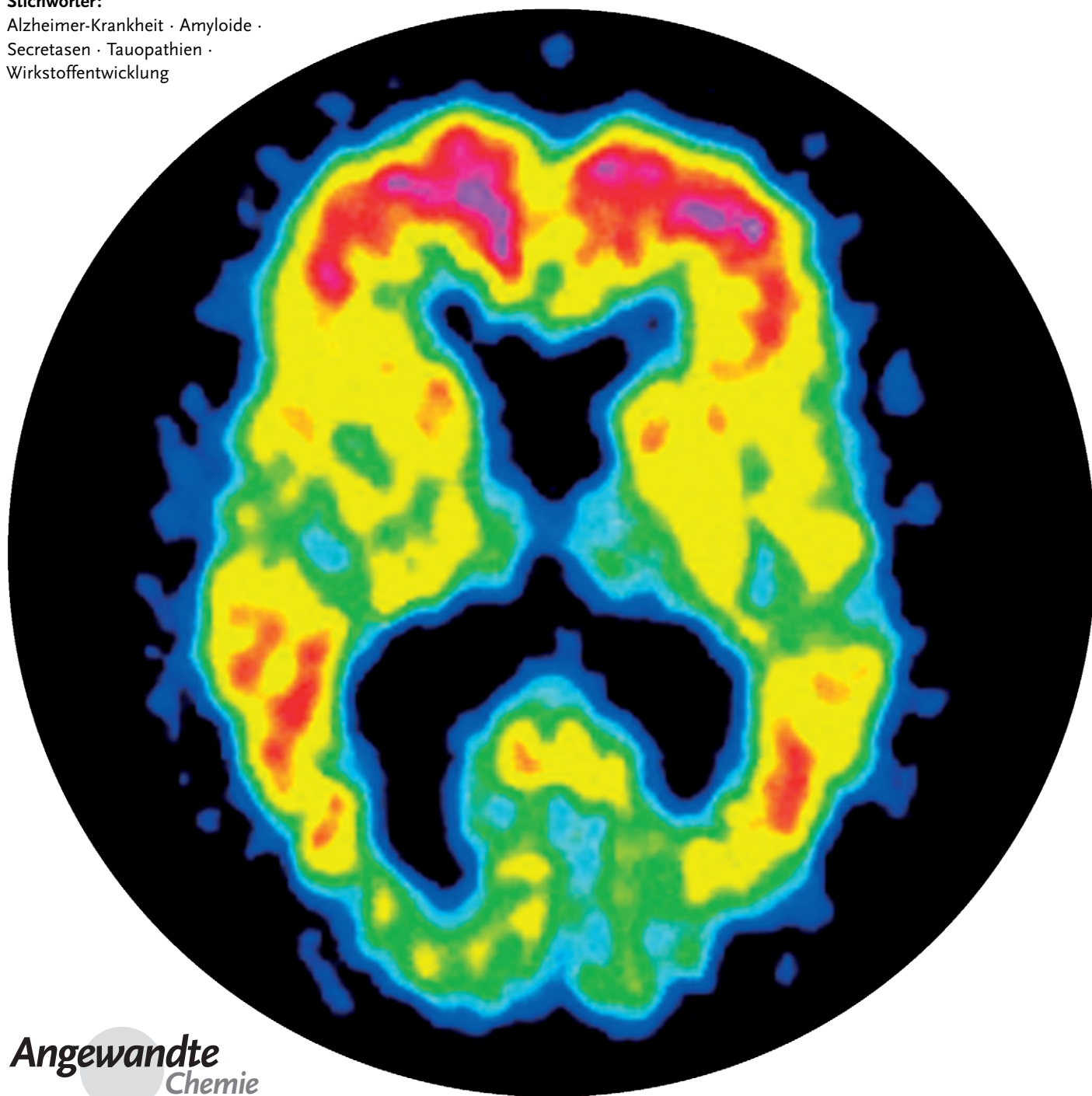


Die Alzheimer-Demenz: von der Pathologie zu therapeutischen Ansätzen

Roland Jakob-Roetne und Helmut Jacobsen**

Stichwörter:

Alzheimer-Krankheit · Amyloide ·
Secretasen · Tauopathien ·
Wirkstoffentwicklung



Die Forschungen über Altersdemenz und die Alzheimersche Krankheit umfassen ein sehr breites Feld wissenschaftlicher Aktivitäten. So wurden etwa bei der letztjährigen internationalen Tagung der Alzheimer-Gesellschaft (ICAD 2008 in Chicago) mehr als 2200 Einzelbeiträge präsentiert. Ziel dieses Aufsatzes ist es, einen zusammenhängenden Überblick über das Gebiet zu präsentieren und die wichtigsten Themen und Forschungstrends aufzuzeigen. Die Ausführungen beginnen mit einer Diskussion von Verhaltensabweichungen und sichtbaren pathologischen Befunden, bevor dann auf die molekularen Details der Pathologie eingegangen wird. Besonderes Augenmerk gilt der „Amyloidhypothese“ der Alzheimer-Krankheit, da sie das theoretische Fundament für die meisten der in der Entwicklung befindlichen therapeutischen Konzepte bildet.

„Die Sache ist aber die, dass wir die Komplexität des Lebens und der Natur meiner Meinung nach fast immer unterschätzen.“

Craig C. Mello, Nobel-Vortrag 2006^[1]

1. Einleitung

Als Auguste im Alter von 56 Jahren starb, hatte sie Jahre des Leidens hinter sich. Ihr Drama begann, als sie anfing, ihrem Mann zu misstrauen, als sie das Gefühl bekam, Gegenstände in ihrem eigenen Haus verstecken zu müssen und dachte, es gäbe Leute, die versuchten sie umzubringen – alles Zeichen einer tiefen Persönlichkeitsveränderung. Durch eine rasch zunehmende Gedächtnisschwäche konnte sie sich nicht mehr in ihrem eigenen Haus zurechtfinden und wurde ängstlich und verzweifelt. Sie kam in die Fürsorge der Ärzte und des Pflegepersonals der Psychiatrischen Klinik in Frankfurt am Main. Sie sagte, dass sie nichts mehr verstünde und dass ihr alles fremd vorkäme. Manchmal schien sie Gehörshalluzinationen zu haben, rief nach ihrem Mann oder ihrer Tochter, und oft schrie sie viele Stunden lang. Gegenstände, die man ihr zeigte, konnte sie richtig benennen, vergaß jedoch dann das Ereignis schnell. Auch an die Verwendung einiger Gegenstände konnte sie sich nicht erinnern. Sie konnte aber normal gehen und ihre Hände normal gebrauchen. Ihre Fähigkeit zu lesen, zu schreiben und zu sprechen, ihre ganzes kognitive Vermögen verschlechterte sich zunehmend. Nach 4½ Jahren im Krankenhaus starb sie vermutlich an Blutvergiftung in Folge eines Dekubitus, der sich trotz aller Pflege entwickelt hatte.

Wir schreiben das Jahr 1906. Die histologische Untersuchung von Augustes Gehirn in der psychiatrischen Klinik in München förderte intraneuronale Fibrillen zu Tage und zeigte die Ablagerung einer „pathologischen metabolischen Substanz“, Veränderungen und Atrophie der Gliazellen, aber fast keine Symptome für Atherosklerose. „Alles in allem genommen, haben wir hier offenbar einen eigenartigen Krankheitsprozess vor uns“, schrieb der Psychiater Alois Alzheimer, der das Fortschreiten von Augustes Krankheit verfolgt und die

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3075
2. Pathobiologische Veränderungen bei der Alzheimer-Krankheit	3075
3. Die Amyloidhypothese	3086
4. Die Entwicklung von Alzheimer-Therapeutika	3093

histologischen Untersuchungen durchgeführt hatte.^[2] Heute, mehr als 100 Jahre später, sind Neurofibrillen und Amyloidablagerungen noch

immer die Befunde, an denen die Erkrankung festgemacht wird. Neurofibrillenbündel und Neuropilfasern sind Aggregate paariger helicaler Filamente eines abnorm phosphorylierten und abnorm als β -Faltblatt vorliegenden Proteins namens Tau. Die Amyloidablagerungen werden durch das Peptid A β gebildet. Auguste würde heute als Alzheimer-Patientin mit frühem Krankheitsausbruch (early onset AD patient; EOAD) klassifiziert, einer seltenen Form der Alzheimer-Krankheit (AD). Bei der heutigen hohen Lebenserwartung bricht die Krankheit bei der Mehrzahl der Patienten in höherem Alter aus, und die Patienten werden als Alzheimer-Patienten mit spätem Krankheitsausbruch (late onset AD patients; LOAD) eingeordnet. Die geschätzte Zahl der Patienten liegt in Europa bei 7–8 Millionen, in den USA bei 4–5 Millionen und weltweit bei 24 Millionen. Aufgrund des bevorstehenden demographischen Wandels erwartet man bis zum Jahr 2020 einen Anstieg auf 42 Millionen betroffener Menschen.^[3] AD ist die am weitesten verbreitete neurodegenerative Krankheit und eine große Gesundheitsbedrohung für die Gesellschaften weltweit.

2. Pathobiologische Veränderungen bei der Alzheimer-Krankheit

2.1. Beeinträchtigung des episodischen Gedächtnisses

Oft erkennt man die ersten Anzeichen von Demenz in alltäglichen Situationen. Während die Mutter Vorkommnisse aus ferner Vergangenheit in jeder Einzelheit schildert, fragt sie sich plötzlich, wo der Sohn ist, obwohl der ihr vor nur

[*] Dr. R. Jakob-Roetne
F. Hoffmann-La Roche AG, Medicinal Chemistry, Geb. 92/8.10B
4070 Basel (Schweiz)
E-Mail: roland.jakob-roetne@roche.com
Dr. H. Jacobsen
F. Hoffmann-La Roche AG, CNS Preclinical Research, Geb. 93/3.14,
4070 Basel (Schweiz)
E-Mail: helmut.jacobsen@roche.com

einem Augenblick gesagt hat, dass er in den Garten geht. Neue Informationen werden nicht aufgenommen, codiert und ordnungsgemäß im Langzeitgedächtnis abgelegt und können deshalb nicht mehr abgerufen werden; man kennt diesen Zustand als Beeinträchtigung des episodischen Gedächtnisses. In den ersten Phasen der Erkrankung bleiben das semantische Gedächtnis, in dem die Bedeutung von Begriffen hinterlegt ist, und das prozedurale Gedächtnis, das einem sagt, wie man sich anzieht oder Fahrrad fährt, weitgehend verschont. Das Gedächtnis setzt sich aus elektrischen Impulsen entlang der neuronalen Verbindungen im Gehirn zusammen. Gebildet werden sie durch das Öffnen und Schließen von Synapsen und dadurch, dass in einem bestimmten zeitlichen Muster eine spezifische Impulsweiterleitung erleichtert wird, die eine spezifische Information codiert. Lernen beinhaltet die Bildung neuer synaptischer Verbindungen, was Genexpressionen in Zellkernen und Proteinsynthesen an den Synapsen erfordert. Die Ausbildung synaptischer Informationen ist daher mit Ereignissen im Zellkörper verknüpft.^[4,5]

Die Entwicklung des episodischen Gedächtnisses beruht insbesondere auf den neuronalen Kopplungen in den kleinen Regionen des entorhinalen Cortex und des Hippocampus im mittleren Schläfenlappen (Hippocampus und Gyrus parahippocampalis). Die gewaltigen Mengen an Information, die durch Sehen, Hören und Fühlen gewonnen werden, werden im Neocortex verarbeitet und durch Projektionen von fast allen Regionen des Neocortex zur entorhinalen Region weitergeleitet (Abbildung 1). Diese assoziierten Daten werden dann zum Hippocampus übertragen und von dort aus zurück in eine tiefe entorhinale Schicht eingespeist, von wo aus Informationen wieder zurück in den Neocortex übermittelt werden. Obwohl der entorhinale Cortex und der mittlere Schläfenlappen nur einen ganz kleinen Teil der gesamten Hirnrinde ausmachen, bilden sie eine entscheidende Schnittstelle, und ihre funktionierende Kopplung ist eine Voraussetzung für die Entwicklung des Langzeitgedächtnisses. Ein Verlust dieser Kopplung verursacht direkt die klinischen Symptome der Beeinträchtigung des episodischen Gedächtnisses. Dies wurde erstmals 1954 bei einer beidseitigen chirurgischen Entfernung der mittleren Schläfenlappen bei dem Patienten H. M. zufällig entdeckt und später bei anderen Patienten bestätigt. Die Resektion führte zu einer anterograden Amnesie, wobei alle auf die Operation folgenden

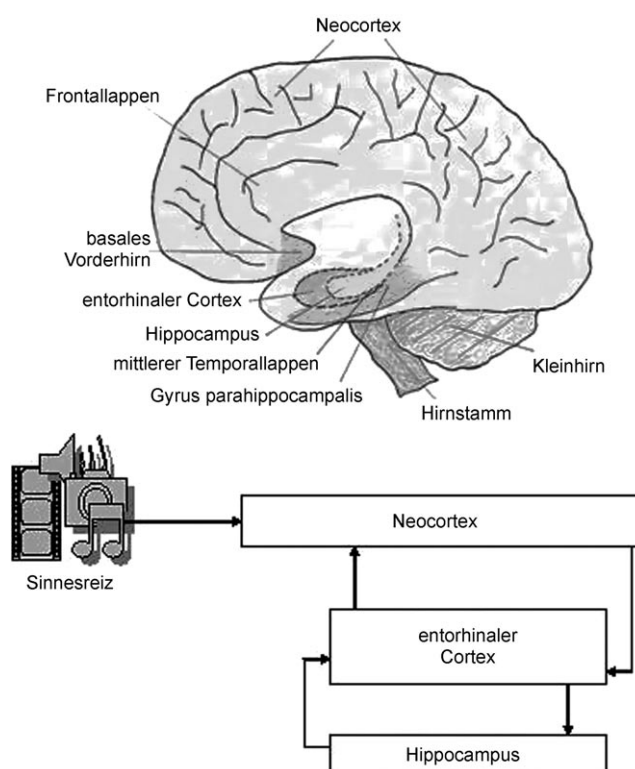


Abbildung 1. Darstellung der entscheidenden Gehirnregionen und Schaltkreise, die an den von der Alzheimer-Krankheit betroffenen Gedächtnisvorgängen beteiligt sind.

Ereignisse nicht mehr gespeichert werden konnten. Der Patient H. M. konnte zwar beispielsweise eine Zeitung lesen, vergaß aber das Gelesene bereits wieder nach wenigen Minuten.^[6–8] Der Ausfall des episodischen Gedächtnisses ist kennzeichnend für AD am Beginn der Krankheit, auch wenn die klinischen Symptome sogar schon in diesem Stadium nicht ganz einheitlich sind.

2.2. Bildgebung struktureller und funktioneller Veränderungen im AD-geschädigten Gehirn

Wenn die ersten Symptome eines episodischen Gedächtnisverlustes auftreten, bestehen bereits massive pathologische



Helmut Jacobsen studierte Mikrobiologie und Biochemie an der Universität Kiel und promovierte dort 1979. Anschließend verbrachte er drei Jahre als Postdoc an den National Institutes of Health in Bethesda, wo er über Interferone und zelluläre antivirale Mechanismen arbeitete. Nach einer Forschungsstelle am Institut für Virusforschung am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg wechselte er 1990 in die präklinische Forschung bei Hoffmann-LaRoche in Basel, wo er Projekte über HIV- und HCV-Wirkstoffe leitete. Seit 1998 ist er Mitglied der Alzheimer-Forschungsgruppe am ZNS-Department.



Roland Jakob-Roetne, geboren in Kronach, studierte Chemie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg und promovierte dort 1983 bei Prof. Helmut Quast. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei Prof. Dieter Seebach an der ETH Zürich wechselte er 1984 in die Medizinalchemie bei Hoffmann-LaRoche in Basel. Er leitete verschiedene Projekte im ZNS-Bereich und ist insbesondere an Arbeiten zur Alzheimer-Demenz beteiligt.

Veränderungen im Gehirn von Alzheimer-Patienten, die sich über die Jahre in den für die Gedächtnisbildung entscheidenden Gehirnregionen ausgebildet haben. Die Schwere der Symptome entwickelt sich parallel zu den charakteristischen Gehirnveränderungen. In frühen computertomographischen longitudinalen Studien hat man die Dickenabnahme des mittleren Schläfenlappens beim normalen Altern und bei AD-Patienten verfolgt. Im Normalfall ist die Abnahme sehr gering. Bei AD beginnt zu einem bestimmten Zeitpunkt, der etwa das Beginn des Krankheitsprozesses markiert, die Dicke des mittleren Schläfenlappens rapide abzunehmen, in einigen Teilen mit bis zu 15% im Jahr.^[9,10] Moderne Magnetresonanztomographie(MRT)-Techniken bestätigten nicht nur die Volumenabnahme der grauen Substanz (Neurone), sondern wiesen auch eine Korrelation zwischen der Atrophie des entorhinalen Cortex und der Beeinträchtigung des episodischen Gedächtnisses bei AD-Patienten nach.^[11–13] Neben der strukturabbildenden MRT werden heute Techniken wie die Positronenemissionstomographie (PET), mit der die A β -Ablagerung mithilfe von ^{11}C -PIB oder anderen PET-Liganden verfolgt wird, oder funktionelle Techniken wie Glucoseumsatz und fMRT (funktionelle Magnetresonanztomographie) eingesetzt, um das Fortschreiten der Krankheit zu verfolgen und möglicherweise eine Frühdiagnose zu er-

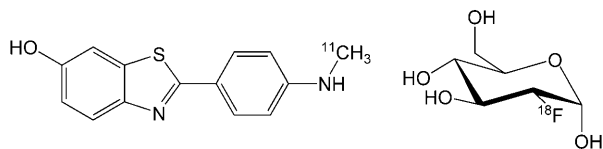


Abbildung 2. Struktur des Thioflavin-T-Derivats [^{11}C]-PIB (Pittsburgh-Verbindung B), das bei der PET-Bildgebung des A β -Amyloids eingesetzt wird, und der 2-Desoxy-2-[^{18}F]-fluor-D-glucose (FDG), die für Glucosestoffwechseluntersuchungen mit PET verwendet wird.

möglichen (Abbildungen 2 und 3).^[14–17] Vor allem mit Messungen des Magnetisierungstransferverhältnisses lassen sich sehr frühe Veränderungen im Gehirn von Patienten mit leichter kognitiver Beeinträchtigung (MCI; mild cognitive impairment), einem klinischen Risikofaktor für eine Demenzentwicklung, nachweisen.^[18–20] Die Atrophie in den von AD betroffenen Gehirnregionen wird durch den Verlust von Dendriten und Axonen, durch die Rückbildung von Myelin und durch das Schrumpfen und Absterben von Neuronen verursacht.^[21] Das Ammonshorn eines gesunden Hippocampus enthält in einem Volumen von 1.5 mL etwa 9 Millionen Neuronen. Im Endstadium der Alzheimer-Krankheit sind mehr als 80% dieser Neuronen verschwunden, und das Volumen ist auf weniger als die Hälfte zusammengeschrumpft.^[22,23]

2.3. Stadien des Krankheitsverlaufs

Pathologisch werden sechs „Braak-Stadien“ zur Beschreibung der Schwere der Cortexzerstörung unterschieden, basierend auf der Entwicklung von Neurofibrillenbündeln in den Zellkörpern und von Neuropil-Fasern in den Dendriten.^[24,25] Menge und Verteilung der Fibrillen und Fasern

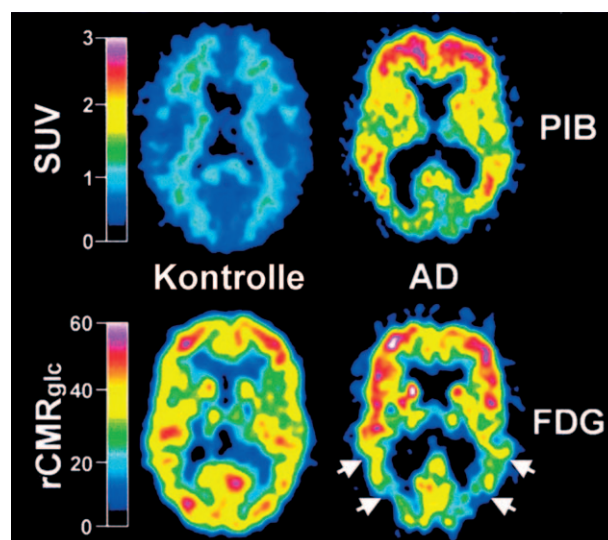


Abbildung 3. Abbildungen PIB-standardisierter Aufnahmewerte (SUV, standardized uptake values), die einen signifikanten Unterschied zwischen Alzheimer-Patienten (AD) und gesunden Kontrollprobanden aufzeigen. PET-Bilder eines 67-jährigen Kontrollprobanden (links) und eines 79-jährigen AD-Patienten (MMSE = 21; rechts). Oben: SUV-PIB-Bilder, aufsummiert über 40 bis 60 min; unten: ^{18}F FDG-rCMR_{glc}-Aufnahmen (regional cerebral glucose metabolic rate, $\mu\text{mol min}^{-1}/100 \text{ mL}$). In der linken Spalte ist die fehlende PIB-Retention in der gesamten grauen Substanz der Kontrollperson (oben) sowie eine normale ^{18}F FDG-Aufnahme (unten) zu erkennen. In der weißen Substanz ist eine unspezifische PIB-Retention festzustellen (oben links). In der rechten Spalte ist eine starke PIB-Retention im Frontal- und im Temporo-parietallappen des Alzheimer-Patienten (oben rechts) sowie ein typisches Muster für reduzierten ^{18}F FDG-Umsatz im Temporal- und Parietallappen zu erkennen (Pfeile; unten rechts), einhergehend mit einer unveränderten Stoffwechselrate im Frontallappen. Die PIB- und ^{18}F FDG-Abbildungen wurden im Abstand von 3 Tagen aufgenommen (Wiedergabe nach W. E. Klunk et al., *Ann. Neurol.* **2004**, 55, 306–319).

korrelieren mit dem Grad des kognitiven Verfalls. Die neurofibrillären Veränderungen verlaufen bei allen Alzheimer-Patienten ähnlich mit nur geringen individuellen Abweichungen. Im Braak-Stadium I gibt es nur wenige Neurofibrillenbündel in der transentorhinalen Region. In Stadium II finden sich mehr Bündel und Fibrillen in dieser Region und gelegentlich auch im Hippocampus, ohne dass sich offensichtliche klinische Symptome bemerkbar machen. Die Stadien III und IV sind durch milde bis mäßige kognitive Beeinträchtigungen und Persönlichkeitsveränderungen gekennzeichnet, die pathologischen Veränderungen greifen stark auf die äußere Schicht der entorhinalen Region über. In Stadium IV breiten sich die Veränderungen in die tiefe entorhinale Region, von der aus Informationen zurück zum Neocortex geleitet werden, aus. Die neurofibrillären Veränderungen bleiben aber noch hauptsächlich auf die kleine entorhinale Region beschränkt. In den späten Stadien V und VI lassen sich die Veränderungen im gesamten Hippocampus und in den angrenzenden Neocortex-Regionen nachweisen und sind mit vollständiger Demenz und zusätzlichen Symptomen wie Sprachstörungen und motorischen Funktionsausfällen assoziiert (Abbildung 4). Extrazelluläre A β -Ablagerungen im mittleren Schläfenlappen entwickeln sich parallel

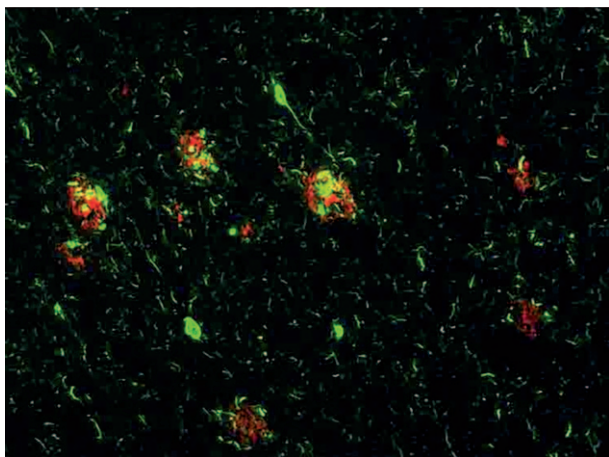


Abbildung 4. Immunhistochemische Färbung einer post mortem aus dem frontalen Cortex entnommenen Gewebeprobe eines Alzheimer-Patienten im Braak-Stadium VI. Doppelte Immunfluoreszenzfärbung der Neurofibrillen in Grün (mit einem für phosphoryliertes Tau-Protein spezifischen Antikörper) und der dichten Aβ-Plaques in Rot (mit einem Aβ-spezifischen Antikörper). Die zahlreichen kleinen grünen länglichen Stränge sind Neuropilfasern. Der schwarze Hintergrund wird von normalen Zellen gebildet, die keine für die pathologischen Läsionen spezifischen Fluoreszenzsignale zeigen (Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung von Dr. Bernd Bohrmann).

zum Einsetzen der neurofibrillären Läsionen, und Neurofibrillen treten in Abwesenheit benachbarter Aβ-Strukturen auf und umgekehrt.^[26]

Bezüglich des Gesamthirns unterscheiden Pathologen eine Abfolge von fünf Phasen der Aβ-Ablagerung. Die ersten Ablagerungen entwickeln sich immer ausschließlich im Neocortex (Phase 1), gefolgt von Ablagerungen in der entorhinalen Region und im mittleren Schläfenlappen (Phase 2). Dann werden Strukturen im Zentrum des Gehirns nahe dem Hippocampus (Putamen, Nucleus caudatus) und Teile des basalen Vorderhirns (Zwischenhirnkerne, Substantia innominata mit dem Nucleus basalis Meynert) betroffen (Phase 3). Schließlich tauchen die Aβ-Ablagerungen im Hirnstamm (Phase 4) und im Kleinhirn (Phase 5) auf.^[27] Es scheint allerdings keine allgemeine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Aβ-Ablagerung und der Schwere der Demenz zu bestehen. Aβ-Ablagerung wurde auch bei nichtdementen Personen beschrieben, und Atrophie und Verlust von Neuronen gibt es im Kleinhirn auch ohne die Ablagerung von Amyloid und Fibrillen.^[28–31] Die Aβ-Ablagerung breitet sich von Regionen mit früh existierenden Aβ-Plaques in solche Regionen aus, die ihre neuronalen Signale von dort empfangen, wobei die ersten Ablagerungen im Neocortex auftauchen.

Ein Schwellen der Axone beginnt schon lange vor einer nachweisbaren Aβ-Ablagerung, was auf Störungen des axonalen Transports hindeutet, die eine Rolle bei der Aβ-Ablagerung spielen könnten.^[32] Drei Klassen axonaler Defekte lassen sich bei AD unterscheiden.^[33,34] Die erste Klasse bezeichnet dystrophierende Axone in enger Nachbarschaft zum Amyloid. Die zweite Klasse ist mit Neurofibrillen assoziiert. Die dritte Klasse ist weder räumlich mit dem Amyloid noch mit den Fibrillen assoziiert. Man findet eine fokale Schwel-

lung der Axone aufgrund einer abnormen Akkumulation von Transportgut durch die Axone und vermutet hier die Vorstufe einer Amyloid- oder Fibrillenbildung.

2.4. Störung des intrazellulären Transports

2.4.1. Tau, paarige helicale Filamente und Neurofibrillen

Ein kontinuierlicher anterograde (vom Zellkörper zur Synapse) und retrograde schneller ($100\text{--}400\text{ mm d}^{-1}$) und langsamer ($0.3\text{--}3\text{ mm d}^{-1}$) axonaler Transport ist eine absolute Voraussetzung für das Funktionieren der Neuronen. Der Transport verläuft über große Entfernungen entlang von Mikrotubuli und wird durch Motorproteine wie Kinesine und Dyneine vermittelt.^[35] Die Mikrotubuli, die Teil des Cytoskeletts sind, sind Polymere des Tubulins und binden MAPs (Mikrotubuli-assoziierte Proteine), die ihre Stabilität regulieren. Das wichtigste MAP im Axon ist das Protein Tau (MAPT). Die sechs Isoformen des menschlichen Tau-Proteins in den Neuronen sind zwischen 352 und 441 Aminosäuren lang und werden in konstanten Mengenverhältnissen gebildet. Sie enthalten im C-terminalen Teil drei oder vier repetitive Einheiten zu je 31 Aminosäuren. Dies sind die mikrotubulibindenden Domänen, die aber auch für die Aggregation in paarige helicale Filamente verantwortlich sind. Tau ist ein sehr hydrophiles, wasserlösliches und weitgehend ungefaltetes Protein, das über die Sequenz verteilt mindestens 25 potenzielle Phosphorylierungsstellen enthält. Die Stellen außerhalb der repetitiven Domänen werden hauptsächlich von den Kinasen CDK5 (cyclin-dependent kinase 5), GSK3β (glycogen synthase kinase-3β) und ERK2 (extracellular signal-regulated kinase-2) phosphoryliert. Eine Phosphorylierung innerhalb der repetitiven Domänen durch MARKs (microtubule-affinity regulating kinases) kann Tau von den Mikrotubuli ablösen. Spezifische Phosphorylierungsstellen ließen sich mit der Schwere der neuronalen Schäden bei AD korrelieren.^[36] Korrekt phosphoryliertes Tau stabilisiert bei einer bestimmten Konzentration die Mikrotubuli, hält damit ein konstantes dynamisches Gleichgewicht zwischen mikrotubuligebundenem und freiem Tau aufrecht und sichert so die Morphologie des Neurons und den axonalen Transport.

Die zurzeit gängige „Tau-Hypothese“ bei AD besagt, dass es zu einer abnormen Hyperphosphorylierung von Tau kommt, verursacht durch ein Ungleichgewicht der Aktivitäten von Kinasen und Phosphatasen. Die Gesamtkonzentration von Tau in Gehirnen von Alzheimer-Patienten ist etwa achtmal höher als bei Kontroll-Probanten, und das überschüssige Tau-Protein ist abnorm hyperphosphoryliert.^[37] Der Grund dafür ist weitgehend unbekannt. Es gibt Vermutungen, dass das Neuron eine chronisch gesteigerte regenerative Aktivität entwickelt, mit der es versucht, zellschädigenden Ereignissen verschiedenen Ursprungs entgegenzuwirken. Ein hohes Maß an Neuroplastizität wurde mit gesteigerter Phosphorylierung und Expression von Tau in Verbindung gebracht, denn Tau kann das Auswachsen von Neuriten fördern.^[38] Wenn neuronale Plastizität einen bestimmten Schwellenwert in Dauer und Intensität überschreitet, kann eine cytotoxische Wirkung resultieren. Tau beeinflusst die Bindung der Motorproteine an die Mikrotubuli, wenn es in zu

großen Mengen an die Mikrotubuli bindet. Vor allem der anterograde kinesinabhängige Transport kann beeinträchtigt werden, sodass es zu einem Nettorückfluss von Vesikeln zum Zellkörper kommt.^[39,40] Hyperphosphoryliertes Tau aus AD-geschädigtem Gehirn kann normales Tau und andere mikrotubuliassoziierte Proteine binden, mit der Folge der Destabilisierung und Depolymerisation der Mikrotubuli, der Beeinträchtigung des axonalen Transports und der Neurotransmission mit unmittelbaren Konsequenzen für die kognitiven Funktionen. Darüber hinaus stimuliert die gesteigerte Phosphorylierung die Selbstassoziation von Tau. Ein Modell dieses Vorgangs (Abbildung 5) geht davon aus, dass in normal

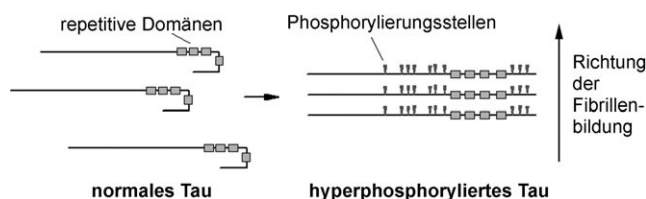


Abbildung 5. Modell der Selbstassoziation von Tau. Eine Hyperphosphorylierung ändert die Konformation von Tau und öffnet die Kontaktstelle zwischen den repetitiven Domänen, über die das Protein dann agglomeriert.

phosphoryliertem Tau eine intramolekulare Bindung einer flankierenden Region an mikrotubulibindende Domänen stattfindet. Eine überschüssige Phosphorylierung öffnet diese Bindung, und die freigelegten mikrotubulibindenden Domänen lagern sich intermolekular zusammen und bilden kleine Ablagerungen – Präfibrillen –, die schließlich β -Faltblattkonformationen in paarigen helicalen Filamenten einnehmen. Die paarigen helicalen Filamente lagern sich zu großen Neurofibrillen zusammen, in denen ein Teil des Proteins einer Reihe weiterer Modifikationen unterworfen wird, darunter Verkürzungen, Glycosylierungen oder Vernetzungen durch Transglutaminasen, die eine weitere toxische Läsion im Inneren des Neurons setzen.

Die Störung der empfindlichen Gleichgewichte bei der Funktion von Tau könnte auch ohne weitere pathologische Umstände genügen, um Neurodegeneration auszulösen. Verschiedene andere neurodegenerative Erkrankungen wie amyotrophe Lateralsklerose, Morbus Pick, progressive supranukleäre Lähmung und FTDP17 (Fronto-temporale Demenz mit Parkinsonismus und Kopplung an Chromosom 17) sind ebenfalls durch pathologische Veränderungen von Tau verursacht.^[41]

2.4.2. Veränderungen des axonalen Proteintransports

Die „Fracht“, die von den Motorproteinen entlang der Mikrotubuli transportiert wird, besteht aus Organellen wie Mitochondrien und Peroxisomen und aus proteingefüllten Vesikeln, die an ihrem Zielort verschiedene wichtige Funktionen erfüllen. Unter den pathologischen Umständen der Alzheimer-Krankheit erreicht das anterograd transportierte Material nicht die Enden der Axone und Synapsen, was zur Verarmung dieser distalen Regionen führt. Besonders das Fehlen von Mitochondrien zieht einen Energie- und damit

ATP-Mangel nach sich (Abbildung 6). Andererseits kann sich Material, das von den distalen Regionen zur Wiederverwertung oder zum Entfernen zum Zellkörper abtransportiert werden soll, anhäufen oder kann in den extrazellulären Raum entlassen werden. Daher sind die distalen Zellausläufer mit den Synapsen vermutlich empfindlicher als die Zellkörper, und es ist nicht verwunderlich, dass der Verlust der Synapsen stark mit kognitiven Defiziten korreliert.^[42] In Biopsien des temporalen und frontalen Cortex von Alzheimer-Patienten war die Zahl der Synapsen je Cortexneuron um 15–35 % vermindert.^[43] Auch die Expressionshöhe des präsynaptischen Markers Synaptophysin korreliert mit dem Ausmaß der kognitiven Schädigung bei Patienten mit sehr milder AD. Sie kann um bis zu 25 % reduziert sein.

Cholinerge und glutamaterge Synapsen stehen im Fokus dieser Ereignisse, da sie eng mit Lernvorgängen und Gedächtnisbildung verbunden sind. Bei MCI-Patienten ist die

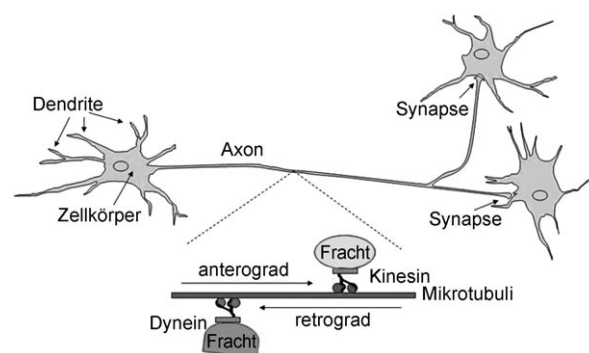


Abbildung 6. Funktionsprinzip der Motorproteine Kinesin und Dynein, die am axonalen Transport beteiligt sind.

Dichte der cholinergen und glutamatergen präsynaptischen Endigungen in manchen Gehirnregionen hochreguliert, wahrscheinlich als Ausgleich für die ablaufenden schädigenden Vorgänge. Tomographische Untersuchungen an MCI-Patienten ergaben eine stärkere Aktivierung im mittleren Schläfenlappen und aktivere Synapsen als bei Probanden ohne kognitive Beeinträchtigung.^[44] Allerdings führt die Krankheit letztendlich zu einer fortschreitenden Abnahme. Bereits in den 1980er Jahren ergaben Untersuchungen an AD-Gehirnen, dass die Zahl der cholinergen Neuronen im Nucleus basalis Meynert abnimmt. Die genannte Region ist die wichtigste Region cholinergischer Zellen im basalen Vorderhirn mit wichtigen modulierenden Einflüssen auf kognitive Prozesse. Von dort aus innervieren ihre Axone den gesamten Cortex.^[45] Diese Axone und ihre Enden enthalten den Großteil der Cholinacetyltransferase (ChAT) der Hirnrinde. Auffällig ist, dass bei Alzheimer-Patienten der ChAT-Gehalt im Zellkörper je cholinergem Neuron im Nucleus basalis Meynert um mehr als 300 % gesteigert ist.^[46] Eine vergleichbare Zunahme bezogen auf die einzelnen Neuronen des Nucleus basalis wurde auch für die Acetylcholinesterase (AChE) bestimmt. ChAT wird über den langsamen, AChE über den schnellen axonalen Transport weiterbewegt. Die Anhäufung der beiden Enzyme im Zellkörper deutet auf eine

Beeinträchtigung des langsamen und des schnellen axonalen Transports zu den Enden der Axone hin.

Eine der wichtigsten Verbindungen, die über den schnellen anterograden Weg transportiert wird, ist das β -Amyloid-Vorläuferprotein (APP). Aus Experimenten mit Mäusen ließ sich ableiten, dass APP an die leichte Kette von Kinesin-1 bindet, die den axonalen Transport von β -Secretase und Presenilin-1 in Membrankompartimente vermittelt, in denen A β gebildet werden kann.^[47–49] APP ist mehr als nur eine passive Fracht und könnte selbst eine wichtige Rolle beim axonalen Transport spielen. Es kann zusätzliche Fracht aufnehmen und ihren Transport durch Kinesin-1 vermitteln. Ein anschauliches Beispiel ist der axonale Transport des Herpes-simplex-Virus. Jedes einzelne Virus umhüllt sich mit einer großen Menge (zwischen 1000 und 1000000 Moleküle pro Virus) an APP-Molekülen. Dies geschieht vermutlich während seiner Passage durch den Golgi-Apparat. Auf diesem Wege hängt sich das Virus wie ein riesiges Vesikel an den Kinesin-Motor und erreicht damit die vierfache „Reisegeschwindigkeit“ eines Mitochondriums.^[50]

Ein anderes „Opfer“ eines gestörten axonalen Transports ist das Neurotrophin NGF (Nervenwachstumsfaktor). Ein defekter retrograder Transport von NGF vom cerebralen Cortex und Hippocampus zum Nucleus basalis im basalen Vorderhirn wurde beschrieben.^[51] Die neuronalen Zellkörper im Nucleus basalis sind von NGF abhängig, und eine Abnahme an verfügbarem NGF trägt zu Atrophie und Zelltod bei. NGF wird von Neuronen des Cortex in Abhängigkeit von der neuronalen Aktivität freigesetzt und wird dann in die axonalen Ausläufer der cholinergen Neuronen des basalen Vorderhirns aufgenommen, indem es dort an seine Rezeptoren bindet. Diese cholinergen Neuronen exprimieren zwei Typen von NGF-Rezeptoren, p75NTR (Pan-Neurotrophin-Rezeptor, niedrigaffiner NGF-Rezeptor, der alle Neurotrophine bindet) und TrkA (Tropomyosin-Rezeptorkinase, p140trkA, mit hoher Affinität für NGF). Beide Rezeptoren können einen Komplex mit hoher NGF-Affinität und Selektivität für TrkA bilden. Die Rezeptoren werden in den neuronalen Zellkörpern des Nucleus basalis synthetisiert und anterograd entlang den Axonen zu deren Endigungen transportiert. NGF, das von den postsynaptischen Zellen freigesetzt wurde, bindet an die Rezeptoren und wird dann retrograd zu den Zellkörpern der cholinergen Zellen transportiert. Nur die Bindung von NGF an den TrkA/p75NTR-Komplex sichert das Überleben der Neuronen.^[52,53] Die Expression des TrkA-Rezeptors wird von NGF positiv reguliert. Weniger NGF in den Zellkörpern sollte daher weniger TrkA-Synthese bedeuten. Erniedrigte Expressionsraten von TrkA je Neuron des basalen Vorderhirns sind frühe Ereignisse des Krankheitsfortschritts und lassen sich schon in MCI-Patienten nachweisen. Eine hochsignifikante Assoziation zwischen dem Rückgang von TrkA und dem Folstein-Test (Mini-Mental State Examination) wurde gezeigt.^[54] Demgegenüber bleibt die Expressionshöhe des p75NTR-Rezeptors im cholinergen basalen Vorderhirn während des Krankheitsverlaufs unverändert. Es wurde gezeigt, dass das A β -Protein in vitro spezifisch an p75NTR mit einer Affinität binden kann, die vergleichbar mit der für NGF ist, nicht jedoch an TrkA, und dass diese Bindung das intrazelluläre Apoptosesignal auslöst.

Berücksichtigt man das Ungleichgewicht zwischen p75NTR und TrkA und die Zunahme an A β bei AD, könnte die direkte Aktivierung von p75NTR durch A β zum Tod von Neuronen beitragen.^[52]

2.4.3. Induktion und Beeinträchtigung der Autophagie

Die Neuronen reagieren auf Stressfaktoren, wie die Störung des axonalen Transports, durch Initiation einer Makroautophagie als Rettungsmaßnahme. Autophagie ist eine allgemeine Reaktion einer Zelle auf Nährstoff- oder Wachstumsfaktormangel. Makroautophagie ist ein regulierter Prozess zum Abbau intrazellulärer Proteine, besonders langlebiger, gefalteter oder aggregierter Proteine oder sogar ganzer Organellen, die nicht von den Proteasomen entfernt werden können.^[55] Der Vorgang beginnt mit der Bildung einer Membran, die das Cytoplasma und die darin enthaltenen Proteine abtrennt und sich dann zu dem von einer Doppelmembran umgebenen Autophagosom schließt (Abbildung 7). Dieses Autophagosom wird intrazellulär zu einem Lysosom

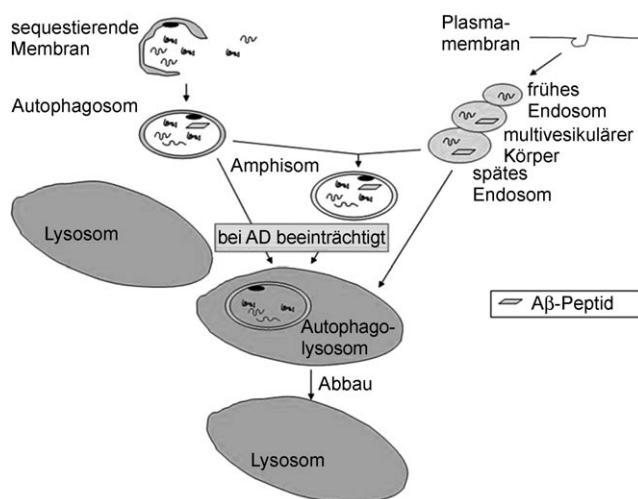


Abbildung 7. Autophagocytotischer und endosomaler Weg zum Abbau intrazellulärer Proteine.

transportiert, mit dem es zu einem Autophagolysosom (mit einer einzigen Hüllmembran) fusioniert. In diesem werden die ausgesonderten Proteine dann in Fragmente zerlegt, die im Zellstoffwechsel wieder verwendet werden können. Der Sammelbegriff für alle Vesikel des autophagen Stoffwechselwegs ist Autophagocytosevesikel. Wenn der Verdau der verschiedenen Substrate im Autophagolysosom abgeschlossen ist, sieht die Organelle wieder wie ein Lysosom aus.

In Neuronen im normalen adulten Hirn finden sich fast keine dieser Autophagocytosevesikel. Im AD-betroffenen Hirn kommen diese Vesikel jedoch sehr häufig vor, meist in den Dendriten und Axonen und in den Synapsen der Neuronen im Neocortex und im Hippocampus. Autophagocytosevesikel tauchen bereits früh im Verlauf der Krankheit auf, wenn die entsprechenden Neuriten noch keine Dystrophie aufweisen. Mit fortschreitender Krankheit häufen sich die Autophagocytosevesikel in diesen Neuriten in einem Ausmaß

an, dass das Cytoplasma fast vollständig ersetzt wird und die Neuriten auf ein Vielfaches ihrer normalen Größe anschwellen.^[13,56,57] Die Mehrzahl der Autophagocytosevesikel sind Autophagosomen, die offenbar die Lysosomen nicht erreichen können, um mit ihnen zu fusionieren. Die Makroautophagie in AD-Neuronen ist also einerseits induziert, ihr Ablauf ist andererseits aber beeinträchtigt.

Des Weiteren sind die Vesikel immunreaktiv für PS1 (Presenilin-1), eine Schlüsselkomponente des γ -Secretase-Komplexes. Experimente mit isolierten Vakuolen und in Zellkultur mit einem fluorogenen Modells substrat ergaben, dass die Autophagocytosevesikel die höchste γ -Secretase-Aktivität aller getesteten Zellorganellen besitzen und etwa 20% der gesamten γ -Secretase-Aktivität der Zelle ausmachen. Das Spaltprodukt des Modells substrats entsprach der 42-Spaltungsstelle von A β . Es wurde nicht weiter abgebaut, sondern akkumulierte in den Autophagosomen, ganz im Gegensatz zu den Autophagolysosomen, in denen das Fragment weiter abgebaut wurde. Dies deutet darauf hin, dass A β in Autophagocytosevesikeln gebildet wird, bevor diese zu Autophagolysosomen reifen. Aufgrund der Akkumulation der Autophagosomen und ihres fehlenden Abbaus durch Fusion mit Lysosomen kann man annehmen, dass das durch Autophagie erzeugte A β nennenswert zur Amyloidbelastung der Erkrankung beiträgt. Die Ursache für die Akkumulation der Autophagosomen ist gegenwärtig noch nicht bekannt, und man kann nur spekulieren, ob beispielsweise die vermehrte Bildung von A β in diesen Vakuolen deren Reifung zu Autophagolysosomen behindert, ob einfach ein lokaler Zusammenbruch des intrazellulären Transports aus Mangel an ATP verhindert, dass die Lysosomen erreicht werden, oder ob die Lysosomen wegen eines Defekts nicht mit den Autophagosomen fusionieren. Der Verdau von autophagocytisiertem mitochondrialem Material kann die Lysosomen mit reaktiven Sauerstoffspezies überladen und so die empfindliche Maschinerie der lysosomalen Membran, die notwendig für die Fusion mit dem Autophagosom ist, beschädigen. Die Natur hat die lysosomale Membran von allen zellulären Membranen mit dem höchsten Gehalt an dem antioxidativen Vitamin E geschützt (30-mal höher als in mikrosomalen Membranen).^[58]

Genauso wichtig für die Pathologie von AD wie der autophagische Stoffwechselweg ist der endocytotische Weg (Abbildung 7). Dabei wird extrazelluläres Material an der Plasmamembran in frühe Endosomen internalisiert. Diese reifen zu multivesikulären Körperchen und zu späten Endosomen. Die Endosomen werden mit proteolytischen Enzymen und einer Protonenpumpe ausgestattet, die den internen pH-Wert auf 3.5–6.0 absenkt. Endosomen können mit Autophagosomen, Autophagolysosomen oder Lysosomen fusionieren. Bei sporadischer AD werden ein verstärkter Eintransport von Proteasen in frühe Endosomen und eine Zunahme der endocytotischen Aktivität beobachtet. Durch die erhöhte Verfügbarkeit an Effektoren, die die Endosomenfusion begünstigen, werden die Endosomen abnorm vergrößert. Viele Endosomen enthalten A β , und sie haben das Substrat, die Enzyme und den richtigen pH-Wert für dessen Produktion. Die gesteigerte endocytotische Aktivität ist eine der frühesten pathophysiologischen Erscheinungen von AD; sie tritt

beim normalen Altern und bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen nicht auf (mit Ausnahme des Down-Syndroms, bei dem solche endosomalen Veränderungen bereits vor der Geburt auftauchen, und bei Niemann-Pick Typ C; beide Krankheiten weisen gewisse Parallelen mit AD im pathologischen Erscheinungsbild auf).^[59]

2.5. Mitochondriale Anomalien

Bei einer beeinträchtigten Autophagie steigt die Halbwertszeit von Komponenten, die nach diesem Mechanismus entsorgt werden sollten. Gealterte Mitochondrien werden normalerweise durch Autophagocytose abgebaut. Die gefährdeten und am meisten betroffenen Neuronen im Hippocampus und in der Hirnrinde von Alzheimer-Patienten zeigen im Vergleich zu Kontroll-Probanden eine Akkumulation mitochondrialer Abbauprodukte im Cytoplasma (mitochondriale DNA; Cytochromoxidase) und in Autophagocytosevesikeln (mitochondriale DNA, Liponsäure).^[60] Insbesondere Liponsäure als Cofaktor verschiedener mitochondrialer Enzyme wurde als Marker für den Verbleib mitochondrialer Bestandteile bei AD eingesetzt; man fand sie in Autophagocytosevesikeln von Alzheimer-Kranken, nicht aber im Gehirn der Kontrollgruppe.^[61] Eine morphometrische Analyse dieser gefährdeten Neuronen aus AD-Biopsien wies eine Verringerung der Zahl intakter Mitochondrien um etwa 25% auf. Gereinigte mitochondriale Fraktionen aus AD-Gehirnen hatten eine etwa 50% niedrigere COX-Aktivität (Cytochromoxidase, das Enzym, das den molekularen Sauerstoff reduziert) im Vergleich zur Kontrolle. Dies rührt möglicherweise von einem Defekt des Enzyms her, obwohl andere Untersuchungen mit anderen Methoden zu widersprechenden Ergebnissen kamen.^[62–64] Verringerte Aktivität wurde auch im Pyruvatdehydrogenasekomplex und im α -Ketoglutaratdehydrogenasekomplex gefunden.^[65] Eine andere Eigenschaft der Krankheit ist, dass die Kontrollregion der mitochondrialen DNA von AD-Patienten mehr schädliche Mutationen trägt als die entsprechende DNA aus gesunden Kontrollen.^[66]

Verschiedene Zellkulturexperimente, darunter Versuche, in denen physiologische Bedingungen nachgestellt wurden, die für den Ausbruch sporadischer AD relevant sind, ließen eindeutig den Rückschluss zu, dass A β sogar bei subnanomolaren Konzentrationen zur verringerten Funktion der Mitochondrien beiträgt.^[67] Ein Beispiel für ein A β -bindendes Protein, das in Mitochondrien aus Neuronen von Alzheimer-Patienten identifiziert wurde, ist die A β -bindende Alkoholdehydrogenase ABAD (frühere Bezeichnung: ERAB, ER-assoziiertes Amyloid- β -Peptid-bindendes Protein, obwohl es ein mitochondriales Protein ist). ABAD ist identisch mit SCHAD (kurzkettige L-3-Hydroxyacetyl-CoA-Dehydrogenase Typ II, E.C.1.1.1.35), das von dem Gen HADH II codiert wird (auch bezeichnet als HSD10, 17 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase).^[68,69] Der ABAD-A β -Komplex wurde in AD-Gehirnen und dort in den Mitochondrien entdeckt.^[70] ABAD ist im Gehirn von Alzheimer-Patienten (im Hippocampus) hochreguliert und findet sich auch in aktivierten Astrocyten in der Amyloidplaque-Corona.^[71,72] Die Röntgenstruktur

eines Kokristalls von humanem ABAD mit A β wurde mit einer Auflösung von 2,3 Å aufgenommen, allerdings konnte keine Elektronendichte für das gebundene A β bestimmt werden. Mit Versuchen in kultivierten Neuronen wurde gezeigt, dass die ABAD-A β -Wechselwirkung oxidativen Stress und letztlich Apoptose auslöst. Transgene Mäuse, die ABAD und mutiertes APP überexprimieren, können nicht mehr effizient lernen; ESR-Spektren ihrer gefrorenen Gehirne weisen auf abnorm hohe Konzentrationen freier Radikale hin.^[70] A β bindet bei 40–70 nm (halbmaximale Besetzung der Bindungsstellen) an ABAD. Allerdings hemmt A β die Aktivität des ABAD-Enzyms nur bei nichtphysiologischen Konzentrationen von 2–3 μ M. Die Cytotoxizität wird daher nicht durch die direkte Hemmung der Enzymaktivität ausgelöst, sondern vermutlich durch Veränderungen in der Lokalisierung innerhalb des Mitochondriums (oder auch außerhalb), wo das Vermögen, eine breite Auswahl von Alkoholen zu dehydrieren, zur ungewollten Bildung reaktiver Aldehyde wie Malondialdehyd oder *trans*-4-Hydroxy-2-nonenal führen kann.^[72] Da mitochondriale Anomalien in Neuronen gefunden werden, denen die pathologischen Neurofibrillen fehlen, ist es wahrscheinlich, dass diese Vorgänge bereits früh im Krankheitsverlauf auftreten.

Die Folgen einer beeinträchtigten Funktion der Mitochondrien sind vielfältig. ATP-abhängige Vorgänge werden gestört, darunter die ATP-abhängige Funktion der axonalen Motorproteine Dynein und Kinesin. Mitochondrien spielen außerdem eine wichtige Rolle bei der intrazellulären Calciumhomöostase und können große Calciummengen speichern. Erhöhte basale Calciumkonzentrationen wurden in einem mitochondrialen Cybrid-Modell gemessen, in dem Mitochondrien einer humanen Neuroblastomzelllinie durch Mitochondrien von Alzheimer-Patienten ersetzt wurden. Nach Stimulation mit dem cholinergen Agonisten Carbachol wurde eine verzögerte Rückkehr des entstehenden Calciumpeaks zum Basisniveau gemessen.^[73] Unter solchen Bedingungen kann jede zusätzliche Stimulation, z. B. eine Aktivierung von *N*-Methylaspartat(NMDA)-Rezeptoren durch Glutamat, zum Problem für die Zelle werden, wie dies in Ratten an den cholinergen Neuronen des Nucleus basalis nach Störung der Mitochondrienaktivität gezeigt wurde.^[74] Ca²⁺-aktivierte Enzyme sind betroffen, z. B. die Gewebe-Transglutaminase, die in vitro das Tau-Peptid vernetzt. Sie zeigt eine erhöhte Aktivität im AD-Hirn.^[75]

Der Anstieg des intrazellulären Calciums wird als Grund für die dreifach erhöhte Aktivierung von Calpain I (μ CANP, calciumaktivierte neutrale Proteinase) im präfrontalen Cortex von Alzheimer-Patienten angesehen. Folge ist eine gesteigerte Proteolyse von Enzymen, die an der Signaltransduktion beteiligt sind, also calciumabhängige Proteinkinasen und -phosphatasen, Proteine des Membranskeletts und die cytoplasmatischen Domänen von Transmembranproteinen, die die Membranfusion beeinflussen.^[76] Der endogene Calpain-Inhibitor Calpastatin war in den gefährdeten corticalen Schichten des AD-Gehirns abgereichert, nicht aber im Kleinhirn, wo Amyloidablagerung und Verlust von Neuronen erst spät im Krankheitsverlauf auftreten.^[77] Der durch lösliche A β -Oligomere induzierte Anstieg des intrazellulären Calciums und die dadurch ausgelöste Aktivierung von Cal-

pain verursachte den Abbau von Dynamin-1 in Zellkulturen von Hippocampusneuronen.^[78] Dynamin-1 sorgt für die Abschnürung von Vesikeln von der sie bildenden Zellmembran. Seine Menge ist im Gehirn von Alzheimer-Patienten reduziert. Ohne Dynamin-1 können Synapsen keine Neurotransmitter freisetzen, denn die Vesikel für die Neurotransmitter fehlen an der Synapse und häufen sich statt dessen im Lumen an. Die Herkunft der Ca²⁺-Ionen im Experiment mit der Hippocampusneuronen-Zellkultur war eindeutig extrazellulär. Der Einstrom wurde durch NMDA-Rezeptoren vermittelt und konnte durch den NMDA-Rezeptorantagonisten MK810 und Memantin blockiert werden, was auf einen direkten oder indirekten Kontakt des A β -Oligomers mit dem Rezeptor hindeutet. Diese Befunde sind für die Pathologie von AD bedeutsam und können möglicherweise Störungen im endosomal-lysosomalen System erklären, wie sie schon früh in betroffenen Neuronen auftreten.

2.6. Oxidativer Stress und Metallobiologie von A β

Oxidativer Stress entsteht durch die Erzeugung abnorm hoher Konzentrationen ansonsten physiologisch wichtiger reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) wie O₂⁻ (Superoxidanion), HO \cdot (Hydroxylradikal), NO und H₂O₂. Wenn Sauerstoff in den Mitochondrien reduziert wird, ist O₂⁻ ein normales Nebenprodukt von etwa 1 %. Das Gehirn macht nur etwa 2–3 % der Körpermasse aus, doch es setzt etwa 20 % des vom Körper aufgenommenen Sauerstoffs um. Daher tragen seine nicht regenerierenden Neuronen ein höheres Risiko für oxidative Schädigungen. Doch trotz der hohen Belastung der Mitochondrien mit ROS leiden sie normalerweise nicht unter besonders großer oxidativer Schädigung, weil entgiftende Mechanismen greifen. Dazu gehören SOD2 (Mangansuperoxiddismutase), die O₂⁻ in Sauerstoff und H₂O₂ spaltet, und Katalase, die H₂O₂ in Sauerstoff und Wasser umsetzt. Abnorme Mitochondrien jedoch, die viel mehr O₂⁻ produzieren, können H₂O₂ ins Cytoplasma abgeben, wo sich bei gestörter Eisenhomöostase durch die Fenton-Reaktion (Fe²⁺ + H₂O₂ \rightarrow Fe³⁺ + HO \cdot + HO⁻) sehr reaktives und toxisches HO \cdot bilden kann. Im normalen Gehirn sind die Metallionen-Konzentrationen durch Bindung an Metalloproteine streng reguliert. Im AD-betroffenen Gehirn sind IRP-1 und IRP-2 (Eisenregulatorproteine 1 und 2) und ihre Wechselwirkung mit IRE (eisenresponsives Element, die RNA-Bindestelle für IRPs) gestört, und die Ferritinkonzentration ist vermindert. Dadurch steigt die Konzentration an freiem Eisen.^[79] Die Neuronen schützen sich durch eine gesteigerte Bildung von Reduktionsmitteln wie NADPH, Glutathion und andere SH-Verbindungen oder Cu/Zn-Superoxiddismutase.

H₂O₂ ist jedoch nicht nur eine Quelle für HO \cdot , sondern wirkt auch als Signalmolekül zur Stimulation von Proteinkaskaden, die den Zellzyklus beeinflussen oder die Expression von inflammatorischen Genen wie SAPK (stressaktivierte Proteinkinase) aktivieren. In neuronalen Zellen und in Mäuseexperimenten konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass A β solche Kinasen induziert, die prinzipiell zur Phosphorylierung von Tau beitragen können.^[79] Degenerierende Neuronen im AD-Gehirn zeigen Zeichen irregulären

Eintritts in den Zellzyklus, ein Zustand, bei dem die Phosphorylierung mikrotubuliassoziierter Proteine (wie Tau) gesteigert ist.^[80] Freie Radikale sind auch starke Induktoren der Hitzeschockproteine HSP27 und HSP70, die als molekulare Chaperone an der Stabilisierung von Tau und A β beteiligt sind. Sie verhindern die Aggregation, stabilisieren aber auch geschädigte Proteine und verlängern ihre potenziell toxischen Effekte, indem sie sie in Lösung halten.^[81,82]

Ein Ungleichgewicht im empfindlichen Redoxsystem kann auf verschiedene Arten induziert werden, ob als Erscheinung einer Krankheit oder als normaler Alterungsvorgang. Die anfänglichen Veränderungen können lokal und unsichtbar sein, mit der Zeit werden sie sich jedoch gegenseitig verstärken und einen Teufelskreis bilden. Die freien ROS oxidieren Lipide und schädigen Membranen im AD-Hirn.^[83] Die Reaktionsprodukte der Lipidperoxidation, z.B. der Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren, sind Aldehyde, die eine viel längere Halbwertszeit haben als die Radikale. Sie können an andere Stellen der Zelle diffundieren und dort reagieren. Acrolein ist solch ein reaktives und toxisches Produkt, ebenso wie *trans*-4-Hydroxy-2-nonenal, die beide verstärkt im AD-Gehirn vorkommen. Sie sind Michael-Akzeptoren und binden Cystein-, Lysin- und Histidinreste und beeinträchtigen dadurch die Funktion von Proteinen wie dem neuronalen Typ-3-Glucosetransporter und Na⁺/K⁺-ATPasen. Die Folgen sind eine Depolarisation der Membran, die Abnahme der ATP-Konzentration und die Zunahme von freiem intrazellulärem Ca²⁺ in den Neuronen mit den oben geschilderten Konsequenzen.^[84] Insbesondere *trans*-4-Hydroxy-2-nonenal bildet Addukte mit Tau und hemmt so dessen Dephosphorylierung. Metabolite der Cholesterinoxidation wie 3 β -Hydroxy-5-keto-5,6-secocholestan-6-al können A β kovalent modifizieren und die kritische Konzentration für ihre Aggregation bis in den nanomolaren Bereich absenken.^[85]

Freie ROS-Radikale können Proteine oxidieren und Protein-Carbonyle bilden, die in verschiedenen Regionen des Gehirns bei AD verstärkt vorkommen. Als Folge wird die Funktion dieser Proteine eingeschränkt oder geht verloren, wie dies bei AD für Kreatinkinase (die an der Energieübertragung beteiligt ist), β -Actin (einem Bestandteil des Cytoskeletts), Glutaminsynthetase (die den Neurotransmitter Glutamat abbaut), den Glutamatttransporter Glt-1 (für den Abtransport des Neurotransmitters Glutamat) und pMSR (die Peptidmethionin-Reduktase) beschrieben ist.^[83] Freie ROS-Radikale können auch DNA und RNA oxidieren. In den gefährdeten Neuronen des Gehirns von Alzheimer-Patienten waren die Oxidationsprodukte 8-OHdG (8-Hydroxy-2'-deoxyguanosin) und 8-OHG (8-Hydroxyguanosin) erhöht. Besonders die ribosomale RNA, die in Neuronen in großer Menge vorkommt, enthält 8-OHG und wird daher als ein Hauptbindungspartner für redoxaktives Eisen im Cytoplasma angesehen. Dadurch wird die Funktion der Ribosomen beeinträchtigt und die Proteinsynthese eingeschränkt.^[86] Interessanterweise nimmt mit zunehmender A β -Ablagerung in diffusen Amyloidplaques in der Hirnrinde die Menge an 8-OHG ab, als ob die Aggregation die oxidative Schädigung verhindern würde.

Neben der Eisenhomöostase spielt auch eine gestörte Homöostase von Zink und Kupfer eine wichtige Rolle bei der Pathogenese von AD.^[87] Beide Metallionen binden bereitwillig an A β und begünstigen die Bildung von A β -Oligomeren. Die stärkste Bindungsaffinität von Zn²⁺ an A β 42 und A β 40 wurde mit 100 nm bestimmt.^[88] Anders als Kupfer ist Zink nicht an Redoxreaktionen beteiligt und trägt nicht direkt zur Bildung von ROS bei. Es spielt eine essenzielle Rolle an den glutamatergen Synapsen im Neocortex, der Region, in der die ersten A β -Ablagerungen auftauchen. Der Neurotransmitter Glutamat wird zusammen mit Zn²⁺ (wahrscheinlich als Gegenion) freigesetzt. Daher werden im synaptischen Spalt vorübergehend sehr hohe Zinkkonzentrationen von etwa 300 μ M (im Vergleich zu <0.5 μ M Basalkonzentration) erreicht. Etwa 10 % des Zn²⁺ im Gehirn liegen in neuronalen synaptischen Vesikeln vor, der Rest ist proteingebunden. Im Cortex und Hippocampus werden die höchsten Konzentrationen an freiem synaptischem Zn²⁺ erreicht. Die Wiederaufnahme in die Neuronen beseitigt die hohen Zn²⁺-Konzentrationen schnell, allerdings ist dies ein energieabhängiger Prozess, der verzögert werden kann, wenn die Synapse nicht genügend mit Energie versorgt wird. Glutamaterge Neuronen exprimieren den Zinktransporter ZnT3, der die Zinkionen in Vesikel lädt, die dann zur synaptischen Freisetzung bereitstehen. Die hohe Zinkkonzentration kann zur A β -Ablagerung beitragen, wie dies an Mäusen gezeigt wurde, die einen ZnT3-Defekt trugen und mit TG2576-Mäusen (einem transgenen AD-Mausmodell) gekreuzt wurden. Die AD-Mäuse mit defektem Zinktransporter entwickelten 50 % weniger A β -Amyloidplaque als die TG2576-Mäuse mit intaktem Transporter.^[89] Die synaptischen Zn²⁺-Konzentrationen können die Aggregation und Ablagerung begünstigen, wenn lösliches A β vorhanden ist.

Kupferionen werden in postsynaptischen Vesikeln des NMDA-Rezeptors gespeichert. Nach Freisetzung durch postsynaptische Stimulation wird im synaptischen Spalt vorübergehend eine Konzentration von etwa 15 μ M erreicht. Extrazelluläre Kupferkonzentrationen in plaquefreien Gehirnregionen von Alzheimer-Patienten lagen viermal höher als im gesunden Gehirn.^[90] Demgegenüber scheinen die intrazellulären Kupferkonzentrationen zu niedrig zu liegen, denn die Aktivität verschiedener Kupferenzyme ist reduziert, so z.B. die Aktivität der Cytochromoxidase in Mitochondrien, obwohl das COX1-Protein in Mitochondrien betroffener Neuronen drei- bis vierfach erhöht war.^[60] Ähnlich sieht es bei dem ROS-abbauenden Enzym SOD1 (Cu/Zn-Superoxiddismutase) aus, das im AD-Gehirn zwar höher exprimiert wird, dessen Aktivität aber erniedrigt ist. Auch in APP23-transgenen Mäusen war das SOD1-Protein stärker exprimiert, die Aktivität aber war verringert. In diesem Fall konnte die Enzymaktivität durch Zufüttern von Cu²⁺ wiederhergestellt werden.^[91] Dieser Befund spricht dagegen, dass das Enzym durch die Oxidation des Histidinrestes 118 im aktiven Zentrum (zu 2-Oxohistidin) durch abnorm hohe H₂O₂-Konzentrationen inaktiviert wird.^[92] Der intrazelluläre Cu²⁺-Mangel wurde als Folge der Konkurrenz durch andere bindende Partner wie APP und die erhöhte A β -Konzentrationen gedeutet, die einen Einfluss auf die Metallhomöostase während der Krankheit haben. Sogar die Möglichkeit, dass A β

Cu^{2+} zum Blutstrom lenkt, wurde diskutiert, weil Cu^{2+} im Serum von Alzheimer-Patienten deutlich erhöht ist.^[93]

Humanes A β ist ein Metalloprotein mit attomolarer Affinität für Kupfer. Der niedrigste bestimmte K_D -Wert für die Cu^{2+} -Bindung bei pH 7.4 an A β 42 liegt bei 10^{-17} M und für die Bindung an A β 40 bei 10^{-11} M.^[94] Die vorhandenen Daten lassen vermuten, dass monomeres A β Cu^{2+} mit drei Histidinresten und einem Tyrosinrest bindet. A β 42 bei Ratten und Mäusen unterscheidet sich von menschlichem A β durch zwei an der Kupferbindung beteiligte Aminosäuren (Tyr10→Phe, His13→Arg), und die resultierende niedrigere Affinität für Kupfer wurde mit einer geringeren Bildung von H_2O_2 und infolgedessen auch weniger Peroxidationsprodukten bei diesen Tierspezies, die kein A β -Amyloid entwickeln, in Zusammenhang gebracht.^[96] Experimente mit hochauflösender Massenspektrometrie und Cyclovoltammetrie in vitro ergaben eine Cu^{2+} -Bindung an A β 42 im Verhältnis 1:1. Ohne äußere Einflüsse ist dieser Cu^{II} -A β 42-Komplex stabil, das Kupferion behält die Oxidationsstufe +2 bei und die Aminosäurereste Tyr10 und Met35 werden nicht oxidiert. Das Redoxpotential des Komplexes für eine Reduktion zu A β - Cu^{I} schließt Tyrosin und Methionin als Reduktionsmittel aus. Es ist aber hoch genug, um eine Reduktion durch eine Reihe verbreiteter redoxaktiver Moleküle wie Ascorbinsäure, Pyruvat/Lactat, Glutathion, Vitamin B₁₂ oder NAD^+/NADH als Elektronenquellen zu ermöglichen. Der reduzierte Cu^{I} -A β 42-Komplex seinerseits ist dann in der Lage, Sauerstoff zu H_2O_2 zu reduzieren.^[97] Diese Ergebnisse passen zu dem indirekten antioxidativen und neuroprotektiven Effekt, den monomeres (nicht oligomeres) A β 40 und A β 42 auf Neuronen in Zellkultur haben und der auf der Sequestrierung von Metallionen beruht.^[98] In vivo im AD-Gehirn ist die Situation mit Sicherheit erheblich komplexer; hier wurde in Autopsieproben beispielsweise oxidiertes Met35 gefunden, und A β liegt zum größten Teil oligomer und aggregiert vor. Diese Oligomere haben nicht nur ihre neuroprotektiven Eigenschaften verloren, sondern sind im Gegenteil toxisch.

Kupfer und Zink besitzen mehrere Koordinationsstellen und können an freie Elektronenpaare von N oder O des A β -Peptids nicht nur intramolekular, sondern auch intermolekular binden und dabei Multimere unterschiedlicher Länge in Abhängigkeit von Umgebung und pH-Wert bilden. Bei einem pH-Wert von 7.4 ist das redoxinaktive Zn^{2+} der dominante Komplexbildner, wobei in vitro äquivalente Mengen von Zn^{2+} und Cu^{2+} an A β gebunden werden. Dagegen wird bei leicht saurem pH-Wert von 6.6–7.0 mehr Cu^{2+} eingebaut, in vitro bei pH 6.6 aber nur Cu^{2+} , was mehr und mehr Redoxreaktionen in Gang setzt und toxische Wirkungen entwickelt.^[94,99] In Zellkulturen hemmt Zn^{2+} die Cu^{2+} -induzierte Toxizität von A β 42, was mit der Unterdrückung der H_2O_2 -Bildung korreliert.^[100] Die A β -Multimere können geordnete Strukturen bilden und negativ geladene Membranen leicht durchdringen. Nach Modellierungsversuchen sollten die komplexierten A β 42-Peptide eine hexamere Helix bilden, doch abhängig von der Zusammensetzung der Lipiddoppelschicht gab es auch Hinweise auf β -Faltblattstrukturen.^[95] Die Insertion der Multimere verändert die Leitfähigkeit der Membran und führt zu einer Zunahme des intrazellulären Ca^{2+} und der Cytotoxizität. Daraus wurde die Theorie entwickelt, dass sich

die A β -Multimere unter geeigneten Bedingungen zu einem leitenden Ionenkanal zusammenlagern können.^[101] Die Hinweise darauf stammen jedoch nur aus In-vitro-Studien. Dort konnte die Leitfähigkeit von Ionenkanälen auch durch hoch mikromolekulare Konzentrationen an Cu^{2+} oder Zn^{2+} oder durch speziell konstruierte Peptide blockiert werden. Alternativ vorgeschlagen wurde auch eine generelle Erhöhung der Membranleitfähigkeit für Kationen und Anionen durch A β -Multimere und Oligomere anderer amyloidbildender Proteine wie Prionproteine oder Amyloidinseln, die demnach die Lipidkopfgruppen auseinanderdrängen, die Lipiddoppelschicht ausdünnen und ein verstärktes Eindringen von Wasser in die Membran ermöglichen.^[102–104]

2.7. Senile Plaques

2.7.1. Die Rolle von Astrocyten und Mikroglia

Die an die neuronale Zellmembran gebundene nicht-fibrilläre Form von A β 42 ist die vorherrschende Variante, die übereinstimmend in allen diffusen Plaques (nichtfibrilläre A β -Ablagerungen, nicht doppelbrechend nach Färbung mit Kongorot; frühere Bezeichnung: präamyloide Ablagerungen) von Alzheimer-Patienten vorkommt und die Hauptform im Kleinhirn ist. Dieses mit der neuronalen Membran assoziierte A β 42 wird als Frühform der A β 42-Ablagerung angesehen.^[105] Bei AD-Patienten akkumuliert A β 42 zunächst selektiv als diskrete Granula – möglicherweise Lysosomen oder von Lysosomen abgeleitete Strukturen – in Pyramidenzellen (glutamatergen Neuronen) des entorhinalen Cortex und des Hippocampus und nimmt dabei 20–83 % des gesamten Cytoplasmavolumens ein. Es gibt Hinweise auf eine Lyse dieser Neuronen, wodurch der cytoplasmatische Inhalt lokal verteilt wird und der Kern als Überrest zurückbleibt.^[106] Manche Befunde weisen auch darauf hin, dass A β -Peptide gemeinsam mit Exosomen (sezernierte Vesikel) freigesetzt werden, denn exosomale Proteine fanden sich gehäuft in Plaques von AD-Patienten.^[107] Das Absterben der Neuronen bei AD scheint krankheitsspezifischen Wegen zu folgen, die weder den typisch necrotischen noch apoptotischen Weg nehmen.^[108] Diffuse A β -Amyloidplaques sind meist mit reaktiven Astrocyten vergesellschaftet, aber nur weniger als 50 % sind mit Mikroglia assoziiert, und diese sind dann im zellulären Ruhezustand. Dies steht in deutlichem Gegensatz zu den dichten fibrillären neuritischen Plaques (fibrilläre A β -Amyloidablagerungen, doppelbrechend nach Färbung mit Kongorot), die zu mehr als 80 % mit reaktiven Mikroglia assoziiert sind.^[109] Ein Astrocyt steht mit mehr als 100 000 Synapsen in Kontakt und schützt diese und die neuronalen Vorgänge, indem sie sie vom Amyloid abschirmt (auch als „walling-off“ bezeichnet). Wahrscheinlich hindern die Astrocyten aber auch die Mikrogliazellen daran, Amyloidmaterial aus diffusen Plaques zu entfernen, wie dies in vitro zu beobachten war,^[110,111] denn in Zellkulturen unterdrückten Astrocyten die normale Beseitigung von Material aus senilen Plaques durch die Mikroglia, indem sie Proteoglycane freisetzen, die an A β banden. Astrocyten, die mit diffusum Amyloid im AD-Gehirn in Kontakt kommen, nehmen nennenswerte Mengen von A β 42 und von Trümmern degenerierter Synapsen und Dendriten

auf.^[112] Wahrscheinlich bindet A β 42 (nicht aber A β 40) mit hoher Affinität an α 7nAChRs (α 7-nicotinische Acetylcholin-Rezeptoren) auf der Neuronenoberfläche und wird von den Astrocyten meist als Av42/ α 7nAChR-Komplex internalisiert, nachdem es von der neuronalen Membran abgerissen wurde.^[113] Mit A β 42 überladene Astrocyten können ähnlich wie Neuronen lysieren. Dabei entsteht ein eigener kleinerer Typ von Amyloidplaques.

Unseres Wissens gibt es keine ultrastrukturelle Dokumentation der A β -Internalisierung und -Phagocytose durch Mikroglia in Plaques im Gehirn von Alzheimer-Patienten.^[114,115] Wenn sie tatsächlich stattfindet, ist sie sehr ineffizient und verhindert nicht die Akkumulation des A β 42-Peptids. Die Aktivierung der Mikroglia im AD-Gehirn kann anscheinend zu zwei funktionell unterschiedlichen Zuständen führen. Einer ist der „gute“ phagocytotische Phänotyp, der das A β -Peptid abbauen kann, der aber im AD-Gehirn nicht überwiegt. Der zweite, häufig vorkommende „schlechte“ Phänotyp ohne phagocytotische Aktivität kann die Freisetzung von H₂O₂ und pro-inflammatorischen Cytokinen auslösen, außerdem chronische Mikroglialose, die zum Krankheitsfortschritt beiträgt und zu Veränderungen der Vorgänge an den Gefäßen der Blut-Hirn-Schranke. Wichtig ist, dass TNF α (Tumornekrosefaktor α) in der Mikroglia von AD-Gehirnen erhöht ist.^[116] TNF α ist nicht nur ein pro-inflammatorisches Cytokin, sondern auch ein Gliotransmitter, der die Stärke der Synapse, die Expression von BACE (β -Amyloid spaltendes Enzym) und die Beseitigung von A β beeinflusst.^[117] In Hippocampuschnitten verhinderte die Neutralisierung von TNF α die A β -induzierte Hemmung von LTP (long term potentiation; Langzeitpotenzierung, eine neurophysiologische Korrelation von Lernen und Gedächtnis).^[118] Der Phänotyp der Mikroglia ist wenigstens teilweise durch die lokale Umgebung bestimmt. Die Blockade von Oberflächenrezeptoren der Mikroglia wie CD40 (TNF-Rezeptor-Superfamilie, Element 5) oder das Fehlen ihrer Aktivierung z.B. der Fc-Rezeptoren (durch Bindung des Fc-Endes eines Antikörpers) kann dabei eine Rolle spielen. Die Wechselwirkung von CD40 mit seinem Liganden CD40L, der im Zentralnervensystem (ZNS) von Astrocyten exprimiert wird, verlangsamte die Phagocytose der Mikroglia und die Beseitigung von A β 42 in vitro.^[119] Eine deutliche Induktion des Phagocytose-Phänotyps in Gegenwart von A β 42 in Mikroglia wurde in AD-Gehirnen durch Immunisierung mit A β 42 erzielt.^[120]

Im Gehirn von Alzheimer-Patienten verläuft die Aktivierung der Mikroglia parallel zur Reifung der diffusen Plaques zu klassischen fibrillären neuritischen Plaques. Der Kontakt zwischen diffusem A β und Mikroglia markiert letztlich den Wendepunkt bei der Bildung fibrillärer Plaques. Es wurde postuliert, dass Mikroglia-Zellen A β anlagern und in schmalen Kanälen an ihrer Oberfläche konzentrieren. Dort beginnt dann die Fibrillenbildung.^[112] In Membranfraktionen aus der Hirnrinde von AD-Gehirnen wurde ein charakteristischer Komplex von A β mit dem Gangliosid GM1 identifiziert, der als Keim für die Bildung der Fibrillen aus A β angesehen wird.^[121] GM1 bildet Cluster in cholesterinreichen Teilen der Membran, und diese binden A β mit hoher Avidität. Ein höherer Cholesteringehalt der Membranen, wie in Gegenwart von ApoE4 (einem Risikofaktor für AD) oder bei

höherem Alter, kann die GM1-A β -Komplexbildung begünstigen. GM1 erleichtert die Einlagerung von A β in die Membran, die Fibrillenbildung und die Zerstörung der Membran.^[122] Anders als in vitro ist fibrilläres A β im erkrankten Gehirn immer mit anderen A β -komplexierenden Proteinen vergesellschaftet. Die Aggregate aktivierter Mikroglia werden ausschließlich in Plaques gefunden, in denen auch C1q (Komplementkomponente 1q) und SAP (Serum-Amyloid-P-Komponente) immunmarkiert werden können.^[123] Fibrilläres A β komplexiert mit C1q und SAP steigerte die Produktion pro-inflammatorischer Cytokine durch Mikroglia in Kultur. C1q kann A β 42 alleine binden und seine Aufnahme und Phagocytose durch kultivierte Rattenmikroglia blockieren.^[124] Die aktivierten Mikrogliazellen und ihre Fähigkeit, neurotoxische Substanzen freizusetzen, wurde als schädigendes chronisches Geschehen aufgefasst und wird als „Neuroinflammation“ bezeichnet. Mit diesem Begriff sollen interne Vorgänge im ZNS beschrieben werden, die sich aber unterscheiden von den entzündlichen Prozessen des ZNS, wie beispielsweise bei multipler Sklerose.^[125–127] In senilen Plaques, die das fibrilläre A β -Amyloid enthalten (nicht in diffusen Plaques), ist die Komplementkaskade voll aktiviert. Auslöser können fibrilläres A β , Neurofibrillen und SAP sein. In klinisch-pathologischen Untersuchungen ergab sich eine Zunahme des A β /Mikroglia-Komplexes in frühen Stadien (Braak IV) der Erkrankung, und mit PET-Studien mit PK11195, einem Marker für aktivierte Mikroglia, konnte diese Aktivierung nachgewiesen werden, bevor die Atrophie des Gehirns einsetzt. Der Großteil der Mikroglia stammt wahrscheinlich aus Blutmonocyten und wandert aus den cerebralen Kapillaren ins Gehirnparenchym ein.

2.7.2. Vaskuläres Amyloid

Etwa 90 % der Amyloidplaques beim Menschen befinden sich in direktem Kontakt zu Kapillaren.^[112] Die vaskulären Basalmembranen der Kapillaren bilden ein weiteres Reservoir von A β , hauptsächlich von A β 40.^[128] Wenn sich fibrilläres Amyloid bildet, ist es auch dort mit Mikrogliazellen assoziiert. Fokale Zerstörungen der Blut-Hirn-Schranke als Folge der A β -Ablagerung wurden in Biopsien von Alzheimer-Gehirngewebe nachgewiesen. (Dies muss von der vaskulären Multiinfarkt-Demenz, der zweitwichtigsten Demenzform nach AD, unterschieden werden, bei der die Störung der Blutzirkulation die Ursache ist.) Als Folge verdickt sich die Basalmembran, die Endothelzellen degenerieren und die zellulären Bestandteile der Gefäßwand werden nekrotisch.^[129] Eine solche cerebrale Amyloid-Angiopathie in Arterien und Kapillaren ist ein sehr häufiges Merkmal von AD. In einer Untersuchung von 117 Gehirnen von Patienten mit autopsisch bestätigter Alzheimer-Diagnose wurden bei 83 % der Proben Hinweise auf eine cerebrale Amyloid-Angiopathie gefunden.^[130]

A β -Amyloidfibrillen aus Gehirngewebe oder aus rekombinantem Material (welches für die 3D-Strukturbestimmung mit H/D-Austausch-NMR-Spektroskopie oder Rasterkraftmikroskopie benutzt wird)^[131–133] sind unverzweigt, etwa 10 nm dick und bestehen aus 2–4 nm dicken, verdrehten Filamenten.^[134] Die Beobachtung von A β -Filamenten direkt im

Plauegewebe ergibt, dass das A β -Protein mit anderen Komponenten wie HSPG (Heparinsulfat-Proteoglycan), CSPG (Chondroitinsulfat-Proteoglycan) und SAP vergesellschaftet ist. Bei der Amyloid-Angiopathie geht HSPG in der Basalmembran des Gefäßes verloren, wahrscheinlich weil neu synthetisiertes HSPG nicht eingebaut werden kann und daher vielleicht die Quelle für A β -gebundenes HSPG ist. Eine Arbeitsgruppe vermutete, dass Basotubuli in die Wand des Mikrogefäßnetzes eingebaut werden. Demnach besteht der Kern dieser Basotubuli aus einer langen, röhrenförmigen Zusammenlagerung pentamerer SAP-Moleküle, die mit einem Band aus CSPG helical umwickelt sind. Für diesen Komplex wurde ein Durchmesser von etwa 3–5 nm angegeben. Seine Oberfläche ist von einer dickeren Schicht HSPG bedeckt, auf die das A β -Protein bindet.^[135,136] Diese Befunde müssen noch weiter abgesichert werden. Tatsächlich findet sich SAP in allen Amyloidtypen unabhängig vom zugrunde liegenden Protein. SAP ist ein Plasmaprotein (8–55 mg L⁻¹), das hauptsächlich aus der Leber stammt, auch wenn viele Zellen, darunter Neuronen, es in kleinen Mengen selbst synthetisieren können.^[137] Es gehört zur Familie der Pentaxine und zirkuliert im Blut als Pentamer aus fünf identischen SAP-Einheiten mit je 204 Aminosäuren. In vitro bindet SAP an fibrilläres A β (nicht an die Monomere), das durch die Gegenwart von SAP vor Proteaseverdau geschützt wird.^[138,139] Im Gehirn von Alzheimer-Patienten ist SAP ungewöhnlich stark in den Basalmembranen angereichert. Nicht alles SAP, das aus der Basalmembran freigesetzt wird, wird zwangsläufig in das Amyloid eingebaut. Teile davon können möglicherweise auch tief ins Gewebe der Hirnrinde eindringen.^[140] Dort kann SAP nicht nur die Amyloidfasern stabilisieren und das Komplement aktivieren, sondern auch unmittelbaren Schaden verursachen, wenn es von Neuronen aufgenommen wird. Eine ausgeprägte Toxizität von SAP für Neuronen wurde sowohl in vivo als auch in Zellkultur nachgewiesen.^[141,142]

2.7.3. Ablagerung von Proteinen und Metallionen

Verschiedene andere Proteine wurden ebenfalls in den senilen Plaques gefunden, darunter Cytokine, Immunglobuline, Apolipoprotein E, α 1-Antichymotrypsin, Ubiquitin, Cathepsine und Cholinesterasen.^[143,144] Ferritin tritt an Neuriten in den Plaques in Erscheinung, wo es Fe³⁺ komplexiert, das dort in sehr hohen millimolaren Konzentrationen vorkommt.^[145] Fe³⁺ scheint nicht direkt mit dem A β in den Plaques wechselzuwirken, und es konnte auch nicht gemeinsam mit A β angereichert werden, das aus Plaques extrahiert wurde. Cu²⁺ und Zn²⁺ kommen in den Plaque-Ablagerungen in sehr hohen Konzentrationen von bis zu 400 μ M bzw. 1 mM vor.^[90] In Gegenwart von Chelatoren für Cu²⁺ und Zn²⁺ kann mehr A β aus dem Plaque-Material extrahiert werden, die Ionen scheinen also an der Ablagerung von

A β beteiligt zu sein. Wie bei vielen langlebigen Proteinen wurden auch bei A β und anderen Bestandteilen der Plaques posttranslationale Modifikationen beschrieben. Häufig sind über Tyrosinreste vernetzte, dimere und trimere A β -Spezies und racemisierte und Pyroglutamat enthaltende Formen.

Etwa 50 % des A β in Plaques ist am N-Terminus verkürzt und beginnt an Position 3 mit Pyroglutamat anstatt mit Glutamat [A β N3(pE)].^[146,147] Die lösliche A β -Fraktion, die aus Gehirnen von Patienten mit sporadischer AD extrahiert wurde, besteht hauptsächlich aus der verkürzten 3-Pyroglutamat-Form (etwa 50 % A β N3(pE)3–42, 35 % A β 1–40/A β 1–42 und 15 % A β N11(pE)11–42). Im Vergleich dazu besteht Amyloidplaque aus Gehirnen älterer, kognitiv normaler Personen überwiegend aus den Vollängen-Varianten (etwa 50 % A β 1–40/A β 1–42, 30 % A β N3(pE)3–42, 20 % A β N11(pE)11–42). Die löslichen A β -Varianten bei Alzheimer-Patienten unterscheiden sich also von denen, die man bei normal alternden Menschen findet, durch das verkürzte 3-Pyroglutamat-Derivat, das als das wahrscheinlich am meisten pathogene angesehen wird.^[148] Ganz klar ist das Amyloid- β -Peptid in AD-Gehirnen im Vergleich zu Kontrollen stark erhöht. Im normalen Gehirn wurden insgesamt je 2 pmol A β 40 und A β 42/43 je Gramm Feuchtgewicht bestimmt, demgegenüber im Mittel aus 23 AD-Gehirnen 661 pmol A β 40 und 2100 pmol A β 42/43 je Gramm Feuchtgewicht.^[149]

3. Die Amyloidhypothese

Seit ihrer erstmaligen Veröffentlichung Anfang der 90er Jahre bestimmt die Amyloidhypothese weitgehend die gegenwärtigen Überlegungen zur Alzheimer-Krankheit. Im Prinzip besagt die Hypothese, dass die Hauptursache von AD die Akkumulation von Amyloid- β -Peptiden im Zentralnervensystem ist, wodurch eine pathogene Kaskade initiiert und angetrieben wird, die meist in der komplexen, vielschichtigen Pathologie und klinischen Manifestation der Krankheit endet (Abbildung 8).^[150,151] Hemmung und Umkehrung der A β -Akkumulation sind die offensichtlichen Optionen für Therapieansätze, und viele der gegenwärtigen Projekte in der pharmazeutischen Industrie bauen deshalb auf der Amyloidhypothese auf. Es sollte aber betont werden, dass die Amyloidhypothese bei Weitem nicht allgemein anerkannt ist und dass alternative Erklärungen und Vorstellungen immer wieder geäußert werden.^[152–154] Der ausschlaggebende Test

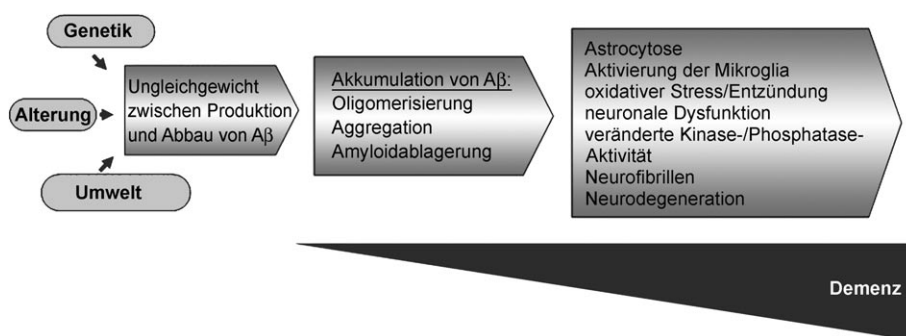


Abbildung 8. Die Hypothese der Amyloidkaskade bei der Alzheimer-Krankheit

wird die klinische Erprobung neuer Medikamente sein, die direkt in die Bildung und Ablagerung der A β -Peptide eingreifen. Diese Tests sind gerade in die klinische Phase eingetreten.

Die Amyloidhypothese basiert auf mehreren Indizienketten; die wichtigsten sind: A) das pathologische Erscheinungsbild der Erkrankung selbst, B) die Genetik der Alzheimer-Demenz, C) die Zellbiologie der Amyloid- β -Peptide und D) aus jüngster Zeit die Einführung transgener Tierrmodelle, die einige entscheidende Aspekte der Krankheit reproduzieren.

Zu Punkt A: Die Amyloidablagerung im ZNS ist ein unveränderlicher Bestandteil der AD-Pathologie. Vor allem beeinträchtigt sie im Wesentlichen diejenigen Gehirnregionen, die auch eine Beeinträchtigung in den kognitiven und Verhaltenstests zeigen, die für Diagnose und Verlaufskontrolle der Krankheit entwickelt worden sind. Die Konkordanz zwischen der klinischen Diagnose von AD und der postmortalen Bestätigung durch die Amyloid-Pathologie liegt bei über 80 % und unterstreicht die enge Korrelation zwischen dem Vorkommen der Amyloidablagerung und der Krankheit.^[155,156] Die übrigen 10 bis 20 % sind meist falsch diagnostizierte Demenzen unterschiedlichen Ursprungs. Doch auch wenn man die enge Korrelation zwischen der Amyloid-Pathologie und der Krankheit akzeptiert, bleibt als Hauptkritikpunkt der Gegner der Amyloidhypothese das Fehlen eines quantitativen Zusammenhangs zwischen Amyloidablagerung (gemessen als Plaque-Last) im ZNS und der Schwere der Erkrankung.^[157] Es gibt dokumentierte Fälle, bei denen die Autopsie eine schwere Amyloid-Pathologie aufdeckte, obwohl die Personen zum Zeitpunkt ihres Todes keine Anzeichen einer Demenz aufwiesen.^[158] Neue neurologische Bildgebungsverfahren, die einen nichtinvasiven Nachweis der Amyloidablagerung bei lebenden Personen ermöglichen, haben auch Fälle signifikanter Amyloidablagerungen bei kognitiv normalen älteren Personen erbracht.^[14,159] Kritiker der Amyloidhypothese interpretieren dies als Hinweis darauf, dass die Amyloidablagerung im ZNS eine Nebenerscheinung oder gar eine Schutzreaktion des Organismus sei, die durch die derzeit in der Entwicklung befindlichen Anti-Amyloidtherapien abgeschwächt würde. Befürworter der Amyloidhypothese vertreten dagegen den Standpunkt, dass es sich hierbei um präklinische Fälle von AD handelt und werten dies als Indiz dafür, dass die Akkumulation von Amyloid tatsächlich der primäre Auslöser der Krankheit ist. Das Amyloid veranlasst dann auch sekundäre pathologische Erscheinungsbilder, die enger mit der abgestuften Schwere der klinischen Symptome wie der Tau-Pathologie in den Braak-Stadien korrelieren.^[24] Diese Interpretation wird auch von aktuellen Studien gestützt, die vor allem bei den sehr frühen Krankheitsstadien eine quantitative Korrelation zwischen den Gesamtmengen von A β 40 und A β 42 in verschiedenen Regionen der Hirnrinde und den klinischen Demenz-Bewertungen (CDR; clinical dementia ratings), die ein Maß für die kognitive Beeinträchtigung sind, herstellen.^[160,161]

Die Amyloidhypothese wurde vor kurzem dahingehend modifiziert, dass die makroskopischen Plaques selbst nicht länger als einzige oder wichtigste Mediatoren der Symptome und des Fortschreitens der Krankheit angesehen werden.

Diese Rolle wird zunehmend den kleineren löslichen Aggregaten (Oligomeren) des A β -Peptids zugeordnet.^[162,163] In einem verbreiteten transgenen Mausmodell für AD wurde jüngst gezeigt, dass das Auftreten von A β -Peptidoligomeren eng mit kognitiven Beeinträchtigungen in Verhaltenstests einhergeht.^[164,165]

Zu Punkt B: Eine zweite starke Argumentationslinie, die die Amyloidhypothese stützt, hat ein genetisches Fundament. AD-Erkrankungen werden nach dem Zeitpunkt des Krankheitsausbruchs in früh („early onset AD“; EOAD) und spät („late onset AD“; LOAD) kategorisiert, wobei ein Alter von 65 Jahren als Trennlinie festgelegt wurde.^[166,167] EOAD hat fast immer eine starke genetische Komponente. Sie kommt in den betroffenen Familien mit etwa 50 % Wahrscheinlichkeit in jeder Generation vor, was typisch für einen autosomal-dominanten Erbgang mit hoher Penetranz ist, d.h., eine einzige Kopie des entsprechenden Gens mit der Risikomutation genügt, um den Träger für die Krankheit zu prädisponieren, und die Wahrscheinlichkeit, dass die Krankheit tatsächlich ausbricht, liegt nahe bei 100 %. Obwohl Fälle von EOAD sehr selten sind (< 2 % aller AD-Fälle), haben sie viel zu unserem Verständnis der Krankheit beigetragen, und sie stützen stark die Amyloidhypothese, denn alle Gene, die die EOAD-Mutation tragen, verursachen eine vermehrte Bildung des A β -Peptids A β 42 und damit eine frühe Amyloidose des Gehirns. Diese Gene codieren für das β -Amyloid-Vorläuferprotein (APP), aus dem durch proteolytische Spaltung die A β -Peptide gebildet werden, und die Presenilin-Gene 1 und 2 (*PSEN1* und *PSEN2*), die Teil des spezifischen proteolytischen Apparates sind, der APP prozessiert.^[166,168–171] LOAD, gewöhnlich auch sporadische AD genannt, tritt in höherem Alter auf, und der Erbgang ist weniger ausgeprägt. Es ist zwar klar, dass es genetische Faktoren gibt, die für LOAD prädisponieren, doch tragen die entsprechenden Genvarianten nur zu einem erhöhten Krankheitsrisiko bei. Ob der Träger tatsächlich eine AD entwickelt, hängt von weiteren genetischen und Umweltfaktoren ab, die viel weniger verstanden sind. Das am besten beschriebene Risiko-Gen für LOAD ist die ϵ 4-Variante des ApoE-Gens, das in etwa 15 % der Gesamtbevölkerung, aber in nahezu 50 % der LOAD-Fälle gefunden wird. Es gibt Hinweise, dass das ApoE4-Gen auch die Amyloidablagerung verstärkt, aber dieser Effekt ist weniger direkt als der der EOAD-Gene, und zusätzliche Eigenschaften des ApoE4-Gens tragen wahrscheinlich ebenfalls zu dem Risiko bei.^[172–174] Während mutiertes APP und mutierte Preseniline mit Sicherheit eine verstärkte und frühe Ablagerung von Amyloid durch erhöhte A β -Peptidproduktion verursachen, ist dies für das ϵ 4-Allel von ApoE nicht der Fall. Die Amyloidakkumulation in hohem Alter scheint stattdessen eine Konsequenz verringerter Beseitigung von A β -Peptid aus dem ZNS und daher ein nachgelagerter Effekt eines oder mehrerer unbekannter primärer pathogener Störungen zu sein.^[175]

Wenn EOAD und LOAD sich auch tiefgehend in ihrer Entstehungsgeschichte und Pathologie unterscheiden,^[176] ähneln sie sich weitgehend im Spätstadium der pathologischen Entwicklung und ihren klinischen Symptomen und werden daher als sehr ähnliche Krankheiten betrachtet. Diese

Ähnlichkeit ist ein starkes Indiz für eine zentrale pathogene Rolle des A β -Peptides auch in LOAD.^[177]

Zu Punkt C: Trotz dieser überzeugenden Argumente aus Pathologie und Genetik, die für eine zentrale Rolle des A β -Peptids bei der Pathogenese der Alzheimer-Demenz sprechen, ist der genaue Mechanismus, nach dem das Peptid seine toxische Wirkung entfaltet, nur unvollständig verstanden. Wie bereits erwähnt, sind die Amyloidplaques, an denen die Pathologie der Krankheit festgemacht wird, wahrscheinlich nicht die direkten Mediatoren der Toxizität, und einige Forscher betrachten sie sogar als „Müllhalden“, an denen sich der Organismus einer toxischen Substanz entledigt. Auch der fehlende Zusammenhang zwischen der Amyloidplaque-Last und der Schwere der Krankheit spricht gegen einen direkten Effekt. Der Weg von den ursprünglichen monomeren A β -Peptiden zu makroskopischen Plaques verläuft über eine Anzahl von Zwischenstufen, bei denen nichtfibrilläre und fibrilläre Aggregate unterschiedlicher Größe gebildet werden. Dieser Vorgang wird hauptsächlich durch das lange A β 42-Peptid vermittelt, das nur einen kleinen Teil des insgesamt gebildeten A β -Peptids (5–10 %) ausmacht, das aber eine viel höhere Neigung zur Aggregatbildung mit sich selbst und mit anderen Proteinen hat. Ein wichtiger Befund ist, dass alle Mutationen im APP und den Presenilinen, die mit EOAD korreliert wurden, die Bildung von A β -Peptid und dabei insbesondere von A β 42, das so eine zentrale Rolle in der AD-Pathologie einnimmt, über das normale Maß hinaus steigern. Lösliche A β -Peptidoligomere werden gegenwärtig als die wichtigsten Vermittler der Amyloidtoxizität angesehen.^[163]

Zu Punkt D: Die AD-Forschung wurde immer durch das Fehlen geeigneter Tiermodelle behindert. Amyloidablagerungen wurden zwar in alten Hunden und Affen nachgewiesen, doch sind diese Tiere für die Forschung nicht gut geeignet. Außerdem besteht kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Gehirnpathologie und kognitiven Einschränkungen wie Lern- und Gedächtnisschwächen. Seit etwa 15 Jahren kennt man transgene Mäuse, die mit EOAD korrelierte menschliche Gene überexprimieren (APP und Presenilin-1 oder -2) und die in ihrer kurzen Lebensspanne einige zentrale Elemente der AD-Pathologie reproduzieren, wie überschießende Ablagerung von Amyloidplaque, Bildung toxischer Oligomere und manchmal einige weitere Symptome wie Neuroinflammation und Bildung intrazellulärer Tau-Neurofibrillenbündel.^[178,179] Die Mäuse zeigen auch alters- und amyloidabhängige Defizite bei der Lern- und Gedächtnisleistung. Aus unbekannten Gründen gehen aber (fast) keine Neuronen verloren, sodass ein wichtiger Aspekt der menschlichen Krankheitssymptomatik fehlt.

Die Amyloidhypothese beinhaltet zentrale Elemente der Pathologie, Genetik und Biochemie der Alzheimer-Krankheit. Sie hat sicherlich Lücken, und wahrscheinlich tragen auch amyloidunabhängige, altersbedingte Veränderungen im ZNS dazu bei, die Krankheit auszulösen und fortschreiten zu lassen. Allerdings gibt es gegenwärtig keine andere Hypothese, die ein ähnlich umfassendes Gedankengerüst bietet, um die verschiedenen Aspekte der Krankheit zu erklären und eine Leitlinie für neue Experimente zu geben; daher stellt sie das zentrale theoretische Netzwerk der gegenwärtigen Alzheimer-Forschung dar. Der letztendliche Beweis (oder die

Widerlegung) wird auch vom Ausgang klinischer Studien mit Therapeutika abhängen, die die Amyloidbildung blockieren oder die Amyloidose im Gehirn umkehren.

3.1. APP und A β -Peptide

Die Entwicklung einer Amyloidose beginnt mit dem β -Amyloid-Vorläuferprotein (APP) (Abbildung 9).^[180,181] APP ist ein Typ-1-Membranprotein, das in verschiedenen Gewe-

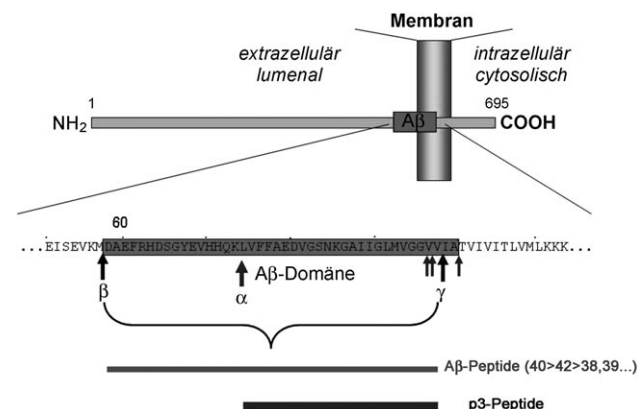


Abbildung 9. Proteolytische Prozessierung des β -Amyloid-Vorläuferproteins (APP).

ben des Organismus in der Peripherie und im ZNS exprimiert wird, wobei die Expression im ZNS am höchsten ist. APP kommt in Spleiß-Varianten verschiedener Länge vor, die alle in das A β -Peptid überführt werden können. Den größten Teil des Proteins bildet eine extrazelluläre Domäne, daran schließen sich eine Transmembrandomäne (TMD) und eine cytoplasmatische Domäne von etwa 50 Aminosäuren Länge (AICD) an. Die eigentliche physiologische Funktion ist nur unvollständig verstanden; für die extrazelluläre Domäne wurde eine Funktion als neurotropher Faktor vorgeschlagen, während AICD eine Rolle als Regulator der Gentranskription spielen könnte.^[182–184] APP kann durch drei Proteasen prozessiert werden, nämlich die α -, β - und γ -Secretase.^[185] Die Spaltung durch α - und β -Secretase erfolgt im extrazellulären Teil nahe der Transmembrandomäne und setzt die extrazelluläre Domäne in den Extrazellulärraum frei. Die beiden Proteasen erzeugen ein kurzes C-terminales Fragment von 83 (CTF α) bzw. 99 (CTF β) Aminosäuren Länge, das mit seiner TMD in der Membran verankert bleibt. Beide CTFs können von der γ -Secretase weiter prozessiert werden. Dabei führt die proteolytische Spaltung von CTF β zur Bildung des A β -Peptids, während CTF α in das kürzere p3-Peptid überführt wird. Dieses wird schnell abgebaut und spielt für die Pathogenese keine Rolle.^[186,187]

Da die γ -Secretase ihre Substrate an verschiedenen benachbarten Positionen spaltet, handelt es sich bei dem als A β bezeichneten Peptid in Wirklichkeit um eine Gruppe von Peptiden, die sich an ihrem C-Terminus in der Länge unterscheiden. Das dominierende Molekül ist das A β 40-Peptid, das normalerweise 80–90 % aller A β -Peptide ausmacht. Als

nächstes folgt das A β 42-Peptid mit 5–10 % Anteil. Der Rest setzt sich aus kürzeren Peptiden zusammen, darunter A β 37 und 38. Wie erwähnt aggregiert A β 42 bereitwillig und bildet so den Keim für größere Oligomere und Fibrillen und schließlich für die makroskopischen Amyloidplaques.^[188–192] Die Bildung der Aggregate geht einher mit einem Übergang von einer α -Helixkonformation in eine β -Faltblattstruktur. Frühe Aggregate und Plaques bestehen meist ausschließlich aus A β 42; wenn die Konzentration der Amyloidaggregate einen Schwellenwert überschritten hat, kommt auch A β 40 mit dazu. Die kürzeren A β -Moleküle, z. B. A β 38, neigen nicht zur Aggregation und behindern den Prozess eher.

A β -Peptidmonomere sind bei physiologischen Konzentrationen nicht toxisch. Sie werden vom Organismus konstitutiv als Nebenprodukt der APP-Proteolyse gebildet oder haben, wie manche Autoren meinen, sogar eine physiologische Funktion. Verschiedene toxische Aggregate können sich unter In-vitro- und In-vivo-Bedingungen bilden, aber es ist noch völlig unklar, welche dieser Aggregate relevant für die Erkrankung sind und worauf ihre Toxizität beruht. A β -Oligomere binden an Zellen, und ihre Bindung kann eine gewisse Spezifität für manche neuronale Zellen und im Besonderen für Rezeptoren wie den α -7-nicotinischen Rezeptor, den p75-Neurotrophin-Rezeptor und den FPRL-Rezeptor haben.^[52,193–195] Zellen, die A β -Oligomeren ausgesetzt sind, zeigen eine Aktivierung bestimmter Proteinkinasen wie der c-jun-N-terminalen Kinase, der p38-MAP-Kinase und der cyclinabhängigen Kinase 5. Wie erwähnt können A β -Aggregate Poren in Zellmembranen bilden und so die Ionenhomöostase stören. A β -Peptide stehen mit den Zellen auf verschiedenen Wegen in subtiler Wechselwirkung, und die Toxizität kann letztlich das Ergebnis einer Reihe solcher Wechselwirkungen sein. Dennoch könnte das Verständnis der tatsächlich entscheidenden Wechselwirkungen zwischen A β und seinen zellulären Targets wertvolle Informationen für eine therapeutische Intervention liefern.

Eine möglicherweise wichtige neue Entwicklung wurde durch die Erkenntnis angestoßen, dass A β -Oligomere aus Zellen, die das humane APP überexprimieren, die Induktion der Langzeitpotenzierung (LTP) in kultivierten Gehirnschnitten stören können. Dieser elektrophysiologische Parameter der Neuronenaktivität wird allgemein als In-vitro-Analogon zur synaptischen Aktivierung angesehen, die während des Lernens und der Gedächtnisbildung eine Rolle spielt. (Die Langzeitpotenzierung ist ein Maß für die Konnektivität zweier Neuronen an ihren Synapsen. Diese Konnektivität, d. h. die Stärke, mit der ein Signal vom präsynaptischen zum postsynaptischen Neuron übertragen wird, kann durch elektrische Stimuli moduliert werden. Dies führt zu einer langanhaltenden Verstärkung der Signalintensität. Man nimmt an, dass LTP die Änderungen in einem neuronalen Signalkreislauf widerspiegelt, die die Basis für Lernen und Bildung des Kurzzeitgedächtnisses ist.)^[191,192,196]

Die Injektion solcher A β -Oligomere direkt in Rattengehirne beeinträchtigte das Lernverhalten der Tiere. In transgenen Mäusen, die in ihrem Gehirn eine EOAD-Mutation des menschlichen APP überexprimieren, trifft das Auftreten eines spezifischen A β -Oligomers im Gehirn mit dem Auftreten von Lernbehinderungen zusammen. Dies geschieht

deutlich vor der Bildung größerer Amyloidablagerungen.^[164] Bei menschlichen AD-Patienten wurde beschrieben, dass die Menge löslicher nichtfibrillärer A β -Peptide besser mit der Schwere der Demenz korreliert als die Gesamtmenge der β -Peptide im Gehirn.^[160,163] Zusammengefasst zeichnet sich damit eine Rolle für lösliche A β -Peptide bei Lern- und Gedächtnisstörungen ab, wie sie für Alzheimer-Patienten typisch sind. Die genaue Struktur und Zusammensetzung der toxischen A β -Spezies in vivo muss noch aufgeklärt werden, außerdem auch ihre Entstehung und ihre Beziehung zu den Amyloidplaques, die das „traditionelle“ Kennzeichen der Amyloid-Pathologie sind. Dies steht auch mit Fragen in Verbindung, ob Plaques tatsächlich pathologisch inaktive „Müllhalden“ für A β -Peptide sind, die auf anderem Weg nicht beseitigt werden können, oder ob sie in dynamischem Gleichgewicht mit löslichen A β -Spezies stehen und so ein Reservoir für die Bildung toxischer Oligomere darstellen. Diese Frage ist von offensichtlicher Bedeutung für therapeutische Strategien. In einer ganz aktuellen Veröffentlichung wurde berichtet, dass A β -Peptiddimere, die direkt aus AD-Gehirnen isoliert wurden, LTP in Schnitten von Mäusegehirnen hemmen konnten und die Erinnerung an erlerntes Verhalten auslöschten, wenn sie ins Gehirn von Ratten injiziert wurden.^[197] Solche toxischen Dimere konnten auch aus Amyloidplaques isoliert werden.

Eine wichtige, aber noch unbeantwortete Frage ist die nach der eigentlichen biologischen Funktion des APP. Es wird im ZNS stark exprimiert, kommt aber auch in anderen Geweben vor. Wird es in Mäusen genetisch ausgeschaltet, finden sich subtile Verhaltensänderungen, aber keine auffälligen Konsequenzen für Lebens- und Fortpflanzungsfähigkeit. Man kann also entweder von einer redundanten Funktion ausgehen, die von anderen Proteinen übernommen wird, oder von einer Reparatur- oder Schutzfunktion, die unter den normalen Lebensumständen einer Labormaus entbehrlich ist. Von der extrazellulären Domäne wird eine neurotrophe Aktivität angenommen, doch ist unbekannt, wie sie ausgeübt wird. Die Expressionshöhe kann nach traumatischen Hirnverletzungen drastisch ansteigen, sodass solche Verletzungen ein signifikantes Risiko für eine spätere AD-Erkrankung darstellen. Während eine konstitutiv hohe Expression von APP für einen frühen AD-Ausbruch prädisponiert (gezeigt bei Patienten mit Down-Syndrom, die eine dritte Kopie des APP-Gens tragen), ist noch nicht bekannt, ob eine niedriger als normal liegende Expression Menschen vor dem Risiko einer Alzheimer-Erkrankung schützen kann. Nichtsdestotrotz ist derzeit eine Substanz in der klinischen Entwicklung, die offenbar die Expression von APP erniedrigt und dadurch die Produktion von A β -Peptiden verringert.^[198,199]

3.2. Die β -Secretase

Nach langer Suche wurde die β -Secretase (BACE1, auch Asp2 oder Memapsin2) 1999 fast gleichzeitig von fünf industriellen und akademischen Arbeitsgruppen identifiziert.^[200–204] BACE1 gehört zur Gruppe der Aspartylproteasen und ist wie APP ein Typ-1-Membranprotein mit einer großen extrazellulären Domäne, die die katalytischen Asparagin-

säurereste enthält, einer Transmembrandomäne und einer kurzen intrazellulären Domäne. (Typ-1-Membranproteine sind in die Zellmembran inseriert, wobei eine Transmembrandomäne, die sich über 20–30 überwiegend hydrophobe Aminosäuren erstreckt, das Protein in der Membran verankert. Typ-1-Membranproteine sind so orientiert, dass ihr N-Terminus in den extrazellulären Raum, zu dem auch das Lumen der intrazellulären Vesikel gehört, und ihr C-Terminus ins Cytoplasma ragt. Typ-2-Membranproteine haben die entgegengesetzte Polarität.) Die höchste Expression wurde im ZNS nachgewiesen, niedrigere Expressionsniveaus wurden auch in peripheren Geweben gefunden. Eine verwandte Protease BACE2 wurde ebenfalls beschrieben, die hauptsächlich in der Peripherie exprimiert wird und nicht mit AD in Zusammenhang steht.

Die bevorzugte Spaltstelle von BACE1 in APP entspricht exakt dem N-Terminus von A β -Peptiden (NH₂-D-(672)AEF...). Ein mutiertes APP, das in frühen Studien bei einer schwedischen Familie mit einer aggressiven Form von EOAD nachgewiesen wurde, weist zwei Aminosäureaustausche an der BACE1-Spaltstelle auf (K670→N; M671→L), wodurch dieses APPsw in ein hocheffizientes BACE1-Substrat umgewandelt wird. Die Folge ist ein erhöhtes Niveau von CTF β und dadurch eine höhere Konzentration an A β -Peptiden bei Trägern dieser Mutation. Das saure pH-Optimum von BACE deutet darauf hin, dass es hauptsächlich in Endosomen aktiv ist.

Die genetische Inaktivierung des BACE1-Gens in Mäusen verhindert die A β -Peptidbildung vollständig und beweist so, dass BACE1 eine spezifische proteolytische Aktivität trägt und unabdingbar für die amyloiderzeugende Prozessierung von APP ist. Diese Beobachtungen zusammengekommen – d.h. die Zugehörigkeit zu einer Proteinklasse, die bereits in der Vergangenheit erfolgreich für eine Wirkstoffentwicklung genutzt wurde (z.B. für HIV-1-Proteaseinhibitoren), und die einzigartige Aktivität –, machen BACE1 zu einem vielversprechenden Target für ein AD-Therapeutikum.^[205]

BACE1 hat zusätzlich zu seinem Signalpeptid eine Prodomäne (Reste 22–45), die während der Reifung durch eine Protease vom Furintyp abgespalten wird. Es hat außerdem sekundäre Modifikationen wie verschiedene intramolekulare Disulfidbrücken und über Stickstoff gebundene Zucker und kann an verschiedenen Stellen phosphoryliert werden.

Es gibt andere BACE1-Substrate außer APP, die den Nutzen therapeutischer BACE-Inhibitoren einschränken können, darunter die Sialyltransferase St6Gal I, den P-Selectin-Glycoproteinliganden, die APP-verwandten Proteine APLP1 und 2 und den Wachstumsfaktor Neuregulin 1.^[100,206–208] Die Hemmung der Neuregulinreifung durch Inaktivierung des BACE1-Gens führt zu schwerer Hypomyelinierung der peripheren und zentralen Nerven in der sich entwickelnden Maus, und die wichtige Frage bleibt, ob die pharmakologische Hemmung von BACE1 im adulten Organismus ähnliche Effekte hervorrufen kann.^[209]

Obwohl in der Vergangenheit schon Inhibitoren von Aspartylproteasen entdeckt und erfolgreich entwickelt wurden, z. B. sind einige Inhibitoren der HIV-1-Protease in klinischem Gebrauch, verlief die Suche nach BACE1-Inhibitoren mit

geeigneten wirkstoffähnlichen Eigenschaften langsamer als erwartet, und bislang befindet sich nur eine Verbindung in frühen klinischen Studien (http://www.athenagen.com/index.php?athenagen/press_releases/49/).

3.3. Die γ -Secretase

Das CTF β -Fragment von APP, das durch die Spaltungsreaktion von BACE1 freigesetzt wird, wird durch die γ -Secretase weiter gespalten. Als Produkte entstehen die A β -Peptide, die dann in den extrazellulären Raum freigesetzt werden, und die cytoplasmatische Domäne AICD, die vom Membrananker abgespalten und ins Cytoplasma entlassen wird. Die γ -Secretase hat einige ungewöhnliche Eigenschaften, die sie deutlich von anderen Proteasen unterscheidet: 1) Sie spaltet (hydrolysiert) ihre Substrate in der lipophilen Umgebung der TMD. 2) Sie ist selbst über mehrere TMDs fest in der Zellmembran verankert. 3) Sie ist ein hochmolekularer Komplex aus mindestens vier unterschiedlichen Proteinen, nämlich Presenilin 1 und 2 (PSEN1 oder PSEN2), Nicastrin (NCSTN), aph-1 (APH1 A, APH1 B; anterior pharynx defective; die Bezeichnung leitet sich vom Phänotyp einer *C. elegans*-Mutante ab) und pen-2 (PSENEN, presenilin enhancer 2) im Verhältnis 1:1:1:1.^[210–213] PSEN1/PSEN2 bilden vermutlich die katalytische Untereinheit des γ -Secretase-Komplexes. Es sind polytopische Membranproteine mit acht oder neun Membrandurchgängen, und in ihrem aktiven Zustand werden sie selbst proteolytisch in ein N- und ein C-terminales Fragment gespalten, wahrscheinlich durch Autoproteolyse. Die Transmembrandomänen 6 und 7 enthalten je einen Asparaginsäurerest und bilden zusammen sehr wahrscheinlich das katalytische Zentrum der proteolytischen Aktivität (D257 und D385 beim humanen PSEN1). Der Aspartatrest der siebten TMD liegt in einem konservierten GXGD-Motiv, das sich auch in einer Gruppe verwandter Proteasen, den Signalpeptid-Peptidasen, findet und das die Signatur für das aktive Zentrum dieser Proteaseklasse darstellt.^[214,215] Ersetzt man irgendeinen dieser Aspartatreste durch eine andere Aminosäure, gehen die γ -Secretase-Aktivität und die Fähigkeit zur Autoproteolyse vollständig verloren.^[216]

Die Rolle von Presenilin als katalytischem Zentrum des Komplexes wird durch Experimente zur Photoaffinitätsmarkierung mit strukturell unterschiedlichen γ -Secretase-Inhibitoren gestützt, die immer spezifisch an die Presenilin-Untereinheit im Gesamtkomplex binden. Das Nicastrinprotein kann wichtig für die Bindung des Substrats sein, da es spezifisch die verkürzten Typ-1-Membranproteine nach Abtrennung ihrer extrazellulären Domäne erkennt.^[217] Die Rolle der beiden anderen Bestandteile des Komplexes ist weniger klar, sie sind aber unverzichtbar für die Bildung des aktiven Enzymkomplexes.

Es können weitere Proteine mit dem Komplex assoziiert sein, z.B. TMP21, allerdings haben Rekonstitutionsexperimente mit Hefe eindeutig gezeigt, dass die vier oben genannten Partner für einen aktiven Komplex ausreichen.^[218,219] Wie sich die hydrolytische Spaltung der Peptidbindungen in der hydrophoben Umgebung der Transmembrandomäne abspielt, ist unklar, und es muss auch noch gezeigt werden, ob

die beiden Aspartatreste eine ähnliche Funktion wie in den anderen „typischen“ Aspartatproteasen übernehmen, d. h. ob sie ein Wassermolekül aktivieren, das dann die Peptidbindung nucleophil angreift. Kürzlich wurden die Strukturen von zwei verschiedenen Proteasen aufgeklärt, die ebenfalls ihre Substrate im Inneren ihrer Transmembrandomänen spalten, nämlich eine Rhomboid-Protease vom Serintyp und eine „Site-2“-Protease vom Zn-Metalltyp.^[220,221] In beiden Strukturen existiert eine hydrophile Höhlung innerhalb der hydrophoben Membranumgebung, die den Wassermolekülen den Zutritt zur Stelle der Substratspaltung ermöglicht.

Wie bereits erwähnt, hat man eine Reihe von Mutationen in PSEN1 und PSEN2 identifiziert, deren Träger an EOAD erkranken, manchmal bereits im 3. oder 4. Lebensjahrzehnt.^[222] All diese Mutationen steigern den Anteil von A β 42 auf Kosten des sonst vorherrschenden A β 40-Peptids von den üblichen 5–10 % des gesamten A β auf bis zu 50 %.^[223] Wahrscheinlich wird diese Verschiebung durch kleinere Strukturänderungen im Protein ausgelöst. Da noch keine gesicherten Informationen über die genaue Raumstruktur des Komplexes verfügbar sind, bleibt die Bedeutung dieser Veränderungen bislang unverstanden. Im Falle von PSEN1 wurden mehr als 100 verschiedene EOAD-Mutationen gefunden, die fast über die gesamte Länge des Proteins verteilt sind, und alle haben gleichermaßen zur Folge, dass der A β 42-Anteil ansteigt (man spricht hierbei von „gain-of-function“-Mutationen, da durch die Mutation eine Funktion erworben wird). Von einigen der Mutanten ist allerdings auch bekannt, dass sie ihre proteolytische Aktivität teilweise verlieren. Ob „loss-of-function“-Phänotypen ebenfalls bei der Pathogenese eine Rolle spielen, ist gegenwärtig noch unklar. Sie könnten z. B. für die Notch-Rezeptoren von Bedeutung sein, die ihr Signal über einen γ -Secretase-abhängigen Mechanismus übermitteln.^[224,225]

Neben ihrer proteolytischen Rolle im γ -Secretase-Komplex könnten Presenilene auch noch weitere Funktionen haben. Von PSEN1 ist eine Wechselwirkung mit β -Catenin beschrieben; außerdem reguliert es den wnt-Signalweg und ist wichtig für die intrazelluläre Calciumhomöostase. FAD-PSEN1 steigert die Freisetzung von im ER gespeichertem Ca²⁺, was die Neuronen anfälliger gegen exzitatorischen Stress machen kann.^[226]

Die Spaltung, die die A β -Peptide freisetzt, geschieht in der Mitte der Transmembrandomäne des APP. Wegen der relativ niedrigen Sequenzspezifität entsteht ein ganzes Spektrum von A β -Peptiden. Vor diesen γ -Spaltungen (oder gleichzeitig dazu) wird ein proteolytischer Schnitt an der Grenze zwischen TMD und Cytoplasma gesetzt, der die cytoplasmatische Domäne des APP freilegt. Diese Spaltung wird ϵ -Spaltung genannt, wobei zu beachten ist, dass die ϵ -Spaltung ebenso wie alle γ -Spaltungen durch die γ -Secretase selbst ausgeführt wird, die sich somit durch ein ausgesprochen unscharfes Muster an Aktivitäten auszeichnet. Ein ähnliches Spaltmuster konnte bei anderen γ -Secretase-Substraten wie Notch 1 und CD44 nachgewiesen werden. Es scheint eine allgemeine Eigenschaft der Proteolyse durch γ -Secretase zu sein.^[213,227] Das Bild wird durch weitere Befunde verkompliziert, wonach in Gegenwart mancher Inhibitoren der γ -Secretase einige A β -Spezies unterdrückt werden, während andere, längere Peptide wie ein A β 46 auftauchen.^[228,229]

Einige Inhibitoren sind also eher „Modulatoren“ der γ -Secretase-Spezifität. Dieses Konzept der Modulation wird für eine zweite Generation von Inhibitoren zugrundegelegt, die sich gegenwärtig in der Entwicklung befinden.^[230]

Während BACE1 überwiegend im ZNS lokalisiert ist und die Zahl der Substrate über APP hinaus gering ist, findet sich der γ -Secretase-Komplex in den meisten Geweben des Organismus, und es werden ständig neue potenzielle Substrate identifiziert (Tabelle 1). Allen Substraten ist gemeinsam, dass zunächst die extrazelluläre Domäne abgespalten werden muss, bevor sie von der γ -Secretase weiter prozessiert werden können.

Tabelle 1: Einige Substrate der γ -Secretase.

Protein	Funktion
βAPP	Rezeptor (?), Neurotrophin (?)
APLP 1 und 2	Rezeptor (?)
Notch 1–4	Rezeptor
Jagged, Delta	Notch-Liganden
p75 (NTR)	Neurotrophin-Rezeptor
ErbB4	Rezeptortyrosinkinase
CD44	Rezeptor
E- und N-Cadherine	Interzelluläre Adhäsionsmoleküle
Nectin 1α	Interzelluläres Adhäsionsmolekül
LDL-Rezeptor-verwandtes Protein	Frachtrezeptor

Von diesen Substraten sind die Notch-Rezeptoren am besten charakterisiert. Sie sind wie APP Typ-1-Membranproteine, die nach Bindung der Liganden Jagged (JAG) oder Delta (DLL) ihre extrazelluläre Domäne abspalten und so zu Substraten für die γ -Secretase werden. Die Spaltung durch die γ -Secretase setzt die intrazelluläre Domäne von Notch frei, die in den Kern wandert und dort als Transkriptionsregulator fungiert. Das γ -Secretase-vermittelte Signal der Notch-Rezeptoren spielt eine wichtige Rolle bei der Erhaltung der Haut- und Darmepithelien, der B- und T-Zell-Entwicklung und bei anderen Geweben, die bei der Embryonalentwicklung und im adulten Organismus einer ständigen Proliferation und Differenzierung unterliegen. Eine Schwächung des Notch-Signals durch Hemmung der γ -Secretase kann die Homöostase dieser Gewebe ernsthaft beeinträchtigen. Daher ist γ -Secretase nur eingeschränkt als Angriffspunkt für AD-Therapeutika geeignet.

3.4. APP-Transport und Prozessierung durch α -Secretase

APP wird auch außerhalb des ZNS in vielen Geweben exprimiert, doch nur im ZNS wird A β -Peptid als Plaque abgelagert. Ein Grund dafür ist wahrscheinlich das gleichzeitige Vorkommen von BACE1, das ebenfalls sein höchstes Expressionsniveau im ZNS hat. In anderen Geweben geht die Spaltung der extrazellulären APP-Domäne überwiegend auf eine dritte proteolytische Aktivität, die α -Secretase, zurück. Die α -Secretase spaltet dichter an der APP-Transmembrandomäne, sodass das weiter oben beschriebene APP-CTF α , ein C-terminales, 83 Aminosäuren langes APP-Fragment, entsteht. Wenn CTF α anschließend von der γ -Secretase ge-

spalten wird, entsteht ein dem A β analoges Peptid, das an seinem N-Terminus allerdings 17 Aminosäuren kürzer ist. Dieses sogenannte p3-Peptid ist pathologisch harmlos, es aggregiert oder akkumuliert nicht. Die α -Secretase-Aktivität geht auf eine Gruppe von ADAM-Proteasen zurück, darunter das TNF-spaltende Enzyme TACE.^[231–234]

Wie andere Membranproteine wird APP am endoplasmatischen Reticulum synthetisiert und dann zum Golgi-Apparat und über das trans-Golgi-Netzwerk (TGN) weiter zur Zelloberfläche transportiert. Von der Zelloberfläche kann es durch Endosomen reinternalisiert werden. Sie können mit Lysosomen fusionieren, also mit den Zellorganellen, die den abschließenden Abbau von „verbrauchtem“ Zellmaterial übernehmen. Alternativ können die Endosomen auch mit Vesikeln des TGN fusionieren und sich wieder in den Fluss der Vesikel zur Zelloberfläche eingliedern. Die Eingliederung von APP in diese zellulären Transportsysteme ist hoch reguliert und scheint von der Wechselwirkung des cytoplasmatischen Protein-Terminus mit verschiedenen Adapterproteinen abzuhängen. Für die Spaltung durch β -Secretase ist die Reinternalisierung durch Endosomen Voraussetzung, denn nur in diesen Organellen ist der pH-Wert sauer genug, um BACE hinreichend zu aktivieren (BACE hat ein pH-Optimum bei 4–4.5; in vitro ist es bei dem nahezu neutralen pH-Wert, der an der Zelloberfläche herrscht, fast inaktiv). Da auch die γ -Secretase in den Endosomen vorkommt, sind diese Organellen vermutlich das wichtigste Kompartiment zur Bildung von A β -Peptiden.^[235]

Der Anteil von APP, der durch α - oder β -Secretase gespalten wird, variiert und hängt wahrscheinlich in erster Linie von der BACE-Aktivität in der jeweiligen Zelle ab. Es wurde aber auch gezeigt, dass die Aktivierung bestimmter Rezeptoren vom GPCR-Typ, etwa des M1-Acetylcholinrezeptors oder des 5-HT₄-Serotoninrezeptors, die Prozessierung von APP in Richtung α -Secretaseweg verschiebt und so die BACE1-abhängige Produktion der A β -Peptide reduzieren kann. Dies kann über die Modulation der Proteinkinase C geschehen, denn Aktivatoren der PKC haben ähnliche Effekte. Vor allem die Aktivierung des muscarinischen Rezeptors M1 ist als therapeutischer Ansatz gegen AD verfolgt worden.^[233, 236, 237]

3.5. Beseitigung von A β -Peptid und Transport über die Blut-Hirn-Schranke

Im Zentralnervensystem wird eine kontinuierlich hohe Gleichgewichtskonzentration an A β -Peptid aufrechterhalten. In gesunden Individuen führt dieser hohe Gehalt an A β -Peptid nicht zur Bildung von Amyloidaggregaten oder Amyloidplaques. Stattdessen wird neu produziertes A β -Peptid schnell entfernt, und die biologische Halbwertszeit in einem gesunden Gehirn liegt im Bereich weniger Stunden.^[238, 239] Es müssen daher effektive Abbaumechanismen existieren.

Hierzu gehören Gehirnproteasen, die das A β -Peptid spalten. Die Liste der infrage kommenden Proteasen ist lang, aber zwei sind besonders vielversprechende Kandidaten: Neprilysin (MME, Membranmetallo-Endopeptidase oder

-Enkephalinase) und das Insulin abbauende Enzym (IDE, Insulysin). Wie die Namen andeuten, spielt Neprilysin eine Rolle beim Abbau von Enkephalinen und anderen regulatorischen Peptiden im ZNS und in der Peripherie, während IDE eine Hauptaktivität beim Insulinabbau darstellt. Ihre Rolle beim A β -Abbau wird aus genetischen Experimenten abgeleitet, denn die gezielte Inaktivierung der entsprechenden Gene in der Maus führt zu einem signifikanten Anstieg des A β -Gehalts. Des Weiteren führt die Überexpression dieser Gene in transgenen Mäusen, die auch humanes APP exprimieren (und im Alter eine ausgeprägte Amyloidose entwickeln), zu einem reduzierten A β -Gehalt und einer starken Verringerung der altersbedingten Amyloidablagerung. Umgekehrt führt die intracerebrale Infusion eines Neprilysininhibitors zu gesteigerten A β -Spiegeln. Zudem wurde das Gen für IDE beim Menschen in einem größeren Lokus auf Chromosom 10 gefunden, der nach genetischen Kartierungen mehrfach mit einem gesteigerten Risiko für LOAD assoziiert ist.

Es ist noch nicht klar, ob die beiden Proteasen die gleiche Variante der A β -Peptide angreifen. Beide bevorzugen die monomere gegenüber der aggregierten Form. Während IDE hauptsächlich im Inneren der Zelle gefunden wird, befindet sich Neprilysin überwiegend auf der Außenseite. Ihre Aktivitäten sind also möglicherweise komplementär, und sie könnten A β -Peptide in verschiedenen Kompartimenten abbauen.^[175, 240–242]

Proteolytischer Abbau ist nur eines der Mittel, mit denen sich das ZNS der schädlichen A β -Peptide entledigt. Ein zweiter Hauptweg scheint der Carrier-vermittelte Efflux über die Blut-Hirn-Schranke in die Peripherie zu sein. Von großer Bedeutung für diesen Weg ist das Protein LRP1 (low-density lipoprotein receptor related protein). LRP1 ist ein Scavenger-Rezeptor, der eine Reihe von Proteinen bindet und transportiert, darunter auch das vorher erwähnte Apolipoprotein E (ApoE) und das α 2-Makroglobulin (α 2M). Von beiden Proteinen ist bekannt, dass sie A β -Peptide binden, und man nimmt an, dass A β hauptsächlich in diesem proteingebundenen Zustand transportiert wird. Neuere Befunde legen allerdings nahe, dass A β auch direkt ohne Mediator an LRP binden kann. Auch hier wurde die Bedeutung aller Komponenten des Effluxsystems durch genetische Studien gestützt. ApoE4 ist Träger des am besten gesicherten genetischen Risikofaktors für LOAD, und die chromosomalen Loci für LRP und α 2M wurden bei der Suche nach LOAD-Risiko-Genen identifiziert.^[243–245]

Ein weiterer Effluxweg für A β -Peptide kann über das ATP-bindende Glycoprotein P als Transportsystem (ABCB1) verlaufen. Dieses ist als Transporter von Xenobiotika (darunter viele bekannte Therapeutika) über die Blut-Hirn-Schranke gut charakterisiert.^[246]

Der Transport von A β -Peptiden über die Blut-Hirn-Schranke verläuft nicht notwendigerweise nur in die eine Richtung vom ZNS zur Peripherie. Es gibt auch Hinweise darauf, dass A β aus dem Kreislauf über die Blut-Hirn-Schranke ins ZNS transportiert werden kann und dass dieser Transport durch die RAGE-Rezeptoren (receptor for advanced glycation endproducts) vermittelt wird.^[245] RAGE ist ein Zelloberflächenrezeptor, der zahlreiche Liganden bindet.

Er wird auf Endothelzellen exprimiert, die die Blutgefäße auskleiden, aber auch auf Neuronen und Mikrogliazellen. Seine Affinität für A β -Peptide liegt im nanomolaren Bereich. Da seine Expression durch Liganden verstärkt wird, sollte der Anstieg des A β -Gehalts in den Blutgefäßen des Gehirns eine Rückkopplungsschleife auslösen, die zu einem erhöhten Einstrom ins ZNS führt. Es bleibt allerdings noch zu zeigen, ob oder wie stark A β aus der Peripherie zur Amyloidose im ZNS beiträgt: Im Vergleich zu peripheren Geweben werden BACE und β APP im ZNS stärker exprimiert, und auch die Konzentration der A β -Peptide ist in der Rückenmarksflüssigkeit (CSF) viel höher als im Plasma. Daten von transgenen Mäusen zeigen, dass die Expression von transgenem APP im ZNS ausreicht, um frühe und schwere Amyloidose auszulösen. Dennoch befinden sich Hemmstoffe der RAGE/A β -Peptid-Wechselwirkung in der klinischen Entwicklung.

4. Die Entwicklung von Alzheimer-Therapeutika

Die erste Generation: symptomatische Behandlung

Die Suche nach Wirkstoffen, die Symptome von AD verbessern oder den Krankheitsfortschritt verzögern (von einer kurativen Therapie erst gar nicht zu reden), ist eröffnet, doch noch fehlt eine Erfolgsgeschichte. Zu den ersten Wirkstoffen, die am Markt eingeführt wurden, gehörten die Nootropika Piracetam und Aniracetam. Ihre Entwicklung basierte auf verhaltenspharmakologischen Studien, und sie zeigten eine statistische Verbesserung bei kognitiven Tests.^[247] Nachfolgende Wirkstoffe, die in den 1990er Jahren in die Klinik eingeführt wurden, basieren auf den schon früh bemerkten Defiziten im Acetylcholin-Neurotransmittersystem und dem Verlust an cholinergen Neuronen. Es handelt sich um Inhibitoren der Acetylcholinesterase, die auf eine symptomatische Behandlung der kognitiven Störungen abzielen, nicht aber auf die zugrunde liegende Pathologie. Die therapeutische Wirksamkeit kann signifikant sein, ist aber meist nur mäßig und verliert sich nach einer gewissen Behandlungszeit. Die Mittel werden bei Patienten mit milder bis mittelschwerer AD eingesetzt. Drei Verbindungen sind gegenwärtig auf dem Markt, Donepezil, Rivastigmin und Galantamin (ein Übersichtsartikel findet sich in Lit. [248]).

Ein neuer Ansatz wurde mit Memantin verfolgt. Die Substanz ist ein nichtkompetitiver Antagonist des NMDA-Rezeptors und greift vermutlich an den neuronenschädigenden excitotoxischen Aktivitäten im Gehirn von Alzheimer-Patienten an. Ob sie dauernden Nutzen oder zumindest eine Verzögerung der Krankheitsentwicklung bringt, wird noch immer kontrovers diskutiert. Im Unterschied zu den Acetylcholinesterase-Inhibitoren wird Memantin bei Patienten mit mittlerem bis schwerem Krankheitsbild eingesetzt.^[249]

Die zweite Generation: krankheitsbeeinflussende Behandlungen

Die zweite Generation von Substanzen, die sich gegenwärtig in der klinischen Testphase befindet, stützt sich hauptsächlich auf die Amyloidhypothese und richtet sich

gegen verschiedene Schritte des amyloidbildenden Stoffwechselweges, der vom β -Amyloid-Vorläuferprotein zu den krankheitsbestimmenden Amyloidplaques im Gehirn führt. Mit den Wirkstoffen in der Entwicklung werden verschiedene immuntherapeutische Ansätze verfolgt, außerdem finden sich darunter Inhibitoren und Modulatoren der Secretasen, Hemmstoffe der Amyloidaggregation und Verbindungen, die die Beseitigung der A β -Peptide verbessern sollen. Entgegen der symptomatischen Behandlung, die nur eine vorübergehende Besserung erzielt, hofft man, dass krankheitsbeeinflussende Behandlungen den Verlauf der Krankheit spürbar verzögern können.

4.1. Immuntherapie der Alzheimer-Krankheit

Das präklinische Konzept für eine Immuntherapie der Alzheimer-Krankheit geht auf eine Untersuchung an APP-transgenen Mäusen bei ELAN Pharmaceuticals im Jahr 1999 zurück.^[250] PDAPP-Mäuse, die durch subkutane Injektion von humanem fibrillärem A β 42 in Freund-Adjuvans immunisiert waren, bildeten anti-A β -Antikörper in hohen Titern. Eine Untersuchung mehrere Monate nach der Impfung ergab, dass die Plaqueablagerung im Vergleich zu ungeimpften PDAPP-Mäusen drastisch erniedrigt war. Dieser Effekt zeigte sich sowohl bei jungen Mäusen, die vor dem Einsetzen der Amyloidose geimpft worden waren, als auch – was noch wichtiger war – bei älteren Tieren, die erst geimpft wurden, nachdem sie bereits eine signifikante Amyloidablagerung im Gehirn entwickelt hatten. Der zweite Befund ließ hoffen, dass die Impfung menschlicher AD-Patienten mit bereits ausgebildeter Amyloidose ebenfalls zu einer therapeutisch nützlichen Verringerung des A β -Peptids im Gehirn führt. Neben der verringerten Belastung mit Amyloid zeigten die geimpften Tiere auch weniger Neuroinflammationen und weniger Anzeichen von Synapsenzerstörung. Die Ergebnisse wurden in verschiedenen anderen Mausmodellen von AD mit unterschiedlichen Arten von A β -Impfstoffen (z.B. gegen C-terminal verkürzte Peptide) und Adjuvantien und verschiedenen Formen der Impfung (z.B. durch nasale Verabreichung des Vakzins) reproduziert (Übersichtsartikel siehe Lit. [251, 252]).

Einige der transgenen AD-Mausmodelle zeigten deutliche Beeinträchtigungen beim Lernen und im Erinnerungsvermögen, die parallel zur Bildung und Ablagerung von A β -Aggregaten auftraten. Die Verringerung der A β -Ablagerungen nach der Impfung ging auch mit einer Verbesserung des Lernens einher, was ebenfalls Hoffnung auf einen vielversprechenden Weg zu einer AD-Therapie weckte (und was der Amyloidhypothese zusätzlichen Auftrieb verlieh, denn diese besagt, dass die A β -Peptide die eigentlichen Auslöser der Erkrankung sind).^[253, 254]

Ähnliche Effekte zeigten sich, wenn die AD-Mäuse statt einer aktiven Impfung eine passive Impfung mit monoklonalen Antikörpern erhielten, die für A β -Peptide spezifisch waren. Die Antikörper wurden entweder direkt ins ZNS injiziert, sie waren aber auch bei peripherer Applikation aktiv, obwohl hier nur ein sehr kleiner Anteil der Antikörper die Blut-Hirn-Schranke überwinden konnte. Genau wie bei der

aktiven Impfung reduzierten die anti-A β -Antikörper nicht nur das Amyloid im Gehirn, sondern verbesserten auch die Marker für den Synapsenverlust und verringerten die bekannten Beeinträchtigungen beim räumlichen Lernen.^[255,256] Interessanterweise verbesserten sich die kognitiven Fähigkeiten manchmal sehr schnell nach Verabreichung der Antikörper und bevor das Amyloid im Gehirn insgesamt deutlich reduziert worden war. Eine mögliche Erklärung für diesen unerwartet schnellen Effekt ist eine zügige Inaktivierung von löslichen, für die Synapsen toxischen A β -Aggregaten durch Bindung an den Antikörper.^[257]

Verschiedene Mechanismen wurden vorgeschlagen, um die Effekte der anti-A β -Antikörper auf den Amyloidgehalt des Gehirns, die synaptischen Marker und die Leistungsfähigkeit beim Erlernen von Verhaltensweisen zu erklären: 1) Die Bindung der Antikörper an A β -Peptide verhindert deren Aggregation zu Oligomeren und Fibrillen und blockiert so die Bildung neurotoxischer Moleküle. Antikörper können auch schon gebildete Fibrillen auflösen. Die dabei freigesetzten Monomere werden über die üblichen Wege entsorgt. Unter diesen Bedingungen wirken Antikörper wie andere direkte Aggregationshemmer. 2) Antikörpergebundenes A β agiert als ein Substratmolekül für die Fc-Rezeptor-vermittelte Aufnahme in die Mikrogliazellen, wo es anschließend in den Lysosomen proteolytisch abgebaut wird. Es wurde gezeigt, dass Antikörper, die in die Peripherie injiziert wurden, über die Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn wechselten, dort an Plaque banden und Mikroglia anlockten. In plaquebelasteten Gehirnschnitten, die *in vitro* kultiviert wurden, lockten anti-A β -Antikörper Makrophagen an, die das fibrilläre Amyloid phagocytierten. 3) Während die vorher beschriebenen Mechanismen eine Aufnahme der Antikörper ins ZNS voraussetzen, wird in einer alternativen Hypothese eine „periphere Senke“ postuliert, über die die A β -bindenden Antikörper in der Peripherie das A β -Niveau im ZNS effizient senken können. Auch diese Hypothese beruht auf Experimenten in transgenen APP-Mäusen mit dem monoklonalen Antikörper m266, der mit sehr hoher Affinität (im pikomolaren Bereich) an die mittlere Domäne des A β -Peptids bindet. Nach intravenöser Injektion kommt es zu einem massiven Anstieg des Plasmaspiegels an Gesamt-A β -Peptid (bis zum 1000-fachen), ohne dass im ZNS plaquegebundenes A β -Peptid abnimmt. Die Abtrennung des A β -Peptids durch den Antikörper erzeugt ein Ungleichgewicht und dadurch einen Nettoabfluss von löslichem A β aus dem Gehirn zur Peripherie. Der starke Anstieg des peripheren A β trat mit anderen Antikörpern jedoch nicht auf und könnte ein Mechanismus sein, der für m266 spezifisch ist.^[188,258]

In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass natürliche anti-A β -Antikörper immer wieder in AD-Patienten nachgewiesen wurden. Es ist aber nicht bekannt, was ihre Bildung auslöst und ob sie einen Effekt auf den Krankheitsverlauf haben.

In Anbetracht der Effizienz, die aktive und passive Impfungen gegen A β -Peptide in AD-Mausmodellen zeigten, sind mehrere klinische Studien mit AD-Patienten gestartet worden. Die erste Testreihe wurde von ELAN Pharmaceuticals durchgeführt, die aktive Impfungen von leicht bis mittelstark betroffenen Patienten mit aggregiertem A β 42-Peptid

vornahmen. In einer Multidosis-Studie der Phase I mit 80 Patienten wurden nach ein bis drei Applikationen in mehr als 50 % der Testpersonen signifikante Antikörpertiter induziert. Es wurden keine behandlungsbedingten Nebenwirkungen festgestellt. Eine Phase-II-Studie musste jedoch kurz nach Beginn abgebrochen werden, weil 6 % der mit dem A β -Vakzin Geimpften eine aseptische Meningoencephalitis entwickelten. Obwohl dies sicher durch die Behandlung bedingt war, korrelierte die Nebenwirkung nicht mit dem am Ende erreichten anti-A β -Antikörpertiter als dem am schnellsten messbaren Resultat für die Impfeffizienz.

Wegen der langen Dauer der Immunantwort wurden die Teilnehmer auch nach Ende der Studie, teilweise auch postmortal weiterverfolgt. Die histologische Untersuchung relevanter Gehirnregionen zeigte in allen Fällen das Fehlen oder eine Verringerung A β -positiver Plaques, weniger dystrophisierte Neuriten (im Vergleich zu „historischen“ Kontrolluntersuchungen an Gehirnen unbehandelter Patienten) und aktivierte Mikrogliazellen, die mit Amyloidablagerungen assoziiert waren. Es gab keine offensichtliche Abnahme von Neuronen mit Tau-Fibrillen. Bei Patienten, die eine Meningoencephalitis erlitten hatten, wurde die Infiltration von T-Zellen nachgewiesen. MRT-Aufnahmen von Patienten mit hohem Antikörpertiter ergaben nach einem Jahr eine unerwartete Abnahme des Gehirnvolumens, die stärker ausgeprägt war als bei Patienten ohne Immunreaktion, sich später aber wieder hin zur normalen Schrumpfung stabilisierte. Über die Bedeutung dieser Beobachtung lässt sich einstweilen nur spekulieren. Ein klinisches Zentrum berichtete über eine signifikant langsamere Verschlechterung bei kognitiven Tests von Antikörperträgern, doch dies wurde von anderen Studienzentren nicht bestätigt.^[259] Es gab einen Hinweis auf einen positiven Effekt bei Respondern in der NTB (neuropsychological test battery), der in anderen Kognitionsmessverfahren (ADAS-coq, MMSE) nicht auftauchte (siehe Übersichtsartikel in Lit. [120,251,260]).

Obwohl die Nebenwirkungsrisiken dieser aktiven Impfung offensichtlich sind und die therapeutische Wirksamkeit noch nicht bewiesen ist, bleibt eine antikörperbasierte Therapie für AD ein vielversprechender Weg. Gegenwärtig werden verschiedene passive Impfungen mit humanen oder humanisierten anti-A β -Antikörpern gegen verschiedene Epitope des A β -Peptids klinisch getestet. Die passive Impfung hat den Vorteil, dass die Behandlung im Falle von Nebenwirkungen sofort unterbrochen werden kann und die aktiven Antikörper innerhalb weniger Wochen verschwinden. Außerdem können durch wiederholte Optimierungszyklen Antikörper der gewünschten Spezifität, Affinität und des gewünschten Wirkmechanismus (z.B. Bindung an den Fc-Rezeptor) erzeugt werden. Eine klinische Phase-III-Studie mit einem anti-A β -Antikörper (Bapineuzumab von ELAN) wurde begonnen, verschiedene andere Antikörper befinden sich in früheren klinischen Phasen (Gantenerumab von Roche).

4.2. Secretase-Inhibitoren

Während anti-A β -Antikörper die Amyloidkaskade auf der Stufe der A β -Peptidaggregation und -akkumulation angreifen, richten sich Secretase-Inhibitoren gegen den Ursprung der Amyloidkaskade, d. h. gegen die Bildung der A β -Peptide. Dies könnte die „sauberste“ Methode sein, die alle monomeren A β -Peptide und die daraus entstehenden Oligomere und Aggregate beseitigen würde. Ein mögliches Problem bei Secretase-Inhibitoren ist die physiologische Funktion der Secretasen. Beide spalten eine Anzahl weiterer Substrate, und die Hemmung dieser anderen Spaltreaktionen kann den klinischen Gebrauch der Inhibitoren einschränken. Für die γ -Secretase-Inhibitoren ist dieses Problem offensichtlich, gleiches gilt aber wohl auch für BACE-Inhibitoren. Zusätzlich sollte man in Betracht ziehen, dass die A β -Peptide nach Ansicht einiger Autoren nicht nur Nebenprodukte der komplexen γ -Secretase-Aktivität sind, sondern eine eigene physiologische Funktion haben.^[261]

4.2.1. Inhibition der γ -Secretase

Trotz der komplexen Struktur und des Fehlens genauer Strukturinformationen war die γ -Secretase in der Vergangenheit das am besten zu verfolgende Target für die Suche nach Inhibitoren, deren klinische Entwicklung deshalb auch weiter fortgeschritten ist als die von BACE-Inhibitoren. In der Vergangenheit wurden die meisten Leitstrukturen wohl in zellulären „Black-Box“-Screenings nach A β -reduzierenden Substanzen gefunden und die Inhibition der γ -Secretase erst in Sekundärtests aufgeklärt, in denen auf die Hemmung der CTF β -Prozessierung getestet wurde. Eine andere Variante waren zellfreie Tests auf der Basis teilgereinigter Membranpräparationen und rekombinatem CTF β als Substrat. Letztlich wurde eine Reihe strukturell verschiedener, hochwirksamer γ -Secretase-Inhibitoren gefunden und in der wissenschaftlichen Literatur und in Patentveröffentlichungen dokumentiert. Einige Verbindungen sind bis in klinische Testphasen weiterentwickelt worden. Im Folgenden diskutieren wir nur die am weitesten entwickelten Substanzen mit gesicherter In-vivo-Aktivität, für weitere Informationen sei auf einige aktuelle, ausführliche Übersichtsartikel verwiesen.^[262,263]

Der erste klare Beweis für die Wirksamkeit eines γ -Secretase-Inhibitors in vivo wurde anhand der Verbindung DAPT (Abbildung 10) von ELAN/Eli Lilly in einer transgenen PDAPP-Maus erbracht.^[264] Die orale Applikation der Verbindung verursachte eine rasche Abnahme des A β -Gehalts im Gehirn, nachweisbar bereits eine Stunde nach der Verabreichung. Dies zeigte erstmalig auch, dass lösliche A β -Peptide vor der Aggregation im ZNS einem schnellen Umsatz unterliegen. Die Verminderung des A β im Gehirn korrelierte mit der Konzentration des Wirkstoffs, woraus sich ein EC₅₀ von etwa 100 mg kg⁻¹ bestimmen ließ. In Übereinstimmung damit kam es zu einer relativen Akkumulation des Reaktionssubstrats APP-CTFs. Die Aktivität von DAPT in vivo wurde nachfolgend in einem anderen transgenen Mausmodell, der Tg2576-Maus, bestätigt.^[265] Die Untersuchung ergab auch, dass Konzentrationsänderungen von A β im Plasma und

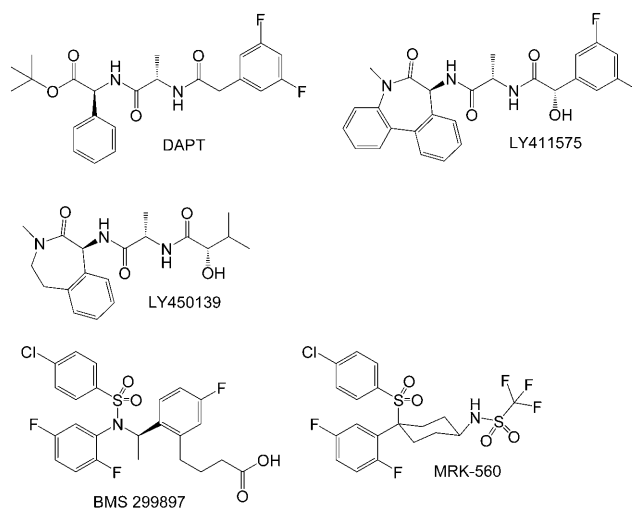


Abbildung 10. Beispiele von γ -Secretase-Inhibitoren.

in der Rückenmarksflüssigkeit (CSF) Veränderungen von A β im Gehirn widerspiegeln, allerdings nur in jungen Mäusen vor der Amyloidbildung. In älteren Tieren, die im Gehirn bereits unlösliche A β -Aggregate ausgebildet hatten, ließen sich die schnellen Änderungen des A β -Spiegels in Gehirn und CSF zwar ebenfalls nachweisen, doch die Gesamtmenge an A β im Gehirn blieb aufgrund des Überschusses an nur langsam umsetzbaren A β -Aggregaten nahezu konstant.

Eine später beschriebene Verbindung von Eli Lilly, LY411575 (Abbildung 10), wurde vielfach für In-vivo-Studien der γ -Secretase-Hemmung eingesetzt. In zellulären Tests ist die Verbindung im niedrigen bis subnanomolaren Bereich aktiv, und in transgenen Mäusen senkt sie das A β im Gehirn bereits in Dosen von 0.3 mg kg⁻¹. Die Absenkung von A β im Gehirn wurde bereits bei Verabreichung nur einer einzelnen Dosis beobachtet, verstärkte sich aber bei subchronischer Behandlung über mehrere Tage. Wie bei DAPT war die Verringerung der A β -Peptide am stärksten im Plasma, gefolgt von CSF und Gehirn. Innerhalb von 24 h nach der Behandlung stellte sich ein deutlicher Trend hin zu den ursprünglichen A β -Konzentrationen in allen analysierten Kompartimenten ein. Die sofortigen und vorübergehenden Veränderungen von A β in Plasma und CSF wurden als geeigneter Biomarker für die Wirksamkeit von Verbindungen in klinischen Versuchen vorgeschlagen. LY411575 war nicht nur im transgenen Mausmodell, sondern auch im nicht-transgenen Rattenmodell wirksam.^[266] Diese Untersuchung wies auch eine robuste Korrelation zwischen den Veränderungen von A β 40 in CSF und Gehirn nach.

Bei Eli Lilly ist eine Phase-I- und Phase-II-Studie mit LY450139 (Abbildung 10) abgeschlossen worden. Die Verbindung ist mit LY411575 verwandt, zeigte sich in zellulären Tests aber um fast zwei Größenordnungen weniger aktiv. In einer Untersuchung mit nicht-transgenen Meerschweinchen bewirkte die Substanz eine dosisabhängige vorübergehende Senkung der A β -Spiegel in Plasma, CSF und Gehirn.^[267] Bei niedrigen Konzentrationen wurde ein vorübergehender Anstieg von A β im Plasma beobachtet. Dieser Effekt wurde auch in klinischen Studien gefunden, wo A β im Plasma vor-

übergehend über die Basiskonzentration anstieg.^[268–270] Der Beginn einer klinischen Studie der Phase III mit dieser Verbindung wurde kürzlich angekündigt.

Eine in vivo aktive Verbindung einer anderen Strukturklasse wurde von einer Gruppe bei Bristol-Myers Squibb entwickelt. BMS-299897 (Abbildung 10) bewirkte ebenfalls eine zeit- und dosisabhängige Abnahme von A β in Plasma, CSF und Gehirn bei jungen Tg2576-Mäusen mit einer guten Korrelation zwischen den Veränderungen in CSF und Gehirn. Wie bei LY411575 änderte sich die Gesamtmenge von A β im Gehirn älterer Mäuse mit Amyloidplaques nach akuter Behandlung nicht.^[271] Im Unterschied zu den obigen Substanzen zeigte BMS-299897 in zellulären Tests eine 15-fach höhere Affinität für APP gegenüber Notch. In einer zweiwöchigen Studie mit Dosen, die zur Absenkung von A β im Gehirn ausreichten, wurden keine Nebenwirkungen beobachtet, die mit Notch in Verbindung standen. Dies war insofern wichtig, als in vorhergehenden Tierversuchen mit Verbindung LY411575 solche Nebenwirkungen eine ernstzunehmende und möglicherweise dosislimitierende Komplikation mit γ -Secretase-Inhibitoren darstellten.

Mäuse, die zwei Wochen lang mit täglich 10 mg kg⁻¹ LY411575 behandelt worden waren, zeigten eine starke Atrophie des Thymus und eine Hemmung der B-Zellen in der Marginalzone der Milz. Beide Symptome traten auch nach genetischer Unterbrechung der Notch-Signalkaskade auf.^[272–274] Daneben kam es zu einer Hyperplasie der Becherzellen im Darmepithel auf Kosten der Saumzellen, die in Ratten mit subchronischen Dosen reproduziert werden konnte.^[275] Ähnliche Ergebnisse wurden von anderen Autoren mit verschiedenen γ -Secretase-Inhibitoren gefunden.^[276]

Ein wirksamer und selektiver γ -Secretase-Inhibitor mit der Bezeichnung MRK-560 (Abbildung 10) wurde vor kurzem durch eine Gruppe bei Merck publiziert.^[277–279] Eine dreimonatige Behandlung mit Tg2576 reduzierte das A β -Peptid und die Amyloidbelastung im Gehirn, ohne dass Anzeichen einer Hemmung von Notch in Darm, Milz oder Thymus auftraten. Die Selektivität von BMS-299897 und MRK-560 sowie auch das Fehlen von In-vivo-Effekten auf Notch bei LY450139 sind bestechend, die mechanistische Basis dieser Selektivität ist aber noch ungeklärt.

4.2.2. Modulation der γ -Secretase

Als Alternative zu den „klassischen“ Inhibitoren zogen Modulatoren der γ -Secretase in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit auf sich. Das Konzept geht auf die zufällige Beobachtung zurück, dass manche nichtsteroidale Entzündungshemmer (Ibuprofen, Flurbiprofen, Indomethacin, Sulindacsulfid) das Muster der A β -Peptide in zellulären Tests veränderten. So nahm A β 42 ab, A β 40 blieb unverändert, und ein kürzeres Molekül, A β 38, nahm zu. Die Spaltung an der ϵ -Position, die die intrazelluläre Domäne freisetzt, war nicht betroffen. Dies ist ein fast ideales Ergebnis, denn A β 42 ist der „böse Bube“ unter den A β -Peptiden, der die Bildung zelltoxischer Aggregate und Ablagerungen vorantreibt, während die kürzeren Varianten wie A β 38 in diesem Zusammenhang harmlos sind. Wenn die Hemmung der ϵ -Spaltung ausbleibt, bleibt z.B. die Notch-Signalkaskade unberührt, sodass diese

Einschränkung, die bei der vollständigen γ -Secretase-Inhibition besteht, vermieden wird.

Es ist mittlerweile akzeptiert, dass diese Aktivität der nichtsteroidalen Entzündungshemmer (NSAIDs) tatsächlich eine direkte Wirkung auf die γ -Secretase ist und nicht mit der Hemmung der COX1- und COX2-Enzyme zusammenhängt. Die R-Form von Flurbiprofen hat nämlich keinerlei COX-hemmende Wirkung, wurde aber in zellfreien Tests mit γ -Secretase als Hemmstoff gefunden.^[280–282] Bindungsstudien von NSAIDs an γ -Secretase in angereicherten Membranfraktionen zeigten einen nichtkompetitiven Antagonismus zu Inhibitoren des Übergangszustands, was auf eine allosterische Bindestelle schließen lässt.^[280] Bindungsstudien mit fluoreszenzmarkiertem γ -Secretase-Komplex deuten auf Presenilin als Wirkort der NSAIDs hin.^[283]

Es ist unbekannt, wie die Bindung die Spezifität für die Spaltstelle verändert, aber es wurden Modelle auf der Basis einer helicalen Struktur des Substrats im γ -Secretase-Komplex vorgeschlagen.^[263] Demnach ist die A β 40-Spaltstelle in einer Helix gegenüber den Stellen für A β 42 und A β 38 positioniert, und eine Verschiebung des Enzyms entlang der Substratachse würde zu einer vermehrten Abspaltung von A β 38 auf Kosten von A β 42 führen. Ein wichtiger Unsicherheitsfaktor eines solchen Modells ist jedoch die Helixkonformation des Substrats, die möglicherweise nicht der Struktur des Substrats während der Spaltreaktion entspricht. Andererseits konnte mit anderen Verbindungen, z.B. selektiven COX2-Inhibitoren, eine Verschiebung der Spaltspezifität in umgekehrte Richtung, also mehr A β 42 und weniger A β 38, erreicht werden, was wiederum die bemerkenswerte Flexibilität des γ -Secretase-Komplexes und Optionen für seine Modulation zeigt.

Aus epidemiologischen Studien ist bekannt, dass die langandauernde Einnahme mancher NSAIDs lebenslang das Risiko von AD verringert, und es wurde spekuliert, dass die Modulation der γ -Secretase zur verringerten A β 42-Produktion diesem protektiven Effekt zugrunde liegt. Dies ist jedoch schwer zu vereinbaren mit der sehr niedrigen Wirksamkeit von NSAIDs als γ -Secretase-Modulatoren (der EC₅₀-Wert liegt meist im Bereich > 50 μ M, weit oberhalb der COX-hemmenden Aktivität) und ihrer schlechten Permeation über die Blut-Hirn-Schranke. Bei Myriad Pharmaceuticals wurde eine klinische Phase-III-Studie mit R-Flurbiprofen (Flurizan) gestartet. Da diese Verbindung gegen COX inaktiv ist und im Menschen nur sehr langsam in die COX-hemmende S-Form überführt wird, wurde angenommen, dass auch eine sehr hohe Dosis von zweimal täglich 800 mg nicht zu toxischen gastrointestinalen Nebenwirkungen führen sollte, andererseits aber die therapeutisch wirksame Konzentration im Gehirn aufgebaut wird. Inzwischen wurde die Entwicklung jedoch wegen mangelnder Wirksamkeit der Substanz abgebrochen. In der Zwischenzeit wurden γ -Secretase-Inhibitoren aus anderen Strukturklassen mit Aktivitäten im submikromolaren Bereich publiziert.^[284]

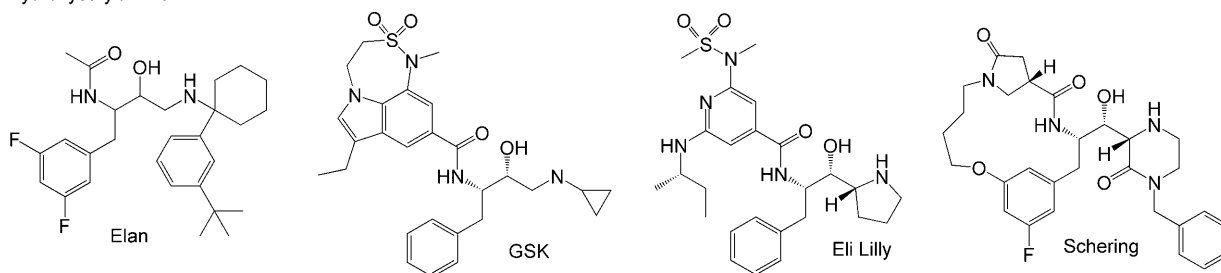
4.2.3. Inhibition der β -Secretase

Die Entdeckung der BACE1-Hemmer basierte auf einer sehr soliden experimentellen Grundlage, beginnend mit der

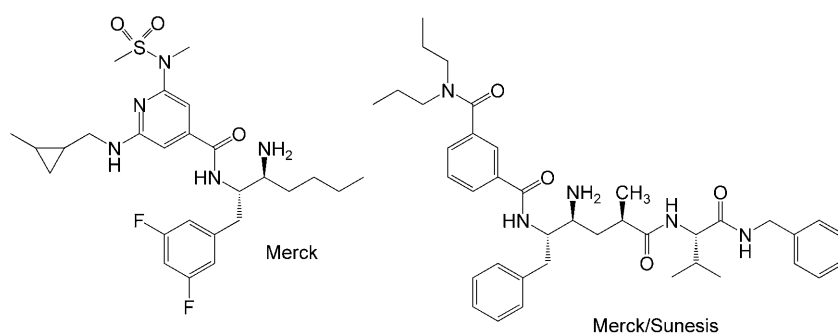
Reinigung des Proteins, der Klonierung und funktionellen Expression der cDNA und wenig später der Aufklärung der dreidimensionalen Struktur der katalytischen Domäne – alles Voraussetzungen, die der „ γ -Secretase-Community“ nie vergönnt waren. Dennoch ging die Entdeckung wirksamer und therapeutisch nutzbarer Hemmstoffe langsamer voran als erwartet und zur Zeit der Entstehung dieses Aufsatzes befand sich erst eine Verbindung in der klinischen Erprobung (CTS-21166 von CoMentis). Wirksame peptidomimetische Inhibitoren, die auf bekannten Gerüsten früher entwickelter Aspartatprotease-Inhibitoren aufbauten (Statine, Norstatine, Hydroxyethylene, Hydroxyethylamine), wurden als BACE-Hemmer der ersten Generation beschrieben (eine Übersicht findet sich in Lit. [205]). Die Verbindungen hatten in zellfreien Tests zwar nanomolare Bindungsaffinitäten, waren aber in zellulären Testsystemen oft nur schwach wirksam und für In-vivo-Experimente ungeeignet. Diese Schwierigkeit, Hemmstoffe zu identifizieren, die in zellulären Tests aktiv waren, dürfte im Nachhinein erklären, warum die frühen zellbasierten Wirkstoffsuchen nach A β -senkenden Verbindungen wiederholt γ -Secretase-Inhibitoren erbrachten, während für BACE-Inhibitoren keine Leitstrukturen gefunden wurden.

Inzwischen sind etliche von Peptidomimetika abgeleitete Verbindungen mit besseren pharmakologischen Eigenschaften beschrieben worden, und es gibt auch einige Beispiele für nichtpeptidische Hemmstoffe, die in nanomolaren Konzentrationen in zellfreien und zellulären Tests aktiv sind (Abbildung 11; Übersichten finden sich in Lit. [285–287]). Was bislang fehlt sind Berichte, die eine robuste Aktivität nach oraler Gabe in Modellen zeigen, wie sie zur Entwicklung der γ -Secretase-Inhibitoren verwendet wurden (transgene APP-Maus, Wildtyp-Ratte). Einige der Verbindungen waren in vivo nach intravenöser Gabe oder bei Verabreichung zusammen mit einem Pgp-Inhibitor aktiv (Pgp = P-Glycoprotein; es ist ein bekannter Nachteil von Verbindungen mit peptidischen Eigenschaften, dass sie häufig gute Pgp-Substrate sind). Dies lässt hoffen, dass man bei der Suche nach echten Wirkstoffkandidaten bald fündig wird. Diese könnten als wertvolle Werkzeuge dienen, um den präklinischen Befund zu untermauern, dass die Hemmung von BACE1 tatsächlich die A β -Konzentration und die Amyloidablagerung deutlich reduzieren kann und dass man nicht mit größeren, durch den Wirkmechanismus verursachten Nebenwirkung rechnen muss.

Hydroxyethylamine:



primäre Alkylamine:



Acylguanidine:

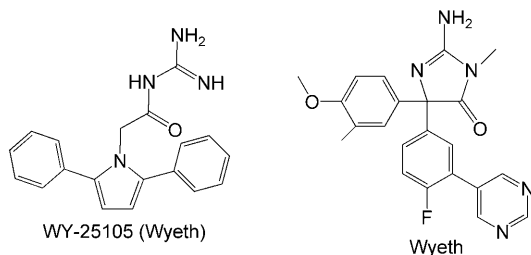


Abbildung 11. Beispiele von β -Secretase-Inhibitoren.

4.3. Weitere Targets

Bei gesunden und jungen Menschen werden die A β -Peptide schnell abgebaut und können sich nicht auf Niveaus anreichern, die eine Bildung stabiler und toxischer Aggregate nach sich ziehen. Es ist offensichtlich, dass eine Reihe von Proteasen die A β -Peptide in kleinere Bruchstücke spalten können, die nicht aggregieren, sondern vollständig abgebaut werden. Unklar ist aber noch, welche dieser Proteasen im Organismus der eigentliche „Vollstrecker“ ist oder ob für diese Aufgabe mehrere Proteasen benötigt werden, die in verschiedenen Kompartimenten aktiv sind und unterschiedliche A β -Varianten und -Aggregate angreifen.

Monomeres A β ist ein einfacheres Target im Vergleich zu größeren Oligomeren oder gar Amyloidablagerungen. Für das Insulin abbauende Enzym und für Neprilysin gibt es aussagekräftige In-vivo-Befunde, die eine physiologische Rolle bei der Beseitigung von A β stützen, z.B. Daten aus Genabschaltungs- oder transgenen Überexpressionsexperimenten. Während die Genabschaltung zu einem Anstieg des A β -Niveaus im ZNS führt, kann eine Überexpression die Bildung von Amyloid in Mäusen verhindern oder zumindest reduzieren, sogar wenn diese ein humanes FAD-APP transgen überexprimieren.^[240,241] Eine Aktivierung dieser Proteasen könnte daher ein Ansatzpunkt sein, um den A β -Abbau zu erhöhen. Für IDE wurden allosterische Aktivator gefunden, während die Aktivität von Neprilysin unter der Kontrolle des Somatostatin-Signalweges zu stehen scheint und damit der pharmakologischen Einflussnahme zugänglich ist.^[288–290] Die Studien zu solchen „Abbau-beschleunigenden“ Verbindungen befinden sich noch in der Vorphase, die klinische Erprobung hat noch nicht begonnen.

Ein weiterer Ansatz, mit dem die Stabilisierung der A β -Peptide verhindert werden könnte, beruht auf der Verwendung von Aggregationsinhibitoren. Im Lauf der Jahre sind einige solcher Hemmstoffe beschrieben worden. Manche davon sind aus pflanzlichen Substanzen abgeleitet, wie PTI-777 (Exebryl) von ProteoTech, andere sind gezielt entworfen worden, z.B. Alzhemed (Tramiprosat; Abbildung 12) von Neurochem, mit dem inzwischen eine klinische Phase-III-Studie abgeschlossen wurde – leider ohne eindeutig positives Ergebnis. Eine Störung der A β -Oligomerisierung und der

Vermeidung der sich daraus ergebenden toxischen Wirkung wurde für Scyllo-Inositol (AZD-103 von Transition Therapeutics; Abbildung 12) nachgewiesen. Die Verbindung blockiert die hemmende Wirkung der natürlichen A β -Oligomere auf die Ausbildung der LTP in Schnittkulturen des Mäusegehirns und verhinderte die Lernbeeinträchtigung in Ratten, die auftritt, wenn A β -Oligomere ins Gehirn injiziert werden.^[291] Die Wirkung scheint spezifisch zu sein, denn das Stereoisomere Chiro-Inositol wirkte nicht schützend. ELAN kündigte vor kurzem den Beginn einer Phase-II-Studie mit AZD-103 (ELND005) an Patienten mit leichter bis mittelschwerer Alzheimer-Demenz an.

RAGE-Rezeptoren im Endothel der Blutgefäße binden A β -Peptide und transportieren sie über die Blut-Hirn-Schranke ins ZNS.^[245] Transtech Pharma hat niedermolekulare Hemmstoffe der RAGE/A β -Peptid-Wechselwirkung entwickelt (TTP488) und schließt gerade eine Phase-IIa-Studie mit Alzheimer-Patienten ab.

In einer plazebokontrollierten doppelt verblindeten Pilotstudie für die klinische Phase II mit oral verabreichtem Clioquinol (Abbildung 12), an der 36 mittelschwer erkrankte Alzheimer-Patienten über 36 Wochen teilnahmen, wurden eine Reduzierung des A β -Plasmaspiegels und eine Normalisierung der Zn²⁺-Plasmakonzentration beschrieben. Auch der kognitive Verfall verlief statistisch signifikant langsamer.^[292] In Tg2576-Mäusen hatte die Verbindung den Cu²⁺- und den Zn²⁺-Spiegel im Gehirn erhöht und die Ablagerung von A β -Amyloid in der Hirnrinde um 49 % vermindert.^[293] Clioquinol bildet vermutlich im Darm einen Komplex mit Cu²⁺- und Zn²⁺-Ionen, der die Blut-Hirn-Schranke passieren kann. Dieser Komplex würde den Transport der Ionen in die Zellen vermitteln, wo sie eine metallionenabhängige Aktivierung der Matrix-Metalloproteasen induzieren. Diese sollten dann A β abbauen.^[294]

4.4. Ausblick – auch über das Amyloid hinaus

Auch wenn die Amyloidhypothese die Akkumulation pathogener A β -Peptide als die ausschlaggebende Ursache für die Alzheimer-Erkrankung postuliert, ist doch offensichtlich, dass das Fortschreiten des Krankheitsbildes von weiteren wichtigen pathologischen Faktoren angetrieben wird. Viele davon treten in sehr frühen Phasen auf und gehen auch der ausgeprägten Amyloidose voran. Die Tau-Pathologien spielen eine wichtige Rolle, und ihre Entwicklung bietet zusätzliche Targets für eine therapeutische Intervention. Insbesondere die Proteinkinasen, die die charakteristische Überphosphorylierung des Tau-Proteins verursachen, wie sie in den Neurofibrillenbündeln vorkommt, werden als potenzielle Angriffspunkte für Pharmaka angesehen. Bevor sich dieser Ansatz nutzen lässt, muss allerdings geklärt werden, welche der verschiedenen Phosphorylierungsstellen des Tau-Proteins essenziell für die Umwandlung des nativen Proteins in seine pathologische Form sind und welche Proteinkinase den entscheidenden Phosphorylierungsschritt vollzieht. Die prolingerichteten Proteinkinasen GSK3 β und Cdk5 und die mitogenaktivierten Proteinkinasen ERK, p38 und JNK wurden alle als Träger Tau-phosphorylierender Aktivität beschrieben.

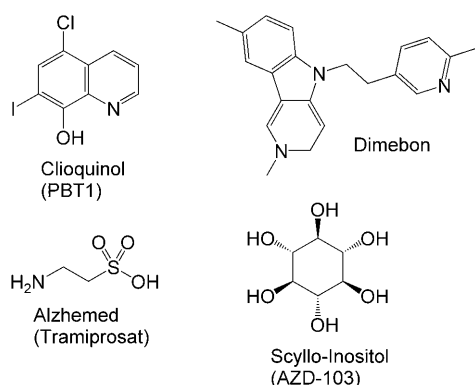


Abbildung 12. Ausgewählte Verbindungen, die in klinischen Studien getestet wurden (Clioquinol, Alzhemed) oder sich derzeit in der Testphase befinden (Scyllo-Inositol, Dimebon).

Es gibt inzwischen einige transgene Mausmodelle, die pathologisches Tau-Protein entwickeln und die als wichtige Werkzeuge für die weitere Evaluierung der Proteinkinasen als therapeutische Targets genutzt werden könnten.

Altersdiabetes ist eine häufige Begleiterkrankung von AD, und aus epidemiologischen Studien lässt sich ableiten, dass Diabetes ein Risikofaktor für AD ist. Die Krankheit wird meist mit Thiazolidindion(TZD)-Derivaten behandelt, die den Peroxisomen-Proliferator-aktivierten Rezeptor γ (PPAR γ), einen Kernrezeptor, aktivieren. Zwei dieser Verbindungen sind als Medikamente eingeführt, nämlich Rosiglitazon und Pioglitazon. Eine Phase-II-Studie mit Rosiglitazon an Patienten mit leichter bis mittelstarker AD zeigte eine signifikante Verbesserung der Wahrnehmungsfähigkeit in einer Untergruppe der Patienten, die nicht das $\epsilon 4$ -Allel des ApoE-Gens trugen. Der Wirkmechanismus der Substanz ist noch unklar. Die Autoren der Studie vermuteten, dass Rosiglitazon auf die Mitochondrien wirkt und deren Zahl und Stoffwechseleffizienz erhöht.^[295,296] In Zellkulturmodellen beschleunigten PPAR γ -Agonisten den Abbau von A β -Peptiden.^[297] Die Behandlung transgener Mäuse mit Pioglitazon verringerte die Expression von BACE1 im Gehirn.^[298,299] Eine Phase-III-Studie mit Rosiglitazon ist derzeit in der Durchführung. Es gibt auch Berichte über eine entzündungshemmende Aktivität von TZDs, die darauf beruht, dass die Produktion inflammatorischer Cytokine unterdrückt und die COX2-Expression gehemmt wird. Eine andere Verbindung, der eine stabilisierende Wirkung auf Mitochondrien zugeschrieben wird, ist Dimebon. Sie verbessert Wahrnehmungsfähigkeit, Gedächtnisleistung und Verhalten bei Patienten mit leichter bis mittelschwerer AD.^[300]

AD-assoziierte Läsionen werden generell von einer Neuroinflammation und insbesondere von aktivierten Mikroglia begleitet. Aus epidemiologischen Untersuchungen weiß man, dass die Einnahme von NSAIDs über lange Zeit das Risiko für AD verringert. Entsprechend wurden einige NSAIDs zur Behandlung der voll ausgebildeten Krankheit getestet. Eine frühe Studie mit Indomethacin bei leichter bis mittelschwerer AD ließ eine Schutzwirkung auf die kognitiven Fähigkeiten erwarten. Dieser Befund wurde in späteren umfangreicheren Untersuchungen mit anderen NSAIDs oder selektiven COX2-Inhibitoren jedoch nicht bestätigt, und mittlerweile muss man davon ausgehen, dass Entzündungshemmer präventiv wirken, aber kein therapeutisches Potenzial besitzen.^[301]

Ein ähnliches Bild kann sich bei den Statinen abzeichnen. Nach epidemiologischen Daten verringert eine Absenkung des Cholesterinspiegels durch die Einnahme von Statinen das Risiko für AD. Umgekehrt haben Experimente in Zellkulturen und transgenen Mausmodellen ergeben, dass Hypercholesterinämie die Produktion von A β -Peptiden und die Ausbildung einer Amyloidose verstärken kann. Klinische Studien, in denen ein eindeutiger therapeutischer Effekt der Statine gezeigt wird, fehlen allerdings noch.^[302,303]

Was können wir also tun, während wir auf wirksame Behandlungsverfahren warten? Ein direktes Einwirken auf die beiden Hauptrisiken, fortschreitendes Alter und genetische Veranlagung, liegt noch immer jenseits unserer Möglichkeiten. Epidemiologische Alterungsstudien, etwa die Rotter-

dam-Studie, weisen auf einige Lebensumstände hin, die das Risiko für die Entstehung der Alzheimer-Krankheit beeinflussen können, z.B. Rauchen (risikofördernd^[304]) oder mäßiger Alkoholgenuß (risikosenkend^[305]). Die Einnahme von Antioxidantien wie Vitamin C und E, prophylaktisch oder therapeutisch, hat beträchtliche Aufmerksamkeit erfahren, weil im Gehirn von Alzheimer-Patienten umfangreiche oxidative pathologische Veränderungen nachgewiesen wurden, doch ein Wirkungsnachweis steht noch aus.^[306] Ähnliche Argumente wurden auch für pflanzliche Polyphenole ins Spiel gebracht, so für die Bestandteile Catechin und Quercin aus grünem Tee, Resveratrol aus Rotwein oder Curcumin aus Currypulver. Für einige dieser Verbindungen konnte im transgenen Mausmodell eine protektive antiamyloide Wirkung gegen AD nachgewiesen werden.^[307,308]

Körperliche Ertüchtigung kann ebenfalls ein wichtiger Faktor sein, das Risiko für Alzheimer-Demenz zu verringern, wie am transgenen Mausmodell mit Überexprimierung von humanem APP gezeigt wurde. Die typischen Lern- und Gedächtnisschwächen, die bei alten Mäusen mit ausgeprägter Gehirnamyloidose auftreten, waren deutlich verringert, wenn den Tieren eine abwechslungsreiche Umgebung angeboten wurde, d.h., wenn es im Käfig Übungsgeräte wie Laufräder und wechselnde Gegenstände wie farbige Plastikstücke zum Spielen gab. Einige der Studien postulierten sogar, dass nicht nur Lernen und Gedächtnisleistung verbessert, sondern auch die Amyloidablagerungen verringert waren, möglicherweise durch die Induktion des A β -Peptid-abbauenden Enzyms Neprilysin.^[309,310]

Es wurde auch gezeigt, dass körperliche Ertüchtigung den BDNF-Faktor (brain-derived neurotrophic factor) und seinen Rezeptor TrkB (Tyrosinkinase-B-Rezeptor), CREB (pCREB, phosphorylated cAMP-response-element binding protein und CREB mRNA), IGF-1 (insulin-like growth factor-1) und Synapsin-1 sowie die Histon-Acetylierung besonders im Hippocampus erhöht.^[311,312] In einem Neurodegenerationsmodell in der Maus (CK-p25 TG-Maus) steigerte die Histon-Acetylierung das Aussprossen von Dendriten, die Bildung neuer Synapsen und die Wiederherstellung verlорener Langzeiterinnerungen.^[313] Synapsin-1 verbindet synaptische Vesikel mit dem Actin des Cytoskeletts in den Synapsen. Zirkulierendes IGF-1 ist an der Beseitigung von A β im Gehirn beteiligt, indem es die Funktion des Plexus choroideus moduliert. Eine Behandlung von APP/PS2-Mäusen mit IGF-1 verbesserte deren AD-ähnliche Symptome deutlich.^[314,315] Die Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors CREB durch die MAP-Kinase (mitogenaktivierte Proteinkinase) spielt eine Schlüsselrolle bei der Ausprägung des Langzeitgedächtnisses, an der die Proteinsynthese beteiligt ist.^[316] Die Zunahme von BDNF ist vom NMDA-Rezeptor abhängig. Die Bindung von CAMKII (Calcium/Calmodulin-Proteinkinase II) an den NMDA-Rezeptor hält CAMKII in einem autonom aktivierten Zustand, wenn der ursprünglich aktivierende Ca²⁺-Stimulus verschwunden ist. Die Zunahme dieser Proteine durch körperliches Training trägt zum Abbau von A β bei, fördert die synaptische Plastizität und verbessert auf diese Art kognitive Vorgänge.

Für Menschen, die von der Krankheit bereits betroffen sind, dürften all diese Überlegungen keine Hilfe mehr bieten.

Noch gesunden Risikopersonen hingegen – und dazu dürfte jeder ab einem gewissen Alter gehören – könnten diese Faktoren eine Motivation bieten, das persönliche Risiko zu verringern. Darüber hinaus sind effektive Therapiemöglichkeiten dringend erforderlich, und es bleibt zu hoffen, dass die Antiamyloidstrategien einen großen Schritt in Richtung auf eine kausale Therapie ermöglichen.

Die Autoren danken Manfred Brockhaus, Friedrich Metzger und Hansruedi Loetscher bei Hoffmann-LaRoche für kritische Anmerkungen bei der Abfassung des Manuskripts sowie Bernd Bohrmann für die Abbildung 4.

Eingegangen am 13. Juni 2008

Online veröffentlicht am 28. März 2009

Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] C. C. Mello, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7114; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6985.
- [2] A. Alzheimer, *Allg. Z. Psychiat. Psych.-Gerichtl. Med.* **1907**, *64*, 146; R. A. Stelzmann, H. N. Schnitzlein, F. R. Murtagh, *Clin. Anat.* **1995**, *8*, 429.
- [3] K. A. Jellinger, *J. Neural Transm.* **2006**, *113*, 1603.
- [4] A. Barco, C. H. Bailey, E. R. Kandel, *J. Neurochem.* **2006**, *97*, 1520.
- [5] E. R. Kandel, *Biosci. Rep.* **2001**, *21*, 565.
- [6] S. Corkin, D. G. Amaral, R. G. Gonzalez, K. A. Johnson, B. T. Hyman, *J. Neurosci.* **1997**, *17*, 3964.
- [7] L. Stefanacci, E. A. Buffalo, H. Schmolck, L. R. Squire, *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 7024.
- [8] L. R. Squire, P. J. Bayley, *Curr. Opin. Neurobiol.* **2007**, *17*, 185.
- [9] A. D. Smith, K. A. Jobst, *Br. Med. Bull.* **1996**, *52*, 575.
- [10] K. A. Jobst, A. D. Smith, M. Szatmari, M. M. Esiri, A. Jaskowski, N. Hindley, B. McDonald, A. J. Molyneux, *Lancet* **1994**, *343*, 829.
- [11] C. Uotani, K. Sugimori, K. Kobayashi, *Psychiatry Clin. Neurosci.* **2006**, *60*, 319.
- [12] M. Di Paola, E. Macaluso, G. A. Carlesimo, F. Tomaiuolo, K. J. Worsley, L. Fadda, C. Caltagirone, *J. Neurol.* **2007**, *254*, 774.
- [13] B. H. Ridha, J. Barnes, L. A. van de Pol, J. M. Schott, R. G. Boyes, M. M. Siddique, M. N. Rossor, P. Scheltens, N. C. Fox, *Arch. Neurol.* **2007**, *64*, 849.
- [14] K. E. Pike, G. Savage, V. L. Villemagne, S. Ng, S. A. Moss, P. Maruff, C. A. Mathis, W. E. Klunk, C. L. Masters, C. C. Rowe, *Brain* **2007**, *130*, 2837.
- [15] W. E. Klunk, H. Engler, A. Nordberg, Y. Wang, G. Blomqvist, D. P. Holt, M. Bergstrom, I. Savitcheva, G. F. Huang, S. Estrada, B. Aisen, M. L. Debnath, J. Barletta, J. C. Price, J. Sandell, B. J. Lopresti, A. Wall, P. Koivisto, G. Antoni, C. A. Mathis, B. Langstrom, *Ann. Neurol.* **2004**, *55*, 306.
- [16] G. W. Small, S. Y. Bookheimer, P. M. Thompson, G. M. Cole, S. C. Huang, V. Kepe, J. R. Barrio, *Lancet Neurol.* **2008**, *7*, 161.
- [17] A. C. Burggren, S. Y. Bookheimer, *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 385.
- [18] N. J. Kabani, J. G. Sled, H. Chertkow, *Neuroimage* **2002**, *15*, 604.
- [19] B. H. Ridha, D. J. Tozer, M. R. Symms, K. C. Stockton, E. B. Lewis, M. M. Siddique, D. G. MacManus, M. N. Rossor, N. C. Fox, P. S. Tofts, *Radiology* **2007**, *244*, 832.
- [20] S. Gauthier, B. Reisberg, M. Zaudig, R. C. Petersen, K. Ritchie, K. Broich, S. Belleville, H. Brodaty, D. Bennett, H. Chertkow, J. L. Cummings, M. de Leon, H. Feldman, M. Ganguli, H. Hampel, P. Scheltens, M. C. Tierney, P. Whitehouse, B. Winblad, *Lancet* **2006**, *367*, 1262.
- [21] M. Sjöbeck, M. Haglund, E. Englund, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2005**, *20*, 919.
- [22] A. D. Smith, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4135.
- [23] M. Bobinski, J. Wegiel, H. M. Wisniewski, M. Tarnawski, B. Reisberg, M. J. De Leon, D. C. Miller, *Neurobiol. Aging* **1996**, *17*, 909.
- [24] H. Braak, E. Braak, *Acta Neuropathol.* **1991**, *82*, 239.
- [25] H. Braak, E. Braak, J. Bohl, *Eur. Neurol.* **1993**, *33*, 403.
- [26] D. R. Thal, U. Rub, C. Schultz, I. Sassin, E. Ghebremedhin, K. Del Tredici, E. Braak, H. Braak, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2000**, *59*, 733.
- [27] D. R. Thal, U. Rub, M. Orantes, H. Braak, *Neurology* **2002**, *58*, 1791.
- [28] I. R. Mackenzie, R. S. McLachlan, C. S. Kubu, L. A. Miller, *Neurology* **1996**, *46*, 425.
- [29] P. Delaere, Y. He, G. Fayet, C. Duyckaerts, J. J. Hauw, *Neurobiol. Aging* **1993**, *14*, 191.
- [30] D. A. Snowdon, *Gerontologist* **1997**, *37*, 150.
- [31] M. Sjöbeck, E. Englund, *Dementia Geriatr. Cognit. Disord.* **2001**, *12*, 211.
- [32] G. B. Stokin, C. Lillo, T. L. Falzone, R. G. Brusch, E. Rockenstein, S. L. Mount, R. Raman, P. Davies, E. Masliah, D. S. Williams, L. S. Goldstein, *Science* **2005**, *307*, 1282.
- [33] G. B. Stokin, L. S. Goldstein, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 607.
- [34] G. B. Stokin, L. S. Goldstein, *J. Physiol.* **2006**, *99*, 193.
- [35] A. Marx, J. Müller, E. Mandelkow, *Adv. Protein Chem.* **2005**, *71*, 299. Für eine animierte Darstellung des Kinesin-Walk-Modells, siehe: <http://www.mpasmb-hamburg.mpg.de/>.
- [36] A. C. Alonso, B. Li, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *Curr. Alzheimer Res.* **2008**, *5*, 375.
- [37] S. Khatoon, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *J. Neurochem.* **1992**, *59*, 750.
- [38] M. M. Mesulam, *Neuron* **1999**, *24*, 521.
- [39] E. M. Mandelkow, K. Stamer, R. Vogel, E. Thies, E. Mandelkow, *Neurobiol. Aging* **2003**, *24*, 1079.
- [40] K. Stamer, R. Vogel, E. Thies, E. Mandelkow, E. M. Mandelkow, *J. Cell Biol.* **2002**, *156*, 1051.
- [41] C. Ballatore, V. M. Lee, J. Q. Trojanowski, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 663.
- [42] D. J. Selkoe, *Science* **2002**, *298*, 789.
- [43] C. A. Davies, D. M. Mann, P. Q. Sumpter, P. O. Yates, *J. Neurol. Sci.* **1987**, *78*, 151.
- [44] K. F. Bell, D. A. Bennett, A. C. Cuello, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 10810.
- [45] M. G. Baxter, A. A. Chiba, *Curr. Opin. Neurobiol.* **1999**, *9*, 178.
- [46] S. G. Younkin, B. Goodridge, J. Katz, G. Lockett, D. Nafziger, M. F. Usiak, L. H. Younkin, *Fed. Proc.* **1986**, *45*, 2982.
- [47] A. Kamal, A. Almenar-Queralt, J. F. LeBlanc, E. A. Roberts, L. S. Goldstein, *Nature* **2001**, *414*, 643.
- [48] C. Kaether, P. Skehel, C. G. Dotti, *Mol. Biol. Cell* **2000**, *11*, 1213.
- [49] T. Suzuki, Y. Araki, T. Yamamoto, T. Nakaya, *J. Biochem.* **2006**, *139*, 949.
- [50] P. Satpute-Krishnan, J. A. DeGiorgis, E. L. Bearer, *Aging Cell* **2003**, *2*, 305.
- [51] E. J. Mufson, J. M. Conner, J. H. Kordower, *Neuroreport* **1995**, *6*, 1063.
- [52] M. Yaar, S. Zhai, R. E. Fine, P. B. Eisenhauer, B. L. Arble, K. B. Stewart, B. A. Gilchrist, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 7720.
- [53] A. C. Cuello, M. A. Bruno, *Neurochem. Res.* **2007**, *32*, 1041.
- [54] S. D. Ginsberg, S. Che, J. Wu, S. E. Counts, E. J. Mufson, *J. Neurochem.* **2006**, *97*, 475.
- [55] D. C. Rubinsztein, J. E. Gestwicki, L. O. Murphy, D. J. Klionsky, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 304.

- [56] R. A. Nixon, J. Wegiel, A. Kumar, W. H. Yu, C. Peterhoff, A. Cataldo, A. M. Cuervo, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2005**, *64*, 113.
- [57] W. H. Yu, A. M. Cuervo, A. Kumar, C. M. Peterhoff, S. D. Schmidt, J. H. Lee, P. S. Mohan, M. Mercken, M. R. Farmery, L. O. Tjernberg, Y. Jiang, K. Duff, Y. Uchiyama, J. Naslund, P. M. Mathews, A. M. Cataldo, R. A. Nixon, *J. Cell Biol.* **2005**, *171*, 87.
- [58] X. Wang, P. J. Quinn, *Prog Lipid Res.* **1999**, *38*, 309.
- [59] R. A. Nixon, A. M. Cataldo, *J. Alzheimer's Dis.* **2006**, *9*, 277.
- [60] K. Hirai, G. Aliev, A. Nunomura, H. Fujioka, R. L. Russell, C. S. Atwood, A. B. Johnson, Y. Kress, H. V. Vinters, M. Tabaton, S. Shimohama, A. D. Cash, S. L. Siedlak, P. L. Harris, P. K. Jones, R. B. Petersen, G. Perry, M. A. Smith, *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 3017.
- [61] P. I. Moreira, S. L. Siedlak, X. Wang, M. S. Santos, C. R. Oliveira, M. Tabaton, A. Nunomura, L. I. Szwed, G. Aliev, M. A. Smith, X. Zhu, G. Perry, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2007**, *66*, 525.
- [62] W. D. Parker, Jr., J. Parks, C. M. Filley, B. K. Kleinschmidt-DeMasters, *Neurology* **1994**, *44*, 1090.
- [63] R. H. Swerdlow, S. J. Kish, *Int. Rev. Neurobiol.* **2002**, *53*, 341.
- [64] P. I. Moreira, M. S. Santos, C. R. Oliveira, *Antioxid. Redox Signaling* **2007**, *9*, 1621.
- [65] G. E. Gibson, K. F. Sheu, J. P. Blass, *J. Neural Transm.* **1998**, *105*, 855.
- [66] P. E. Coskun, M. F. Beal, D. C. Wallace, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10726.
- [67] U. Keil, A. Bonert, C. A. Marques, I. Scherping, J. Weyermann, J. B. Strosznajder, F. Müller-Spahn, C. Haass, C. Czech, L. Pradier, W. E. Müller, A. Eckert, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 50310.
- [68] A. T. Marques, A. Antunes, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, *BMC Genomics* **2006**, *7*, 202.
- [69] M. K. Froemming, D. Sames, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14518.
- [70] J. W. Lustbader, M. Cirilli, C. Lin, H. W. Xu, K. Takuma, N. Wang, C. Caspersen, X. Chen, S. Pollak, M. Chaney, F. Trinchese, S. Liu, F. Gunn-Moore, L. F. Lue, D. G. Walker, P. Kuppasamy, Z. L. Zewier, O. Arancio, D. Stern, S. S. Yan, H. Wu, *Science* **2004**, *304*, 448.
- [71] X. Y. He, J. Wegiel, S. Y. Yang, *Brain Res.* **2005**, *1040*, 29.
- [72] S. Dun Yan, Y. Shi, A. Zhu, J. Fu, H. Zhu, Y. Zhu, L. Gibson, E. Stern, K. Collison, F. Al-Mohanna, S. Ogawa, A. Roher, S. G. Clarke, D. M. Stern, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 2145.
- [73] J. P. Sheehan, R. H. Swerdlow, S. W. Miller, R. E. Davis, J. K. Parks, W. D. Parker, J. B. Tuttle, *J. Neurosci.* **1997**, *17*, 4612.
- [74] G. L. Wenk, W. Danyasz, D. D. Roice, *Neuroreport* **1996**, *7*, 1453.
- [75] G. V. Johnson, T. M. Cox, J. P. Lockhart, M. D. Zinnerman, M. L. Miller, R. E. Powers, *Brain Res.* **1997**, *751*, 323.
- [76] K. Saito, J. S. Elce, J. E. Hamos, R. A. Nixon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 2628.
- [77] R. A. Nixon, P. S. Mohan in *Calpain: Pharmacology and Toxicology of Calcium-Dependent Protease* (Hrsg.: K. K. W. Wang, P.-W. Yuen), Taylor and Francis, **1999**, S. 267–291.
- [78] B. L. Kelly, A. Ferreira, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 28079.
- [79] R. B. Petersen, A. Nunomura, H. G. Lee, G. Casadesus, G. Perry, M. A. Smith, X. Zhu, *J. Alzheimer's Dis.* **2007**, *11*, 143.
- [80] X. Zhu, A. K. Raina, G. Perry, M. A. Smith, *Lancet Neurol.* **2004**, *3*, 219.
- [81] F. Dou, W. J. Netzer, K. Tanemura, F. Li, F. U. Hartl, A. Takashima, G. K. Gouras, P. Greengard, H. Xu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 721.
- [82] W. Luo, F. Dou, A. Rodina, S. Chip, J. Kim, Q. Zhao, K. Moullick, J. Aguirre, N. Wu, P. Greengard, G. Chiosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 9511.
- [83] D. A. Butterfield, J. Drake, C. Pocernich, A. Castegna, *Trends Mol. Med.* **2001**, *7*, 548.
- [84] M. P. Mattson, S. L. Chan, *Cell Calcium* **2003**, *34*, 385.
- [85] J. Bieschke, Q. Zhang, E. T. Powers, R. A. Lerner, J. W. Kelly, *Biochemistry* **2005**, *44*, 4977.
- [86] K. Honda, M. A. Smith, X. Zhu, D. Baus, W. C. Merrick, A. M. Tartakoff, T. Hattier, P. L. Harris, S. L. Siedlak, H. Fujioka, Q. Liu, P. I. Moreira, F. P. Miller, A. Nunomura, S. Shimohama, G. Perry, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 20978.
- [87] P. J. Crouch, A. R. White, A. I. Bush, *Febs J.* **2007**, *274*, 3775.
- [88] A. I. Bush, *Trends Neurosci.* **2003**, *26*, 207.
- [89] J. Y. Lee, T. B. Cole, R. D. Palmiter, S. W. Suh, J. Y. Koh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 7705.
- [90] M. A. Lovell, J. D. Robertson, W. J. Teesdale, J. L. Campbell, W. R. Markesbery, *J. Neurol. Sci.* **1998**, *158*, 47.
- [91] T. A. Bayer, S. Schäfer, A. Simons, A. Kemmling, T. Kamer, R. Tepest, A. Eckert, K. Schüssel, O. Eikenberg, C. Sturchler-Pierrat, D. Abramowski, M. Staufenbiel, G. Multhaup, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 14187.
- [92] K. Uchida, S. Kawakishi, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2405.
- [93] R. Squitti, D. Lupoi, P. Pasqualetti, G. Dal Forno, F. Vernieri, P. Chiovenda, L. Rossi, M. Cortesi, E. Cassetta, P. M. Rossini, *Neurology* **2002**, *59*, 1153.
- [94] C. S. Atwood, R. C. Scarpa, X. Huang, R. D. Moir, W. D. Jones, D. P. Fairlie, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Neurochem.* **2000**, *75*, 1219.
- [95] C. C. Curtain, F. Ali, I. Volitakis, R. A. Cherny, R. S. Norton, K. Beyreuther, C. J. Barrow, C. L. Masters, A. I. Bush, K. J. Barnham, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 20466.
- [96] X. Huang, M. P. Cuajungco, C. S. Atwood, M. A. Hartshorn, J. D. Tyndall, G. R. Hanson, K. C. Stokes, M. Leopold, G. Multhaup, L. E. Goldstein, R. C. Scarpa, A. J. Saunders, J. Lim, R. D. Moir, C. Glabe, E. F. Bowden, C. L. Masters, D. P. Fairlie, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 37111.
- [97] D. Jiang, L. Men, J. Wang, Y. Zhang, S. Chikenyen, Y. Wang, F. Zhou, *Biochemistry* **2007**, *46*, 9270.
- [98] K. Zou, J. S. Gong, K. Yanagisawa, M. Michikawa, *J. Neurosci.* **2002**, *22*, 4833.
- [99] C. S. Atwood, R. D. Moir, X. Huang, R. C. Scarpa, N. M. Bacarra, D. M. Romano, M. A. Hartshorn, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 12817.
- [100] M. P. Cuajungco, L. E. Goldstein, A. Nunomura, M. A. Smith, J. T. Lim, C. S. Atwood, X. Huang, Y. W. Farrag, G. Perry, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 19439.
- [101] N. Arispe, J. C. Diaz, O. Simakova, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2007**, *1768*, 1952.
- [102] D. Beher, L. Hesse, C. L. Masters, G. Multhaup, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 1613.
- [103] Y. Sokolov, J. A. Kozak, R. Kaye, A. Chanturiya, C. Glabe, J. E. Hall, *J. Gen. Physiol.* **2006**, *128*, 637.
- [104] A. Demuro, E. Mina, R. Kaye, S. C. Milton, I. Parker, C. G. Glabe, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 17294.
- [105] H. Yamaguchi, M. L. Maat-Schieman, S. G. van Duinen, F. A. Prins, P. Neeskens, R. Natta, R. A. Roos, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2000**, *59*, 723.
- [106] M. R. D'Andrea, R. G. Nagele, H. Y. Wang, P. A. Peterson, D. H. Lee, *Histopathology* **2001**, *38*, 120.
- [107] L. Rajendran, M. Honsho, T. R. Zahn, P. Keller, K. D. Geiger, P. Verkade, K. Simons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 11172.
- [108] X. Zhu, A. K. Raina, G. Perry, M. A. Smith, *Curr. Alzheimer Res.* **2006**, *3*, 393.
- [109] P. Cras, M. Kawai, S. Siedlak, P. Mulvihill, P. Gambetti, D. Lowery, P. Gonzalez-DeWhitt, B. Greenberg, G. Perry, *Am. J. Pathol.* **1990**, *137*, 241.
- [110] D. A. DeWitt, G. Perry, M. Cohen, C. Doller, J. Silver, *Exp. Neurol.* **1998**, *149*, 329.

- [111] L. M. Shaffer, M. D. Dority, R. Gupta-Bansal, R. C. Fredrickson, S. G. Younkin, K. R. Brunden, *Neurobiol. Aging* **1995**, 16, 737.
- [112] R. G. Nagele, J. Wegiel, V. Venkataraman, H. Imaki, K. C. Wang, *Neurobiol. Aging* **2004**, 25, 663.
- [113] D. H. Small, D. Maksiel, M. L. Kerr, J. Ng, X. Hou, C. Chu, H. Mehrani, S. Unabia, M. F. Azari, R. Loiacono, M. I. Aguilar, M. Chebib, *J. Neurochem.* **2007**, 101, 1527.
- [114] J. Frackowiak, H. M. Wisniewski, J. Wegiel, G. S. Merz, K. Iqbal, K. C. Wang, *Acta Neuropathol.* **1992**, 84, 225.
- [115] H. Akiyama, C. Schwab, H. Kondo, H. Mori, F. Kametani, K. Ikeda, P. L. McGeer, *Neurosci. Lett.* **1996**, 206, 169.
- [116] D. W. Dickson, S. C. Lee, L. A. Mattiace, S. H. Yen, C. Brosnan, *Glia* **1993**, 7, 75.
- [117] M. Yamamoto, T. Kiyota, M. Horiba, J. L. Buescher, S. M. Walsh, H. E. Gendelman, T. Ikezu, *Am. J. Pathol.* **2007**, 170, 680.
- [118] M. J. Rowan, I. Klyubin, Q. Wang, N. W. Hu, R. Anwyl, *Biochem. Soc. Trans.* **2007**, 35, 1219.
- [119] K. P. Townsend, T. Town, T. Mori, L. F. Lue, D. Shytle, P. R. Sanberg, D. Morgan, F. Fernandez, R. A. Flavell, J. Tan, *Eur. J. Immunol.* **2005**, 35, 901.
- [120] J. A. Nicoll, E. Barton, D. Boche, J. W. Neal, I. Ferrer, P. Thompson, C. Vlachouli, D. Wilkinson, A. Bayer, D. Games, P. Seubert, D. Schenk, C. Holmes, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2006**, 65, 1040.
- [121] K. Yanagisawa, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2007**, 1768, 1943.
- [122] E. Y. Chi, S. L. Frey, K. Y. Lee, *Biochemistry* **2007**, 46, 1913.
- [123] R. Veerhuis, M. J. Van Breemen, J. M. Hoozemans, M. Morbin, J. Ouladhadj, F. Tagliavini, P. Eikelenboom, *Acta Neuropathol.* **2003**, 105, 135.
- [124] S. D. Webster, A. J. Yang, L. Margol, W. Garzon-Rodriguez, C. G. Glabe, A. J. Tenner, *Exp. Neurol.* **2000**, 161, 127.
- [125] H. Akiyama, S. Barger, S. Barnum, B. Bradt, J. Bauer, G. M. Cole, N. R. Cooper, P. Eikelenboom, M. Emmerling, B. L. Fiebich, C. E. Finch, S. Frautschy, W. S. Griffin, H. Hampel, M. Hull, G. Landreth, L. Lue, R. Mrak, I. R. Mackenzie, P. L. McGeer, M. K. O'Banion, J. Pachter, G. Pasinetti, C. Plata-Salaman, J. Rogers, R. Rydel, Y. Shen, W. Streit, R. Strohmeyer, I. Tooyoma, F. L. Van Muiswinkel, R. Veerhuis, D. Walker, S. Webster, B. Wegryniak, G. Wenk, T. Wyss-Coray, *Neurobiol. Aging* **2000**, 21, 383.
- [126] P. Eikelenboom, R. Veerhuis, W. Scheper, A. J. Rozemuller, W. A. van Gool, J. J. Hoozemans, *J. Neural Transm.* **2006**, 113, 1685.
- [127] W. J. Streit, *J. Neurosci. Res.* **2004**, 77, 1.
- [128] H. Yamaguchi, T. Yamazaki, C. A. Lemere, M. P. Frosch, D. J. Selkoe, *Am. J. Pathol.* **1992**, 141, 249.
- [129] H. M. Wisniewski, A. W. Vorbrodt, J. Wegiel, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1997**, 826, 161.
- [130] R. J. Ellis, J. M. Olichney, L. J. Thal, S. S. Mirra, J. C. Morris, D. Beekly, A. Heyman, *Neurology* **1996**, 46, 1592.
- [131] T. Luhrs, C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-Loher, B. Bohrmann, H. Dobeli, D. Schubert, R. Riek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 17342.
- [132] I. A. Mastrangelo, M. Ahmed, T. Sato, W. Liu, C. Wang, P. Hough, S. O. Smith, *J. Mol. Biol.* **2006**, 358, 106.
- [133] T. Ban, K. Yamaguchi, Y. Goto, *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 663.
- [134] P. A. Merz, H. M. Wisniewski, R. A. Somerville, S. A. Bobin, C. L. Masters, K. Iqbal, *Acta Neuropathol.* **1983**, 60, 113.
- [135] S. Inoue, M. Kuroiwa, R. Kisilevsky, *Brain Res. Rev.* **1999**, 29, 218.
- [136] S. Inoue, *Int. Rev. Cytol.* **2001**, 210, 121.
- [137] K. Yasojima, C. Schwab, E. G. McGeer, P. L. McGeer, *Brain Res.* **2000**, 887, 80.
- [138] E. Holm Nielsen, M. Nybo, K. Junker, P. Toftedal Hansen, I. M. Rasmussen, S. E. Svehag, *Scand. J. Immunol.* **2000**, 52, 110.
- [139] G. A. Tennent, L. B. Lovat, M. B. Pepys, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 4299.
- [140] R. N. Kalaria, P. G. Galloway, G. Perry, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **1991**, 17, 189.
- [141] Z. Urbanyi, L. Laszlo, T. B. Tomasi, E. Toth, E. Mekes, M. Sass, T. Pazmany, *Brain Res.* **2003**, 988, 69.
- [142] Z. Urbanyi, M. Sass, J. Laszy, V. Takacs, I. Gyertyan, T. Pazmany, *Brain Res.* **2007**, 1145, 221.
- [143] C. S. Atwood, R. N. Martins, M. A. Smith, G. Perry, *Peptides* **2002**, 23, 1343.
- [144] R. Veerhuis, R. S. Boshuizen, A. Familian, *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* **2005**, 4, 235.
- [145] I. Grundke-Iqbal, J. Fleming, Y. C. Tung, H. Lassmann, K. Iqbal, J. G. Joshi, *Acta Neuropathol.* **1990**, 81, 105.
- [146] Y. M. Kuo, M. R. Emmerling, A. S. Woods, R. J. Cotter, A. E. Roher, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, 237, 188.
- [147] Y. Harigaya, T. C. Saido, C. B. Eckman, C. M. Prada, M. Shoji, S. G. Younkin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, 276, 422.
- [148] A. Piccini, C. Russo, A. Gliozzi, A. Relini, A. Vitali, R. Borghi, L. Giliberto, A. Armirotti, C. D'Arrigo, A. Bachi, A. Cattaneo, C. Canale, S. Torrassa, T. C. Saido, W. Markesbery, P. Gambetti, M. Tabaton, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 34186.
- [149] J. Wang, D. W. Dickson, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee, *Exp. Neurol.* **1999**, 158, 328.
- [150] J. A. Hardy, G. A. Higgins, *Science* **1992**, 256, 184.
- [151] D. J. Selkoe, *Neuron* **1991**, 6, 487.
- [152] G. Perry, A. Nunomura, A. K. Raina, G. Aliev, S. L. Siedlak, P. L. Harris, G. Casadesus, R. B. Petersen, W. Bligh-Glover, E. Balraj, G. J. Petot, M. A. Smith, *Neurochem. Res.* **2003**, 28, 1549.
- [153] M. A. Smith, G. Casadesus, J. A. Joseph, G. Perry, *Free Radical Biol. Med.* **2002**, 33, 1194.
- [154] M. A. Smith, G. Perry, *J. Chem. Neuroanat.* **1998**, 16, 35.
- [155] K. L. Newell, B. T. Hyman, J. H. Growdon, E. T. Hedley-Whyte, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **1999**, 58, 1147.
- [156] J. H. Growdon, *Arch. Neurol.* **1999**, 56, 281.
- [157] P. Giannakopoulos, F. R. Herrmann, T. Bussiere, C. Bouras, E. Kovari, D. P. Perl, J. H. Morrison, G. Gold, P. R. Hof, *Neurology* **2003**, 60, 1495.
- [158] F. A. Schmitt, D. G. Davis, D. R. Wekstein, C. D. Smith, J. W. Ashford, W. R. Markesbery, *Neurology* **2000**, 55, 370.
- [159] C. C. Rowe, S. Ng, U. Ackermann, S. J. Gong, K. Pike, G. Savage, T. F. Cowie, K. L. Dickinson, P. Maruff, D. Darby, C. Smith, M. Woodward, J. Merory, H. Tochon-Danguy, G. O'Keefe, W. E. Klunk, C. A. Mathis, J. C. Price, C. L. Masters, V. L. Villemagne, *Neurology* **2007**, 68, 1718.
- [160] J. Naslund, V. Haroutunian, R. Mohs, K. L. Davis, P. Davies, P. Greengard, J. D. Buxbaum, *J. Am. Med. Assoc.* **2000**, 283, 1571.
- [161] L. F. Lue, Y. M. Kuo, A. E. Roher, L. Brachova, Y. Shen, L. Sue, T. Beach, J. H. Kurth, R. E. Rydel, J. Rogers, *Am. J. Pathol.* **1999**, 155, 853.
- [162] W. L. Klein, G. A. Krafft, C. E. Finch, *Trends Neurosci.* **2001**, 24, 219.
- [163] C. Haass, D. J. Selkoe, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, 8, 101.
- [164] S. Lesné, M. T. Koh, L. Kotilinek, R. Kaye, C. G. Glabe, A. Yang, M. Gallagher, K. H. Ashe, *Nature* **2006**, 440, 352.
- [165] J. Gong, L. Chang, K. L. Viola, P. N. Lacor, M. P. Lambert, C. E. Finch, G. A. Krafft, W. L. Klein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 10417.
- [166] L. Bertram, R. E. Tanzi, *J. Clin. Invest.* **2005**, 115, 1449.
- [167] R. Mayeux, *Annu. Rev. Neurosci.* **2003**, 26, 81.
- [168] E. Rogaeva, *Neuromol. Med.* **2002**, 2, 1.
- [169] J. Hardy, H. Orr, *J. Neurochem.* **2006**, 97, 1690.
- [170] R. E. Tanzi, L. Bertram, *Cell* **2005**, 120, 545.

- [171] P. Pastor, A. M. Goate, *Curr. Psychiatry Rep.* **2004**, 6, 125.
- [172] N. Cherbuin, L. S. Leach, H. Christensen, K. J. Anstey, *Dementia Geriatr. Cognit. Disord.* **2007**, 24, 348.
- [173] A. D. Roses, *Neurobiol. Dis.* **1997**, 4, 170.
- [174] W. J. Strittmatter, A. D. Roses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 4725.
- [175] R. E. Tanzi, R. D. Moir, S. L. Wagner, *Neuron* **2004**, 43, 605.
- [176] W. E. Klunk, J. C. Price, C. A. Mathis, N. D. Tsopelas, B. J. Lopresti, S. K. Ziolko, W. Bi, J. A. Hoge, A. D. Cohen, M. D. Ikonomovic, J. A. Saxton, B. E. Snitz, D. A. Pollen, M. Moonis, C. F. Lippa, J. M. Swearer, K. A. Johnson, D. M. Rentz, A. J. Fischman, H. J. Aizenstein, S. T. DeKosky, *J. Neurosci.* **2007**, 27, 6174.
- [177] S. Gandy, *J. Clin. Invest.* **2005**, 115, 1121.
- [178] D. Games, M. Buttini, D. Kobayashi, D. Schenk, P. Seubert, *J. Alzheimer's Dis.* **2006**, 9, 133.
- [179] G. A. Higgins, H. Jacobsen, *Behav. Pharmacol.* **2003**, 14, 419.
- [180] W. Annaert, B. De Strooper, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2002**, 18, 25.
- [181] D. J. Selkoe, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1994**, 10, 373.
- [182] P. R. Turner, K. O'Connor, W. P. Tate, W. C. Abraham, *Prog. Neurobiol.* **2003**, 70, 1.
- [183] L. Mucke, E. Masliah, W. B. Johnson, M. D. Ruppé, M. Alford, E. M. Rockenstein, S. Forss-Petter, M. Pietropaolo, M. Mallory, C. R. Abraham, *Brain Res.* **1994**, 666, 151.
- [184] X. Cao, T. C. Südhof, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 24601.
- [185] K. Dillen, W. Annaert, *Int. Rev. Cytol.* **2006**, 254, 215.
- [186] S. F. Lichtenthaler, C. Haass, *J. Clin. Invest.* **2004**, 113, 1384.
- [187] E. Kojro, F. Fahrenholz, *Subcell. Biochem.* **2005**, 38, 105.
- [188] R. B. DeMattos, K. R. Bales, D. J. Cummins, J. C. Dodart, S. M. Paul, D. M. Holtzman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 8850.
- [189] G. Bitan, M. D. Kirkitadze, A. Lomakin, S. S. Vollers, G. B. Benedek, D. B. Teplow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 330.
- [190] G. Bitan, S. S. Vollers, D. B. Teplow, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 34882.
- [191] D. M. Walsh, I. Klyubin, J. V. Fadeeva, W. K. Cullen, R. Anwyl, M. S. Wolfe, M. J. Rowan, D. J. Selkoe, *Nature* **2002**, 416, 535.
- [192] D. M. Walsh, D. J. Selkoe, *Neuron* **2004**, 44, 181.
- [193] Y. Le, W. Gong, H. L. Tiffany, A. Tumanov, S. Nedospasov, W. Shen, N. M. Dunlop, J. L. Gao, P. M. Murphy, J. J. Oppenheim, J. M. Wang, *J. Neurosci.* **2001**, 21, RC123.
- [194] E. M. Snyder, Y. Nong, C. G. Almeida, S. Paul, T. Moran, E. Y. Choi, A. C. Nairn, M. W. Salter, P. J. Lombroso, G. K. Gouras, P. Greengard, *Nat. Neurosci.* **2005**, 8, 1051.
- [195] R. G. Nagele, M. R. D'Andrea, W. J. Anderson, H. Y. Wang, *Neuroscience* **2002**, 110, 199.
- [196] D. M. Walsh, I. Klyubin, J. V. Fadeeva, M. J. Rowan, D. J. Selkoe, *Biochem. Soc. Trans.* **2001**, 30, 552.
- [197] G. M. Shankar, S. Li, T. H. Mehta, A. Garcia-Munoz, N. E. Shepardson, I. Smith, F. M. Brett, M. A. Farrell, M. J. Rowan, C. A. Lemere, C. M. Regan, D. M. Walsh, B. L. Sabatini, D. J. Selkoe, *Nat. Med.* **2008**, 14, 837.
- [198] J. Klein, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2007**, 16, 1087.
- [199] D. K. Lahiri, D. Chen, B. Maloney, H. W. Holloway, Q. S. Yu, T. Utsuki, T. Giordano, K. Sambamurti, N. H. Greig, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, 320, 386.
- [200] S. Sinha, J. P. Anderson, R. Barbour, G. S. Basi, R. Caccavello, D. Davis, M. Doan, H. F. Dovey, N. Frigon, J. Hong, K. Jacobson-Croak, N. Jewett, P. Keim, J. Knops, I. Lieberburg, M. Power, H. Tan, G. Tatsuno, J. Tung, D. Schenk, P. Seubert, S. M. Suomensaaari, S. Wang, D. Walker, J. Zhao, L. McConlogue, V. John, *Nature* **1999**, 402, 537.
- [201] R. Vassar, B. D. Bennett, S. Babu-Khan, S. Kahn, E. A. Mendiaz, P. Denis, D. B. Teplow, S. Ross, P. Amarante, R. Loeloff, Y. Luo, S. Fisher, J. Fuller, S. Edenson, J. Lile, M. A. Jarosinski, A. L. Biere, E. Curran, T. Burgess, J. C. Louis, F. Collins, J. Treanor, G. Rogers, M. Citron, *Science* **1999**, 286, 735.
- [202] R. Yan, M. J. Bienkowski, M. E. Shuck, H. Miao, M. C. Tory, A. M. Pauley, J. R. Brashier, N. C. Stratman, W. R. Mathews, A. E. Buhl, D. B. Carter, A. G. Tomasselli, L. A. Parodi, R. L. Heinrikson, M. E. Gurney, *Nature* **1999**, 402, 533.
- [203] X. Lin, G. Koelsch, S. Wu, D. Downs, A. Dashti, J. Tang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 1456.
- [204] I. Hussain, D. Powell, D. R. Howlett, D. G. Tew, T. D. Meek, C. Chapman, I. S. Gloger, K. E. Murphy, C. D. Southan, D. M. Ryan, T. S. Smith, D. L. Simmons, F. S. Walsh, C. Dingwall, G. Christie, *Mol. Cell. Neurosci.* **1999**, 14, 419.
- [205] S. L. Cole, R. Vassar, *Mol. Neurodegener.* **2007**, 2, 22.
- [206] I. Sugimoto, S. Futakawa, R. Oka, K. Ogawa, J. D. Marth, E. Miyoshi, N. Taniguchi, Y. Hashimoto, S. Kitazume, *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 34896.
- [207] Q. Li, T. C. Südhof, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 10542.
- [208] S. F. Lichtenthaler, D. I. Dominguez, G. G. Westmeyer, K. Reiss, C. Haass, P. Saftig, B. De Strooper, B. Seed, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 48713.
- [209] M. Willem, A. N. Garratt, B. Novak, M. Citron, S. Kaufmann, A. Rittger, B. DeStrooper, P. Saftig, C. Birchmeier, C. Haass, *Science* **2006**, 314, 664.
- [210] C. Haass, *EMBO J.* **2004**, 23, 483.
- [211] H. Steiner, C. Haass, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2000**, 1, 217.
- [212] M. S. Wolfe, *Curr. Top. Dev. Biol.* **2003**, 54, 233.
- [213] D. J. Selkoe, M. S. Wolfe, *Cell* **2007**, 131, 215.
- [214] B. Martoglio, T. E. Golde, *Hum. Mol. Genet.* **2003**, 12 Spec No 2, 201R.
- [215] C. Haass, H. Steiner, *Trends Cell Biol.* **2002**, 12, 556.
- [216] M. S. Wolfe, W. Xia, B. L. Ostaszewski, T. S. Diehl, W. T. Kimberly, D. J. Selkoe, *Nature* **1999**, 398, 513.
- [217] S. Shah, S. F. Lee, K. Tabuchi, Y. H. Hao, C. Yu, Q. LaPlant, H. Ball, C. E. Dann, T. Südhof, G. Yu, *Cell* **2005**, 122, 435.
- [218] D. Edbauer, E. Winkler, J. T. Regula, B. Pesold, H. Steiner, C. Haass, *Nat. Cell Biol.* **2003**, 5, 486.
- [219] F. Chen, H. Hasegawa, G. Schmitt-Ulms, T. Kawarai, C. Bohm, T. Katayama, Y. Gu, N. Sanjo, M. Glista, E. Rogueva, Y. Wakutani, R. Pardossi-Piquard, X. Ruan, A. Tandon, F. Checler, P. Marambaud, K. Hansen, D. Westaway, P. St. George-Hyslop, P. Fraser, *Nature* **2006**, 440, 1208.
- [220] L. Feng, H. Yan, Z. Wu, N. Yan, Z. Wang, P. D. Jeffrey, Y. Shi, *Science* **2007**, 318, 1608.
- [221] M. J. Lemieux, S. J. Fischer, M. M. Cherney, K. S. Bateman, M. N. James, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 750.
- [222] A. J. Larner, M. Doran, *J. Neurol.* **2006**, 253, 139.
- [223] M. Citron, D. Westaway, W. Xia, G. Carlson, T. Diehl, G. Levesque, K. Johnson-Wood, M. Lee, P. Seubert, A. Davis, D. Kholodenko, R. Motter, R. Sherrington, B. Perry, H. Yao, R. Strome, I. Lieberburg, J. Rommens, S. Kim, D. Schenk, P. Fraser, P. St George Hyslop, D. J. Selkoe, *Nat. Med.* **1997**, 3, 67.
- [224] E. S. Walker, M. Martinez, A. L. Brunkan, A. Goate, *J. Neurochem.* **2005**, 92, 294.
- [225] J. Shen, R. J. Kelleher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 403.
- [226] A. L. Parks, D. Curtis, *Trends Genet.* **2007**, 23, 140.
- [227] S. Hecimovic, J. Wang, G. Dolios, M. Martinez, R. Wang, A. M. Goate, *Neurobiol. Dis.* **2004**, 17, 205.
- [228] Y. Qi-Takahara, M. Morishima-Kawashima, Y. Tanimura, G. Dolios, N. Hirokoshi, F. Kametani, M. Maeda, T. C. Saido, R. Wang, Y. Ihara, *J. Neurosci.* **2005**, 25, 436.
- [229] G. Zhao, M. Z. Cui, G. Mao, Y. Dong, J. Tan, L. Sun, X. Xu, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 37689.
- [230] S. Weggen, M. Rogers, J. Eriksen, *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, 28, 536.
- [231] M. S. Wolfe, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2039.

- [232] F. Fahrenholz, S. Gilbert, E. Kojro, S. Lammich, R. Postina, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2000**, 920, 215.
- [233] F. Fahrenholz, *Curr. Alzheimer Res.* **2007**, 4, 412.
- [234] J. D. Buxbaum, K. N. Liu, Y. Luo, J. L. Slack, K. L. Stocking, J. J. Peschon, R. S. Johnson, B. J. Castner, D. P. Cerretti, R. A. Black, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 27765.
- [235] S. A. Small, S. Gandy, *Neuron* **2006**, 52, 15.
- [236] A. Fisher, *Curr. Alzheimer Res.* **2007**, 4, 577.
- [237] H. Q. Yang, J. Pan, M. W. Ba, Z. K. Sun, G. Z. Ma, G. Q. Lu, Q. Xiao, S. D. Chen, *Eur. J. Neurosci.* **2007**, 26, 381.
- [238] R. J. Bateman, S. D. Saido, J. C. Morris, R. Swarm, K. E. Yarasheski, D. M. Holtzman, *Nat. Med.* **2006**, 12, 856.
- [239] J. R. Cirrito, P. C. May, M. A. O'Dell, J. W. Taylor, M. Parsadanian, J. W. Cramer, J. E. Audia, J. S. Nissen, K. R. Bales, S. M. Paul, R. B. DeMattos, D. M. Holtzman, *J. Neurosci.* **2003**, 23, 8844.
- [240] N. Iwata, S. Tsubuki, Y. Takaki, K. Shirotani, B. Lu, N. P. Gerard, C. Gerard, E. Hama, H. J. Lee, T. C. Saido, *Science* **2001**, 292, 1550.
- [241] M. A. Leissring, W. Farris, A. Y. Chang, D. M. Walsh, X. Wu, X. Sun, M. P. Frosch, D. J. Selkoe, *Neuron* **2003**, 40, 1087.
- [242] K. Shirotani, S. Tsubuki, N. Iwata, Y. Takaki, W. Harigaya, K. Maruyama, S. Kiryu-Seo, H. Kiyama, H. Iwata, T. Tomita, T. Iwatsubo, T. C. Saido, B. V. Zlokovic, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 21895.
- [243] B. V. Zlokovic, *J. Neurochem.* **2004**, 89, 807.
- [244] Y. J. Wang, H. D. Zhou, X. F. Zhou, *Drug Discovery Today* **2006**, 11, 931.
- [245] R. Deane, B. V. Zlokovic, *Curr. Alzheimer Res.* **2007**, 4, 191.
- [246] J. R. Cirrito, R. Deane, A. M. Fagan, M. L. Spinner, M. Parsadanian, M. B. Finn, H. Jiang, J. L. Prior, A. Sagare, K. R. Bales, S. M. Paul, B. V. Zlokovic, D. Pivnicka-Worms, D. M. Holtzman, *J. Clin. Invest.* **2005**, 115, 3285.
- [247] J. R. Martin, W. E. Haefely, *Drug Invest.* **1993**, 5, 4.
- [248] D. Seow, S. Gauthier, *Can. J. Psychiatry* **2007**, 52, 620.
- [249] F. Schmitt, M. Ryan, G. Cooper, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2007**, 3, 135.
- [250] D. Schenk, R. Barbour, W. Dunn, G. Gordon, H. Grajeda, T. Guido, K. Hu, J. Huang, K. Johnson-Wood, K. Khan, D. Kholodenko, M. Lee, Z. Liao, I. Lieberburg, R. Motter, L. Mutter, F. Soriano, G. Shopp, N. Vasquez, C. Vandeventer, S. Walker, M. Wogulis, T. Yednock, D. Games, P. Seubert, *Nature* **1999**, 400, 173.
- [251] C. A. Hawkes, J. McLaurin, *Expert Rev. Neurother.* **2007**, 7, 1535.
- [252] D. Schenk, M. Hagen, P. Seubert, *Curr. Opin. Immunol.* **2004**, 16, 599.
- [253] C. Janus, J. Pearson, J. McLaurin, P. M. Mathews, Y. Jiang, S. D. Schmidt, M. A. Chishti, P. Horne, D. Heslin, J. French, H. T. Mount, R. A. Nixon, M. Mercken, C. Bergeron, P. E. Fraser, P. St George-Hyslop, D. Westaway, *Nature* **2000**, 408, 979.
- [254] D. Morgan, D. M. Diamond, P. E. Gottschall, K. E. Ugen, C. Dickey, J. Hardy, K. Duff, P. Jantzen, G. DiCarlo, D. Wilcock, K. Connor, J. Hatcher, C. Hope, M. Gordon, G. W. Arendash, *Nature* **2000**, 408, 982.
- [255] F. Bard, C. Cannon, R. Barbour, R. L. Burke, D. Games, H. Grajeda, T. Guido, K. Hu, J. Huang, K. Johnson-Wood, K. Khan, D. Kholodenko, M. Lee, I. Lieberburg, R. Motter, M. Nguyen, F. Soriano, N. Vasquez, K. Weiss, B. Welch, P. Seubert, D. Schenk, T. Yednock, *Nat. Med.* **2000**, 6, 916.
- [256] R. E. Hartman, Y. Izumi, K. R. Bales, S. M. Paul, D. F. Wozniak, D. M. Holtzman, *J. Neurosci.* **2005**, 25, 6213.
- [257] J. C. Dodart, K. R. Bales, K. S. Gannon, S. J. Greene, R. B. DeMattos, C. Mathis, C. A. DeLong, S. Wu, X. Wu, D. M. Holtzman, S. M. Paul, *Nat. Neurosci.* **2002**, 5, 452.
- [258] R. B. DeMattos, K. R. Bales, D. J. Cummins, S. M. Paul, D. M. Holtzman, *Science* **2002**, 295, 2264.
- [259] C. Hock, U. Konietzko, J. R. Streffer, J. Tracy, A. Signorell, B. Müller-Tillmanns, U. Lemke, K. Henke, E. Moritz, E. Garcia, M. A. Wollmer, D. Umbricht, D. J. de Quervain, M. Hofmann, A. Maddalena, A. Papassotiropoulos, R. M. Nitsch, *Neuron* **2003**, 38, 547.
- [260] D. Boche, J. A. Nicoll, R. O. Weller, *Clin. Neuropharmacol.* **2006**, 29, 22.
- [261] H. G. Lee, X. Zhu, R. J. Castellani, A. Nunomura, G. Perry, M. A. Smith, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, 321, 823.
- [262] I. Churcher, D. Beher, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, 11, 3363.
- [263] D. Beher, S. L. Graham, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2005**, 14, 1385.
- [264] H. F. Dovey, V. John, J. P. Anderson, L. Z. Chen, P. de Saint Andrieu, L. Y. Fang, S. B. Freedman, B. Folmer, E. Goldbach, E. J. Holsztynska, K. L. Hu, K. L. Johnson-Wood, S. L. Kennedy, D. Kholodenko, J. E. Knops, L. H. Latimer, M. Lee, Z. Liao, I. M. Lieberburg, R. N. Motter, L. C. Mutter, J. Nietz, K. P. Quinn, K. L. Sacchi, P. A. Seubert, G. M. Shopp, E. D. Thorsett, J. S. Tung, J. Wu, S. Yang, C. T. Yin, D. B. Schenk, P. C. May, L. D. Altstiel, M. H. Bender, L. N. Boggs, T. C. Britton, J. C. Clemens, D. L. Czilli, D. K. Dieckman-McGinty, J. J. Droste, K. S. Fuson, B. D. Gitter, P. A. Hyslop, E. M. Johnstone, W. Y. Li, S. P. Little, T. E. Mabry, F. D. Miller, J. E. Audia, *J. Neurochem.* **2001**, 76, 173.
- [265] T. A. Lanz, C. S. Himes, G. Pallante, L. Adams, S. Yamazaki, B. Amore, K. M. Merchant, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, 305, 864.
- [266] J. D. Best, M. T. Jay, F. Otu, J. Ma, A. Nadin, S. Ellis, H. D. Lewis, C. Pattison, M. Reilly, T. Harrison, M. S. Shearman, T. L. Williamson, J. R. Atack, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, 313, 902.
- [267] T. A. Lanz, M. J. Karmilowicz, K. M. Wood, N. Pozdnyakov, P. Du, M. A. Piotrowski, T. M. Brown, C. E. Nolan, K. E. Richter, J. E. Finley, Q. Fei, C. F. Ebbinghaus, Y. L. Chen, D. K. Spracklin, B. Tate, K. F. Geoghegan, L. F. Lau, D. D. Auferin, J. B. Schachter, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, 319, 924.
- [268] E. Siemers, M. Skinner, R. A. Dean, C. Gonzales, J. Satterwhite, M. Farlow, D. Ness, P. C. May, *Clin. Neuropharmacol.* **2005**, 28, 126.
- [269] E. R. Siemers, J. F. Quinn, J. Kaye, M. R. Farlow, A. Porsteinsson, P. Tariot, P. Zoulnouni, J. E. Galvin, D. M. Holtzman, D. S. Knopman, J. Satterwhite, C. Gonzales, R. A. Dean, P. C. May, *Neurology* **2006**, 66, 602.
- [270] E. R. Siemers, R. A. Dean, S. Friedrich, L. Ferguson-Sells, C. Gonzales, M. R. Farlow, P. C. May, *Clin. Neuropharmacol.* **2007**, 30, 317.
- [271] D. M. Barten, V. L. Guss, J. A. Corsa, A. Loo, S. B. Hansel, M. Zheng, B. Munoz, K. Srinivasan, B. Wang, B. J. Robertson, C. T. Polson, J. Wang, S. B. Roberts, J. P. Hendrick, J. J. Anderson, J. K. Loy, R. Denton, T. A. Verdoorn, D. W. Smith, K. M. Felstein, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, 312, 635.
- [272] G. T. Wong, D. Manfra, F. M. Poulet, Q. Zhang, H. Josien, T. Bara, L. Engstrom, M. Pinzon-Ortiz, J. S. Fine, H. J. Lee, L. Zhang, G. A. Higgins, E. M. Parker, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 12876.
- [273] K. Tanigaki, H. Han, N. Yamamoto, K. Tashiro, M. Ikegawa, K. Kuroda, A. Suzuki, T. Nakano, T. Honjo, *Nat. Immunol.* **2002**, 3, 443.
- [274] F. Radtke, A. Wilson, S. J. Mancini, H. R. MacDonald, *Nat. Immunol.* **2004**, 5, 247.
- [275] G. H. Searfoss, W. H. Jordan, D. O. Calligaro, E. J. Galbreath, L. M. Schirtzinger, B. R. Berridge, H. Gao, M. A. Higgins, P. C. May, T. P. Ryan, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 46107.
- [276] J. Milano, J. McKay, C. Dagenais, L. Foster-Brown, F. Pognan, R. Gadjent, R. T. Jacobs, A. Zacco, B. Greenberg, P. J. Ciaccio, *Toxicol. Sci.* **2004**, 82, 341.

- [277] J. D. Best, M. T. Jay, F. Otu, I. Churcher, M. Reilly, P. Morentin-Gutierrez, C. Pattison, T. Harrison, M. S. Shearman, J. R. Attack, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, 317, 786.
- [278] J. D. Best, M. T. Jay, F. Otu, I. Churcher, M. Reilly, P. Morentin-Gutierrez, C. Pattison, T. Harrison, M. S. Shearman, J. R. Attack, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, 317, 786.
- [279] I. Churcher, D. Beher, J. D. Best, J. L. Castro, E. E. Clarke, A. Gentry, T. Harrison, L. Hitzel, E. Kay, S. Kerrad, H. D. Lewis, P. Morentin-Gutierrez, R. Mortishire-Smith, P. J. Oakley, M. Reilly, D. E. Shaw, M. S. Shearman, M. R. Teall, S. Williams, J. D. Wrigley, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 280.
- [280] D. Beher, E. E. Clarke, J. D. Wrigley, A. C. Martin, A. Nadin, I. Churcher, M. S. Shearman, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 43419.
- [281] J. L. Eriksen, S. A. Sagi, T. E. Smith, S. Weggen, P. Das, D. C. McLendon, V. V. Ozols, K. W. Jessing, K. H. Zavitz, E. H. Koo, T. E. Golde, *J. Clin. Invest.* **2003**, 112, 440.
- [282] P. C. Fraering, W. Ye, J. M. Strub, G. Dolios, M. J. LaVoie, B. L. Ostaszewski, A. van Dorsselaer, R. Wang, D. J. Selkoe, M. S. Wolfe, *Biochemistry* **2004**, 43, 9774.
- [283] A. Lleó, O. Berezovska, L. Herl, S. Raju, A. Deng, B. J. Bacskaï, M. P. Frosch, M. Irizarry, B. T. Hyman, *Nat. Med.* **2004**, 10, 1065.
- [284] D. Pissarnitski, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2007**, 10, 392.
- [285] I. D. Hills, J. P. Vacca, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2007**, 10, 383.
- [286] T. B. Durham, T. A. Shepherd, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2006**, 9, 776.
- [287] L. A. Thompson, J. J. Bronson, F. C. Zusi, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, 11, 3383.
- [288] T. Saito, N. Iwata, S. Tsubuki, Y. Takaki, J. Takano, S. M. Huang, T. Suemoto, M. Higuchi, T. C. Saido, *Nat. Med.* **2005**, 11, 434.
- [289] E. S. Song, L. B. Hersh, *J. Mol. Neurosci.* **2005**, 25, 201.
- [290] E. S. Song, M. A. Juliano, L. Juliano, L. B. Hersh, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 49789.
- [291] M. Townsend, J. P. Cleary, T. Mehta, J. Hofmeister, S. Lesne, E. O'Hare, D. M. Walsh, D. J. Selkoe, *Ann. Neurol.* **2006**, 60, 668.
- [292] C. W. Ritchie, A. I. Bush, A. Mackinnon, S. Macfarlane, M. Mastwyk, L. MacGregor, L. Kiers, R. Cherny, Q. X. Li, A. Tammer, D. Carrington, C. Mavros, I. Volitakis, M. Xilinas, D. Ames, S. Davis, K. Beyreuther, R. E. Tanzi, C. L. Masters, *Arch. Neurol.* **2003**, 60, 1685.
- [293] R. A. Cherny, C. S. Atwood, M. E. Xilinas, D. N. Gray, W. D. Jones, C. A. McLean, K. J. Barnham, I. Volitakis, F. W. Fraser, Y. Kim, X. Huang, L. E. Goldstein, R. D. Moir, J. T. Lim, K. Beyreuther, H. Zheng, R. E. Tanzi, C. L. Masters, A. I. Bush, *Neuron* **2001**, 30, 665.
- [294] K. A. Price, P. J. Crouch, A. R. White, *Recent Pat. CNS Drug Discovery* **2007**, 2, 180.
- [295] M. E. Risner, A. M. Saunders, J. F. Altman, G. C. Ormandy, S. Craft, I. M. Foley, M. E. Zvartau-Hind, D. A. Hosford, A. D. Roses, *Pharmacogenomics J.* **2006**, 6, 246.
- [296] J. C. Strum, R. Shehee, D. Virley, J. Richardson, M. Mattie, P. Selley, S. Ghosh, C. Nock, A. Saunders, A. Roses, *J. Alzheimer's Dis.* **2007**, 11, 45.
- [297] I. E. Camacho, L. Serneels, K. Spittaels, P. Merchiers, D. Dominguez, B. De Strooper, *J. Neurosci.* **2004**, 24, 10908.
- [298] G. Landreth, *Exp. Neurol.* **2006**, 199, 245.
- [299] C. Grommes, G. E. Landreth, M. Sastre, M. Beck, D. L. Feinstein, A. H. Jacobs, U. Schlegel, M. T. Heneka, *Mol. Pharmacol.* **2006**, 70, 1524.
- [300] R. S. Doody, S. I. Gavrilo, M. Sano, R. G. Thomas, P. S. Aisen, S. O. Bachurin, L. Seely, D. Hung, *Lancet* **2008**, 372, 207.
- [301] P. L. McGeer, E. G. McGeer, *Neurobiol. Aging* **2007**, 28, 639.
- [302] B. Wolozin, *Curr. Opin. Lipidol.* **2004**, 15, 667.
- [303] B. Wolozin, *Neuron* **2004**, 41, 7.
- [304] C. Reitz, T. den Heijer, C. van Duijn, A. Hofman, M. M. Breteler, *Neurology* **2007**, 69, 998.
- [305] A. Ruitenberg, J. C. van Swieten, J. C. Witteman, K. M. Mehta, C. M. van Duijn, A. Hofman, M. M. Breteler, *Lancet* **2002**, 359, 281.
- [306] Q. Liu, F. Xie, R. Rolston, P. I. Moreira, A. Nunomura, X. Zhu, M. A. Smith, G. Perry, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2007**, 7, 171.
- [307] F. Yang, G. P. Lim, A. N. Begum, O. J. Ubeda, M. R. Simmons, S. S. Ambegaokar, P. P. Chen, R. Kaye, C. G. Glabe, S. A. Frautschy, G. M. Cole, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 5892.
- [308] K. Rezai-Zadeh, D. Shytle, N. Sun, T. Mori, H. Hou, D. Jean-Liton, J. Ehrhart, K. Townsend, J. Zeng, D. Morgan, J. Hardy, T. Town, J. Tan, *J. Neurosci.* **2005**, 25, 8807.
- [309] O. Lazarov, J. Robinson, Y. P. Tang, I. S. Hairston, Z. Korade-Mirnic, V. M. Lee, L. B. Hersh, R. M. Sapolsky, K. Mirnic, S. S. Sisodia, *Cell* **2005**, 120, 701.
- [310] K. E. Nichol, A. I. Parachikova, C. W. Cotman, *Behav. Brain Res.* **2007**, 184, 124.
- [311] S. Vaynman, Z. Ying, F. Gomez-Pinilla, *Neuroscience* **2003**, 122, 647.
- [312] M. Ploughman, S. Granter-Button, G. Chernenko, Z. Attwood, B. A. Tucker, K. M. Mearow, D. Corbett, *Brain Res.* **2007**, 1150, 207.
- [313] A. Fischer, F. Sananbenesi, X. Wang, M. Dobbin, L. H. Tsai, *Nature* **2007**, 447, 178.
- [314] E. Carro, J. L. Trejo, A. Gerber, H. Loetscher, J. Torrado, F. Metzger, I. Torres-Aleman, *Neurobiol. Aging* **2006**, 27, 1250.
- [315] E. Carro, J. L. Trejo, C. Spuch, D. Bohl, J. M. Heard, I. Torres-Aleman, *Neurobiol. Aging* **2006**, 27, 1618.
- [316] J. C. Yin, T. Tully, *Curr. Opin. Neurobiol.* **1996**, 6, 264.