



HAL
open science

Rôle de la neuroinflammation et du récepteur microglial TREM2 dans la progression de deux modèles de tauopathie

Audrey Vautheny

► To cite this version:

Audrey Vautheny. Rôle de la neuroinflammation et du récepteur microglial TREM2 dans la progression de deux modèles de tauopathie. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Saclay (COMUE), 2019. Français. NNT : 2019SACLS170 . tel-03276300

HAL Id: tel-03276300

<https://theses.hal.science/tel-03276300>

Submitted on 2 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Rôle de la neuroinflammation et du récepteur microglial TREM2 dans la progression de deux modèles de tauopathie

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université Paris Sud
Dans le Laboratoire des Maladies Neurodégénératives
UMR9199 CNRS/CEA/Université Paris-Saclay

École doctorale n°568 Signalisations et réseaux intégratifs en biologie
(Biosigne)
Spécialité de doctorat: Neurosciences

Thèse présentée et soutenue à Fontenay-aux-Roses, le 1er Juillet 2019, par

Audrey Vautheny

Composition du Jury :

Sylvie Granon Professeur, Institut des neurosciences de Saclay (UMR 9197)	Présidente
Guillaume Dorothée CR1, Centre de recherche Saint-Antoine (UMRS 938)	Rapporteur
Morvane Colin MCU, Centre de recherche Jean Pierre Aubert (UMRS 1172)	Rapporteur
Laurent Pradier Directeur de groupe, Laboratoires Sanofi	Examineur
Florian Sennlaub DR2, Institut de la Vision (UMRS 968)	Examineur
Alexis-Pierre Bemelmans Ingénieur chercheur E5 – CEA, MIRCen (UMR 9199)	Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres de mon jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et plus particulièrement mes rapporteurs Guillaume Dorothée et Morvane Colin.

Je remercie aussi Emmanuel Brouillet et Philippe Hantraye pour m'avoir accueilli dans le laboratoire.

Je tiens ensuite à te remercier Alexis pour m'avoir permis de réaliser mon stage de M2 puis ma thèse dans un environnement aussi propice à l'épanouissement scientifique qu'est MIRCen. Merci de m'avoir fait confiance ces 4 ans et de m'avoir laissé autant de liberté. Merci aussi de m'avoir permis de présenter mes travaux à divers congrès et summerschool.

Un grand merci à toute l'équipe vectoro pour votre accueil et pour ces bons moments passés ensemble. Merci Karine pour tes conseils scientifiques avisés aussi bien concernant le comportement que sur Tau, Marie-Claude pour toute ton aide et le temps que tu m'as consacré à me rassurer sur les manips de BM !! Gwen, merci infiniment pour m'avoir formée à à peu près tout au labo, de toute l'aide que tu m'as apportée, et que tu continueras à m'apporter en continuant les manips du projet. Merci Noëlle pour ta joie de vivre, et Charlène pour ton humour. Merci Marie de m'avoir transmis tes nombreuses connaissances scientifiques sur Tau. Merci à Séverine pour ton positivisme à toute épreuve !!!

Merci à toi Anne-So (et bien sûr à ton fidèle destrier, l'Axioscan) pour tes supers scan qui m'ont permis de faire à peu près toutes mes quantifs !! Je sais que je ne vous ai pas ménagés pendant ces années de thèse ! Merci aux coups de mains et conseils que j'ai pu recevoir, Popo, Fanny et Caro pour l'histo, Martine, Sueva et Mylène pour les injections, Julien pour le soin à mes petites souris et le comportement.

Un énorme merci aux copines, et à vos encouragements durant mes (nombreuses ??) baisses de moral. Je ne suis pas du genre très expansive mais sachez que j'ai énormément apprécié votre soutien à toute épreuve. Merci au rayon de soleil, Marianne pour ne pas la citer, dont la présence a été vitale dans le bureau, face aux 3 déprimés que tu devais supporter (ainsi que notre positivisme légendaire... !). Merci bien sûr au gang des vélos, Laurene et Camille, qui ont égayé nos trajets sportifs et m'ont avisé de leurs nombreux avis modes/vinted (et désolée Laurene si on exagère parfois avec nos 200 messages à l'heure :p). Merci Lucie pour ton humour si particulier (!!), et merci

de nous avoir fait passer de si belles vacances à la Réunion !! Merci à notre hongroise Anastasie de nous faire autant rire, parfois à ton insu, mais toujours de manière bienveillante (L). Merci à Clémence pour son humour (sa folie ??) et sa gentillesse. Merci à ma voisine de pays Kelly pour sa bonne humeur et pour ses diverses livraisons de spécialités juraciennes, maintenant il va falloir s'organiser des week-ends rando (l'été) et ski (l'hiver !). Du fond du cœur, merci à toutes, et j'espère que notre amitié durera encore de nombreuses années.

Merci aussi aux anciens thésards pour les moments passés ensemble, Juliette, Marie, Noémie, Charlotte, Brice, Yaël, Jérémy, Séverine, Clémence, et Kelly.

Un grand merci à Melissa, pour tous les bons moments passés ainsi que les nombreux conseils sur la recherche d'emploi et comment épater en entretien !! Et maintenant, j'y suis !! ☺. Merci à Clémence (la petite !) pour m'avoir permis de découvrir le Qlimax !!

Merci aussi aux poussins ! Un grand merci à Charlotte pour les nombreuses manip que tu as réalisé après mon départ, et ce malgré ta thèse à mener en parallèle. Merci P.A. pour les nombreuses corrections de CV et lettres de motivation, c'est un peu grâce à toi si je suis chez Roche maintenant !! Merci à Océane pour ton dynamisme entraînant. Merci à Fanny pour son humour que j'apprécie beaucoup !! Enfin merci à Francesco et Pauline, j'aurais grâce à vous un peu progresser en anglais ☺.

Un grand merci à toutes les personnes de MIRCen que je n'aurais pas cité ici. Comme je l'ai souvent dit, on se rend d'autant plus compte de la chance qu'on a de réaliser notre thèse à MIRCen quand on part ailleurs. Merci à tous pour cette ambiance unique qui a contribué à passer ses années de thèse dans la bonne humeur !

Je remercie bien sûr ma famille, de sang et de cœur (la famille Epin pour ne pas les nommer ☺), qui m'a soutenue pendant toutes ces années.

Et le meilleur pour la fin... sans suspens Romain. Je ne te remercierais jamais assez pour tout le soutien que tu m'as apporté durant ces longues années d'études. Je sais que je ne suis pas toujours facile à vivre, d'autant moins pendant cette période de hauts et de bas, et tu as su être si patient malgré l'agacement que je peux parfois susciter... D'ailleurs, ce n'est pas pour rien que tu as aussi eu le droit à ton petit cadeau de thèse, car cette thèse, c'est quelque part un peu ton œuvre à toi aussi ☺. Et ne t'inquiète pas, j'ai en tête que je te dois encore beaucoup de restos :p.

Sommaire

Abréviations.....	1
Liste des figures et tableaux	3
Introduction.....	6
1. La maladie d'Alzheimer (MA) : la tauopathie la plus fréquente.....	6
a. Caractérisation de la MA	6
b. Introduction à la neuroinflammation dans la MA	9
2. La protéine Tau en condition physiologique et pathologique.....	9
a. La protéine Tau en condition physiologique	9
b. La protéine Tau en situation pathologique.....	13
c. Classification des différents types de tauopathie.....	16
d. Les modèles animaux de tauopathie	17
3. La neuroinflammation dans la MA : les acteurs et leurs mécanismes	24
a. Les principaux acteurs cellulaires de la neuroinflammation	24
b. La neuroinflammation microgliale est-elle bénéfique ou délétère ?	30
c. La neuroinflammation est-elle une cause ou une conséquence de la MA ?	35
4. Les rôles du récepteur microglial TREM2 dans les maladies neurodégénératives	37
a. TREM2 : son implication dans les maladies neurodégénératives.....	37
b. TREM2 : généralités.....	38
c. Les fonctions de TREM2.....	42
d. TREM2 : un facteur de risque pour la MA	45
5. Objectifs et stratégie.....	52
Matériel et méthodes.....	53
1. Production des rAAVs	53
2. Modèles murins de tauopathie	53
a. Modèle rAAV d'injection intra-hippocampique.....	54

b.	Modèle THY-Tau22	55
3.	Etudes comportementales.....	56
a.	Cage d'activité (Phenotyper®)	56
b.	Test du labyrinthe en croix surélevé.....	56
c.	Test du labyrinthe en V avec reconnaissance d'objet	57
d.	Test de la piscine de Morris	57
4.	Histologie	58
a.	Préparation des échantillons	58
b.	Immunohistochimie (IHC).....	58
c.	Immunofluorescence (IF).....	59
d.	Coloration de Gallyas.....	60
5.	Quantification et analyse des marquages immunohistologiques	60
6.	Analyse transcriptomique.....	62
a.	Extraction d'ARN.....	62
b.	Synthèse d'ADNc.....	62
c.	Real time quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR)	62
7.	Analyses statistiques.....	63
	Résultats	65
1.	Rôle de TREM2 sur la progression d'un modèle de tauopathie induit par transfert de gène chez la souris.....	65
a.	Validation du modèle de tauopathie sur la Souris	65
b.	La déficience constitutive en TREM2 induit une diminution du statut inflammatoire à un mois mais pas à trois mois post-injection.....	67
c.	La déficience constitutive en TREM2 n'affecte pas la progression de la tauopathie	71
d.	La déficience constitutive en TREM2 n'accroît pas la perte neuronale dans la couche CA1 de l'hippocampe	75
2.	Rôle de TREM2 dans la progression de la tauopathie dans un modèle transgénique de tauopathie : la lignée THY-Tau22.....	78

a. Exploration de la réponse inflammatoire en fonction de la déficience ou non en TREM2 dans le modèle THY-Tau22, et en fonction de l'âge considéré	78
b. La déficience en TREM2 augmente la pathologie Tau à 12 mois mais pas à 3 mois ni à 6 mois ⁸⁷	
c. La déficience constitutive en TREM2 n'accroît pas la perte cellulaire dans la couche CA1 de l'hippocampe, quel que soit l'âge considéré	91
d. La déficience en TREM2 n'a pas de conséquences fonctionnelles sur le comportement des souris THY-Tau22 à 10 mois.....	93
Discussion	99
1. Effet de la déficience en TREM2 dans les deux modèles utilisés	99
a. Effet de la déficience en TREM2 dans le modèle par transfert de gène	99
b. Effet de la déficience en TREM2 dans le modèle transgénique de tauopathie THY-Tau22	104
2. Perspectives	109
a. Quels sont les mécanismes mis en jeu ?.....	109
b. Impact de TREM2 sur la propagation de Tau.....	113
Conclusion.....	117
Bibliographie.....	118
Annexe	145
Revue : Targeting Neuroinflammation to Treat Alzheimer's Disease	145

Abréviations

rAAV	Virus adéno-associé recombinant
Aβ	peptide β Amyloïde
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
ANOVA	Analyse de la variance
APP	Protéine Précurseur de l'Amyloïde
BHE	Barrière Hémato Encéphalique
CBA	Promoteur Chicken- β -actin
Cdk2 et 5	Cyclin-Dependant Kinase 2 et 5
CSE	Cellules souches embryonnaires
Cx3Cr1	C-X3-C motif chemokine receptor 1
DAM	Disease Associated Microglia
DAP-12	DNAX-activating protein of 12kDa
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DCB	Dégénérescence Cortico Basale
DFTP-17	Démence Fronto-Temporale avec syndrome Parkinsonien liée au chromosome 17
DNF	Dégénérescence Neurofibrillaire
GFP	Green Fluorescent Protein
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
GSK3-β	Glycogène Synthase Kinase 3 β
GWAS	Genome Wide Association Studies
IPSC	Induced Pluripotent Stem Cells
ITR	Séquences Inverted Terminal Repeat
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
LPS	LipoPolySaccharide
MA	Maladie d'Alzheimer
MAP	Microtubule-Associated Proteins
MAPT	Microtubule-Associated Protein Tau
MBD	Microtubule Binding Domain
MMSE	Mini Mental State Examination
NeuN	Neuronal Nuclei
NH	Nazu Hakola
NMDA	Acide N-méthyl-D-Aspartique
PBS	Phosphate Buffer Saline
PHF	Paired Helical Filaments
PFA	Paraformaldéhyde
PKA	Protéine kinase A
PLOSL	Ostéodysplasie Polykystique Lipomembraneuse avec Leucoencéphalopathie Sclérosante
PSP	Paralysie Supranucléaire Progressive

SEP	Sclérose En Plaque
SLA	Sclérose Latérale Amyotrophique
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
TEP	Tomographie par Emission de Positons
Tmem119	Transmembrane protein 119 precursor
TNFα	Tumor Necrosis Factor α
TREM2	Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2
VG	Vector Genome
WT	Wild Type ou Souris sauvages

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Lésions caractéristiques de la MA.....	6
Figure 2 : Progression de la DNF.....	8
Figure 3 : La protéine Tau humaine : aperçu de l'organisation génomique du gène MAPT et de l'expression de ses isoformes.	11
Figure 4 : Localisation des sites de phosphorylation de la protéine Tau.....	12
Figure 5 : Les différentes étapes de l'agrégation de Tau.....	14
Figure 6 : Illustration schématique du rôle central des oligomères de Tau dans les tauopathies.	16
Figure 7 : Hyperphosphorylation et agrégation de Tau dans les modèles rAAV.....	19
Figure 8 : Caractérisation phénotypique du modèle THY-Tau22 (d'après Alzforum).	20
Figure 9 : Ontologie de la microglie et illustration de ses rôles physiologiques dans le CNS.....	25
Figure 10 : Un modèle possible de neurotoxicité impliquant une boucle microglie-astrocytes-neurones.....	29
Figure 11 : Les « DAM », ou microglie associée au processus de neurodégénérescence.....	32
Figure 12 : Schéma de l'activation aiguë et chronique de la microglie dans le contexte de la MA.	34
Figure 13 : Le cercle vicieux entre la réponse immunitaire innée et la pathologie Tau.....	36
Figure 14 : Génétique de la MA.....	38
Figure 15 : Le récepteur microglial TREM2, et sa protéine adaptatrice DAP-12.....	41
Figure 16 : Fonctions et signalisation de TREM2.....	45
Figure 17 : Différentes stratégies de délétion de <i>Trem2</i> suivant les modèles transgéniques considérés.	47
Figure 18 : Coordonnées d'injection stéréotaxiques d'après l'Allen Brain Atlas.....	54
Figure 19 : Le peptide Δ K280 permet une agrégation rapide de la protéine Tau humaine WT.....	66
Figure 20 : Diminution du statut inflammatoire corrélée avec la déficience en TREM2 à 1 mois post-injection.....	69
Figure 21 : Le statut inflammatoire des souris WT et <i>Trem2</i> ^{-/-} à 3 mois post-injection.....	70
Figure 22 : Expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR dans la fraction microgliale.....	71
Figure 23 : Progression de la tauopathie dans les souris déficientes en TREM2.....	72
Figure 24 : Evaluation de l'agrégation de la protéine Tau en fonction du génotype des souris par marquage immunohistochimique AT100 au niveau de la couche CA1 de l'hippocampe des souris WT et <i>Trem2</i> ^{-/-} , en fonction du vecteur, à un et trois mois post-injection.....	74

Figure 25 : Le peptide $\Delta K280$ permet la diminution de la toxicité de la protéine Tau WT par rapport à sa forme non agrégée.....	76
Figure 26 : Evaluation du statut inflammatoire par quantification histologique du marquage Iba1 dans les souris THY-Tau22 à 3 mois.	79
Figure 27 : Evaluation du statut inflammatoire par quantifications histologiques dans les souris THY-Tau22 à 6 mois.....	80
Figure 28 : Evaluation du statut inflammatoire par quantification histologique et transcriptionnelle dans les souris THY-Tau22 à 12 mois.....	82
Figure 29 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 3 mois.	84
Figure 30 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 6 mois.	85
Figure 31 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 12 mois.	86
Figure 32 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 3 mois.....	88
Figure 33 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 6 mois.....	89
Figure 34 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 12 mois en fonction du sexe.	91
Figure 35 : Evaluation de la perte cellulaire dans le modèle THY-Tau22 à 3, 6 et 12 mois.....	93
Figure 36 : Etude comportementale des souris déficientes (n=10) ou non (n=12) en TREM2.	96
Figure 37 : Etude comportementale des souris THY-Tau22 déficientes (n=14) ou non (n=13) en TREM2.....	97
Figure 38 : Contribution des monocytes circulants à la neuroinflammation induite par la tauopathie.	103
Figure 39 : Immunohistochimie CD3 des lymphocytes T.....	104
Figure 40 : Reconstruction confocale de l'immunomarquage Tmem119 associé au marquage Iba1.	112
Figure 41 : Immunohistochimie CD3 des lymphocytes T dans les souris THY-Tau22.....	113
Figure 42 : Système de culture neuronale sur puce microfluidique.....	115
Figure 43 : Voie perforante projetant du cortex entorhinal median à la couche moléculaire du gyrus denté.....	116

Tableau 1 : Les modèles murins non transgéniques de tauopathie.....	21
Tableau 2 : Les modèles murins transgéniques de tauopathie exprimant la protéine Tau non mutée.	22
Tableau 3 : Les modèles murins transgéniques de tauopathie exprimant la protéine Tau mutée.....	23
Tableau 4 : TREM2 et pathologie amyloïde.....	49
Tableau 5 : TREM2 et pathologie Tau.....	50
Tableau 6 : Les effets des différents variants de TREM2 associés à la MA.	51
Tableau 7 : Effectif de souris.....	55
Tableau 8 : Liste des amorces utilisées pour le géotypage des souris THY-Tau22.....	55
Tableau 9 : Liste des anticorps primaires utilisés.	59
Tableau 10 : Liste des anticorps secondaires utilisés.	60
Tableau 11 : Liste des amorces utilisées pour les expériences de RT-qPCR.....	63
Tableau 12 : Tableau synthétique des résultats en fonction du géotype des animaux, de la durée post-injection et du vecteur.	77

Introduction

1. La maladie d'Alzheimer (MA) : la tauopathie la plus fréquente

a. Caractérisation de la MA

La maladie d'Alzheimer (MA) fut initialement décrite par le médecin allemand Aloïs Alzheimer en 1907. C'est l'une des maladies neurodégénératives les plus fréquentes et elle représente, au niveau mondial, entre 60 et 70% des cas de démence (Source : Organisation Mondiale de la Santé, OMS). En France, 900 000 personnes sont atteintes de cette maladie (Source : France Alzheimer). Elle se caractérise par des troubles progressifs de la mémoire suivis d'altérations d'autres fonctions cognitives telles que le langage, l'attention ou la capacité de raisonnement, conduisant à une perte d'autonomie.

La maladie existe sous deux formes, les formes familiales, rares et précoces, dues à des mutations génétiques, et les formes sporadiques, les plus courantes, apparaissant tardivement, et mettant en jeu des facteurs de risques environnementaux et génétiques.

Des progrès ont été réalisés dans le diagnostic de la MA qui est posé à l'aide de tests neuropsychologiques (Mini Mental State Examination ou MMSE), d'imagerie cérébrale et par dosage des protéines Tau et A β dans le LCR (Liquide Céphalo-Rachidien) (Dubois et al., 2014). Il reste cependant difficile d'établir le diagnostic dans les phases précoces de la pathologie. Un diagnostic définitif peut être confirmé post-mortem et se base sur la présence dans le cerveau de deux lésions caractéristiques de la maladie : les plaques amyloïdes ainsi que les dégénérescences neurofibrillaires (DNFs) (Figure 1).

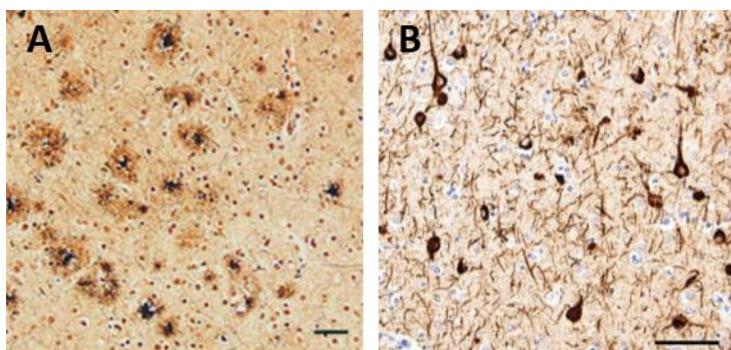


Figure 1 : Lésions caractéristiques de la MA.

Mise en évidence de plaques amyloïdes (A) par le marquage de Bielschowsky et de dégénérescences neurofibrillaires (B) par l'anticorps PHF-1 sur une coupe de cerveau humain. Echelle = 100 μ m. D'après Montine et al., 2012.

Les plaques amyloïdes sont constituées d'agrégats extracellulaires de peptides beta-amyloïdes (A β). Ces peptides sont générés par le clivage séquentiel de l'extrémité extra-membranaire de l'APP (Protéine Précurseur de l'Amyloïde), une protéine neuronale, par deux enzymes : la β -secrétase puis la γ -secrétase (Vardy et al., 2005), aboutissant à la formation d'un peptide composé de 39 à 43 acides aminés en fonction du site de clivage.

La surproduction ou l'élimination insuffisante de l'A β conduit à son accumulation extracellulaire et à son agrégation sous forme de plaques amyloïdes.

Les DNFs se caractérisent, elles, par l'agrégation intraneuronale de la protéine Tau hyperphosphorylée. Nous reviendrons plus précisément dans le chapitre 2 sur le rôle physiologique de la protéine Tau et son implication dans les maladies neurodégénératives.

L'accumulation du peptide A β sous forme de plaques amyloïdes a longtemps été considérée comme le processus physiopathologique majeur dans l'étiologie de la maladie. En effet, suite à des recherches menées en 1987 et ayant abouti au clonage de l'APP et à la découverte de mutations génétiques familiales dans la MA, Hardy et coll. proposèrent « l'hypothèse de la cascade amyloïde » qui place la protéine A β au centre de la MA (Hardy et Allsop, 1991 ; Hardy et al., 1992). Selon cette hypothèse, la surproduction d'A β est l'élément clé entraînant les autres processus pathologiques : l'activation microgiale, l'astrocytose, la perte neuronale et synaptique, le développement des dégénérescences neurofibrillaires et la démence.

Plusieurs observations nuancent cependant l'hypothèse suggérant A β comme étant prépondérant dans ces processus pathologiques. Tout d'abord, il y a une faible corrélation entre l'apparition de la maladie et la présence des plaques amyloïdes. Ensuite, les essais cliniques de plusieurs stratégies thérapeutiques ciblant l'A β n'ont jusqu'à aujourd'hui pas montré d'efficacité (Mangialasche et al., 2010; Mullane and Williams, 2013).

A l'inverse, il existe une corrélation directe entre l'évolution de la tauopathie et la sévérité de la symptomatologie cognitive démontrée initialement par des études histologiques (Arriagada et al., 1992; Braak and Braak, 1991; Wilcock and Esiri, 1982) ainsi que biochimiques (Delacourte et al., 1999) et confirmée plus récemment par le suivi de patients par Tomographie par Emission de Positons (TEP) avec des radioligands spécifiques des formes pathologiques de Tau (Bejanin et al., 2017). La progression de la pathologie neurofibrillaire dans les différentes aires corticales suit un ordre chronologique précis permettant de déterminer le stade de la maladie (Figure 2). La tauopathie débute au niveau de la région hippocampique (cortex trans-entorhinal, entorhinal, puis hippocampe) et s'étend ensuite aux régions néocorticales (Braak and Braak, 1991). En outre, la protéine Tau serait

un médiateur nécessaire à la toxicité de l'A β . En effet, dans des modèles murins de la MA, la déplétion de Tau diminue la toxicité induite par l'A β (Ittner et al., 2010; Rapoport et al., 2002; Roberson et al., 2007; Vessel et al., 2010). Cependant, il se pourrait à l'inverse que ce soit la pathologie amyloïde qui potentialise la pathologie Tau en induisant la formation d'espèces de Tau capables de former de nouveaux agrégats (Bennett et al., 2017).

Ces observations remettent donc en cause l'hypothèse d'une origine purement amyloïde de la MA et laissent supposer que les DNFs possèdent aussi un rôle prépondérant dans la physiopathologie de cette maladie (Kametani and Hasegawa, 2018).

Dans la MA, il existe une forte interaction entre les protéines amyloïdes et Tau. Au cours du développement de la pathologie, celles-ci sont aussi influencées par d'autres contributeurs, tels que des facteurs environnementaux, vasculaires, mais aussi inflammatoires (voir revue en annexe : (Ardura-Fabregat et al., 2017)). C'est pourquoi nous allons particulièrement nous intéresser à la composante neuroinflammatoire de la MA.

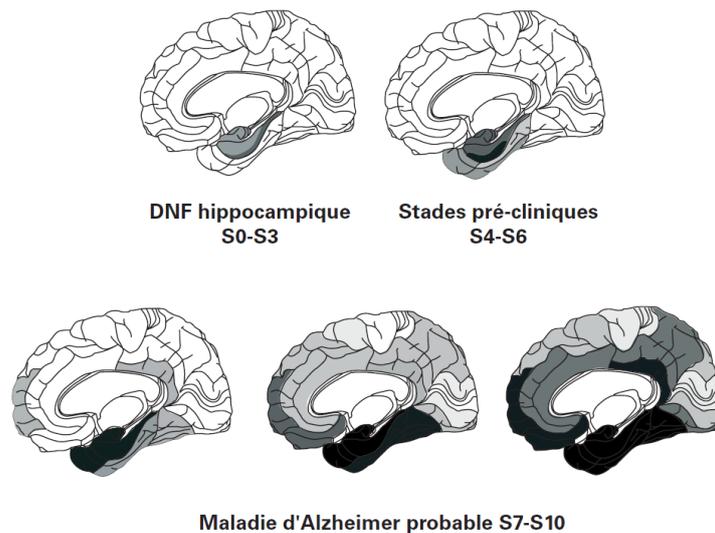


Figure 2 : Progression de la DNF.

Les DNFs débutent au niveau de la région hippocampique (Stades S0-S3) puis s'étendent aux régions temporales (S4-S6). Elles progressent ensuite vers les régions associatives polymodales. Elles peuvent aussi être observées dans des régions sensibles primaires dans les cas les plus sévères. D'après Buée et al., 2006.

b. Introduction à la neuroinflammation dans la MA

Même si les caractéristiques anatomo-pathologiques de cette maladie sont à ce jour bien définies, les causes restent, elles, mal connues, à l'exception de quelques formes familiales. Cependant, la neuroinflammation semble jouer un rôle majeur dans le développement de la maladie. Ce phénomène est en effet depuis longtemps connu pour accompagner la pathologie de la MA. La présence de cellules gliales amoéboïdes autour des plaques amyloïdes a ainsi été pour la première fois décrite par Aloïs Alzheimer lui-même, dans sa publication originale de 1907 (traduction anglaise : Alzheimer et al., 1995). En utilisant une technique de marquage au carbonate d'argent, qui permet l'identification de la microglie, Pio del Rio Hortega a mis en évidence en 1919 que les cellules observées par Aloïs Alzheimer étaient des cellules microgliales. Depuis, de nombreuses études ont mise évidence les interactions entre inflammation et pathogenèse de la MA et impliquent à la fois la microglie, les astrocytes ou encore les cellules du système immunitaire adaptatif (pour revue, Heneka et al., 2015). Notamment, une forte expression de marqueurs associés aussi bien à l'immunité innée qu'à l'immunité adaptative sont présents dans le cerveau de patients atteints de la MA par rapport aux sujets contrôles (McGeer et al., 1990; Togo et al., 2002; Zotova et al., 2013).

Des études génomiques récentes confirment l'association entre neuroinflammation et MA. Elles révèlent que des polymorphismes de gènes impliqués dans le système immunitaire sont des facteurs de risques génétiques de la MA, et font donc le lien entre étiologie de la maladie et neuroinflammation. Parmi ces gènes, on retrouve *CR1*, *CLU*, *CD33*, *TREM2*, *MS4A4/MS4A6E*, *ABCA7*, *CD2AP*, *CD33* ou encore *EPHA1* (voir Cuyvers and Sleegers, 2016 pour une revue récente).

2. La protéine Tau en condition physiologique et pathologique

a. La protéine Tau en condition physiologique

Localisation subcellulaire de la protéine Tau

La protéine Tau, découverte en 1975 par Weingarten et coll., appartient à la famille des « MAP » pour Microtubule-Associated Proteins (Weingarten, 1975). Elle participe au maintien et à la stabilité du cytosquelette neuronal, ainsi qu'au transport des vésicules le long des axones par sa fixation sur les microtubules. Dans le cerveau, la protéine Tau est principalement exprimée dans les neurones (Binder et al., 1985) mais est aussi présente en faible quantité dans les cellules gliales (Papazosomenos and Binder, 1987), notamment les oligodendrocytes (LoPresti et al., 1995). Ces résultats ont été confirmés par analyse des ARNm chez la souris (Couchie et al., 1988) et plus récemment par des analyses transcriptomiques à plus grande échelle (Zhang et al., 2014). Cette

protéine est principalement présente dans les axones (Binder et al. 1985), mais elle est également observée en concentration plus faible dans le compartiment somatodendritique (Tashiro et al., 1997), dans lequel la dynamique microtubulaire est sous le contrôle d'une autre protéine, la Microtubule Associated Protein 2 ou MAP2 (Caceres et al., 1984). Au niveau de l'axone, il existe en effet un gradient de concentration de la protéine Tau, peu présente vers le soma, c'est-à-dire en région proximale, et de plus en plus présente vers le bouton synaptique, en région distale (Dotti et al., 1987). Cette protéine est aussi présente au niveau du noyau, où elle participe à la protection de l'ADN en condition de stress (Bukar Maina et al., 2016; Sultan et al., 2011). Il existe donc une répartition particulière de la protéine Tau au sein de chaque compartiment neuronal. Dans les oligodendrocytes, qui sont des cellules riches en microtubules, Tau est principalement exprimé dans le soma et dans les prolongements cellulaires (LoPresti et al., 1995). Dans les astrocytes, Tau ne semble pas avoir un rôle majeur dans le maintien du cytosquelette (Papasozomenos and Binder, 1987).

Les différentes isoformes de Tau

Chez l'Homme, il existe six isoformes de Tau dans le cerveau, produites par épissage alternatif du pré-ARNm issu du gène *MAPT*, situé sur le chromosome 17q21 (Neve et al., 1986). Ces isoformes se distinguent par le nombre de répétitions de deux motifs situés respectivement dans les régions amino- et carboxy-terminales. Le motif situé au niveau du domaine carboxy-terminal, noté R (ou MBD pour Microtubule Binding Domain), constitue le point d'ancrage de la protéine Tau sur les microtubules, et peut être présent sous forme de trois ou quatre répétitions, les isoformes sont alors appelées formes 3R ou formes 4R (Andreadis, 2012). Les formes 4R de la protéine Tau se fixent de manière plus stable aux microtubules (Goedert and Jakes, 1990), permettant ainsi de moduler la longueur des neurites et la plasticité neuronale. Ceci est probablement dû à la présence de séquences inter-répétées entre le premier et le deuxième motif de liaison aux microtubules, qui est unique aux isoformes 4R (Goedert and Jakes, 1990). Dans le cerveau adulte humain, les deux formes 3R et 4R sont exprimées mais le schéma d'expression peut varier en fonction des populations neuronales considérées. Ainsi, les isoformes 3R et 4R sont toutes deux présentes dans les cellules pyramidales du cortex et de l'hippocampe, alors que les cellules granulaires du gyrus denté n'expriment que les isoformes 3R (M. Goedert et al., 1989). Chez la souris, seule la forme 4R est exprimée dans le cerveau adulte (McMillan et al., 2008). Le niveau amino-terminal quant à lui contient une région riche en Proline, et est appelé domaine de projection car il ne présente pas d'interaction avec les microtubules et projette vers membrane plasmique (Hirokawa et al., 1988). Au niveau du domaine amino-terminal, les isoformes diffèrent par l'absence ou la présence de un ou

deux motif(s) noté(s) N (0N, 1N ou 2N) (M Goedert et al., 1989). On obtient ainsi six formes possibles en fonction de la combinaison du nombre de MBD et de motif(s) N (Figure 3).

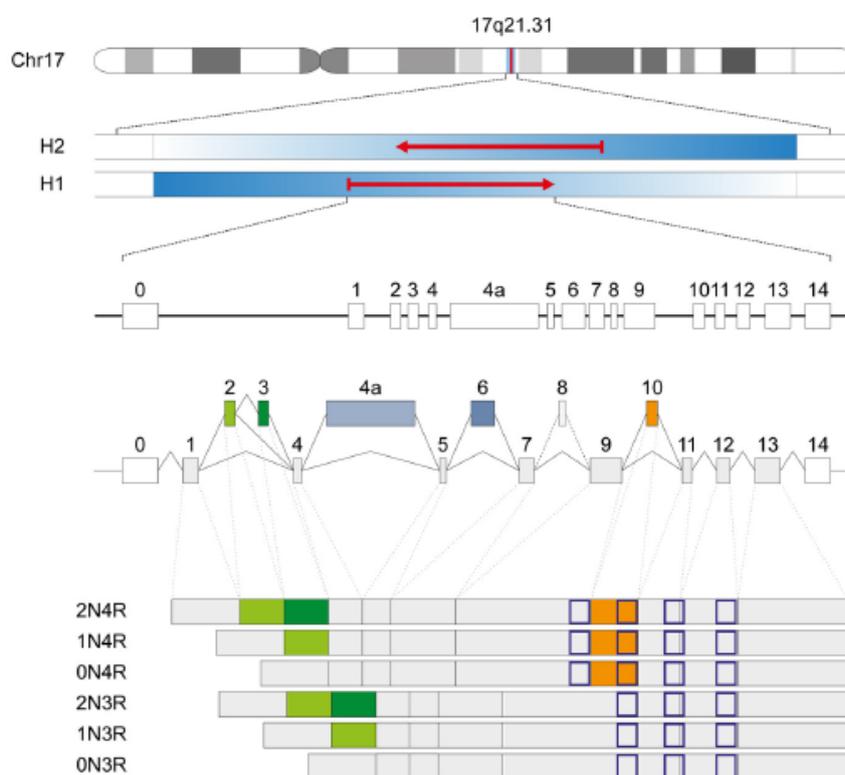


Figure 3 : La protéine Tau humaine : aperçu de l'organisation génomique du gène MAPT et de l'expression de ses isoformes.

Le gène *MAPT* est localisé sur le bras long du chromosome 17, en position 17q21,31. Il existe deux haplotypes, H1 et H2, dus à une inversion du locus d'environ 900 kb. Le gène *MAPT* comprend 16 exons. Dans le système nerveux central (SNC), les exons 2, 3 et 10 sont alternativement épissés produisant ainsi 6 isoformes de Tau caractérisées par l'absence (0N), un (1N) ou 2 (2N), motifs au niveau du domaine amino-terminal, en combinaison avec 3 (3R) ou 4 (4R) motifs au niveau du domaine carboxy-terminal. D'après Arendt et al., 2016.

Les modifications post-traductionnelles de Tau

La protéine Tau est une protéine très soluble, nativement non repliée et ayant un faible degré de structures secondaires de type hélice α , feuillet β ou hélice de poly-proline II, qui, de plus, sont transitoires (Jeganathan et al., 2008; Uversky, 2002). En plus de l'épissage alternatif de son ARNm, les interactions fonctionnelles de Tau sont hautement régulées au niveau post-traductionnel. Tau est une phosphoprotéine comprenant plus de 80 sites de phosphorylation potentiels (dont 45 sérines, 35 thréonines et 5 tyrosines) (Arendt et al., 2016; Martin et al., 2011; Figure 4). En conditions physiologiques, la protéine Tau est phosphorylée sur de nombreux sites, ce qui constitue sa principale modification post-traductionnelle et permet notamment la régulation de son interaction

avec les microtubules (Goedert and Jakes, 1990). De plus, la phosphorylation de Tau permet de réguler à la fois sa distribution subcellulaire mais aussi de nombreuses interactions moléculaires impliquées dans la régulation du transport axonal (LaPointe et al., 2009) ou encore son association avec la membrane plasmique (Maas et al., 2000; Pooler et al., 2012). Dans le cerveau humain adulte sain, nous pouvons mesurer entre 2 et 4 moles de phosphate par mole de Tau (Köpke et al., 1993). L'état de phosphorylation de Tau dépend de l'équilibre entre l'activité de ses kinases et de ses phosphatases. Il a été montré par des expériences *in vitro* que de nombreuses kinases sont capables de phosphoryler Tau, tel que la glycogène synthase kinase 3 β (GSK3- β) (Mandelkow et al., 1992), la cyclin-dépendant kinase 5 (CDK5) et la cyclin-dépendent kinase 2 (CDK2) (Baumann et al., 1993), les protéines kinases A, B et C (PKA, B et C) et les tyrosines kinases telle que la famille des kinases c-Src et Fyn (Goedert et al., 1997). Certaines études suggèrent que GSK3- β et CDK5 sont impliquées dans la phosphorylation de Tau dans le cerveau sain (Baumann et al., 1993; Mandelkow et al., 1992). A l'inverse, la protéine Tau est sujette à la déphosphorylation par des phosphatases, la plus importante étant PP2A, qui est responsable d'environ 70% de la déphosphorylation de Tau dans le cerveau humain (Liu et al., 2005).

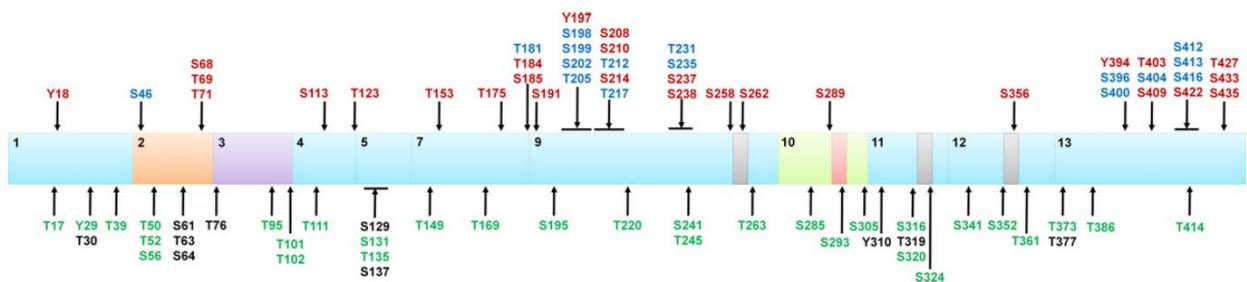


Figure 4 : Localisation des sites de phosphorylation de la protéine Tau.

Les sites de phosphorylation de Tau observés dans des cerveaux atteints de la MA (en marron), dans des cerveaux sains (en vert), et ceux présents à la fois dans les cerveaux sains et atteints de la MA (en bleu), en prenant pour base l'isoforme la plus longue de tau. Les sites potentiels de phosphorylation qui n'ont pas encore été validés *in vitro* et *in vivo* sont représentés en noir. D'après Martin et al., 2011.

La protéine Tau subit aussi d'autres modifications post-traductionnelles telles que la troncation (Garcia-Sierra et al., 2003), la O-glycosylation (Arnold et al., 1996), la glycation (Ledesma et al., 1994), l'acétylation (Min et al., 2010), la SUMOylation (Dorval and Fraser, 2006), l'ubiquitination (Mori et al., 1987), et la nitration (Horiguchi et al., 2003). Martin et coll. ainsi que Guo et coll. plus récemment, ont passé en revue les différents modifications post-traductionnelles de Tau ainsi que leurs conséquences fonctionnelles (Guo et al., 2017; Martin et al., 2011).

Les différentes fonctions de Tau

La protéine Tau participe principalement à l'assemblage et à la stabilisation des microtubules. En effet, dans le cerveau adulte, la protéine Tau est majoritairement présente au niveau des axones, où elle se lie à la tubuline pour promouvoir sa polymérisation et ainsi réguler la stabilité des microtubules (Cleveland et al., 1977; Weingarten, 1975).

La stabilisation des microtubules par la protéine Tau permet en outre de préserver l'axone et la polarité neuronale. Une réduction de la concentration de Tau par l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens ciblant l'ARNm *MAPT* engendre une altération de l'asymétrie neuronale en inhibant la formation axonale (Caceres and Kosik, 1990) alors que des neurones de souris déficientes en Tau présentent des déficits d'élongation axonale aussi bien *in vitro* (Dawson et al., 2001) qu'*in vivo* (Dawson et al., 2010).

La protéine Tau permet par ailleurs d'assurer indirectement la régulation du transport axonal, en modulant l'activité des protéines motrices, les kinésines et les dynéines (Ebner et al., 1998; Trinczek et al., 1999; Utton et al., 2005). Ces protéines sont nécessaires au transport d'organelles ou de vésicules chargées de neurotransmetteurs, permettant ainsi d'assurer le bon fonctionnement du neurone. La protéine Tau est en interaction avec les microtubules sur une période de temps très courte (moins de 40ms) par un mécanisme appelé « kiss-and-hop » (Janning et al., 2014), qui explique comment Tau, qui est principalement fixée aux microtubules, n'interfère pas avec le transport axonal (Morfini et al., 2007).

Au-delà de ces fonctions classiques liées à la stabilisation des microtubules, d'autres fonctions de Tau ont été mises en évidence plus récemment. Tau, qui est présente en faible concentration dans les dendrites, aurait un rôle dans la plasticité synaptique (Ittner et al., 2010; Kimura et al., 2014). La protéine Tau nucléaire régulerait l'activité transcriptionnelle et maintiendrait l'intégrité de l'ARN et de l'ADN aussi bien en condition physiologique que pathologique (Mansuroglu et al., 2016; Violet et al., 2014). La protéine Tau pourrait par ailleurs être impliquée dans la transmission synaptique en modulant des récepteurs tels que les récepteurs à l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDA) ou encore les récepteurs à l'acétylcholine (Gómez-Ramos et al., 2009; Ittner et al., 2010). Arendt et coll. ainsi que Guo et coll. ont récemment passé en revue ces différentes fonctions de Tau (Arendt et al., 2016; Guo et al., 2017).

b. La protéine Tau en situation pathologique

Dans les maladies appelées tauopathies, nous observons une hyper-phosphorylation de Tau sur des sites physiologiques ainsi qu'une phosphorylation sur des sites pathologiques, qui entraînent une

diminution de son affinité pour les microtubules. La protéine Tau devient ainsi plus soluble et peut former dans le cytoplasme des fibrilles constituées de filaments hélicoïdaux appariés (PHF pour "Paired Helical Filaments") entraînant la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires, aboutissant à des défauts du transport axonal et la mort neuronale (Figure 5).

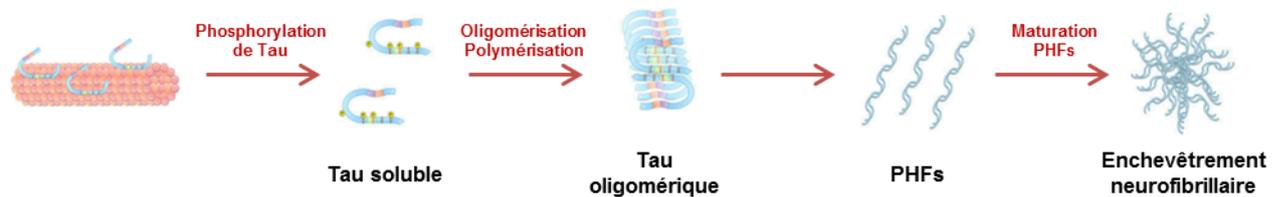


Figure 5 : Les différentes étapes de l'agrégation de Tau.

Le défaut d'attachement de Tau aux microtubules provoque une augmentation de la protéine Tau soluble. Les monomères de Tau s'assemblent en oligomères, qui s'assemblent ensuite eux-mêmes en PHFs. L'étape finale conduit à la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires à partir de l'agrégation des PHFs. D'après Martin et al., 2011.

L'accumulation d'agrégats de protéines Tau au sein des neurones concerne plus de 20 pathologies différentes (Buée et al., 2000). Certaines sont causées par des mutations du gène *MAPT*, c'est le cas de certaines démences fronto-temporales, alors que d'autres apparaissent en l'absence de mutation de ce gène. C'est le cas de la MA qui est la tauopathie la plus fréquente.

Pendant des années, les agrégats fibrillaires de Tau ont été considérés comme les formes neurotoxiques majeures de Tau. En effet, dans la MA, de nombreuses études ont montré une meilleure corrélation entre agrégats fibrillaires et perte neuronale, par rapport aux plaques séniles, ainsi qu'avec les symptômes cliniques, suggérant un rôle prépondérant de la neurodégénérescence induite par ces agrégats dans le déclin cognitif des patients atteints de la MA (Dickson et al., 1995; Giannakopoulos et al., 2003). De plus, la réduction de la formation des agrégats de Tau corrèle avec une diminution de la neurodégénérescence dans une étude sur la souris (Noble et al., 2005). Enfin, une forte diminution de plusieurs marqueurs pré- et post-synaptiques est observée dans les neurones présentant des DNFs, suggérant une altération de la transmission synaptique due à la formation des agrégats (Callahan et al., 2002).

Cependant, une autre hypothèse suggère que les formes oligomériques solubles de Tau pourraient jouer un rôle plus critique dans la progression de la MA puisque ces formes solubles corrèlent mieux avec la perte neuronale et les dysfonctions cognitives retrouvées dans cette maladie que les formes agrégées. Cela a pu être mis en évidence dans le modèle murin transgénique rTg4510, qui exprime la protéine Tau humaine comportant la mutation P301L retrouvées dans certaines tauopathies appelées démences fronto-temporales liées au chromosome 17 (DFTP-17), sous un promoteur

conditionnel abolissant son expression après administration de doxycycline. Cette étude montre que l'accumulation d'oligomères, mais pas des DNFs, corrèle mieux avec la mort neuronale et les déficits comportementaux observés dans ce modèle (Berger et al., 2007). La suppression de l'expression de Tau dans un autre modèle conditionnel transgénique entraîne une amélioration mnésique et une stabilisation du nombre de neurones, alors même que les DNFs continuent d'apparaître (SantaCruz, 2005; Sydow et al., 2011a). Cela suggère que les DNFs ne sont pas suffisantes pour causer les déficits cognitifs ainsi que la mort neuronale observés dans les tauopathies. De plus, les neurones semblent survivre après que la protéine Tau ait commencée à s'agréger dans le soma (de Calignon et al., 2010; Morsch et al., 1999) et peuvent être intégrés dans des réseaux neuronaux fonctionnels (Fox et al., 2011; Kuchibhotla et al., 2014; Rudinskiy et al., 2014). Par ailleurs, l'injection dans l'hippocampe de formes oligomériques recombinantes de Tau induisent *in vivo* une neurodégénérescence et des dysfonctions synaptiques et mitochondriales, mais ce n'est pas le cas de l'injection de fibrilles ou de monomères (Lasagna-Reeves et al., 2011a). Plus récemment, différents modèles de tauopathie ont été développés à partir de rats au sein de notre laboratoire et ont permis de mettre en évidence le rôle protecteur de la formation des agrégats de Tau par rapport à ses formes oligomériques solubles (d'Orange et al., 2018, voir 2.d Les modèles animaux de tauopathie).

D'autres arguments en faveur de cette hypothèse sont retrouvés dans des études chez l'Homme. Celles-ci montrent qu'une partie de la population âgée développe des DNFs sans développer de démence (Arnold et al., 2013; Perez-Nievas et al., 2013). De plus, même si les DNFs corrèlent avec la neurodégénérescence, le niveau de perte neuronal est bien plus élevé que le nombre de neurones atteints de DNFs (Gómez-Isla et al., 1997; Vogt et al., 1998), ce qui suggère que la plupart des neurones meurent par d'autres mécanismes. Par ailleurs, l'accumulation d'oligomères de Tau corrèle avec le déclin cognitif des patients souffrant de déficits cognitifs modérés (Mufson et al., 2014). Ces études révèlent, en accord avec les résultats obtenus sur la souris, que les formes solubles hyperphosphorylées de Tau, localisées à la synapse, pourraient être les médiateurs de la neurotoxicité et de l'altération de la cognition.

Ces formes oligomériques pourraient par ailleurs être responsables de la transmission de la pathologie selon un mécanisme de type prion. En effet, il a été montré qu'après injection de différents homogénats purifiés de cerveaux de patients atteints de la MA à des souris de phénotype sauvage, les oligomères de Tau et non les formes fibrillaires sont capables de propager la pathologie (Lasagna-Reeves et al., 2012). Une fois que la protéine Tau est modifiée de manière pathologique, elle peut se détacher des microtubules et s'auto-agréger. Elle peut se lier à d'autres protéines Tau altérées mais aussi à des protéines Tau natives et induire un changement pathologique de

conformations sur ces protéines : ce mode de propagation s'apparente à celui des maladies à Prion. Les oligomères de Tau pourraient se comporter comme un modèle de repliement pour la protéine Tau native, et ainsi constituer un noyau de propagation des formes toxiques de la protéine (Gerson and Kaye, 2013).

Cependant, la nature exacte des formes oligomériques impliquées dans cette toxicité est encore débattue (Cowan et al., 2015).

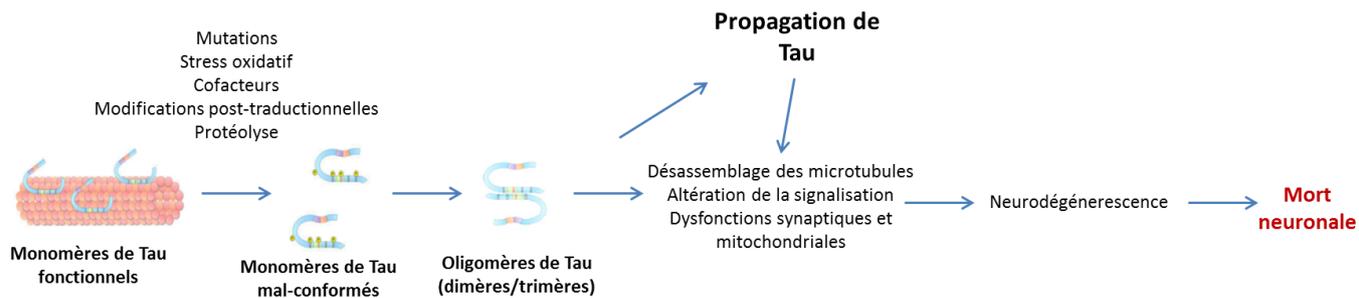


Figure 6 : Illustration schématique du rôle central des oligomères de Tau dans les tauopathies.

Les oligomères de Tau sont des entités toxiques, qui initient la pathologie ainsi que la propagation de Tau. Inspiré de Gerson and Kaye, 2013; Martin et al., 2011

c. Classification des différents types de tauopathie

Les tauopathies peuvent être classées selon différents critères.

Elles peuvent être différenciées en tauopathies primaires, lorsque la pathologie tau est le seul facteur induisant la neurodégénérescence, et secondaires, lorsque la tauopathie est associée à d'autres pathologies ou lésions qui apparaissent en premier lieu (Williams, 2006). La plupart des cas décrits de tauopathie sont de type primaire, à l'exception de la MA et de la trisomie 21.

Les tauopathies peuvent aussi se distinguer par le ratio des isoformes de Tau retrouvé dans les agrégats, ce qui permet alors de classer ces pathologies en quatre catégories (Sergeant et al., 2008).

Dans les tauopathies de classe I, les six isoformes de Tau sont retrouvées dans les agrégats. C'est le cas de la MA, mais aussi du syndrome de Down, de la maladie de Niemann-Pick de type C, et de certains cas de DFTP-17.

Les tauopathies de classe II sont caractérisées par l'agrégation sélective des isoformes 4R. C'est le cas de la dégénérescence corticobasale (DCB), de la paralysie supranucléaire progressive (PSP), de la démence à grains argyrophiles et de la plupart des cas de DFTP-17 associées à une mutation du gène *MAPT*.

La troisième classe est caractérisée par des amas exclusivement constitués de l'isoforme 3R, et comprend la maladie de Pick ainsi que certains cas familiaux de DFTP-17.

Enfin, la classe IV comprend une seule forme de tauopathie appelée dystrophie myotonique, et caractérisée par l'agrégation de l'isoforme foétale de Tau (0N3R) et une forte diminution de l'expression des isoformes contenant des répétitions en position N terminale.

On distingue aussi les formes sporadiques des formes génétiques, en fonction de la présence ou non de mutations sur le gène *MAPT*. Comme c'est le cas pour la plupart des tauopathies, la MA est une forme sporadique, même si certains cas familiaux ont été décrits, principalement dans les DFTP-17. En effet, cette pathologie est associée à plus de 30 mutations (Sergeant et al., 2005), la plupart étant situées dans la partie de *MAPT* codant pour le domaine de liaison au microtubules et contenant les domaines de répétition de Tau. Ces mutations peuvent favoriser l'agrégation de Tau, c'est le cas de la mutation P301L (Hong et al., 1998) ou diminuer son affinité pour les microtubules, c'est le cas de la mutation R406W (Hutton et al., 1998). Arendt et coll. ont rédigé une revue générale sur Tau et son implication physiologique et pathologique (Arendt et al., 2016).

d. Les modèles animaux de tauopathie

Nous dressons dans cette partie une liste non exhaustive des différents modèles animaux existants, ainsi qu'une description plus détaillée des modèles utilisés dans notre étude. Une revue publiée en 2015 par l'équipe de Luc Buée récapitule en détail les différents modèles animaux de tauopathies (Dujardin et al., 2015).

Les modèles animaux de tauopathie sont principalement des modèles transgéniques de souris exprimant le gène *MAPT* porteur d'une ou plusieurs mutations. Les modèles exprimant la forme 4R de la protéine Tau, et possédant les mutations P301L ou P301S localisées dans le domaine de liaison de Tau aux microtubules font partis des modèles les plus utilisés (se référer à la revue de Dujardin et al., 2015). Le Tableau 2 et le Tableau 3 récapitulent de manière non exhaustive les différents modèles transgéniques de tauopathie développés à partir des différentes espèces de rongeurs.

Parmi les modèles transgéniques, un modèle développé par l'équipe de Bradley Hyman (Boston) a permis de modéliser la propagation de la protéine Tau suivant les stades de Braak (Braak and Braak, 1991; de Calignon et al., 2012), en exprimant le transgène au niveau du cortex enthorinal, qui est la région cérébrale dans laquelle la pathologie Tau débute dans la MA (Kaufman et al., 2018). C'est aussi le cas d'autres modèles par injection au niveau de la zone d'intérêt de lysats cérébraux,

provenant de modèles animaux (Clavaguera et al., 2009) ou de patients (Castillo-Carranza et al., 2014a).

D'autres modèles par transfert de gènes ont fait plus récemment leur apparition pour l'étude des tauopathies. Ils consistent à injecter des vecteurs viraux, rAAV (pour revue Cubinková et al., 2017) ou lentivirus (Caillierez et al., 2013a; Osinde et al., 2008), permettant d'exprimer la protéine Tau, dans la zone cérébrale souhaitée. Le Tableau 1 récapitule de manière non exhaustive les différents modèles non transgéniques rongeurs de tauopathie. Dans les modèles transgéniques, la tauopathie est en général diffuse dans l'ensemble du système nerveux central, ce qui n'est pas pertinent du point de vue de la physiopathologie de la MA, pour laquelle la pathologie progresse d'une manière spatio-temporelle bien précise (Braak and Braak, 1991). De plus, dans la plupart des modèles transgéniques, la pathologie est présente dès les premiers stades du développement embryonnaire. L'avantage des modèles obtenus par injection de vecteurs viraux est de s'affranchir de la compensation développementale éventuellement présente dans les modèles transgéniques et d'avoir une expression focale de la protéine d'intérêt, dans une région pertinente. Afin d'étudier les mécanismes pathologiques conduisant aux tauopathies, notre laboratoire a donc développé sur des rongeurs un modèle de tauopathie pure, ne présentant pas de plaques amyloïdes, dont la caractérisation a fait l'objet d'une thèse par Marie d'Orange (d'Orange et al., 2018). Ce modèle est basé sur une technique de transfert de gènes à l'aide de vecteurs viraux adéno-associés (rAAV). Ces vecteurs permettent la surexpression de la protéine Tau humaine dans les neurones de la couche de la corne d'ammon CA1 de l'hippocampe chez le rongeur. La surexpression de la protéine Tau sauvage (Tau^{WT}) provoque l'expression de formes solubles de Tau alors que l'expression d'une forme qui promeut l'agrégation de la protéine Tau, dite « pro-agrégante », aboutit à la formation de dégénérescences neurofibrillaires (Figure 7). Cette forme est obtenue par la co-expression de la protéine Tau^{WT} avec un peptide qui favorise son agrégation et qui correspond au fragment C-terminal de la protéine Tau, contenant les quatre domaines R, et possédant la mutation Δ K280 (délétion de la Lysine en position 280). Cette mutation a initialement été mise en évidence dans une autre tauopathie, la DFTP-17, et augmente fortement la tendance de la protéine Tau à s'agréger en PHFs (Von Bergen et al., 2001). L'avantage du modèle développé au sein de notre équipe est d'utiliser la protéine Tau^{WT}, plus proche de la physiopathologie de la MA puisque ne portant pas de mutation, tandis que la plupart des modèles actuels s'appuient sur l'expression par des lignées de souris transgéniques de protéines Tau mutées pour obtenir cette agrégation. Seul le modèle développé par Davies et coll. développe des DNFs en l'absence de mutation sur le gène *MAPT*. Celui-ci exprime les six isoformes humaines de Tau dans des souris dont le gène *MAPT* endogène a été inactivé (Andorfer et al., 2003).

Le modèle qui a été développé au laboratoire nous permet d'étudier différents aspects de la MA, et en particulier la composante inflammatoire induite par la tauopathie, ce à quoi je me suis attaché dans le cadre de ma thèse.

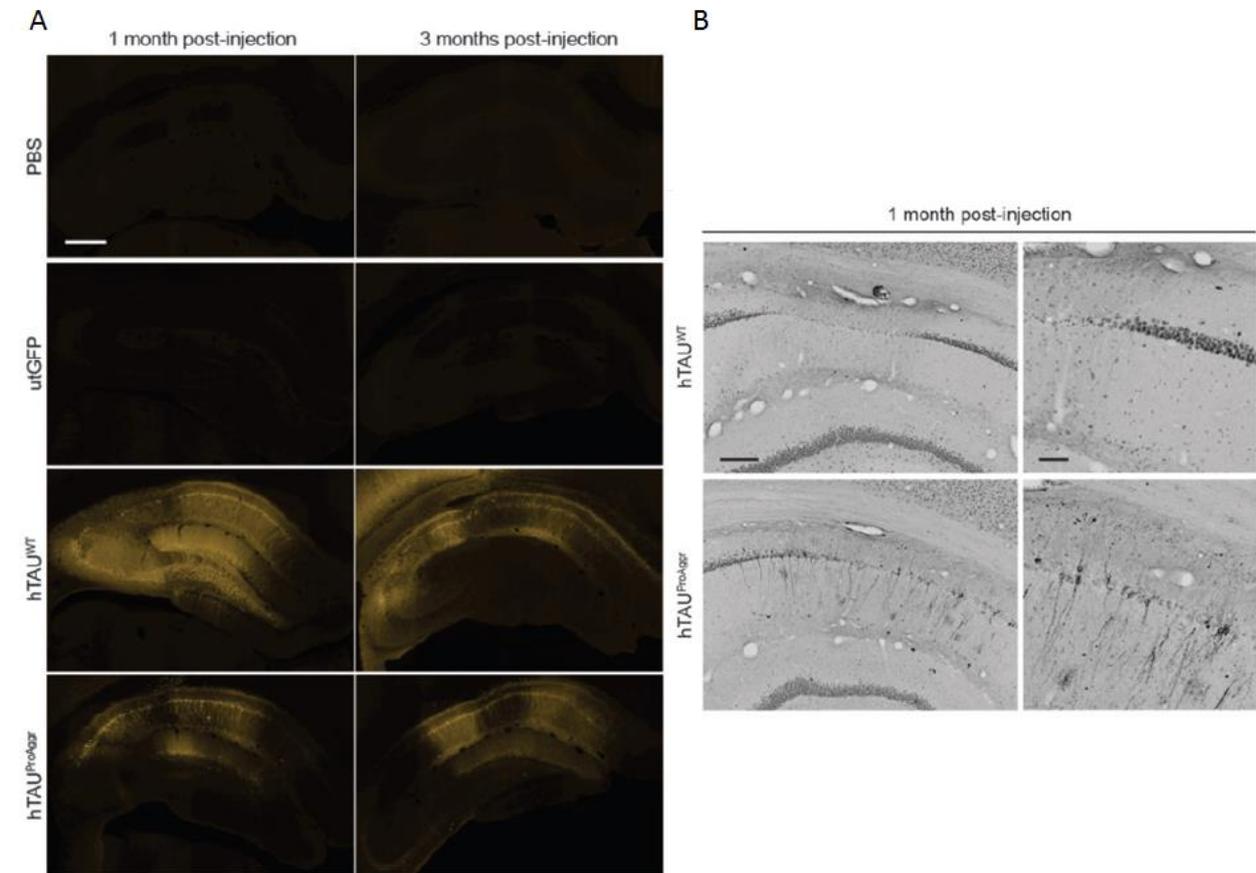


Figure 7 : Hyperphosphorylation et agrégation de Tau dans les modèles rAAV.

Illustration des marqueurs AT8 (A), spécifique de formes hyperphosphorylées de la protéine Tau, et AT100 (B), spécifique de l'hyperphosphorylation et de la mal-conformation de la protéine Tau, dans les modèles rAAV. Echelle : 500 μ m (A), 150 et 50 μ m (B). D'après d'Orange et al., 2018.

Le modèle rAAV nous a donc permis dans un premier temps d'étudier le rôle de TREM2 dans un contexte de tauopathie à développement rapide. Cependant, la progression de la MA, et particulièrement la composante tauopathique, est lente et se produit, mis à part pour les formes familiales, à un stade tardif. Nous avons donc choisi d'étudier en parallèle le rôle de TREM2 dans un modèle transgénique pour lequel le développement de la pathologie reflète plus le décours retrouvé chez les patients.

La lignée transgénique THY-Tau22 développée par l'équipe de Luc Buée est un modèle plus progressif, permettant de suivre l'établissement graduel de la pathologie Tau, sans la mort neuronale et la forte inflammation induite par l'expression des rAAV, à un stade plus précoce de la pathologie

(Schindowski et al., 2006). Ce modèle murin exprime la forme 4R de la protéine Tau humaine mutée au niveau des sites G272V et P301S, sous contrôle du promoteur Thy1-2. Lors de la création de ce modèle, l'équipe de recherche a sélectionnée une lignée pour laquelle l'expression du transgène est restreinte majoritairement aux neurones pyramidaux de CA1, permettant de modéliser la pathologie Tau ainsi que les déficits comportementaux concomitants, en l'absence de déficits locomoteurs. Une expression dans le subiculum, l'amygdale et le cortex préfrontal est aussi observée.

Ce modèle plus progressif est donc complémentaire au modèle rAAV dans le cadre de notre étude, puisqu'il permet d'étudier la composante neuroinflammatoire en fonction du stade de la pathologie, à 3 mois, 6 mois et 12 mois. En effet, comme nous le verrons dans le chapitre suivant, le stade de la pathologie peut être déterminant quant aux effets de la neuroinflammation sur son développement. La Figure 8 récapitule les différentes caractéristiques phénotypiques du modèle THY-Tau22.

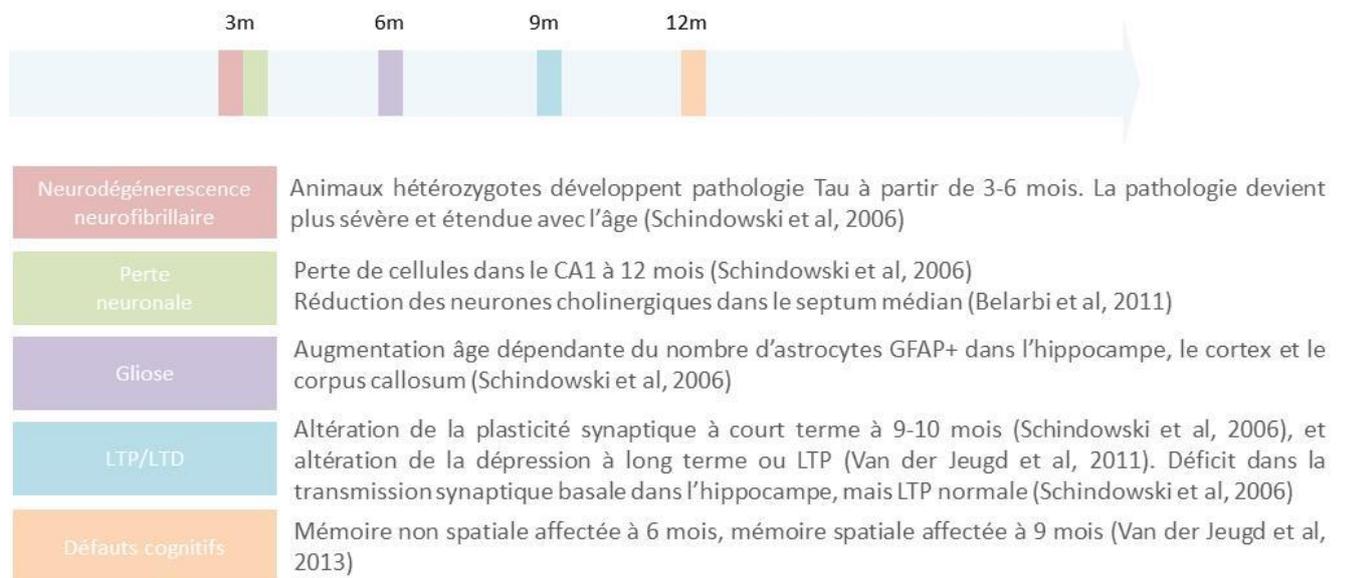


Figure 8 : Caractérisation phénotypique du modèle THY-Tau22 (d'après Alzforum).

Tableau 1 : Les modèles murins non transgéniques de tauopathie.

Adapté de Dujardin et al., 2015. ND : non déterminé ; Hyp : hyper ; P° : phosphorylation ; An : anormal

Administration locale : Produits injectés	Site d'injection	Fond génétique	Spécificité du type cellulaire	Initiation des DNF	P° Hyp/an	Fonction synaptique altérée	Mort neuronale	Tau insoluble	DNF	Déclin cognitif	Réf
AAV2 codant h2N4RP301L	Septum médian	Rats Sprague-Dawley WT	Neurones	3 semaines pi	+/+	ND	ND	+	+	ND	(Klein et al., 2004)
AAV2 codant h2N4RP301L	Hippocampe	Souris APP/PS1	ND	12 mois pi	ND	ND	ND	ND	+	ND	(Klein et al., 2004)
AAV2 codant h2N4RWT ou h2N4RP301L	Substance noire	Rats Sprague-Dawley WT	Neurones	3 semaines pi	+/ND	ND	+	+	+	ND	(Klein et al., 2005)
AAV8 codant h2N4RP301L	Substance noire	Rats Sprague-Dawley WT	Neurones	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	(Klein et al., 2006)
AAV2, 8, 9, 10 codant h2N4RP301L	Substance noire	Rats Sprague-Dawley WT	Neurones	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	(Klein et al., 2008)
Lysat cérébral de souris transgéniques P301S	Hippocampe/cortex cérébral	Souris ALZ 17	ND	6 mois pi	+/+	ND	ND	+	+	ND	(Clavaguera et al., 2009)
AAV1/2 codant h2N4RWT ou h2N4RP301L	Hippocampe	Souris WT FVB/N	Neurones		+/ND	+	+	ND	-	ND	(Jaworski et al., 2009)
AAV2 codant h2N4RP301L	Cortex enthorinal	Rats Sprague-Dawley WT	Neurones	< 3 mois pi	+/+	-	-	+	+	+	(Ramirez et al., 2011)
Oligomères de Tau recombinant h2N4R	Hippocampe	Souris WT C57BL/6	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	(Lasagna-Reeves et al., 2011b)
Lysats de cerveaux humains de ≠ tauopathies	Hippocampe/cortex cérébral	Souris ALZ 17	Neurones/Astrocytes	6 mois pi	+/+	ND	ND	+	+	ND	(Clavaguera et al., 2013)
LV codant h1N4RP301L ou h1N4RWT	Hippocampe (CA1)	Rats Wistar WT	Neurones	2 mois pi	+/+	ND	+	+	+	ND	(Caillierez et al., 2013b; Dujardin et al., 2014)
Fibrilles de Tau recombinants h2N4R	Cortex	Souris WT C57BL/6	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	(Holmes et al., 2013)
Fibrilles de Tau recombinants h2N4RP301L ou fragments tronqué K18	Hippocampe/Striatum/Cortex	Souris PS19	ND	1 mois	+/+	ND	-	+	+	ND	(Iba et al., 2013)
Lysat cérébral de souris transgéniques P301S	Péritoine	Souris P301S hétérozygote	ND	6 mois pi	ND	ND	ND	+	+	ND	(Clavaguera et al., 2014)
Fibrilles de Tau recombinants tronqués	Hippocampe	Souris P301S	ND	3 semaines pi	+/+	ND	ND	+	+	ND	(Sanders et al., 2014)
Oligomères de Tau dérivés de cerveaux humains	Intra-cérébroventriculaire	Souris Htau homozygote	ND	ND	+/ND	ND	ND	+	+	+	(Castillo-Carranza et al., 2014b)
Lysat cérébral de souris transgéniques P301S	Hippocampe/cortex cérébral	Souris P301S transgénique	Neurones	1 mois pi	+/+	ND	-	+	+	ND	(Ahmed et al., 2014)
Fibrilles de Tau recombinants h2N4RP301L	Hippocampe/cortex frontal	Souris P301L transgénique	ND	1 semaine pi	+/+	ND	+	+	ND	ND	(Peeraer et al., 2015)
AAV6 codant h1N4RP301L	Cortex entorhinal médian	Souris P301S transgénique	Neurones	4 semaines pi	+/+	ND	ND	+	ND	ND	(Asai et al., 2015)
AAV2 codant h1N4RP301L, h1N4RWT et h1N4RΔK280	Hippocampe	Rats Wistar WT	Neurones	1 mois pi	+/+	ND	+	+	+	-	(d'Orange et al., 2018)

Tableau 2 : Les modèles murins transgéniques de tauopathie exprimant la protéine Tau non mutée.

Adapté de Dujardin et al., 2015

Isoforme/mutation	Distribution de tau	Protéine Tau exogène	Spécificité cellulaire	Initiation des DNFs	P° Hyp/an	Fonction synaptique altérée	Mort neuronale	Tau insoluble	DNF	Déficits moteurs	Déclin cognitif	Réf
h2N4R	Cx, H, S, T, MC, C	5x	N	-	+/-ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	(Götz et al., 1995)
h2N4R	Cx, H, ME	1.5-6x	N	-	+/-	ND	-	ND	-	+	ND	(Spittaels et al., 1999)
h2N4R	ME, H, S, Cx, NOA, NS, TC	1.5-10x	N	-	+/-ND	ND	ND	+	ND	+	ND	(Probst et al., 2000)
h2N4R	Cx, H, C, A, TC, ME	8-10x	N	-	ND/ND	ND	ND	+	-	-	ND	(Zhang et al., 2004)
h2N4R	Cx, H, BO, S, T, C, ME	3-5X	N	-	+/-	+	-	-	-	ND	+	(Kimura et al., 2007)
h0N3R	Cx, H, C, BO, S, T, P, MC, ME	0.14x	N/G	-	+/-	ND	ND	ND	-	ND	ND	(Brion et al., 1999)
h0N3R	H, Cx, C, TC, ME	5-15x	N	1-6 mois	+/-	ND	ND	+	+	+	ND	(Ishihara et al., 1999)
h1N4R	SNC, ME	ND	OLG	-	ND/ND	ND	-	+	-	ND	ND	(Higuchi et al., 2005)
h1N4R	Cx, TC, T, ME	0.7-2x	A	-	+/-	ND	-	+	+	+	ND	(Forman et al., 2005)
h1N4R	Cx, H, TC, A, ME	5x	N	-	+/-	ND	ND	ND	-	-	ND	(Yoshiyama et al., 2007)
6 isoformes (WT)	Cx, H, S, ME	3.7x	N	-	+/-	ND	ND	-	-	-	ND	(Duff et al., 2000)
6 isoformes (KOMAPT)	Cx, H, S, C, ME	ND	N	9 mois	+/-	+	+	+	+	+	+	(Andorfer et al., 2003)

Cx : cortex ; H : hippocampe ; S : striatum ; C : cervelet ; T : thalamus ; ME : moelle épinière ; NOA : noyaux olfactifs antérieurs ; NS : noyaux septaux ; TC : tronc cérébral ; A : amygdale ; BO : bulbes olfactifs, P : pont ; MC : mésencéphale ; N : neurone ; OLG : oligodendrocytes ; A : astrocytes ; ND : non déterminé ; Hyp : hyper ; P° : phosphorylation

Tableau 3 : Les modèles murins transgéniques de tauopathie exprimant la protéine Tau mutée.

Adapté de Dujardin et al., 2015

	Isoforme/mutation	Distribution de tau	Protéine exogène	Tau	Spécificité cellulaire	Initiation des DNFs	P° Hyp/an	Fonction syn. altérée	Mort neuronale	Tau insoluble	DNF	Déficits moteurs	Déclin cognitif	Réf	
Tau (souris)	h2N4R	Cx, H	0.1-0.2x	N		-	+/+	ND	-	-	-	ND	-	(Hundelt et al., 2011)	
	h2N4RP301L	Cx, H, FF, A, ME, TC, S	0.7x	N		3 mois	+/+	ND	+	+	+	-	+	(Götz et al., 2001a)	
	h2N4RP301L	Cx, H, TC, T, A, C, ME	4x	N		6-7 mois	+/+	+	ND	+	+	+	+	(Terwel et al., 2005)	
	h2N4RP301L	Cx, H, TC, T, C, HT, ME	1-2x	N		2-8 mois	+/+	ND	+	+	+	+	ND	(Lewis et al., 2000)	
	h2N4RP301L	Cx, H, S, BO	13x	N		1 mois	+/+	ND	+	+	+	+	+	(SantaCruz, 2005)	
	h1N4RP301L	SNC, ME	ND	OLG		3-9 mois	ND/ND	ND	+	+	+	+	ND	(Higuchi et al., 2005)	
	h1N4RP301L	Cx, TC, T, ME	ND	N		12-24 mois	+/ND	ND	ND	+	+	+	+	(Dabir et al., 2006)	
	h0N4RP301L	CE, S, H, A,	ND	N		3 mois	+/+	ND	+	+	+	+	ND	(Calignon, 2012)	
	h0N4RP301L	ND	ND	N		ND	+/+	ND	ND	ND	+	+	ND	(Liu et al., 2012)	
	h1N4RP301S	Cx, H, TC, A, ME	5x	N		3-6 mois	+/+	+	+	+	+	+	+	(Yoshiyama et al., 2007)	
	h0N4RP301S	Cx, H, TC, ME	2x	N		5-6 mois	+/+	ND	+	+	+	+	+	(Allen et al., 2002)	
	h2N4RG272V	TC, ME, C, Cx, H	ND	N/OLG		-	+/+	ND	ND	+	-	-	-	ND	(Götz et al., 2001b)
	h2N4RN279K	Cx, T, HT, BO, GB, C, TC, ME	0.01x	N/A		13 mois	+/+	ND	+	-	+	+	+	+	(Dawson et al., 2007)
	h0N4RN279K	Cx, H, BO, S, D, C, TC	1.5x	N		-	+/ND	+	-	ND	+	+	+	+	(Taniguchi et al., 2005)
	h2N4RR406W	Cx, H, S, BO, T, C, ME, MC	1.8x	N		14-18 mois	+/+	+	ND	+	+	-	-	+	(Tatebayashi et al., 2002)
	h2N4RR406W	Cx, H, C, A, TC, ME	8-10x	N		12 mois	ND/ND	ND	ND	+	+	+	+	ND	(Zhang et al., 2004)
	h2N4RR406W	Cx, H, C, A, ME, T, BO, HT	0.8x	N		10 mois	+/+	ND	-	+	+	+	+	+	(Ikeda et al., 2005)
	h2N3RV337M	Cx, H, TC, S, C	ND	N		12 mois	ND/ND	ND	ND	+	+	+	-	+	(Lambourne et al., 2007)
	h2N4RV337M	Cx, H	0.1-0.7x	N		11 mois	+/+	+	ND	+	+	+	ND	+	(Tanemura et al., 2002)
	h1N4RK369I	Cx, H, GB	3x	N		ND	+/+	ND	+	+	+	+	+	+	(Ittner et al., 2008)
	h0N4RKK257TP301S	Cx, H, TC, ME	0.05-1x	N		6 mois	+/+	ND	ND	+	+	+	+	+	(Rosenmann et al., 2008)
	h1N4RG272VP301S	Cx, H, S, A, BO, ME	ND	N		3-6 mois	+/+	+	+	+	+	+	-	+	(Belarbi et al., 2011)
	h1N4RG272VP301S	Cx, H, TC, ME	ND	N		3 mois	+/+	ND	+	+	+	+	+	ND	(Leroy et al., 2007)
h2N4RG272VP301LR406W	Cx, H, S, ME	1-2.5x	N		ND	+/-	ND	ND	+	+	+	-	ND	(Lim et al., 2001)	
ΔK280	Cx, H, S, BO	0.7x	N		2-3 mois	+/+	+	+	+	+	+	ND	+	(Sydow et al., 2011b)	
h2N4RDK280	Cx, H, S, BO	1-3x	N		3 mois	+/+	+	-	+	+	+	-	+	(Eckermann et al., 2007)	
Tau/APP (souris)	h2N4RG272VP301LR406W/APP	ND	N		ND	+/ND	ND	+	+	+	+	ND	+	(Perez et al., 2008)	
	K670N-M671L														
	h2N4RP301L-APPV717I	ND	ND	N		6-7 mois	+/+	ND	ND	ND	+	-	+	(Terwel et al., 2008)	
	h2N3RV337M/APPV717I	Cx, H, TC, S, C	2x	N		12 mois	+/ND	ND	ND	ND	+	-	+	(Lambourne et al., 2005)	
	h2N4RP301L/APP ^{Swe}	Cx, H, TC, T, C, HT, ME, A, CE, BO, S	1-2x	N		3-6 mois	+/+	ND	ND	+	+	+	ND	(Lewis et al., 2001)	
	h0N4RP301L/APP ^{Swe} /PS1M146V	Cx, H, T, HT, BO	2-6x	N		12 mois	+/+	+	ND	ND	+	ND	+	(Oddo et al., 2003)	
	h2N4RP301L/APP ^{Swe} /PS2	ND	ND	N		-	+/ND	ND	-	ND	+	-	+	(Grueninger et al., 2010)	
Tau (rat)	4R-D151-391	Cx, H, TC, ME	3-5x	N		ND	+/ND	ND	-	+	+	+	+	(Zilka et al., 2006)	
	3R-D151-391	Cx, H, TC	3-4x	N		ND	+/+	ND	-	+	+	ND	ND	(Filipcik et al., 2012)	
	h2N4RP301L	Cx, H, C, ME	ND	N		-	+/ND	ND	-	+	-	-	-	(Korhonen et al., 2011)	

Cx : cortex ; H : hippocampe ; FF : fornix fimbriae ; S : striatum ; C : cervelet ; T : thalamus ; ME : moelle épinière ; TC : tronc cérébral ; A : amygdale ; BO : bulbes olfactifs ; CE :

cortex enthorinal ; HT : hypothalamus ; GB : ganglions basaux ; D : diencephale ; MC : mésencéphale ; N : neurone ; OLG : oligodendrocytes ; A : astrocytes ; ND : non déterminé ;

Hyp : hyper ; P° : phosphorylation

3. La neuroinflammation dans la MA : les acteurs et leurs mécanismes

a. Les principaux acteurs cellulaires de la neuroinflammation

La microglie

Les cellules microgliales sont les cellules immunitaires résidentes du système nerveux central. Elles représentent 5 à 12% de la population cellulaire dans le cerveau adulte de la souris (Lawson et al., 1990), et 0,5 à 16,6% chez l'Homme (Mittelbronn et al., 2001), en fonction de la région anatomique considérée. Ces cellules proviennent de précurseurs hématopoïétiques primitifs du sac vitellin qui apparaissent avant le jour 8 de la vie embryonnaire, pour la souris (Alliot et al., 1999; Ginhoux et al., 2010). De nombreuses études ont montré qu'au cours de la vie, la population de cellules microgliales est maintenue très majoritairement par prolifération alors que les monocytes périphériques circulants contribuent à la population microgliale uniquement en conditions pathologiques (Ginhoux et al., 2010). Dans le cerveau sain, ces cellules présentent un petit soma et des ramifications longues, fines et mobiles leur permettant de surveiller leur micro-environnement. Même si ces cellules ont souvent été décrites comme étant dans un état de repos, en quiescence, des études utilisant l'imagerie 2-photons ont montré que la microglie surveille de manière constante le parenchyme cérébral en étendant et rétractant ses ramifications dans un domaine d'environ $80\mu\text{m}^3$ (Nimmerjahn et al., 2005). Leurs ramifications sont au contact des neurones, des astrocytes, et des vaisseaux sanguins et surveillent en permanence l'état fonctionnel des synapses.

Dans un état physiologique, les cellules microgliales sont un élément indispensable à la maintenance et la plasticité des circuits neuronaux (Ginhoux et al., 2010; Paolicelli et al., 2014). Elles contribuent à la protection et au remodelage des synapses en phagocytant les épines dendritiques qui ne reçoivent pas de signaux de contacts synaptiques (Ji et al., 2013). Ce mécanisme d'élimination synaptique peut être altéré en conditions pathologiques ce qui aboutit à une perte synaptique anormale médiée par la microglie (Hong et al., 2016).

Un des rôles majeurs de la microglie est sa fonction de phagocytose. Ce mécanisme concerne les corps apoptotiques, les débris cellulaires, ou encore les particules exogènes (Fu et al., 2014). Ces cellules peuvent aussi initier la mort des cellules environnantes par un mécanisme appelé « phagoptose » (Brown and Neher, 2014), c'est-à-dire la phagocytose de cellules stressées mais encore vivantes. Ce mécanisme

pourrait avoir des effets délétères dans les maladies neurodégénératives en amorçant la phagocytose de neurones viables (Kao et al., 2011).

Pour une revue plus détaillée des rôles de la microglie, se référer à Colonna and Butovsky, 2017 ainsi que Salter and Stevens, 2017.

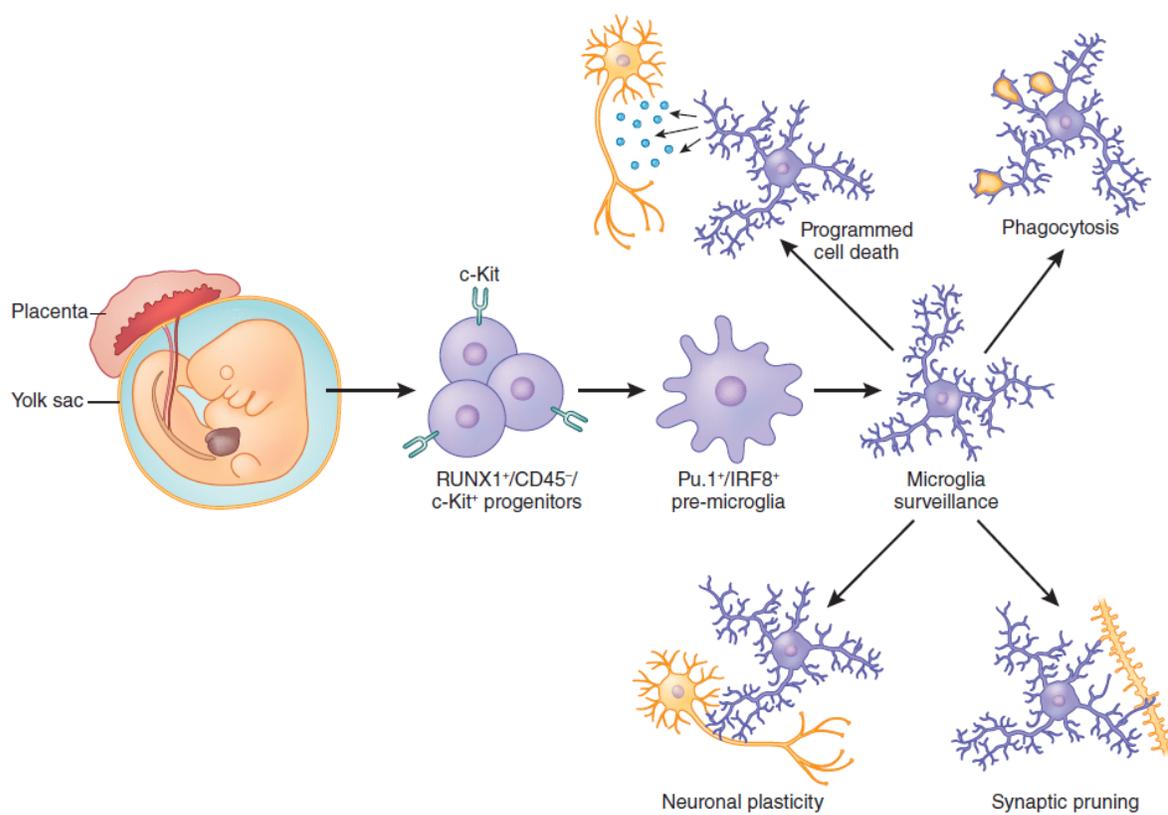


Figure 9 : Ontologie de la microglie et illustration de ses rôles physiologiques dans le CNS.

La microglie provient de progéniteurs myéloïdes du sac vitellin et entre dans le SNC à un stade précoce du développement embryonnaire (jour 8 de la vie embryonnaire pour la Souris). La microglie est impliquée dans le développement du cerveau ainsi que l'homéostasie du SNC, en particulier en ce qui concerne la mort programmée des cellules et la clairance des neurones en apoptose, et la phagocytose des axones et des synapses. D'après Salter and Stevens, 2017.

Dans la MA, l'activation microgliale est caractérisée par des changements morphologiques (un élargissement du corps cellulaire et un rétrécissement des prolongements cytoplasmiques qui deviennent plus épais et moins ramifiés), mais aussi par des changements transcriptionnels (une augmentation de la production de cytokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires) (Dickson et al., 1993; Heneka and O'Banion, 2007). Ces cellules ainsi activées peuvent capturer l'A β soluble par pinocytose (Mandrekar et al., 2009) ou les fibrilles d'A β par phagocytose (D'Andrea et al., 2004). Ces

cellules jouent donc un rôle critique dans la clairance du peptide A β (Bolmont et al., 2008). *A contrario*, il existe beaucoup moins d'études sur les relations entre Tau et la microglie. En effet, la microglie est historiquement associée aux plaques amyloïdes, c'est pourquoi les chercheurs se sont principalement concentrés sur le rôle que pouvait jouer la microglie sur la pathologie amyloïde. La localisation des inclusions de Tau, intracellulaire, contrairement aux plaques amyloïdes, a de même certainement conforté l'idée d'étudier la microglie dans un contexte amyloïde.

Cependant, outre la pathologie amyloïde, la présence de microglie dans un état activé est détectée au niveau de neurones atteints par la pathologie Tau dans des cerveaux de patients atteints de tauopathies telles que la DFT, la PSP et la DCB (Gerhard et al., 2004; Ishizawa and Dickson, 2001). Ainsi, la pathologie Tau peut à elle seule engendrer une réponse inflammatoire des cellules microgliales.

Les cellules microgliales impliquées ont-elles une origine locale ou périphérique ?

Une des questions actuelles est de savoir si les cellules myéloïdes impliquées sont des cellules microgliales résidentes d'origine locale, ou des monocytes circulants d'origine périphérique. En effet, dans certaines conditions, les cellules myéloïdes d'origine périphérique peuvent pénétrer dans le système nerveux central (Ajami et al., 2007; Prinz and Mildner, 2011). Dans la MA, environ 60% des patients auraient une barrière hémato-encéphalique (BHE) endommagée (Algotsson and Winblad, 2007; Bowman et al., 2007) ce qui pourrait favoriser cette pénétration.

Les macrophages nouvellement recrutés pourraient être plus efficaces que la microglie résidente dans la résolution de la pathologie amyloïde (Malm et al., 2010). Une autre équipe a montré que les cellules circulantes monocytaires pouvaient être responsables de la phagocytose et la dégradation des plaques amyloïdes dans un modèle transgénique murin de la MA (Simard et al., 2006). De plus, ces macrophages périphériques semblent efficaces pour la phagocytose de peptides A β synthétiques (Fiala et al., 2005). Pour étudier *in vivo* l'effet de ces monocytes périphériques sur la pathologie amyloïde, plusieurs équipes ont bloqué le recrutement de ces monocytes périphériques au niveau du cerveau par ablation génétique de *Ccr2*, qui code pour un récepteur à chimiokine responsable de ce recrutement. L'ablation de *Ccr2* dans deux modèles amyloïdes a entraîné une diminution du recrutement des cellules monocytaires périphériques ainsi qu'une accélération de la pathologie amyloïde (El Khoury et al., 2007; Naert and Rivest, 2011). De même, une augmentation du recrutement des cellules myéloïdes au niveau du SNC par la surexpression spécifique de TGF β dans les populations périphériques a permis d'augmenter l'élimination des dépôts amyloïdes (Town et al., 2008). Une autre étude a montré qu'une augmentation

de l'infiltration cérébrale de monocytes entraîne une diminution de la progression de la pathologie dans deux modèles de MA, par des mécanismes impliquant une augmentation de la capture cellulaire et de la dégradation enzymatique d'A β ainsi que de la régulation de la neuroinflammation (Koronyo et al., 2015). De plus, après ablation de la microglie résidente dans les modèles amyloïdes APP/PS1 et APP23, il a été montré que le recrutement des cellules myéloïdes d'origine périphérique était insuffisant pour nettoyer la charge amyloïde (Prokop et al., 2015; Varvel et al., 2015).

Les résultats semblent donc contradictoires quant à l'implication des macrophages d'origine périphérique par rapport à la microglie centrale dans l'évolution de la pathologie amyloïde. D'autres études remettent par ailleurs en cause l'hypothèse d'une infiltration des monocytes périphériques lors du développement de la pathologie. Une stratégie pour réfuter cette hypothèse a été d'utiliser un modèle de parabiose, qui consiste à connecter le système circulatoire de deux souris, dans ce cas une souris sauvage exprimant un marqueur spécifique au niveau des cellules de la lignée myéloïde, et des souris modèles de la MA, APP/PS1 et 5xFAD. Dans ce type d'expérience, les chercheurs n'ont montré aucune évidence d'infiltration de monocytes autour des plaques amyloïdes (Y. Wang et al., 2016), suggérant que la microglie endogène est la seule source des cellules myéloïdes retrouvée à proximité des plaques amyloïdes. Ces résultats nécessitent confirmation, en utilisant notamment d'autres modèles de MA, à des temps plus tardifs.

Comme c'est le cas pour la microglie, le rôle des monocytes circulants a été très peu étudié dans un contexte de tauopathie. A notre connaissance, seule une étude *in vivo* a été publiée sur ce sujet. Cette étude met en évidence une réduction de l'hyperphosphorylation de Tau suite à une déficience en *Ccr2*, dans un modèle de traumatisme crânien (Gyoneva et al., 2015). Il a par ailleurs été montré *in vitro* que les monocytes périphériques dérivés de macrophages ainsi que des macrophages immortalisés étaient plus efficaces dans la phagocytose de formes oligomériques de Tau par rapport à des cellules microgliales primaires ou immortalisées (Majerova et al., 2014).

Les astrocytes

Les astrocytes jouent un rôle prépondérant dans le processus de neuroinflammation qui survient au cours des maladies neurodégénératives. En condition physiologique, les astrocytes ont un rôle essentiel dans l'activité et la survie neuronale en assurant différentes fonctions telles que la régulation de la synaptogenèse, l'angiogenèse, ainsi que la régulation du métabolisme énergétique et de la transmission synaptique (Bélanger and Magistretti, 2009). Dans le cerveau de patients atteints de la MA, les

astrocytes sont associés avec les dépôts amyloïdes, que ce soit dans des tissus humains post-mortem de patients atteints de la MA (Medeiros and LaFerla, 2013) ou dans des modèles animaux (Olabarria et al., 2010), suggérant que ces lésions génèrent des molécules chimio-attractives qui permettent le recrutement et l'activation astrocytaire. Les astrocytes deviennent alors réactifs, phénotype caractérisé par une hypertrophie du soma et des prolongements cytoplasmiques ainsi qu'une surexpression des protéines des filaments intermédiaires telles que la GFAP (pour Glial Fibrillary Acidic Protein) et la vimentine (cf. Liddelow et Ben Barres pour revue sur les astrocytes réactifs). Tout comme la microglie, les astrocytes réactifs libèrent et produisent des cytokines et des chimiokines, des interleukines, de l'oxyde nitrique et d'autres molécules potentiellement cytotoxiques, qui peuvent elles-mêmes exacerber la neuroinflammation. Récemment, Liddelow et coll. ont proposé une classification des astrocytes, à l'instar de celle réalisée pour les macrophages par Murray et coll. (Liddelow et al., 2017; Murray et al., 2014). Selon Shane Liddelow, les astrocytes réactifs peuvent être divisés en deux classes : les astrocytes A1 qui surexpriment notamment des gènes associés à la cascade du complément et qui sont donc potentiellement considérés comme délétères, en opposition aux astrocytes A2 qui surexpriment des facteurs neurotrophiques et sont considérés comme neuroprotecteurs (Liddelow et al., 2017). La microglie activée serait impliquée dans l'induction du phénotype astrocytaires A1 suite à la sécrétion d'IL1 α , de TNF α et de C1q (Liddelow and Barres, 2017)(Figure 10). Il est à noter qu'aujourd'hui, la classification M1/M2 des macrophages est nuancée et qu'il est maintenant reconnu que la microglie présente un continuum d'état d'activation entre ces deux extrêmes (Martinez and Gordon, 2014; Ransohoff, 2016), nous pourrions dès lors nous demander si la classification A1/A2 des astrocytes ne prendra pas la même orientation.

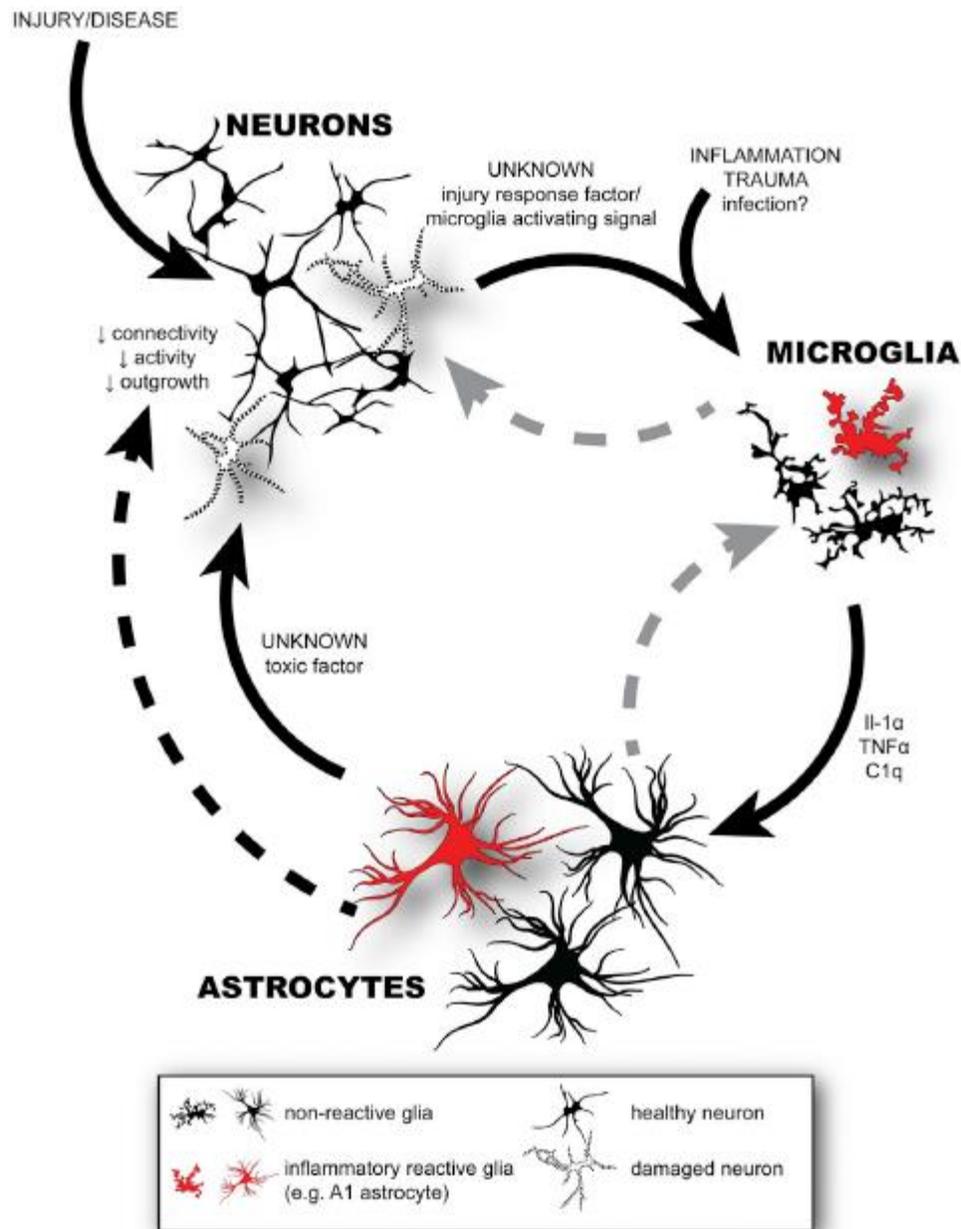


Figure 10 : Un modèle possible de neurotoxicité impliquant une boucle microglie-astrocytes-neurones.

Les neurones endommagés peuvent sécréter des facteurs à l'origine de l'activation de la microglie. Cela entraîne la libération par la microglie de facteurs activant les astrocytes (IL1 α , TNF α et C1q), qui sécrètent alors à leur tour des neurotoxines délétères. D'après Liddelow and Barres, 2017.

Rôle de la réponse immunitaire adaptative

Le système immunitaire adaptatif est composé des lymphocytes B et T. En fonction de la réponse impliquée, les lymphocytes peuvent donc être divisés en deux classes : les lymphocytes B, qui initient la réponse humorale, et les lymphocytes T qui sont responsables de la réponse cellulaire. Dans des conditions normales, les cellules du système adaptatif ne sont pas présentes dans le parenchyme cérébral, contrairement au cas de maladies neurodégénératives. La réponse immunitaire adaptative, en particulier l'infiltration cérébrale de cellules T, a été observée chez des patients atteints de la MA, et a été principalement étudiée dans un contexte amyloïde (Marsh et al., 2016; Rogers et al., 1988; Togo et al., 2002). La pathologie Tau a quant à elle été moins étudiée dans ce contexte. Nous savons cependant qu'il existe une corrélation positive entre le nombre de cellules T CD3+ dans le parenchyme de patients atteints de la MA et la phosphorylation de Tau (Zotova et al., 2013). De plus, les patients atteints de la MA présentent un niveau de cellules T CD8+ HLA-DR+ plus élevé dans leur LCR, qui est associé avec des changements structuraux observés par IRM ainsi qu'une détérioration cognitive, ce qui suggère un effet délétère de l'infiltration des cellules T (Lueg et al., 2015). Il a de plus été récemment mis en évidence que l'infiltration de cellules lymphocytaires T favorise la réponse neuroinflammatoire et le déclin cognitif dans le modèle THY-Tau22 (Laurent et al., 2017). Cette étude met en évidence la présence de cellules T CD8+ dans l'hippocampe des souris THY-Tau22, et que la déplétion en cellules T par un anticorps CD3 reverse les déficits de mémoire spatiale retrouvés dans ce modèle, sans avoir d'effet sur la pathologie Tau.

b. La neuroinflammation microgliale est-elle bénéfique ou délétère ?

Rôle contradictoire de la neuroinflammation dans la MA.

Une question majeure dans le cadre de l'étude de la neuroinflammation dans la MA est de savoir si ce phénomène joue un rôle délétère ou à l'inverse bénéfique dans le développement de la maladie.

En 1990, une étude épidémiologique menée par Patrick McGeer a montré que l'usage chronique d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pouvait provoquer une diminution de la prévalence de la MA chez les patients (McGeer et al., 1990), confirmé par la suite par d'autres études épidémiologiques (Vlad et al., 2008). Cette étude a entraîné la mise en place de nombreux essais cliniques prospectifs de molécules anti-inflammatoires administrées à des patients atteints par la MA, se soldant tous par des résultats négatifs (Jaturapatporn et al., 2012; Miguel-Álvarez et al., 2015). Ainsi, nous pouvons penser que les

thérapies anti-inflammatoires semblent efficaces pour la prévention de l'apparition de la MA, mais perdent leur bénéfice chez des patients symptomatiques. Cela implique que le phénomène de neuroinflammation impacte différemment la pathologie selon le stade considéré.

A l'inverse, une autre théorie suggère que la neuroinflammation est bénéfique dans un premier temps. Elle permettrait notamment la phagocytose des plaques amyloïdes par la microglie. Une étude clinique récente appuie cette hypothèse, et montre que l'activation microgliale apparaît au stade prodromal et probablement au stade préclinique de la MA, et semble jouer un rôle protecteur dans la progression clinique à un stade précoce de la maladie (Hamelin et al., 2016). Cependant, durant le développement de la maladie, la microglie pourrait perdre cet effet bénéfique en acquérant un phénotype toxique en raison de son activation chronique, et continue alors de produire des médiateurs pro-inflammatoires tels que le TNF- α , le NO, l'IL-1 β et les ROS (Lull and Block, 2010; Figure 10). Pour appuyer cette hypothèse, il a été observé dans le modèle amyloïde 5xFAD une perte de 25% des neurones du subiculum, et cette perte neuronale a pu être entièrement prévenue par l'élimination de la microglie (Spangenberg et al., 2016). De même l'inactivation du gène *Cx3cr1*, dont la protéine est, entre autres fonctions, largement impliquée dans la survie des monocytes (pour revue, Paolicelli et al., 2014), prévient la perte neuronale dans le modèle 3xTg (Fuhrmann et al., 2010), suggérant que ces cellules microgliales sont impliquées dans la perte de neurones dans la MA. Plus récemment, il a été mis en évidence que les cellules microgliales activent un complexe protéique appelé inflammasome, en réponse aux plaques A β , impliqué dans la pathogenèse de la MA en entraînant une escalade de l'inflammation et la libération d'un facteur appelé « apoptosis- associated speck- like protein containing a CARD », qui peut à son tour initier la formation de nouvelles plaques (Heneka et al., 2013; Venegas et al., 2017). De plus, une sur-activation durant les phases précoces de la MA peut entraîner une phagocytose des synapses trop importante et ainsi aboutir à des déficits cognitifs (Hong et al., 2016). Outre le fait d'acquérir un phénotype cytotoxique, la microglie pourrait perdre en partie sa capacité de phagocytose au cours de la pathologie. Il a en effet été montré que des cytokines pro-inflammatoires atténuent la phagocytose microgliale après stimulation par des fragments d'A β (Koenigsknecht et al., 2005).

Au-delà des variations liées au stade de la pathologie, la complexité des cellules microgliales impliquées dans ces processus pathologiques, qui a été mise en évidence récemment, peut aussi expliquer les rôles différentiels de ces cellules. Les équipes de Ido Amit et Michal Schwartz ont en effet montré l'hétérogénéité et la complexité des cellules microgliales impliquées dans la MA par une méthode de RNA-seq sur cellule unique, qui a notamment permis de mettre en évidence une population de cellules, baptisées *Disease-Associated Microglia* ou DAM, potentiellement protectrices (Keren-Shaul et al., 2017,

pour revue, Deczkowska et al., 2018). Ces cellules, retrouvées principalement autour des plaques amyloïdes dans un modèle murin transgénique de la MA, expriment des marqueurs microgliaux typiques telles que *Iba1*, *Cst3* et *Hexb*, et régulent négativement des gènes microgliaux homéostatiques tels que *P2ry12*, *P2ry13*, *Cx3cr1* (*C-X3-C motif chemokine receptor 1*), *CD33* et *Tmem119* (*Transmembrane protein 119 precursor*)(Figure 11). L'équipe d'Oleg Butovsky a de même mis en évidence un phénotype microglial lié à la neurodégénérescence, caractérisé par une perte de signature homéostatique des cellules microgliales. La voie de signalisation impliquée serait dépendante de TREM2 mais aussi APOE (Krasemann et al., 2017). Une autre étude menée par Bart de Strooper a montré qu'une exposition à A β dans le modèle murin App^{NL-G-F} potentialise une réponse microgliale retrouvée lors du vieillissement normal. Cette réponse microgliale est hétérogène et comprend de potentiels sous-types synaptotoxiques (Sala Frigerio et al., 2019).

C'est cette complexité des cellules microgliales qui pourrait, au moins en partie, expliquer les résultats *a priori* contradictoires retrouvés dans les différentes études citées précédemment.

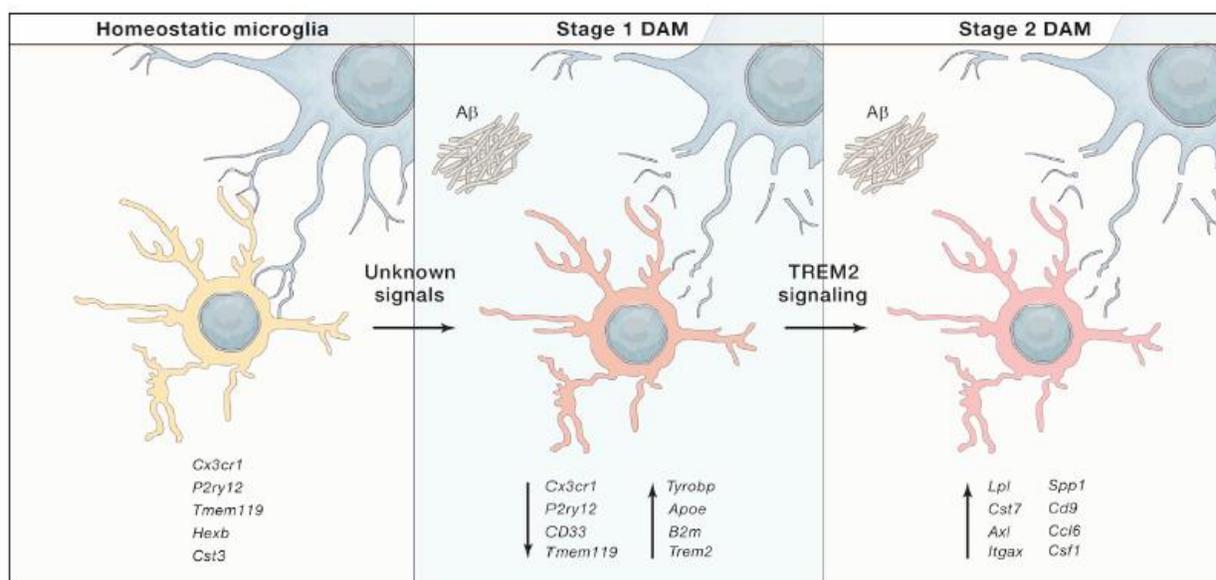


Figure 11 : Les « DAM », ou microglie associée au processus de neurodégénérescence.

Illustration schématisant des stades d'activation des DAM. Chaque stade se caractérise par une modulation de l'expression de multiples gènes dont les gènes clés sont présentés ici. Le premier stade d'activation est indépendant de TREM2, alors que le deuxième stade d'activation est dépendant de TREM2. D'après Deczkowska et al., 2018.

Concernant la composante tauopathique de la MA, l'administration de lipopolysaccharide (LPS), déclencheur d'une neuroinflammation aiguë, entraîne une augmentation importante de la tauopathie dans le modèle transgénique Tg4510 (Lee et al., 2010). Une exacerbation de la tauopathie a aussi été

observée lors de l'administration systémique de LPS dans le modèle 3xTg (sans aucun effet sur la pathologie amyloïde) (Kitazawa et al., 2005). De même, la surexpression de l'IL-1, une cytokine pro-inflammatoire, dans le prosencéphale du modèle 3xTg a provoqué l'augmentation de la pathologie Tau (Ghosh et al., 2013). Ces résultats sont en accord avec une étude *in vitro* montrant que l'IL-1 entraîne la phosphorylation de Tau (Gorlovoy et al., 2009; Li et al., 2003). Par ailleurs, l'équipe de Bhaskar a mis en évidence qu'une activation microgliale par administration de LPS accélérerait significativement la pathologie Tau dans le modèle murin de tauopathie hTau. Une déficience en CX3CR1, qui est le récepteur à la fractalkine et est impliqué dans la communication entre microglie et neurones, entraîne de plus une augmentation de la pathologie Tau ainsi que des déficits cognitifs dans ce modèle (Bhaskar et al., 2010; Maphis et al., 2015). A l'inverse, une surexpression de la fractalkine dans le modèle rTg4510 entraîne une réduction de la pathologie Tau (Nash et al., 2013).

L'influence de la neuroinflammation semble donc en opposition entre la pathologie amyloïde et la tauopathie. Alors que l'induction de la neuroinflammation serait bénéfique dans un stade précoce de la pathologie amyloïde, elle pourrait être à l'inverse délétère dans un contexte de tauopathie.

La question du rôle bénéfique ou à l'inverse délétère de la neuroinflammation dans la MA a donc de multiples réponses selon les critères choisis, à savoir le stade de la pathologie (précoce ou tardif) et le type de marqueur (pathologie amyloïde ou tau) considérés. L'étude de la complexité des cellules microgliales ainsi que la découverte récente des DAM pourraient permettre de mieux comprendre le rôle de ces cellules dans le développement de la MA.

La microglie est-elle impliquée dans la propagation de la protéine Tau pathologique ?

Heiko Braak a montré que la tauopathie présente une progression spatio-temporelle caractéristique (Braak and Braak, 1991). La microglie est capable de phagocyter les formes solubles ainsi que les formes insolubles de Tau (Asai et al., 2015; Bolós et al., 2016; Luo et al., 2015). Une fois phagocytée, la protéine Tau peut être dégradée (Luo et al., 2015) ou sécrétée par des vésicules d'exocytoses appelées exosomes (Asai et al., 2015; Saman et al., 2012). La microglie pouvant à la fois capter et sécréter la protéine Tau, nous pouvons imaginer que ces cellules aient un rôle dans la propagation de la tauopathie dans le cerveau. Cette hypothèse a été étudiée par une équipe ayant développé un modèle de propagation de Tau par injection de rAAV dans le cortex entorhinal médian. Ce modèle permet la surexpression de la protéine Tau humaine P301L et aboutit à la propagation de la protéine Tau du cortex entorhinal médian à la couche granulaire du gyrus denté dès 4 semaines suivant le transfert de gène (Asai et al., 2015).

Cette étude montre que l'élimination de la microglie entraîne un arrêt de la propagation de Tau. Elle montre de plus que l'inhibition de la synthèse d'exosomes dans une culture primaire de microglie entraîne une réduction de la transmission de Tau de la microglie aux neurones (Asai et al., 2015), mettant en évidence le rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau. Cependant, les modalités de la phagocytose de Tau par la microglie demeurent inconnues, même si les auteurs proposent un mécanisme de « phagoptose », un type de mort cellulaire par phagocytose qui a récemment été associé à la microglie (Brown and Neher, 2014).

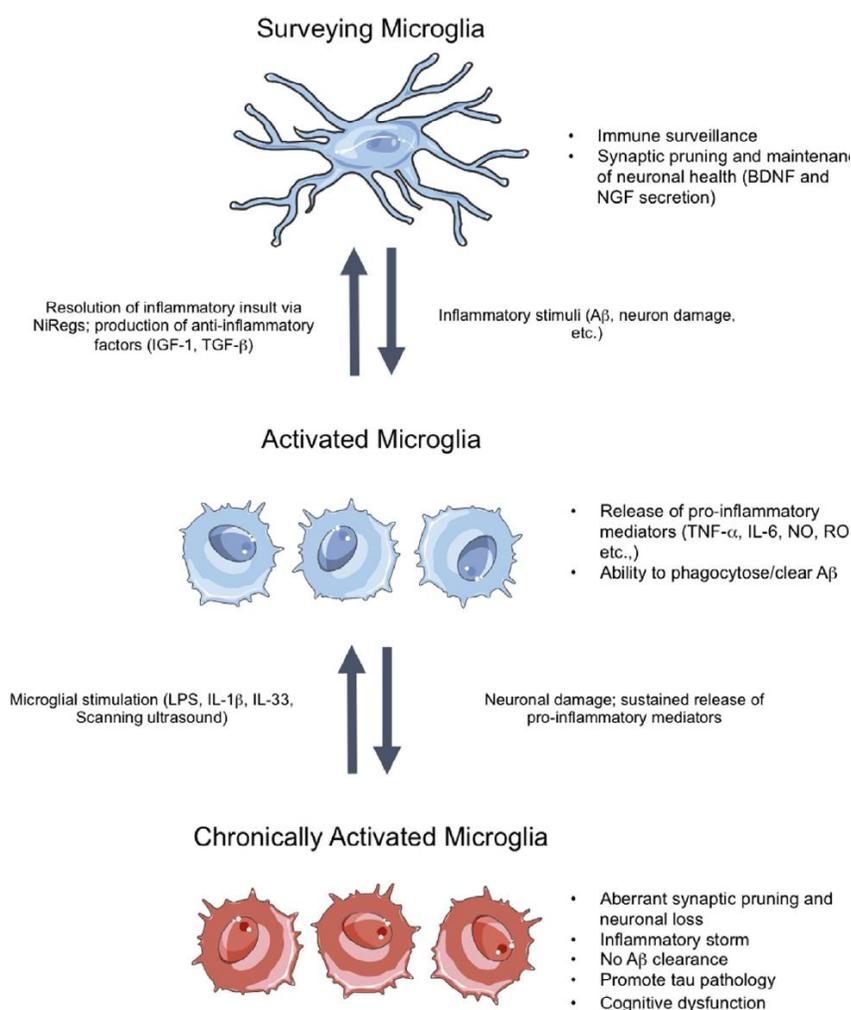


Figure 12 : Schéma de l'activation aiguë et chronique de la microglie dans le contexte de la MA.

Dans son état de surveillance, la microglie analyse de manière dynamique la composition du parenchyme cérébral. Une perturbation de l'homéostasie du cerveau provoque l'activation de la microglie. Dans cet état actif, la microglie libère des médiateurs pro-inflammatoires afin de recruter d'autres cellules et de phagocyter l'élément en cause. Lorsque l'anomalie est résolue, la microglie sécrète des facteurs anti-inflammatoires pour favoriser la réparation des tissus. Dans les maladies neurodégénératives, la libération de facteurs pro-inflammatoires de façon chronique et l'augmentation de la mort neuronale aboutissent à un état d'activation chronique de la microglie, délétère dans la progression de la pathologie. D'après Spangenberg et al., 2016.

c. La neuroinflammation est-elle une cause ou une conséquence de la MA ?

Nous venons d'exposer que la chronologie de la neuroinflammation dans la progression de la maladie est importante pour l'évolution de la pathologie. En effet, ce phénomène apparaît précocement au cours de la pathologie et a un impact sur son développement. Une autre question majeure est alors de savoir si la neuroinflammation ne pourrait pas être une cause plutôt qu'une conséquence de la maladie.

Certaines études montrent que les modifications de l'état inflammatoire se produisent avant l'apparition des plaques amyloïdes (Ferretti et al., 2012; Heneka et al., 2005; Wright et al., 2013). La stimulation du système immunitaire dans des souris prénatales avec un mimétique viral, l'acide polyinosinic-polyribocytidilic, suivi d'une réactivation immunitaire à l'âge adulte, est suffisant pour induire le développement d'une forme sporadique de la MA, caractérisée par des dépôts amyloïdes ainsi qu'une hyperphosphorylation et une agrégation de la protéine Tau, des déficits de la mémoire de travail, et une activation microgliale chronique (Krstic et al., 2012). Cette étude met en évidence qu'une activation du système immunitaire de manière très précoce est un facteur suffisant pour déclencher le développement de la MA. De plus, l'activation microgliale précède l'agrégation de Tau dans le modèle souris P301S de tauopathie (Yoshiyama et al., 2007). A l'inverse, l'induction d'une inflammation systémique par administration d'un ligand du TLR-4, le lipopolysaccharide (LPS), induit l'hyperphosphorylation de Tau dans le modèle transgénique 3xTg de la maladie d'Alzheimer par un mécanisme dépendant de la kinase CDK5 (Kitazawa et al., 2005). Ce même auteur a montré que le blocage ou à l'inverse l'activation de la voie de signalisation de l'IL1 entraînait respectivement une atténuation ou une exacerbation de la pathologie Tau (Kitazawa et al., 2011). Ainsi, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telle que l'IL1 β favorise la pathologie Tau. A l'inverse, réduire la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires par administration de minocycline provoque une réduction de la pathologie Tau (Garwood et al., 2010; Noble et al., 2009).

Ces différentes études suggèrent que l'inflammation est partie prenante dans l'induction de la pathologie Tau.

Par ailleurs, la pathologie Tau seule peut induire une activation du système neuroinflammatoire. En effet, il a été montré dans différents modèles transgéniques de tauopathie que les processus

neuroinflammatoires sont activés dans des zones cérébrales dans lesquelles il n'y a pas encore de mort neuronale (Bellucci et al., 2004; Laurent et al., 2017). Dans ces différents modèles, la neuroinflammation survient avant l'apparition de la dégénérescence neurofibrillaire, laissant supposer que ce sont les formes oligomériques solubles de Tau qui sont à l'origine de ces réponses inflammatoires (Yoshiyama et al., 2007). Il a de plus été montré que la protéine Tau mal-conformée et tronquée peut, en culture primaire, induire la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires via les voies MAPK et NFκB (Kovak et al., 2011). Cela contribuerait alors à alimenter le cercle vicieux entre la neuroinflammation et la pathologie Tau (Figure 13).

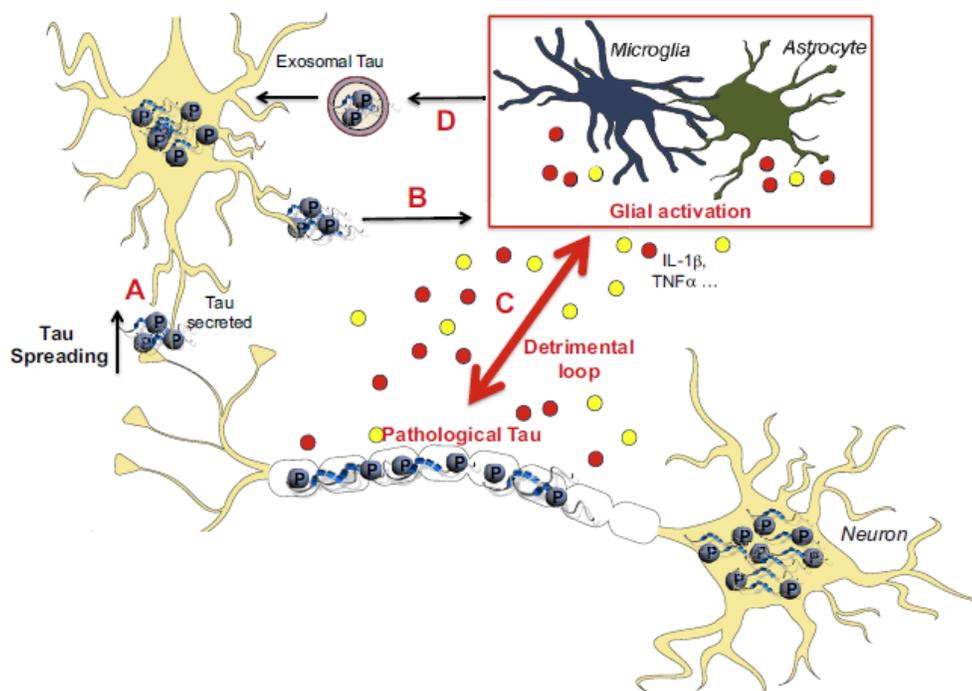


Figure 13 : Le cercle vicieux entre la réponse immunitaire innée et la pathologie Tau.

Les espèces pathologiques hyperphosphorylées de Tau peuvent être sécrétées au niveau extracellulaire, expliquant la propagation progressive de la tauopathie. De plus, cela promeut l'activation microgliale et astrocytaire, qui entraîne le relargage de cytokines ou de molécules inflammatoires neurotoxiques telles que l'IL1-β et le TNFα. Par une modulation des kinases de Tau (p38, CDK5,...), l'activation gliale augmente la pathologie Tau, perpétuant le cercle vicieux. La microglie serait aussi impliquée dans la propagation de Tau en relarguant des exosomes contenant Tau. Adapté de Laurent et al., 2018.

L'hypothèse d'une fonction microgliale compromise comme contributeur de la pathogenèse de la MA est appuyée par la publication récente d'études pangénomiques (GWAS). Ces études ont permis d'identifier différents polymorphismes mononucléotidiques (*Single Nucleotide Polymorphisms* ou SNPs) qui confèrent un risque accru de développer la MA, et qui impliquent de nombreux gènes associés à la fonction microgliale, tels que *CD33*, *CR1* ou encore *CLU* (Malik et al., 2015).

Parmi ces facteurs de risque, le gène *TREM2* (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2) a été particulièrement mis en avant ces dernières années dans la recherche sur la MA. Deux études récentes ont en effet mis en évidence une association entre les polymorphismes de ce gène et la maladie, particulièrement concernant le polymorphisme R47H (Guerreiro et al., 2013b; Jonsson et al., 2013).

4. Les rôles du récepteur microglial *TREM2* dans les maladies neurodégénératives

a. *TREM2* : son implication dans les maladies neurodégénératives

Initialement, certains polymorphismes de *TREM2* furent identifiés comme cause génétique d'une maladie orpheline appelée ostéodysplasie polykystique lipomembraneuse avec leucoencéphalopathie sclérosante (PLOSL) ou plus communément maladie de Nasu Hakola (NH) (Paloneva et al., 2002). Cette maladie, découverte en 1972 par le japonais Nasu Hakola (Hakola, 1972), est une leucodystrophie héréditaire rare se caractérisant par une démence présénile progressive ainsi que par des lésions osseuses polykystiques entraînant des fractures osseuses récurrentes au niveau des extrémités supérieures et inférieures (Kaneko et al., 2010). D'un point de vue neuropathologique, les patients atteints par cette maladie présentent une dégénérescence axonale, une atrophie corticale ainsi qu'une perte de matière blanche associées à une réponse inflammatoire exacerbée caractérisée par une astrocytose et une microgliose (Sato et al., 2011). Ces patients sont homozygotes pour des variants de *TREM2* ou de son adaptateur intracellulaire *DAP12* provoquant des pertes totales de fonction des protéines *TREM2* ou *DAP12*.

Depuis la découverte de l'association de variants de *TREM2* avec le syndrome de NH par Paloneva et coll. en 2002, de nombreuses études ont par la suite mis en évidence le rôle de *TREM2* comme facteurs de risque dans d'autres maladies neurodégénératives. Ainsi, deux études ont en 2013 mis en avant l'implication du polymorphisme R47H de *TREM2* dans la MA (Guerreiro et al., 2013b; Jonsson et al., 2013). Celui-ci est associé aux formes sporadiques de la MA. Même si, dans la population étudiée, la fréquence de ce variant est rare (de l'ordre de 0.63%), il confère un risque similaire à celui induit par l'allèle $\epsilon 4$ du gène *APOE*, le facteur de risque le plus important concernant les formes sporadiques de la MA (Guerreiro et al., 2013c; Jonsson et al., 2013; Figure 14). L'étude des variants de *TREM2* comme cause potentielle d'autres maladies neurodégénératives a dès lors connu un fort engouement. Il a ainsi été montré qu'un accroissement des risques de développer la maladie de Parkinson (Liu et al., 2016;

Rayaprolu et al., 2013), la sclérose latérale amyotrophique ou SLA (Cady et al., 2014) ainsi que les démences fronto-temporales (Borroni et al., 2014; Redaelli et al., 2018) est également lié aux polymorphismes de ce gène. Cependant, ces résultats sont encore controversés concernant la maladie de Parkinson et la SLA (Lill et al., 2015; Mengel et al., 2016).

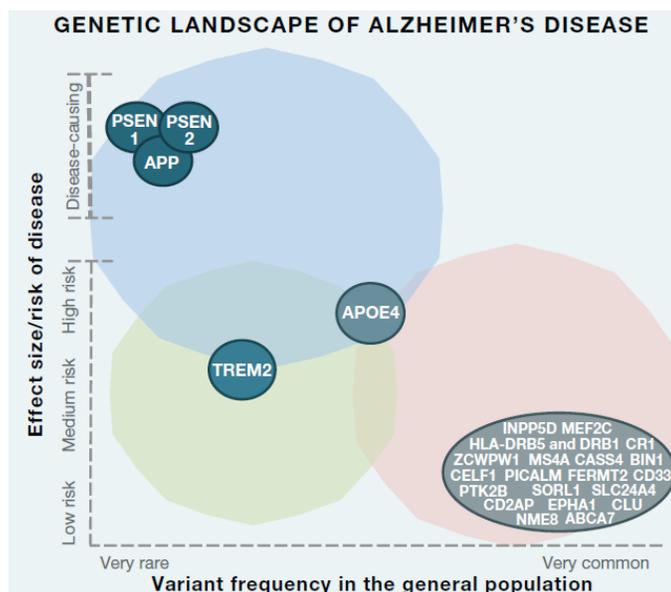


Figure 14 : Génétique de la MA.

Les différents gènes et *loci* associés au développement de la MA. En bleu sont représentés les analyses de liaison génétique de cas familiaux, en orange les variants communs entraînant un risque faible de développer la maladie et en vert le premier variant rare avec un risque intermédiaire de développer la maladie. D'après Guerreiro et al., 2013a.

b. TREM2 : généralités

Les récepteurs TREMs sont des glycoprotéines transmembranaires de la super famille des immunoglobulines. Ils possèdent un domaine « immunoglobulin like » en position N-terminale, un domaine transmembranaire et une courte queue intracellulaire en position C-terminale (Colonna, 2003; Paradowska-Gorycka and Jurkowska, 2013).

Chez l'Homme, les gènes codant pour les TREMs se situent sur le chromosome 6p21 (Colonna, 2003), et sur le chromosome 13 chez la Souris. Ils permettent l'expression de plusieurs protéines TREM1, TREM2, TREM4, TREM5 ainsi que des protéines similaires à TREM, appelés « TREM like ». Nous nous intéresserons ici plus particulièrement au récepteur TREM2 qui est le sujet de cette étude.

L'expression de TREM2

TREM2 est exprimé par les cellules de la lignée myéloïde : les cellules dendritiques (Bouchon et al., 2001), les granulocytes (Hu et al., 2014), les macrophages dérivés des monocytes (Hu et al., 2014), les splénocytes (Takahashi et al., 2005), les cellules de Kupffer (Gonçalves et al., 2013), les macrophages alvéolaires (Koth et al., 2010) ainsi que les ostéoclastes (Paloneva et al., 2003). Dans le cerveau, TREM2 est exprimé très majoritairement par la microglie comme le confirme une étude transcriptomique (Hickman and El Khoury, 2014) ; cependant, une faible expression neuronale (Sessa et al., 2004) et oligodendrocytaire (Kiialainen et al., 2005) ont été rapportées par certaines études.

Son expression commence à partir de E14 dans le SNC de souris (Thrash et al., 2009) et se poursuit tout au long de la vie. L'expression de TREM2 varie en fonction des régions étudiées, TREM2 étant très exprimée dans la matière blanche (Forabosco et al., 2013), l'hippocampe (Forabosco et al., 2013; Sessa et al., 2004) et la moelle épinière (Paloneva et al., 2002; Sessa et al., 2004). Cela pourrait s'expliquer par la forte densité de cellules microgliales dans ces régions (Forabosco et al., 2013).

Les modifications post-traductionnelles de TREM2

La protéine TREM2 subit au cours de sa maturation des modifications post-traductionnelles telles que la glycosylation (Kleinberger et al., 2014; Park et al., 2015; Wunderlich et al., 2013). Cette protéine est aussi sujette à des clivages protéolytiques par des protéases telles que ADAM10 et ADAM17, générant alors dans l'espace extracellulaire des fragments solubles (Feuerbach et al., 2017; Kleinberger et al., 2014; Wunderlich et al., 2013). Ces formes solubles de TREM2 (sTREM2) ont été observées pour la première fois dans le LCR de patients atteints de sclérose en plaque ou SEP (Piccio et al., 2008) avant d'être observées dans des cohortes de patients atteints de la MA (Gispert et al., 2016; Henjum et al., 2016; Heslegrave et al., 2016; Suárez-Calvet et al., 2016). La concentration en formes solubles de TREM2 augmente dans le LCR de patients en phase symptomatique précoce de la MA (Gispert et al., 2016; Suárez-Calvet et al., 2016), en corrélation avec des marqueurs de lésions neuronales (Suárez-Calvet et al., 2016). Les formes solubles de TREM2 sont aussi augmentées dans le LCR de patients atteints de SLA uniquement à des stades précoces (Cooper-Knock et al., 2017). Ainsi, les formes solubles de TREM2 dans le LCR pourraient, à défaut d'être un biomarqueur de diagnostic de la MA, permettre d'identifier le stade de la pathologie, en complément d'autres biomarqueurs diagnostiques. Ces formes solubles pourraient par ailleurs jouer un rôle dans la résolution de la MA, puisque l'apport de sTREM2 dans le cerveau de souris 5xFAD entraîne une diminution de la charge amyloïde et améliore les déficits de mémoire spatiale et de potentialisation à long terme (Zhong et al., 2019).

Les ligands de TREM2

De nombreux ligands endogènes et exogènes potentiels du récepteur TREM2 ont été proposés. Parmi eux, les molécules anioniques présentes au sein des bactéries ont été les premiers ligands identifiés, tels que le LPS, les acides lipoteichoïques, les peptidoglycanes et les dextran-sulfates (Daws et al., 2003). Cependant, l'implication potentielle de ces ligands dans le cadre des maladies neurodégénératives semble limitée, même s'il a été rapporté une potentielle implication virale ou bactérienne dans la MA (revue McManus and Heneka, 2017).

Certaines études ont montré que TREM2 pouvait se lier à des neurones en apoptose (Hsieh et al., 2009; Takahashi et al., 2007, 2005). Au cours de l'apoptose, la membrane plasmique subit une perte d'asymétrie de la bicouche lipidique, qui se traduit par l'exposition de certains lipides tels que la phosphatidylsérine au niveau extracellulaire alors qu'ils en sont absents en conditions physiologiques. TREM2 se lierait alors à certains de ces lipides présents à la surface des cellules en apoptose (Hsieh et al., 2009). TREM2 pourrait aussi se lier à d'autres lipides anioniques et zwitterioniques connus pour interagir avec les fibrilles amyloïdes (Wang et al., 2015). D'autres études ont montré que TREM2 se liait à des apolipoprotéines impliquées dans la MA telles que ApoE ou encore la clusterine (Bailey et al., 2015; Jendresen et al., 2017; Yeh et al., 2016). Certains variants de TREM2 tels que R47H, D87N ou encore R62H pourraient alors altérer les interactions de TREM2 avec ces ligands (Wang et al., 2015). Plus récemment, il a été mis en évidence que le domaine extracellulaire de TREM2 pouvait se lier à des oligomères d'A β avec une affinité similaire à celle des récepteurs d'A β et que cette liaison diminuait avec les variants R47H et R62H (Zhao et al., 2018).

Signalisation de TREM2

Le récepteur TREM2 doit être associé avec un adaptateur appelé DAP-12, pour DNAX-activating protein of 12kDa, permettant la transduction du signal au niveau intracellulaire (Figure 15). La stimulation des récepteurs TREM par leurs ligands entraîne la phosphorylation de certains résidus tyrosine contenus dans le motif ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) de DAP-12 par les kinases de la famille src. Ceci conduit au recrutement de différentes molécules telles que DAP10 et PI3K, à leur tour activées par phosphorylation de résidus tyrosine par la kinase SYK, permettant l'initiation de différentes voies de signalisation telles que ERK, Akt, MAPK, PKC, PLC γ , rac, vav ou encore STAT1. L'activation de toutes ces voies entraîne une régulation de différents gènes ainsi qu'un réarrangement du cytosquelette permettant d'initier différentes fonctions cellulaires impliquées dans l'activation des cellules

immunitaires, que nous décrivons plus en détail dans la partie suivante (voir 4.c Les fonctions de TREM2) (Colonna, 2003; Paradowska-Gorycka and Jurkowska, 2013).

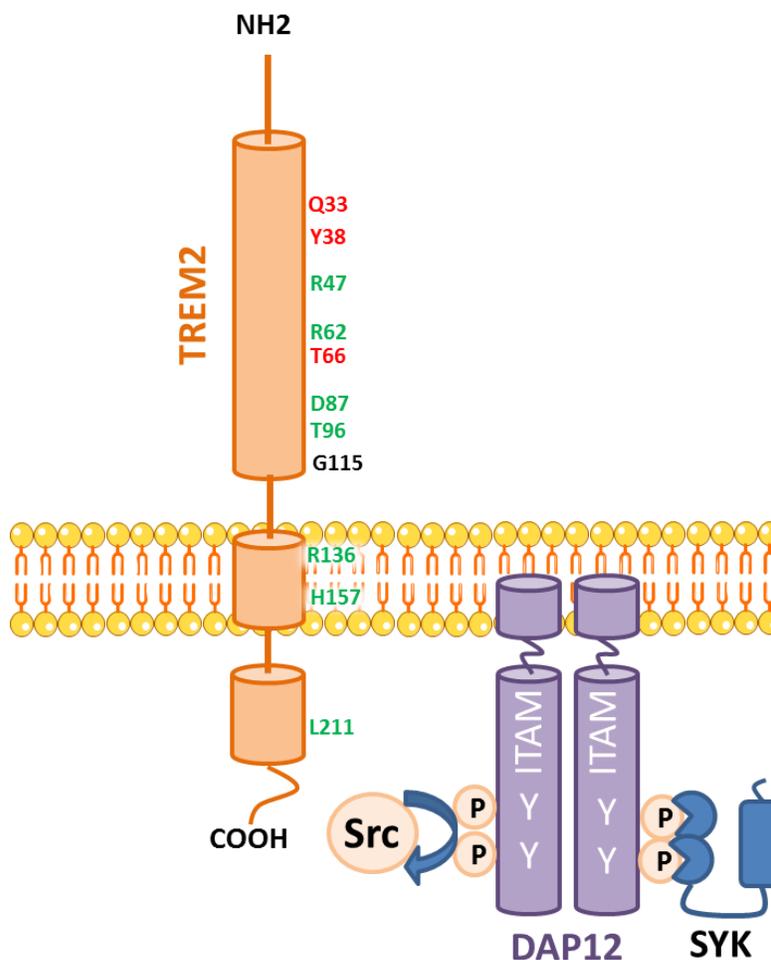


Figure 15 : Le récepteur microglial TREM2, et sa protéine adaptatrice DAP-12.

Les variants extracellulaires de TREM2 associés avec la maladie de Nasu Hakola (rouge) et la MA (vert).

L'activation de TREM2 entraîne la phosphorylation des résidus tyrosine de DAP-12, au niveau du domaine cytoplasmique, par les kinases SRC. La phosphorylation de ces résidus entraîne le recrutement de la kinase SYK (spleen tyrosine kinase) permettant l'initiation de différentes voies de signalisation telles que ERK, Akt, PKC, PLC γ ou encore STAT1.

c. Les fonctions de TREM2

Le récepteur TREM2 est impliqué dans la phagocytose, la prolifération et la survie cellulaire, le chimiotactisme, ainsi que la régulation des réponses inflammatoires, processus que nous développerons dans cette partie.

Phagocytose

TREM2 a été initialement identifié comme un récepteur capable d'induire la phagocytose des bactéries (N'Diaye et al., 2009). Il est d'ailleurs à noter que TREM2 est principalement exprimé par des cellules phagocytaires. La diminution de l'expression de TREM2 par shRNA entraîne *in vitro* une diminution de l'activité phagocytaire, alors qu'à l'inverse la surexpression de TREM2 à l'aide de vecteurs lentiviraux entraîne une augmentation de la phagocytose des neurones apoptotiques par la microglie (Takahashi et al., 2005). Cet effet a été retrouvé *in vitro* avec d'autres stimuli tels que l'A β (Jiang et al., 2014; Zhao et al., 2018), des bactéries et produits bactériens (Gawish et al., 2015), ainsi que des lipides (Yeh et al., 2016). *In vivo*, des souris modèles de la MA déficientes en TREM2 présentent une réduction de la colocalisation d'A β avec les phagosomes CD68+ et donc un défaut de phagocytose (Yuan et al., 2016).

Récemment, une étude a montré que TREM2 serait aussi impliqué dans l'élimination des synapses surnuméraires lors des premières phases du développement cérébral. TREM2 jouerait donc un rôle déterminant dans l'établissement d'une connectivité cérébrale fonctionnelle (Filipello et al., 2018). Il serait dès lors intéressant de vérifier si le risque induit par une déficience en TREM2 dans le cas des maladies neurodégénératives pourrait provenir au moins en partie, d'une dysfonction du réseau neuronal.

Prolifération et survie cellulaire

TREM2 participe à la prolifération des cellules de la lignée myéloïde. Une déficience en TREM2 dans des lignées cellulaires de gliome (X.-Q. Wang et al., 2016) et dans des cultures primaires de microglie (Zheng et al., 2017) entraîne un arrêt du cycle cellulaire. Une diminution du nombre de cellules myéloïdes en prolifération est aussi retrouvée *in vivo* dans des modèles de démyélinisation (Cantoni et al., 2015) ou encore dans des modèles murins de MA (Jay et al., 2017; Y. Wang et al., 2016). En plus de son rôle dans la prolifération cellulaire, TREM2 serait impliqué dans la survie cellulaire. En effet, *in vitro*, en condition

de stress, les cellules myéloïdes de souris 5xFAD déficientes en TREM2 sont moins viables que celles qui expriment la forme sauvage de TREM2 (Wang et al., 2015). De plus, *in vivo*, les auteurs de cette même étude ont relevé un nombre plus important de cellules microgliales TUNEL-positives dans les souris 5xFAD-*Trem2*^{-/-} que dans les 5xFAD exprimant la forme sauvage de TREM2, illustrant ainsi le rôle de TREM2 dans la survie microgliale. Cette survie serait médiée par l'activation de la voie de signalisation CSF1R-DAP12- β caténine, qui est connue pour réguler la survie et la prolifération des cellules myéloïdes (Otero et al., 2009). Toutefois, une étude plus récente propose la voie Wnt/ β -caténine comme médiateur de cette survie cellulaire (Zheng et al., 2017).

Chimiotactisme

Une analyse transcriptomique a été réalisée sur des cellules microgliales provenant de souris déficientes en TREM2 ou non. Cette étude a montré que, dans la microglie, les gènes ayant un profil d'expression différent entre les deux modèles étaient impliqués dans le chimiotactisme, la migration et la mobilité (Mazaheri et al., 2017). Dans cette même étude, une expérience *ex vivo* sur tranche organotypique de cerveaux a montré que l'absence de TREM2 réduit la distance de migration de la microglie, et cette migration peut être restaurée par ré-expression de TREM2. De même, *in vivo*, la microglie déficiente en TREM2 présente un défaut de migration après injection de neurones apoptotiques. Les souris déficientes en TREM2 présentent par ailleurs une diminution de la chimiokine CCL2, et *in vitro*, les cellules déficientes en TREM2 présentent une diminution du chimiotactisme médié par CCL2 (Mazaheri et al., 2017). De ce fait, il serait intéressant d'évaluer l'éventuelle contribution de TREM2 dans le recrutement des monocytes périphériques au cours de la MA.

Régulation des réponses inflammatoires

Alors que les premières études sur les fonctions de TREM2 lui ont conféré un rôle uniquement anti-inflammatoire, sa participation dans la régulation des réponses inflammatoires est dorénavant connue pour être plus complexe, en fonction du stimulus, de sa force et de sa durée, du type cellulaire considéré ainsi que du contexte. Des analyses en réseau ont d'ailleurs montré que TREM2 était co-enrichi à la fois avec des clusters de gènes classiquement considérés comme anti- et pro-inflammatoires dans le cerveau (Forabosco et al., 2013). Il est à noter qu'en dehors de conditions pathologiques, les profils transcriptomiques de la microglie déficiente (Wang et al., 2015) ou surexprimant TREM2 (Jiang et al., 2014) sont assez similaires.

Dans certains contextes, TREM2 atténue la réponse neuroinflammatoire. *In vitro*, une déficience en TREM2 entraîne une augmentation de l'expression de médiateurs pro-inflammatoires en réponse à une stimulation par des neurones pro-apoptotiques (Takahashi et al., 2005), ou par le LPS (Gao et al., 2013). Le rôle anti-inflammatoire de ce récepteur au sein de la microglie et des macrophages infiltrants a de même été montré *in vivo* notamment dans des modèles amyloïdes (Jiang et al., 2014), dans des modèles de tauopathie (Jiang et al., 2016, 2015) ou encore après stimulation par le LPS concernant les macrophages infiltrant les tissus (Turnbull et al., 2006). A l'inverse, une surexpression de TREM2 dans des modèles amyloïdes (Jiang et al., 2014; Lee et al., 2018) et dans des modèles de tauopathie (Jiang et al., 2016) réduit l'expression de médiateurs pro-inflammatoires.

Cependant, d'autres études supportent le fait que TREM2 pourrait à l'inverse entraîner et amplifier la réponse inflammatoire. Dans ce sens, une déficience en TREM2 dans le modèle amyloïde 5xFAD provoque une diminution des transcrits pro-inflammatoires (Ulrich et al., 2014; Wang et al., 2015). De plus les cellules microgliales présentes à proximité des plaques dans des modèles amyloïdes déficients en TREM2 présentent une morphologie caractéristique d'une réduction de leur activation, à savoir une diminution de la taille de leur soma et de leur surface ainsi qu'une augmentation de la longueur de leurs ramifications (Ulrich et al., 2014; Wang et al., 2015).

Métabolisme microglial

Depuis longtemps, la MA est associée avec des dysfonctions métaboliques, mais la plupart des études se sont focalisées sur le métabolisme neuronal. Des dysfonctions du métabolisme microglial pourraient aussi être en cause, et ceci pourrait impliquer le récepteur TREM2. Les taux cérébraux de glucose, déterminés par FDG- μ TEP, sont diminués dans un modèle Knock-In T66M de la maladie de NH. Cette réduction de l'utilisation de glucose pourrait être dû à un défaut de la fonction microgliale, qui impacte l'état métabolique du cerveau, ce qui suggérerait qu'une dysfonction de TREM2 pourrait altérer le métabolisme cérébral et favoriser la pathogenèse (Kleinberger et al., 2017).

Il a de plus été montré que, dans le modèle amyloïde 5xFAD, la microglie déficiente en TREM2 présente beaucoup de vésicules d'autophagie liées à un déficit de la voie mTOR, ce qui affecte alors le niveau d'ATP et différentes voies de biosynthèse. En apportant indirectement de l'ATP par l'apport de cyclocréatine, l'autophagie est diminuée et le recrutement de la microglie autour des plaques est alors restauré, ce qui suggère que TREM2 régule la fonction microgliale, au moins en partie, en modulant le métabolisme énergétique de la cellule (Ulland et al., 2017).

La Figure 16 récapitule les fonctions de TREM2 et les voies de signalisation qui y sont rattachées.

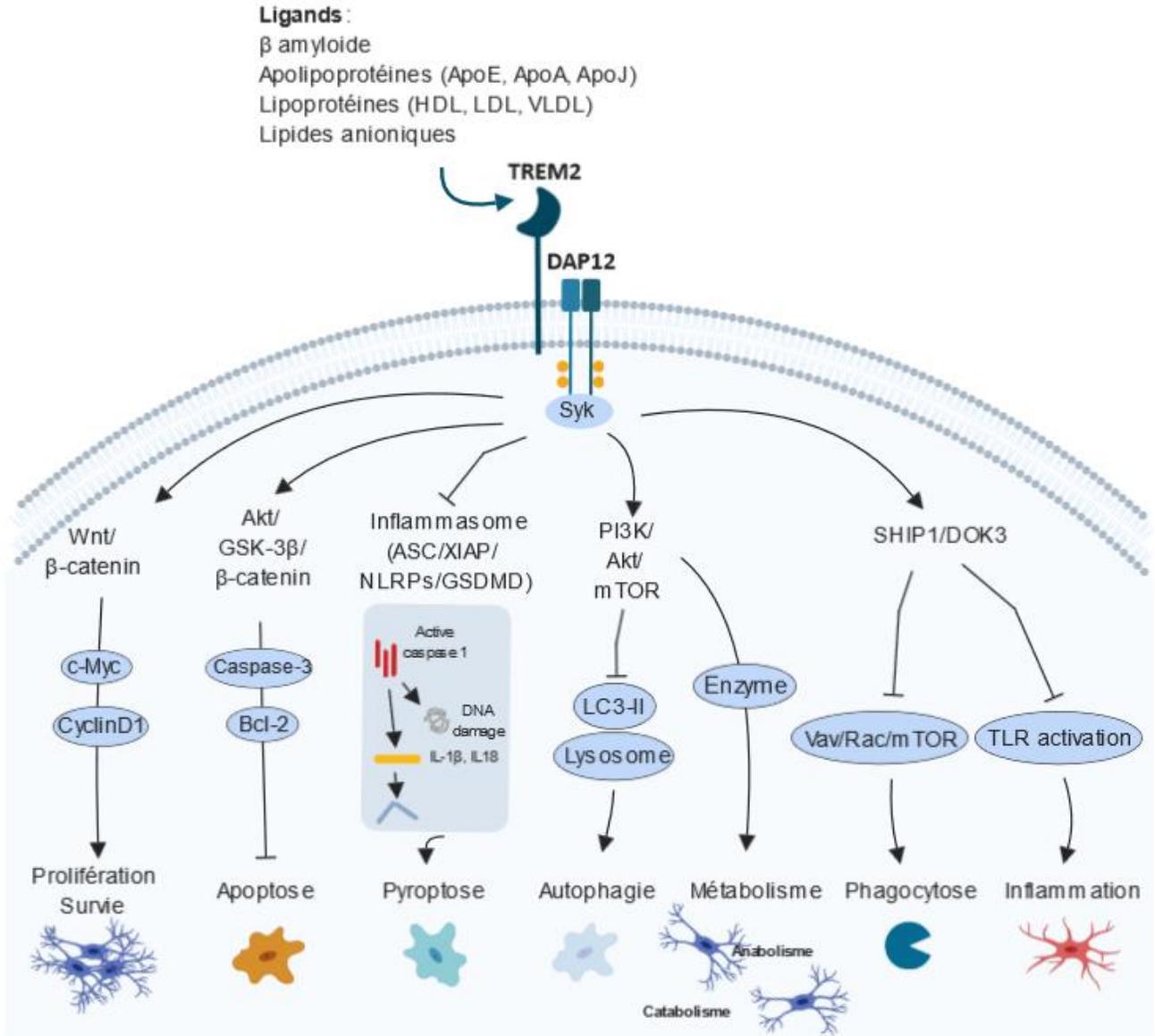


Figure 16 : Fonctions et signalisation de TREM2.

Suite à la stimulation de TREM2 par ses ligands, TREM2 peut s'associer avec des homodimères de DAP12 ou des hétérodimères DAP10/DAP12 afin de médier les voies de signalisation en aval. Cela implique la phosphorylation des protéines adaptatrices, suivi de la liaison de différents composants, qui initient ou préviennent alors différentes voies de signalisation entraînant la prolifération, la différenciation, la survie, la phagocytose, le chimiotactisme, l'autophagie, le métabolisme et l'inflammation. Inspiré de Jay et al., 2017.

d. TREM2 : un facteur de risque pour la MA

Suite aux études publiées respectivement par Gueirero et Jonnson en 2013, il a été observé un engouement particulier pour l'étude du rôle de TREM2 dans les maladies neurodégénératives, et en

particulier dans la MA. Au moment de l'écriture de ces lignes et depuis ces deux publications, 174 études sur TREM2, qu'elles soient *in vitro*, *in vivo* ou cliniques, ont été publiées dans le cadre des maladies neurodégénératives, dont 77 concernaient la MA.

TREM2 et pathologie amyloïde

Les études de l'effet de TREM2 sur la pathologie dans des modèles amyloïdes ont amené à des résultats semblant *a priori* contradictoires. Ainsi certaines études ont mis en évidence qu'une déficience en TREM2 réduit la pathologie amyloïde (Jay et al., 2015; Yuan et al., 2016) alors que d'autres supportent à l'inverse qu'elle l'augmente (Wang et al., 2015). Ces résultats peuvent toutefois s'expliquer par le fait que le rôle de TREM2 pourrait être dépendant du stade de la pathologie considéré. Ainsi, à un stade précoce TREM2 réduirait la pathologie amyloïde alors qu'il l'augmenterait à un stade plus tardif (Jay et al., 2017). De même, les études dans lesquelles *Trem2* est surexprimé mettent en évidence une réduction de la pathologie à un stade précoce (Jiang et al., 2014) et pas d'effet à un stade plus tardif (Jiang et al., 2017). Cette différence dépendante du stade de la pathologie pourrait de manière plus large refléter le rôle différentiel des cellules myéloïdes au cours de la pathologie, comme il a été mentionné dans le chapitre précédent. Les différences entre les modèles utilisés sont aussi à prendre en considération. Notamment, plusieurs modèles transgéniques murins de déficience en TREM2 sont disponibles, mais construits différemment : le modèle créé par le laboratoire de Marco Colonna utilisant une cassette de sélection néomycine, le modèle du laboratoire Jackson utilise la technologie CRISPR/Cas9, et le modèle Velocigene présente une cassette LacZ remplaçant la région codante de TREM2 (Figure 17). Il est à noter que le modèle Velocigene présente un biais dû à une augmentation très importante de l'expression de *Trem1*, qui pourrait compenser ou masquer l'effet de la déficience en TREM2 (Kang et al., 2018). Ce modèle a notamment été utilisé par les études de Jay et coll.

Enfin, l'équipe de Marco Colonna a produit pour la première fois une souche de souris exprimant la forme humaine R47H de TREM2, qui a par la suite été croisée avec le modèle amyloïde 5xFAD. De nombreuses études *in vitro* suggèrent que le polymorphisme R47H entraîne une perte de fonction TREM2 (Tableau 6), et cette étude *in vivo* confirme cette perte de fonction, notamment une perte de l'activation et de la prolifération microgliale en réponse à la pathologie amyloïde (Song et al., 2018).

Le Tableau 4 récapitule de manière synthétique les différents effets de TREM2 sur la pathologie amyloïde.

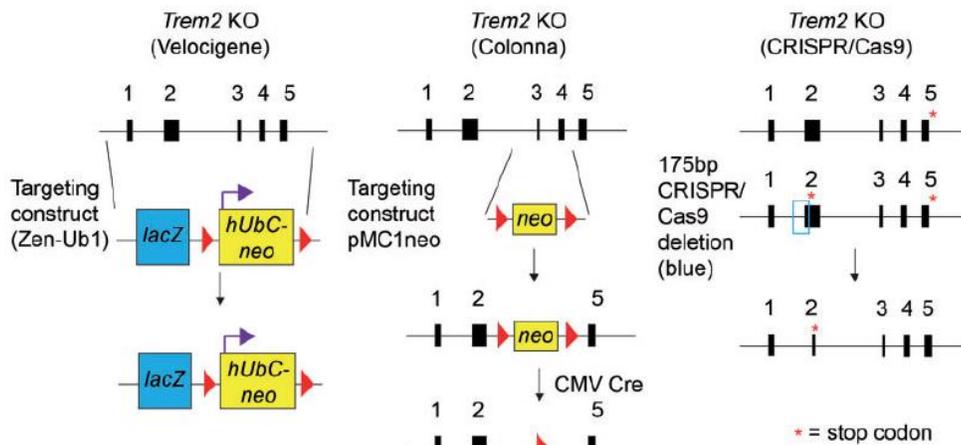


Figure 17 : Différentes stratégies de délétion de *Trem2* suivant les modèles transgéniques considérés.

Le modèle KO Velocigene est obtenu par le remplacement de la région codante pour *Trem2* dans sa totalité par une cassette de sélection (*lacZ*-floxed-promoteur de l'Ubiquitin C humain-néomycine-floxed), commençant 16 pb après le codon « start » ATG et finissant au codon stop TGA de *Trem2*.

Le modèle KO de l'équipe de Colonna est obtenu par recombinaison homologue, en utilisant un vecteur cible conçu pour remplacer les exons 3 et 4 par une cassette de sélection néomycine, encadrée de sites loxP, dans des cellules souches embryonnaires (CSE) de souris 129P2/OlaHsd. Les souris sont alors générées par injection des CSE dans des blastocystes C57Bl/6. Les animaux chimères sont ensuite croisés avec des souris exprimant la Cre pour supprimer le gène de résistance à la néomycine.

Le dernier modèle KO est obtenu par la technologie d'édition de gène CRISPR/Cas9. La jonction d'extrémités non homologues résulte en une délétion de 175pb qui introduit un codon stop au niveau de l'acide aminé 17. D'après Kang et al., 2018.

TREM2 et pathologie Tau

L'effet de TREM2 a été jusqu'à présent principalement étudié dans un contexte amyloïde, puisque TREM2 est associé à la microglie et que, dans la MA, la microglie est, dans l'inconscient collectif, associé aux plaques amyloïdes. Mais qu'en est-il du rôle de TREM2 dans un contexte de tauopathie ? Il existe une forte association entre TREM2 et la pathologie Tau dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) de patients atteints de la MA. En effet, l'équipe de Cruchaga a montré que le variant R47H de TREM2 était corrélé à une présence plus importante de la protéine Tau phosphorylée dans le LCR des patients (Cruchaga et al., 2013). Ces résultats ont par la suite été confirmés par Lill et al. dans une cohorte plus importante de patients (Lill et al., 2015). De plus, il a été montré que l'expression de TREM2 était positivement corrélée avec la phosphorylation de Tau au sein de tissus cérébraux de patients (Lue et al., 2015). L'expression de TREM2 serait aussi augmentée dans les modèles transgéniques P301L et P301S de tauopathie (Jiang et al., 2016; Matarin et al., 2015). Eteindre l'expression microgliale de TREM2 dans le modèle murin P301S exacerbe les déficits cognitifs spatiaux et la pathologie tau (Jiang et al., 2015). A

l'inverse, la même équipe a montré que la surexpression de TREM2 dans la microglie des souris P301S entraîne une amélioration des déficits cognitifs spatiaux et une diminution de la perte synaptique et neuronale ainsi que de l'hyperphosphorylation de Tau (Jiang et al., 2016).

Des études réalisées dans des modèles transgéniques de tauopathie ont été publiées plus récemment et montrent qu'une déficience génétique en TREM2 exacerbe la pathologie Tau et le stress neuronal à 6 mois dans le modèle hTau (Bemiller et al., 2017) alors qu'elle protège contre la neurodégénérescence dans le modèle P301S à 9 mois, sans avoir d'effet sur la pathologie Tau (Leyns et al., 2017). Il est ici à noter que l'étude de Shane Bemiller et coll. a été effectuée avec le modèle Velocigene, ce qui pourrait en partie expliquer les différences de résultat de ces deux études. Les polymorphismes de *TREM2* liés à la MA étant quasi-exclusivement des cas hétérozygotes (du fait de la rareté des allèles polymorphiques), Sayed et coll. se sont intéressés à l'effet différentiel d'une perte totale ou partielle de l'expression de TREM2 dans le modèle transgénique de tauopathie P301S. De manière surprenante, les souris hétérozygotes pour TREM2 présentent une augmentation significative de la pathologie Tau, de l'inflammation et de l'atrophie cérébrale alors que cette augmentation n'est pas significative pour les souris n'exprimant pas du tout TREM2, bien qu'il y ait une tendance (Sayed et al., 2018).

Le Tableau 5 récapitule de manière synthétique les différents effets de TREM2 sur la pathologie Tau.

Par ailleurs, de nombreuses études se sont intéressées aux effets des différents variants de *TREM2* retrouvés chez les patients. Cela concerne en grande majorité des expériences *in vitro*. En effet, à notre connaissance, seul 3 modèles *in vivo* knock-in de *TREM2* ont été publiés pour le moment : les modèles R47H (Cheng-Hathaway et al., 2018; Xiang et al., 2018) et T66M (Kleinberger et al., 2017). Les effets des différents variants de *TREM2* ont été récapitulés dans le Tableau 6.

Ainsi, comme c'est le cas pour les modèles amyloïdes, la question des effets de TREM2 sur la pathologie Tau reste encore aujourd'hui controversée. Il est donc intéressant d'étudier la relation entre TREM2 et ses effets sur la pathologie amyloïde et la tauopathie.

Tableau 4 : TREM2 et pathologie amyloïde.

Inspiré de Ulrich et al., 2017

Modèle	Région cérébrale	Stade	Charge amyloïde	Morphologie amyloïde	Microgliose associée aux plaques	Dystrophie neuritique	Citations
5xFAD; <i>Trem2</i> ^{-/-}	Hippocampe	Précoce	=	↘ compacte	↘	↗	Wang et al., 2015 Wang et al., 2016 Yuan et al., 2016
		Tardif	↗	↘ compacte	↘	↗	
	Cortex	Précoce	=	↘ compacte	↘	↗	
		Tardif	=	↘ compacte	↘	↗	
APP/PS1; <i>Trem2</i> ^{-/-}	Hippocampe	Précoce	↘	ND	↘	ND	Jay et al., 2015 Jay et al., 2016
		Tardif	=	ND	↘	ND	
	Cortex	Précoce	= ou ↘	ND	↘	ND	
		Tardif	↗	Plus grosses	↘	ND	
APP/PS1+ lentivirus <i>Trem2</i>	Hippocampe	Précoce 9M	↘	ND	ND	ND	Jiang et al., 2014
		Tardif 20M	=	ND	ND	ND	Jiang et al., 2016
	Cortex	Précoce 9M	↘	ND	ND	ND	Jiang et al., 2014
		Tardif 20M	=	ND	ND	ND	Jiang et al., 2016
Humain	Cortex	N/A	=	↗ plaques filamenteuses	↘ autour des plaques filamenteuses et compactes	↗	Yuan et al., 2016

ND = non déterminé

Tableau 5 : TREM2 et pathologie Tau.

Modèle	Région cérébrale	Stade	Pathologie Tau	Inflammation	Survie neuronale	Citations
Tau P301S + shRNA	Hippocampe	7 mois	↗ hyperP	ND	↘	Jiang et al., 2015
<i>Trem2</i>	Cortex	7 mois	↗ hyperP	ND	↘	
Tau P301S + lentivirus	Hippocampe	7 mois	↘ hyperP	↘ C	↗	Jiang et al., 2016
<i>Trem2</i>	Cortex	7 mois	↘ hyperP	↘ C	↗	
Tau P301S ; <i>Trem2</i> ^{+/-}	Hippocampe	8-9 mois	↗ agrégation	↗ M	Pas d'effet	Sayed et al., 2018
	Cortex	8-9 mois	↗ hyperP et agrégation	↗ M	Pas d'effet	
Tau P301S ; <i>Trem2</i> ^{-/-}	Hippocampe	8-9 mois	Pas d'effet	Pas d'effet	↘ atrophie	
	Cortex	8-9 mois	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	
PS19 ; <i>Trem2</i> ^{-/-}	Hippocampe	9 mois	Pas d'effet	↘ M, ↘ C, ↘ A	↘	Leyns et al., 2017
	Cortex	9 mois	Pas d'effet	↘ M, ↘ C, ↘ A	↘	
hTau ^{+/-} ; <i>Trem2</i> ^{-/-}	Hippocampe	6 mois	↗ hyperP	↘ M, = C	ND	Bemiller et al., 2017
	Cortex	6 mois	↗ hyperP	↘ M, = C	ND	

ND = non déterminé, M = microgliose, C = Cytokines pro-inflammatoires, A = Astrocytose

Tableau 6 : Les effets des différents variants de TREM2 associés à la MA.

Inspiré de Ulrich et al., 2017 et Ulland and Colonna, 2018

Variant	Expression de surface	Affinité des ligands	Signalisation	Phagocytose	Microglieuse
R47H	∅ (Kleinberger et al., 2014; Kober et al., 2016; Ma et al., 2016; Song et al., 2018) 2018)	↘ (Atagi et al., 2015; Kober et al., 2016; Song et al., 2018; Yeh et al., 2016)	↘ (Song et al., 2017; Wang et al., 2015)	↘ (Kleinberger et al., 2014; Yeh et al., 2016)	↘ (Cheng-Hathaway et al., 2018; Yuan et al., 2016)
R62H	∅ (Song et al., 2017)	↘ (Kober et al., 2016)	↘ (Song et al., 2017)	↘ (Yeh et al., 2016)	ND
T66M	↘ (Kleinberger et al., 2014; Kober et al., 2016)	Ablatée (Kober et al., 2016; Yeh et al., 2016)	= (Song et al., 2017)	↘ (Kleinberger et al., 2017, 2014)	↘ (Kleinberger et al., 2017)
Y38C	↘ (Kleinberger et al., 2014)	Ablatée (Yeh et al., 2016)	ND	↘ (Kleinberger et al., 2014)	ND
T96K	↘/∅ (Kober et al., 2016; Song et al., 2017)	↗ (Kober et al., 2016)	↗ (Song et al., 2017)	ND	ND
D87N	∅ (Kober et al., 2016; Song et al., 2017)	↘ (Yeh et al., 2016)	↗ (Song et al., 2017)	↘ (Yeh et al., 2016)	ND
H157Y	ND	ND	∅ (Song et al., 2017)	↘ (Schlepckow et al., 2017)	ND
L211P	ND	ND	∅ (Song et al., 2017)	ND	ND

ND: Non Déterminé

5. Objectifs et stratégie

Il est désormais acquis que la neuroinflammation joue un rôle prépondérant dans le développement de la MA. C'est donc un sujet actuellement très étudié, mais qui amène aussi à de nombreuses controverses. L'inflammation est-elle bénéfique ou délétère dans le développement de la MA, quel est l'impact des cellules inflammatoires périphériques sur le développement de la maladie sont autant de questions qui restent actuellement sans réponse claire.

Parmi ces controverses, nous nous sommes plus particulièrement intéressés au rôle de TREM2 dans le développement de la maladie. Au début de ma thèse, TREM2 était étudié dans un contexte uniquement amyloïde. Nous nous sommes ainsi intéressés à son implication dans la pathologie Tau. Plus récemment, des études ont été publiées quant à l'implication de TREM2 dans la progression de la composante tauopathique. Ces études, réalisées dans des modèles distincts, ont menées à des conclusions différentes voire contradictoires (voir 4.d TREM2 : un facteur de risque pour la MA). Il semble alors simpliste de limiter l'influence de TREM2 à un effet uniquement bénéfique ou délétère sur la pathologie, et le fait de varier les modèles d'étude permettrait d'aboutir à une vision plus complète.

Ce projet a donc pour objectif d'étudier le rôle de TREM2 dans la progression de deux modèles de tauopathie, l'un focale, induit par injection de vecteurs viraux, et l'autre transgénique. Dans le premier modèle utilisé, nous avons injecté dans des souris déficientes en TREM2 (*Trem2^{-/-}*) et des souris contrôles de phénotype sauvage (WT) des vecteurs rAAV exprimant différentes formes de Tau ayant des propriétés d'agrégation différentes. La tauopathie, la neurodégénérescence et la neuroinflammation ont ensuite été évaluées sur ces souris par des études immunohistochimiques et transcriptionnelles à deux temps après l'induction de la tauopathie (un mois et trois mois). Le deuxième modèle utilisé est un croisement du modèle transgénique de tauopathie THY-Tau22 avec des souris *Trem2^{-/-}*. Le modèle THY-Tau22 développant des déficiences comportementales, cela nous a permis d'évaluer l'éventuel effet de TREM2 sur le comportement, en plus de l'étude de la tauopathie, de la neurodégénérescence et de la neuroinflammation.

Matériel et méthodes

1. Production des rAAVs

Des cellules HEK-293T confluentes à 70-90% ont été transfectées par la technique de précipité au phosphate de calcium avec les différents pAAVs, un plasmide codant pour la capsid du vecteur viral et un plasmide « helper ». Le sérotype 9 a été utilisé pour générer des rAAVs ayant un tropisme neuronal. Les vecteurs viraux ont été collectés 72h post-transfection. Pour cela, les cellules ont été grattées de leur support de culture puis centrifugées 10min à 1500rpm à 4°C. Une solution 5 fois concentrée de Polyéthylène Glycol (40% PEG, 2.5M NaCl) a été ajoutée au surnageant et le mix a été gardé à 4°C pendant 2h avant centrifugation à 3700g pendant 20min à 4°C. Le surnageant a ensuite été éliminé et le culot conservé pour les étapes suivantes. Le culot de cellule de la première centrifugation a été lysé par ajout de 10mL de tampon de lyse (NaCl 0.15M, 50mM Tris HCl à pH 8.5) et par trois cycles de congélation-décongélation. Le lysat a été ajouté au culot de précipité PEG obtenu précédemment. Une solution de DNaseI (Roche 20 mg.mL⁻¹, 1/200) et de MgCl₂ (1M, 1/100) ont été ajoutés et incubés pendant 15 minutes à 37°C. Le mix a ensuite été centrifugé à 3700g pendant 20min à 4°C et le surnageant a été transféré dans des tubes adaptés à l'ultracentrifugation. Des couches ont été réalisées avec 9mL de lysat, 8mL de iodixanol 15% (Sigma), 5mL de iodixanol 25%, 5mL de iodixanol 40% et 3mL de iodixanol 60% et une ultracentrifugation a été réalisée à 59 000 rpm pendant 1.5h à 20°C. Deux aiguilles ont été insérées en haut et en bas du tube, les deux premiers mL obtenus avec l'aiguille du bas ont été jetés et les 3,5mL restant, contenant les particules rAAV, ont été collectés. Les rAAV ont ensuite été purifiés avec le kit Amicon Ultra-15 PL100 (Millipore). Les filtres ont été rincés avec une solution de 5mL de PBS 0.1M, 0.001% d'acide pluronique (Sigma) et centrifugés à 4000g pendant 10min. La fraction d'AAV a été diluée avec du PBS pluronique pour obtenir un volume final de 15mL, ajoutés au filtre et centrifugés à 4000g pendant 25min. La dernière étape a été répétée trois fois avec 15mL de PBS pluronique. Le filtre a ensuite été rincé plusieurs fois avec le volume désiré et la solution d'AAV a été conservée à 4°C. Les vecteurs viraux ont été titrés par qPCR au niveau des séquences ITR et comparés avec un étalon.

2. Modèles murins de tauopathie

Les animaux ont été hébergés par groupe de 5 individus maximum, dans un environnement gardé à température constante et avec un enrichissement composé de matériel pour constituer un nid. Les animaux ont été maintenus dans un cycle jour/nuit de 12 heures. La nourriture et l'eau étaient

disponibles *ad libitum*. Les procédures ont été évaluées et approuvées par un comité d'éthique local indépendant et par le Ministère français de l'Education et de la Recherche, en conformité avec la réglementation de l'Union Européenne (Directive 2010-63/EEC).

a. Modèle rAAV d'injection intra-hippocampique

Les souris utilisées pour cette étude ont été séparées en deux groupes afin d'euthanasier les animaux à deux temps post-injection (1 mois et 3 mois), le premier groupe étant composé de 25 souris C57BL6/j WT et 24 souris knock-out *Trem2* et le deuxième de 32 souris C57BL6 et 32 souris knock-out *Trem2* (Tableau 6).

Les souris ont été anesthésiées par une injection intrapéritonéale d'un mélange de Kétamine (90mg/kg, Imalgène 1000) et de Xylazine (5 mg/kg), et une solution de lidocaïne (5mg/kg) a été injectée en dessous du scalp avant la chirurgie. Les vecteurs rAAV ont été injectés à l'aide d'une seringue Hamilton (Hamilton, Reno, NV) comportant une aiguille à bout arrondi de 34 gauge, par un cathéter en polyéthylène. Les injections ont été réalisées unilatéralement, au niveau de la couche CA1 de l'hippocampe dorsal gauche à l'aide d'un cadre stéréotaxique à partir des coordonnées suivantes relatives au bregma : antéro-postérieur : - 2,4 mm, latéral : + 1,5 mm, ventral : - 1,6 mm (Figure 18). 2µl de virus à une dose de 10^{10} vg dilués dans une solution de PBS 0.1M contenant 0.001% d'acide pluronique ont été délivrés à l'aide d'une pompe à microdialyse (Stoelting Co., Wood Dale, USA) réglée à 0.2µl/min. A la fin de l'injection, l'aiguille est laissée 5 min de plus avant d'être délicatement retirée, pour éviter tout reflux du vecteur pendant la remontée de la canule. A la fin de la procédure chirurgicale, la peau a été agrafée et désinfectée.

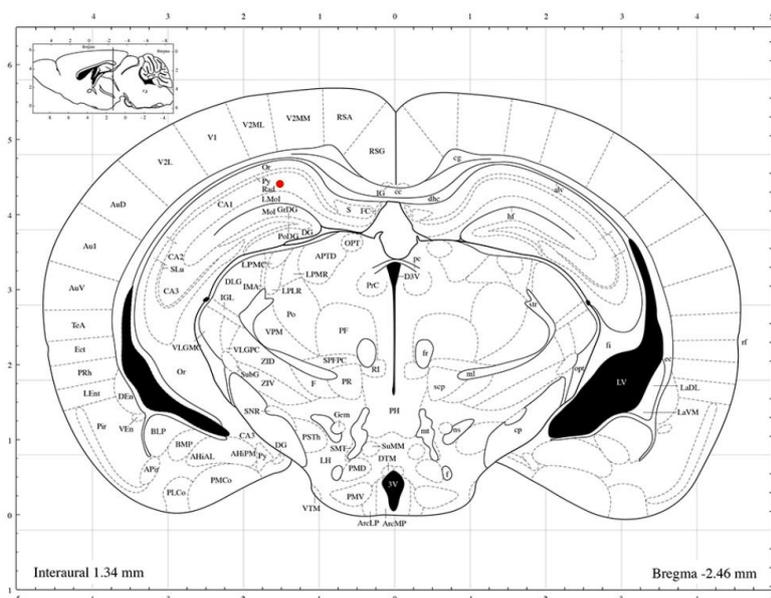


Figure 18 : Coordonnées d'injection stéréotaxiques d'après l'Allen Brain Atlas.

Les vecteurs rAAV_{2/9} utilisés permettent l'expression soit de la protéine Tau humaine soit de la protéine Tau humaine co-exprimée avec le peptide pro-agrégant ΔK280, les 2 séquences codantes étant séparées par un peptide 2A, qui est clivé dans la cellule par le ribosome, durant la traduction (Szymczak-Workman *et al.* 2012). Les groupes contrôles ont été injectés soit avec le diluant du vecteur, une solution de PBS 0.1M avec 0.001% d'acide pluronique, soit avec un vecteur rAAV2/9 exprimant la protéine rapporteur GFP. Le promoteur chimérique cytomegalovirus/chicken-β-actin (CBA), dont l'expression est ubiquitaire, a été utilisé pour diriger l'expression des transgènes.

Tableau 7 : Effectif de souris.

Génotype	1 mois	3 mois
WT	PBS n = 5 GFP n = 6 Tau ^{WT} n = 7 Tau ^{WT} + ΔK280 n = 7	PBS n = 4 GFP n = 8 Tau ^{WT} n = 10 Tau ^{WT} + ΔK280 n = 10
Trem2^{-/-}	PBS n = 4 GFP n = 7 Tau ^{WT} n = 6 Tau ^{WT} + ΔK280 n = 7	PBS n = 4 GFP n = 8 Tau ^{WT} n = 10 Tau ^{WT} + ΔK280 n = 10

b. Modèle THY-Tau22

Des souris transgéniques THY-Tau22 mâles et femelles exprimant la forme 4R de la protéine Tau humaine mutée au niveau des sites G272V et P301S, sous contrôle du promoteur Thy1.2 et sur un fond génétique C57Bl6/J ont été utilisées (Schindowski *et al.*, 2006). Le génotypage des souris THY-Tau22 a été réalisé par PCR (Polymerase Chain Reaction) après sevrage des souriceaux. L'ADN a été extrait à partir d'échantillons d'oreilles en utilisant le kit KAPA Mouse Genotyping (Kappa Biosystems) et amplifié par PCR. Un gel à 1,5% d'agarose a été utilisé pour faire migrer les échantillons et vérifier la taille des amplicons (432pb). Les oligonucléotides du Tableau 8 ont été utilisés.

Tableau 8 : Liste des amorces utilisées pour le génotypage des souris THY-Tau22.

Gène	Amorce Sens	Amorce Anti-sens
MAPT	TCACCCGTGGTCTGTCTTGCC	CATATGCCACCCACCCGGGAG

3. Etudes comportementales

Les différents tests comportementaux ont été réalisés sur les souris Tau22*Trem2*^{-/-} et Tau22 à 9-10 mois. Tous les animaux ont été testés pendant la phase diurne de leur cycle jour/nuit, le matin excepté pour la cage d'activité dont le test dure 23 heures. Les tests ont été réalisés dans l'ordre suivant : le test du labyrinthe en croix surélevé, la cage d'activité, le test du labyrinthe en V avec reconnaissance d'objet puis le test de la piscine de Morris, du moins anxiogène au plus anxiogène.

Dans un premier temps, les souris ont été habituées à être manipulées 2 min par jour pendant une semaine, avant le début des tests. Le change des cages a également été effectué par l'expérimentateur pendant toute la durée des tests de comportement.

a. Cage d'activité (Phenotyper®)

La cage d'activité permet d'évaluer la locomotion spontanée des animaux au cours du cycle circadien, dans un environnement similaire à leur cage d'hébergement. Cet environnement est composé de litière, mais sans enrichissement qui peut empêcher la détection de l'animal. Les souris ont été suivies pendant 23h avec le système de vidéo tracking EthoVision XT11.5 (Noldus). La nourriture et l'eau ont été disponibles *ad libitum*. Les distances parcourues ont été évaluées heure par heure.

b. Test du labyrinthe en croix surélevé

Le test du labyrinthe en croix surélevé permet d'évaluer l'anxiété. L'appareil est fait de plaques de polycarbonate noires et éclairé à 100 lux en son centre. Il est composé de 4 bras élevés à 50 cm du sol. Deux bras sont fermés (bras non anxiogènes ; extrémités éclairées à 15 lux) et les deux autres sont ouverts (bras anxiogènes ; extrémités éclairées à 150 lux). Chaque souris a été placée au centre face à un bras ouvert et filmée pendant une seule session d'exploration de 6 min, l'expérimentateur se trouvant hors de la pièce. Après chaque acquisition, le sol et les bords du labyrinthe ont été lavés à l'éthanol 10% et séchés. Les paramètres suivants ont été mesurés et analysés avec le système de vidéo tracking EthoVision (Ethovision XT11.5©, Noldus Information Technology Inc): distance parcourue et temps passé dans chaque bras, fréquence d'entrée dans les bras ouverts ou fermés, durée et nombre de fois où la souris se penche au niveau des bras ouverts (manuellement mesurés pendant l'expérience).

c. Test du labyrinthe en V avec reconnaissance d'objet

Le test du labyrinthe en V avec reconnaissance d'objet permet d'évaluer la mémoire liée à la reconnaissance d'objet (Robin et al., 2018). Le test repose sur la curiosité naturelle de la souris qui va l'amener à explorer davantage le nouvel objet. Le test est réalisé dans une enceinte en V et permet d'obtenir des résultats plus répliquables.

L'appareil est composé de deux bras en plexiglas noir et est éclairé à 50 lux au bout de chaque bras. Après chaque acquisition, le sol et les bords ont été lavés à l'éthanol 10% et séchés. Chaque phase a été filmée, et la distance parcourue a été mesurée avec le système de vidéo tracking EthoVision (Ethovision®, Noldus Information Technology Inc) et le temps passé à explorer chaque objet a été mesuré manuellement.

Durant la première phase d'habituation au labyrinthe et à la présence d'objets, chaque souris a été placée à l'angle du V, et laissée pour une session d'entraînement de 9 min, en présence de deux objets (un cylindre et un Lego) chacun à l'extrémité de chaque bras.

La deuxième phase, le jour suivant, deux fioles en verre identiques ont été placées au même endroit que les objets du jour précédent. La session a duré 9 min. Durant cette phase, la mesure de l'exploration de chaque objet a permis de vérifier si les souris n'avaient pas une éventuelle préférence pour un bras.

La troisième phase, au jour 3, qui est la phase de test, a duré 6 min. La fiole en verre du jour précédent ainsi qu'un nouvel objet, ont été placés aux mêmes endroits que les jours précédents. L'index de discrimination a été calculé à partir de la formule (temps passé à explorer le nouvel objet – temps à explorer l'ancien objet)/temps total d'exploration des objets. Cet index compris entre -1 et 1 a permis d'évaluer si les souris ont exploré majoritairement le nouvel objet (index compris entre 0 et 1) ou l'ancien objet (index compris entre -1 et 0).

d. Test de la piscine de Morris

Le test de la piscine de Morris a permis d'évaluer la mémoire spatiale. Le labyrinthe consiste en une piscine circulaire d'un diamètre de 122 cm, remplie d'un mélange opaque d'eau et de peinture gouache blanche. Une plate-forme d'un diamètre de 10 cm a été cachée dans la piscine, à 0,5 cm en dessous de la surface. Pendant toute l'expérience, la température de l'eau a été maintenue entre 20°C et 22°C et la luminosité au centre est de 430 lux. Le parcours des souris est enregistré et suivi automatiquement par le système de vidéo tracking EthoVision. (Ethovision XT11.5®, Noldus Information Technology Inc).

Le premier jour de l'expérience, les souris ont été entraînées à trouver une plate-forme émergée et signalée par un objet coloré. Chaque souris a effectué 4 essais non consécutifs avec un intervalle de 30 min. L'emplacement de la plate-forme et le point de départ des souris ont été alternés pour chaque essai. Si une souris ne trouvait pas la plate-forme après avoir nagé pendant 1 minute l'expérimentateur la guide vers la plate-forme. Dans tous les cas, la souris est restée 30 secondes sur la plateforme. La latence d'échappement, c'est à dire le temps requis par une souris pour atteindre la plate-forme et y rester au moins 3 s, a été évaluée.

Pendant la phase d'apprentissage, l'emplacement de la plate-forme est fixe et des indices visuels noirs ont été placés sur les murs blancs de la pièce. Les souris ont effectué 3 essais chaque jour, non consécutifs, avec un intervalle de 30 min, pendant 5 jours. Le point de départ de la souris varie pour chaque essai pour encourager la souris à se souvenir de l'emplacement de la plate-forme selon les indices visuels uniquement. Si une souris ne trouvait pas la plate-forme après avoir nagé pendant 1 minute l'expérimentateur la guidait vers la plate-forme. Dans tous les cas, la souris reste 30 secondes sur la plateforme avant de retourner dans sa cage.

Pour des raisons d'accès interdit au laboratoire le week-end, le test de rétention a été effectué 72 heures après le dernier jour de la phase d'apprentissage afin d'évaluer la mémoire à long terme. Au cours de cette phase, qui dure 1 min pour un essai, la plate-forme a été retirée. La piscine a été divisée en quadrants artificiels et le temps passé dans le quadrant dans lequel se trouvait la plateforme a été mesuré.

4. Histologie

a. Préparation des échantillons

Les souris ont été anesthésiées avec une dose létale de pentobarbital puis perfusées avec 15mL d'une solution de chlorure de sodium à 0.9% suivi par 100mL de paraformaldéhyde (PFA) à 4% dans du PBS 0.1M. Les cerveaux ont été prélevés puis post-fixés dans le même fixateur pendant une nuit à 4°C et enfin cryo-protégés dans une solution de PBS 0.1M/sucrose 30% à 4°C. Des coupes sériées de 30 µm ont ensuite été réalisées au microtome, puis conservées dans une solution de stockage (glycogène, glycérol, PB 1M, H₂O_d) à -20°C avant utilisation.

b. Immunohistochimie (IHC)

Dans un premier temps, les coupes ont été lavées trois fois 10 min dans du PBS 0.1M. L'activité des peroxydases endogènes a ensuite été bloquée en incubant les coupes pendant 30min dans de l'H₂O₂

(1/100). Les coupes ont été incubées pendant une heure dans un tampon de blocage (PBS contenant 4.5% de sérum de chèvre pré-immun et 0.2% Triton X-100) pour empêcher un marquage non spécifique puis toute la nuit à 4°C avec les différents anticorps primaires (tableau 2). Le jour suivant, l'anticorps primaire a été détecté par incubation avec l'anticorps secondaire approprié pendant une heure puis dans une solution de complexe avidine-biotine (ABC vector kit, dilué au 1/400) pendant une heure. Après révélation de l'activité peroxydase par la 3,3'-diaminobenzidine (DAB Vector kit, préparé suivant le protocole du fournisseur), les coupes ont été montées sur lame, séchées sur la nuit puis déshydratées dans une série de bains d'alcool et de xylène avant montage en résine Eukitt (Chem-Lab).

c. Immunofluorescence (IF)

Les coupes ont été dans un premier temps lavées trois fois 10 min dans du PBS 0.1M puis ont été directement incubées pendant une heure dans la solution de blocage composée de 4.5% NGS (Normal goat serum)/PBS 0.1M/0.2% Triton X-100 (PBST). Les coupes ont ensuite été incubées toute la nuit à 4°C avec les différents anticorps primaires (tableau 7). Le jour suivant, les coupes ont été incubées avec les anticorps secondaire appropriés directement couplés à un fluorochrome (AlexaFluor ou Cy3) une heure à température ambiante (tableau 8). Après rinçage et marquage au 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), les coupes ont été montées entre lame et lamelle avec une solution de Mowiol.

Tableau 9 : Liste des anticorps primaires utilisés.

Clone	Source	Type	Fournisseur	Réactivité	Dilution	Dilution
					IF	IHC
Iba1	Lapin	P	Wako	Iba1 : Humain, Souris, Rat	1/1000	1/2500
PU1	Lapin	M	Cell Signaling	PU.1: Humain, Souris		1/2000
GFP	Chèvre	M	Vector	Tous les variants de GFP <i>Aequorea Victoria</i> , Biotinylé	1/2000	
AT8 biotinylé	Souris	M	Thermoscientific	Tau humaine phosphorylée sur les S202 et T205	1/400	
AT100	Souris	M	Thermoscientific	Tau humaine phosphorylée sur les S212 et T214		1/4000
pSer422	Lapin	P	Abcam	Tau humaine phosphorylée sur la S422	1/1000	
CD3	Lapin	P	Thermoscientific	Région intracytoplasmique de l'antigène CD3, clone SP7		1/200
NeuN-A488	Souris	M	Chemicon	Rat, humain, souris	1/500	
GFAP-Cy3					1/10000	

Abréviations: Iba1, ionized calcium-binding adapter molecule 1; GFP, Green Fluorescent Protein; M, Monoclonal; P, Polyclonal.

Tableau 10 : Liste des anticorps secondaires utilisés.

Source	Type	Fournisseur	Réactivité	Dilution
Chèvre	Monoclonal/biotinylé	Vector	Souris	1/4000
Chèvre	Monoclonal/biotinylé	Vector	Lapin	1/1000
Chèvre	Monoclonal/couplé à l'Alexa Fluor 594	Life technologies	Souris	1/500
Streptavidin-Cy3	-	Sigma-Aldrich	Biotine	1/1000

d. Coloration de Gallyas

Les coupes ont été lavées 3 fois dans du PBS 0,1 M stérile, puis montées sur lames et séchées toute la nuit avant la coloration de Gallyas. Les sections ont ensuite été perméabilisées par incubation dans du toluène puis par des bains d'éthanol avec concentration décroissante (100%, 90% et 70%). Les lames ont ensuite été transférées dans du permanganate de potassium à 0,25% pendant 15 min, puis incubées pendant 2 min dans de l'acide oxalique à 2%, puis incubés 60 min dans une solution contenant 0,4 g de nitrate de lanthane, 2 g d'acétate de sodium et 30% de peroxyde d'hydrogène. Les lames ont ensuite été rincées 3 fois dans de l'eau distillée avant incubation pendant 2 min dans une solution contenant 0,035% de AgNO₃, 0,04 g/ml de NaOH, 0,1 g/ml de KI. La réaction a ensuite été arrêtée par rinçage des sections dans de l'acide acétique à 0,5% et le développement effectué par une incubation pendant 20 min dans une solution contenant 2 g/L de NH₄NO₃, 2 g/L d'AgNO₃, 7610g/L d'acide tungstosilicique, 0,28% de formaldéhyde et 50 g/L de Na₂CO₃. Les coupes ont ensuite été lavées à nouveau dans de l'acide acétique à 0,5%, incubées pendant 20 minutes dans du chlorure d'or à 1% avant d'être rincées à l'eau distillée. La fixation de la coloration a ensuite été effectuée en lavant les coupes 3 fois dans du thiosulfate de sodium à 1%. Les coupes ont ensuite été déshydratées avec des concentrations croissantes d'éthanol et de xylène avant d'être montées en résine Eukitt (Dutscher, France).

5. Quantification et analyse des marquages immunohistologiques

Analyse du modèle rAAV

Les images ont été acquises à l'aide d'un microscope à épifluorescence (Leica DM6000B) pour les expériences concernant le modèle par injection de rAAV, puis quantifiées à l'aide de la suite logiciel ExploraNova et du logiciel ImageJ.

Des mosaïques des coupes immunomarquées avec les anticorps AT8 et NeuN ont été acquises à l'objectif 10x. La région CA1 de l'hippocampe a été délimitée manuellement selon les structures définies dans l'atlas neuro-anatomique du cerveau de souris de Paxinos et Franklin (Paxinos et Franklin, 2^{ème} édition, 2011) puis le niveau de gris moyen du marquage AT8 a été automatiquement mesuré grâce au logiciel ImageJ. Toutes les images ont été acquises et analysées avec les mêmes réglages et paramètres, à partir de la coupe transversale correspondant à la zone d'injection (-2,4 mm postérieur au bregma). L'analyse du marquage NeuN a été réalisée sur les mêmes coupes, en effectuant cinq mesures de l'épaisseur de la couche des neurones pyramidaux du CA1.

Les quantifications du marquage Iba1 ont été réalisées à l'aide du logiciel Mercator (ExploraNova). La quantification a été réalisée à partir de trois coupes adjacentes à la zone d'injection (entre -2.0mm et -2.8mm postérieur au bregma). La région CA1 de l'hippocampe a été délimitée manuellement et le nombre de cellules et l'aire totale de la zone immunoréactive ont été déterminés directement sur lame à l'aide d'un seuillage automatique, et normalisés par rapport à l'aire totale de la région d'intérêt.

Les quantifications du marquage AT100 ont de même été réalisées à l'aide du logiciel Mercator (ExploraNova). La quantification a été réalisée à partir de trois coupes adjacentes à la zone d'injection (entre -2.0mm et -2.8mm postérieur au bregma). La région CA1 de l'hippocampe a été déterminée manuellement, puis le nombre de cellules AT100+ a été compté manuellement.

Analyse du modèle THY-Tau22

Les images ont été scannées au 20x à l'aide d'un Axioscan puis quantifiées à l'aide du logiciel ImageJ pour les marquages immunofluorescents, et directement analysés à partir des lames à l'aide du logiciel Mercator (ExploraNova™) pour les marquages AT100 et PU.1. Les quantifications ont été réalisées au niveau du CA1 à partir de trois coupes situées à -1,7mm ; -2,30mm ; -2,92mm à partir du bregma. Le niveau de gris moyen des marquages immunofluorescents a été automatiquement mesuré grâce au logiciel ImageJ. Le nombre de neurones positifs pour AT100 et pour la coloration au Gallyas ont été mesurés manuellement. Pour le marquage PU.1, une quantification semi-automatique avec seuillage a été réalisée, suivie d'une vérification manuelle. L'analyse du marquage DAPI a été réalisée sur les mêmes coupes, en effectuant sur chacune trois mesures de l'épaisseur de la couche des neurones pyramidaux du CA1.

6. Analyse transcriptomique

a. Extraction d'ARN

Cette méthode d'extraction concerne l'étude sur les souris THY-Tau22. Les animaux ont été euthanasiés par une injection létale de pentobarbital, puis perfusés par voie intracardiaque avec du PBS stérile refroidit à 4°C afin de laver les cerveaux du sang qu'ils contiennent. Les cerveaux ont été rapidement extraits puis l'hippocampe a été disséqué sur glace et congelé dans de l'azote liquide avant d'être conservé à -80°C. Les ARN des différents échantillons ont par la suite été extraits par broyage des tissus au Precellys® (Ozyme™) dans 1mL de Trizol (Life sciences). 200µl de chloroforme ont été ajoutés au Trizol pendant 5min. Les échantillons ont été vortexés et centrifugés à 12000 g, 15 min à 4°C. La phase aqueuse a été collectée puis les ARN ont été précipités par 250µl d'isopropanol pendant 10min à température ambiante. Les ARN ont ensuite été lavés deux fois avec 500µl d'éthanol 75% puis resuspendus dans 20µL d'eau RNase free (Gibco) puis la concentration en ARN est dosée à l'aide d'un nanodrop (Spectrophotometer ND-100, Labtech). Les échantillons ont été stockés à -80°C avant les analyses transcriptomiques.

b. Synthèse d'ADNc

Les ARN ont été traités à la DNase RQ1 (Promega) afin d'éliminer l'ADN génomique. Les ADN complémentaires (ADNc) sont synthétisés par le kit VILO (Superscript® VILO™ cDNA synthesis kit, Life Technologies) à partir de 0,35 µg d'ARN, selon le protocole du fabricant. Un aliquot contenant un mix ARN de chaque échantillon a été incubé sans enzyme pour servir de contrôle de contamination par l'ADN génomique (appelé RT-).

c. Real time quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR)

La RT-qPCR permet la mesure quantitative de l'expression d'ARNm de gènes d'intérêt. Pour chaque échantillon, les ADNc dilués (1ng/µl) ont été incubés avec le mix de RT-qPCR contenant les amorces spécifiques du gène étudié (Tableau 11) et du 2X SYBR-Green® (iQ™ Universal SYBR® Green Supermix, Bio-Rad). Chaque échantillon est traité en triplicat et le protocole suivant a été utilisé pour la RT-qPCR: 3 min à 95°C, dénaturation à 95°C pendant 10 s, hybridation et polymérisation à 95°C pendant 30 s, répétition 40 fois.

La quantité d'ARN a été calculée par la méthode de $\Delta\Delta C_t$ et l'expression des gènes d'intérêt a été normalisée par un couple de gènes de ménages (*PPIA* et *RPL13*) par le logiciel d'analyse Bio-Rad CFX

Manager. Pour chaque gène, la courbe de fusion et la température de fusion ont été vérifiées pour confirmer la présence d'un amplicon unique.

Chaque paire d'amorces a été validée à partir de dilutions en cascade (de 1 à 0,0016 ng/μl) d'ARN de souris contrôles et l'efficacité de la RT-qPCR a été déterminée. Elles sont comprises entre 80 et 100 % pour chaque paire d'amorces.

Tableau 11 : Liste des amorces utilisées pour les expériences de RT-qPCR.

Gène	Amorce Sens	Amorce Anti-Sens
PPIA	ATGGCAAATGCTGGACCAAA	GCCTTCTTTCACCTTCCCAAA
RPL13	CTGAAGCCTACCAGAAAGTTTGC	GGTACTTCCACCCGACCTCAT
Iba1	CCAGCCTAAGACAACCAGCGTC	GCTGTATTTGGGATCATCGAGGAA
Tmem119	GTGTCTAACAGGCCCCAGAA	AGCCACGTGGTATCAAGGAG
TREM2	AATGGGAGCACAGTCATCGCAGA	ACTGGTAGAGGCCCGCGTCAC
TNFα	TGTGCTCAGAGCTTTCAACAA	CTTGATGGTGGTGCATGAGA
IL1β	ATGGGCTGGACTGTTTCTAATGC	TGTGACCCTGAGCGACCTGT
IL6	CAATCCAGAAACCGCTATG	CAGGTCTGTTGGGAGTGGTA
TGFβ	TATAGCAACAATTCCTGGCGTTACC	CGAAAGCCCTGTATTCCGTCTC
GFAP	ACGACTATCGCCGCAACT	GCCGCTCTAGGGACTCGTTC
Serpina3n	CAACCTTACAGGCCAACCCAT	GGGCACCAAGTAGTCCTAGATGCT

7. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreur standard (SEM). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Statistica13 (Statsoft Inc., USA). Avant l'analyse, la normalité des résidus et le test de Levene pour vérifier l'homogénéité des variances des résidus ont été effectués. Lorsque les deux conditions étaient respectées, des tests paramétriques ont été appliqués. Le test t de Student a été réalisé pour comparer deux groupes composés d'échantillons indépendants. Une ANOVA à deux facteurs (génotype et vecteur pour le **modèle par injection**, génotypes concernant les gènes *Trem2* et *Tau* pour le **modèle transgénique**) ou trois facteurs pour l'étude du modèle transgénique à 12 mois (génotypes concernant les gènes *Trem2* et *Tau*, et le sexe), suivi d'un test post hoc de Bonferroni ont été appliqués. Si l'une ou les deux conditions (homogénéité des variances ou normalité des résidus) n'étaient pas respectées, un test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été réalisé pour comparer les échantillons par comparaison multiple ou un test de Mann-Whitney pour la

comparaison de deux groupes composés d'échantillons indépendants. La différence a été considérée comme significative pour une p-value ≤ 0.05 .

Pour les résultats concernant le **modèle par injection**, seuls les résultats de la mesure de l'aire de la région CA1 et du nombre de neurones AT100+ remplissaient les différents critères des tests. Ceci a permis de réaliser un test ANOVA à deux facteurs (génotypes et vecteurs) pour la mesure de l'aire du CA1, et un test t de Student pour la mesure du nombre de neurones AT100+. Les autres données ont été analysées par un test non-paramétrique, par comparaison multiple, avec le test de Kruskal-Wallis.

Pour les résultats concernant le **modèle transgénique**, les données histologiques et de qPCR ont été analysées comme expliqué ci-dessus (se référer aux résultats pour connaître les tests utilisés pour chaque variable).

Concernant les tests comportementaux :

- Les résultats du test de la **cage d'activité** ont été analysés par MANOVA, après avoir vérifié la normalité des résidus et l'homogénéité des variances des résidus par le test de Levene ainsi que la sphéricité par le test de Mauchly. Il est à noter que, parmi les 23 heures analysées, 3 ne respectaient pas un des critères.
- Les résultats du test du **labyrinthe en croix surélevé** ont été analysés par le test t de Student après avoir vérifié la normalité des résidus et l'homogénéité des variances des résidus par le test de Levene.
- Les résultats du test du **labyrinthe en V avec reconnaissance d'objet** ont été analysés par un test t de Student en comparant l'index de discrimination à une valeur de 0.
- Les résultats de la phase d'apprentissage du test de la **piscine de Morris** ont été analysés par ANOVA en mesures répétées, après avoir vérifié la normalité des résidus et l'homogénéité des variances des résidus par le test de Levene ainsi que la sphéricité par le test de Mauchly. Les résultats du test de rétention ont été analysés par un test t de Student en comparant le pourcentage de temps passé dans chaque quadrant à une valeur de 25%.

Résultats

1. Rôle de TREM2 sur la progression d'un modèle de tauopathie induit par transfert de gène chez la souris

a. Validation du modèle de tauopathie sur la Souris

Afin d'établir un modèle de tauopathie focale, des vecteurs rAAV exprimant différentes versions de la protéine Tau humaine ont été produits au laboratoire. Ils ont été testés avec succès sur des rats Wistar mâles adultes (d'Orange et al., 2018). Cependant, afin d'avoir accès aux nombreux modèles de souris transgéniques disponibles, et notamment la lignée invalidée pour *Trem2*, il a fallu, dans un premier temps, déterminer les constructions et doses optimales de vecteur pour entraîner une tauopathie chez la Souris, mâles et femelles. Nous avons testé différents vecteurs exprimant soit la forme sauvage de Tau (Tau^{WT}), soit la forme portant la mutation P301L (Tau^{P301L}), soit un transgène hybride codant pour la protéine Tau^{WT} et un peptide favorisant son agrégation (Tau^{WT}+ΔK280), les 2 séquences codantes étant séparées par un peptide 2A permettant ainsi d'avoir une co-expression stœchiométrique des deux polypeptides dans la cellule transduite (Szymczak-Workman et al., 2012) (Figure 19 A).

L'utilisation d'un gène rapporteur codant la GFP a permis la localisation de l'expression du transgène délivré par le vecteur rAAV. Les animaux WT injectés avec le vecteur rAAV-GFP présentent une expression de la protéine GFP localisée au niveau des neurones pyramidaux de la couche CA1 de l'hippocampe (Figure 19 C). Cela démontre que le design de la cassette d'expression contenue dans le vecteur, le tropisme du virus ainsi que la dose injectée permettent l'expression des protéines d'intérêt spécifiquement au niveau des neurones de la couche CA1 de l'hippocampe.

Chaque vecteur a été testé à deux doses, 10⁹ (données non montrées) et 10¹⁰ vg (Figure 19 B). A la dose la plus forte, l'hyperphosphorylation de Tau (marqueur AT8) et sa relocalisation dans le compartiment somato-dendritique ont été observées pour les trois formes de Tau, le groupe Tau^{WT}+ΔK280 présentant toutefois un marquage plus intense (Figure 19 B). Le marqueur AT100, qui permet de détecter la conformation anormale de la protéine Tau, a été observé uniquement dans les groupes exprimant les deux formes entraînant l'agrégation de la protéine Tau, c'est-à-dire Tau^{P301L} et Tau^{WT}+ΔK280, la forme Tau^{WT} ne s'agrégant pas spontanément dans notre modèle.

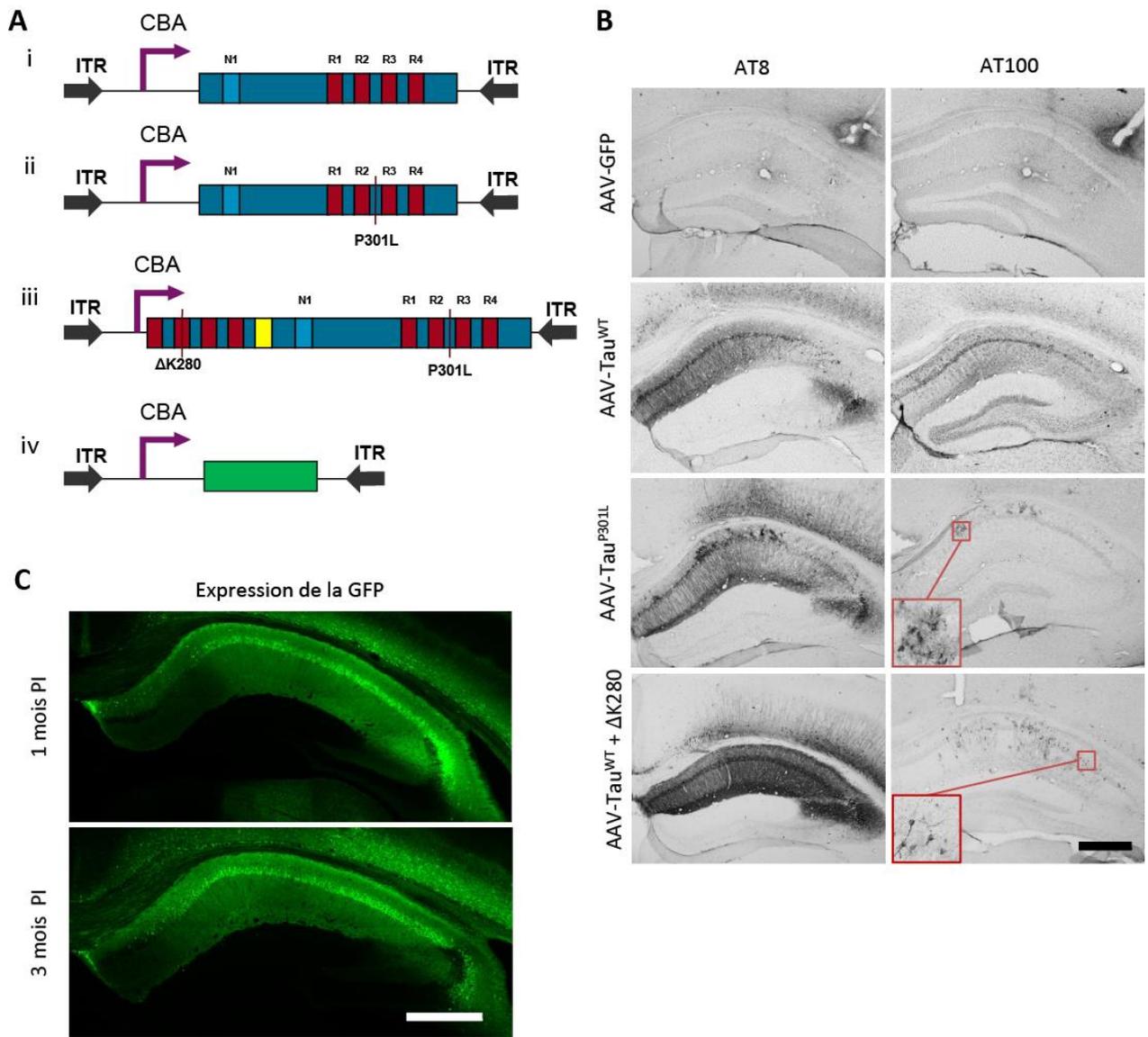


Figure 19 : Le peptide $\Delta K280$ permet une agrégation rapide de la protéine Tau humaine WT.

(A) Construction des vecteurs AAV-Tau^{WT} (i), AAV-Tau^{P301L} (ii), AAV-Tau^{WT}+ $\Delta K280$ (iii) et AAV-GFP (iv) (B) Expression du gène rapporteur GFP dans le CA1 de l'hippocampe des animaux WT injectés avec le vecteur AAV-GFP. La construction du vecteur, la dose injectée de $5 \cdot 10^9$ Vg ainsi que le tropisme du virus permettent l'expression spécifique des protéines d'intérêt au niveau des neurones du CA1 de l'hippocampe. (C) Hyperphosphorylation et relocalisation de la protéine Tau au niveau du soma et des dendrites (AT8) et conformation anormale de la protéine Tau (AT100), dans des souris injectées avec la Tau humaine mutée et la Tau humaine WT avec le peptide pro-agrégant ($\Delta K280$), à un mois post-injection. La dose injectée est de 10^{10} Vg. Ces deux différents marquages sont observés au niveau des neurones des animaux injectés avec les deux vecteurs, validant le vecteur AAV-Tau^{WT}+ $\Delta K280$. Echelle = 500 μ m.

Des DNFs, mises en évidence par le marquage AT100, ont de plus été détectées au niveau des neurones pyramidaux de la couche CA1, uniquement dans le groupe Tau^{WT} +ΔK280 (Figure 19 B). Aucun des marquages de la protéine Tau utilisés n'a été observé dans le groupe contrôle injecté avec le vecteur exprimant la protéine GFP. A la dose 10⁹ vg de rAAV, les marqueurs AT8 et AT100 obtenus sont plus faibles.

Le peptide ΔK280 permet donc une agrégation rapide, dès un mois post-injection, de la protéine Tau^{WT}. Nous avons donc choisi ce vecteur, ainsi que le vecteur exprimant la protéine Tau^{WT}, pour la suite des expérimentations, injectés à la dose de 10¹⁰ vg qui permet d'obtenir un niveau significatif de tauopathie dès un mois après transfert de gène.

b. La déficience constitutive en TREM2 induit une diminution du statut inflammatoire à un mois mais pas à trois mois post-injection

Nous nous intéressons d'une part à l'inflammation générée par les différents états d'agrégation de la protéine Tau humaine et d'autre part au statut inflammatoire du modèle de déficience en TREM2, après induction de la tauopathie. Au niveau périphérique, une forte réponse inflammatoire avait d'abord été décrite dans les souris déficientes en TREM2 en réponse à une stimulation du système immunitaire (Turnbull et al., 2006). Mais de manière inattendue, des études plus récentes ont montré, à l'inverse, une diminution du statut inflammatoire dans le cerveau de souris présentant une pathologie amyloïde (Jay et al., 2015; Wang et al., 2015). Nous avons donc voulu déterminer le statut inflammatoire induit par notre modèle de tauopathie. Pour cela nous avons traité une cohorte de souris WT et une cohorte de souris *Trem2*^{-/-} qui ont chacune été séparées en 4 groupes et ont reçu respectivement dans la couche CA1 de l'hippocampe une injection de rAAV-Tau^{WT}, de rAAV-Tau^{WT}+ΔK280, de rAAV-GFP, ou de solvant de la solution virale.

L'analyse de l'expression d'Iba1, un marqueur exprimé à la surface des phagocytes mononucléaires et donc de la microglie, et surexprimé en cas d'inflammation, a permis de déterminer le statut inflammatoire des différents groupes de souris (Ito et al., 1998). Pour cela, la surface totale immunoréactive au niveau de la couche CA1 a été quantifiée, et normalisée par rapport à la surface du CA1. Au temps un mois, la surexpression de la protéine Tau^{WT} semble provoquer une réaction microgliale plus forte que sa forme agrégée Tau^{WT}+ΔK280 dans les souris WT, mais cette différence ne ressort pas significativement avec le test non paramétrique utilisé. La surface immunoréactive présente une tendance à l'augmentation par rapport au groupe rAAV-GFP (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, p=0,054). De plus, le marquage Iba1 est observé, pour le groupe Tau^{WT}, à

proximité de la couche cellulaire des neurones pyramidaux de la couche CA1, à l'inverse des autres groupes où le marquage est plus diffus à l'ensemble de cette couche (voir Figure 20). Nous n'observons pas de différences significatives entre les groupes rAAV-GFP et rAAV-Tau^{WT}+ΔK280. Dans les souris *Trem2*^{-/-}, la réaction inflammatoire provoquée par la surexpression de la Tau^{WT} est à l'inverse diminuée (diminution de 62% de la surface immunoréactive) et de niveau comparable pour l'ensemble des vecteurs (Figure 20).

A trois mois post-injection, la réaction inflammatoire est de manière globale diminuée pour l'ensemble des groupes, quel que soit le génotype. Une plus forte inflammation est cependant observée dans les souris *Trem2*^{-/-} injectées avec le rAAV-Tau^{WT}+ΔK280 par rapport au groupe véhicule du même génotype (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,002$), alors qu'aucune différence significative n'est retrouvée pour les autres vecteurs, quel que soit le génotype des souris. Étonnamment, la réponse microgliale semblerait donc plus élevée à trois mois post-injection dans les souris *Trem2*^{-/-} injectées avec le vecteur exprimant le transgène Tau^{WT}+ΔK280, alors qu'à un mois post-injection la réponse microgliale est plus élevée au sein des souris exprimant le transgène Tau^{WT} (Figure 20 ; Figure 21).

L'évaluation de la neuroinflammation dans notre modèle a été complétée par des études transcriptionnelles, à partir des ARNm des cellules CD11b+ monocytaires. En raison du nombre d'échantillons trop faible, il n'a pas été possible de réaliser d'étude statistique à partir de ces résultats. Cependant, il semblerait que, à la différence de l'étude immunohistologique réalisée avec Iba1, les niveaux de transcrits de marqueurs relatifs à l'inflammation tels que TNF α ou CD68 soient plus élevés dans le groupe rAAV-GFP, uniquement pour les souris WT. Les souris déficientes en TREM2 semblent exprimer de manière homogène ces différents marqueurs d'inflammation, quel que soit le vecteur rAAV utilisé (Figure 22).

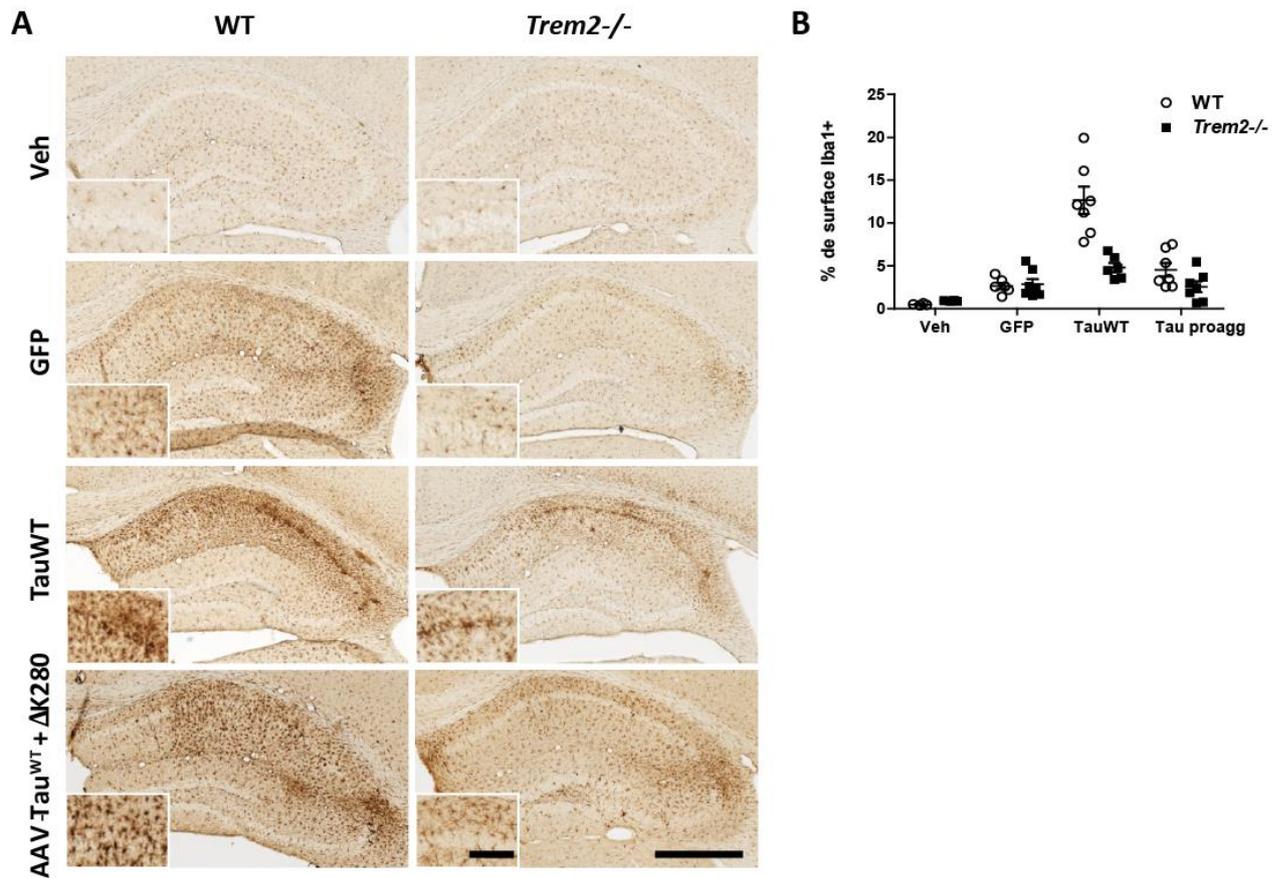


Figure 20 : Diminution du statut inflammatoire corrélée avec la déficience en TREM2 à 1 mois post-injection.

(A) Représentation de la neuroinflammation (Iba1) induite par les différents vecteurs à un mois post-injection. (B) Quantification de la surface immunoréactive, normalisée par la surface du CA1. La neuroinflammation est plus forte dans le groupe Tau^{WT} au sein des souris WT, alors qu'elle a tendance à être diminuée au sein des souris *Trem2*^{-/-}. Les données présentées correspondent à la moyenne ± SEM. Echelle = 500 μm et 100 μm pour le plus fort grossissement.

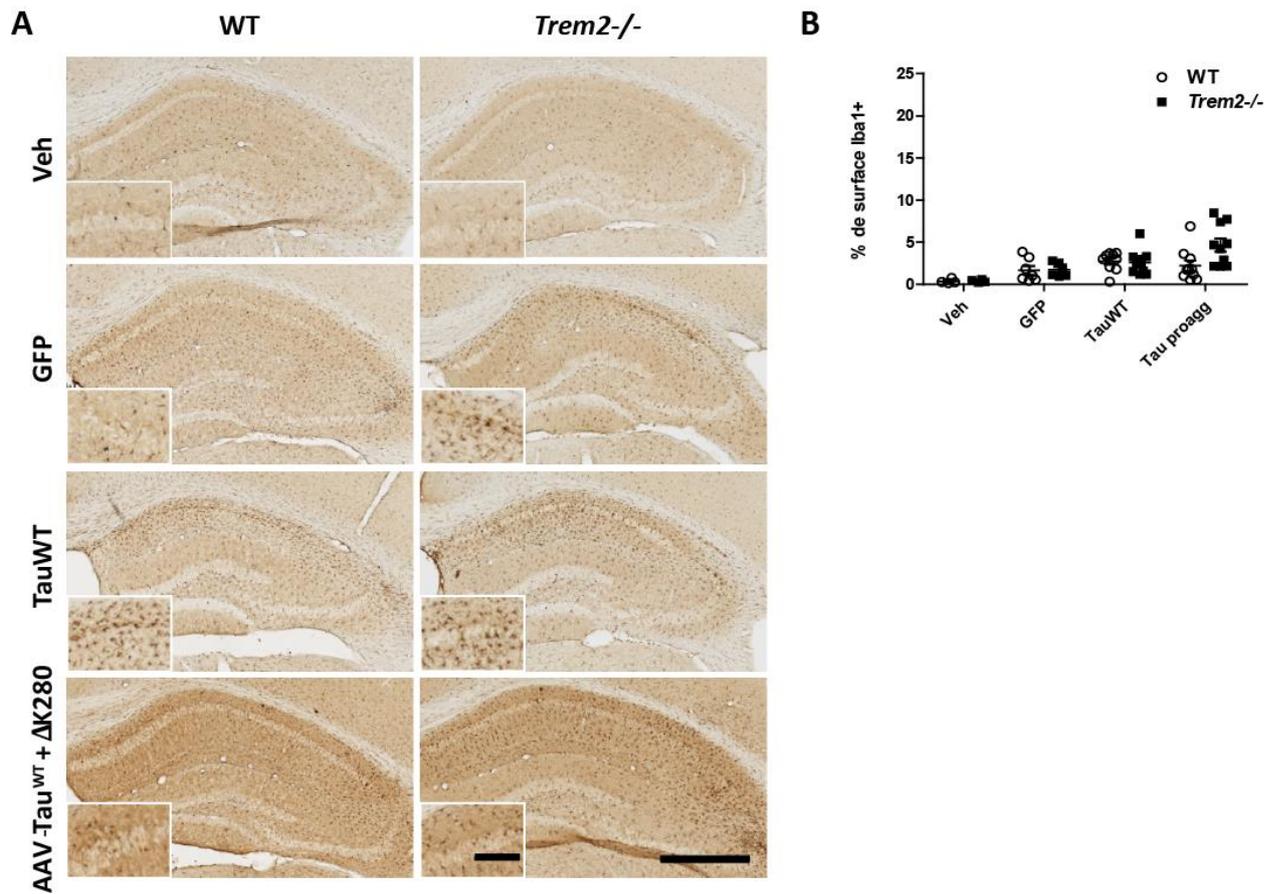


Figure 21 : Le statut inflammatoire des souris WT et *Trem2*^{-/-} à 3 mois post-injection.

(A) Représentation de la neuroinflammation (Iba1) induite par les différents vecteurs à trois mois post-injection. (B) Quantification de la surface immunoréactive. Le niveau d'inflammation par rapport au véhicule est similaire entre les deux génotypes et selon les deux formes de Tau. Les données présentées correspondent à la moyenne \pm SEM. Echelle = 500 μ m et 100 μ m pour le plus fort grossissement.

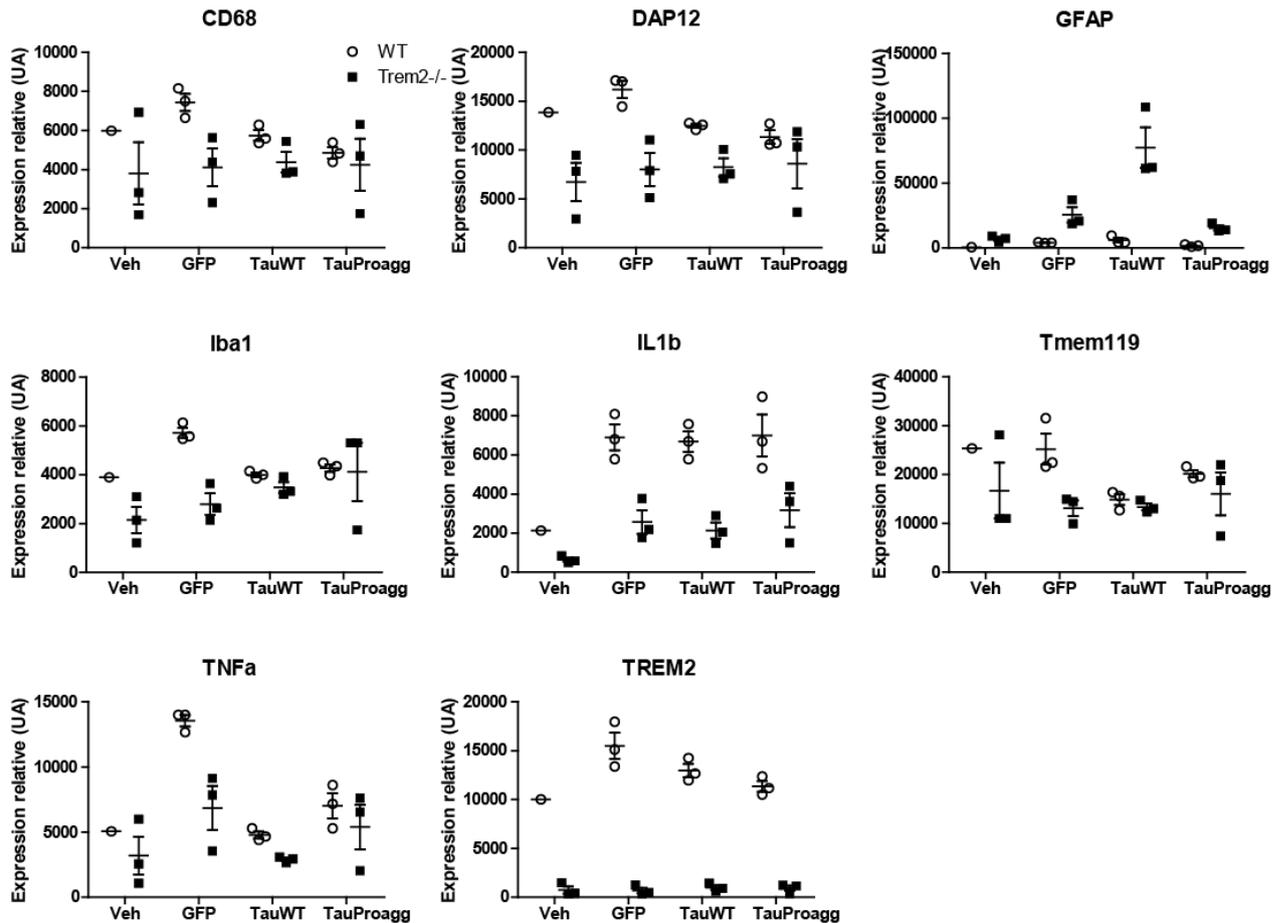


Figure 22 : Expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR dans la fraction microgliale.

Les souris WT et déficientes en TREM2 ont été injectées avec les différents vecteurs et perfusées avec une solution saline un mois après injection. Les cellules CD11b+, correspondant aux cellules myéloïdes, ainsi que les cellules CD11b-, ont été triées par le système Miltenyi d'isolation par billes magnétiques. Les niveaux d'ARNm de TNF α de différents marqueurs d'inflammation ont été quantifiés par RT-qPCR sur l'hippocampe de ces souris. Les résultats ont été normalisés par les gènes RPL13 et PPIA. Les données présentées correspondent à la moyenne \pm SEM

c. La déficience constitutive en TREM2 n'affecte pas la progression de la tauopathie

Le projet ayant pour objectif d'étudier le rôle du récepteur TREM2 dans la progression de notre modèle de tauopathie, la tauopathie a été évaluée par les marqueurs AT8, spécifique de certains sites de phosphorylation de la protéine Tau et AT100, spécifique de certains sites de phosphorylation de la protéine Tau et rendant compte de la conformation anormale de Tau, dans chacun des deux génotypes. L'hyperphosphorylation de Tau ainsi que sa relocalisation dans le compartiment somato-dendritique sont observées pour les deux formes de Tau dans les deux génotypes (Figure 23 A et C).

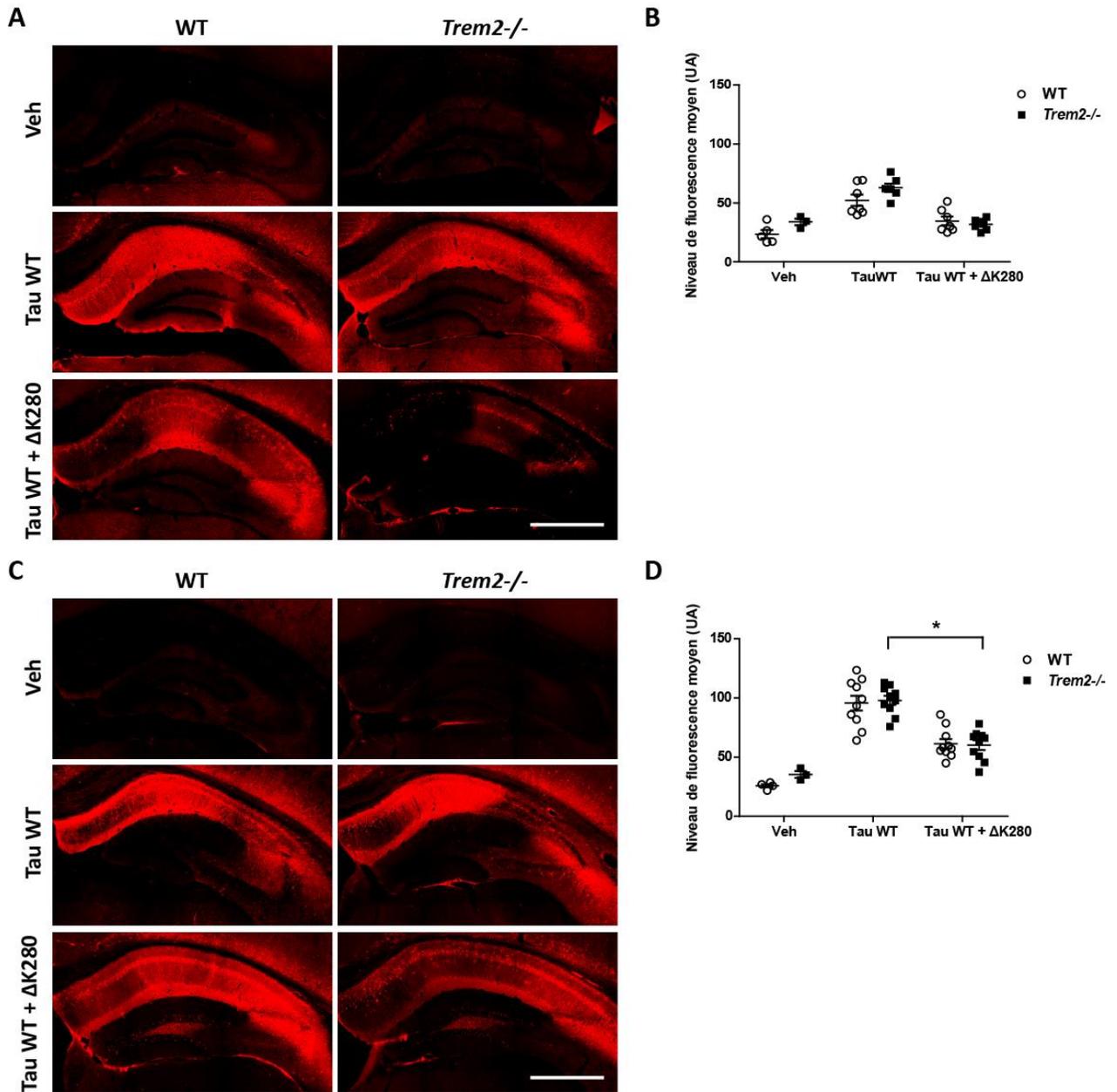


Figure 23 : Progression de la tauopathie dans les souris déficientes en TREM2.

(A)(C) Immunofluorescence et (B)(D) Niveau de fluorescence moyen du marqueur AT8 au niveau du CA1 de l'hippocampe des souris WT et *Trem2*^{-/-}, en fonction du vecteur, à un (A)(B) et trois (C)(D) mois post-injection (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,025$). Aucune différence significative n'est retrouvée en fonction du génotype pour un même vecteur. Les données présentées correspondent à la moyenne \pm SEM. Echelle = 500 μ m. * $p < 0.05$.

Cependant, la quantification du signal AT8 n'a pas permis de mettre en évidence une différence entre les niveaux de fluorescence observés pour le groupe exprimant le transgène Tau^{WT}+ΔK280 et le groupe véhicule, à un mois post-injection, possiblement lié à un défaut de sensibilité de la méthode employée (Figure 23 B). A un et trois mois post-injection, aucune différence significative n'est observée entre les génotypes WT et *Trem2*^{-/-} pour un même vecteur, laissant supposer que la déficience en TREM2 n'affecte pas la progression de la tauopathie (Figure 23). Par ailleurs, à 3 mois post-injection, la surexpression de la Tau^{WT} a induit une hyperphosphorylation plus intense que celle observée pour la forme associée au peptide qui promeut l'agrégation chez les souris déficientes en TREM2 (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, p=0,062 pour les souris WT et p=0,025 pour les souris déficientes en TREM2).

Le marqueur AT100 a confirmé la présence de protéine Tau anormalement conformée uniquement pour le groupe exprimant le transgène Tau^{WT}+ΔK280, la protéine Tau^{WT} ne s'agrégeant pas spontanément dans notre modèle, aux temps étudiés. Nous avons donc observé dans l'ensemble de la couche CA1 des pré-DNFs et DNFs induites par l'expression du transgène Tau^{WT}+ΔK280 et ce, quel que soit le génotype des souris, à un et trois mois post-injection (Figure 24). A un mois post-injection, une forte hétérogénéité est retrouvée quant au nombre de neurones AT100 positifs en fonction des animaux (Figure 24 A et C). Cela pourrait être dû au fait qu'un mois est un âge charnière auquel la pathologie est apparu chez une partie des animaux, mais pas les autres, du fait de la variation interindividuelle. A trois mois post-injection, nous retrouvons une variabilité moins importante, mais tout de même existante. A trois mois post-injection, les neurones AT100 positifs ont une tendance à être plus nombreux chez les souris déficientes en TREM2 que chez les souris non déficientes en TREM2 (test t de Student, p=0,097 ; Figure 24 B et D). Nous pouvons remarquer dans le groupe WT un individu pour lequel le nombre de neurones positifs pour AT100 est très supérieur aux autres individus du même groupe. En réalisant de nouveau le test statistique en excluant cette valeur, nous observons une différence significative entre les animaux WT et déficients en TREM2 (test t de Student, p=0,0011).

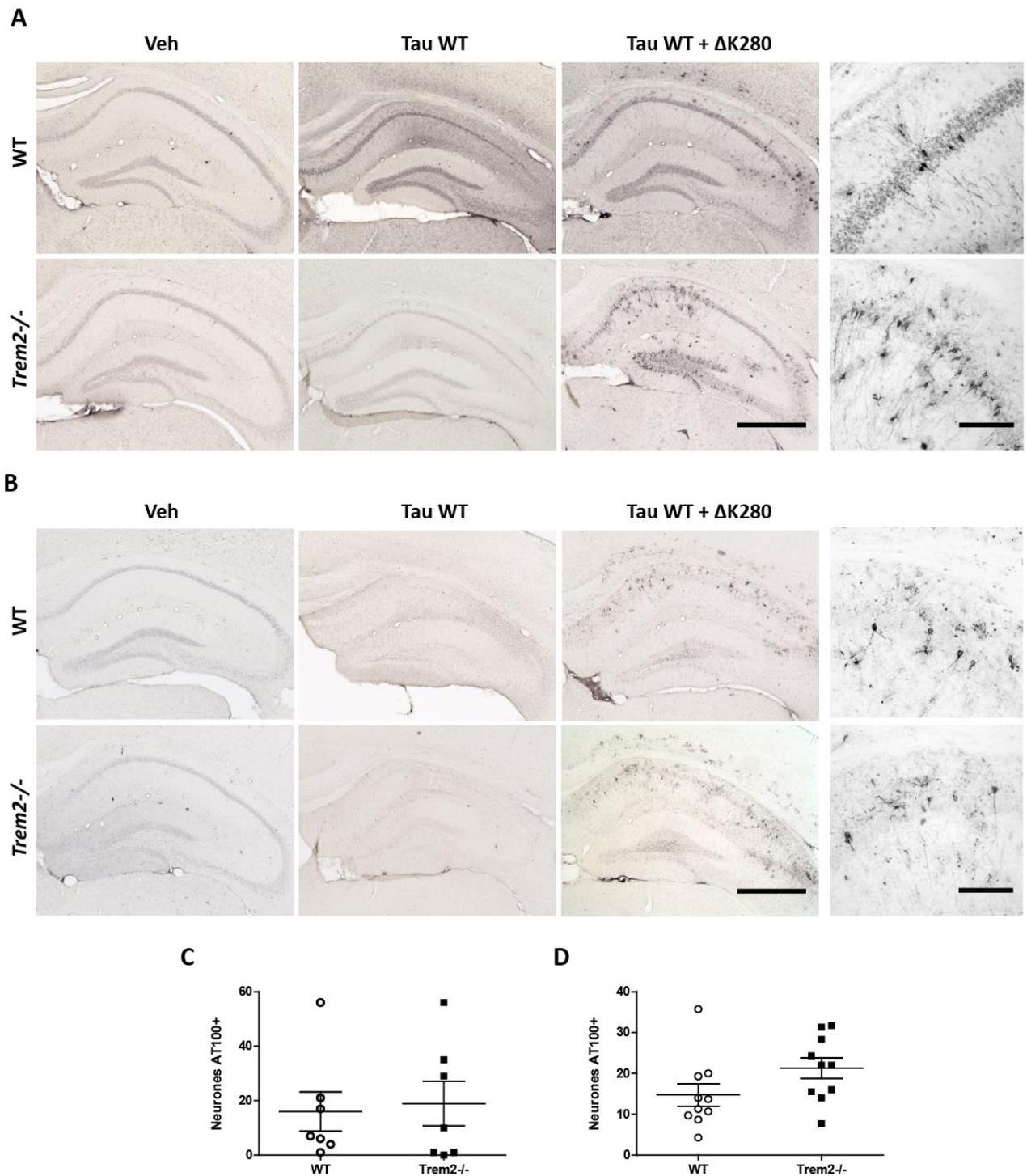


Figure 24 : Evaluation de l'agrégation de la protéine Tau en fonction du génotype des souris par marquage immunohistochimique AT100 au niveau de la couche CA1 de l'hippocampe des souris WT et *Trem2*^{-/-}, en fonction du vecteur, à un et trois mois post-injection.

(A) Immunohistochimie du marqueur AT100. (C)(D) Quantification du marqueur AT100 à (C) 1 mois et (D) 3 mois post-injection. Nous n'observons pas de différence statistique entre le génotype WT et *Trem2*^{-/-}, que ce soit à un (test de Mann-Whitney, $p=1$) ou trois mois post-injection (test t de Student, $p=0,097$). Les données présentées correspondent à la moyenne \pm SEM. Echelles = 500 μ m (gauche) et 100 μ m (droite).

d. La déficience constitutive en TREM2 n'accroît pas la perte neuronale dans la couche CA1 de l'hippocampe

Nous avons par la suite vérifié si, dans notre modèle de modulation de l'inflammation, les différents états inflammatoires retrouvés précédemment étaient associés à une perte neuronale. Pour cela, nous avons quantifié indirectement la mort neuronale avec le marquage neuronal NeuN, premièrement par la mesure du volume de la couche CA1, et deuxièmement par la mesure de l'épaisseur de la couche des corps cellulaires des neurones pyramidaux dans la couche CA1, sur trois coupes espacées entre elles de 360 μm , et le niveau antéro-postérieur de la coupe centrale correspondant à celui du site d'injection.

Une atrophie progressive de CA1 est observée dans le groupe Tau^{WT} , par rapport au groupe $\text{Tau}^{\text{WT}}+\Delta\text{K280}$ (Figure 25 B et E) d'environ 25% à un mois (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, $p<0,001$) et 50% à trois mois post-injection (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, $p=0,0015$), pour les animaux WT. Nous n'observons en revanche pas de différence entre le groupe $\text{Tau}^{\text{WT}}+\Delta\text{K280}$ et le groupe véhicule, que ce soit à un (ANOVA par mesures répétées, $F=4,58$; test post-hoc de Bonferroni, $p=0,29$) et trois mois post-injection injection (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, $p=1$) pour les animaux WT. De même, il existe une diminution de l'épaisseur de la couche des neurones pyramidaux à un (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, $p<0,001$) et trois mois post-injection (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, $p<0,001$) dans le groupe Tau^{WT} , par rapport au groupe $\text{Tau}^{\text{WT}}+\Delta\text{K280}$ (Figure 25 C et F).

La perte d'immunomarquage NeuN, un marqueur nucléaire neuronal, et l'atrophie observée, permettent d'émettre l'hypothèse d'une dégénérescence dans la couche pyramidale CA1 des animaux du groupe Tau^{WT} par rapport aux groupes véhicules et $\text{Tau}^{\text{WT}}+\Delta\text{K280}$.

L'atrophie de la couche CA1 ainsi que la dégénérescence des neurones pyramidaux ne sont cependant pas significativement différents d'un génotype à l'autre, pour un même vecteur. La déficience en TREM2 n'induit donc *a priori* pas une accélération de la dégénérescence dans le modèle de tauopathie Tau^{WT} .

Nous avons récapitulé dans un tableau synthétique l'ensemble de ces résultats (Tableau 12).

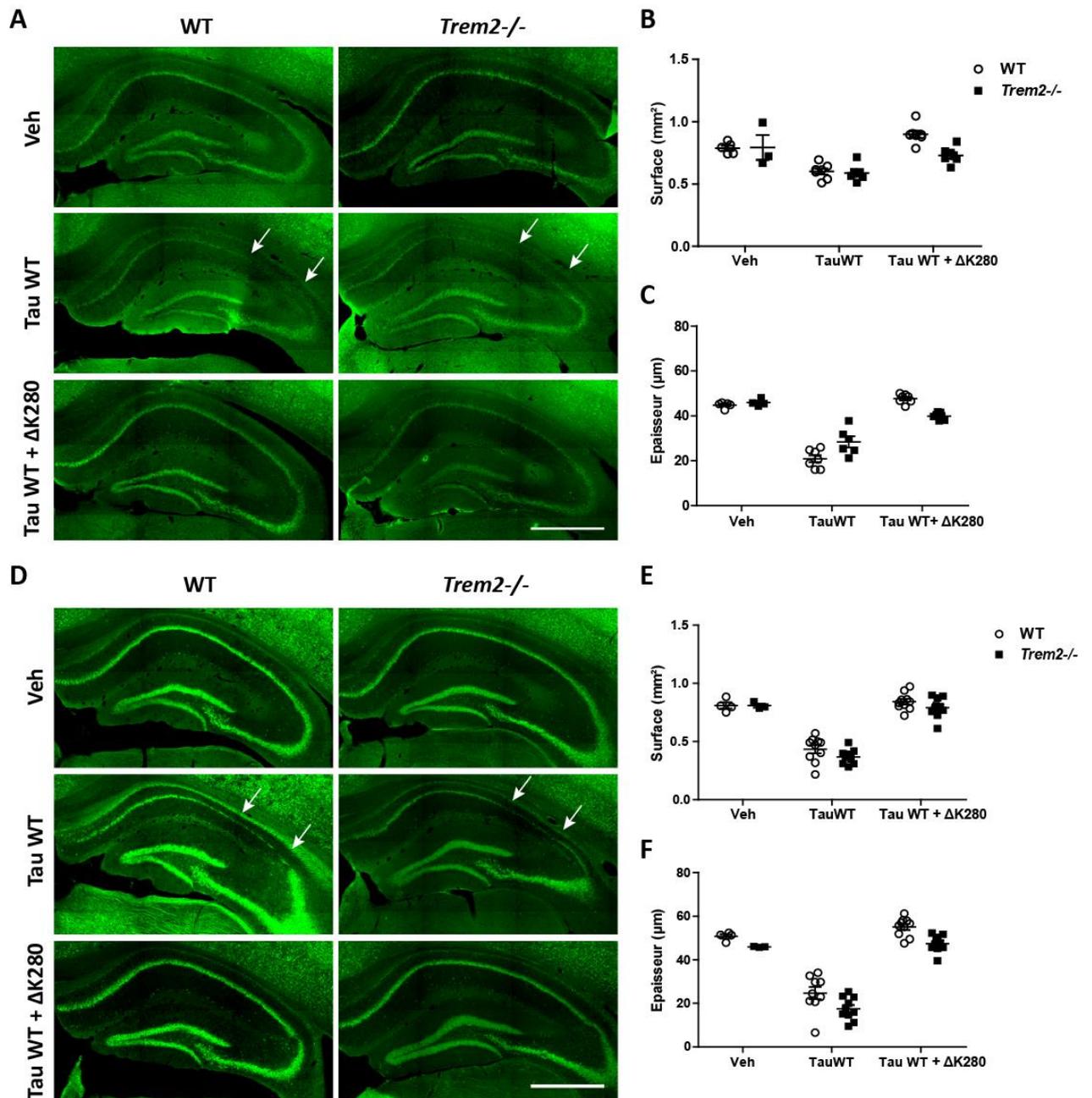


Figure 25 : Le peptide ΔK280 permet la diminution de la toxicité de la protéine Tau WT par rapport à sa forme agrégée.

(A)(D) Immunohistochimie du marqueur neuronal NeuN dans l'hippocampe des souris WT et *Trem2*^{-/-}, en fonction du vecteur, à (A) un et (D) trois mois post-injection. L'expression de la protéine Tau humaine WT induit une perte d'immunoréactivité du marqueur NeuN plus importante que sa forme agrégée. (B)(E) Quantification des aires du CA1 à un (B) et (E) trois mois post-injection. Au sein des deux génotypes, la Tau WT provoque une atrophie de la zone par rapport à sa forme pro-agrégante (ANOVA par mesures répétées à un mois post-injection, $F=4,58$; test post-hoc de Bonferroni, $p<0,001$ pour le génotype WT et $p=0,034$ pour le génotype *Trem2*^{-/-}; ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples à trois mois post-injection : $p=0,0015$ pour le génotype WT et $p=0,0014$ pour le génotype *Trem2*^{-/-}) (C)(F) Quantification de l'épaisseur du marquage NeuN à un (C) et trois mois post-injection (F). Quel que soit le génotype, la protéine Tau WT provoque une dégénérescence des neurones pyramidaux du CA1 par rapport à sa forme pro-agrégante (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaisons multiples, à un mois post-injection : $p<0,001$ pour le génotype WT et $p=0,0025$ pour le génotype *Trem2*^{-/-}; à trois mois post-injection : $p<0,001$ pour le génotype WT et $p=0,011$ pour le génotype *Trem2*^{-/-}). **Pour plus de clarté, les résultats statistiques n'ont pas été représentés sur ces graphiques.** Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type. Echelle = 500 μm.

Tableau 12 : Tableau synthétique des résultats en fonction du génotype des animaux, de la durée post-injection et du vecteur.

	WT								<i>Trem2^{-/-}</i>							
	1 mois post-injection				3 mois post-injection				1 mois post-injection				3 mois post-injection			
	I	N	Hy	A	I	N	Hy	A	I	N	Hy	A	I	N	Hy	A
Véhicule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AAV-GFP	+			-	+			-	+			-	+			-
AAV-Tau ^{WT}	+++	++	++	-	+	+++	+++	-	+	++	+	-	+	+++	+++	-
AAV-Tau ^{WT} +ΔK280	++	-	+	P	+	+	++	P	+	+	-	P	++	-	+	P

I = Inflammation, N = Neurodégénérescence, Hy = Hyperphosphorylation de la protéine Tau, A = Agrégation de la protéine Tau,

P = présence. + tendance non significative, ++ résultat significatif ($p < 0,05$), +++ résultat très significatif ($p < 0,01$)

Ainsi, dans le modèle par injection de rAAV, nos résultats montrent que TREM2 est au moins en partie responsable de l'induction de la neuroinflammation microgliale, à un mois post-injection, sans que cela influe sur la progression de la tauopathie. A trois mois post-injection, nous observons une tendance à l'augmentation du nombre de neurones positifs pour le marquage AT100, ce qui suggère un potentiel effet de la déficience en TREM2 à un temps plus tardif.

Il est à noter que les expériences par transfert de gène nécessitent plusieurs contrôles, notamment un contrôle avec le solvant de la solution virale, et un contrôle avec le vecteur viral vide ou induisant l'expression d'une protéine « neutre », dans le cas la protéine GFP. Cela a pour conséquence d'augmenter le nombre de groupes et donc de diminuer la puissance statistique.

Nous avons par ailleurs confirmé dans la souris que la forme WT de la protéine Tau induisait une toxicité par rapport à sa forme agrégée, comme l'ont montré les résultats de d'Orange et al. chez le rat.

Ce modèle de tauopathie par transfert de gène est un modèle aigu, induisant une réponse inflammatoire importante due à une expression massive du transgène. Ainsi, l'absence de différence entre génotype pourrait être dû au fait que ce modèle n'est pas le plus adapté pour répondre à notre question expérimentale, c'est pourquoi le reste de l'étude se concentrera sur un autre modèle, le modèle transgénique THY-Tau22.

2. Rôle de TREM2 dans la progression de la tauopathie dans un modèle transgénique de tauopathie : la lignée THY-Tau22

a. Exploration de la réponse inflammatoire en fonction de la déficience ou non en TREM2 dans le modèle THY-Tau22, et en fonction de l'âge considéré

Afin d'étudier la progression de la tauopathie dans un modèle plus progressif, et induisant une réponse inflammatoire moins aigüe, nous avons décidé de poursuivre notre étude dans le modèle THY-Tau22. En effet, dans ce modèle, la microgliose et l'astrogliose ne sont observées qu'à partir de 3 - 6 mois et la perte neuronale à partir de 12 mois (Schindowski et al., 2006). Pour cela, nous avons choisi trois âges, à savoir 3, 6 et 12 mois, pour lesquels nous avons comparé les souris déficientes ou non en TREM2, exprimant de manière hétérozygote (THY-Tau22^{+/-}) le transgène Tau humain muté ou ne l'exprimant pas (THY-Tau22^{-/-}).

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la réponse neuroinflammatoire générée par la tauopathie, en fonction de l'expression ou non de TREM2. Pour cela, nous nous sommes intéressés d'une part à l'expression d'Iba1, marqueur de microgliose, et au nombre de cellules monocytaires, à l'aide du marqueur nucléaire PU.1, qui est un facteur de transcription qui active l'expression de gènes au cours du développement des cellules myéloïdes et lymphoïdes B (Mak et al., 2011). **A 3 mois**, nous ne retrouvons pas de différence significative dans l'expression d'Iba1 entre les groupes (ANOVA multifactorielle, $F=2.41$, $p=0.13$ pour le génotype *Trem2*, $F=0.019$, $p=0.89$ pour le génotype THY-Tau22, Figure 26 A et B). De même, **à 6 mois**, l'analyse de l'expression d'Iba1 ne nous a pas permis de mettre en évidence de différence significative entre les groupes (ANOVA multifactorielle $F=1.42$, $p=0.24$ pour le génotype *Trem2* et $F=0.53$, $p=0.47$ pour le génotype THY-Tau22, Figure 27 A et C). Il est cependant à noter une tendance à la diminution du nombre de cellules PU.1 positives pour les souris déficientes en TREM2 à 6 mois (ANOVA multifactorielle, $F=3,55$; $p=0,07$; Figure 27 B et D) ce qui est en accord avec certaines études qui montrent que TREM2 est un récepteur nécessaire pour la prolifération des cellules monocytaires (voir 4.c Les rôles de TREM2). **A 12 mois**, le nombre d'animaux disponibles pour l'étude nous a permis de pouvoir séparer les femelles des mâles dans l'analyse, contrairement aux autres âges. De même, aucune différence significative n'est retrouvée pour le marquage Iba1 (ANOVA de Kruskal-Wallis, $p=0.13$, Figure 28 A et C). Nous n'avons de même pas mis en évidence de différence significative dans le nombre de cellules positives pour PU.1 à 12 mois (Figure 28 E et F).

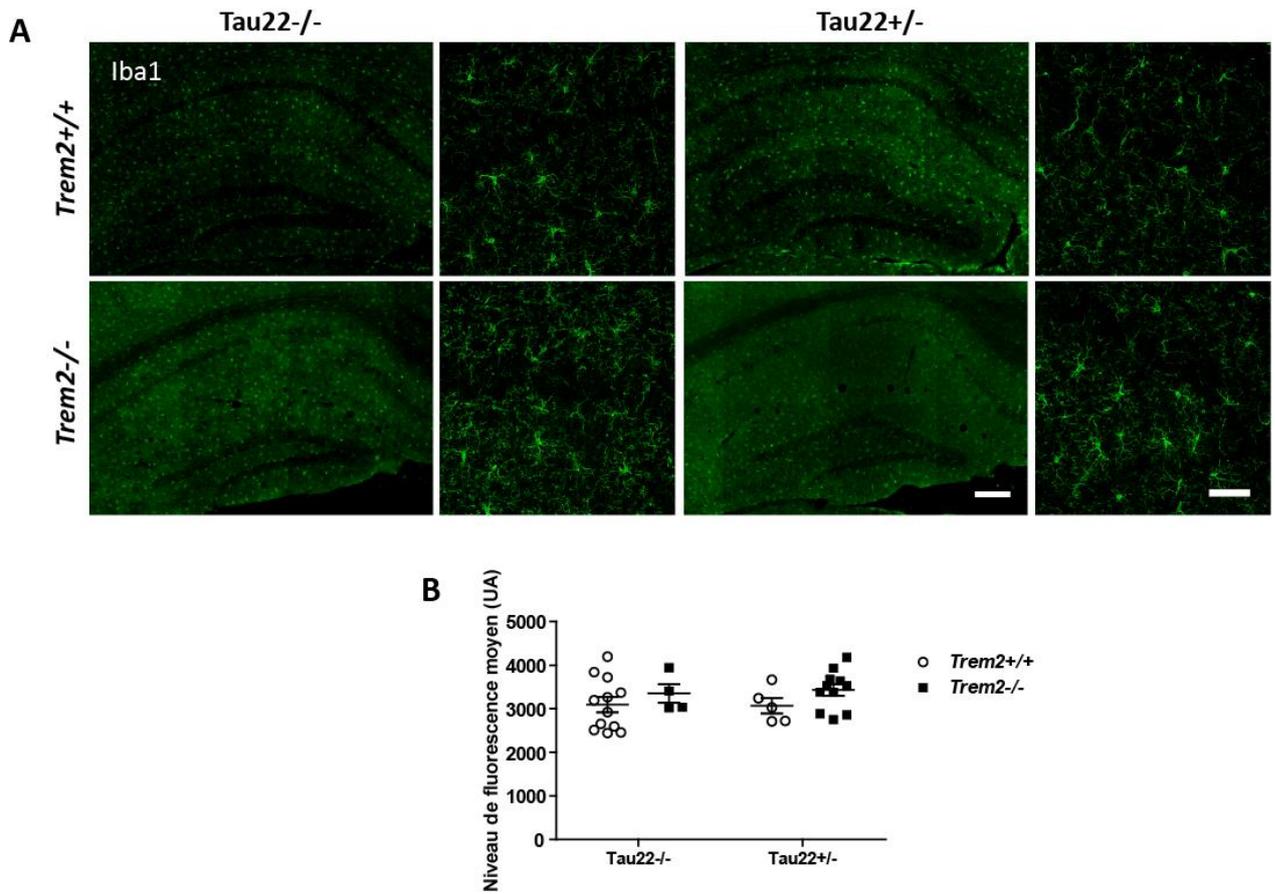


Figure 26 : Evaluation du statut inflammatoire par quantification histologique du marquage Iba1 dans les souris THY-Tau22 à 3 mois.

(A) Immunofluorescence du marquage Iba1 dans la couche CA1 des souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. (B) Niveau de fluorescence moyen du marquage Iba1 (ANOVA multifactorielle, $F=2.41$, $p=0.13$ pour le génotype *Trem2*, $F=0.019$, $p=0.89$ pour le génotype THY-Tau22). Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelles = 200 μ m (gauche) et 50 μ m (droite).

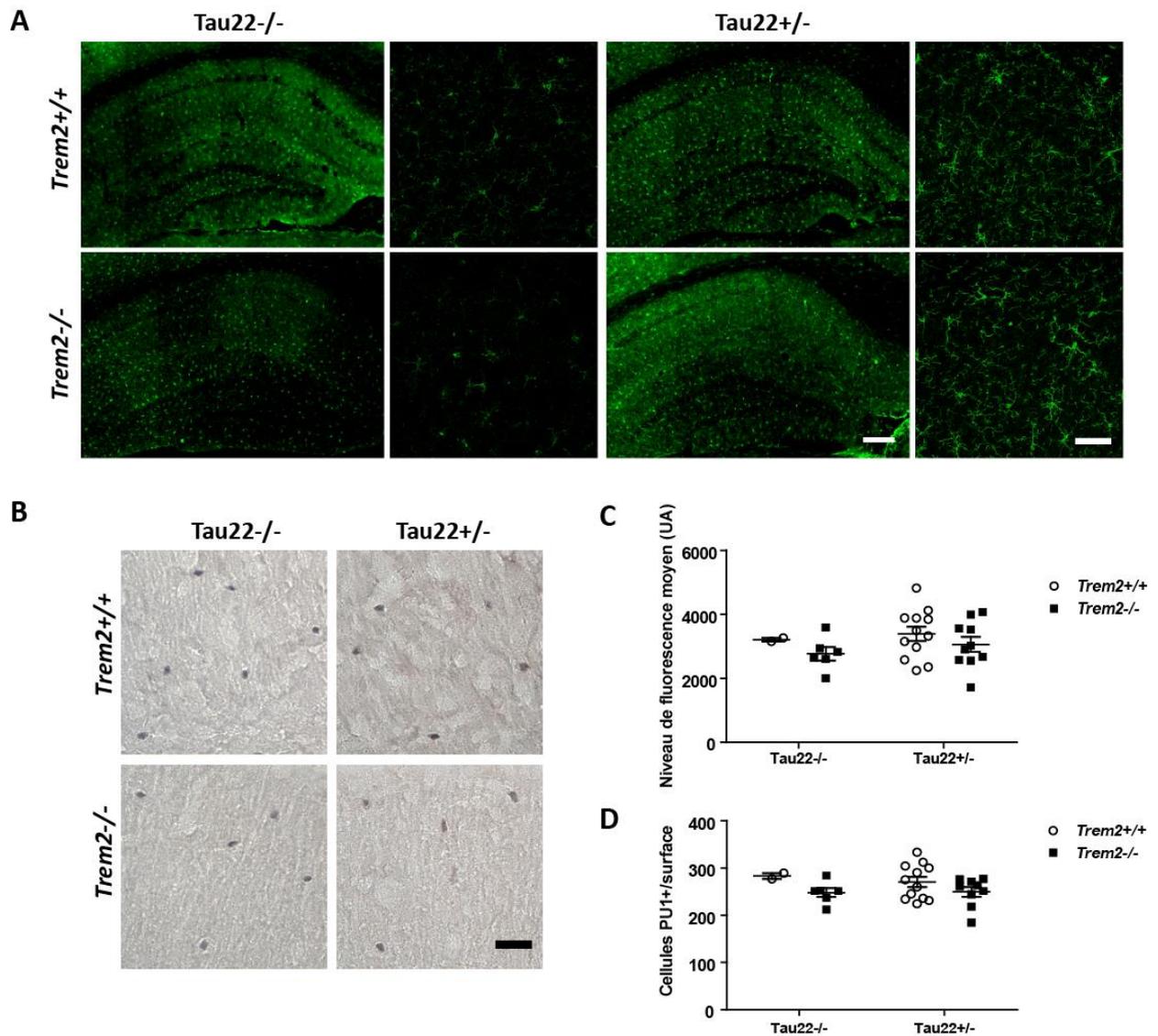


Figure 27 : Evaluation du statut inflammatoire par quantifications histologiques dans les souris THY-Tau22 à 6 mois.

Immunohistologie des marqueurs Iba1 (A) et PU.1 (B) dans la couche CA1 des souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. (C) Niveau de fluorescence moyen du marqueur Iba1 (ANOVA multifactorielle $F=1.42$, $p=0.24$ pour le génotype *Trem2* et $F=0.53$, $p=0.47$ pour le génotype THY-Tau22). (D) Nombre de cellules positives PU.1 normalisé par la surface du CA1 (ANOVA multifactorielle, $F=3,55$; $p=0,07$ pour le génotype *Trem2*). Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 200 μ m (gauche), 50 μ m (droite et PU.1).

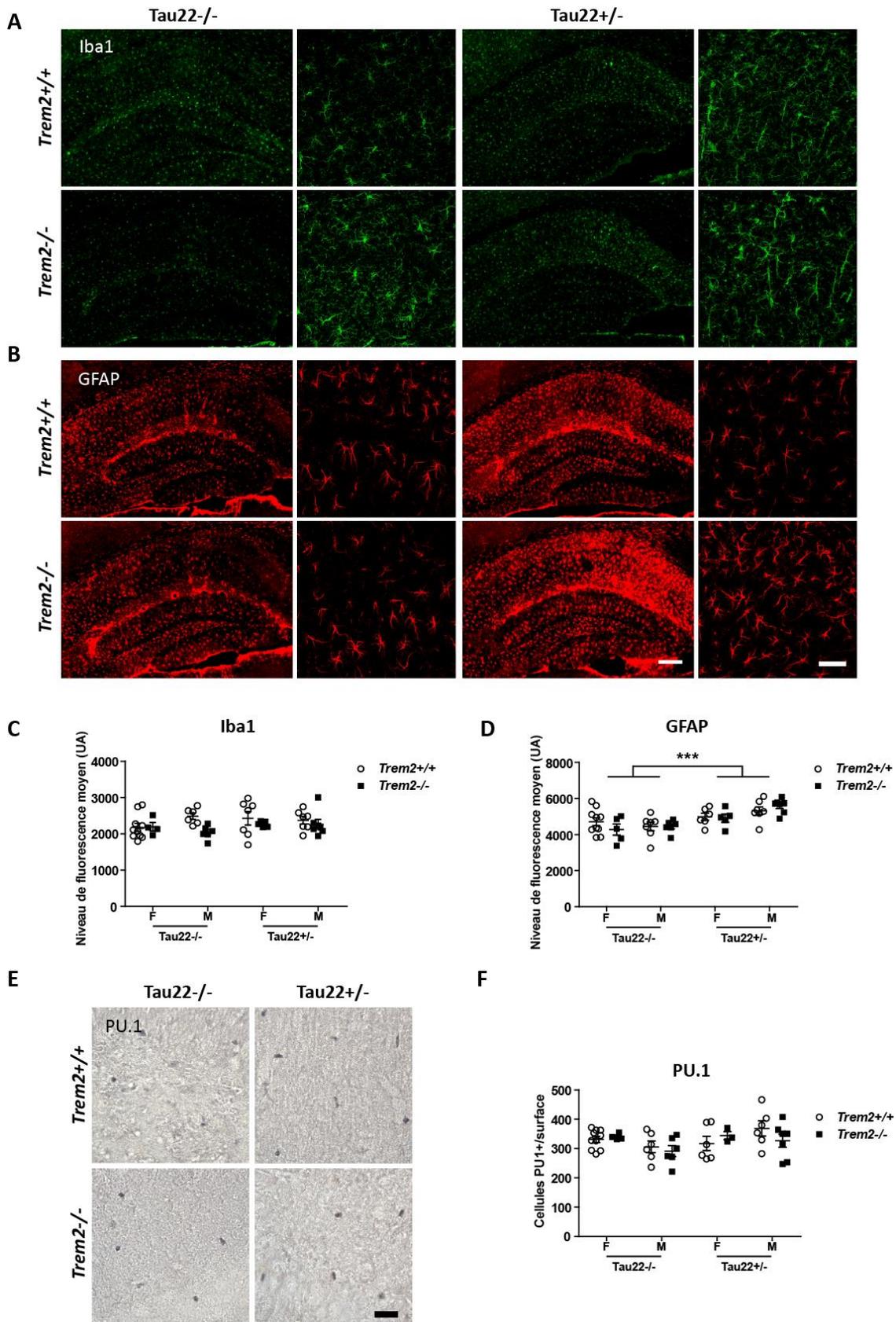


Figure 28 : Evaluation du statut inflammatoire par quantification histologique et transcriptionnelle dans les souris THY-Tau22 à 12 mois.

Immunohistologie des marqueurs Iba1 (A), GFAP (B) et PU.1 (E) dans le CA1 des souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. (C) Niveau de fluorescence moyen du marqueur Iba1 (ANOVA de Kruskal-Wallis, $p=0.13$). (D) Niveau de fluorescence moyen du marqueur GFAP (ANOVA multifactorielle, $F=21,075$; $p<0,001$ pour le génotype THY-Tau22). (F) Nombre de cellules positives PU.1 normalisé par la surface du CA1 (ANOVA par comparaison multiple, $F=0,566$, $p=0,46$ pour le génotype *Trem2*). Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 200 μ m (gauche), 50 μ m (droite et PU.1). *** $p < 0.001$.

Nous avons par ailleurs évalué l'astrogliose à l'aide du marqueur astrocytaire GFAP (Figure 28 B et D). Nous observons un effet uniquement de l'expression du transgène Tau (ANOVA multifactorielle, $F=21,075$; $p<0,001$). Ainsi à 12 mois, l'expression du transgène Tau induit une forte astrogliose, en accord avec la littérature (Laurent et al., 2017; Schindowski et al., 2006). Les résultats à 3 et 6 mois sont en cours d'analyse.

Ces résultats ont été complétés par des analyses transcriptionnelles par PCR quantitative de l'expression de différents gènes impliqués dans les processus inflammatoires. Pour cela, l'hippocampe a été prélevé sur trois cohortes d'animaux âgés respectivement de 3, 6 et 12 mois. Les ARN totaux ont été extraits à partir de l'hippocampe entier, mais après perfusion des animaux au PBS afin d'éviter de possibles artéfacts dus aux éléments figurés du sang.

A **3 mois** (Figure 29), les souris THY-Tau22, qu'elles expriment ou non TREM2, ont une expression plus élevée des gènes *GFAP* (ANOVA multifactorielle, $F=21,35$; $p<0,001$) et *Serpina3n* (ANOVA multifactorielle, $F=18,13$; $p<0,001$), qui sont surexprimés par les astrocytes réactifs, ainsi que de *Tmem119* (ANOVA multifactorielle, $F=6,31$; $p=0,017$) et *AIF1* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,046$ entre les souris *Tau22^{-/-}* et *Tau22^{+/-}* exprimant TREM2), deux marqueurs microgliaux. Par ailleurs, la déficience en TREM2 provoque une diminution de l'expression de la cytokine pro-inflammatoire *TNF α* (ANOVA multifactorielle, $F=5,75$; $p=0,041$).

A **6 mois** (Figure 30), les souris THY-Tau22, qu'elles expriment ou non *Trem2*, ont une expression plus élevée des gènes *DAP12*, l'adaptateur intra cytoplasmique de TREM2 (ANOVA multifactorielle, $F=6,15$; $p=0,023$) et *GFAP*, qui est surexprimé par les astrocytes réactifs (ANOVA multifactorielle, $F=7,08$; $p=0,016$). Les autres gènes d'inflammation étudiés ne présentent pas de différence significative en fonction des groupes. Cependant, nous pouvons observer une augmentation, , de l'expression de *TNF α* (ANOVA multifactorielle, $F=4,88$, $p=0,04$), une cytokine pro-inflammatoire, dans les souris déficientes en TREM2 et exprimant le transgène Tau par rapport aux autres groupes.

Comme précédemment, le nombre d'animaux au temps 12 mois nous a permis de stratifier les résultats en fonction du sexe des animaux. A **12 mois** (Figure 31), l'expression du transgène Tau induit une augmentation de l'expression de *CD68*, marqueur des phagocytes mononucléaires

(ANOVA multifactorielle, $F=11,710$; $p=0,0013$) et *TGF β* (ANOVA multifactorielle, $F=8,80$; $p=0,0048$), qui code pour un facteur de croissance impliqué dans la résolution de l'inflammation. De plus, la déficience en TREM2 induit une diminution de l'expression de *CD68* (ANOVA multifactorielle, $F=20,8$; $p<0,001$), et de *Tmem119* (ANOVA multifactorielle, $F=4,79$; $p=0,045$). Ces résultats sont donc en accord avec les nombreuses études qui montrent qu'un des rôles de TREM2 est l'activation de la microglie (voir 4.c Les fonctions de TREM2).

Il est par ailleurs intéressant de noter qu'il existe un effet sexe-dépendant suivant les gènes considérés. En effet, certains effets liés à l'expression des transgènes ne sont visibles que chez les mâles. Notamment l'expression du transgène Tau induit une augmentation de *CD68* (ANOVA multifactorielle, $F=9,16$; Test post-hoc de Bonferroni ; $p=0,0006$) et de *TGF β* (ANOVA multifactorielle, $F=6,56$; Test post-hoc de Bonferroni ; $p=0,0047$) uniquement chez les mâles. De plus, un effet est retrouvé uniquement entre les mâles THY-Tau22^{-/-} et THY-Tau22^{+/-} pour les gènes *DAP12* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p<0,001$) et *AIF1* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,027$). De même, l'augmentation de l'expression de la *GFAP* n'est significative que pour les souris mâles *Trem2*^{-/-} par rapport aux Tau22^{-/-} (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,0034$).

Ainsi, même si l'analyse des marquages histologiques Iba1 et PU.1 n'ont pas permis de mettre en évidence de différences entre les différents groupes, quel que soit les âges considérés, des changements transcriptionnels se produisent, en fonction de l'expression du transgène Tau, de la déficience en TREM2 ou encore du sexe considéré, pour différents gènes impliqués dans la réponse inflammatoire tels que *CD68* et *TGF- β* .

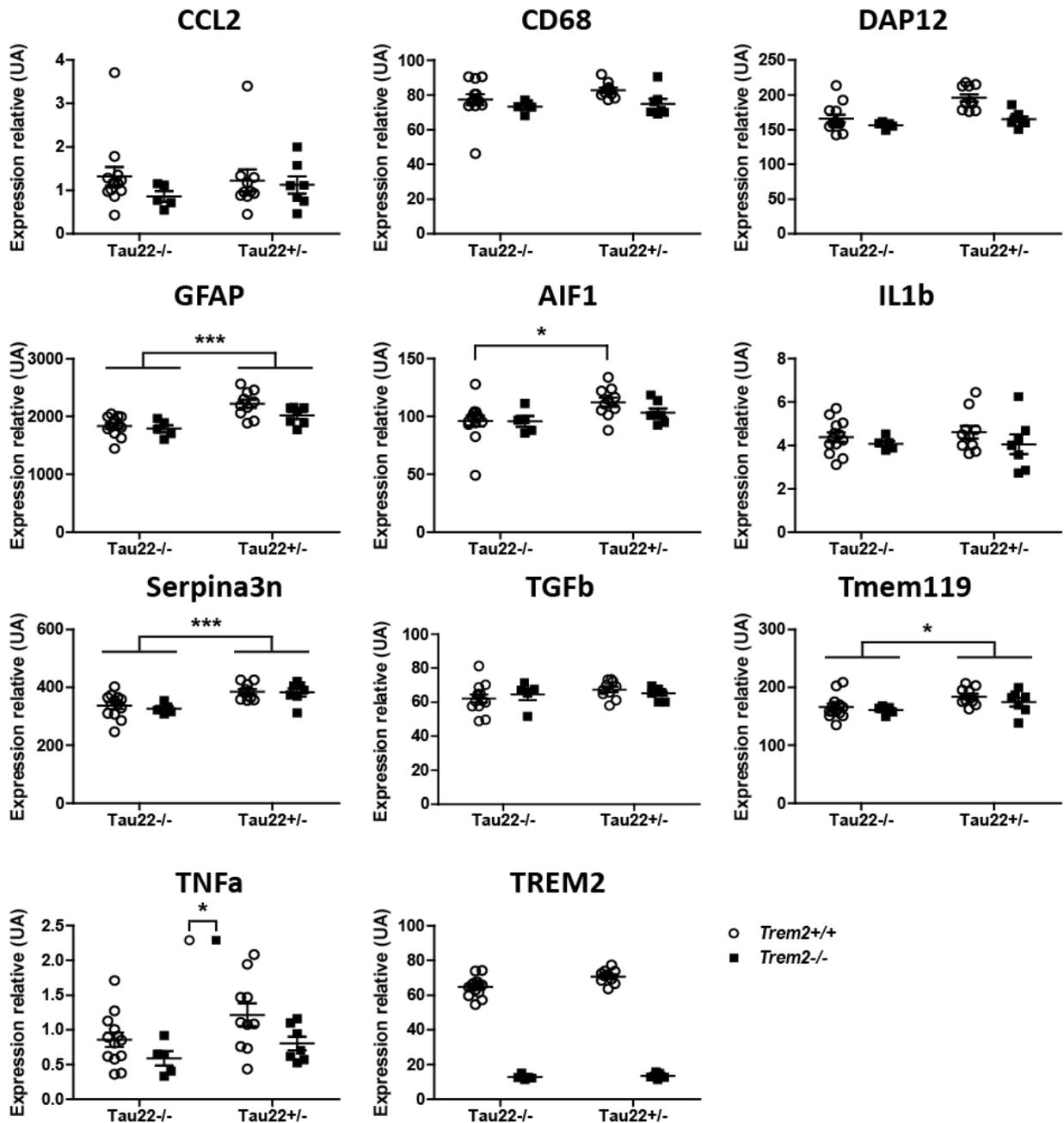


Figure 29 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 3 mois.

Les niveaux d'ARNm de différents gènes ont été quantifiés par RT-qPCR sur l'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les souris THY-Tau22 présentent une augmentation de l'expression de *GFAP* (ANOVA multifactorielle, $F=21,35$; $p<0,001$), *Serpina3n* (ANOVA multifactorielle, $F=18,13$; $p<0,001$), *Tmem119* (ANOVA multifactorielle, $F=6,31$; $p=0,017$) indépendamment de l'expression de *TREM2*, et de *AIF1* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,046$ entre les souris *Tau22*^{-/-} et *Tau22*^{+/-} exprimant *TREM2*). La déficience en TREM2 provoque une augmentation de *TNFa* (ANOVA multifactorielle, $F=5,75$; $p=0,041$). Les données représentent les moyennes \pm SEM. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

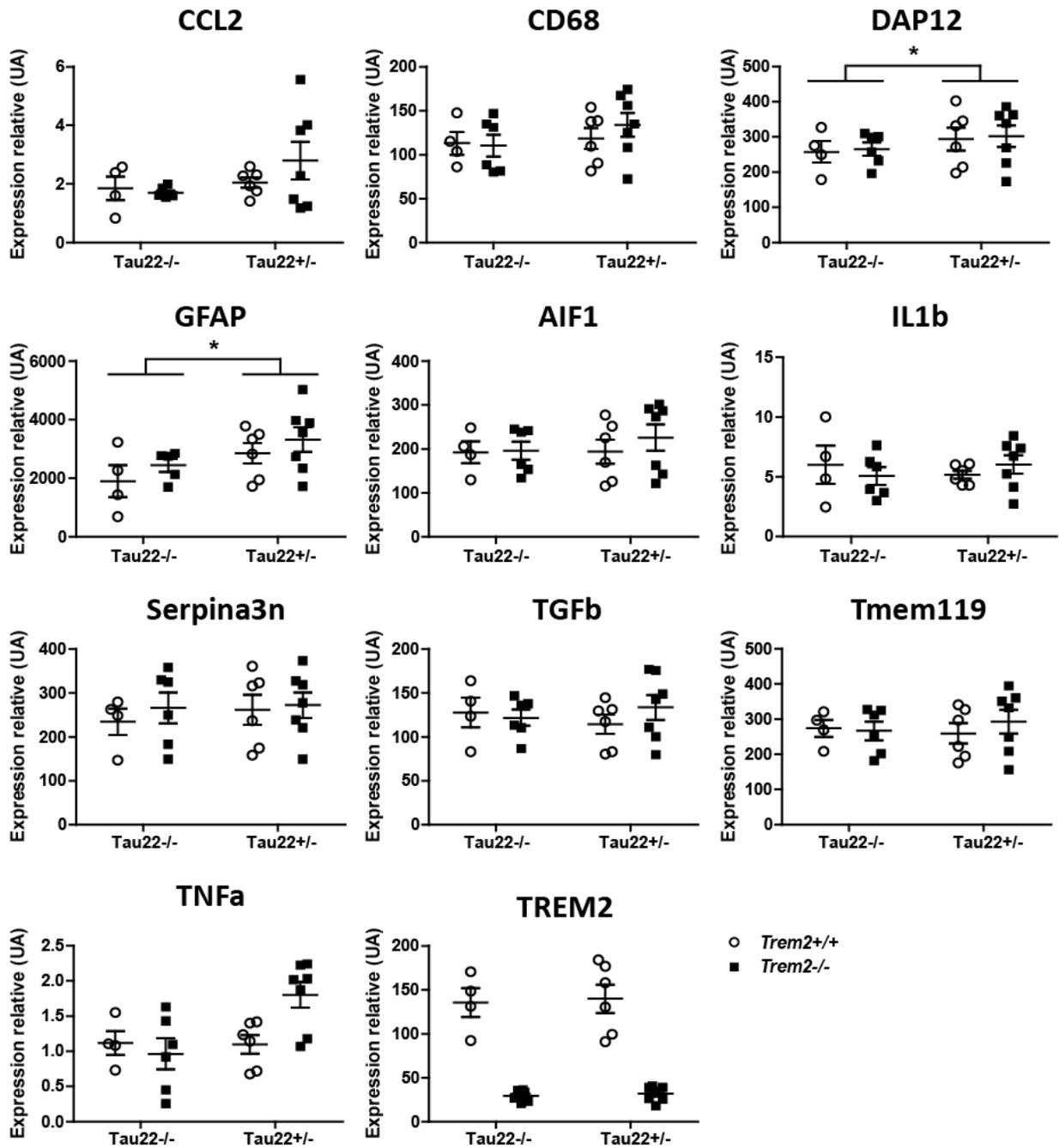


Figure 30 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 6 mois.

Les niveaux d'ARNm de différents gènes ont été quantifiés par RT-qPCR sur l'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les souris THY-Tau22 ont une expression plus élevée des gènes *DAP12* (ANOVA multifactorielle, $F=6,15$; $p=0,023$) et *GFAP* (ANOVA multifactorielle, $F=7,08$; $p=0,016$), indépendamment de l'expression de *TREM2*. Les données représentent les moyennes \pm SEM. * $p < 0.05$.

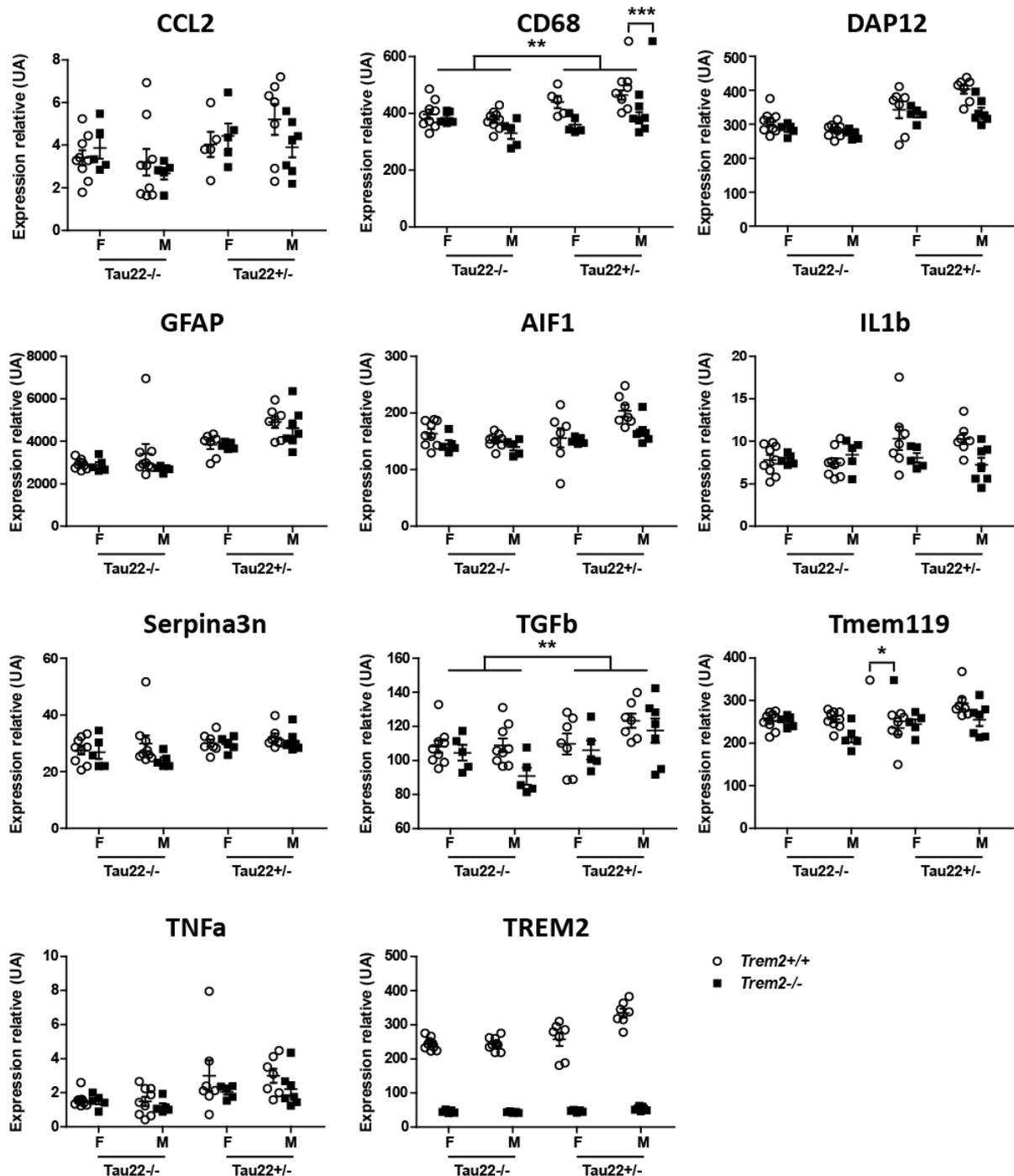


Figure 31 : Quantification de l'expression de différents marqueurs d'inflammation par RT-qPCR sur des extraits d'ARN d'hippocampe à 12 mois.

Les niveaux d'ARNm de différents gènes ont été quantifiés par RT-qPCR sur l'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les souris THY-Tau22 ont une expression plus élevée de *CD68* (ANOVA multifactorielle, $F=11,710$; $p=0,0013$) et *TGFb* (ANOVA multifactorielle, $F=8,80$; $p=0,0048$). La déficience en TREM2 induit une diminution de l'expression de *CD68* (ANOVA multifactorielle, $F=20,8$; $p<0,001$), et de *Tmem119* (ANOVA multifactorielle, $F=4,79$; $p=0,045$). L'expression du transgène Tau induit une augmentation de *CD68* (ANOVA multifactorielle, $F=9,16$; Test post-hoc de Bonferroni ; $p=0,0006$) et de *TGFb* (ANOVA multifactorielle, $F=6,56$; Test post-hoc de Bonferroni ; $p=0,0047$) uniquement chez les mâles. Un effet est retrouvé uniquement entre les mâles THY-Tau22^{-/-} et THY-Tau22^{+/-} pour les gènes *DAP12* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p<0,001$) et *AIF1* (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,027$). L'augmentation de l'expression de *GFAP* n'est significative que pour les souris mâles *Trem2*^{-/-} par rapport aux *Tau22Trem2*^{-/-} (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,0034$). Les données représentent les moyennes \pm SEM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

b. La déficience en TREM2 augmente la pathologie Tau à 12 mois mais pas à 3 mois ni à 6 mois

Pour vérifier si les différences observées dans l'expression de gènes d'inflammation étaient corrélées à des différences de sévérité de la tauopathie, nous avons par la suite évalué, par immunofluorescence et immunohistochimie, l'hyperphosphorylation de Tau avec l'anticorps AT8 et l'agrégation de Tau avec l'anticorps AT100.

Les marqueurs AT8 et AT100 n'ont pas permis de mettre en évidence de différence significative entre les souris déficientes ou non pour TREM2 à 3 mois (test de Mann-Whitney, $p=0,91$ pour AT8 ; test de Student, $p=0,44$ pour AT100 ; Figure 32) et 6 mois (test t de Student, $p=0,19$ pour AT8, $p=0,70$ pour AT100 ; Figure 33). Il n'y a de même pas de différence d'expression du transgène Tau, évalué par RT-qPCR, entre les deux groupes à 3 mois (test t de Student, $p=0,88$; Figure 32 E) et 6 mois (test t de Student, $p=0,36$; Figure 33 E).

Cependant, de manière intéressante, il semblerait que la déficience en TREM2 ait un effet en fonction de l'âge considéré. En effet, à 12 mois, les souris déficientes en TREM2 présentent plus de marquage AT8 (ANOVA multifactorielle, $F=4,5$; $p=0,045$; Figure 34 A et B), de neurones positifs pour AT100 (ANOVA multifactorielle, $F=24,43$; $p<0,001$; Figure 34 E et F) et pour la coloration de Gallyas (ANOVA multifactorielle, $F=5,841$; $p=0,025$; Figure 34 G et H), indépendamment du sexe. Cet effet est retrouvé sans qu'il y ait une augmentation significative de l'expression du transgène de Tau (ANOVA multifactorielle, $F=0,58$; $p=0,45$; Figure 34 I). Cependant, nous ne retrouvons pas de différence significative en considérant le marquage pSer422 entre les souris déficientes et non déficientes en TREM2 (ANOVA multifactorielle, $F=0,102$; $p=0,75$; Figure 34 C et D).

Ainsi, la déficience en TREM2 a un effet différentiel en fonction de l'âge considéré. A 3 et 6 mois les animaux déficients en TREM2 ne présentent pas de différence d'hyperphosphorylation et d'agrégation de Tau, en considérant les marquages AT8, AT100 et Gallyas, par rapport aux souris non déficientes en TREM2. A l'inverse, à 12 mois, une augmentation de ces deux paramètres apparaît pour les souris déficientes en TREM2.

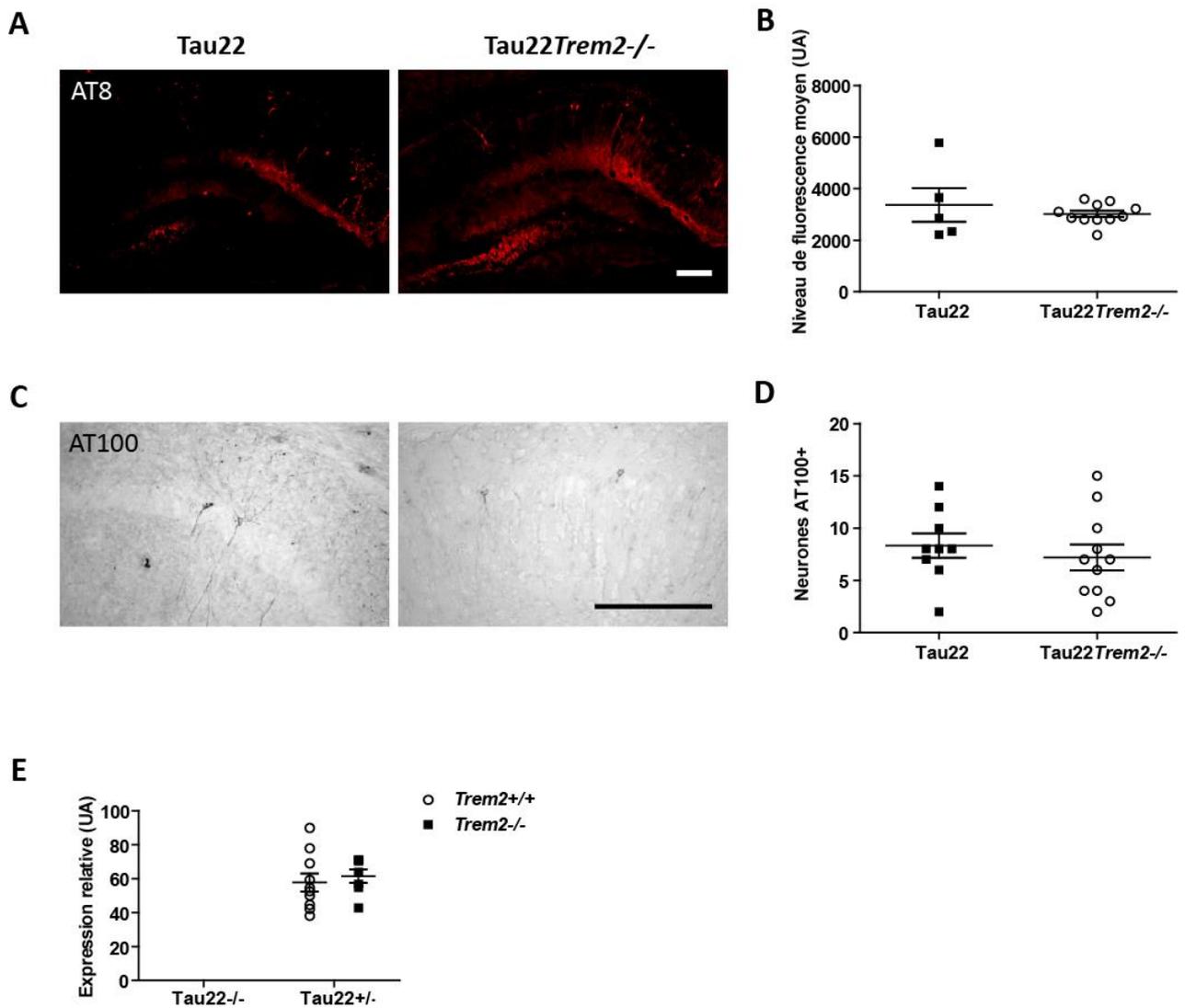


Figure 32 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 3 mois.

Immunohistologie du marqueur AT8 (A) et AT100 (C) au niveau du CA1 de l'hippocampe des souris WT et THY-Tau22, déficientes ou non en TREM2. (B) Niveau de fluorescence moyen du marquage AT8 (test de Mann-Whitney, $p=0,91$) (D) Nombre de neurones positifs pour AT100 (test t de Student, $p=0,44$). (E) Expression du gène *MAPT* humain, quantifié par RT-qPCR à partir d'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2 (test t de Student, $p=0,88$). Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 200 μ m.

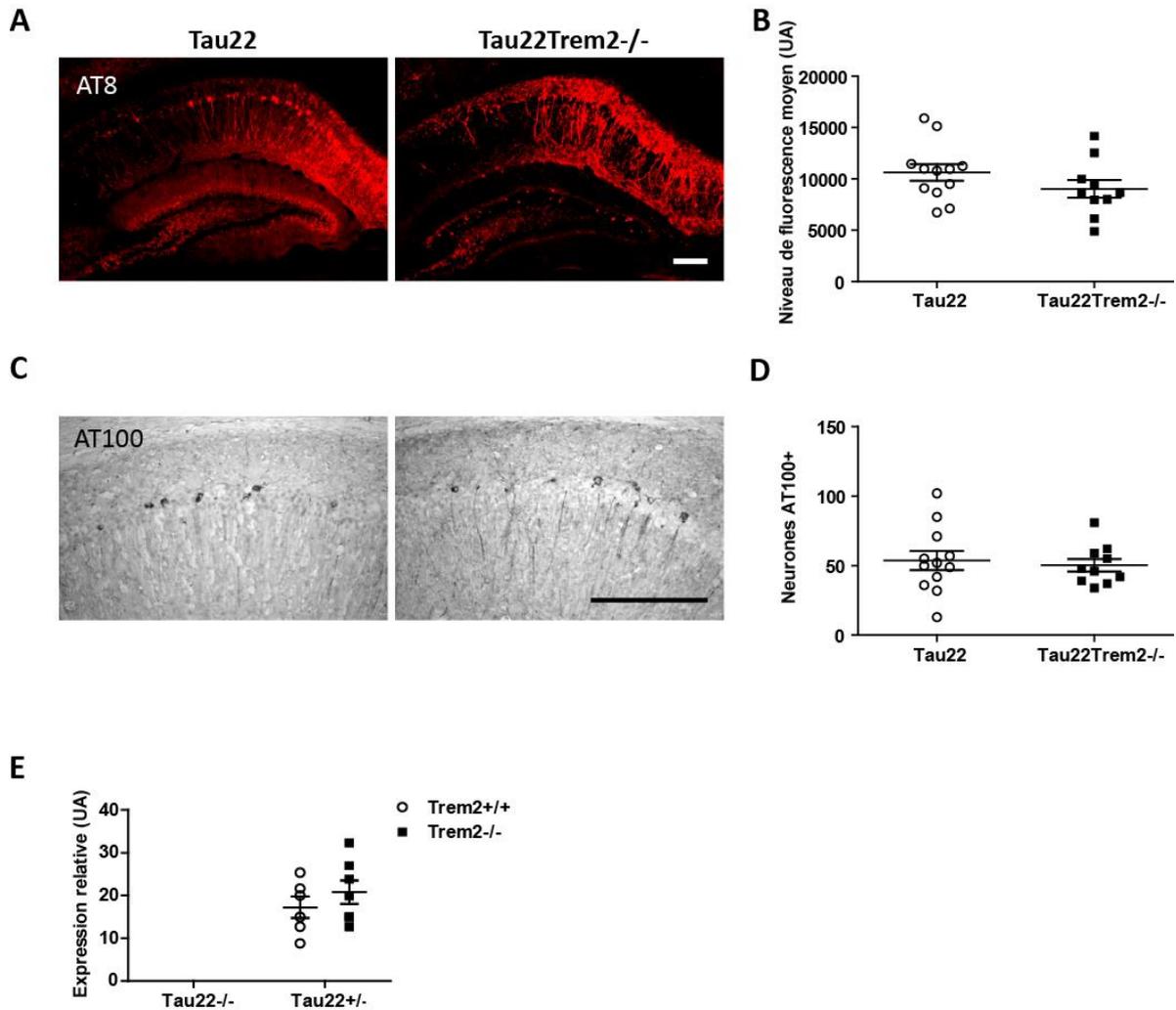


Figure 33 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 6 mois.

Immunohistologie du marqueur AT8 (A) et AT100 (C) au niveau du CA1 de l'hippocampe des souris WT et THY-Tau22, déficientes ou non en TREM2. (B) Niveau de fluorescence moyen du marquage AT8 (test t de Student, $p=0,19$). (D) Nombre de neurones positifs pour AT100 (test t de Student, $p=0,70$). (E) Expression du gène *MAPT* humain, quantifié par RT-qPCR à partir d'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2 (test t de Student, $p=0,36$). Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 200 μ m.

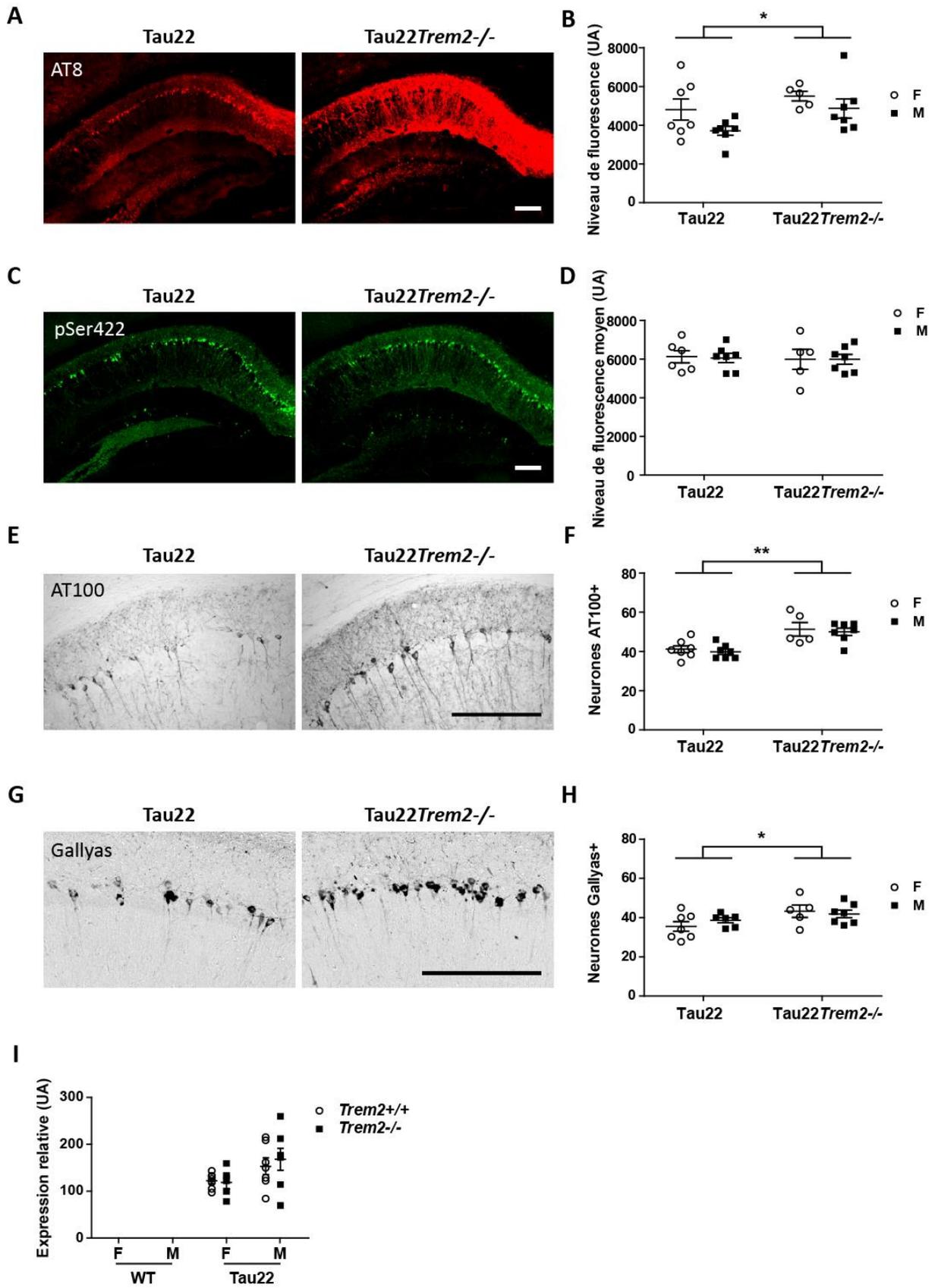


Figure 34 : Evaluation de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau des souris THY-Tau22 à 12 mois en fonction du sexe.

Immunohistologie du marqueur AT8 (A), pSer422 (C) et AT100 (E) au niveau du CA1 de l'hippocampe des souris WT et THY-Tau22, déficientes ou non en TREM2. (B) Niveau de fluorescence moyen du marqueur AT8 (ANOVA multifactorielle, $F=4,5$; $p=0,045$). (D) Niveau de fluorescence moyen du marqueur pSer422 (ANOVA multifactorielle, $F=0,102$; $p=0,75$ pour le génotype *Trem2*). (F) Nombre de neurones positifs pour AT100 (ANOVA multifactorielle, $F=24,43$; $p<0,001$). (G) Coloration de Gallyas. (H) Nombre de neurones positifs à la coloration de Gallyas (ANOVA multifactorielle, $F=5,841$; $p=0,025$). (I) Expression du gène MAPT humain, quantifié par RT-qPCR à partir d'hippocampe de souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2 (ANOVA multifactorielle, $F=0,58$; $p=0,45$ pour le génotype *Trem2*^{-/-}). Les résultats ont été normalisés par les gènes *RPL13* et *PPIA*. Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 200 μ m. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

c. La déficience constitutive en TREM2 n'accroît pas la perte cellulaire dans la couche CA1 de l'hippocampe, quel que soit l'âge considéré

Nous avons par la suite voulu vérifier si la déficience en TREM2 était associée à une perte cellulaire plus rapide, en particulier pour les neurones pyramidaux de la couche CA1 de l'hippocampe, qui est la zone dans laquelle le transgène s'exprime majoritairement dans les souris THY-Tau22. Pour cela, la mesure de l'épaisseur de cette couche a été quantifiée à l'aide du marqueur nucléaire DAPI.

Etonnamment, une diminution de la couche des neurones pyramidaux du CA1 est observée pour les souris exprimant le transgène Tau à 3 mois (ANOVA multifactorielle, $F=14,36$; $p<0,001$; Figure 35 A et B) alors que les études précédentes sur ce modèles ne mettent en évidence une perte neuronale qu'à 12 mois (Schindowski et al., 2006). Cette perte est effectivement retrouvée à 12 mois (Mann Whitney, $p<0,001$, Figure 35 E et F). A l'inverse, à 6 mois (Figure 35 C et D), aucune différence statistique n'est observée (ANOVA de Kruskal-Wallis par comparaison multiples, $p=0,19$). Ces résultats, notamment ceux obtenus à 3 mois, sont cependant à nuancer car la quantification réalisée n'est pas un comptage stéréologique et le résultat à 3 mois pourrait donc être artéfactuel. Il est aussi à noter qu'à 6 mois le groupe *Tau22*^{-/-}*Trem2*^{-/-} est à compléter. Nous avons par ailleurs complété ces résultats par une mesure de la surface moyenne de la couche CA1 de l'hippocampe. Une atrophie est observée à 6 mois (ANOVA multifactorielle, $F=8,07$; $p=0,0086$) et à 12 mois (ANOVA multifactorielle, $F=7,85$; $p=0,0075$), pour les souris THY-Tau22, indépendamment de la déficience en TREM2. A 12 mois, les souris non déficientes en TREM2 présentent une atrophie par rapport aux souris déficientes en TREM2 (ANOVA multifactorielle, $F=10,25$; $p=0,0025$), comme l'a montré l'étude de Leyns et coll. dans le modèle P301S (Leyns et al., 2017).

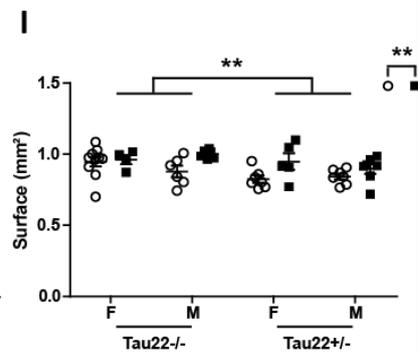
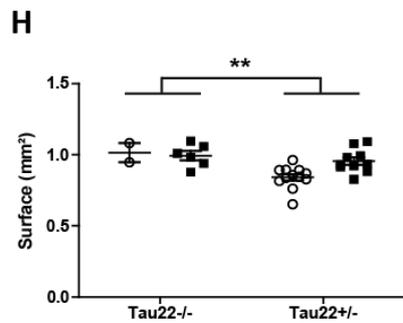
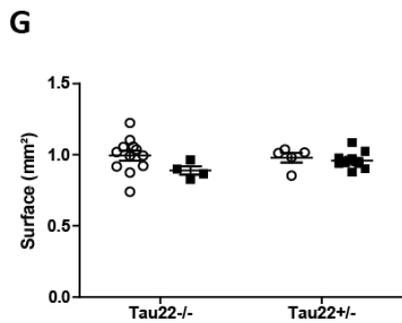
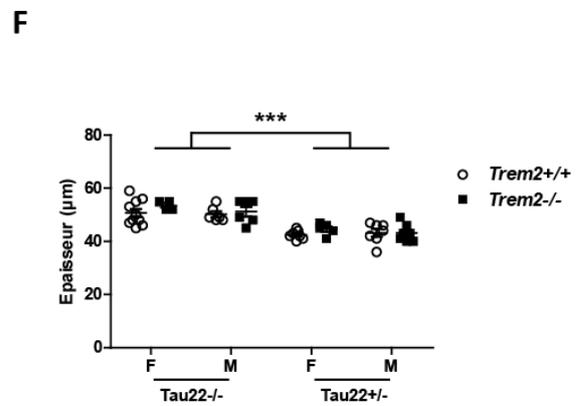
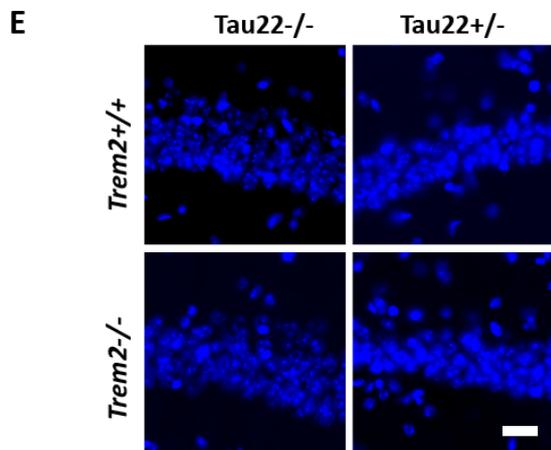
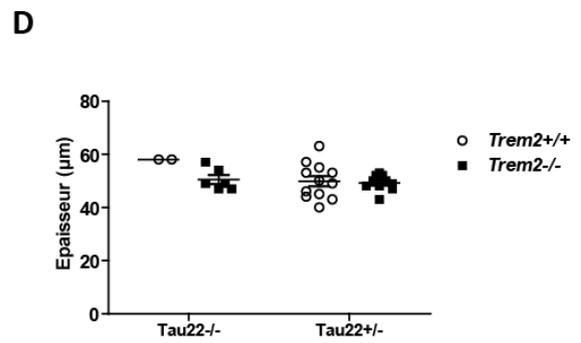
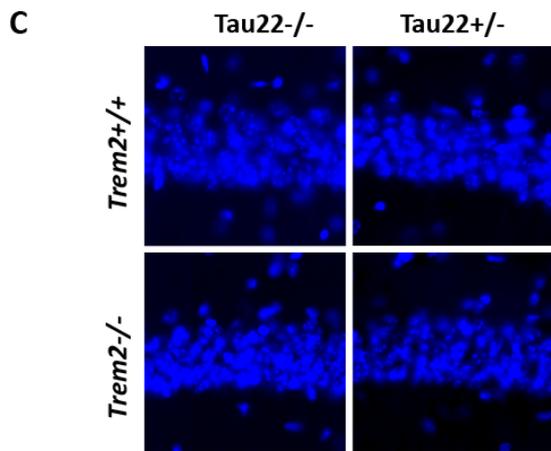
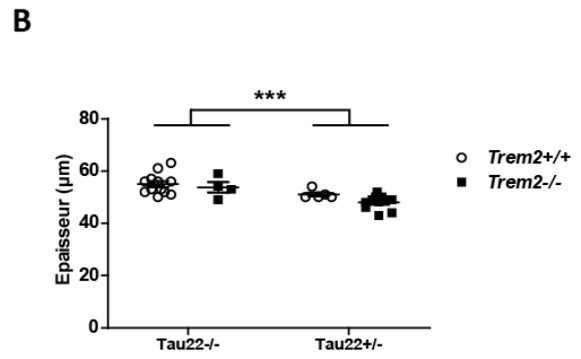
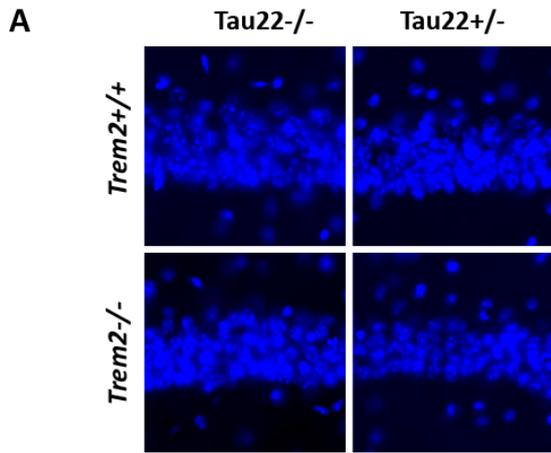


Figure 35 : Evaluation de la perte cellulaire dans le modèle THY-Tau22 à 3, 6 et 12 mois.

Histologie du marquage DAPI dans la couche CA1 de l'hippocampe des souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2 à 3 (A), 6 (C) et 12 mois (E). Quantification de la densité cellulaire dans la couche CA1 à 3 mois (B) 6 mois (D) et 12 mois (F). Une perte cellulaire est observée à 3 mois (ANOVA multifactorielle, $F=14,36$; $p<0,001$) et à 12 mois (Mann Whitney, $p<0,001$) et non à 6 mois pour les souris THY-Tau22, indépendamment de la déficience en TREM2. Surface moyenne de la couche CA1 à 3 (G), 6 (H) et 12 mois (I). Une atrophie est observée à 6 mois (ANOVA multifactorielle, $F=8,07$; $p=0,0086$) et à 12 mois (ANOVA multifactorielle, $F=7,85$; $p=0,0075$), pour les souris THY-Tau22, indépendamment de la déficience en TREM2. A 12 mois, les souris non déficientes en TREM2 présentent une atrophie par rapport aux souris déficientes en TREM2 (ANOVA multifactorielle, $F=10,25$; $p=0,0025$). Les données représentent les moyennes \pm SEM. Echelle = 20 μ m. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

De manière surprenante, alors que nous retrouvons une perte cellulaire au niveau de la couche pyramidale à 3 mois liée à l'expression du transgène, aucune différence statistique n'est retrouvée à 6 mois. Comme décrit dans la littérature, à 12 mois, nous observons une perte cellulaire très significative, mais la déficience en TREM2 n'a pas d'effet sur ce paramètre. Une atrophie significative est observée au niveau de la couche CA1 à 6 et 12 mois pour les souris THY-Tau22. Nous avons de plus mis en évidence une atrophie à 12 mois chez les souris exprimant TREM2 par rapport aux souris déficientes en TREM2, à l'instar de l'étude de Leyns et coll. réalisée dans le modèle P301S (Leyns et al., 2017). Des études stéréologiques, plus précises, seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

d. La déficience en TREM2 n'a pas de conséquences fonctionnelles sur le comportement des souris THY-Tau22 à 10 mois

Afin de mettre en évidence une éventuelle conséquence fonctionnelle de la déficience en TREM2 dans le modèle THY-Tau22, nous avons généré de nouvelles cohortes d'animaux afin de réaliser différentes études comportementales. Nous avons en particulier évalué la locomotion (cage d'activité), l'anxiété (labyrinthe en croix surélevé) et la mémoire (test de la piscine de Morris ou MWM, test de reconnaissance d'objet avec composante spatiale). Les différents tests exposés précédemment ont de plus été effectués avec des souris WT en comparaison à des souris déficientes en TREM2, et n'exprimant pas le transgène Tau, afin d'une part de valider la qualité du test, et de vérifier que la déficience en TREM2 seule n'impacte pas le comportement de ces animaux, pour les tests considérés.

Nous avons mesuré dans un premier temps l'activité spontanée au cours du cycle circadien à l'aide d'une cage d'activité. En décomposant la phase de jour et la phase de nuit, nous n'avons pas trouvé de différence dans l'activité basale des souris WT par rapport aux souris déficientes en TREM2 le jour (ANOVA par mesure répétée, $F=0.67$; $p=0,42$; Figure 36 A), mais les souris WT ont une activité moins

importante que les souris déficientes en TREM2 la nuit (ANOVA par mesure répétée, $F=4.90$; $p=0,039$; Figure 36 A).

L'anxiété a été évaluée avec le test du labyrinthe en croix surélevé. La déficience en TREM2 n'a pas d'effet sur la distance totale parcourue dans le labyrinthe en croix surélevé (test t de Student, $p=0.29$, données non montrées), sur le temps passé dans les bras ouverts (test t de Student, $p=0.96$; Figure 36 C), ainsi que sur le temps passé à se pencher (test t de Student, $p=0.29$; Figure 36 D).

La mémoire a dans un premier temps été évaluée à l'aide d'un test de reconnaissance d'objet dans un labyrinthe en V (Puighermanal et al., 2009). Pour cela, un index de discrimination, compris entre -1 et 1, est calculé afin d'évaluer une préférence d'exploration d'un objet nouveau (index 1) par rapport à un objet déjà connu (index -1). Nous n'avons pas montré de différence d'exploration du nouvel objet entre les souris déficientes en TREM2 et WT (test t de Student, $p=0.38$; Figure 36 B). Les deux groupes ont significativement plus exploré l'objet nouveau par rapport à l'objet déjà connu (test t de Student par rapport à 0, $p<0.001$ pour les souris WT, $p=0.027$ pour les souris *Trem2^{-/-}*). Les souris WT et déficientes en TREM2 ne présentent donc pas de défaut de reconnaissance d'objet.

La mémoire spatiale à long terme a été évaluée avec le test de la piscine de Morris. Durant la phase d'apprentissage, le temps de latence pour trouver la plateforme a significativement diminué au cours des jours pour l'ensemble des souris (ANOVA par mesures répétées, $F=22,29$; $p<0,001$; Figure 36 E), ce qui permet de confirmer que les souris sont bien capables de retenir la position de la plateforme, indépendamment du génotype. De plus, il n'y a pas de différence significative d'apprentissage entre les souris déficientes ou non en TREM2 (ANOVA par mesures répétées, $p=0,65$; Figure 36 E).

Pour évaluer la mémoire à long terme, nous réalisons un test de rétention, 72h après le dernier jour d'apprentissage. Pour ce test nous vérifions si les souris passent plus de temps dans le quadrant qui contenait la plateforme. Les souris WT et déficientes en TREM2 ont passé plus de temps dans le quadrant cible (test t de Student par rapport à 25%, $p=0.002$ pour les souris WT et $p=0.0015$ pour les souris déficientes en TREM2 ; Figure 36 F), ce qui montre que quel que soit le génotype, il n'y a pas de déficit de mémoire à long terme pour les souris WT et déficientes en TREM2 à 10 mois.

Ainsi, les souris déficientes en TREM2 ne présentent pas un phénotype différent des souris WT, pour les tests considérés.

Par ailleurs, pour tous les tests effectués, les souris WT se comportent de la manière attendue. Dans le labyrinthe en croix surélevé, elles passent environ 5 % dans les bras fermés, ce qui est en accord avec les résultats retrouvés dans la littérature ; dans les tests de mémoire, elles passent plus de

temps à explorer l'objet nouveau que l'objet déjà connu et passent plus de temps dans le quadrant cible. L'ensemble de ces résultats obtenus avec les souris WT valide donc la réalisation de ces tests.

Les différents tests exposés précédemment ont par la suite été effectués avec les souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2. Nous n'avons de même pas trouvé de différence significative dans l'activité basale des souris THY-Tau22 déficientes en TREM2 par rapport aux souris THY-Tau22 non déficientes (ANOVA par mesure répétée, $F=1.29$; $p=0.27$; Figure 37 A). Ainsi, la déficience en TREM2 ne semble pas avoir d'impact sur l'activité globale des souris. Cependant, il est à noter qu'entre la 11^{ème} et la 17^{ème} heure et la 22^{ème} et 23^{ème} heure du test, les souris déficientes en TREM2 semblent avoir une activité plus élevée, et cet effet semble inversé entre la 18^{ème} et la 21^{ème} heure, sans que cela soit significatif.

Le test du labyrinthe en croix surélevé nous a permis de mettre en évidence une tendance à l'augmentation du temps passé dans les bras ouverts des souris THY-Tau22 déficientes en TREM2 par rapport aux souris non déficientes (test t de Student, $p=0,063$; Figure 37 C). De plus, les souris déficientes en TREM2 passent significativement plus de temps à se pencher au niveau des bords du labyrinthe (test t de Student, $p=0,0061$; Figure 37 D). Il est par ailleurs à noter que l'ensemble des souris a passé ~ 50% du temps dans les bras ouverts du labyrinthe ce qui démontre un faible niveau d'anxiété général par rapport à des souris WT (voir Figure 36).

Dans le test de reconnaissance d'objet, nous n'avons pas montré de différence entre les souris THY-Tau22 déficientes en TREM2 et non déficientes en TREM2 (test t de Student, $p=0,81$; Figure 37 B). De plus, aucun des groupes n'a significativement plus exploré l'objet nouveau par rapport à l'objet déjà connu (test t de Student par rapport à 0, $p=0,12$ pour les souris THY-Tau22, $p=0,26$ pour les souris Tau22*Trem2*^{-/-}). Les souris THY-Tau22 présentent donc à 10 mois un défaut de mémoire liée à la reconnaissance d'objet, qui n'est pas amélioré par la déficience en TREM2. Il est à noter que les déficits observés à cet âge sont importants, nous n'aurions donc à l'inverse pas pu observer une aggravation des déficits de mémoire pour les souris déficientes en TREM2.

Pour le test de la piscine de Morris, le temps de latence pour trouver la plateforme a significativement diminué au cours des jours pour l'ensemble des souris THY-Tau22 (ANOVA par mesures répétées, $p<0,001$), ce qui permet de confirmer que les souris sont bien capables de retenir la position de la plateforme, indépendamment du génotype (ANOVA par mesures répétées, $p=0,65$; Figure 37 E).

Tau22 vs Tau22Trem2^{-/-}

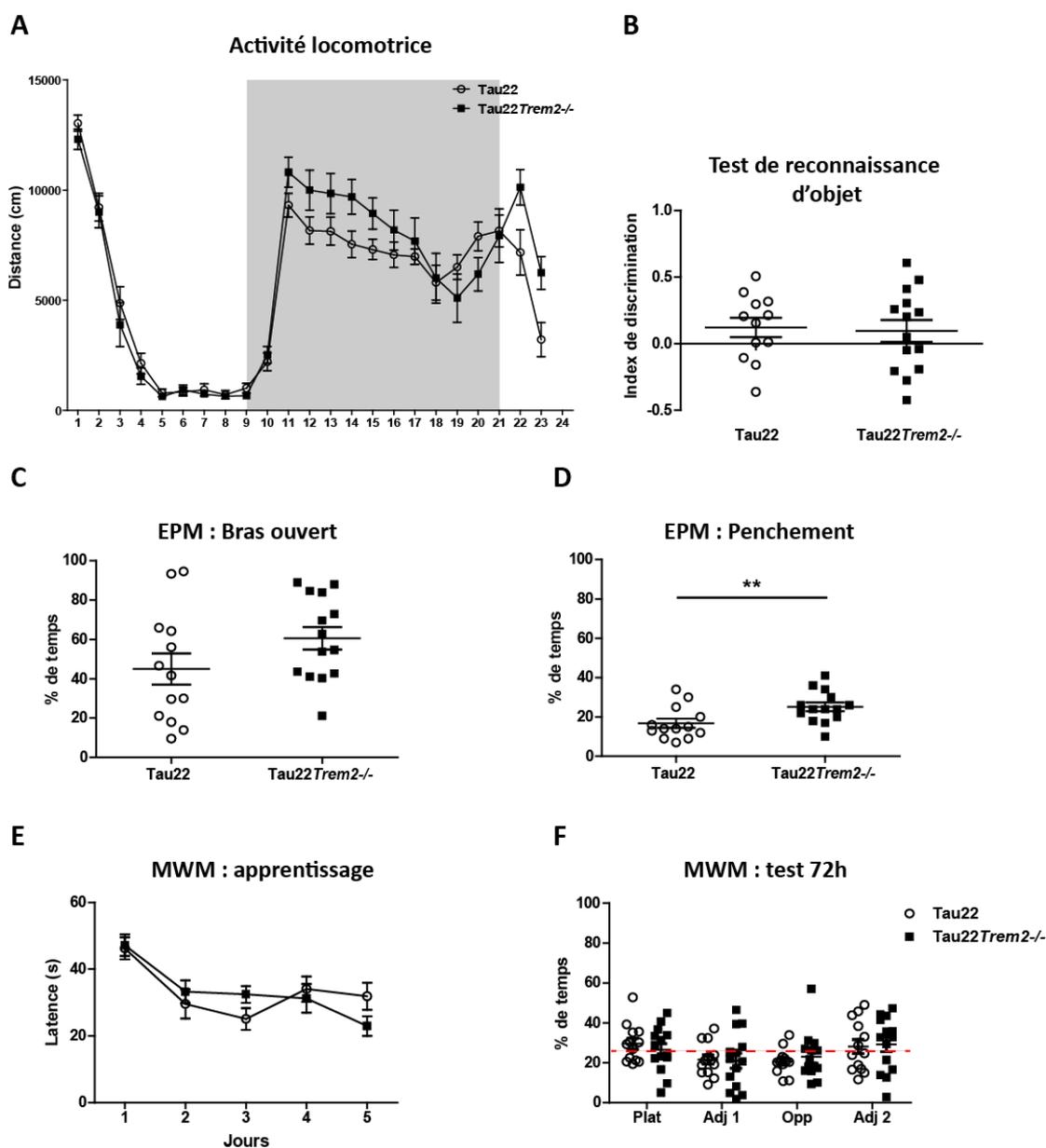


Figure 36 : Etude comportementale des souris déficientes (n=10) ou non (n=12) en TREM2.

(A) Distance parcourue par les souris dans le Phentoyper, heure par heure, durant la phase diurne de 7h à 19h (en blanc) et nocturne (en gris), pendant 23h ; MANOVA; $F=0.67$ $p=0.42$ pour le jour; $F=4.90$ $p=0.039$ pour la nuit (B) Test de reconnaissance d'objet : index de discrimination du temps passé à explorer l'ancien objet par rapport au nouvel objet. (C)(D) Test du labyrinthe en croix surélevé (EPM) : pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe (C) et temps passé à se pencher sur les côtés du labyrinthe (D). (E) Test de la piscine de Morris (MWM) : temps mis par les souris pour trouver la plateforme durant la phase d'entraînement. Nous avons trouvé une différence entre les jours mais pas de différence entre les groupes, ce qui signifie que les souris ont bien été en mesure d'apprendre la position de la plateforme et ce quel que soit le génotype considéré ; ANOVA par mesures répétées, $F=22.29$ $p<0.001$ entre les jours et $F=0.96$ $p=0.34$ entre les groupes. (F) Test de la piscine de Morris (MWM) : pourcentage de temps passé dans chaque quadrant de la piscine durant le jour test ; test t de Student par comparaison à 25% dans le quadrant Q1 (dans lequel la plateforme est supposée être), $p=0.002$ pour le groupe WT et $p=0.0015$ pour le groupe *Trem2^{-/-}*. Aucun des tests comportementaux n'a montré d'altération du comportement entre les souris WT et les souris déficientes en TREM2. Les données représentent les moyennes \pm SEM. * $p < 0.05$.

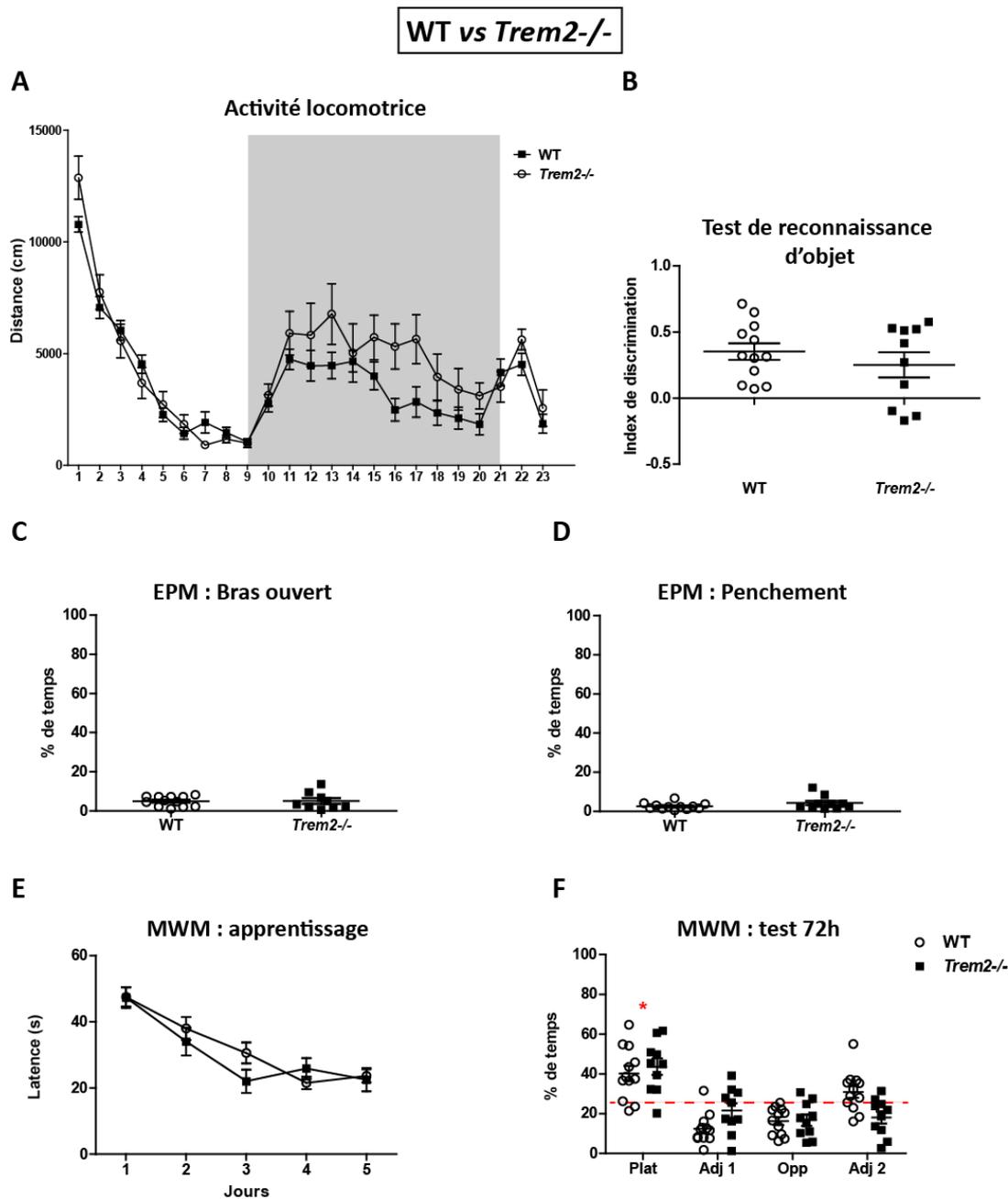


Figure 37 : Etude comportementale des souris THY-Tau22 déficientes (n=14) ou non (n=13) en TREM2.

(A) Distance parcourue par les souris dans le Phenotyper, heure par heure, durant la phase diurne de 7h à 19h (en blanc) et nocturne (en gris), pendant 23h ; MANOVA; $F=0.55$ $p=0,46$ pour le jour; $F=0,97$ $p=0,33$ pour la nuit (B) Test de reconnaissance d'objet : index de discrimination du temps passé à explorer l'ancien objet par rapport au nouvel objet. (C)(D) Test du labyrinthe en croix surélevé (EPM) : pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe (C) et temps passé à se pencher sur les côtés du labyrinthe (D) ; test t de Student, $p=0,06$ pour le temps passé dans les bras ouverts, $p=0,006$ pour le temps passé à se pencher. (E) Piscine de Morris (MWM) : temps mis à trouver la plateforme dans la piscine de Morris durant la phase d'entraînement. Nous avons trouvé une différence entre les jours mais pas de différence entre les groupes, ce qui signifie que les souris ont bien été en mesure d'apprendre la position de la plateforme et ce quel que soit le génotype considéré ; ANOVA par mesures répétées, $F=10,16$ $p<0,001$ entre les jours et $F=0,0010$ $p=0,097$ entre les groupes. (F) Piscine de Morris (MWM) : pourcentage de temps passé dans chaque quadrant de la piscine durant le jour test ; test t de Student par comparaison à 25% dans le quadrant Q1 (dans lequel la plateforme est supposée être), $p=0,11$ pour le groupe Tau22 et $p=0,26$ pour le groupe Tau22Trem2^{-/-}. Aucun des tests comportementaux n'a montré d'altération différentielle du comportement entre les souris THY-Tau22 et les souris THY-Tau22 déficientes en TREM2. Les données représentent les moyennes \pm SEM. ** $p < 0.01$.

De plus, il n'y a pas de différence significative d'apprentissage entre les souris déficientes ou non en TREM2. Ainsi, la déficience en TREM2 n'a pas d'effet sur l'apprentissage des souris THY-Tau22 âgées de 10 mois. Nous avons par la suite évalué la mémoire à long terme à l'aide d'un test de rétention, 72h après le dernier jour d'apprentissage.

Aucun des deux groupes n'a montré une préférence pour le quadrant cible (test t de Student par rapport à 25%, $p=0,11$ pour les souris non déficientes en TREM2, $p=0,26\%$ pour les souris déficientes en TREM2 ; Figure 37 F), ce qui suggère un déficit global de mémoire à long terme pour les souris THY-Tau22, indépendamment de l'expression de TREM2.

A 10 mois, les souris THY-Tau22 présentent des déficits de mémoire, et les mesures réalisées ne nous ont pas permis de différencier les souris en fonction de l'expression de *Trem2*. La déficience en TREM2 semble en outre induire une diminution de l'anxiété dans ce modèle. A l'inverse, en l'absence d'expression du transgène Tau, la déficience en TREM2 ne provoque globalement pas d'effets comportementaux.

Par ailleurs, les déficits comportementaux observés à 10 mois sont conséquents, ainsi nous ne pouvons pas évaluer si la déficience en TREM2 a un effet encore plus délétère dans ce modèle. Pour cela nous réalisons actuellement ces tests comportementaux à un âge plus précoce, à 5 mois, lorsque les déficits comportementaux ne sont pas encore établis, pour vérifier si la déficience en TREM2 entraîne une apparition plus précoce des symptômes.

Discussion

Dans cette étude, la problématique a été de déterminer si le récepteur TREM2 était impliqué dans la neuroinflammation induite par la tauopathie, et si cette neuroinflammation influait sur l'évolution de la tauopathie dans l'hippocampe. Les résultats obtenus dans un modèle aigu de tauopathie, dans lequel des souris sont traitées par injection intracérébrale de rAAV-Tau, indiquent que TREM2 accroît l'inflammation, sans que cela n'influe de manière significative sur la progression de la tauopathie. L'utilisation d'un second modèle de tauopathie, plus progressif, le modèle transgénique THY-Tau22, a permis de contraster ces résultats et de montrer que la déficience en TREM2 entraînait une augmentation de la pathologie Tau uniquement à un stade avancé de la pathologie.

1. Effet de la déficience en TREM2 dans les deux modèles utilisés

a. Effet de la déficience en TREM2 dans le modèle par transfert de gène

Dans le but de modéliser la composante tauopathique de la MA *in vivo*, nous avons construit un vecteur rAAV2/9 exprimant la protéine Tau humaine. Nos premiers résultats chez la souris ont montré que la protéine Tau normale, bien qu'elle soit hyper-phosphorylée lorsqu'elle est surexprimée, n'est pas capable de s'agréger, contrairement à la forme portant la mutation P301L qui est retrouvée dans la DFTP-17 (Hutton et al., 1998). Or, dans la MA, c'est la protéine Tau sauvage qui s'agrège pour former des DNFs. Nous avons donc conçu un vecteur rAAV co-exprimant la protéine Tau sauvage et un peptide qui promeut son agrégation, correspondant aux quatre domaines répétés de liaison aux microtubules de Tau avec délétion de la lysine située en position 280 (Δ K280). Ces 2 peptides sont séparés dans le vecteur par une séquence 2A qui permet leur expression dans un rapport 1:1 dans les cellules cibles (Szymczak-Workman, Vignali and Vignali, 2012). De manière analogue à ce qui a été décrit dans une lignée de souris transgéniques (Sydow, Van Der Jeugd, et al., 2011), nos résultats montrent que l'expression du peptide Δ K280 entraîne l'agrégation de la protéine Tau humaine WT. Cette agrégation qui survient en l'absence de toute mutation de Tau, se rapproche ainsi de la physiopathologie de la MA. Il est cependant probable que ce modèle génère des agrégats mixtes formés de la protéine Tau entière et du peptide Δ K280. L'hypothèse selon laquelle les agrégats seraient formés uniquement de peptides Δ K280 est, elle, à exclure. L'anticorps AT100 que nous avons utilisé reconnaît en effet les sites phosphorylés Ser-212 et Ser-214, qui ne sont pas présents dans le peptide Δ K280. Cela implique donc que les agrégats marqués par AT100 que nous

avons observés après injection du vecteur rAAV-Tau^{WT}+ΔK280 sont constitués, au moins en partie, de la protéine Tau entière, et non pas seulement du peptide ΔK280.

De nombreuses études suggèrent que la toxicité de Tau serait causée par ses formes oligomériques solubles et non ses formes fortement agrégées (Cowan et al., 2015). Nous avons donc choisi de comparer l'évolution de la tauopathie chez les souris WT ou *Trem2*^{-/-} avec deux types de vecteurs : le vecteur exprimant la protéine Tau^{WT} seule, modèle dans lequel nous ne retrouvons pas d'agrégats mais qui confirme l'hypothèse de la toxicité de la protéine Tau soluble, et le vecteur exprimant la protéine Tau^{WT} associée au peptide ΔK280, qui aboutit à la formation d'agrégats et une neurotoxicité significativement réduite chez le rat (d'Orange et al., 2018).

Nous avons évalué l'inflammation dans les différents groupes, en fonction du vecteur, du génotype et de la durée post-injection. Nos résultats montrent que la déficience en TREM2 induit une diminution du statut inflammatoire, mise en évidence par l'expression d'Iba1, à un mois post-induction de la tauopathie (Figure 20). Ces résultats sont en accord avec d'autres études mettant en évidence le rôle de TREM2 dans la régulation de la réponse inflammatoire (voir 4.c Les fonctions de TREM2). Notre étude confirme ainsi que TREM2 est un régulateur clé de l'activation microgliale *in vivo* (Cantoni et al., 2015).

Cependant, à trois mois post-injection l'inflammation est augmentée de 47% dans le groupe *Trem2*^{-/-} injecté avec le rAAV-Tau^{WT}+ΔK280 par rapport au temps un mois post-injection. Ce résultat pourrait être lié aux importantes différences inter-individuelles observées dans la réponse inflammatoire induite par la tauopathie, le retour à un statut inflammatoire de base étant progressif en fonction de chaque individu. Une autre hypothèse pourrait être que la mort cellulaire est retardée dans ce groupe, la réponse inflammatoire observée serait donc due à un phénomène d'inflammation retardée. Cependant, l'évaluation de la mort neuronale que nous avons réalisé ne nous a pas permis de mettre en évidence une mort cellulaire significativement plus élevée dans ce groupe par rapport au groupe contrôle injecté avec le diluant du virus, ni à un mois ni à trois mois post-injection, infirmant alors cette hypothèse (Figure 25). Il se pourrait aussi que le vecteur rAAV-Tau^{WT}+ΔK280 induise une inflammation à plus long terme, indépendamment de la mort neuronale, notamment en induisant des dysfonctions neuronales et synaptiques, ainsi que de la phagocytose de synapse. Des analyses complémentaires seront nécessaires pour déterminer si c'est le cas ou non.

Dans le groupe Tau^{WT} la tauopathie est associée à une importante perte neuronale (Figure 25) et à une réaction inflammatoire plus importante que celle observée pour la forme promotrice de l'agrégation (Figure 20), mais qui, sur la base de l'immunomarquage Iba1, est résolue à trois mois post-injection (Figure 21). De récentes études suggèrent que les DNFs ne constituent pas la forme

neurotoxique de la protéine Tau et qu'il s'agirait en réalité des agrégats intermédiaires de Tau, c'est-à-dire les formes oligomériques solubles dans le cytoplasme neuronal. En accord avec cette hypothèse, des oligomères de Tau ont été retrouvés en quantité élevée dans des cerveaux de patients atteints de la MA (Cowan and Mudher, 2013). Nos résultats observés dans ce modèle de souris confirment ceux qui ont été publiés récemment par le laboratoire en utilisant le rat comme espèce modèle (d'Orange et al., 2018). Toutes ces données appuient l'hypothèse selon laquelle la neurotoxicité de la protéine Tau serait principalement due à ses formes oligomériques solubles et non ses formes agrégées.

Il est de plus à noter que la perte neuronale retrouvée dans le groupe Tau^{WT} colocalise avec l'inflammation retrouvée spécifiquement dans le groupe Tau^{WT}, à un mois post-injection, comme nous pouvons l'observer à partir du marquage histologique Iba1 (Figure 20). L'inflammation est localisée au niveau des somas des neurones pyramidaux de la couche CA1, suggérant que les cellules inflammatoires phagocytent les débris cellulaires des neurones en dégénérescence.

Nous avons par la suite évalué la pathologie Tau dans notre modèle afin de vérifier si la déficience en TREM2 influe sur le déroulement de la pathologie (Figure 23, Figure 24). La progression de la tauopathie a été évaluée à l'aide des anticorps AT8 et AT100, marqueurs respectifs de l'hyperphosphorylation et de la conformation anormale de Tau. Il est à noter qu'une perte neuronale dans l'ensemble de la couche CA1 de l'hippocampe est observée dès un mois post-injection dans les souris injectées avec le vecteur rAAV-Tau^{WT} (Figure 25). Il faut donc prendre en considération le fait qu'une partie des neurones contenant la protéine Tau hyperphosphorylée sont déjà morts, et donc l'instant t analysé reflète l'état d'hyperphosphorylation en condition où la mort neuronale est importante. Par ailleurs, l'hyperphosphorylation observée dans les souris *Trem2*^{-/-} n'est pas significativement différente de celle observée dans les animaux WT (Figure 23).

De plus, la variabilité interindividuelle, mais aussi les variabilités expérimentales (à savoir l'injection des différents vecteurs), ont pu induire une expression différente des transgènes en fonction des animaux.

Par ailleurs, la surexpression de la protéine Tau^{WT} induit une hyperphosphorylation plus intense que celle observée pour sa forme pro-agrégante, comme c'est le cas pour le rat, ce qui suggère que ces deux constructions de Tau pourraient différer en terme de cinétique et d'étendue de la pathologie (d'Orange et al., 2018). Il a été vérifié chez le rat si ce résultat pouvait être dû à un niveau d'expression différentiel des deux vecteurs, mais les résultats de quantification du marqueur histologique spécifique de la protéine Tau humaine, HT7, ne montrent pas de différence d'expression entre ces deux constructions. Dans notre expérience, cela pourrait aussi être dû au changement de

conformation de la protéine Tau lorsqu'elle s'agrège, masquant alors l'épitope reconnu par l'anticorps AT8 ou empêchant sa fixation par encombrement stérique.

Ainsi, notre étude dans le modèle rAAV a permis de mettre en évidence la diminution de l'inflammation médiée par une déficience en TREM2. Nous avons de même montré, de manière indirecte, la toxicité des formes solubles de la protéine Tau dans notre modèle de tauopathie, par rapport à ses formes agrégées. Cependant, dans ce modèle, nous n'avons pas mis en évidence d'effet de la déficience en TREM2 sur la progression de la tauopathie.

A ce point de l'étude, la pertinence du modèle de tauopathie initialement choisi pour répondre à la problématique a été remise en question.

En effet, le choix du modèle animal approprié en fonction de la problématique abordée est un point primordial lors de la mise en place d'un projet. Pour étudier le rôle de TREM2 dans le contexte d'un modèle de tauopathie, nous avons dans un premier temps fait le choix d'utiliser un modèle par transfert de gène. Ce modèle comporte en effet de nombreux avantages. Il permet notamment de choisir précisément la zone d'expression du transgène et donc d'étudier un effet région dépendant. Un autre atout majeur est sa rapidité d'obtention. En effet, dans le cas du modèle utilisé dans cette étude, l'hyperphosphorylation et l'agrégation intraneuronale de Tau sont obtenus dès un mois post-injection. Cela permet donc d'éviter l'attente de plusieurs mois avant que la pathologie ne se développe, comme c'est le cas dans beaucoup de modèles transgéniques. Enfin, cette technique permet d'induire l'expression du transgène souhaité dans la multitude de modèles transgéniques existants. Dans notre cas, cela a permis d'étudier la déficience en TREM2 dans un modèle de tauopathie sans avoir à réaliser plusieurs croisements de modèles préalables, ce qui représente encore une fois un gain de temps considérable, mais s'inscrit aussi dans une volonté de réduction du nombre d'animaux utilisés.

Cependant, ce que nous avons initialement considéré comme un avantage s'est avéré également présenter plusieurs inconvénients. Dans le cas présent, dans lequel nous souhaitons étudier une composante neuroinflammatoire, un des biais majeurs de cette méthode est l'induction d'une réponse inflammatoire par la procédure en elle-même. Cette réaction est en partie due à l'injection du rAAV qui est inflammatoire, mais aussi à l'expression massive du transgène Tau, très toxique. Cette expression massive entraîne une mort neuronale importante de manière très rapide, qui induit alors la neuroinflammation. Cela a non seulement pour conséquence d'induire une réponse inflammatoire très rapide et artificielle au niveau des cellules immunitaires locales, mais pourrait aussi entraîner le recrutement massif de cellules périphériques telles que les lymphocytes cytotoxiques ou encore des macrophages provenant de la périphérie.

Pour évaluer l'éventuel recrutement de cellules immunitaires périphériques, nous avons réalisé une expérience de greffe de cellules souches hématopoïétiques marquées par la GFP dans des souris que nous avons par la suite injectées par voie intracérébrale avec nos différents vecteurs rAAV contrôles et Tau. Nous avons alors observé un recrutement massif des monocytes circulants exprimant la GFP dans le groupe Tau^{WT} par rapport au groupe Tau^{WT}+ΔK280, confirmant la réponse inflammatoire importante entraînée par l'expression de la protéine Tau^{WT} exprimée seule, dans ce modèle (Figure 38).

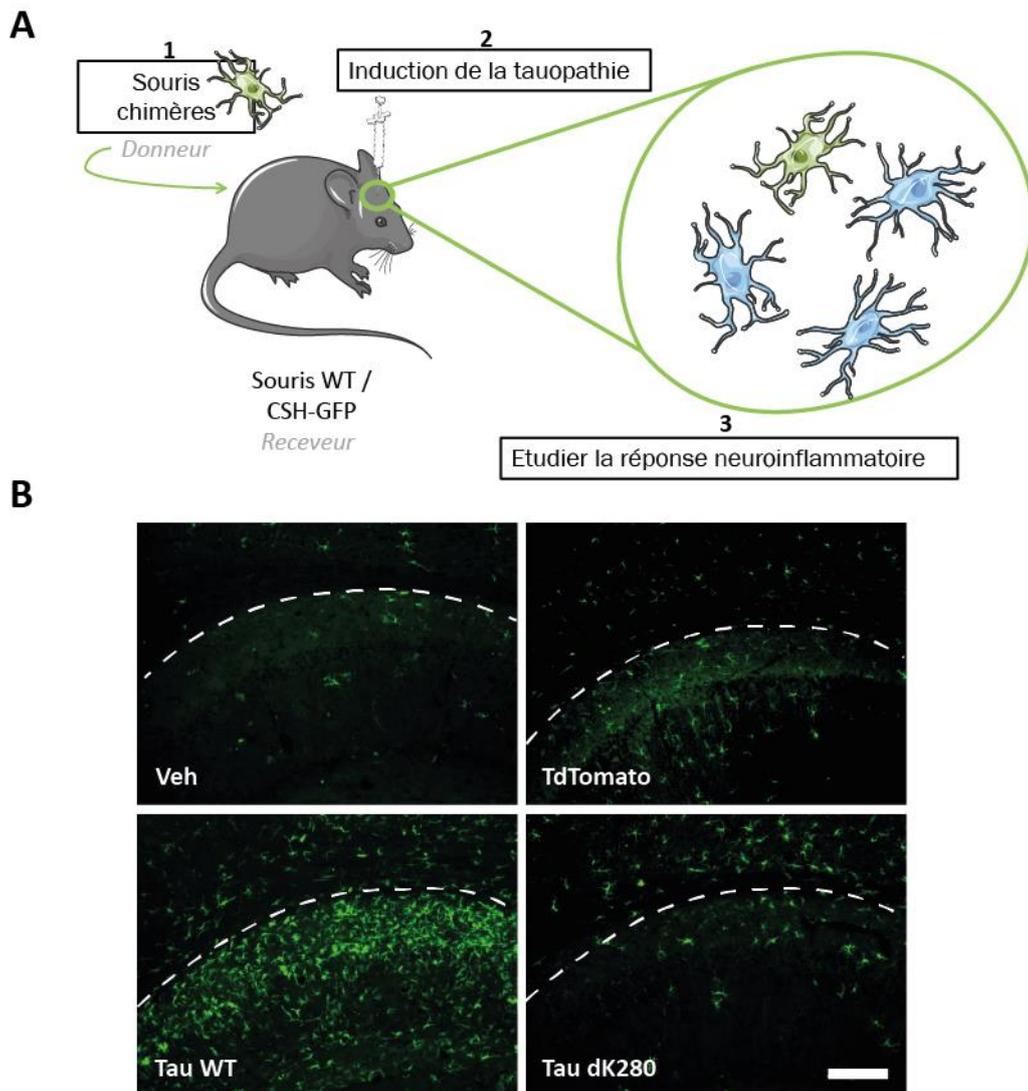


Figure 38 : Contribution des monocytes circulants à la neuroinflammation induite par la tauopathie.

(A) Afin d'étudier l'implication des monocytes périphériques dans la réponse neuroinflammatoire, nous avons utilisé des souris chimères générées par irradiation puis transplantation de moelle osseuse de souris transgéniques Csf1r-GFP qui expriment la GFP au niveau de la lignée monocyttaire, qui ont ensuite été soumises à notre modèle de tauopathie par injection intracérébrale des différents vecteurs rAAV. (B) Détection par immunofluorescence des cellules GFP positives. Nous observons une infiltration importante de monocytes périphériques dans le groupe Tau^{WT}, en comparaison aux groupes contrôle et au groupe exprimant la forme agrégée de Tau. Echelle = 100 μm.

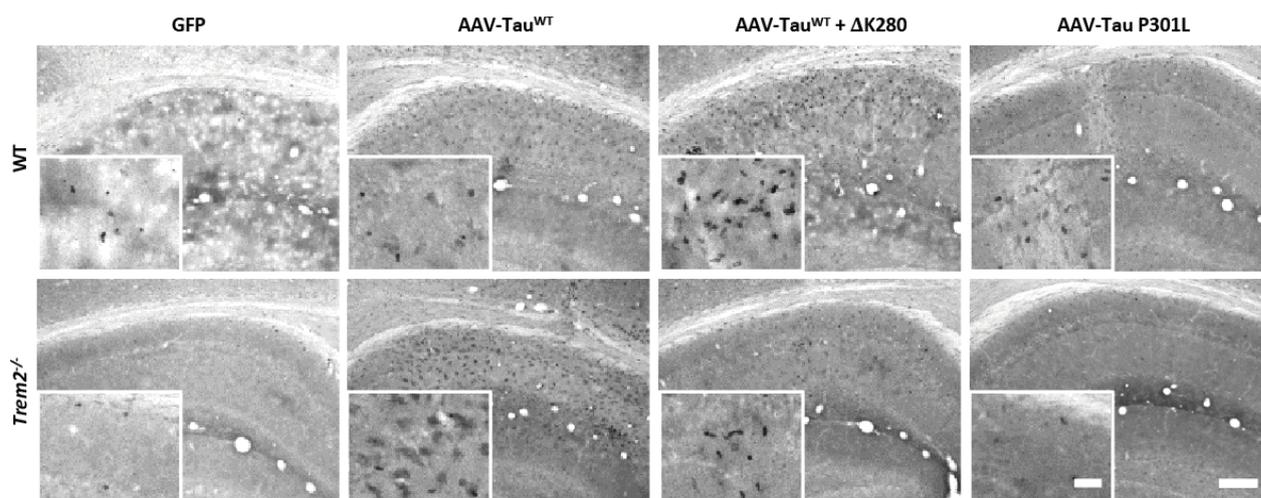


Figure 39 : Immunohistochimie CD3 des lymphocytes T.

Une infiltration de lymphocytes T est observée dans les différents groupes exprimant la protéine Tau, en comparaison au groupe contrôle exprimant la GFP. Echelle = 20 μ m (gauche) et 100 μ m (droite).

Nous avons par la suite mis en évidence l'infiltration de lymphocytes T dans notre modèle rAAV, par le marquage immunohistochimique CD3, spécifique de cette population de cellules (Figure 39). Ces résultats confirment le recrutement conséquent de cellules immunitaires circulantes dans ce modèle.

Pour étudier l'effet de TREM2 dans un modèle dans lequel l'inflammation est moins aiguë, et les mécanismes de neuroinflammation se mettent en place à une vitesse plus physiologique, nous avons décidé de choisir un modèle plus progressif et moins pro-inflammatoire, le modèle transgénique THY-Tau22.

b. Effet de la déficience en TREM2 dans le modèle transgénique de tauopathie THY-Tau22

Du fait de la disponibilité des souris déficientes en TREM2 au laboratoire, ainsi que l'accessibilité aisée au modèle THY-Tau22 grâce à notre collaboration avec l'équipe de Luc Buée (CNRS UMR 1172, Lille), nous avons pu réaliser rapidement le croisement pour obtenir les animaux THY-Tau22 déficients en TREM2. De plus, ces souris possèdent le même fond génétique C57BL6-J, facilitant ainsi l'obtention de doubles transgéniques.

Nous avons donc poursuivi notre étude avec le modèle transgénique de tauopathie THY-Tau22, pour lequel la pathologie Tau débute à partir de 3 mois et qui ne présente une neurodégénérescence qu'à partir de 12 mois. Ce modèle nous permet de plus d'étudier l'impact de TREM2 en fonction du stade de la pathologie : de manière très précoce, dès l'apparition des premières lésions à 3 mois, jusqu'à un stade tardif lors duquel la mort neuronale apparaît.

Une déficience en TREM2 étant associée à une diminution du statut inflammatoire (voir 4.c. Les rôles de TREM2), nous nous étions positionnés pour un rôle éventuellement bénéfique de la délétion de TREM2 dans ce modèle. Nous avons donc décidé de réaliser le comportement à un âge de 10 mois (Figure 36 et Figure 37), lorsque les déficits comportementaux sont maximaux et que les souris contrôles réalisent encore les différentes tâches sans présenter de déficits (Schindowski et al., 2006). Nos résultats ont montré que la déficience en TREM2 induisait une tendance à la diminution de l'anxiété des souris THY-Tau22, mais ne produisait pas d'amélioration de la mémoire spatiale ni de la reconnaissance d'objet. Ces effets ne sont pas retrouvés pour les souris déficientes en TREM2 n'exprimant pas le transgène de Tau, en comparaison à des souris WT (Figure 36), confirmant que la déficience en TREM2 seule n'a pas d'effet sur les tests comportementaux que nous avons réalisés.

A l'inverse, le design expérimental que nous avons mis en œuvre ne nous aurait pas permis de mettre en évidence une aggravation du phénotype des souris THY-Tau 22 déficientes en TREM2 (qui correspondrait donc à un effet bénéfique de TREM2). Plusieurs mécanismes pourraient être à l'origine d'un tel effet bénéfique. TREM2 pourrait par exemple être impliqué dans la phagocytose des synapses pathologiques. Nous avons donc décidé de réaliser de nouveaux ces tests comportementaux sur une nouvelle cohorte de souris âgées de 5 mois, un âge pour lequel les souris THY-Tau22 ne présentent pas encore de déficits comportementaux notables (Schindowski et al., 2006). Par ailleurs, l'article publié par Kang et coll. rapporte le comportement de souris déficientes en TREM2 à un âge de 6 mois, avec une batterie de test (test du champs ouvert, labyrinthe en croix surélevé, 3-chambered social interaction, test du conditionnement à la peur) afin d'évaluer l'anxiété, la locomotion, la sociabilité et la cognition (Kang et al., 2018). Aucune différence entre les souris WT et déficientes en TREM2 n'a été retrouvée à part le comportement de « rearing » lorsque l'animal se tient uniquement sur ses pattes arrières. De même, aucune différence entre mâle et femelle n'a été mise en évidence. A 3 mois, il a été montré dans une autre étude que les souris déficientes en TREM2 présentaient un déficit de sociabilité (Filipello et al., 2018). Il est à considérer que la souche de souris de ces deux études est différente : la souche Velocigène dans la première, sujette à controverse (voir 4.d TREM2 : un facteur de risque pour la MA), et la souche du laboratoire de Marco Colonna dans la deuxième, qui est la souche également utilisée dans notre étude. Dans notre cohorte contrôle à 10 mois, nous ne retrouvons pas de déficit pour les souris déficientes en TREM2, tant en terme de locomotion, d'anxiété que de mémoire spatiale et de reconnaissance d'objet. Il faut cependant noter que les souris déficientes en TREM2 manifestent tout au long de leur vie des comportements agressifs, qui ont pu être observés vis-à-vis de leurs compagnons de portée WT, notamment par des blessures, nécessitant parfois de séparer ces individus. Ces observations corroborent donc les résultats de Fabia Filipello suggérant un défaut de sociabilité de cette souche transgénique.

Cependant, nous n'avons pas objectivé ce comportement que ce soit avec un test quantitatif ou qualitatif.

En attendant le vieillissement de la cohorte d'animaux dédiée aux études comportementales à un stade avancé de la pathologie, nous avons en parallèle réalisé différentes expériences afin d'évaluer la réponse inflammatoire et la pathologie Tau, et ce à différents stades de la pathologie : 3, 6 et 12 mois.

Nous avons dans un premier temps exploré la réponse neuroinflammatoire. Pour cela, nous avons réalisé des études immunohistologiques avec le marqueur microglial Iba1 et le marqueur astrocytaire GFAP (Figure 26 A et B, Figure 27 A et B, Figure 28 A et B). Avec les techniques de quantification utilisées, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les souris THY-Tau22 déficientes ou non en TREM2, quel que soit l'âge considéré. Nous avons par ailleurs voulu évaluer l'impact de cette déficience sur le nombre de cellules microgliales, avec le marqueur nucléaire PU.1, qui est un facteur de transcription exprimé par les macrophages périphériques et la microglie (Figure 27 B, Figure 28 E). De même que pour Iba1 et GFAP, nous ne retrouvons pas de différence significative pour ce paramètre entre les souris déficientes ou non en TREM2. Ce résultat est en concordance avec l'étude de Bemiller qui ne montre pas de différence dans le nombre de cellules positives pour Iba1 (Bemiller et al., 2017). Il a été montré récemment, dans un contexte de vieillissement physiologique, que la déficience en TREM2 diminue le nombre de cellules microgliales hippocampiques dans des souris âgées de 3 et 24 mois, mais non à 12 mois (Linnartz-Gerlach et al., 2019), ce qui pourrait suggérer que les temps étudiés dans notre étude ne permettent pas de montrer cette différence. A l'inverse, dans des modèles amyloïdes, la déficience en TREM2 induit une diminution du nombre de cellules microgliales, et plus précisément du recrutement de la microglie au niveau des plaques (Jay et al., 2017; Y. Wang et al., 2016). Il pourrait donc être intéressant dans notre étude de se concentrer sur l'étude de la microglie à proximité des neurones présentant une pathologie Tau, et non pas dans l'ensemble du CA1.

Cela ne nous a pas permis de mettre en évidence de différences significative, notamment entre les groupes exprimant ou non le transgène Tau, pour des paramètres parfois déjà étudié dans la littérature et impactés significativement par l'expression du transgène, c'est le cas notamment des marqueurs d'inflammation tels que Iba1 et GFAP. Notamment, il a été montré une augmentation de CD11b, un marqueur microglial, et GFAP, dans les souris THY-Tau22 dès 3 mois (Laurent et al., 2017) : certains paramètres seraient probablement sortis significativement avec un autre design, notamment en regroupant les souris déficientes ou non en TREM2. La méthode de quantification des immunomarquages sur coupes histologiques par évaluation de la fluorescence moyenne pourrait

aussi expliquer les différences relativement faibles entre les groupes. Différents facteurs, comme l'échelle dynamique de la caméra, le bruit de fond dû aux anticorps utilisés, ou l'autofluorescence naturelle des tissus, pourraient concourir au manque de sensibilité de cette technique pour détecter des différences discrètes entre les groupes. Il serait intéressant d'utiliser des méthodes alternatives pour analyser l'expression des marqueurs Iba1 et GFAP, comme par exemple une analyse morphologique des cellules. Les études de TREM2 relatives à la MA et les tauopathies s'appuient d'ailleurs principalement sur la morphologie des cellules microgliales pour mettre en évidence une déficience d'inflammation dans les souris n'exprimant pas TREM2 (Bemiller et al., 2017; Filipello et al., 2018). Ce type d'analyse est en cours sur nos échantillons, pour chacun de ces types cellulaires, microglie et astrocytes, par une analyse de Sholl réalisée sur des acquisitions confocales au niveau de la couche CA1 de l'hippocampe. Une autre technique, appelée MIC-MAC, a été développée récemment afin de permettre l'analyse morphologique semi-automatique de la microglie et plus généralement des cellules immunitaires (Salamanca et al., 2019). Cependant, un point à prendre en considération est l'épaisseur des coupes que nous avons réalisées. En effet, la microglie occupe dans l'hippocampe un domaine de 15 à 30 μm . Ainsi avec des coupes d'une épaisseur de 30 μm , le risque est d'analyser des cellules qui ne sont pas entières. De plus, si le volume occupé par les cellules est différent entre les groupes, cela pourrait biaiser l'analyse dans le cas où les cellules seraient coupées seulement dans certains groupes et non dans les autres.

De manière à évaluer plus en détail l'activation microgliale dans les différents groupes, nous avons ensuite quantifié par RT-qPCR l'expression de gènes liés à l'inflammation (Figure 29, Figure 30, Figure 31). C'est à 12 mois que nous retrouvons, de manière peu surprenante, le plus de différence entre les souris déficientes ou non en TREM2, notamment une diminution de l'expression de *CD68*, marqueur de phagocytose, de *TGF β* , une cytokine neuroprotectrice (Tesseur and Wyss-Coray, 2006) et de *Tmem119*, marqueur spécifique de la microglie (Bennett et al., 2016). La diminution de ces facteurs pourrait alors avoir un effet délétère sur la pathologie, comme nous l'avons montré au temps 12 mois.

Nous avons par la suite voulu déterminer si la déficience en TREM2 induisait une augmentation ou une diminution de la pathologie Tau (Figure 32, Figure 33, Figure 34). Aux temps 3 et 6 mois (Figure 32, Figure 33), nous n'avons pas montré de différence d'hyperphosphorylation ou d'agrégation de Tau entre les souris déficientes ou non en TREM2, dans le modèle THY-Tau22. En revanche, à 12 mois, les souris THY-Tau22 déficientes en TREM2 présentent une hyperphosphorylation de Tau sur les sites pathologiques pS202 et pT205 ainsi qu'une agrégation de Tau (mise en évidence par le marqueur AT100 et la coloration de Gallyas) plus importante que les souris contrôles (Figure 34). Cela pourrait être dû notamment à un défaut de phagocytose des neurones ayant dégénérés. Ces

résultats sont en accord avec ceux de l'étude de Bemiller et coll., réalisée dans le modèle hTau à 6 mois (Bemiller et al., 2017). En revanche, nous ne retrouvons pas de phosphorylation plus importante de Tau au niveau du site pSer422 pour les souris déficientes en TREM2 par rapport à leur contrôle. Ainsi, ces résultats pourraient expliquer nos données comportementales : la déficience en TREM2 a un effet délétère, qui n'a pas pu être mise en évidence avec le design expérimental que nous avons utilisé pour l'étude comportementale. Cela confirme donc l'importance de réaliser cette étude à un temps plus précoce, 5 mois par exemple, pour détecter une éventuelle accélération du phénotype pour les souris déficientes en TREM2, à un âge pour lequel nous n'observons normalement pas encore de déficit comportemental. Cette étude comportementale est actuellement en cours de réalisation au laboratoire. Nous pourrions aussi envisager d'utiliser d'autres tests de comportement qui ne comporteraient pas de « valeur plancher » par exemple avec des tests de sociabilité. Cependant, il n'existe pas à ma connaissance de tests permettant d'évaluer les déficits cognitifs principaux retrouvés dans la MA, et sans « valeur plancher ».

Il a par ailleurs été montré récemment qu'une perte partielle ou complète de *Trem2* entraînaient un effet différentiel sur la pathologie (Sayed et al., 2018). Il est rapporté dans cette étude une protection vis-à-vis de l'activation microgliale et de l'atrophie cérébrale chez les animaux invalidés pour *Trem2* de manière homozygote, alors que les animaux hétérozygotes montrent une augmentation de l'expression de marqueurs pro-inflammatoires et une exacerbation de l'atrophie cérébrale à des stades avancés de la pathologie. Cela pourrait en partie être dû à un effet compensatoire dans les souris n'exprimant plus TREM2, ou encore à un effet différentiel sur la modulation de l'inflammation entre les souris homo et hétérozygotes. Les polymorphismes de *TREM2* impliqués dans la MA étant en grande majorité présents à l'état hétérozygote chez les patients (à notre connaissance, seul un cas homozygote du polymorphisme R47H a été rapporté (Slattery et al., 2014)), une étude avec des souris hétérozygotes serait donc plus pertinente au regard de la pathologie humaine et pourrait nous apporter des informations complémentaires quant au rôle de TREM2 dans le développement de la MA. Dans le cadre de notre étude, nous n'avons pas réalisé ces expériences, d'une part pour des raisons pratiques. En effet, l'entretien d'une lignée à l'état hétérozygote nécessite d'élever un nombre très important de souris. Cela ajoute de plus des groupes à notre étude, affaiblissant ainsi la puissance des tests statistiques employés. Par ailleurs, lorsque nous avons entrepris cette étude, cet article n'était pas encore publié et nous ne nous attendions pas à observer un phénotype pour les souris hétérozygotes pour *Trem2*, un gène dont les mutations sont récessives, comme c'est le cas pour la maladie de Nasu-Hakola.

Un autre point important dans le cadre de la réponse microgliale est l'effet du sexe dans notre étude. La composante du sexe dans la recherche en général, et dans le contexte des maladies liées à la

neuroinflammation en particulier, est, à juste titre, de plus en plus prise en considération. De nombreuses études ont montré que les femmes présentaient un risque plus important de développer la MA (pour revue, Ferretti et al., 2018), avec une différence liée au sexe plus marquée pour la pathologie Tau que amyloïde (Oveisgharan et al., 2018), les causes restant cependant débattues. Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence significative pour la pathologie Tau entre les mâles et les femelles, au temps 12 mois. Seule une différence est observée dans l'expression de certains gènes tels que *CD68*, *TGFβ* ou encore *AIF1*. Il serait cependant intéressant de vérifier un éventuel dimorphisme sexuel sur le comportement de ces animaux, au-delà d'une différence de pathologie au niveau histologique. Dans le cadre de notre étude, nous n'avons pas pu réaliser cette étude comportementale pour des raisons techniques, car il n'était pas possible en raison du nombre de souris de réaliser les études comportementales à la fois sur les souris mâles et les souris femelles. Nous aurions pu dans ce cas envisager de réaliser ces expériences sur plusieurs cohortes randomisées, dont nous aurions par la suite rassemblé les résultats.

Nous pouvons aussi noter que TREM2 n'a, à ce jour, pas été montré comme facteur de risque des tauopathies autres que la MA. Nous pouvons donc penser que le peptide β -amyloïde joue un rôle majeur dans l'implication de TREM2 et de la MA, plus en amont de la cascade pathologique qui déclenche la tauopathie dans la MA.

2. Perspectives

a. Quels sont les mécanismes mis en jeu ?

Notre étude nous a permis de mettre en évidence une augmentation de la pathologie Tau uniquement à 12 mois dans le modèle THY-Tau22. Deux mécanismes principaux pourraient expliquer ce phénomène.

D'une part, la déficience en TREM2 pourrait conduire à une **augmentation de la pathologie *per se***. Cela mettrait alors en jeu des mécanismes cellulaires extrinsèques à la microglie. Nous pourrions notamment imaginer une modification du métabolisme des neurones par un effet direct ou non de la microglie déficiente en TREM2. Notamment, cela pourrait entraîner une rupture de l'équilibre entre les kinases et les phosphatases de Tau, conduisant à l'hyperphosphorylation de Tau et ses conséquences sur l'homéostasie neuronale. Il a en effet été montré que dans le modèle hTau, une déficience en TREM2 entraîne une dérégulation des voies JNK et ERK dès 3 mois, et GSK3- β à 6 mois (Bemiller et al., 2017), kinases qui sont directement liées à l'hyperphosphorylation de Tau (Jayapalan and Natarajan, 2013; Ploia et al., 2011; Qi et al., 2016). Il reste maintenant à tester cette hypothèse dans le modèle THY-Tau22. Pour cela, nous pourrions, à l'instar de l'étude réalisée par Bemiller et

coll., évaluer l'état d'activation des voies JNK et ERK par des expériences de western blot, en utilisant des anticorps spécifiques des sites de phosphorylation permettant l'activation de ces protéines. Dans le cas où ce mécanisme serait impliqué, l'utilisation d'agents pharmacologiques bloquant ces différentes voies de phosphorylation permettrait de valider cette hypothèse et éventuellement d'identifier de nouvelles pistes thérapeutiques.

Une autre explication relativement évidente serait que la déficience en TREM2 pourrait **diminuer la clairance des lésions** qui surviendrait après la mort neuronale. En effet, il a été montré que TREM2 est impliqué dans le phénomène de phagocytose et qu'une déficience en TREM2 entraîne alors une diminution de la phagocytose (voir 4.c Les fonctions de TREM2). Cela a été largement mis en évidence dans le contexte amyloïde et il serait intéressant de l'étudier dans le contexte de la tauopathie, par exemple par des études *in vitro* de culture primaire de microglie déficientes en TREM2 mises en présence de protéines Tau taguées. La difficulté de réaliser des cultures primaires de microglie reste un point bloquant pour mener ce type d'études. En effet, la plupart des protocoles actuellement disponibles aboutissent à des cellules microgliales ayant un phénotype et un profil transcriptomique relativement différent de la microglie *in vivo* (Bohlen et al., 2017). Une revue récente expose en détail les différents modes d'étude de la microglie *in vitro*, ainsi que leur limitation (Timmerman et al., 2018). Actuellement le modèle le plus largement accepté est la microglie dérivée de cellules souches pluripotentes de patients, ou Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC), cependant c'est une technologie difficile à mettre en place et à maîtriser. Une nouvelle méthode simplifiée, développée par l'équipe de Mathew Blurton-Jones, est désormais accessible (McQuade et al., 2018), et a été validée par une étude transcriptomique de RNA-seq et des tests fonctionnels. Cette méthode, qui nécessite *a priori* une moindre expertise des cellules souches, pourrait alors être mise en place au sein de notre laboratoire. Ces cellules pourraient nous permettre d'évaluer la recapture différentielle de la protéine Tau, en fonction de l'expression ou non de *TREM2*, ou bien de *TREM2* présentant les différents polymorphismes retrouvés chez les patients. Une étude similaire, réalisée avec une autre technique de différenciation de microglie humaine, a notamment permis de mettre en évidence que le polymorphisme T66M ne provoquait pas de défaut de phagocytose (Brownjohn et al., 2018).

Nous pourrions aussi envisager d'étudier l'éventuelle phagocytose de Tau *in vivo*, par des expériences 3-photons. Ces expériences pourraient nous permettre de visualiser la phagocytose différentielle de neurones positifs pour Tau, par des cellules microgliales déficientes ou non en TREM2. Pour cela, nous pourrions utiliser des souris double transgénique Cx3cr1-GFP déficientes en TREM2, dont les cellules phagocytaires mononucléaires expriment la GFP grâce au promoteur spécifique Cx3cr1. Ces souris seraient alors injectées avec des rAAV-Tau, permettant l'expression de

la protéine Tau taguée, par exemple avec la TdTomato. Il est en effet maintenant possible de réaliser des expériences 3-photons avec deux longueurs d'onde différentes (Guesmi et al., 2018). Cependant, cette technologie n'est accessible que pour des couches peu profondes du parenchyme, à moins de un millimètre de la surface, et donc ne permettrait pas d'imager une structure plus profonde telle que l'hippocampe.

Par ailleurs, notre étude s'est concentrée principalement sur la première population cellulaire impactée par la déficience en TREM2, puisqu'étant la principale population à exprimer *Trem2* dans le cerveau : la microglie. Ces études méritent d'être approfondies, comme précisé précédemment, notamment par des études morphologiques de la microglie.

Cependant, les cellules microgliales ne sont pas les seules cellules gliales du cerveau, et nous pourrions considérer que les autres populations cellulaires jouent elles aussi un rôle important dans le développement de la pathologie, dans un contexte de déficience en TREM2. Parmi ces cellules, nous avons commencé à étudier le rôle des astrocytes, au temps 12 mois, et les études au temps 3 et 6 mois sont en cours de réalisation. En effet, il est maintenant acquis qu'il existe un dialogue entre les astrocytes et la microglie, dialogue qui a été notamment mis en évidence par l'équipe de Ben Barres (Liddel et al., 2017). Dans cet article, Liddel et coll. montrent qu'un sous-type d'astrocytes réactifs, qu'ils appellent A1, est induit par la microglie activée, par la sécrétion de différentes cytokines pro-inflammatoires telles que TNF ou l'IL1- α . Il paraît donc incomplet de considérer ces deux populations indépendamment l'une de l'autre.

Par ailleurs, comme abordé dans l'introduction, il n'est pas complètement acquis que les phagocytes mononucléaires que nous avons étudiés dans le parenchyme cérébral soient d'origine locale ou circulante. Pour étudier cette hypothèse, nous avons lors de ma thèse commencé à travailler sur un modèle de greffe de cellules souches hématopoïétiques taguées par la GFP dans des souris que nous avons par la suite injectées en intracérébral avec nos différents vecteurs rAAV-Tau afin de déclencher une tauopathie (Figure 38). Pour différentes raisons techniques, nous avons décidé de ne pas continuer ces expériences. Notamment, nous n'avions pas la possibilité de protéger le cerveau lors de l'irradiation destinée à mettre les animaux en aplasie avant la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Une absence de protection du crâne induit une rupture transitoire de la BHE. Il a d'ailleurs été montré qu'une protection de la tête lors de l'irradiation entraîne une absence de greffe des cellules souches périphériques (Mildner et al., 2011). Cette même étude a également montré qu'à long terme, l'irradiation provoque des changements transcriptomique de la microglie. Notre expérience pourrait donc être refaite avec par exemple un système de casque en plomb. De plus, d'autres raisons pratiques comme la lourdeur de ces expériences, ou encore la disponibilité de

l'irradiateur nous ont poussés à ne pas poursuivre dans cette voie. Cependant, les résultats préliminaires ont montré une infiltration massive de cellules circulantes au niveau de la zone d'injection, pour les vecteurs exprimant la forme la plus inflammatoire de Tau, à savoir la forme WT, tandis que la forme agrégée entraînait une infiltration moindre (Figure 38). Depuis, la spécificité de l'expression par la microglie du récepteur Tmem119 a été mise en évidence (Bennett et al., 2016). Il serait donc intéressant de réaliser un co-marquage d'Iba1, qui est exprimé à la fois par les cellules microgliales et les monocytes circulants, avec Tmem119, afin de mettre en évidence une éventuelle infiltration de monocytes périphériques dans le modèle THY-Tau22, et d'évaluer si la déficience en TREM2 influe sur cette infiltration (illustration du marquage Tmem119 : Figure 40). L'utilisation de ce marqueur pourrait alors remplacer les expériences de greffes.

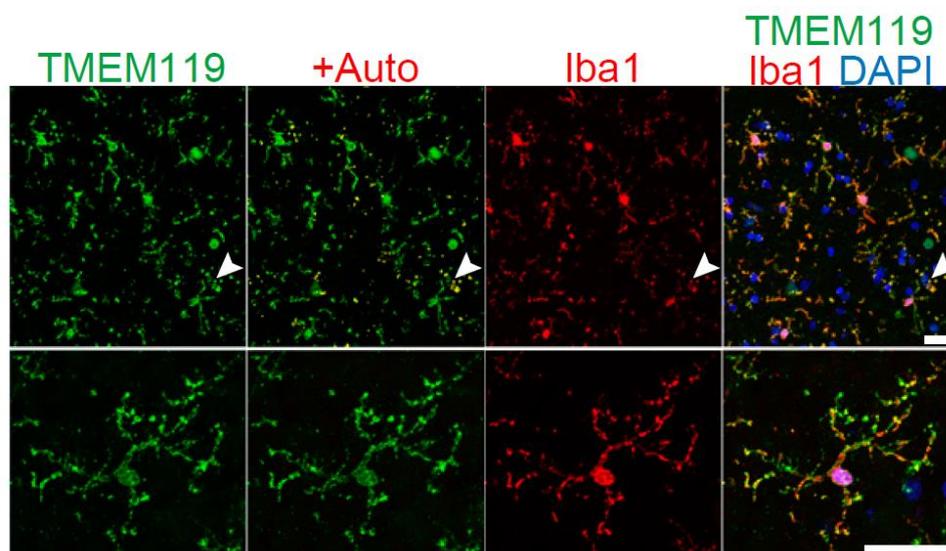


Figure 40 : Reconstruction confocale de l'immunomarquage Tmem119 associé au marquage Iba1.

Colocalisation de la protéine Tmem119 avec Iba1 à partir de tissus d'un individu de 51 ans ne présentant pas de pathologie. Echelle = 30 μ m. D'après Bennett et al., 2016

Enfin, il a été rapporté une infiltration de lymphocytes T CD8+ dans notre modèle d'étude THY-Tau22 (Laurent et al., 2017). En utilisant un anticorps anti-CD3 pour dépler les lymphocytes T, les auteurs de cette étude ont mis en évidence une amélioration des déficits cognitifs, sans que cela n'impacte la pathologie Tau avec les marqueurs utilisés. Dans le cadre de notre étude, nous avons réalisé un marquage CD3 préliminaire qui confirme l'infiltration de cellules lymphocytaires T dans le modèle THY-Tau22 (Figure 41). Une étude comparative de l'infiltration de ces cellules en fonction de l'expression ou non de TREM2 nous permettrait de savoir si ces cellules sont-elles-aussi éventuellement impliquées.

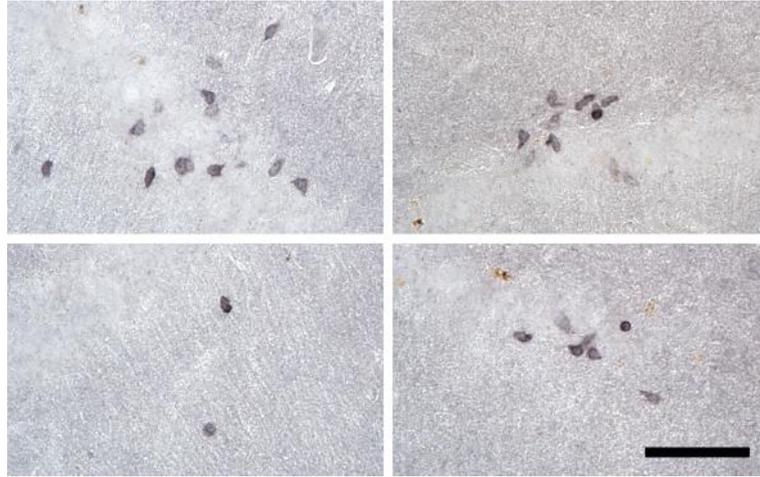


Figure 41 : Immunohistochimie CD3 des lymphocytes T dans les souris THY-Tau22.

Des cellules lymphocytaires T, mises en évidence par l'expression du récepteur CD3, sont observées au niveau de l'hippocampe des souris THY-Tau22. Echelle = 50 μ m.

Ainsi, les résultats présentés dans ce manuscrit, et plus généralement la littérature, ne permettent pas encore d'apporter de réponse claire quant aux mécanismes exacts mis en jeu et méritent d'être approfondis. Pour cela, deux pistes majeures seraient à étudier : une augmentation de la pathologie, ou bien une diminution de la clairance des lésions. Nous pourrions, pour la première hypothèse, étudier l'effet de cette déficience sur différentes voies de phosphorylation de Tau et pour la seconde hypothèse, étudier l'effet de la déficience en TREM2 sur la phagocytose des neurones présentant une pathologie Tau, à la fois par des expériences *in vitro* de culture cellulaire ou *in vivo* grâce à la technique d'imagerie 3-photons.

b. Impact de TREM2 sur la propagation de Tau

Dans la MA, la pathologie Tau suit une progression spatio-temporelle bien définie, qui constitue les stades de Braak, et qui corrèle avec le déclin clinique observé chez les patients (Braak and Braak, 1991). Les inclusions neuronales de Tau apparaissent en effet dans un premier temps dans le cortex transentorhinal, pour atteindre ensuite la formation hippocampique et le néocortex. Ainsi, la protéine Tau se propage de région à région anatomiquement connectées. Des données provenant de modèles animaux de tauopathie confirment l'hypothèse selon laquelle la protéine Tau se propage de manière trans-synaptique (Calignon, 2012; Clavaguera et al., 2009; Sanders et al., 2014). Mieux comprendre les mécanismes de propagation de la protéine Tau nous permettrait à terme de pouvoir développer des approches thérapeutiques afin de limiter cette propagation, et donc potentiellement le déclin cognitif des patients.

Il a été montré dans une étude de 2015 que la microglie participe à la propagation de Tau *via* sa phagocytose (Asai et al., 2015)(voir 3.b La neuroinflammation microgliale est-elle bénéfique ou délétère). Pour rappel, cette étude montre que l'élimination de la microglie entraîne un arrêt de la propagation de Tau, dans un modèle de propagation par injection de rAAV-Tau dans le cortex entorhinal médian. De plus, dans cette même étude, l'inhibition de la synthèse d'exosomes dans une culture primaire de microglie entraîne une réduction de la transmission de Tau de la microglie aux neurones. Qu'en est-il de la participation de TREM2 à ce phénomène ? TREM2 étant impliqué dans les mécanismes de phagocytose de la microglie, il se pourrait que ce récepteur participe de même à la phagocytose de Tau.

Il existe actuellement différents modèles cellulaires pour étudier la propagation des espèces pathologiques de la protéine Tau. Le modèle inducible Tet-on de neuroblastome murin N2a, permet l'expression du domaine de répétition R de la protéine Tau, co-exprimé avec sa forme totale comportant ou non la mutation $\Delta K280$, lorsque les cellules sont exposées à la doxycycline (Khlistunova et al., 2006). Un autre modèle développé par l'équipe de Marc Diamond (Houston, Texas), a permis de montrer que différentes souches de Tau entraînent différents schémas de pathologies (Sanders et al., 2014). Par ailleurs, la mise en place de systèmes de cultures primaires en chambres microfluidiques a permis d'étudier les mécanismes de propagation de la protéine Tau. Notamment, ces systèmes ont permis de mettre en évidence le transfert *in vitro* d'une construction particulière de la protéine Tau WT comportant un tag V5 (Dujardin et al., 2014). De même, le modèle développé par Wang et coll. (Wang et al., 2017) a permis de mettre en évidence la propagation trans-neuronale de la protéine Tau par les exosomes, *via* la connectivité synaptique. Les cultures de neurones dérivés de cellules souches pluripotentes de patients, ou *Induced Pluripotent Stem Cell derived neurons* (IPSC-neurons) permettent d'être au plus proche de la physiopathologie de maladie, d'autant plus lorsque ces cellules sont étudiées dans des systèmes 3D de culture cellulaire, pour lequel les cellules sont incluses dans un milieu à base de Matrigel, ou bien encore des systèmes de type organoïdes (Choi et al., 2016). En effet, ces systèmes permettent de réaliser des co-cultures à partir des différents acteurs cellulaires, et donc de se rapprocher au mieux de l'environnement du cerveau humain.

Pour tester l'impact de TREM2 sur la propagation de la protéine Tau, nous avons débuté des expériences de microfluidique en collaboration avec Jean-Michel Peyrin (IBPS, UMR 8246). Nous avons pour cela utilisé une puce microfluidique à deux chambres, contenant respectivement des neurones pré et post-synaptiques. Les neurones du compartiment pré-synaptique sont infectés avec nos différents vecteurs viraux, permettant ainsi d'étudier une éventuelle propagation de la protéine Tau des neurones du compartiment pré-synaptique au compartiment post-synaptique (Figure 42).

Pour cela, nous avons dans un premier temps sélectionné le sérotype qui infectait le mieux les neurones murins en culture primaire, à savoir le sérotype 6, qui présente par ailleurs l'avantage de ne pas présenter de transport antérograde, contrairement au sérotype 8 utilisé pour nos expériences *in vivo* présentées dans ce manuscrit.

Infection avec AAV-Tau

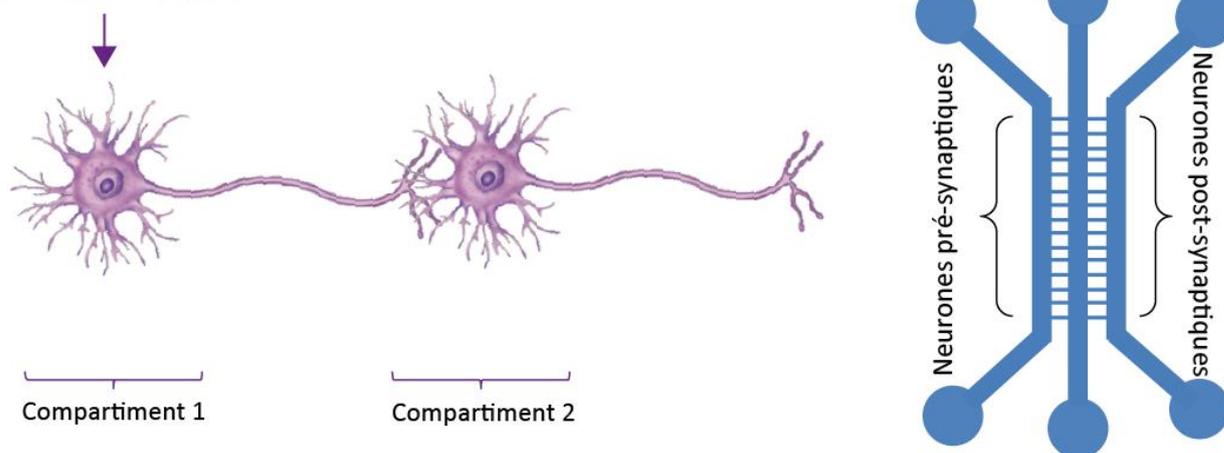


Figure 42 : Système de culture neuronale sur puce microfluidique.

Ce système est constitué de deux compartiments (le compartiment central étant obsolète dans notre étude): un compartiment pré-synaptique et un compartiment post-synaptique, reliés par des microcanaux permettant le passage seul des axones et empêchant le passage des corps cellulaires. L'infection du premier compartiment avec les rAAV-Tau nous permet d'observer une éventuelle propagation trans-synaptique de la protéine Tau au niveau du second compartiment.

Pour étudier les mécanismes de propagation, il serait de même intéressant de tirer parti des systèmes d'insert en co-culture cellulaire, permettant de vérifier si le transfert éventuel de la protéine Tau du neurone à la microglie nécessite ou non un contact direct. De même, nous pourrions analyser le milieu de culture, notamment pour étudier l'éventuelle contribution des exosomes dans la propagation de Tau entre neurone et microglie.

Nous avons par ailleurs voulu étudier l'éventuelle influence de TREM2 sur la propagation de la protéine Tau *in vivo*. Pour cela, nous avons essayé de reproduire le modèle créé par Asai et coll. en 2015 (Asai et al., 2015). Ce modèle consiste en l'injection de vecteurs viraux rAAV permettant l'expression de la protéine Tau dans le cortex entorhinal de souris, et aboutissant à la propagation de la protéine Tau au niveau de la couche granulaire du gyrus denté (Figure 43). L'objectif final serait d'injecter nos différents rAAV exprimant Tau dans le cortex entorhinal de souris déficientes ou non en TREM2 et de vérifier une éventuelle différence de propagation de la protéine Tau en fonction du groupe. Cependant, nous n'avons pour le moment pas réussi à reproduire ce modèle dans notre laboratoire. En effet, malgré l'ajustement des coordonnées, nous retrouvons bien une expression de la protéine Tau au niveau de la voie perforante, qui est la voie ciblée, et qui permet la projection des neurones du cortex entorhinal médian vers les neurones de la couche granulaire du gyrus denté. Cependant, à

un mois post-injection, nous n'observons pas de propagation de la protéine de la couche moléculaire jusqu'aux corps neuronaux de la couche granulaire du gyrus denté.

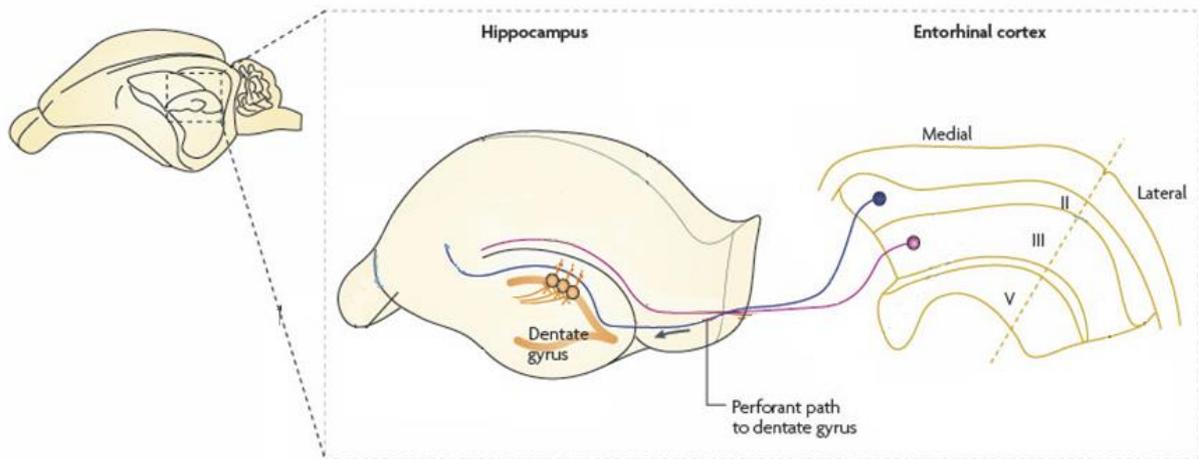


Figure 43 : Voie perforante projetant du cortex entorhinal médian à la couche moléculaire du gyrus denté.

Les dendrites des neurones de la couche granulaire du gyrus denté font synapses avec les fibres afférentes constituant la voie perforante. Adapté de Neves et al., 2008.

Nous avons, au cours de ma thèse, exploré plusieurs pistes pour étudier le phénomène de propagation, *in vitro* avec les expériences de microfluidique, et *in vivo*, avec les expériences d'injection dans le cortex entorhinal médian. Les expériences *in vitro* ont la particularité de permettre une étude plus mécanistique. Cependant, les études *in vivo* permettent d'étudier la propagation de Tau dans un contexte plus intégré, dans lequel tous les acteurs cellulaires peuvent jouer leur rôle. Ces deux approches différentes sont donc complémentaires. L'étude de la propagation de Tau fait actuellement l'objet d'une thèse au laboratoire, dans un contexte *in vivo*.

Conclusion

L'immunité innée est aujourd'hui reconnue comme ayant une importance capitale dans la progression de la MA. La microglie est l'un des acteurs majeurs de l'immunité innée dans le SNC. Des études pangénomiques récentes ont identifié le gène microglial *TREM2*, et plus particulièrement certains de ses polymorphismes, comme étant des facteurs de risques pour la MA. Cependant, le rôle exact de *TREM2* dans le développement de la MA et en particulier de sa composante tauopathique est à ce jour encore débattu. Notre étude a permis de mettre en évidence l'effet protecteur de *TREM2* dans le modèle transgénique de tauopathie THY-Tau22, uniquement à un âge tardif. Cet effet protecteur est maintenant à valider d'un point de vue comportemental, à un âge précoce pour lequel les déficits ne sont pas encore observables pour les souris THY-Tau22 non déficientes en *TREM2*. De plus, des études complémentaires, notamment par culture cellulaire, nous permettraient d'étudier plus en détail les mécanismes sous-jacents, à savoir une augmentation de la pathologie *per se*, ou une diminution de la clairance des lésions, et étudier l'éventuel rôle de *TREM2* dans la propagation de la protéine Tau.

Mieux comprendre le rôle de *TREM2* durant le développement de la MA permettrait ainsi d'éclaircir nos connaissances sur le rôle de l'immunité innée dans la MA et donc de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour contrer cette pathologie qui est devenue un enjeu majeur à tout point de vue dans nos sociétés vieillissantes.

Bibliographie

- Ahmed, Z., Cooper, J., Murray, T.K., Garn, K., McNaughton, E., Clarke, H., Parhizkar, S., Ward, M.A., Cavallini, A., Jackson, S., Bose, S., Clavaguera, F., Tolnay, M., Lavenir, I., Goedert, M., Hutton, M.L., O'Neill, M.J., 2014. A novel in vivo model of tau propagation with rapid and progressive neurofibrillary tangle pathology: The pattern of spread is determined by connectivity, not proximity. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1254-6>
- Ajami, B., Bennett, J.L., Krieger, C., Tetzlaff, W., Rossi, F.M.V., 2007. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat. Neurosci.* 10, 1538–1543. <https://doi.org/10.1038/nn2014>
- Algotsson, A., Winblad, B., 2007. The integrity of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Acta Neurol. Scand.* 115, 403–408. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2007.00823.x>
- Allen, B., Ingram, E., Takao, M., Smith, M.J., Jakes, R., Virdee, K., Yoshida, H., Holzer, M., Craxton, M., Emson, P.C., Atzori, C., Migheli, A., Crowther, R.A., Ghetti, B., Spillantini, M.G., Goedert, M., 2002. Abundant tau filaments and nonapoptotic neurodegeneration in transgenic mice expressing human P301S tau protein. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 9340–9351. <https://doi.org/22/21/9340> [pii]
- Alliot, F., Godin, I., Pessac, B., 1999. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Dev. Brain Res.* 117, 145–152. [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(99\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(99)00113-3)
- Alzheimer, A., Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., Murtagh, F.R., 1995. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde." *Clin. Anat. N. Y. N* 8, 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>
- Andorfer, C., Kress, Y., Espinoza, M., De Silva, R., Tucker, K.L., Barde, Y.A., Duff, K., Davies, P., 2003. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J. Neurochem.* 86, 582–590. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01879.x>
- Andreadis, A., 2012. Tau splicing and the intricacies of dementia. *J. Cell. Physiol.* <https://doi.org/10.1002/jcp.22842>
- Ardura-Fabregat, A., Boddeke, E.W.G.M., Boza-Serrano, A., Brioschi, S., Castro-Gomez, S., Ceyzériat, K., Dansokho, C., Dierkes, T., Gelders, G., Heneka, M.T., Hoeijmakers, L., Hoffmann, A., Iaccarino, L., Jahnert, S., Kuhbandner, K., Landreth, G., Lonnemann, N., Löschmann, P.A., McManus, R.M., Paulus, A., Reemst, K., Sanchez-Caro, J.M., Tiberi, A., Van der Perren, A., Vautheny, A., Venegas, C., Webers, A., Weydt, P., Wijasa, T.S., Xiang, X., Yang, Y., 2017. Targeting Neuroinflammation to Treat Alzheimer's Disease. *CNS Drugs* 31, 1057–1082. <https://doi.org/10.1007/s40263-017-0483-3>
- Arendt, T., Stieler, J., Holzer, M., 2016. Tau and Tauopathies. *Brain Res. Bull.* 126, 238–292. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.018>
- Arnold, C.S., Johnson, G. V, Cole, R.N., Dong, D.L., Lee, M., Hart, G.W., 1996. The microtubule-associated protein tau is extensively modified with O-linked N-acetylglucosamine. *J. Biol. Chem.* 271, 28741–28744. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.46.28741>
- Arnold, S.J., Dugger, B.N., Beach, T.G., 2013. TDP-43 deposition in prospectively followed, cognitively normal elderly individuals: Correlation with argyrophilic grains but not other concomitant pathologies. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 126, 51–57. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1110-0>
- Arriagada, P.V., Growdon, J.H., Hedley-Whyte, E.T., Hyman, B.T., 1992. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42, 631–639.
- Asai, H., Ikezu, S., Tsunoda, S., Medalla, M., Luebke, J., Haydar, T., Wolozin, B., Butovsky, O., Kügler, S., Ikezu, T., 2015. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat. Publ. Group* 18, 1584–1593. <https://doi.org/10.1038/nn.4132>

- Atagi, Y., Liu, C.-C., Painter, M.M., Chen, X.-F., Verbeeck, C., Zheng, H., Li, X., Rademakers, R., Kang, S.S., Xu, H., Younkin, S., Das, P., Fryer, J.D., Bu, G., 2015. Apolipoprotein E is a Ligand for Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 (TREM2). *J. Biol. Chem.* 290, 26043–26050. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.679043>
- Bailey, C.C., DeVaux, L.B., Farzan, M., 2015. The Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 Binds Apolipoprotein E. *J. Biol. Chem.* 290, 26033–26042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.677286>
- Baumann, K., Mandelkow, E.M., Biernat, J., Piwnica-Worms, H., Mandelkow, E., 1993. Abnormal Alzheimer-like phosphorylation of tau-protein by cyclin-dependent kinases cdk2 and cdk5. *FEBS Lett.* 336, 417–424. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80849-P](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80849-P)
- Bejanin, A., Schonhaut, D.R., La Joie, R., Kramer, J.H., Baker, S.L., Sosa, N., Ayakta, N., Cantwell, A., Janabi, M., Lauriola, M., O’Neil, J.P., Gorno-Tempini, M.L., Miller, Z.A., Rosen, H.J., Miller, B.L., Jagust, W.J., Rabinovici, G.D., 2017. Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer’s disease. *Brain J. Neurol.* 140, 3286–3300. <https://doi.org/10.1093/brain/awx243>
- Bélanger, M., Magistretti, P.J., 2009. The role of astroglia in neuroprotection. *Dialogues Clin. Neurosci.* <https://doi.org/10.1038/nrn1722>
- Belarbi, K., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F.-J., Desmercierres, J., Troquier, L., Brouillette, J., Tsambou, L., Grosjean, M.-E., Caillierez, R., Demeyer, D., Hamdane, M., Schindowski, K., Blum, D., Buee, L., 2011. Loss of Medial Septum Cholinergic Neurons in THY-Tau22 Mouse Model: What Links with tau Pathology? *Curr. Alzheimer Res.* 8, 633–638. <https://doi.org/10.2174/156720511796717230>
- Bellucci, A., Westwood, A.J., Ingram, E., Casamenti, F., Goedert, M., Spillantini, M.G., 2004. Induction of inflammatory mediators and microglial activation in mice transgenic for mutant human P301S tau protein. *Am. J. Pathol.* 165, 1643–1652. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63421-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63421-9)
- Bemiller, S.M., McCray, T.J., Allan, K., Formica, S.V., Xu, G., Wilson, G., Kokiko-Cochran, O.N., Crish, S.D., Lasagna-Reeves, C.A., Ransohoff, R.M., Landreth, G.E., Lamb, B.T., 2017. TREM2 deficiency exacerbates tau pathology through dysregulated kinase signaling in a mouse model of tauopathy. *Mol. Neurodegener.* 12, 74. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0216-6>
- Ben Haim, L., Carrillo-de Sauvage, M.-A., Ceyzeriat, K., Escartin, C., 2015. Elusive roles for reactive astrocytes in neurodegenerative diseases. *Front. Cell. Neurosci.* 9, 278. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00278>
- Bennett, M.L., Bennett, F.C., Liddelow, S.A., Ajami, B., Zamanian, J.L., Fernhoff, N.B., Mulinyawe, S.B., Bohlen, C.J., Adil, A., Tucker, A., Weissman, I.L., Chang, E.F., Li, G., Grant, G.A., Hayden Gephart, M.G., Barres, B.A., 2016. New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E1738-1746. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525528113>
- Bennett, R.E., DeVos, S.L., Dujardin, S., Corjuc, B., Gor, R., Gonzalez, J., Roe, A.D., Frosch, M.P., Pitstick, R., Carlson, G.A., Hyman, B.T., 2017. Enhanced Tau Aggregation in the Presence of Amyloid β . *Am. J. Pathol.* 187, 1601–1612. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.03.011>
- Berger, Z., Roder, H., Hanna, A., Carlson, A., Rangachari, V., Yue, M., Wszolek, Z., Ashe, K., Knight, J., Dickson, D., Andorfer, C., Rosenberry, T.L., Lewis, J., Hutton, M., Janus, C., 2007. Accumulation of pathological tau species and memory loss in a conditional model of tauopathy. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 3650–3662. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0587-07.2007>
- Bhaskar, K., Konerth, M., Kokiko-Cochran, O.N., Cardona, A., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., 2010. Regulation of tau pathology by the microglial fractalkine receptor. *Neuron* 68, 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.023>
- Binder, L.I., Frankfurter, A., Rebhun, L.I., 1985. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J. Cell Biol.* 101, 1371–1378. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1371>

- Bohlen, C.J., Bennett, F.C., Tucker, A.F., Collins, H.Y., Mulinyawe, S.B., Barres, B.A., 2017. Diverse Requirements for Microglial Survival, Specification, and Function Revealed by Defined-Medium Cultures. *Neuron* 94, 759–773.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.043>
- Bolmont, T., Haiss, F., Eicke, D., Radde, R., Mathis, C.A., Klunk, W.E., Kohsaka, S., Jucker, M., Calhoun, M.E., 2008. Dynamics of the microglial/amyloid interaction indicate a role in plaque maintenance. *J Neurosci* 28, 4283–4292. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4814-07.2008>
- Bolós, M., Llorens-Martín, M., Jurado-Arjona, J., Hernández, F., Rábano, A., Avila, J., 2016. Direct Evidence of Internalization of Tau by Microglia In Vitro and In Vivo. *J. Alzheimers Dis. JAD* 50, 77–87. <https://doi.org/10.3233/JAD-150704>
- Borroni, B., Ferrari, F., Galimberti, D., Nacmias, B., Barone, C., Bagnoli, S., Fenoglio, C., Piaceri, I., Archetti, S., Bonvicini, C., Gennarelli, M., Turla, M., Scarpini, E., Sorbi, S., Padovani, A., 2014. Heterozygous TREM2 mutations in frontotemporal dementia. *Neurobiol. Aging* 35, 934.e7–10. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.017>
- Bouchon, A., Hernández-Munain, C., Cella, M., Colonna, M., 2001. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J. Exp. Med.* 194, 1111–22. <https://doi.org/10.1084/jem.194.8.1111>
- Bowman, G.L., Kaye, J.A., Moore, M., Waichunas, D., Carlson, N.E., Quinn, J.F., 2007. Blood-brain barrier impairment in Alzheimer disease: stability and functional significance. *Neurology* 68, 1809–1814. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000262031.18018.1a>
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological Staging of Alzheimer-Related Changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Brion, J.-P., Tremp, G., Octave, J.-N., 1999. Transgenic Expression of the Shortest Human Tau Affects Its Compartmentalization and Its Phosphorylation as in the Pretangle Stage of Alzheimer's Disease. *Am. J. Pathol.* 154, 255–270. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65272-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65272-8)
- Brown, G.C., Neher, J.J., 2014. Microglial phagocytosis of live neurons. *Nat. Publ. Group* 15, 209–216. <https://doi.org/10.1038/nrn3710>
- Brownjohn, P.W., Smith, J., Solanki, R., Lohmann, E., Houlden, H., Hardy, J., Dietmann, S., Livesey, F.J., 2018. Functional Studies of Missense TREM2 Mutations in Human Stem Cell-Derived Microglia. *Stem Cell Rep.* 10, 1294–1307. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.03.003>
- Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P.R., 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Rev.* 33, 95–130. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00019-9)
- Bukar Maina, M., Al-Hilaly, Y.K., Serpell, L.C., 2016. Nuclear Tau and Its Potential Role in Alzheimer's Disease. *Biomolecules* 6, 1–20. <https://doi.org/10.3390/biom6010009>
- Caceres, A., Banker, G., Steward, O., Binder, L., Payne, M., 1984. MAP2 is localized to the dendrites of hippocampal neurons which develop in culture. *Dev. Brain Res.* 13, 314–318. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(84\)90167-6](https://doi.org/10.1016/0165-3806(84)90167-6)
- Caceres, A., Kosik, K.S., 1990. Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. *Nature* 343, 461–463. <https://doi.org/10.1038/343461a0>
- Cady, J., Koval, E.D., Benitez, B. a, Zaidman, C., Jockel-Balsarotti, J., Allred, P., Baloh, R.H., Ravits, J., Simpson, E., Appel, S.H., Pestronk, A., Goate, A.M., Miller, T.M., Cruchaga, C., Harms, M.B., 2014. TREM2 variant p.R47H as a risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol.* 71, 449–453. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6237>
- Caillierez, R., Bégard, S., Lécolle, K., Deramecourt, V., Zommer, N., Dujardin, S., Loyens, A., Dufour, N., Aurégan, G., Winderickx, J., Hantraye, P., Déglon, N., Buée, L., Colin, M., 2013a. Lentiviral delivery of the human wild-type tau protein mediates a slow and progressive neurodegenerative tau pathology in the rat brain. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 21, 1358–1368. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.66>
- Caillierez, R., Bégard, S., Lécolle, K., Deramecourt, V., Zommer, N., Dujardin, S., Loyens, A., Dufour, N., Aurégan, G., Winderickx, J., Hantraye, P., Déglon, N., Buée, L., Colin, M., 2013b. Lentiviral delivery of the human wild-type tau protein mediates a slow and progressive

- neurodegenerative tau pathology in the rat brain. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 21, 1358–68. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.66>
- Calignon, a. D.E. Al, 2012. Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer’s disease. *Neuron* Doi101016jneuron201111033 73, 685–697. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.033>
- Callahan, L.M., Vaules, W.A., Coleman, P.D., 2002. Progressive reduction of synaptophysin message in single neurons in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 61, 384–395. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.5.384>
- Cantoni, C., Bollman, B., Licastro, D., Xie, M., Mikesell, R., Schmidt, R., Yuede, C.M., Galimberti, D., Olivecrona, G., Klein, R.S., Cross, A.H., Otero, K., Piccio, L., 2015. TREM2 regulates microglial cell activation in response to demyelination in vivo. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 129, 429–447. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1388-1>
- Castillo-Carranza, D.L., Gerson, J.E., Sengupta, U., Guerrero-Muñoz, M.J., Lasagna-Reeves, C.A., Kaye, R., 2014a. Specific targeting of tau oligomers in Htau mice prevents cognitive impairment and tau toxicity following injection with brain-derived tau oligomeric seeds. *J. Alzheimers Dis. JAD 40 Suppl 1*, S97–S111. <https://doi.org/10.3233/JAD-132477>
- Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Guerrero-Muñoz, M.J., Lasagna-Reeves, C.A., Gerson, J.E., Singh, G., Estes, D.M., Barrett, A.D.T., Dineley, K.T., Jackson, G.R., Kaye, R., 2014b. Passive immunization with Tau oligomer monoclonal antibody reverses tauopathy phenotypes without affecting hyperphosphorylated neurofibrillary tangles. *J. Neurosci.* 34, 4260–72. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3192-13.2014>
- Cheng-Hathaway, P.J., Reed-Geaghan, E.G., Jay, T.R., Casali, B.T., Bemiller, S.M., Puntambekar, S.S., von Saucken, V.E., Williams, R.Y., Karlo, J.C., Moutinho, M., Xu, G., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Landreth, G.E., 2018. The Trem2 R47H variant confers loss-of-function-like phenotypes in Alzheimer’s disease. *Mol. Neurodegener.* 13, 29. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0262-8>
- Choi, S.H., Kim, Y.H., Quinti, L., Tanzi, R.E., Kim, D.Y., 2016. 3D culture models of Alzheimer’s disease: a road map to a “cure-in-a-dish.” *Mol. Neurodegener.* 11, 75. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0139-7>
- Clavaguera, F., Akatsu, H., Fraser, G., Crowther, R.A., Frank, S., Hench, J., Probst, A., Winkler, D.T., Reichwald, J., Staufenbiel, M., Ghetti, B., Goedert, M., Tolnay, M., 2013. Brain homogenates from human tauopathies induce tau inclusions in mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 9535–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301175110>
- Clavaguera, F., Bolmont, T., Crowther, R.A., Abramowski, D., Frank, S., Probst, A., Fraser, G., Stalder, A.K., Beibel, M., Staufenbiel, M., Jucker, M., Goedert, M., Tolnay, M., 2009. Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nat. Cell Biol.* 11, 909–13. <https://doi.org/10.1038/ncb1901>
- Cleveland, D.W., Hwo, S.Y., Kirschner, M.W., 1977. Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *J. Mol. Biol.* 116, 227–247.
- Colonna, M., 2003. TREMs in the immune system and beyond. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 445–53. <https://doi.org/10.1038/nri1106>
- Colonna, M., Butovsky, O., 2017. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annu. Rev. Immunol.* 35, 441–468. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358>
- Cooper-Knock, J., Green, C., Altschuler, G., Wei, W., Bury, J.J., Heath, P.R., Wyles, M., Gelsthorpe, C., Highley, J.R., Lorente-Pons, A., Beck, T., Doyle, K., Otero, K., Traynor, B., Kirby, J., Shaw, P.J., Hide, W., 2017. A data-driven approach links microglia to pathology and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol. Commun.* 5, 23. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0424-x>
- Couchie, D., Charrière-Bertrand, C., Nunez, J., 1988. Expression of the mRNA for tau proteins during brain development and in cultured neurons and astroglial cells. *J. Neurochem.* 50, 1894–1899.

- Cowan, C.M., Quraishie, S., Hands, S., Sealey, M., Mahajan, S., Allan, D.W., Mudher, A., 2015. Rescue from tau-induced neuronal dysfunction produces insoluble tau oligomers. *Sci. Rep.* 5, 17191. <https://doi.org/10.1038/srep17191>
- Cruchaga, C., Kauwe, J.S.K., Harari, O., Jin, S.C., Cai, Y., Karch, C.M., Benitez, B.A., Jeng, A.T., Skorupa, T., Carrell, D., Bertelsen, S., Bailey, M., McKean, D., Shulman, J.M., De Jager, P.L., Chibnik, L., Bennett, D.A., Arnold, S.E., Harold, D., Sims, R., Gerrish, A., Williams, J., Van Deerlin, V.M., Lee, V.M.Y., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Haines, J.L., Mayeux, R., Pericak-Vance, M.A., Farrer, L.A., Schellenberg, G.D., Peskind, E.R., Galasko, D., Fagan, A.M., Holtzman, D.M., Morris, J.C., Goate, A.M., 2013. GWAS of cerebrospinal fluid tau levels identifies risk variants for alzheimer's disease. *Neuron* 78, 256–268. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.026>
- Cubinková, V., Valachová, B., Brezováková, V., Szabó, R., Zimová, I., Kostecká, Z., Jadhav, S., 2017. Next generation tau models in Alzheimer's disease research - virus based gene delivery systems. *Acta Virol.* 61, 13–21. https://doi.org/10.4149/av_2017_01_13
- Cuyvers, E., Sleegers, K., 2016. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol.* 15, 857–868. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00127-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00127-7)
- d'Orange, M., Aurégan, G., Cheramy, D., Gaudin-Guérif, M., Lieger, S., Guillemier, M., Stimmer, L., Joséphine, C., Hérard, A.-S., Gaillard, M.-C., Petit, F., Kiessling, M.C., Schmitz, C., Colin, M., Buée, L., Panayi, F., Diguët, E., Brouillet, E., Hantraye, P., Bemelmans, A.-P., Cambon, K., 2018. Potentiating tangle formation reduces acute toxicity of soluble tau species in the rat. *Brain J. Neurol.* 141, 535–549. <https://doi.org/10.1093/brain/awx342>
- Dabir, D. V., Robinson, M.B., Swanson, E., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., Forman, M.S., 2006. Impaired glutamate transport in a mouse model of tau pathology in astrocytes. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 644–654. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3861-05.2006>
- D'Andrea, M.R., Cole, G.M., Ard, M.D., 2004. The microglial phagocytic role with specific plaque types in the Alzheimer disease brain. *Neurobiol. Aging.* <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2003.12.026>
- Daws, M.R., Sullam, P.M., Niemi, E.C., Chen, T.T., Tchao, N.K., Seaman, W.E., 2003. Pattern recognition by TREM-2: binding of anionic ligands. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 171, 594–599.
- Dawson, H.N., Cantillana, V., Chen, L., Vitek, M.P., 2007. The tau N279K exon 10 splicing mutation recapitulates frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 tauopathy in a mouse model. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 9155–9168. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5492-06.2007>
- Dawson, H.N., Cantillana, V., Jansen, M., Wang, H., Vitek, M.P., Wilcock, D.M., Lynch, J.R., Laskowitz, D.T., 2010. Loss of tau elicits axonal degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience* 169, 516–531. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.037>
- Dawson, H.N., Ferreira, A., Eyster, M.V., Ghoshal, N., Binder, L.I., Vitek, M.P., 2001. Inhibition of neuronal maturation in primary hippocampal neurons from tau deficient mice. *J. Cell Sci.* 114, 1179–1187.
- de Calignon, A., Fox, L.M., Pitstick, R., Carlson, G.A., Bacskai, B.J., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2010. Caspase activation precedes and leads to tangles. *Nature* 464, 1201–1204. <https://doi.org/10.1038/nature08890>
- de Calignon, A., Polydoro, M., Suárez-Calvet, M., William, C., Adamowicz, D.H., Kopeikina, K.J., Pitstick, R., Sahara, N., Ashe, K.H., Carlson, G.A., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2012. Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease. *Neuron* 73, 685–697. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.033>
- Deczkowska, A., Keren-Shaul, H., Weiner, A., Colonna, M., Schwartz, M., Amit, I., 2018. Disease-Associated Microglia: A Universal Immune Sensor of Neurodegeneration. *Cell* 173, 1073–1081. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.003>

- Delacourte, A., David, J.P., Sergeant, N., Buée, L., Wattez, A., Vermersch, P., Ghazali, F., Fallet-Bianco, C., Pasquier, F., Lebert, F., Petit, H., Di Menza, C., 1999. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52, 1158–1165. <https://doi.org/10.1212/wnl.52.6.1158>
- Dickson, D.W., Crystal, H.A., Bevona, C., Honer, W., Vincent, I., Davies, P., 1995. Correlations of synaptic and pathological markers with cognition of the elderly. *Neurobiol. Aging* 16, 285–298. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(95\)00013-5](https://doi.org/10.1016/0197-4580(95)00013-5)
- Dickson, D.W., Lee, S.C., Mattiace, L.A., Yen, S.C., Brosnan, C., 1993. Microglia and cytokines in neurological disease, with special reference to AIDS and Alzheimer's disease. *Glia* 7, 75–83. <https://doi.org/10.1002/glia.440070113>
- Dorval, V., Fraser, P.E., 2006. Small ubiquitin-like modifier (SUMO) modification of natively unfolded proteins tau and α -synuclein. *J. Biol. Chem.* 281, 9919–9924. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510127200>
- Dotti, C.G., Banker, G.A., Binder, L.I., 1987. The expression and distribution of the microtubule-associated proteins tau and microtubule-associated protein 2 in hippocampal neurons in the rat in situ and in cell culture. *Neuroscience* 23, 121–130. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90276-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90276-4)
- Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J.L., Blennow, K., Dekosky, S.T., Gauthier, S., Selkoe, D., Bateman, R., Cappa, S., Crutch, S., Engelborghs, S., Frisoni, G.B., Fox, N.C., Galasko, D., Habert, M.O., Jicha, G.A., Nordberg, A., Pasquier, F., Rabinovici, G., Robert, P., Rowe, C., Salloway, S., Sarazin, M., Epelbaum, S., de Souza, L.C., Vellas, B., Visser, P.J., Schneider, L., Stern, Y., Scheltens, P., Cummings, J.L., 2014. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: The IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70090-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70090-0)
- Duff, K., Knight, H., Refolo, L.M., Sanders, S., Yu, X., Picciano, M., Malester, B., Hutton, M., Adamson, J., Goedert, M., Burki, K., Davies, P., 2000. Characterization of pathology in transgenic mice over-expressing human genomic and cDNA tau transgenes. *Neurobiol. Dis.* 7, 87–98. <https://doi.org/10.1006/nbdi.1999.0279>
- Dujardin, S., Colin, M., Buée, L., 2015. Invited review: Animal models of tauopathies and their implications for research/translation into the clinic. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* <https://doi.org/10.1111/nan.12200>
- Dujardin, S., Lécolle, K., Caillierez, R., Bégard, S., Zommer, N., Lachaud, C., Carrier, S., Dufour, N., Aurégan, G., Winderickx, J., Hantraye, P., Déglon, N., Colin, M., Buée, L., 2014. Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: relevance to sporadic tauopathies. *Acta Neuropathol. Commun.* 2, 14. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-14>
- Ebneth, A., Godemann, R., Stamer, K., Illenberger, S., Trinczek, B., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 1998. Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: Implications for Alzheimer's disease. *J. Cell Biol.* 143, 777–794. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.3.777>
- Eckermann, K., Mocanu, M.M., Khlistunova, I., Biernat, J., Nissen, A., Hofmann, A., Schöning, K., Bujard, H., Haemisch, A., Mandelkow, E., Zhou, L., Rune, G., Mandelkow, E.M., 2007. The τ -propensity of tau determines aggregation and synaptic loss in inducible mouse models of tauopathy. *J. Biol. Chem.* 282, 31755–31765. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705282200>
- El Khoury, J., Toft, M., Hickman, S.E., Means, T.K., Terada, K., Geula, C., Luster, A.D., 2007. Ccr2 deficiency impairs microglial accumulation and accelerates progression of Alzheimer-like disease. *Nat. Med.* 13, 432–438. <https://doi.org/10.1038/nm1555>
- Ferretti, M., Allard, S., Partridge, V., Ducatzenzeiler, A., Cuello, a C., 2012. Minocycline corrects early, pre-plaque neuroinflammation and inhibits BACE-1 in a transgenic model of Alzheimer's disease-like amyloid pathology. *J. Neuroinflammation* 9, 62. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-62>

- Ferretti, M.T., Iulita, M.F., Cavedo, E., Chiesa, P.A., Schumacher Dimech, A., Santuccion Chadha, A., Baracchi, F., Girouard, H., Misoch, S., Giacobini, E., Depypere, H., Hampel, H., Women's Brain Project and the Alzheimer Precision Medicine Initiative, 2018. Sex differences in Alzheimer disease - the gateway to precision medicine. *Nat. Rev. Neurol.* 14, 457–469. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0032-9>
- Feuerbach, D., Schindler, P., Barske, C., Joller, S., Beng-Louka, E., Worringer, K.A., Kommineni, S., Kaykas, A., Ho, D.J., Ye, C., Welzenbach, K., Elain, G., Klein, L., Brzak, I., Mir, A.K., Farady, C.J., Aichholz, R., Popp, S., George, N., Neumann, U., 2017. ADAM17 is the main sheddase for the generation of human triggering receptor expressed in myeloid cells (hTREM2) ectodomain and cleaves TREM2 after Histidine 157. *Neurosci. Lett.* 660, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.09.034>
- Fiala, M., Lin, J., Ringman, J., Kermani-Arab, V., Tsao, G., Patel, A., Lossinsky, A.S., Graves, M.C., Gustavson, A., Sayre, J., Sofroni, E., Suarez, T., Chiappelli, F., Bernard, G., 2005. Ineffective phagocytosis of amyloid-beta by macrophages of Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis. JAD* 7, 221–232; discussion 255–262.
- Filipcik, P., Zilka, N., Bugos, O., Kucerak, J., Koson, P., Novak, P., Novak, M., 2012. First transgenic rat model developing progressive cortical neurofibrillary tangles. *Neurobiol. Aging* 33, 1448–1456. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.10.015>
- Filipello, F., Morini, R., Corradini, I., Zerbi, V., Canzi, A., Michalski, B., Erreni, M., Markicevic, M., Starvaggi-Cucuzza, C., Otero, K., Piccio, L., Cignarella, F., Perrucci, F., Tamborini, M., Genua, M., Rajendran, L., Menna, E., Vetrano, S., Fahnstock, M., Paolicelli, R.C., Matteoli, M., 2018. The Microglial Innate Immune Receptor TREM2 Is Required for Synapse Elimination and Normal Brain Connectivity. *Immunity* 48, 979–991.e8. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.04.016>
- Forabosco, P., Ramasamy, A., Trabzuni, D., Walker, R., Smith, C., Bras, J., Levine, A.P., Hardy, J., Pocock, J.M., Guerreiro, R., Weale, M.E., Ryten, M., 2013. Insights into TREM2 biology by network analysis of human brain gene expression data. *Neurobiol. Aging* 34, 2699–2714. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.001>
- Forman, M.S., Lal, D., Zhang, B., Dabir, D. V, Swanson, E., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., 2005. Transgenic mouse model of tau pathology in astrocytes leading to nervous system degeneration. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 3539–3550. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0081-05.2005>
- Fox, L.M., William, C.M., Adamowicz, D.H., Pitstick, R., Carlson, G.A., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2011. Soluble tau species, not neurofibrillary aggregates, disrupt neural system integration in a tau transgenic model. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 70, 588–595. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318220a658>
- Fu, R., Shen, Q., Xu, P., Luo, J.J., Tang, Y., 2014. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases. *Mol. Neurobiol.* 49, 1422–1434. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8620-6>
- Fuhrmann, M., Bittner, T., Jung, C.K.E., Burgold, S., Page, R.M., Mitteregger, G., Haass, C., LaFerla, F.M., Kretschmar, H., Herms, J., 2010. Microglial Cx3cr1 knockout prevents neuron loss in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat. Neurosci.* 13, 411–413. <https://doi.org/10.1038/nn.2511>
- Gao, X., Dong, Y., Liu, Z., Niu, B., 2013. Silencing of triggering receptor expressed on myeloid cells-2 enhances the inflammatory responses of alveolar macrophages to lipopolysaccharide. *Mol. Med. Rep.* 7, 921–926. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1268>
- Garwood, C.J., Cooper, J.D., Hanger, D.P., Noble, W., 2010. Anti-inflammatory impact of minocycline in a mouse model of tauopathy. *Front. Psychiatry* 1, 136. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2010.00136>
- Gawish, R., Martins, R., Böhm, B., Wimberger, T., Sharif, O., Lakovits, K., Schmidt, M., Knapp, S., 2015. Triggering receptor expressed on myeloid cells-2 fine-tunes inflammatory responses in

- murine Gram-negative sepsis. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 29, 1247–1257. <https://doi.org/10.1096/fj.14-260067>
- Gerhard, A., Watts, J., Trender-Gerhard, I., Turkheimer, F., Banati, R.B., Bhatia, K., Brooks, D.J., 2004. In vivo imaging of microglial activation with [11C](R)-PK11195 PET in corticobasal degeneration. *Mov Disord* 19, 1221–1226. <https://doi.org/10.1002/mds.20162>
- Gerson, J.E., Kaye, R., 2013. Formation and propagation of tau oligomeric seeds. *Front. Neurol.* <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00093>
- Ghosh, S., Wu, M.D., Shaftel, S.S., Kyrkanides, S., Laferla, F.M., Olschowka, J.A., O'Banion, M.K., 2013. Sustained interleukin-1beta overexpression exacerbates tau pathology despite reduced amyloid burden in an Alzheimer's mouse model. *J. Neurosci.* 33, 5053–5064. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4361-12.2013>
- Giannakopoulos, P., Herrmann, F.R., Bussi re, T., Bouras, C., Kovari, E., Perl, D.P., Morrison, J.H., Gold, G., Hof, P.R., 2003. Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurology* 60, 1495–500. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000063311.58879.01>
- Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., Mehler, M.F., Conway, S.J., Ng, L.G., Stanley, E.R., Samokhvalov, I.M., Merad, M., 2010. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 330, 841–5. <https://doi.org/10.1126/science.1194637>
- Gispert, J.D., Suárez-Calvet, M., Mont , G.C., Tucholka, A., Falcon, C., Rojas, S., Rami, L., Sánchez-Valle, R., Llad , A., Kleinberger, G., Haass, C., Molinuevo, J.L., 2016. Cerebrospinal fluid sTREM2 levels are associated with gray matter volume increases and reduced diffusivity in early Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 12, 1259–1272. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.06.005>
- Goedert, M., Hasegawa, M., Jakes, R., Lawler, S., Cuenda, A., Cohen, P., 1997. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases. *FEBS Lett.* 409, 57–62. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00483-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00483-3)
- Goedert, M., Jakes, R., 1990. Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *EMBO J.* 9, 4225–4230.
- Goedert, M., Spillantini, M.G., Jakes, R., Rutherford, D., Crowther, R.A., 1989. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3, 519–526.
- Goedert, M., Spillantini, M.G., Potier, M.C., Ulrich, J., Crowther, R.A., 1989. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J.* 8, 393–9.
- Gómez-Isla, T., Hollister, R., West, H., Mui, S., Growdon, J.H., Petersen, R.C., Parisi, J.E., Hyman, B.T., 1997. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 41, 17–24. <https://doi.org/10.1002/ana.410410106>
- Gómez-Ramos, A., Díaz-Hernández, M., Rubio, A., Díaz-Hernández, J.I., Miras-Portugal, M.T., Avila, J., 2009. Characteristics and consequences of muscarinic receptor activation by tau protein. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* 19, 708–717. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.04.006>
- Gonçalves, L.A., Rodrigues-Duarte, L., Rodo, J., Vieira de Moraes, L., Marques, I., Penha-Gonçalves, C., 2013. TREM2 governs Kupffer cell activation and explains belr1 genetic resistance to malaria liver stage infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 19531–19536. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306873110>
- Gorlovoy, P., Larionov, S., Pham, T.T.H., Neumann, H., 2009. Accumulation of tau induced in neurites by microglial proinflammatory mediators. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 23, 2502–2513. <https://doi.org/10.1096/fj.08-123877>
- Götz, J., Chen, F., Barmettler, R., Nitsch, R.M., 2001a. Tau filament formation in transgenic mice expressing P301L tau. *J. Biol. Chem.* 276, 529–534. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006531200>

- Götz, J., Probst, A., Spillantini, M.G., Schäfer, T., Jakes, R., Bürki, K., Goedert, M., 1995. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *EMBO J.* 14, 1304–1313.
- Götz, J., Tolnay, M., Barmettler, R., Chen, F., Probst, A., Nitsch, R.M., 2001b. Oligodendroglial tau filament formation in transgenic mice expressing G272V tau. *Eur. J. Neurosci.* 13, 2131–2140. <https://doi.org/10.1046/j.0953-816X.2001.01604.x>
- Grueninger, F., Bohrmann, B., Czech, C., Ballard, T.M., Frey, J.R., Weidensteiner, C., von Kienlin, M., Ozmen, L., 2010. Phosphorylation of Tau at S422 is enhanced by A β in TauPS2APP triple transgenic mice. *Neurobiol. Dis.* 37, 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.09.004>
- Guerreiro, R., Brás, J., Hardy, J., 2013a. Snapshot: genetics of Alzheimer’s disease. *Cell* 155, 968–968.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.037>
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeva, E., Majounie, E., Cruchaga, C., Sassi, C., Kauwe, J.S.K., Younkin, S., Hazrati, L., Collinge, J., Pocock, J., Lashley, T., Williams, J., Lambert, J.-C., Amouyel, P., Goate, A., Rademakers, R., Morgan, K., Powell, J., St George-Hyslop, P., Singleton, A., Hardy, J., Alzheimer Genetic Analysis Group, 2013b. TREM2 variants in Alzheimer’s disease. *N. Engl. J. Med.* 368, 117–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211851>
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeva, E., Majounie, E., Cruchaga, C., Sassi, C., Kauwe, J.S.K., Younkin, S., Hazrati, L., Collinge, J., Pocock, J., Lashley, T., Williams, J., Lambert, J.-C., Amouyel, P., Goate, A., Rademakers, R., Morgan, K., Powell, J., St George-Hyslop, P., Singleton, A., Hardy, J., Alzheimer Genetic Analysis Group, 2013c. TREM2 variants in Alzheimer’s disease. *N. Engl. J. Med.* 368, 117–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211851>
- Guesmi, K., Abdeladim, L., Tozer, S., Mahou, P., Kumamoto, T., Jurkus, K., Rigaud, P., Loulier, K., Dray, N., Georges, P., Hanna, M., Livet, J., Supatto, W., Beaurepaire, E., Druon, F., 2018. Dual-color deep-tissue three-photon microscopy with a multiband infrared laser. *Light Sci. Appl.* 7, 12. <https://doi.org/10.1038/s41377-018-0012-2>
- Guo, T., Noble, W., Hanger, D.P., 2017. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 133, 665–704. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1707-9>
- Gyoneva, S., Kim, D., Katsumoto, A., Kokiko-Cochran, O.N., Lamb, B.T., Ransohoff, R.M., 2015. Ccr2 deletion dissociates cavity size and tau pathology after mild traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation* 12, 228. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0443-0>
- Hakola, H.P., 1972. Neuropsychiatric and genetic aspects of a new hereditary disease characterized by progressive dementia and lipomembranous polycystic osteodysplasia. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* 232, 1–173.
- Hamelin, L., Lagarde, J., Dorothé, G., Leroy, C., Labit, M., Comley, R.A., Cruz De Souza, L., Bottlaender, M., Sarazin, M., 2016. Early and protective microglial activation in Alzheimer’s disease: a prospective study using 18 F-DPA-714 PET imaging. *Brain* 1252–1264. <https://doi.org/10.1093/brain/aww017>
- Heneka, M.T., Carson, M.J., Khoury, J.E., Landreth, G.E., Brosseron, F., Feinstein, D.L., Jacobs, A.H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R.M., Herrup, K., Frautschy, S.A., Finsen, B., Brown, G.C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Petzold, G.C., Town, T., Morgan, D., Shinohara, M.L., Perry, V.H., Holmes, C., Bazan, N.G., Brooks, D.J., Hunot, S., Joseph, B., Deigendesch, N., Garaschuk, O., Boddeke, E., Dinarello, C.A., Breitner, J.C., Cole, G.M., Golenbock, D.T., Kummer, M.P., 2015. Neuroinflammation in Alzheimer’s disease. *Lancet Neurol.* 14, 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Heneka, M.T., Kummer, M.P., Stutz, A., Delekate, A., Schwartz, S., Vieira-Saecker, A., Griep, A., Axt, D., Remus, A., Tzeng, T.-C., Gelpi, E., Halle, A., Korte, M., Latz, E., Golenbock, D.T., 2013. NLRP3 is activated in Alzheimer’s disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature* 493, 674–678. <https://doi.org/10.1038/nature11729>
- Heneka, M.T., O’Banion, M.K., 2007. Inflammatory processes in Alzheimer’s disease. *J. Neuroimmunol.* <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.11.017>
- Heneka, M.T., Sastre, M., Dumitrescu-Ozimek, L., Dewachter, I., Walter, J., Klockgether, T., Van Leuven, F., 2005. Focal glial activation coincides with increased BACE1 activation and

- precedes amyloid plaque deposition in APP[V717I] transgenic mice. *J. Neuroinflammation* 2, 22. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-2-22>
- Henjum, K., Almdahl, I.S., Årskog, V., Minthon, L., Hansson, O., Fladby, T., Nilsson, L.N.G., 2016. Cerebrospinal fluid soluble TREM2 in aging and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* 8, 17. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0182-1>
- Heslegrave, A., Heywood, W., Paterson, R., Magdalinou, N., Svensson, J., Johansson, P., Öhrfelt, A., Blennow, K., Hardy, J., Schott, J., Mills, K., Zetterberg, H., 2016. Increased cerebrospinal fluid soluble TREM2 concentration in Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* 11, 3. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0071-x>
- Hickman, S.E., El Khoury, J., 2014. TREM2 and the neuroimmunology of Alzheimer's disease. *Biochem. Pharmacol.* 88, 495–498. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.11.021>
- Higuchi, M., Zhang, B., Forman, M.S., Yoshiyama, Y., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2005. Axonal degeneration induced by targeted expression of mutant human tau in oligodendrocytes of transgenic mice that model glial tauopathies. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 9434–9443. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2691-05.2005>
- Hirokawa, N., Shiomura, Y., Okabe, S., 1988. Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules. *J. Cell Biol.* 107, 1449–1459.
- Holmes, B.B., DeVos, S.L., Kfoury, N., Li, M., Jacks, R., Yanamandra, K., Ouidja, M.O., Brodsky, F.M., Marasa, J., Bagchi, D.P., Kotzbauer, P.T., Miller, T.M., Papy-Garcia, D., Diamond, M.I., 2013. Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, E3138-47. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301440110>
- Hong, M., Zhukareva, V., Vogelsberg-Ragaglia, V., Wszolek, Z., Reed, L., Miller, B.I., Geschwind, D.H., Bird, T.D., McKeel, D., Goate, a, Morris, J.C., Wilhelmsen, K.C., Schellenberg, G.D., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 1998. Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary FTDP-17. *Science* 282, 1914–1917. <https://doi.org/10.1126/science.282.5395.1914>
- Hong, S., Beja-Glasser, V.F., Nfonoyim, B.M., Frouin, A., Li, S., Ramakrishnan, S., Merry, K.M., Shi, Q., Rosenthal, A., Barres, B.A., Lemere, C.A., Selkoe, D.J., Stevens, B., 2016. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science* 352, 712–716. <https://doi.org/10.1126/science.aad8373>
- Horiguchi, T., Uryu, K., Giasson, B.I., Ischiropoulos, H., LightFoot, R., Bellmann, C., Richter-Landsberg, C., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., 2003. Nitration of tau protein is linked to neurodegeneration in tauopathies. *Am. J. Pathol.* 163, 1021–1031. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63462-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63462-1)
- Hsieh, C.L., Koike, M., Spusta, S.C., Niemi, E.C., Yenari, M., Nakamura, M.C., Seaman, W.E., 2009. A role for TREM2 ligands in the phagocytosis of apoptotic neuronal cells by microglia. *J. Neurochem.* 109, 1144–1156. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06042.x>
- Hu, N., Tan, M.-S., Yu, J.-T., Sun, L., Tan, Lin, Wang, Y.-L., Jiang, T., Tan, Lan, 2014. Increased expression of TREM2 in peripheral blood of Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis. JAD* 38, 497–501. <https://doi.org/10.3233/JAD-130854>
- Hundelt, M., Fath, T., Selle, K., Oesterwind, K., Jordan, J., Schultz, C., Götz, J., von Engelhardt, J., Monyer, H., Lewejohann, L., Sachser, N., Bakota, L., Brandt, R., 2011. Altered phosphorylation but no neurodegeneration in a mouse model of tau hyperphosphorylation. *Neurobiol. Aging* 32, 991–1006. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.06.007>
- Hutton, M., Lendon, C.L., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H., Pickering-Brown, S., Chakraverty, S., Isaacs, A., Grover, A., Hackett, J., Adamson, J., Lincoln, S., Dickson, D., Davies, P., Petersen, R.C., Stevens, M., de Graaff, E., Wauters, E., van Baren, J., Hillebrand, M., Joosse, M., Kwon, J.M., Nowotny, P., Che, L.K., Norton, J., Morris, J.C., Reed, L. a, Trojanowski, J., Basun, H., Lannfelt, L., Neystat, M., Fahn, S., Dark, F., Tannenberg, T., Dodd, P.R., Hayward, N., Kwok, J.B., Schofield, P.R., Andreadis, A., Snowden, J., Craufurd, D., Neary, D., Owen, F., Oostra, B. a, Hardy, J., Goate, A., van Swieten, J., Mann, D., Lynch, T., Heutink,

- P., 1998. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393, 702–5. <https://doi.org/10.1038/31508>
- Iba, M., Guo, J.L., Mcbride, J.D., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2013. Synthetic tau fibrils mediate transmission of neurofibrillary tangles in a transgenic mouse model of Alzheimer's-like tauopathy 33, 1024–1037. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2642-12.2013>. Synthetic
- Ikeda, M., Shoji, M., Kawarai, T., Kawarabayashi, T., Matsubara, E., Murakami, T., Sasaki, A., Tomidokoro, Y., Ikarashi, Y., Kuribara, H., Ishiguro, K., Hasegawa, M., Yen, S.H., Chishti, M.A., Harigaya, Y., Abe, K., Okamoto, K., St George-Hyslop, P., Westaway, D., 2005. Accumulation of filamentous tau in the cerebral cortex of human tau R406W transgenic mice. *Am J Pathol* 166, 521–531. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62274-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62274-2)
- Ishihara, T., Hong, M., Zhang, B., Nakagawa, Y., Lee, M.K., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 1999. Age-dependent emergence and progression of a tauopathy in transgenic mice overexpressing the shortest human tau isoform. *Neuron* 24, 751–762. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81127-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81127-7)
- Ishizawa, K., Dickson, D.W., 2001. Microglial activation parallels system degeneration in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60, 647–657. <https://doi.org/PSP and CBD FINAL-Converted #68>
- Ito, D., Imai, Y., Ohsawa, K., Nakajima, K., Fukuuchi, Y., Kohsaka, S., 1998. Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 57, 1–9.
- Ittner, L.M., Fath, T., Ke, Y.D., Bi, M., van Eersel, J., Li, K.M., Gunning, P., Götz, J., 2008. Parkinsonism and impaired axonal transport in a mouse model of frontotemporal dementia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 15997–6002. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808084105>
- Ittner, L.M., Ke, Y.D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., Wölfling, H., Chieng, B.C., Christie, M.J., Napier, I.A., Eckert, A., Staufenbiel, M., Hardeman, E., Götz, J., 2010. Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell* 142, 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.036>
- Janning, D., Igaev, M., Sündermann, F., Brühmann, J., Beutel, O., Heinisch, J.J., Bakota, L., Piehler, J., Junge, W., Brandt, R., 2014. Single-molecule tracking of tau reveals fast kiss-and-hop interaction with microtubules in living neurons. *Mol. Biol. Cell* 25, 3541–3551. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-06-1099>
- Jaturapatporn, D., Isaac, M.G.E.K.N., McCleery, J., Tabet, N., 2012. Aspirin, steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD006378. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006378.pub2>
- Jaworski, T., Dewachter, I., Lechat, B., Croes, S., Termont, A., Demedts, D., Borghgraef, P., Devijver, H., Filipkowski, R.K., Kaczmarek, L., Kügler, S., Van Leuven, F., 2009. AAV-tau mediates pyramidal neurodegeneration by cell-cycle re-entry without neurofibrillary tangle formation in wild-type mice. *PLoS ONE* 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007280>
- Jay, T.R., Hirsch, A.M., Broihier, M.L., Miller, C.M., Neilson, L.E., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Landreth, G.E., 2017. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 37, 637–647. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2110-16.2016>
- Jay, T.R., Miller, C.M., Cheng, P.J., Graham, L.C., Bemiller, S., Broihier, M.L., Xu, G., Margevicius, D., Karlo, J.C., Sousa, G.L., Cotleur, a. C., Butovsky, O., Bekris, L., Staugaitis, S.M., Leverenz, J.B., Pimplikar, S.W., Landreth, G.E., Howell, G.R., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., 2015. TREM2 deficiency eliminates TREM2+ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models. *J. Exp. Med.* 212, 2–10. <https://doi.org/10.1084/jem.20142322>
- Jayapalan, S., Natarajan, J., 2013. The role of CDK5 and GSK3B kinases in hyperphosphorylation of microtubule associated protein tau (MAPT) in Alzheimer's disease. *Bioinformatics* 9, 1023–1030. <https://doi.org/10.6026/97320630091023>

- Jeganathan, S., Von Bergen, M., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 2008. The natively unfolded character of Tau and its aggregation to Alzheimer-like paired helical filaments. *Biochemistry* 47, 10526–10539. <https://doi.org/10.1021/bi800783d>
- Jendresen, C., Årskog, V., Daws, M.R., Nilsson, L.N.G., 2017. The Alzheimer's disease risk factors apolipoprotein E and TREM2 are linked in a receptor signaling pathway. *J. Neuroinflammation* 14, 59. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0835-4>
- Ji, K., Akgul, G., Wollmuth, L.P., Tsirka, S.E., 2013. Microglia Actively Regulate the Number of Functional Synapses. *PLoS ONE* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056293>
- Jiang, T., Tan, L., Zhu, X.-C., Zhang, Q.-Q., Cao, L., Tan, M.-S., Gu, L.-Z., Wang, H.-F., Ding, Z.-Z., Zhang, Y.-D., Yu, J.-T., 2014. Upregulation of TREM2 Ameliorates Neuropathology and Rescues Spatial Cognitive Impairment in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology* 39, 2949–2962. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.164>
- Jiang, T., Tan, L., Zhu, X.C., Zhou, J.S., Cao, L., Tan, M.S., Wang, H.F., Chen, Q., Zhang, Y.D., Yu, J.T., 2015. Silencing of TREM2 exacerbates tau pathology, neurodegenerative changes, and spatial learning deficits in P301S tau transgenic mice. *Neurobiol. Aging* 36, 3176–3186. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.019>
- Jiang, T., Wan, Y., Zhang, Y.-D., Zhou, J.-S., Gao, Q., Zhu, X.-C., Shi, J.-Q., Lu, H., Tan, L., Yu, J.-T., 2017. TREM2 Overexpression has No Improvement on Neuropathology and Cognitive Impairment in Aging APP^{swe}/PS1^{dE9} Mice. *Mol. Neurobiol.* 54, 855–865. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9704-x>
- Jiang, T., Zhang, Y.D., Chen, Q., Gao, Q., Zhu, X.C., Zhou, J.S., Shi, J.Q., Lu, H., Tan, L., Yu, J.T., 2016. TREM2 modifies microglial phenotype and provides neuroprotection in P301S tau transgenic mice. *Neuropharmacology* 105, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.01.028>
- Jonsson, T., Stefansson, H., Steinberg, S., Jonsdottir, I., Jonsson, P. V., Snaedal, J., Bjornsson, S., Huttenlocher, J., Levey, a I., Lah, J.J., Rujescu, D., Hampel, H., Giegling, I., Andreassen, O. a, Engedal, K., Ulstein, I., Djurovic, S., Ibrahim-Verbaas, C., Hofman, a, Ikram, M. a, van Duijn, C.M., Thorsteinsdottir, U., Kong, a, Stefansson, K., 2013. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 368, 107–116. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211103>
- Kametani, F., Hasegawa, M., 2018. Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Front. Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00025>
- Kaneko, M., Sano, K., Nakayama, J., Amano, N., 2010. Nasu-Hakola disease: The first case reported by Nasu and review: The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology. *Neuropathol. Off. J. Jpn. Soc. Neuropathol.* 30, 463–470. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2010.01127.x>
- Kang, S.S., Kurti, A., Baker, K.E., Liu, C.-C., Colonna, M., Ulrich, J.D., Holtzman, D.M., Bu, G., Fryer, J.D., 2018. Behavioral and transcriptomic analysis of Trem2-null mice: not all knockout mice are created equal. *Hum. Mol. Genet.* 27, 211–223. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx366>
- Kao, A.W., Eisenhut, R.J., Martens, L.H., Nakamura, A., Huang, A., Bagley, J.A., Zhou, P., de Luis, A., Neukomm, L.J., Cabello, J., Farese, R.V., Kenyon, C., 2011. A neurodegenerative disease mutation that accelerates the clearance of apoptotic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 4441–4446. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100650108>
- Kaufman, S.K., Del Tredici, K., Thomas, T.L., Braak, H., Diamond, M.I., 2018. Tau seeding activity begins in the transentorhinal/entorhinal regions and anticipates phospho-tau pathology in Alzheimer's disease and PART. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1855-6>
- Keren-Shaul, H., Spinrad, A., Weiner, A., Matcovitch-Natan, O., Dvir-Szternfeld, R., Ulland, T.K., David, E., Baruch, K., Lara-Astaiso, D., Toth, B., Itzkovitz, S., Colonna, M., Schwartz, M., Amit, I., 2017. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell* 169, 1276-1290.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.018>

- Khlistunova, I., Biernat, J., Wang, Y., Pickhardt, M., von Bergen, M., Gazova, Z., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2006. Inducible expression of Tau repeat domain in cell models of tauopathy: aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs. *J. Biol. Chem.* 281, 1205–1214. <https://doi.org/10.1074/jbc.M507753200>
- Kiialainen, A., Hovanes, K., Paloneva, J., Kopra, O., Peltonen, L., 2005. Dap12 and Trem2, molecules involved in innate immunity and neurodegeneration, are co-expressed in the CNS. *Neurobiol. Dis.* 18, 314–322. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2004.09.007>
- Kimura, T., Whitcomb, D.J., Jo, J., Regan, P., Piers, T., Heo, S., Brown, C., Hashikawa, T., Murayama, M., Seok, H., Sotiropoulos, I., Kim, E., Collingridge, G.L., Takashima, A., Cho, K., 2014. Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 369, 20130144. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0144>
- Kimura, T., Yamashita, S., Fukuda, T., Park, J.-M., Murayama, M., Mizoroki, T., Yoshiike, Y., Sahara, N., Takashima, A., 2007. Hyperphosphorylated tau in parahippocampal cortex impairs place learning in aged mice expressing wild-type human tau. *EMBO J.* 26, 5143–5152. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601917>
- Kitazawa, M., Cheng, D., Tsukamoto, M.R., Koike, M.A., Wes, P.D., Vasilevko, V., Cribbs, D.H., LaFerla, F.M., 2011. Blocking IL-1 signaling rescues cognition, attenuates tau pathology, and restores neuronal β -catenin pathway function in an Alzheimer's disease model. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 187, 6539–49. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100620>
- Kitazawa, M., Oddo, S., Yamasaki, T.R., Green, K.N., LaFerla, F.M., 2005. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 25, 8843–8853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2868-05.2005>
- Klein, R.L., Dayton, R.D., Leidenheimer, N.J., Jansen, K., Golde, T.E., Zweig, R.M., 2006. Efficient neuronal gene transfer with AAV8 leads to neurotoxic levels of tau or green fluorescent proteins. *Mol. Ther.* 13, 517–527. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.10.008>
- Klein, R.L., Dayton, R.D., Lin, W.L., Dickson, D.W., 2005. Tau gene transfer, but not alpha-synuclein, induces both progressive dopamine neuron degeneration and rotational behavior in the rat. *Neurobiol. Dis.* 20, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.02.001>
- Klein, R.L., Dayton, R.D., Tatom, J.B., Diaczynsky, C.G., Salvatore, M.F., 2008. Tau expression levels from various adeno-associated virus vector serotypes produce graded neurodegenerative disease states. *Eur. J. Neurosci.* 27, 1615–1625. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06161.x>
- Klein, R.L., Lin, W.-L., Dickson, D.W., Lewis, J., Hutton, M., Duff, K., Meyer, E.M., King, M. a, 2004. Rapid neurofibrillary tangle formation after localized gene transfer of mutated tau. *Am. J. Pathol.* 164, 347–353. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63124-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63124-0)
- Kleinberger, G., Brendel, M., Mracsko, E., Wefers, B., Groeneweg, L., Xiang, X., Focke, C., Deußing, M., Suárez-Calvet, M., Mazaheri, F., Parhizkar, S., Pettkus, N., Wurst, W., Feederle, R., Bartenstein, P., Mueggler, T., Arzberger, T., Knuesel, I., Rominger, A., Haass, C., 2017. The FTD-like syndrome causing TREM2 T66M mutation impairs microglia function, brain perfusion, and glucose metabolism. *EMBO J.* 36, 1837–1853. <https://doi.org/10.15252/embj.201796516>
- Kleinberger, G., Yamanishi, Y., Suarez-Calvet, M., Czirr, E., Lohmann, E., Cuyvers, E., Struyfs, H., Pettkus, N., Wenninger-Weinzierl, A., Mazaheri, F., Tahirovic, S., Lleo, A., Alcolea, D., Fortea, J., Willem, M., Lammich, S., Molinuevo, J.L., Sanchez-Valle, R., Antonell, A., Ramirez, A., Heneka, M.T., Slegers, K., van der Zee, J., Martin, J.-J., Engelborghs, S., Demirtas-Tatlidede, A., Zetterberg, H., Van Broeckhoven, C., Gurvit, H., Wyss-Coray, T., Hardy, J., Colonna, M., Haass, C., 2014. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Sci. Transl. Med.* 6, 243ra86–243ra86. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009093>

- Kober, D.L., Alexander-Brett, J.M., Karch, C.M., Cruchaga, C., Colonna, M., Holtzman, M.J., Brett, T.J., 2016. Neurodegenerative disease mutations in TREM2 reveal a functional surface and distinct loss-of-function mechanisms. *eLife* 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.20391>
- Köpke, E., Tung, Y.C., Shaikh, S., Alonso, A.D.C., Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I., 1993. Microtubule-associated protein tau: Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* 268, 24374–24384. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.11.056>
- Korhonen, P., van Groen, T., Thornell, A., Kyrlylenko, S., Soininen, M.L., Ojala, J., Peltomaa, E., Tanila, H., Salminen, A., Mandelkow, E.M., Soininen, H., 2011. Characterization of a novel transgenic rat carrying human tau with mutation P301L. *Neurobiol. Aging* 32, 2314–2315. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.12.022>
- Koronyo, Y., Salumbides, B.C., Sheyn, J., Pelissier, L., Li, S., Ljubimov, V., Moyseyev, M., Daley, D., Fuchs, D.-T., Pham, M., Black, K.L., Rentsendorj, A., Koronyo-Hamaoui, M., 2015. Therapeutic effects of glatiramer acetate and grafted CD115⁺ monocytes in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain J. Neurol.* 138, 2399–2422. <https://doi.org/10.1093/brain/awv150>
- Koth, L.L., Cambier, C.J., Ellwanger, A., Solon, M., Hou, L., Lanier, L.L., Abram, C.L., Hamerman, J.A., Woodruff, P.G., 2010. DAP12 is required for macrophage recruitment to the lung in response to cigarette smoke and chemotaxis toward CCL2. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 184, 6522–6528. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901171>
- Krasemann, S., Madore, C., Cialic, R., Baufeld, C., Calcagno, N., El Fatimy, R., Beckers, L., O'Loughlin, E., Xu, Y., Fanek, Z., Greco, D.J., Smith, S.T., Tweet, G., Humulock, Z., Zrzavy, T., Conde-Sanroman, P., Gacias, M., Weng, Z., Chen, H., Tjon, E., Mazaheri, F., Hartmann, K., Madi, A., Ulrich, J.D., Glatzel, M., Worthmann, A., Heeren, J., Budnik, B., Lemere, C., Ikezu, T., Heppner, F.L., Litvak, V., Holtzman, D.M., Lassmann, H., Weiner, H.L., Ochando, J., Haass, C., Butovsky, O., 2017. The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Immunity* 47, 566–581.e9. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.08.008>
- Krstic, D., Madhusudan, A., Doehner, J., Vogel, P., Notter, T., Imhof, C., Manalastas, A., Hilfiker, M., Pfister, S., Schwerdel, C., Riether, C., Meyer, U., Knuesel, I., 2012. Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice. *J. Neuroinflammation* 9, 151. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-151>
- Kuchibhotla, K.V., Wegmann, S., Kopeikina, K.J., Hawkes, J., Rudinskiy, N., Andermann, M.L., Spires-Jones, T.L., Bacskai, B.J., Hyman, B.T., 2014. Neurofibrillary tangle-bearing neurons are functionally integrated in cortical circuits in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 510–514. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318807111>
- Lambourne, S.L., Humby, T., Isles, A.R., Emson, P.C., Spillantini, M.G., Wilkinson, L.S., 2007. Impairments in impulse control in mice transgenic for the human FTDP-17 tauV337M mutation are exacerbated by age. *Hum. Mol. Genet.* 16, 1708–1719. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm119>
- Lambourne, S.L., Sellers, L.A., Bush, T.G., Choudhury, S.K., Emson, P.C., Suh, Y.-H., Wilkinson, L.S., 2005. Increased tau phosphorylation on mitogen-activated protein kinase consensus sites and cognitive decline in transgenic models for Alzheimer's disease and FTDP-17: evidence for distinct molecular processes underlying tau abnormalities. *Mol. Cell. Biol.* 25, 278–93. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.1.278-293.2005>
- LaPointe, N.E., Morfini, G., Pigino, G., Gaisina, I.N., Kozikowski, A.P., Binder, L.I., Brady, S.T., 2009. The amino terminus of tau inhibits kinesin-dependent axonal transport: Implications for filament toxicity. *J. Neurosci. Res.* 87, 440–451. <https://doi.org/10.1002/jnr.21850>
- Lasagna-Reeves, C. a, Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Clos, A.L., Jackson, G.R., Kaye, R., 2011a. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Mol. Neurodegener.* 6, 39. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-39>

- Lasagna-Reeves, C. a, Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Clos, A.L., Jackson, G.R., Kaye, R., 2011b. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Mol. Neurodegener.* 6, 39. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-39>
- Lasagna-Reeves, C. a., Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Sarmiento, J., Troncoso, J., Jackson, G.R., Kaye, R., 2012. Identification of oligomers at early stages of tau aggregation in Alzheimer's disease. *FASEB J.* 26, 1946–1959. <https://doi.org/10.1096/fj.11-199851>
- Lasagna-Reeves, C.A., Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Guerrero-Munoz, M.J., Kiritoshi, T., Neugebauer, V., Jackson, G.R., Kaye, R., 2012. Alzheimer brain-derived tau oligomers propagate pathology from endogenous tau. *Sci. Rep.* 2, 700. <https://doi.org/10.1038/srep00700>
- Laurent, C., Buée, L., Blum, D., 2018. Tau and neuroinflammation: What impact for Alzheimer's Disease and Tauopathies? *Biomed. J.* 41, 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.01.003>
- Laurent, C., Dorothée, G., Hunot, S., Martin, E., Monnet, Y., Duchamp, M., Dong, Y., Légeron, F.-P., Leboucher, A., Burnouf, S., Faivre, E., Carvalho, K., Caillierez, R., Zommer, N., Demeyer, D., Jouy, N., Szadovitch, V., Schraen-Maschke, S., Delarasse, C., Buée, L., Blum, D., 2017. Hippocampal T cell infiltration promotes neuroinflammation and cognitive decline in a mouse model of tauopathy. *Brain J. Neurol.* 140, 184–200. <https://doi.org/10.1093/brain/aww270>
- Lawson, L.J., Perry, V.H., Dri, P., Gordon, S., 1990. Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 39, 151–170. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90229-W](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90229-W)
- Ledesma, M.D., Bonay, P., Colaço, C., Avila, J., 1994. Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments. *J. Biol. Chem.* 269, 21614–21619.
- Lee, C.Y.D., Daggett, A., Gu, X., Jiang, L.-L., Langfelder, P., Li, X., Wang, N., Zhao, Y., Park, C.S., Cooper, Y., Ferando, I., Mody, I., Coppola, G., Xu, H., Yang, X.W., 2018. Elevated TREM2 Gene Dosage Reprograms Microglia Responsivity and Ameliorates Pathological Phenotypes in Alzheimer's Disease Models. *Neuron* 97, 1032-1048.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.02.002>
- Lee, D.C., Rizer, J., Selenica, M.-L.B., Reid, P., Kraft, C., Johnson, A., Blair, L., Gordon, M.N., Dickey, C.A., Morgan, D., 2010. LPS- induced inflammation exacerbates phospho-tau pathology in rTg4510 mice. *J. Neuroinflammation* 7, 56. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-56>
- Leroy, K., Bretteville, A., Schindowski, K., Gilissen, E., Authélet, M., De Decker, R., Yilmaz, Z., Buée, L., Brion, J.-P., 2007. Early axonopathy preceding neurofibrillary tangles in mutant tau transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 171, 976–992. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.070345>
- Lewis, J., Dickson, D.W., Lin, W.L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G., Yen, S.H., Sahara, N., Skipper, L., Yager, D., Eckman, C., Hardy, J., Hutton, M., McGowan, E., Glenner, G.G., Wong, C.W., Masters, C.L., Wischik, C.M., Hardy, J., Allsop, D., Selkoe, D., Roses, A.D., Goate, A., Sherrington, R., Levy-Lahad, E., Scheuner, D., Borchelt, D.R., Citron, M., Mehta, N.D., Games, D., Hsiao, K., Duff, K., Borchelt, D.R., Holcomb, L., Lewis, J., Hutton, M., Lewis, J., Mullan, M., Lannfelt, L., Jicha, G.A., Bowser, R., Kazam, I.G., Davies, P., Jicha, G.A., Mikol, J., Brion, S., Guicharnaud, L., Waks, O., Callahan, M.J., Jorm, A.F., Korten, A.E., Henderson, A.S., Rocca, W.A., Gravina, S.A., Haugabook, S.J., Greenberg, S.G., Davies, P., Dickson, D.W., Vincent, I., Zheng, J.H., Dickson, D.W., Kress, Y., Davies, P., Hardy, J., Duff, K., Gwinn-Hardy, K., Perez-Tur, J., Hutton, M., Götz, J., Chen, F., Dorpe, J. van, Nitsch, R.M., 2001. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 293, 1487–91. <https://doi.org/10.1126/science.1058189>
- Lewis, J., McGowan, E., Rockwood, J., Melrose, H., Nacharaju, P., Van Slegtenhorst, M., Gwinn-Hardy, K., Paul Murphy, M., Baker, M., Yu, X., Duff, K., Hardy, J., Corral, A., Lin, W.L., Yen, S.H., Dickson, D.W., Davies, P., Hutton, M., 2000. Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301L) tau protein. *Nat. Genet.* 25, 402–405. <https://doi.org/10.1038/79109>
- Leyns, C.E.G., Ulrich, J.D., Finn, M.B., Stewart, F.R., Koscal, L.J., Remolina Serrano, J., Robinson, G.O., Anderson, E., Colonna, M., Holtzman, D.M., 2017. TREM2 deficiency attenuates

- neuroinflammation and protects against neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, 11524–11529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1710311114>
- Li, Y., Liu, L., Barger, S.W., Griffin, W.S.T., 2003. Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 1605–11. <https://doi.org/23/5/1605> [pii]
- Liddelow, S.A., Barres, B.A., 2017. Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity* 46, 957–967. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>
- Liddelow, S.A., Guttenplan, K.A., Clarke, L.E., Bennett, F.C., Bohlen, C.J., Schirmer, L., Bennett, M.L., Münch, A.E., Chung, W.-S., Peterson, T.C., Wilton, D.K., Frouin, A., Napier, B.A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M.S., Rowitch, D.H., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Stevens, B., Barres, B.A., 2017. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541, 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Lill, C.M., Rengmark, A., Pihlstrøm, L., Fogh, I., Shatunov, A., Sleiman, P.M., Wang, L.-S., Liu, T., Lassen, C.F., Meissner, E., Alexopoulos, P., Calvo, A., Chio, A., Dizdar, N., Faltraco, F., Forsgren, L., Kirchheiner, J., Kurz, A., Larsen, J.P., Liebsch, M., Linder, J., Morrison, K.E., Nissbrandt, H., Otto, M., Pahnke, J., Partch, A., Restagno, G., Rujescu, D., Schnack, C., Shaw, C.E., Shaw, P.J., Tumani, H., Tysnes, O.-B., Valladares, O., Silani, V., van den Berg, L.H., van Rheenen, W., Veldink, J.H., Lindenberger, U., Steinhagen-Thiessen, E., Teipel, S., Pernecky, R., Hakonarson, H., Hampel, H., von Arnim, C.A.F., Olsen, J.H., Van Deerlin, V.M., Al-Chalabi, A., Toft, M., Ritz, B., Bertram, L., 2015. The role of TREM2 R47H as a risk factor for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, amyotrophic lateral sclerosis, and Parkinson's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 11, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.12.009>
- Lim, F., Hernández, F., Lucas, J.J., Gómez-Ramos, P., Morán, M. a, Avila, J., 2001. FTDP-17 mutations in tau transgenic mice provoke lysosomal abnormalities and Tau filaments in forebrain. *Mol. Cell. Neurosci.* 18, 702–714. <https://doi.org/10.1006/mcne.2001.1051>
- Linnartz-Gerlach, B., Bodea, L.-G., Klaus, C., Ginolhac, A., Halder, R., Sinkkonen, L., Walter, J., Colonna, M., Neumann, H., 2019. TREM2 triggers microglial density and age-related neuronal loss. *Glia* 67, 539–550. <https://doi.org/10.1002/glia.23563>
- Liu, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Gong, C.-X., 2005. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur. J. Neurosci.* 22, 1942–1950. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04391.x>
- Liu, G., Liu, Y., Jiang, Q., Jiang, Y., Feng, R., Zhang, L., Chen, Z., Li, K., Liu, J., 2016. Convergent Genetic and Expression Datasets Highlight TREM2 in Parkinson's Disease Susceptibility. *Mol. Neurobiol.* 53, 4931–4938. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9416-7>
- Liu, L., Drouet, V., Wu, J.W., Witter, M.P., Small, S.A., Clelland, C., Duff, K., 2012. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo. *PLoS ONE* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031302>
- LoPresti, P., Szuchet, S., Papasozomenos, S.C., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., LoPresti, P., Szuchet, S., Papasozomenos, S.C., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., 1995. Functional implications for the microtubule-associated protein tau: localization in oligodendrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 10369–73. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.22.10369>
- Lue, L.-F., Schmitz, C.T., Serrano, G., Sue, L.I., Beach, T.G., Walker, D.G., 2015. TREM2 Protein Expression Changes Correlate with Alzheimer's Disease Neurodegenerative Pathologies in Post-Mortem Temporal Cortices. *Brain Pathol. Zurich Switz.* 25, 469–480. <https://doi.org/10.1111/bpa.12190>
- Lueg, G., Gross, C.C., Lohmann, H., Johnen, A., Kemmling, A., Deppe, M., Groger, J., Minnerup, J., Wiendl, H., Meuth, S.G., Duning, T., 2015. Clinical relevance of specific T-cell activation in the blood and cerebrospinal fluid of patients with mild Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 36, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.08.008>
- Lull, M.E., Block, M.L., 2010. Microglial Activation and Chronic Neurodegeneration. *Neurotherapeutics* 7, 354–365. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.014>

- Luo, W., Liu, W., Hu, X., Hanna, M., Caravaca, A., Paul, S.M., 2015. Microglial internalization and degradation of pathological tau is enhanced by an anti-tau monoclonal antibody. *Sci. Rep.* 5, 11161. <https://doi.org/10.1038/srep11161>
- Ma, L., Allen, M., Sakae, N., Ertekin-Taner, N., Graff-Radford, N.R., Dickson, D.W., Younkin, S.G., Sevlever, D., 2016. Expression and processing analyses of wild type and p.R47H TREM2 variant in Alzheimer's disease brains. *Mol. Neurodegener.* 11, 72. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0137-9>
- Maas, T., Eidenmüller, J., Brandt, R., 2000. Interaction of tau with the neural membrane cortex is regulated by phosphorylation at sites that are modified in paired helical filaments. *J. Biol. Chem.* 275, 15733–15740. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000389200>
- Majerova, P., Zilkova, M., Kazmerova, Z., Kovac, A., Paholikova, K., Kovacech, B., Zilka, N., Novak, M., 2014. Microglia display modest phagocytic capacity for extracellular tau oligomers. *J. Neuroinflammation* 11, 161. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0161-z>
- Mak, K.S., Funnell, A.P.W., Pearson, R.C.M., Crossley, M., 2011. PU.1 and Haematopoietic Cell Fate: Dosage Matters. *Int. J. Cell Biol.* 2011, 808524. <https://doi.org/10.1155/2011/808524>
- Malik, M., Parikh, I., Vasquez, J.B., Smith, C., Tai, L., Bu, G., LaDu, M.J., Fardo, D.W., Rebeck, G.W., Estus, S., 2015. Genetics ignite focus on microglial inflammation in Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* 10, 52. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0048-1>
- Malm, T., Koistinaho, M., Muona, A., Magga, J., Koistinaho, J., 2010. The role and therapeutic potential of monocytic cells in Alzheimer's disease. *Glia* 58, 889–900. <https://doi.org/10.1002/glia.20973>
- Mandelkow, E.M., Drewes, G., Biernat, J., Gustke, N., Van Lint, J., Vandenheede, J.R., Mandelkow, E., 1992. Glycogen synthase kinase-3 and the Alzheimer-like state of microtubule-associated protein tau. *FEBS Lett.* 314, 315–321. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)81496-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)81496-9)
- Mandrekar, S., Jiang, Q., Lee, C.Y., Koenigsnecht-Talboo, J., Holtzman, D.M., Landreth, G.E., 2009. Microglia mediate the clearance of soluble Abeta through fluid phase macropinocytosis. *J Neurosci* 29, 4252–4262. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5572-08.2009>
- Mangialasche, F., Solomon, A., Winblad, B., Mecocci, P., Kivipelto, M., 2010. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol.* [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70119-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70119-8)
- Mansuroglu, Z., Benhelli-Mokrani, H., Marcato, V., Sultan, A., Violet, M., Chauderlier, A., Delattre, L., Loyens, A., Talahari, S., Bégard, S., Nessler, F., Colin, M., Souès, S., Lefebvre, B., Buée, L., Galas, M.-C., Bonnefoy, E., 2016. Loss of Tau protein affects the structure, transcription and repair of neuronal pericentromeric heterochromatin. *Sci. Rep.* 6, 33047. <https://doi.org/10.1038/srep33047>
- Maphis, N., Xu, G., Kokiko-Cochran, O.N., Jiang, S., Cardona, A., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Bhaskar, K., 2015. Reactive microglia drive tau pathology and contribute to the spreading of pathological tau in the brain. *Brain* 138, 1738–1755. <https://doi.org/10.1093/brain/awv081>
- Marsh, S.E., Abud, E.M., Lakatos, A., Karimzadeh, A., Yeung, S.T., Davtyan, H., Fote, G.M., Lau, L., Weinger, J.G., Lane, T.E., Inlay, M.A., Poon, W.W., Blurton-Jones, M., 2016. The adaptive immune system restrains Alzheimer's disease pathogenesis by modulating microglial function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E1316-1325. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525466113>
- Martin, L., Latypova, X., Terro, F., 2011. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 58, 458–471. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.023>
- Martinez, F.O., Gordon, S., 2014. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000prime Rep.* 6, 13. <https://doi.org/10.12703/P6-13>
- Matarin, M., Salih, D.A., Yasvoina, M., Cummings, D.M., Guelfi, S., Liu, W., NahabooSolim, M.A., Moens, T.G., Paublete, R.M., Ali, S.S., Perona, M., Desai, R., Smith, K.J., Latcham, J., Fulleylove, M., Richardson, J.C., Hardy, J., Edwards, F.A., 2015. A Genome-wide gene-

- expression analysis and database in transgenic mice during development of amyloid or tau pathology. *Cell Rep.* 10, 633–645. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.12.041>
- Mazaheri, F., Snaidero, N., Kleinberger, G., Madore, C., Daria, A., Werner, G., Krasemann, S., Capell, A., Trümbach, D., Wurst, W., Brunner, B., Bultmann, S., Tahirovic, S., Kerschensteiner, M., Misgeld, T., Butovsky, O., Haass, C., 2017. TREM2 deficiency impairs chemotaxis and microglial responses to neuronal injury. *EMBO Rep.* 18, 1186–1198. <https://doi.org/10.15252/embr.201743922>
- McGeer, P.L., McGeer, E., Rogers, J., Sibley, J., 1990. Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet Lond. Engl.* 335, 1037.
- McManus, R.M., Heneka, M.T., 2017. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alzheimers Res. Ther.* 9, 14. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0241-2>
- McMillan, P., Korvatska, E., Poorkaj, P., Evstafjeva, Z., Robinson, L., Greenup, L., Leverenz, J., Schellenberg, G.D., D'Souza, I., 2008. Tau isoform regulation is region- and cell-specific in mouse brain. *J. Comp. Neurol.* 511, 788–803. <https://doi.org/10.1002/cne.21867>
- McQuade, A., Coburn, M., Tu, C.H., Hasselmann, J., Davtyan, H., Blurton-Jones, M., 2018. Development and validation of a simplified method to generate human microglia from pluripotent stem cells. *Mol. Neurodegener.* 13, 67. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0297-x>
- Medeiros, R., LaFerla, F.M., 2013. Astrocytes: Conductors of the Alzheimer disease neuroinflammatory symphony. *Exp. Neurol.* <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.10.007>
- Mengel, D., Thelen, M., Balzer-Geldsetzer, M., Söling, C., Bach, J.-P., Schaeffer, E., Herold, C., Becker, T., Liepelt, I., Becker, J., Riedel-Heller, S., Scherer, M., Jessen, F., Maier, W., Dodel, R., Ramirez, A., 2016. TREM2 rare variant p.R47H is not associated with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 23, 109–111. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.11.026>
- Miguel-Álvarez, M., Santos-Lozano, A., Sanchis-Gomar, F., Fiuza-Luces, C., Pareja-Galeano, H., Garatachea, N., Lucia, A., 2015. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a treatment for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of treatment effect. *Drugs Aging* 32, 139–147. <https://doi.org/10.1007/s40266-015-0239-z>
- Mildner, A., Schlevogt, B., Kierdorf, K., Böttcher, C., Erny, D., Kummer, M.P., Quinn, M., Brück, W., Bechmann, I., Heneka, M.T., Priller, J., Prinz, M., 2011. Distinct and non-redundant roles of microglia and myeloid subsets in mouse models of Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 11159–11171. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6209-10.2011>
- Min, S.W., Cho, S.H., Zhou, Y., Schroeder, S., Haroutunian, V., Seeley, W.W., Huang, E.J., Shen, Y., Masliah, E., Mukherjee, C., Meyers, D., Cole, P.A., Ott, M., Gan, L., 2010. Acetylation of tau inhibits its degradation and contributes to tauopathy. *Neuron* 67, 953–966. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.044>
- Mittelbronn, M., Dietz, K., Schluesener, H.J., Meyermann, R., 2001. Local distribution of microglia in the normal adult human central nervous system differs by up to one order of magnitude. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 101, 249–255.
- Morfini, G., Pigino, G., Mizuno, N., Kikkawa, M., Brady, S.T., 2007. Tau binding to microtubules does not directly affect microtubule-based vesicle motility. *J. Neurosci. Res.* 85, 2620–2630. <https://doi.org/10.1002/jnr.21154>
- Mori, H., Kondo, J., Ihara, Y., 1987. Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 235, 1641–1644. <https://doi.org/10.1126/science.3029875>
- Morsch, R., Simon, W., Coleman, P.D., 1999. Neurons may live for decades with neurofibrillary tangles. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 58, 188–197.
- Mufson, E.J., Ward, S., Binder, L., 2014. Prefibrillar tau oligomers in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurodegener. Dis.* 13, 151–153. <https://doi.org/10.1159/000353687>
- Mullane, K., Williams, M., 2013. Alzheimer's therapeutics: Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis - But what lies beyond? *Biochem. Pharmacol.* 85, 289–305. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.11.014>

- Murray, P.J., Allen, J.E., Biswas, S.K., Fisher, E.A., Gilroy, D.W., Goerdt, S., Gordon, S., Hamilton, J.A., Ivashkiv, L.B., Lawrence, T., Locati, M., Mantovani, A., Martinez, F.O., Mege, J.-L., Mosser, D.M., Natoli, G., Saeij, J.P., Schultze, J.L., Shirey, K.A., Sica, A., Suttles, J., Udalova, I., van Ginderachter, J.A., Vogel, S.N., Wynn, T.A., 2014. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* 41, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>
- Naert, G., Rivest, S., 2011. CC chemokine receptor 2 deficiency aggravates cognitive impairments and amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 6208–6220. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0299-11.2011>
- Nash, K.R., Lee, D.C., Hunt, J.B., Morganti, J.M., Selenica, M.-L., Moran, P., Reid, P., Brownlow, M., Guang-Yu Yang, C., Savalia, M., Gemma, C., Bickford, P.C., Gordon, M.N., Morgan, D., 2013. Fractalkine overexpression suppresses tau pathology in a mouse model of tauopathy. *Neurobiol. Aging* 34, 1540–1548. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.12.011>
- N'Diaye, E.-N., Branda, C.S., Branda, S.S., Nevarez, L., Colonna, M., Lowell, C., Hamerman, J.A., Seaman, W.E., 2009. TREM-2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2) is a phagocytic receptor for bacteria. *J. Cell Biol.* 184, 215–223. <https://doi.org/10.1083/jcb.200808080>
- Neve, R.L., Harris, P., Kosik, K.S., Kurnit, D.M., Donlon, T.A., 1986. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Mol. Brain Res.* 1, 271–280. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(86\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0169-328X(86)90033-1)
- Neves, G., Cooke, S.F., Bliss, T.V.P., 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 65–75. <https://doi.org/10.1038/nrn2303>
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., Helmchen, F., 2005. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Neuroforum* 11, 95–96. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
- Noble, W., Garwood, C., Stephenson, J., Kinsey, A.M., Hanger, D.P., Anderton, B.H., 2009. Minocycline reduces the development of abnormal tau species in models of Alzheimer's disease. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 23, 739–750. <https://doi.org/10.1096/fj.08-113795>
- Noble, W., Planel, E., Zehr, C., Olm, V., Meyerson, J., Suleman, F., Gaynor, K., Wang, L., LaFrancois, J., Feinstein, B., Burns, M., Krishnamurthy, P., Wen, Y., Bhat, R., Lewis, J., Dickson, D., Duff, K., 2005. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 6990–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500466102>
- Oddo, S., Caccamo, A., Shepherd, J.D., Murphy, M.P., Golde, T.E., Kaye, R., Metherate, R., Mattson, M.P., Akbari, Y., LaFerla, F.M., 2003. Triple-transgenic model of Alzheimer's Disease with plaques and tangles: Intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron* 39, 409–421. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00434-3)
- Olabarria, M., Noristani, H.N., Verkhratsky, A., Rodríguez, J.J., 2010. Concomitant astroglial atrophy and astrogliosis in a triple transgenic animal model of Alzheimer's disease. *GLIA* 58, 831–838. <https://doi.org/10.1002/glia.20967>
- Osinde, M., Clavaguera, F., May-Nass, R., Tolnay, M., Dev, K.K., 2008. Lentivirus Tau (P301S) expression in adult amyloid precursor protein (APP)-transgenic mice leads to tangle formation. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 34, 523–531. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2008.00936.x>
- Otero, K., Turnbull, I.R., Poliani, P.L., Vermi, W., Cerutti, E., Aoshi, T., Tassi, I., Takai, T., Stanley, S.L., Miller, M., Shaw, A.S., Colonna, M., 2009. Macrophage colony-stimulating factor induces the proliferation and survival of macrophages via a pathway involving DAP12 and beta-catenin. *Nat. Immunol.* 10, 734–743. <https://doi.org/10.1038/ni.1744>

- Oveisgharan, S., Arvanitakis, Z., Yu, L., Farfel, J., Schneider, J.A., Bennett, D.A., 2018. Sex differences in Alzheimer's disease and common neuropathologies of aging. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 136, 887–900. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1920-1>
- Paloneva, J., Mandelin, J., Kiialainen, A., Bohling, T., Prudlo, J., Hakola, P., Haltia, M., Konttinen, Y.T., Peltonen, L., 2003. DAP12/TREM2 deficiency results in impaired osteoclast differentiation and osteoporotic features. *J. Exp. Med.* 198, 669–675. <https://doi.org/10.1084/jem.20030027>
- Paloneva, J., Manninen, T., Christman, G., Hovanes, K., Mandelin, J., Adolfsson, R., Bianchin, M., Bird, T., Miranda, R., Salmaggi, A., Tranebjærg, L., Konttinen, Y., Peltonen, L., 2002. Mutations in Two Genes Encoding Different Subunits of a Receptor Signaling Complex Result in an Identical Disease Phenotype, *The American Journal of Human Genetics.* <https://doi.org/10.1086/342259>
- Paolicelli, R.C., Bisht, K., Tremblay, M.-È., 2014. Fractalkine regulation of microglial physiology and consequences on the brain and behavior. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 129. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00129>
- Papasozomenos, S.C., Binder, L.I., 1987. Phosphorylation determines two distinct species of Tau in the central nervous system. *Cell Motil. Cytoskeleton* 8, 210–226. <https://doi.org/10.1002/cm.970080303>
- Paradowska-Gorycka, A., Jurkowska, M., 2013. Structure, expression pattern and biological activity of molecular complex TREM-2/DAP12. *Hum. Immunol.* 74, 730–737. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.02.003>
- Park, J.-S., Ji, I.J., An, H.J., Kang, M.-J., Kang, S.-W., Kim, D.-H., Yoon, S.-Y., 2015. Disease-Associated Mutations of TREM2 Alter the Processing of N-Linked Oligosaccharides in the Golgi Apparatus. *Traffic Cph. Den.* 16, 510–518. <https://doi.org/10.1111/tra.12264>
- Peeraer, E., Bottelbergs, A., Van Kolen, K., Stancu, I.-C., Vasconcelos, B., Mahieu, M., Duytschaever, H., Ver Donck, L., Torremans, A., Sluydts, E., Van Acker, N., Kemp, J.A., Mercken, M., Brunden, K.R., Trojanowski, J.Q., Dewachter, I., Lee, V.M.Y., Moechars, D., 2015. Intracerebral injection of preformed synthetic tau fibrils initiates widespread tauopathy and neuronal loss in the brains of tau transgenic mice. *Neurobiol. Dis.* 73, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.032>
- Perez, M., Moran, M.A., Ferrer, I., Avila, J., Gomez-Ramos, P., 2008. Phosphorylated tau in neuritic plaques of APP(sw)/Tau (vlw) transgenic mice and Alzheimer disease. *Acta Neuropathol* 116, 409–418. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0420-0>
- Perez-Nievas, B.G., Stein, T.D., Tai, H.C., Dols-Icardo, O., Scotton, T.C., Barroeta-Espar, I., Fernandez-Carballo, L., De Munain, E.L., Perez, J., Marquie, M., Serrano-Pozo, A., Frosch, M.P., Lowe, V., Parisi, J.E., Petersen, R.C., Ikonovic, M.D., López, O.L., Klunk, W., Hyman, B.T., Gómez-Isla, T., 2013. Dissecting phenotypic traits linked to human resilience to Alzheimer's pathology. *Brain* 136, 2510–2526. <https://doi.org/10.1093/brain/awt171>
- Piccio, L., Buonsanti, C., Cella, M., Tassi, I., Schmidt, R.E., Fenoglio, C., Rinker, J., Naismith, R.T., Panina-Bordignon, P., Passini, N., Galimberti, D., Scarpini, E., Colonna, M., Cross, A.H., 2008. Identification of soluble TREM-2 in the cerebrospinal fluid and its association with multiple sclerosis and CNS inflammation. *Brain J. Neurol.* 131, 3081–3091. <https://doi.org/10.1093/brain/awn217>
- Ploia, C., Antoniou, X., Sclip, A., Grande, V., Cardinetti, D., Colombo, A., Canu, N., Benussi, L., Ghidoni, R., Forloni, G., Borsello, T., 2011. JNK plays a key role in tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease models. *J. Alzheimers Dis. JAD* 26, 315–329. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110320>
- Pooler, A.M., Usardi, A., Evans, C.J., Philpott, K.L., Noble, W., Hanger, D.P., 2012. Dynamic association of tau with neuronal membranes is regulated by phosphorylation. *Neurobiol. Aging* 33. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.01.005>
- Prinz, M., Mildner, A., 2011. Microglia in the CNS: immigrants from another world. *Glia* 59, 177–187. <https://doi.org/10.1002/glia.21104>

- Probst, a, Götz, J., Wiederhold, K.H., Tolnay, M., Mistl, C., Jaton, a L., Hong, M., Ishihara, T., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., Jakes, R., Crowther, R. a, Spillantini, M.G., Bürki, K., Goedert, M., 2000. Axonopathy and amyotrophy in mice transgenic for human four-repeat tau protein. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 99, 469–81. <https://doi.org/10.1007/s004010051148>
- Prokop, S., Miller, K.R., Drost, N., Handrick, S., Mathur, V., Luo, J., Wegner, A., Wyss-Coray, T., Heppner, F.L., 2015. Impact of peripheral myeloid cells on amyloid- β pathology in Alzheimer's disease-like mice. *J. Exp. Med.* 212, 1811–1818. <https://doi.org/10.1084/jem.20150479>
- Puighermanal, E., Marsicano, G., Busquets-Garcia, A., Lutz, B., Maldonado, R., Ozaita, A., 2009. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat. Neurosci.* 12, 1152–1158. <https://doi.org/10.1038/nn.2369>
- Qi, H., Prabakaran, S., Cantrelle, F.-X., Chambraud, B., Gunawardena, J., Lippens, G., Landrieu, I., 2016. Characterization of Neuronal Tau Protein as a Target of Extracellular Signal-regulated Kinase. *J. Biol. Chem.* 291, 7742–7753. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.700914>
- Ramirez, J.J., Poulton, W.E., Knelson, E., Barton, C., King, M.A., Klein, R.L., 2011. Focal expression of mutated tau in entorhinal cortex neurons of rats impairs spatial working memory. *Behav. Brain Res.* 216, 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.08.013>
- Ransohoff, R.M., 2016. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? *Nat. Neurosci.* 19, 987–991. <https://doi.org/10.1038/nn.4338>
- Rapoport, M., Dawson, H.N., Binder, L.I., Vitek, M.P., Ferreira, A., 2002. Tau is essential to beta - amyloid-induced neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 6364–6369. <https://doi.org/10.1073/pnas.092136199>
- Rayaprolu, S., Mullen, B., Baker, M., Lynch, T., Finger, E., Seeley, W.W., Hatanpaa, K.J., Lomen-Hoerth, C., Kertesz, A., Bigio, E.H., Lippa, C., Josephs, K.A., Knopman, D.S., White, C.L., Caselli, R., Mackenzie, I.R., Miller, B.L., Boczarska-Jedynak, M., Opala, G., Krygowska-Wajs, A., Barcikowska, M., Younkin, S.G., Petersen, R.C., Ertekin-Taner, N., Uitti, R.J., Meschia, J.F., Boylan, K.B., Boeve, B.F., Graff-Radford, N.R., Wszolek, Z.K., Dickson, D.W., Rademakers, R., Ross, O.A., 2013. TREM2 in neurodegeneration: evidence for association of the p.R47H variant with frontotemporal dementia and Parkinson's disease. *Mol. Neurodegener.* 8, 19. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-19>
- Redaelli, V., Salsano, E., Colleoni, L., Corbetta, P., Tringali, G., Del Sole, A., Giaccone, G., Rossi, G., 2018. Frontotemporal Dementia and Chorea Associated with a Compound Heterozygous TREM2 Mutation. *J. Alzheimers Dis. JAD* 63, 195–201. <https://doi.org/10.3233/JAD-180018>
- Roberson, E.D., Scarce-Levie, K., Palop, J.J., Yan, F., Cheng, I.H., Wu, T., Gerstein, H., Yu, G.-Q., Mucke, L., 2007. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science* 316, 750–754. <https://doi.org/10.1126/science.1141736>
- Robin, L.M., Oliveira da Cruz, J.F., Langlais, V.C., Martin-Fernandez, M., Metna-Laurent, M., Busquets-Garcia, A., Bellocchio, L., Soria-Gomez, E., Papouin, T., Varilh, M., Sherwood, M.W., Belluomo, I., Balcells, G., Matias, I., Bosier, B., Drago, F., Van Eeckhaut, A., Smolders, I., Georges, F., Araque, A., Panatier, A., Oliet, S.H.R., Marsicano, G., 2018. Astroglial CB1 Receptors Determine Synaptic D-Serine Availability to Enable Recognition Memory. *Neuron* 98, 935–944.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.04.034>
- Rogers, J., Lubner-Narod, J., Styren, S.D., Civin, W.H., 1988. Expression of immune system-associated antigens by cells of the human central nervous system: relationship to the pathology of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 9, 339–349.
- Rosenmann, H., Grigoriadis, N., Eldar-Levy, H., Avital, A., Rozenstein, L., Touloumi, O., Behar, L., Ben-Hur, T., Avraham, Y., Berry, E., Segal, M., Ginzburg, I., Abramsky, O., 2008. A novel transgenic mouse expressing double mutant tau driven by its natural promoter exhibits tauopathy characteristics. *Exp. Neurol.* 212, 71–84. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.03.007>
- Rudinskiy, N., Hawkes, J.M., Wegmann, S., Kuchibhotla, K.V., Muzikansky, A., Betensky, R.A., Spire-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2014. Tau pathology does not affect experience-driven single-

- neuron and network-wide Arc/Arg3.1 responses. *Acta Neuropathol. Commun.* 2, 63. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-63>
- Sala Frigerio, C., Wolfs, L., Fattorelli, N., Thrupp, N., Voytyuk, I., Schmidt, I., Mancuso, R., Chen, W.-T., Woodbury, M.E., Srivastava, G., Möller, T., Hudry, E., Das, S., Saido, T., Karran, E., Hyman, B., Perry, V.H., Fiers, M., De Strooper, B., 2019. The Major Risk Factors for Alzheimer's Disease: Age, Sex, and Genes Modulate the Microglia Response to A β Plaques. *Cell Rep.* 27, 1293-1306.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.099>
- Salamanca, L., Mechawar, N., Murai, K.K., Balling, R., Bouvier, D.S., Skupin, A., 2019. MIC-MAC: An automated pipeline for high-throughput characterization and classification of three-dimensional microglia morphologies in mouse and human postmortem brain samples. *Glia.* <https://doi.org/10.1002/glia.23623>
- Salter, M.W., Stevens, B., 2017. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nat. Med.* 23, 1018–1027. <https://doi.org/10.1038/nm.4397>
- Saman, Sudad, Kim, W., Raya, M., Visnick, Y., Miro, S., Saman, Sarmad, Jackson, B., McKee, A.C., Alvarez, V.E., Lee, N.C.Y., Hall, G.F., 2012. Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* 287, 3842–3849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.277061>
- Sanders, D.W., Kaufman, S.K., DeVos, S.L., Sharma, A.M., Mirbaha, H., Li, A., Barker, S.J., Foley, A.C., Thorpe, J.R., Serpell, L.C., Miller, T.M., Grinberg, L.T., Seeley, W.W., Diamond, M.I., 2014. Distinct tau prion strains propagate in cells and mice and define different tauopathies. *Neuron* 82, 1271–1288. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.047>
- SantaCruz, K., 2005. Tau Suppression in a Neurodegenerative Mouse Model Improves Memory Function. *Science* 309, 476–481. <https://doi.org/10.1126/science.1113694>
- Satoh, J.-I., Tabunoki, H., Ishida, T., Yagishita, S., Jinnai, K., Futamura, N., Kobayashi, M., Toyoshima, I., Yoshioka, T., Enomoto, K., Arai, N., Arima, K., 2011. Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathol. Off. J. Jpn. Soc. Neuropathol.* 31, 363–375. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2010.01174.x>
- Sayed, F.A., Telpoukhovskaia, M., Kodama, L., Li, Y., Zhou, Y., Le, D., Hauduc, A., Ludwig, C., Gao, F., Clelland, C., Zhan, L., Cooper, Y.A., Davalos, D., Akassoglou, K., Coppola, G., Gan, L., 2018. Differential effects of partial and complete loss of TREM2 on microglial injury response and tauopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 10172–10177. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811411115>
- Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Verine, S., Gard, B., Brion, J.-P., Hamdane, M., Bué, L., 2006. Alzheimer's Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *Am. J. Pathol.* 169, 599–616. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060002>
- Schlepckow, K., Kleinberger, G., Fukumori, A., Feederle, R., Lichtenthaler, S.F., Steiner, H., Haass, C., 2017. An Alzheimer-associated TREM2 variant occurs at the ADAM cleavage site and affects shedding and phagocytic function. *EMBO Mol. Med.* 9, 1356–1365. <https://doi.org/10.15252/emmm.201707672>
- Sergeant, N., Bretteville, A., Hamdane, M., Caillet-Boudin, M.-L., Grognet, P., Bombois, S., Blum, D., Delacourte, A., Pasquier, F., Vanmechelen, E., Schraen-Maschke, S., Buée, L., 2008. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev. Proteomics* 5, 207–224. <https://doi.org/10.1586/14789450.5.2.207>
- Sergeant, N., Delacourte, A., Buée, L., 2005. Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.06.020>
- Sessa, G., Podini, P., Mariani, M., Meroni, A., Spreafico, R., Sinigaglia, F., Colonna, M., Panina, P., Meldolesi, J., 2004. Distribution and signaling of TREM2/DAP12, the receptor system mutated in human polycystic lipomembraneous osteodysplasia with sclerosing leukoencephalopathy dementia. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2617–2628. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03729.x>

- Simard, A.R., Soulet, D., Gowing, G., Julien, J.-P., Rivest, S., 2006. Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron* 49, 489–502. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.01.022>
- Slattery, C., J, Beck, L, H., G, A., Z, A., J, U., T, C., R, D., CJ, M., JD, R., J, K., J, L., KK, L., J, Barnes, SL, C., M, B., JM, N., RJ, G., JB, R., C, P., I, Z., H, K., P, G., SJ, C., JD, W., MN, R., NC, F., J, C., JM, S., S, M., 2014. R47H TREM2 variant increases risk of typical early-onset Alzheimer's disease but not of prion or frontotemporal dementia. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 10, 602–608.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.05.1751>
- Song, W., Hooli, B., Mullin, K., Jin, S.C., Cella, M., Ulland, T.K., Wang, Y., Tanzi, R.E., Colonna, M., 2017. Alzheimer's disease-associated TREM2 variants exhibit either decreased or increased ligand-dependent activation. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 13, 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.07.004>
- Song, W.M., Joshita, S., Zhou, Y., Ulland, T.K., Gilfillan, S., Colonna, M., 2018. Humanized TREM2 mice reveal microglia-intrinsic and -extrinsic effects of R47H polymorphism. *J. Exp. Med.* 215, 745–760. <https://doi.org/10.1084/jem.20171529>
- Spangenberg, E.E., Lee, R.J., Najafi, A.R., Rice, R.A., Elmore, M.R.P., Blurton-Jones, M., West, B.L., Green, K.N., 2016. Eliminating microglia in Alzheimer's mice prevents neuronal loss without modulating amyloid-?? pathology. *Brain* 139, 1265–1281. <https://doi.org/10.1093/brain/aww016>
- Spittaels, K., Van den Haute, C., Van Dorpe, J., Bruynseels, K., Vandezande, K., Laenen, I., Geerts, H., Mercken, M., Sciot, R., Van Lommel, A., Loos, R., Van Leuven, F., 1999. Prominent Axonopathy in the Brain and Spinal Cord of Transgenic Mice Overexpressing Four-Repeat Human tau Protein. *Am. J. Pathol.* 155, 2153–2165. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65533-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65533-2)
- Suárez-Calvet, M., Kleinberger, G., Araque Caballero, M.Á., Brendel, M., Rominger, A., Alcolea, D., Fortea, J., Lleó, A., Blesa, R., Gispert, J.D., Sánchez-Valle, R., Antonell, A., Rami, L., Molinuevo, J.L., Brosseron, F., Trschütz, A., Heneka, M.T., Struyfs, H., Engelborghs, S., Slegers, K., Van Broeckhoven, C., Zetterberg, H., Nelgård, B., Blennow, K., Crispin, A., Ewers, M., Haass, C., 2016. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers. *EMBO Mol. Med.* 8, 466–476. <https://doi.org/10.15252/emmm.201506123>
- Sultan, A., Nessler, F., Violet, M., Bégard, S., Loyens, A., Talahari, S., Mansuroglu, Z., Marzin, D., Sergeant, N., Humez, S., Colin, M., Bonnefoy, E., Buée, L., Galas, M.C., 2011. Nuclear Tau, a key player in neuronal DNA protection. *J. Biol. Chem.* 286, 4566–4575. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.199976>
- Sydow, A., Van Der Jeugd, A., Zheng, F., Ahmed, T., Balschun, D., Petrova, O., Drexler, D., Zhou, L., Rune, G., Mandelkow, E., D'Hooge, R., Alzheimer, C., Mandelkow, E.M., 2011a. Reversibility of Tau-related cognitive defects in a regulatable FTD mouse model. *J. Mol. Neurosci.* 45, 432–437. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9604-5>
- Sydow, A., Van der Jeugd, A., Zheng, F., Ahmed, T., Balschun, D., Petrova, O., Drexler, D., Zhou, L., Rune, G., Mandelkow, E., D'Hooge, R., Alzheimer, C., Mandelkow, E.-M., 2011b. Tau-Induced Defects in Synaptic Plasticity, Learning, and Memory Are Reversible in Transgenic Mice after Switching Off the Toxic Tau Mutant. *J Neurosci* 31, 2511–2525. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5245-10.2011>
- Szymczak-Workman, A.L., Vignali, K.M., Vignali, D.A.A., 2012. Design and construction of 2A peptide-linked multicistronic vectors. *Cold Spring Harb. Protoc.* 7, 199–204. <https://doi.org/10.1101/pdb.ip067876>
- Takahashi, K., Prinz, M., Stagi, M., Chechneva, O., Neumann, H., 2007. TREM2-transduced myeloid precursors mediate nervous tissue debris clearance and facilitate recovery in an animal model of multiple sclerosis. *PLoS Med.* 4, e124. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040124>

- Takahashi, K., Rochford, C.D.P., Neumann, H., 2005. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J. Exp. Med.* 201, 647–657. <https://doi.org/10.1084/jem.20041611>
- Tanemura, K., Murayama, M., Akagi, T., Hashikawa, T., Tominaga, T., Ichikawa, M., Yamaguchi, H., Takashima, A., 2002. Neurodegeneration with tau accumulation in a transgenic mouse expressing V337M human tau. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 133–141. <https://doi.org/22/1/133> [pii]
- Taniguchi, T., Doe, N., Matsuyama, S., Kitamura, Y., Mori, H., Saito, N., Tanaka, C., 2005. Transgenic mice expressing mutant (N279K) human tau show mutation dependent cognitive deficits without neurofibrillary tangle formation. *FEBS Lett.* 579, 5704–5712. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.09.047>
- Tashiro, K., Hasegawa, M., Ihara, Y., Iwatsubo, T., 1997. Somatodendritic localization of phosphorylated tau in neonatal and adult rat cerebral cortex. *Neuroreport* 8, 2797–2801. <https://doi.org/10.1097/00001756-199708180-00029>
- Tatebayashi, Y., Miyasaka, T., Chui, D.-H., Akagi, T., Mishima, K., Iwasaki, K., Fujiwara, M., Tanemura, K., Murayama, M., Ishiguro, K., Planel, E., Sato, S., Hashikawa, T., Takashima, A., 2002. Tau filament formation and associative memory deficit in aged mice expressing mutant (R406W) human tau. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 13896–901. <https://doi.org/10.1073/pnas.202205599>
- Terwel, D., Lasrado, R., Snauwaert, J., Vandeweert, E., Van Haesendonck, C., Borghgraef, P., Van Leuven, F., 2005. Changed conformation of mutant tau-P301L underlies the moribund tauopathy, absent in progressive, nonlethal axonopathy of tau-4R/2N transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 280, 3963–3973. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409876200>
- Terwel, D., Muyliaert, D., Dewachter, I., Borghgraef, P., Croes, S., Devijver, H., Van Leuven, F., 2008. Amyloid activates GSK-3beta to aggravate neuronal tauopathy in bigenic mice. *Am. J. Pathol.* 172, 786–798. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070904>
- Tesseur, I., Wyss-Coray, T., 2006. A role for TGF-beta signaling in neurodegeneration: evidence from genetically engineered models. *Curr. Alzheimer Res.* 3, 505–513.
- Thrash, J.C., Torbett, B.E., Carson, M.J., 2009. Developmental regulation of TREM2 and DAP12 expression in the murine CNS: implications for Nasu-Hakola disease. *Neurochem. Res.* 34, 38–45. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9657-1>
- Timmerman, R., Burm, S.M., Bajramovic, J.J., 2018. An Overview of in vitro Methods to Study Microglia. *Front. Cell. Neurosci.* 12, 242. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00242>
- Togo, T., Akiyama, H., Iseki, E., Kondo, H., Ikeda, K., Kato, M., Oda, T., Tsuchiya, K., Kosaka, K., 2002. Occurrence of T cells in the brain of Alzheimer's disease and other neurological diseases. *J. Neuroimmunol.* 124, 83–92.
- Town, T., Laouar, Y., Pittenger, C., Mori, T., Szekely, C. a, Tan, J., Duman, R.S., Flavell, R. a, 2008. Blocking TGF-beta-Smad2/3 innate immune signaling mitigates Alzheimer-like pathology. *Nat. Med.* 14, 681–687. <https://doi.org/10.1038/nm1781>
- Trinczek, B., Ebnet, A., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 1999. Tau regulates the attachment/detachment but not the speed of motors in microtubule-dependent transport of single vesicles and organelles. *J. Cell Sci.* 112 (Pt 14), 2355–2367.
- Turnbull, I.R., Gilfillan, S., Cella, M., Aoshi, T., Miller, M., Piccio, L., Hernandez, M., Colonna, M., 2006. Cutting edge: TREM-2 attenuates macrophage activation. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 177, 3520–3524. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.6.3520>
- Ulland, T.K., Colonna, M., 2018. TREM2 - a key player in microglial biology and Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 14, 667–675. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0072-1>
- Ulland, T.K., Song, W.M., Huang, S.C.-C., Ulrich, J.D., Sergushichev, A., Beatty, W.L., Loboda, A.A., Zhou, Y., Cairns, N.J., Kambal, A., Loginicheva, E., Gilfillan, S., Cella, M., Virgin, H.W., Unanue, E.R., Wang, Y., Artyomov, M.N., Holtzman, D.M., Colonna, M., 2017. TREM2 Maintains Microglial Metabolic Fitness in Alzheimer's Disease. *Cell* 170, 649-663.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.023>

- Ulrich, J.D., Finn, M.B., Wang, Y., Shen, A., Mahan, T.E., Jiang, H., Stewart, F.R., Piccio, L., Colonna, M., Holtzman, D.M., 2014. Altered microglial response to A β plaques in APPS1-21 mice heterozygous for TREM2. *Mol. Neurodegener.* 9, 20. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-20>
- Ulrich, J.D., Ulland, T.K., Colonna, M., Holtzman, D.M., 2017. Elucidating the Role of TREM2 in Alzheimer's Disease. *Neuron* 94, 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.042>
- Utton, M.A., Noble, W.J., Hill, J.E., Anderton, B.H., Hanger, D.P., 2005. Molecular motors implicated in the axonal transport of tau and alpha-synuclein. *J. Cell Sci.* 118, 4645–4654. <https://doi.org/10.1242/jcs.02558>
- Uversky, V.N., 2002. What does it mean to be natively unfolded? - Uversky - 2003 - European Journal of Biochemistry - Wiley Online Library. *Eur. J. Biochem.* 12, 2–12. <https://doi.org/10.1110/ps.4210102.matic>
- Vardy, E.R.L.C., Catto, A.J., Hooper, N.M., 2005. Proteolytic mechanisms in amyloid-beta metabolism: therapeutic implications for Alzheimer's disease. *Trends Mol. Med.* 11, 464–72. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2005.08.004>
- Varvel, N.H., Grathwohl, S. a., Degenhardt, K., Resch, C., Bosch, a., Jucker, M., Neher, J.J., 2015. Replacement of brain-resident myeloid cells does not alter cerebral amyloid- deposition in mouse models of Alzheimer's disease. *J. Exp. Med.* 212, jem.20150478–. <https://doi.org/10.1084/jem.20150478>
- Venegas, C., Kumar, S., Franklin, B.S., Dierkes, T., Brinkschulte, R., Tejera, D., Vieira-Saecker, A., Schwartz, S., Santarelli, F., Kummer, M.P., Griep, A., Gelpi, E., Beilharz, M., Riedel, D., Golenbock, D.T., Geyer, M., Walter, J., Latz, E., Heneka, M.T., 2017. Microglia-derived ASC specks cross-seed amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nature* 552, 355–361. <https://doi.org/10.1038/nature25158>
- Violet, M., Delattre, L., Tardivel, M., Sultan, A., Chauderlier, A., Caillierez, R., Talahari, S., Nesslany, F., Lefebvre, B., Bonnefoy, E., Buée, L., Galas, M.-C., 2014. A major role for Tau in neuronal DNA and RNA protection in vivo under physiological and hyperthermic conditions. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 84. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00084>
- Vlad, S.C., Miller, D.R., Kowall, N.W., Felson, D.T., 2008. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology* 70, 1672–1677. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000311269.57716.63>
- Vogt, B.A., Vogt, L.J., Vrana, K.E., Gioia, L., Meadows, R.S., Challa, V.R., Hof, P.R., Van Hoesen, G.W., 1998. Multivariate analysis of laminar patterns of neurodegeneration in posterior cingulate cortex in Alzheimer's disease. *Exp. Neurol.* 153, 8–22. <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6852>
- Von Bergen, M., Barghorn, S., Li, L., Marx, A., Biernat, J., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 2001. Mutations of Tau Protein in Frontotemporal Dementia Promote Aggregation of Paired Helical Filaments by Enhancing Local ??-Structure. *J. Biol. Chem.* 276, 48165–48174. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105196200>
- Vossel, K.A., Zhang, K., Brodbeck, J., Daub, A.C., Sharma, P., Finkbeiner, S., Cui, B., Mucke, L., 2010. Tau reduction prevents Abeta-induced defects in axonal transport. *Science* 330, 198. <https://doi.org/10.1126/science.1194653>
- Wang, X.-Q., Tao, B.-B., Li, B., Wang, X.-H., Zhang, W.-C., Wan, L., Hua, X.-M., Li, S.-T., 2016. Overexpression of TREM2 enhances glioma cell proliferation and invasion: a therapeutic target in human glioma. *Oncotarget* 7, 2354–2366. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6221>
- Wang, Y., Balaji, V., Kaniyappan, S., Krüger, L., Irsen, S., Tepper, K., Chandupatla, R., Maetzler, W., Schneider, A., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2017. The release and trans-synaptic transmission of Tau via exosomes. *Mol. Neurodegener.* 12, 5. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0143-y>
- Wang, Y., Cella, M., Mallinson, K., Ulrich, J.D., Young, K.L., Robinette, M.L., Gilfillan, S., Krishnan, G.M., Sudhakar, S., Zinselmeyer, B.H., Holtzman, D.M., Cirrito, J.R., Colonna, M., 2015.

- TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model. *Cell* 160, 1061–1071. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.049>
- Wang, Y., Ulland, T.K., Ulrich, J.D., Song, W., Tzaferis, J.A., Hole, J.T., Yuan, P., Mahan, T.E., Shi, Y., Gilfillan, S., Cella, M., Grutzendler, J., DeMattos, R.B., Cirrito, J.R., Holtzman, D.M., Colonna, M., 2016. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *J. Exp. Med.* jem.20151948. <https://doi.org/10.1084/jem.20151948>
- Weingarten, M.D., 1975. A Protein Factor Essential for Microtubule Assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72, 1858–1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>
- Wilcock, G.K., Esiri, M.M., 1982. Plaques, tangles and dementia. A quantitative study. *J. Neurol. Sci.* 56, 343–356. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(82\)90155-1](https://doi.org/10.1016/0022-510X(82)90155-1)
- Williams, D.R., 2006. Tauopathies: Classification and clinical update on neurodegenerative diseases associated with microtubule-associated protein tau. *Intern. Med. J.* <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2006.01153.x>
- Wright, A.L., Zinn, R., Hohensinn, B., Konen, L.M., Beynon, S.B., Tan, R.P., Clark, I.A., Abdipranoto, A., Vissel, B., 2013. Neuroinflammation and Neuronal Loss Precede A β Plaque Deposition in the hAPP-J20 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059586>
- Wunderlich, P., Glebov, K., Kemmerling, N., Tien, N.T., Neumann, H., Walter, J., 2013. Sequential proteolytic processing of the triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM2) protein by ectodomain shedding and γ -secretase-dependent intramembranous cleavage. *J. Biol. Chem.* 288, 33027–33036. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.517540>
- Xiang, X., Piers, T.M., Wefers, B., Zhu, K., Mallach, A., Brunner, B., Kleinberger, G., Song, W., Colonna, M., Herms, J., Wurst, W., Pocock, J.M., Haass, C., 2018. The Trem2 R47H Alzheimer's risk variant impairs splicing and reduces Trem2 mRNA and protein in mice but not in humans. *Mol. Neurodegener.* 13, 49. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0280-6>
- Yeh, F.L., Wang, Y., Tom, I., Gonzalez, L.C., Sheng, M., 2016. TREM2 Binds to Apolipoproteins, Including APOE and CLU/APOJ, and Thereby Facilitates Uptake of Amyloid-Beta by Microglia. *Neuron* 91, 328–340. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.015>
- Yoshiyama, Y., Higuchi, M., Zhang, B., Huang, S.M., Iwata, N., Saido, T.C., Maeda, J., Sahara, T., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., 2007. Synapse Loss and Microglial Activation Precede Tangles in a P301S Tauopathy Mouse Model. *Neuron* 53, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.010>
- Yuan, P., Condello, C., Keene, C.D., Wang, Y., Bird, T.D., Paul, S.M., Luo, W., Colonna, M., Baddeley, D., Grutzendler, J., 2016. TREM2 Haplodeficiency in Mice and Humans Impairs the Microglia Barrier Function Leading to Decreased Amyloid Compaction and Severe Axonal Dystrophy. *Neuron* 90, 724–739. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.003>
- Zhang, B., Higuchi, M., Yoshiyama, Y., Ishihara, T., Forman, M.S., Martinez, D., Joyce, S., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2004. Retarded axonal transport of R406W mutant tau in transgenic mice with a neurodegenerative tauopathy. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 4657–4667. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0797-04.2004>
- Zhao, Y., Wu, X., Li, X., Jiang, L.-L., Gui, X., Liu, Y., Sun, Y., Zhu, B., Piña-Crespo, J.C., Zhang, M., Zhang, N., Chen, X., Bu, G., An, Z., Huang, T.Y., Xu, H., 2018. TREM2 Is a Receptor for β -Amyloid that Mediates Microglial Function. *Neuron* 97, 1023-1031.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.031>
- Zheng, H., Jia, L., Liu, C.-C., Rong, Z., Zhong, L., Yang, L., Chen, X.-F., Fryer, J.D., Wang, X., Zhang, Y.-W., Xu, H., Bu, G., 2017. TREM2 Promotes Microglial Survival by Activating Wnt/ β -Catenin Pathway. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 37, 1772–1784. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2459-16.2017>
- Zhong, L., Xu, Y., Zhuo, R., Wang, T., Wang, K., Huang, R., Wang, D., Gao, Y., Zhu, Y., Sheng, X., Chen, K., Wang, N., Zhu, L., Can, D., Marten, Y., Shinohara, M., Liu, C.-C., Du, D., Sun, H., Wen, L., Xu, H., Bu, G., Chen, X.-F., 2019. Soluble TREM2 ameliorates pathological phenotypes by

- modulating microglial functions in an Alzheimer's disease model. *Nat. Commun.* 10, 1365. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09118-9>
- Zilka, N., Filipcik, P., Koson, P., Fialova, L., Skrabana, R., Zilkova, M., Rolkova, G., Kontsekova, E., Novak, M., 2006. Truncated tau from sporadic Alzheimer's disease suffices to drive neurofibrillary degeneration in vivo. *FEBS Lett.* 580, 3582–3588. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.05.029>
- Zotova, E., Bharambe, V., Cheaveau, M., Morgan, W., Holmes, C., Harris, S., Neal, J.W., Love, S., Nicoll, J.A.R., Boche, D., 2013. Inflammatory components in human Alzheimer's disease and after active amyloid- β 42 immunization. *Brain J. Neurol.* 136, 2677–2696. <https://doi.org/10.1093/brain/awt210>

Annexe

Revue : Targeting Neuroinflammation to Treat Alzheimer's Disease

Travail collectif à l'issue d'une summer school organisée par le Dr. Michael T Heneka intitulée :
« Summer School on Neuroinflammation 2016 ».

Targeting Neuroinflammation to Treat Alzheimer's Disease

A. Ardura-Fabregat¹ · E. W. G. M. Boddeke² · A. Boza-Serrano³ ·
S. Brioschi⁴ · S. Castro-Gomez¹⁰ · K. Ceyzeriat^{5,6} · C. Dansokho⁷ ·
T. Dierkes^{7,8} · G. Gelders⁹ · Michael T. Heneka^{7,10} · L. Hoeijmakers¹¹ ·
A. Hoffmann¹² · L. Iaccarino^{13,14} · S. Jahnert¹⁰ · K. Kuhbandner¹⁵ ·
G. Landreth¹⁶ · N. Lonnemann¹⁷ · P. A. Löschmann¹⁸ · R. M. McManus⁷ ·
A. Paulus³ · K. Reemst¹¹ · J. M. Sanchez-Caro⁷ · A. Tiberi²¹ · A. Van der Perren⁹ ·
A. Vautheny^{5,6} · C. Venegas¹⁰ · A. Webers¹⁰ · P. Weydt¹⁰ · T. S. Wijasa⁷ ·
X. Xiang^{19,20} · Y. Yang³

Published online: 19 December 2017

© The Author(s) 2017. This article is an open access publication

Abstract Over the past few decades, research on Alzheimer's disease (AD) has focused on pathomechanisms linked to two of the major pathological hallmarks of extracellular deposition of beta-amyloid peptides and intraneuronal formation of neurofibrils. Recently, a third disease component, the neuroinflammatory reaction mediated by cerebral innate immune cells, has entered the spotlight, prompted by findings from genetic, pre-clinical, and clinical studies. Various proteins that arise during

neurodegeneration, including beta-amyloid, tau, heat shock proteins, and chromogranin, among others, act as danger-associated molecular patterns, that—upon engagement of pattern recognition receptors—induce inflammatory signaling pathways and ultimately lead to the production and release of immune mediators. These may have beneficial effects but ultimately compromise neuronal function and cause cell death. The current review, assembled by participants of the Chicla Summer School on

✉ Michael T. Heneka
michael.heneka@ukbonn.de

¹ Faculty of Medicine, Institute of Neuropathology, University of Freiburg, Freiburg, Germany

² Department of Neuroscience, Section Medical Physiology, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, The Netherlands

³ Experimental Neuroinflammation Laboratory, Department of Experimental Medical Sciences, Biomedical Centrum (BMC), Lund University, Lund, Sweden

⁴ Department of Psychiatry and Psychotherapy, Medical Center University of Freiburg, Faculty of Medicine University of Freiburg, Freiburg, Germany

⁵ Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA), Département de la Recherche Fondamentale (DRF), Institut de biologie François Jacob, MIRCen, 92260 Fontenay-aux-Roses, France

⁶ Neurodegenerative Diseases Laboratory, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Université Paris-Sud, UMR 9199, F-92260 Fontenay-aux-Roses, France

⁷ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Sigmund Freud Str. 27, 53127 Bonn, Germany

⁸ Biomedical Centre, Institute of Innate Immunity, University Hospital Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25, 53127 Bonn, Germany

⁹ Department of Neurosciences, Laboratory for Neurobiology and Gene Therapy, KU Leuven, Leuven, Belgium

¹⁰ Department of Neurodegenerative Disease and Gerontopsychiatry/Neurology, University of Bonn Medical Center, Sigmund-Freud Str. 25, 53127 Bonn, Germany

¹¹ Center for Neuroscience (SILS-CNS), Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

¹² Department of Molecular Neurology, University Hospital Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Germany

¹³ Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy

¹⁴ In Vivo Human Molecular and Structural Neuroimaging Unit, Division of Neuroscience, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy

¹⁵ Department of Neurology, University Hospital Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Germany

¹⁶ Stark Neuroscience Research Institute, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN 46202, USA

¹⁷ Department of Cellular Neurobiology, Zoological Institute, Technische Universität Braunschweig, Braunschweig, Germany

¹⁸ Pfizer Deutschland GmbH, Berlin, Germany

Neuroinflammation 2016, provides an overview of our current understanding of AD-related immune processes. We describe the principal cellular and molecular players in inflammation as they pertain to AD, examine modifying factors, and discuss potential future therapeutic targets.

Key Points

Neuroinflammation plays an important part in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD), with both positive and negative consequences.

Induction of inflammatory signaling pathways leads to the production and release of immune mediators, which ultimately compromises neuronal function and causes cell death.

Anti-inflammatory therapeutic approaches to modify AD progression are the basis for ongoing and future therapeutic trials in this area.

1 Introduction

Dementias and related diseases of cognitive decline pose an enormous and growing disease burden on our societies and health economies. According to the most recent World Health Organization (WHO) global disease burden report [1], deaths from neurological diseases have risen by 114% over the past 20 years to 1.2 million in 2010. The increase is largely driven by neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease and by an aging population in general. Not surprisingly, the development of strategies to curb this frightening surge is a high priority for life science research. The responsible allocation of these resources requires the identification of valid therapeutic targets. The immune system is particularly alluring in this regard.

How the immune system and peripheral infections contribute to cognitive decline remains incompletely understood, but the past 15 years have established a key role for inflammation in the progression of age-related neurodegeneration. The immune privilege of the brain is

clearly not absolute, and cells of the central nervous system (CNS) are sensitive to inflammatory events occurring both within and outside of the brain.

We summarize the current state of neuroinflammation research from cellular to molecular mechanisms, as they pertain to the pathogenesis of AD. Further, we outline leverage points for preventive strategies and therapeutic approaches to stem the daunting surge in dementia diseases facing our society.

2 Cellular Players

2.1 Microglia

Microglia are the principal innate immune cells in the brain, and they are often considered the macrophages of the CNS. Recent studies have shed light on their origin from erythromyeloid progenitors from the yolk sac [2, 3], which migrate into the brain at embryonic day 7.5 where they further differentiate into microglial cells [2]. Microglia exhibit the capacity of self-renewal within the brain [4, 5], likely arising from a newly identified progenitor [6]. Microglia continuously survey their microenvironment and monitor ongoing synaptic activity, including synapse remodeling, debris clearance, and trophic support for neurons. In addition, they drive a major part of the innate immune response. Microglia react to pathological triggers via pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) or danger-associated molecular patterns (DAMPs) [7–9].

Microglia are also phagocytic cells and can ingest amyloid β ($A\beta$) through a range of cell surface receptors, including cluster of differentiation (CD)-14, toll-like receptor (TLR)-2, TLR4, $\alpha 6\beta 1$ integrin, CD47, and scavenger receptors, such as CD36 [10–13]. It has been suggested that, in AD, a key factor in the accumulation of $A\beta$ throughout the brain is the failure of microglia to remove extracellular amyloid [14–16]. Indeed, in cortical tissue specimens from patients with AD, the microglia surrounding plaques are impaired at $A\beta$ uptake [15, 17, 18]. Newly developed positron emission tomography (PET) techniques employ radio ligands to detect activated microglia in vivo [19–21]. Many tracers target the 18 kDa translocator protein (TSPO) [19], an outer mitochondrial membrane protein present in microglia, which is upregulated during activation [22–24]. The ^{11}C -PK11195 ligand was the first prototypical TSPO ligand, although second-generation tracers have been developed more recently with improved signal-to-noise ratios [25]. However, a common polymorphism significantly influences the binding affinity of these new compounds [26], thus making genetic screening a necessary step for accurate quantification [27]. TSPO upregulation has been described in prodromal AD

¹⁹ Biomedical Center (BMC), Biochemistry, Ludwig-Maximilians-University Munich, 81377 Munich, Germany

²⁰ Graduate School of Systemic Neuroscience, Ludwig-Maximilians-University, Munich, 82152 Munich, Germany

²¹ Bio@SNS Laboratory, Scuola Normale Superiore, Piazza dei Cavalieri 7, 56126 Pisa, Italy

and in manifest AD dementia, using both ^{11}C -PK11195 [28–31] and second-generation tracers [32–36] in regions known to be affected by AD pathology and beyond. Mixed evidence has emerged regarding the relationship between *in vivo* microglial activation and A β plaque burden [29, 31, 32, 37, 38].

2.2 Astrocytes

Under pathological conditions, astrocytes exhibit morphological changes, including hypertrophy and upregulation of glial fibrillary acidic protein (GFAP). Astrocytes can detect aggregated proteins such as A β or respond to inflammatory molecules (e.g., cytokines, chemokines, see below). Indeed, significant astrocyte reactivity has been reported in sporadic [39–41] and familial AD [42]. Similar to microglia, reactive astrocytes can polarize their processes around amyloid plaques and are capable of amyloid plaque degradation [43, 44]. Altered calcium signaling [45], impaired glutamate homeostasis [46, 47], and increased production of inflammatory mediators by astrocytes are also observed in AD.

2.3 Oligodendrocytes

The involvement of oligodendrocytes in AD remains poorly understood, although there is emerging evidence that these cells contribute to the pathogenesis and progression of neurodegenerative disorders, including AD [48]. Bartzokis et al. [49–52] demonstrated that the loss of myelin integrity that normally occurs during aging is strongly aggravated in human presenilin-1 familial, pre-clinical, and sporadic AD cases, particularly near A β plaques. In addition, focal loss of oligodendrocytes has been observed in sporadic cases of AD. This demyelination was also found in transgenic mouse models of AD, specifically at the core of A β plaques [52]. Focal oligodendrocyte loss has also been detected in Tg2576 and APP/PS1 transgenic mice [52], a phenomenon that may negatively influence cortical processing and neurite formation. Several cellular processes such as neuroinflammation, oxidative stress, and/or apoptosis may contribute to oligodendrocyte dysfunction and death [52]. In addition, A β can impair the survival and maturation of oligodendrocyte progenitor cells and the formation of the myelin sheath [53].

2.4 Myeloid Cells Other than Microglia

In addition to microglia, a variety of other monocytic cells have been found in the brain, including perivascular cells, meningeal macrophages, choroid plexus macrophages, and peripheral blood-derived monocytes [54]. These cells may, under certain circumstances, also phagocytize and degrade

amyloid plaques in a transgenic model of AD [55]. Migration of peripheral monocytes is dependent on C-C chemokine receptor type 2 (CCR2), as its ablation in Tg2576 mice results in decreased recruitment of these cells and a corresponding increase in amyloid pathology [56]. In contrast, blocking transforming growth factor (TGF)- β signaling increased peripheral myeloid cell infiltration into the CNS and significantly reduced the amyloid burden [57]. Glatiramer acetate has also been shown to increase recruitment of peripheral monocytes to the CNS, and this reduces amyloid deposition. Ablation of bone marrow-derived myeloid cells in this model exacerbated amyloid pathology [58]. In contrast, when resident microglia were ablated from the APP/PS1 and APP23 mouse models, recruitment of peripheral myeloid cells was not sufficient to clear amyloid load [59, 60]. Furthermore, a recent parabiosis experiment found no evidence of monocyte infiltration around amyloid plaques [61]. Thus, the extent of myeloid infiltration into the brain and its contribution to damage or clearance of pathological proteins is still not fully understood. A particularly critical aspect of this body of work is the complexity and toxicity of experimental approaches used.

3 PAMPs and DAMPs: Inducers and Modulators of Neuroinflammation in Alzheimer's Disease

During periods of pathogen invasion or tissue damage, DAMPs and PAMPs alert the immune system of the host and trigger an appropriate response to the insult.

DAMPs encompass a diverse class of molecules. A well-characterized group of DAMPs consists of intracellular proteins that are expressed at a basal level within a cell and are released after injury. These include high-mobility group protein B1 (HMGB1), S100 proteins, heat shock proteins (HSPs), chromogranin A, and A β . A second class of DAMPs comprises nucleic acids and nucleotide derivatives, such as mitochondrial DNA (mt-DNA), DNA, and adenosine triphosphate (ATP) [62]. In contrast, PAMPs mainly include microbial molecules that are normally not present in human cells, such as lipid A, flagellin, lipoproteins from Gram-positive and Gram-negative bacteria, bacterial DNA containing particular CpG motifs, and fragments of bacterial peptidoglycan [63].

Both PAMPs and DAMPs contribute to neuroinflammation in AD. A β can induce inflammatory responses [64] via activation of pattern recognition receptors (PRRs) of the innate immune system, including TLR2 [65], TLR4, and TLR6, as well as their co-receptors, CD36, CD14, and CD47. Neutralization by CD14 antibodies can reduce the A β -induced microglial activation [66]. Furthermore, the NLRP1 and NLRP3 inflammasome can sense a range of

aggregated proteins, including A β [67]. Indeed, lack of NLRP3 and caspase-1 has been shown to protect mice from AD pathology [67, 68].

HMGB1 levels are increased in AD brains and are associated with senile plaques, promoting their stabilization [69]. It has been shown that microglia stimulation by HMGB1 can reduce A β phagocytosis [69]. HMGB1 promotes the migration and proliferation of immune cells through binding to advanced glycation end-product receptors (RAGE) and TLRs [70]. HMGB1 can also act in concert with other factors such as chemokines, growth factors, and PAMPs, together promoting immune system activation [71, 72].

Chromogranin A is associated with microglial activation in neurodegeneration [73, 74] and induces the release of interleukin (IL)-1 β , indicating that TLRs and the NLRP3 inflammasome are involved in this pathway [75]. In AD, increased levels of chromogranin A have been observed in senile plaque dystrophic neurites [76]. Interestingly, the immune stimulatory potential appears almost identical to bacterial lipopolysaccharide (LPS), at least in vitro [77].

Many S100 proteins are involved in AD, including S100A9, S100A8, and S100B. S100A8 and S100A9 form a complex that is increased in the brain and cerebrospinal fluid (CSF) of patients with AD [78, 79] and can activate microglia through TLR4. Furthermore, S100A8-mediated inflammatory stimuli are connected with the upregulation of the β -site β -amyloid precursor protein (APP)-cleaving enzyme BACE1, which is involved in APP processing [80, 81]. S100B has been observed in both A β plaques and in the CSF [82, 83], and overexpression of human S100B exacerbates amyloidosis and gliosis in the Tg2576 AD mouse model [84].

Likewise, mt-DNA and DNA can be released from the cells and act as DAMPs upon entering the blood circulation, causing inflammation [85]. mt-DNA can bind to TLR-9 and mediate the release of tumor necrosis factor (TNF)- α and type I interferons (IFNs) [86]. Moreover, cell free DNA can bind to TLR and non-TLR receptors. Upon TLR binding, DNA activates the nuclear factor (NF)- κ B pathway, thereby promoting pro-inflammatory cytokine production [87]. DNA can also bind to the absent in melanoma 2 (AIM2) inflammasome, releasing IL-1 β , through the caspase-1 activation pathway.

HSPs bind to several receptors, such as TLR2 and TLR4, resulting in the production of inflammatory cytokines, such as TNF α and IL-1 β [88–90]. Furthermore, HSPs may also exert beneficial effects in AD, thus, HSP70 can bind to APP and reduce the secretion of A β 1-40 and A β 1-42 through interference with the APP processing pathway [91]. HSP70, together with HSP90, can also interact with tau and A β oligomers and degrade them by employing proteasomal degradation [92].

4 Endogenous Modulators

Neurotransmitters such as ATP, glutamate, dopamine, and various neurotrophic factors, e.g., brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF), can act as endogenous modulators. Microglial cells are equipped with a plethora of neurotransmitter receptors, which makes them a primary target, particularly as sites of non-synaptic release [93]. In AD, ATP production from neurons declines. Mitochondrial dysfunction, as evidenced by reduced ATP, is related to oxidative stress in AD pathology [94]. Oxidative stress can also initiate inflammatory responses and contributes to the etiopathology of AD [95].

In AD, glutamatergic neurotransmission is disturbed because of an increased amount of soluble A β oligomers [96]. The possible inflammatory process occurs subsequently through activation of microglia with TNF α release, synergizing with *N*-methyl-D-aspartate (NMDA)-mediated neurodegeneration [97]. However, the modulation of glutamate can be either pro- or anti-inflammatory depending on the expression of different groups of glutamate receptors (GluRs) on microglia and, most likely, on astroglial uptake capabilities [98, 99].

Dopamine possibly mediates the activation of microglia by triggering the mitogen-activated protein kinase (MAPK)–NF κ B cascade and inducing toxicity versus dopaminergic neurons [100, 101]. In general, acetylcholine prevents the inflammatory response in microglia via α 7-nicotinic acetylcholine receptors, mediated by the PLC/IP3/Ca $^{2+}$ signaling pathway [102]. In patients with AD, significant loss of cholinergic neurons is tightly related to the progression of the disease. Failure in cholinergic neurotransmission decreases the cholinergic input to microglia, which in turn results in microglial activation [103]. In addition, stimulation of microglia with norepinephrine suppressed inflammation through cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/protein kinase A (PKA) signaling cascades [104, 105]. Of note, the locus ceruleus, the chief source of noradrenaline (NA) in the human brain, degenerates very early in the disease course. Thus, its projection regions, most prominently the limbic system and neocortex, experience decreased levels of NA. Modeling this in rodents increased A β -induced inflammation [106, 107] and substantially increased neuronal death and memory deficits [108]. Using 2-photon laser microscopy, it was demonstrated that depletion of NA in APP/PS1 transgenic mice caused complete inhibition of microglial A β clearance, and, subsequently, an increase in the number and volume of A β deposits [104]. The replenishment of NA levels in the cortex and hippocampal after treatment with L-threo-DOPS, an NA precursor, partly rescued this phenotype.

The levels of BDNF and NGF are severely altered in the brains of patients with AD. BDNF is released by activated microglia and inhibits the release of TNF- α and IFN- γ , whereas it promotes the expression of anti-inflammatory cytokines IL-4, IL-10, and IL-11 [109]. However, an *in vitro* study has also shown prolonged microglial activation through a positive feedback loop by autocrine BDNF [110], demonstrating that BDNF may modulate inflammation at various levels. In addition, evidence from a human microglial cell line suggested that NGF synthesis is potentially stimulated by inflammatory signals (cytokines and complement factors), as well as by exposure to A β 25-35, through NF κ B-dependent and -independent mechanisms.

5 Inflammatory Mediators

5.1 Cytokines

Cytokines are released by glial cells, such as astrocytes and microglia, upon every inflammatory challenge [111–113]. Many cytokines, such as IL-1 β and IL-12, have been related to the progression of AD pathology [114, 115]. Increased IL-1 β serum levels have been linked to AD and patients with mild cognitive impairment, a putative prodromal phase of dementia [114, 116]. Several studies have reported associations between IL-1 β polymorphisms and the onset of AD pathology [115, 117, 118], linking both IL-1 β polymorphisms and apolipoprotein E (APOE)- ϵ 4 to higher levels of IL-1 β in the blood and sleep disturbance in patients [119]. IL-12 is related to the regulation of the adaptive and the innate immune system [120], and an IL-12 polymorphism has been linked to AD in a Han Chinese population [121]. Vom Berg et al. [122] suggested that inhibition of the IL-12/IL-23 pathway may attenuate AD pathology and cognitive deficits due to a decrease in the IL-12p40 subunit and its receptor activity [122]. In this study, the concentration of IL-12p40 was increased in the CSF of patients with AD. Regarding anti-inflammatory cytokines, IL-10 deletion attenuated AD-related deficits, such as altered synaptic integrity and behavioral deficits in APP/PS1 mice [123]. Chakrabarty et al. [124] showed that the overexpression of IL-10 using adeno-associated viruses (AAVs) increased amyloid deposition, behavioral deficits, and synaptic alterations and impaired microglial phagocytosis of A β in the APP transgenic mouse model [124].

Another major regulator of inflammation is TGF- β . Increased TGF- β has been observed in amyloid plaques [125] and in the CSF of patients with AD [126, 127]. However, this cytokine plays a dual role in AD. Overexpression of TGF- β *in vivo* induces A β deposition in cerebral blood vessels, but it may also decrease microgliosis

while increasing A β phagocytosis [128]. A link between TGF- β and neuro-fibrillary tangles (NFTs) has also been reported [129].

5.2 Chemokines

Chemokines participate in the chemoattraction of immune cells from the periphery to the brain and in the recruitment and activation of resident glial cells. In AD, chemokines are implicated in both the resolution and the propagation of pathology [130]. The most intensively studied chemokines in AD are CX3C chemokine ligand 1 (CX3CL1) and chemokine ligand 2 (CCL2).

CX3CL1, also termed fractalkine, is expressed by neurons, whereas its receptor, CX3CR1, is predominantly expressed by microglia [131, 132]. The participation of this chemokine in the pathophysiology of AD is complex since CX3CL1/CX3CR1 signaling can have a beneficial role in the context of tau pathology [132–135] or a detrimental role in an amyloid context [136]. In fact, in an amyloid model, deficiency of CX3CR1 decreased A β deposition [136] but worsened tau pathology and lowered cognitive performance [133, 134]. Moreover, the expression of CX3CL1 has been shown to be increased in tau-injured neurons but decreased in the brains of APP transgenic mice [137]. However, in human patients, the level of CX3CL1 is inversely correlated with AD severity [138]. Together, this may point to the possibility that the same inflammatory mediator may adopt various, if not opposing, effects and properties during disease progression.

CCL2 has also been associated with a dominant role in chronic inflammation [139]. A recent study has demonstrated that the CCL2/CCR2 pathway of astrocyte-induced microglial activation is associated with “M1-polarised” and enhanced microglial activity [140]. In AD, CCL2 levels were increased in mild but not in severe AD, suggesting that elevated CCL2 may play a pathogenic role during early AD stages [141]. In agreement with this, Westin et al. [142] showed that CCL2 is associated with a faster cognitive decline in early disease stages. Kiyota et al. [143] found accelerated neurodegeneration in APP/CCL2 transgenic mice, indirectly suggesting that direct inhibition of CCL2 signaling may modify microglial activation, resulting in lower A β deposition and improving behavioral outcomes. CCL2 overexpression accelerated oligomeric and diffuse A β deposition and led to spatial and working memory deficits by affecting A β seeding in Tg2576 mice [143].

5.3 Other Mediators

Nitric oxide (NO) is synthesized by three different isoforms of NO synthase (NOS). Each isoform plays a role in either

AD progression or prevention, suggesting that NO can be neuroprotective or neurotoxic. High doses of LPS induced robust CNS inflammation and microglia-induced release of NO. NO in the CNS can influence many signaling pathways, including protein nitrosylation, impairment of long-term potentiation, or inhibition of mitochondrial respiration. The impact of NO signaling depends on the local cellular environment. In the AD brain, NO mainly derives from the inducible isoform of NOS, NOS2, which is expressed by neurons [144], microglia, and astrocytes [145]. Nitrosative stress has been shown to affect all types of cellular proteins, including, but not restricted to, synaptic proteins. Post-translational protein modification can take place either by s-nitrosylation of cysteine residues or by nitration of tyrosine residues. Importantly, A β itself represents a nitration target at tyrosine 10 of its amino acid sequence. Nitration at this position strongly increases the peptide's propensity to aggregate, and nitrated A β predominantly resides in the core of the deposits, suggesting that this mechanism contributes to the initiation of deposition [146].

6 Effect of Neuroinflammation on Neuronal Function

6.1 Cytokines and Synaptic Scaling

Synaptic plasticity is strongly influenced by basal levels of cytokines [147]. Emblematic is the case of “synaptic scaling,” a well-defined form of homeostatic plasticity that regulates the density of GluRs at presynaptic and postsynaptic sites [148]. A homeostatic reduction of neuronal excitability by withdrawal of GluRs is termed down-scaling, whereas the increase of neuronal excitability (by accumulation of GluRs) is known as up-scaling. TNF α has been shown to support synaptic up-scaling by increasing AMPA receptor-dependent miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSC). Importantly, TNF α required for up-scaling synapses is derived from glial cells [149] and not from neurons themselves. Such evidence implies that glial cells are able to release cytokines in response to changes in neuronal activity. By contrast, enhanced release of inflammatory cytokines, for instance during chronic peripheral inflammation, can disrupt the physiological mechanisms of synaptic plasticity, promoting neuronal hyper-excitability and increased susceptibility to seizure generation [150].

A growing body of evidence demonstrates that microglia can actively respond to increased neuronal excitability, and microglial processes make physical contact with excitatory synapses [151–154]. This type of microglia–synapse interaction has been shown to reduce neuronal

excitability [110, 155], potentially as a form of a regulatory mechanism for preventing glutamatergic excitotoxicity [152].

6.2 Microglia and Synaptic Pruning

Microglia can actively participate in remodeling synaptic connections (“synaptic pruning”). A pathological form of synaptic pruning may represent a commonly shared mechanism among several neurological conditions of different nature: a recent study in a murine model of chronic stress, showed electron-dense (dark) microglia co-localized with synaptic terminals. This microglial phenotype associated with synaptic pruning appeared clearly reactive, possibly accounting for an increased loss of synapses during chronic inflammation [156]. Microglia may also remove synapses in a complement-dependent manner in a mouse model of West Nile virus-induced neuroinflammation [157]. Mice with either a deficit in the number of microglia (IL-34^{-/-}) or a deficiency of complement components (such as C3 protein or complement receptor 3 knock-out) were protected from inflammation-induced synaptic loss [157].

An alternative hypothesis suggests that pathological pruning of synapses during inflammation may also represent a form of “tissue remodeling” for auto-protective purposes [158]. A study suggested that upon LPS injection, microglia pruned preferentially GABAergic terminals, thereby increasing excitatory synaptic activity and induction of neurotrophic pathways in downstream neurons. This mechanism has been interpreted as an attempt to promote neuronal viability in a pathological context, although the price was a temporary imbalance of synaptic connectivity [159].

In mouse models of A β deposition, complement protein C1q was elevated as early as 1 month of age in both DG and frontal cortex. At this timepoint, neither plaques nor synaptic loss are detectable. At a later age (mice aged 3–4 months), the number of synapses decreased significantly; however, synaptic loss was rescued almost completely in the absence of either C1q, C3, or CR3. Additionally, intracerebroventricular (ICV) injection of oligomeric A β in wild-type mice induced synapse loss and activated a phagocytic phenotype in microglia. Moreover, synapse loss in response to oligomeric A β was not observed in C1q or CR3 knock-out mice [160] (Table 1).

Similar findings have been obtained in a mouse model deficient for the *progranulin* gene, typically associated with frontotemporal dementia (FTD) in humans [161, 162]. Lack of progranulin has been shown to trigger an exaggerated inflammatory reaction in microglia and macrophages [161, 163]. Interestingly, the brains of *progranulin*-deficient mice showed increased levels of complement

Table 1 Randomized clinical trials of non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with Alzheimer's disease

Drug	Trial details (phase, design, duration of treatment)	Participants	Primary endpoint (s)	Main effect	References
Aspirin 75 mg od	Phase III, randomized open-label, 3 years	310 AD pts	MMSE and BADLs	No effect on cognition, increased risk of bleeds	[388]
Indomethacin 100–150 mg od vs. PL	Pilot study, randomized 1:1, 6 months	28 AD dementia pts	Psychometric tests	Positive effects on a battery of psychometric tests	[357]
Indomethacin 100 mg od with omeprazole vs. PL	Pilot study, randomized 1:1, 1 year	51 pts with mild-to-moderate AD	ADAS-cog score	Not significant effect on ADAS-cog score	[389]
Naproxen sodium or rofecoxib 220 mg naproxen bid or rofecoxib 25 mg od vs. PL	Phase III, randomized 1:1, 1 year	351 pts with mild-to-moderate AD	ADAS-cog score	Not significant effect on ADAS-cog score	[390]
Nimesulide 100 mg bid vs. PL	Pilot study, randomized 1:1 and open-label, 3 months	40 AD dementia pts	Tolerability and short-term cognitive/behavioral effects	Not apparent effect on a composite of cognitive, behavioral and functional outcomes	[391]
Rofecoxib 25 mg od vs. PL	Phase III, randomized 1:1, 4 years	1457 MCI pts	Annual AD diagnosis	Lower annual AD diagnosis but no significant effect on ADAS-cog score	[392, 393]
Celecoxib or naproxen sodium 100 mg bid or naproxen sodium 220 mg bid vs. PL	Phase III, randomized 1:1:1.5, 1–3 years	2528 healthy individuals with family history of AD	Seven tests of cognitive function and a global summary score measured annually	Not significant effect on a battery of neuropsychological tests	[394]
Celecoxib or naproxen sodium, follow-up ADAPT study	2–4 years follow-up after termination of treatment	2071 participants randomized in ADAPT	Incidence of AD	Not significant effect for celecoxib. Reduced AD onset and CSF tau to A β 1-42 ratio for naproxen	[358]
Celecoxib or naproxen sodium follow-up	5–7 years follow-up after termination of treatment	1537 participants randomized in ADAPT	Cognitive evaluation test scores	Not significant delay on onset of AD	[395]

AD Alzheimer's disease, ADAPT Alzheimer's Disease Anti-inflammatory, ADAS-cog Alzheimer Disease Assessment Scale-cognitive portion, BADLs basic activities of daily living, bid twice daily, CSF cerebrospinal fluid, MCI mild cognitive impairment, MMSE Mini-Mental State Examination, od once daily, PL placebo, pt(s) patient(s)

Adapted from Heneka et al. [396]

proteins, a prominent pro-phagocytic activation of microglia, and enhanced pruning of synapses [164].

6.3 Inflammation and Neurogenesis

Under homeostasis, immunological signals can actively shape adult neurogenesis. Microglia were shown to rapidly engulf and remove apoptotic neuronal progenitors, remarkably, without any trace of inflammatory reaction [165, 166]. Other evidence has pinpointed a close interplay between different immune proteins and the neurogenic process [167, 168]. IL-1 β has often received particular

attention because of its anti-neurogenic activity [169–175]. One may assume that microglia are primarily responsible for this reduction of neurogenesis during inflammatory challenges. An interesting molecular player is the CX3C axis between neurons and microglia, which is known to preserve the microglial “resting” phenotype under physiological conditions [176, 177]. Several consistent findings showed reduced neurogenesis in CX3CR1-deficient mice, along with increased NF- κ B activation and IL-1 β expression in microglia [178–181]. Consistently, when an inflammatory challenge is applied under CX3CR1-deficient conditions, microglia release an increased and uncontrolled

amount of inflammatory mediators and free radicals, causing neurotoxicity and cognitive/behavioral deficits [132, 182]. Interestingly, during ageing, neurons decrease expression of CX3CL1 [183], which likely would result in a general downregulation of the CX3C axis and pro-inflammatory skewing of microglia [184, 185]. Pro-inflammatory microglial priming has been suggested as a possible mechanism leading to the dysregulated microglial function and the ensuing stepwise decline of neurogenesis (and potentially neurodegeneration) during senility [186–192]. In contrast, several lines of evidence point towards the pro-neurogenic function of microglia, especially during the period of early brain development. These indications suggest that microglia play an important role during brain development, axonal guidance, and formation of neuronal networks.

6.4 Astrocytes and Glutamate Reuptake

In the CNS, extracellular levels of glutamate are tightly regulated by astrocytes in order to modulate GluR activity and prevent potential excitotoxicity [193]. Once in the synaptic cleft, excess glutamate is promptly scavenged by the excitatory amino acid transporters (EAATs) expressed on both neurons and astrocytes [194]. The astrocytic EAAT2 is thought to be responsible for about 90% of all glutamate uptake in the brain [195, 196]. There are no synaptic enzymes that otherwise would degrade glutamate. Therefore, astrocyte-mediated glutamate uptake represents the primary mechanism for the homeostatic regulation of glutamate bioavailability [197]. Impairment of glutamate uptake causes excitotoxicity characterized by overload of cellular calcium, generation of free radicals, and protein/lipid oxidation. Notably, astrocyte glutamate transporters (EAAT1 and EAAT2) were shown to be reduced in the cortex and hippocampus of patients with AD [46, 198]. Moreover, A β -induced neurotoxicity in vivo has been associated with NMDA receptor-dependent excitotoxicity [199]. In conclusion, pharmaceutical compounds aiming to modulate glutamate excitotoxicity have revealed a certain therapeutic potential for neurodegenerative diseases (Table 2).

6.5 Function and Dysfunction of the Blood–Brain Barrier

Dysfunction of the blood–brain barrier (BBB) is a relatively new frontier in AD research [200–202]. The fully functional BBB is a highly specialized monolayer of endothelial cells lining the cerebrovasculature and separating the circulating blood from the brain parenchyma. The integrity of the BBB depends critically on the functional state of the associated pericytes, astrocytes, and

microglia and is compromised during neuroinflammation [203]. A β binds to low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP1) on the endothelial cells of the brain capillaries and is then released into the bloodstream [204, 205]. Vice versa, in the BBB, RAGE are upregulated with aging and facilitate the influx of A β from the blood into the brain [206]. Deficient A β clearance from the brain parenchyma is thus proposed to be, at least in part, the result of its faulty transport across the BBB [207–209].

7 Modifiable Risk Factors for AD

A plethora of exogenous factors exert both beneficial and detrimental modulating effects on the inflammatory state of an organism. This, in turn, has direct and important consequences for the risk of developing AD. As these factors are amenable to non-pharmacological interventions and can be mitigated (or promoted) by preventive measures or lifestyle choices, they deserve special attention.

7.1 Infections

The evidence pointing to infections as risk factors for AD stems from epidemiological and neuropathological studies. Prospective cohort studies show that infection represents an important risk factor in the progression of dementia and AD [210, 211]. A case–control study suggested that multiple infections double the risk of developing dementia [212]. In studies of a large AD patient cohort, peripheral infection was associated with accelerated cognitive decline [213, 214]. Conversely, the frequency of various infections, including urinary and respiratory tract infections is higher among individuals with AD than among healthy, age-matched controls [215]. Indeed, pneumonia is one of the most common causes of death in AD [204, 205, 216–218]. In contrast, vaccination against influenza and other infectious conditions is associated with a significantly lower risk of developing AD [219, 220].

A number of specific viral, bacterial, and fungal infections has been detected by polymerase chain reaction (PCR) in human AD brain tissue and have been implicated in AD development. One example is herpes simplex virus type 1 (HSV-1) [221–223], which is an AD risk factor in people carrying the *APOE4* allele [224, 225]. Chlamydia pneumoniae, a Gram-negative bacteria, has been detected via PCR in the brain tissue of patients with AD [226, 227], where it was found to have infected microglia, astrocytes, and neurons [227]. Interestingly, fungal proteins and DNA have been identified in the brain tissue and CSF of patients with AD [228, 229]. In postmortem AD brains, co-infection with many fungi has also been reported, with fungal material identified inside neuronal cells and in many

Table 2 Clinical trials of non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with Alzheimer's disease

Drug and dosage regimen	Trial details (phase, design, duration of treatment)	Participants	Primary endpoint (s)	Main effect	Reference
PPARγ antagonists					
RSG 2, 4, or 8 mg od vs. PL	Phase III, ran 1:1, 24 wk	511 pts mild-to-moderate AD	ADAS-Cog and CIBIC + in ITT population	Significant interaction between <i>APOEϵ4</i> allele status and ADAS-cog. Significant improvement in ADAS-cog in <i>APOEϵ4</i> -negative pts on RSG 8 mg	[371]
PIO 15–30 mg od	Pilot study, ran, ol, 6 mo	42 pts mild AD	rCBF and plasma levels of A β 40 and A β 42	Improved cognition and rCBF in parietal lobe	[367]
PIO 45 mg od vs. PL, and Vit. E 200 IU od	Pilot study, ran 1:1, 18 mo	25 pts probable AD	Frequency of reported AEs	Principal AE was peripheral edema (28.6% PIO vs. 0% PL)	[369]
PIO	Pro cohort study, 6 y	145,928 subjects aged \geq 60 y		Long-term use of PIO reduced dementia risk by 47%	[368]
RSG od PL, 2 or 8 mg RSG XR or DON 10 mg (control)	Phase III, ran 1:1, 24 wk	639 pts probable AD	Change in ADAS-Cog score and CIBIC+	Significant difference CIBIC+. Peripheral edema was the most common AE for RSG XR 8 mg (15%)	[397]
RSG 4 mg od vs. PL	Pilot study, ran 1:1, 6 mo	30 subjects mild AD or amnesic MCI	Cognitive performance and plasma A β levels	Better delayed recall (at 4 and 6 mo) and selective attention (6 mo)	[370]
RSG 2 or 8 mg od	Phase III, ran 1:1 48 wk	2981 pts mild-to-moderate AD	Change from baseline in ADAS-cog and CDR-SB scores	Relevant differences between treatment groups	[398]
TNFα inhibitors					
Perispinal ETA 25–50 mg ow	pro, single-center, ol, pilot (proof-of-concept) study, 6 mo	15 pts mild-to-severe AD	MMSE, ADAS-cog, SIB	Significant improvement by all primary efficacy variables	[373]
Perispinal ETA 25–50 mg ow	pro, single-center, ol, pilot study, 6 mo	12 pts mild-to-severe AD	California Verbal Learning Test-Second Edition, Adult Version; WMS-LM-II, TMT; Boston Naming Test FAS, and category verbal fluency	Significant improvement by all primary efficacy variables except Boston Naming Test	[372]
SC ETA 50 mg ow	Pilot study, ran 1:1, 24 wk	41 pts mild to moderate AD	Cognition, global function, behavior, systemic cytokine levels	Trends but no statistically significant changes in cognition, behavior, or global function	[399]
Microglia inhibitor					
ITA (CHF5074; CSP1103) 200, 400 or 600 mg od or PL	Pilot study, ran 1:1, pg, ascending dose, 12 wk	96 pts MCI	Vital signs, cardiac safety, neuropsychological performance, safety clinical laboratory parameters	sCD40L and TNF α in CSF inversely related to CHF5074 dose. Plasma levels of sCD40L with 600 mg/day significantly lower. Positive dose–response trend was found on executive function in <i>APOE4</i>	[400]

Table 2 continued

Drug and dosage regimen	Trial details (phase, design, duration of treatment)	Participants	Primary endpoint (s)	Main effect	Reference
MAPKα					
Neflamapimod (VX745)	NA https://clinicaltrials.gov/ (NCT02423122; NCT02423200)	Cytokines, A β , phospho-tau, neurofilament light chain and butyrylcholinesterase in CFS, and fludeoxyglucose PET	Treatment effects on immediate and delayed recall aspects of episodic memory		
Other agents					
PRE 20 mg od for 4 wk, maintenance dose 10 mg od vs. PL	Phase II, ran 1:1, 1 year	138 pts AD	ADAS-cog	No change in ADAS-cog score	[374]
HYD 200–400 mg od by body weight vs. PL	Phase II, ran 1:1, 18 mo	168 pts mild AD	ADL, cognitive function, behavioral abnormalities	Any specific subgroup benefited from hydroxychloroquine	[378]
SIM up to 80 mg as tolerated vs. PL	Pilot study, ran 1:1, 26 wk	44 pts AD	CSF biomarkers A β 1–40 and A β 1–42	Significantly decreased A β 1–40 in mild AD	[376]
ATO 80 mg od vs. PL	Pilot study, ran 1:1, 1 y	67 pts mild AD	ADAS-cog, CGI LOCF analysis	Significant change in the scales	[377]
ATO 80 mg od vs. PL	Phase III, ran 1:1, 72 wk	640 pts mild-to-moderate AD (MMSE 13–25)	ADAS-cog, CGI (co-primaries)	Not associated with significant clinical benefit	[375]
IV Ig 0.2 or 0.4 g/kg q2w vs. PL	Phase III, ran 1:1, 18 mo	390 subjects mild to moderate AD	ADCS-AD	No beneficial effects	[401]
TRI 900 mg od vs. PL	Phase II, ran 1:1, 18 mo	257 amnesic MCI	ADAS-cog, conversion to dementia	Significantly lower rate of conversion to dementia	[402]
OFA 2.3 g	Pilot study, ran 1:1, 6 mo	35 pts mild AD	sIL-1RII and A β 1–42 in CSF	Influence on inflammatory or biomarkers in CSF or plasma	[403]
CIL 100 mg od vs. control (ASA 100 mg or CLO 50–75 mg od)	Pilot study, ran 1:1, 6 mo	20 pts AD and CVD	ADAS-cog, Wechsler Memory Scale, TMT-A	Preventive effect on cognitive decline	[404]
HG-CSF 5-day schedule vs. PL	Pilot (proof-of-concept) study, ran 1:1, cross-over design	8 pts mild to moderate AD	CANTAB computerized system	Positive change in hippocampal-dependent task of cognitive performance	[405]

Table 2 continued

Drug and dosage regimen	Trial details (phase, design, duration of treatment)	Participants	Primary endpoint (s)	Main effect	Reference
RES 500 mg od (escalation by 500 mg increments q13w, ending with 1000 mg bid)	Phase II, ran 1:1 52-wk	119 pts mild-to moderate AD	A β 1–40 biomarkers in CSF and serum, brain volume	CSF A β 40 and plasma A β 40 levels declined more with PL; brain volume loss increased	[406]

A β amyloid beta, AD Alzheimer's disease, ADAPT Alzheimer's Disease Anti-inflammatory, ADAS-cog Alzheimer Disease Assessment Scale-cognitive portion, ADCS-AD Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living Inventory, ADL activities of daily living, AE adverse effect, ASA acetylsalicylic acid (aspirin), ATO atorvastatin, bid twice daily, CDR Clinical Dementia Rating, CGI Clinical Global Impression, CIBIC-+ Clinician's Interview-Based Impression of Change Plus Caregiver Input, CIL cilostazol, CLO clopidogrel, CVD cardiovascular, DON donepezil, ETA etanercept, HG-CSF human granulocyte colony-stimulating-factor, HYD hydroxychloroquine, Ig immunoglobulin, ITA itanaprazed, ITT intention-to-treat, IV intravenous, LOCF last observation carried forward, MAPK mitogen-activated protein kinase, MCI mild cognitive impairment, MMSE Mini-Mental State Examination, mo months, od once daily, OFA omega-3 fatty acids, ol open-label, ow once weekly, pg parallel-group, PIO pioglitazone, PL placebo, PPAR peroxisome proliferator-activated receptor, PRE prednisone, pro prospective, pt(s) patient(s), q xw every x weeks, ran randomized, rCBF regional cerebral blood flow, RES resveratrol, RSG XR rosiglitazone extended release, SC subcutaneous, SIB Severe Impairment Battery, SIM simvastatin, TMT Trail Making Test, TNF tumor necrosis factor, TRI triflusal, Vit. vitamin, wk weeks, WMS-LM-II Logical Memory I and II from the Wechsler Memory Scale-Abbreviated, y year

Adapted from Heneka et al [396] with permission

regions [230, 231]. The significance of these findings remains uncertain because several factors, including post-mortem time and handling, must be considered before conclusions are drawn. In addition, causality is notoriously difficult to ascertain in these scenarios. Systemic inflammation certainly has an impact on the brain, which is not at all “immune privileged,” as textbooks still suggest. Thus, higher rates of cognitive decline have been observed in patients with AD with acute systemic inflammation [214]. Leaky gut may be one of the drivers of systemic inflammation and is directly related to an imbalance of gut microbiota [232].

7.2 Traumatic Brain Injury

Traumatic brain injury (TBI) leads to damaged blood vessels, axons, nerve cells, and glia of the brain in a focal, multifocal, or diffuse pattern, resulting in impaired brain function [233, 234]. A single moderate or severe TBI may increase the risk of developing late-onset AD, whereas repetitive mild TBI (e.g., through contact sport) is associated with an elevated risk of chronic traumatic encephalopathy [235, 236]. Two key meta-analyses of case-control studies found a significant association between moderate-severe TBI and AD [237, 238]. Furthermore, human pathological studies evince abnormal accumulation of AD-related pathological proteins, including soluble and insoluble A β and hyperphosphorylated tau aggregates, following TBI. This, in turn, is supported by studies in large animals [239, 240]. Aggregation and

deposition of A β is accelerated after an acute TBI event, with changes within a mere 24 h up to 2 months after injury in animal studies [240–244]. Further, aggregation and deposition of A β have been associated with memory impairments in 3xTg-AD mice [244]. Aberrant tau phosphorylation has also been described in several models after TBI [245–248]. The formation of misfolded A β and tau oligomeric seeds triggered by TBI may lead to spreading of the pathology in a prion-like manner, causing a faster and more severe onset of the disease [249].

7.3 Smoking

The role of smoking as a modifiable risk factor in AD is controversial. Some early case-control studies reported smoking had a beneficial effect on AD [250, 251]. In contrast, more recent cohort studies without affiliation to the tobacco industry clearly point towards a deleterious impact [252, 253]. Meta-analyses of these studies showed that smoking during a lifetime is associated with at least a 1.7 times higher risk of AD [254]. Although this increase obviously correlates with smoking intensity and duration [255], the findings regarding former smoking status are more heterogeneous. Reitz et al. [252] observed no association between past smoking and AD, whereas Aggarwal et al. [253] reported a lower risk for former smokers carrying the *ApoE ϵ 4* allele than for those who never smoked.

It is estimated that, today, smoking accounts for 4.7 million AD cases worldwide [256]. Evidence from various in vitro and in vivo studies suggests that sustained cigarette

smoke exposure facilitates the emergence of regional A β and tau pathology [257, 258]. Several possible pathways are likely to contribute to the development of pathological AD features in smokers. These include cerebrovascular dysfunction [259], neuroinflammation [258], and protein misfolding and aggregation [260, 261], which all may be triggered by an increase in oxidative stress [262–264]. However, human postmortem studies yielded contradictory results concerning the link between smoking and AD neuropathology, as A β levels were reduced in the brains of active smoker AD cases compared with never-smoking patients [265]. Remarkably, nicotine and some related compounds exert neuroprotective effects in a variety of model systems [266–268], for example via activation of nicotinic acetylcholine receptors [269] or direct binding to A β fibrils [270].

7.4 Physical Activity

A case–control study showed patients with AD were less active in midlife [271]. Physical inactivity is accompanied by several secondary effects, including obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus (T2DM), and cardiovascular disease [272]. In contrast, regular physical exercise positively influences neurogenesis, brain plasticity, and metabolic function, reduces levels of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress [273–275], and can alter disease-related biomarkers in patients with dementia [276]. Thus, it is not surprising that cognitive function and mental processing speed in elderly people could be significantly improved with leisure time activities and exercise programs [256, 277–279]. However, Küster et al. [280] showed that a (self-reported) active lifestyle rather than the exercise itself is associated with a decreased risk of AD. Whether physical exercise benefits all patient populations equally remains controversial [276, 281]. Some studies report a stronger effect of physical activity among *APOE4* carriers compared with non-carriers [282–284], whereas others could not replicate these results [285–287]. Analysis of different animal models suggests positive effects of physical exercise on BDNF levels, oxidative stress and even A β and tau pathology, resulting in delayed disease onset and progression [288–291].

7.5 Diet and Obesity

Many specific dietary components have been studied in relation to AD. In clinical studies, a higher intake of unsaturated fatty acids, antioxidants, and vitamins B₁₂ and folate have been associated with a lower risk for AD and cognitive decline [292–294]. However, the opposite or even no effect has also been found for these factors [295–297]. Instead of focusing on individual dietary

components, the effect of overall dietary patterns (which incorporates nutrient interaction) has been examined, including the Mediterranean Diet (MeDi) [298], Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) [299], and the Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) [300]. These studies point towards diet as having a protective effect against cognitive decline and development of AD [299, 301–307].

In contrast, overnutrition can lead to obesity, which in turn has been associated with AD development. Obesity is characterized by leptin and insulin resistance, leading to impaired energy metabolism and chronic inflammation [308]. This chronic inflammatory status can cause cellular stress and neurodegeneration and is thought to be the link between obesity and its adverse effects on cognitive performance and AD development [309–313]. Most importantly, some of these effects may occur as early as midlife. Thus, increased body mass index and sagittal abdominal diameter in men aged 40–45 years has been associated with an increased risk of AD in later life [314].

7.6 Lifetime Distress

Lifetime frequency of stress exposure is consistently associated with the incidence of mild cognitive impairment (MCI) and may increase the risk of late-onset AD [315–317]. In particular, higher levels of the stress hormone cortisol are associated with an accelerated age-related decline in cognition [318, 319]. The hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis regulates the release of cortisol in humans or the corresponding corticosterone in rodents. This system is dysregulated in patients with AD, with higher cortisol levels found in the blood plasma and CSF of subjects with AD than in age-matched controls [318, 320].

Interestingly, exposing rodents to stressful experiences increases corticosterone levels and glucocorticoid receptor activation, resulting in aggravation of AD-related neuropathology in various transgenic models [321–326]. Microglia are highly responsive to glucocorticoids, with abundant glucocorticoid receptor expression levels [327]. Furthermore, glucocorticoids can induce a pro-inflammatory microglial phenotype upon stress, especially following a secondary inflammatory challenge [328–330].

7.7 Diabetes Mellitus

T2DM affects approximately 370 million people worldwide, accounting for 90–95% of all patients with diabetes [331]. The disease is characterized by hyperglycemia, insulin resistance, and relative lack of insulin [332]. People with T2DM have a 73% greater risk of developing dementia [333] and decreased white and grey matter

volume of the temporal and frontal lobes [334, 335]. Cortical and hippocampal atrophies have also been observed in diabetic mice (db/db) [336].

Importantly, insulin resistance leads to the generation of NFTs: decreased activation of protein kinase B in T2DM results in ineffective inhibition of glycogen synthase kinase 3, thus mediating tau phosphorylation and formation of NFTs [337, 338]. In addition, insulin levels in patients with diabetes mean the insulin-degrading enzyme is sequestered away from A β , which fosters the accumulation of A β in the brain [339, 340]. Patients with T2DM have impaired immunological defense mechanisms, resulting in frequent infections, which may contribute to the development of AD [341]. The concentration of pro-inflammatory cytokines in the CSF is increased in patients with T2DM [342]; indeed, chronic sub-acute inflammation can also induce insulin resistance and cause T2DM [343].

8 Protection by Anti-inflammatory Strategies

8.1 Past and Present Strategies

Various anti-inflammatory therapeutic approaches have been taken to modify AD progression over the past 2 decades, ranging from non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to TNF α inhibition.

8.1.1 Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)

One of those approaches was ADAPT (Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial). This trial was constructed to examine whether NSAIDs could prevent or delay the onset of AD and whether such treatment could impact cognitive decline associated with aging [344].

Early epidemiological studies had suggested that long-term treatment with NSAIDs decreased the risk of AD development [345–348]. Additionally, strong experimental evidence has emerged supporting the positive effect of NSAIDs in AD animal models [80, 349]. NSAIDs have been shown to reduce A β secretion and accumulation, both in vitro and in vivo, to modulate γ -secretase activity, to exert an anti-inflammatory effect, and to improve cognitive function in AD mouse models [350–355].

However, most NSAIDs have not convincingly shown any beneficial effects during clinical trials in patients with AD [356]. Only a small, early study using indomethacin in patients with AD [357], which has not been replicated, and a follow-up analysis from the ADAPT research group using naproxen [358] have shown positive effects. Aspirin also did not prove effective against AD but increased the risk of serious bleeds (AD2000 trial).

8.1.2 Non-NSAIDs

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ agonism has consistently been shown to reduce the production of inflammatory cytokines and amyloid accumulation in AD mouse models [351, 359–362]. Rosiglitazone induces activation of the ERK pathway, leading to cognitive enhancement in AD models [363–366]. Pioglitazone has been found to improve cognition and cerebral blood flow in mild AD [367]. Additionally, pioglitazone treatment reduced dementia risk in patients with initially non-insulin-dependent diabetes mellitus in a case–control study [368]. However, a pilot randomized clinical trial for the safety of this drug in patients with AD found no significant effect [369]. Rosiglitazone has been found to delay cognitive decline in patients with early AD and MCI [370]. Another study showed improvement in cognitive function using pioglitazone, which was restricted to *APOE ϵ 4* non-carriers [371]. The TOMORROW study is ongoing and will evaluate the efficacy of pioglitazone versus placebo in delaying the onset of MCI-AD in cognitively normal participants who are at high risk for developing MCI within the next 5 years (NCT01931566).

8.1.3 Tumor Necrosis Factor- α Inhibitors

Inhibiting TNF α signaling has also become an interesting and promising approach to the treatment of AD. A clinical case report found that intrathecal administration of infliximab (an antibody against TNF α already approved for other indications) reduced A β plaques and tau pathology in APP/PS1 mice and enhanced cognitive function. Additionally, two small pilot clinical studies using a different TNF α inhibitor, etanercept, showed cognitive improvement in patients with AD [372, 373]. However, these studies used small sample sizes and an open-label design and lacked a placebo group. Thus, a larger well-designed placebo-controlled study would be necessary to assess the possible utility of TNF α in AD [349].

8.1.4 Other Anti-inflammatory Drugs

Trials have examined other anti-inflammatory drugs, such as prednisone, hydroxychloroquine, simvastatin, and atorvastatin, but have shown no significant positive cognitive effects in patients with AD [368, 374–378].

8.2 Future Strategies

Recently, fenamate NSAIDs including mefenamic acid were found to selectively inhibit NLRP3 through the inhibition of volume-regulated ion channels (VRACs), thereby preventing cognitive impairments in rodent models

of AD. Mefenamic acid is already on the market and is used for abdominal pain in premenstrual syndrome. MCC950, a new potent NLRP3-selective inhibitor has been developed but is not yet available for clinical use [379]. Anakinra, an IL-1 receptor antagonist, and a neutralizing antibody, canakinumab, have been proposed to work by inhibiting this NLRP3 axis, but the cost benefit and bioavailability in the brain remains a concern [380].

CSP-1103 (also known as CHF 5074 or Itanaprazed) is now in phase III clinical trials as a microglia modulator. It may inhibit A β plaque deposition, reduce tau pathology, restore normal microglial function by increasing phagocytosis, and decrease production of pro-inflammatory cytokines [381].

Some other new therapeutic targets have been proposed. MAPK α inhibitors (e.g., Neflamapimod [VX-745]) could reduce IL-1 β levels [382] (NCT02423200). Administration of low-dose IL-2 could increase plaque-associated microglia and improve cognitive performance [383]. C3aR antagonist SB290157 could decrease amyloid load and microgliosis [384]. PD-1 inhibitors could reduce plaque load and improve cognition [385]. Blocking the p40 common subunit of IL-12 and IL-23 could decrease amyloid burden [122, 359, 386]. A CD33 inhibitor might promote microglial phagocytosis of A β [387].

9 Summary and Conclusions

Neuroinflammation in AD is likely to arise from the recognition of A β by PRRs on the surface of innate immune cells in the brain. Once initiated, sustained inflammation and neurodegeneration may unleash further factors, which, in turn, act as DAMPs and thereby contribute to the persisting and chronic sterile immune reaction in the brain. Several mechanisms of interaction by which inflammatory processes contribute to disease progression have been identified. Given that deposition of A β occurs decades prior to the first amnesic and cognitive deficits, such mechanisms may represent promising therapeutic targets. Identification of suitable mode and site of intervention models, which better target the human cerebral innate immune system, and associated biomarkers, is urgently required.

Acknowledgements The authors thank Ildiko Racz and Cathy Widmann for editorial assistance.

Compliance with Ethical Standards

Funding No outside funding was used for this article. The open access fee was covered by University of Bonn.

Conflicts of interest MTH has a patent pending on nitration of amyloid β peptides (WO 2011006871 A1). GEL has a patent pending on an RXR agonist in Alzheimer's disease (WO 2011006157 A2). PAL is an employee of Pfizer, Germany. AA-F, EWGMB, AB-S, BS, KC, CD, TD, GG, LH, AH, LI, SJ, SC-G, KK, NL, RMM, AP, KR, JMS-C, AT, AVdP, AV, CV, AW, PW, TSW, XX, and YY have no conflicts of interest.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

1. World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update. 2008.
2. Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*. 2010;330(6005):841–5.
3. Kierdorf K, Erny D, Goldmann T, Sander V, Schulz C, Perdiguero EG, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways. *Nat Neurosci*. 2013;16(3):273–80.
4. Ajami B, Bennett JL, Krieger C, Tetzlaff W, Rossi FMV. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat Neurosci*. 2007;10(12):1538–43.
5. Tay TL, Hagemeyer N, Prinz M. The force awakens: insights into the origin and formation of microglia. *Curr Opin Neurobiol*. 2016;39:30–7.
6. Elmore MRP, Najafi AR, Koike MA, Dagher NN, Spangenberg EE, Rice RA, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor signaling is necessary for microglia viability, unmasking a microglia progenitor cell in the adult brain. *Neuron*. 2014;82(2):380–97.
7. Baroja-Mazo A, Martín-Sánchez F, Gomez AI, Martínez CM, Amores-Iniesta J, Compan V, et al. The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response. *Nat Immunol*. 2014;15(8):738–48.
8. Koenigsknecht-Talboo J, Landreth GE. Microglial phagocytosis induced by fibrillar beta-amyloid and IgGs are differentially regulated by proinflammatory cytokines. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2005;25(36):8240–9.
9. Sondag CM, Dhawan G, Combs CK. Beta amyloid oligomers and fibrils stimulate differential activation of primary microglia. *J Neuroinflamm*. 2009;6:1.
10. Bamberger ME, Harris ME, McDonald DR, Husemann J, Landreth GE. A cell surface receptor complex for fibrillar beta-amyloid mediates microglial activation. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2003;23(7):2665–74.
11. Ries M, Sastre M. Mechanisms of A β clearance and degradation by glial cells. *Front Aging Neurosci (Internet)*. 2016;8:160. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00160>.
12. Tahara K, Kim H-D, Jin J-J, Maxwell JA, Li L, Fukuchi K. Role of toll-like receptor signalling in A β uptake and clearance. *Brain J Neurol*. 2006;129(Pt 11):3006–19.
13. Wilkinson K, El Khoury J. Microglial scavenger receptors and their roles in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis*. 2012;2012:489456.
14. Hickman SE, Allison EK, El Khoury J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging

- Alzheimer's disease mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2008;28(33):8354–60.
15. Thériault P, ElAli A, Rivest S. The dynamics of monocytes and microglia in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2015;7(1):41.
 16. Weiner HL, Frenkel D. Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(5):404–16.
 17. Frackowiak J, Wisniewski HM, Wegiel J, Merz GS, Iqbal K, Wang KC. Ultrastructure of the microglia that phagocytose amyloid and the microglia that produce beta-amyloid fibrils. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1992;84(3):225–33.
 18. Krabbe G, Halle A, Matyash V, Rinnenthal JL, Eom GD, Bernhardt U, et al. Functional impairment of microglia coincides with beta-amyloid deposition in mice with Alzheimer-like pathology. *PLOS One*. 2013;8(4):e60921.
 19. Jacobs AH, Tavitian B, INMiND consortium. Noninvasive molecular imaging of neuroinflammation. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(7):1393–415.
 20. Stefaniak J, O'Brien J. Imaging of neuroinflammation in dementia: a review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(1):21–8.
 21. Varley J, Brooks DJ, Edison P. Imaging neuroinflammation in Alzheimer's disease and other dementias: recent advances and future directions. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015;11(9):1110–20.
 22. Lavis S, Guillemier M, Hérard A-S, Petit F, Delahaye M, Van Camp N, et al. Reactive astrocytes overexpress TSPO and are detected by TSPO positron emission tomography imaging. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2012;32(32):10809–18.
 23. Liu G-J, Middleton RJ, Hatty CR, Kam WW-Y, Chan R, Pham T, et al. The 18 kDa translocator protein, microglia and neuroinflammation. *Brain Pathol Zurich Switz*. 2014;24(6):631–53.
 24. Venneti S, Lopresti BJ, Wiley CA. The peripheral benzodiazepine receptor (translocator protein 18 kDa) in microglia: from pathology to imaging. *Prog Neurobiol*. 2006;80(6):308–22.
 25. Chauveau F, Boutin H, Van Camp N, Dollé F, Tavitian B. Nuclear imaging of neuroinflammation: a comprehensive review of [¹¹C]PK11195 challengers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(12):2304–19.
 26. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, Song K, Wadsworth G, Lewis A, et al. An 18-kDa translocator protein (TSPO) polymorphism explains differences in binding affinity of the PET radioligand PBR28. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(1):1–5.
 27. Turkheimer FE, Rizzo G, Bloomfield PS, Howes O, Zanotti-Fregonara P, Bertoldo A, et al. The methodology of TSPO imaging with positron emission tomography. *Biochem Soc Trans*. 2015;43(4):586–92.
 28. Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet Lond Engl*. 2001;358(9280):461–7.
 29. Edison P, Archer HA, Gerhard A, Hinz R, Pavese N, Turkheimer FE, et al. Microglia, amyloid, and cognition in Alzheimer's disease: an [¹¹C](R)PK11195-PET and [¹¹C]PIB-PET study. *Neurobiol Dis*. 2008;32(3):412–9.
 30. Fan Z, Aman Y, Ahmed I, Chetelat G, Landeau B, Ray Chaudhuri K, et al. Influence of microglial activation on neuronal function in Alzheimer's and Parkinson's disease dementia. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015;11(6):608–21.e7.
 31. Okello A, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Kennedy J, Bullock R, et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: a PET study. *Neurology*. 2009;72(1):56–62.
 32. Hamelin L, Lagarde J, Dorothée G, Leroy C, Labit M, Comley RA, et al. Early and protective microglial activation in Alzheimer's disease: a prospective study using 18F-DPA-714 PET imaging. *Brain J Neurol*. 2016;139(Pt 4):1252–64.
 33. Kreisl WC, Lyoo CH, McGwier M, Snow J, Jenko KJ, Kimura N, et al. In vivo radioligand binding to translocator protein correlates with severity of Alzheimer's disease. *Brain J Neurol*. 2013;136(Pt 7):2228–38.
 34. Suridjan I, Pollock BG, Verhoeff NPLG, Voineskos AN, Chow T, Rusjan PM, et al. In-vivo imaging of grey and white matter neuroinflammation in Alzheimer's disease: a positron emission tomography study with a novel radioligand, [18F]-FEPPA. *Mol Psychiatry*. 2015;20(12):1579–87.
 35. Varrone A, Oikonen V, Forsberg A, Joutsa J, Takano A, Solin O, et al. Positron emission tomography imaging of the 18-kDa translocator protein (TSPO) with [18F]FEMPA in Alzheimer's disease patients and control subjects. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(3):438–46.
 36. Yasuno F, Kosaka J, Ota M, Higuchi M, Ito H, Fujimura Y, et al. Increased binding of peripheral benzodiazepine receptor in mild cognitive impairment-dementia converters measured by positron emission tomography with [¹¹C]DAA1106. *Psychiatry Res*. 2012;203(1):67–74.
 37. Fan Z, Okello AA, Brooks DJ, Edison P. Longitudinal influence of microglial activation and amyloid on neuronal function in Alzheimer's disease. *Brain J Neurol*. 2015;138(Pt 12):3685–98.
 38. Yokokura M, Mori N, Yagi S, Yoshikawa E, Kikuchi M, Yoshihara Y, et al. In vivo changes in microglial activation and amyloid deposits in brain regions with hypometabolism in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(2):343–51.
 39. Carter SF, Schöll M, Almkvist O, Wall A, Engler H, Långström B, et al. Evidence for astrocytosis in prodromal Alzheimer disease provided by 11C-deuterium-L-deprenyl: a multitracer PET paradigm combining 11C-Pittsburgh compound B and 18F-FDG. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med*. 2012;53(1):37–46.
 40. Choo ILH, Carter SF, Schöll ML, Nordberg A. Astrocytosis measured by ¹¹C-deprenyl PET correlates with decrease in gray matter density in the parahippocampus of prodromal Alzheimer's patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(11):2120–6.
 41. Santillo AF, Gambini JP, Lannfelt L, Långström B, Ulla-Marja L, Kilander L, et al. In vivo imaging of astrocytosis in Alzheimer's disease: an ¹¹C-L-deuteriodenprenyl and PIB PET study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(12):2202–8.
 42. Rodriguez-Vieitez E, Saint-Aubert L, Carter SF, Almkvist O, Farid K, Schöll M, et al. Diverging longitudinal changes in astrocytosis and amyloid PET in autosomal dominant Alzheimer's disease. *Brain J Neurol*. 2016;139(Pt 3):922–36.
 43. Nagele RG, D'Andrea MR, Lee H, Venkataraman V, Wang H-Y. Astrocytes accumulate A beta 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Res*. 2003;971(2):197–209.
 44. Wyss-Coray T, Loike JD, Brionne TC, Lu E, Anankov R, Yan F, et al. Adult mouse astrocytes degrade amyloid-beta in vitro and in situ. *Nat Med*. 2003;9(4):453–7.
 45. Vincent AJ, Gasperini R, Foa L, Small DH. Astrocytes in Alzheimer's disease: emerging roles in calcium dysregulation and synaptic plasticity. *J Alzheimers Dis*. 2010;22(3):699–714.
 46. Masliah E, Alford M, DeTeresa R, Mallory M, Hansen L. Deficient glutamate transport is associated with neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1996;40(5):759–66.
 47. Scimemi A, Meabon JS, Woltjer RL, Sullivan JM, Diamond JS, Cook DG. Amyloid-β1-42 slows clearance of synaptically released glutamate by mislocalizing astrocytic GLT-1. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2013;33(12):5312–8.

48. Ettle B, Schlachetzki JCM, Winkler J. Oligodendroglia and myelin in neurodegenerative diseases: more than just bystanders? *Mol Neurobiol*. 2016;53(5):3046–62.
49. Bartzokis G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2004;25(1):49–62.
50. Bartzokis G. Alzheimer's disease as homeostatic responses to age-related myelin breakdown. *Neurobiol Aging*. 2011;32(8):1341–71.
51. Bartzokis G, Lu PH, Mintz J. Quantifying age-related myelin breakdown with MRI: novel therapeutic targets for preventing cognitive decline and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2004;6(6 Suppl):S53–9.
52. Mítew S, Kirkcaldie MTK, Halliday GM, Shepherd CE, Vickers JC, Dickson TC. Focal demyelination in Alzheimer's disease and transgenic mouse models. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2010;119(5):567–77.
53. Desai MK, Mastrangelo MA, Ryan DA, Sudol KL, Narrow WC, Bowers WJ. Early oligodendrocyte/myelin pathology in Alzheimer's disease mice constitutes a novel therapeutic target. *Am J Pathol*. 2010;177(3):1422–35.
54. Prinz M, Priller J. Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(5):300–12.
55. Simard AR, Soulet D, Gowing G, Julien J-P, Rivest S. Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron*. 2006;49(4):489–502.
56. El Khoury J, Toft M, Hickman SE, Means TK, Terada K, Geula C, et al. Ccr2 deficiency impairs microglial accumulation and accelerates progression of Alzheimer-like disease. *Nat Med*. 2007;13(4):432–8.
57. Town T, Laouar Y, Pittenger C, Mori T, Szekely CA, Tan J, et al. Blocking TGF-beta-Smad2/3 innate immune signaling mitigates Alzheimer-like pathology. *Nat Med*. 2008;14(6):681–7.
58. Koronyo Y, Salumbides BC, Sheyn J, Pelissier L, Li S, Ljubimov V, et al. Therapeutic effects of glatiramer acetate and grafted CD115⁺ monocytes in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain J Neurol*. 2015;138(Pt 8):2399–422.
59. Prokop S, Miller KR, Drost N, Handrick S, Mathur V, Luo J, et al. Impact of peripheral myeloid cells on amyloid- β pathology in Alzheimer's disease-like mice. *J Exp Med*. 2015;212(11):1811–8.
60. Varvel NH, Grathwohl SA, Degenhardt K, Resch C, Bosch A, Jucker M, et al. Replacement of brain-resident myeloid cells does not alter cerebral amyloid-deposition in mouse models of Alzheimer's disease. *J Exp Med*. 2015;212(11):1803–9.
61. Wang Y, Ulland TK, Ulrich JD, Song W, Tzaferis JA, Hole JT, et al. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *J Exp Med*. 2016;213(5):667–75.
62. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*. 2007;81(1):1–5.
63. Vance RE, Isberg RR, Portnoy DA. Patterns of pathogenesis: discrimination of pathogenic and nonpathogenic microbes by the innate immune system. *Cell Host Microbe*. 2009;6(1):10–21.
64. Salminen A, Ojala J, Kauppinen A, Kaarniranta K, Suuronen T. Inflammation in Alzheimer's disease: amyloid-beta oligomers trigger innate immunity defence via pattern recognition receptors. *Prog Neurobiol*. 2009;87(3):181–94.
65. Liu S, Liu Y, Hao W, Wolf L, Kiliaan AJ, Penke B, et al. TLR2 is a primary receptor for Alzheimer's amyloid β peptide to trigger neuroinflammatory activation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2012;188(3):1098–107.
66. Fassbender K, Walter S, Kühl S, Landmann R, Ishii K, Bertsch T, et al. The LPS receptor (CD14) links innate immunity with Alzheimer's disease. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2004;18(1):203–5.
67. Halle A, Hornung V, Petzold GC, Stewart CR, Monks BG, Reinheckel T, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol*. 2008;9(8):857–65.
68. Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, Delekate A, Schwartz S, Vieira-Saecker A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature*. 2013;493(7434):674–8.
69. Takata K, Kitamura Y, Kakimura J, Shibagaki K, Tsuchiya D, Taniguchi T, et al. Role of high mobility group protein-1 (HMG1) in amyloid-beta homeostasis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;301(3):699–703.
70. Degryse B, Bonaldi T, Scaffidi P, Müller S, Resnati M, Sanvito F, et al. The high mobility group (HMG) boxes of the nuclear protein HMG1 induce chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells. *J Cell Biol*. 2001;152(6):1197–206.
71. Bianchi ME. HMGB1 loves company. *J Leukoc Biol*. 2009;86(3):573–6.
72. Castellani P, Balza E, Rubartelli A. Inflammation, DAMPs, tumor development, and progression: a vicious circle orchestrated by redox signaling. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1086–97.
73. Ciesielski-Treska J, Ulrich G, Chasserot-Golaz S, Zwiller J, Revel MO, Aunis D, et al. Mechanisms underlying neuronal death induced by chromogranin A-activated microglia. *J Biol Chem*. 2001;276(16):13113–20.
74. Kingham PJ, Cuzner ML, Pocock JM. Apoptotic pathways mobilized in microglia and neurones as a consequence of chromogranin A-induced microglial activation. *J Neurochem*. 1999;73(2):538–47.
75. Terada K, Yamada J, Hayashi Y, Wu Z, Uchiyama Y, Peters C, et al. Involvement of cathepsin B in the processing and secretion of interleukin-1beta in chromogranin A-stimulated microglia. *Glia*. 2010;58(1):114–24.
76. Weiler R, Lassmann H, Fischer P, Jellinger K, Winkler H. A high ratio of chromogranin A to synaptin/synaptophysin is a common feature of brains in Alzheimer and Pick disease. *FEBS Lett*. 1990;263(2):337–9.
77. Taupenot L, Remacle JE, Helle KB, Aunis D, Bader MF. Recombinant human chromogranin A: expression, purification and characterization of the N-terminal derived peptides. *Regul Pept*. 1995;56(1):71–88.
78. Maezawa I, Zimin PI, Wulff H, Jin L-W. Amyloid-beta protein oligomer at low nanomolar concentrations activates microglia and induces microglial neurotoxicity. *J Biol Chem*. 2011;286(5):3693–706.
79. Reed-Geaghan EG, Savage JC, Hise AG, Landreth GE. CD14 and toll-like receptors 2 and 4 are required for fibrillar A β -stimulated microglial activation. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2009;29(38):11982–92.
80. Heneka MT, Golenbock DT, Latz E. Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nat Immunol*. 2015;16(3):229–36.
81. Kummer MP, Hammerschmidt T, Martinez A, Terwel D, Eichele G, Witten A, et al. Ear2 deletion causes early memory and learning deficits in APP/PS1 mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2014;34(26):8845–54.
82. Moran O, Conti F, Tammaro P. Sodium channel heterologous expression in mammalian cells and the role of the endogenous beta1-subunits. *Neurosci Lett*. 2003;336(3):175–9.

83. Van Eldik LJ, Griffin WS. S100 beta expression in Alzheimer's disease: relation to neuropathology in brain regions. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1223(3):398–403.
84. Mori T, Koyama N, Arendash GW, Horikoshi-Sakuraba Y, Tan J, Town T. Overexpression of human S100B exacerbates cerebral amyloidosis and gliosis in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Glia*. 2010;58(3):300–14.
85. Thundiyil J, Lim K-L. DAMPs and neurodegeneration. *Ageing Res Rev*. 2015;24(Pt A):17–28.
86. Hauser CJ, Sursal T, Rodriguez EK, Appleton PT, Zhang Q, Itagaki K. Mitochondrial damage associated molecular patterns from femoral reamings activate neutrophils through formyl peptide receptors and P44/42 MAP kinase. *J Orthop Trauma*. 2010;24(9):534–8.
87. Barbalat R, Ewald SE, Mouchess ML, Barton GM. Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu Rev Immunol*. 2011;29(1):185–214.
88. Luong M, Zhang Y, Chamberlain T, Zhou T, Wright JF, Dower K, et al. Stimulation of TLR4 by recombinant HSP70 requires structural integrity of the HSP70 protein itself. *J Inflamm Lond Engl*. 2012;9(1):11.
89. Asea A, Rehli M, Kabling E, Boch JA, Bare O, Auron PE, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem*. 2002;277(17):15028–34.
90. Basu S, Binder RJ, Suto R, Anderson KM, Srivastava PK. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. *Int Immunol*. 2000;12(11):1539–46.
91. Yang Y, Turner RS, Gaut JR. The chaperone BiP/GRP78 binds to amyloid precursor protein and decreases Abeta40 and Abeta42 secretion. *J Biol Chem*. 1998;273(40):25552–5.
92. Dickey C, Kraft C, Jinwal U, Koren J, Johnson A, Anderson L, et al. Aging analysis reveals slowed tau turnover and enhanced stress response in a mouse model of tauopathy. *Am J Pathol*. 2009;174(1):228–38.
93. Pocock JM, Kettenmann H. Neurotransmitter receptors on microglia. *Trends Neurosci*. 2007;30(10):527–35.
94. Moreira PI, Carvalho C, Zhu X, Smith MA, Perry G. Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease pathophysiology. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1802(1):2–10.
95. Mao P, Manczak M, Calkins MJ, Truong Q, Reddy TP, Reddy AP, et al. Mitochondria-targeted catalase reduces abnormal APP processing, amyloid β production and BACE1 in a mouse model of Alzheimer's disease: implications for neuroprotection and lifespan extension. *Hum Mol Genet*. 2012;21(13):2973–90.
96. De Felice FG, Wu D, Lambert MP, Fernandez SJ, Velasco PT, Lacor PN, et al. Alzheimer's disease-type neuronal tau hyperphosphorylation induced by A beta oligomers. *Neurobiol Aging*. 2008;29(9):1334–47.
97. Wenk GL, Parsons CG, Danysz W. Potential role of *N*-methyl-D-aspartate receptors as executors of neurodegeneration resulting from diverse insults: focus on memantine. *Behav Pharmacol*. 2006;17(5–6):411–24.
98. Farso MC, O'Shea RD, Beart PM. Evidence group I mGluR drugs modulate the activation profile of lipopolysaccharide-exposed microglia in culture. *Neurochem Res*. 2009;34(10):1721–8.
99. Kaushal V, Schlichter LC. Mechanisms of microglia-mediated neurotoxicity in a new model of the stroke penumbra. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2008;28(9):2221–30.
100. Beaulieu J-M, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*. 2011;63(1):182–217.
101. Lee SP, So CH, Rashid AJ, Varghese G, Cheng R, Lança AJ, et al. Dopamine D1 and D2 receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. *J Biol Chem*. 2004;279(34):35671–8.
102. Suzuki T, Hide I, Matsubara A, Hama C, Harada K, Miyano K, et al. Microglial alpha7 nicotinic acetylcholine receptors drive a phospholipase C/IP3 pathway and modulate the cell activation toward a neuroprotective role. *J Neurosci Res*. 2006;83(8):1461–70.
103. Carnevale D, De Simone R, Minghetti L. Microglia-neuron interaction in inflammatory and degenerative diseases: role of cholinergic and noradrenergic systems. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2007;6(6):388–97.
104. Heneka MT, Nadrigny F, Regen T, Martinez-Hernandez A, Dumitrescu-Ozimek L, Terwel D, et al. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(13):6058–63.
105. Tanaka KF, Kashima H, Suzuki H, Ono K, Sawada M. Existence of functional beta1- and beta2-adrenergic receptors on microglia. *J Neurosci Res*. 2002;70(2):232–7.
106. Heneka MT, Galea E, Gavriluyk V, Dumitrescu-Ozimek L, Daeschner J, O'Banion MK, et al. Noradrenergic depletion potentiates beta -amyloid-induced cortical inflammation: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2002;22(7):2434–42.
107. Heneka MT, Gavriluyk V, Landreth GE, O'Banion MK, Weinberg G, Feinstein DL. Noradrenergic depletion increases inflammatory responses in brain: effects on IkappaB and HSP70 expression. *J Neurochem*. 2003;85(2):387–98.
108. Heneka MT, Ramanathan M, Jacobs AH, Dumitrescu-Ozimek L, Bilkei-Gorzo A, Debeir T, et al. Locus ceruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2006;26(5):1343–54.
109. Makar TK, Bever CT, Singh IS, Royal W, Sahu SN, Sura TP, et al. Brain-derived neurotrophic factor gene delivery in an animal model of multiple sclerosis using bone marrow stem cells as a vehicle. *J Neuroimmunol*. 2009;210(1–2):40–51.
110. Zhang J, Malik A, Choi HB, Ko RWY, Dissing-Olesen L, MacVicar BA. Microglial CR3 activation triggers long-term synaptic depression in the hippocampus via NADPH oxidase. *Neuron*. 2014;82(1):195–207.
111. Orre M, Kamphuis W, Osborn LM, Jansen AHP, Kooijman L, Bossers K, et al. Isolation of glia from Alzheimer's mice reveals inflammation and dysfunction. *Neurobiol Aging*. 2014;35(12):2746–60.
112. Su F, Bai F, Zhang Z. Inflammatory cytokines and Alzheimer's disease: a review from the perspective of genetic polymorphisms. *Neurosci Bull*. 2016;32(5):469–80.
113. Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(1):a006346.
114. Dursun E, Gezen-Ak D, Hanağasi H, Bilgiç B, Lohmann E, Ertan S, et al. The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. *J Neuroimmunol*. 2015;15(283):50–7.
115. Sciacca FL, Ferri C, Licastro F, Veglia F, Biunno I, Gavazzi A, et al. Interleukin-1B polymorphism is associated with age at onset of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(7):927–31.
116. Forlenza OV, Diniz BS, Talib LL, Mendonça VA, Ojopi EB, Gattaz WF, et al. Increased serum IL-1beta level in Alzheimer's

- disease and mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009;28(6):507–12.
117. Payão SLM, Gonçalves GM, de Labio RW, Horiguchi L, Mizumoto I, Rasmussen LT, et al. Association of interleukin 1 β polymorphisms and haplotypes with Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol*. 2012;247(1–2):59–62.
 118. Yuan H, Xia Q, Ge P, Wu S. Genetic polymorphism of interleukin 1 β -511C/T and susceptibility to sporadic Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013;40(2):1827–34.
 119. Yin Y, Liu Y, Pan X, Chen R, Li P, Wu H-J, et al. Interleukin-1 β promoter polymorphism enhances the risk of sleep disturbance in Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2016;11(3):e0149945.
 120. Trinchieri G, Pflanz S, Kastelein RA. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity*. 2003;19(5):641–4.
 121. Zhu X-C, Tan L, Jiang T, Tan M-S, Zhang W, Yu J-T. Association of IL-12A and IL-12B polymorphisms with Alzheimer's disease susceptibility in a Han Chinese population. *J Neuroimmunol*. 2014;274(1–2):180–4.
 122. Vom Berg J, Prokop S, Miller KR, Obst J, Kälin RE, Lopategui-Cabezas I, et al. Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Nat Med*. 2012;18(12):1812–9.
 123. Guillot-Sestier M-V, Doty KR, Gate D, Rodriguez J, Leung BP, Rezaei-Zadeh K, et al. IL10 deficiency rebalances innate immunity to mitigate Alzheimer-like pathology. *Neuron*. 2015;85(3):534–48.
 124. Chakrabarty P, Li A, Ceballos-Diaz C, Eddy JA, Funk CC, Moore B, et al. IL-10 alters immunoproteostasis in APP mice, increasing plaque burden and worsening cognitive behavior. *Neuron*. 2015;85(3):519–33.
 125. van der Wal EA, Gómez-Pinilla F, Cotman CW. Transforming growth factor-beta 1 is in plaques in Alzheimer and Down pathologies. *Neuroreport*. 1993;4(1):69–72.
 126. Chao CC, Ala TA, Hu S, Crossley KB, Sherman RE, Peterson PK, et al. Serum cytokine levels in patients with Alzheimer's disease. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1994;1(4):433–6.
 127. Zetterberg H, Andreassen N, Blennow K. Increased cerebrospinal fluid levels of transforming growth factor-beta1 in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2004;367(2):194–6.
 128. Wyss-Coray T, Lin C, Yan F, Yu GQ, Rohde M, McConlogue L, et al. TGF-beta1 promotes microglial amyloid-beta clearance and reduces plaque burden in transgenic mice. *Nat Med*. 2001;7(5):612–8.
 129. Chalmers KA, Love S. Neurofibrillary tangles may interfere with Smad 2/3 signaling in neurons. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007;66(2):158–67.
 130. Le Thuc O, Blondeau N, Nahon JL, Rovère C. The complex contribution of chemokines to neuroinflammation: switching from beneficial to detrimental effects. *Ann N Y Acad Sci*. 2015;1351(1):127–40.
 131. Harrison JK, Jiang Y, Chen S, Xia Y, Maciejewski D, McNamara RK, et al. Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(18):10896–901.
 132. Cardona AE, Pioro EP, Sasse ME, Kostenko V, Cardona SM, Dijkstra IM, et al. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat Neurosci*. 2006;9(7):917–24.
 133. Bhaskar K, Konerth M, Kokiko-Cochran ON, Cardona A, Ransohoff RM, Lamb BT. Regulation of tau pathology by the microglial fractalkine receptor. *Neuron*. 2010;68(1):19–31.
 134. Cho SH, Sun B, Zhou Y, Kauppinen TM, Halabisky B, Wes P, et al. CX3CR1 protein signaling modulates microglial activation and protects against plaque-independent cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 2011;286(37):32713–22.
 135. Nash KR, Lee DC, Hunt JB, Morganti JM, Selenica ML, Moran P, et al. Fractalkine overexpression suppresses tau pathology in a mouse model of tauopathy. *Neurobiol Aging*. 2013;34(6):1540–8.
 136. Lee DC, Rizer J, Selenica M-LB, Reid P, Kraft C, Johnson A, et al. LPS-induced inflammation exacerbates phospho-tau pathology in rTg4510 mice. *J Neuroinflamm*. 2010;7:56.
 137. Duan RS, Yang X, Chen ZG, Lu MO, Morris C, Winblad B, et al. Decreased fractalkine and increased IP-10 expression in aged brain of APPswe transgenic mice. *Neurochem Res*. 2008;33(6):1085–9.
 138. Kim T-S, Lim H-K, Lee JY, Kim D-J, Park S, Lee C, et al. Changes in the levels of plasma soluble fractalkine in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2008;436(2):196–200.
 139. Sokolova A, Hill MD, Rahimi F, Warden LA, Halliday GM, Shepherd CE. Monocyte chemoattractant protein-1 plays a dominant role in the chronic inflammation observed in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2009;19(3):392–8.
 140. He M, Dong H, Huang Y, Lu S, Zhang S, Qian Y, et al. Astrocyte-derived CCL2 is associated with m1 activation and recruitment of cultured microglial cells. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(3):859–70.
 141. Galimberti D, Fenoglio C, Lovati C, Venturelli E, Guidi I, Corrà B, et al. Serum MCP-1 levels are increased in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2006;27(12):1763–8.
 142. Westin K, Buchhave P, Nielsen H, Minthon L, Janciauskiene S, Hansson O. CCL2 is associated with a faster rate of cognitive decline during early stages of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2012;7(1):1–6.
 143. Kiyota T, Yamamoto M, Xiong H, Lambert MP, Klein WL, Gendelman HE, et al. CCL2 accelerates microglia-mediated A β oligomer formation and progression of neurocognitive dysfunction. *PLoS One*. 2009;4(7):e6197.
 144. Vodovotz Y, Lucia MS, Flanders KC, Chesler L, Xie QW, Smith TW, et al. Inducible nitric oxide synthase in tangle-bearing neurons of patients with Alzheimer's disease. *J Exp Med*. 1996;184(4):1425–33.
 145. Heneka MT, Wiesinger H, Dumitrescu-Ozimek L, Riederer P, Feinstein DL, Klockgether T. Neuronal and glial coexpression of argininosuccinate synthetase and inducible nitric oxide synthase in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(9):906–16.
 146. Kummer MP, Hermes M, Delekarte A, Hammerschmidt T, Kumar S, Terwel D, et al. Nitration of tyrosine 10 critically enhances amyloid β aggregation and plaque formation. *Neuron*. 2011;71(5):833–44.
 147. Yirmiya R, Goshen I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun*. 2011;25(2):181–213.
 148. Turrigiano GG. The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell*. 2008;135(3):422–35.
 149. Stellwagen D, Malenka RC. Synaptic scaling mediated by glial TNF-alpha. *Nature*. 2006;440(7087):1054–9.
 150. Riazi K, Galic MA, Kuzmiski JB, Ho W, Sharkey KA, Pittman QJ. Microglial activation and TNFalpha production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(44):17151–6.
 151. Dissing-Olesen L, LeDue JM, Rungta RL, Hefendehl JK, Choi HB, MacVicar BA. Activation of neuronal NMDA receptors triggers transient ATP-mediated microglial process outgrowth. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2014;34(32):10511–27.

152. Eyo UB, Peng J, Swiatkowski P, Mukherjee A, Bispo A, Wu L-J. Neuronal hyperactivity recruits microglial processes via neuronal NMDA receptors and microglial P2Y₁₂ receptors after status epilepticus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2014;34(32):10528–40.
153. Fontainhas AM, Wang M, Liang KJ, Chen S, Mettu P, Damani M, et al. Microglial morphology and dynamic behavior is regulated by ionotropic glutamatergic and GABAergic neurotransmission. *PLoS One*. 2011;6(1):e15973.
154. Li Y, Du X-F, Liu C-S, Wen Z-L, Du J-L. Reciprocal regulation between resting microglial dynamics and neuronal activity in vivo. *Dev Cell*. 2012;23(6):1189–202.
155. Ji K, Akgul G, Wollmuth LP, Tsirka SE. Microglia actively regulate the number of functional synapses. *PLoS One*. 2013;8(2):e56293.
156. Bisht K, Sharma KP, Lecours C, Sánchez MG, El Hajj H, Miliot G, et al. Dark microglia: a new phenotype predominantly associated with pathological states. *Glia*. 2016;64(5):826–39.
157. Vasek MJ, Garber C, Dorsey D, Durrant DM, Bollman B, Soung A, et al. A complement-microglial axis drives synapse loss during virus-induced memory impairment. *Nature*. 2016;534(7608):538–43.
158. Chen Z, Jalabi W, Shpargel KB, Farabaugh KT, Dutta R, Yin X, et al. Lipopolysaccharide-induced microglial activation and neuroprotection against experimental brain injury is independent of hematogenous TLR4. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2012;32(34):11706–15.
159. Chen Z, Jalabi W, Hu W, Park H-J, Gale JT, Kidd GJ, et al. Microglial displacement of inhibitory synapses provides neuroprotection in the adult brain. *Nat Commun*. 2014;22(5):4486.
160. Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, Frouin A, Li S, Ramakrishnan S, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science*. 2016;352(6286):712–6.
161. Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, Gass J, Rademakers R, Lindholm C, et al. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17. *Nature*. 2006;442(7105):916–9.
162. Cruts M, Gijssels I, van der Zee J, Engelborghs S, Wils H, Pirici D, et al. Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature*. 2006;442(7105):920–4.
163. Yin F, Banerjee R, Thomas B, Zhou P, Qian L, Jia T, et al. Exaggerated inflammation, impaired host defense, and neuropathology in progranulin-deficient mice. *J Exp Med*. 2010;207(1):117–28.
164. Lui H, Zhang J, Makinson SR, Cahill MK, Kelley KW, Huang H-Y, et al. Progranulin deficiency promotes circuit-specific synaptic pruning by microglia via complement activation. *Cell*. 2016;165(4):921–35.
165. Abiega O, Beccari S, Diaz-Aparicio I, Nadjar A, Layé S, Leyrolle Q, et al. Neuronal hyperactivity disturbs ATP microgradients, impairs microglial motility, and reduces phagocytic receptor expression triggering apoptosis/microglial phagocytosis uncoupling. *PLoS Biol*. 2016;14(5):e1002466.
166. Sierra A, Encinas JM, Deudero JJP, Chancey JH, Enikolopov G, Overstreet-Wadiche LS, et al. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell*. 2010;7(4):483–95.
167. Boulanger LM. Immune proteins in brain development and synaptic plasticity. *Neuron*. 2009;64(1):93–109.
168. Deverman BE, Patterson PH. Cytokines and CNS development. *Neuron*. 2009;64(1):61–78.
169. Gemma C, Bachstetter AD, Cole MJ, Fister M, Hudson C, Bickford PC. Blockade of caspase-1 increases neurogenesis in the aged hippocampus. *Eur J Neurosci*. 2007;26(10):2795–803.
170. Green HF, Nolan YM. Unlocking mechanisms in interleukin-1 β -induced changes in hippocampal neurogenesis—a role for GSK-3 β and TLX. *Transl Psychiatry*. 2012;2(2):e194.
171. Guadagno J, Swan P, Shaikh R, Cregan SP. Microglia-derived IL-1 β triggers p53-mediated cell cycle arrest and apoptosis in neural precursor cells. *Cell Death Dis*. 2015;4(6):e1779.
172. Koo JW, Duman RS. IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(2):751–6.
173. Wu MD, Montgomery SL, Rivera-Escalera F, Olschowka JA, O'Banion MK. Sustained IL-1 β expression impairs adult hippocampal neurogenesis independent of IL-1 signaling in nestin+ neural precursor cells. *Brain Behav Immun*. 2013;32:9–18.
174. Zhang K, Xu H, Cao L, Li K, Huang Q. Interleukin-1 β inhibits the differentiation of hippocampal neural precursor cells into serotonergic neurons. *Brain Res*. 2013;15(1490):193–201.
175. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Choudhury S, Musaeian K, Myint AM, et al. Interleukin-1 β : a new regulator of the kynurenine pathway affecting human hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2012;37(4):939–49.
176. Biber K, Neumann H, Inoue K, Boddeke HWGM. Neuronal “On” and “Off” signals control microglia. *Trends Neurosci*. 2007;30(11):596–602.
177. Hellwig S, Heinrich A, Biber K. The brain's best friend: microglial neurotoxicity revisited. *Front Cell Neurosci*. 2013;7:71.
178. Maggi L, Scianni M, Branchi I, D'Andrea I, Lauro C, Limatola C. CX(3)CR1 deficiency alters hippocampal-dependent plasticity phenomena blunting the effects of enriched environment. *Front Cell Neurosci*. 2011;5:22.
179. Reshef R, Kreisel T, Beroukhim Kay D, Yirmiya R. Microglia and their CX3CR1 signaling are involved in hippocampal-but not olfactory bulb-related memory and neurogenesis. *Brain Behav Immun*. 2014;41:239–50.
180. Rogers JT, Morganti JM, Bachstetter AD, Hudson CE, Peters MM, Grimmig BA, et al. CX3CR1 deficiency leads to impairment of hippocampal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2011;31(45):16241–50.
181. Sellner S, Paricio-Montesinos R, Spieß A, Masuch A, Emy D, Harsan LA, et al. Microglial CX3CR1 promotes adult neurogenesis by inhibiting Sirt1/p65 signaling independent of CX3CL1. *Acta Neuropathol Commun*. 2016;4(1):102.
182. Corona AW, Norden DM, Skendelas JP, Huang Y, O'Connor JC, Lawson M, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition attenuates lipopolysaccharide induced persistent microglial activation and depressive-like complications in fractalkine receptor (CX(3)CR1)-deficient mice. *Brain Behav Immun*. 2013;31:134–42.
183. Bachstetter AD, Morganti JM, Jernberg J, Schlunk A, Mitchell SH, Brewster KW, et al. Fractalkine and CX 3 CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. *Neurobiol Aging*. 2011;32(11):2030–44.
184. Damani MR, Zhao L, Fontainhas AM, Amaral J, Fariss RN, Wong WT. Age-related alterations in the dynamic behavior of microglia. *Aging Cell*. 2011;10(2):263–76.
185. Hefendehl JK, Neher JJ, Sühs RB, Kohsaka S, Skodras A, Jucker M. Homeostatic and injury-induced microglia behavior in the aging brain. *Aging Cell*. 2014;13(1):60–9.
186. Eggen BJL, Raj D, Hanisch U-K, Boddeke HWGM. Microglial phenotype and adaptation. *J Neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol*. 2013;8(4):807–23.
187. Gemma C, Bachstetter AD. The role of microglia in adult hippocampal neurogenesis. *Front Cell Neurosci*. 2013;22(7):229.

188. Harry GJ. Microglia during development and aging. *Pharmacol Ther.* 2013;139(3):313–26.
189. Niraula A, Sheridan JF, Godbout JP. Microglia priming with aging and stress. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* 2017;42(1):318–33.
190. Perry VH. Contribution of systemic inflammation to chronic neurodegeneration. *Acta Neuropathol (Berl).* 2010;120(3):277–86.
191. Raj DDA, Jaarsma D, Holtman IR, Olah M, Ferreira FM, Schaafsma W, et al. Priming of microglia in a DNA-repair deficient model of accelerated aging. *Neurobiol Aging.* 2014;35(9):2147–60.
192. Wong WT. Microglial aging in the healthy CNS: phenotypes, drivers, and rejuvenation. *Front Cell Neurosci.* 2013;7:22.
193. Dong X, Wang Y, Qin Z. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 2009;30(4):379–87.
194. Clements JD, Lester RA, Tong G, Jahr CE, Westbrook GL. The time course of glutamate in the synaptic cleft. *Science.* 1992;258(5087):1498–501.
195. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol.* 2001;65(1):1–105.
196. Holmseth S, Scott HA, Real K, Lehre KP, Leergaard TB, Bjaalie JG, et al. The concentrations and distributions of three C-terminal variants of the GLT1 (EAAT2; slc1a2) glutamate transporter protein in rat brain tissue suggest differential regulation. *Neuroscience.* 2009;162(4):1055–71.
197. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci.* 2011;13(1):22–37.
198. Scott HA, Gebhardt FM, Mitrovic AD, Vandenberg RJ, Dodd PR. Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2011;32(3):553.e1–11.
199. Miguel-Hidalgo JJ, Alvarez XA, Cacabelos R, Quack G. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid(1-40). *Brain Res.* 2002;958(1):210–21.
200. Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2011;12(12):723–38.
201. Nelson AR, Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(5):887–900.
202. Montagne A, Zhao Z, Zlokovic BV. Alzheimer's disease: a matter of blood-brain barrier dysfunction? *J Exp Med.* 2017;214(11):3151–69.
203. Rustenhoven J, Jansson D, Smyth LC, Dragunow M. Brain pericytes as mediators of neuroinflammation. *Trends Pharmacol Sci.* 2017;38(3):291–304.
204. Shibata M, Yamada S, Kumar SR, Calero M, Bading J, Frangione B, et al. Clearance of Alzheimer's amyloid-ss(1-40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Investig.* 2000;106(12):1489–99.
205. Sagare A, Deane R, Bell RD, Johnson B, Hamm K, Pendu R, et al. Clearance of amyloid-beta by circulating lipoprotein receptors. *Nat Med.* 2007;13(9):1029–31.
206. Deane R, Du Yan S, Subramaryan RK, LaRue B, Jovanovic S, Hogg E, et al. RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med.* 2003;9(7):907–13.
207. Zlokovic BV, Yamada S, Holtzman D, Ghiso J, Frangione B. Clearance of amyloid beta-peptide from brain: transport or metabolism? *Nat Med.* 2000;6(7):718–9.
208. Selkoe DJ. Alzheimer's disease results from the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *J Alzheimers Dis.* 2001;3(1):75–80.
209. Holtzman DM, Zlokovic B. Role of A β transport and clearance in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. In: Sisodia SS, Tanzi RE editors. *Alzheimer's disease (Internet)*. Boston: Springer; 2007. pp 179–98. https://doi.org/10.1007/978-0-387-35135-3_11.
210. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA.* 2010;304(16):1787–94.
211. McManus RM, Heneka MT. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alzheimers Res Ther.* 2017;9(1):14.
212. Dunn N, Mullee M, Perry VH, Holmes C. Association between dementia and infectious disease: evidence from a case-control study. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2005;19(2):91–4.
213. Holmes C, El-Okli M, Williams AL, Cunningham C, Wilcockson D, Perry VH. Systemic infection, interleukin 1beta, and cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003;74(6):788–9.
214. Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr S, et al. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology.* 2009;73(10):768–74.
215. Natalwala A, Potluri R, Uppal H, Heun R. Reasons for hospital admissions in dementia patients in Birmingham, UK, during 2002-2007. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;26(6):499–505.
216. Fitzpatrick AL, Kuller LH, Lopez OL, Kawas CH, Jagust W. Survival following dementia onset: Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Neurol Sci.* 2005;15(229-230):43–9.
217. Foley NC, Affoo RH, Martin RE. A systematic review and meta-analysis examining pneumonia-associated mortality in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2015;39(1-2):52–67.
218. Magaki S, Yong WH, Khanlou N, Tung S, Vinters HV. Comorbidity in dementia: update of an ongoing autopsy study. *J Am Geriatr Soc.* 2014;62(9):1722–8.
219. Tyas SL, Manfreda J, Strain LA, Montgomery PR. Risk factors for Alzheimer's disease: a population-based, longitudinal study in Manitoba, Canada. *Int J Epidemiol.* 2001;30(3):590–7.
220. Verreault R, Laurin D, Lindsay J, Serres GD. Past exposure to vaccines and subsequent risk of Alzheimer's disease. *CMAJ Can Med Assoc J.* 2001;165(11):1495–8.
221. Jamieson GA, Maitland NJ, Wilcock GK, Craske J, Itzhaki RF. Latent herpes simplex virus type 1 in normal and Alzheimer's disease brains. *J Med Virol.* 1991;33(4):224–7.
222. Jamieson GA, Maitland NJ, Wilcock GK, Yates CM, Itzhaki RF. Herpes simplex virus type 1 DNA is present in specific regions of brain from aged people with and without senile dementia of the Alzheimer type. *J Pathol.* 1992;167(4):365–8.
223. Wozniak MA, Shipley SJ, Combrinck M, Wilcock GK, Itzhaki RF. Productive herpes simplex virus in brain of elderly normal subjects and Alzheimer's disease patients. *J Med Virol.* 2005;75(2):300–6.
224. Honjo K, van Reekum R, Verhoeff NPLG. Alzheimer's disease and infection: do infectious agents contribute to progression of Alzheimer's disease? *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2009;5(4):348–60.
225. Itzhaki RF, Lin WR, Shang D, Wilcock GK, Faragher B, Jamieson GA. Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *Lancet Lond Engl.* 1997;349(9047):241–4.
226. Gérard HC, Wildt KL, Whittum-Hudson JA, Lai Z, Ager J, Hudson AP. The load of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer's brain varies with APOE genotype. *Microb Pathog.* 2005;39(1-2):19–26.
227. Gérard HC, Dreses-Werringloer U, Wildt KS, Deka S, Oszust C, Balin BJ, et al. Chlamydia (Chlamydia) pneumoniae in the Alzheimer's brain. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006;48(3):355–66.

228. Alonso R, Pisa D, Marina AI, Morato E, Rábano A, Carrasco L. Fungal infection in patients with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2014;41(1):301–11.
229. Alonso R, Pisa D, Rábano A, Rodal I, Carrasco L. Cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients contains fungal proteins and DNA. *J Alzheimers Dis.* 2015;47(4):873–6.
230. Pisa D, Alonso R, Rábano A, Rodal I, Carrasco L. Different brain regions are infected with fungi in Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 2015;15(5):15015.
231. Pisa D, Alonso R, Juarranz A, Rábano A, Carrasco L. Direct visualization of fungal infection in brains from patients with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015;43(2):613–24.
232. Jakobsson HE, Rodríguez-Piñeiro AM, Schütte A, Ermund A, Boysen P, Bemark M, et al. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *EMBO Rep.* 2015;16(2):164–77.
233. Faden AI, Loane DJ. Chronic neurodegeneration after traumatic brain injury: Alzheimer disease, chronic traumatic encephalopathy, or persistent neuroinflammation? *Neurother J Am Soc Exp Neurother.* 2015;12(1):143–50.
234. Faden AI, Wu J, Stoica BA, Loane DJ. Progressive inflammation-mediated neurodegeneration after traumatic brain or spinal cord injury. *Br J Pharmacol.* 2016;173(4):681–91.
235. Smith DH, Johnson VE, Stewart W. Chronic neuropathologies of single and repetitive TBI: substrates of dementia? *Nat Rev Neurol.* 2013;9(4):211–21.
236. Washington PM, Villapol S, Burns MP. Polypathology and dementia after brain trauma: does brain injury trigger distinct neurodegenerative diseases, or should they be classified together as traumatic encephalopathy? *Exp Neurol.* 2016;275(Pt 3):381–8.
237. Fleminger S, Oliver DL, Lovestone S, Rabe-Hesketh S, Giora A. Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003;74(7):857–62.
238. Mortimer JA, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, et al. Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol.* 1991;20(Suppl 2):S28–35.
239. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Widespread τ and amyloid- β pathology many years after a single traumatic brain injury in humans. *Brain Pathol Zurich Switz.* 2012;22(2):142–9.
240. Smith DH, Chen XH, Nonaka M, Trojanowski JQ, Lee VM, Saatman KE, et al. Accumulation of amyloid beta and tau and the formation of neurofilament inclusions following diffuse brain injury in the pig. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1999;58(9):982–92.
241. Bennett RE, Esparza TJ, Lewis HA, Kim E, Mac Donald CL, Sullivan PM, et al. Human apolipoprotein E4 worsens acute axonal pathology but not amyloid- β immunoreactivity after traumatic brain injury in 3xTG-AD mice. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2013;72(5):396–403.
242. Chen X-H, Siman R, Iwata A, Meaney DF, Trojanowski JQ, Smith DH. Long-term accumulation of amyloid-beta, beta-secretase, presenilin-1, and caspase-3 in damaged axons following brain trauma. *Am J Pathol.* 2004;165(2):357–71.
243. Iwata A, Chen X-H, McIntosh TK, Browne KD, Smith DH. Long-term accumulation of amyloid-beta in axons following brain trauma without persistent upregulation of amyloid precursor protein genes. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(12):1056–68.
244. Shishido H, Kishimoto Y, Kawai N, Toyota Y, Ueno M, Kubota T, et al. Traumatic brain injury accelerates amyloid- β deposition and impairs spatial learning in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2016;26(629):62–7.
245. Kane MJ, Angoa-Pérez M, Briggs DI, Viano DC, Kreipke CW, Kuhn DM. A mouse model of human repetitive mild traumatic brain injury. *J Neurosci Methods.* 2012;203(1):41–9.
246. Luo J, Nguyen A, Villeda S, Zhang H, Ding Z, Lindsey D, et al. Long-term cognitive impairments and pathological alterations in a mouse model of repetitive mild traumatic brain injury. *Front Neurol (Internet).* 2014;5:12. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00012>.
247. McAteer KM, Corrigan F, Thornton E, Turner RJ, Vink R. Short and long term behavioral and pathological changes in a novel rodent model of repetitive mild traumatic brain injury. *PLOS One.* 2016;11(8):e0160220.
248. Petraglia AL, Plog BA, Dayawansa S, Dashnaw ML, Czerniecka K, Walker CT, et al. The pathophysiology underlying repetitive mild traumatic brain injury in a novel mouse model of chronic traumatic encephalopathy. *Surg Neurol Int.* 2014;5:184.
249. Gerson J, Castillo-Carranza DL, Sengupta U, Bodani R, Prough DS, DeWitt DS, et al. Tau oligomers derived from traumatic brain injury cause cognitive impairment and accelerate onset of pathology in htau mice. *J Neurotrauma.* 2016;33(22):2034–43.
250. Hillier V, Salib E. A case-control study of smoking and Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 1997;12(3):295–300.
251. Brenner DE, Kukull WA, van Belle G, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, et al. Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study. *Neurology.* 1993;43(2):293–300.
252. Reitz C, den Heijer T, van Duijn C, Hofman A, Breteler MMB. Relation between smoking and risk of dementia and Alzheimer disease: The Rotterdam Study. *Neurology.* 2007;69(10):998–1005.
253. Aggarwal NT, Bienias JL, Bennett DA, Wilson RS, Morris MC, Schneider JA, et al. The relation of cigarette smoking to incident Alzheimer's disease in a biracial urban community population. *Neuroepidemiology.* 2006;26(3):140–6.
254. Cataldo JK, Prochaska JJ, Glantz SA. Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer's disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(2):465–80.
255. Tyas SL, White LR, Petrovitch H, Webster Ross G, Foley DJ, Heimovitz HK, et al. Mid-life smoking and late-life dementia: the Honolulu-Asia Aging Study. *Neurobiol Aging.* 2003;24(4):589–96.
256. Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol.* 2011;10(9):819–28.
257. Giunta B, Deng J, Jin J, Sadic E, Rum S, Zhou H, et al. Evaluation of how cigarette smoke is a direct risk factor for Alzheimer's disease. *Technol Innov.* 2012;14(1):39–48.
258. Moreno-Gonzalez I, Estrada LD, Sanchez-Mejias E, Soto C. Smoking exacerbates amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Commun.* 2013;4:1495.
259. Gons RAR, van Norden AGW, de Laat KF, van Oudheusden LJB, van Uden IWM, Zwiers MP, et al. Cigarette smoking is associated with reduced microstructural integrity of cerebral white matter. *Brain J Neurol.* 2011;134(Pt 7):2116–24.
260. Kenche H, Baty CJ, Vedagiri K, Shapiro SD, Blumental-Perry A. Cigarette smoking affects oxidative protein folding in endoplasmic reticulum by modifying protein disulfide isomerase. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2013;27(3):965–77.
261. Shen C, Chen Y, Liu H, Zhang K, Zhang T, Lin A, et al. Hydrogen peroxide promotes A β production through JNK-dependent activation of γ -Secretase. *J Biol Chem.* 2008;283(25):17721–30.

262. Ho Y-S, Yang X, Yeung S-C, Chiu K, Lau C-F, Tsang AW-T, et al. Cigarette smoking accelerated brain aging and induced pre-Alzheimer-like neuropathology in rats. *PLOS One*. 2012;7(5):e36752.
263. Seet RCS, Lee C-YJ, Loke WM, Huang SH, Huang H, Looi WF, et al. Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med*. 2011;50(12):1787–93.
264. Baldeiras I, Santana I, Proença MT, Garrucho MH, Pascoal R, Rodrigues A, et al. Oxidative damage and progression to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*. 2010;21(4):1165–77.
265. Hellström-Lindahl E, Mousavi M, Ravid R, Nordberg A. Reduced levels of Abeta 40 and Abeta 42 in brains of smoking controls and Alzheimer's patients. *Neurobiol Dis*. 2004;15(2):351–60.
266. Gao J, Adam B-L, Terry AV. Evaluation of nicotine and cotinine analogs as potential neuroprotective agents for Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24(6):1472–8.
267. Rosa AO, Egea J, Gandía L, López MG, García AG. Neuroprotection by nicotine in hippocampal slices subjected to oxygen-glucose deprivation: involvement of the alpha7 nAChR subtype. *J Mol Neurosci MN*. 2006;30(1–2):61–2.
268. Nordberg A, Hellström-Lindahl E, Lee M, Johnson M, Mousavi M, Hall R, et al. Chronic nicotine treatment reduces beta-amyloidosis in the brain of a mouse model of Alzheimer's disease (APPsw). *J Neurochem*. 2002;81(3):655–8.
269. Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Kimura J, Kume T, Kochiyama H, et al. Nicotinic receptor stimulation protects neurons against beta-amyloid toxicity. *Ann Neurol*. 1997;42(2):159–63.
270. Ono K, Hasegawa K, Yamada M, Naiki H. Nicotine breaks down preformed Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Biol Psychiatry*. 2002;52(9):880–6.
271. Friedland RP, Fritsch T, Smyth KA, Koss E, Lerner AJ, Chen CH, et al. Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(6):3440–5.
272. Booth FW, Laye MJ, Lees SJ, Rector RS, Thyfault JP. Reduced physical activity and risk of chronic disease: the biology behind the consequences. *Eur J Appl Physiol*. 2008;102(4):381–90.
273. Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Arch Neurol*. 2010;67(1):71–9.
274. Nascimento CMC, Pereira JR, de Andrade LP, Garuffi M, Talib LL, Forlenza OV, et al. Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. *Curr Alzheimer Res*. 2014;11(8):799–805.
275. Radak Z, Hart N, Sarga L, Koltai E, Atalay M, Ohno H, et al. Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(3):777–83.
276. Jensen CS, Hasselbalch SG, Waldemar G, Simonsen AH. Biochemical markers of physical exercise on mild cognitive impairment and dementia: systematic review and perspectives. *Front Neurol*. 2015;6:187.
277. Cheng S-T, Chow PK, Song Y-Q, Yu ECS, Chan ACM, Lee TMC, et al. Mental and physical activities delay cognitive decline in older persons with dementia. *Am J Geriatr Psychiatry Off J Am Assoc Geriatr Psychiatry*. 2014;22(1):63–74.
278. Sofi F, Valecchi D, Bacci D, Abbate R, Gensini GF, Casini A, et al. Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med*. 2011;269(1):107–17.
279. Sampaio A, Marques EA, Mota J, Carvalho J. Effects of a multicomponent exercise program in institutionalized elders with Alzheimer's disease. *Dement Lond Engl*. 2016. <https://doi.org/10.1177/1471301216674558>.
280. Küster OC, Fissler P, Laptinskaya D, Thurm F, Scharpf A, Woll A, et al. Cognitive change is more positively associated with an active lifestyle than with training interventions in older adults at risk of dementia: a controlled interventional clinical trial. *BMC Psychiatry*. 2016;16(1):315.
281. Smith JC, Nielson KA, Woodard JL, Seidenberg M, Rao SM. Physical activity and brain function in older adults at increased risk for Alzheimer's disease. *Brain Sci*. 2013;3(1):54–83.
282. Rovio S, Kåreholt I, Helkala E-L, Viitanen M, Winblad B, Tuomilehto J, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2005;4(11):705–11.
283. Schuit AJ, Feskens EJ, Launer LJ, Kromhout D. Physical activity and cognitive decline, the role of the apolipoprotein e4 allele. *Med Sci Sports Exerc*. 2001;33(5):772–7.
284. Etnier JL, Caselli RJ, Reiman EM, Alexander GE, Sibley BA, Tessier D, et al. Cognitive performance in older women relative to ApoE-epsilon4 genotype and aerobic fitness. *Med Sci Sports Exerc*. 2007;39(1):199–207.
285. Cheng S-T, Chow PK, Song Y-Q, Yu ECS, Chan ACM, Lee TMC, et al. Mental and physical activities delay cognitive decline in older persons with dementia. *Am J Geriatr Psychiatry Off J Am Assoc Geriatr Psychiatry*. 2014;22(1):63–74.
286. Podewils LJ, Guallar E, Kuller LH, Fried LP, Lopez OL, Carlson M, et al. Physical activity, APOE genotype, and dementia risk: findings from the Cardiovascular Health Cognition Study. *Am J Epidemiol*. 2005;161(7):639–51.
287. Eggermont LHP, Swaab DF, Hol EM, Scherder EJA. Walking the line: a randomised trial on the effects of a short term walking programme on cognition in dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80(7):802–4.
288. Kim B-K, Shin M-S, Kim C-J, Baek S-B, Ko Y-C, Kim Y-P. Treadmill exercise improves short-term memory by enhancing neurogenesis in amyloid beta-induced Alzheimer disease rats. *J Exerc Rehabil*. 2014;10(1):2–8.
289. Leem Y-H, Lim H-J, Shim S-B, Cho J-Y, Kim B-S, Han P-L. Repression of tau hyperphosphorylation by chronic endurance exercise in aged transgenic mouse model of tauopathies. *J Neurosci Res*. 2009;87(11):2561–70.
290. Marosi K, Bori Z, Hart N, Sarga L, Koltai E, Radák Z, et al. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*. 2012;13(226):21–8.
291. Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, et al. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPsw-transgenic model. *Int J Mol Med*. 2008;22(4):529–39.
292. Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P, Dartigues JF. Intake of flavonoids and risk of dementia. *Eur J Epidemiol*. 2000;16(4):357–63.
293. Morris MC. Nutritional determinants of cognitive aging and dementia. *Proc Nutr Soc*. 2012;71(1):1–13.
294. Wang HX, Wahlin A, Basun H, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Vitamin B(12) and folate in relation to the development of Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001;56(9):1188–94.
295. Crystal HA, Ortof E, Frishman WH, Gruber A, Hershman D, Aronson M. Serum vitamin B12 levels and incidence of dementia in a healthy elderly population: a report from the Bronx Longitudinal Aging Study. *J Am Geriatr Soc*. 1994;42(9):933–6.

296. Engelhart MJ, Geerlings MI, Ruitenberg A, Van Swieten JC, Hofman A, Witteman JCM, et al. Diet and risk of dementia: does fat matter? *Neurology*. 2002;59(12):1915–21.
297. Luchsinger JA, Tang M-X, Shea S, Mayeux R, et al. Antioxidant vitamin intake and risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003;60(2):203.
298. Willett WC, Sacks F, Trichopoulos A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr*. 1995;61(6 Suppl):1402S–6S.
299. Tangney CC, Li H, Wang Y, Barnes L, Schneider JA, Bennett DA, et al. Relation of DASH- and Mediterranean-like dietary patterns to cognitive decline in older persons. *Neurology*. 2014;83(16):1410–6.
300. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Barnes LL, Bennett DA, et al. MIND diet slows cognitive decline with aging. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015;11(9):1015–22.
301. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Bennett DA, Aggarwal NT. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015;11(9):1007–14.
302. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Barnes LL, Bennett DA, et al. MIND diet slows cognitive decline with aging. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015;11(9):1015–22.
303. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Luchsinger JA. Mediterranean diet, Alzheimer disease, and vascular mediation. *Arch Neurol*. 2006;63(12):1709–17.
304. Scarmeas N, Stern Y, Tang M-X, Mayeux R, Luchsinger JA. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2006;59(6):912–21.
305. Scarmeas N, Luchsinger JA, Schupf N, Brickman AM, Cosentino S, Tang MX, et al. Physical activity, diet, and risk of Alzheimer disease. *JAMA*. 2009;302(6):627–37.
306. Tangney CC, Kwasny MJ, Li H, Wilson RS, Evans DA, Morris MC. Adherence to a Mediterranean-type dietary pattern and cognitive decline in a community population. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(3):601–7.
307. Tsvigoulis G, Judd S, Letter AJ, Alexandrov AV, Howard G, Nahab F, et al. Adherence to a Mediterranean diet and risk of incident cognitive impairment. *Neurology*. 2013;80(18):1684–92.
308. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121971.
309. Cai D. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. *Trends Endocrinol Metab*. 2013;24(1):40–7.
310. Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB. Obesity, diabetes and cognitive deficit: The Framingham Heart Study. *Neurobiol Aging*. 2005;26(Suppl 1):11–6.
311. Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, van Swieten JC, et al. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the rotterdam study. *Arch Neurol*. 2004;61(5):668–72.
312. Tan ZS, Beiser AS, Vasan RS, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris TB, et al. Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease The Framingham Study. *Neurology*. 2007;68(22):1902–8.
313. Waldstein SR, Katzell LI. Interactive relations of central versus total obesity and blood pressure to cognitive function. *Int J Obes*. 2006;30(1):201–7.
314. Whitmer RA, Gustafson DR, Barrett-Connor E, Haan MN, Gunderson EP, Yaffe K. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*. 2008;71(14):1057–64.
315. Johansson L, Guo X, Duberstein PR, Hällström T, Waern M, Ostling S, et al. Midlife personality and risk of Alzheimer disease and distress: a 38-year follow-up. *Neurology*. 2014;83(17):1538–44.
316. Wilson RS, Evans DA, Bienias JL, Mendes de Leon CF, Schneider JA, Bennett DA. Proneness to psychological distress is associated with risk of Alzheimer's disease. *Neurology*. 2003;61(11):1479–85.
317. Wilson RS, Schneider JA, Boyle PA, Arnold SE, Tang Y, Bennett DA. Chronic distress and incidence of mild cognitive impairment. *Neurology*. 2007;68(24):2085–92.
318. Arsénault-Lapierre G, Chertkow H, Lupien S. Seasonal effects on cortisol secretion in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2010;31(6):1051–4.
319. Comijs HC, Gerritsen L, Penninx BWJH, Bremmer MA, Deeg DJH, Geerlings MI. The association between serum cortisol and cognitive decline in older persons. *Am J Geriatr Psychiatry Off J Am Assoc Geriatr Psychiatry*. 2010;18(1):42–50.
320. Csernansky JG, Dong H, Fagan AM, Wang L, Xiong C, Holtzman DM, et al. Plasma cortisol and progression of dementia in subjects with Alzheimer-type dementia. *Am J Psychiatry*. 2006;163(12):2164–9.
321. Baglietto-Vargas D, Chen Y, Suh D, Ager RR, Rodriguez-Ortiz CJ, Medeiros R, et al. Short-term modern life-like stress exacerbates A β -pathology and synapse loss in 3xTg-AD mice. *J Neurochem*. 2015;134(5):915–26.
322. Dong H, Yuede CM, Yoo H-S, Martin MV, Deal C, Mace AG, et al. Corticosterone and related receptor expression are associated with increased beta-amyloid plaques in isolated Tg2576 mice. *Neuroscience*. 2008;155(1):154–63.
323. Green KN, Billings LM, Roozendaal B, McLaugh JL, LaFerla FM. Glucocorticoids increase amyloid-beta and tau pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2006;26(35):9047–56.
324. Huang H, Wang L, Cao M, Marshall C, Gao J, Xiao N, et al. Isolation housing exacerbates Alzheimer's disease-like pathophysiology in aged APP/PS1 mice. *Int J Neuropsychopharmacol (Internet)*. 2015;18(7):pyu116. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu116>.
325. Jeong YH, Park CH, Yoo J, Shin KY, Ahn S-M, Kim H-S, et al. Chronic stress accelerates learning and memory impairments and increases amyloid deposition in APPV7171-CT100 transgenic mice, an Alzheimer's disease model. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2006;20(6):729–31.
326. Rothman SM, Herdener N, Camandola S, Texel SJ, Mughal MR, Cong W-N, et al. 3xTgAD mice exhibit altered behavior and elevated A β after chronic mild social stress. *Neurobiol Aging*. 2012;33(4):830.e1–12.
327. Sierra A, Gottfried-Blackmore A, Milner TA, McEwen BS, Bulloch K. Steroid hormone receptor expression and function in microglia. *Glia*. 2008;56(6):659–74.
328. Busillo JM, Cidlowski JA. The five Rs of glucocorticoid action during inflammation: ready, reinforce, repress, resolve, and restore. *Trends Endocrinol Metab*. 2013;24(3):109–19.
329. Perez Nieves BG, Hammerschmidt T, Kummer MP, Terwel D, Leza JC, Heneka MT. Restraint stress increases neuroinflammation independently of amyloid β levels in amyloid precursor protein/PS1 transgenic mice. *J Neurochem*. 2011;116(1):43–52.
330. Walker FR, Nilsson M, Jones K. Acute and chronic stress-induced disturbances of microglial plasticity, phenotype and function. *Curr Drug Targets*. 2013;14(11):1262–76.
331. Verdile G, Fuller SJ, Martins RN. The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2015;84:22–38.

332. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a Type 3 Diabetes? A critical appraisal. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1863(5):1078–89.
333. Biessels GJ, Strachan MWJ, Visseren FLJ, Kappelle LJ, Whitmer RA. Dementia and cognitive decline in type 2 diabetes and prediabetic stages: towards targeted interventions. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(3):246–55.
334. Brundel M, Kappelle LJ, Biessels GJ. Brain imaging in type 2 diabetes. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol*. 2014;24(12):1967–81.
335. Moran C, Phan TG, Chen J, Blizzard L, Beare R, Venn A, et al. Brain atrophy in type 2 diabetes: regional distribution and influence on cognition. *Diabetes Care*. 2013;36(12):4036–42.
336. Ramos-Rodriguez JJ, Molina-Gil S, Ortiz-Barajas O, Jimenez-Palomares M, Perdomo G, Cozar-Castellano I, et al. Central Proliferation and Neurogenesis Is Impaired in Type 2 Diabetes and Prediabetes Animal Models. *PLOS One*. 2014;9(2):e89229.
337. Kroner Z. The relationship between Alzheimer's disease and diabetes: type 3 diabetes? *Altern Med Rev J Clin Ther*. 2009;14(4):373–9.
338. Lizcano JM, Alessi DR. The insulin signalling pathway. *Curr Biol CB*. 2002;12(7):R236–8.
339. Haque R, Nazir A. Insulin-degrading enzyme: a link between Alzheimer's and type 2 diabetes mellitus. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2014;13(2):259–64.
340. Qiu WQ, Folstein MF. Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer's disease: review and hypothesis. *Neurobiol Aging*. 2006;27(2):190–8.
341. Wu C, Xu G, Tsai SA, Freed WJ, Lee CT. Transcriptional profiles of type 2 diabetes in human skeletal muscle reveal insulin resistance, metabolic defects, apoptosis, and molecular signatures of immune activation in response to infections. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;482(2):282–8.
342. Fishel MA, Watson GS, Montine TJ, Wang Q, Green PS, Kulstad JJ, et al. Hyperinsulinemia provokes synchronous increases in central inflammation and beta-amyloid in normal adults. *Arch Neurol*. 2005;62(10):1539–44.
343. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1793–801.
344. Meinert CL, Breitner JCS. Chronic disease long-term drug prevention trials: lessons from the Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial (ADAPT). *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2008;4(1 Suppl 1):S7–14.
345. Andersen K, Launer LJ, Ott A, Hoes AW, Breteler MM, Hofman A. Do nonsteroidal anti-inflammatory drugs decrease the risk for Alzheimer's disease? The Rotterdam Study. *Neurology*. 1995;45(8):1441–5.
346. Breitner JC, Gau BA, Welsh KA, Plassman BL, McDonald WM, Helms MJ, et al. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology*. 1994;44(2):227–32.
347. Gasparini L, Ongini E, Wenk G. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in Alzheimer's disease: old and new mechanisms of action. *J Neurochem*. 2004;91(3):521–36.
348. Stewart WF, Kawas C, Corrada M, Metter EJ. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurology*. 1997;48(3):626–32.
349. Shadfar S, Hwang CJ, Lim M-S, Choi D-Y, Hong JT. Involvement of inflammation in Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic potential of anti-inflammatory agents. *Arch Pharm Res*. 2015;38(12):2106–19.
350. Carreras I, McKee AC, Choi J-K, Aytan N, Kowall NW, Jenkins BG, et al. R-flurbiprofen improves tau, but not A β pathology in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Brain Res*. 2013;6(1541):115–27.
351. Heneka MT, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Hanke A, Dewachter I, Kuiperi C, et al. Acute treatment with the PPARgamma agonist pioglitazone and ibuprofen reduces glial inflammation and Abeta1-42 levels in APPV717I transgenic mice. *Brain J Neurol*. 2005;128(Pt 6):1442–53.
352. Kukar T, Prescott S, Eriksen JL, Holloway V, Murphy MP, Koo EH, et al. Chronic administration of R-flurbiprofen attenuates learning impairments in transgenic amyloid precursor protein mice. *BMC Neurosci*. 2007;24(8):54.
353. Lim GP, Yang F, Chu T, Gahtan E, Ubeda O, Beech W, et al. Ibuprofen effects on Alzheimer pathology and open field activity in APPsw transgenic mice. *Neurobiol Aging*. 2001;22(6):983–91.
354. McKee AC, Carreras I, Hossain L, Ryu H, Klein WL, Oddo S, et al. Ibuprofen reduces Abeta, hyperphosphorylated tau and memory deficits in Alzheimer mice. *Brain Res*. 2008;1(1207):225–36.
355. Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU, et al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*. 2001;414(6860):212–6.
356. Jaturapatporn D, Isaac MGEKN, McCleery J, Tabet N. Aspirin, steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;2:CD006378.
357. Rogers J, Kirby LC, Hempelman SR, Berry DL, McGeer PL, Kaszniak AW, et al. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993;43(8):1609–11.
358. Breitner JC, Baker LD, Montine TJ, Meinert CL, Lyketsos CG, Ashe KH, et al. Extended results of the Alzheimer's disease anti-inflammatory prevention trial. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2011;7(4):402–11.
359. Hu WT, Holtzman DM, Fagan AM, Shaw LM, Perrin R, Arnold SE, et al. Plasma multianalyte profiling in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology*. 2012;79(9):897–905.
360. Heneka MT, Landreth GE, Feinstein DL. Role for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2001;49(2):276.
361. Landreth GE, Heneka MT. Anti-inflammatory actions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2001;22(6):937–44.
362. Mandrekar-Colucci S, Landreth GE. Nuclear receptors as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets*. 2011;15(9):1085–97.
363. Alaynick WA. Nuclear receptors, mitochondria and lipid metabolism. *Mitochondrion*. 2008;8(4):329–37.
364. Denner LA, Rodriguez-Rivera J, Haidacher SJ, Jahrling JB, Carmical JR, Hernandez CM, et al. Cognitive enhancement with rosiglitazone links the hippocampal PPAR γ and ERK MAPK signaling pathways. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2012;32(47):16725–35a.
365. Inestrosa NC, Toledo EM. The role of Wnt signaling in neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2008;24(3):9.
366. Jahrling JB, Hernandez CM, Denner L, Dineley KT. PPAR γ recruitment to active ERK during memory consolidation is required for Alzheimer's disease-related cognitive enhancement. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2014;34(11):4054–63.
367. Sato T, Hanyu H, Hirao K, Kanetaka H, Sakurai H, Iwamoto T. Efficacy of PPAR- γ agonist pioglitazone in mild Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*. 2011;32(9):1626–33.
368. Heneka MT, Fink A, Doblhammer G. Effect of pioglitazone medication on the incidence of dementia. *Ann Neurol*. 2015;78(2):284–94.

369. Geldmacher DS, Fritsch T, McClendon MJ, Landreth G. A randomized pilot clinical trial of the safety of pioglitazone in treatment of patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2011;68(1):45–50.
370. Watson GS, Cholerton BA, Reger MA, Baker LD, Plymate SR, Asthana S, et al. Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study. *Am J Geriatr Psychiatry Off J Am Assoc Geriatr Psychiatry*. 2005;13(11):950–8.
371. Risner ME, Saunders AM, Altman JFB, Ormandy GC, Craft S, Foley IM, et al. Efficacy of rosiglitazone in a genetically defined population with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Pharmacogenom J*. 2006;6(4):246–54.
372. Tobinick EL, Gross H. Rapid cognitive improvement in Alzheimer's disease following perispinal etanercept administration. *J Neuroinflamm*. 2008;9(5):2.
373. Tobinick E, Gross H, Weinberger A, Cohen H. TNF-alpha modulation for treatment of Alzheimer's disease: a 6-month pilot study. *MedGenMed Medscape Gen Med*. 2006;8(2):25.
374. Aisen PS, Davis KL, Berg JD, Schafer K, Campbell K, Thomas RG, et al. A randomized controlled trial of prednisone in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Disease Cooperative Study*. *Neurology*. 2000;54(3):588–93.
375. Feldman HH, Doody RS, Kivipelto M, Sparks DL, Waters DD, Jones RW, et al. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. *Neurology*. 2010;74(12):956–64.
376. Simons M, Schwärzler F, Lütjohann D, von Bergmann K, Beyreuther K, Dichgans J, et al. Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: a 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Ann Neurol*. 2002;52(3):346–50.
377. Sparks DL, Sabbagh MN, Connor DJ, Lopez J, Launer LJ, Browne P, et al. Atorvastatin for the treatment of mild to moderate Alzheimer disease: preliminary results. *Arch Neurol*. 2005;62(5):753–7.
378. Van Gool WA, Weinstein HC, Scheltens P, Walstra GJ, Scheltens PK. Effect of hydroxychloroquine on progression of dementia in early Alzheimer's disease: an 18-month randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Lond Engl*. 2001;358(9280):455–60.
379. Coll RC, Robertson AAB, Chae JJ, Higgins SC, Muñoz-Planillo R, Inserra MC, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases. *Nat Med*. 2015;21(3):248–55.
380. Dinarello CA, Simon A, van der Meer JWM. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(8):633–52.
381. Porrini V, Lanzillotta A, Branca C, Benarese M, Parrella E, Lorenzini L, et al. CHF5074 (CSP-1103) induces microglia alternative activation in plaque-free Tg2576 mice and primary glial cultures exposed to beta-amyloid. *Neuroscience*. 2015;27(302):112–20.
382. Alam JJ. Selective brain-targeted antagonism of p38 MAPK α reduces hippocampal IL-1 β levels and improves morris water maze performance in aged rats. *J Alzheimers Dis*. 2015;48(1):219–27.
383. Dansokho C, Ait Ahmed D, Aid S, Toly-Ndour C, Chaigneau T, Calle V, et al. Regulatory T cells delay disease progression in Alzheimer-like pathology. *Brain J Neurol*. 2016;139(Pt 4):1237–51.
384. Mathieu M-C, Sawyer N, Greig GM, Hamel M, Kargman S, Ducharme Y, et al. The C3a receptor antagonist SB 290157 has agonist activity. *Immunol Lett*. 2005;100(2):139–45.
385. Baruch K, Deczkowska A, Rosenzweig N, Tsitsou-Kampeli A, Sharif AM, Matcovitch-Natan O, et al. PD-1 immune checkpoint blockade reduces pathology and improves memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2016;22(2):135–7.
386. Teng MWL, Bowman EP, McElwee JJ, Smyth MJ, Casanova J-L, Cooper AM, et al. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med*. 2015;21(7):719–29.
387. Griciuc A, Serrano-Pozo A, Parrado AR, Lesinski AN, Asselin CN, Mullin K, et al. Alzheimer's disease risk gene CD33 inhibits microglial uptake of amyloid beta. *Neuron*. 2013;78(4):631–43.
388. AD2000 Collaborative Group, Bentham P, Gray R, Sellwood E, Hills R, Crome P, et al. Aspirin in Alzheimer's disease (AD2000): a randomised open-label trial. *Lancet Neurol*. 2008;7(1):41–9.
389. de Jong D, Jansen R, Hoefnagels W, Jellesma-Eggenkamp M, Verbeek M, Borm G, et al. No effect of one-year treatment with indomethacin on Alzheimer's disease progression: a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2008;3(1):e1475.
390. Aisen PS, Schafer KA, Grundman M, Pfeiffer E, Sano M, Davis KL, et al. Effects of rofecoxib or naproxen vs placebo on Alzheimer disease progression: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;289(21):2819–26.
391. Aisen PS, Schmeidler J, Pasinetti GM. Randomized pilot study of nimesulide treatment in Alzheimer's disease. *Neurology*. 2002;58(7):1050–4.
392. Thal LJ, Ferris SH, Kirby L, Block GA, Lines CR, Yuen E, et al. A randomized, double-blind, study of rofecoxib in patients with mild cognitive impairment. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2005;30(6):1204–15.
393. Reines SA, Block GA, Morris JC, Liu G, Nessly ML, Lines CR, et al. Rofecoxib: no effect on Alzheimer's disease in a 1-year, randomized, blinded, controlled study. *Neurology*. 2004;62(1):66–71.
394. ADAPT Research Group, Martin BK, Szekely C, Brandt J, Piantadosi S, Breitner JCS, et al. Cognitive function over time in the Alzheimer's disease Anti-inflammatory Prevention Trial (ADAPT): results of a randomized, controlled trial of naproxen and celecoxib. *Arch Neurol*. 2008;65(7):896–905.
395. Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial Research Group. Results of a follow-up study to the randomized Alzheimer's disease Anti-inflammatory Prevention Trial (ADAPT). *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2013;9(6):714–23.
396. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2015;14(4):388–405.
397. Gold M, Alderton C, Zvartau-Hind M, Egginton S, Saunders AM, Irizarry M, et al. Rosiglitazone monotherapy in mild-to-moderate Alzheimer's disease: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;30(2):131–46.
398. Harrington C, Sawchak S, Chiang C, Davies J, Donovan C, Saunders AM, et al. Rosiglitazone does not improve cognition or global function when used as adjunctive therapy to AChE inhibitors in mild-to-moderate Alzheimer's disease: two phase 3 studies. *Curr Alzheimer Res*. 2011;8(5):592–606.
399. Butchart J, Brook L, Hopkins V, Teeling J, Püntener U, Culliford D, et al. Etanercept in Alzheimer disease: a randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 2 trial. *Neurology*. 2015;84(21):2161–8.
400. Ross J, Sharma S, Winston J, Nunez M, Bottini G, Franceschi M, et al. CHF5074 reduces biomarkers of neuroinflammation in patients with mild cognitive impairment: a 12-week, double-

- blind, placebo-controlled study. *Curr Alzheimer Res.* 2013;10(7):742–53.
401. Relkin NR, Thomas RG, Rissman RA, Brewer JB, Rafii MS, van Dyck CH, et al. A phase 3 trial of IV immunoglobulin for Alzheimer disease. *Neurology.* 2017;88(18):1768–75.
402. Gómez-Isla T, Blesa R, Boada M, Clarimón J, Del Ser T, Domenech G, et al. A randomized, double-blind, placebo controlled-trial of triflusal in mild cognitive impairment: the TRIMCI study. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2008;22(1):21–9.
403. Freund-Levi Y, Hjorth E, Lindberg C, Cederholm T, Faxen-Irving G, Vedin I, et al. Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory markers in cerebrospinal fluid and plasma in Alzheimer's disease: the OmegAD study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009;27(5):481–90.
404. Sakurai R, Koo B-K, Kaneda H, Bonneau HN, Nagai R. Cilostazol added to aspirin and clopidogrel reduces revascularization without increases in major adverse events in patients with drug-eluting stents: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol.* 2013;167(5):2250–8.
405. Sanchez-Ramos J, Cimino C, Avila R, Rowe A, Chen R, Whelan G, et al. Pilot study of granulocyte-colony stimulating factor for treatment of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2012;31(4):843–55.
406. Turner RS, Thomas RG, Craft S, van Dyck CH, Mintzer J, Reynolds BA, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. *Neurology.* 2015;85(16):1383–91.

Titre : Rôle de la neuroinflammation et du récepteur microglial TREM2 dans la progression de deux modèles de tauopathie

Mots clés : Tauopathie, Neuroinflammation, Modèles *in vivo*

Résumé : Les processus de neuro-inflammation jouent un rôle majeur dans la maladie d'Alzheimer (MA). Des études génétiques récentes démontrent cette association entre neuro-inflammation et MA et impliquent notamment un gène, *TREM2*, qui code pour un récepteur exprimé à la surface de la microglie. La tauopathie est une lésion caractéristique de la MA. Elle se traduit par l'hyperphosphorylation et l'agrégation intraneuronale de la protéine Tau. Les travaux sur le rôle de TREM2 dans le développement de la pathologie Tau sont peu nombreux et donnent des résultats contradictoires. Ainsi, l'objectif de ma thèse est d'étudier le rôle de la neuroinflammation et de TREM2 dans la progression de la tauopathie, dans deux modèles différents. Le premier est obtenu par injection stéréotaxique de vecteurs AAV dans la couche CA1 de l'hippocampe de souris déficientes ou non en TREM2.

Ces vecteurs entraînent la surexpression de différentes formes de la protéine Tau humaine et permettent de récapituler les différents stades de la tauopathie.

Nous avons en parallèle utilisé un modèle transgénique plus progressifs de tauopathie, la souris THY-Tau22, afin d'étudier l'influence du stade de la pathologie dans l'effet provoqué par une déficience en TREM2 sur l'évolution de la pathologie. Notre étude a mis en évidence la toxicité des formes solubles de Tau dans le modèle AAV par rapport à ses formes agrégées. Le modèle transgénique THY-Tau22 nous a permis de mettre en évidence une augmentation des lésions tauopathiques dans les souris déficientes en TREM2 par rapport aux souris qui ne le sont pas, uniquement à un stade avancé. Cela suggère que, à l'instar des modèles amyloïdes, l'effet de la déficience en TREM2 sur le décours de la tauopathie est différent en fonction du stade considéré.

Title : Role of neuroinflammation and the TREM2 microglial receptor in the progression of two models of tauopathy

Keywords : Tauopathy, Neuroinflammation, *In vivo* models

Abstract : Neuroinflammation processes appear to play a major role in Alzheimer's disease (AD). Recent genetic studies support this correlation between neuroinflammation and AD and include a gene, *TREM2*, expressed on microglial surface. Tauopathy is a characteristic lesion of AD. It results in hyperphosphorylation and intraneuronal aggregation of Tau protein. In the literature, only few articles describe the role of TREM2 in the development of Tau pathology, and they report contradictory results. We therefore do not know for sure whether a deficiency in TREM2 has a deleterious effect or not on tauopathy. Thus, the goal of my thesis is to study the role of neuroinflammation and TREM2 in the progression of tauopathy, in two different models. The first is obtained by stereotaxic injection of AAV vectors into the CA1 layer of the hippocampus of TREM2-

deficient or non-deficient mice. These vectors lead to the overexpression of different forms of the human tau protein, thus making it possible to recapitulate the different tauopathy stages.

In parallel, we used a more progressive transgenic model of tauopathy, the THY-Tau22 mouse, to study the influence of TREM2 deficiency at different stage of the pathology. Our study demonstrated the toxicity of Tau soluble forms in the AAV model compared to its aggregated forms. The THY-Tau22 transgenic model allowed us to demonstrate an increase in tauopathic lesions in TREM2 deficient mice compared to wild type mice, at late stage only. This suggests that, similar to amyloid models, the effect of TREM2 deficiency on the course of tauopathy is influenced by the stage of the disease.