



VERUM
STIFTUNG FÜR VERHALTEN UND UMWELT

Stiftung VERUM
Josephspitalstraße 15/IV
80331 München
Tel. +49 (0)89 207040-142
verum@verum-foundation.de
<http://www.verum-foundation.de>

DIADEM

Frühdiagnose von Alzheimer und verwandter Demenzen

Vertragsnummer: QLK3-CT-2001-02362

Dauer: 1. Oktober 2001 – 30. September 2004

Gesamte Projektkosten: 7.598.179 EUR | **Zuschuss der EU:** 3.830.276 EUR

Vertragspartner: VERUM - Stiftung für Verhalten und Umwelt, München, Deutschland | Universität Zürich, Schweiz | Georg-August-Universität Göttingen, Deutschland | Ludwigs-Maximilians-Universität München, Deutschland | VIB - Vlaams Instituut voor Biotechnologie, Leuven, Belgien | Fundacion para la Investigacion Medica Aplicada, Pamplona, Spanien | EleGene GmbH, Martinsried, Deutschland | Evotec NeuroSciences GmbH, Hamburg, Deutschland | Universidade de Aveiro, Portugal | Fondazione Cavalieri Ottolenghi Scientific Institute, Orbassano, Italien | National and Kapodistrian University Athens, Griechenland | Karolinska Institutet, Huddinge, Schweden | University College London, Großbritannien | Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Deutschland

ZIEL: Das Forschungsprojekt sollte ein besseres Verständnis für die molekularen Mechanismen der Pathophysiologie von Alzheimer und verwandten Demenzen liefern. Dazu wurde grundlegende molekulare Neurobiologie in ein klinisches Studienprogramm eingebettet, und zwar zweigleisig: Die in der Grundlagenforschung identifizierten Moleküle wurden im klinischen Bereich auf ihre pathophysiologische Relevanz hinsichtlich Diagnose und Therapie von Demenzen getestet, während klinisch identifizierte Moleküle, die in der Genetik oder als Krankheitsmarker eine Rolle spielen, in Studienprotokollen der Grundlagenforschung auf ihre neurobiologischen Funktionen hin analysiert wurden. Dieses kombinierte Verfahren ermöglichte es, neue mit Demenz assoziierte Gene und Proteine zu identifizieren und alle in Frage kommenden Marker aus den vor-klinischen Studien auf ihr Potential als Biomarker für Demenzerkrankungen zu bewerten. Die Kombination von Grundlagen- und klinischer Forschung zusammen mit den bedeutenden Entwicklungen beim hochdurchsetzten Screening, in der Chip-Technologie und in der kombinatorischen Chemie sollte zu Produkten führen, die in Diagnose und Behandlung Anwendung finden und – eventuell – auch in der Prävention. Um das Ziel zu erreichen, wurden auch zwei Biotech-Firmen mit Zugang zu umfassender Technologie in das Konsortium aufgenommen. Es war ihre Aufgabe ein höchstwirksames parallel-arbeitendes Nachweisverfahren zu entwickeln, welches simultan zahlreiche Biomarker auf Demenz und verschiedene Medikamente auf Prävention hin testet.

FORSCHUNGSVERLAUF UND ERGEBNISSE: Die Arbeitseinheit „Tiermodelle“ sollte die eine Amyloid-Ansammlung im Gehirn reduzierenden Mechanismen identifizieren, die Rolle von Alpha-Synuclein in der mit Demenz assoziierten Neurodegeneration beschreiben, die Rolle von Presenilin in den am Erinnerungsvermögen beteiligten Neuronen analysieren und in experimentellen Tiermodellen die neuronalen Phänotypen bestimmen, die menschliches Neprilysin (das Insulin abbauende Enzym), die Transmembranproteine PS1 und PS2, die Beta-Sekretase BACE1 und Alpha-Synuclein exprimieren. Um die pathologischen Prozesse im Frühstadium der Neurodegeneration aufzudecken, wurde – mit Hilfe von DNA-Arrays – experimentell getestet, ob die mit der Krankheit in Beziehung stehenden Gene und Genprodukte die Expression von bereits bekannten und neuen Krankheitsmarkern beeinflussen. Um Einblicke zu erhalten in die Rolle dieser Gene im gesunden Gehirn, wurden zusätzlich Experimente mit genetisch-modifizierten Mäusen, *C. elegans* und *Drosophila* durchgeführt. Bei den wesentlichen Fortschritten, die wir machten, ragen folgende Beobachtungen heraus: (1) Die neuronale Expression von Neprilysin schwächt die Entwicklung der Amyloid-Hirnpathologie in APP-transgenen Mäusen, überexprimiertes Neprilysin entfernt jedoch keine Amyloid-Plaques, nachdem diese sich bereits festgesetzt haben. (2) Die Transmembrandomäne, aber nicht das zytoplasmatische Ende von Nicastrin, wird benötigt, um einen aktiven Gamma-Sekretase-Komplex zu bilden. (3) *C. elegans* und die Bäckerhefe sind

wirksame Systeme mit denen ein hochdurchsetztes Screening des Genoms durchgeführt werden kann, um Medikamente aufzuspüren, die mit den für Alterung und Neurodegeneration relevanten Proteinen interagieren. (4) Sowohl BACE1- als auch BACE2-Knockout-Mäuse waren normal und fruchtbar, obwohl es bei BACE1-Mäusen eine Kindersterblichkeit von 50% gab. (5) Transgene Mäuse, die sowohl Alpha-Synuclein als auch Tau überexprimieren, hatten altersbedingte Schädigungen des Erinnerungsvermögens mit einer fünffachen Zunahme der Amyloid- und Neurofibrillen-Knäuel und einer 40%igen Steigerung beim Neuronenverlust im entorhinalen Cortex. (6). *Drosophila*, welche die transgene komplementäre DNA für menschliches BACE1 und APP überexprimieren, zeigten Amyloid-Ablagerungen in Auge und Flügel. Diese morphologischen Anomalien konnten mit Sekretase-Inhibitoren rückgängig gemacht werden.

Die Arbeitseinheit „Zelluläre Pathogenese“ sollte die Beziehungen aufzeigen, die der Synthese, der post-translationalen Prozessierung, der Entartung und der pathologischen mit Neurodegeneration und Demenz assoziierten Protein-Ansammlung zugrunde liegen, und zwar in kultivierten Zellen und Modellorganismen. Besondere Schwerpunkte waren die APP-Proteolyse, die an der Prion-Protein-Ansteckungsfähigkeit beteiligten Faktoren sowie die Verbindungen zwischen Abeta, Tau, Alpha-Synuclein und PrP. Des Weiteren sollte bestimmt werden, welches der Gene/Genprodukte als Krankheitsmarker und welches als Ansatzpunkt für die medikamentöse Behandlung verwendet werden kann. Einige der herausragende Erkenntnisse sind: (1) TAP oder myc-markiertes murines PrP rettete die Letalität bei Mäusen, die um den N-Terminal verkürztes PrP exprimierten. (2) Die Behandlung mit Lithium verminderte die Abeta-Peptid-Sekretion der primären neuronalen Zellen von Hühnern, aber steigerte ganz besonders das intrazelluläre Abeta1-38. (3) Es gibt sechs unterschiedliche proteolytisch aktive Gamma-Sekretase-Komplexe. (4) Der Zustand der Phosphorylierung bestimmter Aminosäuren in der intrazellulären Domäne von APP ist entscheidend für die Bestimmung von APP-Prozessierung und -Metabolismus. (5) Eine Cholesterolsenkung in der Membran der so genannten „lipid rafts“ steigert die APP-Beta-Spaltung, was bedeutet, dass eine cholesterolsenkende Behandlung tatsächlich Alzheimer wegen der gesteigerten Amyloid-Produktion verschlimmern kann. Einige Ziele mussten wegen erheblicher technischer Probleme aufgegeben werden, einige wenige blieben unvollständig wegen ihrer herausfordernden Komplexität.

Die Arbeitseinheit „Biologische und genetische Marker“ sollte Marker für die Früh- und Differentialdiagnose von Demenzen identifizieren und charakterisieren. Neue mögliche Marker wurden mit automatisierter Methode in DNA-, Serum- und CSF-Proben von gut dokumentierten Fällen mit Alzheimer oder verwandten Demenzen gesucht. Die Proben stammen aus den beteiligten Zentren, die sich auf Diagnose und klinische Betreuung von Demenz spezialisiert haben. Genetische Risikofaktoren wurden mit Hilfe des Genom-Screenings sowie Verknüpfungs- und Assoziationsmethoden identifiziert. Mögliche Proteinmarker wurden in Körperflüssigkeiten von Patienten aufgespürt, um dann diagnostische Empfindlichkeit und spezifische Eigenschaften zu bestimmen. Zahlreiche aktuelle Neuroimaging-Daten sind generiert worden, um die klinischen Informationen zu vervollständigen. Genetische Analysen wurden durchgeführt, eine Fall-Kontroll-Studie identifizierte fünf neue mögliche Risikogene für sporadisches Alzheimer, eine Untersuchung des menschlichen Genoms in ausgewählten Alzheimer-Familien wurde gestartet und es gibt Fortschritte beim Verständnis der Pathophysiologie der arktischen APP-Mutation. CSF-Kandidaten für mögliche diagnostische oder Surrogatmarker wurden identifiziert und es wurde begonnen, den Nachweis auch auf quantitativ hochdurchsetzten technologischen Plattformen zu optimieren. Besonders zu erwähnen sind folgende Fortschritte: (1) Enge Zusammenarbeit von vier Vertragspartnern, um neue Familien zu sammeln und damit eine zunehmende Anzahl von genetischen Proben zu lagern und zu analysieren. (2) In den ständig erweiterten DNA-Proben von histologisch-bestätigten Patienten und Kontrollen wurden mehrere Gene im Cholesterolfstoffwechsel identifiziert, die mit Alzheimer assoziiert werden. (3) Quantitative MRI-Volumenmessungen von Gehirnschwund stimmen sehr stark mit den klinischen Messungen des kognitiven Verfalls überein. (4) Die aktive Immunisierung mit synthetischem Abeta42, welches bereits Plaques-Ansammlungen enthält, übt eine positive Wirkung auf die Kognition aus. Sowohl das Aufspüren neuer möglicher Risikogene mit Hilfe eines Screenings in Familien mit familiärer Alzheimer-Krankheit als auch die Erforschung der Beziehung zwischen den in biologischen Proben gefundenen Proteinen und den klinischen Aspekten spezifischer Demenzen waren am Ende des Projektes noch nicht abgeschlossen.

NUTZEN: Das DIADEM-Projekt hat eine größere medizinische Auswirkung, da die Ergebnisse die Basis für einen völlig neuen Ansatz in Diagnose und Behandlung von Alzheimer und verwandten Demenzen anbieten kann. Dies sind die Entwicklung von Medikamenten, die tatsächlich eine Demenz aufhalten, verhindern oder rückgängig machen können, und der Ersatz anormaler Gene, die für den Ausbruch der Krankheit verantwortlich sind, mit Hilfe einer Gentherapie. Das Projekt hat auch eine wirtschaftliche Auswirkung, da die Ergebnisse, die bisher zum Antrag von drei Patenten führten, den involvierten Firmen beträchtliche Möglichkeiten eröffnen.

Ganz entgegen der Erwartungen erwies es sich als weitaus schwieriger, die erhoffte Entdeckung weiterer Gene neben ApoE für die Spätform von Alzheimer zu bewerkstelligen und von vielversprechenden Erkenntnissen bei der genetischen Verkettung zu reproduzierbaren und klaren genetischen Zusammenhängen zu kommen. Trotzdem waren die Wissenschaftler im DIADEM-Konsortium mit ihrer Forschung zu einigen der grundlegenden Aspekte von Alzheimer und verwandten Demenzen bemerkenswert erfolgreich, obwohl ihnen die Entwicklung eines „DIADEM-Chip“ zur Diagnose nicht gelungen ist. Dafür haben sie die bereits bestehenden biochemischen Methoden verfeinert und neue Techniken eingeführt, die die Entwicklung eines Chips ermöglichen werden.

PUBLIKATIONEN (Gruppenleiter hervorgehoben):

2002

Annaert W, **De Strooper B** (2002) A cell biological perspective on Alzheimer's disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 18:25-51.

Eimer S, Lakowski B, Donhauser R, **Baumeister R** (2002) Loss of spr-5 bypasses the requirement for the *C. elegans* presenilin sel-12 by derepressing hop-1. *EMBO J.* 21(21):5787-96.

Eimer S, Donhauser R, **Baumeister R** (2002) The *C. elegans* presenilin sel-12 is required for mesodermal patterning and muscle function. *Dev. Biol.* 251(1):178-92.

Hock C, Konietzko U, Papassotiropoulos A, Wollmer A, Streffer J, von Rotz RC, Davey G, Moritz E, **Nitsch RM** (2002) Generation of antibodies specific for beta-amyloid by vaccination of patients with Alzheimer disease. *Nat Med* 8(11):1270-5.

Mohajeri MH, Saini K, Schultz JG, Wollmer MA, **Hock C**, **Nitsch RM** (2002) Passive immunization against beta-amyloid peptide protects central nervous system (CNS) neurons from increased vulnerability associated with an Alzheimer's disease-causing mutation. *J Biol Chem* 277(36):33012-7.

Mohajeri MH, Wollmer MA, **Nitsch RM** (2002) Abeta 42-induced increase in neprylsin is associated with prevention of amyloid plaque formation in vivo. *J Biol Chem* 277(38):35460-5.

2003

Dabrowski M, Aerts S, Van Hummelen P, Craessaerts K, De Moor B, Annaert W, Moreau Y, **De Strooper B** (2003) Gene profiling of hippocampal neuronal culture. *J Neurochem* 85(5):1279-88.

De Strooper B (2003) Aph-1, Pen-2, and nicastrin with presenilin generate an active alpha-secretase complex. *Neuron* 38(1):9-12.

Edbauer D, Winkler E, Regula JT, Pesold B, Steiner H, **Haass C** (2003) Reconstitution of gamma-secretase activity. *Nat Cell Biol* 5(5):486-8.

Herreman A, Van Gassen G, Dillen K, Bentahir M, Nyabi O, Craessaerts K, Mueller U, Annaert W, **De Strooper B** (2003) Gamma-secretase activity requires the presenilin-dependent trafficking of nicastrin through the Golgi apparatus but not its complex glycosylation. *J Cell Sci* 116(Pt 6):1127-36.

Hertweck M, Hoppe T, **Baumeister R** (2003) *C. elegans*, a model of aging with high-throughput capacity. *Exp Gerontol* 38(3):345-6.

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(4):547-54.

Hutter G, Heppner FL, **Aguzzi A** (2003) No superoxide dismutase activity of cellular prion protein in vivo. *Biol Chem* 384(9):1279-85.

Lakowski B, Eimer S, Gobel C, Bottcher A, Wagler B, **Baumeister R** (2003) Two suppressors of sel-12 encode C2H2 zinc-finger proteins that regulate presenilin transcription in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 130(10):2117-28.

Ledesma MD, Da Silva JS, Schevchenko A, Wilm M, **Dotti CG** (2003) Proteomic characterisation of neuronal sphingolipid-cholesterol microdomains: role in plasminogen activation. *Brain Res* 987(1):107-16.

Ledesma MD, Abad-Rodriguez J, Biondi E, Navarro P, Delacourte A, Dingwall C, **Dotti CG** (2003) Raft disorganization leads to reduced plasmin activity in Alzheimer's disease brains. *EMBO Rep* 4(12):1190-6.

Lewczuk P, Esselmann H, Meyer M, Wollscheid V, Neumann M, Otto M, Maler JM, Ruther E, Kornhuber J, **Wiltfang J** (2003) The amyloid-beta (Abeta) peptide pattern in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease: evidence of a novel carboxyterminally elongated Abeta peptide. *Rapid Commun Mass Spectrom* 17(12):1291-6.

Lichtenthaler SF, Dominguez DI, Westmeyer GG, Reis K, **Haass C**, Saftig P, **De Strooper B**, Seed B (2003) The cell adhesion protein P-selectin glycoprotein ligand-1 is a substrate for the aspartyl protease BACE1. *J Biol Chem* 278(49):48713-9.

Maddalena A, Papassotiropoulos A, Muller-Tillmanns B, Jung HH, Hegi T, **Nitsch RM**, **Hock C** (2003) Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal fluid ratio of phosphorylated tau protein to beta-amyloid peptide42. *Arch Neurol* 60(9):1202-6.

Meier P, Genoud N, Prinz M, Maissen M, Rulicke T, Zurbriggen A, Raeber AJ, **Aguzzi A** (2003) Soluble dimeric prion protein binds prp(Sc) in vivo and antagonizes prion disease. *Cell* (1):49-60.

Nyabi O, Bentahir M, Horre K, Herreman A, Gottarid-Littell N, Van Broeckhoven C, Merchiers P, Spittaels K, Annaert W, **De Strooper B** (2003) Presenilins mutated at Asp257 or Asp385 restore Pen-2 expression and Nicastrin glycosylation but remain catalytically inactive in the absence of wild type Presenilin. *J Biol Chem* 278(44):43430-6.

Ostojic J, Axelmann K, **Lannfelt L**, Froelich Fabre S (2003) No evidence of linkage to chromosome 9q21-22 in a Swedish family with frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett* 340(3):245-7.

Prinz M, Heikenwalder M, Junt T, Schwarz P, Glatzel M, Heppner FL, Fu YX, Lipp M, **Aguzzi A** (2003) Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion. *Nature* 425(6961):957-62.

Prinz M, Heikenwalder M, Schwarz P, Takeda K, Akira S, **Aguzzi A** (2003) Prion pathogenesis in the absence of Toll-like receptor signalling. *EMBO Rep* 4(2):195-9.

Wiltfang J, Esselmann H, Smirnov A, Bibl M, Cepek L, Steinacker P, Mollenhauer B, Buerger K, Hampel H, Paul S, Neumann M, Maler M, Zerr I, Kornhuber J, Kretschmar HA, Poser S, Otto M (2003) Beta-amyloid peptides in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 54(2):263-7.

Wollmer MA, Streffer JR, Tsolaki M, Grimaldi LM, Lutjohann D, Thal D, von Bergmann K, **Nitsch RM**, **Hock C**, Papassotiropoulos A (2003) Genetic association of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase with cerebrospinal fluid cholesterol levels, brain amyloid load, and risk for Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 8(6):635-8.

2004

Abad-Rodriguez J, Ledesma MD, Craessaerts K, Perga S, Delacourte A, Dingwall C, **De Strooper B**, **Dotti CG** (2004) Neuronal membrane cholesterol loss enhances amyloid peptide generation. *J Cell Biol* 167(5):953-60.

Aguzzi A, Polymenidou M (2004) Mammalian Prion Biology: One century of evolving concepts. *Cell* 116(2):313-27.

Amador FC, Henriques AG, **da Cruz e Silva OAB**, da Cruz e Silva EF (2004) Monitoring protein phosphatase 1 isoform levels as a marker for cellular stress. *Neurotoxicol Teratol* 26(3):387-95.

Bibl M, Esselmann H, Otto M, Lewczuk P, Cepek L, Ruther E, Kornhuber J, **Wiltfang J** (2004) Cerebrospinal fluid amyloid beta peptide patterns in Alzheimer's disease patients and non-demented controls depend on sample pre-treatment: Indication of carrier-mediated epitope masking of amyloid beta peptides. *Electrophoresis* 25(17):2912-8.

Da Cruz e Silva OAB, Fardilha M, Henriques AG, Rebelo S, Guerra e Paz S, da Cruz e Silva EF (2004) Signal transduction therapeutics: a novel approach in Alzheimer's Disease. *J Mol Neurosci* 23(1-2):123-42.

Greeve I, Kretschmar D, Tschape JA, Beyn A, Brellinger C, Schweizer M, **Nitsch RM**, Reifegerste R (2004) Age-dependent neurodegeneration and Alzheimer-amyloid plaque formation in transgenic *Drosophila*. *J Neurosci* 24(16):3899-906.

Heikenwalder M, Polymenidou M, Junt T, Sigurdson C, Wagner H, Akira S, Zinkernagel R, **Aguzzi A** (2004) Lymphoid follicle destruction and immunosuppression after repeated cpG oligodeoxynucleotide administration. *Mat Med* 10(2):187-92.

Heppner FL, **Aguzzi A** (2004) Recent developments in prion immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 16(5):594-8.

Hertweck M, Gobel C, **Baumeister R** (2004) C. elegans SGK-1 is the critical component in the Akt/PKB kinase couples to control stress response and life span. *Dev Cell* 6(4):577-88.

Hoflich J, Berninson P, Gobel C, Gravato-Nobre MJ, Libby BJ, Darby C, Politz SM, Hodgkin J, Hirschberg CB, **Baumeister R** (2004) Loss of srf-3 encoded nucleotide sugar transporter activity in *Caenorhabditis elegans* alters surface antigenicity and prevents bacterial adherence. *J Biol Chem* 279(29):30440-8.

Janssen JC, Godbolt AK, Ioannidis P, Thompson EJ, **Rossor MN** (2004) The prevalence of oligoclonal bands in the CSF of patients with primary neurodegenerative dementia. *J Neurol* 251(2):184-8.

Koller MF, Mohajeri MH, Huber M, Wollmer MA, Roth Z'raggen BV, Sandmeier E, Moritz E, Tracy J, **Nitsch RM**, Christen P (2004) Active immunization of mice with an A β -Hsp70 vaccine. *Neurodegener Dis* 1(1):20-8.

Lewczuk P, Esselmann H, Bibl M, Paul S, Svitek J, Miertschischk J, Meyrer R, Smirnov A, Maler JM, Klein C, Otto M, Bleich S, Sperling W, Kornhuber J, Ruther E, **Wiltfang J** (2004) Electrophoretic separation of amyloid beta peptides in plasma. *Electrophoresis* 25(20):3336-43.

Lewczuk P, Esselmann H, Bibl M, Beck G, Maler JM, Otto M, Kornhuber J, **Wiltfang J** (2004) Tau protein phosphorylated at threonine 181 in CSF as a neurochemical biomarker in Alzheimer's disease: original data and review of the literature. *J Mol Neurosci* 23(1-2):115-22.

Li Y, Tacey K, Doil L, van Luchene R, Garcia V, Rowland C, Schrodi S, Leong D, Lau K, Catanese J, Sninsky J, Nowotny P, Holmans P, **Hardy J**, Powell J, Lovestone S, Thai L, Owen M, Williams J, Goate A, Grupe A (2004) Association of ABCA1 with late-onset Alzheimer's disease is not observed in a case-control study. *Neurosci Lett* 366(3):268-71.

Li Y, Nowotny P, Holmans P, Smemo S, Kauwe JS, Hinrichs AL, Tacey K, Doil L, van Luchene R, Garcia V, Rowland C, Schrodi S, Leong D, Gogic G, Chan J, Cravchik A, Ross D, Lau K, Kwik S, Chang SY, Catanese J, Sninsky J, White TJ, **Hardy J**, Powell J, Lovestone S, Morris JC, Thal L, Owen M, Williams J, Goate A, Grupe A (2004) Association of late-onset Alzheimer's disease with genetic variation in multiple members of the GAPD gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(44):15688-93.

Maddalena A, Papassotiropoulos A, Gonzalez-Agosti C, Signorell A, Hegi T, Pasch T, **Nitsch RM**, **Hock C** (2004) Cerebrospinal fluid profile of amyloid beta peptides in patients with Alzheimer's disease determined by protein biochip technology. *Neurodegener Dis* 1(4-5):231-5.

Meissner B, Boll M, Daniel H, **Baumeister R** (2004) Deletion of the intestinal peptide transporter affects insulin and TOR signaling in *C. elegans*. *J Biol Chem* 279(35):36739-45.

Mohajeri MH, Saini KD, **Nitsch RM** (2004) Transgenic BACE expression in mouse neurons accelerates amyloid plaque pathology. *Neural Transm* 111(3):413-25.

Mohajeri MH, Kuehne K, Li H, Poirier R, Tracy J, **Nitsch RM** (2004) Anti-amyloid activity of neprilysin in plaque-bearing mouse models of Alzheimer's disease. *FEBS Lett* 562(1-3):16-21.

Myers AJ, Marshall H, Holmans P, Compton D, Crook RJP, Mander AP, Nowotny P, Smemo S, Dunstan M, Jehu L, Wang JC, Hamshere M, Morris JC, Norton J, Chakraverty S, Tunstall N, Lovestone S, Petersen R, O'Donovan M, Jones L, Williams J, Owen MJ, **Hardy J**, Goate A (2004) Variation in the Urokinase-plasminogen activator gene does not explain the chromosome 10 linkage signal for late onset AD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 124(1):29-37.

Ostojic J, Elfgren C, Passant U, Nilsson K, Gustafson L, **Lannfelt L**, Froelich-Fabre S (2004) The tau R406W mutation causes progressive presenile dementia with bitemporal atrophy. *Dement Geriatr Cogn Disord* 17(4):298-301.

Pittman A, Myers AJ, Duckworth J, Bryden L, Hanson M, Abou-Sleiman P, Wood NW, **Hardy J**, Lees A, de Silva, R (2004) The structure of the tau haplotype in controls and in progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet* 13(12):1267-74.

Polymenidou M, Heppner FL, Pelliccioli EC, Urich E, Miele G, Braun N, Wopfner F, Schatzl HM, Becher B, **Aguzzi A** (2004) Humoral immune response to native eukaryotic prion protein correlates with anti-prion protection. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, Suppl 2:14670-6.

Tournoy J, Bossuyt X, Snellinx A, Regent M, Garmyn M, Serneels L, Saftig P, Craessaerts K, **De Strooper B**, Hartmann D (2004) Partial loss of presenilins causes seborrhic keratosis and autoimmune disease in mice. *Hum Mol Genet* 13(13):1321-31.

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* 177(Pt 19):4435-48.

Westmeyer GG, Willem M, Lichtenthaler SF, Lurman G, Multhaup G, Assfalg-Machleidt I, Reiss K, Saftig P, **Haass C** (2004) Dimerization of beta-site beta-amyloid precursor protein-cleaving enzyme. *J Biol Chem* 279(51):53205-12.

Special issue on the DIADEM research work with contributions from all partners (2004) *Neurodegener Dis* 1(4-5): 157-244.

2005

Ferrer I, **Gomez-Isla T**, Puig B, Freixes M, Ribe E, Dalfo E, Avila J (2005) Current advances on different kinases involved in tau phosphorylation, and implications in Alzheimer's disease and tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 2(1):3-18.

Fotinou A, Tsachaki M, Vlavaki M, Pouloupoulos A, Rostagno A, Frangione B, Ghiso J, **Efthimiopoulos S** (2005) BRI2 interacts with amyloid precursor protein (APP) and regulates amyloid beta (Abeta) production. *J Biol Chem* 280(35):30768-72.

Henriques AG, Domingues SC, Fardilha M, da Cruz e Silva EF, **da Cruz e Silva OA** (2005) Sodium azide and 2-deoxy-D-glucose-induced cellular stress affects phosphorylation-dependent Abeta-pp processing. *J Alzheimers Dis* 7(3):201-12.

Ledesma MD, **Dotti CG** (2005) The conflicting role of brain cholesterol in Alzheimer's disease: lessons from the brain plasminogen system. *Biochem Soc Symp* (72):129-38.

Medina MG, Ledesma MD, Dominguez JE, Medina M, Zafra G, Alameda F, **Dotti CG**, Navarro P (2005) Tissue plasminogen activator mediates amyloid-induced neurotoxicity via Erk1/2 activation. *EMBO J* 24(9):1706-16.

Papassotiropoulos A, Wollmer MA, Tsolaki M, Brunner F, Molyva D, Lutjohann D, **Nitsch RM**, **Hock C** (2005) A cluster of cholesterol-related genes confers susceptibility for Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 66(7):940-7.

Papassotiropoulos A, Tsolaki M, Wollmer MA, Molyva D, Thal DR, Huynh KD, Tracy J, Staehelin HB, Monsch AU, **Nitsch RM**, **Hock C** (2005) No association of a non-synonymous PLAU polymorphism with Alzheimer's disease and disease-related traits. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 132(1):21-3.

Perez M, Ribe E, Rubio A, Lim F, Moran MA, Gomez-Ramos P, Ferrer I, **Gomez-Isla T**, Avila J (2005) Characterization of a double (amyloid precursor protein-tau) transgenic: tau phosphorylation and aggregation. *Neuroscience* 130(2):339-47.

Ribe E, Perez M, Puig B, Lim F, Cuadrado M, Sesma T, Catena S, Sanchez B, Nieto M, Cabodevilla JF, Samaranch L, Ortiz L, Perez A, Ferrer I, Avila J, **Gomez-Isla T** (2005) Accelerated amyloid deposition, neurofibrillary degeneration and neuronal loss in double mutant APP/tau transgenic mice. *Neurobiol Dis* 20(3):814-22.

Stenh C, Englund H, Lord A, Johansson AS, Almeida CG, Gellerfors P, Greengard P, Gouras GK, **Lannfelt L**, Nilsson LN (2005) Amyloid-beta oligomers are inefficiently measured by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann Neurol* 58(1):147-50.

2006

Johansson AS, Berglind-Dehlin F, Karlsson G, Edwards K, Gellerfors P, **Lannfelt L** (2006) Physicochemical characterization of the Alzheimer's disease-related peptides Abeta1-42Arctic and Abeta1-42wt. *FEBS J* 273(12):2618-30.

Nieto M, Bil-Bea FJ, Dalfo E, Cuadrado M, Cabodevilla F, Sanchez B, Catena S, Sesma T, Ribe E, Ferrer I, Ramirez MJ, **Gomez-Isla T** (2006) Increased sensitivity to MPTP in human alpha-synuclein A20P transgenic mice. *Neurobiol Aging* 27(6):848-56.