

Université de Montréal

**Implication du domaine intracellulaire du précurseur de la protéine amyloïde dans
la modulation de la plasticité synaptique**

Par Émilie Trillaud-Doppia

Département de Neurosciences
Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de *philosophiae doctor*
en Sciences Neurologiques

Avril 2016

© Émilie Trillaud-Doppia, 2016

RÉSUMÉ

La maladie d'Alzheimer est la forme la plus commune de démence liée au vieillissement ; elle est caractérisée par des déficits précoces d'apprentissage et de mémorisation et entraîne à terme une perte généralisée des fonctions cognitives supérieures. Alors que l'amyloïde-bêta ($A\beta$) et la protéine tau sont traditionnellement associées au développement de la maladie d'Alzheimer, des études récentes suggèrent que d'autres facteurs, tels que le domaine intracellulaire (APP-ICD) du précurseur de la protéine amyloïde (APP), pourraient jouer un rôle.

Dans notre étude, nous avons testé si l'APP-ICD pourrait affecter les mécanismes de transmission ou de plasticité synaptique dans l'hippocampe, qui sous-tendent les processus d'apprentissage et de mémorisation. Nos résultats ont indiqué que la surexpression de l'APP-ICD dans des neurones du CA1 de l'hippocampe entraînait une diminution de la transmission synaptique dépendante des récepteurs AMPA et NMDA. Notre étude a montré que cet effet était spécifique de l'APP-ICD puisque son plus proche homologue l'APLP2-ICD n'a pas eu cet effet. De plus, l'APP-ICD entraînait un blocage de la potentialisation à long terme (LTP), une augmentation de l'expression et une facilitation de l'induction de la dépression à long terme (LTD), mais l'APLP2-ICD n'a eu aucun de ces effets.

Notre étude a montré que cette différence observée en transmission et en plasticité synaptique entre les deux peptides réside dans le changement d'une seule alanine dans l'APP-ICD pour une proline dans l'APLP2-ICD, et que l'APP(PAV)-ICD n'avait pas d'effet sur la plasticité synaptique. Nous avons aussi démontré que l'APLP2(AAV)-ICD mimait l'effet de l'APP-ICD pour la facilitation de la LTD.

Ensuite nous avons montré que la longue forme APP-APLP2-APP (APP avec un changement de la séquence de l' $A\beta$ pour celle homologue de l'APLP2) ne montrait pas d'effet en comparaison avec l'APP-ICD, ni sur la transmission synaptique ni sur la plasticité synaptique. Cependant, en activant le clivage par les caspases préalablement à l'induction de la LTD ou la LTP, nous avons observé une facilitation de la LTD et un

blocage de la LTP avec l'APP-APLP2-APP, des effets que nous n'avons pas reproduit avec la longue forme APLP2. La thréonine 668 phosphorylable se trouve immédiatement après l'alanine et le site de clivage par les caspases dans l'APP-APLP2-APP. La mutation de la Thr⁶⁶⁸ pour une alanine a aboli son effet sur la LTD et restauré la LTP. Finalement, nous avons montré que la facilitation de la LTD par l'APP-APLP2-APP dépendait de la libération de calcium intracellulaire par les récepteurs ryanodines.

En conséquence, nous proposons l'émergence d'un nouveau domaine de l'APP jouant un rôle critique, en plus de l'A β , dans les processus à la base de l'apprentissage et qui en conséquence pourrait jouer un rôle dans le développement de la maladie d'Alzheimer.

Mots-clés : Alzheimer, APP, APLP2, amyloïde, plasticité, LTP, LTD, métaplasticité, caspases, calcium.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is the most common type of dementia in the elderly; it is characterized by early deficits in learning and memory formation and ultimately leads to a generalised loss of higher cognitive functions. While amyloid beta ($A\beta$) and tau are traditionally associated with the development of Alzheimer disease, recent studies suggest that other factors, like the intracellular domain (APP-ICD) of the amyloid precursor protein (APP), could play a role.

In this study, we investigated whether APP-ICD could affect synaptic transmission and synaptic plasticity in the hippocampus, which is involved in learning and memory processes. Our results indicated that overexpression of APP-ICD in hippocampal CA1 neurons leads to a decrease in evoked AMPA-receptor and NMDA-receptor dependent synaptic transmission. Our study demonstrated that this effect is specific for APP-ICD since its closest homologue APLP2-ICD did not reproduce this effect. In addition, APP-ICD blocks the induction of long term potentiation (LTP) and leads to increased of expression and facilitated induction of long term depression (LTD), while APLP2-ICD shows neither of these effects.

Our study showed that this difference observed in synaptic transmission and plasticity between the two intracellular domains resides in the difference of one alanine in the APP-ICD versus a proline in the APLP2-ICD. Exchanging this critical amino-acid through point-mutation, we observed that APP(PAV)-ICD had no longer an effect on synaptic plasticity. We also demonstrated that APLP2(AAV)-ICD mimic the effect of APP-ICD in regards of facilitated LTD.

Next we showed that the full length APP-APLP2-APP (APP with a substitution of the $A\beta$ component for its homologous APLP2 part) had no effect on synaptic transmission or synaptic plasticity when compared to the APP-ICD. However, by activating caspase cleavage prior to induction of LTD or LTP, we observed an LTD facilitation and a block of LTP with APP-APLP2-APP, effects that were not seen with the full length APLP2 protein. APP is phosphorylated at threonine 668 (Thr⁶⁶⁸), which is localized directly after

the aforementioned critical alanine and the caspase cleavage site in APP-APLP2-APP. Mutating this Thr⁶⁶⁸ for an alanine abolishes the effects on LTD and restores LTP induction. Finally, we showed that the facilitation of LTD with APP-APLP2-APP involves ryanodine receptor dependent calcium release from intracellular stores.

Taken together, we propose the emergence of a new APP intracellular domain, which plays a critical role in the regulation of synaptic plasticity and by extension, could play a role in the development of memory loss in Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer, APP, APLP2, amyloid, plasticity, LTP, LTD, metaplasticity, caspases, calcium.

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ	ii
ABSTRACT	iv
TABLE DES MATIERES	vi
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xv
REMERCIEMENTS	xix
AVANT-PROPOS	xxi
I INTRODUCTION	1
1 GÉNÉRALITÉS.....	1
1-1 Historique de la maladie d'Alzheimer	1
1-2 Du vieillissement normal à la maladie d'Alzheimer.....	2
1-3 Symptômes de la maladie d'Alzheimer	3
1-4 Impact sociétal et économique	5
1-5 Les formes de la maladie d'Alzheimer	5
1-6 Médication	7
2 LA MÉMOIRE.....	9
2-1 Les différents types de mémoire	9
2-1-1 La mémoire à court terme	11
2-1-2 Les mémoires à long terme.....	11
2-2 Affectation des mémoires dans la maladie d'Alzheimer.....	15
3 LES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA MÉMOIRE	16
3-1 L'hippocampe	16
3-2 La transmission synaptique dans l'hippocampe.....	20
3-2-1 La transmission glutamatergique à la synapse CA3-CA1.	20

3-2-2 La transmission inhibitrice dans l'hippocampe.	22
3-3 La plasticité synaptique dans l'hippocampe.....	23
3-3-1 La potentialisation à long terme.....	23
3-3-3 La dépression à long terme	29
3-3-4 Le calcium et la plasticité synaptique	33
3-3-5 La métaplasticité.....	34
3-3-6 Implication de la LTP et de la LTD dans l'apprentissage.....	36
3-3-7 La plasticité homéostatique	38
4 LES HYPOTHÈSES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	40
4-1 La protéine tau, et pathologie associée.....	41
4-2 Le précurseur de la protéine amyloïde	44
4-2-1 Définition de l'APP	44
4-2-2 Rôles de l'APP.....	47
4-2-3 Métabolisme de l'APP.....	49
4-2-4 L'hypothèse du peptide amyloïde-bêta dans la neurodégénérescence.....	51
4-2-4-a Copie additionnelle de l'APP	52
4-2-4-b Mutations de l'APP	53
4-2-4 c Mutations des sécrétases qui clivent l'APP	54
4-2-4-d Le gène APOE4, principal facteur de risque de la forme sporadique.....	55
4-3 La perte synaptique est le meilleur corrélat des déficits cognitifs	56
4-3-1 Les plaques amyloïdes sont insuffisantes pour entraîner la maladie d'Alzheimer.	56
4-3-2 Les déficits cognitifs de la maladie d'Alzheimer sont corrélés à la perte synaptique .	58
4-3-3 L'amyloïde influence la fonction synaptique	59
4-3-4 L'amyloïde pourrait influencer la fonction synaptique au travers de l'ICD.....	59
5 Le domaine intracellulaire de l'APP (APP-ICD).	62
5-1 Métabolisme de l'APP-ICD	62

5-2 Structure de l'APP-ICD et partenaires d'interaction.....	63
5-3 Rôles de l'APP-ICD	65
II OBJECTIFS DE LA THESE	66
III MÉTHODOLOGIE	68
IV PREMIÈRE SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX	71
1 PRÉAMBULE.....	71
2 ABSTRACT	71
3 INTRODUCTION.....	72
4 MATERIALS AND METHODS	73
4-1 cDNA constructs and virus production	73
4-2 Hippocampal slice cultures	74
4-3 Imaging	74
4-4 Drugs.....	74
4-5 Electrophysiological recordings.....	74
4-6 Statistics	75
5 RESULTS.....	75
5-1 APP-ICD expression induces synaptic depression, while the homologous APLP2-ICD does not.....	75
5-2 A single amino-acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD results in synaptic depression.....	76
5-3 Caspase cleavage of APP-ICD is necessary for synaptic depression.....	77
5-4 APP-ICD affects synaptic plasticity by increasing LTD and blocking LTP induction.....	78
6 DISCUSSION	80
6-1 Comparison of APP-ICD and APLP2-ICD: emergence of a new critical domain.....	80
6-2 Could the APP-ICD be an intracellular effector of extracellular A β ?	82
7 ACKNOWLEDGEMENTS	83
8 REFERENCES.....	84

9 FIGURES AND LEGENDS.....	87
V DEUXIÈME SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX	101
1 PRÉAMBULE.....	101
2 ABSTRACT	101
3 INTRODUCTION.....	102
4 MATERIALS AND METHODS	103
4-1 cDNA constructs and virus production	103
4-2 Hippocampal slice cultures	104
4-3 Drugs.....	104
4-4 Electrophysiological recordings.....	104
4-5 Statistics	105
5 RESULTS.....	105
5-1 A β deficient APP affects metaplasticity.....	105
5-2 The APP intracellular domain is the cause for changes in metaplasticity.....	107
5-3 Activation of caspase and ryanodine receptors are necessary events for APP dependent effects on metaplasticity.	108
6 DISCUSSION	110
7 ACKNOWLEDGEMENTS	112
8 AUTHOR CONTRIBUTIONS	112
9 FINANCIAL DISCLOSURE.....	112
10 REFERENCES.....	112
11 FIGURES AND LEGENDS.....	115
VI DISCUSSION GÉNÉRALE.....	125
1 RAPPEL DE LA PROBLÉMATIQUE.....	125
2 L'APP-ICD AFFECTE LA FONCTION SYNAPTIQUE.....	125
2-1 Implication de l'APP-ICD dans la fonction synaptique.....	125
2-2 Différence d'effet d'APP-ICD et d'APLP2-ICD sur la fonction synaptique.....	126

2-3 Le clivage de L'APP-ICD par les caspases est indispensable pour observer ses effets sur la fonction synaptique	128
2-4 Similarités entre les effets de l'ICD et ceux de l'A β	131
3 MÉCANISME PAR LEQUEL L'APP-ICD MODIFIE LA FONCTION SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE	133
3-1 L'APP entraîne de la métaplasticité.....	133
3-2 La métaplasticité induite par l'APP-ICD pourrait dépendre de la libération de calcium par les réserves intracellulaires.....	134
3-3 La Thr ⁶⁶⁸ aurait sa part d'implication pour l'effet d'APP-ICD sur la fonction synaptique.....	136
3-4 Partenaires potentiels de l'APP-ICD en relation avec la Thr668	138
3-4-1 Interaction de FKBP12 avec l'APP-ICD	139
3-4-2 Interaction de Pin1 avec l'APP-ICD.....	142
3-4-3 Interaction de 14-3-3 γ avec l'APP-ICD.....	146
3-5 Le transfert de l'APP-ICD au compartiment nucléaire ne permet pas l'effet d'APP-ICD sur la fonction synaptique.....	147
3-6 Boucle rétroactive de l'APP-ICD.....	148
VII CONCLUSION	150
VIII BIBLIOGRAPHIE.....	xxi

LISTE DES TABLEAUX

I INTRODUCTION

Tableau I	Régions du cerveau affectées et signes cliniques observés en fonction de l'avancement de la maladie d'Alzheimer.	p 4
-----------	--	-----

LISTE DES FIGURES

I INTRODUCTION

Figure 1	Classification de la mémoire, et régions du cerveau associées.	p 9
Figure 2	Cerveau humain, cervelet et tronc cérébral.	p 10
Figure 3	Mémoire associative.	p 15
Figure 4	Système limbique chez l'homme.	p 17
Figure 5	Système limbique chez le rat.	p 18
Figure 6	Organisation de l'hippocampe.	p 19
Figure 7	Types de récepteurs au glutamate à la synapse CA3-CA1.	p 21
Figure 8	Circuit d'obtention de LTP dans l'hippocampe.	p 24
Figure 9	Mise en place de la phase précoce de la LTP à la synapse CA3-CA1.	p 27
Figure 10	Mise en place de la phase tardive de la LTP à la synapse CA3-CA1.	p 28
Figure 11	Dynamique de la plasticité synaptique.	p 32
Figure 12	La métaplasticité.	p 36
Figure 13	Fonctionnement des microtubules.	p 42
Figure 14	Famille de gènes de l'APP.	p 45
Figure 15	Isoformes de l'APP humain.	p 46
Figure 16	Voies non-amyloïdogénique et amyloïdogénique de la protéolyse de l'APP.	p 50
Figure 17	Emplacement des mutations et des sites de clivage de l'APP ₆₉₅ aux abords de la séquence protéique permettant de générer le peptide amyloïde-bêta.	p 53

Figure 18	Comparaison des séquences d'APP-ICD, APLP2-ICD et APLP1-ICD.	p 61
Figure 19	Principaux partenaires d'interaction du domaine intracellulaire de l'APP ₆₉₅ .	p 64

III MÉTHODOLOGIE

Figure 20	Fabrication et injection des particules virales dans l'hippocampe.	p 69
-----------	--	------

IV PREMIÈRE SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Figure 1	Illustration of the experimental approach.	p 87
Figure 2	APP-ICD, but not APLP2-ICD, expression induces synaptic depression.	p 88
Figure 3	Characterization of the APP-ICD domain responsible for the induction of synaptic depression.	p 90
Figure 4	A single amino acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD is sufficient to induce synaptic depression.	p 91
Figure 5	Caspase cleavage of APP-ICD is necessary for the induction of synaptic depression.	p 93
Figure 6	APP-ICD expression increases long-term depression.	p 95
Figure 7	APP-ICD facilitates induction of long-term depression.	p 97
Figure 8	APP-ICD expression blocks long-term potentiation.	p 99

V DEUXIÈME SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Figure 1	Expression of chimeric APP (APP _{Ext} -APLP2 _{TM} -APP _{ICD}) does not affect synaptic transmission, induction of LTD or induction of LTP.	p 115
----------	--	-------

Figure 2	Expression of chimeric APP (APP _{Ext} -APLP2 _{TM} -APP _{ICD}) affects metaplasticity.	p 117
Figure 3	The APP intracellular domain is the effector for changes in metaplasticity.	p 119
Figure 4	Caspase activation and ryanodine receptor dependent calcium release from intracellular stores are necessary events in APP dependent changes of metaplasticity.	p 121
Supplementary Figure 1	APLP2 and APLP2(AAV) do not affect synaptic transmission or LTD induction.	p 123

VI DISCUSSION GÉNÉRALE

Figure 21	Le blocage du FKBP12 altère l'effet de l'APP _{Ext} -APLP2 _{TM} -APP _{ICD} sur la facilitation de la LTD.	p 142
-----------	---	-------

VII CONCLUSION

Figure 22	Modèle illustrant une partie de la signalisation de l'APP-ICD	p 152
-----------	---	-------

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Aβ peptide	<i>Beta Amyloid peptide</i> (peptide amyloïde bêta)
a	Alveus
Abl	<i>Abelson murine leukemia viral oncogene</i>
AC	Adénylate Cyclase
ACSF	<i>Artificial Cerebrospinal Fluid</i> (Liquide céphalorachidien artificiel)
Ach	Acétylcholine
ADAM	<i>A Disintegrin And Metalloprotease</i> (désintégrine et métalloprotéase)
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMPc	Adénosine Monophosphate cyclique
AMPA	Acide α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-1-4-isoxazole propionique
AP5	Acide 2-amino-5-phosphonoalérique
APH1	<i>Anterior Pharynx defective 1</i> (pharynx antérieur défectueux-1)
Apl1	<i>Amyloid protein-like 1</i> (protéine amyloïde apparentée 1)
APLP1	<i>APP-like protein 1</i> (protéine 1 homologue à l'APP)
APLP2	<i>APP-like protein 2</i> (protéine 2 homologue à l'APP)
APOE	Apolipoprotéine E
APP	<i>Amyloid precursor protein</i> (précurseur de la protéine amyloïde)
appa	<i>Amyloid precursor protein a</i> (précurseur de la protéine amyloïde a)
appb	<i>Amyloid precursor protein b</i> (précurseur de la protéine amyloïde b)
Appl	<i>Amyloid precursor protein-like</i> (précurseur de la protéine amyloïde apparenté)
Arc	<i>Activity-regulated cytoskeleton-associated protein</i>
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
Asp	Résidu aspartique
ATP	Adénosine-5'-triphosphate
Bace1	<i>Beta secretase 1</i>
Modèle BCM	<i>Modèle Bienenstock Cooper Munro</i>
BDNF	<i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i> (facteur neurotrophique issu du cerveau)
BHK cells	<i>Baby Hamster Kidney cells</i> (cellules de rein de bébé hamster)
CA1 à CA4	Corne d'Ammon 1 à Corne d'Ammon 4

CaMKII	<i>Calcium/Calmodulin-dependent protein Kinase II</i> (protéine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline II)
CDC2	<i>Cell division control 2</i> (cycle de division cellulaire 2)
Cdk5	<i>Cyclin-dependent kinase 5</i> (kinase dépendante des cyclines 5)
CE	Cortex Entorhinal
CHO cells	<i>Chinese hamster ovary cells</i> (cellules d'ovaire de hamster de Chine)
CPSE	Courant postsynaptique excitateur
CPSEm	Courant postsynaptique excitateur miniature
CREB	<i>cAMP Responsive Element Binding protein</i> (protéine liant l'élément de réponse à l'AMPc)
CTF	<i>C-Terminal Fragment</i> (Fragment C-terminal)
Dab1	<i>Disabled-1</i>
DAG	Diacylglycérol
DEVD-FMK	Asp-Glu-Val-Asp-fluoromethyl ketone
ERK	<i>Extracellular signal-Regulated Kinase</i> (Protéine kinase régulatrice extracellulaire)
FDD	<i>Familial Danish Dementia</i> (démence familiale danoise)
GABA	Acide γ -aminobutyrique
GFP	<i>Green Fluorescent Protein</i> (protéine fluorescente verte)
GD	Gyrus Denté
Grb2	<i>Growth factor receptor-bound protein 2</i> (protéine-2 de liaison à des récepteurs de facteurs de croissance)
GSK3 β	Glycogène synthase kinase 3
FKBP	<i>FK506 binding protein</i> (protéine de liaison au FK506)
h	Hilus
H1A	Homer 1A
HEK	<i>Human Embryonic Kidney cells</i> (cellules embryonnaires humaines de rein)
ICD	<i>Intracellular Domain</i> (domaine intracellulaire)
IRES	<i>Internal ribosome entry site</i> (site d'entrée interne des ribosomes)
IP3	Inositol triphosphate
IP3R	<i>Inositol Triphosphate Receptor</i> (récepteur à l'inositol triphosphate)
JIP	<i>JNK-Interacting Protein</i> (protéine d'interaction avec JNK)
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>

KI	<i>Knock In</i>
KO	<i>Knock Out</i>
KPI	<i>Kunitz type protease inhibitor domain</i> (domaine inhibiteur de protéases de type Kunitz)
LTD	<i>Long-Term Depression</i> (dépression à long-terme)
LTP	<i>Long-Term Potentiation</i> (potentialisation à long-terme)
M1, M3 ou M5	Récepteur muscarinique à l'acétylcholine de type 1, 3 ou 5
MAPk	<i>Mitogen-Activated Protein kinase</i> (protéine kinase activée par les mitogènes)
mGluR	Récepteur métabotropique au glutamate
mf	<i>Mossy fibers</i> (fibres moussues)
NCT	Nicastrine
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i> (facteur de croissance nerveux)
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NO	<i>Nitric Oxide</i> (oxyde nitrique)
OMS	Organisation mondiale de la santé
Pat1	<i>Protein Associated with Topoisomerase II</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (reaction en chaîne par polymérase)
PEN-2	Préséniline enhancer 2
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKA	Protéine Kinase A
PKC	Protéine Kinase C
PKM ζ	Protéine Kinase M ζ
PIN1	<i>Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1</i>
PLC	Phospholipase C
pp	<i>Performant pathway</i> (voie perforante)
PP1	Protéine phosphatase 1
PP2A	Protéine phosphatase 2A
PP2B	Protéine phosphatase 2B, aussi appelée calcineurine
PPSE	Potentiel postsynaptique excitateur
PPSEm	Potentiel postsynaptique excitateur miniature
PPIase	Peptidyl Prolyl Isomérase
Pro	Résidu proline
PS1	Préséniline 1

PS2	Préséniline 2
PSD	<i>Postsynaptic Density</i> (densité postsynaptique)
PSEN1	Gène codant pour la préséniline 1
PSEN2	Gène codant pour la préséniline 2
RyR	<i>Ryanodine Receptor</i> (récepteur au ryanodine)
S	Subiculum
sAPP	<i>Soluble APP</i> (APP soluble)
sc	<i>Schaffer collaterals</i> (collatérales de Schaffer)
Ser	Résidu sérine
sbf	Stimulation à basse fréquence
shf	Stimulation à haute fréquence
sg	Stratum granulosum
sl	Stratum lucidum
sm	Stratum molecular
so	Stratum oriens
Sod1	<i>Superoxide dismutase 1</i> (superoxyde dismutase de type 1)
sp	Stratum pyramidale
sr	Stratum radiatum
tau	<i>Tubule-associated unit</i> (unité associée à la tubuline)
Thr	Résidu thréonine
Tip60	<i>60 kDa Tat-interactive protein</i>
TrkA	<i>Tropomyosin receptor kinase A</i>
TTX	Tétradotoxine
Tyr	Résidu tyrosine

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu les membres de mon jury de thèse, M. Jean-Claude Lacaille en tant que président-rapporteur, Mme Graziella Di Cristo en tant que membre du jury, M. Edward Ruthazer en tant qu'examineur externe et M. Daniel Lévesque en tant que représentant du doyen, pour avoir accepté de lire et d'examiner ma thèse.

Je remercie une nouvelle fois Mme Graziella Di Cristo et M. Jean-Claude Lacaille, pour avoir accepté de faire partie de mon comité de parrainage, et pour leurs conseils tout au long de mon travail de thèse.

Je remercie mon directeur de recherche, M. Jannic Boehm, pour m'avoir proposé de travailler dans son laboratoire et pour m'avoir permis de travailler sur un sujet de recherche vraiment intéressant. Je remercie également tous mes collègues de laboratoire pour leurs conseils et leur support, et avec lesquels j'ai partagé cinq années intéressantes : Anthony Dudilot, Sara Licea, Albert Tamburri, Nicolas Paradis-Isler, Julie Verner et Catherine Bourgeois.

Je remercie aussi les amis du Département de Neurosciences, particulièrement ceux du laboratoire Dubuc, avec lesquels je garde toujours un très bon contact, et ceux du laboratoire Robitaille pour leurs précieux conseils.

Je remercie ma famille, ma mère et mon père, pour leurs encouragements que j'ai eu tout au long de ma formation universitaire. Ils occupent une place importante pour moi, et c'est en partie d'eux que je tiens ma capacité à persévérer dans mon travail. Je remercie aussi ma maman pour le temps passé à la relecture de cette thèse.

Pour finir, j'aurai une pensée pour ceux qui m'accompagnent depuis plus de 15 années maintenant et qui m'ont beaucoup inspirée et divertie au cours de mes années secondaires et universitaires. Ils sont les plus grands. Il est certain que leur influence sur moi a été très importante.

AVANT-PROPOS

Cette thèse intitulée « Implication du domaine intracellulaire du précurseur de la protéine amyloïde dans la modulation de la plasticité synaptique » décrit le rôle joué par le domaine intracellulaire du précurseur de la protéine amyloïde dans les mécanismes qui sous-tendent l'apprentissage dans le cerveau.

Cette thèse comporte une introduction générale qui présente des différents concepts nécessaires pour la compréhension des résultats présentés dans ce travail de thèse. Cette introduction permet d'insérer mon travail de thèse dans le contexte des actuels avancements des connaissances qui concernent la compréhension des mécanismes liés au développement de la maladie d'Alzheimer. Par la suite, cette thèse comporte le détail des résultats expérimentaux, puis une discussion générale visant à comparer nos résultats avec ceux obtenus par d'autres équipes de recherche et à présenter les expériences futures.

L'introduction générale comporte en premier lieu un historique sur la maladie d'Alzheimer, et l'impact qu'elle représente sur notre société. J'expose ensuite les différents types de mémoires traités par notre cerveau, puis l'implication de l'hippocampe dans les processus d'apprentissage en détaillant les mécanismes cellulaires et moléculaires qui y sont rattachés, parmi lesquels les processus de plasticité synaptique comme la dépression à long-terme, la potentialisation à long-terme et la métaplasticité. Après, je porte attention sur les principales hypothèses liées au développement de la maladie d'Alzheimer, avec la protéine tau et la protéine amyloïde. Enfin, je détaille les raisons pour lesquelles nous pensons que le domaine intracellulaire du précurseur de la protéine amyloïde pourrait lui aussi jouer un rôle dans le développement précoce de la maladie d'Alzheimer.

La section des résultats expérimentaux contient deux articles de recherche. Le premier article, intitulé “ A single amino acid difference between the intracellular domains of amyloid precursor protein and amyloid-like precursor protein 2 enables induction of synaptic depression and block of long-term potentiation ”, est une étude comparative entre les domaines intracellulaires des précurseurs APP et APLP2, qui à terme met en lumière

un nouveau domaine de l'APP-ICD, qui participe au dysfonctionnement des mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans l'apprentissage. Le second article, intitulé “ The amyloid-precursor protein intracellular domain is an effector molecule of metaplasticity ”, caractérise la voie de signalisation de l'APP-ICD pour la modulation de ces mécanismes.

La discussion générale débute avec un bref rappel des résultats principaux obtenus lors de mon étude. Après une rapide discussion concernant la différence d'effets entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD sur la transmission synaptique de base et sur la plasticité synaptique, je pointerai l'importance déjà connue des caspases dans le développement de la maladie d'Alzheimer et parlerai de leur rôle plus spécifique dans la voie de signalisation de l'APP-ICD menant à cette dérégulation de la fonction synaptique. Je procéderai à une rapide comparaison de nos résultats obtenus avec l'APP-ICD et ceux déjà connus et impliquant l'amyloïde bêta, afin de proposer un possible lien entre ces deux peptides pour la modification de la fonction synaptique. Par la suite, je discuterai du mécanisme par lequel l'APP-C31, généré à partir de l'APP-ICD, pourrait affecter la plasticité synaptique et la métaplasticité. Enfin, j'analyserai les possibilités d'interactions entre l'APP-ICD et d'autres protéines comme Pin1, FKBP12 ou le 14-3-3 γ , afin de déterminer les différentes voies de signalisation pouvant être impliquées pour aboutir à la libération de calcium intracellulaire et à la dérégulation de la plasticité synaptique. Cette discussion permettra, par une série de comparaisons avec les résultats en provenance d'autres laboratoires, de mieux comprendre comment nos résultats s'insèrent dans la recherche actuelle sur la maladie d'Alzheimer, et surtout de mieux orienter les suites à mon projet pour à terme trouver un moyen de ralentir voire d'arrêter la progression de la maladie d'Alzheimer.

I INTRODUCTION

1 GÉNÉRALITÉS

1-1 Historique de la maladie d'Alzheimer (Goedert, 2009).

La maladie d'Alzheimer a été diagnostiquée voilà plus d'un siècle par le docteur allemand Alois Alzheimer. En 1902 à Frankfurt, Auguste Deter, 51 ans, fut consultée en raison de troubles cognitifs importants, parmi lesquels une altération de la mémoire et du langage, de la désorientation spatiale et temporelle, ainsi que des changements d'humeur soudains et de la paranoïa. Le cas d'Auguste Deter était particulier car cette dernière était plus jeune que les personnes habituellement souffrantes de démence. Auguste Deter décéda des suites de la maladie en avril 1906. En examinant son cerveau, Alois Alzheimer observa un élargissement anormal des ventricules ainsi qu'une atrophie généralisée du cortex. Dans le but d'analyser plus en détail l'aspect du cerveau, il utilisa la technique précédemment développée par Max Bielschowsky en 1902, pour la mise en évidence grâce au nitrate d'argent des fibres nerveuses, des dendrites et des axones des cellules du cerveau (Bielschowsky, 1902). Grâce à ce procédé, Alois Alzheimer pu distinguer deux types d'amas à l'intérieur et à l'extérieur des neurones corticaux. Ces deux types de lésions sont aujourd'hui connus sous les noms de plaques amyloïdes et enchevêtrements neurofibrillaires, et sont considérés comme les deux marqueurs les plus importants de la maladie d'Alzheimer.

Cette découverte fit l'objet d'un court article publié en 1907, alors qu'au même moment Oskar Fisher publia son étude portant sur 16 cas similaires, avec la première description de la plaque neuritique (Alzheimer, 1907) (Fischer, 1907). S'en suivit pour Alois Alzheimer, une publication en 1911 plus détaillée, dotée d'illustrations des plaques séniles et des accumulations dans les neurones (Alzheimer, 1911). Cette publication de 1911 fit aussi état d'un second cas, celui de Johann Feigl, admis en 1907 à 56 ans pour une « démence vasculaire », et décédé trois ans plus tard à Munich. L'autopsie révéla beaucoup de similitudes avec le cas d'Auguste Deter.

La neurodégénérescence dans le cerveau était connue bien avant l'apparition de ces nouveaux cas de maladie d'Alzheimer. Dès 1889, Beljahow décrivait déjà de la neurodégénérescence avec la formation de plaques associées à de la démence sénile (Beljahow,

1889). En 1892, une publication de Paul Blocq et Georges Marinesco en faisait aussi état dans le cortex de personnes âgées ayant souffert d'épilepsie (Blocq and Marinesco, 1892). Enfin en 1898, Emil Redlich avait observé ces mêmes amas chez des personnes séniles, et mis en évidence chez une personne de 78 ans une réduction en taille du cerveau et une atrophie importante des lobes frontaux et temporaux du cortex cérébral (Redlich, 1898). À cette époque l'origine de cette accumulation de plaques dans le cerveau était très discutée. Il était principalement pensé qu'elle était plutôt attribuée à une origine gliale, dont la prolifération pouvait être la conséquence de la dégénération nerveuse (Blocq and Marinesco, 1892) (Redlich, 1898) (Miyake, 1906). Le cerveau d'Auguste Deter présentait ces mêmes caractéristiques, incluant l'atrophie, les plaques amyloïdes et les enchevêtrements. Ainsi la maladie d'Alzheimer pouvait être associée à de la neurodégénérescence précoce dans le cerveau.

1-2 Du vieillissement normal à la maladie d'Alzheimer.

La maladie d'Alzheimer reste étroitement liée au vieillissement et à l'allongement de l'espérance de vie. Seulement 2% des cas surviennent avant l'âge de 65 ans, et il s'agit pour la moitié de personnes souffrantes de formes familiales héréditaires très rares. Au-delà de 65 ans, la probabilité augmente de 3% à 15% pour les personnes de 80 ans, puis à 40% pour les nonagénaires (Organisation Internationale de la Santé et la Fédération des associations pour l'Alzheimer, 2012).

Il est important de faire la différence entre les changements liés à l'âge et les changements dits pathologiques relatifs à la maladie d'Alzheimer. Une personne vieillissante présente tôt ou tard un déclin de l'ensemble de ses fonctions motrices et intellectuelles. Ce déclin résulte dans le cerveau d'une diminution de l'influx nerveux, entraînant une augmentation du temps nécessaire à l'acquisition et à la transmission de données entre les neurones, et entre les régions du cerveau (Rivner et al., 2001). La plupart des fonctions cognitives en sont affectées, et la mémoire l'est plus particulièrement (Gely-Nargeot et al., 2000). L'oubli chez la personne âgée pourrait simplement être dû à la disparition des informations avant qu'elles n'aient été complètement traitées par le cerveau (Hartley, 1992). D'un point de vue quantitatif, ni l'atrophie cérébrale, ni la perte neuronale ne sont de bons marqueurs du vieillissement cérébral normal.

La première raison est que les cerveaux de certains centenaires restent intacts et ne présentent pas de réduction notable de la quantité de neurones (Ebbing, 2008). Ensuite, il n'existe pas à ce jour de méthode de décompte fiable permettant de mesurer la perte neuronale liée à l'âge. Le cerveau humain adulte contient approximativement 100 milliards de neurones, mais ce chiffre reste assez peu précis, et il existe des variations interindividuelles entre les personnes, qui peuvent rendre la tâche difficile pour estimer quel chiffre serait le bon. Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, l'atrophie cérébrale est en revanche très marquée (Lehericy et al., 2007). Le déclin des facultés intellectuelles est bien plus important que dans le vieillissement normal, et surtout plus précoce.

1-3 Symptômes de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative. L'ordre de propagation de la maladie dans les différentes régions du cerveau suit certaines étapes et coïncide avec l'ordre d'apparition des symptômes (Tableau 1). La propagation dans le cerveau est surtout visible en analysant la perte neuronale, car les neurones affectés ne contactent plus leurs cibles, qui meurent à leur tour.

La revue de Braak en 1991 décrit l'ordre de propagation des dépôts de la protéine tau et de l'amyloïde dans le cerveau des personnes décédées et diagnostiquées avec la maladie d'Alzheimer (Braak and Braak, 1991). Aux premiers stades de la maladie, ce sont les cortex entorhinal et transentorhinal, situés dans le lobe temporal juste en dessous de l'hippocampe, qui sont atteints par la dégénérescence neurofibrillaires. Le cortex entorhinal est impliqué dans les mécanismes de l'olfaction, et la perte d'odorat fait partie des premiers symptômes de la maladie d'Alzheimer, même s'ils ne figurent pas au premier plan lors du diagnostic. Le cortex transentorhinal fait partie du circuit limbique et participe à la mémoire en relation avec les émotions. À ce stade-là, la personne atteinte de la maladie d'Alzheimer ne présente que des légers troubles de mémoire et quelques changements d'humeur, tout en restant autonome. Par la suite les dégénérescences neurofibrillaires atteignent l'hippocampe qui joue un rôle important dans la formation de nouveaux souvenirs. La propagation dans le lobe temporal au complet et au lobe pariétal inférieur où se trouve l'aire de Wernicke entraîne des troubles du langage

(Nestor et al., 2007). L'atteinte neuronale se propage vers les cortex associatifs, notamment dans les lobes frontaux et pariétaux. Cela se traduit par des troubles importants de la pensée et de l'humeur, entraînant des comportements agressifs, de l'irritabilité et de la paranoïa. Les facultés cognitives et surtout la mémoire continuent de se détériorer et les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ont besoin d'aide pour les tâches quotidiennes. En fin de maladie, la personne atteinte de la maladie d'Alzheimer n'est plus capable de vivre seule, ne peut plus communiquer verbalement et doit être prise en charge en permanence.

Avancement de la maladie	Régions du cerveau affectées	Symptômes cliniques associés
Stade précoce	Cortex entorhinal Hippocampe	Déficits légers : mémoire à court terme affectée, difficulté d'apprentissage, perte de l'olfaction, attention limitée, changements d'humeur, désorientation spatio-temporelle et égarement. Prise de conscience du déficit. Autonomie conservée.
Stade modéré	Cortex entorhinal Hippocampe Aire de Wernicke, Cortex associatifs, Lobes frontaux et pariétaux	Déclin accru des facultés cognitives : aggravation des problèmes de mémoire et affectation de la mémoire à plus long terme, langage inhabituel, agitation, désorientation, confusion, agressivité et paranoïa. Autonomie très limitée.
Stade avancé	Cerveau entier	Déficits cognitifs et physique graves. Communication non verbale, perte de poids, incontinence, troubles du sommeil et troubles psychiatriques. Perte totale d'autonomie. Précède la fin de vie.

Tableau I. Régions du cerveau affectées et signes cliniques observés en fonction de l'avancement de la maladie d'Alzheimer. Inspiré de Société Alzheimer Canada.

1-4 Impact sociétal et économique

Selon les chiffres de la Société Alzheimer Canada, environ 747 000 Canadiens vivaient avec la maladie d'Alzheimer en 2011, ce qui représente 2.3% de la population au Canada, et près de 15 % des plus de 65 ans. Les prévisions estiment que ce chiffre pourrait doubler d'ici 2031 pour atteindre 1,4 millions de Canadiens. Dans le monde, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime à 47,5 millions le nombre de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer en 2015 et ce chiffre devrait être propulsé à 76 millions d'ici 2030 et 135 millions en 2050.

Environ 60 % des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer souffrent de désorientation spatiale et temporelle, et 50 % de troubles alimentaires (www.maladiedalzheimer.com). Les tâches quotidiennes deviennent impossibles à réaliser, ce qui amène irrémédiablement à la prise en charge, souvent par la famille dans un premier temps, puis par les structures spécialisées par la suite. Il est estimé qu'un cinquième des Canadiens de plus de 45 ans fournit des soins en tant qu'aidant à leurs aînés souffrant de problèmes de santé à long terme (Statistique Canada).

Aujourd'hui les coûts liés à la maladie d'Alzheimer au Canada s'élèvent à 33 milliards de dollars chaque année. Cela comprend les coûts médicaux, mais aussi la perte de revenus des personnes atteintes et/ou des aidants (Société Alzheimer Canada). Ce chiffre augmenterait à 293 milliards en 2040 si rien ne change. Dans le monde ce coût s'élevait à 604 milliards de dollars en 2010, soit un impact économique équivalent à 1% du produit intérieur brut (OMS). Les prédictions estiment ce montant à 2000 milliards de dollars en 2030 (www.alz.co.uk - World Alzheimer Report 2015). Pour cette raison il est nécessaire de concentrer tous les efforts à trouver un moyen de ralentir la progression de cette maladie et d'en diminuer les coûts.

1-5 Les formes de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer existe sous deux formes : les formes familiales et les formes sporadiques. Les formes familiales de la maladie d'Alzheimer sont d'origine génétique et représentent moins de 5% des cas répertoriés. À l'inverse des 95 % dits sporadiques, les formes familiales sont associées avec des mutations identifiées de gènes impliqués dans le

développement précoce de la maladie d'Alzheimer, se déclarant avant l'âge de 60 à 65 ans (Société Alzheimer Canada). La maladie d'Alzheimer d'origine familiale se transmet de génération en génération et une personne ayant dans son entourage une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer double ses chances de développer la maladie (Société Alzheimer Canada).

À ce jour, trois gènes sont connus pour être associés au développement précoce de la maladie d'Alzheimer : la préséniline 1 (PS1) (Lopera et al., 1997), la préséniline 2 (PS2) (Rogaev et al., 1995) et le précurseur de la protéine amyloïde-bêta (APP) (Goate et al., 1991), qui comptent pour 70 %, 20 % et 3% des cas d'origine familiale de la maladie d'Alzheimer respectivement (Grabowski and Damasio, 2013). Souvent, c'est la production de l'amyloïde-bêta qui est affectée, puisque les présénilines le libèrent en clivant l'APP. Un exemple de la maladie d'Alzheimer d'origine familiale, et lié à la mutation de PS1, se trouve dans le village Pedregal, proche de Medellin en Colombie. Il s'y trouve la plus large famille dans le monde vivant avec la maladie d'Alzheimer, qui s'y transmet de génération en génération, sur pas moins de 12 familles, avec plus de 5000 membres et un lien de parenté remontant au 18^{ième} siècle (Lopera et al., 1997; Kosik, 2010). L'âge moyen pour développer la maladie d'Alzheimer sur cet arbre généalogique est de 48 ans, bien plus tôt que pour les cas sporadiques pour lesquels il est après 60 ans. PS1 est nécessaire pour le développement embryonnaire puisque les souris déficientes en PS1 meurent rapidement après la naissance et présentent dès les stades embryonnaires des malformations du squelette, un dysfonctionnement de la neurogenèse et une diminution de la survie neuronale, entraînant d'importantes malformations du cerveau (Shen et al., 1997). La mutation de PS1 telle qu'observée dans cette famille en Colombie n'empêche pas la vie et n'entraîne pas de problème de développement. Cependant, cette mutation amène inévitablement après plusieurs années des symptômes tels que des pertes de mémoire, des changements de la personnalité et du comportement, puis des troubles du langage (Lopera et al., 1997). Selon Francesco Lopera, ces symptômes correspondent parfaitement à ceux observés pour la maladie d'Alzheimer, hormis leur apparition précoce. Concernant l'APP, la mutation APP V717I (London) est une des premières à être décrite (Goate et al., 1989; Goate et al., 1991). Elle est à l'origine identifiée comme étant la famille F23 et est portée à ce jour par plus de 30

familles d'individus dans le monde, pour lesquelles la maladie d'Alzheimer se déclare en moyenne à 57 ans (www.alzforum.org).

95 % des cas de la maladie d'Alzheimer sont dits sporadiques. Leur origine n'est pas clairement identifiée et est dite multifactorielle : génétique, mais qui ne se transmet pas de génération en génération, physiologique ou environnementale. La composante génétique fait surtout référence au gène de l'apolipoprotéine E, responsable d'environ 40% des cas sporadiques de la maladie d'Alzheimer. Le gène de l'apolipoprotéine E existe sous la forme de trois allèles, marqués d'un epsilon 2, 3 et 4 (APOE ϵ 2, APOE ϵ 3 et APOE ϵ 4 respectivement), qui ne diffèrent l'un de l'autre que par la présence d'un seul changement d'acide aminé dans leur séquence, survenant au cours de la gamétogenèse, et donc indépendamment de toute transmission de parenté. Six combinaisons génotypiques sont alors possibles : homozygotie APOE ϵ 2, APOE ϵ 3 ou APOE ϵ 4, et hétérozygotie APOE ϵ 2/ ϵ 3, APOE ϵ 3/ ϵ 4 ou APOE ϵ 2/ ϵ 4. Environ 50% de la population est homozygote pour l'APOE ϵ 3. En comparaison à cette population, il a été montré que la possession de l'allèle APOE ϵ 2 dans le génome diminue le risque de développer la maladie d'Alzheimer, sans pour autant l'en empêcher (Schachter et al., 1994), alors que posséder l'allèle APOE ϵ 4 augmente jusqu'à 15 fois le risque de développer la maladie d'Alzheimer (Saunders et al., 1993). Il existe en plus de nombreux facteurs aggravant le risque de développer la maladie d'Alzheimer, tels que le stress (Lupien et al., 1998), l'hypertension (Reitz et al., 2007), l'insuffisance cardiaque (de Toledo Ferraz Alves et al., 2010), les accidents vasculaires cérébraux (Huang et al., 2015) ou le diabète (Luchsinger et al., 2004). Certains facteurs en retardent le développement, comme le maintien d'une activité cognitive, l'activité physique ou une alimentation équilibrée (Société Alzheimer Canada).

1-6 Médication

Il n'existe pas à ce jour de traitement pour la maladie d'Alzheimer. Nous avons vu qu'il existe des formes familiales et des formes sporadiques de la maladie d'Alzheimer. La forme sporadique regroupe 95% des cas, dont l'origine n'est pas claire, ce qui rend la tâche difficile pour trouver une médication sans en connaître la meilleure cible. Deux types de molécules sont aujourd'hui proposées aux personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer : les

anticholinestérasés et la Mémantine. Ces molécules ne ciblent pas l'origine de la maladie, mais peuvent en diminuer les symptômes chez certains patients.

Les anticholinestérasés (donezépil, galantamine, rivastigmine, physostigmine) sont utilisées chez les personnes atteintes des stades légers à modérés de la maladie d'Alzheimer. L'acétylcholine joue un rôle important dans le système nerveux central pour l'apprentissage et la mémoire (Hasselmo, 1999), mais aussi en périphérie pour l'activité musculaire (Albuquerque et al., 2009) et les fonctions végétatives (Langley and Magnus, 1905). Dans le cerveau, les niveaux d'acétylcholine sont réduits chez les personnes qui ont la maladie d'Alzheimer en raison de la dégénérescence des neurones qui la fabriquent (Davies and Maloney, 1976). Les anticholinestérasés empêchent sa dégradation par la cholinestérase, et permettent d'en augmenter la concentration et d'améliorer la réactivité de ses récepteurs (Snape et al., 1999). Chez certaines personnes, les anticholinestérasés ont permis d'améliorer leur cognition, leur comportement, l'accomplissement d'activités journalières et leur qualité de vie (Thompson et al., 2004). Cependant, la proportion de patients pour qui les anticholinestérasés ont un effet positif n'est que de 20% (Raschetti et al., 2005), et de nombreux effets secondaires tels que des troubles digestifs (nausées et vomissements), la fatigue ou la somnolence sont constatés (Inglis, 2002). Aussi les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ne peuvent prendre continuellement des anticholinestérasés car les neurones cholinergiques disparaissent de plus en plus avec le vieillissement et avec l'avancement de la maladie.

La Mémantine est une molécule souvent utilisée en complément des anticholinestérasés car l'effet de ces derniers s'amenuise avec la progression de la maladie. La Mémantine agit sur les récepteurs NMDA, majoritaires dans la région de l'hippocampe et jouant un rôle majeur dans la mémoire (Riedel et al., 2003). Dans la maladie d'Alzheimer, la présence en abondance de l'amyloïde- β entraîne un dysfonctionnement de la transmission glutamatergique dépendante des récepteurs NMDA. En effet, l'amyloïde- β est capable d'activer les récepteurs NMDA à la place du glutamate en modulant la propriété du canal (Texido et al., 2011). Cette excès d'activation entraîne une entrée massive de calcium, puis une excitotoxicité neuronale qui se termine par la mort du neurone (Choi, 1992). La Mémantine vient occuper les

récepteurs NMDA à la place du glutamate, ce qui permet de diminuer leur activation et de normaliser la transmission synaptique entre les neurones (De Felice et al., 2007). Comme les anticholinestérasés, la Mémantine réduit les symptômes mais n'a aucun effet sur l'évolution de la maladie car elle ne cible pas le mécanisme sous-jacent la sur-activation des récepteurs NMDA. La réduction de symptômes chez certains patients inclut une diminution de la dégradation de la mémoire, du raisonnement, du langage et du sens de l'orientation (Areosa et al., 2005).

2 LA MÉMOIRE

Le symptôme se manifestant en premier dans la maladie d'Alzheimer est la perte de la mémoire. Il existe plusieurs formes de mémoires (Figure 1), et nous verrons au paragraphe 2-2 que toutes ne sont pas affectées de la même façon ni au même moment par la maladie d'Alzheimer.

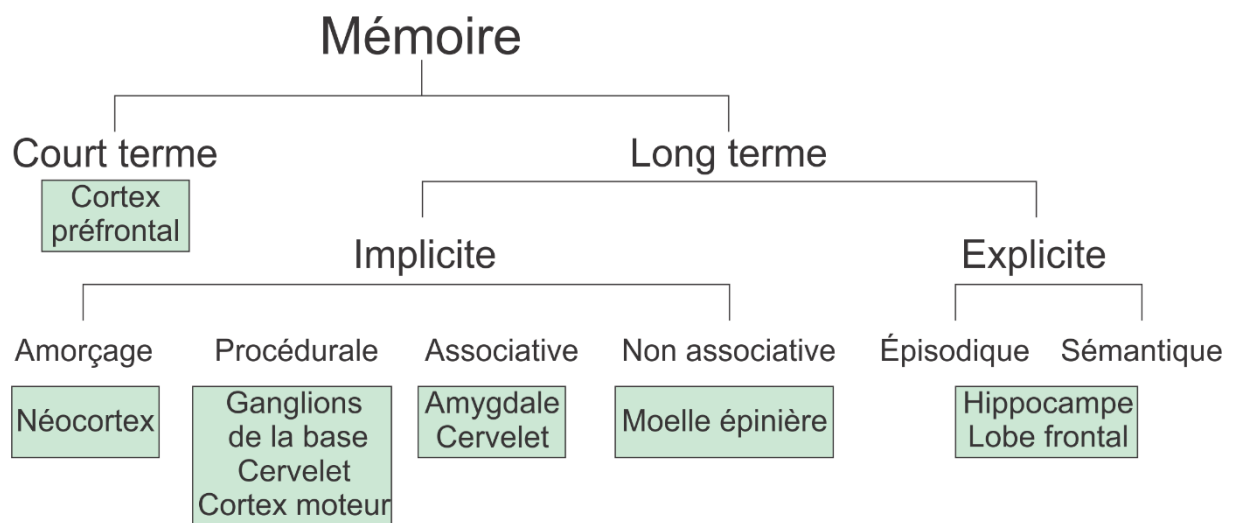


Figure 1. Classification de la mémoire, et régions du cerveau associées. Adapté d'après (Squire and Zola-Morgan, 1991).

2-1 Les différents types de mémoire

Jusqu'à la moitié du XXème siècle la mémoire n'était pas considérée comme une fonction discrète, car elle fait intervenir beaucoup d'autres aspects cognitifs, sensoriels ou moteurs (Thompson and Krupa, 1994). À présent nous savons que plusieurs régions du cerveau

participent à la mise en mémoire des informations en participant directement à l'encodage, au stockage et au rappel de ces informations. Ces régions sont sous l'influence d'autres régions du cerveau qui sont importantes pour tous les types de mémoires, qu'elles soient visuelles, sonores ou olfactive, ou pour l'humeur. Il existe différents types de mémoires, et certaines régions du cerveau sont davantage impliquées pour un type que pour un autre (Figures 1 et 2).

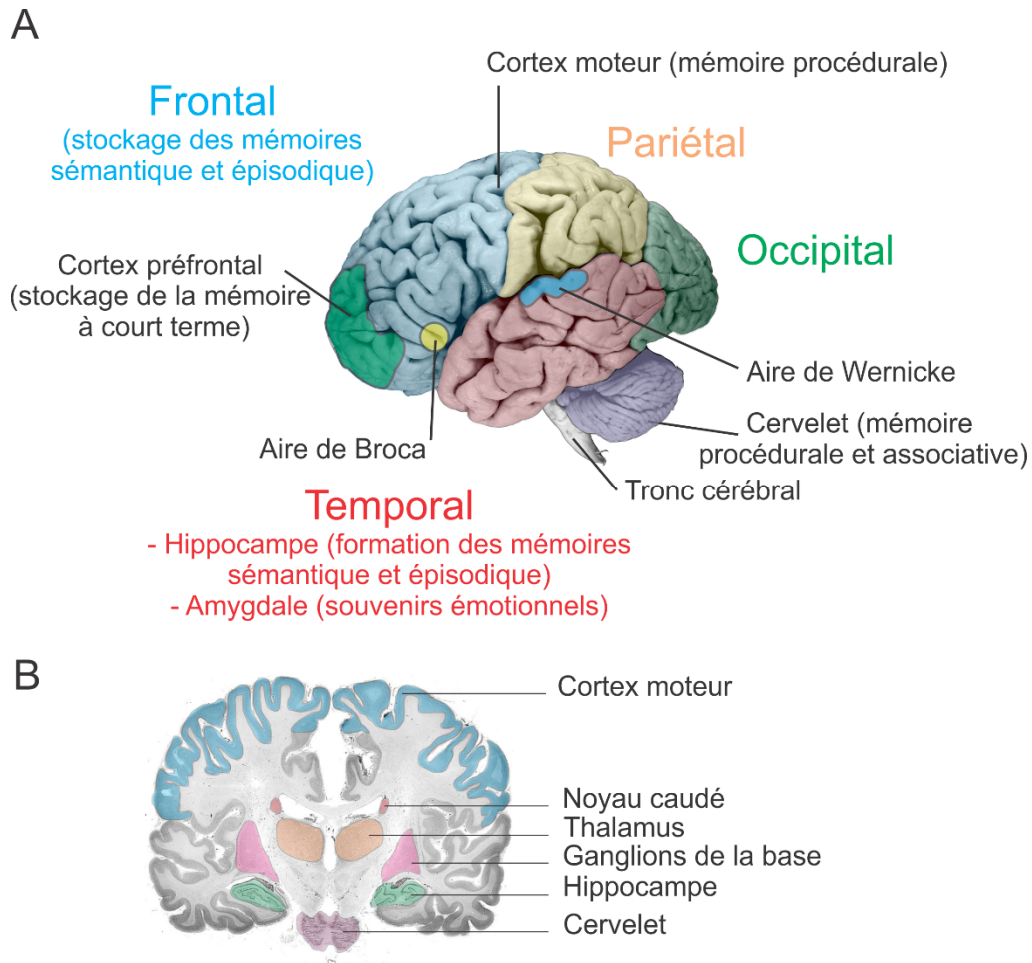


Figure 2. Cerveau humain, cervelet et tronc cérébral. Délimitation des lobes cérébraux et des aires corticales impliquées dans la mémoire. A : vue latérale gauche. B : coupe coronale de cerveau humain montrant des régions impliquées dans les différents types de mémoires. Photographies modifiées de <http://www.brainmuseum.org/>, de University of Wisconsin and Michigan State Comparative Mammalian Brain Collections et National Museum of Health and Medicine. Ces préparations ont été financées par le National Science Foundation et par le National Institutes of Health.

2-1-1 La mémoire à court terme

La mémoire à court terme est aussi appelée mémoire de travail. Ce type de mémoire permet de retenir un nombre très limité d'informations en mémoire pour quelques secondes seulement. La boucle phonologique et le calepin visuo-spatial sont deux stratégies de mémorisation à court terme (Baddeley and Hitch, 1974). La boucle phonologique consiste en la répétition mentale des informations verbales ou symboliques et fait intervenir les mécanismes associés au langage et donc le cortex pariétal postérieur et l'aire de Broca (Alexander, 1997). Le calepin visuo-spatial permet la rétention des informations définissant un objet telles que sa couleur, sa forme, sa vitesse ou sa position dans l'espace. La rétention d'images mentales des objets fait intervenir les régions préfrontales, pariétales postérieures et temporales inférieures (Linden et al., 2003). Les informations gardées en mémoire quelques secondes sont destinées à être réutilisées immédiatement. Ainsi, le lobe préfrontal, largement impliqué dans la planification, joue un rôle très important.

2-1-2 Les mémoires à long terme

Il existe deux types de mémoire à long terme : la mémoire explicite (déclarative) et la mémoire implicite (non déclarative) (Schacter, 1987). La mémoire explicite nécessite un apprentissage conscient et permet une description verbale du souvenir. Les mémoires sémantiques et épisodiques sont des formes de mémoires explicites (Tulving, 1987). L'hippocampe est une des régions du cerveau nécessaire pour le transfert de l'information de la mémoire à court terme à la mémoire à long terme pour la mémoire explicite. La mémoire implicite se forme à partir d'un apprentissage inconscient, c'est-à-dire qui ne se prête pas attention aux détails de l'apprentissage. Les régions impliquées dans la mémoire implicite sont l'amygdale, le cervelet, les ganglions de la base, le cortex et la moelle épinière (Figures 1 et 2).

2-1-2-a La mémoire sémantique

La mémoire sémantique est la mémoire des faits et des connaissances générales, souvent accessibles à tous dans une encyclopédie (Collins and Quillian, 1969). La mémoire sémantique repose sur des concepts plus objectifs que ceux de la mémoire épisodique qui eux reposent sur la perception individuelle (Tulving, 1972). La mémoire sémantique est indispensable à la

pratique du langage en créant un répertoire de faits historiques, de reconnaissances d'objets, de mots ou de symboles (Kintsch, 1967). Le lobe temporal inférieur est indispensable pour la formation de la mémoire sémantique (Figure 2) (Hirsh, 1974). Il reçoit de nombreuses afférences en provenance des autres structures corticales, par exemple du cortex prémoteur pour se souvenir de l'utilisation adéquate d'un outil, ou du cortex visuel pour la reconnaissance des formes d'un objet et l'association d'un mouvement à un objet (Kapur et al., 1994). Mais selon Nadel, les souvenirs de la mémoire sémantiques deviendraient totalement indépendants de l'hippocampe et des structures voisines dans le lobe temporal après leur stabilisation au néocortex lors de la consolidation (Nadel et al., 2000).

2-1-2-b La mémoire épisodique

La mémoire épisodique est dite autobiographique et se réfère au point de vue de chacun, à une date, un lieu voire un état émotionnel propre à chacun (Tulving, 1983). Plusieurs étapes sont nécessaires à la formation du souvenir épisodique, parmi lesquelles l'encodage, la consolidation et la récupération de l'information. Chacune de ces étapes sollicite le lobe temporal (Figure 2), mais est sous influence de multiples autres régions du cerveau (Lavenex and Amaral, 2000). Notamment pour l'encodage, où l'attention, dont le siège est le cortex préfrontal, permet de sélectionner les informations les plus pertinentes et d'écartier les moins importantes (Craik et al., 1996; Uncapher and Rugg, 2005). Le cortex préfrontal communique largement avec l'hippocampe, et ce dernier reste très important pour l'encodage puisque le très connu patient H.M., dont les deux lobes temporaux avaient été retirés, n'était plus capable de créer de nouveaux souvenirs (Scoville and Milner, 1957). La consolidation consiste en la fixation de la mémoire. La formation des souvenirs sur le long terme entraînera un renforcement physique des connexions entre les neurones de l'hippocampe et ceux des autres régions impliquées et en relation avec le type de souvenir (Wilson and McNaughton, 1994). Enfin pour la récupération, il s'agit d'accéder au souvenir et de le reconstruire, avec l'influence de plusieurs facteurs en rapport avec le contexte du souvenir (humeur, odeur, sonorité...). En fait, la récupération des souvenirs épisodiques dépend de l'interaction entre les cortex préfrontaux et pariétaux où se font les processus cognitifs de reconnaissances temporelles et spatiales, et les lobes temporaux qui reçoivent des afférences en provenance des aires associatives (Tulving et

al., 1994). Donc après leur formation au lobe temporal, les souvenirs épisodiques sont transférés vers le lobe frontal pour un stockage permanent. Mais à la différence de la mémoire sémantique, l'hippocampe intervient toujours pour retrouver les souvenirs même après plusieurs années de consolidation (Nadel et al., 2000).

Les types de mémoires suivantes sont des formes de mémoires implicites, donc ne requérant pas l'état de conscience et se manifestant par une automatisation. Ces types de mémoires ne dépendent pas des lobes temporaux, et c'est la raison pour laquelle le patient H.M. conservait une partie de sa mémoire implicite, notamment motrice (Scoville and Milner, 1957).

2-1-2-c L'amorçage

L'amorçage est une mémoire qui nécessite la présentation d'un indice pertinent pour la récupération d'une information. Ce type de mémoire dépend du néocortex, notamment les régions préfrontales et celles associées à la perception des mots et des objets comme par exemple le cortex visuel (Marsolek et al., 1992) ou auditif (Graf et al., 1985).

2-1-2-d La mémoire procédurale

La mémoire procédurale porte sur les habitudes motrices et les savoir-faire. L'apprentissage se fait par la pratique répétitive du geste et ce jusqu'à un certain perfectionnement. Ce type d'apprentissage se ferait en trois étapes (Fitts and Posner, 1967) : au départ l'apprentissage commence à partir d'instructions à suivre, c'est le *stade cognitif* ; puis le *stade associatif* permet d'adapter la pratique selon les erreurs déjà commises ; enfin, le *stade automatique* est atteint lorsque performance devient praticable sans y attacher l'attention. La mémoire procédurale dépend des ganglions de la base et du cervelet (Grafton et al., 1992), mais aussi de l'activation des cortex moteur et prémoteur (Pascual-Leone et al., 1994) (Figures 1 et 2).

2-1-2-e La mémoire non associative

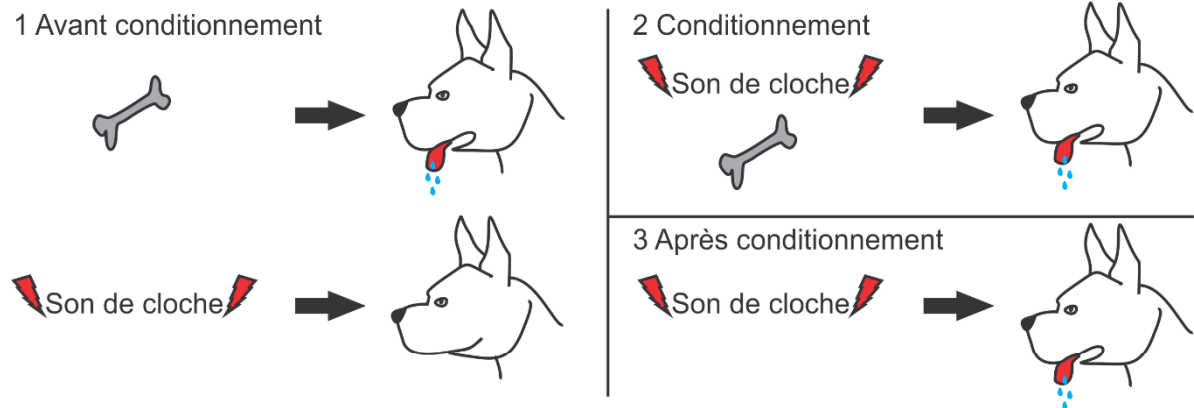
La mémoire non associative est fortement liée avec la sensibilité du système sensoriel. Lorsque le sujet est exposé à un même stimulus de façon répétée, il va ajuster l'intensité de sa

réponse motrice. L'habituation si le stimulus est bénin (Sherrington, 1906; Thompson and Spencer, 1966), et la sensibilisation si le stimulus est nocif, sont deux formes d'apprentissages non associatifs (Carew et al., 1971). La mémoire non associative dépend du tronc cérébral et de la moelle épinière qui contrôlent les mouvements réflexes (Figures 1 et 2) (Sherrington, 1906).

2-1-2-f La mémoire associative

La mémoire associative a été mise en évidence au travers des conditionnements classiques et opérants chez l'animal. Pour le conditionnement classique, une réponse physiologique intervient avec un stimulus inconditionné qui a été associé au préalable avec un stimulus conditionné (Pavlov, 1951). Pavlov a de cette façon conditionné le chien à saliver au son d'une sonnette (conditionné) car ce son a préalablement été associé avec l'arrivée de nourriture (non conditionné) (Figure 3A). Le chien a associé le son et la nourriture, si bien qu'il salive inconsciemment lorsqu'il entend le son uniquement. Le stimulus non conditionné peut aussi être de nature douloureuse et entraîner un comportement d'évitement (Bull and Overmier, 1968). Pour le conditionnement opérant, l'animal est seul dans une boîte et doit agir pour obtenir une récompense, en appuyant sur un levier par exemple (Figure 3B). La chambre de conditionnement opérant a été créée par Skinner (Skinner, 1935). L'animal appuie au début par hasard, mais se rend compte qu'il obtient une récompense pour chaque appui. Le renforcement va pousser l'animal à appuyer sans arrêt. L'inverse existe lorsque l'animal reçoit une punition (Skinner and Campbell, 1947). Pour la mémoire associative, le cervelet (Solomon et al., 1989) et l'amygdale sont très impliqués (Blanchard and Blanchard, 1972).

A Conditionnement classique



B Conditionnement opérant

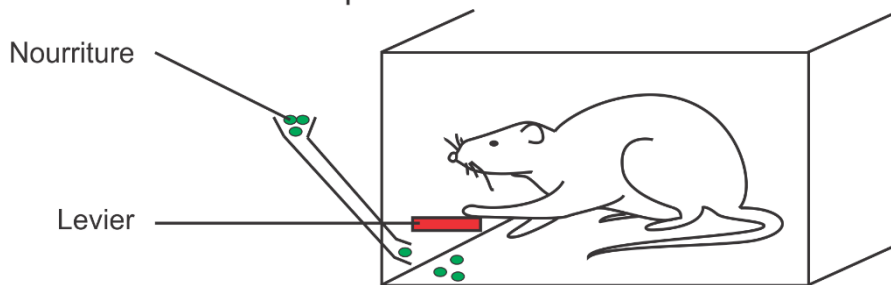


Figure 3. Mémoire associative. A : conditionnement classique chez le chien, d'après Pavlov, 1951. Le chien salive à la vue d'un os, mais pas à l'écoute d'un son (1). Lorsque le son est associé à la présentation d'un os, le chien salive (2). Après le conditionnement, le chien a associé le son de cloche à l'arrivée de l'os, si bien qu'il salive lorsqu'il entend le son mais que l'os est absent (3). B : conditionnement opérant chez le rat, d'après Skinner, 1935. Le rat apprend à appuyer sur un levier pour obtenir de la nourriture.

2-2 Affectation des mémoires dans la maladie d'Alzheimer

Dans la maladie d'Alzheimer, les différents types de mémoires ne sont pas tous affectés au même moment et suivent les stades d'atteintes du cerveau (Budson and Price, 2005). L'hippocampe fait partie des régions qui sont touchées en premier par la mort neuronale dans le cerveau. Par extension, les mémoires faisant intervenir l'hippocampe, telles que les mémoires épisodiques et sémantiques, sont les premières touchées (Hodges and Patterson, 1995; Hodges, 2000). Les mécanismes d'apprentissage sont altérés donc les souvenirs les plus récents disparaissent rapidement. En revanche, les souvenirs les plus anciens sont dans un premier temps conservés lors de la maladie, car ils dépendent moins de l'hippocampe mais davantage du lobe préfrontal (Nadel et al., 2000). La personne atteinte donne alors l'impression de vivre à une époque antérieure de sa vie et ne se souvient plus de son entourage proche et trop récent.

La mémoire à court terme impliquée pour le rappel immédiat d'informations est aussi altérée dès les premiers stades de la maladie d'Alzheimer (Grady et al., 2001), et par conséquent la planification devient impossible. À un stade plus avancé de la maladie, les lobes préfrontaux et associatifs sont atteints par la neurodégénérescence, et les souvenirs les plus anciens de la mémoire à long terme disparaissent à leur tour. Au stade très avancé, la mémoire procédurale est affectée aussi, rendant les tâches quotidiennes telles que l'habillage ou le lavage impossibles (Zidan M., 2012). À ce stade, le patient a perdu toute autonomie.

3 LES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA MÉMOIRE

3-1 L'hippocampe

La formation hippocampique est une élaboration des bords du cortex cérébral spécifique aux mammifères et se situe dans le lobe temporal médian chez l'homme. C'est une structure paire, composée du cortex entorhinal, du gyrus dentelé, de l'hippocampe et du subiculum (Figure 4). La formation hippocampique est connectée d'une part aux cortex associatifs pour l'association de plusieurs modalités à un souvenir, d'autre part aux noyaux septaux et corps mamillaires via le fornix, pour la composante émotionnelle. La formation hippocampique, l'amygdale, le fornix, les corps mamillaires et le gyrus cingulaire sont les principaux composants du système limbique (Rajmohan and Mohandas, 2007) qui joue un rôle très important pour la formation de la mémoire, dans le comportement et les émotions telles que le plaisir ou la peur (Figure 4).

L'hippocampe est très impliqué dans les processus d'apprentissage et de mémorisation (Scoville and Milner, 1957), ainsi que dans la navigation spatiale (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). Il fait partie des premières structures atteintes lors de la maladie d'Alzheimer (Braak and Braak, 1991), d'où les troubles de mémoire et la désorientation spatiale des personnes qui en sont atteintes. Alors il convient de l'utiliser comme modèle d'étude pour caractériser les mécanismes impliqués dans les processus d'apprentissage.

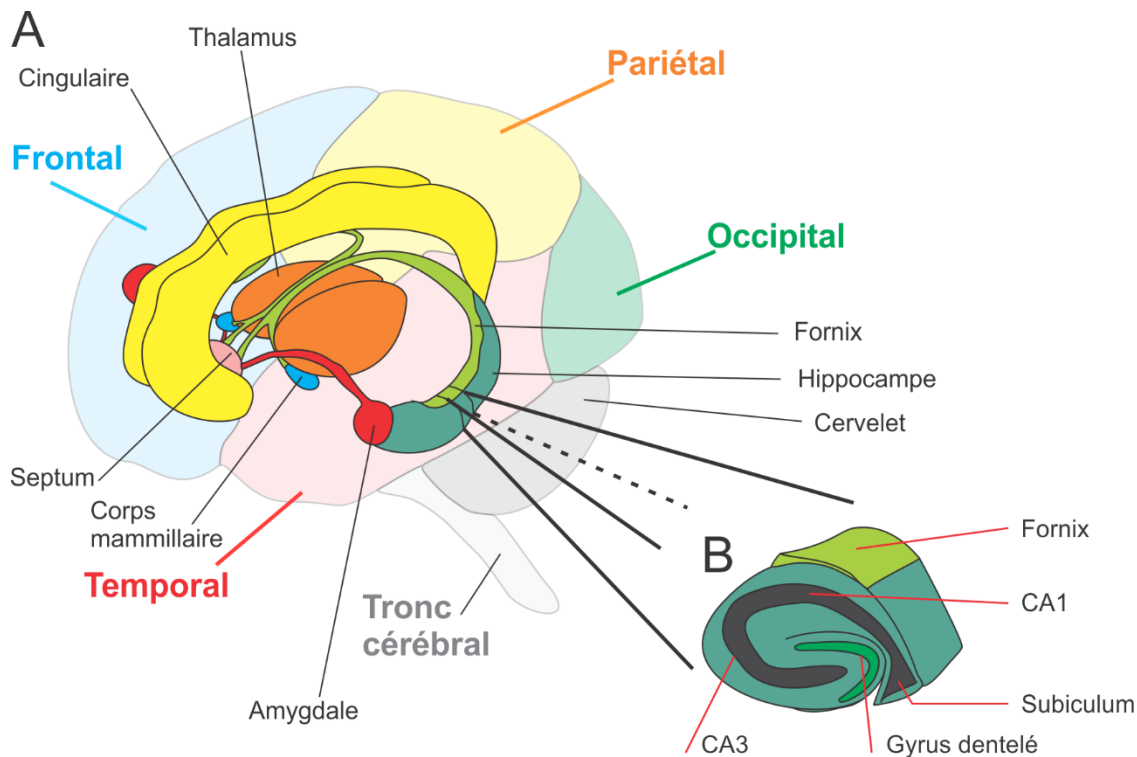


Figure 4. Système limbique chez l’homme. A : structures principales qui composent le système limbique. Inspiré de www.lesca.ca/2014/02/16/comment-fonctionne-la-memoire-et-quelles-regions-du-cerveau-jouent-un-role-cle-pour-la-memoire/. B : section de l’hippocampe.

L’usage d’animaux pour l’expérimentation en laboratoire a déjà permis la compréhension de nombreux mécanismes élémentaires impliqués dans les grandes fonctions biologiques (Gachelin, 2006). De nombreuses études chez le rat ont par exemple déjà permis d’étudier les mécanismes impliqués dans l’apprentissage. L’hippocampe du rat, bien que positionné différemment dans le cerveau, a une organisation semblable à celui de l’homme, tant pour les couches neuronales qu’il contient que pour ses afférences et efférences (Figure 5). L’avantage du rat pour étudier les mécanismes impliqués dans la mémoire est que cet animal naît avec un système nerveux immature qui va continuer à se développer tout au long du premier mois post-natal (Bayer et al., 1993). Comme les jeunes enfants chez l’homme, le jeune rat apprend facilement les réponses conditionnées ou d’évitement, ce qui permet l’étude des mécanismes à la base de ces apprentissages (Bachevalier and Blozovski, 1980). De plus, l’expérimentateur a la possibilité de faire varier les conditions expérimentales en manipulant son environnement ou son état émotionnel pour mieux comprendre comment les différents systèmes peuvent

influencer les réponses liées à l'apprentissage de l'animal. Enfin l'utilisation de l'animal permet d'isoler par la chirurgie certaines régions du cerveau ou d'étudier l'influence de molécules pharmacologiques sur les réseaux de neurones pour mieux en comprendre le fonctionnement. Les neurones de l'hippocampe sont organisés en couches distinctes et les différents types neuronaux issus parfois de sous-structures différentes sont facilement identifiables. Les premiers travaux chez le rat sur la mémoire à long terme remontent aux années soixante et sont discutés dans la revue de Bachevalier en 1976 (Bachevalier, 1976). Le labyrinthe radial (Tolman and Honzik, 1930) et la piscine de Morris (Morris, 1984) sont deux exemples de tests développés spécialement pour l'étude comportementale du rat et permettant de tester les mémoires à court et long terme, incluant la mémoire de travail, la mémoire spatiale ou la mémoire associative.

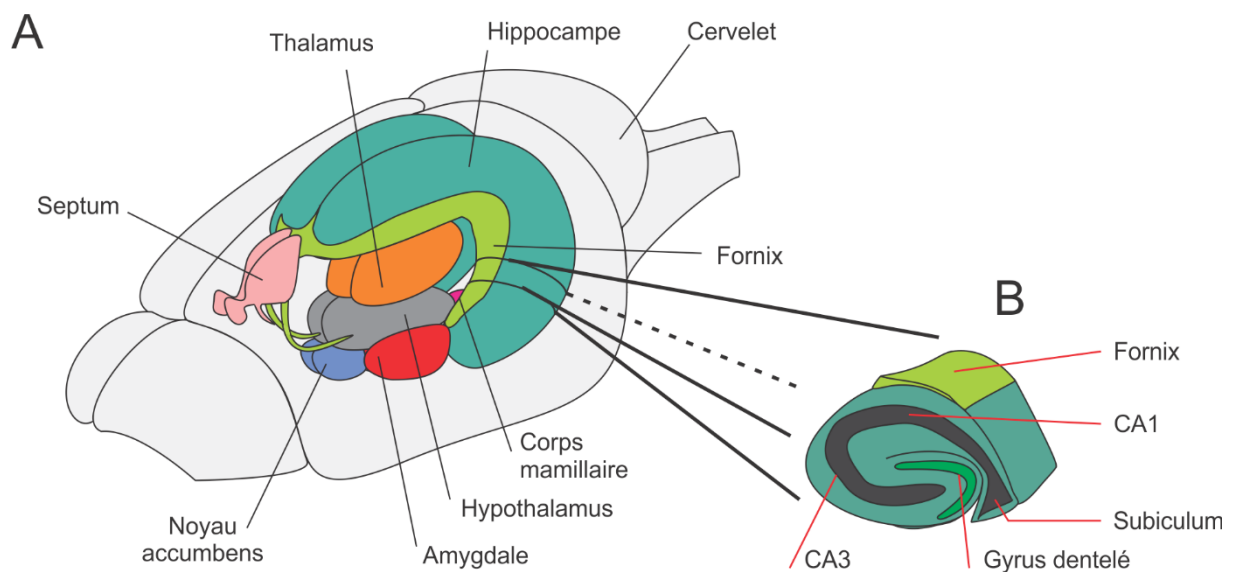


Figure 5. Système limbique chez le rat. A : structures principales qui composent le système limbique. B : section de l'hippocampe. Dessiné à partir du site de reconstruction de cerveau <http://www.3dbar.org>.

L'hippocampe, ou corne d'Ammon, est formé des champs ammoniens (CA4 à CA1) et du gyrus dentelé (Lorente de No, 1934) (Figure 6). Il est caractérisé par un circuit excitateur unidirectionnel que l'on appelle le circuit tri-synaptique (Andersen et al., 1971). Ce circuit commence avec la voie perforante formée des axones des neurones pyramidaux du cortex entorhinal, qui contacte les neurones granulaires situées dans le gyrus dentelé. Ces neurones

granulaires envoient à leur tour leurs axones, appelés les fibres moussues, en direction des neurones pyramidaux contenus dans le CA3 avec lesquels ils font des synapses dites « en passant » (Ramon y Cajal, 1911). Ensuite, les neurones du CA3 envoient leurs axones, appelés les collatérales de Schaffer, vers les neurones pyramidaux contenus dans le CA1 avec lesquels ils font aussi des synapses dites « en passant ». Pour compléter le circuit tri-synaptique, les neurones du CA1 envoient leurs axones vers le subiculum et le cortex entorhinal. En plus du circuit tri-synaptique, les neurones du cortex entorhinal peuvent envoyer une partie de leurs axones par une voie dite directe sur le subiculum et vers les neurones du CA1 (Andersen et al., 1973).

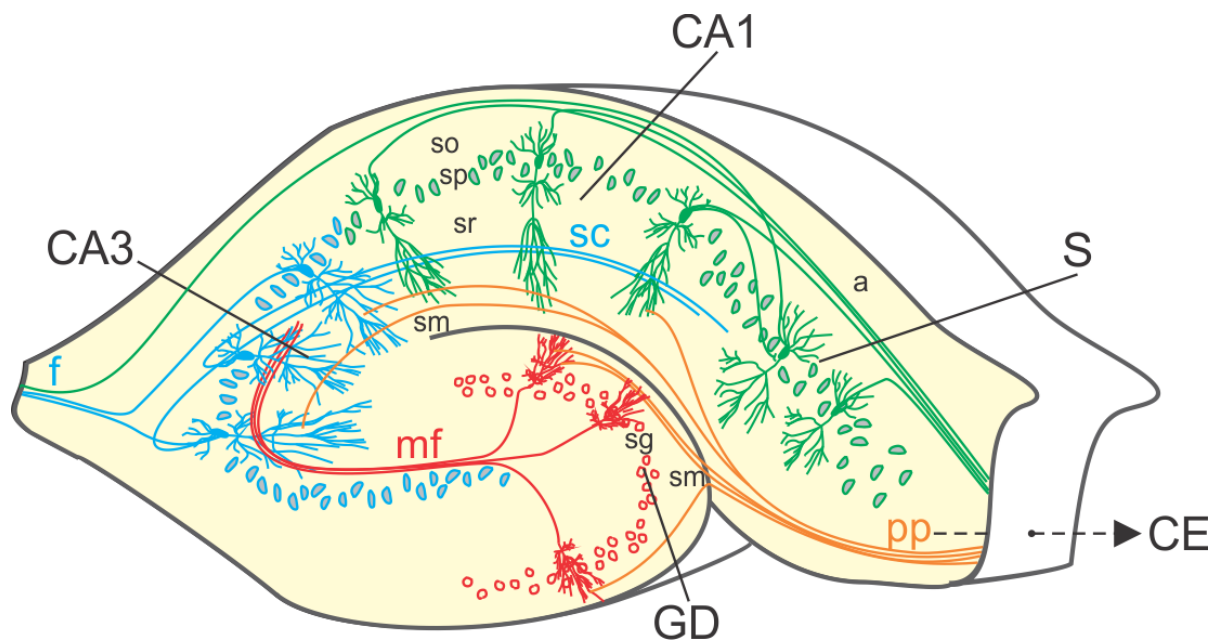


Figure 6. Organisation de l'hippocampe. Schématisation des circuits excitateurs dans une tranche d'hippocampe de rat, inspiré de Ramon y Cajal, 1911. Cortex entorhinal (CE), Gyrus dentelé (GD), Corne d'Ammon 1 et 3 (CA3 et CA1), Subiculum (S). Le circuit tri-synaptique comprend la voie perforante (pp), les fibres moussues (mf) et les collatérales de Schaffer (sc). Dans le gyrus dentelé, les trois couches distinguables sont le stratum moleculare (sm), le stratum granulosum (sg) et l'hilus (h). Les cinq couches présentes dans le CA1 et le CA3 sont l'alveus (a), le stratum oriens (so), le stratum pyramidale (sp), le stratum radiatum (sr) et le stratum moleculare (sm). Le CA3 contient une sixième couche, le stratum lucidum (sl).

Une des voies d'entrée sur l'hippocampe est le cortex entorhinal, qui reçoit des afférences en provenance des cortex cingulaire, préfrontal, associatif (visuel et auditif) et de l'amygdale

(O'Keefe and Nadel, 1978). La seconde entrée est le fornix, qui reçoit des afférences de l'hippocampe controlatéral, du septum (voie cholinergique) et du tronc cérébral (O'Keefe and Nadel, 1978).

Pour les voies de sortie de l'hippocampe, les axones des neurones du CA1 et CA3 forment la fimbria qui permet de connecter l'hippocampe controlatéral, le noyau accumbens, la formation réticulée, l'aire préoptique et le tronc cérébral. La sortie par le subiculum va connecter les corps mamillaires, l'hypothalamus, le thalamus avant de revenir sur l'hippocampe via le cortex entorhinal (Amaral et al., 1991). L'hippocampe envoie aussi des fibres sur le septum, et une autre voie depuis le cortex entorhinal vers les aires associatives du néocortex incluant les cortex préfrontal et orbitofrontal.

3-2 La transmission synaptique dans l'hippocampe

Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur dans le cerveau et dans l'hippocampe. Les récepteurs AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozol-4-propionate), NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et kaïnate sont trois types de récepteurs ionotropiques au glutamate, présents dans l'hippocampe, et portent le nom de leur agoniste le plus sélectif. Ces trois récepteurs sont perméables au sodium et au potassium (Dingledine et al., 1999). Leur perméabilité au calcium, leur cinétique d'activation et leur modulation par des molécules endogènes qui leur sont spécifiques permettent de les différencier entre eux. Les récepteurs métabotropiques sont une autre classe de récepteurs au glutamate présents aussi dans l'hippocampe (Conn and Pin, 1997), tandis que le GABA y assure la transmission inhibitrice.

3-2-1 La transmission glutamatergique à la synapse CA3-CA1.

Les récepteurs AMPA sont responsables de la propagation rapide de l'influx nerveux entre les neurones et sont principalement postsynaptiques (Mayer and Westbrook, 1987). Leur activation nécessite la liaison du glutamate et ne dépend pas de la valeur du potentiel membranaire (Figure 7A). La plupart des récepteurs AMPA sont formés de deux homodimères de quatre sous-unités GluA1, GluA2, GluA3 ou GluA4, synthétisées à partir des quatre gènes du même nom. Près de 95% des ARNm des formes GluA2 subissent le phénomène d'édition

post-transcriptionnel R586Q (résidu arginine à la place du résidu glutamine), ce qui rend le récepteur AMPA imperméable aux ions divalents dont le calcium (Sommer et al., 1991). Cette imperméabilité du récepteur AMPA au calcium est primordiale pour son implication dans les mécanismes de plasticité synaptique. Justement dans l'hippocampe, qui est impliqué dans les mécanismes d'apprentissage, les formes prédominantes des récepteurs AMPA dans les cellules pyramidales de l'hippocampe sont des homodimères formés de GluA1 et GluA2 (Sans et al., 2003). N'étant perméable qu'au sodium et au potassium, le récepteur AMPA conduit des courants entrants aux potentiels membranaires négatifs et sortants aux potentiels positifs. La fonction du récepteur AMPA peut être modulée grâce à plusieurs sites de phosphorylation sur sa face interne, par la protéine kinase A (PKA) (Greengard et al., 1991), la protéine kinase C (PKC) (Tan et al., 1994) et la protéine kinase calcium/calmoduline-dépendante (CaMKII) (Yakel et al., 1995).

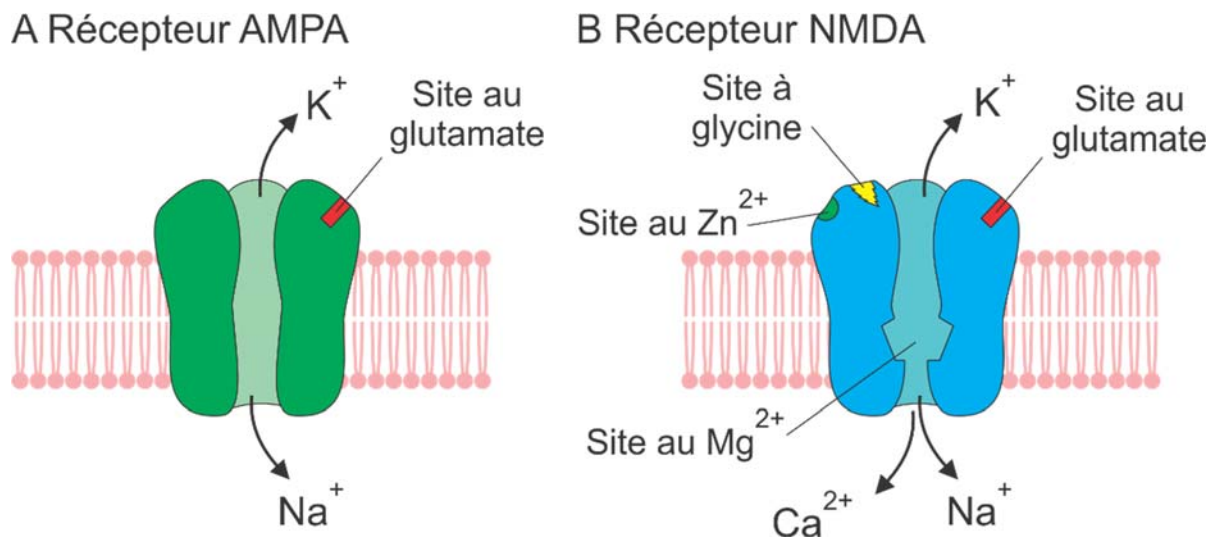


Figure 7. Types de récepteurs au glutamate à la synapse CA3-CA1. A : récepteur AMPA. B : récepteur NMDA. K^+ : ion potassium. Na^+ : ion sodium. Ca^{2+} : ion calcium. Zn^{2+} : particule de zinc. Mg^{2+} : ion magnésium.

Les récepteurs NMDA sont principalement postsynaptiques dans l'hippocampe, ils ne participent pas à la transmission rapide mais jouent un rôle important dans la plasticité synaptique (Liu, 2004). Ce sont des tétramères formés de deux sous-unités GluN1 et de deux

sous-unités GluN2. Leur activation requière la liaison de la glycine sur les sous-unités GluN1 et la liaison du glutamate sur les sous-unités GluN2 (Forsythe et al., 1988) (Figure 7B). Les différents types de sous-unités GluN2 existantes vont spécifier les propriétés du récepteur en termes de sensibilité au glutamate, de perméabilité au calcium ou d'interaction avec des molécules intracellulaires. L'excitabilité du récepteur NMDA peut être modulée grâce à plusieurs sites de phosphorylation sur sa face interne, par la PKC, par la CaMKII (Kitamura et al., 1993) et par la tyrosine kinase (Moss et al., 1993; Wang and Salter, 1994). Au potentiel de repos, le récepteur NMDA est bloqué par un ion magnésium, ce qui l'empêche de participer à la transmission synaptique rapide (Nowak et al., 1984). L'activation des récepteurs AMPA entraîne la réversion du potentiel membranaire et l'expulsion du magnésium pour l'activation du récepteur NMDA.

Les récepteurs métabotropiques au glutamate (mGluR) sont distribués sur les terminaisons présynaptiques et postsynaptiques à la fois dans l'hippocampe. Ils sont formés de sept domaines transmembranaires et sont couplés à une protéine G. Huit sous-types de mGluR1 à mGluR8 ont été caractérisés à ce jour (Conn and Pin, 1997). Les huit sous-types de mGluR sont exprimés dans l'hippocampe, à l'exception du mGluR6. Mais dans les neurones du CA1, ce sont les mGluR1 et mGluR5 qui sont majoritaires, tandis que les mGluR7 sont trouvés du côté présynaptique de la synapse CA3-CA1 (Shigemoto et al., 1997). Couplés à la phospholipase C, les mGluR1 et mGluR5 permettent la formation de diacylglycérol (DAG) et d'inositol triphosphate (IP3). Le DAG active la PKC, alors que l'IP3 entraîne la mobilisation des stocks intracellulaires de calcium en provenance du réticulum endoplasmique. Les mGluR présynaptiques permettent aussi la modulation de l'exocytose (Herrero et al., 1992). De cette façon les mGluR peuvent participer à l'amplification de la plasticité synaptique.

3-2-2 La transmission inhibitrice dans l'hippocampe.

La transmission inhibitrice dans l'hippocampe est médiée par des interneurons GABAergiques principalement (Andersen et al., 1964), qui représentent environ 10% de la population neuronale dans la formation hippocampique. Leur localisation, la forme de leur arborisation dendritique et leurs projections axonales permettent de les classer selon leur type

(Freund and Buzsaki, 1996; Parra et al., 1998). Le récepteur GABAergique de type A ($GABA_A$) est perméable aux ions chlorure principalement (Takeuchi and Takeuchi, 1967), et à d'autres anions dont le HCO_3^- (Bormann et al., 1987). Sa phosphorylation par les PKA ou PKC permet de moduler son activation (Poisbeau et al., 1999). Le récepteur de type B ($GABA_B$) est un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à la protéine $G_{i/o}$. Il est responsable de la fermeture des canaux calciques, de l'ouverture des canaux potassiques et de l'inhibition de l'adénylate cyclase, ce qui permet au neurone de revenir à un potentiel membranaire en dessous du seuil d'activation (Bettler et al., 2004).

3-3 La plasticité synaptique dans l'hippocampe

L'apprentissage correspond à l'acquisition d'un nouveau souvenir et pourrait se traduire dans le cerveau par des changements dans la force de transmission synaptique entre les neurones. Dans un réseau de neurones, la plasticité synaptique permet la modulation des synapses et à terme des modifications dans la force de transmission entre les neurones. Les neurones peuvent renforcer certaines synapses et diminuer l'efficacité d'autres synapses. Sur du plus long terme, de nouvelles synapses peuvent être créées et d'autres supprimées.

3-3-1 La potentialisation à long terme

La potentialisation à long terme (LTP) est une des formes de plasticité synaptique essentielle à l'apprentissage, elle a été mise en évidence en 1973 dans l'hippocampe (Bliss and Lomo, 1973). En stimulant électriquement et à haute fréquence les axones contenus dans la voie perforante, il était observé une augmentation de la transmission synaptique au niveau des cellules granulaires du gyrus dentelé. En 1977 le même phénomène fut observé à la synapse CA3-CA1 lors de la stimulation des collatérales de Schaffer (Andersen et al., 1977).

Dans l'hippocampe, la LTP peut être induite à trois endroits différents. Des fibres moussues sur les neurones du CA3, des collatérales de Schaffer sur les neurones du CA3 et sur les neurones du CA1, et du cortex entorhinal sur les neurones du CA1 (voie directe de la voie perforante) (Figure 8). La LTP se traduit par un renforcement de la force de transmission à la synapse, mais ce renforcement peut dépendre de mécanismes cellulaires et moléculaires

différents. Dans les trois cas, la LTP ne survient qu'après une activation synaptique de la voie qui est potentialisée. Lors d'une stimulation tétanique des fibres présynaptiques, les potentiels d'action arrivant à la terminaison du neurone présynaptique entraînent l'ouverture de canaux calciques voltage dépendants situés à proximité des sites de libération des vésicules de neurotransmetteurs. Le calcium entrant se lie avec des protéines impliquées dans les mécanismes d'exocytose de neurotransmetteurs dans la fente synaptique entre les terminaisons présynaptiques et postsynaptiques. Les différentes formes de LTP observables dans l'hippocampe peuvent résulter de mécanismes distincts d'origine présynaptiques ou postsynaptiques. En outre, la contribution des récepteurs NMDA permet de dissocier les LTP propres aux trois voies dans l'hippocampe.

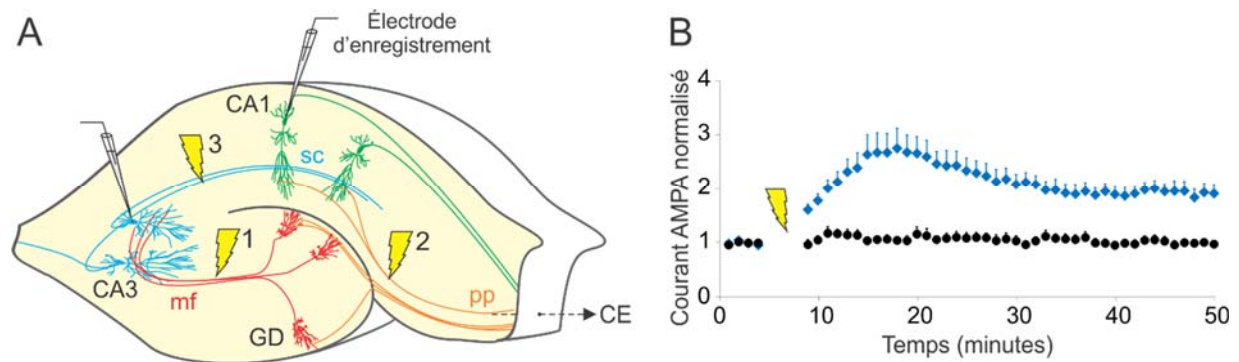


Figure 8. Circuit d'obtention de LTP dans l'hippocampe. Les éclairs jaunes représentent les voies dans lesquelles les fibres présynaptiques sont capables d'induire de la LTP avec les neurones avec lesquels elles font synapses. A : la stimulation tétanique des fibres moussues (mf) en provenance du gyrus dentelé (GD) (voie 1), de la voie perforante directe (pp) issue du cortex entorhinal (CE) (voie 2), ou des collatérales de Schaffer (sc) issues du CA3 (voie 3) permettent l'obtention d'une LTP au CA3 ou au CA1. Figure inspirée de (Kandel et al., 2012). B : exemple de LTP obtenue dans la voie 3 (tracé non publié).

Dans la voie des fibres moussues au CA3, la LTP induite est indépendante des récepteurs NMDA car leur blocage avec l'acide 2-amino-5-phosphonovalérique (AP5) n'a aucun effet sur la LTP (Zalutsky and Nicoll, 1990). Pourtant la cellule postsynaptique du CA3 présente à sa membrane des récepteurs AMPA et NMDA, mais ces derniers ne jouent qu'un rôle mineur dans la LTP. La LTP à la synapse entre les fibres moussues et les neurones du CA3 est d'origine présynaptique exclusivement, et implique principalement une entrée massive de calcium à sa terminaison lors de l'arrivée des potentiels d'actions (Nicoll and Schmitz, 2005). Cette entrée

massive de calcium présynaptique permet l'activation de l'adénylate cyclase et la production massive d'adénosine 3',5'-cyclique monophosphate (AMPC). La principale cible de l'AMPC est la PKA, dont les deux sous-unités catalytiques vont se dissocier des deux sous-unités régulatrices. Cette dissociation permet la phosphorylation d'autres protéines, dont certaines impliquées dans l'exocytose de glutamate. Parce que cette LTP est exclusivement présynaptique et indépendante des récepteurs NMDA, elle est dite non-associative. Son inhibition requiert l'utilisation d'un inhibiteur de la PKA, tel que le H-89 (Zalutsky and Nicoll, 1990).

Dans la voie perforante directe, qui relie le cortex entorhinal aux neurones du CA1, la LTP dépend à la fois des récepteurs NMDA et des canaux calciques voltage-dépendants de type L (Remondes and Schuman, 2003). Son inhibition complète requiert donc l'usage simultané d'AP5 et de nitrendipine, un bloqueur des canaux calciques de type L.

La LTP à la synapse CA3-CA1 est la mieux caractérisée à ce jour. Elle se rapproche le plus de la théorie de Hebb, selon laquelle l'activation synchrone de deux neurones entraîne un renforcement de leur lien et serait à la base de l'apprentissage associatif (Hebb, 1949). Il a d'ailleurs été montré chez la souris qu'une lésion au niveau des collatérales de Schaffer l'empêche de performer dans des tâches d'apprentissage complexes. À la synapse CA3-CA1, la LTP requiert l'activation des récepteurs NMDA (Bliss and Collingridge, 1993). L'activation du neurone présynaptique entraîne la libération de glutamate capable de lier les récepteurs AMPA et les récepteurs NMDA présents sur la membrane du neurone postsynaptique. Les récepteurs AMPA s'activent dès la liaison du glutamate et participent à la transmission rapide entre les deux neurones, ce qui se traduit par un potentiel postsynaptique exciteur (PPSE), c'est-à-dire une légère dépolarisation du neurone postsynaptique. La liaison du glutamate sur les récepteurs NMDA est insuffisante pour leur activation car ces derniers sont bloqués par du magnésium extracellulaire. Le récepteur NMDA s'active seulement lorsqu'une quantité notable de glutamate permet une dépolarisation suffisante du neurone postsynaptique pour entraîner l'expulsion du magnésium (Nowak et al., 1984). Cela est possible lorsque les fibres présynaptiques sont stimulées à fréquence élevée, par exemple avec un protocole de stimulation

des collatérales de Schaffer à 100Hz pendant une seconde. Le récepteur NMDA agit comme un détecteur de coïncidence des activités présynaptiques et postsynaptiques, et la LTP à la synapse CA3-CA1 est dite associative (Bliss et Collingridge, 1993). L'activation des récepteurs NMDA permet une entrée de calcium extracellulaire à l'intérieur du neurone postsynaptique. Le calcium entrant active de nombreux messagers secondaires, et entraîne plusieurs voies de signalisation (Collingridge, 1987) permettant l'induction et l'expression de la LTP (Figure 9). Grâce au calcium entrant, l'activation de la PKC, de la CaMKII ou encore des tyrosines kinases au niveau du neurone postsynaptique entraînera la phosphorylation des récepteurs AMPA et NMDA, l'amélioration de leur sensibilité au glutamate et l'augmentation de leur conductance. Davantage de récepteurs AMPA seront recrutés à la membrane (Heynen et al., 2000; Malinow and Malenka, 2002), permettant l'augmentation de la réponse postsynaptique pour une même quantité de glutamate libéré par les fibres présynaptiques. La modulation est aussi présynaptique puisque la terminaison postsynaptique va libérer des messagers destinés à la terminaison présynaptique pour augmenter la libération de neurotransmetteurs. Ce messager, possiblement l'oxyde nitrique (Zhuo et al., 1993), permettrait la fermeture des canaux potassiques présents sur la terminaison présynaptique, retardant ainsi la repolarisation du neurone. Les canaux calciques restent alors ouverts plus longtemps et le calcium continue à stimuler la libération de vésicules de neurotransmetteurs.

L'activation des récepteurs NMDA dépend donc de la quantité de glutamate capable de se lier sur les récepteurs postsynaptiques, mais aussi de la quantité de récepteurs AMPA présents à la membrane postsynaptique, car ce sont eux qui permettent la dépolarisation de la membrane. Il est dit que la LTP à la synapse CA3-CA1 est associative car son induction requiert à la fois le potentiel d'action présynaptique pour la libération du neurotransmetteur, et la dépolarisation postsynaptique pour l'ouverture de ces récepteurs NMDA. De cette façon elle suit le postulat de Hebb qui dit que lorsque deux neurones sont excités conjointement, les liens qui les unissent sont renforcés (Hebb, 1949). Selon Hebb, la coïncidence des activités des terminaisons présynaptiques et postsynaptiques serait à la base de l'apprentissage associatif. Sa dépendance aux récepteurs NMDA a rendu la LTP à la synapse CA3-CA1 vraiment attractive pour l'étude des mécanismes d'apprentissage associatifs.

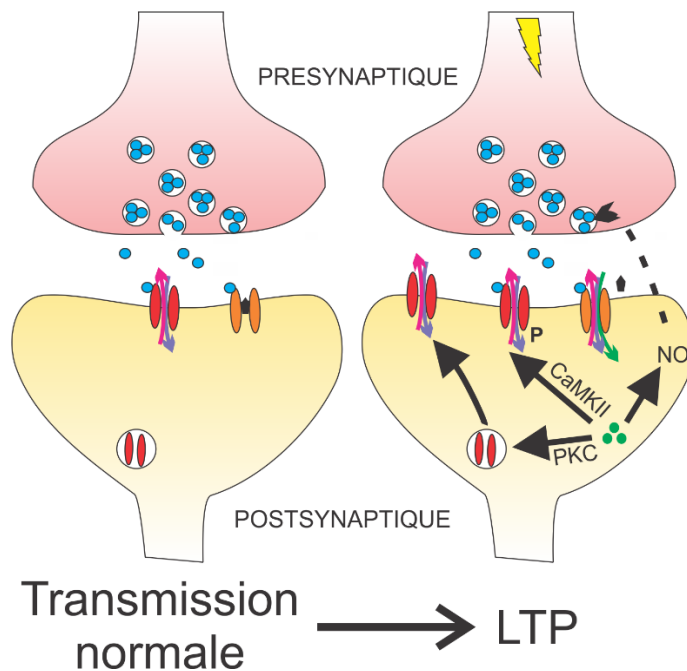


Figure 9. Mise en place de la phase précoce de la LTP à la synapse CA3-CA1. Lors de la transmission normale, l'activation à basse fréquence de la fibre présynaptique en provenance du CA3 libère du glutamate, liant à la fois les récepteurs AMPA (en rouge) et NMDA (en orange) à la membrane postsynaptique. Seuls les récepteurs AMPA s'activent, car les récepteurs NMDA sont bloqués par un ion magnésium. Une stimulation à haute fréquence de la fibre présynaptique entraîne l'activation de davantage de récepteurs AMPA, et la dépolarisation de la membrane postsynaptique. Cette dépolarisation permet l'expulsion du magnésium et l'activation des récepteurs NMDA. Le calcium entrant permet d'activer des seconds messagers, entraînant l'ajout de récepteurs AMPA à la membrane, et la LTP. CaMKII : calcium/calmoduline-dépendante kinase II. PKC : protéine kinase C. NO : monoxyde d'azote. P : phosphorylation. L'éclair jaune représente une stimulation à fréquence élevée de la fibre présynaptique nécessaire pour l'induction de la LTP. Les flèches roses, violettes et vertes représentent les flux d'ions potassium, sodium et calcium respectivement.

Une même synapse est aussi capable d'exprimer plusieurs types de LTP en fonction du protocole de stimulation des fibres synaptiques (Huang, 1998) : celle vue jusqu'à présent dure quelques minutes à quelques heures et est dite LTP à court terme (phase précoce de la LTP) (Figure 9), mais d'autres peuvent durer plus de 24h, et sont dites LTP à long terme (phase tardive de la LTP) (Figure 10).

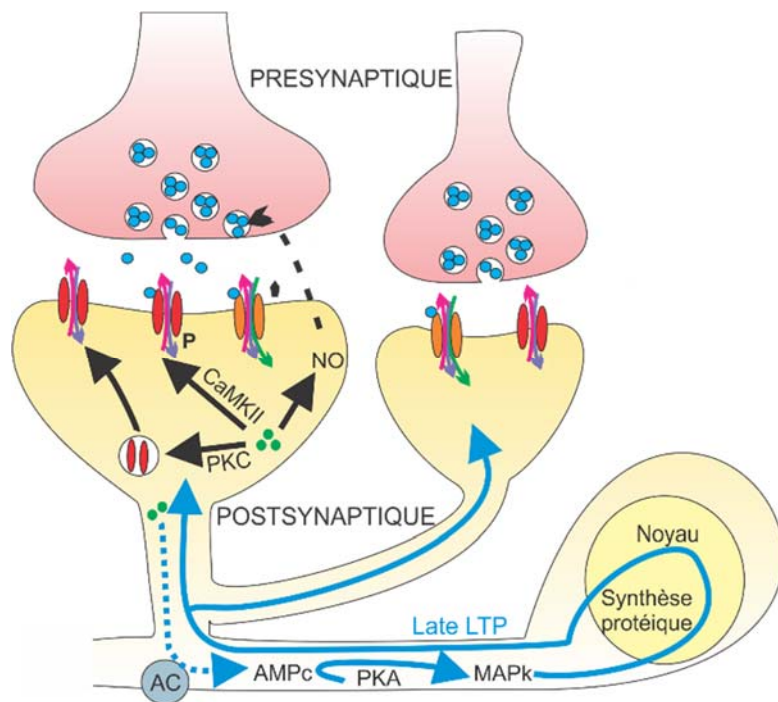


Figure 10. Mise en place de la phase tardive de la LTP à la synapse CA3-CA1. La répétition des trains de stimulation de la fibre présynaptique entraîne l'activation de l'AMPc, puis de la PKA et de la MAPk, qui peut activer CREB dans le noyau, capable d'activer la transcription de gènes codant pour des protéines nécessaires à la fabrication des nouvelles synapses. P : phosphorylation. CaMKII : calcium/calmoduline-dépendante kinase II. PKC : protéine kinase C. NO : monoxyde d'azote. AC : adénylate cyclase. AMPc : adénosine monophosphate cyclique. PKA : protéine kinase A. MAPk : protéine kinase activée par des mitogènes.

L'expression de la LTP à long terme entraîne l'apparition de nouvelles synapses et le renforcement de celles déjà existantes, par l'augmentation de leur taille ou en augmentant la surface des zones actives d'apposition des régions présynaptiques et postsynaptiques (Figure 10). Cette remodelisation de la synapse est nécessaire à la consolidation de la mémoire, et nécessite la fabrication de nouvelles protéines (Frey et al., 1988). L'activation de la synthèse protéique sert à fabriquer des facteurs de croissance, et des facteurs de transcription pour activer d'autres gènes codants pour des protéines impliquées dans le développement pour la formation de nouvelles synapses ((Fifkova et al., 1982; Luscher and Malenka, 2012).

La phase précoce de la LTP est induite à partir d'un seul train de stimulation à 100Hz des fibres présynaptiques, fait intervenir la PKC et la CaMKII (Figure 9), et est indépendante de la

synthèse protéique (Huang, 1998). Mais lorsque les trains de stimulation sont répétés trois ou quatre fois, la LTP obtenue peut durer jusqu'à 24h. Dans ce cas l'influx de calcium permet de recruter l'adénylate cyclase, qui produit l'AMPc (Frey et al., 1993), lequel peut activer la PKA (Abel et al., 1997) (Figure 10). La sous-unité catalytique de la PKA active la MAP kinase (protéine kinase activée par des mitogènes) qui se rend au noyau pour activer CREB-1 pour la transcription de gènes nécessaires à la synthèse de protéines impliquées dans la formation des nouvelles synapses (Barco et al., 2002). Parallèlement, le flux de calcium entrant permet la traduction locale d'ARNm codant pour la PKM ζ , qui n'est autre qu'une forme constitutivement active de la PKC (Osten et al., 1996). De cette façon, davantage de récepteurs AMPA sont recrutés à la membrane postsynaptique.

3-3-3 La dépression à long terme

La dépression à long terme (LTD) joue aussi un rôle important dans l'apprentissage. La LTD correspond à une diminution de la force de transmission synaptique et est induite par une stimulation électrique de basse fréquence des fibres présynaptiques (Dudek and Bear, 1992) (Figure 11A). Il existe à la synapse CA3-CA1 de l'hippocampe deux formes de LTD (Oliet et al., 1997). La première est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA et de l'activation de phosphatases. La seconde dépend des récepteurs mGluR5 qui se trouvent proches dans les dendrites et dans les épines dendritiques des neurones du CA1.

La LTD dépendante des récepteurs NMDA dépend de l'intensité de la stimulation des fibres présynaptiques, qui par l'action du glutamate sur les récepteurs AMPA doit entraîner une dépolarisation suffisante du neurone postsynaptique. Cette dépolarisation permet l'activation des récepteurs NMDA et l'entrée de calcium. Cette quantité de calcium dans le neurone postsynaptique n'est pas suffisante pour activer les mécanismes de LTP et va au contraire activer ceux de la LTD (Malenka and Nicoll, 1993). À la place de la kinase CaMKII, c'est la phosphatase PP2B (protéine phosphatase 2B), plus connue sous le nom de calcineurine, qui sera activée (Mulkey et al., 1994), ce qui entraînera un retrait des récepteurs AMPA de la membrane et une diminution de la force de transmission synaptique (Carroll et al., 1999; Heynen et al., 2000). La raison est que la phosphatase PP2B a une meilleure affinité pour le

calcium que la kinase CamKII, et en conséquence, il faudrait dans le neurone postsynaptique une quantité de calcium plus importante pour induire de la LTP à la place de la LTD.

Un autre facteur connu pour être nécessaire à l'expression de la LTD dépendante des récepteurs NMDA est la caspase 3. La pro-caspase 3 est encodée par le gène CASP3 situé chez l'homme sur le chromosome 4. La caspase 3 active clive les protéines après site de reconnaissance protéique Asp-x1-x2-Asp, où x1 est un résidu hydrophile, et x2 un résidu hydrophobe. Le caractère dit zymogène des caspases est essentiel pour éviter que les caspases ne clivent tout dans la cellule sans aucun contrôle. La caspase 3 se présente au départ sous la forme d'une pro-caspase inactive, composée de deux sous-unités, de 20 et 10 kD chacune. La pro-caspase 3 devient la caspase 3 active après avoir été clivée par une caspase initiateur (caspases 8, 9 ou 10). Les deux sous-unités juste séparées forment alors un dimère et une enzyme active, capable à son tour de cliver les pro-caspases 6, 7 et 9 pour les rendre actives.

Le rôle premier de la caspase 3 est d'entraîner l'apoptose. Pour cette fonction, la caspase 3 est localisée et agit surtout au niveau du corps cellulaire des neurones. L'apoptose est un mécanisme homéostatique permettant le roulement et le maintien des populations de cellules dans les tissus (Elmore, 2007). Elle est aussi un mécanisme de défense lors de réactions immunitaires, ou pour l'élimination contrôlée des cellules endommagées par des agents nocifs ou par la maladie (Norbury and Hickson, 2001). L'apoptose joue aussi un rôle très important pendant du développement lors des phases d'élimination, pour la disparition des neurones n'ayant pas établi les bons contacts synaptiques (Nijhawan et al., 2000). Plusieurs signaux permettent d'amorcer l'apoptose, parmi lesquels un dommage à l'ADN, un signal hormonal, l'accumulation d'une protéine mal formée dans le réticulum endoplasmique, ou encore la perte de contact entre la cellule et son environnement ou avec les autres cellules. La caspase 3, plus spécifiquement, est importante pour la survie de l'organisme. Il a été montré que des souris transgéniques déficientes pour la caspase 3 meurent avant la naissance, ou au maximum 3 semaines après (Kuida et al., 1996). Ces souris ont déjà au 12^{ème} jour embryonnaire des malformations du cerveau, avec de l'hyperplasie, des zones de protrusion et des cellules désorganisées. Ces malformations seraient restreintes au cerveau seulement, et ne toucheraient

pas les autres parties du corps. Il serait observé entre autres des masses ectopiques au niveau du cervelet, de l'hippocampe ou de la rétine (Kuida et al., 1996). Au contraire, la surexpression de la caspase 3 entraîne de la dégénérescence.

La caspase 3 joue aussi un rôle fondamental dans la fonction synaptique puisqu'elle est nécessaire à l'expression de la LTD. Il a en effet été montré qu'elle serait indispensable à l'internalisation des récepteurs AMPA pendant la LTD (Li et al., 2010). Il a été montré à partir de tranches d'hippocampe issues de cerveau de souris transgéniques déficientes en caspase 3, qu'il n'est plus possible d'induire de la LTD, alors que la LTP est normale (Li et al., 2010). Cette étude montre aussi que la surexpression de protéines anti-apoptotiques entraînent une abolition de la LTD. Il semblerait finalement que l'activation des caspases à la synapse soit directement liée à la modulation de la LTD, et n'entraîne pas l'apoptose (Li et al., 2010).

La LTD dépendante des récepteurs mGluR5 dépend de la liaison du glutamate, de l'activation de la protéine kinase C (PKC), et de l'entrée de calcium par les canaux calciques de type T, bien présents dans les dendrites des neurones du CA1 (Oliet et al., 1997; Luscher and Huber, 2010). Ces canaux s'activent à un seuil de dépolarisation de la membrane inférieur au seuil d'activation des récepteurs NMDA. Le récepteur mGluR5 est couplé avec la protéine Gq, qui permet l'activation de la phospholipase C (PLC). La PLC permet la production de diacylglycérol (DAG), qui est activateur de la PKC, laquelle permet l'activation des canaux calciques dépendants du voltage et de type T. L'activation de la PLC permet aussi la formation d'inositol triphosphate (IP3), capable de lier les récepteurs à l'IP3 au niveau du réticulum endoplasmique pour moduler la libération du calcium intracellulaire. La LTD dépendante des récepteurs mGluR dépend aussi de la traduction locale d'ARNm, à la différence de la LTD dépendante des récepteurs NMDA (Huber et al., 2000). Il serait possible de distinguer les épines dendritiques capable de faire de la LTD dépendante des mGluR de celles capables de faire de la LTD dépendante de récepteurs NMDA par leur plus grosse taille et par la présence d'extension du réticulum endoplasmique (Holbro et al., 2009). Les ribosomes accrochés au réticulum endoplasmique dans ces épines dendritiques sont nécessaires pour la traduction locale d'ARNm et pour la LTD dépendante des mGluR (Huber et al., 2000).

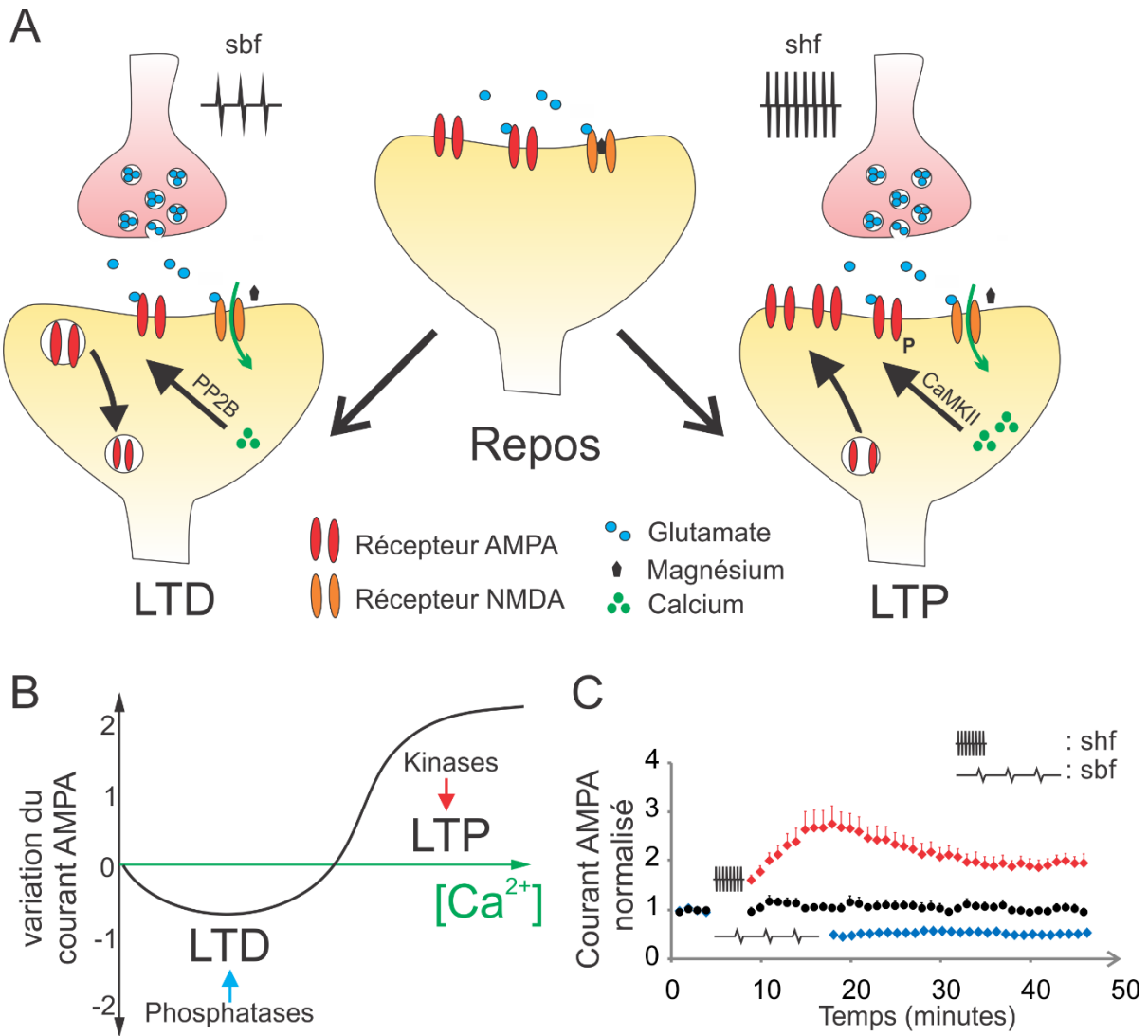


Figure 11. Dynamique de la plasticité synaptique. A : une stimulation à basse fréquence des fibres présynaptiques entraîne une faible entrée de calcium et le retrait de récepteurs AMPA. Une stimulation à haute fréquence des fibres présynaptiques entraîne une forte entrée de calcium et l’ajout de récepteurs AMPA. B : adaptation de la courbe BCM (Bienenstock et al., 1982; Cooper and Bear, 2012) montrant l’induction de LTD ou LTP en fonction de la quantité de calcium entrée par les récepteurs NMDA. C : tracés représentatifs de l’induction de la LTP en rouge ou de la LTD en bleu en fonction de l’intensité de stimulation des terminaisons présynaptiques. shf : stimulation haute fréquence. sbf : stimulation basse fréquence.

3-3-4 Le calcium et la plasticité synaptique

Il est maintenant admis que le calcium joue un rôle primordial dans l'induction de la plasticité synaptique au niveau de la synapse. L'application de chélateur de calcium dans le neurone postsynaptique empêche l'induction de la LTP (Lynch et al., 1983) et de la LTD (Mulkey and Malenka, 1992). Dans les synapses qui font de la LTP et de la LTD, l'induction de l'une ou de l'autre pourrait dépendre de la quantité de calcium dans le neurone postsynaptique. Jusqu'à très récemment, il était pensé qu'une petite élévation de calcium serait associée à de la LTD tandis qu'une forte élévation de calcium entraînerait de la LTP (Cho et al., 2001; Lisman, 2001) (Figures 11B et C). Cependant, une étude récente montre que cette induction de la LTD serait indépendante d'un flux entrant d'ion calcique au travers du récepteur NMDA, mais que la liaison du glutamate aux récepteurs NMDA resterait nécessaire (Nabavi et al., 2013). Des techniques utilisant la chélation du calcium ou sa libération photolytique dans le neurone postsynaptique avait en effet montré qu'un signal calcique de forte intensité (540nM) mais d'une durée très brève (2s) permettait l'induction de la LTP, et qu'un signal calcique de plus faible amplitude (180nM) mais d'une durée plus longue permettait l'induction de la LTD (Yang et al., 1999; Cormier et al., 2001). Mais selon l'étude de Nabavi et al. de 2013, la LTD dépendante des récepteurs NMDA dépendrait plutôt d'un niveau de calcium de base dans le neurone postsynaptique, et non de son élévation au-dessus des niveaux de base tel que proposé antérieurement par Mulkey et Malenka en 1992. Selon Nabavi et al., les chélateurs de calcium utilisés auparavant auraient réduit le calcium du neurone postsynaptique en dessous du niveau de base et c'est la raison pour laquelle la LTD était abolie. Selon eux, la LTD dépendrait donc de l'activation des récepteurs NMDA par le glutamate, et non du calcium entrant, et pourrait se faire au travers de récepteurs métabotropiques.

La libération de calcium par le réticulum endoplasmique est aussi nécessaire à la LTP et à la LTD dans l'hippocampe (Meldolesi, 2002). Les récepteurs à l'inositol triphosphates (IP3Rs) et les récepteurs au ryanodines (RyRs) se trouvent à la surface du réticulum endoplasmique lisse, localisé plus profondément dans la cellule, mais dont les extensions parviennent jusque dans les dendrites et dans les épines dendritiques, ainsi que dans les axones et aux terminaisons présynaptiques dans les neurones (Terasaki et al., 1994). Le calcium stocké dans le réticulum

endoplasmique est libéré par les récepteurs RyRs et par les IP3Rs (Simpson et al., 1995). Les RyRs sont activés principalement par le calcium, mais aussi par le ryanodine, la caféine ou l'oxyde nitrique. Le calcium entré dans le neurone par les canaux calciques voltage-dépendants ou par les récepteurs NMDA peut entraîner la libération de calcium par les RyRs (Emptage et al., 1999). Les IP3Rs sont principalement activés par l'IP3 (Foskett et al., 2007), alors que le calcium peut à la fois activer ou inhiber le récepteur en fonction du site de liaison (Taylor and Laude, 2002). Il semble que le calcium inhibe principalement l'IP3Rs (Adkins and Taylor, 1999), mais qu'en présence d'IP3, le calcium devienne activateur pour amplifier le signal calcique intracellulaire (Taylor and Laude, 2002). Les récepteurs métabotropiques au glutamate ainsi que les récepteurs muscariniques à l'acétylcholine de types M1, M3 et M5 permettent aussi la production d'IP3 au travers de l'activation de la phospholipase C (Caulfield, 1993; Banerjee and Hasan, 2005), et donc l'activation des IP3Rs.

Les vagues calciques dans les neurones pourraient être impliquées dans la fonction synaptique (Fernandez de Sevilla et al., 2008). Les récepteurs au ryanodine de type 3 (RyR3s) sont majoritaires au niveau des épines dendritiques des neurones du CA1 (Sharp et al., 1993), alors que les IP3Rs et RyRs sont tous deux présents aux dendrites, indiquant que la libération de calcium par les IP3Rs ou par les RyRs pourrait jouer des rôles différents dans la plasticité synaptique. Les souris déficientes en IP3Rs ou en RyR3s montrent une augmentation de la LTP dans l'hippocampe (Futatsugi et al., 1999; Fujii et al., 2000) laissant supposer que la libération du calcium par le réticulum endoplasmique, contrairement à l'influx de calcium par les récepteurs NMDA, tendrait à supprimer la LTP. Futatsugi et al reporta aussi en 1999 que ces souris déficientes en RyR3s ne produisaient pas de LTD dans les neurones du CA1, suggérant un rôle des RyR3s dans l'induction de la LTD.

3-3-5 La métaplasticité

La métaplasticité est la modification des paramètres nécessaires à l'induction de la plasticité synaptique (Abraham and Bear, 1996). C'est la plasticité de la plasticité synaptique, qui est liée à l'état fonctionnel du neurone. La métaplasticité modifie seulement la plasticité synaptique, mais pas transmission synaptique de base. L'induction de la LTP ou de la LTD est

possible selon des protocoles de stimulations connus des fibres présynaptiques. Cependant, l'historique de décharge du neurone peut altérer sa susceptibilité à de nouvelles stimulations subséquentes, en faisant varier les seuils d'activités postsynaptiques nécessaires à l'induction de la LTD ou de la LTP (Dunfield and Haas, 2009) (Figures 12). La métaplasticité pourrait ainsi permettre une optimisation des performances de mémorisation (Fusi et al., 2005). Les activités capables de faire varier une induction de plasticité subséquente sont par exemple une stimulation électrique de l'activité neurale, une activation pharmacologique des récepteurs impliqués dans cette activité neurale, ou une activation de nature hormonale (Figure 12A).

Initialement il fut montré que l'induction d'une LTP à la synapse CA3-CA1 par une forte stimulation de 100Hz pouvait être empêchée si les fibres présynaptiques du CA3 avaient été stimulées à 5Hz au préalable (Abraham and Bear, 1996). Depuis, plusieurs mécanismes ont été découverts permettant d'expliquer ce type de changement. Par exemple un changement local de la composition des récepteurs NMDA, avec un changement des sous-unités GluN2B en GluN2A tel qu'observé après l'induction de LTP dans des neurones du CA1, ou lors de la libération spontanée de glutamate (Barria and Malinow, 2002; Bellone and Nicoll, 2007; Lee et al., 2010). Ces synapses actives, ont un seuil d'activation de la LTP plus élevé que les synapses dites silencieuses qui sont plus riches en GluN2B (Lee et al., 2010). Un autre exemple vient de certaines synapses entre le gyrus denté et les neurones du CA3, qui sont incapables de faire de la LTP en condition basale, et nécessitent un amorçage, tel que de brèves stimulations des neurones présynaptiques, pour devenir capables d'exprimer la LTP (Rebola et al., 2008; Rebola et al., 2011). Ces brèves stimulations entraînent un enrichissement de ces synapses en récepteurs NMDA et y facilitent l'expression de la LTP. La métaplasticité peut aussi être d'origine hormonale, puisqu'une forte concentration de corticostérone peut bloquer l'induction de la LTP et faciliter celle de la LTD alors qu'un faible taux de corticostérone peut augmenter la transmission synaptique en facilitant la LTP (De Kloet, 2004).

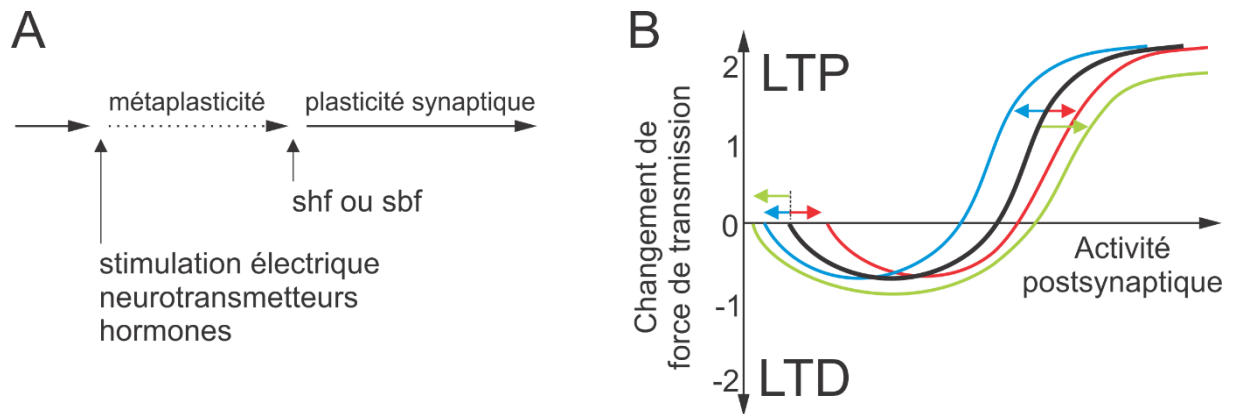


Figure 12. La métaplasticité. A : le stimulus capable d'induire de la métaplasticité peut être d'origine électrique, pharmacologique ou hormonal. B : adaptation de la courbe BCM (Bienenstock et al., 1982; Cooper and Bear, 2012) montrant les changements d'induction de LTD ou de LTP liés à de la métaplasticité. Il peut être observé une facilitation de l'induction de la LTD et de la LTP (bleu) ou une augmentation du seuil pour l'induction de la LTD et la LTP (rouge), ou encore une facilitation de la LTD et une augmentation du seuil d'induction de la LTP (vert). shf : stimulation haute fréquence. sbf : stimulation basse fréquence.

3-3-6 Implication de la LTP et de la LTD dans l'apprentissage

Plusieurs raisons ont amené à penser que la LTP pourrait être à la base du mécanisme d'apprentissage dans le cerveau. Déjà en 1894, Ramón y Cajal avait proposé que l'apprentissage favoriserait l'apparition et la croissance de ce que Sherrington appela plus tard les synapses. Il semble en effet que pendant la LTP il soit observé une restructuration de la synapse (Geinisman et al., 1996). Ces changements dans l'efficacité de la transmission synaptique peuvent perdurer plusieurs heures, voire plusieurs jours, ce qui correspond avec un apprentissage qui transite dans l'hippocampe, si on considère que ce dernier a une capacité de stockage limitée dans le temps pour les souvenirs avant qu'ils ne soient transférés en dehors de l'hippocampe (Marr, 1971). Le postulat de Hebb décrit les changements dans les neurones pendant un processus d'apprentissage en soutenant que l'efficacité synaptique augmente lors d'une stimulation présynaptique répétée et persistante de la cellule postsynaptique (Hebb, 1949). Le mécanisme de la mémoire se fait donc au travers d'un renforcement de la connexion entre les neurones. C'est ce qu'il se passe avec la LTP à la synapse CA3-CA1 qui, de par sa dépendance aux récepteurs NMDA, nécessite une coïncidence de l'activation présynaptique et postsynaptique pour leur activation et l'entrée de calcium.

La LTP à la synapse CA3-CA1 suit aussi les règles de l'apprentissage selon Hebb : La coopérativité, l'associativité et la spécificité (Bliss and Collingridge, 1993). La coopérativité permet d'assurer que seuls les événements pertinents activant un nombre suffisant de fibres peuvent amener à un apprentissage. Cela correspond à la nécessité de stimuler suffisamment d'axones pour entraîner l'induction de la LTP. L'associativité des entrées de fortes et faibles intensités permet qu'une entrée synaptique faible puisse profiter de la forte entrée synaptique sur une synapse voisine pour dépasser le seuil de genèse du potentiel d'action et faire de la LTP. Enfin il est dit que la LTP est spécifique car seulement les synapses dont la fibre présynaptique a été stimulée feront de la LTP, car elles seules libèrent le glutamate.

Par la suite, plusieurs études comportementales et pharmacologiques ont permis d'associer le processus de LTP avec l'apprentissage. Il fut montré par exemple en 1984 qu'en induisant électriquement de la LTP dans l'hippocampe chez le lapin naïf, l'animal apprenait ensuite plus rapidement la tâche de conditionnement (Berger, 1984). Après avoir été montré que l'AP5, un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA, empêchait l'induction de la LTP dans les tranches d'hippocampe (Collingridge et al., 1983), il fut reporté que l'infusion intraventriculaire de l'AP5 amenait à des problèmes sélectifs d'apprentissage (Morris, 1989). En 2006 il est montré à partir d'électrodes implantées dans la région CA1 de l'hippocampe que la transmission synaptique est augmentée après un conditionnement du rat, mettant en avant une corrélation entre la modification des réponses synaptiques et un apprentissage (Whitlock et al., 2006). Enfin en 2014, la stimulation optogénétique avec des protocoles de LTD et de LTP permet l'inactivation et la réactivation de la mémoire (Nabavi et al., 2014). Dans cette étude, le conditionnement de peur chez le rat est utilisé car il est un type de mémoire associatif. Le conditionnement de l'animal consistait à associer un choc électrique dans la patte avec un son de telle sorte que l'animal apprenne à avoir peur seulement à l'écoute du son. L'étude montre que la stimulation optogénétique des fibres auditives projetant sur l'amygdale, impliquée dans le sentiment de peur, permet d'effacer la mémoire du choc dans la patte, et de la réactiver en fonction du protocole de stimulation appliqué. Ils montrent qu'en appliquant un protocole de LTD l'animal oublie le choc à l'écoute du son alors qu'en délivrant un protocole de LTP cela réactive la mémoire du choc. Cette étude montre donc que l'induction de protocole de LTP ou

de LTD permet d'inactiver et de réactiver un apprentissage, validant le lien de cause à effet entre la LTP et la LTD, et l'apprentissage. Le postulat de Hebb avait déjà été vérifié par Kandel chez l'aplysie, qui est un invertébré, mais cette étude permet maintenant d'établir un lien direct entre l'apprentissage et la LTD et la LTP chez le mammifère.

Maintenant il est donc admis que les mécanismes de la LTP et de la LTD sont bien responsables de la mise en mémoire des informations dans le cerveau et peuvent donc être utilisés pour une meilleure caractérisation des mécanismes d'apprentissages dans le cerveau normal et en lien avec la maladie d'Alzheimer.

3-3-7 La plasticité homéostatique

Les formes de plasticité synaptique suivant la règle de Hebb modifient la force de transmission des synapses présentant une activité présynaptique et postsynaptique coïncidente. Cependant, lorsqu'une synapse fait de la LTP ou de la LTD, le mécanisme est amplifié par des retours positifs pour l'ajout ou le retrait de récepteurs AMPA à la membrane, la modulation de la libération de vésicules de neurotransmetteurs ou encore la formation ou la suppression de synapses. Ces processus étant spécifiques aux synapses coïncidentes, le neurone se retrouve avec des synapses de plus en plus actives d'un côté et de plus en plus silencieuses de l'autre. Dans le but d'homogénéiser l'excitation des synapses tout en gardant la spécificité relative à l'induction de LTP ou de LTD, il y a la plasticité homéostatique. La plasticité homéostatique prend en compte l'ensemble des synapses d'un neurone en combinant les circuits excitateurs et inhibiteurs afférents, pour le maintenir à un niveau d'excitation stable (Liu, 2004). Il s'agit d'une plasticité compensatoire pour éviter que le neurone souffre d'un manque total d'activité en cas de dépression synaptique, ou de saturation en cas de potentialisation synaptique (Turrigiano, 1999). La plasticité homéostatique permet d'envoyer le feedback négatif dont les neurones ont besoin pour maintenir l'activation de leurs synapses dans un certain cadre d'activation, tout en préservant les renforcements et les diminutions liés à la LTP ou à la LTD. Il existe plusieurs stratégies d'homogénéisation par le neurone, et toutes sont sur une échelle de temps relativement longue (quelques heures à quelques jours). Une étude a déjà montré à partir de neurones corticaux en culture une augmentation de l'amplitude des courants postsynaptiques

excitateur miniatures (CPSEm) après un blocage chronique de l'activité, et au contraire, une diminution de ces CPSEm après un blocage de 48h de l'inhibition GABAergique (Turrigiano et al., 1998). Il semblerait que l'activité de l'ensemble des synapses soit touchée, proportionnellement à leur force de transmission initiale. Plusieurs modifications postsynaptiques peuvent être impliquées. En premier lieu, les récepteurs AMPA et NMDA sont impliqués. Alors que les LTP et LTD se font par l'insertion ou le retrait rapide des récepteurs AMPA à la membrane (Malinow and Malenka, 2002), ces derniers participent aussi à la normalisation de l'activité synaptique, mais sur un intervalle de temps plus grand. Par exemple, une activité synaptique réduite peut entraîner l'augmentation de la demi-vie du récepteur AMPA et accroître son nombre à la membrane (O'Brien et al., 1998). Des variations chroniques du flux de calcium au travers des récepteurs NMDA, impliqués dans la LTP et la LTD, peuvent aussi entraîner des modifications permettant de ramener l'activité neuronale à des niveaux de base (Perez-Otano and Ehlers, 2005). Cela est possible en variant le nombre de récepteurs NMDA à la membrane (Rao and Craig, 1997), en variant leur composition (Quinlan et al., 1999), leur perméabilité au calcium ou leur dépendance au voltage membranaire (Ben-Ari et al., 1988). L'excitabilité neuronale est aussi importante. Le neurone postsynaptique présente à sa membrane plusieurs conductances sodiques, potassiques et calciques qui font les propriétés intrinsèques du neurone. Déjà chez l'invertébré il a été montré que l'activité elle-même pouvait réguler l'expression de ces conductances (Turrigiano et al., 1994; Hong and Lnenicka, 1997). Plus récemment dans des tranches d'hippocampe de rat en culture, il a été montré qu'un neurone pouvait de la même façon augmenter son excitabilité en réponse à une diminution prolongée des entrées synaptiques (Aptowicz et al., 2004). Dans cette étude, l'augmentation des courants postsynaptiques après l'application de la tetrodotoxine (TTX) pendant 48h, un bloqueur des canaux sodiques voltage-dépendants, est due à l'augmentation de l'expression de ces derniers dans les dendrites des neurones postsynaptiques. Il est aussi montré que l'activation prolongée des canaux sodiques voltage-dépendants entraîne une diminution de l'expression de ces derniers, soit par leur rapide internalisation, soit par une diminution des niveaux d'ARNm de la sous-unité α de ces canaux (Giraud et al., 1998). La plasticité homéostatique implique aussi une compensation par le nombre d'épines dendritiques. Le blocage de la transmission synaptique pendant plusieurs heures dans des tranches d'hippocampes aigues entraîne

l'apparition de nouvelles épines dendritiques dans le but de compenser la perte de l'entrée synaptique (Kirov and Harris, 1999). Les effets à court et long terme des facteurs neurotrophiques tels que le BDNF pourraient aussi différer dans le but de normaliser l'activité synaptique. À court terme, le BDNF facilite la transmission synaptique excitatrice (Kang and Schuman, 1995) et réduit l'inhibition (Tanaka et al., 1997), alors qu'à plus long terme le BDNF stabilise le réseau en balançant les entrées excitatrices et inhibitrices et en modulant l'excitabilité intrinsèque (Rutherford et al., 1998; Desai et al., 1999). Enfin, la modulation peut porter sur la libération de vésicules présynaptiques. Certains enregistrements dans des neurones de l'hippocampe ont aussi montré des variations dans la fréquence des PPSEm à la suite du blocage de l'activité, indiquant qu'un mécanisme présynaptique pourrait aussi intervenir pour maintenir l'activité synaptique (Bacci et al., 2001). Il semble qu'une augmentation du renouvellement des vésicules de neurotransmetteurs soit en cause (Wierenga et al., 2006).

4 LES HYPOTHÈSES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

Comme vu précédemment, il existe dans le cerveau plusieurs mécanismes liés aux processus d'apprentissage, parmi lesquels la LTP et la LTD dans l'hippocampe, impliqués dans l'apprentissage associatif de nouveaux souvenirs. Dans la maladie d'Alzheimer, la mémoire, qui résulte de l'apprentissage, est touchée en premier. Jusqu'à très récemment, l'attention a beaucoup été portée sur les processus de neurodégénérescence présents dans la maladie d'Alzheimer puisque les principaux marqueurs de la maladie, qu'il s'agisse des formes sporadiques ou familiales, sont les enchevêtrements neurofibrillaires d'une part, et les plaques amyloïdes d'autre part (Alzheimer, 1911). Ces deux types de lésions sont retrouvées dans le cerveau des personnes décédées avec la maladie d'Alzheimer et permettent toujours à ce jour d'en confirmer le diagnostic après le décès.

Les enchevêtrements neurofibrillaires et les plaques amyloïdes résultent de l'accumulation de la protéine tau (Brion et al., 1985) et du peptide amyloïde-bêta (Glennner and Wong, 1984) respectivement. Le constat est qu'à terme, ces accumulations sont toxiques pour le cerveau, et sont les seuls éléments qu'ont en commun l'ensemble des personnes atteintes de la maladie. De

nombreuses équipes de recherche ont donc cherché à comprendre comment ces deux composantes sont liées au développement la maladie d'Alzheimer.

4-1 La protéine tau, et pathologie associée

Dans les années 70, la protéine tau (tubulin associated unit : unité associée à la tubuline) était connue comme étant une protéine associée aux microtubules du cytosquelette des neurones (Weingarten et al., 1975). Les microtubules permettent, en tant que fibres constitutives du cytosquelette, le maintien de la géométrie de la cellule (Yamada et al., 1970) et jouent aussi un rôle dans la division cellulaire en répartissant les chromosomes dans les cellules en formation. Les microtubules sont aussi importants pour le transport cytoplasmique de molécules depuis le soma vers l'extrémité des neurites et inversement, des extrémités vers le noyau (Schnapp et al., 1985) (Figure 13A). Ce transport fait intervenir des petites protéines motrices comme les kinésines (Vale et al., 1985) et les dynéines (Gibbons and Rowe, 1965) qui font la liaison entre la vésicule contenant les molécules à transporter et le microtubule. Les kinésines et les dynéines se déplacent le long des microtubules dans les sens antérogrades et rétrogrades respectivement. Les protéines tau sont disposées telles des agrafes tout au long des microtubules et sont essentielles pour maintenir leur structure et leur stabilité (Drubin et al., 1986).

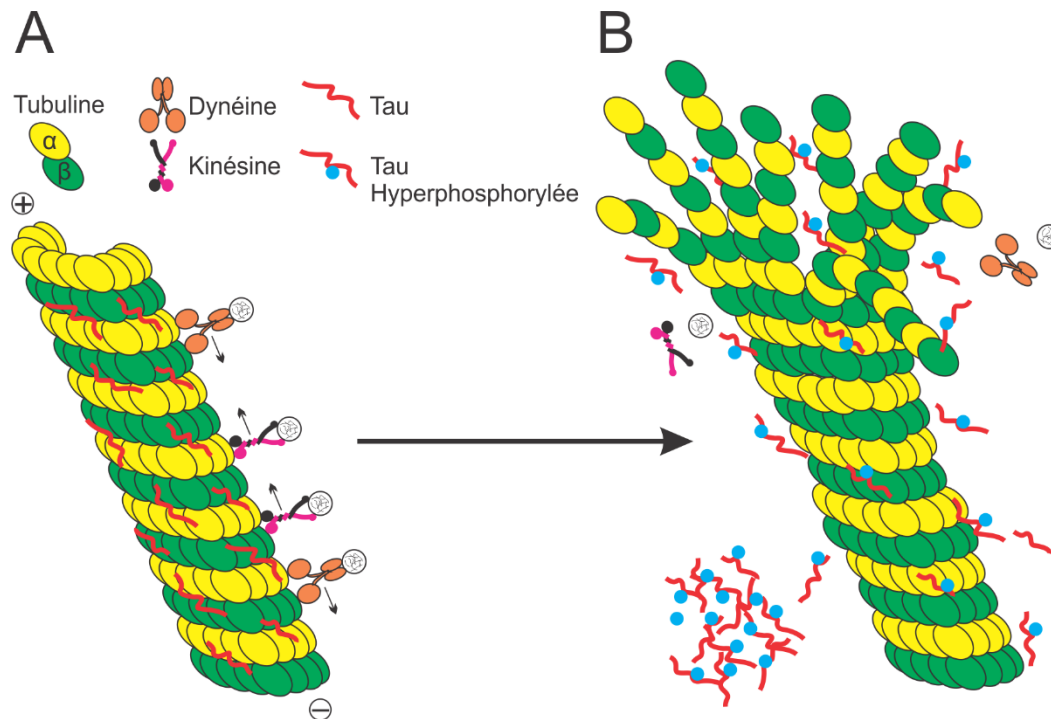


Figure 13. Fonctionnement des microtubules. A : le microtubule permet l'acheminement de molécules vers le noyau ou vers les extrémités des neurites grâce aux kinésines et dynéines qui font la liaison entre le microtubule et les vésicules remplies de molécules. La protéine tau stabilise le microtubule. B : le microtubule n'est plus stabilisé par la protéine tau qui est anormalement hyperphosphorylée.

En 1985, il a été démontré que les filaments anormaux constituant les lésions de dégénérescence neurofibrillaire et la protéine tau présentent des déterminants antigéniques communs (Brion et al., 1985). Par la suite, d'autres équipes ont confirmé la protéine tau comme étant le constituant majeur de ces enchevêtrements. En 1986, une étude a permis de montrer à partir d'un anticorps monoclonal dirigé contre la protéine tau non phosphorylée que les protéines tau étaient anormalement hyperphosphorylées dans les enchevêtrements neurofibrillaires (Iqbal et al., 1986). Dans cette étude, il a été montré avec cet anticorps une augmentation du signal après que les tissus aient été soumis à un agent déphosphorylant, indiquant une hyperphosphorylation de cette protéine lors de la maladie.

Actuellement la recherche s'intéresse aux modifications post traductionnelles subies par la protéine tau et aux mécanismes amenant à sa pathogénicité. La protéine tau est synthétisée à partir d'un gène situé sur le bras long du chromosome 17. L'épissage alternatif de ce gène

contenant 16 exons permet la synthèse de 6 isoformes chez l'homme (Goedert et al., 1989). Ces isoformes sont classifiées selon la quantité d'accroches aux microtubules, qui est de trois ou quatre, et correspond à la répétition d'un motif R trois ou quatre fois en fonction de la présence ou non de l'exon 10 (Goedert et al., 1989). La balance entre les formes R3 et R4 est importante pour la fonction neuronale. Toute mutation de tau entraînant une modification de ratio R3/R4 amène à terme à l'agrégation de la protéine.

Dans la maladie d'Alzheimer, la protéine tau est retrouvée dans le cerveau sous une forme au moins trois fois plus phosphorylée que la forme normale (Kopke et al., 1993). La phosphorylation dépend de la balance d'activation de kinases et de phosphatases, et pourrait concerner près de 85 sérines, thréonines et tyrosines présentes sur la protéine de 441 acides aminés (Wang et al., 2013). Plus de 24 kinases sont capables de phosphoryler la protéine tau en des points spécifiques, parmi lesquelles les GSK3 β , CaMKII, cdk5, PKA, PKC, ERK et JNK. Plusieurs phosphatases en permettent la déphosphorylation, et la plus connue d'entre elles est la PP2A qui compte pour 70% de l'activité phosphatase de la protéine tau chez l'homme (Liu et al., 2005), et dont l'activité est réduite dans le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer (Gong et al., 1995).

Lorsque la protéine tau est anormalement hyperphosphorylée, elle se détache des microtubules (Figure 13B). Les microtubules perdent leur organisation et les vésicules contenant des molécules à acheminer ne sont plus délivrées à la destination prévue. En se détachant, la protéine tau hyperphosphorylée se retrouve libre dans le milieu intracellulaire. En n'étant pas dégradée, elle s'accumule avant de s'agréger pour former les enchevêtrements neurofibrillaires. Ces derniers se retrouvent partout dans les prolongements des neurones, et cela entraîne de la toxicité à l'intérieur de ces derniers.

Si les enchevêtrements neurofibrillaires font l'objet de beaucoup d'études dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, il reste qu'ils ne lui sont pas spécifiques, ni à la maladie d'Alzheimer, ni à la démence sénile ou présénile (Iqbal et al., 2010). Les enchevêtrements neurofibrillaires sont observés dans une vingtaine de maladies neurologiques chroniques, incluant l'encéphalopathie, la sclérose tubéreuse, le syndrome de Down, la démence fronto-temporale,

les maladies de Parkinson, de Pick, ou d'Alzheimer. Ainsi, malgré l'importance de la protéine tau, il est nécessaire de considérer d'autres facteurs pour déterminer l'origine de la maladie d'Alzheimer.

4-2 Le précurseur de la protéine amyloïde

La seconde grande hypothèse concernant le développement de la maladie d'Alzheimer est le précurseur de la protéine amyloïde (APP), car il est la source du peptide amyloïde-bêta (A β), le premier constituant des plaques amyloïdes trouvées en grand nombre dans le cerveau des personnes décédées avec la maladie d'Alzheimer.

4-2-1 Définition de l'APP

L'APP est une glycoprotéine transmembranaire découverte en 1987 et dont la famille de gènes est extrêmement bien conservée dans l'évolution (Goldgaber et al., 1987; Kang et al., 1987; Shariati and De Strooper, 2013). Chez l'homme, le gène codant pour l'APP se situe sur le long bras du chromosome 21 en position 21.3 et contient 18 exons. Parmi les formes orthologues de l'APP, l'APL1 (amyloid protein-like 1) est présent chez le vers *Caenorhabditis elegans* (Daigle and Li, 1993), l'APPL (amyloid precursor protein-like) est trouvé chez la mouche *Drosophila melanogaster* (Rosen et al., 1989) alors qu'appa (amyloid precursor protein a) et appb (amyloid precursor protein b) sont présents chez le poisson *Danio rerio* (Musa et al., 2001) (Figure 14A).

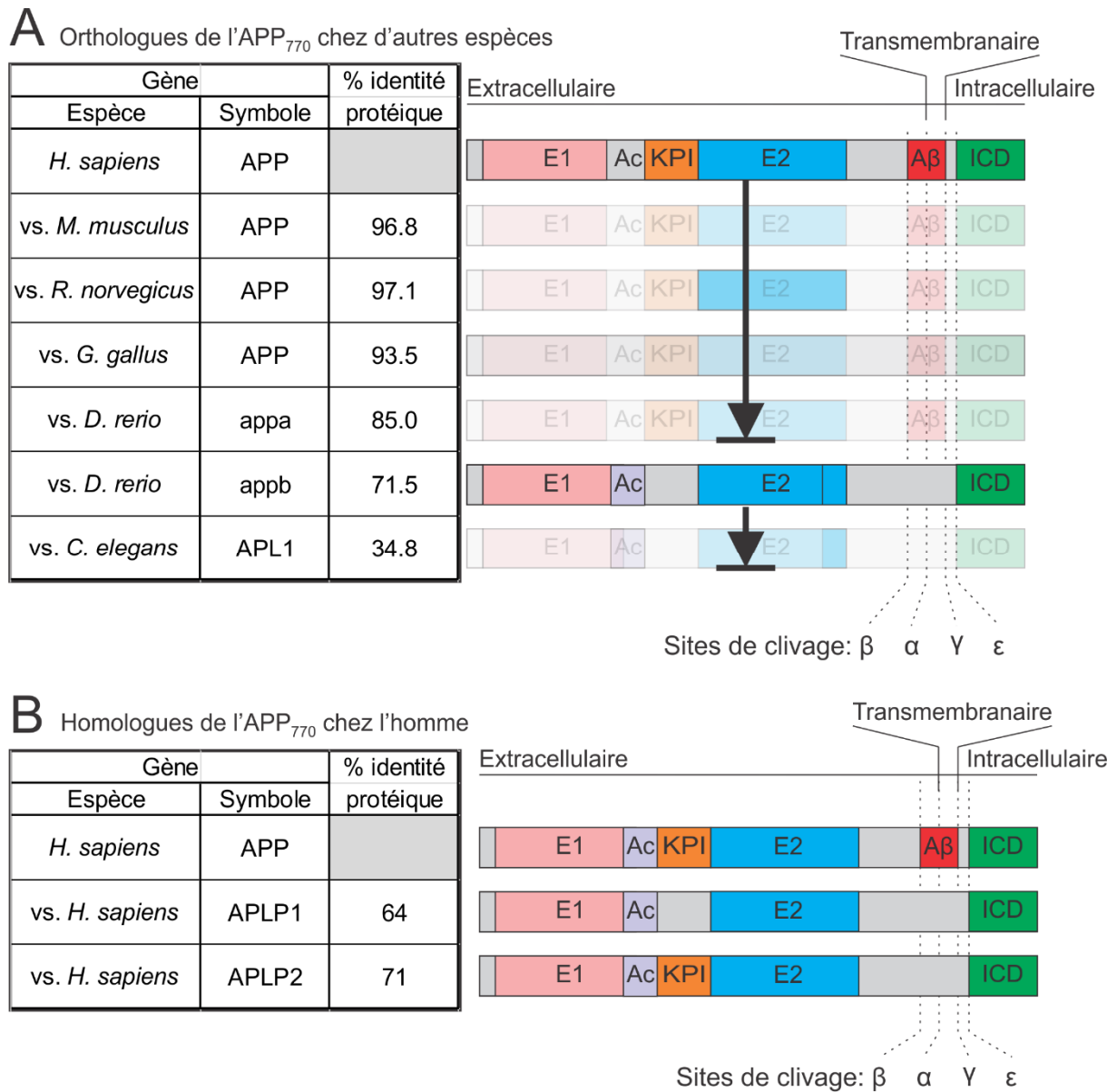


Figure 14. Famille de gènes de l'APP. Le pourcentage d'identité protéique ainsi que l'organisation des domaines composant les protéines sont comparés entre les espèces et entre les différentes formes homologues chez une même espèce, à l'aide des sites web <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene> et <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. A : orthologues de l'APP chez d'autres espèces. B : homologues de l'APP chez l'homme, comprenant l'APLP1 et l'APLP2. Le domaine extracellulaire comporte les domaines E1 et E2, le domaine acide (Ac) et le domaine KPI (Kunitz protease inhibitor). Le clivage par les sécrétases aux sites α , β , γ et ϵ permettent de générer le peptide bêta-amyloïde (A β) ou son équivalence, et le domaine intracellulaire (ICD).

La conservation de l'APP dans l'évolution est un signe qu'il pourrait remplir une fonction importante et nécessaire pour la survie de l'animal. L'APP a aussi deux paralogues partageant un degré élevé d'homologie de séquences et présents chez tous les mammifères : la protéine 1 homologue à l'APP (APLP1) et la protéine 2 homologue à l'APP (APLP2) (Figure 14B). Chez l'homme, leurs gènes respectifs sont situés sur les chromosomes 19 et 11 (Wasco et al., 1993; Slunt et al., 1994). L'APP et l'APLP2 sont ubiquitaires, alors que l'APLP1 est dans le système nerveux central seulement (Lorent et al., 1995).

L'épissage alternatif donne lieu chez l'homme à plusieurs isoformes de l'APP et de l'APLP2. Parmi les isoformes les plus importantes de l'APP, APP₇₅₁ et APP₇₇₀ sont retrouvés dans la plupart des tissus (Neve et al., 1988), alors que l'APP₆₉₅ se trouve principalement dans les neurones et se concentre au niveau de la synapse. APP₇₅₁ et APP₇₇₀ se différencient de l'APP₆₉₅ par la présence des domaines KPI (Kunitz protease inhibitor : inhibiteur de protéase de type Kunitz) et OX2 dans la région N-terminale (Ponte et al., 1988) (Figure 15). Parmi les isoformes de l'APLP2, les principales sont APLP2₇₆₃ et APLP2₇₀₇, mais il existe aussi APLP2₇₅₁ et APLP2₆₉₅. APLP1₆₅₀ n'a pas d'isoforme connue à ce jour.

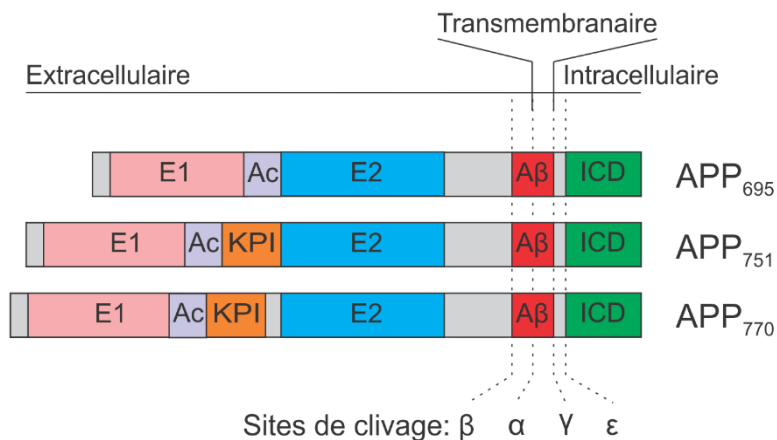


Figure 15. Isoformes de l'APP humain. Les isoformes APP₇₅₁ et APP₇₇₀ diffèrent de l'APP₆₉₅ de par la présence du domaine KPI essentiellement.

L'APP est formé d'un très long domaine extracellulaire, d'un domaine intracellulaire très court, et du peptide Aβ dont les deux tiers sont extracellulaires et le tiers restant ancré dans la membrane (Selkoe, 1993) (Figures 14 et 15). L'APP est principalement connu comme étant le

précurseur de l'amyloïde-bêta. Cependant, si l'on observe les différents domaines présents dans la séquence de chacun de ses homologues depuis *Caenorhabditis elegans*, l'A β est absent excepté dans l'APP lui-même. Cela indique que l'amyloïdogenèse, impliquée dans le développement de la maladie d'Alzheimer, n'est pas le rôle premier de l'APP. L'APP diffère essentiellement d'APLP1 et APLP2 par l'absence de l'A β dans ces derniers (Bayer et al., 1999) (Figure 14B). L'APP étant plus récent que les APLP1 et APLP2, l'A β semble avoir été acquis par l'APP.

4-2-2 Rôles de l'APP

La conservation de gènes au cours de l'évolution concerne souvent des gènes dont l'expression est cruciale pour la survie de l'animal. Ces gènes existent parfois en plusieurs copies dans le génome, et sont souvent impliqués dans le développement. En effet des études ont montré un rôle de l'APP dans la prolifération cellulaire (Saitoh et al., 1989), en partie due à une séquence dans sa partie extracellulaire riche en cystéine et ressemblant fortement à celle présente chez les facteurs de croissance (Rossjohn et al., 1999). L'APP est aussi important pour le développement car il est très exprimé dans le système nerveux central et périphérique à partir du neuvième jour embryonnaire chez la souris, lorsque les neurones commencent à se différencier (Salbaum and Ruddle, 1994). D'après cette étude, cette expression dans le système nerveux central se fait dans les motoneurones et dans des neurones non encore différenciés du tube neural ventral et ventral-latéral, et dans le système nerveux périphérique au niveau des ganglions crâniens, et aussi pendant leur différenciation en racines dorsales et en ganglions sympathiques. Il a été montré que l'APP permet aussi la différenciation de cellules souches neurales en neurones (Kwak et al., 2006), et agit comme médiateur du facteur neurotrophique (NGF) (Milward et al., 1992; Small et al., 1994). Il participerait aussi directement à l'extension des neurites des neurones corticaux ainsi qu'à l'arborisation complexe des neurones de l'hippocampe en cultures (Allinquant et al., 1995; Perez et al., 1997). Grâce à sa liaison à l'héparine, un constituant de la matrice extracellulaire, l'APP intervient dans la migration des cellules dans le tissu nerveux pour le développement du cerveau (Multhaup, 1994). Cela fut vérifié *in vitro* (Sabo et al., 2001), puis *in vivo* dans le cortex en développement (Young-Pearse et al., 2007). L'APP forme aussi des homodimères et des hétérodimères avec l'APLP1 et

l'APLP2 en surface de la cellule et crée aussi des interactions directes entre les cellules par la trans-dimérisation (Soba et al., 2005). Enfin, l'APP est important pour la synaptogenèse et participe à la régulation de la fonction synaptique, incluant la transmission et la plasticité synaptique (Priller et al., 2006). Il est entre autres capable de réguler l'homéostasie des récepteurs NMDA en les accompagnants du réticulum endoplasmique à la surface membranaire (Cousins et al., 2009; Cousins et al., 2015).

En plus de son rôle dans le développement du cerveau, l'APP joue un rôle dans la neuroprotection grâce à sa partie extracellulaire (Mattson et al., 1993). Cette étude montre que l'APP extracellulaire protège contre la neurotoxicité du glutamate dans le cerveau, mais aussi des dommages hypoglycémiques en réduisant les élévations de calcium dans les neurones. Son expression est aussi augmentée dans le cerveau des personnes ayant subi un traumatisme crânien, et ce, essentiellement le long des axones endommagés (Gentleman et al., 1993; Graham et al., 1996). Son expression est aussi élevée dans les cellules gliales réactives à l'inflammation (Gehrmann et al., 1995), ou à la suite de dommages neuronaux et dommages au transport axonal rapide dans le contexte de la sclérose latérale amyotrophique. Enfin, l'APP possède dans sa partie N-terminale un domaine capable d'activité ferroxidase capable d'oxyder le Fe^{2+} en Fe^{3+} , et ensuite de le charger sur la transferrine pour son exportation hors du neurone. Cela permet de diminuer l'accumulation de fer, à l'origine du stress oxydatif dans les neurones (Duce et al., 2010).

Ainsi, alors que l'APP est particulièrement étudié pour son implication dans la maladie d'Alzheimer, il reste que son rôle premier est le bon développement et le bon fonctionnement du cerveau grâce à ses implications dans la différenciation, la prolifération et la migration neuronale, l'adhésion entre les cellules, la synaptogenèse et la neuroprotection. Cependant, l'APP entier reste très impliqué dans le développement de la maladie d'Alzheimer puisque la libération de la partie extracellulaire neurotrophique de l'APP dans les neurones s'accompagne aussi de la libération de l'amyloïde bêta et de sa partie intracellulaire qui ont un impact négatif sur les mécanismes liés à l'apprentissage dans le cerveau.

4-2-3 Métabolisme de l'APP

Après sa transcription en ARN, l'APP immature est synthétisé au réticulum endoplasmique avant d'être dirigé vers l'appareil de Golgi. Lors de son passage au réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi, l'APP subit quelques modifications post-traductionnelles, dont la glycosylation, qui permet de rendre les futures protéines membranaires plus résistantes à la protéolyse et d'influencer leur repliement ou leur transport (Opdenakker et al., 1993). La N-glycosylation dans la lumière du réticulum endoplasmique est dite co-traductionnelle car elle se fait sur la chaîne polypeptidique de l'APP en cours de biosynthèse. La N-glycosylation consiste en l'ajout du N-acétyl-glucosamine par une glycosyltransférase au groupement azote d'une asparagine. L'O-glycosylation dans la lumière de l'appareil de Golgi permet l'ajout par une glycosyltransférase d'un N-acétyl-galactosamine au niveau de l'oxygène du groupement hydroxyle des sérines et thréonines de l'APP. Dans les neurones, L'APP mature N-O-glycosylé est transporté de l'appareil de Golgi jusqu'aux extrémités des dendrites et des axones, à la synapse, où il est retrouvé très concentré (Koo et al., 1990). Ce transport à la membrane des synapses se fait grâce à la kinésine, une protéine motrice dépendante des microtubules pour le transport axonal rapide antérograde (Vale et al., 1985).

La protéolyse de l'APP par les sécrétases entraîne son découpage en plusieurs peptides par les voies non-amyloïdogénique et amyloïdogénique (Figure 16). Avant son clivage, l'APP peut être internalisé dans des vésicules de lysosomes, ou rester à la surface (Haass et al., 1992). C'est la localisation de l'APP qui va déterminer le type de clivage non-amyloïdogénique ou amyloïdogénique car l' α -sécrétase agit à la membrane plasmique (Sisodia, 1992) alors que le clivage par la β -sécrétase est optimal en pH acide, comme dans les endosomes et lysosomes (Haass and Selkoe, 1993). Ainsi, la voie non-amyloïdogénique, qui représente 95% du clivage de l'APP, fait intervenir l' α -sécrétase et libère le précurseur de la protéine amyloïde soluble α (sAPP α : soluble APP α) du côté extracellulaire et maintient le peptide C83 ancré dans la membrane (Figure 16). La voie amyloïdogénique, qui représente les 5% restants de l'APP, fait intervenir la β -sécrétase et libère le précurseur de la protéine amyloïde soluble β (sAPP β : soluble APP β) du côté extracellulaire et garde le C99 ancré à la membrane du lysosome. La γ -sécrétase, présente à la fois à la membrane plasmique et à la membrane du lysosome, clive

ensuite les peptides C83 et C99 pour libérer les peptides P3 et A β (respectivement) à l'extérieur du neurone (ou dans la lumière vésiculaire) et les domaines intracellulaires (APP-ICD) du côté cytosolique (Koo and Squazzo, 1994). Les sites de clivage de l'APP par les sécrétases sont importants à considérer dans le développement de la maladie d'Alzheimer. En effet, certaines mutations de l'APP, par exemple la mutation suédoise K595N/M596L, adjacente au site de clivage par la β -sécrétase, entraînent une augmentation du clivage par cette dernière, et donc une surproduction du C99 et de l'A β (Haass et al., 1995). Aussi, la γ -sécrétase est un complexe formé en partie de la préséniline 1, dont la mutation est responsable de 70 % des formes familiales de la maladie d'Alzheimer (Grabowski and Damasio, 2013). C'est la mutation E280A de la préséniline qui a été mise en cause en Colombie dans la plus large famille au monde vivant avec la maladie d'Alzheimer. Cette mutation augmente la taille de l'A β généré.

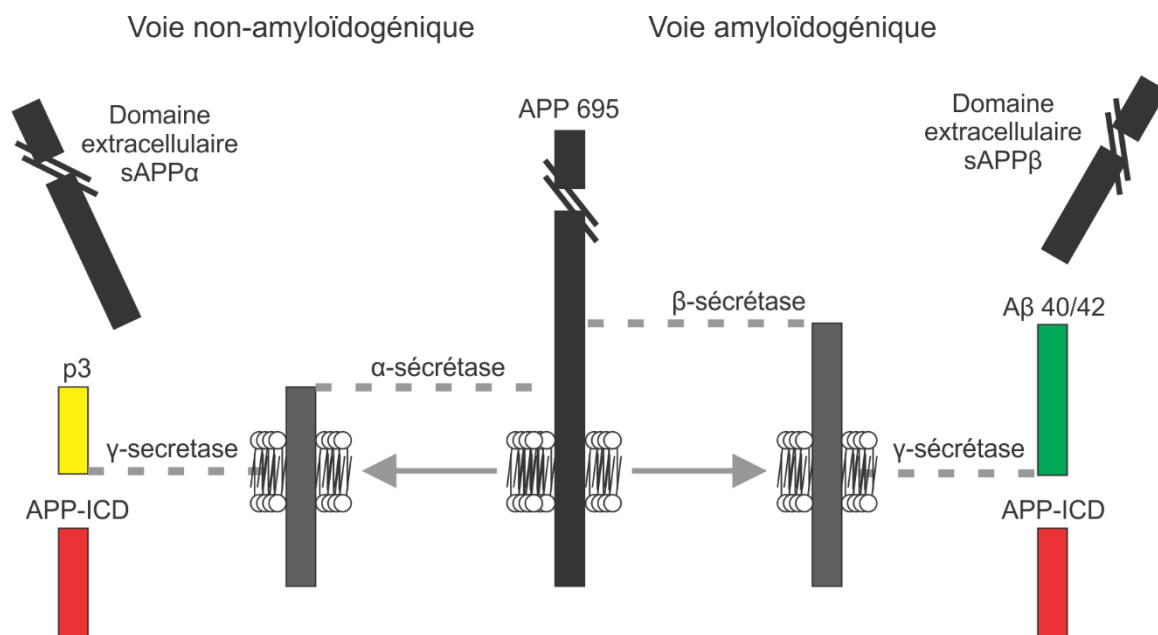


Figure 16. Voies non-amyloïdogénique et amyloïdogénique de la protéolyse de l'APP. La voie non amyloïdogénique représente 95% de la protéolyse de l'APP et permet la production du domaine extracellulaire sAPP α , du peptide P3 et de l'ICD, grâce aux α - et γ -sécrétases. La voie amyloïdogénique représente 5% de la protéolyse de l'APP et permet la production du domaine extracellulaire sAPP β , du peptide A β et de l'ICD, grâce aux β - et γ -sécrétases. A β : amyloïde-bêta. ICD : domaine intracellulaire de l'APP. (Haass and Selkoe, 1993)

Dans le but de mieux comprendre l'implication de l'APP dans le développement de la maladie d'Alzheimer, les rôles des différents peptides générés par la protéolyse de l'APP ont beaucoup été étudiés. Les domaines extracellulaires sAPP α et sAPP β par exemple, représentent 89% des acides aminés de la protéine APP entière avant son clivage par les sécrétases. Le sAPP est composé des domaines E1, Kpi (absent dans APP₆₉₅) et E2 (Coburger et al., 2014) (Figure 15). Le rôle développemental et neuroprotecteur attribué à l'APP serait en bonne partie dû à la partie extracellulaire de l'APP (Mattson et al., 1993). En effet, le domaine E1 contient un domaine de liaison à l'héparine pour l'adhésion à la matrice extracellulaire (Soba et al., 2005), le domaine de croissance important pour le développement neuronal (Rossjohn et al., 1999), un domaine de liaison au cuivre (Hesse et al., 1994) et un domaine de liaison au zinc et à d'autres ions métalliques (Bush et al., 1993). Le domaine KPI, présent dans les formes APP₇₅₁ et APP₇₇₀, pourrait jouer un rôle dans la réparation et dans la croissance neuronale (Van Nostrand et al., 1991) (Figure 15). Le domaine E2 contient un second domaine de liaison à l'héparine (Multhaup, 1994), un autre domaine de liaison au zinc qui joue un rôle important pour la conformation et la stabilité de l'APP (Dahms et al., 2012) et un domaine de liaison au fer pour l'activité ferroxidase (Duce et al., 2010).

En plus des domaines extracellulaires, sont libérés les peptides P3, A β et ICD. Dans la voie non amyloïdogénique, le domaine P3 est généré à la place du A β (Haass et al., 1993). La neurotoxicité du peptide P3 est controversée à ce jour (Higgins et al., 1996) (Dulin et al., 2008), alors que l'A β généré est lui au cœur de l'hypothèse de l'APP car il est le premier composant des plaques amyloïdes (Masters et al., 1985). Pour cette raison, beaucoup d'attention a été apportée à ce dernier dans le but de développer un traitement contre la maladie d'Alzheimer. L'ICD est libéré tant par la voie non amyloïdogénique que par la voie amyloïdogénique. Le rôle joué par l'ICD dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer n'est pas encore bien clair.

4-2-4 L'hypothèse du peptide amyloïde-bêta dans la neurodégénérescence

L'A β est un polypeptide de 38 à 42 acides aminés pour ses formes les plus communes, sur les 695 à 770 acides aminés qui composent son précurseur (Olsson et al., 2014). Il est généré à partir de la protéolyse de l'APP par la α - ou la β -sécrétase, et par la γ -sécrétase (figure 16). Si

l'A β est présent naturellement dans le cerveau, son accumulation amène à la formation de plaques amyloïdes qui imprègnent le parenchyme cérébral et entraîne l'inflammation du tissu nerveux (Akiyama et al., 2000) puis la mort des neurones (McGeer and McGeer, 1998) de par la libération toxique d'oxyde nitrique, de dérivés réactifs de l'oxygène, d'acides aminés excitateurs en excès et de cytokines pro-inflammatoires (Gonzalez-Scarano and Baltuch, 1999). La présence d'un grand nombre de ces plaques dans le cerveau est un marqueur de la maladie d'Alzheimer et permet de confirmer le diagnostic après la mort du patient.

Une grande proportion des études portant sur l'APP s'intéresse aux raisons de l'accumulation de l'A β dans le but de découvrir le moyen de retarder la neurodégénérescence, considérée comme étant à l'origine des altérations de la mémoire qui sont observées dans la maladie d'Alzheimer. Physiologiquement, la protéolyse de l'APP entraîne la sécrétion des peptides P3 et A β avec des proportions de 95 et 5% respectivement. Plusieurs dysfonctionnements peuvent entraîner une augmentation ou une modification de la production de l'A β , conduisant à son agrégation.

4-2-4-a Copie additionnelle de l'APP

Il est admis que les personnes atteintes par le syndrome de Down ont un risque accru de développer la maladie d'Alzheimer (Mann, 1988). Ces personnes possèdent dès la naissance une copie additionnelle du chromosome 21 dans chacune de leurs cellules, et donc une copie additionnelle des gènes présents sur ce chromosome, parmi lesquels l'APP et Sod1 (Superoxyde dismutase 1). La copie additionnelle du gène codant pour l'APP entraîne une augmentation de sa synthèse et en conséquence une surproduction de l'A β (Rovelet-Lecrux et al., 2006). Les personnes atteintes du syndrome de Down commencent à accumuler l'A β dès l'enfance (Leverenz and Raskind, 1998), et les altérations neuropathologiques telles que les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires sont observées dans leur cerveau (Burger and Vogel, 1973). Cependant les symptômes de la maladie d'Alzheimer ne surviennent qu'une à deux décennies plus tard (Mann, 1988), indiquant que l'A β n'est pas le seul facteur impliqué dans le développement de la maladie.

4-2-4-b Mutations de l'APP

Des modifications dans la séquence de l'APP, telles qu'une mutation qui modifie le point d'accroche d'une des sécrétases, peut entraîner soit une augmentation de son clivage et donc un excès d'A β , soit une modification du site de clivage et donc de la taille de l'A β généré. Lorsqu'il est produit en trop grande quantité ou d'une taille augmentée, l'A β a tendance à s'agréger dans le neuropile à l'extérieur des neurones. Cela crée les plaques amyloïdes et de l'inflammation du tissu nerveux. À ce jour, plus de 50 mutations de l'APP liées à l'apparition précoce de la maladie d'Alzheimer ont été répertoriées. Près de la moitié de ces mutations sont situées proches des points de clivage par la α - ou la β - sécrétase et par la γ -sécrétase (Figure 17A). Ces mutations comptent pour 3% des formes familiales et précoces de la maladie d'Alzheimer (Grabowski and Damasio, 2013).

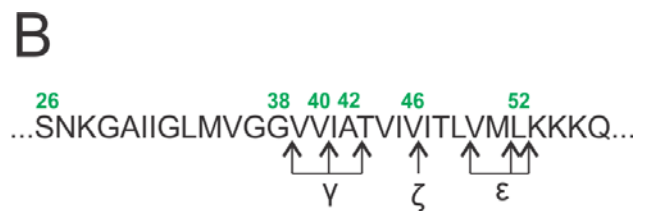
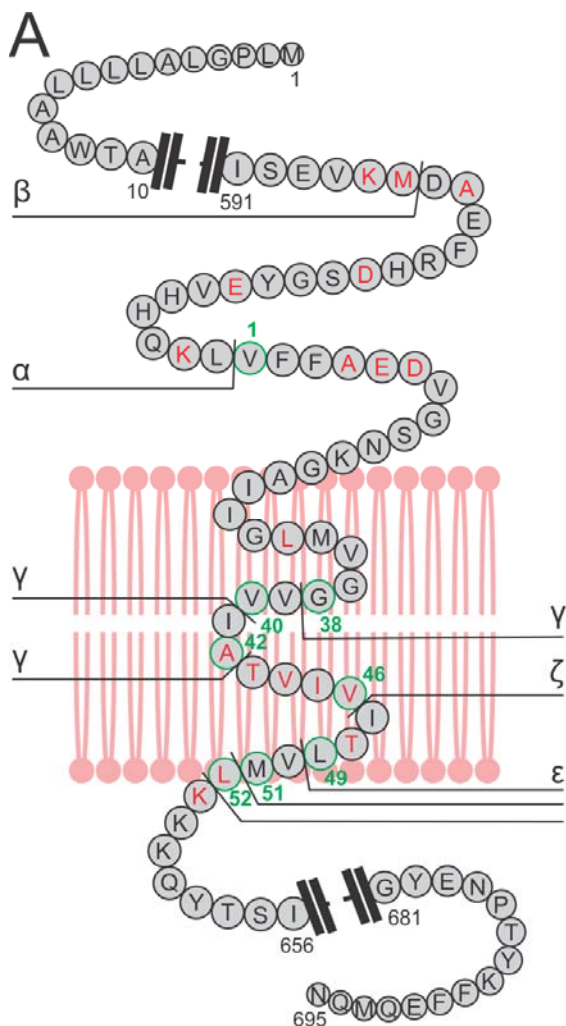


Figure 17. Emplacement des mutations et des sites de clivage de l'APP₆₉₅ aux abords de la séquence protéique permettant de générer le peptide amyloïde-bêta. A : les lettres en rouge indiquent les acides aminés connus pour entraîner la maladie d'Alzheimer lorsqu'ils sont mutés. α , β et γ indiquent les sites de clivage par les sécrétases du même nom. γ , ϵ et ζ sont des sites de clivage par la γ -sécrétase. Les acides aminés entourés de vert sont ceux après lesquels les sécrétases coupent pour générer les différentes formes d'A β , dont les tailles sont indiquées en vert. B : localisation des sites de clivage par les sécrétases sur la séquence protéique de l'A β , pour en générer les différentes formes. Les mutations sur l'APP₆₉₅ ont été placées d'après la page internet <http://www.uniprot.org/uniprot/P05067#P05067-4>

Les formes de l'A β les plus connues font entre 38 et 42 acides aminés, mais il peut s'en former d'une longueur entre 30 et 52 acides aminés (Olsson et al., 2014) (Figure 17). La première forme produite ferait 49, 51 ou 52 acides aminés (A β 49, l'A β 51 ou l'A β 52 respectivement) grâce à une coupure de l'APP par la γ -sécrétase au site epsilon (ϵ). Ensuite, l'A β est raccourci par la γ -sécrétase chaque trois ou quatre acides aminés, et en fonction du clivage initial à 49, 51 ou 52 acides aminés, un peptide de 40 ou 42 acides aminés sera généré (A β 42 ou A β 40 respectivement) (Takami et al., 2009).

Le peptide A β 40 est la forme la plus abondante dans le cerveau (Mori et al., 1992), mais l'A β 42 est celle dont la sécrétion augmente le plus dans la maladie d'Alzheimer (Naslund et al., 1994). Dans le cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer, c'est l'A β 42 qui s'agrège le plus facilement (Burdick et al., 1992). L'A β 42 forme les premiers dépôts diffus de l'A β sous forme de fibrilles avant d'entraîner ensuite la polymérisation de l'A β 40 en fibrilles (Jarrett et al., 1993).

4-2-4 c Mutations des sécrétases qui clivent l'APP

La α -sécrétase fait partie de la famille des ADAM (a disintegrine and metalloprotease), qui sont des protéines transmembranaires capables de moduler l'adhésion cellulaire en agissant sur la matrice extracellulaire. ADAM10 clive au milieu de la séquence correspondant à l'A β , empêchant ainsi sa formation ultérieure (De Strooper and Annaert, 2000). Elle permet la libération du sAPP α et du C83 (composé du P3 et de l'APP-ICD). La β -sécrétase détermine l'extrémité N-terminale de l'A β . Elle permet la libération du sAPP β et du C99 (composé de l'A β et de l'APP-ICD). Pour le moment il n'y a pas de mutation connue des α - et β -sécrétases pour la maladie d'Alzheimer.

La γ -sécrétase est spécialisée dans le clivage de nombreuses protéines transmembranaires, incluant l'APP (Haass, 2004), ErbB4 (Ni et al., 2001) et Notch (De Strooper et al., 1999). La γ -sécrétase clive au niveau de trois sites, dont l'endroit exact peut varier sur l'APP (Zhao et al., 2007) (Figure 17). Le premier clivage est celui au site ϵ , il sépare l'APP-ICD de l'A β 49, l'A β 51 ou l'A β 52. Ensuite le clivage au site ζ vient créer l'A β 46. Enfin le clivage au site γ définira le

la longueur de l'A β entre 38 et 42 acides aminés (Checler, 1995). La γ -sécrétase est un complexe formé de quatre protéines : la préséniline 1 ou 2 (PS1 ou PS2 respectivement), la nicastrine (NCT), APH1 et PEN-2. PS1 est encodée par le gène PSEN1, situé sur le chromosome 14 chez l'homme. Elle est une protéase aspartique responsable de l'activité catalytique de la γ -sécrétase (Wolfe et al., 1999). Plus d'une centaine de mutations sur PSEN1 ont déjà été répertoriées, et elles sont responsables de 70% des formes familiales de la maladie d'Alzheimer. Ces mutations entraînent une élévation du ratio A β 42/A β 40 *in vitro* et *in vivo* (Borchelt et al., 1996) et une augmentation de l'oligomérisation et de l'agrégation de l'A β 42 (Xia et al., 1997). La mutation E280A de PSEN1 est la plus répandue et a été mise en cause dans les nombreux cas familiaux à Antioquia en Colombie (Sepulveda-Falla et al., 2012). La mutation du gène PSEN2 (codant pour la protéine PS2), situé sur le chromosome 1 chez l'homme, représente 20% des formes familiales de la maladie d'Alzheimer. NCT contient le site de liaison à l'APP, mais permet surtout de stabiliser le complexe γ -sécrétase (Shah et al., 2005; Zhao et al., 2010).

4-2-4-d Le gène APOE4, principal facteur de risque de la forme sporadique.

La forme sporadique de la maladie d'Alzheimer représente 95% des cas, et contrairement à la forme familiale, elle se déclare après l'âge de 60 ans. Elle pourrait résulter d'un mélange de facteurs génétiques, environnementaux, et des habitudes de vie de chacun. Le gène de l'apolipoprotéine E (APOE), situé sur le chromosome 19 chez l'homme, compte pour 40% des formes sporadiques de la maladie d'Alzheimer. Il permet la synthèse de l'apolipoprotéine E, une protéine de 299 acides aminés, produite dans le cerveau par les astrocytes principalement (Pitas et al., 1987). L'APOE apporte le cholestérol aux neurones, et intervient dans le remodelage et l'entretien des membranes lipidiques au niveau de la synapse. En se liant à l'A β , elle permet aussi son élimination dans le cerveau et réduit la formation de plaques. Le gène APOE se présente sous la forme de 3 allèles, ϵ 2, ϵ 3 et ϵ 4, qui ne diffèrent que par un ou deux acides aminés l'un de l'autre (Rall et al., 1982). Six combinaisons génotypiques sont alors possibles : homozygotie ϵ 2, ϵ 3 ou ϵ 4, et hétérozygotie ϵ 2/ ϵ 3, ϵ 3/ ϵ 4 ou ϵ 2/ ϵ 4. Environ 50% de la population est porteuse de la combinaison ϵ 3/ ϵ 3. En comparaison aux porteurs ϵ 3/ ϵ 3, les personnes porteuses de l'allèle ϵ 4 ont un risque accru de développer la maladie d'Alzheimer

après 65 ans, particulièrement en cas d'homozygotie (Corder et al., 1993). La fréquence de l'allèle ϵ_4 , qui est de 13,7% dans la population mondiale, est augmentée à 40% chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer (Farrer et al., 1997). L'APOE ϵ_3 est capable de lier l'A β avec une affinité vingt fois plus élevée que l'APOE ϵ_4 (LaDu et al., 1994). L'APOE ϵ_2 lie aussi davantage l'A β que l'APOE ϵ_4 . Par conséquent, la clairance de l'A β est plus efficace avec l'APOE ϵ_2 et l'APOE ϵ_3 qu'avec l'APOE ϵ_4 (Kounnas et al., 1995). Chez les porteurs de l'allèle ϵ_4 , l'APOE ϵ_4 forme avec l'A β des amas insolubles amenant à la formation de plaques (Sanan et al., 1994). Aussi il fut montré avec des souris transgéniques surexprimant l'APOE ϵ_4 humain une réduction de la transmission synaptique entre les neurones en comparaison avec des souris exprimant l'APOE ϵ_3 humain (Klein et al., 2010).

Qu'il s'agisse des mutations de l'APP, des sécrétases, d'une copie supplémentaire de l'APP ou du facteur de risque APOE4, il en résulte soit un changement de l'A β 40 pour l'A β 42, soit une augmentation de la sécrétion de l'A β 40, soit une diminution de son élimination, résultant en la formation d'agrégats toxiques dans le cerveau. Or il est de plus en plus considéré que la formation de ces agrégats ne peut pas entraîner seule la maladie d'Alzheimer, et qu'elle pourrait même ne pas compter pour le premier changement dans le cerveau. En effet, si les plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires comptent pour les principaux marqueurs de la maladie d'Alzheimer, il y a un autre aspect à considérer en amont : la perte des synapses dans le cerveau.

4-3 La perte synaptique est le meilleur corrélat des déficits cognitifs

4-3-1 Les plaques amyloïdes sont insuffisantes pour entraîner la maladie d'Alzheimer.

Déjà en 1992 une étude montra chez 25 individus non déments et âgés de plus de 55 ans la présence de plaques séniles ainsi que d'enchevêtrements neurofibrillaires dans leur cerveau, avec une distribution similaire à celle observée chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer (Arriagada et al., 1992). Il fut ensuite montré que des individus non déments avaient la même densité de plaques amyloïdes à leur mort que des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer (Robakis, 1994). Ces dépôts de l'amyloïde ont aussi été observés chez des centenaires n'ayant jamais présenté les symptômes de la maladie d'Alzheimer (Aizenstein

et al., 2008). Enfin chez les personnes atteintes du syndrome de Down, l'accumulation de l'amyloïde commence à l'enfance alors que les symptômes de la maladie d'Alzheimer ne surviennent que deux décennies après (Mann, 1988). Ces études montrent que la présence de plaques amyloïdes et d'enchevêtrements neurofibrillaires ne corrèlent pas nécessairement avec la symptomatologie de la maladie d'Alzheimer.

Ensuite, la présence de plaques amyloïdes et d'enchevêtrements neurofibrillaires a souvent été présentée comme entraînant la mort des neurones dans le cerveau. Or une étude montre que des neurones co-cultivés sur des tissus nerveux prélevés chez des patients décédés avec la maladie d'Alzheimer et présentant des plaques amyloïdes abondantes ne montrent aucune différence concernant leur survie et en comparaison avec ceux co-cultivés sur des tissus de personnes non atteintes. (Crutcher et al., 1991).

Enfin en 2003, l'immunisation active commencée en 2000 et visant à éliminer l'A β 42 chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer avait entraîné le décès de 6 personnes par méningoencéphalite (Orgogozo et al., 2003). Un an après le début de l'essai clinique, il avait été montré que les personnes ayant participé à cette immunisation n'avaient que peu d'amélioration de leurs performances cognitives en comparaison avec le groupe ayant reçu un placebo, et ce malgré la présence d'anticorps anti-A β 42 dans leur sang (Hock et al., 2003). En 2008, l'analyse des cerveaux des personnes décédées et ayant participé à l'immunisation en 2003 a montré une nette réduction des plaques amyloïdes (Holmes et al., 2008). Cependant il est aussi révélé que ces personnes, dont les plaques avaient presque ou totalement disparu cinq ans après l'immunisation, sont décédées après un stade terminal de la maladie d'Alzheimer, indiquant que la progression de la neurodégénérescence n'avait pas été empêchée. Cela montre que la présence des plaques amyloïdes dans le cerveau est insuffisante pour le développement de la pathologie, et que d'autres facteurs sont nécessaires pour l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Ainsi il n'est pas clairement démontré si la toxicité des plaques entraîne la maladie ou si elle est simplement un évènement tardif. Il se pourrait que d'autres éléments entrent en compte bien plus précocement et que les plaques n'arrivent que tardivement.

4-3-2 Les déficits cognitifs de la maladie d'Alzheimer sont corrélés à la perte synaptique

Il est nécessaire de considérer dans le cerveau un troisième marqueur de la maladie d'Alzheimer qui est la perte des synapses entre les neurones. Ce dernier est davantage corrélé avec le degré le déficit cognitif que le sont les plaques amyloïdes ou les enchevêtrements neurofibrillaires (Terry et al., 1991). L'utilisation de souris transgéniques surexprimant l'APP en tant que modèles de la maladie d'Alzheimer ont permis d'observer ces déficits cognitifs avant même l'observation de dépôts amyloïdes dans le cerveau (Hsiao et al., 1996). La même étude ne montra aucune corrélation entre les dépôts amyloïdes et la perte synaptique, ni avec des déficits métaboliques ou du cytosquelette qui sont des marqueurs de la neurodégénérescence. Une autre étude datant de 1999 a écarté l'hypothèse selon laquelle les plaques seraient à l'origine de la pathologie en montrant leur absence lors des premiers mois de vie des souris transgéniques surexprimant l'APP V717F, une forme mutée de l'APP₇₇₀ qui augmente le ratio A β 42/A β 40 (Suzuki et al., 1994; Hsia et al., 1999). Dans cette étude, les souris âgées de 2 à 5 mois ne présentent pas de plaque amyloïde dans leur cerveau, mais présentent une forte diminution de la densité des neurones, surtout dans la région du CA1 de l'hippocampe, et aussi une diminution notable des terminaisons présynaptiques. En revanche les plaques amyloïdes sont présentes chez 45 % des souris âgées de 8 à 10 mois, suggérant que la pathologie commence au niveau de la synapse et indépendamment de la formation des plaques. L'étude montre aussi une diminution de l'ordre de 40 % de la transmission synaptique CA3-CA1 chez ces souris âgées de 1 à 4 mois, puis de 80 % chez celles âgées entre 8 et 10 mois (Hsia et al., 1999). Cela montre que cet APP V717F entraîne déjà une altération de processus synaptique, bien avant l'apparition massive des plaques amyloïdes et de la neurodégénérescence.

Ainsi, l'ensemble de ces études démontre que la perte synaptique est antérieure aux premières apparitions de plaques ou d'enchevêtrements neurofibrillaires chez les personnes

atteintes de la maladie d'Alzheimer, et qu'elle est davantage corrélée aux déficits cognitifs qui y sont associés. Cela indique que la maladie d'Alzheimer est en premier lieu une pathologie de la synapse, avec toutes les conséquences que cela peut avoir pour les mécanismes d'apprentissages qui en dépendent (Selkoe, 2002).

4-3-3 L'amyloïde influence la fonction synaptique

Alors que les plaques amyloïdes se forment tardivement dans la maladie d'Alzheimer, l'A β pour sa part s'accumule relativement tôt dans le cerveau. Un certain nombre d'études montrent qu'il est un bon prédicteur des changements synaptiques observés dans la maladie d'Alzheimer (Lue et al., 1999). Dans ce sens, il a été montré que la densité de protéines synaptiques dans les terminaisons présynaptiques est inversement corrélée avec les niveaux d'A β chez des souris transgéniques modèles de la maladie d'Alzheimer, et ce indépendamment de la formation de plaques (Mucke et al., 2000). Aussi l'expression de ces protéines synaptiques est altérée tôt dans la progression de la maladie d'Alzheimer (Masliah et al., 2001). Des études *in vivo* ont ensuite montré que les neurones de l'hippocampe exposés à l'A β n'induisent plus la LTP (Walsh et al., 2002) et présentent une facilitation de la LTD (Kim et al., 2001). En partant de la forme longue de l'APP mutée ou non au site de clivage par la γ -sécrétase, il est montré que l'A β entraîne aussi une induction de LTD (Hsieh et al., 2006). Aussi l'injection intraventriculaire d'oligomères d'A β chez le rat diminue la fonction cognitive (Cleary et al., 2005). Enfin, l'A β est aussi capable d'entraîner la libération de calcium par les réserves intracellulaires, ce qui a son importance pour les différents types de plasticité synaptique (LTP et LTD) (Ferreiro et al., 2004). Enfin les oligomères de l'A β entraînent des aberrations dans la composition de la synapse, sa forme, ou sa densité (Lacor et al., 2007).

4-3-4 L'amyloïde pourrait influencer la fonction synaptique au travers de l'ICD

L'A β joue un rôle incontestable dans le contrôle de la fonction synaptique, cependant certaines observations portent à croire qu'il pourrait ne pas agir seul. Par exemple, l'étude de Hsia en 1999 montrait une diminution de la transmission synaptique chez les souris transgéniques surexprimant l'APP V717F, sans montrer aucun effet sur la LTP. Mais l'étude montre aussi que la surexpression de l'ICD seul, sans l'A β , entraîne un blocage de cette LTP

(Hsia et al., 1999), suggérant pour la première fois que le domaine intracellulaire (ICD) plutôt que l'A β pourrait affecter la régulation de la plasticité synaptique en lien avec les processus d'apprentissage. La question se pose alors pour les études ayant montré un effet de l'APP-C99 (qui comprend l'A β et l'ICD) sur la régulation synaptique (LTP, LTD), si cet effet n'aurait pas pu venir aussi de l'ICD en plus de l'A β . Il est aussi possible que les effets observés avec l'A β soient retrouvés au travers d'une action de l'ICD puisque l'ICD semble entraîner des effets similaires sur plusieurs points à l'A β d'autre part.

Par exemple, il a été montré que l'A β agit sur les stocks intracellulaires de calcium (Ferreiro et al., 2004), or l'APP-ICD influence aussi la libération du calcium intracellulaire par les récepteurs à l'inositol triphosphate (IP3) présents à la membrane du réticulum intracellulaire (Leissring et al., 2002). Cette étude a montré, avec des fibroblastes issus de souris déficientes pour la préséniline 1 (PS1^{-/-}), que l'absence de la γ -sécrétase, et donc l'absence de production de l'APP-ICD, entraîne une altération de la signalisation calcique dépendante des stocks intracellulaires de calcium. Ces altérations ont aussi été observées dans des fibroblastes en provenance de souris APP^{-/-}. Il est montré que ces déficits en calcium sont reversés par la transfection de l'APP-ICD seul, alors que des constructions de l'APP où l'APP-ICD est manquant ne parviennent pas à restaurer les niveaux de calcium, suggérant que l'APP-ICD joue un rôle dans la régulation des stocks intracellulaires de calcium.

L'APP-ICD contribue également au développement de la maladie d'Alzheimer chez des souris transgéniques qui le surexpriment, et ce indépendamment de l'A β (Ghosal et al., 2009). Ces souris présentent une activité élevée de la GSK3 β , connue pour phosphoryler l'APP₆₉₅ en position Thr⁶⁶⁸, ainsi que la protéine tau. Il en résulte une agrégation de la protéine tau, et ces souris développent rapidement des déficits de mémoire, bien avant que ne soit observée la neurodégénérescence dans leur cerveau. L'APP-ICD semble donc être impliquée de façon précoce dans la régulation des mécanismes de l'apprentissage, c'est-à-dire dans la modulation de la fonction synaptique.

Si l'APP-ICD a un effet sur la régulation de la fonction synaptique, il faut considérer que l'APP n'est pas le seul à le générer comme pour l'A β , mais que ses deux paralogues APLP1 et APLP2 le produisent aussi en quantités égales (Scheinfeld et al., 2002). En effet, APP-ICD, APLP2-ICD et APLP1-ICD ont un haut degré d'homologie de séquence et sont générés de la même façon par la γ -sécrétase. Les trois font 49 à 50 acides aminés, possèdent le même site de reconnaissance par les caspases pour leur clivage par les caspases, possèdent le motif d'internalisation YENPTY de l'APP ainsi que le site de phosphorylation à la Thr668, et leurs domaines d'interactions avec les partenaires actuellement connus de l'APP-ICD sont les mêmes (Figure 18). Ces informations indiquent qu'ils pourraient remplir la même fonction et pourraient avoir des rôles interchangeables. Il devient alors intéressant de caractériser les effets de l'APP-ICD dans la transmission synaptique et la plasticité synaptique, et de déterminer si l'APLP2-ICD, plus proche d'un point de vue homologie que ne l'est l'APLP1-ICD, peut se substituer à l'APP-ICD.

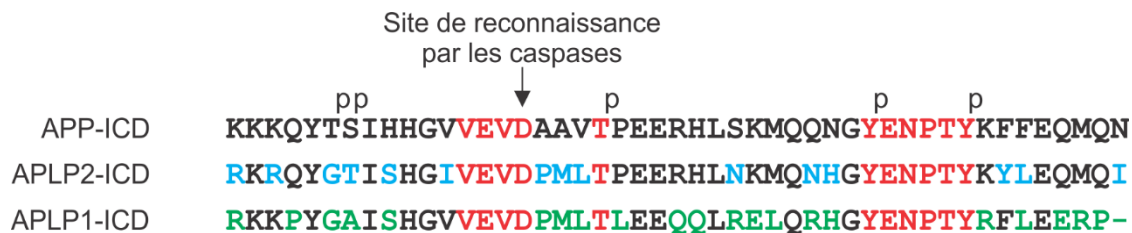


Figure 18. Comparaison des séquences d'APP-ICD, APLP2-ICD et APLP1-ICD. Les différences d'acides aminés entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD ou l'APLP1-ICD sont en bleu et vert respectivement. Les acides aminés en rouge montrent des sites phosphorylables ou de reconnaissance par d'autres protéines ou par des caspases. p : phosphorylable.

Les études de knockout des formes entières de l'APP, l'APLP1 et de l'APLP2 ont montré chez la souris que la suppression d'une seule de ces formes n'amène que des déficits mineurs, sans affecter la locomotion, la cognition ou le développement. Grâce à une forte redondance entre ces formes, il semble alors que l'APP et ses deux paralogues aient la capacité à se compenser. En revanche les souris doubles KO APP^{-/-} APLP2^{-/-} et APLP2^{-/-} APLP1^{-/-} sont létales, alors que les KO APP^{-/-} APLP1^{-/-} restent viables et fertiles (von Koch et al., 1997; Heber et al., 2000). Les souris KO APP^{-/-} APLP2^{-/-} présentent une jonction neuromusculaire faiblement développée et une diminution de la quantité de vésicules présynaptiques. Ce

phénotype est précisément celui observé lors du KO de la protéine Fe65 qui permet les translocations des APP-ICD et APLP2-ICD au noyau (Guenette et al., 2006), ce qui montre l'importance de l'ICD dans les fonctions de l'APP et de ses paralogues pour ce qui concerne la viabilité.

5 Le domaine intracellulaire de l'APP (APP-ICD).

5-1 Métabolisme de l'APP-ICD

Le clivage de l'APP par la γ -sécrétase au site ε entraîne la libération de l'ICD de 50 acides aminés dans le milieu intracellulaire (Yu et al., 2001). La demi-vie de l'ICD juste libéré est extrêmement courte (Cupers et al., 2001) car une grande partie est rapidement dégradée par l'insulysine qui n'est autre que l'enzyme de dégradation de l'insuline (Farris et al., 2003), et par le protéasome (Gersbacher et al., 2013). L'insulysine découpe l'ICD à plusieurs sites au hasard pour le diviser en des fragments plus petits (Venugopal et al., 2007). Cette dégradation hâtive ainsi que sa petite taille (50 acides aminés sur les 695 qui forment son précurseur) font que l'ICD est difficilement identifiable *in vivo* dans le cerveau humain. En conséquence, beaucoup d'études portant sur l'ICD sont obtenues de cultures cellulaires ou d'animaux modèles. La spectrométrie de masse MALDI a cependant pu identifier les différentes espèces d'ICD dans le cerveau humain de personnes décédées avec la maladie d'Alzheimer (Lu et al., 2000), et plus récemment grâce à une nouvelle procédure de western blot (Pimplikar and Suryanarayana, 2011). Il est important de considérer que les niveaux d'ICD sont plus élevés dans le cerveau des personnes décédées et atteintes de la maladie d'Alzheimer. Il semble aussi que la quantité d'insulysine présente dans l'hippocampe humain diminue avec l'âge, réduisant ainsi la dégradation de l'ICD (Caccamo et al., 2005). Pour retarder sa dégradation, l'ICD doit rapidement interagir avec d'autres protéines, comme par exemple avec la protéine adaptateur nucléaire Fe65, qui le dirige vers le compartiment nucléaire tout le stabilisant et en augmentant son temps de demi-vie (Kimberly et al., 2001). En plus de sa dégradation, l'APP-ICD est clivé par les caspases au site D⁶⁶⁴, générant ainsi l'APP-C31 (Lu et al., 2000). Il n'est pas clair à ce jour si ce clivage se fait uniquement sur les ICD libérés dans le cytosol ou s'il survient déjà sur les fragments APP-C83 et APP-C99 toujours ancrés à la membrane.

5-2 Structure de l'APP-ICD et partenaires d'interaction

L'APP-ICD a de nombreux partenaires d'interaction (Muller et al., 2008; Borquez and Gonzalez-Billault, 2012), dont il n'est pas connu s'ils ciblent de la même façon l'APP-ICD libre dans le cytosol et les APP-C83 et APP-C99 (Figure 19). Une partie de l'extrémité N-terminale de l'APP-ICD (K⁶⁴⁹-V⁶⁶⁷) est formée d'acides aminés hydrophobes et contient le motif V⁶⁶¹EVD⁶⁶⁴, reconnu par la caspase 3 pour son clivage (Weidemann et al., 1999). Le motif K⁶⁴⁹HHG⁶⁵⁹ de l'APP-ICD interagit avec Pat1 (Zheng et al., 1998), responsable de la translocation de l'APP entre les différents compartiments intracellulaires, jusqu'à son arrivée à la membrane plasmique. L'APP-ICD peut subir des changements structuraux par la phosphorylation. Par exemple la Thr⁶⁵⁴ est phosphorylable par la CaMKII alors que la sérine Ser⁶⁵⁵ est phosphorylable par la PKC et la CaMKII (Gandy et al., 1988). La Thr⁶⁶⁸ est phosphorylable par les JNK, par CDC2 (cycle de division cellulaire 2) et par GSK3 β (Aplin et al., 1996), cette dernière pouvant aussi phosphoryler tau. La phosphorylation de Thr⁶⁶⁸ est augmentée dans le cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (Lee et al., 2003) et facilite l'accrochage de la protéine FKBP12 (Liu et al., 2006) et de Pin1 (Pastorino et al., 2006). Enfin, l'APP-ICD contient le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷, particulièrement connu pour son interaction avec de nombreuses protéines adaptatrices, et permettant aussi l'endocytose de l'APP pour l'orienter vers le clivage amyloïdogénique (Lai et al., 1995). Ce motif rassemble la majorité des partenaires d'interaction de l'APP-ICD, et est parfaitement conservé chez APLP1 et APLP2. Les Tyr⁶⁸² et Tyr⁶⁸⁷ sont phosphorylables et leur degré de phosphorylation va influencer leur interaction avec des protéines (Figures 18 et 19). Par exemple, la Tyr⁶⁸² phosphorylée par TrkA (Tarr et al., 2002) réduit sa liaison avec Fe65 (Zhou et al., 2009). La liaison de Fe65 avec la Tyr⁶⁸² dépend aussi de la phosphorylation de la thréonine T⁶⁶⁸, qui induit un changement de conformation propice à l'interaction de Fe65. La liaison d'une partie de l'APP-ICD avec Fe65 permet l'internalisation de l'APP et donc la sécrétion de l'A β (Barbagallo et al., 2010), mais aussi la redirection de cet APP-ICD vers le noyau avant de former un complexe avec la protéine nucléaire Tip60. La phosphorylation de la Tyr⁶⁸² est augmentée dans le cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (Russo et al., 2001), et sa mutation supprime le rôle de transcription de l'APP-ICD (Scheinfeld et al., 2002). À la Tyr⁶⁸² se lient aussi les protéines de la famille Mint/X11 (Borg et al., 1996) et Dab1 (Howell et al., 1999), entraînant la diminution de la

production de l'A β (Hoe et al., 2006). Au domaine YENPTY se lie aussi Shc (Tarr et al., 2002), Grb2, Numb, Abl, les protéines JIP et Clathrine. Enfin le 14-3-3 γ lie le domaine V⁶⁶⁷TPEER⁶⁷² de l'APP-ICD et Fe65 de façon simultanée (Sumioka et al., 2005). L'étude révèle que la phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ réduit l'interaction avec 14-3-3 γ et l'action de Fe65 sur l'APP-ICD.

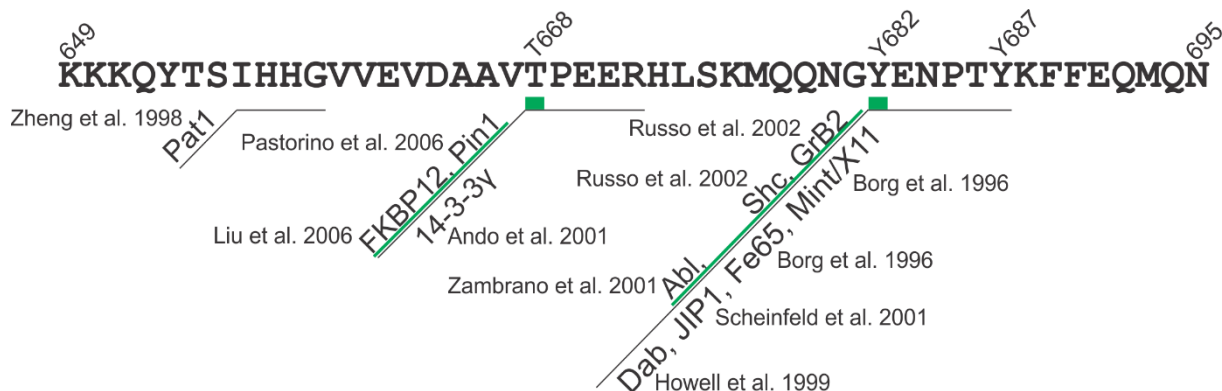


Figure 19. Principaux partenaires d'interaction du domaine intracellulaire de l'APP⁶⁹⁵. Les protéines apparaissant au-dessus du trait vert interagissent lorsque les thréonines ou tyrosines soulignées de vert sont phosphorylées. Celles en-dessous du trait interagissent en absence de phosphorylation.

Il n'est pas certain que tous les ICD générés puissent interagir avec Fe65 et se rendre au noyau. En effet, la γ -sécrétase exerce tant à la membrane qu'en milieu acide dans les endosomes et génère donc des ICD semblables d'un point de vue structurel entre les voies non-amyloïdogénique et amyloïdogénique. Mais ces ICD sont générés à deux endroits différents dans la cellule et les partenaires d'interaction peuvent différer et entraîner l'ICD dans des voies de signalisation différentes. Une étude a justement révélé que la signalisation vers le noyau de l'APP-ICD proviendrait principalement de la voie amyloïdogénique (Goodger et al., 2009). Dans cette étude il est montré que l'inhibition de l'endocytose de l'APP entraîne un blocage de la translocation de l'ICD au noyau. Ce résultat est retrouvé aussi dans des neurones en culture n'exprimant pas la β -sécrétase. Cette partie de l'ICD dirigée au noyau peut agir en tant que facteur de transcription, tandis que l'autre proportion de l'ICD généré par la voie non-amyloïdogénique pourrait rester plus proche de la membrane plasmique et s'associer avec des

partenaires protéiques différents, participer à la régulation de la fonction synaptique ou être dégradé plus rapidement.

5-3 Rôles de l'APP-ICD

Le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ de l'ICD est responsable de l'endocytose de l'APP, et donc de la séparation des voies amyloïdogénique et non amyloïdogénique. En effet la sécrétion de l'A β , exclusif à la voie amyloïdogénique, est largement réduite dans des cellules CHO exprimant l'APP dont la séquence YENPTY a été supprimée (Koo and Squazzo, 1994). L'endocytose de l'APP ainsi que la sécrétion de l'A β est même réduite d'un facteur 5 avec la mutation Y682A (Perez et al., 1999) qui n'est autre que le site d'interaction avec Fe65 (Barbagallo et al., 2010; Chow et al., 2015). Ces résultats indiquent que l'APP-ICD permet le contrôle de l'endocytose de l'APP et donc de déterminer la proportion des voies amyloïdogénique ou non amyloïdogénique lors de la protéolyse de l'APP.

L'ICD pourrait agir en tant que facteur de transcription. Une partie de l'ICD libéré par les protéolyses amyloïdogénique et non-amyloïdogénique interagit avec la protéine adaptateur nucléaire Fe65, qui l'amène au noyau (Cao and Sudhof, 2001). Fe65 interagit à son tour avec le facteur de transcription CP2/LSF/LBP1 et l'acétylase histone transférase Tip60, pour la régulation de la transcription de plusieurs gènes (Cao and Sudhof, 2001). Les gènes dont la transcription serait régulée par l'ICD sont KAI1, APP (von Rotz et al., 2004), Bace1, néprilysine et p53. APLP2-ICD se rend aussi au noyau, tandis qu'APLP1-ICD, bien que se liant au Fe65, reste à la membrane plasmique (Gersbacher et al., 2013). Par contre, la liaison de JIP-1 avec l'APP-ICD amène à une activation de transcription, mais pas avec APLP1 et APLP2 (Scheinfeld et al., 2003). Cette différence d'effet entre APP-ICD et les APLP2- et APLP1-ICD laisse supposer qu'il existe des différences d'interactions protéiques et que ces différences viennent d'un domaine autre que celui du YENPTY, qui lui est parfaitement conservé.

II OBJECTIFS DE LA THESE

Dans le but de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer, il est nécessaire de caractériser les effets des peptides générés par la protéolyse du précurseur de la protéine amyloïde (APP). Il est connu que l'amyloïde-bêta ($A\beta$) entraîne des altérations de la fonction synaptique, tels qu'un blocage de la potentialisation à long terme (LTP) et une augmentation de la dépression à long terme (LTD), qui sont tous deux importants pour les mécanismes d'apprentissage dans le cerveau. Cependant, certaines observations indiquent qu'il pourrait ne pas agir seul. Il a déjà été montré que la surexpression du domaine intracellulaire de l'APP (APP-ICD) dans des souris transgéniques entraîne des changements dans le cerveau qui ressemblent fortement à ceux observés dans la maladie d'Alzheimer, comme l'hyperphosphorylation de la protéine tau et son agrégation, et des déficits de mémoire qui surviennent avant la neurodégénérescence. Pour le moment, il n'est pas connu si ces effets sont spécifiques à l'APP-ICD et s'ils sont reliés au développement de la maladie d'Alzheimer, et si son proche homologue l'APLP2-ICD, peut lui aussi entraîner ces effets. Ainsi le premier objectif de ma thèse sera de tester si l'APP-ICD et l'APLP2-ICD ont un effet semblable sur la transmission synaptique, la LTP et la LTD dans l'hippocampe.

Les APP-ICD et APLP2-ICD sont issus de la protéolyse de leurs précurseurs par des sécrétases. Ainsi nous testerons si ces fragments intracellulaires générés à partir de la surexpression de leurs précurseurs amènent eux aussi à des modifications de la fonction synaptique.

Enfin, nous nous intéresserons au mécanisme par lequel l'APP-ICD modifie la fonction synaptique. Caractériser la voie de signalisation par laquelle l'APP-ICD est capable de modifier les mécanismes importants pour l'apprentissage et la mémorisation est important pour mieux comprendre le développement de la maladie d'Alzheimer.

Voici les objectifs plus spécifiques de ma thèse :

- Tester les effets de l'APP-ICD sur la transmission et la plasticité synaptique, et faire une étude comparative avec son plus proche homologue, l'APLP2-ICD, considéré jusqu'à présent comme semblable (article 1).

- Trouver le domaine de l'APP-ICD responsable des changements observés dans la fonction synaptique (article 1).

- Tester si les résultats obtenus sont reproductibles avec les formes longues et précurseurs APP et APLP2 afin de vérifier que la protéolyse endogène amenant à la génération des APP-ICD et APLP2-ICD amène à des effets similaires sur la fonction synaptique (article 2).

- Caractériser la voie de signalisation de l'APP-ICD pour la modulation des mécanismes qui sous-tendent un apprentissage (articles 1 et 2).

III MÉTHODOLOGIE

Dans le but d'étudier le rôle joué par l'APP-ICD dans la modulation des mécanismes d'apprentissage, nous avons travaillé à partir de tranches organotypiques d'hippocampes de rats nouveau-nés, dans lesquelles nous avons surexprimé les constructions d'ADN d'intérêt dans le but de mimer l'augmentation de l'expression observée lors de la pathologie. Puis nous avons effectué des enregistrements en patch-clamp en configuration cellule entière pour déterminer si la fonction synaptique est modifiée entre les neurones qui surexpriment la protéine, et ceux ne la surexprimant pas.

Culture organotypique

Les tranches en culture organotypiques sont préparées selon la méthode décrite par Stoppini et al. 1991. Les rats nouveau-nés sont sacrifiés à l'âge de 7 jours et les hippocampes sont prélevés et tranchés pour donner des tranches d'environ 600 μm d'épaisseur. Les tranches sont maintenues en culture entre 6 et 12 jours après la coupe avant l'utilisation en électrophysiologie.

Fabrication et injection des particules virales

Pour la surexpression des peptides d'intérêt, nous avons utilisé le vecteur plasmidique pSinRep5, dérivé du virus Sindbis. La séquence d'ADN codant pour le peptide d'intérêt est insérée dans le vecteur, accompagnée d'un IRES et de la séquence codant pour la GFP (protéine fluorescente verte), dans le but de visualiser grâce à la fluorescence les cellules ayant intégré le virus (Figure 20A). À partir des vecteurs contenant les APP-ICD et APLP2-ICD, nous avons fait des mutations ponctuelles de nucléotides par PCR. L'échange de domaines ou la fabrication de l'APP-APLP2-APP a en plus nécessité l'utilisation d'enzymes de restrictions ou de ligases.

La fabrication de particules virales, nous avons procédé à la linéarisation des vecteurs fabriqués ainsi que du vecteur Helper qui contient les gènes de structure du virus. Nous avons utilisé le kit de transcription PS6, puis transfecté notre ARN dans des cellules BHK grâce au Mammozapper. Après 48h, nous avons récupéré les particules virales libérées des BHK par ultracentrifugation. Le virus qui en résulte est conservé dans des aliquots à -80 degrés Celsius.

Le virus est injecté dans la région CA1 des tranches organotypiques d'hippocampe au moyen d'un Picospritzter (Figure 20B). Le temps d'expression du peptide d'intérêt par les neurones contenus dans la tranche est d'environ 12h (Figure 20C).

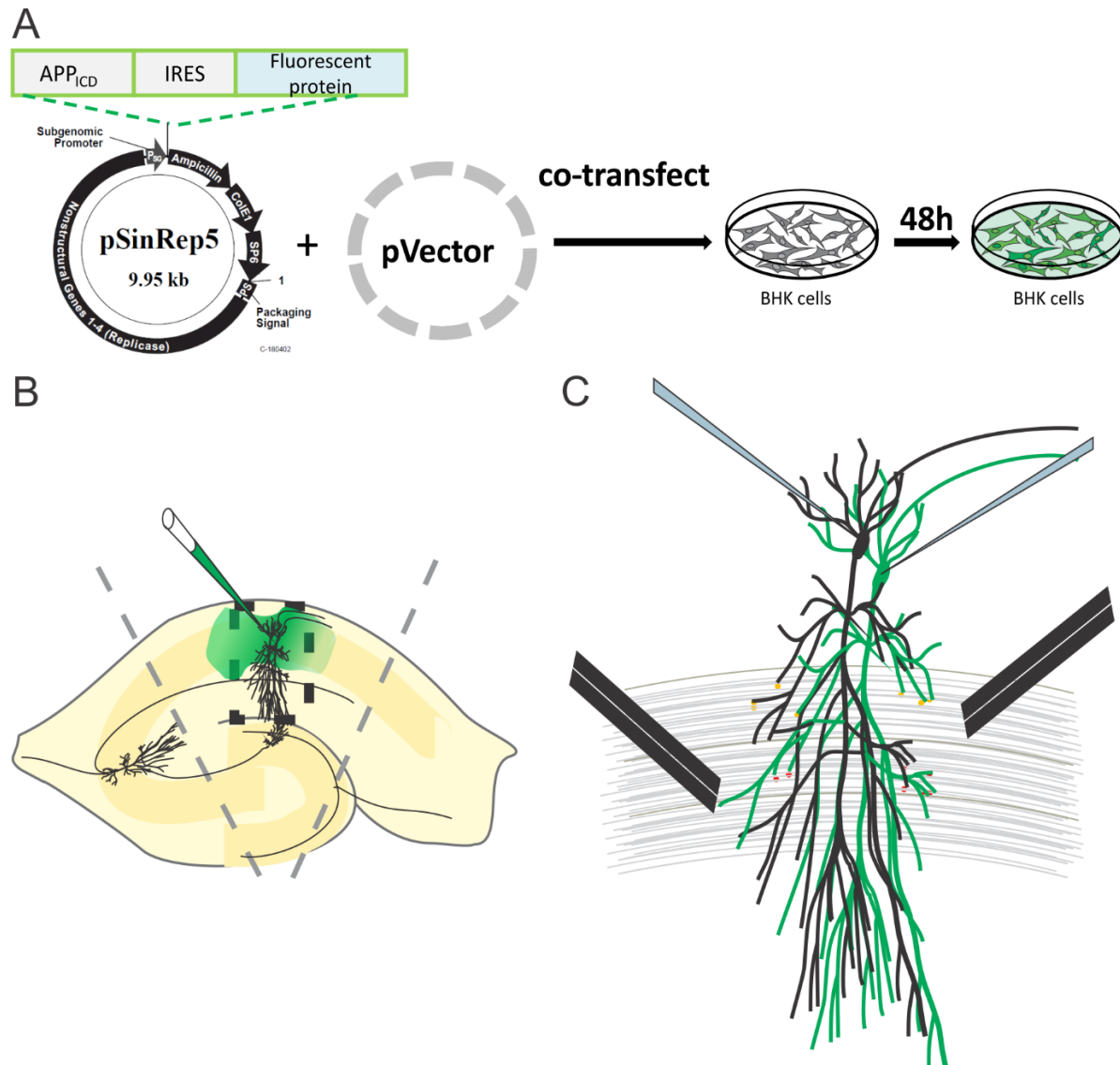


Figure 20. Fabrication et injection des particules virales dans l'hippocampe. A : préparation des particules virales. L'ADN codant pour la protéine d'intérêt est clonée dans le vecteur pSinrep5. Les vecteurs pSinRep5 et pVecteur (Helper) sont linéarisés et transcrits. Les deux sont co-transfectés dans des cellules BHK, et les particules virales sont récoltées. B : les particules virales sont injectées dans la région CA1 de l'hippocampe. Les deux lignes de tirets indiquent comment la tranche d'hippocampe est coupée juste avant l'enregistrement, de telle sorte à isoler les neurones du CA1 des corps cellulaires des neurones du CA3 et du subiculum. C : surexpression dans les neurones pyramidaux du CA1 12h après l'injection.

Électrophysiologie

La tranche organotypique est placée dans une chambre d'enregistrement perfusée d'ACSF (fluide cérébrospinal artificiel) oxygéné. Le CA3 et le subiculum sont retirés de la tranche de telle sorte à empêcher une activation excessive du réseau neuronal dans l'hippocampe (Figure 20B). Deux électrodes de tungstène sont apposées de chaque côté des dendrites du neurone d'intérêt, dans le but de stimuler un ensemble distinct de collatérales de Schaffer. Les neurones sont enregistrés au moyen d'une électrode de verre avec une résistance entre 4 et 5M Ω .

La transmission synaptique dépendante des récepteurs AMPA et NMDA est enregistrée lors d'une stimulation des collatérales de Schaffer de 0,3Hz, alors que le neurone enregistré est maintenu à -60 mV et +40 mV respectivement. La LTD est induite dans un neurone maintenu à -30 mV par un protocole de 13 minutes à 1Hz par la première électrode seulement, tandis que la seconde électrode reste silencieuse. La LTP est induite dans un neurone maintenu à 0 mV par un protocole de 3 minutes à 3Hz par la première électrode seulement, tandis que la seconde électrode reste silencieuse. Le protocole de facilitation de la LTD consiste à appliquer une double stimulation de deux fois 100Hz des fibres présynaptiques alors que le neurone est maintenu à -30 mV, puis à stimuler pendant 3 minutes à 1Hz par la première électrode seulement, tandis que la seconde électrode reste silencieuse.

Pharmacologie

L'inhibiteur de caspases, le DEVD-FMK, est utilisé à 50 μ M pendant le temps de surexpression de la protéine d'intérêt. L'antagoniste des récepteurs NMDA, l'AP5, est utilisé à 50 μ M pendant le temps de surexpression de la protéine d'intérêt et dans le bain pendant l'enregistrement. Le bloqueur du FKBP12, le cycloheximide éthanoate, est utilisé à 50 μ M pendant le temps de surexpression de la protéine d'intérêt et dans le bain pendant l'enregistrement. Le dantrolène (10 μ M), un bloqueur des récepteurs RyRs, ou le peptide APP-C31 (30 μ M), sont mélangés à la solution intracellulaire dans la pipette d'enregistrement, et sont diffusés pendant 10 minutes dans le neurone avant l'enregistrement et après l'obtention de la configuration de patch-clamp « cellule entière ».

IV PREMIÈRE SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1 PRÉAMBULE

Ce chapitre contient la publication :

A single amino acid difference between the intracellular domains of amyloid precursor protein and amyloid-like precursor protein 2 enables induction of synaptic depression and block of long-term potentiation

Trillaud-Doppia E., Paradis-Isler N., Boehm J.

Publié dans *Neurobiology of disease*, 2016 Feb 24;91:94-104. doi: 10.1016/j.nbd.2016.02.016. [Epub ahead of print]

Pour cette première publication, j'ai réalisé l'ensemble des enregistrements électrophysiologiques. J'ai aussi fait l'analyse des résultats, la préparation des figures, à l'exception des figures 1B et 1C, et participé à la rédaction de l'article. Nicolas Paradis-Isler a fait l'expérience en imagerie présentée en Figure 1, l'analyse des résultats associés, ainsi que la préparation des figures 1B et 1C. Jannic Boehm a fait l'analyse des résultats, la rédaction et la soumission de l'article.

2 ABSTRACT

Alzheimer disease (AD) is initially characterized as a disease of the synapse that affects synaptic transmission and synaptic plasticity. While amyloid-beta and tau have been traditionally implicated in causing AD, recent studies suggest that other factors, such as the intracellular domain of the amyloid-precursor protein (APP-ICD), can also play a role in the development of AD. Here, we show that the expression of APP-ICD induces synaptic depression, while the intracellular domain of its homolog amyloid-like precursor protein 2 (APLP2-ICD) does not. We are able to show that this effect by APP-ICD is due to a single alanine vs. proline difference between APP-ICD and APLP2-ICD. The alanine in APP-ICD and the proline in APLP2-ICD lie directly behind a conserved caspase cleavage site. Inhibition of caspase cleavage of APP-ICD prevents the induction of synaptic depression. Finally, we show that the expression of APP-ICD increases and facilitates long-term depression and blocks induction of long-term potentiation. The block in long-term potentiation can be overcome by

mutating the aforementioned alanine in APP-ICD to the proline of APLP2. Based on our results, we propose the emergence of a new APP critical domain for the regulation of synaptic plasticity and in consequence for the development of AD.

3 INTRODUCTION

Alzheimer disease (AD) is the most common neurodegenerative disease of the elderly, causing memory impairment and, in its final stages, the loss of higher cognitive function (Selkoe and Schenk, 2003). Postmortem brains of AD patients show neuronal loss, neurofibrillary tangles composed of tau protein and senile plaques containing amyloid-beta ($A\beta$). Studies of AD patients revealed that the degree of dementia is poorly predicted by the burden of amyloid plaques but is highly correlated with synaptic marker loss (Terry et al., 1991). This result has led to the notion that, at least during its early stages, AD appears to be primarily a disease of the synapse (Selkoe, 2002).

$A\beta$ is the proteolytic product of the amyloid-precursor protein (APP). Besides $A\beta$, APP cleavage produces the extracellular soluble APP fragment and the APP intracellular domain (APP-ICD). While $A\beta$ remains the most studied peptide in the etiology of AD, recent years have given evidence that the production of APP-ICD may also play a significant role in AD (Ghosal et al., 2009 and Vogt et al., 2011).

In addition to APP, neurons express in equal amounts two homologs of APP: the amyloid precursor like proteins 1 and 2 (APLP1 and APLP2) (Slunt et al., 1994). APP and APLP2 have a certain degree of redundancy during development since APLP2 and APP double knock-out mice are lethal while mice with a single deficiency for APP or APLP2 are viable (Heber et al., 2000 and von Koch et al., 1997). The intracellular domains of APP and APLP2 are highly homologous (Figure 2A) and have all known key regulatory sites and domains in common: the Thr-668 phosphorylation site in APP has an equivalent site in APLP2, the caspase cleavage site and the critical YENPTY motif in APP are perfectly conserved in APLP2. As a consequence of this high degree of homology, APP and APLP2 share common interaction partners, such as Fe65 (Walsh et al., 2003), Mint (X11) (Orcholski et al., 2011) and Dab1 (Howell et al., 1999).

While APP-ICD transgenic mice show a deficit in learning and memory, the effects of APP-ICD or APLP2-ICD on synaptic plasticity remain largely unknown.

Our study aims to analyze whether the APP-ICD affects synaptic transmission and plasticity and whether the homologous APLP2-ICD can mimic APP-ICD dependent effects. We find that APP-ICD causes synaptic depression, enhanced LTD and a block in LTP induction, while, unexpectedly, APLP2-ICD has no effect on synaptic transmission or synaptic plasticity. The different effects of APP-ICD vs. APLP2-ICD on synaptic function are caused by a single amino-acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD. Exchanging this single amino acid between APP-ICD and APLP2-ICD, we find that APP-ICD loses its effects on synaptic transmission and synaptic plasticity, while the APLP2-ICD gains the ability to induce synaptic depression. Taken together, we show that a single amino-acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD is necessary and sufficient for the induction of synaptic depression and the block of long-term potentiation.

4 MATERIALS AND METHODS

4-1 cDNA constructs and virus production

APP(PML)-ICD₍₂₀₋₂₂₎, APP(AAV)-ICD₍₂₀₋₂₂₎, APP(PAV)-ICD₍₂₀₎, APP(AML)-ICD₍₂₀₎ and APP(VEVA)-ICD point mutations were made by site directed mutagenesis, using iProof High-fidelity DNA polymerase (Bio-Rad), directly in the pIRES vector (Clontech) containing either APP-ICD or APLP2-ICD followed by GFP as an IRES expression system. Cloning of chimeric APLP2-ICD and APP-ICD constructs was achieved by nested PCR with overlapping primers and the end product was inserted into the pIRES vector.

Subsequently, all constructs were cut from pIRES and inserted into the viral pSinRep5 expression vector (Invitrogen). In vitro mRNA synthesis followed the protocol of Invitrogen for Sindbis virus production. BHK cells were electroporated with the RNA transcripts using the MammoZapper Cloning Gun electroporation system (Tritech Research). 48 h later, viral particles in the cell medium were collected by ultracentrifugation and stored at – 80 °C.

4-2 Hippocampal slice cultures

Organotypic hippocampal slice cultures were prepared from p7 rat pups, and maintained in culture for 10 to 12 days as described before (Tamburri et al., 2013). At this time, CA1 neurons in organotypic cultures display NMDA-receptor 2A subunit expression levels indicative of mature neurons (Gambrill and Barria, 2011). CA1 pyramidal neurons were infected with viral solution 16 h prior to recording, using a thin glass electrode in combination with a pico-spritzer (see Figure 1A). The animal protocol (Permit Number: 14-170) followed the guidelines of the “Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux” (CDEA) of the Université de Montréal.

4-3 Imaging

Overview images of the whole infected hippocampal slice were obtained with an Olympus BX51 fluorescent microscope using Neurolucida software (MBF Bioscience). Close-up imaging of infected neurons was performed with an Olympus Fluoview-1000 laser scanning confocal microscope. Image analysis was performed with Fluoviewer 4.1 and ImageJ software on Z-stack images.

4-4 Drugs

NMDA-receptor antagonist D,L-APV (50 μ M, Tocris) for Figure 2C and Caspase-3 inhibitor Z-DEVD-FMK (50 μ M, MBL) for Figure 5B were added to the slice culture media 1 h after viral infection.

4-5 Electrophysiological recordings

Dual (control and infected neuron, identified under fluorescent guidance) and single whole cell patch clamp recordings of CA1 neurons were done by transferring hippocampal slices to a recording chamber filled with artificial cerebrospinal fluid containing 2.5 mM KCl, 118 mM NaCl, 1 mM NaH₂PO₄, 26 mM NaHCO₃, 10 mM glucose, 100 μ M picrotoxin and 4 μ M 2-chloroadenosine and continuously bubbled with carbogen (5% CO₂ and 95% O₂). Before recording, 4 mM CaCl₂ and 4 mM MgCl₂ were added to the ACSF. All recordings were done at 25 °C, except for the induction of LTP, for which the temperature was increased to 30 °C.

Patch pipettes (3–5 M Ω) were filled with internal solution: 115 mM cesium methanesulfonate, 20 mM CsCl, 10 mM HEPES, 2.5 mM MgCl₂, 0.6 mM EGTA, 4 mM Na₂ATP, 0.4 mM Na₃GTP and 10 mM sodium phosphocreatine at pH 7.2 and 290 mOsm. Two tungsten electrodes for stimulation were placed above the Schaffer collaterals, 150 to 300 μ m apart (see Figure 1A). AMPA-R and NMDA-R currents were recorded while neurons were maintained at – 60 mV and + 40 mV, respectively. A stimulation of 0.3 Hz was applied.

For the induction of LTD, neurons were depolarized at – 30 mV, stimulated with one electrode at 1 Hz for 13 min and 20 s (800 pulses; LTD pathway), while the second electrode remained off (control pathway). We tested for facilitation of LTD induction (Figure 7) by using the same LTD protocol but delivering 180 pulses instead of 800. Intracellular diffusion of APP-C31 (Bachem) was achieved by dissolving the peptide in the internal solution (30 μ M) of the patch pipette, followed by peptide diffusion for 10 min after obtaining whole cell patch clamp configuration.

For the induction of LTP, neurons were depolarized at 0 mV, stimulated with one electrode at 3 Hz for 3 min (LTP pathway), while the second electrode remained off (control pathway).

4-6 Statistics

A paired t-test was used in order to compare AMPA-R and NMDA-R currents between control and infected neurons. Normalized synaptic responses in Figure 4D as well as LTD expression (Figure 6D), LTD facilitation (Figure 7E) and LTP induction (Figure 8E) were tested for normal distribution and then further analyzed (GraphPad Prism software) by one-way ANOVA and the post-hoc test indicated in the figure legend.

5 RESULTS

5-1 APP-ICD expression induces synaptic depression, while the homologous APLP2-ICD does not

Given its potential role in the development of AD, we first tested whether APP-ICD affects synaptic transmission. We virally expressed APP-ICD (as an IRES-GFP construct) in CA1

pyramidal neurons and recorded evoked synaptic responses in dual whole cell patch clamp configuration by stimulating the Schaffer collaterals (see Figure 1A). Expression of APP-ICD (Figure 1B) leads to a robust depression of AMPA-receptor (AMPA-R) and NMDA-receptor (NMDA-R) dependent synaptic currents compared to neighboring non-infected control neurons (Figure 2B). Since our previous work showed that amyloid-beta and APP dependent synaptic depression required NMDA-R activation (Hsieh et al., 2006 and Tamburri et al., 2013), we tested if this was also necessary with APP-ICD. We, therefore, incubated APP-ICD infected slice cultures with the NMDA-R antagonist APV. Synaptic transmission of infected and non-infected neurons was recorded after 16 h of APV incubation followed by a washout of APV for 30 min in the recording chamber. APV treatment completely blocked the effects of APP-ICD on AMPA-R and NMDA-R dependent synaptic currents, indicating that NMDA-R activation during the APP-ICD expression period is necessary for the induction of synaptic depression (Figure 2C). Given the high homology between the intracellular domains of APP and APLP2 (Figure 2A), we also tested APLP2-ICD for its effects on synaptic transmission. APLP2-ICD expression (Figure 1B) did not affect synaptic transmission, despite the high homology between APP-ICD and APLP2-ICD (Figure 2D). Taken together, expression of APP-ICD leads to NMDA-R dependent synaptic depression while the close homolog APLP2-ICD has no effect on synaptic transmission.

5-2 A single amino-acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD results in synaptic depression

Because APP-ICD and APLP2-ICD as close homologs had different effects on synaptic transmission, we wanted to identify the domain in APP-ICD responsible for the induction of synaptic depression. We started by swapping the N-terminal 26 amino acids of APP-ICD with the homologous N-terminal part of APLP2-ICD (see Figure 3A). The chimeric protein bearing the N-terminal 26 amino acids of the APLP2-ICD did not affect synaptic transmission, while the chimeric protein with the N-terminal 26 amino acids of APP-ICD mimicked the synaptic depression seen with full-length APP-ICD (Figures 3A and B). Analyzing the N-terminal 26 amino acids of APP-ICD, we found that the largest difference between the APP-ICD and the APLP2-ICD sequences was an amino acid triplet located at position 20–22 (AAV in APP-ICD

and PML in APLP2-ICD, see Figure 4A). To test whether this triplet affects synaptic depression, we replaced the AAV motif in APP-ICD with the corresponding PML motif from APLP2-ICD. Exchange of this motif blocked the induction of synaptic depression by APP-ICD (data not shown). Vice versa, mutating the PML motif in APLP2-ICD to the AAV motif from APP-ICD was sufficient to induce synaptic depression (data not shown). Having identified the responsible motif in APP-ICD, we tested whether the first alanine in the AAV motif of APP-ICD versus the proline in the PML motif of APLP2-ICD could account for their different abilities to induce synaptic depression. Exchanging this single amino acid, we find that the APP-ICD with a proline (PAV) instead of the alanine (AAV) is no longer able to induce synaptic depression, while the APLP2-ICD with an alanine (AML) instead of the proline (PML) can now induce synaptic depression (Figures 4B and C). Next, we compared the degree of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic depression of APP-ICD from Figure 2B with the depression of APLP2-ICD (Figure 2D), APP(PAV)-ICD (Figure 4B) and APLP2(AML)-ICD (Figure 4C). We find that the degree of AMPA-R and NMDA-R dependent synaptic depression by APP-ICD is indistinguishable of the synaptic depression obtained with APLP2(AML)-ICD, while it is significantly different from APLP2-ICD as well as from APP(PAV)-ICD (Figure 4D). Our results indicate, that the exchange of alanine for proline in the AAV motif of APP-ICD is sufficient to block APP-ICD dependent synaptic depression.

Taken together, we have identified a single amino acid difference in APP-ICD vs. APLP2-ICD that is responsible for their different effects on synaptic depression. Interchange of this single amino acid showed that the alanine in the AAV motif is not only necessary for APP-ICD dependent synaptic depression but, when introduced into APLP2-ICD, is also sufficient for the induction of synaptic depression.

5-3 Caspase cleavage of APP-ICD is necessary for synaptic depression

Several research groups reported that APP and its homologs, APLP2 and APLP1, are cleaved by caspases (mainly caspase 3) at the common caspase cleavage site (VEVD, see Figure 5A) located in their intracellular domains (Cowan et al., 2001, Galvan et al., 2002 and Gervais et al., 1999). Contrary to many cell types, caspase-3 activity in neurons has a

function beyond induction of apoptosis: caspase-3 is activated by NMDA-R activation and is involved in the signaling cascade that can induce long-term depression (LTD) (D'Amelio et al., 2012, Jiao and Li, 2011 and Li et al., 2010).

Caspase cleavage of APP-ICD results in the production of an N-terminal peptide (the Jcasp peptide) and a C-terminal peptide (commonly referred to as APP-C31). Interestingly, the above-characterized AAV motif in APP-ICD, which is necessary for synaptic depression, is located directly behind the caspase cleavage site (Figure 5A). The AAV motif is therefore the new N-terminus of the APP-C31 peptide, while the PML motif forms the new N-terminus of the APLP2-C31 peptide after caspase cleavage (Figure 5A). To test whether caspase cleavage of APP-ICD is necessary for the induction of synaptic depression, we incubated APP-ICD infected slice cultures with the caspase inhibitor DEVD-FMK. As shown in Figure 5B, prohibiting caspase activity prevents APP-ICD dependent synaptic depression. To rule out that caspase inhibition is blocking synaptic depression in an APP-ICD independent way, we prevented caspase cleavage of APP-ICD by mutating the VEVD caspase cleavage site to VEVA. Again, like with the caspase inhibitor, APP-ICD with a mutated caspase cleavage site no longer induces synaptic depression (Figure 5C), indicating that the creation of APP-C31 through caspase cleavage of APP-ICD is necessary for APP-ICD dependent synaptic depression. Taken together, we show that the creation of the APP-C31 through caspase cleavage of APP-ICD is important for synaptic depression and that the newly created N-terminus of APP-C31 has to start with alanine (AAV in APP-ICD) instead of proline (PML in APLP2-ICD) in order to induce synaptic depression (Figure 4). Furthermore, our results could explain why inhibiting NMDA-R activity with APV in Figure 2C would block APP-ICD dependent synaptic depression, since NMDA-R blockade in neurons will prohibit the activation of caspase dependent cleavage of APP-ICD.

5-4 APP-ICD affects synaptic plasticity by increasing LTD and blocking LTP induction

So far, we show that APP-ICD mediated synaptic depression is dependent on NMDA-R activation and caspase cleavage. However, NMDA-R activation and caspase cleavage are also involved in the regulation of synaptic plasticity (more specific, in the regulation of LTD as

outlined above), which prompted us to test whether APP-ICD could affect NMDA-R dependent synaptic plasticity (like long-term depression, LTD, and long-term potentiation, LTP). First, we induced LTD in non-infected control neurons and neurons expressing APP-ICD. Neurons expressing APP-ICD showed an enhanced expression of LTD in comparison to non-infected control neurons (Figures 6A, B and D). Neurons expressing APLP2-ICD, however, did not show this enhanced LTD (Figures 6C and D).

Seeing an enhanced expression of LTD in APP-ICD infected neurons, prompted us to analyze whether LTD induction is facilitated in these neurons. We therefore employed a shortened LTD induction protocol, applying 180 pulses instead of 800 (3 min vs. 13 min stimulation, see methods). As expected, our protocol was insufficient to induce LTD in control neurons (Figures 7A and E). Contrary to control neurons, we were able to induce LTD in APP-ICD expressing neurons, indicating that APP-ICD facilitates the induction of LTD (Figures 7B and E). Given that the effects on synaptic depression in APP-ICD were dependent on a single amino-acid difference (see Figure 4), we tested the APP(PAV)-ICD construct for facilitated LTD induction. As expected, neurons expressing APP(PAV)-ICD do no longer show facilitation of LTD induction (Figures 7C and E), indicating that the exchange of the alanine in APP-ICD for proline is sufficient to block its effects. Our data from Figure 5 corroborate that the production of APP-C31 through caspase cleavage of APP-ICD is a necessary step for the induction of synaptic depression. We therefore tested whether the intracellular diffusion of APP-C31 peptide (30 μ M in the intracellular solution of the patch pipette) is sufficient to cause LTD facilitation. As shown in Figure 7D and E, the intracellular diffusion of APP-C31 causes facilitation in LTD induction, thereby mimicking the effects of APP-ICD expression.

Finally, we turned our attention to LTP induction. Neurons expressing APP-ICD showed a complete block in LTP induction compared to non-infected control neurons (Figures 8A, B and E). Like with LTD, the expression of APLP2-ICD had no effect on LTP induction (Figures 8C and E). Next, we tested LTP induction on our APP-ICD construct with the single alanine changed to proline (the APP-ICD (PAV) construct, see Figure 4B). As expected, APP-ICD with the APLP2-ICD resembling proline mutation (PAV) no longer inhibits LTP induction (Figures

8D and E). Taken together, we show that APP-ICD induces synaptic depression by blocking LTP and facilitating as well as enhancing LTD, while the close homolog APLP2-ICD has none of these effects on synaptic plasticity. It therefore appears that APP-ICD affects metaplasticity, which means it causes a shift in the induction of synaptic plasticity toward synaptic depression, away from synaptic potentiation.

6 DISCUSSION

While A β remains the most studied peptide in AD research, it became evident in recent years that the APP-ICD is also contributing to the pathophysiology of AD (reviewed in Muller et al., 2008 and Nhan et al., 2015). Our study compares for the first time the effects of APP-ICD and its close homolog APLP2-ICD on synaptic transmission. We show that the expression of APP-ICD in hippocampal neurons leads to synaptic depression, facilitation and enhancement of LTD and block of LTP, while the close homolog APLP2-ICD had none of these effects. By systematically characterizing the differences between APP-ICD and APLP2-ICD, we show that a single amino-acid difference, located at the N-terminus of APP-C31, is responsible for this difference.

6-1 Comparison of APP-ICD and APLP2-ICD: emergence of a new critical domain

The intracellular domain of APP is with 50 amino acids relatively short, compared to the 695 amino acids of full length APP. The APP-ICD has no enzymatic activity but exerts its effects through different protein interactions. Most of these interactions are regulated through phosphorylation of the APP-ICD at Thr-668 and Tyr-682 (the amino acid numbers are in accordance to the neuronal APP695 isoform), with Tyr-682 being the first tyrosine in the important YENPTY interaction domain in APP-ICD (Figure 2A). However, APLP2-ICD, the close homolog of APP-ICD, also contains the equivalent phosphorylation sites to Thr-668 and Tyr-682, as well as the YENPTY motif (Figure 2A). In an exhaustive comparative study by Tamayev et al., analyzing the interactome of all three different APP family members (i.e. APP, APLP1 and APLP2), the authors found none or only relatively small differences in the preferential binding of the phosphorylated YENPTY motif or the phosphorylated Thr-668 in APP and APLP2 to different interaction partners like Shc, Grb, DAB, X11 and others (Tamayev

et al., 2009). Furthermore, in a different study, it has been shown that the transcription factor Fe65 interacts with the intracellular domains of APP as well as of APLP2 (Walsh et al., 2003). Given these results, it appears that none of these protein interactions with “full-length” APP-ICD and APLP2-ICD could account for the here described APP-ICD specific induction of synaptic depression.

Instead, our data suggest that the N-terminal domain of APP-C31 created by caspase cleavage of APP-ICD, is involved in synaptic depression. Since both, APP-ICD and APLP2-ICD are cleaved by caspase-3 (Cowan et al., 2001, Galvan et al., 2002 and Gervais et al., 1999), potential small differences in caspase cleavage efficacy are unlikely to account for the APP-ICD dependent synaptic depression vs. the total absence of synaptic effects by APLP2-ICD. However, caspase cleavage of APP-ICD and APLP2-ICD create the peptides APP-C31 and APLP2-C31, which differ in their N-terminal domain (AAV motif in APP-C31 and PML motif in APLP2-C31, see Figure 5A). Our results indicate that the AAV motif is not only necessary for APP-ICD dependent synaptic depression, but that it is sufficient to induce synaptic depression when introduced into APLP2-ICD (Figure 4C). These data support the idea of the N-terminal domain of APP-C31 as a newly emerging critical domain in AD pathology. So far, nothing is known about the interactome of this domain, since, to our knowledge, neither APP-C31 nor APLP2-C31 was analyzed either alone or side-by-side for interacting proteins. Having characterized the importance of this amino acid difference for synaptic depression will be helpful for future studies of the APP-ICD interactome and its relevance for Alzheimer disease.

Despite the lack of a side by side analysis of APP-C31 and APLP2-C31 interacting proteins, two proteins were described to bind close to the AAV motif in APP-ICD: Pin1 and FKBP (both peptidyl-prolyl isomerases). Pin1 and FKBP bind preferably to the APP-ICD when Thr-668 is phosphorylated (Thr-668 is directly adjacent to the AAV motif in APP-ICD, see Figure 2A). Pin1 appears to interact preferably with APP-ICD and not APLP2-ICD (which also has the conserved Thr-668 directly adjacent to its PML motif) (Tamayev et al., 2009). Pin1 was reported to potentiate NMDA-R mediated currents by increasing mGluR5/Pin1 interaction in a Homer1a dependent manner, and thereby affecting synaptic plasticity (Ma et al.,

2012 and Park et al., 2013). Furthermore, Pin1 can regulate GSK3-beta activity, a kinase believed to be essential for the induction of LTD (Ma et al., 2012, Peineau et al., 2009 and Peineau et al., 2007). Finally, Pin1 affects tau phosphorylation and could thereby indirectly alter synaptic plasticity by regulating the tau/Fyn interaction at the NMDA-R signaling complex (Mondragon-Rodriguez et al., 2012 and Yang et al., 2012).

FKBP and Pin1 appear to share the same interaction site in APP-ICD (Liu et al., 2006), however, it is unknown whether FKBP can bind to APLP2-ICD. It has been shown in muscle cells and heart cells that FKBP interacts with calcineurin and the ryanodine receptor (Bandyopadhyay et al., 2000 and Shin et al., 2002). Calcineurin is a key phosphatase involved in LTD induction (Jurado et al., 2010 and Mulkey et al., 1994), while ryanodine receptors regulate calcium release from intracellular calcium stores and were implicated in regulating synaptic plasticity (Futatsugi et al., 1999 and Nishiyama et al., 2000). It is of interest in this context that the group of LaFerla demonstrated that APP-ICD is regulating calcium release from intracellular stores (Leissring et al., 2002).

Hence, Pin1 and FKBP interact with several key proteins involved in the regulation of synaptic plasticity. Their association with APP-ICD could affect their binding to or completely block their interaction with certain key proteins involved in synaptic plasticity, thereby favoring LTD induction and blocking LTP like seen in Figure 6, Figure 7 and Figure 8.

6-2 Could the APP-ICD be an intracellular effector of extracellular A β ?

Several research groups have speculated that the APP-ICD could be the intracellular effector of extracellular A β . This hypothesis is based on the observation that extracellular A β is able to homo-oligomerize full length APP in the membrane, thereby inducing APP processing and hence the release of intracellular APP-ICD through γ -secretase cleavage as well as the release of APP-C31 through caspase cleavage (Lu et al., 2000 and Shaked et al., 2006). Testing this hypothesis in transgenic mice expressing full-length APP with a mutated caspase cleavage site (the same VEVD to VEVA mutation we used in Figure 5B), however, produced conflicting results (Galvan et al., 2006, Galvan et al., 2008, Harris et al., 2010 and Saganich et al., 2006),

partially attributed to differences in the transgene expression level among the mouse lines (Bredesen et al., 2010). One remaining open question of this hypothesis is whether expression of APP-ICD alone is able to reproduce the synaptic deficits seen with A β . Our data show that expression of APP-ICD facilitates and increases LTD and blocks LTP induction (Figure 6, Figure 7 and Figure 8), which means, APP-ICD expression can recapitulate the effects of extracellular A β on synaptic plasticity (Hsieh et al., 2006, Walsh et al., 2002 and Wang et al., 2002). Again, APLP2-ICD did not affect LTD and LTP, therefore indicating that the homo-oligomerization of APP through A β and in consequence the release of intracellular APP-ICD might be part of the signaling events in the etiology of AD.

Taken together, we show that APP-ICD and APLP2-ICD despite their high homology have profoundly different effects on synaptic transmission and plasticity. APP-ICD expression causes synaptic depression, facilitation and increase in LTD and a block of LTP induction, while APLP2-ICD has none of these effects. Our comparative study allowed us to attribute the divergent effects of APP-ICD and APLP2-ICD on synaptic depression to a single amino acid difference, thereby pointing toward a critical involvement of the APP-C31 N-terminal domain in the regulation of synaptic plasticity. Having characterized this critical amino acid difference will help in future studies to better characterize the APP-ICD interactome and its relevance for Alzheimer disease.

7 ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Drs. Hsieh, Lacaille and DiCristo for critical comments. Furthermore, we thank Ms. Catherine Bourgeois, Dr. Dancause and Mr. Touvykine for technical expertise.

This work was supported by an operating grant from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR). JB is supported by a salary award from the “Fonds de recherche santé Québec” (FRQS). ETD was supported by a stipend from the Department of Physiology (Université de Montréal). NPI is supported by a stipend from the “Fonds de recherche nature et technologies Québec” (FRQNT).

8 REFERENCES

- Bandyopadhyay, A., et al., 2000. Regulation of ATP-induced calcium release in COS-7 cells by calcineurin. *Biochem J.* 348 Pt 1, 173-81.
- Bredesen, D. E., et al., 2010. Importance of the caspase cleavage site in amyloid-beta protein precursor. *J Alzheimers Dis.* 22, 57-63.
- Cowan, C. M., et al., 2001. Caspases 3 and 9 send a pro-apoptotic signal from synapse to cell body in olfactory receptor neurons. *J Neurosci.* 21, 7099-109.
- D'Amelio, M., et al., 2012. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends Neurosci.* 35, 700-9.
- Futatsugi, A., et al., 1999. Facilitation of NMDAR-independent LTP and spatial learning in mutant mice lacking ryanodine receptor type 3. *Neuron.* 24, 701- 13.
- Galvan, V., et al., 2002. Caspase cleavage of members of the amyloid precursor family of proteins. *J Neurochem.* 82, 283-94.
- Galvan, V., et al., 2006. Reversal of Alzheimer's-like pathology and behavior in human APP transgenic mice by mutation of Asp664. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103, 7130-5.
- Galvan, V., et al., 2008. Long-term prevention of Alzheimer's disease-like behavioral deficits in PDAPP mice carrying a mutation in Asp664. *Behav Brain Res.* 191, 246-55.
- Gambrill, A. C., Barria, A., 2011. NMDA receptor subunit composition controls synaptogenesis and synapse stabilization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108, 5855-60.
- Gervais, F. G., et al., 1999. Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation. *Cell.* 97, 395-406.
- Ghosal, K., et al., 2009. Alzheimer's disease-like pathological features in transgenic mice expressing the APP intracellular domain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106, 18367-72.
- Harris, J. A., et al., 2010. Many neuronal and behavioral impairments in transgenic mouse models of Alzheimer's disease are independent of caspase cleavage of the amyloid precursor protein. *J Neurosci.* 30, 372-81.
- Heber, S., et al., 2000. Mice with combined gene knock-outs reveal essential and partially redundant functions of amyloid precursor protein family members. *J Neurosci.* 20, 7951-63.
- Howell, B. W., et al., 1999. The disabled 1 phosphotyrosine-binding domain binds to the internalization signals of transmembrane glycoproteins and to phospholipids. *Mol Cell Biol.* 19, 5179-88.
- Hsieh, H., et al., 2006. AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron.* 52, 831-43.
- Jiao, S., Li, Z., 2011. Nonapoptotic function of BAD and BAX in long-term depression of synaptic transmission. *Neuron.* 70, 758-72.
- Jurado, S., et al., 2010. A calcineurin/AKAP complex is required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Nat Neurosci.* 13, 1053-5.
- Leissring, M. A., et al., 2002. A physiologic signaling role for the gamma -secretase-derived intracellular fragment of APP. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99, 4697-702.
- Li, Z., et al., 2010. Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell.* 141, 859-71.
- Liu, F. L., et al., 2006. The intracellular domain of amyloid precursor protein interacts with FKBP12. *Biochem Biophys Res Commun.* 350, 472-7.
- Lu, D. C., et al., 2000. A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid beta-protein precursor. *Nat Med.* 6, 397-404.
- Ma, S. L., et al., 2012. Prolyl isomerase Pin1 promotes amyloid precursor protein (APP) turnover by inhibiting glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) activity: novel mechanism for Pin1 to protect against Alzheimer disease. *J Biol Chem.* 287, 6969-73.

- Mondragon-Rodriguez, S., et al., 2012. Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *J Biol Chem.* 287, 32040-53.
- Mulkey, R. M., et al., 1994. Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature.* 369, 486-8.
- Muller, T., et al., 2008. The amyloid precursor protein intracellular domain (AICD) as modulator of gene expression, apoptosis, and cytoskeletal dynamics relevance for Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 85, 393-406.
- Nhan, H. S., et al., 2015. The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta Neuropathol.* 129, 1-19.
- Nishiyama, M., et al., 2000. Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature.* 408, 584-8.
- Orcholski, M. E., et al., 2011. Signaling via amyloid precursor-like proteins APLP1 and APLP2. *J Alzheimers Dis.* 23, 689-99.
- Park, J. M., et al., 2013. A prolyl-isomerase mediates dopamine-dependent plasticity and cocaine motor sensitization. *Cell.* 154, 637-50.
- Peineau, S., et al., 2009. A systematic investigation of the protein kinases involved in NMDA receptor-dependent LTD: evidence for a role of GSK-3 but not other serine/threonine kinases. *Mol Brain.* 2, 22.
- Peineau, S., et al., 2007. LTP inhibits LTD in the hippocampus via regulation of GSK3beta. *Neuron.* 53, 703-17.
- Saganich, M. J., et al., 2006. Deficits in synaptic transmission and learning in amyloid precursor protein (APP) transgenic mice require C-terminal cleavage of APP. *J Neurosci.* 26, 13428-36.
- Selkoe, D. J., 2002. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science.* 298, 789-91.
- Selkoe, D. J., Schenk, D., 2003. Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 43, 545- 84.
- Shaked, G. M., et al., 2006. Aβ induces cell death by direct interaction with its cognate extracellular domain on APP (APP 597-624). *Faseb J.* 20, 1254-6.
- Shin, D. W., et al., 2002. Ca(2+)-dependent interaction between FKBP12 and calcineurin regulates activity of the Ca(2+) release channel in skeletal muscle. *Biophys J.* 83, 2539-49.
- Slunt, H. H., et al., 1994. Expression of a ubiquitous, cross-reactive homologue of the mouse beta-amyloid precursor protein (APP). *J Biol Chem.* 269, 2637-44.
- Tamayev, R., et al., 2009. The interactome of the amyloid beta precursor protein family members is shaped by phosphorylation of their intracellular domains. *Mol Neurodegener.* 4, 28.
- Tamburri, A., et al., 2013. NMDA-receptor activation but not ion flux is required for amyloid-beta induced synaptic depression. *PLoS One.* 8, e65350.
- Terry, R. D., et al., 1991. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol.* 30, 572-80.
- Vogt, D. L., et al., 2011. Abnormal neuronal networks and seizure susceptibility in mice overexpressing the APP intracellular domain. *Neurobiol Aging.* 32, 1725-9.
- von Koch, C. S., et al., 1997. Generation of APLP2 KO mice and early postnatal lethality in APLP2/APP double KO mice. *Neurobiol Aging.* 18, 661-9.
- Walsh, D. M., et al., 2003. gamma-Secretase cleavage and binding to FE65 regulate the nuclear translocation of the intracellular C-terminal domain (ICD) of the APP family of proteins. *Biochemistry.* 42, 6664-73.
- Walsh, D. M., et al., 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature.* 416, 535-9.
- Wang, H. W., et al., 2002. Soluble oligomers of beta amyloid (1-42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. *Brain Res.* 924, 133-40.

Yang, K., et al., 2012. Metaplasticity gated through differential regulation of GluN2A versus GluN2B receptors by Src family kinases. *EMBO J.* 31, 805-16.

9 FIGURES AND LEGENDS

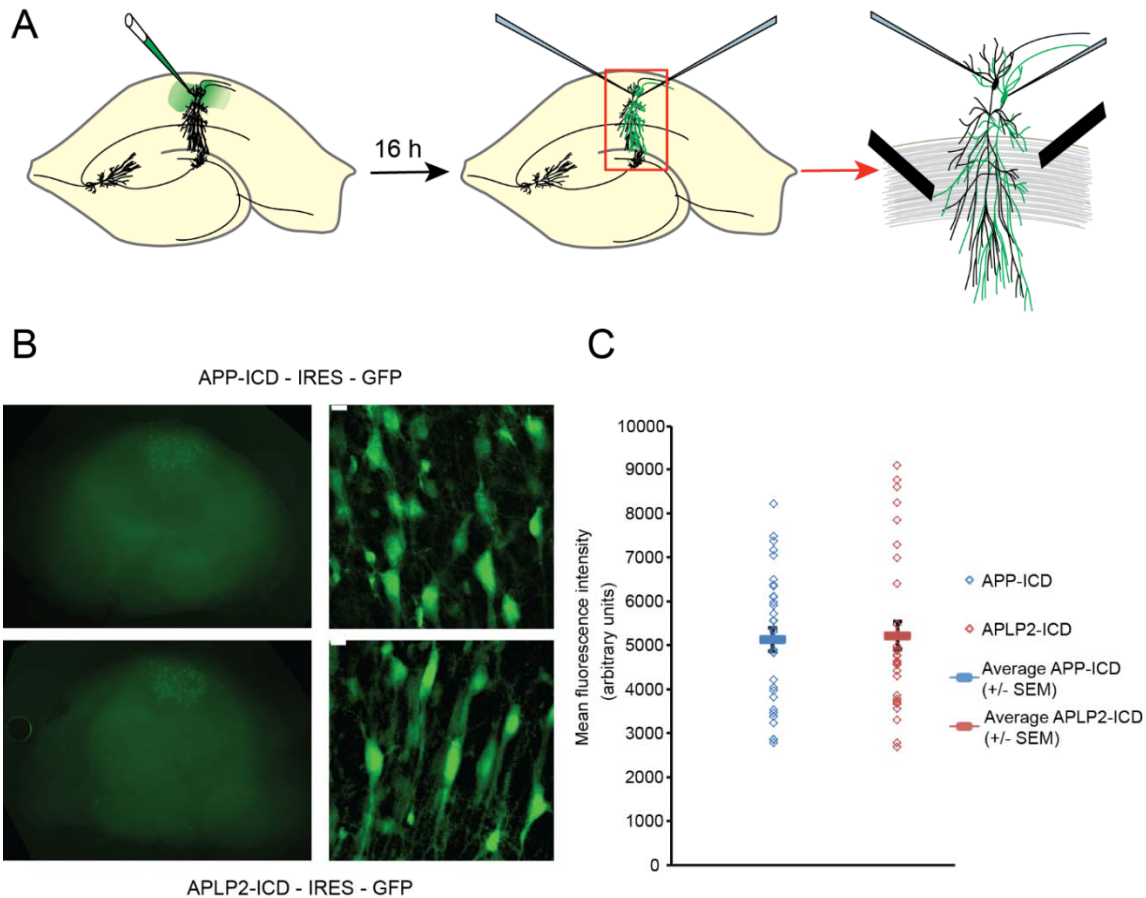


Figure 1. Illustration of the experimental approach.

(A) Local infection of CA1 pyramidal neurons in organotypic hippocampal slice cultures with virus and, after 16 h, recording of evoked synaptic responses in whole cell patch clamp configuration of infected (co-expressing GFP together with the construct of interest) and non-infected CA1 neurons by stimulating Schaffer collaterals. Prior to recording, we cut off the CA3 and the subiculum of hippocampus in order to isolate the CA1 region containing the CA1 neurons and the Schaffer collaterals. **(B)** Left: Overview of APP-ICD-IRES-GFP and APLP2-ICD-IRES-GFP infected hippocampal slices, showing that the viral expression of constructs (indicated by GFP expression) is restricted to the injection site in the CA1 area. Right: close-up of the infected CA1 area (bar: 10 μ m). **(C)** Comparison of fluorescent intensity in APP-ICD-IRES-GFP and APLP2-ICD-IRES-GFP infected CA1 neurons, showing that the mean expressions of both constructs do not differ ($n = 32$ neurons for each construct). Error bar = SEM.

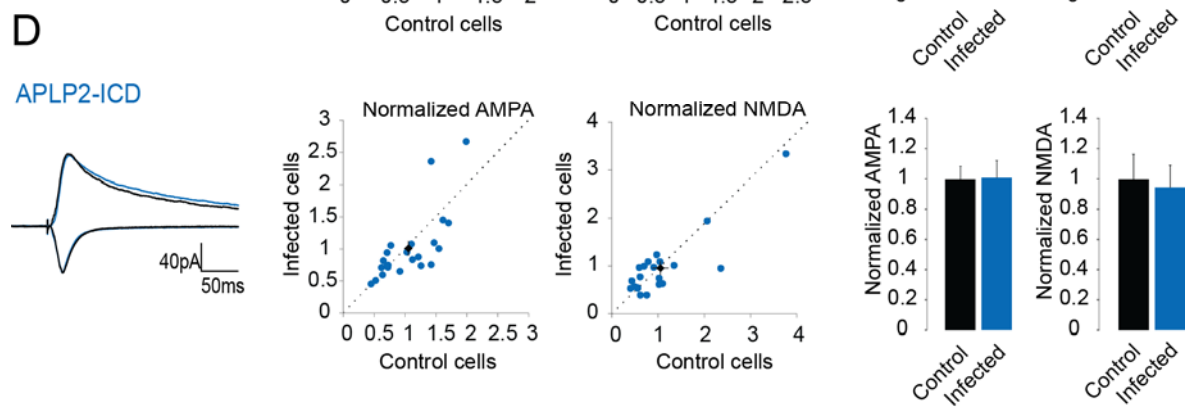
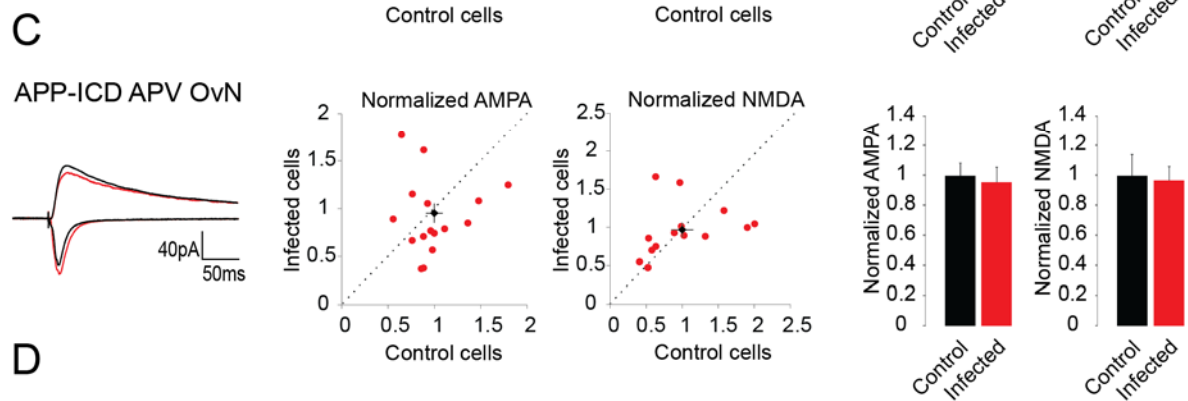
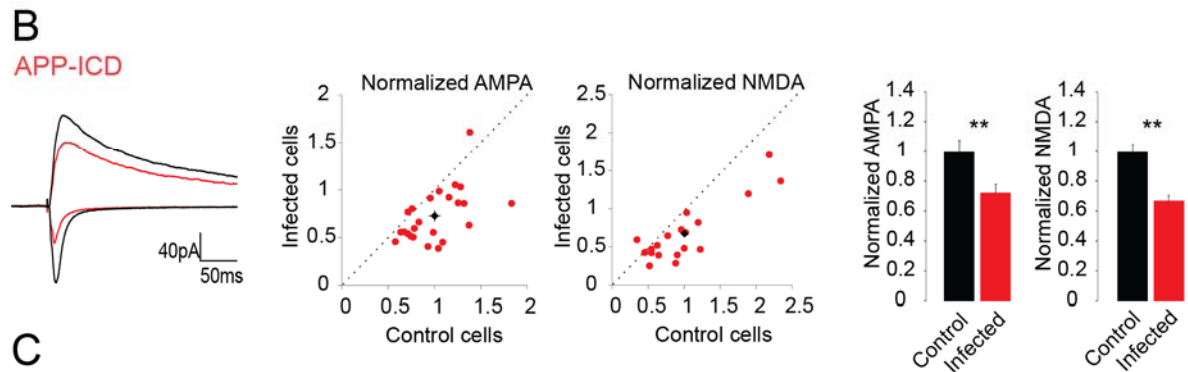
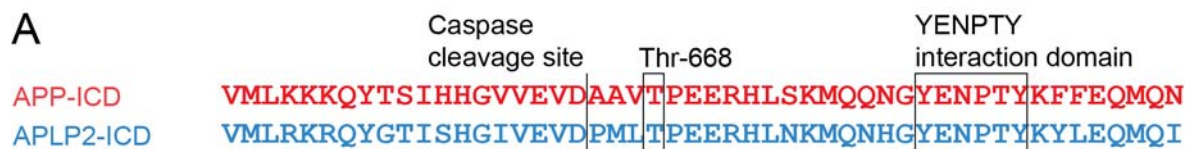


Figure 2. APP-ICD, but not APLP2-ICD, expression induces synaptic depression.

(A) Comparison of the amino acid sequence of APP-ICD and APLP2-ICD, highlighting the common caspase cleavage site, the Thr-668 and the YENPTY protein interaction domain. **(B)** APP-ICD induces synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APP-ICD expressing neurons versus non-infected control neurons (AMPA-R mediated responses $n = 24$; NMDA-R mediated responses $n = 19$). **(C)** APP-ICD induced synaptic depression is dependent on NMDA-R activity. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APP-ICD expressing neurons versus non-infected control neurons, after incubation with the NMDA-R antagonist D,L-APV (50 μ M) (AMPA-R responses $n = 15$; NMDA-R responses $n = 14$). **(D)** APLP2-ICD has no effect on synaptic transmission. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APLP2-ICD expressing neurons versus non-infected control neurons (AMPA-R responses $n = 23$; NMDA-R responses $n = 21$).

Left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; Middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. **: $p < 0.01$. Error bar = SEM.

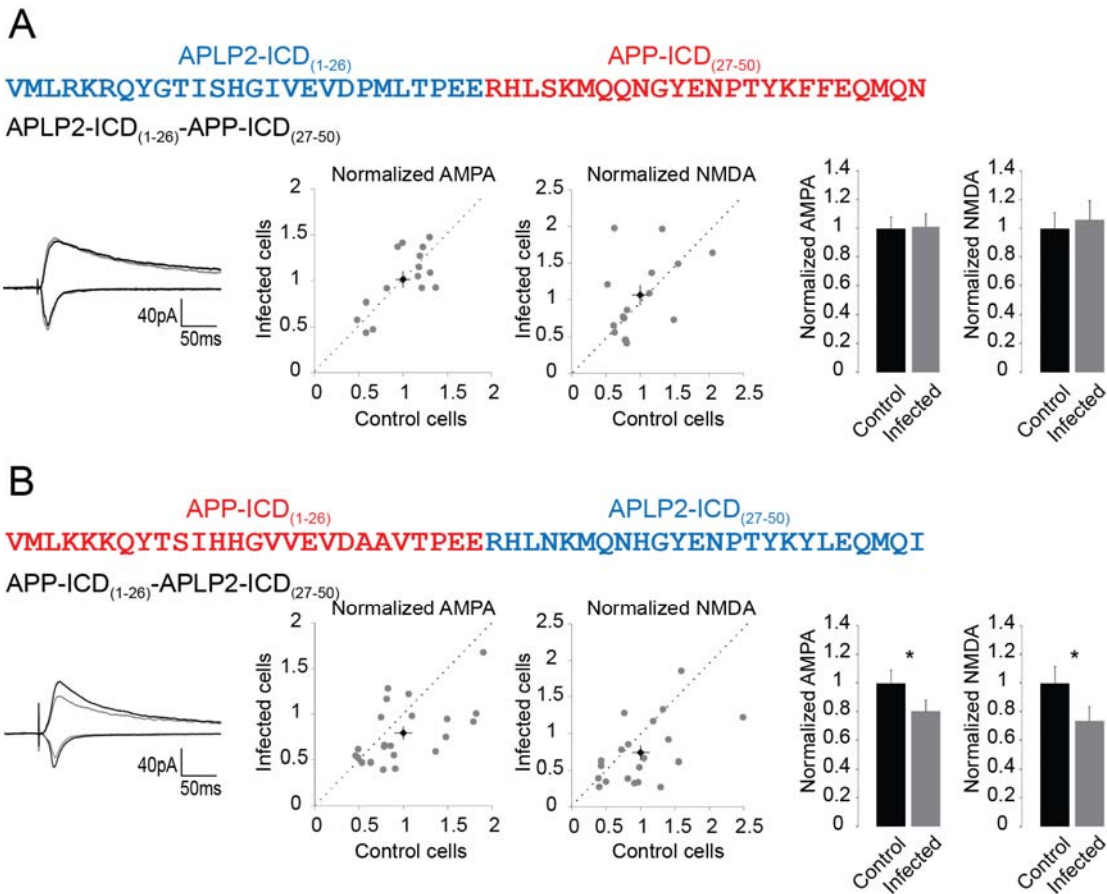


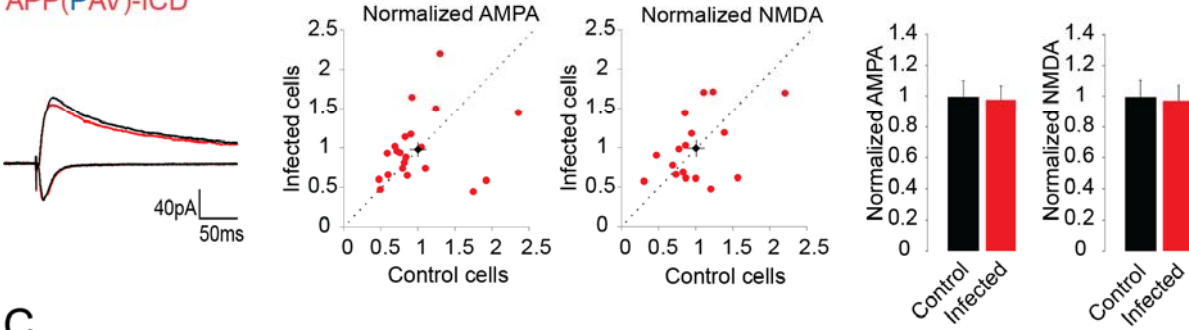
Figure 3. Characterization of the APP-ICD domain responsible for the induction of synaptic depression.

(A) The chimeric APLP2-ICD(1–26)–APP-ICD(27–50) construct does not induce synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APLP2-ICD(1–26)–APP-ICD(27–50) versus non-infected control neurons (AMPA-R responses $n = 15$; NMDA-R responses $n = 15$). **(B)** The chimeric APP-ICD(1–26)–APLP2-ICD(27–50) construct induces synaptic depression, indicating that the critical domain lies within the N-terminal part of APP-ICD. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APP-ICD(1–26)–APLP2-ICD(27–50) versus uninfected control neurons (AMPA-R responses $n = 21$; NMDA-R responses $n = 20$).

Left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. *: $p < 0.05$. Error bar = SEM.

A
APP-ICD VMLKKKQYTSIHGVEVDAAVTPEERHLSKMQONGYENPTYKFFEOMQN
APLP2-ICD VMLRKRQYGTISHGIVEVDPLMTPEERHLNKMQNHGYENPTYKYLEQMQL

B
APP(PAV)-ICD



C
APLP2(AML)-ICD

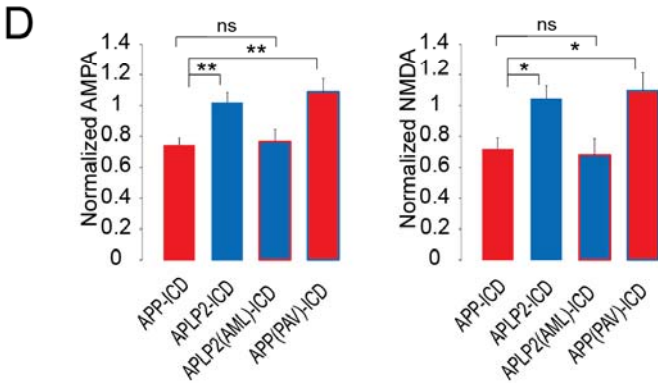
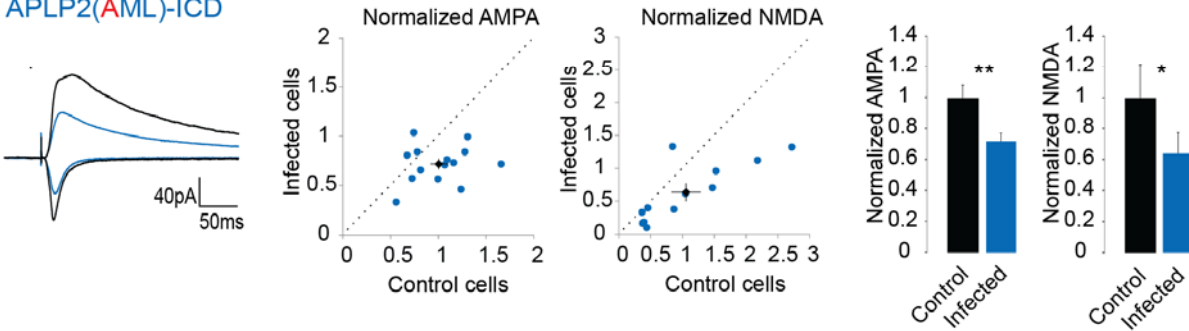


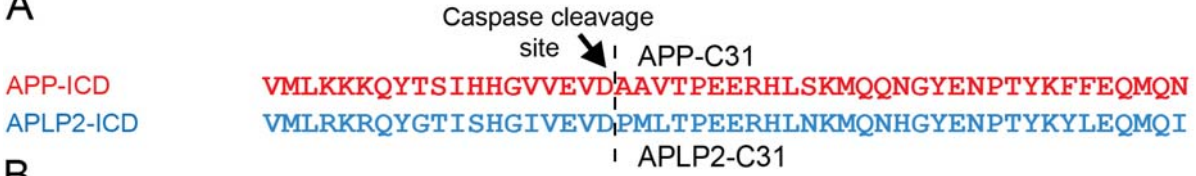
Figure 4. A single amino acid difference between APP-ICD and APLP2-ICD is sufficient to induce synaptic depression.

(A) Comparison of the APP-ICD and APLP2-ICD amino acid sequences, highlighting the critical domain for synaptic depression. **(B)** Replacing the first alanine in the AAV domain of APP-ICD with the proline of the PML motif of APLP2-ICD prohibits synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APP(PAV)-ICD versus non-infected control neurons (AMPA-R responses $n = 22$; NMDA-R responses $n = 18$). **(C)** Replacing the proline in the PML domain of APLP2-ICD with the alanine of the AAV motif of APP-ICD is sufficient to induce synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APLP2(AML)-ICD versus non-infected control neurons (AMPA-R responses $n = 16$; NMDA-R responses $n = 14$).

Left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$. Error bar = SEM.

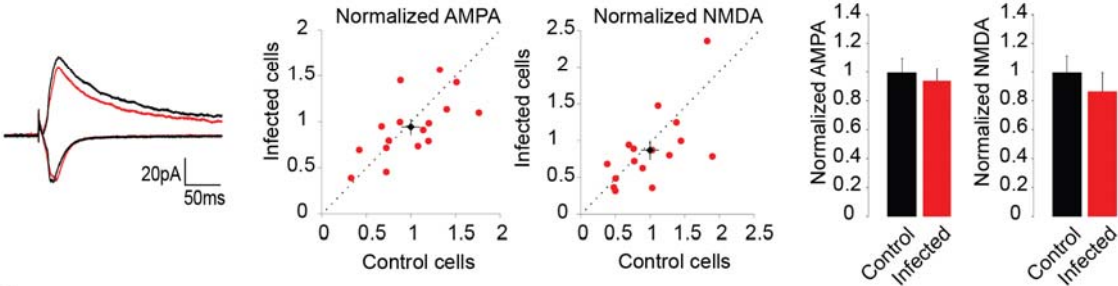
(D) Comparison of normalized synaptic AMPA-R and NMDA-R dependent depression of neurons expressing APP-ICD or APLP2-ICD from Figure 2B and D and neurons expressing the same constructs but with the single amino-acid exchange (APP(PAV)-ICD and APLP2(AML)-ICD, this figure B and C). APP-ICD induces AMPA-R and NMDA-R dependent synaptic depression, which is indistinguishable from the synaptic depression caused by APLP2(AML)-ICD (i.e. no significant difference), while APP(PAV)-ICD does no longer induce synaptic depression when compared to wild-type APP-ICD (overall ANOVA p -value for AMPA-R: 0.0006 and for NMDA-R: 0.0026; post-hos test: Bonferroni for APP-ICD vs. APLP2-ICD, APLP2(AML)-ICD and APP(PAV)-ICD as shown in figure).

A



B

APP-ICD DEVD-FMK 50μM o/n



C

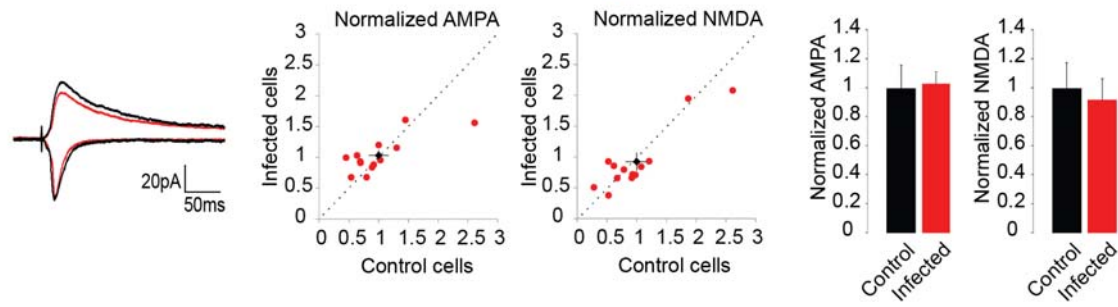


Figure 5. Caspase cleavage of APP-ICD is necessary for the induction of synaptic depression. **(A)** Comparison of the APP-ICD and APLP2-ICD amino acid sequences, highlighting the conserved caspase cleavage site. **(B)** The caspase inhibitor DEVD-FMK blocks APP-ICD dependent synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APP-ICD versus non-infected control neurons in presence of DEVD-FMK (50 μ M) (AMPA-R responses n = 15; NMDA-R responses n = 15). **(C)** Prohibiting caspase cleavage of APP-ICD by mutating the VEVD motif to VEVA (APP(VEVA)-ICD) is sufficient to block APP-ICD dependent synaptic depression. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of neurons expressing APP(VEVA)-ICD versus non-infected control neurons (AMPA-R responses n = 13; NMDA-R responses n = 13). Left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. Error bar = SEM.

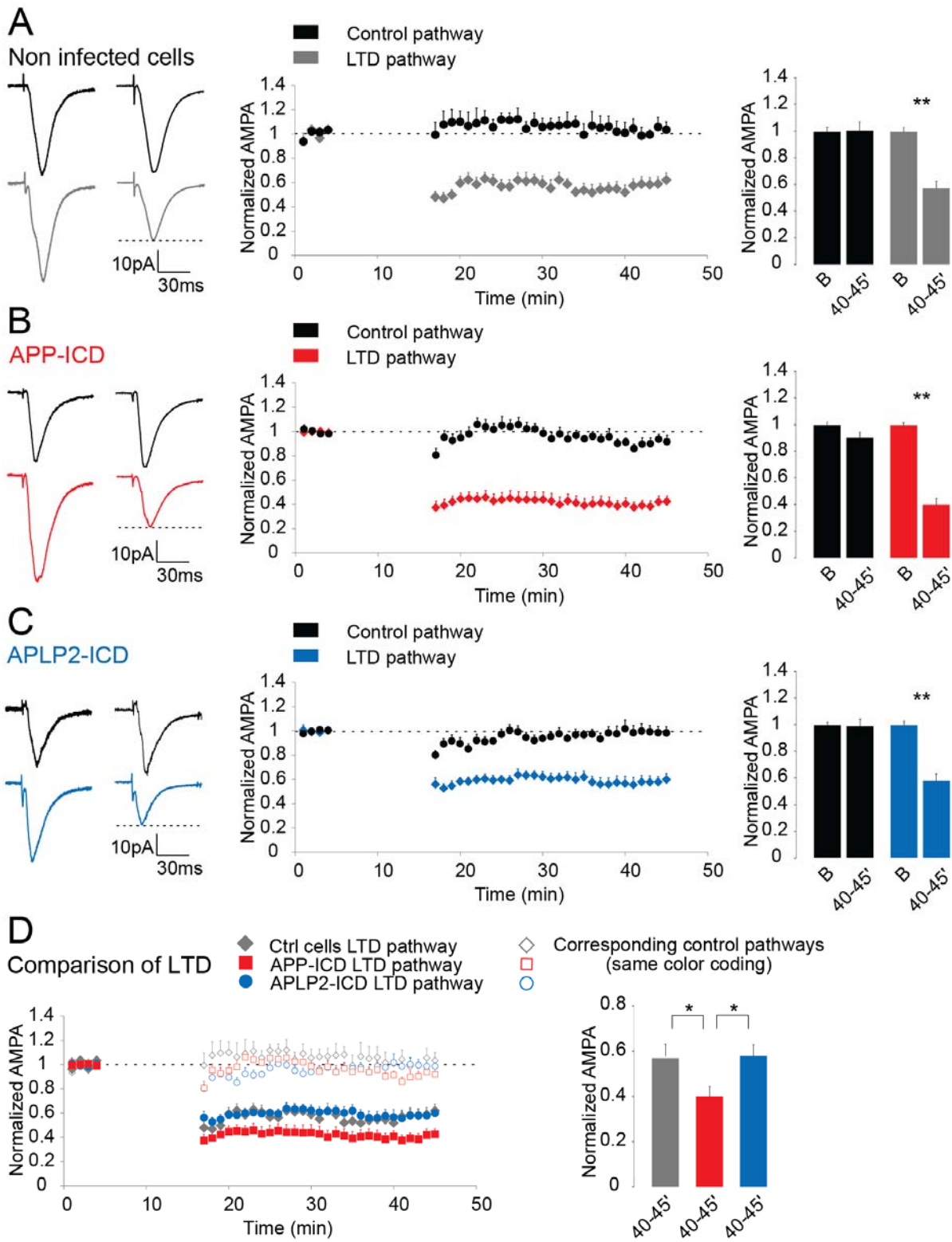


Figure 6. APP-ICD expression increases long-term depression.

(A) LTD induction in non-infected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in gray) (n = 10). **(B)** Expression of APP-ICD enhances LTD. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP-ICD (n = 13). **(C)** Expression of APLP2-ICD has no effect on LTD. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in blue) in neurons expressing APLP2-ICD (n = 12).

Left: sample traces of synaptic responses, before and after LTD induction. middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTD induced pathway. right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$.

(D) Comparison of LTD in non-infected control neurons and neurons expressing APP-ICD or APLP2-ICD.

Left: Summary of normalized synaptic responses. Right: Summary bar diagram of normalized synaptic responses, showing a significant increase in LTD induction in APP-ICD expressing neurons (red) vs. control neurons (gray) or APLP2-ICD expressing neurons (blue) (overall ANOVA p-value: 0.0129, post-hoc test: Turkey); *: $p < 0.05$; error bar = SEM. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

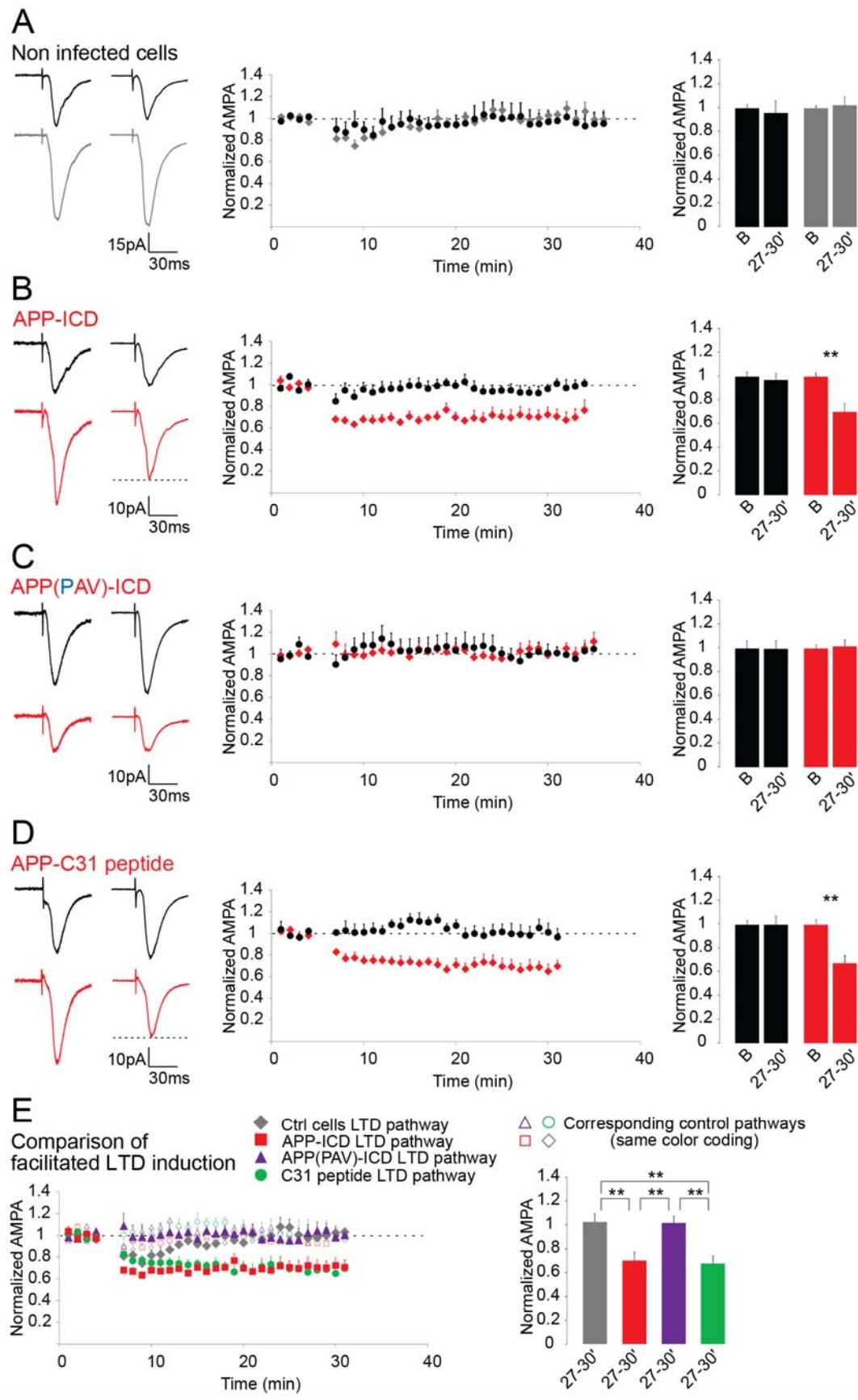


Figure 7. APP-ICD facilitates induction of long-term depression.

(A) LTD induction is not facilitated in non-infected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in gray) (n = 8). **(B)** Expression of APP-ICD facilitates the induction of LTD. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP-ICD (n = 8). **(C)** Replacing the first alanine in the AAV domain of APP-ICD with the proline of the PML motif of APLP2-ICD (i.e. the APP(PAV)-ICD construct) prohibits the facilitation of LTD induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP(PAV)-ICD (n = 9). **(D)** Intracellular perfusion of the APP-C31 peptide causes a facilitation of LTD induction and thereby mimics the effects of APP-ICD. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons intracellularly perfused with APP-C31 peptide (n = 9).

Left: sample traces of synaptic responses, before and after LTD induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTD induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline. **: $p < 0.01$.

(E) Comparison of facilitated LTD in non-infected control neurons and neurons expressing APP-ICD or APP(PAV)-ICD or were perfused with APP-C31 peptide.

Left: Summary of normalized synaptic responses. Right: Summary bar diagram of normalized synaptic responses, showing a significant increase in facilitation of LTD induction in APP-ICD expressing neurons (red) and APP-C31 perfused neurons (green) vs. control neurons (gray) or APLP2-ICD expressing neurons (purple) (overall ANOVA p-value < 0.0001 , post-hoc test: Tukey); **: $p < 0.01$; error bar = SEM. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

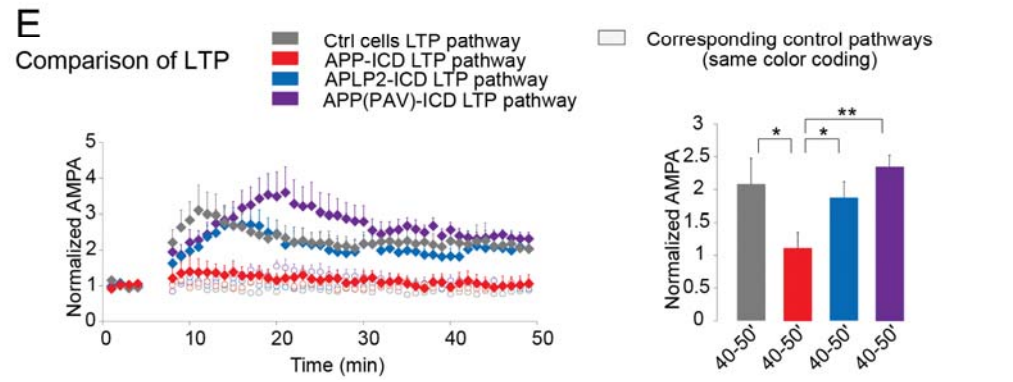
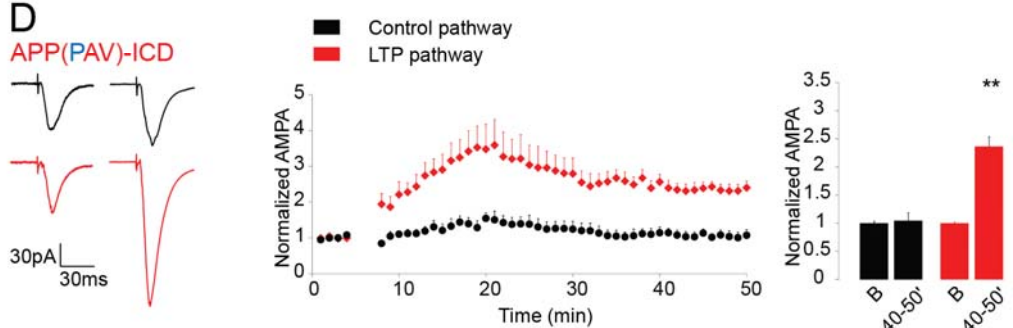
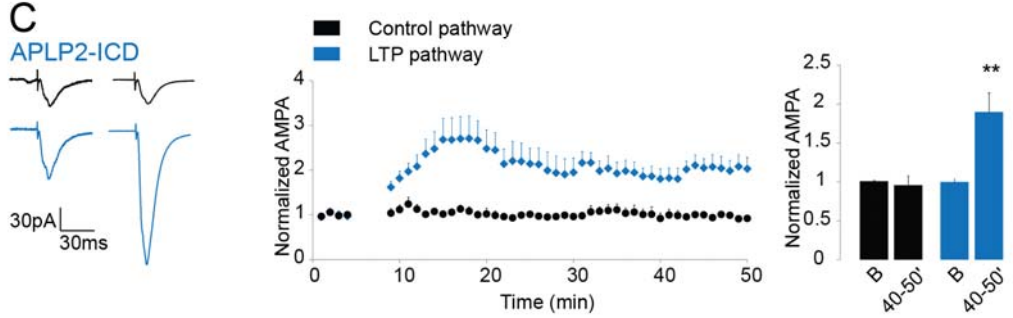
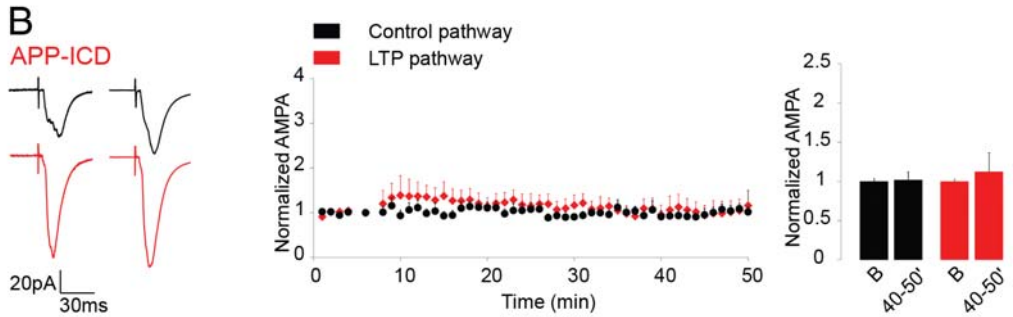
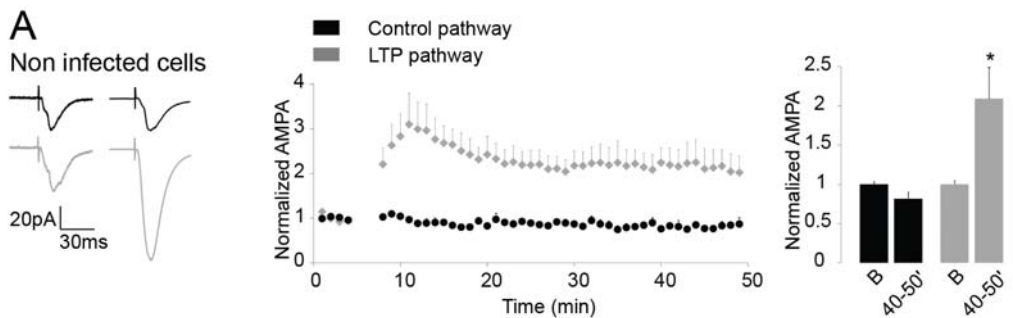


Figure 8. APP-ICD expression blocks long-term potentiation.

(A) LTP induction in uninfected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in gray) (n = 7). **(B)** Expression of APP-ICD blocks LTP. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in red) in neurons expressing APP-ICD (n = 7). **(C)** Expression of APLP2-ICD has no effect on LTP. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in blue) in neurons expressing APLP2-ICD (n = 10). **(D)** Exchanging the first alanine in the AAV motif of APP-ICD for the proline of APLP2-ICD is sufficient to rescue LTP induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in red) in neurons expressing APP(PAV)-ICD (n = 7).

Left: sample traces of synaptic responses, before and after LTP induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTP induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$.

(E) Comparison of LTP in non-infected control neurons and neurons expressing APP-ICD, APLP2-ICD or APP(PAV)-ICD.

Left: Summary of normalized synaptic responses. Right: Summary bar diagram of normalized synaptic responses, showing a significant inhibition in LTP induction in APP-ICD expressing neurons (red) vs. control neurons and neurons expressing APLP2-ICD or APP(PAV)-ICD (overall ANOVA p-value: 0.004, post hoc test: Tukey); *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; error bar = SEM. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

V DEUXIÈME SECTION DE RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1 PRÉAMBULE

Ce chapitre contient la publication :

The amyloid-precursor protein intracellular domain is an effector molecule of metaplasticity.

Emilie Trillaud-Doppia and Jannic Boehm

Pour cette publication, j'ai réalisé les enregistrements électrophysiologiques. J'ai préparé les tranches organotypiques d'hippocampe et j'ai fabriqué mes constructions d'ADN, incluant la mutagénèse. J'ai fait l'analyse des résultats, préparé les figures et participé à l'écriture de l'article. Jannic Boehm a rédigé l'article.

Cet article est soumis pour Biological Psychiatry.

2 ABSTRACT

Human studies and mouse models of Alzheimer disease (AD) suggest that the amyloid precursor protein (APP) can cause changes in synaptic plasticity and is therefore contributing to the memory deficits seen in AD. While most of these studies attribute these changes to the APP cleavage product A β , it became in recent years apparent that the APP intracellular (APP-ICD) might play an important role in regulating synaptic plasticity. To separate the effects of APP-ICD on synaptic plasticity from A β dependent effects, we created a chimeric APP where the A β domain is exchanged for its homologous domain from the amyloid-like precursor protein 2. We show that the expression of this chimeric APP has no effect on basal synaptic transmission or synaptic plasticity. However, a synaptic priming protocol, which in control cells has no effect on synaptic plasticity, leads to a complete block of subsequent LTP induction and a facilitation of LTD induction in neurons expressing chimeric APP. We show that the underlying mechanism for this effect on metaplasticity is due to caspase cleavage of the APP-ICD and involves activation of ryanodine receptors. Furthermore, our results shed light onto

the controversially discussed role of APP-ICD in regulating transcription. Due to time constraints, we can exclude the involvement of APP-ICD dependent transcription as an underlying mechanism for the regulation of metaplasticity. Taken together, our results provide new insights into the altered regulation of synaptic plasticity during AD.

3 INTRODUCTION

Alzheimer disease (AD), a progressive neurodegenerative disorder, is initially characterized by deficits in learning and memory that will eventually lead to loss of higher cognitive function (Selkoe and Schenk, 2003). The cellular mechanism for memory formation is synaptic plasticity, with its two most prominent forms: long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) (Nabavi et al., 2014). However, the underlying mechanisms for changes in synaptic plasticity in AD remain largely unknown. Genetic studies suggest that the amyloid-precursor protein (APP) is critically involved in the development of AD (Selkoe, 2001). The proteolytic cleavage of APP leads to the production of A β and the APP intracellular domain (APP-ICD) (Nhan et al., 2015). Although much of AD research still focuses on the role of A β , recent results from others and us have shown that the APP-ICD might play a prominent role in the regulation of synaptic transmission (Klevanski et al., 2015; Trillaud-Doppia et al., 2016).

Neurons express beside APP in equal amounts the APP paralogues amyloid-like precursor protein 1 and 2 (APLP1 and APLP2) (Slunt et al., 1994). APP and APLP2 appear to have overlapping functions during development, since APP and APLP2 double knock-out mice are lethal, whereas the single knock-out mice are viable (von Koch et al., 1997; Heber et al., 2000). The intracellular domains of APP and APLP2 are highly homologous and have most of the known key regulatory sites conserved. However, in a recent publication, we found that the expression of the APP-ICD fragment leads to synaptic depression, while the APLP2-ICD had no effect on synaptic transmission. Interestingly this effect is due to a single amino acid difference between the two intracellular domains (Trillaud-Doppia et al., 2016). APP-ICD is, however, normally not expressed as an isolated fragment, but as part of the full length APP molecule, which needs to be trafficked to dendritic compartments before its proteolytic

processing. Hence, in the present study we aimed at analyzing the effects of APP-ICD on synaptic plasticity, with APP-ICD being part of full length APP. We created a chimeric APP receptor, where we exchanged the A β domain of APP for its homologous domain from APLP2 to avoid potential interference on synaptic plasticity by A β . We find that the expression of chimeric APP has no effect on synaptic transmission or synaptic plasticity. However, chimeric APP has a strong effect on metaplasticity, i.e. it changes the ability of the neuron to induce synaptic plasticity after prior stimulation. We observe, that the transient activation of the synapse leads to a complete block of subsequent LTP induction and a facilitation of LTD induction. We can attribute these changes in metaplasticity to the caspase cleavage of APP-ICD and propose changes in ryanodine receptor activation as the underlying mechanism. Taken together, we propose that the APP-ICD is an effector molecule of metaplasticity.

4 MATERIALS AND METHODS

4-1 cDNA constructs and virus production

Cloning of chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} construct) was achieved using APP₆₉₅ for its extracellular domain APP_{Ext} and APP Δ B-100 IRES-GFP (which contains APLP2_{TM}-APP_{ICD}; (Hsieh et al., 2006)). APP_{Ext} and APLP2_{TM}-APP_{ICD} were linked by nested PCR with overlapping primers in order to form the APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} construct. The APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} construct was cloned into the viral pSinRep5 expression vector (Invitrogen). APLP2_{Full} was also cloned as a c-terminal IRES-GFP expression system and inserted in the viral pSinRep5 expression vector (Invitrogen). APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(PAV)_{ICD}, APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(T668A)_{ICD} and APLP2(AAV)_{Full} point mutations were made by site directed mutagenesis, using iProof High-fidelity DNA polymerase (Bio-Rad), directly in the pSinRep5 vector containing either APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} or APLP2_{Full}. All constructs were in-vitro transcribed, following the protocol of Invitrogen for pSindbis virus production. BHK cells were electroporated with the RNA transcripts using the MammoZapper Cloning Gun electroporation system (Tritech Research). 48 h later, viral particles in the cell medium were collected by ultracentrifugation and stored at -80°C .

4-2 Hippocampal slice cultures

Organotypic hippocampal slice cultures were prepared from p7 rat pups, and maintained in culture for 10 to 12 days as described before (Tamburri et al., 2013). At this time, CA1 neurons in organotypic cultures display NMDA-receptor 2A subunit expression levels indicative of mature neurons (Gambrill and Barria, 2011). CA1 pyramidal neurons were infected with viral solution 16 h prior to recording, using a thin glass electrode in combination with a pico-spritzer. Restricted local CA1 expression was confirmed by analysing GFP expression. The animal protocol (Permit Number: 14-170) followed the guidelines of the “Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux” (CDEA) of the Université de Montréal.

4-3 Drugs

Caspase-3 inhibitor Z-DEVD-FMK (50 μ M, MBL) for Figure 4A was added to the slice culture media one hour after viral infection. Intracellular diffusion of ryanodine receptor antagonist Dantrolene (Tocris) for Figure 4B was achieved by dissolving the drug in the internal solution of the patch pipette (10 μ M), followed by drug diffusion for 10 min after obtaining whole cell patch clamp configuration.

4-4 Electrophysiological recordings

Dual (control and infected neuron, identified under fluorescent guidance) and single whole cell patch clamp recordings of CA1 neurons were done by transferring hippocampal slices to a recording chamber filled with artificial cerebrospinal fluid containing 2.5 mM KCl, 118 mM NaCl, 1 mM NaH₂PO₄, 26 mM NaHCO₃, 10 mM glucose, 100 μ M picrotoxin and 4 μ M 2-chloroadenosine and continuously bubbled with carbogen (5% CO₂ and 95% O₂). Before recording, 4 mM CaCl₂ and 4 mM MgCl₂ were added to the ACSF. All recordings were done at 25 °C, except for the induction of LTP, for which the temperature was increased to 30 °C. Patch pipettes (3–5 M Ω) were filled with internal solution: 115 mM cesium methanesulfonate, 20 mM CsCl, 10 mM HEPES, 2.5 mM MgCl₂, 0.6 mM EGTA, 4 mM Na₂ATP, 0.4 mM Na₃GTP and 10 mM sodium phosphocreatine at pH 7.2 and 290 mOsm. Two tungsten electrodes for stimulation were placed above the Schaffer collaterals, 150 to 250 μ m apart.

AMPA-R and NMDA-R currents were recorded while neurons were maintained at -60 mV and $+40$ mV, respectively. A stimulation of 0.3 Hz was applied.

For the induction of LTD, neurons were depolarized at -30 mV, stimulated with one electrode at 1 Hz for 800 pulses (LTD pathway), while the second electrode remained off (control pathway). Facilitation of LTD induction was tested by using the same LTD protocol but delivering 180 pulses instead of 800 pulses. For the induction of LTP, neurons were depolarized at 0 mV, stimulated with one electrode at 3 Hz for 3 min (LTP pathway), while the second electrode remained off (control pathway). The synaptic priming protocol was administered 3 min prior to induction of synaptic plasticity (either facilitated LTD or LTP). During the priming protocol, neurons were depolarized at -30 mV, stimulated twice at 100 Hz for 1 s with a 1 s pause in-between.

4-5 Statistics

A paired t-test was used to compare effects on AMPA-R and NMDA-R currents between control and infected neurons. Effects on synaptic plasticity were analyzed by paired t-test, comparing the normalized size of synaptic currents before (indicated in the figures as B: baseline) and after induction of synaptic plasticity (see figures for time intervals).

5 RESULTS

5-1 A β deficient APP affects metaplasticity.

To analyze the isolated effect of the intracellular domain of APP on synaptic plasticity and to separate these effects from those potentially caused by A β , we created a chimeric APP where we exchanged the A β domain for the homologous domain from the amyloid-like precursor protein 2 (APLP2), the most conserved APP paralogue (Figure 1A). Expression of this chimeric APP in CA1 neurons of organotypic hippocampal slice cultures did not affect basal synaptic transmission (Figure 1B), or the induction of LTP or LTD compared to control neurons (Figures 1C and D). In addition, contrary to our former observation with neurons expressing the isolated APP-ICD fragment (Trillaud-Doppia et al., 2016), we did not observe a facilitation of LTD induction in neurons expressing our full-length chimeric APP construct (Figure 1E).

Others and we have shown that APP dependent induction of synaptic depression involves synaptic stimulation and NMDA-receptor activation (Kamenetz et al., 2003; Hsieh et al., 2006). We therefore hypothesized that in the presence of our chimeric APP, synaptic activity could change the subsequent induction of synaptic plasticity. To test this hypothesis, we devised a priming protocol consisting of two 1s long 100Hz bursts spaced out by 1s while holding the cell at -30mV (Figure 2A top). This priming protocol was followed by a subthreshold LTD induction protocol (-30mV, 1 Hz stimulation for 3 min instead of 13 min for normal LTD induction) 3 min later, to test facilitation of LTD induction. In uninfected control neurons, our priming protocol was insufficient to facilitate subsequent LTD induction or induce changes to basal synaptic transmission (Figure 2A middle). Neurons expressing our chimeric APP, also showed no changes in basal synaptic transmission after delivery of our priming protocol (see 3 min recording of basal synaptic transmission directly after the priming protocol in Figure 2A bottom). However, we observe an induction of robust synaptic depression with our subthreshold LTD protocol, indicating that LTD induction is facilitated in neurons expressing chimeric APP (Figure 2A bottom). Activity-dependent changes at the synapse that do not affect basal synaptic transmission, but impact the subsequent induction of synaptic plasticity (like LTP and LTD) are commonly referred to as metaplasticity (Abraham, 2008). Metaplasticity is commonly defined as the plasticity of synaptic plasticity, i.e. metaplasticity changes the ability of the neuron to induce synaptic plasticity after prior synaptic stimulation. Given this definition, it therefore appears that the chimeric APP is affecting metaplasticity.

Having established that the chimeric APP leads to facilitation of LTD induction in the context of metaplasticity, we wondered whether LTP would also be affected. Again, we first applied our priming protocol, before inducing LTP (3Hz stimulation for 3 min at 0 mV holding potential, Figure 2B top). The priming protocol did not change basal synaptic transmission in control cells, nor did it affect the induction of subsequent LTP (Figure 2B middle). However, in cells expressing the chimeric APP, we observe a complete block of LTP induction after prior application of our priming protocol (Figure 2B bottom). Taken together, we show that the expression of our chimeric APP molecule does not affect synaptic plasticity (Figure 1) unless the synapse is pre-activated with a priming protocol prior to the induction of synaptic plasticity

(Figure 2). Synaptic priming in neurons expressing the chimeric APP therefore leads to a facilitation of subsequent LTD induction and a block of LTP induction, indicating that the expression of chimeric APP strongly affects metaplasticity.

5-2 The APP intracellular domain is the cause for changes in metaplasticity.

We created our chimeric APP to analyze the isolated effects of the intracellular domain on synaptic plasticity without interference of A β . While our results therefore suggest that the APP intracellular domain is the cause for our effects on metaplasticity, we nevertheless lack direct evidence for the involvement of APP-ICD. Furthermore, we cannot exclude that the extracellular APP ectodomain fragment might affect synaptic plasticity. To address this problem, we made use of our former finding (Trillaud-Doppia et al., 2016) that a difference of 3 amino acids between the APP-ICD fragment and APLP2-ICD fragment (see Figure 3A) is responsible for their different effects on synaptic transmission. To verify the involvement of APP-ICD in metaplasticity, we tested whether full length chimeric APP, where the critical alanine in the AAV motif of the intracellular domain is replaced by the proline from APLP2, would abolish the effect on facilitated LTD induction after synaptic priming. As shown in Figure 3B, we do no longer see facilitation of LTD with this construct. Next, we wondered whether the AAV motif from APP would be sufficient to modulate metaplasticity. We find that the expression of APLP2 alone has no effect on synaptic transmission or normal LTD induction (Figures S1A and B). Introducing the critical AAV motif from APP into APLP2 (APLP2(AAV) construct) had also no effect on basal synaptic transmission or normal LTD induction (Figures S1C and D). However, in the context of metaplasticity, synaptic priming led to a facilitation of LTD induction in neurons expressing APLP2 with the critical AVV mutation (Figure 3C bottom), contrary to neurons expressing APLP2 without this mutation (Figure 3C top). Our results therefore show that the critical AAV motif in the APP intracellular domain is necessary and sufficient for the effect of APP on metaplasticity.

Beside the involvement of the critical AAV motif, a study by Lombino et. al (Lombino et al., 2013) showed that blocking phosphorylation of threonine T668, which is located directly behind the AAV motif in the APP intracellular domain (T668, see Figure 3A) could rescue

deficits in LTP induction in a familial Danish dementia (FDD) mouse model. To test whether APP-T668 phosphorylation affects metaplasticity, we expressed our chimeric APP with a T668A mutation in the intracellular domain in CA1 neurons. Contrary to chimeric APP, where the priming protocol blocks LTP induction, we see a rescue of LTP induction with chimeric APP bearing the T668A mutation (Figure 3D top). Next we tested the effect of the T668A mutation on facilitation of LTD. Unlike the chimeric APP which led to facilitated LTD induction, we do no longer see this effect with the chimeric APP bearing the T668A mutation in its intracellular domain (Figure 3D bottom), indicating that the phosphorylation of T668 is a necessary step in APP-ICD dependent regulation of metaplasticity.

Taken together, we show that specific mutations in the APP intracellular domain prohibit its effect on metaplasticity. Importantly, we find that mutating three amino acids in the APLP2 intracellular domain (thereby mimicking the AAV motif found in APP) is sufficient to enable APLP2 in affecting metaplasticity. Our results therefore confirm our hypothesis that the APP-ICD is the intracellular effector for APP dependent changes in metaplasticity.

5-3 Activation of caspase and ryanodine receptors are necessary events for APP dependent effects on metaplasticity.

So far we show that the chimeric APP by itself has no effect on synaptic plasticity unless a prior synaptic activation in form of a priming protocol is applied. Furthermore, we show that the intracellular domain is of critical importance for APP dependent changes on metaplasticity. Taking these two results into account, we hypothesized that the necessary synaptic priming might induce the proteolysis and thereby release of a critical part of the APP intracellular domain. Several research groups have shown that caspase activity leads to the cleavage of APP-ICD and the release of the most C-terminal fragment of the APP intracellular domain (the APP-C31 fragment, see Figure 3A). The aforementioned critical AAV motif in APP-ICD forms the new N-terminus of APP-C31 after caspase cleavage of APP-ICD. We could show in a recent publication that the intracellular diffusion of APP-C31 peptide facilitates LTD induction. Interestingly, synaptic stimulation causes the activation of caspase at the synapse (D'Amelio et al., 2012). The activation of caspase in the synapse, however, is not inducing cell death but

regulates synaptic plasticity (Li et al., 2010). Hence, to test whether synaptic priming induces caspase activity and thereby affects APP-ICD dependent metaplasticity, we infected neurons with chimeric APP and incubated the slice cultures overnight with the caspase inhibitor DEVD-FMK (50 μ M). Inhibition of caspase activity completely abolished the effect of chimeric APP on LTD facilitation (Figure 4A), indicating that caspase cleavage of the APP intracellular domain and release of APP-C31 is a prerequisite for APP dependent effects on metaplasticity.

The intracellular domain of APP has been reported to regulate intracellular calcium homeostasis and calcium release from intracellular stores (Leissring et al., 2002). In turn, the regulation of calcium release from intracellular stores through ryanodine receptors has been shown to affect synaptic plasticity (Futatsugi et al., 1999; Nishiyama et al., 2000). We therefore wanted to test whether the effects on metaplasticity are due to APP-ICD dependent calcium release from intracellular stores through the activation of ryanodine receptors. In order to only affect postsynaptic calcium stores, we included the ryanodine receptor inhibitor dantrolene into our intracellular patch-pipette solution. After obtaining whole-cell patch clamp configuration of neurons infected with chimeric APP, we allowed intracellular diffusion of dantrolene for 10 min before applying our metaplasticity protocol. The presence of dantrolene blocked the induction of LTD facilitation (Figure 4B top), suggesting that the intracellular domain of APP is indeed regulating metaplasticity through a pathway that involves ryanodine receptor dependent calcium release from intracellular stores. To exclude that the facilitation of LTD could be affected by the 10 min perfusion time, we repeated our experiment in the absence of dantrolene. As shown in Figure 4B middle, the diffusion of neurons by itself had no effect on chimeric APP induced LTD facilitation. Since calcium release from presynaptic ryanodine receptors is required for LTD induction (Unni et al., 2004), we had to take into account that blocking postsynaptic ryanodine receptors could also lead to a general block in LTD and in consequence to a block of LTD facilitation. As shown in Figure 4B bottom, the diffusion of dantrolene did not intrinsically block LTD induction, indicating that the postsynaptic activation of ryanodine receptors is not a necessary requirement for LTD induction, but appears to play a specific role in regulating metaplasticity.

6 DISCUSSION

Different research groups have reported changes in metaplasticity in AD mouse models (e.g. (Balducci et al., 2010; Megill et al., 2015) and recently reviewed in (Jang and Chung, 2016)), showing a shift in synaptic plasticity towards reduced LTP induction and enhanced LTD induction. While most of these studies assume that the effects of APP on metaplasticity are ultimately caused by A β , our results indicate that the intracellular domain of APP plays a key role for the regulation of metaplasticity. Whether A β and APP-ICD act in concert or independently to change the induction of synaptic plasticity remains unknown. However, it is of interest that A β has been described to affect NMDA-R activity as well as to increase caspase activity (Molnar et al., 2004; D'Amelio et al., 2011; Texido et al., 2011), both necessary events in our experiments to affect metaplasticity through the APP intracellular domain. One could therefore hypothesize, that A β through its effects on NMDA-Rs induces caspase activity that would lead to the cleavage of APP-ICD and thereby prone the cell for subsequent changes in metaplasticity. In other words, APP-ICD could act as the intracellular effector of extracellular A β in the context of regulating metaplasticity.

Several research groups tested the role of APP-ICD on synaptic plasticity in transgenic mouse models. Unfortunately, these studies produced conflicting results (Galvan et al., 2006; Saganich et al., 2006; Galvan et al., 2008; Harris et al., 2010) that in the end were explained by differences in the transgene expression level of APP among the different mouse lines (Bredesen et al., 2010). The overall remaining question however is: How does the intracellular domain of APP influences metaplasticity? One of the dominant current ideas of the role APP-ICD plays in Alzheimer disease is through its regulation of gene transcription (e.g.(Pardossi-Piquard and Checler, 2012). It has been shown that APP-ICD can form a complex with the transcription factor Fe65 and the histone acetyltransferase Tip60 (Cao and Sudhof, 2001; von Rotz et al., 2004). As a result of this complex formation, several genes encoding proteins like the kinase GSK3 β (a key regulator for LTD) were upregulated due to APP-ICD expression (Kim et al., 2003). It is therefore possible that the APP intracellular domain could affect synaptic plasticity through its transcriptional regulation of certain key proteins. Based on our results, however, it appears that due to time constraints we can reject an involvement of transcription in the APP-

ICD dependent regulation of metaplasticity. In our experiments, we place the stimulation electrode on average 200 μm away from the soma. To regulate gene transcription, the APP-ICD has to travel 200 μm from the synapse to the nucleus and its gene product again the same distance to affect the pre-stimulated synapse. Since we see our effects on metaplasticity after 3 min (time between priming protocol and induction of LTD or LTP, see Figure 2), APP-ICD and its transcriptional target have to travel with an average speed of over 100 $\mu\text{m}/\text{min}$. However, dendritic proteins travel much slower, e.g. the RNA-binding protein Staufen moves with an average speed of 6.4 $\mu\text{m}/\text{min}$ (Kohrmann et al., 1999) and the transcription factor NF κ B reaches the nucleus 30-40 min after dendritic NMDA-R activation (Meffert et al., 2003). We therefore conclude that the APP-ICD affects synaptic plasticity through a local synaptic mechanism, rather than through the activation of gene expression. Our result that ryanodine receptor blockade causes an impairment of APP-ICD dependent regulation of metaplasticity (Figure 4B) further supports a local action of APP-ICD at the synapse in the context of metaplasticity.

Taken together, we show that the intracellular domain of APP is an effector molecule of metaplasticity, leading to a facilitation of LTD induction and block in LTP induction. Furthermore, we propose a local action of APP-ICD at the synapse in the context of metaplasticity regulation, instead of a mechanism involving APP-ICD dependent transcriptional gene regulation. Our results give a new perspective on the regulation of synaptic plasticity in Alzheimer disease and in consequence on the underlying mechanisms leading to deficits in learning and memory formation in Alzheimer patients.

7 ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Drs. Lacaille and DiCristo for critical comments. Furthermore, we thank Ms. Catherine Bourgeois for technical expertise.

This work was supported by an operating grant from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR: 102530). JB is supported by a salary award from the “Fonds de recherche santé Québec” (FRQS). ETD was supported by a stipend from the Department of Physiology (Université de Montréal).

8 AUTHOR CONTRIBUTIONS

JB and ETD designed the project and wrote the manuscript. ETD performed the experiments and analyzed the results.

9 FINANCIAL DISCLOSURE

The authors declare no financial conflict of interest.

10 REFERENCES

- Abraham WC (2008) Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat Rev Neurosci* 9:387.
- Balducci C, Tonini R, Zianni E, Nazzaro C, Fiordaliso F, Salio M, Vismara L, Gardoni F, Di Luca M, Carli M, Forloni G (2010) Cognitive deficits associated with alteration of synaptic metaplasticity precede plaque deposition in AbetaPP23 transgenic mice. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 21:1367-1381.
- Bredesen DE, John V, Galvan V (2010) Importance of the caspase cleavage site in amyloid-beta protein precursor. *J Alzheimers Dis* 22:57-63.
- Cao X, Sudhof TC (2001) A transcriptionally [correction of transcriptively] active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 293:115-120.
- D'Amelio M, Sheng M, Cecconi F (2012) Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends in neurosciences* 35:700-709.
- D'Amelio M, Cavallucci V, Middei S, Marchetti C, Pacioni S, Ferri A, Diamantini A, De Zio D, Carrara P, Battistini L, Moreno S, Bacci A, Ammassari-Teule M, Marie H, Cecconi F (2011) Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature neuroscience* 14:69-76.
- Futatsugi A, Kato K, Ogura H, Li ST, Nagata E, Kuwajima G, Tanaka K, Itohara S, Mikoshiba K (1999) Facilitation of NMDAR-independent LTP and spatial learning in mutant mice lacking ryanodine receptor type 3. *Neuron* 24:701-713.
- Galvan V, Zhang J, Gorostiza OF, Banwait S, Huang W, Ataie M, Tang H, Bredesen DE (2008) Long-term prevention of Alzheimer's disease-like behavioral deficits in PDAPP mice carrying a mutation in Asp664. *Behavioural brain research* 191:246-255.

- Galvan V, Gorostiza OF, Banwait S, Ataie M, Logvinova AV, Sitaraman S, Carlson E, Sagi SA, Chevallier N, Jin K, Greenberg DA, Bredesen DE (2006) Reversal of Alzheimer's-like pathology and behavior in human APP transgenic mice by mutation of Asp664. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:7130-7135.
- Gambrill AC, Barria A (2011) NMDA receptor subunit composition controls synaptogenesis and synapse stabilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:5855-5860.
- Harris JA, Devidze N, Halabisky B, Lo I, Thwin MT, Yu GQ, Bredesen DE, Masliah E, Mucke L (2010) Many neuronal and behavioral impairments in transgenic mouse models of Alzheimer's disease are independent of caspase cleavage of the amyloid precursor protein. *J Neurosci* 30:372-381.
- Heber S, Herms J, Gajic V, Hainfellner J, Aguzzi A, Rulicke T, von Kretzschmar H, von Koch C, Sisodia S, Tremml P, Lipp HP, Wolfer DP, Muller U (2000) Mice with combined gene knock-outs reveal essential and partially redundant functions of amyloid precursor protein family members. *J Neurosci* 20:7951-7963.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R (2006) AMPAR removal underlies A β -induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 52:831-843.
- Jang S-S, Chung HJ (2016) Emerging Link between Alzheimer's Disease and Homeostatic Synaptic Plasticity. *Neural Plasticity* 2016:19.
- Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R (2003) APP processing and synaptic function. *Neuron* 37:925-937.
- Kim HS, Kim EM, Lee JP, Park CH, Kim S, Seo JH, Chang KA, Yu E, Jeong SJ, Chong YH, Suh YH (2003) C-terminal fragments of amyloid precursor protein exert neurotoxicity by inducing glycogen synthase kinase-3 β expression. *FASEB J* 17:1951-1953.
- Klevanski M, Herrmann U, Weyer SW, Fol R, Cartier N, Wolfer DP, Caldwell JH, Korte M, Muller UC (2015) The APP Intracellular Domain Is Required for Normal Synaptic Morphology, Synaptic Plasticity, and Hippocampus-Dependent Behavior. *J Neurosci* 35:16018-16033.
- Kohrmann M, Luo M, Kaether C, DesGroseillers L, Dotti CG, Kiebler MA (1999) Microtubule-dependent recruitment of Staufeu-green fluorescent protein into large RNA-containing granules and subsequent dendritic transport in living hippocampal neurons. *Mol Biol Cell* 10:2945-2953.
- Leissring MA, Murphy MP, Mead TR, Akbari Y, Sugarman MC, Jannatipour M, Anliker B, Muller U, Saftig P, De Strooper B, Wolfe MS, Golde TE, LaFerla FM (2002) A physiologic signaling role for the gamma-secretase-derived intracellular fragment of APP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:4697-4702.
- Li Z, Jo J, Jia JM, Lo SC, Whitcomb DJ, Jiao S, Cho K, Sheng M (2010) Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell* 141:859-871.
- Lombino F, Biundo F, Tamayev R, Arancio O, D'Adamio L (2013) An intracellular threonine of amyloid-beta precursor protein mediates synaptic plasticity deficits and memory loss. *PLoS One* 8:e57120.
- Meffert MK, Chang JM, Wiltgen BJ, Fanselow MS, Baltimore D (2003) NF-kappa B functions in synaptic signaling and behavior. *Nature neuroscience* 6:1072-1078.
- Megill A, Tran T, Eldred K, Lee NJ, Wong PC, Hoe HS, Kirkwood A, Lee HK (2015) Defective Age-Dependent Metaplasticity in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 35:11346-11357.
- Molnar Z, Soos K, Lengyel I, Penke B, Szegedi V, Budai D (2004) Enhancement of NMDA responses by beta-amyloid peptides in the hippocampus in vivo. *Neuroreport* 15:1649-1652.
- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY, Malinow R (2014) Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511:348-352.

- Nhan HS, Chiang K, Koo EH (2015) The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta neuropathologica* 129:1-19.
- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408:584-588.
- Pardossi-Piquard R, Checler F (2012) The physiology of the beta-amyloid precursor protein intracellular domain AICD. *Journal of neurochemistry* 120 Suppl 1:109-124.
- Saganich MJ, Schroeder BE, Galvan V, Bredesen DE, Koo EH, Heinemann SF (2006) Deficits in synaptic transmission and learning in amyloid precursor protein (APP) transgenic mice require C-terminal cleavage of APP. *J Neurosci* 26:13428-13436.
- Selkoe DJ (2001) Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81:741-766.
- Selkoe DJ, Schenk D (2003) Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43:545-584.
- Slunt HH, Thinakaran G, Von Koch C, Lo AC, Tanzi RE, Sisodia SS (1994) Expression of a ubiquitous, cross-reactive homologue of the mouse beta-amyloid precursor protein (APP). *J Biol Chem* 269:2637-2644.
- Tamburri A, Dudilot A, Lincea S, Bourgeois C, Boehm J (2013) NMDA-receptor activation but not ion flux is required for amyloid-beta induced synaptic depression. *PLoS One* 8:e65350.
- Texido L, Martin-Satue M, Alberdi E, Solsona C, Matute C (2011) Amyloid beta peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium* 49:184-190.
- Trillaud-Doppia E, Paradis-Isler N, Boehm J (2016) A single amino acid difference between the intracellular domains of amyloid precursor protein and amyloid-like precursor protein 2 enables induction of synaptic depression and block of long-term potentiation. *Neurobiology of disease* 91:94-104.
- Unni VK, Zakharenko SS, Zablow L, DeCostanzo AJ, Siegelbaum SA (2004) Calcium release from presynaptic ryanodine-sensitive stores is required for long-term depression at hippocampal CA3-CA3 pyramidal neuron synapses. *J Neurosci* 24:9612-9622.
- von Koch CS, Zheng H, Chen H, Trumbauer M, Thinakaran G, van der Ploeg LH, Price DL, Sisodia SS (1997) Generation of APLP2 KO mice and early postnatal lethality in APLP2/APP double KO mice. *Neurobiol Aging* 18:661-669.
- von Rotz RC, Kohli BM, Bosset J, Meier M, Suzuki T, Nitsch RM, Konietzko U (2004) The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *J Cell Sci* 117:4435-4448.

11 FIGURES AND LEGENDS

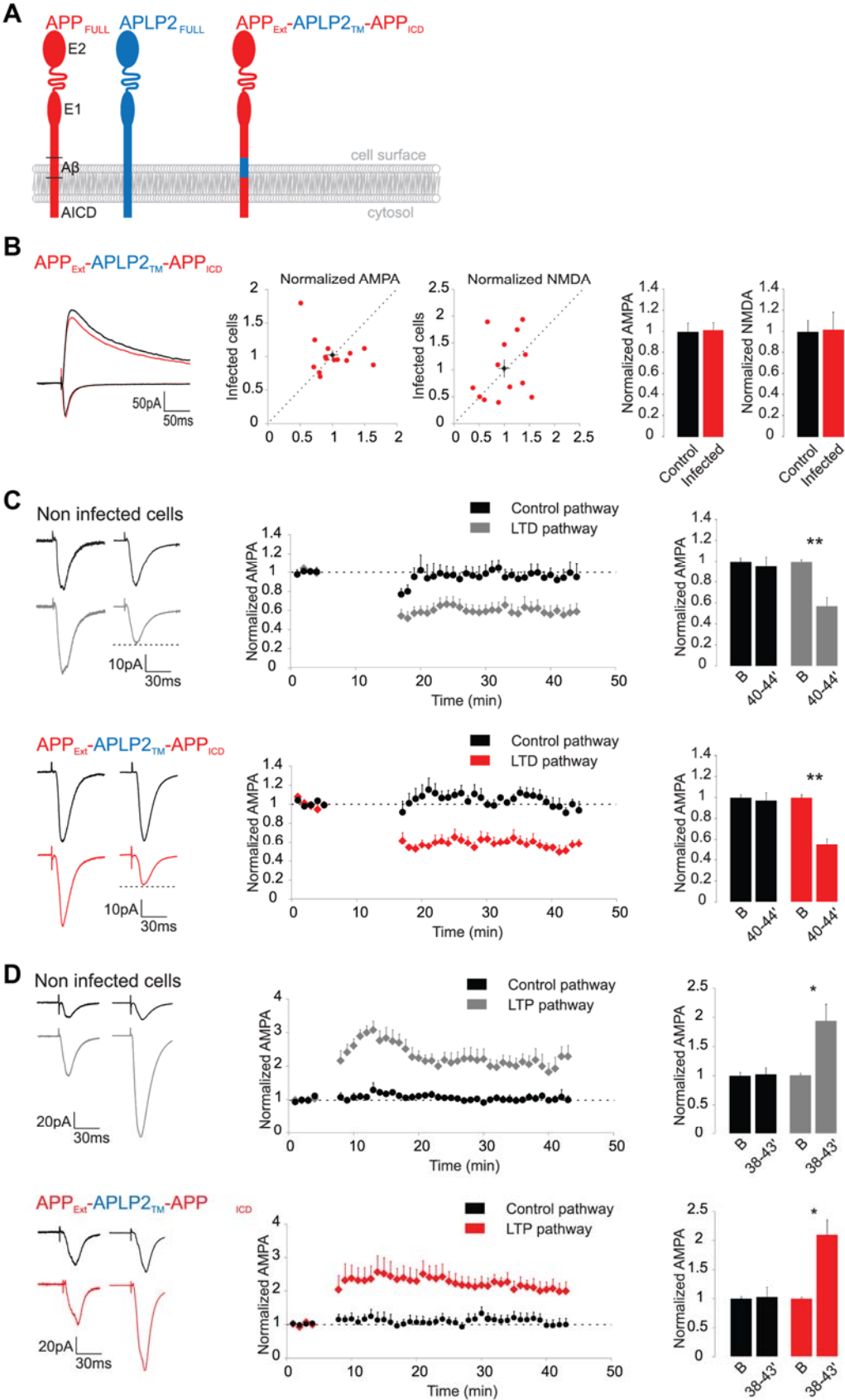
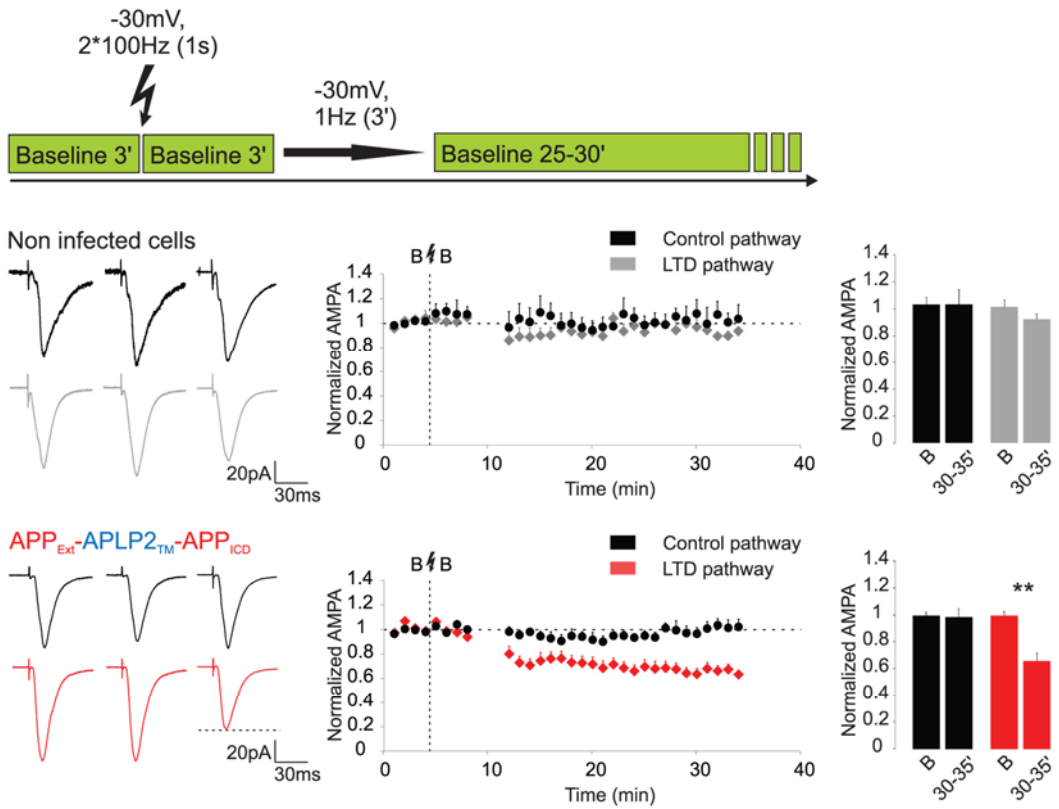


Figure 1. Expression of chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}) does not affect synaptic transmission, induction of LTP, LTD or LTD facilitation.

(A) Schematic drawing of full-length APP and APLP2 (APP_{Full} and APLP2_{Full}), as well as of the chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} construct). The sequence encoding A β in APP_{Full} is exchanged for the homologous sequence from APLP2_{Full} in order to create APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}. **(B)** APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} has no effect on synaptic transmission. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} expressing neurons versus non-infected control neurons (AMPA-R mediated responses n = 14; NMDA-R mediated responses n = 13). Left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; Middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. **(C)** Expression of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} has no effect on LTP induction. **Top:** LTP induction in non-infected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in gray) (n = 5). **Bottom:** Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 7). **(D)** Expression of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} has no effect on LTD induction. **Top:** LTD induction in non-infected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in gray) (n = 6). **Bottom:** Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 7). **(E)** Expression of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} does not facilitate LTD induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the subthreshold LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 8). For C-E: Left: sample traces of synaptic responses, before and after LTP, LTD or facilitated LTD induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTP, LTD or facilitated LTD induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline. *: p < 0.05. **: p < 0.01. Data are shown as mean; error bar = SEM.

A



B

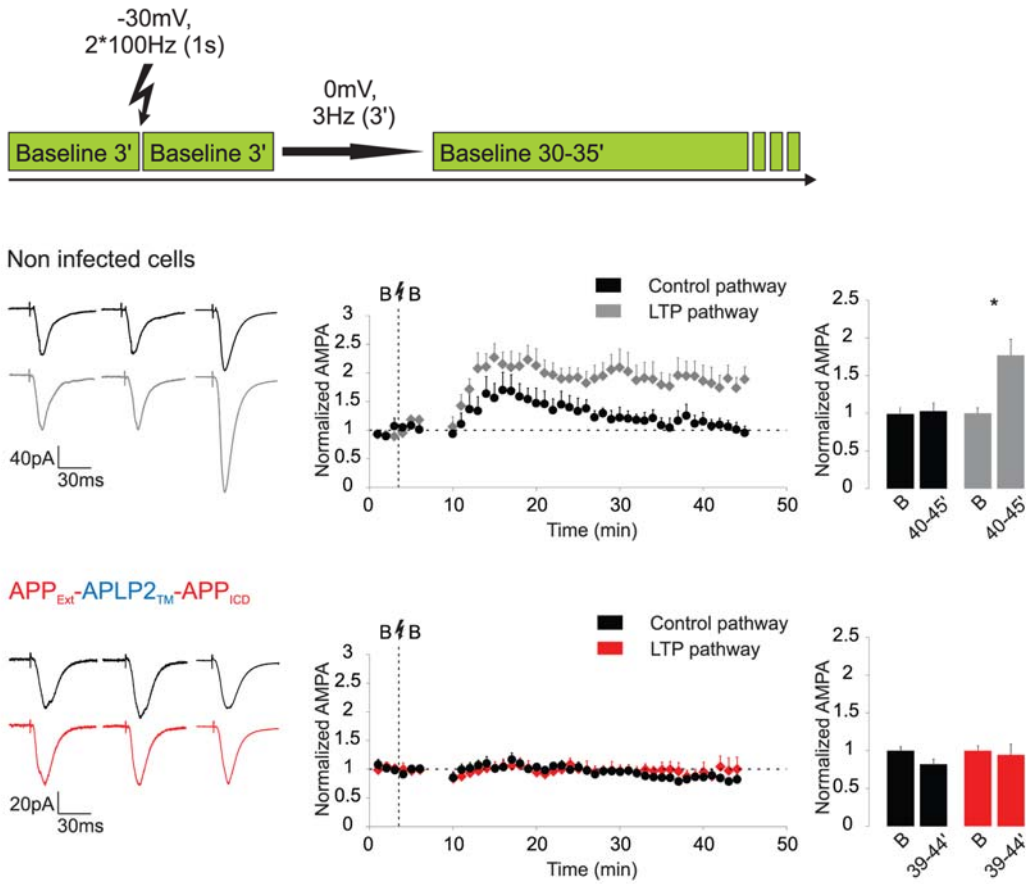


Figure 2. Expression of chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}) affects metaplasticity.

(A) Top: Protocol for the induction of facilitated LTD after synaptic priming (⚡). **Middle:** LTD induction is not facilitated in non-infected control neurons after synaptic priming. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in gray) (n = 7). **Bottom:** Expression of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} facilitates the induction of LTD after synaptic priming. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 9). **(B) Top:** Protocol for the induction of LTP after synaptic priming (⚡). **Middle:** Normal LTP induction in non-infected control neurons after synaptic priming. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in gray) (n = 6). **Bottom:** Expression of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} blocks the induction of LTP after synaptic priming. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 8). Left: sample traces of synaptic responses, before and after synaptic priming and after facilitated LTD or LTP induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and facilitated LTD or LTP induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline, before and after synaptic priming (⚡). *: p < 0.05. **: p < 0.01. Data are shown as mean; error bar = SEM.

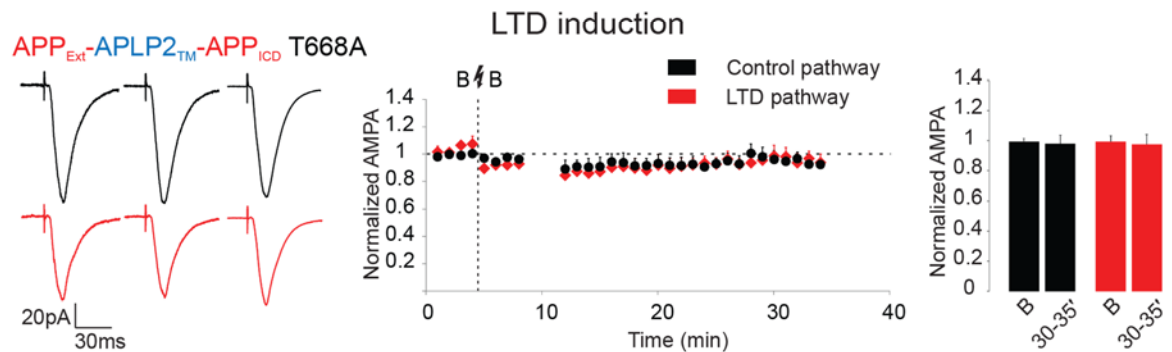
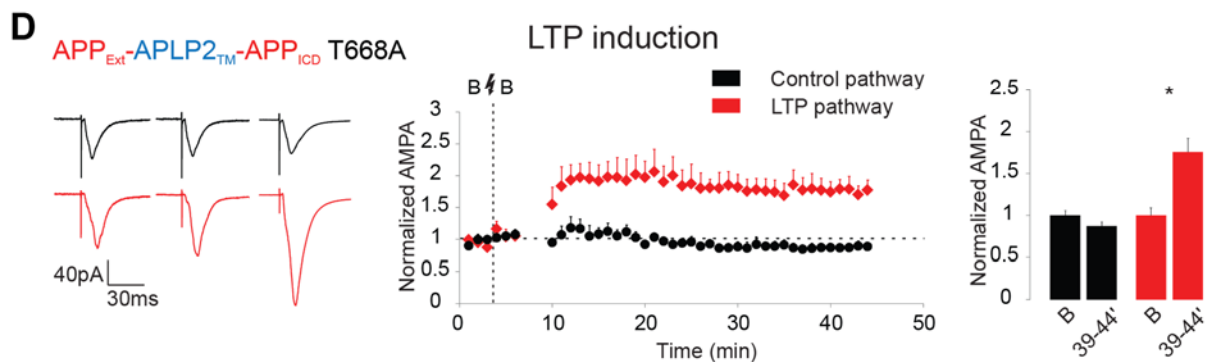
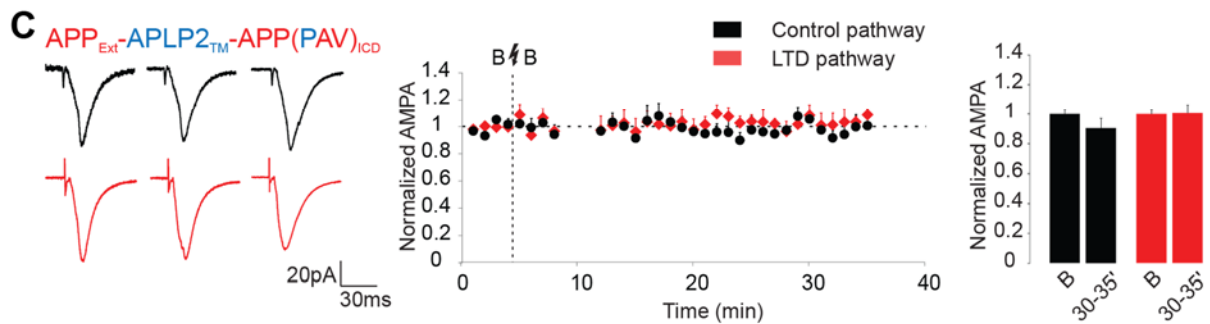
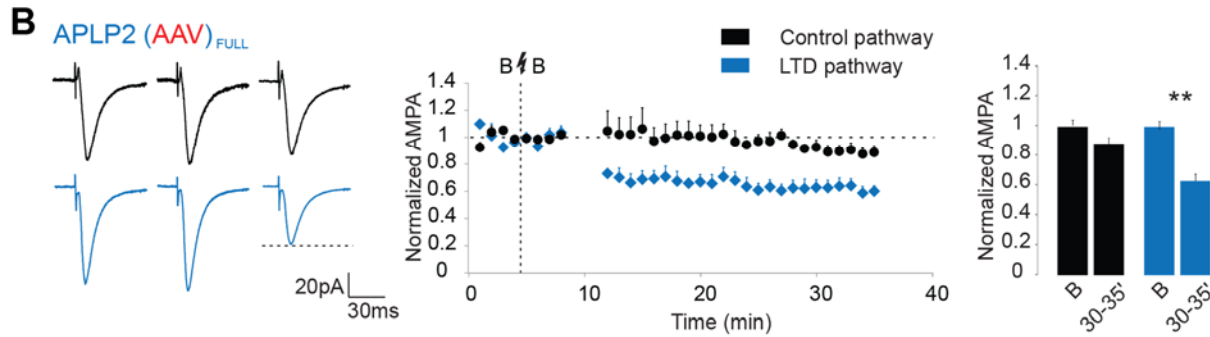
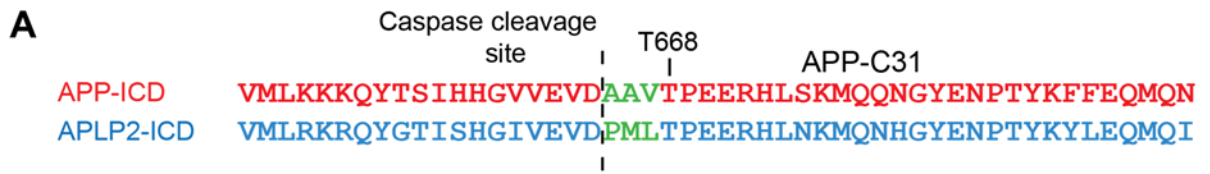


Figure 3. The APP intracellular domain is the effector for changes in metaplasticity.

(A) Amino acid sequence of the intracellular domains of APP and APLP2. Indicated are the common T668 phosphorylation site and the common caspase cleavage site, leading to the production of the APP-C31 fragment. In green the critical AAV motif of APP-ICD and the corresponding PML motif in APLP2. **(B)** Swapping the first alanine in the AAV motif of APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} with the proline of the PML motif of APLP2_{Full} (creating the APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(PAV)_{ICD} construct) prohibits the induction of LTD facilitation. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(PAV)_{ICD} (n = 5). **(C) Top:** APLP2 expression does not induce facilitation of LTD induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in blue) in neurons expressing APLP2_{Full} (n = 7). **Bottom:** Swapping the PML motif in APLP2_{Full} with the AAV motif from APP (creating the APLP2(AAV)_{Full} construct) is sufficient for the induction of LTD facilitation. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in blue) in neurons expressing APLP2(AAV)_{Full} (n = 8). **(D) Top:** Expression of T668 phosphorylation deficient chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(T668A)_{ICD} construct) does no longer block LTP induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTP pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(T668A)_{ICD} (n = 5). **Bottom:** Expression of T668 phosphorylation deficient chimeric APP (APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(T668A)_{ICD} construct) prohibits the induction of LTD facilitation. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(T668A)_{ICD} (n = 7). Left: sample traces of synaptic responses, before and after synaptic priming and after facilitated LTD or LTP induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and facilitated LTD or LTP induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline, before and after synaptic priming (⚡). *: p < 0.05. **: p < 0.01. Data are shown as mean; error bar = SEM.

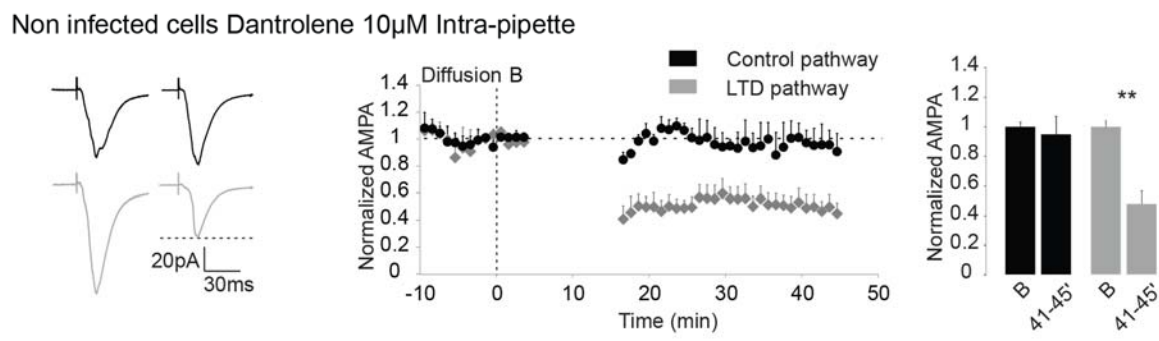
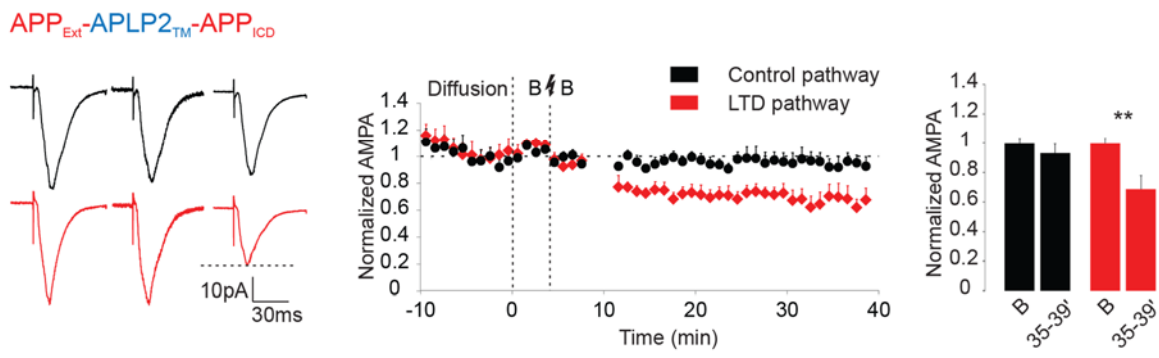
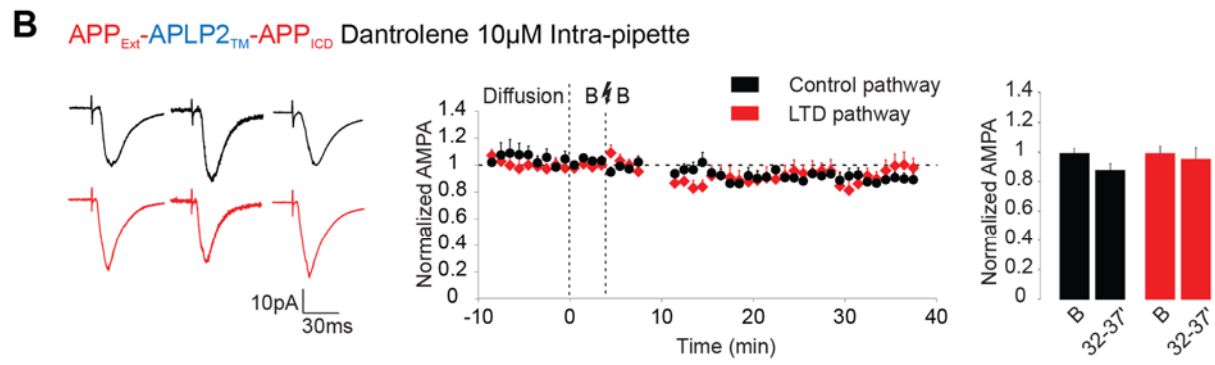
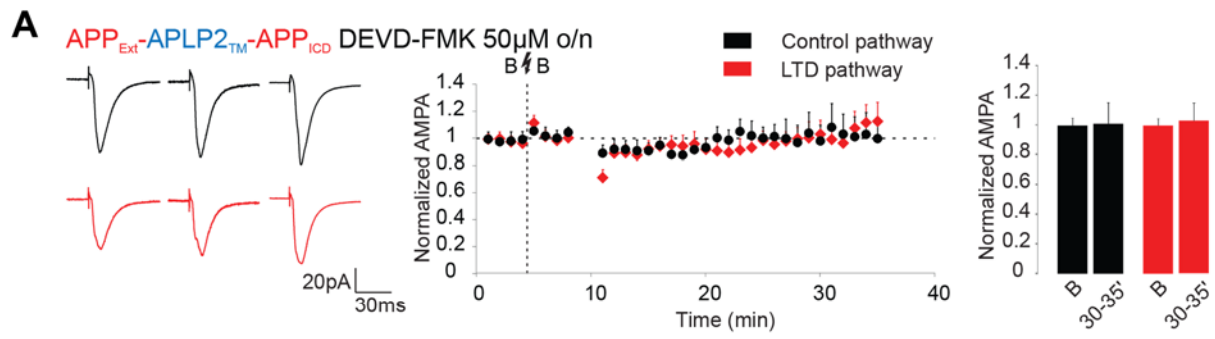
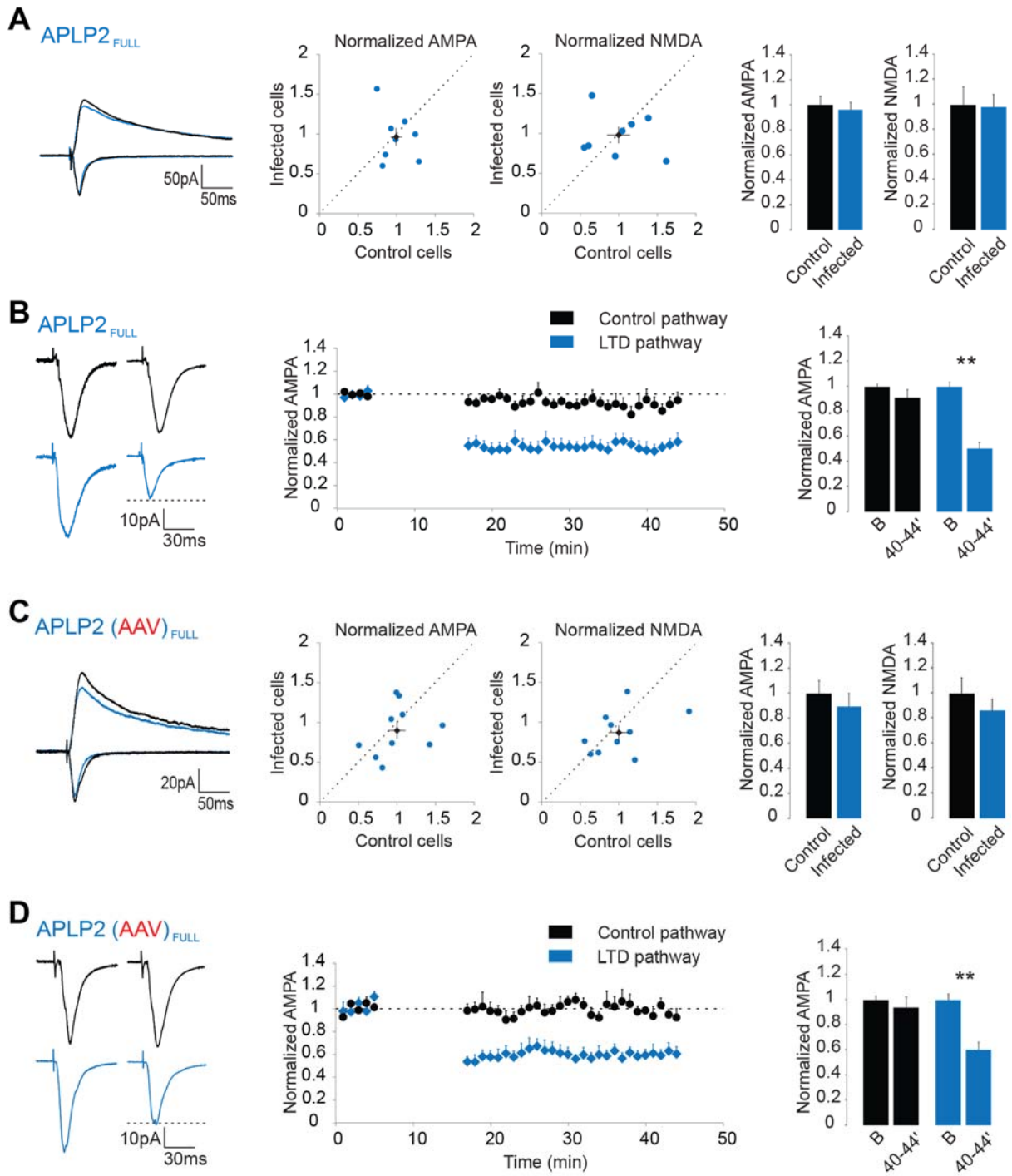


Figure 4. Activation of caspase and ryanodine receptors are necessary events in APP dependent changes of metaplasticity.

(A) The caspase inhibitor DEVD-FMK blocks APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} dependent facilitation of LTD. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} in presence of DEVD-FMK (50 μ M) (n = 7). **(B) Top:** Intracellular diffusion of the ryanodine receptor inhibitor Dantrolene (10 μ M) blocks APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} dependent facilitation of LTD. After obtaining whole cell patch clamp configuration, Dantrolene was allowed to diffuse for 10 min before baseline recording started. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 8). **Middle:** The diffusion protocol by itself does not affect APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} dependent induction of LTD facilitation. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in red) in neurons expressing APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (n = 7). **Bottom:** Dantrolene (10 μ M) diffusion does not affect normal LTD induction in non-infected control neurons. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in gray) (n = 5). Left: sample traces of synaptic responses, before and after synaptic priming and after LTD or facilitated LTD induction. Middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTD or facilitated LTD induced pathway. Right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline, before and after synaptic priming (⚡). **: p < 0.01. Data are shown as mean; error bar = SEM.



Supplemental Figure 1. Related to Figure 3. APLP2 and APLP2(AAV) do not affect synaptic transmission or normal LTD induction.

(A) APLP2_{Full} has no effect on synaptic transmission. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APLP2_{Full} expressing neurons versus non-infected control neurons (AMPA-R responses n = 8; NMDA-R responses n = 8). **(B)** Expression of APLP2_{Full} has no effect on LTD induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in blue) in neurons expressing APLP2_{Full} (n = 9). **(C)** Swapping the PML motif of APLP2_{Full} with the AAV motif of APP (creating the APLP2(AAV)_{Full} construct) has no effect on synaptic transmission. Normalized AMPA-R and NMDA-R responses of APLP2(AAV)_{Full} expressing neurons versus non-infected control neurons (AMPA-R responses n = 10; NMDA-R responses n = 10). **(D)** Expression of APLP2(AAV)_{Full} has no effect on LTD induction. Normalized synaptic responses in the control pathway (in black) and the LTD pathway (in blue) in neurons expressing APLP2(AAV)_{Full} (n = 6). For synaptic transmission (A+C): left: sample traces of AMPA-R and NMDA-R mediated synaptic responses; Middle: normalized AMPA-R and NMDA-R mediated responses of infected neurons plotted against control neurons; right: summary bar diagram of normalized responses. For LTD (B+D): left: sample traces of synaptic responses, before and after LTD induction. middle: normalized synaptic responses of control pathway and LTD induced pathway. right: summary bar diagram of normalized responses. B: baseline. **: p < 0.01.

VI DISCUSSION GÉNÉRALE

1 RAPPEL DE LA PROBLÉMATIQUE

Alors que l'amyloïde-bêta ($A\beta$) et la protéine tau sont traditionnellement associées au développement de la maladie d'Alzheimer, de récentes études suggèrent que le domaine intracellulaire (APP-ICD) du précurseur de la protéine amyloïde (APP), libéré après la protéolyse de ce dernier, pourrait aussi jouer un rôle. Nous avons donc testé l'implication de l'APP-ICD dans la modulation de la transmission et de la plasticité synaptique qui sous-tendent les processus d'apprentissage et de mémorisation.

Nous avons commencé par tester la régulation des mécanismes de transmission et de plasticité synaptique dans l'hippocampe par l'APP-ICD, mais aussi par son proche homologue, l'APLP2-ICD, considéré dans la littérature comme semblable tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Ensuite nous avons ciblé le domaine spécifique de l'APP-ICD responsable des modifications observées sur la fonction synaptique. Enfin, nous avons mis en évidence une partie du mécanisme par lequel l'APP-ICD module la plasticité synaptique en partant cette fois-ci des formes longues APP et APLP2 qui subissent la protéolyse dans les neurones avant de générer les APP-ICD et les APLP2-ICD.

2 L'APP-ICD AFFECTE LA FONCTION SYNAPTIQUE

2-1 Implication de l'APP-ICD dans la fonction synaptique

La protéolyse de l'APP par les sécrétases entraîne la libération du domaine extracellulaire, du peptide $A\beta$ ou du peptide P3, et du fragment APP-ICD. Plusieurs éléments ont amené à l'hypothèse que l'APP-ICD pourrait jouer un rôle majeur dans la régulation de la fonction synaptique. Tout d'abord, les niveaux d'APP-ICD sont augmentés dans les cerveaux des personnes décédées avec la maladie d'Alzheimer (Gervais et al., 1999; Lu et al., 2000). Ensuite, les souris transgéniques surexprimant l'APP-ICD montrent des déficits de mémoire avant la neurodégénérescence, indiquant que l'APP-ICD pourrait agir de façon précoce sur les mécanismes qui sous-tendent l'apprentissage (Ghosal et al., 2009).

Dans notre étude, nous avons testé les effets de la surexpression du fragment APP-ICD sur la transmission et la plasticité synaptique. Nos résultats indiquent que la surexpression du fragment APP-ICD entraîne une diminution de la transmission synaptique dépendante des récepteurs AMPA et NMDA, une augmentation et une facilitation de la LTD, ainsi qu'un blocage de la LTP.

2-2 Différence d'effet d'APP-ICD et d'APLP2-ICD sur la fonction synaptique

Le clivage par la γ -sécrétase des longues formes APLP2 et APLP1, deux paralogues de l'APP, permet aussi la libération des APLP2-ICD et APLP1-ICD respectivement (Scheinfeld et al., 2002). En raison de leur fort degré d'homologie de séquence, l'APP-ICD et l'APLP2-ICD ont longtemps été considérés comme semblables, tant au niveau de la structure qu'au niveau fonctionnel. Les interactions connues de l'APP-ICD ciblent essentiellement le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ (de l'APP⁶⁹⁵) ainsi que le site de phosphorylation Thr⁶⁶⁸. Ces sites sont parfaitement conservés chez l'APLP2-ICD et l'APLP1-ICD, ce qui a longtemps laissé penser que les trois types d'ICD pourraient partager les mêmes partenaires d'interaction, et donc exercer les mêmes effets dans notre organisme et en particulier dans notre cerveau. Récemment il a d'ailleurs été montré que l'APP-ICD et l'APLP2-ICD interagissent de la même façon avec de nombreux partenaires d'interaction (Tamayev et al., 2009).

Dans notre étude, nous avons testé les effets de la surexpression de l'APP-ICD ou de son homologue le plus proche, l'APLP2-ICD, sur la transmission et la plasticité synaptique. Nos résultats viennent pour la première fois montrer que l'APP-ICD et l'APLP2-ICD ne participent pas de la même façon à la régulation de la fonction synaptique. Nous montrons en effet que la surexpression de l'APP-ICD entraîne une diminution de la transmission synaptique, une augmentation de la LTD et un blocage de la LTP, et que ces effets ne sont pas reproduits avec la surexpression de l'APLP2-ICD. L'échange des domaines N-terminaux et C-terminaux entre les peptides APP-ICD et APLP2-ICD nous a permis de mettre en évidence que la première moitié de l'APP-ICD était responsable de la dépression de la transmission synaptique observée. Cela était étonnant car le domaine le plus étudié de l'APP-ICD est le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ qui se trouve dans son extrémité C-terminale et qui interagit avec la majorité des partenaires

protéiques de l'ICD. Cependant une étude récente vient de montrer que les souris transgéniques APP-CTΔ15, qui expriment l'APP sans les quinze derniers acides aminés (excluant donc le domaine YENPTY), présentent des problèmes développementaux, une dérégulation de la plasticité synaptique à la jonction neuromusculaire et dans l'hippocampe, et des déficits comportementaux liés à un dysfonctionnement de l'hippocampe (Klevanski et al., 2015). Ce résultat indique que l'APP-ICD est important pour la formation, la maturation et le fonctionnement de la synapse, et qu'en l'éliminant, des dysfonctionnements de la fonction synaptique sont constatés.

La comparaison et l'échange d'acides aminés entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD nous a permis de mettre en évidence que la différence d'une seule alanine entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD est responsable de la dépression de la transmission synaptique, du blocage de la LTP et de l'augmentation de la LTD observés lors de la surexpression de l'APP-ICD. L'APLP2-ICD présente à la place de cette alanine une proline. En permutant l'alanine et la proline entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD, les effets sur la transmission synaptique, la LTP et la facilitation de la LTD sont échangés.

Il est maintenant nécessaire de comprendre en quoi ce changement d'acides aminés entraîne une différence d'effets entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD sur la fonction synaptique. L'alanine est un acide aminé neutre et son radical se réduit à un méthyle, ce qui fait de lui un acide aminé à géométrie relativement simple par rapport à la proline. La proline est constituée d'un noyau pyrrole, dont les trois carbones sont déjà saturés. Cette structure cyclique qu'a la proline, lui confère une rigidité exceptionnelle en comparaison aux autres acides aminés et entraîne l'insertion d'un coude dans la chaîne peptidique, amenant à la modification de la structure secondaire et donc à la modification de la conformation de la protéine. Nous ne savons pas pour le moment si ce changement d'acide aminé entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD pourrait entraîner des changements conformationnels et ainsi affecter leurs interactions avec des partenaires protéiques.

2-3 Le clivage de L'APP-ICD par les caspases est indispensable pour observer ses effets sur la fonction synaptique

L'APP-ICD ainsi que l'APLP2-ICD présentent juste en amont des alanine et proline mentionnées précédemment le motif V⁶⁶¹EVD⁶⁶⁴, qui est un site reconnu et clivé par des caspases (Gervais et al., 1999; Galvan et al., 2002). Lorsque l'APP-ICD et l'APLP2-ICD sont clivés à cet endroit par les caspases, ils permettent la génération des APP-C31 et APLP2-C31 respectivement. L'APP-C31 peut aussi être obtenu à partir du clivage par les caspases de l'APP entier, de l'APP-C83 (contenant la séquence du peptide P3 et celle de l'APP-ICD) ou de l'APP-C99 (contenant la séquence de l'A β et celle de l'APP-ICD). Une étude a déjà montré que l'APP-C31 généré serait responsable des propriétés cytotoxiques de l'APP-C99 dans leur totalité, et participerait de cette façon à la neurodégénérescence observée dans la maladie d'Alzheimer (Lu et al., 2000). Cependant, des résultats contradictoires concernant l'influence de l'APP-C31 sur la régulation de la fonction synaptique sont constatés. Certains ont montré que des souris transgéniques modèles de la maladie d'Alzheimer et porteuses de la mutation de l'Asp⁶⁶⁴ dans l'APP ne présentent plus de perte synaptique, ni d'atrophie, ni d'astrogliose, ni de comportements anormaux, et ce sans aucune modification des niveaux de l'A β ni de la formation de plaques (Galvan et al., 2006; Saganich et al., 2006). À cette date, une seule étude a montré des résultats inverses, révélant que les modifications observées dans la maladie d'Alzheimer telles que l'altération de l'apprentissage spatial et non spatial, mais aussi de la fonction synaptique, seraient indépendantes du clivage de l'APP par les caspases et indépendantes de la formation de l'APP-C31 (Harris et al., 2010). Il se pourrait cependant que cette différence d'effets soit due à l'utilisation de lignées de souris contrôles avec différents niveaux d'expression de l'APP (Bredesen et al., 2010).

Notre étude a montré, en accord avec Galvan et al. en 2006 et Saganich et al. en 2006, que l'effet de l'APP-ICD sur la transmission synaptique est dépendant de son clivage par des caspases au niveau motif V⁶⁶¹EVD⁶⁶⁴. L'inhibition de l'action des caspases avec le DEVD-FMK, ou la mutation du site de reconnaissance par les caspases sur l'APP-ICD, l'Asp⁶⁶⁴, a permis d'abolir la dépression de la transmission synaptique observée avec l'APP-ICD. Ce résultat va de pair avec celui montrant que l'effet de l'APP-ICD est aussi aboli en présence de

l'AP5, un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA. Il a en effet été montré que leur activation permettrait aussi celle des caspases (Tenneti and Lipton, 2000).

Nous avons cependant relevé quelques similarités avec l'étude de Harris et al. en 2010, lorsque nous avons testé la forme entière de l'APP sur la fonction synaptique. Nous avons en effet souhaité déterminer si le clivage endogène de l'APP entier par les sécrétases pourrait amener aux mêmes résultats que ceux obtenus avec l'APP-ICD, c'est-à-dire un blocage de la LTP et une facilitation de la LTD. Les effets observés avec l'APP-ICD, mais pas avec l'APLP2-ICD, ainsi qu'avec leurs formes mutées respectives, résultent d'une surexpression surpassant toutes les étapes nécessaires pour leur production endogène à partir de leur précurseur : leur expression, leur transit du réticulum endoplasmique à l'appareil de Golgi, leur arrivée et leur ancrage à la membrane plasmique, ainsi que leur clivage par les caspases. Il nous a paru indispensable de reproduire nos résultats à partir des formes entières d'APP et d'APLP2, qui subissent dans le neurone les clivages des sécrétases et des caspases. Nous avons pour cela créé un nouveau précurseur, l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}, dont la séquence codante pour l'amyloïde-bêta (A β) a été remplacée par celle correspondante de l'APLP2 qui ne contient pas l'A β , ce dernier étant déjà connu pour avoir un effet sur la fonction synaptique (Hsieh et al., 2006; Tamburri et al., 2013). Contrairement à l'APP-ICD, nous n'avons pas observé d'effet de l'APP-APLP2-APP sur la transmission synaptique, ni sur la LTP ou la LTD. Ce résultat concernant la LTP ressemble à celui obtenu par Harris et al. en 2010, étant donné que cette étude montrait que les souris transgéniques et modèles de la maladie d'Alzheimer, hAPP-B254 et hAPP-J20, porteuses des mutations suédoises et indiennes respectivement, avaient une induction normale de la LTP dans les neurones du CA1. Cependant, nous avons montré précédemment que les effets de l'APP-ICD dépendaient de l'activation des récepteurs NMDA et de l'activation par les caspases, nous avons alors renouvelé ces expériences en activant au préalable ces dernières par une double stimulation de 100Hz des fibres présynaptiques, alors que le neurone postsynaptique est maintenu à -30mV. De cette façon nous avons observé un blocage de la LTP avec l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}, mais aussi une facilitation de la LTD avec l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} et l'APLP2(AAV), mais pas avec l'APLP2 ni avec l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP(PAV)_{ICD}. Nous montrons donc que l'APP entier, dépourvu de la séquence codant pour

l'A β , est capable de reproduire les effets de l'APP-ICD seulement lorsque le clivage par les caspases est stimulé.

Enfin nous montrons à la fin de notre premier article que l'injection directe du peptide APP-C31 à l'intérieur du neurone lors de son enregistrement suffit à entraîner une dérégulation de la fonction synaptique en induisant une facilitation de la LTD (3 minutes d'induction à 1Hz au lieu des 13 minutes nécessaires à l'obtention de la LTD). Cela montre que l'APP-C31 est capable d'entraîner les mêmes effets que l'APP-ICD sur la LTD. Il nous est cependant impossible de tester si le peptide APP-C31 aurait un effet similaire à l'APP-ICD sur l'induction de la LTP, puisqu'un minimum de 10 minutes est requis pour permettre la diffusion du peptide à l'intérieur du neurone enregistré. L'induction de la LTP doit se faire dans les premières cinq minutes après l'obtention de la configuration « cellule entière », en raison de la dilution avec le liquide intra-pipette des composants moléculaires nécessaires à la LTP.

Pour appuyer le fait que le clivage par les caspases et la génération du peptide APP-C31 pourrait être un facteur clé dans le développement précoce de la maladie d'Alzheimer, il a déjà été montré que l'activité des caspases est significativement augmentée dans le cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (Zhao et al., 2003). Cette augmentation serait d'un facteur quatre dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer en comparaison avec des cerveaux contrôles du même âge, et principalement dans le cortex et dans l'hippocampe (Banwait et al., 2008). Il a aussi été montré que l'APP-C31 ne serait détectable que dans le cerveau de personnes décédées et atteintes de la maladie d'Alzheimer, mais non détectable chez les personnes non atteintes (Lu et al., 2000), à la différence de l'A β qui est présent dans les deux cas (Arriagada et al., 1992) mais dont la quantité est augmentée dans la maladie d'Alzheimer. Cela indique que le clivage de l'APP par les caspases est davantage un marqueur de la maladie d'Alzheimer que la présence de l'A β . Nos résultats ont par ailleurs montré que la LTD n'a pas pu être facilitée dans les neurones contrôles ne surexprimant pas l'APP, et ne surexprimant donc pas l'APP-ICD. Cela qui signifie que l'activation des caspases seule (grâce à l'activation des récepteurs NMDA par la double stimulation de 100Hz des fibres présynaptiques) est insuffisante pour

entraîner la dérégulation de la plasticité synaptique, et qu'une hausse des niveaux de l'APP ou de l'APP-ICD dans le cerveau est aussi nécessaire pour observer un effet.

2-4 Similarités entre les effets de l'ICD et ceux de l'A β

L'A β et l'APP-ICD sont chacun capable d'induire des changements similaires dans la fonction synaptique. En effet, les changements que nous avons observés avec la surexpression de l'APP-ICD dans les tranches organotypiques de rats nouveau-nés rejoignent ceux observés par d'autres avec l'A β extracellulaire, qui entraîne aussi une augmentation de la LTD, un blocage de la LTP et la dépression de la transmission synaptique (Hsieh et al., 2006). L'hypothèse a alors été émise selon laquelle l'APP-ICD pourrait être l'effecteur intracellulaire de l'A β .

L'APP-ICD pourrait amplifier l'impact que peut avoir l'A β sur le neurone. En effet, l'APP-ICD est généré tant dans la voie amyloïdogénique que dans la voie non-amyloïdogénique lors de la protéolyse de l'APP, soit 100% de la protéolyse de l'APP. Cela indique que sa production est bien plus importante que celle de l'A β qui n'est généré que dans la voie amyloïdogénique ; celle-ci ne représente que 5 à 10% du clivage de l'APP. Cela suggère que l'APP-ICD pourrait agir par l'amplification du signal de l'A β extracellulaire du côté intracellulaire, mais aussi qu'il pourrait jouer un rôle en dehors de la maladie d'Alzheimer, comme pour la régulation normale de la plasticité synaptique et de la métaplasticité.

L'APP-ICD pourrait amplifier du signal de l'A β extracellulaire du côté intracellulaire grâce aux récepteurs NMDA. L'A β agit directement ou indirectement via les récepteurs NMDA, et ces derniers sont nécessaires à son action sur la transmission et sur la plasticité synaptique : la diminution de la transmission synaptique par l'A β est dépendante des récepteurs AMPA et NMDA (Kamenetz et al., 2003). Elle entraîne une réduction de leur nombre à la surface (Snyder et al., 2005) ainsi que la réduction de la densité des épines dendritiques (Shrestha et al., 2006). L'application de l'A β sur les tranches d'hippocampe en culture entraîne une augmentation de la LTD, et son action passe par l'activation de la caspase 3 (Lu et al., 2003; Park et al., 2009). Nos résultats ont montré que la caspase 3, mais aussi les récepteurs NMDA, sont indispensables

pour observer l'effet de l'APP-ICD sur la transmission synaptique, et cet effet est aboli en présence de l'inhibiteur de caspases, le DEVD-FMK, ou de AP5 qui est un inhibiteur des récepteurs NMDA. De ce fait il n'est pas impossible que l'APP-ICD soit l'effecteur intracellulaire de l'A β extracellulaire puisque les deux font intervenir les mêmes intermédiaires pour exercer leur action sur la fonction synaptique.

Plusieurs expériences ont été faites par le passé afin de distinguer l'implication de l'A β de celle de l'APP-ICD. Par exemple en 2003, lorsque la surexpression du β -CTF (ou APP-C99) dans les neurones du CA1 de l'hippocampe entraîne une dépression de la transmission synaptique alors qu'en présence de l'inhibiteur de la γ -sécrétase, le L-685,458, cette dépression est abolie (Kamenetz et al., 2003). Il faut considérer que l'absence du clivage par la γ -sécrétase empêche à la fois la libération de l'A β du côté extracellulaire et de l'APP-ICD du côté intracellulaire, et cela explique alors l'abolition des effets du β -CTF sur la transmission synaptique puisqu'aucun des deux peptides ne peut exercer son effet. En revanche l'inhibition de la γ -sécrétase n'empêche peut-être pas qu'un clivage subséquent par les caspases ait lieu. Cependant, comme nous l'avons montré avec l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}, il est possible qu'il faille activer les caspases en amont pour observer un effet, car l'APP-C99 est ancré à la membrane comme l'est l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}, et devrait donc nécessiter un recrutement des caspases au niveau de la membrane synaptique. Dans cette étude de Kamenetz et al. en 2003, il n'est pas impossible que la dépression synaptique observée avec le β -CTF soit due à l'A β , puisque l'APP-C31 pourrait ne pas être suffisamment généré en raison du manque de caspases recrutées au niveau de la membrane.

En 2006, une seconde étude utilise l'APP(MV) dans lequel le site de clivage par la β -sécrétase est muté pour bloquer la production de l'A β dans les neurones du CA1 de l'hippocampe (Citron et al., 1994; Hsieh et al., 2006). De cette façon, toute différence d'effet sur la transmission ou la plasticité synaptique entre l'APP(MV) et l'APP est attribuable à l'A β . Il avait été montré que l'APP(MV) entraînait de la dépression synaptique, à la différence de l'APP qui n'en produit pas (Kamenetz et al., 2003). L'étude de Hsieh et al. en 2006 a donc par la suite utilisé le β -CTF intact en considérant que l'effet observé proviendrait de l'A β , mais pas

de l'APP-ICD. Cependant, il n'est pas clair à ce jour si les caspases pourraient cliver le site Asp⁶⁶⁴ indépendamment des clivages par les β -sécrétases et γ -sécrétases. Il se pourrait alors que les résultats obtenus par Hsieh et al. en 2006, parmi lesquels la dépression de la transmission synaptique avec cet APP-C99, puissent toujours dépendre du peptide APP-C31 puisque l'A β lui-même peut activer sa production en recrutant et activant les caspases à la membrane (Lu et al., 2003; Park et al., 2009).

Des études complémentaires seront nécessaires pour déterminer les liens entre l'APP-ICD et l'A β , en déterminant par exemple si l'un peut se substituer à l'autre ou si leurs actions sont complémentaires ; par exemple en diffusant l'A β sur la tranche organotypique d'hippocampe et en bloquant l'action du peptide APP-C31 endogène dans le neurone enregistré en diffusant le bloqueur de caspases, le DEVD-FMK, en plus de la surexpression de l'APP-ICD. Cette expérience devrait déterminer si l'A β conserve toujours son effet sur la fonction synaptique en l'absence de l'APP-C31. De la même façon, l'A β pourrait être diffusé lors de la surexpression de l'APP-ICD dont le site Asp⁶⁶⁴ serait muté pour une alanine afin d'empêcher son clivage par les caspases et la génération de l'APP-C31.

3 MÉCANISME PAR LEQUEL L'APP-ICD MODIFIE LA FONCTION SYNAPTIQUE DANS L'HIPPOCAMPE

3-1 L'APP entraîne de la métaplasticité

La métaplasticité consiste en la modulation de la plasticité synaptique (Abraham and Bear, 1996). La métaplasticité est la modification des paramètres d'induction de certains types de plasticité synaptique, comme la LTP ou la LTD, à la suite d'un évènement précurseur dans le neurone. Cet évènement précurseur peut être une activation de nature électrique, pharmacologique ou hormonale de l'activité neuronale (Abraham, 2008). Le modèle Bienenstock, Cooper et Munro (BCM) représente les changements dans l'induction de la LTD et de la LTP qui peuvent avoir lieu dans le cerveau et qui sont dus à de la métaplasticité (Bienenstock et al., 1982).

Dans notre étude, nous montrons que l'induction de la plasticité synaptique par l'APP-APLP2-APP est modifiée suite à la double stimulation électrique de 100Hz des fibres présynaptiques, lorsque le neurone postsynaptique est maintenu à -30mV. Ce protocole n'affecte cependant pas la transmission synaptique de base. Cette stimulation permet une importante activation des récepteurs NMDA, dont l'activité entraîne l'activation de caspases (Tenneti and Lipton, 2000). Ces caspases permettent la libération du peptide APP-C31, qui d'après nos résultats facilite l'induction de la LTD (3 minutes d'induction à 1Hz au lieu des 13 minutes nécessaires à l'obtention de la LTD). Nous montrons aussi que la surexpression de l'APP-ICD est capable de faciliter l'induction de la LTD, d'augmenter son expression, et de bloquer celle de la LTP. Nos résultats montrent donc que l'APP-ICD est capable d'entraîner un changement des paramètres d'inductions de la plasticité synaptique, et donc relatif à de la métaplasticité.

3-2 La métaplasticité induite par l'APP-ICD pourrait dépendre de la libération de calcium par les réserves intracellulaires

Les niveaux de calcium cytosolique sont augmentés dans la maladie d'Alzheimer (Mattson et al., 2000). Mais aussi, la variation de la concentration de calcium libre dans le neurone postsynaptique ou l'activité de la CaMKII sont deux marqueurs biologiques de la métaplasticité (Yeung et al., 2004).

Il est intéressant de constater que là encore, l'APP-ICD pourrait se comporter de façon similaire à l'A β qui agit déjà indirectement sur les réserves de calcium intracellulaire. Il est par exemple connu que l'A β a la capacité de changer l'homéostasie du calcium en agissant à la fois sur les récepteurs NMDA et sur le réticulum endoplasmique, et d'augmenter la vulnérabilité du neurone à l'excitotoxicité (Mattson et al., 1992). Là encore, l'APP-ICD pourrait être le médiateur intracellulaire de l'A β extracellulaire.

Il a déjà été montré que l'APP-ICD est capable de restaurer un déficit en calcium entraîné par un KO de l'APP dans des fibroblastes, et ce en agissant sur les récepteurs à l'IP3 du réticulum endoplasmique (Leissring et al., 2002). Cette étude montre aussi que toute autre

construction de l'APP qui ne contient pas l'APP-ICD ne permet pas de restaurer ce déficit en calcium. Aussi, antérieurement à nos travaux sur l'implication de l'APP-ICD dans la régulation de la fonction synaptique, la libération de calcium par les réserves intracellulaires avait été quantifiée suite à la surexpression des différents ICD des APP, APLP1 et APLP2 dans des fibroblastes (Boehm, données non publiées). Ces résultats avaient montré que suite à une stimulation par la bradykinine, qui stimule la libération de calcium intracellulaire, il était observé une augmentation de cette libération de calcium lors de la surexpression de l'APP-ICD, alors que les expériences conduites en parallèle avec les APLP2-ICD et APLP1-ICD n'avaient pas produit ce même résultat. Ces résultats obtenus dans des fibroblastes montrent que l'APP-ICD, mais pas l'APLP2-ICD, pourrait contrôler directement ou indirectement la sortie de calcium du réticulum endoplasmique pour entraîner de la métaplasticité dans le neurone.

Comme dit précédemment, l'obtention d'une LTD ou d'une LTP suite à la stimulation de fibres présynaptiques et à l'activation du neurone postsynaptique dépend de l'intensité de l'élévation calcique dans le neurone postsynaptique (Figure 11B) (Cummings et al., 1996; Lisman, 2001). Le changement de la quantité de calcium dans le neurone postsynaptique pourrait donc permettre le changement des paramètres de ces inductions. Le calcium intracellulaire est libéré grâce aux RyRs et IP3Rs situés en surface du réticulum endoplasmique. En modulant l'activité de ces récepteurs, grâce à des inhibiteurs, il pourrait être possible de moduler la plasticité synaptique.

Déjà il avait été montré que les souris déficientes en RyR3s n'induisent pas la LTD, mais ont une facilitation de la LTP dans l'hippocampe (Futatsugi et al., 1999). Le dantrolène est un bloqueur des récepteurs RyRs qui empêche en partie la libération de calcium par le réticulum endoplasmique (Krause et al., 2004). Il avait été montré que le dantrolène inhibait la LTD et augmentait la LTP dans le CA1 de l'hippocampe (O'Mara et al., 1995). Ces résultats permettent d'émettre l'hypothèse qu'une augmentation de libération du calcium par le réticulum endoplasmique, contrairement à l'influx de calcium par les récepteurs NMDA, pourrait avoir l'effet inverse et supprimer la LTP. Concernant les IP3R, qui participent aussi à la libération de

calcium intracellulaire en plus des RyRs, les souris déficientes en IP3Rs montrent aussi une augmentation de la LTP (Fujii et al., 2000).

Nous avons ciblé principalement les RyRs car ils sont majoritaires dans les épines dendritiques de l'hippocampe, à la différence des IP3Rs davantage présents dans les dendrites (Sharp et al., 1993). Aussi, l'expression des RyRs est augmentée chez les souris transgéniques 3xTg-AD, modèles de la maladie d'Alzheimer, qui surexpriment l'APP entier, la protéine tau et la préséniline 1 mutée (Stutzmann et al., 2006). Plus spécifiquement, la forme RyR2 serait davantage exprimée aux stades modérés de la maladie d'Alzheimer, et la forme RyR3 le serait aux stades tardifs de la maladie (Bruno et al., 2012). Par ailleurs, l'A β 42 extracellulaire pourrait entraîner cette augmentation de l'expression de la forme RyR3 (Supnet et al., 2006). À l'inverse de O'Mara et al. en 1995, nous avons montré que le dantrolène ne bloque pas l'induction de la LTD. L'explication pourrait provenir d'une différence dans le protocole expérimental puisque nous diffusons le dantrolène exclusivement dans le neurone postsynaptique alors que O'Mara et al. en 1995 le diffusait dans le bain, affectant les neurones pré et postsynaptiques en même temps. Or il a déjà été montré que la LTD dépendrait surtout des RyRs présynaptiques et non postsynaptiques (Reyes and Stanton, 1996; Unni et al., 2004), ce qui pourrait expliquer la raison pour laquelle nous ne bloquons pas la LTD dans notre expérience. En revanche, nous sommes parvenus à abolir la facilitation de la LTD par l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} avec le dantrolène, ce qui indique que l'APP-ICD pourrait entraîner de la métaplasticité en agissant sur la libération de calcium par le réticulum endoplasmique. Une étude complémentaire visant spécifiquement les IP3Rs serait toutefois intéressante.

3-3 La Thr⁶⁶⁸ aurait sa part d'implication pour l'effet d'APP-ICD sur la fonction synaptique

Le temps de demi-vie de l'ICD est extrêmement court car il est rapidement dégradé par le protéasome et par l'enzyme de dégradation de l'insuline (Farris et al., 2003; Gersbacher et al., 2013). Son association avec d'autres protéines permet de retarder sa dégradation et lui permet d'exercer une fonction dans la cellule. Une partie de l'APP-ICD se lie avec le facteur de transcription Fe65 et se rend vers le compartiment nucléaire afin d'agir sur la transcription (Goodger et al., 2009). Le restant d'APP-ICD, situé au niveau de la synapse, pourrait être la

part d'APP-ICD qui intervient dans la régulation de la fonction synaptique tel que défendu dans notre étude. La différence d'effet de l'APP-ICD et de l'APLP2-ICD sur la fonction synaptique suggère qu'ils pourraient interagir différemment avec d'autres protéines.

Le peptide APP-C31, généré par le clivage par les caspases au site V⁶⁶¹EVD⁶⁶⁴, présente l'alanine comme premier acide aminé à son extrémité N-terminale, alors que l'APLP2-C31 présente la proline à cette même extrémité. Le clivage par les caspases au site Asp⁶⁶⁴ de l'APP est semblable au clivage au site équivalent dans l'APLP2, écartant ainsi la possibilité d'une différence de production des peptides APP-C31 et APLP2-C31 (Galvan et al., 2002). Aussi, la différence d'effet entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD sur la fonction synaptique ne peut provenir d'une différence d'efficacité dans le clivage de ces derniers puisque nous n'avons pas observé de moindre effet avec l'APLP2-ICD, mais plutôt une absence totale d'effet. En revanche, la localisation de l'alanine ou de la proline à l'extrémité des APP-C31 et APLP2-C31 nous permet de penser qu'elles pourraient participer différemment à l'interaction avec d'autres partenaires protéiques.

À l'extrémité N-terminale, le site d'interaction protéique le plus proche de l'alanine critique sur l'APP-C31 est la Thr⁶⁶⁸, qui est présente aussi en aval de la proline dans l'APLP2-C31. La phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ est augmentée dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer (Shin et al., 2007). La Thr⁶⁶⁸ est phosphorylable par la GSK3 β , par les kinases JNK, ou bien par la protéine kinase CDC2 (Aplin et al., 1996). En fonction de son état de phosphorylation, la Thr⁶⁶⁸ interagit avec les protéines 14-3-3 γ , Pin1 et FKBP12 (protéine de liaison au FK506) (Tamayev et al., 2009). La phosphorylation par la GSK3 β est de même ampleur sur les APP-ICD et APLP2-ICD, suggérant que l'affinité des protéines d'interaction pour ce site devrait être la même pour les deux peptides ; à moins que la proline, capable d'entraîner des changements conformationnels, puisse en modifier l'accès.

Notre étude s'est intéressée à l'implication de la Thr⁶⁶⁸ dans les effets de l'APP-ICD sur la plasticité synaptique. Alors que l'APP_{EXT}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} entraîne un blocage de la LTP et une facilitation de la LTD suite à l'activation de caspases, la mutation de la Thr⁶⁶⁸ pour une

alanine non phosphorylable abolit ces effets : la mutation T668A a permis de restaurer cette LTP et d'empêcher la facilitation de la LTD avec l'utilisation des mêmes protocoles d'induction et d'activation de caspases. Ces résultats vont de pair avec une autre étude de 2013, qui utilise les souris transgéniques FDD_{KI}, modèles de la démence danoise familiale (Lombino et al., 2013). Ces souris présentent des déficits de mémoire et une altération de la plasticité synaptique attribués à l'APP-C99. Le couplage de ces souris FDD_{KI} avec les souris APP^{TA} porteuses de la mutation T668A permet l'obtention des souris FDD_{KI}/APP^{TA}. L'étude montre que les souris FDD_{KI}/APP^{TA} n'ont plus de déficit de mémoire, et ont aussi une restauration de la LTP. Ces résultats, ainsi que les nôtres, indiquent que la Thr⁶⁶⁸ est indispensable à l'effet de l'APP-ICD sur la fonction synaptique.

3-4 Partenaires potentiels de l'APP-ICD en relation avec la Thr668

Une étude de 2009 portant sur l'interactome de la Thr⁶⁶⁸ des APP-ICD et APLP2-ICD a révélé que les partenaires d'interaction avec l'APP-ICD sont changés en fonction du degré de phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ (Tamayev et al., 2009). L'étude confirme d'autres résultats d'Ando et al. en 2001 montrant que la phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ diminue la liaison de Fe65 à l'APP-ICD (Ando et al., 2001). En fait c'est la liaison de 14-3-3 γ (capable de lier Fe65) à la Thr⁶⁶⁸ qui est diminuée lorsque cette dernière est phosphorylée, et cela entraîne une diminution de la liaison entre Fe65 et la Tyr⁶⁸² du domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ de l'APP-ICD, empêchant alors la redirection de ce dernier vers le noyau (Sumioka et al., 2005). L'étude de Tamayev et al. en 2009 confirme aussi que la phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ augmente sa propre liaison avec Pin1 (Pastorino et al., 2006) et avec FKBP12 (Liu et al., 2014). Pin1 et FKBP12 sont deux protéines de la famille des peptidyl propyl cis-trans isomerase (PPIase).

Il apparaît donc que la phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸ - qui est augmentée dans la maladie d'Alzheimer (Shin et al., 2007) - devrait d'une part faciliter sa propre interaction avec FKBP12 et Pin1, et d'autre part diminuer l'interaction de la protéine Fe65 avec le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷.

3-4-1 Interaction de FKBP12 avec l'APP-ICD

FKBP12 fait partie de la famille des immunophilines et possède un domaine PPIase capable de catalyser le repliement d'une protéine (Fischer et al., 1998). FKBP12 se lie avec l'APP-ICD préférentiellement lorsque la Thr⁶⁶⁸ est phosphorylée (Liu et al., 2014). Cette protéine est très conservée dans l'évolution, de la levure jusqu'à l'homme. En tant qu'immunophiline, FKBP12 est la cible de molécules immunosuppressives (Wang and Donahoe, 2004) telles que le FK506, avec lesquelles elle forme un complexe avant de recruter la calcineurine (Steiner et al., 1992). Le complexe FKBP12-FK506-calcineurine inhibe l'activation lymphocytaire, rendant l'utilisation du FKBP12 intéressante lors des transplantations chez les patients à maladie auto-immune. FKBP12 est aussi lui-même une sous-unité constitutive des RyRs et IP3Rs, responsables de la libération de calcium au niveau du réticulum endoplasmique (Jayaraman et al., 1992). Avec sa fonction PPIase, FKBP12 lié à un de ses substrats pourrait modifier la structure du récepteur et réguler la libération de calcium (Galat, 1993). Le couplage direct du FKBP12 avec les RyRs et IP3Rs, ainsi que sa possible interaction avec l'APP-ICD nous a amené à lui accorder plus d'importance qu'à Pin1 ou 14-3-3 γ .

Le détail de la liaison de FKBP12 aux récepteurs RyRs et IP3Rs n'est pour le moment pas clair, et les conséquences de cette liaison sur la libération de calcium non plus. À propos des trois sous-types des RyRs, le RyR1 est majoritaire dans le muscle squelettique, et le RyR2 est majoritaire dans les cellules cardiaques (Ogawa et al., 2000). L'étude montre aussi que les RyR1 et RyR2 sont aussi présents dans le cerveau. Le RyR3 serait distribué de façon ubiquitaire, et majoritaire dans le cerveau. Nous avons vu précédemment que les formes RyR2 et RyR3 sont davantage exprimées au stades modérés et tardifs de la maladie d'Alzheimer respectivement (Bruno et al., 2012). Les RyRs1, -2 et -3 présentent une homologie de séquence importante, suggérant qu'ils pourraient fonctionner de façon semblable (Ogawa et al., 1999) et lier le FKBP12 à des sites homologues. Cependant il faut considérer que la localisation des sites de liaison au FKBP12 est toujours débattue. Par exemple le RyR2 et ses 4972 acides aminés, dont les sites de liaison au FKBP12.6, un homologue du FKBP12, sont aujourd'hui encore sujet à controverses : résidus 307 à 1937 (Masumiya et al., 2003), résidus 1815 à 1855 (Zhang et al., 2003), résidus 2427-2428 (Marx et al., 2000), et résidus de la partie C-terminale incluant les 10

régions transmembranaires (Zissimopoulos and Lai, 2005). En plus de proposer des sites de liaisons différents, certaines études indiquent que les sites révélés par d'autres ne sont pas indispensables à la liaison du FKBP12.6, suggérant que la liaison du FKBP12 ou du FKBP12.6 au RyR2 et aux RyRs en général devrait dépendre de facteurs variés. Considérant cela, il est difficile de bloquer leur interaction respective avec FKBP12 dans le seul but de tester les conséquences sur les effets de l'APP-ICD sur la fonction synaptique. Une étude a cependant montré que la mutation V2322D sur le RyR3 entraîne sa dissociation avec le FKBP12, ainsi qu'une altération des propriétés de relâche du calcium (Van Acker et al., 2004). Dans cette étude, l'incapacité du FKBP12 à lier le RyR3 muté entraîne dans des HEK293 une élévation cytosolique du calcium 1,5 fois supérieure à celle obtenue avec le RyR3 sauvage (Bultynck et al., 2001). Il n'est pour le moment pas aisé de dire si ces résultats seraient reproductibles dans des neurones, et plus spécifiquement dans les neurones de l'hippocampe.

Dans notre étude, nous avons utilisé le cycloheximide éthanoate sur les tranches d'hippocampe, dans le but de bloquer FKBP12 dans les neurones de l'hippocampe. Le cycloheximide éthanoate est un inhibiteur qui a la particularité de bloquer FKBP12 sans perturber sa fonction dans la traduction d'ARNm en protéines, à l'inverse du cycloheximide seul (Christner et al., 1999). Nos résultats montrent avec le cycloheximide éthanoate un blocage partiel de la facilitation de la LTD par l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} (Figure 21A), qui suggère que le FKBP12 pourrait jouer un rôle. Cela suggère aussi une altération partielle de l'activité des RyRs et/ou des IP3Rs. Ce résultat diffère de celui obtenu par Van Acker et al. en 2004, puisqu'en empêchant l'interaction entre FKBP12 et le RyR3, ils avaient observé une élévation du calcium cytosolique dans des HEK293, soit une probable ouverture des RyR3 (Van Acker et al., 2004). Nos résultats indiquent plutôt que le blocage du FKBP12 tendrait à fermer partiellement les récepteurs RyRs plutôt que de les laisser ouverts, même si nous observons toujours une facilitation partielle de la LTD. Nous ne savons pas pour le moment si elle pourrait toujours s'accompagner d'une élévation cytosolique du calcium comme celle observée par Van Acker et al. en 2004. Nous montrons aussi que l'utilisation du cycloheximide éthanoate n'empêche pas l'induction de la LTD normale (Figure 21B). Les raisons d'une telle variation des résultats suite au blocage du FKBP12 pourraient être multiples. Premièrement, nous ne

savons pas lequel du FKBP12 ou du FKBP12.6 a été ciblé, et en sachant qu'ils pourraient lier différemment les RyRs, les effets entraînés pourraient être différents. Ensuite les résultats déjà obtenus concernant le FKBP12 sont contradictoires. Par exemple, concernant le RyR2, certains auteurs ont montré avec la délétion du FKBP12 une activation du récepteur (Marx et al., 2000) alors que d'autres ont montré sa non-activation (Timerman et al., 1996). De la même façon avec les IP3Rs, certaines études ont montré avec la délétion du FKBP12 une augmentation de la libération du calcium (Cameron et al., 1995) quand d'autres ont eu ce résultat avec la surexpression du FKBP12 (Dargan et al., 2002). D'un point de vue général, il semble que FKBP12 régule la probabilité d'ouverture du récepteur RyR et le rende plus sensible à ses ligands. Dans la majorité des cas, FKBP12 maintiendrait le canal du récepteur fermé, et c'est en se dissociant qu'il lui permettrait de s'ouvrir. L'APP-ICD pourrait être le signal pour entraîner l'ouverture ou la fermeture du récepteur par le FKBP12. Une bonne façon de le savoir serait de quantifier dans des neurones individuels la variation des niveaux de calcium suite à l'injection du peptide APP-C31 ou APLP2-C31 avec ou sans l'inhibiteur du FKBP12, en utilisant la technique ChariotTM par exemple (Active Motif), qui permet le transport de protéines actives en moins de 2h dans 65 à 95 % des cellules. Il serait aussi nécessaire de tester l'induction de la LTP avec l'APP-ICD en présence du cycloheximide éthanoate pour voir si ce résultat irait de pair avec celui que nous avons obtenu lors de l'induction de la facilitation de la LTD avec l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}; ceci clarifierait l'intervention ou la non intervention de FKBP12 dans la voie de signalisation de l'APP-ICD. Enfin, étant donnée la différence d'effet sur la fonction synaptique entre APP-ICD et APLP2-ICD, il serait nécessaire de tester s'il existe une possible différence d'interaction entre FKBP12 et les APP-ICD ou APLP2-ICD.

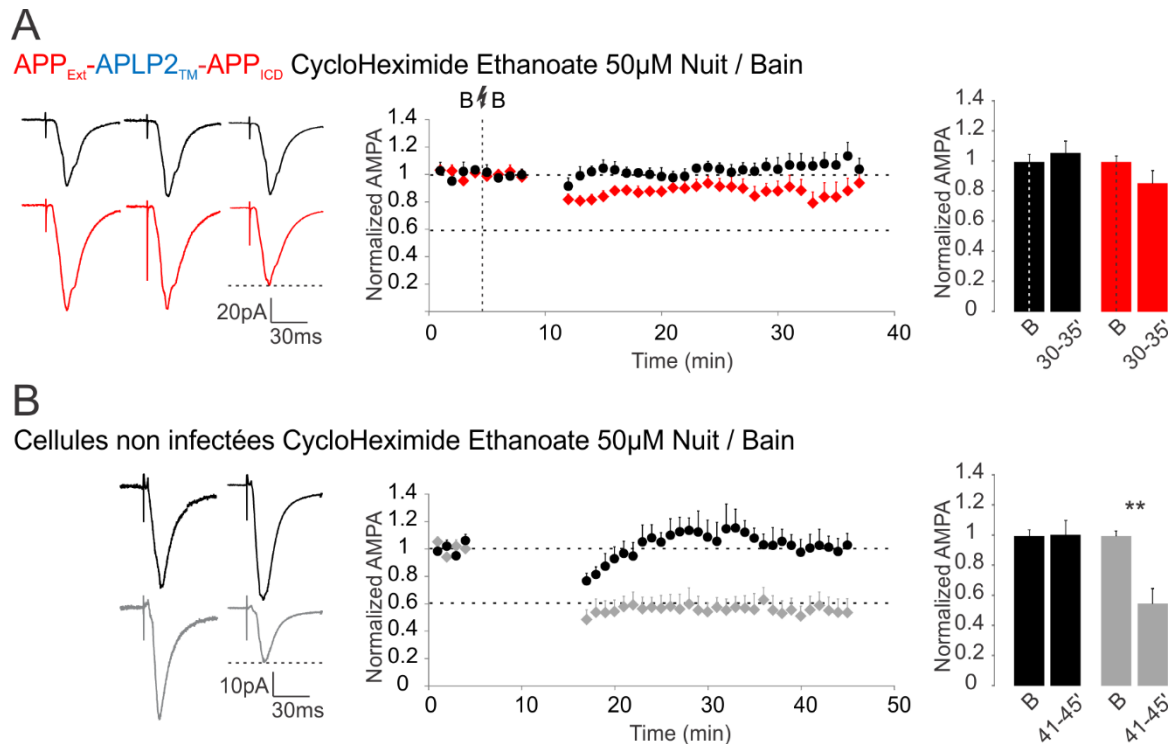


Figure 21. Le blocage du FKBP12 altère l'effet de l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} sur la facilitation de la LTD. Le cycloheximide éthanoate (50μM) est ajouté au milieu de culture des tranches organotypiques d'hippocampe 1h après la transfection s'il y a lieu ou environ 16h avant l'enregistrement pour des tranches d'hippocampes non transfectées. Le cycloheximide éthanoate est aussi ajouté au bain pendant l'enregistrement. A : la facilitation de la LTD par l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} est réduite de moitié en présence de cycloheximide éthanoate. Les réponses synaptiques normalisées de la voie contrôle sont en noir, et la voie d'induction de la LTD est en rouge (n=8). B : le cycloheximide éthanoate n'empêche pas l'induction normale de la LTD dans des neurones contrôles ne surexprimant pas l'APP_{Ext}-APLP2_{TM}-APP_{ICD}. Les réponses synaptiques normalisées de la voie contrôle sont en noir, et la voie d'induction de la LTD est en gris (n=6). À gauche : échantillon de trace des réponses synaptiques, avant et après l'induction de la LTD. Au milieu : réponses synaptiques normalisées des voies contrôles et de l'induction de la LTD. À droite : histogrammes des réponses moyennes normalisées. B : baseline. *:p < 0.01.

3-4-2 Interaction de Pin1 avec l'APP-ICD

Pin1 lie l'APP-ICD lorsque sa Thr⁶⁶⁸ est phosphorylée, au même site que FKBP12. Pin1 possède à son extrémité C-terminale, comme FKBP12, un domaine PPIase (Lu et al., 1996) capable de reconnaître les résidus sérine ou thréonine phosphorylés et suivis d'une proline sur une protéine. Grâce à sa propriété PPIase, Pin1 catalyse leur interconversion cis/trans en permettant une rotation autour de la liaison peptidique entre la sérine ou thréonine et la proline

(Ranganathan et al., 1997), accélérant de cette façon le repliement de la protéine (Schmid, 1995). Pin1 est ubiquitaire et est très conservée dans l'évolution. Pin1 est distribuée à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme des cellules (Liou et al., 2003), et est nécessaire pour la régulation du cycle cellulaire (Lu et al., 1996). Pin1 a un effet bénéfique dans le cerveau et son expression protégerait contre la neurodégénérescence liée à l'âge (Liou et al., 2003). Pin1 est l'une des rares protéines dont la surexpression tendrait à ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer : Pin1 entraîne la déphosphorylation de la protéine tau hyperphosphorylée (Zhou et al., 2000), et réduit la production de l'A β (Pastorino et al., 2006). Cependant, l'expression de Pin1 diminue à mesure que la maladie progresse (Lu et al., 1999).

Plusieurs raisons amènent à penser que Pin1 pourrait participer à la voie de signalisation de l'APP-ICD sur la fonction synaptique :

1) L'absence de liaison de Pin1 à l'APP entier empêche d'une part son interconversion cis/trans au site Thr⁶⁶⁸-Pro⁶⁶⁹, et d'autre part facilite son endocytose et le transfert de l'APP-ICD vers le noyau

L'APP fait partie des protéines dont Pin1 catalyse l'interconversion *cis/trans*, et cette interconversion se fait entre la Thr⁶⁶⁸ et la Pro⁶⁶⁹ (Pastorino et al., 2006). Il a été montré que la forme *trans* de l'APP emprunte la voie non amyloïdogénique, car sa configuration facilite son ancrage à la membrane (Pastorino et al., 2012), tandis que la forme *cis* de l'APP se dirige vers la voie amyloïdogénique. Après la phosphorylation de la Thr⁶⁶⁸, l'APP adopte une configuration *cis*, et c'est Pin1 qui va retransformer une partie des APP *cis* en APP *trans* lorsque la quantité d'APP *cis* aura dépassé un certain seuil. De cette façon, Pin1 favorise la voie non amyloïdogénique de la protéolyse de l'APP, et réduit la production de l'A β (Pastorino et al., 2006).

Pin1 réduit aussi la phosphorylation du site Thr⁶⁶⁸ de l'APP-ICD en inhibant l'activité de la GSK3 β *in vivo* (Ma et al., 2012), ce qui devrait promouvoir la configuration *trans* de l'APP et réduire la production de l'A β , même si cela n'a pas encore été montré.

Les souris transgéniques $Pin1^{-/-}$ développent des déficits comportementaux et moteurs importants liés à l'âge (Liou et al., 2003). Il est aussi observé chez ces souris une augmentation de l'internalisation de l'APP (Pastorino et al., 2012), ce qui explique l'augmentation de 32% de l'A β 42 observée en comparaison avec les souris $Pin1^{+/+}$ (Pastorino et al., 2006). La mutation T668A de l'APP entier, qui empêche sa phosphorylation et lui permet de conserver sa configuration *trans*, permet à l'APP de rester à la membrane dans les cellules $Pin1^{-/-}$ (Pastorino et al., 2012). Dans notre étude, nous avons montré que la mutation T668A dans l'APP_{Ext-APLP2TM-APP_{ICD}} permet d'empêcher la facilitation de la LTD lors de sa surexpression. Cela signifie que la mutation T668A permet de normaliser la fonction synaptique, ce qui est en accord avec l'expérience de Pastorino et al. en 2012 dans laquelle la mutation T668A normalise aussi le ratio des voies amyloïdogénique et non amyloïdogénique en favorisant la configuration *trans* de l'APP (Pastorino et al., 2012).

Il a aussi été montré que la réduction de Pin1 dans des cellules augmente le transfert de l'APP-ICD vers le noyau (Pastorino et al., 2012). L'APP entier *cis*, non converti en *trans* du fait de l'absence de Pin1, subit la protéolyse amyloïdogénique au niveau de l'endosome, un endroit propice à son interaction avec Fe65, en plus de la formation de l'A β (Goodger et al., 2009). Dans notre modèle, l'APP-ICD est déjà clivé et indépendant de la membrane, signifiant que Pin1 n'est plus nécessaire pour influencer l'emplacement à la membrane plasmique ou dans l'endosome pour la production des APP-C83 et d'APP-C99 respectivement. Il est cependant possible que l'interconversion *cis/trans* de l'APP-ICD libre dans le cytosol puisse toujours jouer un rôle sur la fonction synaptique. Il serait intéressant de tester la mutation T668A sur l'APP-ICD déjà libre dans le cytosol pour voir si nous observons toujours une normalisation de la fonction synaptique.

2) *Pin1 agit sur les récepteurs mGluR5 et pourrait de cette façon moduler la plasticité synaptique*

Il a récemment été montré que Pin1 est capable de potentialiser les courants dépendants des récepteurs NMDA en provoquant l'interconversion *cis/trans* des récepteurs mGluR5 phosphorylés (Ma et al., 2012). L'isomérisation des mGluR5 phosphorylés par Pin1 est

dépendante de l'induction d'Homer1a (H1a) (Park et al., 2013). L'étude montre que cette activation des mGluR5 par Pin1 entraîne la potentialisation des NMDA tandis que l'absence de Pin1, alors que H1a est présent, diminue l'activation des récepteurs mGluR5, et entraîne une diminution des courants NMDA dus à l'internalisation des récepteurs AMPA.

Les mGluR5, mais aussi les IP3Rs et les RyRs ont un domaine de liaison H1a (Tu et al., 1998), et sont les trois impliqués directement ou indirectement dans la libération de calcium intracellulaire qui semble importante dans le mécanisme qui lie l'APP-ICD à ses effets sur la plasticité synaptique, et surtout pour la métaplasticité. En effet, l'activation des mGluR5 permet d'activer la phospholipase C, capable d'entraîner la production de la protéine kinase C (PKC) et de produire l'IP3 : la PKC peut phosphoryler les récepteurs AMPA (Tan et al., 1994) et NMDA (Chen and Huang, 1991), et moduler leur activité, alors que l'IP3 module la libération de calcium par les IP3Rs (Foskett et al., 2007). Cependant, il est peu probable que H1a puisse participer au mécanisme avec l'APP-ICD : le gène de H1a est rapidement transcrit dans les neurones en réponse à l'activité neuronale (Brakeman et al., 1997), mais le temps nécessaire à sa transcription par la polymérase II est environ 20 minutes (Vazdarjanova et al., 2002), bien trop long pour le mécanisme lié à l'APP-ICD, capable de faciliter la LTD en moins de 5 minutes.

Pour le moment, nous ne savons pas si l'interaction d'APP-ICD avec Pin1 pourrait moduler son interaction avec les récepteurs mGluR5, pour ensuite moduler la fonction synaptique. Cependant il a été montré que Pin1 interagit principalement avec l'APP-ICD et non avec l'APLP2-ICD, qui présente pourtant l'équivalent du site Thr⁶⁶⁸ de l'APP-ICD (Tamayev et al., 2009). Il serait alors possible que l'APP-ICD, mais pas l'APLP2-ICD, puisse moduler l'activité des mGluR5, et cela expliquerait pourquoi dans notre étude les l'APP_{EXT}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} et APP-ICD ont un effet sur la fonction synaptique que l'APLP2 entier et l'APLP2-ICD n'ont pas. Aussi nous montrons dans notre étude qu'en bloquant les RyRs postsynaptiques avec du dantrolène, l'APP_{EXT}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} n'est plus capable de faciliter la LTD, ce qui indique que le mécanisme lié à l'APP-ICD devrait compter sur une activation des récepteurs présents au réticulum endoplasmique, lesquels sont activables par les mGluR5.

3) *Pin1 module la phosphorylation de la protéine tau*

Pin1 inhibe l'activité de la GSK3 β *in vivo* (Pastorino et al., 2012), laquelle est largement impliquée dans l'hyperphosphorylation de tau (Hanger et al., 1992). Pin1 lie aussi les protéines tau au site Thr²³¹, seulement lorsqu'elles sont hyperphosphorylées, et entraîne leur déphosphorylation (Zhou et al., 2000). Au contraire, les souris transgéniques Pin1^{-/-} développent une hyperphosphorylation de la protéine tau (Liou et al., 2003). Cette modulation de la phosphorylation de tau pourrait altérer indirectement la plasticité synaptique en régulant l'interaction entre tau et Fyn dans le complexe avec les récepteurs NMDA (Mondragon-Rodriguez et al., 2012; Yang et al., 2012).

La déphosphorylation de tau par Pin1 lui permet aussi de s'accrocher à nouveau aux microtubules desquels elle s'était détachée, ce qui à terme restaure sa fonction biologique qui est de stabiliser les microtubules (Weingarten et al., 1975; Lu et al., 1999). Cependant, l'affinité de Pin1 pour la protéine tau hyperphosphorylée amène Pin1 à se lier aussi avec les enchevêtrements neurofibrillaires, et sa séquestration dans ces enchevêtrements diminue sa fraction soluble dans les neurones et contribue à la perte neuronale observée dans la phase tardive de la maladie d'Alzheimer (Lu et al., 1999). La surexpression de Pin1 dans des neurones protège de la neurodégénérescence induite par la surexpression de tau, en supprimant son hyperphosphorylation et la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires (Lim et al., 2008).

3-4-3 Interaction de 14-3-3 γ avec l'APP-ICD

Les protéines 14-3-3, dont la famille de gènes est extrêmement bien conservée dans l'évolution, sont exprimées de façon ubiquitaire chez le mammifère. L'isoforme 14-3-3 γ est la plus abondante dans le cerveau (Horie et al., 1999). 14-3-3 γ s'associe avec le domaine V⁶⁶⁷TPEER⁶⁷² de l'APP-ICD seulement lorsque la Thr⁶⁶⁸ est non phosphorylée (Ando et al., 2001). La protéine 14-3-3 γ , capable d'interagir physiquement avec la protéine Fe65, permet aussi à cette dernière d'interagir avec le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ de l'APP-ICD (Sumioka et al., 2005). L'absence de liaison entre l'APP-ICD et Fe65 lorsque la Thr⁶⁶⁸ est phosphorylée est à considérer, puisque le phénotype observé lors du KO de Fe65 chez le rat ressemble en de nombreux points au phénotype observé lors du double KO APP^{-/-} APLP2^{-/-}. Une étude a déjà

montré que Fe65 se lie à la fois à l'APP-ICD et à l'APLP2-ICD avant de se rendre au noyau (Gersbacher et al., 2013), indiquant que 14-3-3 γ serait capable de se lier tant à l'APP-ICD qu'à l'APLP2-ICD. Ce résultat écarte la possibilité que l'interaction avec 14-3-3 γ puisse faire la différence entre l'APP-ICD et l'APLP2-ICD pour leurs effets respectifs sur la fonction synaptique.

3-5 Le transfert de l'APP-ICD au compartiment nucléaire ne permet pas l'effet d'APP-ICD sur la fonction synaptique

Il a longtemps été pensé que l'APP-ICD pourrait exercer un effet sur la fonction synaptique grâce à son transfert au noyau pour agir en tant que facteur de transcription. Une partie de l'APP-ICD libérée par la protéolyse amyloïdogénique interagit avec la protéine adaptateur nucléaire Fe65 (Goodger et al., 2009), qui l'amène au noyau (Cao and Sudhof, 2001). Fe65 interagit à son tour avec le facteur de transcription CP2/LSF/LBP1 (Zambrano et al., 1998) et l'acétylase histone transférase Tip60, pour la régulation de la transcription de plusieurs gènes (Cao and Sudhof, 2001). Les gènes dont la transcription serait régulée par l'APP-ICD incluent l'APP (von Rotz et al., 2004), Bace1, néprilysine, p53, et possiblement la GSK3 β (Kim et al., 2003). L'APLP2-ICD se rend aussi au noyau, alors que l'APLP1-ICD, bien que se liant au Fe65, reste à la membrane plasmique (Gersbacher et al., 2013). Par contre, la liaison de JIP-1 avec le domaine Y⁶⁸²ENPTY⁶⁸⁷ amène à une activation de la transcription par l'APP-ICD, mais pas avec APLP1-ICD et APLP2-ICD (Scheinfeld et al., 2003).

Le fait qu'APP-ICD, mais pas l'APLP2-ICD, puisse agir sur la transcription pourrait aller de pair avec nos résultats qui montrent un effet sur la transmission synaptique, sur la LTD et la LTP avec l'APP-ICD, mais pas avec l'APLP2-ICD. Cependant, dans le cas où la transcription par l'APP-ICD dans le noyau serait impliquée, cela prendrait le temps pour l'APP-ICD de se rendre au noyau, d'activer la transcription de gènes, et aux nouvelles protéines d'être produites pour ensuite aller exercer leurs effets sur la fonction synaptique. Dans notre expérience, les électrodes de stimulation sont placées en moyenne à 200 μ m du corps cellulaire du neurone enregistré, signifiant que l'APP-ICD et les transcrits doivent parcourir une distance totale de 400 μ m pour entraîner ses effets sur la plasticité synaptique. Nous montrons que l'APP-ICD est

capable d'induire une facilitation de la LTD seulement 3 minutes après l'activation des récepteurs NMDA, signifiant qu'il faudrait que l'APP-ICD agisse avec une vitesse autour de 130 $\mu\text{m}/\text{min}$. 130 $\mu\text{m}/\text{min}$ est trop rapide pour le transport dendritique, en comparaison par exemple avec l'une des protéines les plus rapides, Staufen, qui se déplace à 6.4 $\mu\text{m}/\text{min}$ (Kohrmann et al., 1999). Nos résultats excluent donc que l'APP-ICD agissent sur la transcription de gènes pour moduler la fonction synaptique telle que nous l'observons dans notre étude, et suggère un mécanisme local à la synapse.

3-6 Boucle rétroactive de l'APP-ICD

Nous excluons l'hypothèse selon laquelle l'APP-ICD participerait à la modulation de la fonction synaptique en régulant la transcription dans le noyau. Au lieu de cela, l'APP-ICD pourrait agir à la synapse et faire partie d'une boucle de rétroaction pour la régulation de la fonction synaptique.

Les souris transgéniques surexprimant l'APP-ICD présentent une activation (et non une expression) augmentée de la GSK3 β (Ryan and Pimplikar, 2005), alors que l'APP est lui-même un de ses substrats. En effet, la GSK3 β est capable de phosphoryler l'APP-ICD à la position Thr⁶⁶⁸ (Aplin et al., 1996). Cela signifie que l'APP-ICD est capable d'augmenter l'activation de la GSK3 β qui le phosphoryle en retour, telle une boucle rétroactive.

La GSK3 β est une kinase ubiquitaire capable de catalyser le transfert de phosphate de l'ATP sur le groupement hydroxyle d'une sérine ou d'une thréonine. Elle est impliquée dans le métabolisme (Welsh and Proud, 1993), le développement (Troussard et al., 1999), l'apoptose (Turenne and Price, 2001) et est aussi associée avec le développement de maladies comme le diabète, le cancer et les maladies neurologiques (Jope et al., 2007) telles que la dépression, la schizophrénie, et les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Hooper et al., 2008). La GSK3 β diminue aussi la synthèse d'acétylcholine (Takashima et al., 1996) tel qu'observé dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer.

Il est important de comprendre comment l'APP-ICD peut entraîner cette activation de la GSK3 β car cette élévation est retrouvée dans les cerveaux atteints de la maladie d'Alzheimer (Pei et al., 1997) en plus de l'augmentation des niveaux d'APP-ICD et d'APP-C31 (Gervais et al., 1999; Lu et al., 2000). En plus, la GSK3 β entraîne aussi l'hyperphosphorylation de la protéine tau (Hanger et al., 1992; Ghosal et al., 2009), ce qui a été confirmé récemment avec les souris transgéniques qui la surexpriment, en plus de la neurodégénérescence constatée (Lucas et al., 2001). Dans notre étude, nous avons montré que la surexpression de l'APP-ICD entraîne un blocage de la LTP et une facilitation de la LTD dans les tranches d'hippocampe en culture, quand une autre étude a montré que les souris transgéniques qui surexpriment la GSK3 β ont aussi un blocage de la LTP (Hooper et al., 2007). Aussi l'activité de la GSK3 β est augmentée pendant l'induction de la LTD (Peineau et al., 2007).

L'activité de la GSK3 β peut être modulée au moins de deux façons différentes. Soit par une augmentation de son expression, soit par le jeu de kinases et phosphatases (Frame and Cohen, 2001). Lorsque l'APP-ICD se rend au compartiment nucléaire (Kimberly et al., 2001), il agit comme un facteur de transcription pour plusieurs gènes (Cao and Sudhof, 2001), dont celui codant pour GSK3 β . Selon une étude de Kim et al. en 2003, l'expression de la partie C-terminale de l'APP dans des neurones en culture entraîne une hausse des niveaux ARNm et protéiques de la GSK3 β (Kim et al., 2003). Cependant, il est montré en 2005, chez des souris transgéniques surexprimant à la fois l'APP-ICD et la protéine Fe65, une nette augmentation de son activité, sans aucun changement des niveaux d'ARNm et protéiques (Ryan and Pimplikar, 2005). L'activité de la GSK3 β peut aussi être régulée par le jeu de kinases et phosphatases (Jope and Johnson, 2004), et cela a été montré avec l'A β : l'exposition des neurones en culture à l'A β entraîne l'activation de la GSK3 β via l'activation de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) (Takashima et al., 1996).

Il est pour le moment inconnu si l'APP-ICD pourrait avoir le même effet sur la PI3K, en plus qu'il n'a pas été prouvé que le lien entre l'A β et PI3K soit direct. Cependant, les PI3K peuvent être activées par les mGluR5 (Rong et al., 2003), et nous avons vu précédemment que

les mGluR5 pourraient être modulés en fonction de Pin1, alors que ce dernier interagit avec l'APP-ICD.

Il a également été montré que le calcium, au travers d'une protéine sensible au calcium inconnue, serait capable d'activer la PI3K et d'entraîner la phosphorylation et l'activation de la GSK3 β (Nicholson-Fish et al., 2015). Notre étude montre que les effets de l'APP-ICD sur la fonction synaptique dépendent du fonctionnement des récepteurs ryanodines, responsables en partie de la libération du calcium intracellulaire. Il serait alors intéressant de tester si l'APP-ICD pourrait influencer l'activité de la PI3K, dans le but d'augmenter l'activité de la GSK3 β , qui pourrait phosphoryler à nouveau l'APP-ICD. Cela a de l'importance car cet emballement de phosphorylation par la boucle de rétroaction pourrait être la clé du développement précoce de la maladie d'Alzheimer.

VII CONCLUSION

Notre étude met en évidence un nouveau domaine important du précurseur de la protéine amyloïde et permet de mieux comprendre les mécanismes à la base du développement précoce de la maladie d'Alzheimer. Nos résultats indiquent que l'APP-ICD libéré dans le cytosol après la protéolyse de l'APP est capable de moduler la fonction synaptique depuis la transmission synaptique jusqu'à la métaplasticité en passant par des processus plus simples de plasticité tels que la LTP et la LTD. Alors que les APP et APLP2 libèrent tous les deux un ICD, nous montrons que seul l'APP-ICD joue ce rôle de modulateur alors que l'APLP2-ICD, jusqu'à maintenant considéré comme semblable à l'APP-ICD, tant d'un point de vue structurel que fonctionnel, n'a aucun effet sur la fonction synaptique. Dans notre étude nous soulignons l'importance de la production du peptide APP-C31 pour la dérégulation des processus d'apprentissages, et nous proposons que l'APP-C31 pourrait exercer son effet sur la fonction synaptique via la modulation du calcium d'origine intracellulaire (Figure 22). En se basant sur notre étude, il deviendra indispensable de s'intéresser plus en détail aux multiples interactions protéiques avec la Thr⁶⁶⁸ de l'APP-ICD et déterminer lesquelles de ces protéines participent à la dérégulation de la fonction synaptique. Comprendre comment l'APP-ICD entraîne de la métaplasticité permettrait de comprendre la façon dont les synapses sont modifiées dans le

cerveau lors de l'apprentissage, et permettrait de comprendre le développement précoce de la maladie d'Alzheimer. Notre étude ouvre ainsi sur de multiples possibilités à explorer en vue d'une meilleure compréhension de la physiopathologie précoce de la maladie d'Alzheimer.

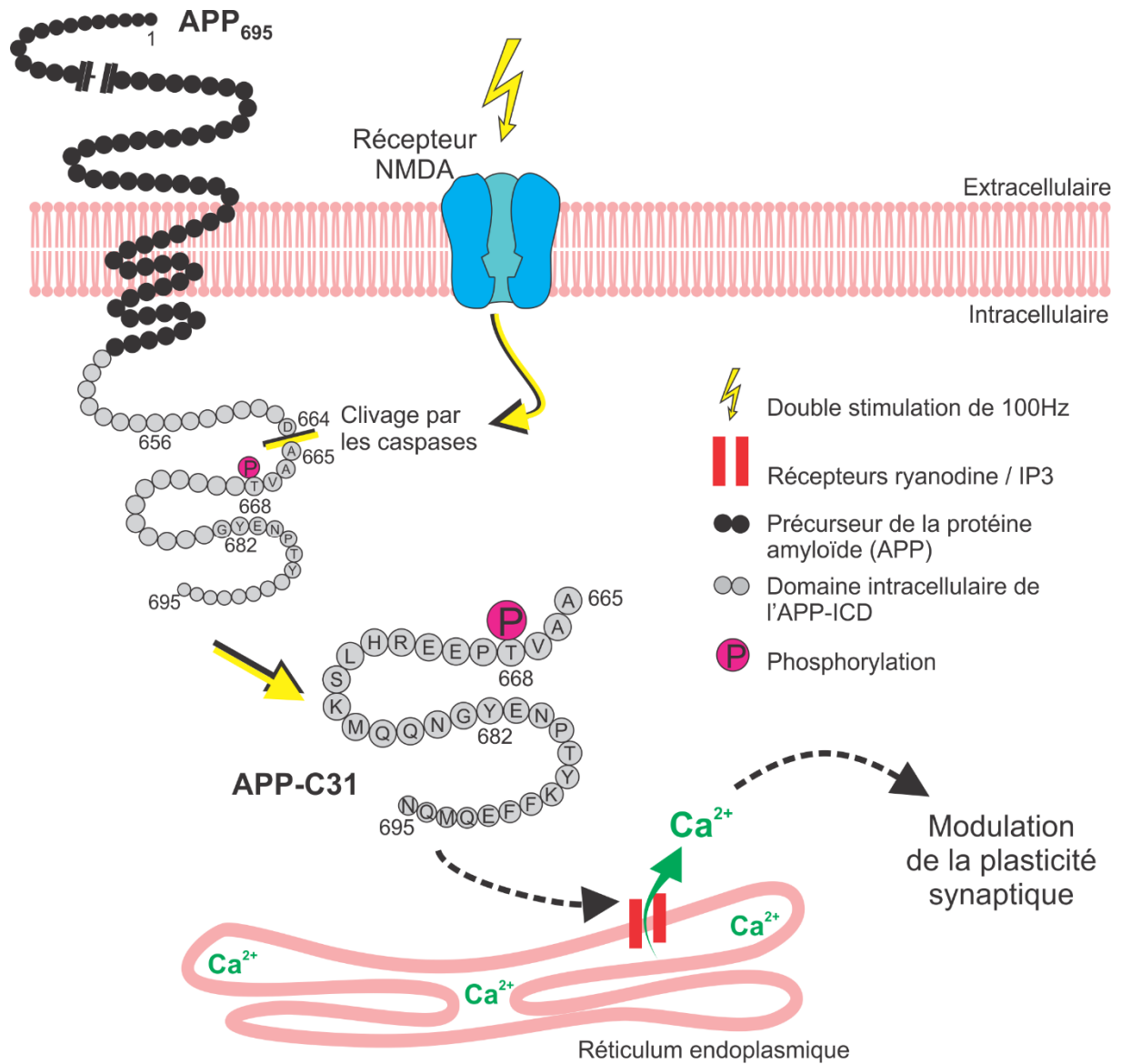


Figure 22. Modèle illustrant une partie de la signalisation de l'APP-ICD. L'activation des récepteurs NMDA permet l'activation des caspases et le clivage de l'APP_{EXT}-APLP2_{TM}-APP_{ICD} au site V⁶⁶¹EVD⁶⁶⁴, ce qui libère l'APP-C31. L'APP-C31 phosphorylé à la Thr⁶⁶⁸ va entraîner la libération de calcium par les récepteurs présents à la membrane du réticulum endoplasmique.

VIII BIBLIOGRAPHIE

- Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, Bourchouladze R (1997) Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell* 88:615-626.
- Abraham WC (2008) Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat Rev Neurosci* 9:387.
- Abraham WC, Bear MF (1996) Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19:126-130.
- Adkins CE, Taylor CW (1999) Lateral inhibition of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors by cytosolic Ca²⁺. *Curr Biol* 9:1115-1118.
- Aizenstein HJ, Nebes RD, Saxton JA, Price JC, Mathis CA, Tsopelas ND, Ziolkowski SK, James JA, Snitz BE, Houck PR, Bi W, Cohen AD, Lopresti BJ, DeKosky ST, Halligan EM, Klunk WE (2008) Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch Neurol* 65:1509-1517.
- Akiyama H, Arai T, Kondo H, Tanno E, Haga C, Ikeda K (2000) Cell mediators of inflammation in the Alzheimer disease brain. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14 Suppl 1:S47-53.
- Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW (2009) Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 89:73-120.
- Alexander MP (1997) *Aphasia: Clinical and anatomic aspects.*, T.E. Feinberg & M.J. Farah Edition. New-York: McGraw-Hill.
- Allinquant B, Hantraye P, Mailleux P, Moya K, Bouillot C, Prochiantz A (1995) Downregulation of amyloid precursor protein inhibits neurite outgrowth in vitro. *J Cell Biol* 128:919-927.
- Alzheimer A (1907) Ueber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*:146-148.
- Alzheimer A (1911) Ueber eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*:356-385.
- Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P (1991) Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus* 1:415-435.
- Andersen P, Eccles JC, Loynning Y (1964) Location of Postsynaptic Inhibitory Synapses on Hippocampal Pyramids. *J Neurophysiol* 27:592-607.
- Andersen P, Bliss TV, Skrede KK (1971) Lamellar organization of hippocampal pathways. *Exp Brain Res* 13:222-238.
- Andersen P, Bland BH, Dudar JD (1973) Organization of the hippocampal output. *Exp Brain Res* 17:152-168.
- Andersen P, Sundberg SH, Sveen O, Wigstrom H (1977) Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. *Nature* 266:736-737.
- Ando K, Iijima KI, Elliott JI, Kirino Y, Suzuki T (2001) Phosphorylation-dependent regulation of the interaction of amyloid precursor protein with Fe65 affects the production of beta-amyloid. *J Biol Chem* 276:40353-40361.
- Aplin AE, Gibb GM, Jacobsen JS, Gallo JM, Anderton BH (1996) In vitro phosphorylation of the cytoplasmic domain of the amyloid precursor protein by glycogen synthase kinase-3beta. *J Neurochem* 67:699-707.
- Aptowicz CO, Kunkler PE, Kraig RP (2004) Homeostatic plasticity in hippocampal slice cultures involves changes in voltage-gated Na⁺ channel expression. *Brain Res* 998:155-163.
- Areosa SA, Sherriff F, McShane R (2005) Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*:CD003154.
- Arriagada PV, Marzloff K, Hyman BT (1992) Distribution of Alzheimer-type pathologic changes in nondemented elderly individuals matches the pattern in Alzheimer's disease. *Neurology* 42:1681-1688.

- Bacci A, Coco S, Pravettoni E, Schenk U, Armano S, Frassoni C, Verderio C, De Camilli P, Matteoli M (2001) Chronic blockade of glutamate receptors enhances presynaptic release and downregulates the interaction between synaptophysin-synaptobrevin-vesicle-associated membrane protein 2. *J Neurosci* 21:6588-6596.
- Bachevalier J (1976) Ontogenèse de l'apprentissage et de la mémoire chez le rat. *L'année psychologique* 76:199-211.
- Bachevalier J, Blozovski D (1980) Acquisition and retention of classical conditioning in the newborn rat. *Dev Psychobiol* 13:519-526.
- Baddeley AD, Hitch G (1974) Working memory. In: *The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory* (Bower GH, ed), pp 47-89. New York: Academic Press.
- Balducci C, Tonini R, Zianni E, Nazzaro C, Fiordaliso F, Salio M, Vismara L, Gardoni F, Di Luca M, Carli M, Forloni G (2010) Cognitive deficits associated with alteration of synaptic metaplasticity precede plaque deposition in AbetaPP23 transgenic mice. *J Alzheimers Dis* 21:1367-1381.
- Banerjee S, Hasan G (2005) The InsP3 receptor: its role in neuronal physiology and neurodegeneration. *Bioessays* 27:1035-1047.
- Banwait S, Galvan V, Zhang J, Gorostiza OF, Ataie M, Huang W, Crippen D, Koo EH, Bredesen DE (2008) C-terminal cleavage of the amyloid-beta protein precursor at Asp664: a switch associated with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 13:1-16.
- Barbagallo AP, Weldon R, Tamayev R, Zhou D, Giliberto L, Foreman O, D'Adamio L (2010) Tyr(682) in the intracellular domain of APP regulates amyloidogenic APP processing in vivo. *PLoS One* 5:e15503.
- Barco A, Alarcon JM, Kandel ER (2002) Expression of constitutively active CREB protein facilitates the late phase of long-term potentiation by enhancing synaptic capture. *Cell* 108:689-703.
- Barria A, Malinow R (2002) Subunit-specific NMDA receptor trafficking to synapses. *Neuron* 35:345-353.
- Bayer SA, Altman J, Russo RJ, Zhang X (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* 14:83-144.
- Bayer TA, Cappai R, Masters CL, Beyreuther K, Multhaup G (1999) It all sticks together--the APP-related family of proteins and Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 4:524-528.
- Beljahow S (1889) Pathological changes in the brain in dementia senilis. *Journal of Mental Science*:261-262.
- Bellone C, Nicoll RA (2007) Rapid bidirectional switching of synaptic NMDA receptors. *Neuron* 55:779-785.
- Ben-Ari Y, Cherubini E, Krnjevic K (1988) Changes in voltage dependence of NMDA currents during development. *Neurosci Lett* 94:88-92.
- Berger TW (1984) Long-term potentiation of hippocampal synaptic transmission affects rate of behavioral learning. *Science* 224:627-630.
- Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J, Gassmann M (2004) Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol Rev* 84:835-867.
- Bielschowsky M (1902) Die Silberimpragnation der Achsenzylinder. *Neur Centralbl* 21:579.
- Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW (1982) Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2:32-48.
- Blanchard DC, Blanchard RJ (1972) Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *J Comp Physiol Psychol* 81:281-290.
- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.
- Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.

- Blocq P, Marinesco G (1892) Sur les lésions et la pathogénie de l'épilepsie dite essentielle. *La Semaine Médicale*:445-446.
- Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, Prada CM, Kim G, Seekins S, Yager D, Slunt HH, Wang R, Seeger M, Levey AI, Gandy SE, Copeland NG, Jenkins NA, Price DL, Younkin SG, Sisodia SS (1996) Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate A β 1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron* 17:1005-1013.
- Borg JP, Ooi J, Levy E, Margolis B (1996) The phosphotyrosine interaction domains of X11 and FE65 bind to distinct sites on the YENPTY motif of amyloid precursor protein. *Mol Cell Biol* 16:6229-6241.
- Bormann J, Hamill OP, Sakmann B (1987) Mechanism of anion permeation through channels gated by glycine and gamma-aminobutyric acid in mouse cultured spinal neurones. *J Physiol* 385:243-286.
- Borquez DA, Gonzalez-Billault C (2012) The amyloid precursor protein intracellular domain-fe65 multiprotein complexes: a challenge to the amyloid hypothesis for Alzheimer's disease? *Int J Alzheimers Dis* 2012:353145.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239-259.
- Brakeman PR, Lanahan AA, O'Brien R, Roche K, Barnes CA, Huganir RL, Worley PF (1997) Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors. *Nature* 386:284-288.
- Bredesen DE, John V, Galvan V (2010) Importance of the caspase cleavage site in amyloid-beta protein precursor. *J Alzheimers Dis* 22:57-63.
- Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durand J (1985) Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol* 17:89-96.
- Bruno AM, Huang JY, Bennett DA, Marr RA, Hastings ML, Stutzmann GE (2012) Altered ryanodine receptor expression in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 33:1001 e1001-1006.
- Budson AE, Price BH (2005) Memory dysfunction. *N Engl J Med* 352:692-699.
- Bull JA, 3rd, Overmier JB (1968) Additive and subtractive properties of excitation and inhibition. *J Comp Physiol Psychol* 66:511-514.
- Bultynck G, Rossi D, Callewaert G, Missiaen L, Sorrentino V, Parys JB, De Smedt H (2001) The conserved sites for the FK506-binding proteins in ryanodine receptors and inositol 1,4,5-trisphosphate receptors are structurally and functionally different. *J Biol Chem* 276:47715-47724.
- Burdick D, Soreghan B, Kwon M, Kosmoski J, Knauer M, Henschen A, Yates J, Cotman C, Glabe C (1992) Assembly and aggregation properties of synthetic Alzheimer's A4/beta amyloid peptide analogs. *J Biol Chem* 267:546-554.
- Burger PC, Vogel FS (1973) The development of the pathologic changes of Alzheimer's disease and senile dementia in patients with Down's syndrome. *Am J Pathol* 73:457-476.
- Bush AI, Multhaup G, Moir RD, Williamson TG, Small DH, Rumble B, Pollwein P, Beyreuther K, Masters CL (1993) A novel zinc(II) binding site modulates the function of the beta A4 amyloid protein precursor of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 268:16109-16112.
- Caccamo A, Oddo S, Sugarman MC, Akbari Y, LaFerla FM (2005) Age- and region-dependent alterations in A β -degrading enzymes: implications for A β -induced disorders. *Neurobiol Aging* 26:645-654.
- Cameron AM, Steiner JP, Roskams AJ, Ali SM, Ronnett GV, Snyder SH (1995) Calcineurin associated with the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-FKBP12 complex modulates Ca²⁺ flux. *Cell* 83:463-472.
- Cao X, Sudhof TC (2001) A transcriptionally [correction of transcriptively] active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 293:115-120.

- Carew TJ, Castellucci VF, Kandel ER (1971) An analysis of dishabituation and sensitization of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*. *Int J Neurosci* 2:79-98.
- Carroll RC, Lissin DV, von Zastrow M, Nicoll RA, Malenka RC (1999) Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat Neurosci* 2:454-460.
- Caulfield MP (1993) Muscarinic receptors--characterization, coupling and function. *Pharmacol Ther* 58:319-379.
- Checler F (1995) Processing of the beta-amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 65:1431-1444.
- Chen L, Huang LY (1991) Sustained potentiation of NMDA receptor-mediated glutamate responses through activation of protein kinase C by a mu opioid. *Neuron* 7:319-326.
- Cho K, Aggleton JP, Brown MW, Bashir ZI (2001) An experimental test of the role of postsynaptic calcium levels in determining synaptic strength using perirhinal cortex of rat. *J Physiol* 532:459-466.
- Choi DW (1992) Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* 23:1261-1276.
- Chow WN, Cheung HN, Li W, Lau KF (2015) FE65: Roles beyond amyloid precursor protein processing. *Cell Mol Biol Lett* 20:66-87.
- Christner C, Wyrwa R, Marsch S, Kullertz G, Thiericke R, Grabley S, Schumann D, Fischer G (1999) Synthesis and cytotoxic evaluation of cycloheximide derivatives as potential inhibitors of FKBP12 with neuroregenerative properties. *J Med Chem* 42:3615-3622.
- Citron M, Vigo-Pelfrey C, Teplow DB, Miller C, Schenk D, Johnston J, Winblad B, Venizelos N, Lannfelt L, Selkoe DJ (1994) Excessive production of amyloid beta-protein by peripheral cells of symptomatic and presymptomatic patients carrying the Swedish familial Alzheimer disease mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:11993-11997.
- Cleary JP, Walsh DM, Hofmeister JJ, Shankar GM, Kuskowski MA, Selkoe DJ, Ashe KH (2005) Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat Neurosci* 8:79-84.
- Coburger I, Hoefgen S, Than ME (2014) The structural biology of the amyloid precursor protein APP - a complex puzzle reveals its multi-domain architecture. *Biol Chem* 395:485-498.
- Collingridge G (1987) Synaptic plasticity. The role of NMDA receptors in learning and memory. *Nature* 330:604-605.
- Collingridge GL, Kehl SJ, McLennan H (1983) The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurones in vitro. *J Physiol* 334:19-31.
- Collins AM, Quillian MR (1969) Retrieval time from semantic memory. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*:240-248.
- Conn PJ, Pin JP (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37:205-237.
- Cooper LN, Bear MF (2012) The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nat Rev Neurosci* 13:798-810.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993) Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921-923.
- Cormier RJ, Greenwood AC, Connor JA (2001) Bidirectional synaptic plasticity correlated with the magnitude of dendritic calcium transients above a threshold. *J Neurophysiol* 85:399-406.
- Cousins SL, Dai W, Stephenson FA (2015) APLP1 and APLP2, members of the APP family of proteins, behave similarly to APP in that they associate with NMDA receptors and enhance NMDA receptor surface expression. *J Neurochem* 133:879-885.
- Cousins SL, Hoey SE, Anne Stephenson F, Perkinson MS (2009) Amyloid precursor protein 695 associates with assembled NR2A- and NR2B-containing NMDA receptors to result in the enhancement of their cell surface delivery. *J Neurochem* 111:1501-1513.

- Craik FI, Govoni R, Naveh-Benjamin M, Anderson ND (1996) The effects of divided attention on encoding and retrieval processes in human memory. *J Exp Psychol Gen* 125:159-180.
- Crutcher KA, Neaderhauser J, Schmidt P, Weingartner J (1991) Neurite outgrowth on postmortem human brain cryostat sections: studies of non-Alzheimer's and Alzheimer's tissue. *Exp Neurol* 114:228-236.
- Cummings JA, Mulkey RM, Nicoll RA, Malenka RC (1996) Ca²⁺ signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. *Neuron* 16:825-833.
- Cupers P, Orlans I, Craessaerts K, Annaert W, De Strooper B (2001) The amyloid precursor protein (APP)-cytoplasmic fragment generated by gamma-secretase is rapidly degraded but distributes partially in a nuclear fraction of neurones in culture. *J Neurochem* 78:1168-1178.
- D'Amelio M, Sheng M, Cecconi F (2012) Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends Neurosci* 35:700-709.
- D'Amelio M, Cavallucci V, Middei S, Marchetti C, Pacioni S, Ferri A, Diamantini A, De Zio D, Carrara P, Battistini L, Moreno S, Bacci A, Ammassari-Teule M, Marie H, Cecconi F (2011) Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 14:69-76.
- Dahms SO, Konnig I, Roeser D, Guhrs KH, Mayer MC, Kaden D, Multhaup G, Than ME (2012) Metal binding dictates conformation and function of the amyloid precursor protein (APP) E2 domain. *J Mol Biol* 416:438-452.
- Daigle I, Li C (1993) *apl-1*, a *Caenorhabditis elegans* gene encoding a protein related to the human beta-amyloid protein precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:12045-12049.
- Dargan SL, Lea EJ, Dawson AP (2002) Modulation of type-1 Ins(1,4,5)P₃ receptor channels by the FK506-binding protein, FKBP12. *Biochem J* 361:401-407.
- Davies P, Maloney AJ (1976) Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 2:1403.
- De Felice FG, Velasco PT, Lambert MP, Viola K, Fernandez SJ, Ferreira ST, Klein WL (2007) Abeta oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine. *J Biol Chem* 282:11590-11601.
- De Kloet ER (2004) Hormones and the stressed brain. *Ann N Y Acad Sci* 1018:1-15.
- De Strooper B, Annaert W (2000) Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. *J Cell Sci* 113 (Pt 11):1857-1870.
- De Strooper B, Annaert W, Cupers P, Saftig P, Craessaerts K, Mumm JS, Schroeter EH, Schrijvers V, Wolfe MS, Ray WJ, Goate A, Kopan R (1999) A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. *Nature* 398:518-522.
- de Toledo Ferraz Alves TC, Ferreira LK, Wajngarten M, Busatto GF (2010) Cardiac disorders as risk factors for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 20:749-763.
- Desai NS, Rutherford LC, Turrigiano GG (1999) BDNF regulates the intrinsic excitability of cortical neurons. *Learn Mem* 6:284-291.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF (1999) The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 51:7-61.
- Drubin D, Kobayashi S, Kirschner M (1986) Association of tau protein with microtubules in living cells. *Ann N Y Acad Sci* 466:257-268.
- Duce JA et al. (2010) Iron-export ferroxidase activity of beta-amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell* 142:857-867.
- Dudek SM, Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4363-4367.
- Dulin F, Leveille F, Ortega JB, Mornon JP, Buisson A, Callebaut I, Colloc'h N (2008) P3 peptide, a truncated form of A beta devoid of synaptotoxic effect, does not assemble into soluble oligomers. *FEBS Lett* 582:1865-1870.

- Dunfield D, Haas K (2009) Metaplasticity governs natural experience-driven plasticity of nascent embryonic brain circuits. *Neuron* 64:240-250.
- Ebbing KVG, A. Kovari, E. (2008) The brain in extreme aging: lessons from nonagenarians and centenarians. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 159:386-393.
- Elmore S (2007) Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 35:495-516.
- Emptage N, Bliss TV, Fine A (1999) Single synaptic events evoke NMDA receptor-mediated release of calcium from internal stores in hippocampal dendritic spines. *Neuron* 22:115-124.
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM (1997) Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 278:1349-1356.
- Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, Frosch MP, Eckman CB, Tanzi RE, Selkoe DJ, Guenette S (2003) Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4162-4167.
- Fernandez de Sevilla D, Nunez A, Borde M, Malinow R, Buno W (2008) Cholinergic-mediated IP3-receptor activation induces long-lasting synaptic enhancement in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 28:1469-1478.
- Ferreiro E, Oliveira CR, Pereira C (2004) Involvement of endoplasmic reticulum Ca²⁺ release through ryanodine and inositol 1,4,5-triphosphate receptors in the neurotoxic effects induced by the amyloid-beta peptide. *J Neurosci Res* 76:872-880.
- Fifkova E, Anderson CL, Young SJ, Van Harrevelde A (1982) Effect of anisomycin on stimulation-induced changes in dendritic spines of the dentate granule cells. *J Neurocytol* 11:183-210.
- Fischer G, Tradler T, Zarnt T (1998) The mode of action of peptidyl prolyl cis/trans isomerases in vivo: binding vs. catalysis. *FEBS Lett* 426:17-20.
- Fischer O (1907) Miliare Nekrosen mit drusigen Wucherungen der Neurofibrillen, eine regelmabige Veranderung der Hirnrinde bei seniler Demenz. *Monatsschr Psychiatr Neurol*:361-372.
- Fitts PM, Posner MI (1967) *Human performance*: Brooks/Cole Pub. Co. .
- Forsythe ID, Westbrook GL, Mayer ML (1988) Modulation of excitatory synaptic transmission by glycine and zinc in cultures of mouse hippocampal neurons. *J Neurosci* 8:3733-3741.
- Foskett JK, White C, Cheung KH, Mak DO (2007) Inositol trisphosphate receptor Ca²⁺ release channels. *Physiol Rev* 87:593-658.
- Frame S, Cohen P (2001) GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *Biochem J* 359:1-16.
- Freund TF, Buzsaki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347-470.
- Frey U, Huang YY, Kandel ER (1993) Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science* 260:1661-1664.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res* 452:57-65.
- Fujii S, Matsumoto M, Igarashi K, Kato H, Mikoshiba K (2000) Synaptic plasticity in hippocampal CA1 neurons of mice lacking type 1 inositol-1,4,5-trisphosphate receptors. *Learn Mem* 7:312-320.
- Fusi S, Drew PJ, Abbott LF (2005) Cascade models of synaptically stored memories. *Neuron* 45:599-611.
- Futatsugi A, Kato K, Ogura H, Li ST, Nagata E, Kuwajima G, Tanaka K, Itohara S, Mikoshiba K (1999) Facilitation of NMDAR-independent LTP and spatial learning in mutant mice lacking ryanodine receptor type 3. *Neuron* 24:701-713.
- Gachelin G (2006) *Les organismes modèles dans la recherche médicale*. Paris.
- Galat A (1993) Peptidylproline cis-trans-isomerases: immunophilins. *Eur J Biochem* 216:689-707.
- Galvan V, Chen S, Lu D, Logvinova A, Goldsmith P, Koo EH, Bredesen DE (2002) Caspase cleavage of members of the amyloid precursor family of proteins. *J Neurochem* 82:283-294.

- Galvan V, Zhang J, Gorostiza OF, Banwait S, Huang W, Ataie M, Tang H, Bredesen DE (2008) Long-term prevention of Alzheimer's disease-like behavioral deficits in PDAPP mice carrying a mutation in Asp664. *Behav Brain Res* 191:246-255.
- Galvan V, Gorostiza OF, Banwait S, Ataie M, Logvinova AV, Sitaraman S, Carlson E, Sagi SA, Chevallier N, Jin K, Greenberg DA, Bredesen DE (2006) Reversal of Alzheimer's-like pathology and behavior in human APP transgenic mice by mutation of Asp664. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:7130-7135.
- Gambrill AC, Barria A (2011) NMDA receptor subunit composition controls synaptogenesis and synapse stabilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:5855-5860.
- Gandy S, Czernik AJ, Greengard P (1988) Phosphorylation of Alzheimer disease amyloid precursor peptide by protein kinase C and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:6218-6221.
- Gehrmann J, Banati RB, Cuzner ML, Kreutzberg GW, Newcombe J (1995) Amyloid precursor protein (APP) expression in multiple sclerosis lesions. *Glia* 15:141-151.
- Geinisman Y, Detoledo-Morrell L, Morrell F, Persina IS, Beatty MA (1996) Synapse restructuring associated with the maintenance phase of hippocampal long-term potentiation. *J Comp Neurol* 368:413-423.
- Gely-Nargeot MC, Mure C, Guerin-Langlois C, Martin K, Descours I (2000) [Effects of cognitive aging on memory performances]. *Presse Med* 29:849-857.
- Gentleman SM, Nash MJ, Sweeting CJ, Graham DI, Roberts GW (1993) Beta-amyloid precursor protein (beta APP) as a marker for axonal injury after head injury. *Neurosci Lett* 160:139-144.
- Gersbacher MT, Goodger ZV, Trutzel A, Bundschuh D, Nitsch RM, Konietzko U (2013) Turnover of amyloid precursor protein family members determines their nuclear signaling capability. *PLoS One* 8:e69363.
- Gervais FG, Xu D, Robertson GS, Vaillancourt JP, Zhu Y, Huang J, LeBlanc A, Smith D, Rigby M, Shearman MS, Clarke EE, Zheng H, Van Der Ploeg LH, Ruffolo SC, Thornberry NA, Xanthoudakis S, Zamboni RJ, Roy S, Nicholson DW (1999) Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation. *Cell* 97:395-406.
- Ghosal K, Vogt DL, Liang M, Shen Y, Lamb BT, Pimplikar SW (2009) Alzheimer's disease-like pathological features in transgenic mice expressing the APP intracellular domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:18367-18372.
- Gibbons IR, Rowe AJ (1965) Dynein: A Protein with Adenosine Triphosphatase Activity from Cilia. *Science* 149:424-426.
- Giraud P, Alcaraz G, Jullien F, Sampo B, Jover E, Couraud F, Dargent B (1998) Multiple pathways regulate the expression of genes encoding sodium channel subunits in developing neurons. *Brain Res Mol Brain Res* 56:238-255.
- Glenner GG, Wong CW (1984) Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120:885-890.
- Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, et al. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349:704-706.
- Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, Mullan MJ, Roques P, Rossor MN, Williamson R, et al. (1989) Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1:352-355.
- Goedert M (2009) Oskar Fischer and the study of dementia. *Brain* 132:1102-1111.
- Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA (1989) Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3:519-526.

- Goldgaber D, Lerman MI, McBride WO, Saffiotti U, Gajdusek DC (1987) Isolation, characterization, and chromosomal localization of human brain cDNA clones coding for the precursor of the amyloid of brain in Alzheimer's disease, Down's syndrome and aging. *J Neural Transm Suppl* 24:23-28.
- Gong CX, Shaikh S, Wang JZ, Zaidi T, Grundke-Iqbal I, Iqbal K (1995) Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated tau: decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem* 65:732-738.
- Gonzalez-Scarano F, Baltuch G (1999) Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases. *Annu Rev Neurosci* 22:219-240.
- Goodger ZV, Rajendran L, Trutzel A, Kohli BM, Nitsch RM, Konietzko U (2009) Nuclear signaling by the APP intracellular domain occurs predominantly through the amyloidogenic processing pathway. *J Cell Sci* 122:3703-3714.
- Grabowski TJ, Damasio AR (2013) Atlas of clinical neurology, 2 Edition. Springer New York: Springer Science & Business Media.
- Grady CL, Furey ML, Pietrini P, Horwitz B, Rapoport SI (2001) Altered brain functional connectivity and impaired short-term memory in Alzheimer's disease. *Brain* 124:739-756.
- Graf P, Shimamura AP, Squire LR (1985) Priming across modalities and priming across category levels: extending the domain of preserved function in amnesia. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 11:386-396.
- Grafton ST, Mazziotta JC, Presty S, Friston KJ, Frackowiak RS, Phelps ME (1992) Functional anatomy of human procedural learning determined with regional cerebral blood flow and PET. *J Neurosci* 12:2542-2548.
- Graham DI, Gentleman SM, Nicoll JA, Royston MC, McKenzie JE, Roberts GW, Griffin WS (1996) Altered beta-APP metabolism after head injury and its relationship to the aetiology of Alzheimer's disease. *Acta Neurochir Suppl* 66:96-102.
- Greengard P, Jen J, Nairn AC, Stevens CF (1991) Enhancement of the glutamate response by cAMP-dependent protein kinase in hippocampal neurons. *Science* 253:1135-1138.
- Guenette S, Chang Y, Hiesberger T, Richardson JA, Eckman CB, Eckman EA, Hammer RE, Herz J (2006) Essential roles for the FE65 amyloid precursor protein-interacting proteins in brain development. *EMBO J* 25:420-431.
- Haass C (2004) Take five--BACE and the gamma-secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid beta-peptide generation. *EMBO J* 23:483-488.
- Haass C, Selkoe DJ (1993) Cellular processing of beta-amyloid precursor protein and the genesis of amyloid beta-peptide. *Cell* 75:1039-1042.
- Haass C, Koo EH, Mellon A, Hung AY, Selkoe DJ (1992) Targeting of cell-surface beta-amyloid precursor protein to lysosomes: alternative processing into amyloid-bearing fragments. *Nature* 357:500-503.
- Haass C, Hung AY, Schlossmacher MG, Teplow DB, Selkoe DJ (1993) beta-Amyloid peptide and a 3-kDa fragment are derived by distinct cellular mechanisms. *J Biol Chem* 268:3021-3024.
- Haass C, Lemere CA, Capell A, Citron M, Seubert P, Schenk D, Lannfelt L, Selkoe DJ (1995) The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by beta-secretase cleavage within the secretory pathway. *Nat Med* 1:1291-1296.
- Hanger DP, Hughes K, Woodgett JR, Brion JP, Anderton BH (1992) Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localisation of the kinase. *Neurosci Lett* 147:58-62.
- Harris JA, Devidze N, Halabisky B, Lo I, Thwin MT, Yu GQ, Bredesen DE, Masliah E, Mucke L (2010) Many neuronal and behavioral impairments in transgenic mouse models of Alzheimer's disease are independent of caspase cleavage of the amyloid precursor protein. *J Neurosci* 30:372-381.
- Hartley AA (1992) Attention. *The handbook of aging and cognition*, Salthouse T.A Eds Edition. Hillsdale N.J: Lawrence Erlbaum Associates.

- Hasselmo ME (1999) Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn Sci* 3:351-359.
- Hebb DO (1949) *The organization of behavior : A neuropsychological theory*: Psychology Press.
- Heber S, Herms J, Gajic V, Hainfellner J, Aguzzi A, Rulicke T, von Kretzschmar H, von Koch C, Sisodia S, Tremml P, Lipp HP, Wolfer DP, Muller U (2000) Mice with combined gene knock-outs reveal essential and partially redundant functions of amyloid precursor protein family members. *J Neurosci* 20:7951-7963.
- Herrero I, Miras-Portugal MT, Sanchez-Prieto J (1992) Positive feedback of glutamate exocytosis by metabotropic presynaptic receptor stimulation. *Nature* 360:163-166.
- Hesse L, Behr D, Masters CL, Multhaup G (1994) The beta A4 amyloid precursor protein binding to copper. *FEBS Lett* 349:109-116.
- Heynen AJ, Quinlan EM, Bae DC, Bear MF (2000) Bidirectional, activity-dependent regulation of glutamate receptors in the adult hippocampus in vivo. *Neuron* 28:527-536.
- Higgins LS, Murphy GM, Jr., Forno LS, Catalano R, Cordell B (1996) P3 beta-amyloid peptide has a unique and potentially pathogenic immunohistochemical profile in Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol* 149:585-596.
- Hirsh R (1974) The hippocampus and contextual retrieval of information from memory: a theory. *Behav Biol* 12:421-444.
- Hock C, Konietzko U, Streffer JR, Tracy J, Signorell A, Muller-Tillmanns B, Lemke U, Henke K, Moritz E, Garcia E, Wollmer MA, Umbricht D, de Quervain DJ, Hofmann M, Maddalena A, Papassotiropoulos A, Nitsch RM (2003) Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 38:547-554.
- Hodges JR (2000) *Memory in the dementias*. NY. USA: Oxford University Press.
- Hodges JR, Patterson K (1995) Is semantic memory consistently impaired early in the course of Alzheimer's disease? Neuroanatomical and diagnostic implications. *Neuropsychologia* 33:441-459.
- Hoe HS, Tran TS, Matsuoka Y, Howell BW, Rebeck GW (2006) DAB1 and Reelin effects on amyloid precursor protein and ApoE receptor 2 trafficking and processing. *J Biol Chem* 281:35176-35185.
- Holbro N, Grunditz A, Oertner TG (2009) Differential distribution of endoplasmic reticulum controls metabotropic signaling and plasticity at hippocampal synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:15055-15060.
- Holmes C, Boche D, Wilkinson D, Yadegarfar G, Hopkins V, Bayer A, Jones RW, Bullock R, Love S, Neal JW, Zotova E, Nicoll JA (2008) Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 372:216-223.
- Hong SJ, Lnenicka GA (1997) Characterization of a P-type calcium current in a crayfish motoneuron and its selective modulation by impulse activity. *J Neurophysiol* 77:76-85.
- Hooper C, Killick R, Lovestone S (2008) The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 104:1433-1439.
- Hooper C, Markevich V, Plattner F, Killick R, Schofield E, Engel T, Hernandez F, Anderton B, Rosenblum K, Bliss T, Cooke SF, Avila J, Lucas JJ, Giese KP, Stephenson J, Lovestone S (2007) Glycogen synthase kinase-3 inhibition is integral to long-term potentiation. *Eur J Neurosci* 25:81-86.
- Horie M, Suzuki M, Takahashi E, Tanigami A (1999) Cloning, expression, and chromosomal mapping of the human 14-3-3gamma gene (YWHAG) to 7q11.23. *Genomics* 60:241-243.
- Howell BW, Lanier LM, Frank R, Gertler FB, Cooper JA (1999) The disabled 1 phosphotyrosine-binding domain binds to the internalization signals of transmembrane glycoproteins and to phospholipids. *Mol Cell Biol* 19:5179-5188.

- Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, Yu GQ, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Malenka RC, Nicoll RA, Mucke L (1999) Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3228-3233.
- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G (1996) Correlative memory deficits, A β elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274:99-102.
- Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R (2006) AMPAR removal underlies A β -induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 52:831-843.
- Huang CY, Li YC, Wang HK, Sung PS, Wang LC, Sun YT, Pan CH, Tsai KJ (2015) Stroke suggests increased risk of dementia. *Curr Alzheimer Res* 12:287-295.
- Huang EP (1998) Synaptic plasticity: going through phases with LTP. *Curr Biol* 8:R350-352.
- Huber KM, Kayser MS, Bear MF (2000) Role for rapid dendritic protein synthesis in hippocampal mGluR-dependent long-term depression. *Science* 288:1254-1257.
- Inglis F (2002) The tolerability and safety of cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia. *Int J Clin Pract Suppl*:45-63.
- Iqbal K, Liu F, Gong CX, Grundke-Iqbal I (2010) Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 7:656-664.
- Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Zaidi T, Merz PA, Wen GY, Shaikh SS, Wisniewski HM, Alafuzoff I, Winblad B (1986) Defective brain microtubule assembly in Alzheimer's disease. *Lancet* 2:421-426.
- Jang S-S, Chung HJ (2016) Emerging Link between Alzheimer's Disease and Homeostatic Synaptic Plasticity. *Neural Plasticity* 2016:19.
- Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT, Jr. (1993) The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 32:4693-4697.
- Jayaraman T, Brillantes AM, Timerman AP, Fleischer S, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Marks AR (1992) FK506 binding protein associated with the calcium release channel (ryanodine receptor). *J Biol Chem* 267:9474-9477.
- Jope RS, Johnson GV (2004) The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *Trends Biochem Sci* 29:95-102.
- Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E (2007) Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res* 32:577-595.
- Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R (2003) APP processing and synaptic function. *Neuron* 37:925-937.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ (2012) Principles of neural science: McGraw-Hill Education / Medical.
- Kang H, Schuman EM (1995) Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science* 267:1658-1662.
- Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Muller-Hill B (1987) The precursor of Alzheimer's disease amyloid A β protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 325:733-736.
- Kapur S, Rose R, Liddle PF, Zipursky RB, Brown GM, Stuss D, Houle S, Tulving E (1994) The role of the left prefrontal cortex in verbal processing: semantic processing or willed action? *Neuroreport* 5:2193-2196.
- Kim HS, Kim EM, Lee JP, Park CH, Kim S, Seo JH, Chang KA, Yu E, Jeong SJ, Chong YH, Suh YH (2003) C-terminal fragments of amyloid precursor protein exert neurotoxicity by inducing glycogen synthase kinase-3 β expression. *FASEB J* 17:1951-1953.
- Kim JH, Anwyl R, Suh YH, Djamgoz MB, Rowan MJ (2001) Use-dependent effects of amyloidogenic fragments of (beta)-amyloid precursor protein on synaptic plasticity in rat hippocampus in vivo. *J Neurosci* 21:1327-1333.

- Kimberly WT, Zheng JB, Guenette SY, Selkoe DJ (2001) The intracellular domain of the beta-amyloid precursor protein is stabilized by Fe65 and translocates to the nucleus in a notch-like manner. *J Biol Chem* 276:40288-40292.
- Kintsch W (1967) Memory and decision aspects of recognition learning. *Psychol Rev* 74:496-504.
- Kirov SA, Harris KM (1999) Dendrites are more spiny on mature hippocampal neurons when synapses are inactivated. *Nat Neurosci* 2:878-883.
- Kitamura Y, Miyazaki A, Yamanaka Y, Nomura Y (1993) Stimulatory effects of protein kinase C and calmodulin kinase II on N-methyl-D-aspartate receptor/channels in the postsynaptic density of rat brain. *J Neurochem* 61:100-109.
- Klein RC, Mace BE, Moore SD, Sullivan PM (2010) Progressive loss of synaptic integrity in human apolipoprotein E4 targeted replacement mice and attenuation by apolipoprotein E2. *Neuroscience* 171:1265-1272.
- Klevanski M, Herrmann U, Weyer SW, Fol R, Cartier N, Wolfer DP, Caldwell JH, Korte M, Muller UC (2015) The APP Intracellular Domain Is Required for Normal Synaptic Morphology, Synaptic Plasticity, and Hippocampus-Dependent Behavior. *J Neurosci* 35:16018-16033.
- Kohrmann M, Luo M, Kaether C, DesGroseillers L, Dotti CG, Kiebler MA (1999) Microtubule-dependent recruitment of Staufen-green fluorescent protein into large RNA-containing granules and subsequent dendritic transport in living hippocampal neurons. *Mol Biol Cell* 10:2945-2953.
- Koo EH, Squazzo SL (1994) Evidence that production and release of amyloid beta-protein involves the endocytic pathway. *J Biol Chem* 269:17386-17389.
- Koo EH, Sisodia SS, Archer DR, Martin LJ, Weidemann A, Beyreuther K, Fischer P, Masters CL, Price DL (1990) Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:1561-1565.
- Kopke E, Tung YC, Shaikh S, Alonso AC, Iqbal K, Grundke-Iqbal I (1993) Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *J Biol Chem* 268:24374-24384.
- Kosik KSaC, E. (2010) *The Alzheimer's Solution: How today's care is failing millions - and how we can do better*: Prometheus Books.
- Kounnas MZ, Moir RD, Rebeck GW, Bush AI, Argraves WS, Tanzi RE, Hyman BT, Strickland DK (1995) LDL receptor-related protein, a multifunctional ApoE receptor, binds secreted beta-amyloid precursor protein and mediates its degradation. *Cell* 82:331-340.
- Krause T, Gerbershagen MU, Fiege M, Weisshorn R, Wappler F (2004) Dantrolene--a review of its pharmacology, therapeutic use and new developments. *Anaesthesia* 59:364-373.
- Kuida K, Zheng TS, Na S, Kuan C, Yang D, Karasuyama H, Rakic P, Flavell RA (1996) Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice. *Nature* 384:368-372.
- Kwak YD, Brannen CL, Qu T, Kim HM, Dong X, Soba P, Majumdar A, Kaplan A, Beyreuther K, Sugaya K (2006) Amyloid precursor protein regulates differentiation of human neural stem cells. *Stem Cells Dev* 15:381-389.
- Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, Clemente AS, Velasco PT, Wood M, Viola KL, Klein WL (2007) Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 27:796-807.
- LaDu MJ, Falduto MT, Manelli AM, Reardon CA, Getz GS, Frail DE (1994) Isoform-specific binding of apolipoprotein E to beta-amyloid. *J Biol Chem* 269:23403-23406.
- Lai A, Sisodia SS, Trowbridge IS (1995) Characterization of sorting signals in the beta-amyloid precursor protein cytoplasmic domain. *J Biol Chem* 270:3565-3573.
- Langley JN, Magnus R (1905) Some observations of the movements of the intestine before and after degenerative section of the mesenteric nerves. *J Physiol* 33:34-51.
- Lavenex P, Amaral DG (2000) Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus* 10:420-430.

- Lee MC, Yasuda R, Ehlers MD (2010) Metaplasticity at single glutamatergic synapses. *Neuron* 66:859-870.
- Lee MS, Kao SC, Lemere CA, Xia W, Tseng HC, Zhou Y, Neve R, Ahljianian MK, Tsai LH (2003) APP processing is regulated by cytoplasmic phosphorylation. *J Cell Biol* 163:83-95.
- Lehericy S, Marjanska M, Mesrob L, Sarazin M, Kinkingnehun S (2007) Magnetic resonance imaging of Alzheimer's disease. *Eur Radiol* 17:347-362.
- Leissring MA, Murphy MP, Mead TR, Akbari Y, Sugarman MC, Jannatipour M, Anliker B, Muller U, Saftig P, De Strooper B, Wolfe MS, Golde TE, LaFerla FM (2002) A physiologic signaling role for the gamma -secretase-derived intracellular fragment of APP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:4697-4702.
- Leverenz JB, Raskind MA (1998) Early amyloid deposition in the medial temporal lobe of young Down syndrome patients: a regional quantitative analysis. *Exp Neurol* 150:296-304.
- Li Z, Jo J, Jia JM, Lo SC, Whitcomb DJ, Jiao S, Cho K, Sheng M (2010) Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization. *Cell* 141:859-871.
- Lim J, Balastik M, Lee TH, Nakamura K, Liou YC, Sun A, Finn G, Pastorino L, Lee VM, Lu KP (2008) Pin1 has opposite effects on wild-type and P301L tau stability and tauopathy. *J Clin Invest* 118:1877-1889.
- Linden DE, Bittner RA, Muckli L, Waltz JA, Kriegeskorte N, Goebel R, Singer W, Munk MH (2003) Cortical capacity constraints for visual working memory: dissociation of fMRI load effects in a fronto-parietal network. *Neuroimage* 20:1518-1530.
- Liou YC, Sun A, Ryo A, Zhou XZ, Yu ZX, Huang HK, Uchida T, Bronson R, Bing G, Li X, Hunter T, Lu KP (2003) Role of the prolyl isomerase Pin1 in protecting against age-dependent neurodegeneration. *Nature* 424:556-561.
- Lisman JE (2001) Three Ca²⁺ levels affect plasticity differently: the LTP zone, the LTD zone and no man's land. *J Physiol* 532:285.
- Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX (2005) Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci* 22:1942-1950.
- Liu FL, Liu TY, Kung FL (2014) FKBP12 regulates the localization and processing of amyloid precursor protein in human cell lines. *J Biosci* 39:85-95.
- Liu FL, Liu PH, Shao HW, Kung FL (2006) The intracellular domain of amyloid precursor protein interacts with FKBP12. *Biochem Biophys Res Commun* 350:472-477.
- Liu G (2004) Local structural balance and functional interaction of excitatory and inhibitory synapses in hippocampal dendrites. *Nat Neurosci* 7:373-379.
- Lombino F, Biundo F, Tamayev R, Arancio O, D'Adamio L (2013) An intracellular threonine of amyloid-beta precursor protein mediates synaptic plasticity deficits and memory loss. *PLoS One* 8:e57120.
- Lopera F, Ardilla A, Martinez A, Madrigal L, Arango-Viana JC, Lemere CA, Arango-Lasprilla JC, Hincapie L, Arcos-Burgos M, Ossa JE, Behrens IM, Norton J, Lendon C, Goate AM, Ruiz-Linares A, Rosselli M, Kosik KS (1997) Clinical features of early-onset Alzheimer disease in a large kindred with an E280A presenilin-1 mutation. *JAMA* 277:793-799.
- Lorent K, Overbergh L, Moechars D, De Strooper B, Van Leuven F, Van den Berghe H (1995) Expression in mouse embryos and in adult mouse brain of three members of the amyloid precursor protein family, of the alpha-2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein and of its ligands apolipoprotein E, lipoprotein lipase, alpha-2-macroglobulin and the 40,000 molecular weight receptor-associated protein. *Neuroscience* 65:1009-1025.
- Lorente de No R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the Ammonic system. *J of Psychol Neurol* 46:117-177.

- Lu DC, Shaked GM, Masliah E, Bredesen DE, Koo EH (2003) Amyloid beta protein toxicity mediated by the formation of amyloid-beta protein precursor complexes. *Ann Neurol* 54:781-789.
- Lu DC, Rabizadeh S, Chandra S, Shayya RF, Ellerby LM, Ye X, Salvesen GS, Koo EH, Bredesen DE (2000) A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid beta-protein precursor. *Nat Med* 6:397-404.
- Lu KP, Hanes SD, Hunter T (1996) A human peptidyl-prolyl isomerase essential for regulation of mitosis. *Nature* 380:544-547.
- Lu PJ, Wulf G, Zhou XZ, Davies P, Lu KP (1999) The prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein. *Nature* 399:784-788.
- Lucas JJ, Hernandez F, Gomez-Ramos P, Moran MA, Hen R, Avila J (2001) Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice. *EMBO J* 20:27-39.
- Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R (2004) Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 63:1187-1192.
- Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, Beach T, Kurth JH, Rydel RE, Rogers J (1999) Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 155:853-862.
- Lupien SJ, de Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NP, Thakur M, McEwen BS, Hauger RL, Meaney MJ (1998) Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nat Neurosci* 1:69-73.
- Luscher C, Huber KM (2010) Group 1 mGluR-dependent synaptic long-term depression: mechanisms and implications for circuitry and disease. *Neuron* 65:445-459.
- Luscher C, Malenka RC (2012) NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4.
- Lynch G, Larson J, Kelso S, Barrionuevo G, Schottler F (1983) Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 305:719-721.
- Ma SL, Pastorino L, Zhou XZ, Lu KP (2012) Prolyl isomerase Pin1 promotes amyloid precursor protein (APP) turnover by inhibiting glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) activity: novel mechanism for Pin1 to protect against Alzheimer disease. *J Biol Chem* 287:6969-6973.
- Malenka RC, Nicoll RA (1993) NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci* 16:521-527.
- Malinow R, Malenka RC (2002) AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 25:103-126.
- Mann DM (1988) The pathological association between Down syndrome and Alzheimer disease. *Mech Ageing Dev* 43:99-136.
- Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 262:23-81.
- Marsolek CJ, Kosslyn SM, Squire LR (1992) Form-specific visual priming in the right cerebral hemisphere. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 18:492-508.
- Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y, Jayaraman T, Burkhoff D, Roseblit N, Marks AR (2000) PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* 101:365-376.
- Masliah E, Mallory M, Alford M, DeTeresa R, Hansen LA, McKeel DW, Jr., Morris JC (2001) Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology* 56:127-129.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K (1985) Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:4245-4249.

- Masumiya H, Wang R, Zhang J, Xiao B, Chen SR (2003) Localization of the 12.6-kDa FK506-binding protein (FKBP12.6) binding site to the NH₂-terminal domain of the cardiac Ca²⁺ release channel (ryanodine receptor). *J Biol Chem* 278:3786-3792.
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE (1992) beta-Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *J Neurosci* 12:376-389.
- Mattson MP, Cheng B, Culwell AR, Esch FS, Lieberburg I, Rydel RE (1993) Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the beta-amyloid precursor protein. *Neuron* 10:243-254.
- Mattson MP, LaFerla FM, Chan SL, Leissring MA, Shepel PN, Geiger JD (2000) Calcium signaling in the ER: its role in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 23:222-229.
- Mayer ML, Westbrook GL (1987) The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Prog Neurobiol* 28:197-276.
- McGeer PL, McGeer EG (1998) Mechanisms of cell death in Alzheimer disease--immunopathology. *J Neural Transm Suppl* 54:159-166.
- Meffert MK, Chang JM, Wiltgen BJ, Fanselow MS, Baltimore D (2003) NF-kappa B functions in synaptic signaling and behavior. *Nat Neurosci* 6:1072-1078.
- Megill A, Tran T, Eldred K, Lee NJ, Wong PC, Hoe HS, Kirkwood A, Lee HK (2015) Defective Age-Dependent Metaplasticity in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci* 35:11346-11357.
- Meldolesi J (2002) Rapidly exchanging Ca(2+) stores: ubiquitous partners of surface channels in neurons. *News Physiol Sci* 17:144-149.
- Milward EA, Papadopoulos R, Fuller SJ, Moir RD, Small D, Beyreuther K, Masters CL (1992) The amyloid protein precursor of Alzheimer's disease is a mediator of the effects of nerve growth factor on neurite outgrowth. *Neuron* 9:129-137.
- Miyake K (1906) Beiträge zur Kenntnis der Altersveränderungen der menschlichen Hirnrinde. *Obersteiner's Arb*:212-259.
- Molnar Z, Soos K, Lengyel I, Penke B, Szegedi V, Budai D (2004) Enhancement of NMDA responses by beta-amyloid peptides in the hippocampus in vivo. *Neuroreport* 15:1649-1652.
- Mondragon-Rodriguez S, Trillaud-Doppia E, Dudilot A, Bourgeois C, Lauzon M, Leclerc N, Boehm J (2012) Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *J Biol Chem* 287:32040-32053.
- Mori H, Takio K, Ogawara M, Selkoe DJ (1992) Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 267:17082-17086.
- Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11:47-60.
- Morris RG (1989) Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *J Neurosci* 9:3040-3057.
- Moss SJ, Blackstone CD, Haganir RL (1993) Phosphorylation of recombinant non-NMDA glutamate receptors on serine and tyrosine residues. *Neurochem Res* 18:105-110.
- Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Johnson-Wood K, McConlogue L (2000) High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J Neurosci* 20:4050-4058.
- Mulkey RM, Malenka RC (1992) Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9:967-975.
- Mulkey RM, Endo S, Shenolikar S, Malenka RC (1994) Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369:486-488.

- Muller T, Meyer HE, Egensperger R, Marcus K (2008) The amyloid precursor protein intracellular domain (AICD) as modulator of gene expression, apoptosis, and cytoskeletal dynamics—relevance for Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 85:393-406.
- Multhaup G (1994) Identification and regulation of the high affinity binding site of the Alzheimer's disease amyloid protein precursor (APP) to glycosaminoglycans. *Biochimie* 76:304-311.
- Musa A, Lehrach H, Russo VA (2001) Distinct expression patterns of two zebrafish homologues of the human APP gene during embryonic development. *Dev Genes Evol* 211:563-567.
- Nabavi S, Kessels HW, Alfonso S, Aow J, Fox R, Malinow R (2013) Metabotropic NMDA receptor function is required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:4027-4032.
- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY, Malinow R (2014) Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511:348-352.
- Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: computational, neuroimaging, and neuropsychological results. *Hippocampus* 10:352-368.
- Naslund J, Schierhorn A, Hellman U, Lannfelt L, Roses AD, Tjernberg LO, Silberring J, Gandy SE, Winblad B, Greengard P, et al. (1994) Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:8378-8382.
- Nestor PJ, Balan K, Cheow HK, Fryer TD, Knibb JA, Xuereb JH, Hodges JR (2007) Nuclear imaging can predict pathologic diagnosis in progressive nonfluent aphasia. *Neurology* 68:238-239.
- Neve RL, Finch EA, Dawes LR (1988) Expression of the Alzheimer amyloid precursor gene transcripts in the human brain. *Neuron* 1:669-677.
- Nhan HS, Chiang K, Koo EH (2015) The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta Neuropathol* 129:1-19.
- Ni CY, Murphy MP, Golde TE, Carpenter G (2001) gamma -Secretase cleavage and nuclear localization of ErbB-4 receptor tyrosine kinase. *Science* 294:2179-2181.
- Nicholson-Fish JC, Cousin MA, Smillie KJ (2015) Phosphatidylinositol 3-Kinase Couples Localised Calcium Influx to Activation of Akt in Central Nerve Terminals. *Neurochem Res*.
- Nicoll RA, Schmitz D (2005) Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nat Rev Neurosci* 6:863-876.
- Nijhawan D, Honarpour N, Wang X (2000) Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci* 23:73-87.
- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408:584-588.
- Norbury CJ, Hickson ID (2001) Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41:367-401.
- Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbert A, Prochiantz A (1984) Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 307:462-465.
- O'Brien RJ, Kamboj S, Ehlers MD, Rosen KR, Fischbach GD, Huganir RL (1998) Activity-dependent modulation of synaptic AMPA receptor accumulation. *Neuron* 21:1067-1078.
- O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34:171-175.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Clarendon Press.
- O'Mara SM, Rowan MJ, Anwyl R (1995) Dantrolene inhibits long-term depression and depotentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. *Neuroscience* 68:621-624.
- Ogawa Y, Kurebayashi N, Murayama T (1999) Ryanodine receptor isoforms in excitation-contraction coupling. *Adv Biophys* 36:27-64.
- Ogawa Y, Kurebayashi N, Murayama T (2000) Putative roles of type 3 ryanodine receptor isoforms (RyR3). *Trends Cardiovasc Med* 10:65-70.
- Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 18:969-982.

- Olsson F, Schmidt S, Althoff V, Munter LM, Jin S, Rosqvist S, Lendahl U, Multhaup G, Lundkvist J (2014) Characterization of intermediate steps in amyloid beta (A β) production under near-native conditions. *J Biol Chem* 289:1540-1550.
- Opendakker G, Rudd PM, Ponting CP, Dwek RA (1993) Concepts and principles of glycobiology. *FASEB J* 7:1330-1337.
- Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, Laurent B, Puel M, Kirby LC, Jouanny P, Dubois B, Eisner L, Flitman S, Michel BF, Boada M, Frank A, Hock C (2003) Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A β 42 immunization. *Neurology* 61:46-54.
- Osten P, Valsamis L, Harris A, Sacktor TC (1996) Protein synthesis-dependent formation of protein kinase Mzeta in long-term potentiation. *J Neurosci* 16:2444-2451.
- Pardossi-Piquard R, Checler F (2012) The physiology of the beta-amyloid precursor protein intracellular domain AICD. *J Neurochem* 120 Suppl 1:109-124.
- Park JM, Hu JH, Milshcheyn A, Zhang PW, Moore CG, Park S, Datko MC, Domingo RD, Reyes CM, Wang XJ, Etkorn FA, Xiao B, Szumlinski KK, Kern D, Linden DJ, Worley PF (2013) A prolyl-isomerase mediates dopamine-dependent plasticity and cocaine motor sensitization. *Cell* 154:637-650.
- Park SA, Shaked GM, Bredesen DE, Koo EH (2009) Mechanism of cytotoxicity mediated by the C31 fragment of the amyloid precursor protein. *Biochem Biophys Res Commun* 388:450-455.
- Parra P, Gulyas AI, Miles R (1998) How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* 20:983-993.
- Pascual-Leone A, Grafman J, Hallett M (1994) Modulation of cortical motor output maps during development of implicit and explicit knowledge. *Science* 263:1287-1289.
- Pastorino L, Ma SL, Balastik M, Huang P, Pandya D, Nicholson L, Lu KP (2012) Alzheimer's disease-related loss of Pin1 function influences the intracellular localization and the processing of A β PP. *J Alzheimers Dis* 30:277-297.
- Pastorino L, Sun A, Lu PJ, Zhou XZ, Balastik M, Finn G, Wulf G, Lim J, Li SH, Li X, Xia W, Nicholson LK, Lu KP (2006) The prolyl isomerase Pin1 regulates amyloid precursor protein processing and amyloid-beta production. *Nature* 440:528-534.
- Pavlov IP (1951) [Conditioned reflex]. *Feldsher Akush* 11:6-12.
- Pei JJ, Tanaka T, Tung YC, Braak E, Iqbal K, Grundke-Iqbal I (1997) Distribution, levels, and activity of glycogen synthase kinase-3 in the Alzheimer disease brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:70-78.
- Peineau S, Taghibiglou C, Bradley C, Wong TP, Liu L, Lu J, Lo E, Wu D, Saule E, Bouschet T, Matthews P, Isaac JT, Bortolotto ZA, Wang YT, Collingridge GL (2007) LTP inhibits LTD in the hippocampus via regulation of GSK3 β . *Neuron* 53:703-717.
- Perez-Otano I, Ehlers MD (2005) Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci* 28:229-238.
- Perez RG, Zheng H, Van der Ploeg LH, Koo EH (1997) The beta-amyloid precursor protein of Alzheimer's disease enhances neuron viability and modulates neuronal polarity. *J Neurosci* 17:9407-9414.
- Perez RG, Soriano S, Hayes JD, Ostaszewski B, Xia W, Selkoe DJ, Chen X, Stokin GB, Koo EH (1999) Mutagenesis identifies new signals for beta-amyloid precursor protein endocytosis, turnover, and the generation of secreted fragments, including A β 42. *J Biol Chem* 274:18851-18856.
- Pimplikar SW, Suryanarayana A (2011) Detection of APP intracellular domain in brain tissue. *Methods Mol Biol* 670:85-91.
- Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Foss D, Mahley RW (1987) Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 917:148-161.
- Poisbeau P, Cheney MC, Browning MD, Mody I (1999) Modulation of synaptic GABA A receptor function by PKA and PKC in adult hippocampal neurons. *J Neurosci* 19:674-683.

- Ponte P, Gonzalez-DeWhitt P, Schilling J, Miller J, Hsu D, Greenberg B, Davis K, Wallace W, Lieberburg I, Fuller F (1988) A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors. *Nature* 331:525-527.
- Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretzschmar HA, Herms J (2006) Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *J Neurosci* 26:7212-7221.
- Quinlan EM, Philpot BD, Huganir RL, Bear MF (1999) Rapid, experience-dependent expression of synaptic NMDA receptors in visual cortex in vivo. *Nat Neurosci* 2:352-357.
- Rajmohan V, Mohandas E (2007) The limbic system. *Indian J Psychiatry* 49:132-139.
- Rall SC, Jr., Weisgraber KH, Mahley RW (1982) Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *J Biol Chem* 257:4171-4178.
- Ramon y Cajal S (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme & des vertébrés*. Paris: A. Maloine.
- Ranganathan R, Lu KP, Hunter T, Noel JP (1997) Structural and functional analysis of the mitotic rotamase Pin1 suggests substrate recognition is phosphorylation dependent. *Cell* 89:875-886.
- Rao A, Craig AM (1997) Activity regulates the synaptic localization of the NMDA receptor in hippocampal neurons. *Neuron* 19:801-812.
- Raschetti R, Maggini M, Sorrentino GC, Martini N, Caffari B, Vanacore N (2005) A cohort study of effectiveness of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 61:361-368.
- Rebola N, Lujan R, Cunha RA, Mulle C (2008) Adenosine A2A receptors are essential for long-term potentiation of NMDA-EPSCs at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron* 57:121-134.
- Rebola N, Carta M, Lanore F, Blanchet C, Mulle C (2011) NMDA receptor-dependent metaplasticity at hippocampal mossy fiber synapses. *Nat Neurosci* 14:691-693.
- Redlich E (1898) Ueber miliare sklerose der Hirnrinde bei seniler Atrophie. *Jahrbucher F Psych u Neurol*:208-216.
- Reitz C, Tang MX, Manly J, Mayeux R, Luchsinger JA (2007) Hypertension and the risk of mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 64:1734-1740.
- Remondes M, Schuman EM (2003) Molecular mechanisms contributing to long-lasting synaptic plasticity at the temporoammonic-CA1 synapse. *Learn Mem* 10:247-252.
- Reyes M, Stanton PK (1996) Induction of hippocampal long-term depression requires release of Ca²⁺ from separate presynaptic and postsynaptic intracellular stores. *J Neurosci* 16:5951-5960.
- Riedel G, Platt B, Micheau J (2003) Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res* 140:1-47.
- Rivner MH, Swift TR, Malik K (2001) Influence of age and height on nerve conduction. *Muscle Nerve* 24:1134-1141.
- Robakis NK (1994) Beta-Amyloid and amyloid precursor protein: chemistry, molecular biology, and neuropathology. In: *Alzheimer Disease* (Terry R.D. KR, and Hick K. L., eds, ed), pp 317-326. New York: Raven Press.
- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, Holman K, Tsuda T, et al. (1995) Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 376:775-778.
- Rong R, Ahn JY, Huang H, Nagata E, Kalman D, Kapp JA, Tu J, Worley PF, Snyder SH, Ye K (2003) PI3 kinase enhancer-Homer complex couples mGluRI to PI3 kinase, preventing neuronal apoptosis. *Nat Neurosci* 6:1153-1161.
- Rosen DR, Martin-Morris L, Luo LQ, White K (1989) A Drosophila gene encoding a protein resembling the human beta-amyloid protein precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:2478-2482.
- Rossjohn J, Cappai R, Feil SC, Henry A, McKinstry WJ, Galatis D, Hesse L, Multhaup G, Beyreuther K, Masters CL, Parker MW (1999) Crystal structure of the N-terminal, growth factor-like domain of Alzheimer amyloid precursor protein. *Nat Struct Biol* 6:327-331.
- Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, Le Meur N, Laquerriere A, Vital A, Dumanchin C, Feuillette S, Brice A, Vercelletto M, Dubas F, Frebourg T, Campion D (2006) APP locus duplication

- causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* 38:24-26.
- Russo C, Salis S, Dolcini V, Venezia V, Song XH, Teller JK, Schettini G (2001) Amino-terminal modification and tyrosine phosphorylation of [corrected] carboxy-terminal fragments of the amyloid precursor protein in Alzheimer's disease and Down's syndrome brain. *Neurobiol Dis* 8:173-180.
- Rutherford LC, Nelson SB, Turrigiano GG (1998) BDNF has opposite effects on the quantal amplitude of pyramidal neuron and interneuron excitatory synapses. *Neuron* 21:521-530.
- Ryan KA, Pimplikar SW (2005) Activation of GSK-3 and phosphorylation of CRMP2 in transgenic mice expressing APP intracellular domain. *J Cell Biol* 171:327-335.
- Sabo SL, Ikin AF, Buxbaum JD, Greengard P (2001) The Alzheimer amyloid precursor protein (APP) and FE65, an APP-binding protein, regulate cell movement. *J Cell Biol* 153:1403-1414.
- Saganich MJ, Schroeder BE, Galvan V, Bredesen DE, Koo EH, Heinemann SF (2006) Deficits in synaptic transmission and learning in amyloid precursor protein (APP) transgenic mice require C-terminal cleavage of APP. *J Neurosci* 26:13428-13436.
- Saitoh T, Sundsmo M, Roch JM, Kimura N, Cole G, Schubert D, Oltersdorf T, Schenk DB (1989) Secreted form of amyloid beta protein precursor is involved in the growth regulation of fibroblasts. *Cell* 58:615-622.
- Salbaum JM, Ruddle FH (1994) Embryonic expression pattern of amyloid protein precursor suggests a role in differentiation of specific subsets of neurons. *J Exp Zool* 269:116-127.
- Sanan DA, Weisgraber KH, Russell SJ, Mahley RW, Huang D, Saunders A, Schmechel D, Wisniewski T, Frangione B, Roses AD, et al. (1994) Apolipoprotein E associates with beta amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. Isoform apoE4 associates more efficiently than apoE3. *J Clin Invest* 94:860-869.
- Sans N, Vissel B, Petralia RS, Wang YX, Chang K, Royle GA, Wang CY, O'Gorman S, Heinemann SF, Wenthold RJ (2003) Aberrant formation of glutamate receptor complexes in hippocampal neurons of mice lacking the GluR2 AMPA receptor subunit. *J Neurosci* 23:9367-9373.
- Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, et al. (1993) Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 43:1467-1472.
- Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F, Rouger H, Froguel P, Lesueur-Ginot L, Cohen D (1994) Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nat Genet* 6:29-32.
- Schacter DL (1987) Implicit expressions of memory in organic amnesia: learning of new facts and associations. *Hum Neurobiol* 6:107-118.
- Scheinfeld MH, Matsuda S, D'Adamio L (2003) JNK-interacting protein-1 promotes transcription of A beta protein precursor but not A beta precursor-like proteins, mechanistically different than Fe65. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1729-1734.
- Scheinfeld MH, Ghersi E, Laky K, Fowlkes BJ, D'Adamio L (2002) Processing of beta-amyloid precursor-like protein-1 and -2 by gamma-secretase regulates transcription. *J Biol Chem* 277:44195-44201.
- Schmid FX (1995) Protein folding. Prolyl isomerases join the fold. *Curr Biol* 5:993-994.
- Schnapp BJ, Vale RD, Sheetz MP, Reese TS (1985) Single microtubules from squid axoplasm support bidirectional movement of organelles. *Cell* 40:455-462.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20:11-21.
- Selkoe DJ (1993) Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 16:403-409.
- Selkoe DJ (2001) Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81:741-766.
- Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298:789-791.

- Selkoe DJ, Schenk D (2003) Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43:545-584.
- Sepulveda-Falla D, Glatzel M, Lopera F (2012) Phenotypic profile of early-onset familial Alzheimer's disease caused by presenilin-1 E280A mutation. *J Alzheimers Dis* 32:1-12.
- Shah S, Lee SF, Tabuchi K, Hao YH, Yu C, LaPlant Q, Ball H, Dann CE, 3rd, Sudhof T, Yu G (2005) Nicastrin functions as a gamma-secretase-substrate receptor. *Cell* 122:435-447.
- Shariati SA, De Strooper B (2013) Redundancy and divergence in the amyloid precursor protein family. *FEBS Lett* 587:2036-2045.
- Sharp AH, McPherson PS, Dawson TM, Aoki C, Campbell KP, Snyder SH (1993) Differential immunohistochemical localization of inositol 1,4,5-trisphosphate- and ryanodine-sensitive Ca²⁺ release channels in rat brain. *J Neurosci* 13:3051-3063.
- Shen J, Bronson RT, Chen DF, Xia W, Selkoe DJ, Tonegawa S (1997) Skeletal and CNS defects in Presenilin-1-deficient mice. *Cell* 89:629-639.
- Sherrington CS (1906) Observations on the scratch-reflex in the spinal dog. *J Physiol* 34:1-50.
- Shigemoto R, Kinoshita A, Wada E, Nomura S, Ohishi H, Takada M, Flor PJ, Neki A, Abe T, Nakanishi S, Mizuno N (1997) Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J Neurosci* 17:7503-7522.
- Shin RW, Ogino K, Shimabuku A, Taki T, Nakashima H, Ishihara T, Kitamoto T (2007) Amyloid precursor protein cytoplasmic domain with phospho-Thr668 accumulates in Alzheimer's disease and its transgenic models: a role to mediate interaction of Abeta and tau. *Acta Neuropathol* 113:627-636.
- Shrestha BR, Vitolo OV, Joshi P, Lordkipanidze T, Shelanski M, Dunaevsky A (2006) Amyloid beta peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 33:274-282.
- Simpson PB, Challiss RA, Nahorski SR (1995) Neuronal Ca²⁺ stores: activation and function. *Trends Neurosci* 18:299-306.
- Sisodia SS (1992) Beta-amyloid precursor protein cleavage by a membrane-bound protease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:6075-6079.
- Skinner BF (1935) Two types of conditioned reflex and a pseudo type. *The Journal of General Psychology* 12:66-77.
- Skinner BF, Campbell SL (1947) An automatic shocking-grid apparatus for continuous use. *J Comp Physiol Psychol* 40:305-307.
- Slunt HH, Thinakaran G, Von Koch C, Lo AC, Tanzi RE, Sisodia SS (1994) Expression of a ubiquitous, cross-reactive homologue of the mouse beta-amyloid precursor protein (APP). *J Biol Chem* 269:2637-2644.
- Small DH, Nurcombe V, Reed G, Clarris H, Moir R, Beyreuther K, Masters CL (1994) A heparin-binding domain in the amyloid protein precursor of Alzheimer's disease is involved in the regulation of neurite outgrowth. *J Neurosci* 14:2117-2127.
- Snape MF, Misra A, Murray TK, De Souza RJ, Williams JL, Cross AJ, Green AR (1999) A comparative study in rats of the in vitro and in vivo pharmacology of the acetylcholinesterase inhibitors tacrine, donepezil and NXX-066. *Neuropharmacology* 38:181-193.
- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci* 8:1051-1058.
- Soba P, Eggert S, Wagner K, Zentgraf H, Siehl K, Kreger S, Lower A, Langer A, Merdes G, Paro R, Masters CL, Muller U, Kins S, Beyreuther K (2005) Homo- and heterodimerization of APP family members promotes intercellular adhesion. *EMBO J* 24:3624-3634.
- Solomon PR, Stowe GT, Pendlbeury WW (1989) Disrupted eyelid conditioning in a patient with damage to cerebellar afferents. *Behav Neurosci* 103:898-902.

- Sommer B, Kohler M, Sprengel R, Seeburg PH (1991) RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* 67:11-19.
- Squire LR, Zola-Morgan S (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* 253:1380-1386.
- Steiner JP, Dawson TM, Fotuhi M, Glatt CE, Snowman AM, Cohen N, Snyder SH (1992) High brain densities of the immunophilin FKBP colocalized with calcineurin. *Nature* 358:584-587.
- Stutzmann GE, Smith I, Caccamo A, Oddo S, Laferla FM, Parker I (2006) Enhanced ryanodine receptor recruitment contributes to Ca²⁺ disruptions in young, adult, and aged Alzheimer's disease mice. *J Neurosci* 26:5180-5189.
- Sumioka A, Nagaishi S, Yoshida T, Lin A, Miura M, Suzuki T (2005) Role of 14-3-3gamma in FE65-dependent gene transactivation mediated by the amyloid beta-protein precursor cytoplasmic fragment. *J Biol Chem* 280:42364-42374.
- Supnet C, Grant J, Kong H, Westaway D, Mayne M (2006) Amyloid-beta-(1-42) increases ryanodine receptor-3 expression and function in neurons of TgCRND8 mice. *J Biol Chem* 281:38440-38447.
- Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L, Jr., Eckman C, Golde TE, Younkin SG (1994) An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science* 264:1336-1340.
- Takami M, Nagashima Y, Sano Y, Ishihara S, Morishima-Kawashima M, Funamoto S, Ihara Y (2009) gamma-Secretase: successive tripeptide and tetrapeptide release from the transmembrane domain of beta-carboxyl terminal fragment. *J Neurosci* 29:13042-13052.
- Takashima A, Noguchi K, Michel G, Mercken M, Hoshi M, Ishiguro K, Imahori K (1996) Exposure of rat hippocampal neurons to amyloid beta peptide (25-35) induces the inactivation of phosphatidylinositol-3 kinase and the activation of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta. *Neurosci Lett* 203:33-36.
- Takeuchi A, Takeuchi N (1967) Anion permeability of the inhibitory post-synaptic membrane of the crayfish neuromuscular junction. *J Physiol* 191:575-590.
- Tamayev R, Zhou D, D'Adamio L (2009) The interactome of the amyloid beta precursor protein family members is shaped by phosphorylation of their intracellular domains. *Mol Neurodegener* 4:28.
- Tamburri A, Dudilot A, Licca S, Bourgeois C, Boehm J (2013) NMDA-receptor activation but not ion flux is required for amyloid-beta induced synaptic depression. *PLoS One* 8:e65350.
- Tan SE, Wenthold RJ, Soderling TR (1994) Phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci* 14:1123-1129.
- Tanaka T, Saito H, Matsuki N (1997) Inhibition of GABAA synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat hippocampus. *J Neurosci* 17:2959-2966.
- Tarr PE, Roncarati R, Pelicci G, Pelicci PG, D'Adamio L (2002) Tyrosine phosphorylation of the beta-amyloid precursor protein cytoplasmic tail promotes interaction with Shc. *J Biol Chem* 277:16798-16804.
- Taylor CW, Laude AJ (2002) IP3 receptors and their regulation by calmodulin and cytosolic Ca²⁺. *Cell Calcium* 32:321-334.
- Tenneti L, Lipton SA (2000) Involvement of activated caspase-3-like proteases in N-methyl-D-aspartate-induced apoptosis in cerebrocortical neurons. *J Neurochem* 74:134-142.
- Terasaki M, Slater NT, Fein A, Schmidek A, Reese TS (1994) Continuous network of endoplasmic reticulum in cerebellar Purkinje neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:7510-7514.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 30:572-580.
- Texido L, Martin-Satue M, Alberdi E, Solsona C, Matute C (2011) Amyloid beta peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium* 49:184-190.

- Thompson RF, Spencer WA (1966) Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol Rev* 73:16-43.
- Thompson RF, Krupa DJ (1994) Organization of memory traces in the mammalian brain. *Annu Rev Neurosci* 17:519-549.
- Thompson S, Lanctot KL, Herrmann N (2004) The benefits and risks associated with cholinesterase inhibitor therapy in Alzheimer's disease. *Expert Opin Drug Saf* 3:425-440.
- Timerman AP, Onoue H, Xin HB, Barg S, Copello J, Wiederrecht G, Fleischer S (1996) Selective binding of FKBP12.6 by the cardiac ryanodine receptor. *J Biol Chem* 271:20385-20391.
- Tolman EC, Honzik CH (1930) Introduction and removal of reward, and maze performance in rats: University of California Press.
- Trillaud-Doppia E, Paradis-Isler N, Boehm J (2016) A single amino acid difference between the intracellular domains of amyloid precursor protein and amyloid-like precursor protein 2 enables induction of synaptic depression and block of long-term potentiation. *Neurobiol Dis* 91:94-104.
- Troussard AA, Tan C, Yoganathan TN, Dedhar S (1999) Cell-extracellular matrix interactions stimulate the AP-1 transcription factor in an integrin-linked kinase- and glycogen synthase kinase 3-dependent manner. *Mol Cell Biol* 19:7420-7427.
- Tu JC, Xiao B, Yuan JP, Lanahan AA, Leoffert K, Li M, Linden DJ, Worley PF (1998) Homer binds a novel proline-rich motif and links group 1 metabotropic glutamate receptors with IP3 receptors. *Neuron* 21:717-726.
- Tulving E (1972) *Episodic and semantic memory*. New-york and London: Academic press.
- Tulving E (1983) *Elements of episodic memory*. Oxford: Clarendon.
- Tulving E (1987) Multiple memory systems and consciousness. *Hum Neurobiol* 6:67-80.
- Tulving E, Kapur S, Markowitsch HJ, Craik FI, Habib R, Houle S (1994) Neuroanatomical correlates of retrieval in episodic memory: auditory sentence recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:2012-2015.
- Turenne GA, Price BD (2001) Glycogen synthase kinase3 beta phosphorylates serine 33 of p53 and activates p53's transcriptional activity. *BMC Cell Biol* 2:12.
- Turrigiano G, Abbott LF, Marder E (1994) Activity-dependent changes in the intrinsic properties of cultured neurons. *Science* 264:974-977.
- Turrigiano GG (1999) Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same. *Trends Neurosci* 22:221-227.
- Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB (1998) Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 391:892-896.
- Uncapher MR, Rugg MD (2005) Effects of divided attention on fMRI correlates of memory encoding. *J Cogn Neurosci* 17:1923-1935.
- Unni VK, Zakharenko SS, Zablow L, DeCostanzo AJ, Siegelbaum SA (2004) Calcium release from presynaptic ryanodine-sensitive stores is required for long-term depression at hippocampal CA3-CA3 pyramidal neuron synapses. *J Neurosci* 24:9612-9622.
- Vale RD, Reese TS, Sheetz MP (1985) Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility. *Cell* 42:39-50.
- Van Acker K, Bultynck G, Rossi D, Sorrentino V, Boens N, Missiaen L, De Smedt H, Parys JB, Callewaert G (2004) The 12 kDa FK506-binding protein, FKBP12, modulates the Ca(2+)-flux properties of the type-3 ryanodine receptor. *J Cell Sci* 117:1129-1137.
- Van Nostrand WE, Schmaier AH, Farrow JS, Cunningham DD (1991) Platelet protease nexin-2/amyloid beta-protein precursor. Possible pathologic and physiologic functions. *Ann N Y Acad Sci* 640:140-144.
- Vazdarjanova A, McNaughton BL, Barnes CA, Worley PF, Guzowski JF (2002) Experience-dependent coincident expression of the effector immediate-early genes arc and Homer 1a in hippocampal and neocortical neuronal networks. *J Neurosci* 22:10067-10071.

- Venugopal C, Pappolla MA, Sambamurti K (2007) Insulysin cleaves the APP cytoplasmic fragment at multiple sites. *Neurochem Res* 32:2225-2234.
- von Koch CS, Zheng H, Chen H, Trumbauer M, Thinakaran G, van der Ploeg LH, Price DL, Sisodia SS (1997) Generation of APLP2 KO mice and early postnatal lethality in APLP2/APP double KO mice. *Neurobiol Aging* 18:661-669.
- von Rotz RC, Kohli BM, Bosset J, Meier M, Suzuki T, Nitsch RM, Konietzko U (2004) The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *J Cell Sci* 117:4435-4448.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ (2002) Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416:535-539.
- Wang JZ, Xia YY, Grundke-Iqbal I, Iqbal K (2013) Abnormal hyperphosphorylation of tau: sites, regulation, and molecular mechanism of neurofibrillary degeneration. *J Alzheimers Dis* 33 Suppl 1:S123-139.
- Wang T, Donahoe PK (2004) The immunophilin FKBP12: a molecular guardian of the TGF-beta family type I receptors. *Front Biosci* 9:619-631.
- Wang YT, Salter MW (1994) Regulation of NMDA receptors by tyrosine kinases and phosphatases. *Nature* 369:233-235.
- Wasco W, Gurubhagavatula S, Paradis MD, Romano DM, Sisodia SS, Hyman BT, Neve RL, Tanzi RE (1993) Isolation and characterization of APLP2 encoding a homologue of the Alzheimer's associated amyloid beta protein precursor. *Nat Genet* 5:95-100.
- Weidemann A, Paliga K, Durrwang U, Reinhard FB, Schuckert O, Evin G, Masters CL (1999) Proteolytic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein within its cytoplasmic domain by caspase-like proteases. *J Biol Chem* 274:5823-5829.
- Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW (1975) A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72:1858-1862.
- Welsh GI, Proud CG (1993) Glycogen synthase kinase-3 is rapidly inactivated in response to insulin and phosphorylates eukaryotic initiation factor eIF-2B. *Biochem J* 294 (Pt 3):625-629.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093-1097.
- Wierenga CJ, Walsh MF, Turrigiano GG (2006) Temporal regulation of the expression locus of homeostatic plasticity. *J Neurophysiol* 96:2127-2133.
- Wilson MA, McNaughton BL (1994) Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265:676-679.
- Wolfe MS, Xia W, Ostaszewski BL, Diehl TS, Kimberly WT, Selkoe DJ (1999) Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma-secretase activity. *Nature* 398:513-517.
- Xia W, Zhang J, Kholodenko D, Citron M, Podlisny MB, Teplow DB, Haass C, Seubert P, Koo EH, Selkoe DJ (1997) Enhanced production and oligomerization of the 42-residue amyloid beta-protein by Chinese hamster ovary cells stably expressing mutant presenilins. *J Biol Chem* 272:7977-7982.
- Yakel JL, Vissavajhala P, Derkach VA, Brickey DA, Soderling TR (1995) Identification of a Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulatory phosphorylation site in non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:1376-1380.
- Yamada KM, Spooner BS, Wessells NK (1970) Axon growth: roles of microfilaments and microtubules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 66:1206-1212.
- Yang K, Trepanier C, Sidhu B, Xie YF, Li H, Lei G, Salter MW, Orser BA, Nakazawa T, Yamamoto T, Jackson MF, Macdonald JF (2012) Metaplasticity gated through differential regulation of GluN2A versus GluN2B receptors by Src family kinases. *EMBO J* 31:805-816.

- Yang SN, Tang YG, Zucker RS (1999) Selective induction of LTP and LTD by postsynaptic $[Ca^{2+}]_i$ elevation. *J Neurophysiol* 81:781-787.
- Yeung LC, Shouval HZ, Blais BS, Cooper LN (2004) Synaptic homeostasis and input selectivity follow from a calcium-dependent plasticity model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14943-14948.
- Young-Pearse TL, Bai J, Chang R, Zheng JB, LoTurco JJ, Selkoe DJ (2007) A critical function for beta-amyloid precursor protein in neuronal migration revealed by in utero RNA interference. *J Neurosci* 27:14459-14469.
- Yu C, Kim SH, Ikeuchi T, Xu H, Gasparini L, Wang R, Sisodia SS (2001) Characterization of a presenilin-mediated amyloid precursor protein carboxyl-terminal fragment gamma. Evidence for distinct mechanisms involved in gamma-secretase processing of the APP and Notch1 transmembrane domains. *J Biol Chem* 276:43756-43760.
- Zalutsky RA, Nicoll RA (1990) Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science* 248:1619-1624.
- Zambrano N, Minopoli G, de Candia P, Russo T (1998) The Fe65 adaptor protein interacts through its PID1 domain with the transcription factor CP2/LSF/LBP1. *J Biol Chem* 273:20128-20133.
- Zhang J, Liu Z, Masumiya H, Wang R, Jiang D, Li F, Wagenknecht T, Chen SR (2003) Three-dimensional localization of divergent region 3 of the ryanodine receptor to the clamp-shaped structures adjacent to the FKBP binding sites. *J Biol Chem* 278:14211-14218.
- Zhao G, Liu Z, Ilagan MX, Kopan R (2010) Gamma-secretase composed of PS1/Pen2/Aph1a can cleave notch and amyloid precursor protein in the absence of nicastrin. *J Neurosci* 30:1648-1656.
- Zhao G, Tan J, Mao G, Cui MZ, Xu X (2007) The same gamma-secretase accounts for the multiple intramembrane cleavages of APP. *J Neurochem* 100:1234-1246.
- Zhao M, Su J, Head E, Cotman CW (2003) Accumulation of caspase cleaved amyloid precursor protein represents an early neurodegenerative event in aging and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 14:391-403.
- Zheng P, Eastman J, Vande Pol S, Pimplikar SW (1998) PAT1, a microtubule-interacting protein, recognizes the basolateral sorting signal of amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:14745-14750.
- Zhou D, Zambrano N, Russo T, D'Adamio L (2009) Phosphorylation of a tyrosine in the amyloid-beta protein precursor intracellular domain inhibits Fe65 binding and signaling. *J Alzheimers Dis* 16:301-307.
- Zhou XZ, Kops O, Werner A, Lu PJ, Shen M, Stoller G, Kullertz G, Stark M, Fischer G, Lu KP (2000) Pin1-dependent prolyl isomerization regulates dephosphorylation of Cdc25C and tau proteins. *Mol Cell* 6:873-883.
- Zhuo M, Small SA, Kandel ER, Hawkins RD (1993) Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science* 260:1946-1950.
- Zidan M. AC, Bom de Araújo N., Vasques P., Rios A., Laks J., Deslandes A. (2012) Motor and functional changes in different stages of Alzheimer's disease. *Rev Psiq Clín* 39:161-165.
- Zissimopoulos S, Lai FA (2005) Interaction of FKBP12.6 with the cardiac ryanodine receptor C-terminal domain. *J Biol Chem* 280:5475-5485.