

JOINT GERMAN-ISRAELI RESEARCH PROJECTS

FINAL SCIENTIFIC REPORT

German Sponsoring Agency

BMBF

01 GA 9805/3

Title of Project

DISMED Verbund : Molekulare Mechanismen der Interaktion von AD-Genen

Principal German Investigator

Prof. K. Beyreuther

University of Heidelberg/ZMBH

Principal Israeli Partner Investigator Prof. Daniel Michaelson

Department of Neurobiochemistry, The George S. Wise Faculty of Life Sciences

Tel Aviv University,

Deutschsprachige Einleitung zum wissenschaftlichen Schlussbericht.

Vertraulichkeit:

Unsere Forschungen bewegen sich in einem hoch kompetitiven Feld das ein nicht unerhebliches kommerzielles Potential besitzt. Wir betrachten daher sämtliche unserer Ergebnisse, soweit sie nicht bereits als publiziert hier aufgeführt sind, als vertraulich.

Schlussbericht

- Aufgabenstellung:

Die wesentlichen mit der Alzheimer Krankheit (AD) in Zusammenhang gebrachten Gene sind das Alzheimer Vorläufer Protein (APP), die Presenilin (PS, PS1 und PS2) und das ApoE Gen. Aufgabenstellung dieses Forschungsvorhabens war es die molekulare Grundlage für die postulierte Interaktion dieser Gene/Proteine zu identifizieren.

Als grundlegendes molekulare Ereignis der AD wird heute von den meisten Forschern die übermäßige Freisetzung von A β , bzw. A β 42, aus dem Amyloid Vorläuferprotein (APP) angesehen. Daher ist ein wesentlicher Bezugspunkt bei der Erforschung der molekularen Mechanismen der Interaktion von AD – Genen die Analyse der Auswirkung dieser Interaktionen auf die Freisetzung von A β . Eine Verringerung dieser Freisetzung wird als grundsätzlich wünschenswert betrachtet, da dieses einen potentiellen therapeutischen Nutzen besitzt.

- Voraussetzungen unter denen dieses Projekt durchgeführt wurde:

Dieses Projekt war eine Zusammenarbeit des deutschen Partners (Konrad Beyreuther, Heidelberg) und der beiden israelischen Partner Daniel Michaelson und Reuven Stein (beide Tel Aviv). Der deutsche Partner hat sich dabei auf APP, die beiden israelischen Partner auf ApoE bzw. Presenilin fokussiert. Die entsprechenden technischen Voraussetzungen waren bei den beteiligten Labors im wesentlichen von Anfang an gegeben. Anfänglich fehlende Materialien/Ergebnisse wurden wie geplant im Laufe des Forschungsvorhabens entwickelt.

- Eingehende Darstellung der Ergebnisse:

Wissenschaftliche Darstellung siehe Anhang. Die Ergebnisse der Arbeitsgruppe Beyreuther sind in den Abschnitten B5 zu finden.

Nutzen/Verwertbarkeit der Ergebnisse: Unsere Ergebnisse belegen eine deutliche Interaktion von APP, Presenilin I, Presenilin II und Cholesterin. Dieser Zusammenhang ist bedeutend für das Verständnis der AD und hat offensichtliche Bedeutung für die Entwicklung therapeutischer Strategien. Cholesterin ist nicht nur ein essentielles Stoffwechselprodukt, sondern auch ein natürlicher Nahrungsbestandteil. Weiterhin existiert eine große Auswahl an Medikamenten welche den menschlichen Cholesterinmetabolismus beeinflussen. Es ist also prinzipiell denkbar, dass eine Lipid basierte Therapie der AD sinnvoll ist. Epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass dieses auch beim Menschen praktikabel ist. Sowohl unsere Arbeitsgruppe, als auch eine große Zahl anderer Laboratorien haben unsere Ergebnisse zum Anlass genommen diese Interaktion weiter zu untersuchen und entsprechende Therapiemodelle zu entwickeln.

i. LIST OF FIGURES

Figure 1 - Analyses of PS2 overexpression in transfected CHO and 293T cells

Figure 2 - PS2 overexpression diminishes the expression of co-expressed reporter genes

Figure 3 - Overexpression of P52 does not induce apoptosis

Figure 4 - Dose response of the effects of PS2wt, PS2mut, PS1wt, and HMGR on the co-expressed luciferase reporter gene

Figure 5 - OS2 overexpression reduces GFP protein but not GFP mRNA

Figure 6 - PS2 overexpression reduces the amount of GFP mRNA associated with the polysomal fraction

Figure 7 - PS2 overexpression reduces endogenous protein synthesis

Figure 8 - Independence of β - and γ -secretase cleavage inhibition by reduced cholesterol levels

Figure 9 - U18666A increases intracellular and secretory $A\beta$ -levels in SP-C99 transfected SH-SY5Y cells

Figure 10 - U18666A decreases β -secretase activity in cortical neurons expressing APP695

Figure 11 - Dimerization of APP

Figure 12 - APP dimerization and $A\beta$ generation

Figure 13 - Oligomerization of N-terminally extended forms of APP

ii. LIST OF ABBREVIATIONS

| | | |
|-----------|---|--|
| A β | - | Amyloid beta |
| AD | - | Alzheimer's disease |
| ApoE | - | Apolipoprotein E |
| APP | - | Amyloid precursor protein |
| CTF | - | C-terminal fragment of amyloid precursor protein |
| FAD | - | Familial Alzheimer's disease |
| LDL | - | Low density lipoprotein |
| LPS | - | Lypopolysaccaride |
| PS | - | Presenilin |

1. ABSTRACT

This project centered on the study of the role of cross talk interactions between genetic risk factors of Alzheimer's disease (AD) and on examination of the extent to which such metabolic interactions may provide a unifying scheme by which patients with different genetic alterations present similar AD pathology. Accordingly, we employed cellular and animal transgenic models of the amyloid precursor protein (APP) and of the presenilins (PS) and apolipoprotein E (apoE) and focused on the pathophysiological consequence of their genotypes. The first stage of the study revealed that the pathological effects of the allele ApoE4, which is the AD risk factors, are due to increased susceptibility to neuronal injury and to impaired repair. Furthermore, we discovered that the detrimental effects of apoE were associated with a decrease in the non-amyloidogenic processing of APP. Parallel studies revealed that cholesterol stimulates the amyloidogenic processing of APP and the production of amyloid beta (A β). These findings suggest that the pathological effects of apoE4 and A β may be related to metabolic interactions between these AD genetic risk factors and that cholesterol and brain lipids play an important role in these interactions. These basic findings have important clinical ramifications which we are planning to jointly pursue in the future.