U18666A behandelt worden waren. Da auch A β 42 in PS1-positiven vesikulären Kompartimenten nachzuweisen war, dürften diese, für einen regelrechten intrazellulären Transport von Cholesterin bedeutsamen Kompartimente ein wichtiger Ort einer zur Bildung von A β führenden γ -Sekretase-Aktivität darstellen.

Durch die vorliegende Arbeit konnte ein bisher unbekannter Zusammenhang zwischen intrazellulärem Cholesterintransport, der Bildung von A β und der Lokalisation von PS festgestellt werden. Die dargestellten Ergebnisse sprechen für einen lipidabhängig regulierten zellulären Transport von PS zwischen dem ER und spät-endosomalen/lysosomalen Kompartimenten als Orten einer zur A β -Bildung führenden γ -Sekretaseaktivität. Sie zeigen, dass die subzelluläre Verteilung von Cholesterin ein entscheidender Faktor dafür sein könnte, wie Cholesterin die Bildung von A β und das Risiko der Entstehung der Alzheimer'schen Krankheit beeinflusst.