

MEMOSAD

Gedächtnisschwund bei Alzheimer: Zugrundeliegende Mechanismen und therapeutische Ziele

Finanzhilfvereinbarung: 200611

Dauer: 1. Januar 2008 – 30. Juni 2011

Gesamte Projektkosten: 4.360.102 EUR | **Zuschuss der EU:** 2.998.696 EUR

Vertragspartner: VERUM - Stiftung für Verhalten und Umwelt, München, Deutschland | VIB - Vlaams Instituut voor Biotechnologie, Leuven, Belgien | Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V., München, Deutschland | Université de Lille II - Droit et Santé, Frankreich | University College Dublin, Irland | Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland | Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Deutschland | Universität Autònoma de Barcelona, Spanien | Katholieke Universiteit Leuven, Belgien | Senexis Ltd, Cambridge, Großbritannien

ZIEL: Das Projekt war in vier Arbeitseinheiten (WP1 bis WP4) gegliedert. WP1 und WP2 konzentrierten sich auf die Charakterisierung der Abeta- und Tau-Ansammlungen, welche die für die synaptische Plastizität und das Gedächtnis wesentlichen Signalpfade unterbrechen, und auf die Identifizierung dieser Pfade. WP3 bearbeitete die mechanistische Verbindung von Abeta und Tau, während sich WP4 schließlich auf die Validierung von Ansatzpunkten und die präklinische Bewertung von therapeutischen Strategien gegen Abeta- und Tau-Ansammlungen konzentrierte.

Unlösliche Abeta- und Tau-Aggregationen sind die pathologischen Kennzeichen von Alzheimer. Die beiden Proteine arbeiten zusammen und verursachen synaptische Missfunktionen, Gedächtnisverlust und schließlich neuronales Absterben. Bis jetzt sind die molekularen Mechanismen, die diesen Wirkungen zugrunde liegen, nicht voll verstanden. Deshalb sollte MEMOSAD die molekularen Mechanismen von Abeta- und Tau-induzierter Synaptotoxizität definieren und krankheits-modifizierende Therapien entwickeln, um den Gedächtnisverlust bei Alzheimer zu verhindern. Die genauen Ziele waren: (1) die toxischen Abeta- und Tau-Spezies, verantwortlich für den Gedächtnisverlust bei Alzheimer, präzise zu definieren, (2) die für den Gedächtnisverlust verantwortlichen Mechanismen der durch Abeta und Tau ausgelösten Toxizität grundsätzlich zu klären, (3) die mechanistischen Verbindungen zwischen Abeta und Tau, die zu Gedächtnisverlust führen, zu definieren und (4) die biologischen Erkenntnisse in effektive, krankheits-modifizierende therapeutische Strategien zu übertragen.

FORSCHUNGSVERLAUF UND ERGEBNISSE

In WP1 charakterisierten wir verschiedenste Abeta-Präparate, identifizierten die Wirkung dieser genau definierten Proben auf Synapsen und Gedächtnis und beschreiben die Signalpfade, die der Abeta-induzierten Toxizität zugrunde liegen. Wir erzeugten *in vitro* Amyloid-Fibrillen mit ‚synthetischen‘ Abeta40- und Abeta42-Peptiden und zeigten, dass für die Toxizität die Zusammensetzung wichtiger ist als die absolute Menge der Peptide. In der Tat variiert das Abeta40/42-Verhältnis zwischen 9:1 (physiologisch) und ~7:3. Wir zeigten, dass Abeta bei einem pathologischen Abeta40/42-Verhältnis von 7:3 im Gegensatz zum physiologischen Verhältnis von 9:1 (i) *in vitro* Fibrillen nach einer längeren Phase mit Oligomeren bildet, (ii) die synaptische Funktion von auf Mikrochips gezüchteten Neuronen beeinflusst, (iii) die Langzeit-Potenzierung (LTP) in Hirnpräparaten unterdrückt und (iv), wenn injiziert in Rattenhirnen, die Gedächtnisbildung verhindert. Somit können Abeta-Spezies, die mengenmäßig ähnlich aber qualitativ verschieden sind, *in vivo* unterschiedliche Wirkungen auf die Neuronen haben. Interessanterweise konnten wir die Phosphorylierung von Abeta-Monomeren und -Dimeren in menschlichen Alzheimer-Hirnen nachweisen und besitzen damit neue Ansätze, um die Rolle der phosphorylierten Peptide bei Alzheimer zu untersuchen. Wir zeigten auch eine sehr interessante Korrelation zwischen Abeta-Monomeren und Natriumdodecylsulfat-stabilen Abeta-Dimeren und den Braak-Stadien

(Klassifizierung bei Parkinson), die darauf hinweist, dass diese beiden Abeta-Spezies mit einem fehlgeleiteten Tau-Metabolismus in Verbindung stehen. Eine Injektion von Abeta-Präparaten aus Hirngewebe wiederum in Hirne junger Ratten verhinderte die Konsolidierung des Gedächtnisses und verringerte die synaptische Dichte um ~40% im *Gyrus dentatus* des Hippocampus, ein für das Gedächtnis wichtiger Hirnbereich der überwiegend bei Alzheimer beeinträchtigt ist. Die Wirkung auf die Synapsen wurde *in vitro* mit synthetischen Abeta-Präparaten noch genauer analysiert. Bei einem Abeta40/42-Verhältnis von 7:3 ko-lokalisierte Abeta vorwiegend mit Synaptophysin (ein synaptischer Marker), während das bei einem Verhältnis von 9:1 und 10:0 nicht beobachtet werden konnte. Gründliches Waschen der Neuronen veränderte die Färbung nicht und stellte auch für mehrere Stunden die synaptische Aktivität nicht wieder her, was darauf hinweist, dass die Bindung wahrscheinlich nicht rückgängig zu machen ist. Die Wirkung von Abeta auf LTP wurde ebenso mit aus Hirngewebe angereichertem Abeta demonstriert. Die Injektion von Abeta aus Alzheimer Gewebe, aber nicht die Injektion eines Extraktes aus gesundem Hirngewebe hemmte die LTP sehr stark.

Kürzlich wurde gezeigt, dass für die durch Abeta-Aggregation verursachten Störungen der synaptischen Plastizität ein Prionprotein (PrPC) nötig ist. Deshalb testeten wir mit einem vorher injizierten Antikörper gegen PrPC 96-104 (mutmaßlicher Bereich, der Abeta bindet). Die Hemmung von LTP durch Extrakt aus menschlichem Hirngewebe wurde vollständig aufgehoben. Schließlich verwendeten wir APP-J9-Mäuse [Hsia AY et al., 1999. Proc Natl Acad Sci USA 96(6):3228-33], um Erkenntnisse zu den durch Abeta beeinträchtigten Signalpfaden zu gewinnen. Bei diesen Mäusen ist im Alter von sechs Monaten das Gedächtnis beeinträchtigt, zu einem Zeitpunkt, wenn Abeta-Aggregation nachgewiesen werden kann, aber noch bevor sich Plaques bilden. Diese Beeinträchtigungen sind assoziiert mit einer spezifischen Herunterregulation der CREB-Zielgene im sechsten, aber nicht schon im zweiten Lebensmonat der Tiere und stehen mit synaptischer Plastizität und Gedächtnis in Beziehung. Eine ausführliche Analyse der Neuronen dieser APP-J9-Mäuse weist darauf hin, dass Abeta die Dephosphorylierung (und damit die Aktivierung) des transskriptionellen CREB-Ko-Aktivators CRT1 (auch TORC1 genannt) beeinträchtigt, aber nicht die CREB-Phosphorylierung. Somit verursacht eine mangelhafte CRT1-Dephosphorylierung infolge von Abeta-Aggregation von CREB abhängige transskriptionelle Defizite und Gedächtnisdefizite.

Im WP2 untersuchten wir die Expression von Tau-Varianten in unterschiedlichen Systemen: neuronalen Zellen, Hirnpräparaten, Zebrafisch, *C. elegans* und Mäusen. Wir verwendeten ein induzierbares Zellmodell der Tau-Pathologie (N2A-Zellen), um Tau-Aggregation, -Abbau und erzeugte -Toxizität zu untersuchen. Wir konnten zeigen, dass die Tau-Proteolyse eine wichtige Rolle bei Tau-Aggregation und -Toxizität spielt. In der Tat kann die Tau-Proteolyse amyloidogene Tau-Fragmente erzeugen, die eine Aggregation initiieren. Eine gesteigerte Aggregation führt somit zu gesteigerter Toxizität. Wir konnten feststellen, dass Autophagie erheblich zum Tau-Abbau beiträgt. Wir untersuchten auch die Tau-Toxizität in Zebrafischen. Tau-transgene Zebrafische rekapitulieren wesentliche pathologische Merkmale von Alzheimer wie Tau-Phosphorylierung und -Aggregation, Zelltod und Verhaltensstörungen. Der axonale Mitochondrien-Transport ist in diesen Tieren sehr stark reduziert und kann durch Ko-Expression von MARK wieder hergestellt werden, was darauf hinweist, dass ein Mikrotubuli-bindendes Tau für die Transporthemmung gebraucht wird. Die Hemmung des axonalen Mitochondrien-Transports durch Tau-Mutanten wurde auch in transgenen Tauopathie-Modellen von *C. elegans* beobachtet. In diesen Würmern akkumulierten die Mitochondrien im proximalen Teil der Axone. Die Daten von Zebrafisch und *C. elegans* unterstützen die Annahme, dass eine Tau-induzierte Pathogenese zumindest teilweise durch axonale Transportstörungen verursacht wird. Zusätzlich charakterisierten wir Tau-transgene Mäusestämme, die im Konsortium zur Verfügung standen. Thy-tau22-Mäuse [Schindowski K et al., 2006. Am J Pathol 169(2):599-616] entfalten eine Tau-Pathologie auch ohne motorische Störung. Sowohl LTP und Langzeit-Unterdrückung (LTD) als auch Gedächtnisbildung sind bei diesen Mäusen beeinträchtigt. Zusätzlich weisen sie nicht-kognitive neuropsychiatrische Störungen auf, die für Alzheimer charakteristisch sind. Verschiedene Tau-transgene Stämme, bei denen die Tau-Expression an- und ausgeschaltet werden kann [Eckermann K et al., 2007. J Biol Chem 282(43):31755-65/Mocanu MM et al., 2008. J Neurosci 28(3):737-48] wurden charakterisiert. Zu Tau-Aggregation neigende Mäuse zeigen Störungen sowohl im Hippocampus-abhängigen Verhalten als auch bei hippocampaler LTD und dies kann rückgängig gemacht werden, in dem man die Expression des Tau-Transgens ausschaltet. Histopathologisch gehen die Hyperphosphorylierung und die Tau-Aggregation während der Tau-Expression mit einem Verlust von Neuronen und Synapsen einher. Im Anti-Aggregationsmodell kann beinahe keine Pathologie beobachtet werden. Wird die Tau-Expression unterbrochen, zeigt sich keine sichtbare Erholung bei Tau-Aggregation und Neuronenverlust, aber eine teilweise Erholung der Synapsen, was auch die Erholung der LTP erklären dürfte. Interessanterweise bestehen die verbliebenen Tau-Aggregationen in ausgeschalteten Mäusen aus endogenem Maus-Tau, während das menschliche Tau nicht länger sichtbar ist. Dies weist darauf hin, dass Tau-Aggregationen in einem dynamischen Gleichgewicht mit ihren Untereinheiten stehen und dass normales Tau aggregiert wenn „vergiftet“.

In WP3 untersuchten wir die Synergie von Abeta und Tau und deren Folge auf die neuronale und synaptische Schädigung und den Gedächtnisverlust sowie die Relevanz von Tau bei Abeta-induzierten Schädigungen. Wir konnten zeigen, dass toxische Abeta-Oligomere, die hippocampalen Neuronen-Kulturen vom Wildtyp beigemischt wurden, eine Störung der axonalen Sortierung und eine Neuverteilung von endogenem Tau in die Soma und die Dendriten verursacht. Diese Tau-Verteilung ist ein erstes Zeichen der Neurodegeneration bei Alzheimer. Eine gestörte Sortierung beeinträchtigt nicht nur Tau, sondern auch andere axonale Marker wie Neurofilamente und korreliert mit einer erheblichen Abnahme lokaler Mikrotubuli. In den schlecht sortierten dendritischen Bereichen gab es einen Verlust der Dornfortsätze und der damit verbundenen Proteine. Damit rufen Abeta-Oligomere Reaktionen hervor, die das axonale Sortieren stören, sie erlauben dem endogenen Tau in Dendriten einzudringen und lokal Dornfortsätze und Mikrotubuli zu zerstören. Dies entspricht auch dem Verlust von Dornfortsätzen und Mikrotubuli bei Alzheimer. Abeta-Oligomere scheinen auch Tau-Kinasen (MARK, p70S6K, BRSK/SADK), die darauf folgende Tau-Phosphorylierung und die Loslösung von den Mikrotubuli zu induzieren. Dagegen zeigten die meisten getesteten prolin-gerichteten Kinasen (MAPK, JNK, GSK3b, aber nicht cdk5), von denen man annimmt, dass sie alle an der pathologischen Tau-Phosphorylierung bei Alzheimer beteiligt sind, nur geringe Änderungen nach Abeta-Behandlung. Interessanterweise sind Abeta-Präparate mit einem toxischen Abeta40/42-Verhältnis von 7:3 zehnmal stärker in der Induzierung von Tau-bedingten Veränderungen als ADDL-Präparate, die Monomere, Dimere, Trimere und einige Aggregate mit hohem Molekulargewicht enthalten. Bei Abeta-Präparaten mit Dimeren konnten nur ‚schwache‘ Wirkungen beobachtet werden. Schließlich verursachten andere Zell-Stressoren wie oxidativer Stress, Serumentzug, Exzitotoxizität und extrazelluläres ATP ähnliche Wirkungen wie die Behandlung mit Abeta-Oligomeren, nämlich gestörte Tau-Verteilung, lokales Verschwinden von Dornfortsätzen und Mikrotubuli und gesteigerte Tau-Phosphorylierung. Somit scheint eine gestörte Tau-Verteilung die normale Reaktion der Neuronen auf verschiedene Arten von Stress zu sein. Wir führten eine ähnliche Analyse mit Abeta-induzierten Veränderungen durch, wobei wir Neuronen von Tau-Knockout-Mäusen verwendeten. Die Neuronen reagierten mit einem merklichen Unterschied auf Abeta und weiterer Zell-Stressoren: Die Tau-Neuronen von Knockout-Mäusen waren durch Abeta weniger gehemmt hinsichtlich spontaner Aktivität, sie waren weniger beeinträchtigt durch den Verlust von dendritischen Mikrotubuli und durch eine gestörte Verteilung der Neurofilamente, obwohl die Abeta-Oligomere in ähnlicher Weise darauf gerichtet waren, an die Synapsen anzubinden. Ein wesentlicher Unterschied war der geringer ausgeprägte Verlust von Dornfortsätzen, was bedeuten könnte, dass Tau beim Abeta-induzierten Verlust von Synapsen eine Rolle spielt. Danach analysierten wir die Wirkung von Abeta-Präparaten auf die Synapsen *in vitro* (MEA Chip Assay) und die Relevanz von Tau bei den Abeta-gesteuerten toxischen Wirkungen. Hippocampale Neuronen vom Wildtyp und von Tau-Knockout-Mäusen wurden auf Mikrochips in gleicher Zelldichte gezüchtet und die Rate der neuronalen Entladungen wurde vor und nach dem Hinzufügen von Abeta-Präparaten unterschiedlicher Abeta42/40-Verhältnisse verglichen. Alles in allem waren die neuronalen Netze von Tau-Knockout-Mäusen ungefähr um 50% weniger empfänglich für die hemmenden Wirkungen von Abeta42/40 im Verhältnis 10:1 und 7:3 als die Wildtyp-Kulturen und reagierten nicht auf Abeta42/40 im Verhältnis 0:10 und 1:9, ähnlich wie Wildtyp-Neuronen. Zusammengefasst, konnten wir also einen Mechanismus der Abeta-Toxizität in Neuronen aufzeigen und die Relevanz von Tau als Mittler bei der Abeta-unduzierten Toxizität demonstrieren.

WP4 konzentrierte sich auf vier Themen: (i) Validierung der Kandidaten für therapeutische Ansatzpunkte und die präklinische Bewertung neuer therapeutischer Strategien, (ii) die Anti-Aggregation von Abeta, (iii) die Anti-Aggregation von Tau und (iv) die Immuntherapie mit Tau. Im Konsortium wurde eine Anzahl von Kandidaten für therapeutische Ansatzpunkte identifiziert: Autophagie als wesentliches System zum Abbau von Tau (N2A-Zellen); die Deubiquitinase bei der Tau-Toxizität (*C. elegans*); die Senkung des CREB-Ko-Aktivators CRTC1 bei Abeta-induzierten Gedächtnisdefiziten (Neuronen von APP-J9-transgenen Mäusen); cholesteroll-modifizierende Enzyme, deren Level sich in Tau-transgenen Mäusen (Thy-ta22) nach freiwilligen Bewegungsübungen, einhergehend mit einer Verbesserung des Gedächtnisses, ändert. Wir validierten diese Ansatzpunkte wie folgt: Autophagieverstärker (wie Trehalose) reduzierten den Grad der Tau-Aggregation und die damit einhergehende Tau-Toxizität im N2A-Zellmodell; bei der Herunterregulierung der Deubiquitinase CYLD-1 in Würmern verbesserten sich die mit Tau verbundenen Defekte; ein adenoviral-vermittelter Gentransfer von CRTC1 in den Hippocampus von APP-J9-Mäusen verbesserte deutlich frühzeitiges Lernen und Gedächtnisschädigung; und die viral-vermittelte Expression von CPY46A1 (kodiert ein Enzym beteiligt am Cholestrin-Efflux im Hirn) im Hippocampus von Thy-tau22-Mäusen verbesserte die Gedächtnisdefizite. Zusätzlich validierten wir in verschiedenen Modellen die Modulation der Tau-Phosphorylierung als eine relevante therapeutische Behandlung von Alzheimer. Bemerkenswert war, dass die Behandlung von Tau-Alzheimer-Mäusen mit Selen (ein Antagonist der Tau-Phosphatase PP2A) Verhaltensdefekte und Defekte der hippocampalen, synaptischen Plastizität aufhalten konnte. Interessanterweise verbesserte die Behandlung mit Se²⁺ auch die synaptischen

Plastizitätsdefekte von APP/PS1-Mäusen. Somit ist die positive Wirkung von Se2+ nicht nur in Tau-transgenen Mäusen offensichtlich, sondern auch in verschiedenen Alzheimer-Modellen, die Tau nicht überexprimieren. Im Konsortium erzeugten wir eine Anzahl niedermolekularer (nicht-peptidischer) Abeta-Aggregations-Hemmer. Und, was ganz wichtig ist, die orale Verabreichung dieser Wirkstoffe verbesserte die Gedächtnisleistung in zwei Tiermodellen: in Ratten auf die Injektion von Abeta-Oligomeren (Akutmodell) in die Hirnventrikel folgend und in einem APP/PS1-doppelt-transgenem Mäusemodell. Die Wirkstoffe waren auch wirksam bei der Prävention von Abeta-induzierten Verringerungen des Synaptophysin-Levels in primären neuronalen Zellkulturen. Interessanterweise ist die Reduktion des Synaptophysin-Levels ein Merkmal des kognitiven Abbaus bei Alzheimer.

Außerdem erzeugten wir im Konsortium Tau-Aggregations-Hemmer (von der Rhodanin- und von der PTH-Klasse). Bis jetzt wurden diese Wirkstoffe in einem *C. elegans*-Modell für Tauopathie validiert. Sie verbesserten Bewegungsdefekte und anormale Veränderungen in der neuronalen Morphologie signifikant. Die präklinische Validierung bei Mäusen ist anhängig. Und ganz wichtig: Wir validierten auch eine alternative Strategie, um Tau gezielt anzusteuern. Die Immunisierung von Thy-tau22-Mäusen gegen das Tau-Epitop ser422 erzeugte eine für dieses Epitop spezifische Immunantwort, reduzierte aggregiertes Tau und verzögerte kognitive Defizite. Somit kann die Tau-Immuntherapie eine nützliche therapeutische Strategie für Alzheimer und weitere Tauopathien sein.

Wir hatten angekündigt, dass wir zum Ende des Projektes 3 bis 4 validierte therapeutische Ansatzpunkte und wenigsten 2 Wirkstoffe mit in Alzheimer-Mausmodellen nachgewiesener therapeutischer Wirkung liefern werden. Von den im Konsortium identifizierten und validierten Ansatzpunkten sind die wichtigsten: die Aph1B-Untereinheit von Gamma-Sekretase, der CREB-Ko-Aktivator CRTC1 (oder TORC1), das Tau-Epitop ser422, das toxische Verhältnis von Abeta 40 und Abeta 42 mit 10:0 und 7:3 und die Autophagie. Wir erzeugten auch nicht-peptidische Abeta-Aggregations-Hemmer (wie SEN1428 und SEN1500) und zeigten ihre vorteilhaften Wirkungen auf die Gedächtnisleistung in zwei Tiermodellen (Abeta-injizierte Ratten und APP/PS1-transgene Mäuse). Letztendlich und nicht angekündigt im Forschungsantrag validierten wir eine Tau-Immuntherapie (gegen Tau ser422) als nützliche therapeutische Strategie für Alzheimer und weitere Tauopathien. Eine umfangreiche Wirkstoffsuche, die sich auf die validierten Ansatzpunkte konzentriert, wird als Folge von MEMOSAD zusammen mit der pharmazeutischen Industrie durchgeführt werden. Die identifizierten Ansatzpunkte und weitere Komponenten der Signalkaskaden, wo immer beteiligt, dürften einen zusätzlichen Wert als Biomarker mit Potential zur Diagnostik besitzen.

NUTZEN: Die erhaltenen Daten sind auch für weitere neurodegenerative Erkrankungen interessant, insbesondere für die, die Tauopathie und Synapsenverlust beinhalten (z.B. Parkinson, Pick, Frontotemporale Demenz, usw.) Damit hat das Projekt sicherlich eine Auswirkung auf verschiedene Ebenen von Staat und Gesellschaft: (i) auf die Gesundheit der europäischen Bürger durch den Beitrag zur Frühdiagnose von Alzheimer und die Entwicklung und Validierung neuer Therapien für die Behandlung und Prävention einer bisher unheilbaren Gehirnerkrankung; (ii) auf die europäische Wirtschaft, falls eine medikamentöse Behandlung erfolgreich die Symptome einige Jahre hinauszögern und somit die finanziellen Lasten von Alzheimer wesentlich verringern kann – gemessen am Verlust an Produktivität durch Kranke und Helfer und den Kosten für die europäischen Gesundheits- und Pflegesysteme; (iii) auf Europas Wettbewerbsfähigkeit und die Innovationskapazität der im Gesundheitswesen tätigen Industrie durch einen Beitrag zur Rolle des *global players* im Bereich biomedizinischer Forschung, insbesondere im Vergleich zu den USA und Japan.

PUBLIKATIONEN (Gruppenleiter hervorgehoben):

2008

Tolia A, Horr  K, **De Strooper B** (2008) Transmembrane domain 9 of presenilin determines the dynamic conformation of the catalytic site of gamma-secretase. *J Biol Chem* 283(28): 19793-803. doi: 10.1074/jbc.M802461200 (free article)

Dejaegere T, Serneels L, Schäfer MK, Van Biervliet J, Horr  K, Depboylu C, Alvarez-Fischer D, Herreman A, Willem M, **Haass C**, H glinger GU, **D'Hooge R**, **De Strooper B** (2008) Deficiency of Aph1B/C-gamma-secretase disturbs Nrg1 cleavage and sensorimotor gating that can be reversed with antipsychotic treatment. *PNAS* 105 (28): 9775-9780. doi: 10.1073.pnas.0800507105 (free article in PubMed Central)

Schraen-Maschke S, Sergeant N, Dhaenens CM, Bombois S, Deramecourt V, Caillet-Boudin ML, Pasquier F, Maurage CA, Sablonni re B, Vanmechelen E, **Bu e L** (August) Tau as biomarker of neurodegenerative diseases. *Biomarkers Med* 2(4): 363-84. doi: 10.2217/17520363.2.4.363 (free article in PubMed)

Wakabayashi T & **De Strooper B** (2008) Presenilins: members of the gamma-secretase quartets, but part-time soloists too. *Physiology* 23(4): 194-204. doi: 10.1152/physiol.00009.2008 (free article)

2009

- Bulic B, Pickhardt M, Schmidt B, **Mandelkow EM**, Waldmann H, Mandelkow E (2009) Development of tau aggregation inhibitors for Alzheimer's disease. *Angew Chem Int Ed Engl* 48(10): 1740-52. doi: 10.1002/anie.200802621
- Bretteville A, Ando K, Ghestem A, Loyens A, Bégard S, Beauvillain JC, Sergeant N, Hamdane M, **Buée L** (2009) Two-dimensional electrophoresis of tau mutants reveals specific phosphorylation pattern likely linked to early tau conformational changes. *PLoS ONE* 4(3):e4843. doi:10.1371/journal.pone.0004843 (free article in PubMed Central)
- Belarbi K, Schindowski K, Burnouf S, Caillerez R, Grosjean ME, Demeyer D, Hamdane M, Blum D, **Buée L** (2009) Early tau pathology involving the septo-hippocampal pathway in a tau transgenic model: relevance to Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 6(2): 152-7. (free article in PubMed)
- Schraen-Maschke S, Dhaenens CM, Bombois S, Deramecourt V, Van Brussel E, Obriot H, Marzys C, Sergeant N, Maurage CA, Pasquier F, Sablonnière B, **Buée L** (2009) Les marqueurs biologiques de la maladie Alzheimer: quel intérêt pour un diagnostic moins tardif? *Revue Neurologique* 165(HS2): 97-103. doi: RN-04-09-165-HS2-0035-3787-101019-200901998
- Serneels L, Van Biervliet J, Craessaerts K, Dejaegere T, Horrè K, Van Houtvin T, Esselmann H, Paul S, Schäfer MK, Berezovska O, Hyman BT, Sprangers B, Sciot R, Moons L, Jucker M, Yang Z, May PC, Karran E, Wiltfang J, **D'Hooge R, De Strooper B** (2009) gamma-secretase heterogeneity in the Aph1 subunit: relevance for Alzheimer's disease. *Science* 324(5927):639-42. doi: 10.1126/science.1171176 (free article in PubMed)
- Paquet D, Bhat R, Sydow A, **Mandelkow EM**, Berg S, Hellberg S, Fälting J, Distel M, Köster RW, Schmid B, **Haass C** (2009) A zebrafish model of tauopathy allows in vivo imaging of neuronal cell death and drug evaluation. *J Clin Invest* 119(5): 1382-95. doi: 10.1172/JCI37537 (free article in PubMed Central)
- Sämman J, Hegermann J, von Gromoff E, Eimer S, **Baumeister R**, Schmidt E (2009) Caenorhabditis elegans LRK-1 and PINK-1 act antagonistically in stress response and neurite overgrowth. *J Biol Chem* 284(24):16482-91. doi: 10.1074/jbc.M808255200 (free article)
- Wang Y, Martinez-Vicente M, Krüger U, Kaushik S, Wong E, **Mandelkow EM**, Cuervo AM, Mandelkow E (2009) Tau fragmentation, aggregation and clearance: the dual role of lysosomal processing. *Hum Mol Gen* 18(21): 4153-70. doi: 10.1093/hmg/ddp367 (free article)
- Shankar GM & **Walsh DM** (2009) Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and Abeta. *Mol Neurodegener* (4): 48. doi: 10.1186/1750-1326-4-48 (free article in PubMed Central)

2010

- Wang Y, Martinez-Vicente M, Krüger U, Kaushik S, Wong E, **Mandelkow EM**, Cuervo AM, Mandelkow E (2010) Synergy and antagonism of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in a cell model of pathological tau aggregation. *Autophagy* 6(1):182-3. doi: 10.4161/auto.6.1.10815 (free article)
- Bergmans BA & **De Strooper B** (2010) Gamma-secretases: from cell biology to therapeutic strategies. *Lancet Neurol* 9 (2): 215-226. doi:10.1016/S1474-4422(09)70332-1
- De Strooper B**, Vassar R, Golde T (2010) The secretases: enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 6(2): 99-107. doi: 10.1038/nrneurol.2009.218 (free article in PubMed Central)
- España J, Giménez-Llort L, Valero J, Miñano A, Rábano A, Rodríguez-Alvarez J, Laferla FM, **Saura CA** (2010) Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol Psychiatry* 67(6): 513-21. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.06.015
- Sydow S, **Mandelkow EM** (2010) 'Prion-like' propagation of mouse and human tau aggregates in an inducible mouse model of tauopathy. *Neurodegener Dis* 7(1-3):28-31. doi: 10.1159/000283479
- Paquet D, Schmid B, **Haass C** (2010) Transgenic zebrafish as a novel model to study tauopathies and other neurodegenerative disorders in vivo. *Neurodegener Dis* 7(1-3):99-102. doi: 10.1159/000285515
- Wang Y, Krüger U, Mandelkow E, **Mandelkow EM** (2010) Generation of tau aggregates and clearance by autophagy in an inducible cell model of tauopathy. *Neurodegener Dis* 7(1-3):103-7. doi: 10.1159/000285516
- Saura CA** (2010) Presenilin/gamma-secretase and inflammation. *Front Aging Neurosci* 2:16. doi:10.3389/fnagi.2010.00016 (free article in PubMed Central)
- Mc Donald JM, Savva GM, Brayne C, Welzel AT, Forster G, Shankar GM, Selkoe DJ, Ince PG, **Walsh DM** (2010) The presence of sodium dodecyl sulphate-stable Abeta dimers is strongly associated with Alzheimer-type dementia. *Brain* 133(Pt 5):1328-41. doi: 10.1093/brain/awq065 (free article)
- Zhang H, Sun S, Herreman A, **De Strooper B**, Bezprozvanny I (2010) Role of presenilins in neuronal calcium homeostasis. *J Neurosci* 30(25): 8566-80. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1554-10.2010 (free article in PubMed)
- España J, Valero J, Miñano-Molina AJ, Masgrau R, Martín E, Guardia-Laguarta C, Lleó A, Giménez-Llort L, Rodríguez-Alvarez J, **Saura CA** (2010) Beta-amyloid disrupts activity-dependent gene transcription required for memory through the CREB coactivator CRTC1. *J Neurosci* 30(28):9402-10. doi:10.1523/JNEUROSCI.2154-10.2010 (free article)
- Buée L**, Troquier L, Burnouf S, Belarbi K, Van der Jeugd A, Ahmed T, Fernandez-Gomez F, Caillerez R, Grosjean ME, Bégard S, Barbot B, Demeyer D, Obriot H, Brion I, Buée-Scherrer V, Maurage CA, Balschun D, **D'Hooge R**, Hamdane M, Blum D, Sergeant N (2010) From tau phosphorylation to tau aggregation: what about neuronal death? *Biochem Soc Trans* 38(4):967-72.
- Wang Y, Garg S, **Mandelkow EM**, Mandelkow E (2010) Proteolytic processing of tau. *Biochem Soc Trans* 38(4):955-61. doi: 10.1042/BST0380955
- Van Bebber F, Paquet D, Hruscha A, Schmid B, **Haass C** (2010) Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein-dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiol Dis* 39(3): 265-71. doi: 10.1016/j.nbd.2010.03.023
- Jorissen E & **De Strooper B** (2010) Gamma-secretase and the intramembrane proteolysis of Notch. *Curr Top Dev Biol* 92:201-30. doi: 10.1016/S0070-2153(10)92006-1

- Zempel H, Thies E, Mandelkew E, **Mandelkew EM** (2010) Abeta oligomers cause localized Ca²⁺ elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neurosci* 30(36):11938-50. doi: 10.1523/NEUROSCI.2357-10.2010 (free article)
- Bulic B, Pickhardt M, **Mandelkew EM**, Mandelkew E (2010) Tau protein and tau aggregation inhibitors. *Neuropharmacology* 59(4-5):276-89. doi: 10.1016/j.neuropharm.2010.01.016
- Kuperstein I, Broersen K, Benilova I, Rozenski J, Jonckheere W, Debulpaep M, Vandersteen A, Segers-Nolten I, Van Der Werf K, Subramaniam V, Braeken D, Callewaert G, Bartic C, **D'Hooge R**, Martins IC, Rousseau F, Schymkowitz J, **De Strooper B** (2010) Neurotoxicity of Alzheimer's disease Abeta peptides is induced by small changes in the Abeta42 to Abeta 40 ratio. *EMBO J* 29(19):3408-20. doi: 10.1038/emboj.2010.211
- Hébert SS, Papadopoulou AS, Smith P, Galas MC, Planel E, Silahatoglu AN, Sergeant N, **Buée L**, **De Strooper B** (2010) Genetic ablation of Dicer in adult forebrain neurons results in abnormal tau hyper-phosphorylation and neurodegeneration. *Hum Mol Genet* 19(20):3959-69. doi: 10.1093/hmg/ddq311 (free article)
- De Strooper B** & Annaert W (2010) Novel research horizons for presenilins and gamma-secretase in cell biology and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 26:235-60. doi:10.1146/annurev-cellbio-100109-104117
- 2011**
- Shankar GM, Welzel AT, McDonald JM, Selkoe DJ, **Walsh DM** (2011) Isolation of low-n amyloid beta-protein oligomers from cultured cells, CSF, and brain. *Methods Mol Biol* 670:33-44. doi: 10.1007/978-1-60761-744-0_3
- Sergeant N & **Buée L** (2011) Tau models. *Animal Models of Dementia*:449-68. doi: 10.1007/978-1-60761-898-0_23 (book chapter)
- Sergeant N & **Buée L** (2011) Tau pathology. *Cytoskeleton of the Nervous System; Advances in Neurobiology* 3:83-132. doi: 10.1007/978-1-4419-6787-9_4 (book chapter)
- Garg S, Timm T, **Mandelkew EM**, Mandelkew E, Wang Y (2011) Cleavage of Tau by calpain in Alzheimer's disease: the quest for the toxic 17 kD fragment. *Neurobiol Aging* 32(1):1-14. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.008
- Thathiah A & **De Strooper B** (2011) The role of G protein-coupled receptors in the pathology of Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 12(2):73-87. doi: 10.1038/nrn2977 (free article)
- Valero J, España J, Parra-Damas A, Martín E, Rodríguez-Alvarez J, **Saura CA** (2011) Short-term environmental enrichment rescues adult neurogenesis and memory deficits in APPSw,Ind transgenic mice. *PLoS ONE* 6(2):e16832. doi: 10.1371/journal.pone.0016832 (free article)
- Sultan A, Nesslany F, Violet M, Bégard S, Loyens A, Talahari S, Mansuroglu Z, Marzin D, Sergeant N, Humez S, Colin M, Bonnefoy E, **Buée L**, Galas MC (2011) Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem* 286(6):4566-75. doi: 10.1074/jbc.M110.199976
- Sydow A, Van der Jeugd A, Zhen F, Ahmed T, Balschun D, Petrova O, Drexler D, Zhou L, Rune G, Mandelkew E, **D'Hooge R**, Alzheimer C, **Mandelkew EM** (2011) Tau-induced defects in synaptic plasticity, learning and memory are reversible in transgenic mice after switching off the toxic Tau mutant. *J Neurosci* 31(7):2511-25. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5245-10.2011
- Welzel AT & **Walsh DM** (2011) Aberrant protein structure and diseases of the brain. *Ir J Med Sci* 180(1):15-22. doi: 10.1007/s11845-010-0606-2
- Saura CA** & Valero J (2011) The role of CREB signaling in Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Rev Neurosci* 22(2):153-69. doi: 10.1515/RNS.2011.018
- Van der Jeugd A, Ahmed T, Burnouf S, Belarbi K, Hamdane M, Grosjean ME, Humez S, Balschun D, Blum D, **Buée L**, **D'Hooge R** (2011) Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission. *Neurobiol Learn Mem* 95(3):296-304. doi: 10.1016/j.nlm.2010.12.005
- Zhou L, Chavez-Gutierrez L, Bockstael K, Sannerud R, Annaert W, May PC, Karran E, **De Strooper B** (2011) Inhibition of {beta}-secretase in vivo via antibody binding to unique loops (D and F) of BACE1. *J Biol Chem* 286(10):8677-87. doi: 10.1074/jbc.M110.194860 (free article)
- Bammens L, Chavez-Gutierrez L, Tolia A, Zwijsen A, **De Strooper B** (2011) Functional and topological analysis of Pen-2, the fourth subunit of the gamma-secretase complex. *J Biol Chem* 286(14):12271-82. doi: 10.1074/jbc.M110.216978 (free article)
- Barry AE, Klyubin I, McDonald JM, Mably AJ, Farrell MA, Scott M, **Walsh DM**, Rowan MJ (2011) Alzheimer's disease brain-derived Abeta-mediated inhibition of LTP in vivo is prevented by immunotargeting cellular prion protein. *J Neurosci* 31(20):7259-63. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6500-10.2011
- Belarbi K, Burnouf S, Fernandez-Gomez FJ, Laurent C, Lestavel L, Figeac M, Sultan A, Troquier L, Leboucher A, Cailliez R, Grosjean ME, Demeyer D, Obriot H, Brion I, Barbot B, Galas MC, Staels B, Humez S, Segeant N, Schraen-Maschke S, Muhr-Tailleux A, Hamdane M, **Buée L**, Blum D (2011) Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. *Neurobiol Dis* 43(2):486-94. doi: 10.1016/j.nbd.2011.04.022
- Belarbi K, Burnouf S, Fernandez-Gomez F, Desmercieres J, Troquier L, Brouillette J, Tsambou L, Grosjean ME, Cailliez R, Demeyer D, Hamdane M, Schindowski K, Blum D, **Buée L** (2011) Loss of medial septum cholinergic neurons in THY-Tau22 mouse model: what links with Tau pathology? *Curr Alzheimer Res* 8(6):633-8. ISSN: 1567-2050
- Li X, Kumar Y, Zempel H, **Mandelkew EM**, Biernat J, Mandelkew E (2011) Novel diffusion barrier for axonal retention of tau in neurons and its failure in neurodegeneration. *EMBO J* 30(23):4825-37. doi: 10.1038/emboj.2011.376
- Sydow A, Van der Jeugd A, Zheng F, Ahmed T, Balschun D, Petrova O, Drexler D, Zhou L, Rune G, Mandelkew E, **D'Hooge R**, Alzheimer C, **Mandelkew EM** (2011) Reversibility of tau-related cognitive defects in a regulatable FTD mouse model. *J Mol Neurosci* 45(3):432-7. doi: 10.1007/s12031-011-9604-5
- Lléo A, **Saura CA** (2011) Gamma-secretase substrates and their implications for drug development in Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem* 11(12):1513-27. ISSN 1568-0266
- Schirmer H, Adler H, Pickhardt M, **Mandelkew E** (2011) "Lest we forget you – methylene blue ...". *Neurobiol Aging* 32(12):2325-7. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.12.012

- Chong SA, Benilova I, Shaban H, **De Strooper B**, Devijver H, Moechard S, Eberle W, Bartic C, Van Leuven F, Callewaert G (2011) Synaptic dysfunction in hippocampus of transgenic mouse models in Alzheimer's disease: a multi-electrode array study. *Neurobiol Dis* 44(3):284-91. doi: 10.1016/j.nbd.2011.07.006
- Freir DB, Fedriani R, Scully D, Smith IM, Selkoe DJ, **Walsh DM**, Regan CM (2011) Abeta oligomers inhibit synapse remodelling necessary for memory consolidation. *Neurobiol Aging* 32(12):2211-8. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.01.001
- Taghavi A, Nasir S, Pickhardt M, Haußen RH, Krause S, Mall G, Mandelkow E, **Mandelkow EM**, Schmidt B (2011) N'-benzylidene-benzohydrazides as novel and selective tau-PHF ligands. *J Alzheimers Dis* 27(4):835-43. doi: 10.3233/JAD-2011-111238
- Timm T, von Kries JP, Li X, Mandelkow E, **Mandelkow EM** (2011) Microtubule affinity regulating kinase (MARK) activity in living neurons examined by a genetically encoded FRET/FLIM based biosensor: inhibitors with therapeutic potential. *J Biol Chem* 286(48):41711-22. doi: 10.1074/jbc.M111.257865 (free article)
- 2012**
- Saura CA** (2012) CREB-regulated transcription coactivator 1-dependent transcription in Alzheimer's disease mice. *Neurodegener Dis* 10(1-4):250-2. doi: 10.1159/000333341
- Zempel H, **Mandelkow EM** (2012) Linking amyloid- β and Tau: Amyloid- β induced synaptic dysfunction via local wreckage of the neuronal cytoskeleton. *Neurodegener Dis* 10(1-4):64-72. doi: 10.1159/000332816
- Matenia D, Hempp C, Timm T, Eikhof A, **Mandelkow EM** (2012) Microtubule affinity regulating kinase 2 (MARK2) turns PTEN-induced kinase 1 (PINK1) on at T313, a mutation site in Parkinson's disease: Effects on mitochondrial transport. *J Biol Chem* 287(11):8174-86. doi: 10.1074/jbc.M111.262287
- Brouillette J, Caillierez R, Zommer N, Alves-Pires C, Benilova I, Blum D, **De Strooper B**, **Buée L** (June 2012) Neurotoxicity and memory deficits induced by soluble low-molecular-weight amyloid-beta1-42 oligomers are revealed in vivo by using a novel animal model. *J Neurosci* 32(23):7852-61. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5901-11.2012
- Krüger U, Wang Y, Kumar S, **Mandelkow EM** (October 2012) Autophagic degradation of tau in primary neurons and its enhancement by trehalose. *Neurobiol Aging* 33(10):2291-305. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.11.009
- Lécolle K, Bégard S, Caillierez R, Demeyer D, Grellier E, Loyens A, Csaba Z, Beauvillain JC, D'Halluin JC, Baroncini M, Lejeune JP, Sharif A, Prévot V, Dournaud P, **Buée L**, Colin M (Epub) Sstr2A: a relevant target for the delivery of genes into human glioblastoma cells using fiber-modified adenoviral vectors. *Gene Ther* doi: 10.1038/gt.2012.39
- Ando K, Dourlen P, Sambo AV, Bretteville A, Bélarbi K, Vingtdoux V, Eddarkaoui S, Drobecq H, Ghestem A, Bégard S, Demey-Thomas E, Melnyk P, Smet C, Lippens G, Maurage CA, Caillet-Boudin ML, Verdier Y, Vinh J, Landrieu I, Galas MC, Blum D, Hamdane M, Sergeant N, **Buée L** (Epub) Tau pathology modulates Pin1 post-translational modifications and may be relevant as biomarker. *Neurobiol Aging* doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.08.004
- Burnouf S, Martire A, Derisbourg M, Laurent C, Belarbi K, Leboucher A, Fernandez-Gomez FJ, Troquier L, Eddarkaoui S, Grosjean ME, Demeyer D, Muhr-Tailleux A, Buisson A, Sergeant N, Hamdane M, Humez S, Popoli P, **Buée L**, Blum D (Epub) NMDA receptor dysfunction contributes to impaired BDNF-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model. *Aging Cell* doi: 10.1111/ace.12018
- Nuytens K, Gantois I, Stijnen P, Iscru E, Laeremans A, Serneels L, Van Eylem L, Liebhaber SA, Devriendt K, Balschun D, Arckens L, Creemers JW, **D'Hooge R** (Epub) Haploinsufficiency of the autism candidate gene Neurobeachin induces autism-like behaviors and affects cellular and molecular processes of synaptic plasticity in mice. *Neurobiol Dis* doi: 10.1016/j.nbd.2012-11-004