



HAL
open science

Étude de la composante neuroinflammatoire dans les DFT/SLA

Julie Smeyers

► **To cite this version:**

Julie Smeyers. Étude de la composante neuroinflammatoire dans les DFT/SLA. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS392 . tel-03780048

HAL Id: tel-03780048

<https://theses.hal.science/tel-03780048>

Submitted on 19 Sep 2022

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.

Sorbonne Université

École Doctorale Cerveau, Cognition, Comportement (ED-158)

Basic to Translational Neurogenetics

ÉTUDE DE LA COMPOSANTE NEUROINFLAMMATOIRE DANS LES DFT/SLA

Par Julie SMEYERS

Thèse de doctorat de Neurosciences

Présentée et soutenue publiquement le 17 septembre 2020

Devant un jury composé de :

Dr Marie-Claude POTIER	Présidente
Dr Valérie BUÉE	Rapporteur
Dr Cédric RAOUL	Rapporteur
Dr Guillaume DOROTHÉE	Examineur
Dr David BLUM	Examineur
Dr Graça RAPOSO	Examineur
Dr Isabelle LE BER	Directeur de thèse
Dr Morwena LATOUCHE	Co-encadrante



Résumé

Mots clés : Démences Frontotemporales – Sclérose Latérale Amyotrophique – Microglie – Inflammasome NLRP3 – Autophagie – Lysosomes

Les démences frontotemporales (DFT) et la sclérose latérale amyotrophique (SLA) sont deux maladies neurodégénératives faisant partie d'un même spectre clinique, génétique et neuropathologique. Cependant, les voies biologiques communes contribuant à la pathogénèse sont peu identifiées. C'est dans cet objectif, que nous nous sommes intéressés aux mécanismes d'activation microgliale dans les DFTs et dans les formes mixtes de DFT-SLA. Des modèles murins reproduisant les pertes d'expression de *GRN* et *C9ORF72*, gènes qui sont mutés dans les formes familiales de DFT et DFT-SLA, développent des phénotypes immunitaires. Par ailleurs, grâce aux nouvelles technologies TEP-SCAN, la participation précoce de la neuroinflammation à la pathogénèse des DFT/SLA est de plus en plus admise.

Ainsi, deux axes d'étude principaux ont composé cette thèse : 1/ La protéine TDP-43, qui forme les inclusions majoritaires des DFT-SLA, est-elle capable d'activer les cellules microgliales ? Par quels mécanismes ? 2/ La perte de fonction des protéines *C9ORF72* et *PGRN* a-t-elle des conséquences sur la réactivité microgliale en présence de TDP-43 ?

Par l'utilisation de modèles *in vitro* de cultures primaires microgliales nous montrons que la protéine TDP-43 active la voie non canonique microgliale de l'inflammasome NLRP3. Cette activation se produit suite à l'interaction de TDP-43 avec les récepteurs TLR2/4, et à son internalisation dans les cellules microgliales. Les cellules microgliales murines déficientes *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X} sont hyper-réactives vis-à-vis d'une stimulation par TDP-43. Cet effet est reproduit dans un modèle « *MDMi* » de cellules microgliales dérivées de monocytes de patients DFT porteurs de mutation *GRN* ou *C9ORF72*. Enfin, nous montrons que cet effet peut être lié aux fonctions des protéines *PGRN* et *C9ORF72* nécessaires au bon fonctionnement de la boucle de rétrocontrôle de l'activité de l'inflammasome par la voie autophagique.

Nos données mettent en évidence une voie commune de neuroinflammation dans les DFTs et la SLA, et ouvrent de nouvelles pistes sur les processus neurodégénératifs de ces maladies.

Abstract

Keywords: Frontotemporal Dementia – Amyotrophic Lateral Sclerosis – Microglia – NLRP3 Inflammasome – autophagy – lysosomes

Frontotemporal Dementia (FTD) and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) are two neurodegenerative diseases from the same clinical, genetic and neuropathological spectrum. However, common biological pathways contributing to pathogenesis remain to be properly characterized. In this context, we examined the microglial activation mechanisms in FTD and mixed forms of FTD-ALS. Murine models mimicking *GRN* and *C9ORF72* loss of expression, genes that are mutated in familial forms of FTD and FTD-ALS, develop immune phenotypes. TEP-SCAN studies in patients have led to the increasing recognition of the early involvement of neuroinflammation in FTD/ALS pathogenesis.

Thus, this thesis was composed by two main lines of study: 1/ Is the TDP-43 protein, which is the main component of inclusions in FTD-ALS, capable of activating microglial cells? By which mechanisms? 2/ Does *C9ORF72* and *PGRN* loss of function have consequences on microglial reactivity to TDP-43?

Using *in vitro* models of primary microglial cultures, we show that TDP-43 activates the noncanonical NLRP3 inflammasome microglial pathways. This activation occurs following the interaction of TDP-43 with TLR2/4, and its internalization in microglial cells. *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X} deficient murine microglial cells are hyper-reactive to TDP-43 stimulation. This effect was also observed in an "MDMi" model consisting in microglia-like cells derived from FTD patients' monocytes. These patients are *GRN* or *C9ORF72* mutation carriers. Finally, we show that this effect may depend on the functions of *PGRN* and *C9ORF72* which appear essential to the dynamics of the inflammasome-autophagy negative feedback loop regulating the activity of the inflammasome.

Our data highlight a common pathway of neuroinflammation in FTD and ALS and open new insights into the neurodegenerative processes of these diseases.

REMERCIEMENTS

J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères aux **Dr Valérie Buée** et **Dr Cédric Raoul** pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Je remercie les **Dr Graça Raposo**, **Dr David Blum**, **Dr Marie-Claude Potier**, **Dr Guillaume Dorothée**, **Dr Michel Mallat** pour avoir accepté de participer à ce jury. Merci tout particulièrement aux **Dr Guillaume Dorothée** et **Dr Valérie Buée** qui m'ont guidé grâce à leur expertise lors des comités de suivi de thèse.

Je remercie l'**ED3C** et l'**ICM** qui m'ont permis de réaliser cette thèse. Mes remerciements s'adressent également aux financeurs de ce projet, au financement européen JPND tout d'abord, puis à l'**EPHE** pour m'avoir permis de réaliser une 4^{ème} année de thèse en tant qu'ATER.

Je tiens à remercier chaleureusement les **Dr Luc Buée** et **Valérie Buée** car c'est grâce à un stage dans leur laboratoire l'été 2014, que j'ai découvert les Démences Frontotemporales qui m'ont tant passionné ces dernières années.

J'ai eu la chance de rencontrer des gens formidables qui ont fait de cette thèse, un moment de vie inoubliable. Je tiens ici à les remercier le plus sincèrement possible. Je vais forcément oublier de citer quelques personnes malgré moi (on ne refait pas sa mémoire) et je m'en excuse par avance. Vous vous reconnaîtrez de toutes façons. Je n'ai jamais été très douée pour les épanchements sentimentaux mais par ces quelques mots j'espère que vous prendrez conscience de la reconnaissance que je vous exprime pour tous les bons moments que nous avons partagés.

Merci aux collaborateurs, grâce auxquels j'ai pu me former à des techniques pour lesquelles j'étais totalement novice. **Julia et Florenzia** : pour votre aide au début de M2. Merci d'avoir répondu à mes questions que ce soit à propos des microglies ou de l'agrégation protéique. Merci au **Pr Mickaël Heneka** et à **Roisin, Angelika, Frederik** pour votre bon accueil au sein de votre laboratoire à Bonn, en avril 2017.

Merci aux **Dr Rob Veerhuis** et **Dr Luigi Bubacco** à **Adrienne** et à **Tatiana**, pour ces moments d'échange au cours des réunions INCURE, j'y ai énormément appris. Merci

au **Dr Morvane Colin** et à **Sarah**, pour m'avoir accueilli dans votre laboratoire et m'avoir appris les techniques d'extraction vésiculaire. Merci aux **Dr Graça Raposo** et **Dr Gisela D'angelo** pour les conversations enrichissantes que nous avons pu avoir au sujet des vésicules extracellulaires. Merci au **Dr Florent Laferrière** pour sa disponibilité et pour ses feedbacks au sujet de l'extraction de TDP-43.

Morwena, un seul paragraphe ne serait pas suffisant pour exprimer toute ma gratitude. Je te remercie d'abord pour tes qualités humaines que j'ai pu apprécier dès ce mois de janvier 2015, quand provinciale, j'ai décidé de me perdre à Paris. Seulement, Paris n'a pas voulu de moi très longtemps. Par ton soutien précieux à ce moment difficile, j'ai su que je voulais continuer à travailler avec toi. Merci de m'avoir fait confiance toutes ces années et de m'avoir accordé ce financement de thèse. Je te remercie pour ta pédagogie et ta bonne humeur quotidienne qui nous ont souvent valu de grands moments de rire. J'ai tant appris en ces 4 années de thèse, professionnellement et humainement ! Merci de m'avoir soutenue lorsque j'ai souhaité avoir des activités annexes à la thèse (enseignement, AJITES, conseil de labo, POS) qui ont fait de chaque année, une année différente. Merci d'avoir su entendre et écouter mes doutes, d'y avoir répondu avec franchise et de m'avoir poussé quand cela était nécessaire. Merci de m'avoir permis d'encadrer des étudiants (que tu as toujours choisi avec soin...), j'ai beaucoup apprécié. Merci de m'avoir permis de visiter l'Europe, grâce aux congrès et différentes réunions du consortium. Merci pour la personne que tu es et qui m'a tellement apporté.

Je remercie **Isabelle**, ma directrice de thèse officielle. Merci pour tes retours précieux, pour ton aide, et pour les discussions intéressantes que nous avons pu avoir au cours de cette thèse. Ta passion et ton investissement pour les patients m'inspire la plus grande admiration.

Je remercie chaleureusement chaque membre de la sous-équipe DFT (actuels comme anciens) : **Maria-Belen, Magali, Vincent, Clémence, Mathieu, Agnès, Dario, Daisy** et **Armelle**. Merci pour vos conseils, votre aide et pour les moments plus légers que nous avons pu passer ensemble.

Je remercie les **ingénieurs de plateforme** : **David, Dominique, Asha, Claire, FX, Laetitia, Florence, Clémentine** qui ont toujours été présent, ont répondu à mes questions et ont contribué à ma formation. Je remercie également l'ensemble du **personnel de la plateforme animalerie**, **Béatrice, Cindy, Mélanie, Joanna, Delphine...**

Merci à « **l'ancienne équipe Brice** » devenue à la fois « **équipe Durr-Stevanin** » et « **Corti-Corvol** » : **Ashraf / Thomas / Radhia / Maxime B et J / Alex / Emeline / Typhaine / Manon / Marion / Noémie / Liriopé / Thibault / Raphaël / Fiona / Hélène / Christelle / Ben / Flora / Adeline/ Corinne / Léna / Claire-So**. A notre gestionnaire **Marie-Luce**. Aux PI : **Giovanni, Fred, Hamid, Olga, Claire, Alexis, Alexandra, Philippe. Giovanni**, je te remercie tout particulièrement pour m'avoir permis, avec **Cyrille**, de découvrir les joies de l'enseignement à l'ESTBA.

Merci aux anciens stagiaires de l'équipe « **Latouche** » avec lesquels j'ai eu la chance de travailler **Charlène, Ruiyi, Paul**. Vous avez largement contribué à cette thèse, merci pour votre implication et merci pour votre bonne humeur quotidienne, j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec vous et vous m'avez beaucoup appris. **Beatrice, Valentina** qui avez passé moins de temps dans l'équipe, je ne vous oublie pas et j'espère toujours pouvoir venir vous voir respectivement en Suisse et en Colombie !

Cyrille, mille mercis pour tout ce que tu as fait pour moi. Pour ton soutien, ton aide, ton amitié et ton humour décalé. Merci de m'avoir impliquée à l'ESTBA, j'ai découvert une facette de l'enseignement dont je n'avais même pas conscience. Je t'en suis reconnaissante, cette expérience restera à jamais gravée dans ma mémoire et j'ai apprécié travailler avec toi. Merci pour tout ce que tu m'as apporté.

Elena : Ton arrivée au laboratoire a comment dirai-je ... Chamboulé ma thèse ? Positivement bien sûr ! Il y avait la thèse avant Elena, et la thèse avec Elena. Un bouleversement organisationnel qui a fait tellement de bien ! Et un soutien quotidien... Merci d'être présente aux moments les plus critiques, merci pour ton aide, pour ton humour et ton naturel. Merci d'être là chaque jour, dans la joie et la bonne humeur et pour toutes les choses que tu fais. Tu sais, je l'espère, toute l'admiration que j'ai pour toi et pour toutes tes qualités... Tout le monde devrait connaître le bonheur de travailler

avec une Elena ! J'ai d'abord apprécié la collègue et maintenant j'adore l'amie que tu es devenue. A très vite dans le Nord pour de nouvelles découvertes régionales !

Baptiste, même si ta collection de breloques bruyantes et branlantes au-dessus de ton bureau a perturbé un nombre incalculable d'heures de concentration, je te remercie pour tous les bons moments de cette thèse que nous avons passés ! Elle n'aurait pas été la même sans ta présence. Tant de bons moments passés et de souvenirs mémorables qu'il me serait impossible de n'en citer qu'un seul (j'ai déjà eu beaucoup de mal à en sélectionner pour ta vidéo de fin de thèse !). Merci de m'avoir fait tant rire avec ta folie et ton espièglerie. Merci d'avoir rendu les moments pesant si légers. Merci de rire même quand mes blagues ne sont pas drôles. Merci pour ton amitié. (PS : Je n'ai finalement pas copié tes remerciements, tu noteras l'effort).

Pupuche, ou le mec aux yeux de hiboux qui est bloqué sur la ligne 13 de 7 à 11h... (Je blaaague). Je ne dois pas seulement te remercier, mais également m'excuser platement et officiellement pour cette première présentation déplorable que je t'ai faite. Voilà c'est fait. Merci pour ton sens de l'humour à toute épreuve. Merci de partager les mêmes connaissances musicales douteuses que moi. Merci pour ces bons moments partagés et j'espère que notre amitié résistera très longtemps encore.

Comment ne pas remercier les **AJITES** alors que c'est par eux que tout a commencé ! Une première retraite scientifique, exilés dans un château et la rencontre de : **Lindsay, Nico C, Émilie, Isaac, Charles, Giampi, Mimi**, ... S'en sont suivi l'inscription au cours de Yoga, de Salsa avec mes compères **Isaac** et **Émilie** (j'espère que vous n'avez pas arrêté comme moi...) et les deux années en tant que « secrétaire » de l'association, grâce auxquelles j'ai partagé de très bons moments, et beaucoup appris sur une vie à l'institut en dehors de la thèse. Les retraites suivantes ont toutes été différentes mais toutes aussi géniales les unes que les autres. Je vous remercie, vous LES AJITES de ces 4 dernières années pour tous les bons moments que j'ai pu vivre et qui ont contribué à mon bien être à l'ICM.

Ne pas faire de clin d'œil à travers ces remerciements à « **La tête ailleurs** » serait un affront total. Finalement sans le vouloir, vous êtes devenu le 2^e ICM et avez contribué à tisser les liens avec beaucoup de personnes citées dans ces remerciements.

Cette thèse m'a aussi permis de rencontrer des gens, d'abord devenus des personnes dont j'ai réussi à retenir le prénom (il y a beaucoup de monde à l'institut) puis des amis proches, avec qui j'espère rester en contact très longtemps encore. **Anne-So, Agnès, Marie, Marie-Jo, Lucas, Nico B, Béné...** Merci à vous pour cette belle amitié que vous m'offrez et tous ces bons moments de rire (qui vont de pair). Merci de me servir d'épaule sur laquelle je peux me reposer quand j'en ai besoin. Merci de me supporter et de contribuer à ma folie. Et merci de vous dévouer pour m'accompagner manger des accras à « La Créole » ...

Et puis il y a ces amis de longues dates sur qui je peux toujours compter

Charlotte, Kevin et Charlotte, Nico (et la petite Manon) merci d'être encore là, au bout de toutes ces années. Même éloignés, je ne vous oublie pas.

Honorine ma petite poulette, la nono internationale ! Tellement d'années passées de rigolade et de « farniente ». Merci d'être toujours là, avec ton honnêteté sans faille, tes mimiques toujours drôles, ta spontanéité et ton rire inépuisable !

Laura, quel coup du destin ! Je n'aurais jamais imaginé une telle amitié, alors que tout cela est dû à quoi ? Une semaine seulement à nous croiser dans un laboratoire ? Merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble, merci de me comprendre, merci pour ta folie qui m'amène ailleurs quand j'en ai besoin. Merci pour l'amie vraie et sincère que tu es. Ta force est un exemple et je suis persuadée qu'elle te mènera loin.

Quentin, Thomas, Félix, les molinghemois ! Quoi vous dire à part que, sans vous ces quelques années auraient été beaucoup moins funs. Merci pour votre présence, pour votre humour (parfois nul mais qui me fait rire quand même) pour les débats lors des soirées « au bout », sur le monde qui nous entoure avec votre conception bien à vous ! Merci de m'accompagner dans mes délires et de me supporter depuis plus de 10 ans maintenant.

Je remercie chaleureusement ma **famille**, pour tous les bons moments passés ensemble ; pour avoir contribué au développement de ma curiosité ; pour votre soutien à chaque étape de la vie.

Je remercie bien évidemment les personnes qui me sont le plus chères, **mes parents**. Merci pour votre soutien indéfectible. Merci de m'avoir toujours suivie dans mes choix,

sans même parfois les comprendre. Si j'ai fait cette thèse c'est surtout grâce à vous, parce que vous m'avez appris à ne pas baisser les bras, vous m'avez inculqué les valeurs du travail et une philosophie de vie « Si tu veux y arriver, tu y arriveras ». Merci pour tout ce que vous m'apportez et pour tout ce que vous faites chaque jour.

ABBREVIATIONS

DFT	Démences Frontotemporales
DLFT	Dégénérescences Lobaires Frontotemporales
SLA	Sclérose Latérale Amyotrophique
IL-1 β	Interleukin-1 β
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
SNC	Système Nerveux central
MA	Maladie d'Alzheimer
ROS	Reactive oxygen species
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
PRR	Pattern Recognition Receptor
TLR	Toll like receptor
NLR	Nucleotide-binding oligomerization domains like receptor
RLR	Retinoic acid-inducible gene-I Like receptors,
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern
DAMP	Danger Associated Molecular Pattern
LCR	Liquide Céphalo Rachidien
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-13	Interleukin-13
LPS	Lipopolysaccharide
NO	Nitric Oxid
NF-kB	Nuclear factor-kappa B
C/EPB	CCAAT-enhancer-binding proteins
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
mTOR	mechanistic Target Of Rapamycin
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
JAK	Janus kinase
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
CMH II	Complexe majeur d'histocompatibilité II
CD86	Cluster of Differentiation 86
CPA	Cellule Présentatrice d'antigène
BHE	Barrière Hémato Encéphalique
CD4 / CD8	Cluster of differentiation 4 / 8
IFN- γ	Interféron- γ
TEP	tomographie par émission de positons
DFTvc	variant comportemental des démences frontotemporales
APPvnf	variant non fluent des aphasies primaires progressives
APP-vs	variant sémantique des aphasies primaires progressives
APP-vl	variant logopénique des aphasies primaires progressives
GWAS	Genome-Wide Association Studies
HLA	Human Leucocyte Antigen
TDP-43	Transactive response DNA binding protein
C9ORF72	Chromosome 9 Open Reading Frame 72
PSP	Paralysie supranucléaire progressive

SCB	Syndrome Corticobasal
Tau	Tubulin associated unit
<i>MAPT</i>	Microtubule Associated Protein Tau
UPS	Ubiquitin Proteasome System
FUS	Fused in sarcoma
FET	FUS/TLS, EWS et TAF 15 family
GRN	Granulin
PGRN	Progranuline
ARN	Acide ribonucléique
ADN	Acide Desoxyribonucleique
RRM1	Ribonucleoside-diphosphate reductase large subunit
SOD1	Superoxide Dismutase 1
Ccs1	Superoxide dismutase 1 copper chaperone
cox17	Cytochrome C Oxidase Copper Chaperone COX17
Atx1	Antioxydant Protein1
VCP	Valosin Containing Protein.
<i>CHMP2B</i>	Charged multivesicular body protein 2b
<i>TARDBP</i>	TAR DNA binding protein
<i>TBK1</i>	TANK-binding kinase 1,
<i>SQSTM1</i>	Sequestosome 1
<i>3R / 4R</i>	<i>3 repeat / 4 repeat</i>
DFTP-17 17	Démence Frontotemporale et parkinsonisme lié au chromosome 17
CLN	Lipofuscine Céroïde Neuronale
MMP	Matrix Metalloproteases
DPR	Dipeptides Répétés
RAN	Repeat-associated non-ATG translation
Poly-GA	Poly-glycine-alanine
Poly-GP	Poly-glycine-proline
Poly GR	Poly-glycine-arginine
Poly PA	Poly-proline-alanine
Poly PR	Poly-proline-arginine
ITM2B	Integral membrane protein 2B
TBP	TATAbox Binding Protein
TREM2	Triggering receptor expressed on myeloid cells 2
ESCRT-III	Endosomal sorting complex required for transport III
OPTN	Optineurin
RE-Golgi	Réticulum endoplasmique-Golgi
NLS	Nuclear Localization Signal
NES	Nuclear Export Signal
PSD-95	Post-synaptic density protein 95
SynGAP	Synaptic Ras GTPase-activating protein
BioID	proximity-dependent biotin identification
MVB	Multivesicular Bodies
EAAT2	Excitatory amino acid transporter 2
CD11b	Cluster of differentiation molecule 11b
C1q	Complement component 1q
NFT	Neurofibrillary Tangle
PHF	Paired Helical Filaments
NMDA	N-Methyl-D-Aspartate

PSD-95	Postsynaptic Density protein 95
LTD	Long-term depression
VGLUT	vesicular Glutamate transporter
GLT-1	Glutamate transporter-1
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
A2AR	Récepteurs à l'adénosine A2A
DENN	Differentially expressed in normal and neoplastic cells
GEF	Guanine nucleotide exchange factor
WDR41	WD Repeat Domain 41
ULK1	Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1
LC3-II	light chain 3-II
IPSc	Induced Pluripotent Stem cells
AAV	Adeno-Associated Virus
BAC	Bacterial Artificial Cloning
TSG101	Tumor susceptibility gene 101
CD63	Cluster of Differentiation 63
CTSD	Cathepsine D
GCase	Glucocerebrosidase
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor
Foxp3	Forkhead box P3
ERAD	Endoplasmic reticulum associated degradation
VAPB	Vesicle-associated membrane protein-associated protein B
<i>hnRNP</i>	Heterogeneous nuclear Ribonucleoproteins
RGG	Arginine-glycine-glycine
KH	lysine Homology
LCD	Low Complexity sequence Domains
PrP	Protéine Prion
TFEB	Transcription factor EB
NLRP3	NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3
NLRP2	NOD-like receptor family, pyrin domain containing 2
NLRC4	NLR family CARD domain-containing protein 4
AIM2	Absent in Melanoma 2
ASC	Adapter protein apoptosis associated speck-like protein
containing a CARD	
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
MDMI	Monocyte Derived Microglia induced
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydride
ND3	NADH ubiquinone oxidoreductase core subunit 3
ND6	NADH ubiquinone oxidoreductase core subunit 6
VDAC1	Voltage-gated anion channel 1
PHB2	Prohibitin 2
MFN2	Mitofusin 2
CDC-7	Cell Division Cycle Kinase

INDEX DES FIGURES

FIGURE 1. REPRESENTATION DE LA BHE. D'APRÈS (ABBOTT, RÖNNBÄCK, AND HANSSON 2006). LA BHE EST COMPOSEE DE CELLULES ENDOTHELIALES SE JOIGNANT PAR JONCTIONS SERREES, DE PERICYTES ET D'ASTROCYTES QUI ENTOURENT LE VAISSEAU SANGUIN. LES CELLULES MICROGLIALES SONT PRESENTES DANS LE PARENCHYME CEREBRAL.	25
FIGURE 2. D'APRES (DE CASTRO ET AL. 2015) NATURE DU "TROISIEME ELEMENT". DESSIN DE LA NEUROGLIE APPELEE « 3 ^E ELEMENT » PAR CAJAL APRES COLORATION DES CELLULES AU CHLORURE D'OR. DESSINS DE MICROGLIE ET OLIGODENDROCYTES PAR RIO-HORTEGA APRES OBSERVATION DES CELLULES PAR COLORATION AU CARBONATE D'ARGENT.....	27
FIGURE 3. COLONISATION DU SNC PAR LES MICROGLIES AU COURS DU DEVELOPPEMENT CHEZ LA SOURIS. LES PRECURSEURS MICROGLIAUX PROVIENNENT DU SAC VITELLIN ET COLONISENT LE SNC A E8,5. LA DISTRIBUTION HOMOGENE DES CELLULES AU SEIN DE LA COUCHE IV DU CORTEX PREND PLACE LORS DE LA SECONDE SEMAINE POST-NATALE. D'APRES (MOSSER ET AL. 2017).....	28
FIGURE 4. FONCTIONS MICROGLIALES AU COURS DU DEVELOPPEMENT DU CNS. D'APRES (MOSSER ET AL. 2017). IMPLICATION DE LA MICROGLIE DANS DES MECANISMES DE PHAGOCYTOSE DES NEURONES APOPTOTIQUES (A), D'ELAGAGE SYNAPTIQUE (B), DE FORMATION DES SYNAPSES (C), DE SURVIE NEURONALE (D), DE MODULATION SYNAPTIQUE (E), DE MIGRATION DES INTERNEURONES (F).....	30
FIGURE 5. ILLUSTRATION DES MORPHOLOGIES MICROGLIALES OBSERVABLES EN FONCTION DE L'AGE OU EN CONTEXTE PATHOLOGIQUE. DES COUPES DE CERVEAUX POST-MORTEM ONT ETE UTILISEES POUR METTRE EN EVIDENCE LES MICROGLIES PAR MARQUAGE IBA1. LES IMAGES DE A A C ONT ETE OBTENUES CHEZ UN SUJET AGE MAIS SAIN TANDIS QUE L'IMAGE D PROVIENT D'UN PATIENT ALZHEIMER. A. LES CELLULES SONT RAMIFIEES AVEC UN PETIT CORPS CELLULAIRE ROND ET DE LONGUES RAMIFICATIONS. B. LES MICROGLIES SONT REACTIVES, LE CORPS CELLULAIRE EST IMPORTANT ET LES PROLONGEMENTS PLUS PETITS. C. LES MICROGLIES SONT AMOEBOIDES AVEC UN CORPS CELLULAIRE IMPOSANT ET UNE ABSENCE DE RAMIFICATION. D. LES MICROGLIES ENTOURENT DES PLAQUES AMYLOÏDES. BARRE D'ECHELLE = 50µM. D'APRES (FRANCO-BOCANEGRA ET AL. 2019).	31
FIGURE 6. REPRESENTATION DES ETATS D'ACTIVATION MICROGLIALE DITS PHENOTYPES M1 ET M2. D'APRES (HENEKA, KUMMER, AND LATZ 2014).	34
FIGURE 7. REPRESENTATION DE L'INVASION DES CELLULES LYMPHOCYTAIRES ET MYELOÏDES DANS LE PARENCHYME CEREBRAL AFIN DE CONTRIBUER A LA NEUROINFLAMMATION INITIEE PAR LES CELLULES IMMUNITAIRES RESIDENTES, ET A LA MORT NEURONALE. D'APRES (PAPE ET AL. 2019).	36
FIGURE 8. REPARTITION DES AGES DE DEBUT ET DE DIAGNOSTIC DES PATIENTS DFT. D'APRES (COYLE-GILCHRIST ET AL. 2016).	41
FIGURE 9. EXEMPLE D'UN PATIENT DFT-VC PRESENTANT UNE ATROPHIE SEVERE DES LOBES FRONTAUX ET TEMPORAUX. D'APRES (N. T. OLNEY, SPINA, AND MILLER 2017).....	43
FIGURE 10. ILLUSTRATION DE DEGENERESCENCE NEURONALE BULBAIRE ET SPINALE DANS LA SLA ("SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE (MALADIE DE CHARCOT) - QU'EST-CE QUE C'EST ? - FICHES SANTE ET CONSEILS MEDICAUX").	45
FIGURE 11 CLASSIFICATION NEUROPATHOLOGIQUE DES DLFTS. SELON (M. NEUMANN, TOLNAY, AND MACKENZIE 2009).....	46
FIGURE 12. ASSOCIATIONS ENTRE NATURE DES INCLUSIONS PROTEIQUES, GENES ASSOCIES, SOUS-TYPE NEUROPATHOLOGIQUES ET PHENOTYPES CLINIQUES ; D'APRES (PANZA ET AL. 2020).....	46
FIGURE 13. SCHEMATISATION DE LA STRUCTURE DES 6 ISOFORMES DE TAU. SELON (GOEDERT, GHETTI, AND SPILLANTINI 2012).	48
FIGURE 14. MARQUAGE IMMUNOCYTOCHIMIQUE D'INCLUSION TAU 3R DANS LE GYRUS DENTE D'UN PATIENT DFT. D'APRES (N. T. OLNEY, SPINA, AND MILLER 2017).	49
FIGURE 15. STRUCTURE DE TDP-43 : ASSOCIATION DES DOMAINES PROTEIQUES AUX FONCTIONS GENERALE. D'APRES (BUDINI ET AL. 2012).	50
FIGURE 16. INCLUSIONS TDP-43 DANS LES CERVEAUX POST-MORTEM DE PATIENTS DFT. A) DISTRIBUTION SCHEMATIQUE DES AGREGATS TDP-43 SELON LE TYPE DE DLFT-TDP. B) INCLUSIONS DE TYPE A. C) INCLUSION DE TYPE B. D) INCLUSIONS DE TYPE C. E. INCLUSIONS INTRANUCLEAIRES DE TYPE D. D'APRES (BURRELL ET AL. 2016).	53
FIGURE 17. LOCALISATION DANS LES COUCHES SUPERIEURES ET PROFONDES CORTICALES DES INCLUSIONS DLFT-TDP DE TYPE E. INCLUSIONS PRINCIPALEMENT PERINUCLEAIRES A STRUCTURES GRANULO-FILAMENTEUSES. D'APRES (E. B. LEE ET AL. 2017).	54

FIGURE 18. INCLUSIONS NEUROPATHOLOGIQUES DE LA SLA. A. LOCALISATION PHYSIOLOGIQUE DE TDP-43 NUCLEAIRE MISE EN EVIDENCE PAR UNE TETE DE FLECHE. LA FLECHE ENTIERE INDIQUE LA DISTRIBUTION ANORMALE DE TDP-43 DANS LE CYTOPLASME D'UN AUTRE NEURONE, ASSOCIEE A LA PERTE NUCLEAIRE DE CETTE PROTEINE. B. NEURONE MOTEUR SAIN POINTE PAR LA FLECHE NOIRE, COMPARE A UN NEURONE COMPORTANT UN CONGLOMERAT HYALIN, MONTRE PAR LA TETE DE FLECHE, CHEZ UN PATIENT SLA PORTEUR D'UNE MUTATION SOD1. C. INCLUSIONS P62 CHEZ UN PATIENT SLA AVEC MUTATION C9ORF72. D. PERTE DE NEURONES MOTEURS DANS LA CORNE VENTRALE DE LA MOELLE EPINIERE D'UN PATIENT SLA. E. NEURONES MOTEURS DANS LA MOELLE EPINIERE D'UN PATIENT SAIN, EN COMPARAISON A LA FIGURE D. F. MISE EN EVIDENCE DE MICROGLIES PAR MARQUAGE CD68 DANS LA MOELLE EPINIERE D'UN PATIENT SLA. D'APRES (HARDIMAN ET AL. 2017).	56
FIGURE 19. REPRESENTATION DU PROCESSUS DE MATURATION DE SOD1 DEPENDANT DE CHAPERONNES CCS. 1)SOD1 EST TRADUITE. 2)LE DIMERE CCS EST CHARGE D'UN ION CUIVRE POUR PERMETTRE DE DECOUVRIR SON SITE DE LIAISON A SOD1. 3)SOD1 SE LIE AU DOMAINE II DE CCS. 4) UN ION ZINC EST CHARGE SUR LA PROTEINE SOD1 (CETTE ETAPE PEUT AUSSI AVOIR LIEU EN (1). 5-8) LES IONS CUIVRE DU CCS SONT TRANSFERES A LA PROTEINE SOD1 ET UN PONT DISULFURE SE FORME PUIS EST OXYDE. UN DIMERE MATURE DE PROTEINE SOD1 FONCTIONNELLE EST FORME. LES CHAPERONNES CCS RETROUVENT UNE CONFORMATION NATIVE POUR ENTRER DE NOUVEAU DANS LE CYCLE DE MATURATION DE SOD1. DANS LES ENCADRES BLEUS SONT LISTEES LES MUTATIONS DE SOD1 POUVANT INTERVENIR A CHAQUE ETAPE DU CYCLE. D'APRES (SEETHARAMAN ET AL. 2009).....	58
FIGURE 20. INCLUSIONS FUS CHEZ DES PATIENTS SLA. A) INCLUSION FUS DANS UN NEURONE MOTEUR INFERIEUR B) INCLUSION FUS DANS UN NEURONE MOTEUR SUPERIEUR. C) DANS LES GANGLIONS DE LA BASE. D) INCLUSION FUS DANS DES GRANULES CYTOPLASMIQUES. D'APRES (I. R. A. MACKENZIE, ANSORGE, ET AL. 2011).	59
FIGURE 21. SPECTRE GENETIQUE (A) ET NEUROPATHOLOGIQUE (B) DES DFT – SLA. D'APRES(LING, POLYMENIDOU, AND CLEVELAND 2013).....	61
FIGURE 22. PROPORTIONS DES MUTATIONS DANS LES FORMES FAMILIALES DE DFT ET DFT-SLA (FRENCH RESEARCH NETWORK ON FTD AND FTD-ALS).	62
FIGURE 23. PATHOLOGIE TAU DANS DES TISSUS CEREBRAUX DE PATIENTS PSP ET SCB. A) ASTROCYTES « TUFTES » MARQUES PAR ANTICORPS ANTI-TAU. B) ASTROCYTE « EPINEUX » POINTE PAR LA FLECHE, MARQUE PAR ANTICORPS ANTI-TAU. C) ENCHEVETREMENT GLOBULAIRE POSITIF AU MARQUAGE ANTI-TAU. D) PLAQUE ASTROCYTAIRE. E) INCLUSION PERINUCLEAIRE MARQUE PAR ANTI-TAU. F) CORPS ENROULE OLIGODENDROGLIALE. G) FILAMENTS NEURITTIQUES. BARRE D'ECHELLE = 25MM. D'APRES (BERRY ET AL. 2004).....	64
FIGURE 24. STRUCTURE DU GENE CODANT LA PROGRANULINE. LA PROGRANULINE CONTIENT 7 MOTIFS ET DEMI DE GRANULINES. CHACUNE POURRA ETRE CLIVEE ET EXERCER DIFFERENTES FONCTIONS. D'APRES (PETKAU ET AL. 2010).	66
FIGURE 25. SCHEMATISATION DE LA SEQUENCE DU GENE C9ORF72 ET DE SES TRANSCRITS. D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).	67
FIGURE 26. CONSEQUENCES GAIN ET PERTE DE FONCTION DE C9ORF72. D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).....	68
FIGURE 27. DIFFERENTS DIPEPTIDES SENS ET ANTI-SENS. D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).	70
FIGURE 28. FOCI ARN DANS LES CERVEAUX DE PATIENT DFT-SLA PORTEUR DE MUTATION C9ORF72. A ET B. FOCI ANTISENS (EN VERT) ET SENS (EN ROUGE) PRESENTS DANS LE NOYAU D'UN NEURONE CORTICAL. C. INCLUSION TDP-43 CHEZ UN PATIENT DFT-SLA AVEC MUTATION C9ORF72. D. INCLUSION DE DPR POLY-GA CYTOPLASMIQUE. BARRE D'ECHELLE : 50 μm D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).	72
FIGURE 29 PROPORTIONS DES GENES LES PLUS FREQUEMMENT MUTES DANS LES CAS DE SLA FAMILIALES ET SPORADIQUES EN EUROPE. D'APRES (MEJZINI ET AL. 2019).....	75
FIGURE 30. LOCALISATION DES MUTATIONS DANS LA SEQUENCE TARDBP. D'APRES (I. R. A. MACKENZIE AND RADEMAKERS 2008).	79
FIGURE 31. TABLEAU LISTANT LES GENES IMPLIQUES DANS LA SLA (LISTE NON EXHAUSTIVE). D'APRES (TOTH AND ATKIN 2018).	81
FIGURE 32. DELOCALISATION ANORMALE DE TDP-43 DU NOYAU AU CYTOPLASME, DANS UN NEURONE MOTEUR DE MOELLE EPINIERE D'UN PATIENT SLA. D'APRES (FENEBERG ET AL. 2018).	86
FIGURE 33. SCHEMATISATION DES EFFETS PERTE ET GAIN DE FONCTION DE TDP-43. D'APRES (VANDEN BROECK, CALLAERTS, AND DERMAUT 2014).	87
FIGURE 34. DEVELOPPEMENT DE LA PROTEINOPATHIE TDP-43 AU COURS DU TEMPS DANS LES CAS DE DFTS ET DE SLA. D'APRES (BURRELL ET AL. 2016).	90
FIGURE 35. MECANISME MOLECULAIRE DE TRANSMISSION "PRION-LIKE". A. AMPLIFICATION DE LA TRANSMISSION PRION-LIKE PAR CONTACT ET TRANSFORMATION D'UNE PROTEINE NATIVE EN PROTEINE PATHOLOGIQUE.	

B. LES PROTEINES PRION-LIKE POURRAIENT COMMENCER A S'AGREGER ET A SE REPANDRE AU SEIN DE GRANULES DE STRESS. D'APRES (MANIECKA AND POLYMENIDOU 2015).	91
FIGURE 36. TRANSMISSION POSSIBLE DES PROTEINES ASSOCIEES AUX DFT/SLA PAR LA VOIE DE SECRETION DE VESICULES EXTRACELLULAIRES. 1) LES ENDOSOMES MULTIVESICULAIRES (MVE) ET EXOSOMES SE FIXENT SUR LA MEMBRANE DE LA CELLULE CIBLE. 2) LES VESICULES FUSIONNENT AVEC LA MEMBRANE PLASMATIQUE.3) OU SONT ENDOCYTEES. 4) LES VESICULES ENDOCYTEES PEUVENT FUSIONNER AVEC UN COMPARTIMENT INTERNE. D'APRES (RAPOSO AND STOOVVOGEL 2013).	92
FIGURE 37. PERTURBATION DES FONCTIONS MITOCHONDRIALES PAR LA PROTEINE SOD1 MUTANTE. LA PROTEINE POURRAIT INTERAGIR AVEC LA CHAINE DE TRANSPORT AUX ELECTRONS PERTURBANT LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE DE L'ATP. SOD1 POURRAIT AUSSI PERTURBER L'HOMEOSTASIE CALCIQUE DE LA MITOCHONDRIE. LES AGREGATS PROTEIQUES PEUVENT INTERAGIR AVEC BCL-2, ACTIVANT LA MACHINERIE APOPTOTIQUE DE LA MITOCHONDRIE. CES MECANISMES INDUISENT DES PERTURBATIONS DE L'HOMEOSTASIE CELLULAIRE ET ENGENDRER UNE NEUROTOXICITE. D'APRES (BOILLEE, VANDE VELDE, AND CLEVELAND 2006).	96
FIGURE 38. ÉVOLUTION SCHEMATIQUE DE L'ACTIVATION GLIALE ASSOCIEE A LA DEGENERESCENCE DES NEURONES MOTEURS. QUATRE PHASES SONT DECRITES : « NORMAL OU PHYSIOLOGIQUE », « EARLY PHASE OU PHASE PRECOCE », « SYMPTOMATIQUE », « END STAGE OU STADE FINAL ». CETTE FIGURE ILLUSTRE LA TOXICITE CELLULE AUTONOME ET NON-AUTONOME INDUITE PAR SOD1. D'APRES (BOILLEE, VANDE VELDE, AND CLEVELAND 2006).	99
FIGURE 39. TRANSITIONS POSSIBLES PERMETTANT LA FORMATION D'AGREGATS TAU. D'APRES (BALLATORE, LEE, AND TROJANOWSKI 2007).	101
FIGURE 40. REPRESENTATION DES MECANISMES CELLULAIRES DEFECTUEUX DANS LA DFT ASSOCIEE A UNE ACCUMULATION PROTEIQUE DE TAU. D'APRES (BODEA ET AL. 2016).	102
FIGURE 41. REPRESENTATION DES TRANSPORTS ANTEROGRADÉS ET RETROGRADÉS AXONAUX PAR L'INTERMÉDIAIRE DE LA KINESINE ET LA DYNACTINE. D'APRES (SLEIGH ET AL. 2019).	103
FIGURE 42. MODULATION D'EXPRESSION DES RECEPTEURS GLT-1 ET VGLUT ET INFLUENCE SUR LES CONCENTRATIONS DE GLUTAMATE DANS L'ESPACE SYNAPTIQUE, DANS UN MODELE MURIN TAU P301L. D'APRES (HUNSBERGER, RUDY, ET AL. 2015B).	104
FIGURE 43. TABLEAU RECAPITULATIF DES MODELES MURINS C9ORF72 PERTE DE FONCTION. D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).	107
FIGURE 44. VUE D'ENSEMBLE DU MECANISME AUTOPHAGIQUE. D'APRES (DIKIC AND ELAZAR 2018).	109
FIGURE 45. ROLE DE C9ORF72 DANS L'AUTOPHAGIE. A) C9ORF72 PERMET LA FORMATION DU PHAGOPHORE PAR SON INTERACTION AVEC RAB1A. B) PAR SON INTERACTION AVEC P62, C9ORF72 PERMET DE DELIVRER LES PROTEINES UBIQUITINEES A L'AUTOPHAGOSOME. C) C9ORF72 CONTRIBUE AU TRAFIC DE MEMBRANE ET A LA FUSION DE L'ENDOSOME AU LYSOSOME. D. EN MODULANT MTORC1, C9ORF72 CONTRIBUERAIT A LA BIOGENESE LYSOSOMALE. D'APRES (NASSIF, WOELHBIER, AND MANQUE 2017).	110
FIGURE 46. TABLEAU RECAPITULATIF DES MODELES MURINS C9ORF72 GAIN DE FONCTION.	112
FIGURE 47 . MECANISMES CELLULAIRES IMPACTES PAR LES MUTATIONS C9ORF72. D'APRES (BALENDRA AND ISAACS 2018).	116
FIGURE 48. TABLEAU RECAPITULATIF DES MODELES MURINS PGRN DEFICIENTS. D'APRES(PETKAU AND LEAVITT 2014).	117
FIGURE 49. UNE DEFICIENCE EN PROGRANULINE ROMPT L'HOMEOSTASIE GLIE-NEURONE ET INDUIT LA NEURODEGENERESCENCE. D'APRES (KAO ET AL. 2017).	119
FIGURE 50. LE TRAFIC CELLULAIRE DE LA PROGRANULINE ET SON ROLE DANS LA FONCTION LYSOSOMALE. D'APRES (KAO ET AL. 2017).	120
FIGURE 51. ILLUSTRATION DU ROLE DE P62 DANS L'AUTOPHAGIE. CETTE PROTEINE PERMET D'APPORTER LE CARGO PROTEIQUE UBIQUITINE A DEGRADER AU PHAGOSOME. D'APRÈS ("P62/SQSTM1: THE MOLECULE THAT LINKS AUTOPHAGY TO THE KEAP1-NRF2 SYSTEM," N.D.).	123
FIGURE 52. FONCTIONS CELLULAIRES ALTERÉES DANS LES CAS DE DFT/SLA. D'APRES (HARDIMAN ET AL. 2017).	124
FIGURE 53. REPRESENTATION DE LA LOCALISATION ET DES DIFFÉRENTES FONCTIONS DES HNRNPs DANS LES DFTs ET SLA. D'APRES (RAGE ET AL. 2020).	126
FIGURE 54. LES PROTEINES DE LIAISON A L'ARN QUI CONTIENNENT UN DOMAINE LCD PEUVENT CHANGER DE PHASE. ILLUSTRATION D'UNE SEPARATION DE PHASE ENTRE PHASE MIXTE (EN HAUT) A FORMATION DE GOUTTELETTE (EN BAS). D'APRES (J. P. TAYLOR, BROWN, AND CLEVELAND 2016).	127
FIGURE 55. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES SEQUENCES DES HNRNPs IMPLIQUEES DANS LES DFTs/SLA. D'APRES (SOBUE ET AL. 2018).	128

FIGURE 56. LES MUTATIONS DES GENES CODANT LES PROTEINES DE LIAISON A L'ARN ENTRAINENT DES PERTURBATIONS DANS L'ASSEMBLAGE, LA DYNAMIQUE ET LA FONCTION DES ORGANELLES SANS MEMBRANES COMME LES GRANULES DE STRESS. D'APRES (LIN ET AL. 2015).	129
FIGURE 57. LA SEPARATION DE PHASES CONTRIBUE A L'ASSEMBLAGE, A LA DYNAMIQUE DES ORGANITES SANS MEMBRANE. TOUTEFOIS, LE POSITIONNEMENT ETROIT DES DOMAINES DE FAIBLE COMPLEXITE RISQUE D'ENTRAINER DES CHANGEMENTS DE CONFORMATIONS ET AGREGATIONS PROTEIQUES. D'APRES (J. P. TAYLOR, BROWN, AND CLEVELAND 2016).	131
FIGURE 58. REPRESENTATION DES DIFFERENTES FONCTIONS DES PROTEINES IMPLIQUEES DANS LES DFT/SLA DANS LES VOIES DE DEGRADATION CELLULAIRE... D'APRES (GÖTZL ET AL. 2014).	133
FIGURE 59. ILLUSTRATION D'UN LIEN ENTRE AUTOPHAGIE ET AGREGATION PROTEIQUE. SI LES PROTEINES DE LIAISON A L'ARN POSSEDANT UN DOMAINE LCD SONT TROP CONCENTREES DANS LES GRANULES DE STRESS, ELLES PEUVENT CHANGER DE CONFORMATION ET DEVENIR INSOLUBLE. LA MACHINERIE DE DEGRADATION SERA INEFFICACE. EN PARALLELE, SI L'AUTOPHAGIE N'EST PAS EFFICACE, ALORS LES PROTEINES NE SERONT PAS DEGRADEES DE FAÇON EFFICACE, ELLES S'AGREGERONT ALORS. D'APRES (SOBUE ET AL. 2018).	134
FIGURE 60. REPRESENTATION DU COMPLEXE INFLAMMASOME NLRP3. L'INFLAMMASOME EST COMPOSE D'UN SENSEUR (NLR), D'UN ADAPTATEUR (ASC) ET D'UNE ENZYME (PRO-CASPASE-1). D'APRES (MALIK AND KANNEGANTI 2017).	136
FIGURE 61. ILLUSTRATIONS DES DIFFERENTS INFLAMMASOMES. D'APRES (HAYWARD ET AL. 2018).	137
FIGURE 62. COMPARAISON DES VOIES CANONIQUE ET NON-CANONIQUE DE L'INFLAMMASOME NLRP3. D'APRES (MALIK AND KANNEGANTI 2017).	138
FIGURE 63. HYPOTHESE CONCERNANT LES LIENS DE RETROACTION ENTRE AUTOPHAGIE ET INFLAMMASOME NLRP3. L'ACTIVATION DES TLRs RESULTE EN L'ACTIVATION DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION NF- κ B. CELUI-CI PERMET LA REGULATION DE NLRP3 ET DE PRO-IL-1 β . LES ROS ET ADN MITOCHONDRIAUX PEUVENT ENTRAÎNER L'ACTIVATION ET L'OLIGOMERISATION DE NLRP3 AINSI QUE LE RECRUTEMENT DE ASC. CELA VA ENTRAÎNER L'ACTIVATION DE LA CASPASE-1 QUI VA A SON TOUR ACTIVER L'IL-1 β . L'AUTOPHAGIE EST AUSSI INDUITE PAR LA SIGNALISATION DES TLRs, PARALLELEMENT A L'INFLAMMASOME. L'AUTOPHAGIE VA AINSI PERMETTRE LA REGULATION DE L'INFLAMMASOME EN DEGRADANT/RECYCLANT LES ACTIVATEURS (MITOCHONDRIES), LES COMPLEXES INFLAMMASOMES ET SOUS-UNITES (ASC), LES SUBSTRATS (PRO-IL-1 β). EN L'ABSENCE D'AUTOPHAGIE, LES MITOCHONDRIES ENDOMMAGEES PEUVENT S'ACCUMULER ET ACTIVER L'INFLAMMASOME MENANT A LA DEREGULATION DE LA SECRETION D'IL-1 β . D'APRES (MERKLEY ET AL. 2018).	139
FIGURE 64. HYPOTHESE D'UNE COOPERATION DES EFFETS GAIN ET PERTE DE FONCTION DE LA PROTEINE C9ORF72 A LA FOIS DANS NEURONES ET GLIE, CONTRIBUANT A LA NEURODEGENERESCENCE. D'APRES (MCCAULEY AND BALOH 2019).	141
FIGURE 65. LA PROTEINE TDP-43 ACTIVE LES CELLULES MICROGLIALES WT. A) IMAGE PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE DE LA PROTEINE RECOMBINANTE TDP-43 QUI S'AGREGE SPONTANEMENT DANS UN MILIEU NON REDUCTEUR. PAR UN MARQUAGE ANTI-TDP-43 COUPLE A DES BILLES D'OR (IMAGE DE DROITE), NOUS CONFIRONS QUE LES STRUCTURES OBSERVEES CORRESPONDENT A LA PROTEINE TDP-43. B) ANALYSE PAR MICROSCOPIE CONFOCALE DE LA PRESENCE DES AMAS DE PROTEINE TDP-43 PAR MARQUAGE ANTI-HISTIDINE (ROUGE) SUR LES CELLULES MICROGLIALES MARQUEES PAR UN ANTI-CD11 β (VERT). LA MORPHOLOGIE DES CELLULES MICROGLIALES EST MODIFIEE APRES STIMULATION PAR TDP-43. ÉCHELLE = 50 μ m. C) LES CELLULES MICROGLIALES SONT TRAITEES 16H OU 24H AVEC QUATRE CONCENTRATIONS DE LA PROTEINE TDP-43 ET DES CONTROLES NEGATIFS (UREE 2MM) ET POSITIFS (LPS+NIGERICINE). A 16H ET 24H, LES STIMULATIONS AUX CONCENTRATIONS 2,5 μ g/mL ET 5 μ g/mL INDUISENT L'AUGMENTATION SIGNIFICATIVE DE LA SECRETION DE CYTOKINE PRO-INFLAMMATOIRE IL-1 β . LA SECRETION DE CYTOKINES TNF-A AUGMENTE ELLE AUSSI DE FAÇON SIGNIFICATIVE APRES STIMULATION DES CELLULES PAR TDP-43 AUX 3 DOSES LES PLUS FORTES. (N \geq 12) TEST STATISTIQUE KRUSKAL-WALLIS NON PARAMETRIQUE, COMPARAISON DES DIFFERENTES CONDITIONS A LA CONDITION 2. * P<0.05, **P<0.01 NS : NON SIGNIFICATIF.	146
FIGURE 66. LA PROTEINE TDP-43 ACTIVE L'INFLAMMASOME NLRP3. A) LES CELLULES MICROGLIALES ONT ETE TRAITEES OU NON PENDANT 16H OU 24H AVEC CRID3, UN INHIBITEUR DE LA VOIE DE L'INFLAMMASOME NLRP3. AVEC LE TRAITEMENT CRID3, LA SECRETION D'IL-1 β EST INHIBEE APRES STIMULATION DES CELLULES PAR TDP-43. CE N'EST PAS LE CAS POUR LA SECRETION DE TNF-A. B) LES CELLULES MICROGLIALES NLRP3 ^{-/-} ONT ETE TRAITEES AVEC LES MEMES STIMULI QUE LES CELLULES WT. APRES STIMULATION DES CELLULES NLRP3 ^{-/-} PAR TDP-43, AUCUNE SECRETION D'IL-1 β N'A ETE MESUREE EN COMPARAISON AUX CELLULES WT. LA SECRETION DE TNF-A EST QUASI IDENTIQUE ENTRE LES CELLULES WT ET NLRP3 ^{-/-} . LES DONNEES SONT PRESENTEES SOUS FORME DE MOYENNE \pm SEM (N \geq 3). C) ANALYSE CO-IF PAR MICROSCOPIE CONFOCALE DE CD11 β (EN VERT), TDP-43 AVEC HISTIDINE-TAG (HIS EN BLANC) ET ASC (EN ROUGE), AVEC OU SANS STIMULATION DE TDP-43 PENDANT 24H. LES AGREGATS	

DE TDP-43 COLOCALISES AVEC CD11B SONT INDICUES PAR DES FLECHES BLANCHES ; LES AGREGATS ASC PAR DES FLECHES ROUGES. ÉCHELLE = 20µm..... 148

FIGURE 67. LA PROTEINE TDP-43 EST INTERNALISEE PAR LES CELLULES MICROGLIALES APRES SA LIAISON AUX RECEPTEURS TLR2/4, ET ACTIVE L'INFLAMMASOME NLRP3 PAR LA VOIE NON CANONIQUE. A) LES CELLULES ONT ETE TRAITÉES PENDANT 24H AVEC UN INHIBITEUR DES TLR2/4 : OxPAPC. APRES TRAITEMENT PAR L'OxPAPC, LA SECRETION D'IL-1B INDUITE PAR TDP-43 EST INHIBÉE DE FAÇON SIGNIFICATIVE, PAR RAPPORT AU TRAITEMENT TDP-43 SANS OxPAPC. LES SECRETIONS D'IL-1B EN CONDITIONS CONTROLES SONT INCHANGÉES PAR LA PRESENCE DE L'INHIBITEUR DES TLR2/4 (N ≥ 4) * P<0,05, **P<0,01. COMPARAISON D'UNE MEME STIMULATION AVEC OU SANS TRAITEMENT OxPAPC PAR TEST MANN WHITNEY. **B)** APRES 16H DE STIMULATION AVEC TDP-43 A 2,5µg/mL, LES CELLULES ONT ETE OBSERVÉES PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE. GRACE A UN MARQUAGE AUX BILLES D'OR CONTRE TDP-43, LA STRUCTURE DES AGREGATS DE TDP-43 A ETE MONTREE A PROXIMITE DE, ET INTERNALISEE PAR LES CELLULES MICROGLIALES (FLECHES). DANS L'IMAGE DE GAUCHE, LES FLECHES POINTENT LES STRUCTURES AGREGÉES ALORS QUE SUR LES DEUX AUTRES CLICHES, LES FLECHES POINTENT LES BILLES D'OR. **C)** LES CELLULES MICROGLIALES WT ONT ETE TRAITÉES AVEC YVAD, UN INHIBITEUR DE LA CASPASE-1, ET WEDELOLACTONE, UN INHIBITEUR DE LA CASPASE-11. APRES TRAITEMENT PAR YVAD ET STIMULATION DES CELLULES PAR TDP-43 5µg/mL, LA SECRETION D'IL-1B EST DIMINUÉE PAR RAPPORT A CETTE MEME CONDITION SANS YVAD. LA SECRETION D'IL-1B EST EGALEMENT DIMINUÉE APRES TRAITEMENT WEDELOLACTONE. 151

FIGURE 68. LES CELLULES MICROGLIALES DEFICIENTES EN C9ORF72 ET EN PGRN SONT HYPERACTIVÉES PAR TDP-43. A) LES CELLULES MICROGLIALES WT, C9ORF72^{-/-} ET GRN^{R493/R493X} ONT ETE TRAITÉES PAR LES DEUX CONCENTRATIONS LES PLUS ÉLEVÉES DE TDP-43 ET PAR CONTROLES NEGATIFS ET POSITIFS PENDANT 16 OU 24 HEURES. LA LIGNE HORIZONTALE NOIRE REPRÉSENTE LA SECRETION D'IL-1B PAR LES CELLULES WT APRES STIMULATION PAR TDP-43 A 5µg/mL. À 16H ET 24H, LA SECRETION D'IL-1B EST SIGNIFICATIVEMENT AUGMENTÉE, VOIRE DOUBLÉE, APRES STIMULATION DES MICROGLIES MUTANTES PAR TDP-43 5µg/mL PAR RAPPORT AUX CONTROLES. LA SECRETION D'IL-1B EST EGALEMENT AUGMENTÉE APRES STIMULATION DES CELLULES MUTANTES PAR TDP-43 A 2,5µg/mL MAIS CETTE DIFFÉRENCE N'EST PAS SIGNIFICATIVE. DONNÉES PRÉSENTÉES SOUS FORME DE MOYENNE ± SEM (N ≥ 6). * P<0,05, **P<0,01. COMPARAISON D'UNE MEME CONDITION DE STIMULATION DANS LES DIFFÉRENTS GENOTYPES PAR TEST DE MANN-WHITNEY. **B)** ANALYSE CO-IF PAR MICROSCOPIE CONFOCALE DE IBA1 (VERT) ET CD11B (ROUGE), OU CD68 (VERT) ET CD45 (ROUGE) DANS DES CELLULES MDMi CONTROLES. ÉCHELLE = 50µm **C)** LES MDMi D'UN TEOIN, D'UN PORTEUR DE MUTATION C9ORF72 ET D'UN PORTEUR DE MUTATION GRN ONT ETE TRAITÉES 24H AVEC TDP-43 2,5µg/mL. LA LIGNE HORIZONTALE NOIRE REPRÉSENTE LA SECRETION D'IL-1B DES MDMi TEOINS APRES STIMULATION PAR TDP-43 2,5µg/mL. LA SECRETION D'IL-1B APRES TRAITEMENT PAR TDP-43, EST AUGMENTÉE POUR LES MDMi MUTES (N = 1). **D)** ANALYSE CO-IF PAR MICROSCOPIE CONFOCALE DE P62 (ROUGE) ET CD11B (BLANC) DANS DES MICROGLIES MURINES WT, C9ORF72^{-/-} ET GRN^{R493X/R493X} AVEC OU SANS STIMULATION TDP-43. ÉCHELLE = 20µm **E)** QUANTIFICATION DU NOMBRE MOYEN DE SPOT/CELLULE DE P62 ET DE LA TAILLE MOYENNE DES SPOTS P62, EN FONCTION DU GENOTYPE DES CELLULES. APRES TRAITEMENT DES CELLULES PAR TDP-43, LE NOMBRE MOYEN DE SPOTS P62 EST DIMINUÉ DANS LES CELLULES MUTANTES ALORS QUE LA TAILLE MOYENNE DES SPOTS P62 EST AUGMENTÉE DANS LES CELLULES MUTANTES..... 155

FIGURE 69. ÉCHANTILLONS PRÉPARÉS POUR LE SEQUENÇAGE ARN A) TABLEAU RECAPITULATIF DES ÉCHANTILLONS BIOLOGIQUES OBTENUS IN VITRO, ENVOYÉS A NOS COLLABORATEURS POUR SEQUENÇAGE ARN. **B)** TABLEAU RECAPITULATIF DES ISOLEMENTS DE CELLULES MICROGLIALES RÉALISÉS A PARTIR DE SOURIS ADULTES, DONT L'ARN A ETE EXTRAIT. **C)** EXEMPLE D'UNE VÉRIFICATION D'ENRICHISSEMENT DE POPULATION MICROGLIALES PAR ANALYSEUR FACS. LA POPULATION DOUBLE POSITIVE CD11b+ CD45+ REPRÉSENTE 67,19% DES CELLULES VIVANTES DE L'ÉCHANTILLON MAIS NE REPRÉSENTENT QUE 26,59% DE L'ÉCHANTILLON TOTAL..... 158

FIGURE 70 EXTRACTION D'ESPECE PROTEIQUE TDP-43 PATHOLOGIQUE A) EXTRACTION DE VESICULES EXTRACELLULAIRES A PARTIR DE L'ISF DE CORTEX FRONTAL D'UN INDIVIDU CONTROLE ET D'UN PATIENT DFT PORTEUR DE MUTATION GRN. LES MARQUEURS FLOTILIN ET AIP1 NOUS PERMETTENT DE MONTRER QUE LES FRACTIONS A, B ET C SONT ENRICHIES EN VESICULES EXOSOMALES. CES MEMES FRACTIONS, CHEZ LE CONTROLE ET CHEZ LE PATIENT, EXPRIMENT LA PROTEINE TDP-43 (43KDA). IL SEMBLE Y AVOIR UNE QUANTITE PLUS IMPORTANTE DE PROTEINE TDP-43 DANS CES FRACTIONS CHEZ LE PATIENT, DE PLUS, DES FORMES CLIVÉES PATHOLOGIQUES SONT EGALEMENT PRÉSENTES. **B)** EXTRACTION DES FORMES PROTEIQUES RESISTANTES AU SARKOSYL, PRÉSENTES DANS LES CULOTS RESULTANTS DE LA PRÉPARATION DE L'ISF. LA PROTEINE TDP-43 (43KDA) EST PRÉSENTE DANS LES 3 CULOTS (P1, P2, P3) CHEZ LE PATIENT ET LE CONTROLE, DANS LA FRACTION SARKOSYL-SOLUBLE MAIS EGALEMENT DANS LA FRACTION SARKOSYL-INSOLUBLE. CEPENDANT, A L'INVERSE DU CONTROLE, LES FORMES CLIVÉES SEMBLENT MAJORITAIRES CHEZ LE PATIENT DFT, NOTAMMENT DANS LA FRACTION SARKOSYL-

RESISTANTE. POUR APPUYER CELA, LA PROTEINE TDP-43 PHOSPHORYLEE N'EST PRESENTE QUE SOUS FORME CLIVEE (25KDA) DANS LA FRACTION SARKOSYL-RESISTANTE DES CULOTS P2 ET P3 DU PATIENT GRN.	161
FIGURE 71. ILLUSTRATION DE L'ACTIVATION DE LA VOIE DE L'INFLAMMASOME NLRP3 AU SEIN DES CELLULES MICROGLIALES CONDUISANT A UNE ACTIVATION PRO-INFLAMMATOIRE DE CES CELLULES (A) ET CONSEQUENCES DE CETTE ACTIVATION SUR LES AUTRES TYPES CELLULAIRES (B). LA SECRETION D'IL-1B VA EXERCER DES ACTIONS MULTIPLES, EN AGISSANT DIRECTEMENT SUR LA PLASTICITE NEURONALE, EN ACTIVANT LES ASTROCYTES QUI VONT MODULER LES PROPRIETES ELECTROPHYSIOLOGIQUES DES NEURONES, ET EN PERMEABILISANT LA BHE. D'APRES (SWANTON ET AL. 2018).....	168
FIGURE 72. LA PROTEINE TAU PATHOLOGIQUE PEUT ACTIVER LES CELLULES GLIALES DE TYPE MICROGLIES ET ASTROCYTES. CES CELLULES ACTIVEES VONT SECRETER DES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES ET CHEMOKINES QUI VONT ATTIRER LES LYMPHOCYTES CIRCULANTS. APRES FRAGILISATION DE LA BHE, CES LYMPHOCYTES POURRONT REJOINDRE LE SITE DE LESION ET INDIURE LA MORT NEURONALE, PAR EXEMPLE PAR PERFORATION DE LA MEMBRANE. D'APRES (LAURENT, BU EE, AND BLUM 2018; WALTON 2018). 171	171
FIGURE 73. REPRESENTATION DES PERTURBATIONS MITOCHONDRIALES INDUITES PAR TDP-43. TDP-43 PRESENT DANS LE CYTOSOL VA INTERAGIR AVEC VDAC1. LA POLYUBIQUITINYLATION DE VDAC1 PAR PRKN EST ESSENTIELLE POUR LE DECLANCHEMENT DE LA MITOPHAGIE. TDP-43 PEUT AUSSI INTERAGIR AVEC PHB2 SUR LA MEMBRANE EXTERNE MITOCHONDRIALE. PHB2 INTERAGIT AVEC LC3-II POUR INDIURE LA MITOPHAGIE ET EST AUSSI IMPLIQUE DANS LA FUSION MITOCHONDRIALE. TDP-43 PEUT AUSSI INTERAGIR AVEC MFN1 QUI VA AUGMENTER LES NIVEAUX DE DRP1 TE FIS1, PROTEINES INDUISANT LES PROCESSUS DE FISSIONS MITOCHONDRIALES. TDP-43 PEUT AUSSI ALTERER LE PROTEASOME ET ENTRAINER L'ACCUMULATION DE PROTEINE PINK CLIVEE. SOUS STRESS, LA MITOPHAGIE DE MITOCHONDRIE NON DEFECTUEUSE, DITE NON SELECTIVE SE MET EN PLACE. D'APRES (RAVANIDIS AND DOXAKIS 2020).	173
FIGURE 74. BOUCLE DE REGULATION DE LA MITOPHAGIE SUR L'INFLAMMASOME NLRP3. UNE FOIS LES CELLULES MICROGLIALES ACTIVEES PAR DES AGONISTES, LA VOIE NFkB EST ACTIVEE. CELLE-CI VA PERMETTRE LA TRANSCRIPTION DE NLRP3 MAIS AUSSI DE p62. AINSI, LA VOIE DE L'INFLAMMASOME NLRP3 EST ACTIVEE, ET EN PARALLELE, LES MITOCHONDRIES ENDOMMAGEES PAR LES AGONISTES DE LA VOIE NLRP3, VONT ETRE UBIQUITINYLEES ET RECONNUES PAR LES PROTEINES p62. LA MITOPHAGIE SE MET ALORS EN PLACE ET INHIBE L'INFLAMMASOME NLRP3. CE MECANISME PERMET DE LIMITER L'INFLAMMATION. D'APRES (ZHONG ET AL. 2016).....	175
FIGURE 75. APRES ENDOCYTOSE DE CRISTAUX DE CHOLESTEROL OU D'AUTRES STIMULI PAR LES CELLULES MICROGLIALES, LES LYSOMOMES SONT FRAGILISES PAR PERMEABILISATION DE LEURS MEMBRANES. SUITE A UNE PERMEABILISATION FAIBLE, QUELQUES CATHEPSINES SONT LIBEREES DANS LA CELLULE ET SONT CAPABLES D'ACTIVER L'INFLAMMASOME NLRP3. EN CAS DE PERMEABILISATION MEMBRANAIRE LYSOSOMALE TOTALE, LES CATHEPSINES LIBEREES DANS LA CELLULE VONT DEGRADER LES COMPOSANTS DE L'INFLAMMASOME NLRP3. (LES LETTRES B L C Z REPRESENTENT LES CATHEPSINES) (LMP : LYSOSOMAL MEMBRANE PERMEABILISATION). D'APRES (CAMPDEN AND ZHANG 2019).	177
FIGURE 76. PRINCIPALES DROGUES EN DEVELOPPEMENT CIBLANT LES DLFT-TAU. D'APRES (PANZA ET AL. 2020).....	180
FIGURE 77. SCHEMATISATION DES PRINCIPALES CIBLES THERAPEUTIQUES PRINCIPALEMENT ETUDIEES DANS LES DLFT-TAU ET DLFT-TDP. D'APRES (PANZA ET AL. 2020).	181

SOMMAIRE

Avant-propos	23
I. INTRODUCTION	24
A. Généralités sur pathologies neurodégénératives et neuroinflammation	24
1. Définition de l'inflammation	24
2. Immunité et cerveau	24
3. Système immunitaire et Inflammation dans le SNC : balance bénéfique/risque	26
a) La microglie en contexte physiologique : effet bénéfique pour le SNC	26
b) La microglie en contexte pathologique	32
i. Activation microgliale et impact neuronal	32
ii. Profils d'activation microgliale	33
iii. Microglie et immunité adaptative	35
c) Emergence d'un rôle neuroinflammatoire dans les maladies neurodégénératives	36
i. Exemple de la maladie d'Alzheimer	36
ii. Dans les Démences Frontotemporales	38
B. Des DFTs à la DFT/SLA et la SLA	39
1. Aspects cliniques	40
a) Clinique des Démences Frontotemporales (DFTs)	40
b) Clinique de la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA)	43
2. Neuropathologie	45
a) Neuropathologie des DFTs	45
i. DLFT-Tau	47
ii. DLFT-TDP43	49
iii. DLFT- FET	54
iv. DLFT-UPS	55
b) Neuropathologie de la SLA	56
i. SLA-SOD1	56
ii. SLA-FUS	58
iii. SLA-TDP-43	59
3. Génétique	60
a) Génétique des DFTs	61
i. MAPT	62
ii. GRN	64
iii. C9ORF72	66
iv. GENES MINORITAIRES DES DFTs	73
b) Génétique de la SLA : des mutations communes à la SLA et aux DFTs ?	74
i. SOD1	75
ii. C9ORF72	76
iii. FUS	78
iv. TARDBP	78
v. GENES MINORITAIRES DE LA SLA	80
C. Hypothèses concernant les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les DFTs, DFT-SLA et SLA	82
1. A chaque gène ou protéine, son hypothèse	83
a) FUS	83
b) TDP-43	85
c) SOD1	94
d) MAPT	100
e) C9ORF72	106
f) GRN	116
g) Gènes minoritaires de la SLA, des DFTs et des DFT-SLA	122
2. Quelles sont les hypothèses communes aux DFTs, DFT-SLA et SLA ?	124
a) Dérégulation des protéines de liaison aux ARNs	125

b)	Autophagie et transport vésiculaire	132
c)	Neuroinflammation dans les DFT/SLA	135
D.	Hypothèses et Objectif de la thèse	141
II.	RESULTATS	144
A.	TDP-43 active les cellules microgliales	144
B.	L'activation des cellules microgliales par TDP-43 est NLRP3-dépendante	147
C.	L'activation microgliale par TDP-43 passe par une fixation de TDP-43 aux récepteurs TLR2/4, par son internalisation et l'activation de la caspase 1	149
D.	Les cellules microgliales déficientes en protéines C9ORF72 et PGRN sont suractivées par TDP-43	152
E.	Analyse globale de l'activation des microglies par TDP-43	156
F.	Extraction des formes pathologiques TDP-43 à partir d'échantillons de patients DFT-C9ORF72 et DFT-GRN	159
III.	DISCUSSION	163
A.	Limites de notre modèle d'étude	164
1.	Le stimulus choisi	164
2.	Le modèle cellulaire	167
3.	Contribution de l'Immunité adaptative	169
B.	Hypothèses concernant la mécanistique d'activation microgliale	171
1.	Activation microgliale et mitophagie	171
2.	Fonctions lysosomales défectueuses et maladies neurodégénératives	176
C.	Importance de la neuroinflammation dans la maladie et le traitement des patients	178
1.	Activation microgliale : cause ou conséquence ?	178
2.	Thérapies existantes et perspectives dans les DFTs et DFT-SLA	179
IV.	CONCLUSION	182
V.	MATERIELS ET METHODES	184
A.	Modèles murins utilisés	184
B.	Culture primaire de cellules microgliales murines	184
C.	Stimulation des cellules microgliales murines	185
D.	Culture de cellules dites « microglie-like » humaines	186
1.	Prélèvements sanguins	186
2.	Isolement des PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) à partir de sang frais	186
3.	Isolement des monocytes à partir des PBMC	186
4.	Culture de MDMi	187
E.	ELISA	187
F.	Marquages Immunocytochimiques	188
G.	Microscopie confocale	188
H.	Analyse des images de microscopie confocale pour quantification des vésicules p62	188
I.	Microscopie Électronique à Transmission (MET)	189
J.	Détection de la caspase-1 clivée et de protéine ASC dans le surnageant des cellules microgliales murines traitées par TDP-43	190

K.	Isolement de cellules microgliales à partir de cerveaux de souris adultes	190
L.	Extraction d'ARN	191
M.	Isolement de la protéine TDP-43 à partir de cerveaux de patients	192
1.	Fractions vésiculaires	192
2.	Fractions sarkosyl insolubles	193
3.	Western Blot pour mise en évidence TDP43 dans les fractions protéiques et vésiculaires	193
N.	Analyses statistiques	194
VI.	ANNEXE 1	260
VII.	ANNEXE 2	262

Avant-propos

La démence désigne « **un déclin des aptitudes mentales assez grave pour interférer avec la vie quotidienne** » (<https://www.alz.org/fr/quest-ce-que-la-demence.asp>).

Dans le monde, 50 millions de personnes sont atteintes de démence et il apparaît près de 10 millions de nouveaux cas chaque année (<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dementia#:~:text=On%20compte%2050%20millions%20de,60%2D70%25%20des%20cas.>).

La maladie d'Alzheimer représente 60 à 80 % des cas de démence, suivi par les Démences vasculaires (qui surviennent suite à un accident vasculaire cérébral), les démences à corps de Lewy, et les démences fronto-temporales (DFTs).

Le manque de traitements curatifs justifie d'un intérêt majeur pour l'étude des mécanismes physiopathologiques conduisant à la mise en place de ces pathologies. Des pistes concernant une composante neuroinflammatoire dans les démences dégénératives laissent envisager que l'immunité innée pourrait être une cible thérapeutique.

Dans ce manuscrit, je commencerai par introduire les concepts neuro-immunitaires. Je donnerai quelques pistes concernant la présence d'une neuroinflammation chez les patients présentant une maladie neurodégénérative. Je citerai pour exemple la maladie d'Alzheimer puis traiterai spécifiquement des Démences Frontotemporales puisqu'il s'agit de la pathologie que nous étudions au laboratoire.

Je présenterai le continuum « Démences Frontotemporales » et « Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) » en développant les observations cliniques, neuropathologiques puis génétiques. J'utiliserai à ce propos le terme DFT pour l'ensemble des formes cliniques de la pathologie, et DLFT pour les formes neuropathologiques. Après avoir introduit les gènes ou protéines majoritaires associées aux DFTs et SLA, j'explorerai quelques hypothèses quant à leur contribution à la neuropathogénèse. J'introduirai alors notre hypothèse suggérant un mécanisme neuroinflammatoire commun aux DFTs/SLA puis présenterai les résultats obtenus au cours de cette thèse pour les discuter dans une dernière partie.

I. INTRODUCTION

A. Généralités sur pathologies neurodégénératives et neuroinflammation

1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est un processus immunologique mis en place par tous les animaux et qui constitue la première ligne de défense de l'organisme en réponse à une infection ou à un stress impliquant entre autres, le recrutement de cellules immunitaires. On trouve la première trace de caractérisation des manifestations de l'inflammation dans les écrits d'Aulus Cornelius Celsus, un auteur encyclopédiste romain ayant vécu de -29 avant J.-C. à 37 après J.-C. Cette description initiale, *rubor* (rougeur), *calor* (chaleur), *tumor* (gonflement), *dolor* (douleur), a été complétée en 1858 par Rudolf Virchow, un médecin pathologiste allemand qui y a ajouté *functio laesa* (impotence fonctionnelle). Lors d'une agression (d'origine externe ou interne), l'inflammation correspond à l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine les éléments perturbateurs (pathogènes, particules toxiques, tumeurs, etc) à l'origine de l'agression. La réponse immunitaire est régulée par des molécules "signal" appelées cytokines, dont l'interleukine-1 β (Il-1 β) est un membre central (Ren and Torres 2009). Les fonctions immunitaires innées offrent une protection efficace contre beaucoup d'organismes infectieux et mènent à la reconstitution de l'homéostasie tissulaire après traumatisme (Ren and Torres 2009; Rathinam and Chan 2018). Cependant, une activation chronique des mécanismes immunitaires ou une inflammation excessive peuvent, dans certains cas, exacerber les dommages tissulaires et contribuer à la mise en place et/ou au renforcement de l'état pathologique de l'organisme (L. Chen et al. 2018).

2. Immunité et cerveau

Durant des décennies, le cerveau a été considéré comme un organe immunitairement privilégié, séparé du reste de l'organisme par la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Daneman 2012). Elle se compose de cellules endothéliales, de péricytes et

d'astrocytes qui entourent les vaisseaux sanguins (Daneman and Prat 2015). Elle forme ainsi un premier rempart contre l'invasion des pathogènes (Miller et al. 2012) (Figure 1).



Figure 1. Représentation de la BHE. D'après (Abbott, Rönnbäck, and Hansson 2006). La BHE est composée de cellules endothéliales se joignant par jonctions serrées, de péricytes et d'astrocytes qui entourent le vaisseau sanguin. Les cellules microgliales sont présentes dans le parenchyme cérébral.

Dans le cerveau, les cellules microgliales forment une seconde barrière de défense contre les molécules infectieuses. Elles expriment des récepteurs de reconnaissance aux pathogènes (PRR ou « pattern recognition receptor ») qui peuvent déclencher des voies de signalisation inflammatoires après activation (Olson and Miller 2004; Takeuchi et al. 1999; R. B. Yang et al. 1998; Kielian, Mayes, and Kielian 2002). Ces PRRs sont capables de détecter les molécules microbiennes, appelées motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP), qui s'accumulent généralement dans les tissus infectés. Ces PRRs comprennent les TLRs (Toll like receptors), les NLRs (nucleotide-binding oligomerization domains like receptor) et RLRs (RIG like receptor) (Koval'chuk, Khoreva, and Nikonova 2011; Ransohoff and Perry 2009; Ransohoff and Brown 2012). En outre, il est prouvé que les ligands des PRRs dérivés de l'hôte, appelés motifs moléculaires associés aux dommages (DAMP), peuvent être trouvés sous la forme de protéines mal repliées, de peptides agrégés ou d'acides nucléiques mal localisés dans les cerveaux de patients présentant une maladie neurodégénérative (Heneka, Kummer, and Latz 2014). C'est l'un des aspects auquel nous nous sommes intéressés au cours de cette thèse et sur lequel je reviendrai dans ce manuscrit. Ces cellules immunitaires innées présentes dans le SNC

vont combattre les infections mais également veiller au bon maintien de l'homéostasie cérébrale (Harry 2013; Presta et al. 2018). Les astrocytes bien que n'étant pas à proprement parler des cellules immunitaires, jouent un rôle important : il existe en effet de fortes présomptions quant à leurs capacités à sécréter des cytokines pro-inflammatoires mais aussi à incarner le rôle de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (Constantinescu et al. 2005; Claycomb et al. 2013). Cependant, dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes uniquement intéressés à la population microgliale. L'aspect astrocytaire de la réponse inflammatoire ne sera donc pas abordé dans le manuscrit.

Les mécanismes de surveillance immunitaire cérébrale pourraient être bien plus complexes puisque de nouvelles études montrent qu'un drainage lymphatique fonctionnel existerait dans le cerveau. Ce système circulatoire a été mis en évidence entre le liquide céphalo rachidien (LCR), le parenchyme cérébral et les vaisseaux lymphatiques (Louveau et al. 2018; 2015; B. L. Sun et al. 2018). Le drainage lymphatique cérébral contribue à maintenir l'équilibre hydrique et ionique du liquide interstitiel, à éliminer les déchets et à réabsorber les solutés macromoléculaires (Louveau et al. 2018; 2015; B. L. Sun et al. 2018). Une deuxième fonction physiologique comprendrait la communication du SNC avec le système immunitaire. L'altération et le dysfonctionnement du système lymphatique cérébral joue un rôle crucial dans les modifications des fonctions cérébrales liées à l'âge et dans la pathogenèse des maladies neurovasculaires, neurodégénératives et neuroinflammatoires (B. L. Sun et al. 2018).

3. Système immunitaire et Inflammation dans le SNC : balance bénéfique/risque

a) La microglie en contexte physiologique : effet bénéfique pour le SNC

Les populations de macrophages du SNC comprennent la microglie, les macrophages périvasculaires, les macrophages méningés et les macrophages du plexus choroïde, bien que les cellules microgliales soient les seules cellules myéloïdes résidant dans le parenchyme du SNC sain (Herz et al. 2017).

Les cellules gliales ont été décrites pour la première fois par Virchow, en 1856, sous le nom de "nevernitt", qui signifie colle nerveuse, traduite plus tard par "névroglies" (Virchow R. 1856). Cette population cellulaire correspondait en réalité à la population macrogliale, qui comprend des astrocytes et des oligodendrocytes (Rio-Hortega D. 1939). C'est Santiago Ramon y Cajal qui a d'abord identifié une autre catégorie de cellules, correspondant aux cellules microgliales, qu'il baptisa le "troisième élément du système nerveux", pour les différencier davantage des neurones et des névroglies (Ramón y Cajal 1913). Il a déclaré qu'elles étaient probablement d'origine mésodermique. Enfin, Del Rio-Hortega, étudiant de Ramon y Cajal, a introduit le terme "cellule microgliale" pour décrire le troisième élément non neuronal, non astrocytaire et distinct des oligodendrocytes (Rio-Hortega D. 1939) (Figure 2).



Figure 2. D'après (De Castro et al. 2015) Nature du "Troisième élément". Dessin de la neuroglie appelée « 3^e élément » par Cajal après coloration des cellules au chlorure d'or. Dessins de microglie et oligodendrocytes par Rio-Hortega après observation des cellules par coloration au carbonate d'argent.

Jusque dans les années 1990, l'origine ectodermique ou mésodermique de la microglie a été débattue (Ginhoux and Prinz 2015). L'hypothèse d'une origine mésodermique formulée premièrement par Del Rio Hortega a ensuite été confirmée (Hao, Richardson, and Fedoroff 1991; Fedoroff, Zhai, and Novak 1997; De Groot et al. 1992; Rezaie and Male 2002).

Il est communément admis que les cellules microgliales sont dérivées des précurseurs de macrophages mésodermiques issus du sac vitellin embryonnaire avant la vasculogénèse (Alliot, Godin, and Pessac 1999; Ginhoux et al. 2010; Mosser et al. 2017). Ces cellules colonisent le SNC durant le développement embryonnaire à E8,5 chez la souris (Figure 3). L'ontogenèse microgliale implique ensuite la prolifération des cellules intraparenchymateuses et leur différenciation (Alliot, Godin, and Pessac 1999; Cuadros and Navascués 2001).



Figure 3. Colonisation du SNC par les microglies au cours du développement chez la souris. Les précurseurs microgliaux proviennent du sac vitellin et colonisent le SNC à E8,5. La distribution homogène des cellules au sein de la couche IV du cortex prend place lors de la seconde semaine post-natale. D'après (Mosser et al. 2017).

CP : Cortical Plate ; M : Meninges ; NCx : Neocortex ; V : ventricule.

Contrairement aux monocytes, qui sont constamment renouvelés à partir de cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse tout au long de la vie, les cellules microgliales résidentes du cerveau adulte sain persistent à l'âge adulte grâce à un auto-renouvellement constant (Kierdorf et al. 2013). Ces cellules ont des capacités de prolifération élevées (Réu et al. 2017). Toutefois, la composition de la population microgliale adulte reste un sujet controversé puisqu'elle pourrait soit dépendre uniquement des cellules dérivées de progéniteurs embryonnaires soit intégrer aussi des monocytes sanguins circulants infiltrés et différenciés en microglies (Ginhoux and Garel 2018).

Les cellules microgliales constituent 10% de la population gliale totale (Luo and Chen 2012). Cette proportion peut varier d'une aire cérébrale à l'autre (Lawson et al. 1990).

L'étude des cellules microgliales a été orientée principalement sur l'aspect pathologique de ces cellules, c'est-à-dire, l'inflammation non contrôlée et négative pour l'organisme dont elles peuvent être responsables en contexte de sur-activation chronique. Depuis quelques années il a été montré également que la microglie a des rôles physiologiques nécessaires au bon fonctionnement du cerveau (Lannes et al. 2017).

En effet, la surface des cellules microgliales est pourvue de nombreux transporteurs, canaux et récepteurs. Il s'agit notamment de récepteurs pour les neurotransmetteurs, les neurohormones, les neuromodulateurs, les cytokines et les chimiokines, ainsi que les PRR. Au cours de la synaptogénèse embryonnaire, la microglie participe à la formation de synapses entre les neurones en sécrétant des hormones de croissance et des thrombospondines (Rigato et al. 2011). Les cellules microgliales utilisent leurs prolongements pour rechercher en permanence les synapses dysfonctionnelles, qu'elles sont capables d'éliminer par phagocytose (Tremblay, Lowery, and Majewska 2010; Wake et al. 2009). L'activité synaptique est également influencée par la sécrétion microgliale du facteur neurotrophique (BDNF), une molécule cruciale pour la formation de synapses dépendantes de l'apprentissage (Parkhurst et al. 2013). Cette étude de Parkhurst et al (Parkhurst et al. 2013) a d'ailleurs démontré que dépléter un cortex murin de la microglie induisait des défauts considérables d'apprentissage et de mémorisation. Il est possible que d'autres molécules sécrétées par les cellules microgliales participent au remodelage des synapses et à la modulation du réseau neuronal. Les cellules microgliales sont capables d'influencer la neurogénèse adulte dans le cerveau (Vukovic et al. 2012). Par exemple, grâce à leurs fonctions de phagocytes, elles éliminent des neurones apoptotiques. Elles participent également à la migration des interneurones, et par l'intermédiaire de sécrétion de facteurs de croissance comme l'IGF-1 (Insulin-like growth factor-1) à la survie neuronale (Figure 4).

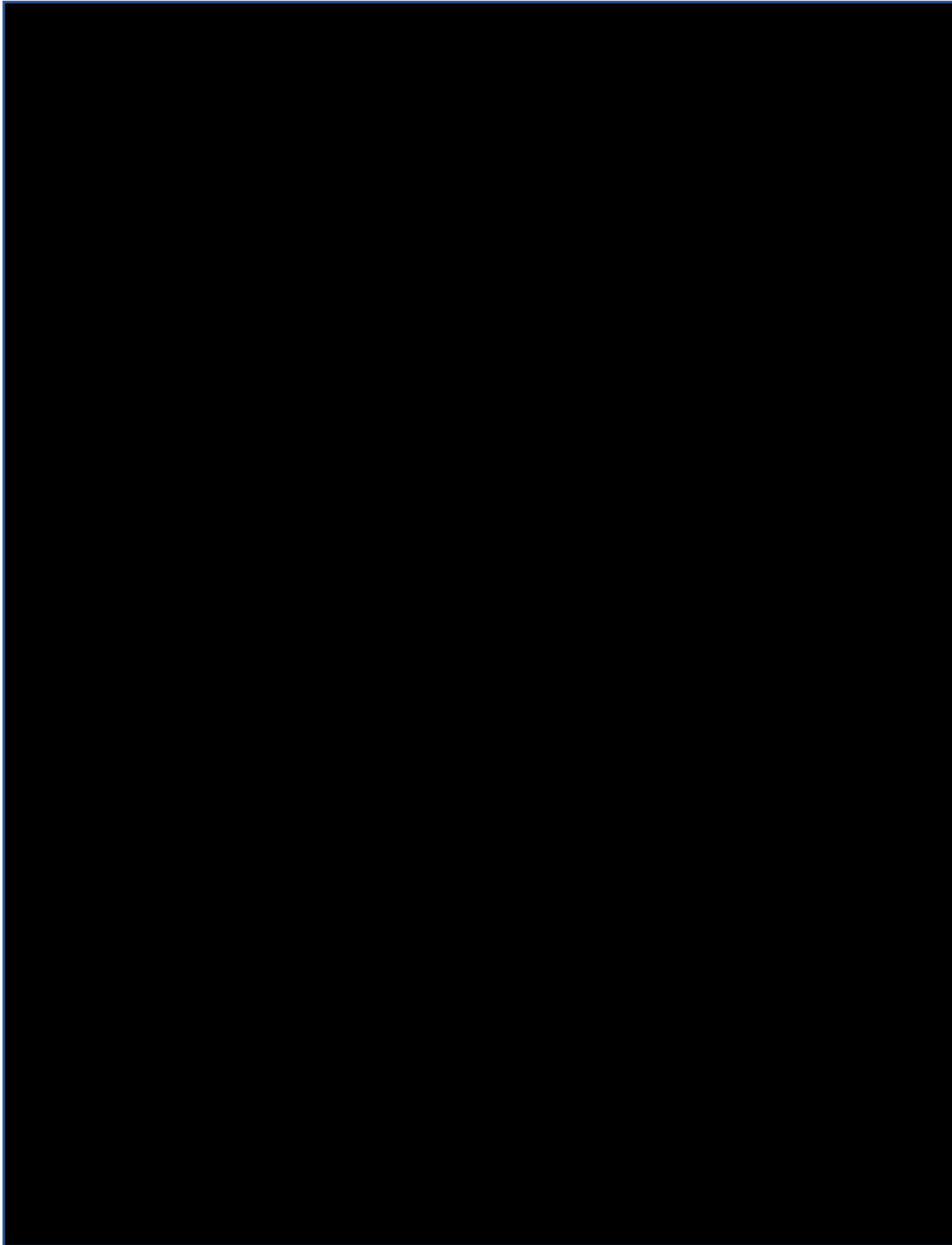


Figure 4. Fonctions microgliales au cours du développement du CNS. D'après (Mosser et al. 2017). Implication de la microglie dans des mécanismes de phagocytose des neurones apoptotiques (A), d'élagage synaptique (B), de formation des synapses (C), de survie neuronale (D), de modulation synaptique (E), de migration des interneurons (F).

En fonction de leur localisation, les cellules microgliales acquièrent un phénotype compact ou ramifié (Lawson et al. 1990). Le phénotype ramifié est caractérisé par la présence d'un grand nombre de processus en mouvement constant qui facilitent l'interaction des microglies avec les vaisseaux sanguins, les neurones et les astrocytes voisins. Ces interactions sont importantes pour le maintien du tissu cérébral et la plasticité neuronale comme précédemment évoqué (Parkhurst et al. 2013; Schafer et

al. 2012). La motilité de leurs prolongements leur confèrent une sensibilité accrue aux modifications environnementales (par exemple, perturbation de l'homéostasie).

L'activation des cellules microgliales s'accompagne d'un changement de morphologie, de phénotype et de fonction (Nayak, Roth, and McGavern 2014) (Figure 5). En réponse à l'invasion de virus, de bactéries ou à une lésion du SNC, les cellules microgliales présentent un raccourcissement des processus cellulaires et un élargissement de leur soma (parfois appelé phénotype "amiboïde"). Ce phénotype leur permet de mettre en place leur fonction phagocytaire (Town, Nikolic, and Tan 2005).

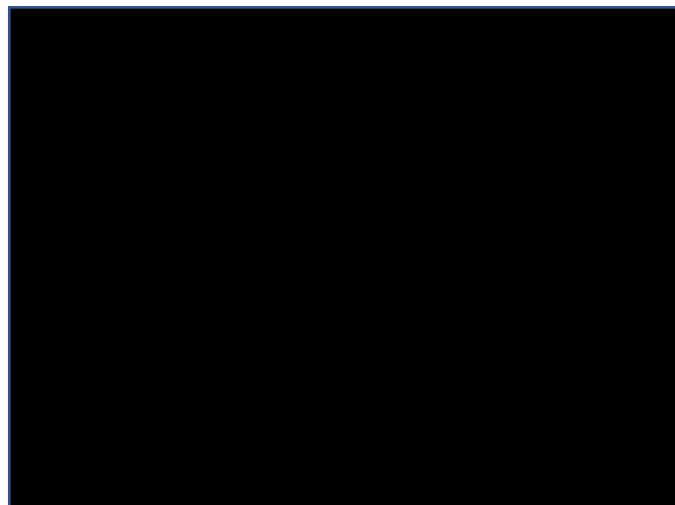


Figure 5. Illustration des morphologies microgliales observables en fonction de l'âge ou en contexte pathologique. Des coupes de cerveaux post-mortem ont été utilisées pour mettre en évidence les microglies par marquage Iba1. Les images de A à C ont été obtenues chez un sujet âgé mais sain tandis que l'image D provient d'un patient Alzheimer. A. Les cellules sont ramifiées avec un petit corps cellulaire rond et de longues ramifications. B. Les microglies sont réactives, le corps cellulaire est important et les prolongements plus petits. C. Les microglies sont amoeboïdes avec un corps cellulaire imposant et une absence de ramification. D. Les microglies entourent des plaques amyloïdes. Barre d'échelle = 50µm. D'après (Franco-Bocanegra et al. 2019).

D'une façon générale, une cellule microgliale en condition anti-inflammatoire va débarrasser son environnement des débris environnants par phagocytose et secrètera des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-4 (Interleukin-4) et des facteurs de croissance comme le BDNF (Brain derived neurotrophic factor) (Jinqiang Zhang et al. 2020). Une microglie activée en état pro-inflammatoire secrètera plutôt des espèces réactives à l'oxygène (ROS) et des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β , IL-6 ou le TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α), initiant alors une réponse immuno-vasculaire, dans le but de protéger le SNC et de combattre une infection. (H. Neumann, Kotter, and Franklin 2009; Kaushal and Schlichter 2008). La microglie contribue à la maintenance de l'homéostasie des tissus par ses capacités de surveillance de

l'environnement et de phagocytose des débris (Nayak, Roth, and McGavern 2014; Mosser et al. 2017).

b) La microglie en contexte pathologique

La réaction pro-inflammatoire est une réaction positive de défense et de protection de l'organisme, qui s'atténue une fois l'épisode passé. Toutefois, il est possible que cette régulation n'ait pas lieu et qu'une activation chronique se mette en place, menant à la destruction des tissus (Blasko et al. 2004a).

i. Activation microgliale et impact neuronal

Les conséquences de l'activation microgliale sur les cellules neuronales, sont multiples et pas totalement comprises. L'utilisation du lipopolysaccharide bactérien (LPS), composant de la membrane bactérienne des gram-négatives, comme stimulus a permis de mieux comprendre les réponses inflammatoires microgliales induites en contexte pathologique (V. H. Perry and Andersson 1992; X. Wang et al. 2016; Lund et al. 2006; Hoogland et al. 2015).

L'activation microgliale peut premièrement induire des dérégulations fonctionnelles neuronales. En effet, la libération prolongée de médiateurs pro-inflammatoires est impliquée dans la suppression du transport axonal et de la neurogénèse adulte (Monje, Toda, and Palmer 2003). Les cellules microgliales activées sont caractérisées par la rétraction de leurs processus, qui est un changement phénotypique pouvant être corrélé à une altération de la capacité à remodeler les synapses. Cet effet, ainsi que les effets suppressifs des cytokines et du NO (monoxyde d'azote), peuvent contribuer à l'altération de la plasticité synaptique. De plus, la neuroinflammation limite l'apport de facteurs neurotrophiques aux cellules gliales et neuronales (Nagatsu and Sawada 2005). La neuroinflammation peut aussi affecter les processus physiologiques, comme l'autophagie, importante pour le recyclage des protéines intraneuronales (Alirezai et al. 2008). L'inflammation induite par les cellules microgliales peut non seulement affecter les neurones, mais aussi provoquer des effets de rétroaction néfastes sur les microglies. Par exemple, il a été démontré qu'une exposition prolongée au LPS limite

la phagocytose microgliale des protéines mal repliées et agrégées associées comme DAMPS (Koenigsnecht-Talboo and Landreth 2005; Qiao, Cummins, and Paul 2001). Les cellules microgliales activées de manière chronique peuvent également entraîner la mort des neurones adjacents en sécrétant des molécules hautement toxiques tels que des espèces réactives de l'oxygène (ROS), du NO (Boje and Arora 1992; Simmons and Murphy 1992; Meda et al. 1995), des cytokines inflammatoires, des enzymes protéolytiques ou des facteurs du complément (J. Rogers et al. 2002). L'activation du système du complément conduit à la fixation d'anaphylatoxines et d'opsonines sur les membranes neuronales, entraînant leur phagocytose (Bradt, Kolb, and Cooper 1998; Klos et al. 2009). Les cytokines telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 peuvent être directement cytotoxiques lorsqu'elles sont produites de manière chronique à des concentrations élevées (Jeohn et al. 1998).

ii. Profils d'activation microgliale

Des modèles d'activation *in vitro* ou *in vivo* de la microglie ont permis de mettre en évidence différentes voies de signalisation inflammatoires faisant intervenir un panel de facteurs de transcription et d'autres molécules allant de NF-kB, C/EBP, Fos/ Jun, (Sweet and Hume 1996), aux voies phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B, (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR), p38/MAPK (Y. He et al. 2018) et JAK/STAT3 (Guo et al. 2017; Akhmetzyanova et al. 2019) ; tout cela mettant en lumière la complexité phénotypique inflammatoire de la microglie.

Afin de structurer la complexité de l'activation microgliale, une première tentative de classification M1-M2 a été appliquée aux états d'activation de la microglie (Akhmetzyanova et al. 2019; Satoh 2018). Le phénotype M1 est caractérisé par la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , et IL-6), de chimiokines, et d'espèces réactives de l'oxygène conduisant à une réponse immunitaire aiguë. Le phénotype M2 est caractérisé par la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (IL-4 et IL-13) et facilite l'élimination des débris, la cicatrisation des plaies et le rétablissement de l'homéostasie des tissus cérébraux (J. D. Cherry, Olschowka, and O'Banion 2014; Murray et al. 2014)(Figure 6).

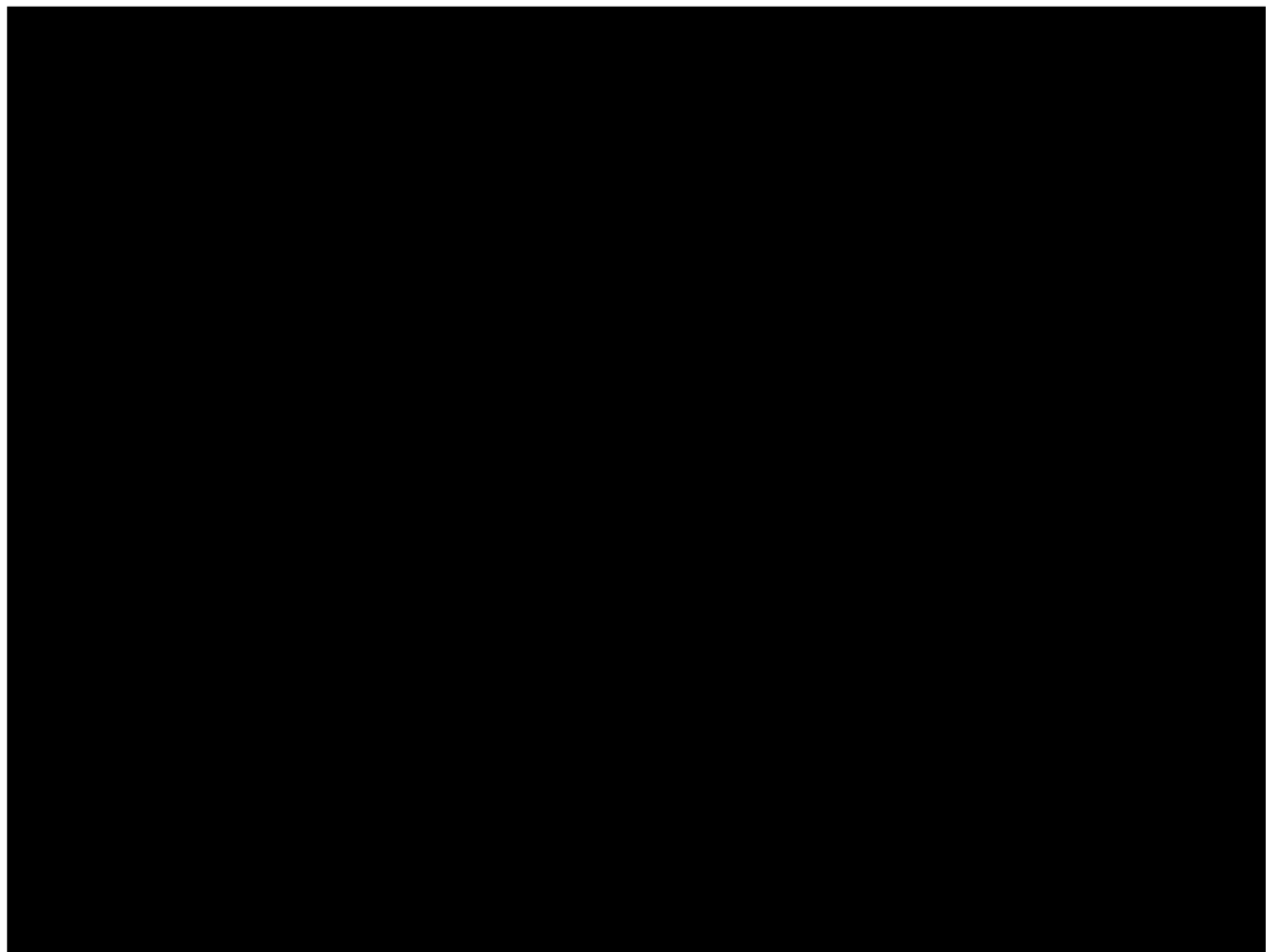


Figure 6. Représentation des états d'activation microgliale dits phénotypes M1 et M2. D'après (Heneka, Kummer, and Latz 2014).

Il a été supposé que les cellules microgliales réagissaient à un stimulus par un phénotype M1 pour traiter la pathologie et les dommages, puis passaient à un phénotype M2 afin de réparer les tissus (Colton 2009). Une compréhension plus détaillée a permis d'accepter que les états d'activation microgliale sont plus divers et qu'il existe des intermédiaires entre les phénotypes M1 et M2 (J. D. Cherry, Olschowka, and O'Banion 2014). Les études de transcriptomique ont réfuté l'existence des états de polarisation M1-M2 mutuellement exclusifs. En effet, les gènes associés à M1-M2 (Murray et al. 2014) peuvent être co-exprimés par des cellules microgliales murines dans un contexte de lésions cérébrales traumatiques (Thelin et al. 2017) et pathologiques (I. M. Chiu et al. 2013). En outre, l'analyse du transcriptome des macrophages humains dérivés de monocytes exposés à 29 stimuli différents *in vitro*, a révélé que chaque stimulus déclenchait l'expression d'un profil de transcription distinct. Ces profils vont bien au-delà des profils de transcription associés aux M1-M2 (Xue et al. 2014) et indiquent que le concept de spectre d'activation entre les extrêmes

M1-M2 est inadéquat. Des études récentes ont ainsi conduit à l'abandon de ce concept M1-M2 statique des états d'activation microgliale (Ransohoff 2016) et pointent vers l'adaptation d'un concept dit "multidimensionnel" reflétant la plasticité de cette cellule (D. Cherry 2014). Un tel concept serait conforme aux connaissances actuelles acquises grâce aux études du transcriptome et d'épigénome sur la grande variété d'états d'activation microgliale spécifiques à différentes conditions, notamment le vieillissement et les maladies neurodégénératives (Wes et al. 2016; Dubbelaar et al. 2018).

iii. Microglie et immunité adaptative

Les cellules microgliales sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Ainsi, le CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité II), et les molécules co-stimulatrices : la protéine CD86, et les récepteurs $Fc\gamma$ sont surexprimés dans les cas d'activation microgliale pour la mise en place de fonction CPA de la microglie (P. R. Taylor et al. 2005). En cas d'activation prolongée, les cellules microgliales pourront présenter les antigènes « pathogéniques ou pathologiques » aux lymphocytes (Schetters et al. 2018). En effet, certaines sécrétions cytokiniques vont fragiliser la BHE et permettre l'invasion des lymphocytes dans le SNC (Shigemoto-Mogami, Hoshikawa, and Sato 2018). Ceux-ci vont alors pouvoir mettre en place la réponse immunitaire adaptative. En contexte physiologique, les lymphocytes participeront à la réparation tissulaire (Brait et al. 2012). En contexte pathologique, par la réponse humorale des lymphocytes T CD4+ ou cytotoxique des lymphocytes T CD8+, les cellules lymphocytaires participeront à la neuroinflammation (Das and Chinnathambi 2019; Galea et al. 2007; Brochard et al. 2009) (Figure 7).



Figure 7. Représentation de l'invasion des cellules lymphocytaires et myéloïdes dans le parenchyme cérébral afin de contribuer à la neuroinflammation initiée par les cellules immunitaires résidentes, et à la mort neuronale. D'après (Pape et al. 2019).

c) Emergence d'un rôle neuroinflammatoire dans les maladies neurodégénératives

i. Exemple de la maladie d'Alzheimer

Depuis quelques années, il est connu que les cellules microgliales peuvent être activées dans des cas de sénescence et de maladies neurodégénératives (Angelova and Brown 2019; Schuitemaker et al. 2013). Des changements liés à l'âge au sein du système immunitaire inné, peuvent influencer le développement de troubles neurodégénératifs tels que la MA (Blasko et al. 2004b). Inversement, les changements dégénératifs liés à l'âge peuvent moduler l'immunité innée (Blasko et al. 2004b). Des concentrations élevées de $\text{TNF-}\alpha$ et d' $\text{IFN-}\gamma$ ont été mesurées dans des modèles de maladies neurodégénératives (Barcia et al. 2011; Benveniste 2020; Tarkowski et al. 2003; Yamamoto et al. 2007).

De nombreuses études indiquent maintenant que la neuroinflammation joue un rôle fondamental dans la progression des changements neuropathologiques observés dans la MA (J. Rogers et al. 1988; Griffin et al. 1989). Au cours des années 1980, la présence de protéines et de cellules liées au système immunitaire a été identifiée à

proximité des plaques β -amyloïdes dans la MA (J. Rogers et al. 1988; Griffin et al. 1989). À partir des années 1990, plusieurs grandes études épidémiologiques ont été publiées, indiquant que les traitements anti-inflammatoires utilisés dans des maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, apportent des qualités protectrices contre le développement de la MA (Mary Beard et al. 1998; Rich et al. 1995; Wyss-Coray et al. 2002). Les patients qui utilisent des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) à long terme démontrent jusqu'à 50% de réduction du risque de développer la MA (Mary Beard et al. 1998; Rich et al. 1995; Wyss-Coray et al. 2002).

Des niveaux accrus de médiateurs pro-inflammatoires, chimiokines et cytokines ont été mesurés dans le LCR de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, indiquant que les processus inflammatoires sont activés (X. Chen et al. 2018) .

Par TEP-SCAN il est possible de suivre la microglie grâce aux radioligands de seconde génération [11C]DAA1106T et [11C](R)-PK11195 (Cagnin 2006), marqueurs de la protéine mitochondriale translocatrice de 18KDa TSPO exprimée par les microglies activées. Ainsi, chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (MA), un niveau important de cellules microgliales activées a pu être mis en évidence, le niveau d'activation corrélant avec le degré de sévérité de la MA (Wiley et al. 2009; Schuitemaker et al. 2013). Cette activation microgliale a également été observée chez des patients atteints d'une déficience cognitive légère pouvant évoluer vers la MA. Ces éléments suggèrent que l'inflammation observée est chronique et se met en place bien avant l'apparition des premiers symptômes de la MA. La corrélation entre inflammation et sévérité de la MA ainsi que la présence de l'inflammation avant le début symptomatique de la pathologie a mis en évidence la relation forte entre inflammation et MA (Edison et al. 2008). Cette idée a, de plus, été renforcée par les études épidémiologiques montrant que les facteurs de risques avérés pour cette maladie ont pour beaucoup une composante inflammatoire (Sierksma et al. 2020). Nous pouvons ainsi citer l'Accident Vasculaire Cérébrale (AVC), le trauma, le diabète, l'obésité, la vieillesse, et les infections. (Wyss-Coray and Rogers 2012; X. Li, Song, and Leng 2015). Récemment, une analyse impartiale des réseaux de régulation de gènes impliqués dans la MA à apparition tardive, a permis d'identifier des gènes associés aux voies immunitaires innées et aux cellules microgliales (B. Zhang et al. 2013).

ii. Dans les Démences Frontotemporales

Notre équipe s'intéresse principalement aux Démences frontotemporales (DFT), elles ont donc constitué l'objet d'étude de ma thèse. De façon intéressante, des marqueurs d'inflammation, tels que des concentrations importantes de cytokines pro-inflammatoires TNF- α ont été mesurés dans le LCR de patients DFT (Sjögren, Folkesson, and Blennow 2004).

Quelques études de la neuroinflammation menées *in vivo* chez les patients présentant des DFTs par TEP-Scan ont montrées que l'expression des radiomarqueurs TSPO était significativement augmentée chez les patients DFT (n=5, incluant 4 patients avec aphasie primaire progressive à variant non fluente APPvnf et 1 patient présentant le variant comportemental DFTvc) par rapport aux contrôles dans les régions corticales préfrontales dorsolatérales gauches et dans l'hippocampe droit et le para-hippocampe (Cagnin et al. 2004). Le profil d'activation microgliale de ces patients se superposant partiellement à celui de l'atrophie cérébrale. De façon intéressante cette activation microgliale localisée au niveau des régions contralatérales de l'atrophie lobaire prédominante suggère que cette activation, présente aux stades précoces de la DFT, précède tout changement anatomique. (Jing Zhang 2015b; Cerami, Iaccarino, and Perani 2017)

Une autre étude, par analyse génomique (GWAS : genome-wide association studies), a montré qu'une dysfonction immunitaire pouvait entrer en jeu dans un contexte de DFT (Broce et al. 2018). Les analyses génomiques de linkage menées dans des cohortes de patients DFT et contrôles, ayant pour but d'investiguer un recouvrement génétique entre les DFTs et maladies à caractère inflammatoire, ont permis d'identifier 15 loci dont 8 sont localisés dans la région « Human Leucocyte Antigen » (HLA) du chromosome 3, zone riche en gènes liés aux fonctions microgliales. En parallèle, l'expression de ces gènes pléiotropiques liés à l'immunité, localisés dans la région HLA, est altérée dans les cerveaux post-mortem de patients DFT et ces derniers sont enrichis en microglies. Il est probable que cette région HLA soit associée à la DFT comme facteur de risque. Ces différentes données chez l'homme tendent à converger vers l'hypothèse d'un dysfonctionnement du système immunitaire et d'une inflammation dans la pathogénèse des DFTs (Broce et al. 2018). Cependant les mécanismes d'activation neuroinflammatoires dans les DFTs sont encore mal compris

(Jing Zhang 2015a). Dans le cadre de cette thèse, je me suis intéressée aux dysfonctions microgliales associées aux DFTs.

B. Des DFTs à la DFT/SLA et la SLA

Les démences frontotemporales (DFTs) et la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) sont deux maladies très différentes sur le plan symptomatologique. En effet, les DFTs se manifestent plutôt par des troubles cognitifs et comportementaux tandis que la SLA est une maladie motrice invalidante. Cependant, un lien étroit réunit ces deux maladies, reconnues maintenant comme les deux extrémités d'un même spectre pathologique. En effet, plus de 15% des patients DFT développent une SLA et 30% des patients SLA présentent des symptômes de DFT (Grad et al. 2017). On parle alors de DFT/SLA. De plus, une agrégation des deux pathologies peut être observée au sein d'une même famille (Orr 2011; Pattamatta, Cleary, and Ranum 2018).

Historiquement, c'est en 1869 que Jean-Martin Charcot a fait une première description de la SLA (Charcot J-M 1869). Elle est d'ailleurs également appelée maladie de Charcot, ou maladie de Lou Gehrig, en référence à un joueur de baseball américain touché par cette pathologie (Fred 2017). Charcot a, dès sa première description, établi une corrélation entre symptômes moteurs et atteinte des neurones moteurs corticaux et spinaux (Charcot J-M 1869). Il a aussi mentionné que les aires non motrices corticales pouvaient être impliquées dans la maladie bien qu'il n'ait pas reporté d'observation clinique de ce fait (Prudlo 2009). C'est son étudiant, Pierre Marie qui, le premier, a décrit une diminution indéniable des facultés cognitives chez les patients atteints de SLA en 1892 (Marie 1892). La même année, le Dr Arnold Pick a reporté le premier cas de DFT chez un homme de 71 ans présentant des troubles cognitifs, des troubles comportementaux et une aphasie (P. Pick 1892). L'autopsie de ce patient a révélé une atrophie du lobe temporal de l'hémisphère gauche sans atteinte particulière du cortex frontal. L'atrophie du cortex frontal dans les DFTs a été relevée pour la première fois en 1906 par Arnold Pick (A. Pick 1906). Le continuum clinique entre DFT et SLA a depuis été montré et conforté par la présence de lésions neuropathologiques puis de causes génétiques communes. En 2006, la protéine TDP-43 a été identifiée comme constituant principal des inclusions neuropathologiques présentes chez les patients DFT et SLA (Arai et al. 2006; M. Neumann et al. 2006). Successivement, des

mutations causales de DFT, de SLA et de DFT/SLA ont été mise en évidence (Gitcho et al. 2008a; Baker et al. 2006; Cruts et al. 2006). Les mutations du gène *C9ORF72* identifiées en 2011 chez des patients DFT, SLA et DFT-SLA ont définitivement convaincu la communauté scientifique d'une co-occurrence entre DFT et SLA (DeJesus-Hernandez et al. 2011; Renton et al. 2011). Le lien entre ces deux pathologies suggère que la compréhension des mécanismes moléculaires dans l'une va permettre de mieux comprendre l'autre. C'est pourquoi, je passerai de DFT à SLA fréquemment au cours de cette thèse.

Le présent chapitre va permettre de faire le point sur la clinique de ces deux maladies. Puis, en cohérence avec l'historique des découvertes précédemment décrites, nous décrirons premièrement les inclusions protéiques neuropathologiques. Dans un second temps, les mutations communes ou spécifiques à l'une ou l'autre de ces pathologies seront présentées dans une partie génétique.

1. Aspects cliniques

a) Clinique des Démences Frontotemporales (DFTs)

Les DFTs correspondent aux démences préséniles les plus fréquentes, c'est-à-dire affectant les patients de moins de 65ans, après la maladie d'Alzheimer (MA) (Harvey, Skelton-Robinson, and Rossor 2003; J. K. Johnson et al. 2005; Onyike and Diehl-Schmid 2013). L'âge de début moyen de la pathologie est compris entre 45 et 65 ans mais des cas débutants plus précocement ou plus tardivement ont également été rapportés (Figure 8) (Coyle-Gilchrist et al. 2016). On estime que la prévalence est de 10 à 15/100 000 (Bright et al. 2019) Cliniquement, les DFTs forment un spectre de manifestations cliniques s'étendant de troubles du comportement, aux troubles du langage progressif, parfois associés à des symptômes moteurs. Le diagnostic de ces démences est souvent complexe dû à la grande hétérogénéité des symptômes (N. T. Olney, Spina, and Miller 2017).



Figure 8. Répartition des âges de début et de diagnostic des patients DFT. D'après (Coyle-Gilchrist et al. 2016).

Ainsi, les démences frontotemporales sont classées selon différents variants : une variante comportementale dite DFT-vc, dans laquelle les troubles du comportement prédominent, et deux variantes langagières dans lesquels prédominent les troubles du langage. D'après (Hogan et al., 2016), 60% des cas de DFT sont représentés par la composante comportementale, les 40% restant correspondent à des troubles du langage (Hogan et al. 2016). Ces variants sont décrits ci-dessous (Rascovsky et al. 2011):

- La composante comportementale (DFT-vc) se déclare quand la partie antérieure du lobe frontal est touchée initialement (Figure 9). Elle est diagnostiquée quand au moins 3 critères symptomatiques sont réunis parmi les suivants :
- Une désinhibition comportementale (comportement inapproprié en société)
 - Une apathie/inertie
 - Une perte d'empathie
 - Des comportements stéréotypés/rituels, persévératifs et obsessionnels
 - Une modification des comportements alimentaires (hyperoralité, préférence pour le sucre)

- Des troubles cognitifs très modérés (difficulté d'orientation dans l'espace)
- Modification du caractère (euphorie, dépression, irritabilité)

→ L'Aphasie primaire progressive (APP) est un syndrome neurodégénératif dans lequel le langage est la première fonction touchée durant les deux premières années de déclaration des symptômes (Mesulam 1982). Il existe 3 sous-types différents d'APP :

- Le variant sémantique d'APP (APP-vs, anciennement appelé 'Démence sémantique') : Dans cette forme, le lobe temporal gauche est initialement touché par la pathologie. Le patient présente une perte progressive des connaissances sémantiques, c'est-à-dire difficultés à comprendre le sens des mots, et une difficulté à reconnaître des objets. Avec l'évolution, l'atteinte devient bilatérale et progresse vers les autres régions cérébrales, entraînant un recouvrement des symptômes langagiers et comportementaux.
- L'Aphasie progressive non fluente ou variant agrammatique (APP-vnf) : Dans cette forme, les patients présentent des difficultés d'expression, associant une réduction de l'expression orale et une utilisation incorrecte de la grammaire ou de la syntaxe et à une perte de compréhension des phrases à syntaxe complexe. Toutefois la reconnaissance d'objet et la compréhension de mots seuls sont relativement épargnées.
- L'Aphasie primaire progressive logopénique (APP-vl) est un troisième variant langagier, fréquemment associée à des lésions de MA qui n'entre donc pas dans le champ des DFT. Le patient présente des difficultés à trouver ses mots et les phrases répétitives lui posent problème.

Environ 15 à 20% des patients atteints de DFT vont développer une pathologie motrice Sclérose latérale amyotrophique (DFT-SLA)(Strong et al. 2003). Enfin, certains syndromes parkinsoniens 'atypiques' incluant la Paralysie supranucléaire progressive (PSP) et le syndrome corticobasal (SCB) partagent des caractéristiques cliniques avec les formes décrites ci-dessus (Josephs et al. 2006; W. Z. Chiu et al. 2010). La PSP associe, dans sa forme la plus classique, un syndrome parkinsonien axial avec des chutes précoces, une paralysie oculomotrice, des troubles cognitifs sous-cortico-frontaux (W. Z. Chiu et al. 2010). Le SCB associe un syndrome parkinsonien, une apraxie (troubles de la réalisation des gestes), des postures ou mouvements anormaux (dystonie, myoclonies, main étrangère) et des troubles du langage et cognitifs (Josephs et al. 2006).

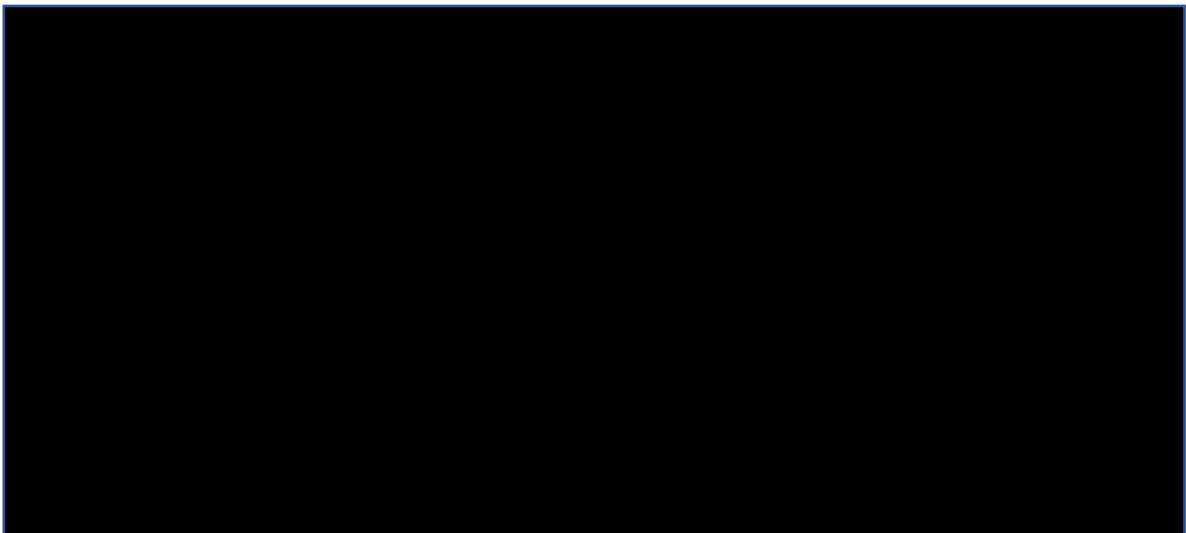


Figure 9. Exemple d'un patient DFT-vc présentant une atrophie sévère des lobes frontaux et temporaux. D'après (N. T. Olney, Spina, and Miller 2017).

b) Clinique de la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA)

La SLA est une maladie neurodégénérative fatale, progressive et d'évolution très rapide. En Europe, on estime que l'incidence est de 2-3/100 000 personnes (Mandrioli et al. 2003; Chio et al. 2009). Le ratio homme/femme est de 1,6 pour 1 (Mitchell and Borasio 2007). L'âge moyen de début des symptômes est compris entre 50 et 65 ans (Zarei et al. 2015). Cette maladie est rapidement évolutive puisque l'espérance de vie

estimée après la déclaration des premiers symptômes se situe entre 3 et 5ans (Zarei et al. 2015; Mitchell and Borasio 2007).

La dégénérescence affecte les neurones moteurs primaires et secondaires (aussi appelés motoneurones). Les neurones moteurs primaires corticaux projettent sur les neurones moteurs secondaires du tronc cérébral et de la corne antérieure de la moelle épinière, qui vont innerver les muscles et permettre leur contraction (Dupuis and Echaniz-Laguna 2010).

Ainsi, deux formes cliniques de la maladie sont décrites en fonction des neurones initialement touchés : la forme bulbaire (motoneurones du tronc cérébral) et la forme spinale (motoneurones de la moelle) (Figure 10). Dans la forme bulbaire, les patients présenteront initialement une dysarthrie (difficulté à articuler) et une dysphagie (trouble de la déglutition) (Turner et al. 2010). Cette forme est un peu plus fréquente chez les femmes tandis que les formes spinales de la pathologie s'observent un peu plus souvent chez les hommes (Chiò et al. 2020; 2011).

Dans les formes spinales, les principaux symptômes sont une faiblesse des membres et une atrophie musculaire, des fasciculations et une abolition ou une vivacité des réflexes (Kollewe et al. 2011). Le décès du patient est généralement lié à une paralysie des muscles respiratoires (Kollewe et al. 2011).

Plus de 50% des patients SLA présentent des troubles cognitifs, on estime que 13% des patients vont développer la composante comportementale des DFT : la DFT-vc (Montuschi et al. 2015).

A l'heure actuelle il n'existe pas de traitement curatif. Seul le Riluzole, un inhibiteur de la libération glutamatergique pré-synaptique, a montré un effet limité sur l'évolution de la maladie, permettant de prolonger la vie du patient de 2 à 3 mois (Hinchcliffe and Smith 2017). La trachéotomie et la gastrostomie sont parfois proposés, lorsque des troubles de déglutition ou respiratoires le justifient.

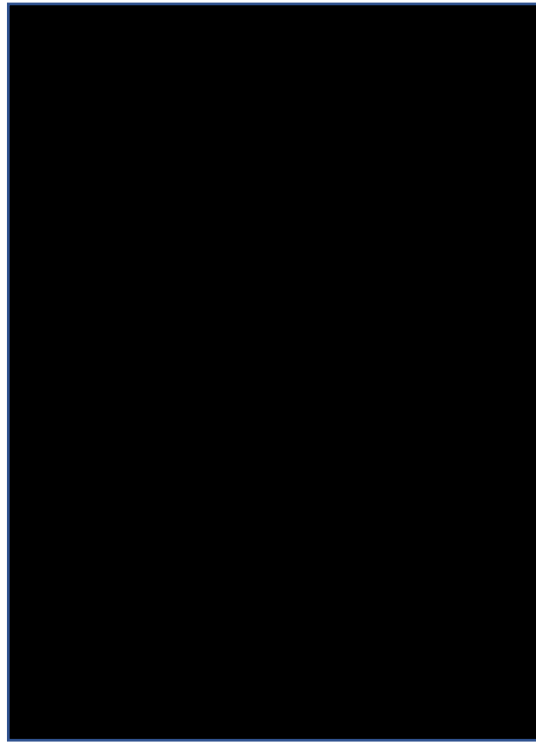


Figure 10. Illustration de dégénérescence neuronale bulbaire et spinale dans la SLA ("Sclérose Latérale Amyotrophique (Maladie de Charcot) - Qu'est-Ce Que c'est ? - Fiches Santé et Conseils Médicaux").

2. Neuropathologie

a) Neuropathologie des DFTs

Les DFTs font partie des dégénérescences lobaires frontotemporales (DLFT). Les DLFT forment un groupe hétérogène de pathologies neurodégénératives liées à une dégénérescence des lobes frontaux et temporaux. Elles sont associées à des lésions neuropathologiques diverses : mort neuronale, gliose, accumulation de protéines anormales dans les cellules neuronales et/ou gliales. (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009). La classification neuropathologique actuelle des sous-types de DLFT est basée sur la nature des accumulations protéiques intracellulaires. Quatre sous-groupes majeurs des DLFTs ont été identifiés : DLFT-Tau (tubulin associated unit), DLFT-TDP (Transactive response DNA binding protein), DLFT-FET (FUS/TLS, EWS et TAF 15 family), DLFT-UPS (ubiquitin proteasome system) (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009; Irwin et al. 2015) (Figure 11 Figure 12). La plupart des cas de DLFT (90 à 95%) sont représentés par les DLFT-Tau et DLFT-TDP-43. Ces sous-groupes sont eux-mêmes divisés en sous-types selon la structure des inclusions

(I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011). Il n'y a pas de corrélation stricte entre le sous-type neuropathologique et la forme clinique ou les causes génétiques de la maladie. Néanmoins les DLFT-TDP type C sont plus souvent associés aux variants sémantiques de la maladie, les mutations des gènes *GRN* et *C9ORF72* (voir partie B.3.a) sont plus souvent associés à des DLFT-TDP type A et B, les PSP et les SCB sont généralement associés à une FTLD-TAU, de même que les mutations du gène *MAPT* (figure 11).



Figure 11 Classification neuropathologique des DLFTs. Selon (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009)

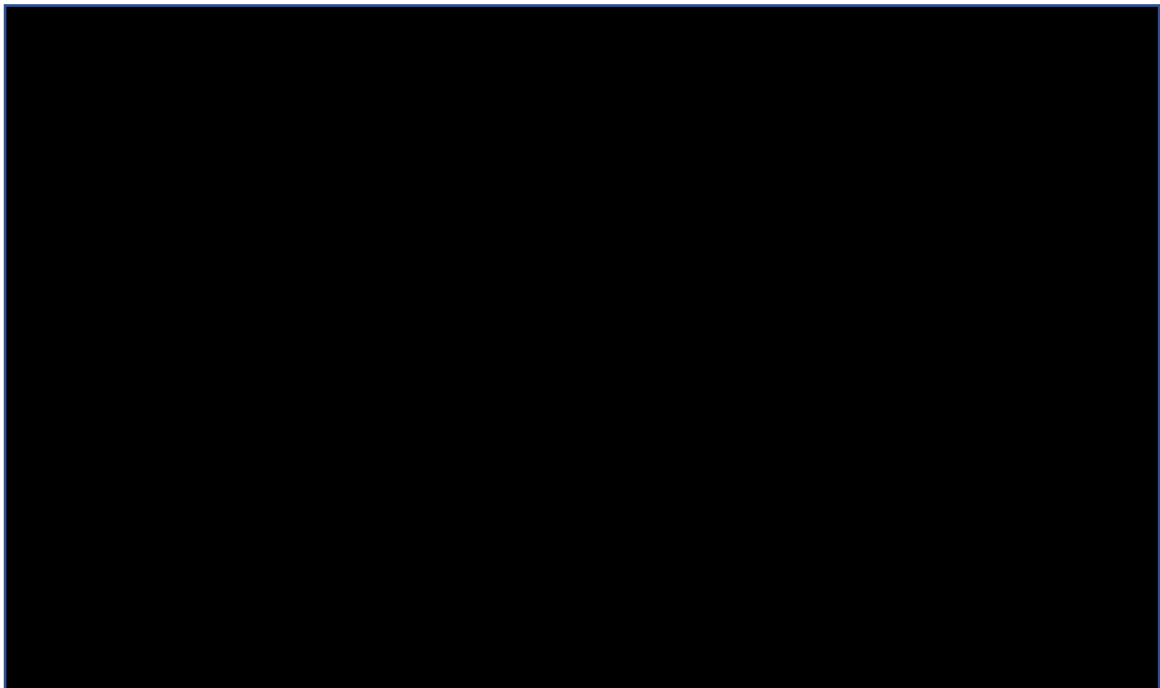


Figure 12. Associations entre nature des inclusions protéiques, gènes associés, sous-type neuropathologiques et phénotypes cliniques ; D'après (Panza et al. 2020).

i. DLFT-Tau

Elle représente environ 40% des cas de DLFT et est caractérisée par la présence de dépôts anormaux de la protéine Tau (Tubulin-associated unit). Cette DLFT entre donc dans le groupe des Tauopathies. Ce terme définit l'ensemble des processus neurodégénératifs associés à des inclusions anormales de protéine Tau intraneuronales ou intragliales. Les maladies caractérisées par une tauopathie incluent, entre autres, la maladie d'Alzheimer (MA), les dégénérescences corticobasales (CBD), la PSP et la DLFT-Tau. Au sein du spectre clinique des DFTs, la DLFT-Tau est principalement associée à une forme comportementale ou à une APP-vnf. Cette forme est rare chez les patients atteints APP-vs et cette neuropathologie n'est jamais associée aux patients DFT/SLA.

La protéine Tau a été découverte en 1975 comme protéine essentielle dans l'assemblage des microtubules (Weingarten et al. 1975). Plus tard, des études ont mis en évidence son rôle dans le transport cellulaire et la stabilisation de la structure cellulaire (Mandelkow and Mandelkow 2011). *MAPT*, le gène codant la protéine Tau, est localisé sur le chromosome 17q21 et plus de 50 mutations sont liées à la DLFT-Tau (<http://www.molgen.vib-ua.be/FTDMutations>)(Figure 13)(Goedert, Ghetti, and Spillantini 2012).



Figure 13. Schématisation de la structure des 6 isoformes de Tau. Selon (Goedert, Ghetti, and Spillantini 2012).

L'épissage alternatif de *MAPT* génère 6 isoformes de Tau (figure 12). L'inclusion alternative de l'exon 10 génère des isoformes de Tau avec 3 ou 4 « microtubule binding domain repeat », appelées forme 3R et 4R. Les dépôts neurofibrillaires dans la maladie d'Alzheimer sont composés de protéine Tau 3R et 4R hyperphosphorylée. La maladie de Pick, qui est une forme de DLFT-Tau, est caractérisée par la présence des agrégats 3R-Tau, alors que les CBD et PSP font parties des tauopathies 4R (Figure 14).



Figure 14. Marquage immunocytochimique d'inclusion Tau 3R dans le gyrus denté d'un patient DFT. D'après (N. T. Olney, Spina, and Miller 2017).

ii. DLFT-TDP43

La protéine TDP-43 (Trans-active response DNA binding protein of 43kDa) a été découverte en 2006, comme protéine majeure dans la neuropathologie des DLFT-U correspondant à des inclusions tau-négative et ubiquitine-positives dans les DFTs (M. Neumann et al. 2006). Cette protéine appartient à la famille des ribonucléoprotéines hétérogènes nucléaires (hnRNPs). C'est une protéine de liaison à l'ARN qui exerce des fonctions dans le métabolisme des ARNs ; dans le processing des micro ARN, la stabilisation des ARNs, le transport nucléocytoplasmique et dans la traduction (Baralle, Buratti, and Baralle 2013). Son rôle est crucial dans différentes fonctions cellulaires, et elle est associée à plusieurs milliers d'ARN cibles dans le cerveau.

TDP-43 est une protéine de 414 acides aminés codée par le gène *TARDBP* sur le chromosome 1 (1p36.2). Elle est hautement conservée entre les espèces (Hergesheimer et al. 2019) et s'exprime ubiquitairement dans une grande variété de tissus de l'organisme, dont le cerveau. Dans cet organe, l'expression de TDP-43 est

localisée dans le noyau des neurones principalement mais aussi de cellules gliales oligodendrocytaires et astrocytaires (M. Neumann, Kwong, Sampathu, et al. 2007; M. Neumann, Kwong, Truax, et al. 2007; Yamanaka and Komine 2018). Elle est constituée d'une région N-terminale par laquelle elle s'homodimérise (W. Wang et al. 2013; Y.-J. Zhang et al. 2013; Y. Sun et al. 2014), de deux motifs de reconnaissances à l'ARN RRM1 et RRM2, et d'une région C-terminale riche en glycine qui lui permet de se lier à l'ADN simple brin, aux ARNs et aux protéines, et qui lui confère des propriétés « prion-like » (Figure 15).

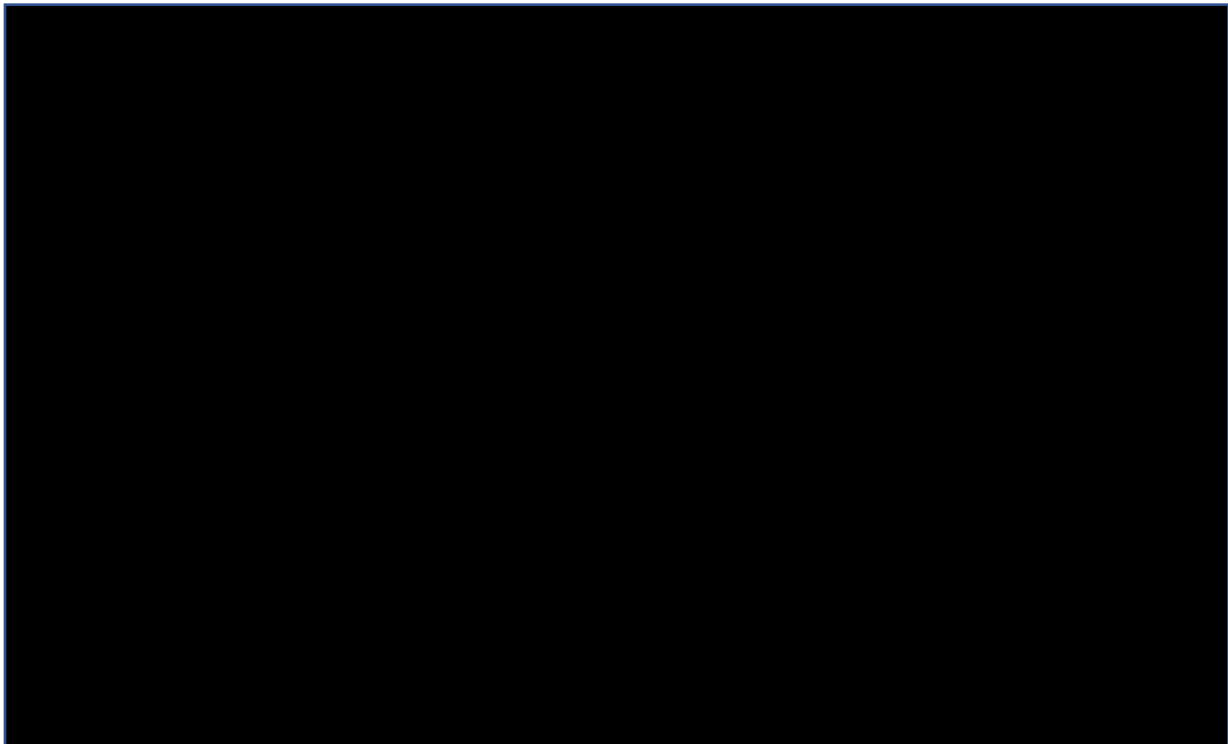


Figure 15. Structure de TDP-43 : association des domaines protéiques aux fonctions générale. D'après (Budini et al. 2012).

Le niveau d'expression de TDP-43 est contrôlé par une boucle de rétro-contrôle négative, mécanisme par lequel TDP-43 reconnaît son propre transcrit ARN, le déstabilise et induit une diminution de la nouvelle 'production' de la protéine TDP-43. En contexte pathologique, TDP-43 forme des agrégats majoritairement cytoplasmiques et plus rarement nucléaires. L'agrégation cytoplasmique de TDP-43 est associée à la déplétion nucléaire de la protéine. Dans cette configuration, elle ne peut plus s'autoréguler (Eréndira Avendaño-Vázquez et al. 2012). Une diminution de la régulation de TDP-43 va mener à une production accrue de cette protéine et à son agrégation. Comme TDP-43 est une protéine essentielle au métabolisme des ARNs,

son agrégation et sa non-fonctionnalité auront donc des effets directs sur la stabilité des ARNs et sur l'expression génique (C. Yang et al. 2010).

Dans les DLFTs, la protéine TDP-43 peut être agrégée, phosphorylée, ubiquitinylée et/ou clivée dans le cytoplasme cellulaire. Mais les modifications post-traductionnelles connues de cette protéine sont multiples. En effet, en plus des modifications précédemment citées, elle peut être acétylée, sumoylée, et sujette à l'oxydation des cystéines (Buratti 2018). Ainsi oxydées, les cystéines se verront liées par des ponts disulfures, favorisant l'oligomérisation de la protéine puis la formation d'agrégats cytotoxiques. L'acétylation sur les lysines 145 et 192, toutes deux dans le domaine RRM1, va entraîner une perte de liaison de la protéine avec les ARNs cibles (I. R. A. Mackenzie and Rademakers 2008).

Les inclusions de protéine TDP-43, DLFT-TDP, sont présentes chez 60% des patients DLFT (I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011). En 2011, une classification des DLFTs basée sur la neuropathologie TDP-43 a été établie (I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Du Plessis, et al. 2011). En effet, il existe 5 classes de DLFT-TDP-43 selon la localisation des lésions dans les couches corticales, au niveau cellulaire et leur densité (Figure 16)(E. B. Lee et al. 2017; I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Du Plessis, et al. 2011). Chaque sous-type neuropathologique a des corrélations cliniques et génétiques spécifiques.

→ Type A

Ce groupe représente 29% des cas d'inclusion DLFT-TDP (I. R. Mackenzie and Neumann 2017). Ce sous-groupe est caractérisé par d'abondantes inclusions cytoplasmiques neuronales rondes ou en forme de croissant, plutôt dans la couche II du cortex. Des neurites dystrophiques et de rares inclusions intranucléaires lentiformes peuvent également être observées. Les inclusions de type A sont associées aux phénotypes cliniques DFTvc, APPvnf alors que ces inclusions sont moins communes dans les maladies du motoneurone.

→ Type B

Elles représentent 35% des formes FTLD-TDP (I. R. Mackenzie and Neumann 2017). Elles présentent un peu moins d'inclusions neuronales cytoplasmiques et de neurites

dystrophiques dans les couches superficielles et profondes corticales que le type A. Les phénotypes cliniques de DFT, SLA et DFT-SLA peuvent présenter des inclusions TDP43 de type B.

→ Type C

Ce groupe représente 17% des cas de DLFT-TDP (I. R. Mackenzie and Neumann 2017). Les DLFT-TDP de type C sont caractérisées par la présence de neurites dystrophiques longs et non linéaires et quelques inclusions neuronales intracytoplasmiques diffuses dans les couches corticales. (I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011). Il s'agit du type d'inclusions la plus commune dans les APPvs. On la retrouve également dans les DFT-vc.

→ Type D

Ce groupe est caractérisé par la présence de nombreuses inclusions intranucléaires neuronales, des neurites dystrophiques et de rares inclusions cytoplasmiques neuronales dans toutes les couches du cortex (bien que les couches superficielles soient plus atteintes). Le type D peut être observé dans des formes cliniques de DFT-vc et DFT-SLA (Cairns et al. 2007; I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011).



Figure 16. Inclusions TDP-43 dans les cerveaux post-mortem de patients DFT. A) Distribution schématique des agrégats TDP-43 selon le type de DLFT-TDP. B) Inclusions de type A. C) Inclusion de type B. D) Inclusions de type C. E. Inclusions intranucléaires de type D. D'après (Burrell et al. 2016).

→ Type E

Plus récemment décrit, ce type d'inclusion est encore discuté par la communauté scientifique (E. B. Lee et al. 2017). Les inclusions sont périnucléaires neuronales à structure granulo-filamenteuses. Elles sont diffuses au sein des couches supérieures et profondes corticales. Des inclusions curvilinéaires oligodendrogiales peuvent aussi être observées. Le type E peuvent être présents dans les formes cliniques DFT-vc (E. B. Lee et al. 2017) (Figure 17).

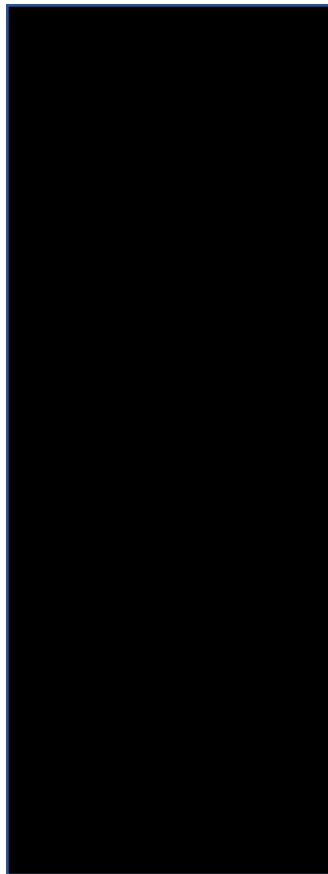


Figure 17. Localisation dans les couches supérieures et profondes corticales des inclusions DLFT-TDP de type E. Inclusions principalement périnucléaires à structures granulo-filamenteuses. D'après (E. B. Lee et al. 2017).

iii. DLFT- FET

En 2009, des mutations du gène *FUS/TLS* ont été découvertes dans une faible proportion de formes familiales de SLA (SLA-FUS) (Kwiatkowski et al. 2009; Vance et al. 2009). De plus, des inclusions de la protéine FUS ont été mises en évidence dans des cerveaux post-mortem de patients SLA (Bäumer et al. 2010). Le recouvrement clinique, génétique et pathologique entre la SLA et DFT; et l'homologie entre FUS et TDP-43, toutes deux protéines de liaison à l'ARN, ont laissé penser que FUS pouvait

être une protéine agrégée dans les 5-10% des cas DLFT-Tau et TDP-43 négatives (Baloh 2012; M. Neumann et al. 2012; Vance et al. 2009). En effet, des marquages immunologiques ont permis d'établir que FUS faisait partie d'agrégats regroupés dans les inclusions atypiques (DLFT-U) (H. Neumann, Kotter, and Franklin 2009). Par la suite, il a été montré que ces mêmes inclusions contenaient EWS et TAF15 (I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011), et la transportin 1 (Trn1) protéine responsable de l'import nucléaire des protéines FET (Brelstaff et al. 2011; M. Neumann et al. 2012).

Fused in sarcoma (FUS), Ewing's sarcoma (EWS) et TATA-binding protein-associated factor 15 (TAF15), collectivement appelées protéines de la famille FET, ont toutes été initialement découvertes dans des cas de cancer humains (Tan and Manley 2009). Comme TDP-43 elles sont ubiquitaires, homologues aux protéines de liaisons à l'ADN/ARN, impliquées dans le métabolisme des ARNs comme la transcription, l'épissage des ARNs, leur transport et la réparation de l'ADN. Dans la plupart des types cellulaires, les protéines FET sont nucléaires, mais elles vont continuellement transloquer du noyau au cytoplasme (Dormann et al. 2012). Le rôle des protéines FET dans le cerveau n'est pas encore très bien connu mais il semble que FUS soit impliquée dans la régulation des transcrits importants pour la structure neuronale, la plasticité et le maintien de l'intégrité synaptique (Lagier-Tourenne et al. 2012a; Sama, Ward, and Bosco 2014). Bien que FUS et TDP-43 aient des similarités fonctionnelles, elles régulent différents ARNs et présentent chacune des spécificités de séquence de liaison (Sobue et al. 2018; Da Cruz and Cleveland 2011).

iv. DLFT-UPS

Avec l'identification de TDP-43 et FET comme protéines pathologiques s'accumulant dans une vaste majorité des cas DLFT-Tau-négatives, il reste très peu de cas ne présentant aucune de ces inclusions (environ 1%) mais caractérisés par des inclusions immunoréactives aux constituants du système ubiquine protéasome UPS (Ubiquitin Proteasome system). Ces inclusions sont ubiquitine et p62-positives et négatives pour Tau, TDP-43 et FUS. Elles sont majoritairement localisées au sein des cellules granulaires dentées de l'hippocampe (Holm et al. 2007).

b) Neuropathologie de la SLA

Il existe plusieurs caractéristiques neuropathologiques de la SLA dont les corps de Bunina formant de petites inclusions intracellulaires eosinophiles, les conglomerats hyalins et les inclusions protéiques (van Welsen et al. 2002; Strong et al. 2009). D'une façon générale, les inclusions cytoplasmiques associées à la SLA sont souvent ubiquitinylées (Figure 18). Une des cibles majeures de cette ubiquitinylation est la protéine TDP-43 qui, comme dans les DFTs, forme la plus grande part des inclusions ubiquitinylées dans les différentes formes de SLA. En effet, on observe des inclusions de TDP-43 dans plus de 90% des cas de SLA et dans 95% des formes mixtes DFT/SLA (Ling, Polymenidou, and Cleveland 2013). D'autres inclusions protéiques sont aussi identifiables dans les cas de SLA, comme par exemple FUS et SOD1.

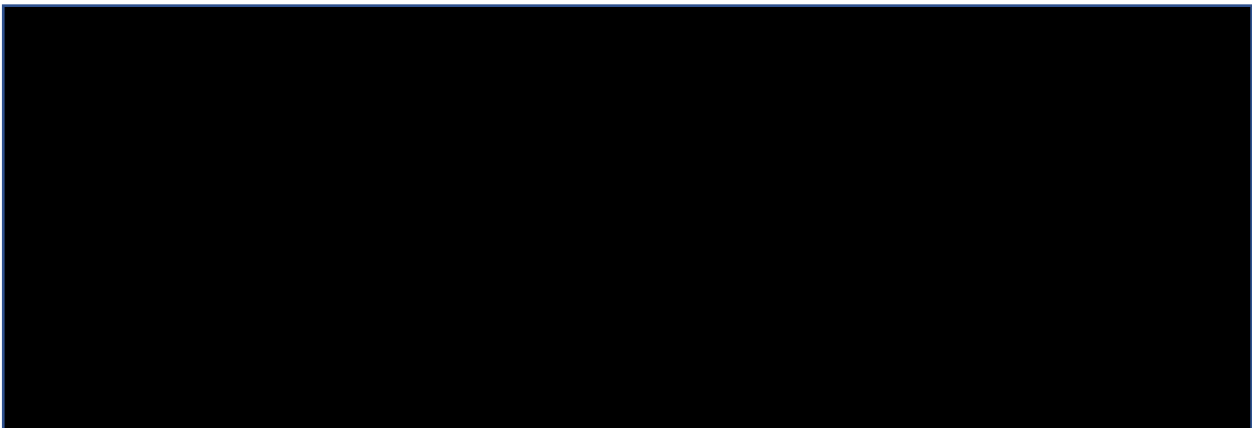


Figure 18. Inclusions neuropathologiques de la SLA. A. Localisation physiologique de TDP-43 nucléaire mise en évidence par une tête de flèche. La flèche entière indique la distribution anormale de TDP-43 dans le cytoplasme d'un autre neurone, associée à la perte nucléaire de cette protéine. B. Neurone moteur sain pointé par la flèche noire, comparé à un neurone comportant un conglomerat hyalin, montré par la tête de flèche, chez un patient SLA porteur d'une mutation SOD1. C. Inclusions p62 chez un patient SLA avec mutation C9ORF72. D. Perte de neurones moteurs dans la corne ventrale de la moelle épinière d'un patient SLA. E. Neurones moteurs dans la moelle épinière d'un patient sain, en comparaison à la figure D. F. Mise en évidence de microglies par marquage CD68 dans la moelle épinière d'un patient SLA. D'après (Hardiman et al. 2017).

i. SLA-SOD1

Des inclusions SOD1-positives ont été observées post-mortem dans le CNS des patients porteurs de mutation dans le gène du même nom, *SOD1*. D'une façon générale il a été longtemps admis que ces inclusions SOD1 n'étaient trouvées que dans des cas avec mutations *SOD1*. Cependant, des protéines SOD1 mal conformées ont, depuis, été mises en évidence dans de petites inclusions granulaires dans les neurones moteurs de patients SLA sporadiques sans mutation du gène *SOD1* (Forsberg et al. 2010), et chez des patients porteurs d'autres variant pathologiques

dans d'autres gènes associés à la SLA (Forsberg et al. 2019). Cela suggère que les modifications de conformation de SOD1 peuvent faire partie d'un événement sous-jacent à la progression de la maladie (Jonsson et al. 2008; Sasaki et al. 1998; Shaw, Al-Chalabi, and Leigh 2001).

Dans ces cas de SLA, une dégénérescence sévère des motoneurons inférieurs est constatée, alors que celle des neurones moteurs supérieurs est moins marquée. Cette dernière serait d'ailleurs plutôt associée à une axonopathie distale. Les neurones moteurs de la corne antérieure de la moelle épinière sont le siège d'inclusions type corps de lewy-like (LBLI « Lewy Body like inclusions) consistant en des corps hyalins, positifs aux marquages immunohistochimique contre SOD1, ubiquitine, neurofilaments phosphorylés et des protéines chaperones (Okamoto et al. 2011; Mizusawa et al. 1989). Ils ne contiennent pas de protéine TDP-43 (Saber et al. 2015; Ince et al. 1998). La protéine SOD1 est une métalloenzyme nommée superoxyde dismutase 1 (SOD1). Cette protéine est exprimée de façon ubiquitaire. Dans la cellule, sa localisation est majoritairement cytoplasmique. Cette protéine est capable de se lier aux ions cuivre et zinc et de former un homodimère très stable. Les dimères SOD1 résident dans le cytoplasme et dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. En catalysant la production d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène à partir du superoxyde résiduel de la respiration cellulaire, SOD1 permet de réduire la toxicité de ces espèces (McCords and Fridovich 1969).

La maturation de SOD1 en enzyme fonctionnelle est un processus complexe à étapes multiples impliquant l'acétylation du domaine N-terminal, l'insertion d'ion zinc, l'insertion d'ion cuivre par un mécanisme dépendant d'une chaperone (CCS1, Cox17 ou Atx1), la formation de pont disulfure entre les cystéines 57 et 146, puis l'homodimérisation (McAlary and Yerbury 2019; Kent Wood and Thiele 2009). Une erreur à n'importe quelle étape de ce processus va entraîner une anomalie de conformation de la protéine ou une polymérisation. De plus, la cystéine 111 est exposée aux modifications oxydatives qui peuvent provoquer la formation supplémentaire de ponts disulfures et en conséquence l'agrégation de SOD1 (Figure 19).

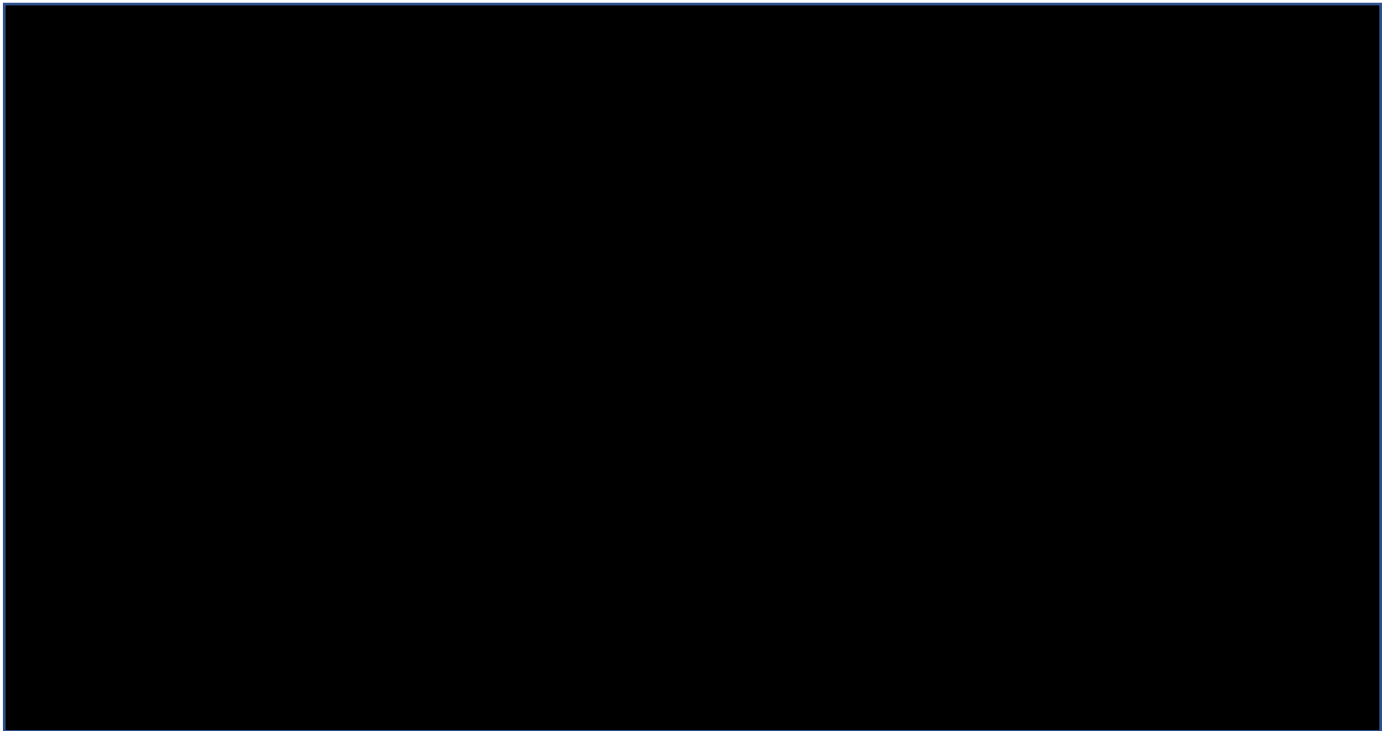


Figure 19. Représentation du processus de maturation de SOD1 dépendant de chaperonnes CCS. 1)SOD1 est traduite. 2)Le dimère CCS est chargé d'un ion cuivre pour permettre de découvrir son site de liaison à SOD1. 3)SOD1 se lie au domaine II de CCS. 4) Un ion Zinc est chargé sur la protéine SOD1 (cette étape peut aussi avoir lieu en (1). 5-8) Les ions cuivre du CCS sont transférés à la protéine SOD1 et un pont disulfure se forme puis est oxydé. Un dimère mature de protéine SOD1 fonctionnelle est formé. Les chaperonnes CCS retrouvent une conformation native pour entrer de nouveau dans le cycle de maturation de SOD1. Dans les encadrés bleus sont listées les mutations de SOD1 pouvant intervenir à chaque étape du cycle. D'après (Seetharaman et al. 2009).

ii. SLA-FUS

Les inclusions de protéine FUS, que l'on retrouve aussi dans le cerveau de certains patients DFT, ont initialement été identifiées chez des patients atteints de SLA (Figure 20). (Bäumer et al. 2010; Deng et al. 2010; DeJesus-Hernandez et al. 2010). Cette inclusion n'est jamais observée dans les cas de mutation *SOD1*.



Figure 20. Inclusions FUS chez des patients SLA. A) Inclusion FUS dans un neurone moteur inférieur B) inclusion FUS dans un neurone moteur supérieur. C) Dans les ganglions de la base. D) Inclusion FUS dans des granules cytoplasmiques. D'après (I. R. A. Mackenzie, Ansorge, et al. 2011).

iii. SLA-TDP-43

Alors que dans les DLFTs les inclusions de TDP-43 représentent plus de la moitié des formes neuropathologiques, elles représentent jusqu'à 90% des formes lésionnelles de SLA (Weskamp et al. 2020). En effet, la protéinopathie TDP-43 est commune à toutes les formes familiales et sporadiques de SLA, à l'exception des cas de mutations *SOD1* (I. R. A. Mackenzie et al. 2007).

Malgré ce stigmate commun aux deux pathologies, la classification détaillée des inclusions TDP-43 dans les DLFTs n'est pas généralisable et ne s'applique pas à la SLA. Dans cette dernière, les inclusions TDP-43 sont ubiquitinylées et comportent des fragments clivés de 25KDa de la protéine (I. R. A. Mackenzie et al. 2007). Elles sont localisées principalement dans les neurones moteurs, mais peuvent être répandues à des zones plus larges comme par exemple, dans les différentes couches du cortex frontal (dans 70% des cas de SLA) et ces inclusions peuvent être neuronales comme

oligodendrocytaires et plus rarement astrocytaires (Cykowski et al. 2017; Yamanaka and Komine 2018).

Comme dans les DFTs, l'accumulation cytoplasmique de TDP-43 est concomitante à une perte nucléaire de cette protéine. En plus de l'ubiquitination et du clivage protéolytique déjà énoncés, la protéine TDP-43 pathologique est sujette à plusieurs modifications post-traductionnelles tout comme dans les DFTs (Buratti 2018). La séquence temporelle de ces modifications et le rôle joué par chacune est encore inconnu.

3. Génétique

Il existe un continuum génétique entre les DFTs et la SLA (Figure 21) même si certains gènes comme *SOD1* sont associés seulement à la SLA où d'autres (*MAPT*, *GRN*) seulement aux DFTs, la plupart des causes génétiques impliquées dans ces maladies peuvent produire les deux phénotypes. Dans ces formes, une mutation pourra donner soit une DFT, soit une SLA soit une forme mixte (DFT-SLA) de ces maladies. Ces observations génétiques ont contribué à l'idée que ces deux maladies représentent les deux extrémités du spectre d'une seule et même pathologie.

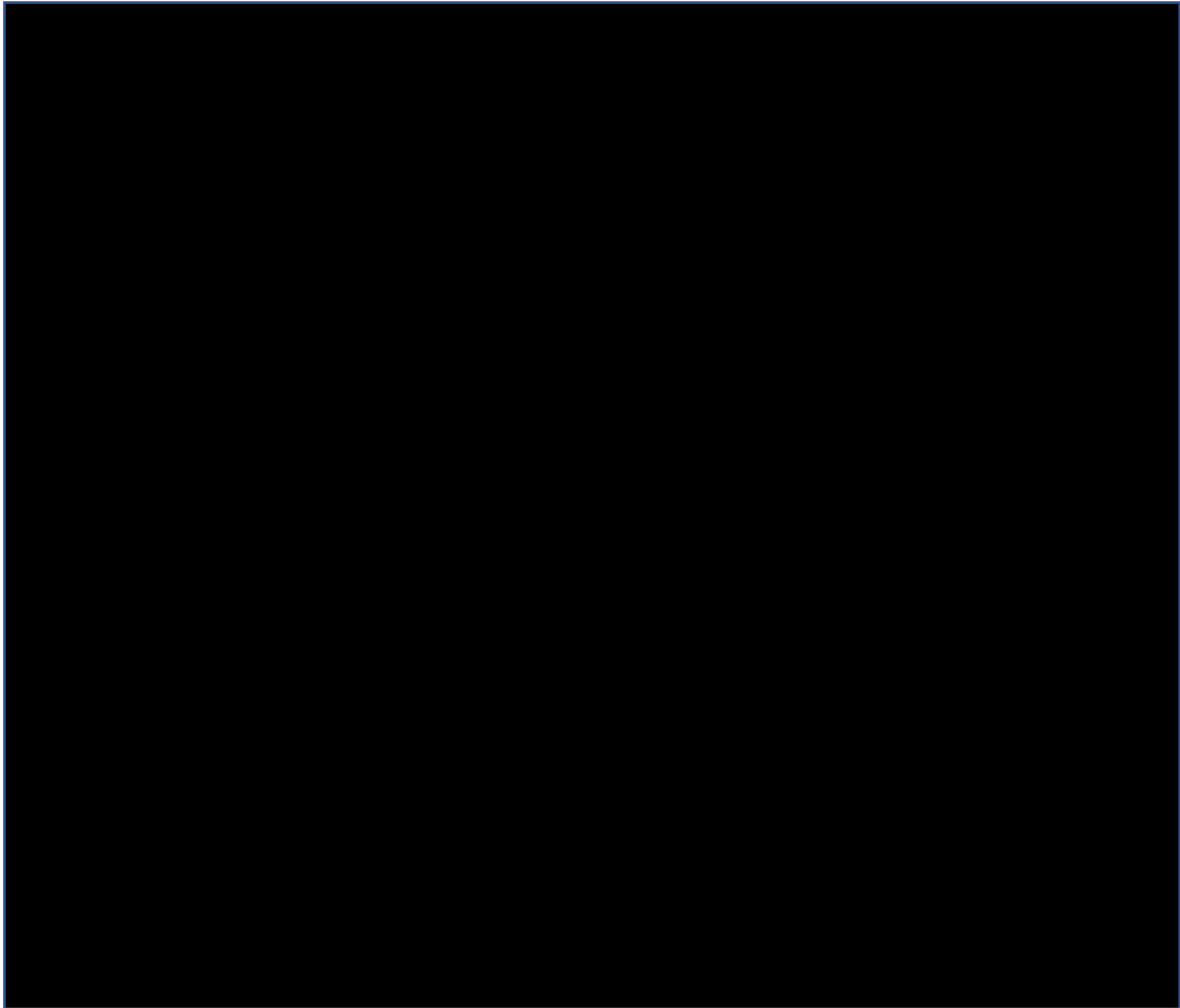


Figure 21. Spectre Génétique (A) et Neuropathologique (B) des DFT – SLA. D'après(Ling, Polymenidou, and Cleveland 2013).

a) Génétique des DFTs

La part de DFT sporadique est estimée à 50%, l'autre partie des cas de DFT a une histoire familiale de démence, ou de syndromes moteurs (Goldman et al. 2005; Takada 2015). La transmission des DFTs dans les formes familiales est autosomique dominante (Chow et al. 1999).

Les principaux gènes associés aux DFTs sont *C9ORF72* (~30% dans les formes familiales et 6% des formes sporadiques), *GRN* (~20% des formes familiales) et *MAPT* (~12% des formes familiales). Les mutations d'autres gènes tels *VCP*, *CHMP2B*, *TARDBP*, *FUS*, *TBK1*, *SQSTM1* sont moins fréquentes (Majounie et al. 2012). Dans les formes familiales mixtes de DFT-SLA, le gène *C9ORF72* est largement majoritaire (~80% des formes familiales), suivi par *TARDBP* (~3%) et par d'autres gènes minoritaires (Figure 22).

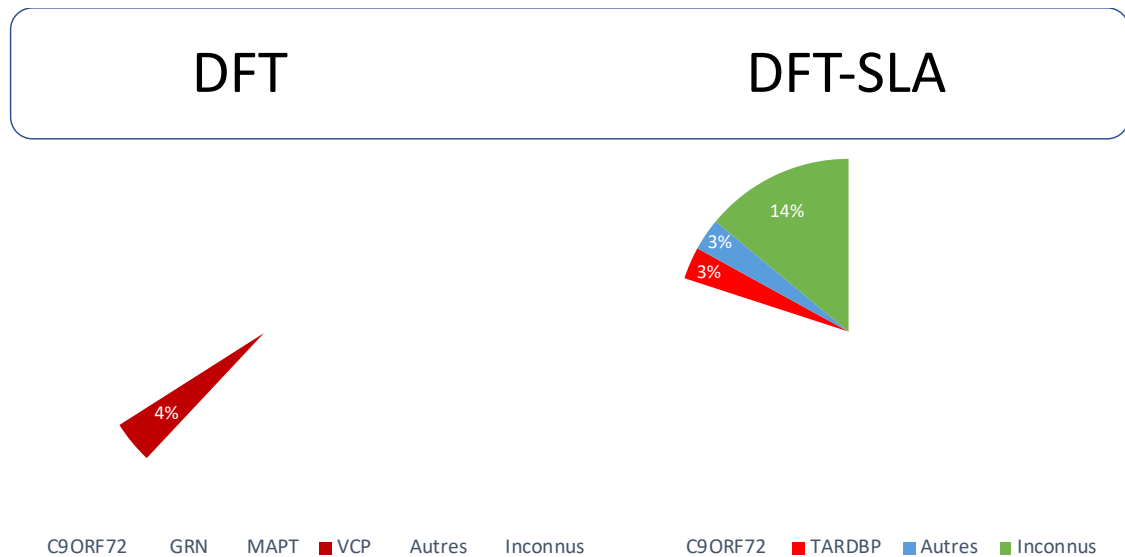


Figure 22. Proportions des mutations dans les formes familiales de DFT et DFT-SLA (French research network on FTD and FTD-ALS).

i. MAPT

MAPT, localisé sur chromosome 17q21, fut le premier gène identifié en 1998 dans des formes familiales de DLFTs (Maria Grazia Spillantini et al. 1998; Hutton et al. 1998; Poorkaj et al. 1998). *MAPT* est composé de 16 exons, l'épissage alternatif conduira à 6 isoformes de Tau composés de 3 ou 4 domaines de liaison aux microtubules (F. Liu and Gong 2008).

La majorité des mutations du gène *MAPT* sont localisées entre les exons 9 et 12 et les introns adjacents. Les mutations peuvent être classées en deux groupes : 1. celles qui ont un effet direct sur le niveau protéique et 2. celles qui influencent l'épissage alternatif du pré-ARNm Tau. Les mutations du premier groupe, correspondent au remplacement ou à la suppression d'un acide aminé de la protéine Tau. Cela réduit ainsi ses capacités d'interaction avec les microtubules, suggérant que cette interaction est cruciale pour empêcher l'auto-assemblage de Tau (Hasegawa, Smith, and Goedert 1998). Quelques mutations de ce groupe sont à l'origine du changement de conformation de Tau en filaments (Goedert 1999; Nacharaju et al. 1999). Les mutations ayant un effet direct sur les ARNs sont introniques ou exoniques. Elles ont pour effet d'augmenter l'épissage alternatif de l'ARNm de l'exon 10 et modifient le ratio des isoformes 3R ou 4R. Il en résulte en une surproduction de protéine Tau 4R et consécutivement, la formation d'inclusions composées de Tau 4R (Buée and Delacourte 1999; Goedert 1999).

Ces mutations vont donc, soit induire un changement de la conformation de la protéine, soit modifier la balance physiologique de protéines 3R/4R. Dans tous les cas, la liaison de la protéine Tau à la tubuline sera perturbée, entraînant d'une part une dérégulation du transport axonal, d'autre part la formation d'un dépôt pathologique de Tau hyperphosphorylée, conduisant à la pathologie (Rodríguez-Martín et al. 2013; Alonso et al. 2004).

En France, la fréquence des mutations *MAPT* est de 12% pour les formes familiales et 3% pour les formes sporadiques (Figure 22). Par effet fondateur en Grande-Bretagne, cette fréquence peut être plus élevée dans d'autres pays comme c'est le cas par exemple dans le nord de l'Europe (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009; Rademakers, Cruts, and Van Broeckhoven 2004; Olszewska et al. 2016b; Bodea et al. 2016).

L'âge de début de la maladie est relativement plus jeune que dans les autres formes génétiques. Il est compris entre 30 et 70 ans, avec un pic autour des 50 ans (Momeni et al. 2010). Le phénotype clinique principal associé est le variant comportemental des DFTs (S. He et al. 2018). Les troubles sont marqués par une désinhibition, des obsessions compulsives, troubles de la mémoire épisodique et plus fréquemment (75%) des troubles sémantiques (M. G. Spillantini et al. 1998; Pickering-Brown et al. 2002). Les présentations cliniques APPvs et APPvnf sont plus rares. Un syndrome parkinsonien fréquemment associé aux mutations du gène *MAPT* a mené à l'emploi du terme clinique "démence frontotemporale et parkinsonisme lié au chromosome 17 (DFTP-17 ou FTDP-17 en anglais) (M. G. Spillantini et al. 1998). Ce terme doit cependant être évité car il est maintenant connu qu'un parkinsonisme est également présent dans les autres formes génétiques de DFTs. En parallèle, les mutations du gène *MAPT*, peuvent se manifester par d'autres phénotypes moteurs comme les CBS et PSP (Hasegawa, Smith, and Goedert 1998).

A l'imagerie, l'implication des lobes frontaux bilatéraux et temporaux antérieurs a été mise en évidence. En effet, à l'IRM, les patients DFT présentent une atrophie symétrique dans le lobe frontal et prend place dans le cortex antérieur cingulé, l'insula, les lobes antérieurs et médiaux temporaux (Whitwell et al. 2015).

La neuropathologie associée aux mutations *MAPT* est une DLFT-Tau. L'accumulation Tau neuronale correspond à des inclusions fibrillaires, voire à ce que l'on appelle des corps de Pick. Parfois, les cellules gliales ont, elles aussi, des profils pathologiques puisque des astrocytes à morphologie particulière dite « tuftés » peuvent être

observées, des plaques fibrillaires sont parfois trouvées au sein de ces astrocytes et les oligodendrocytes peuvent avoir une déformation de leurs corps cellulaires qui se présenteront enroulés (Figure 23) (Arendt, Stieler, and Holzer 2016).



Figure 23. Pathologie Tau dans des tissus cérébraux de patients PSP et SCB. A) Astrocytes « tuftés » marqués par anticorps anti-Tau. B) Astrocyte « épineux » pointé par la flèche, marqué par anticorps anti-Tau. C) Enchevêtrement globulaire positif au marquage anti-Tau. D) Plaque astrocytaire. E) Inclusion périnucléaire marqué par anti-Tau. F) Corps enroulé oligodendrogliale. G) Filaments neuritiques. Barre d'échelle = 25µm. D'après (Berry et al. 2004).

ii. GRN

Tout comme *MAPT*, ce gène est localisé sur le chromosome 17q21. Les mutations du gène *GRN* codant la progranuline ont été mises en évidence en 2006 dans des formes autosomiques dominantes de DFT (Baker et al. 2006; Cruts et al. 2006).

Toutes les mutations *GRN* considérées comme pathogènes sont des mutations d'épissage, décalant le cadre de lecture (frameshift) ou non-sens, conduisant à un codon stop prématuré, qui entraîne la dégradation de l'ARNm mutant par 'non-sens mediated decay' (Coppola et al. 2008; Van Damme et al. 2008a). La mutation étant hétérozygote, on observe une haploinsuffisance, qui est associée à une réduction de la protéine dans le plasma des patients mutés (I. R. A. Mackenzie 2007). On estime que 70 à 90% des patients avec une mutation *GRN* ont une histoire familiale de maladie neurodégénérative suggérant une plus faible pénétrance que les autres gènes (van Swieten and Heutink 2008). Il est à noter que des mutations homozygotes de

GRN sont trouvées chez des patients présentant une lipofuscinose céréoïde neuronale (CLN est l'abréviation communément admise) (Smith et al. 2012). Elle est associée à l'accumulation de lipofuscine dans les tissus, qui est un pigment autofluorescent correspondant à l'accumulation de matériel lysosomal non dégradé. Cette pathologie débute pendant l'enfance. Les patients présentent dégénérescence rétinienne et ataxie cérébelleuse (Huin et al. 2019). L'accumulation de lipofuscine représente un signe neuropathologique typique des CLN mais, de façon intéressante, elle a aussi été mise en évidence dans le cortex de patient DFT porteurs de mutations *GRN* à l'état hétérozygote (Ward et al. 2017a). Cela met en évidence la proximité entre ces deux pathologies.

La neuropathologie associée aux mutations *GRN* correspond toujours aux inclusions DLFT-TDP-43 de type A mais le lien exact entre mutations *GRN* et inclusions TDP-43 reste inconnu (Q et al. 2019). Sur le plan clinique, les patients présentent soit une DFTvc ou APPvnf (Le Ber et al. 2008; I. R. A. Mackenzie 2007). A l'imagerie, le cerveau des patients présente une atrophie fronto-temporo-pariétale asymétrique (Rohrer et al. 2010).

La progranuline est une protéine sécrétée hautement conservée dans de nombreuses espèces. Les fonctions de la progranuline sont liées à la croissance neuronale, aux fonctions lysosomales et à l'inflammation. La progranuline est une protéine ubiquitaire mais dans le SNC elle est principalement produite par les microglies et les neurones (Holler et al. 2017). La progranuline contient 7 motifs et demi de granulines qui sont enrichis en cystéine, les motifs étant séparés par les domaines jointifs. Cette structure lui permet d'être clivée en granulines par des protéases multiples telles que les MMPs (matrix metalloproteases) (Kao et al. 2017) (Figure 24).

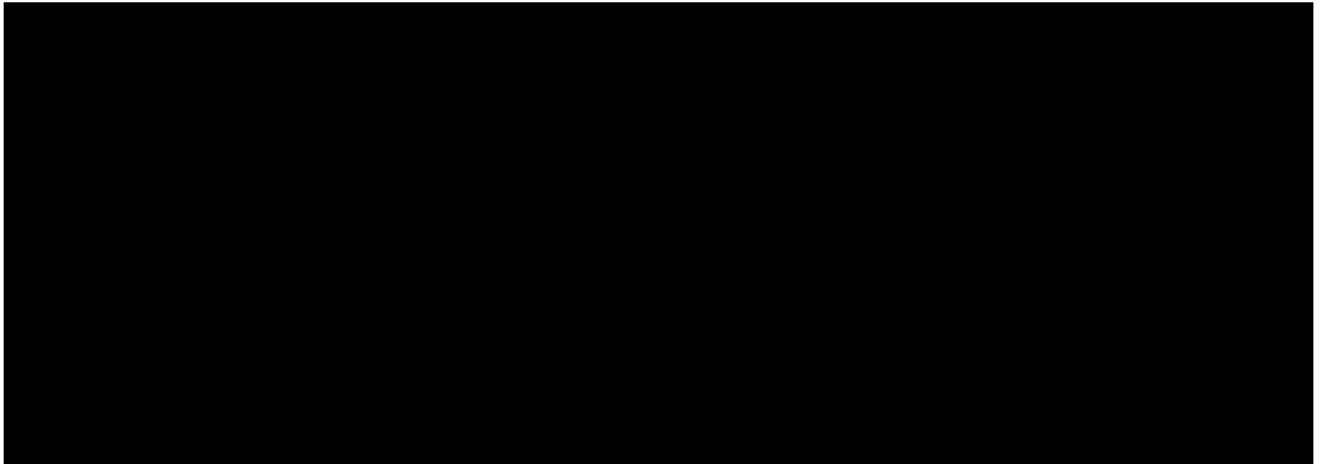


Figure 24. Structure du gène codant la progranuline. La progranuline contient 7 motifs et demi de granulines. Chacune pourra être clivée et exercer différentes fonctions. D'après (Petkau et al. 2010).

La progranuline est un facteur de croissance qui régule la survie cellulaire, la cicatrisation et l'inflammation. Les études *in vitro* démontrent qu'elle promeut aussi la survie neuronale et le prolongement des neurites dans le néocortex (Van Damme et al. 2008b; Ryan et al. 2009a; Chitramuthu et al. 2010a). Les granulines pourraient avoir un effet opposé, ce qui indique que la balance entre le taux de progranuline et celui de granuline est importante pour l'homéostasie dans le SNC (Jing Zhu et al. 2002; Horinokita et al. 2019). La progranuline reconnaît le récepteur sortiline par lequel elle va être internalisée et transportée dans l'endosome et ensuite dans le lysosome (Kao et al. 2017). Au niveau intracellulaire, la progranuline est impliquée dans la régulation de la formation et de la structure du lysosome (Paushter et al. 2018).

iii. C9ORF72

Le gène *C9ORF72* est constitué de 11 exons. Il est transcrit en 3 variants d'ARN distincts. Après traduction, ces derniers donneront deux isoformes protéiques, soit la forme courte (24KDa et 222 acides aminés) soit la forme longue (54KDa et 481 acides aminés) (Figure 25).

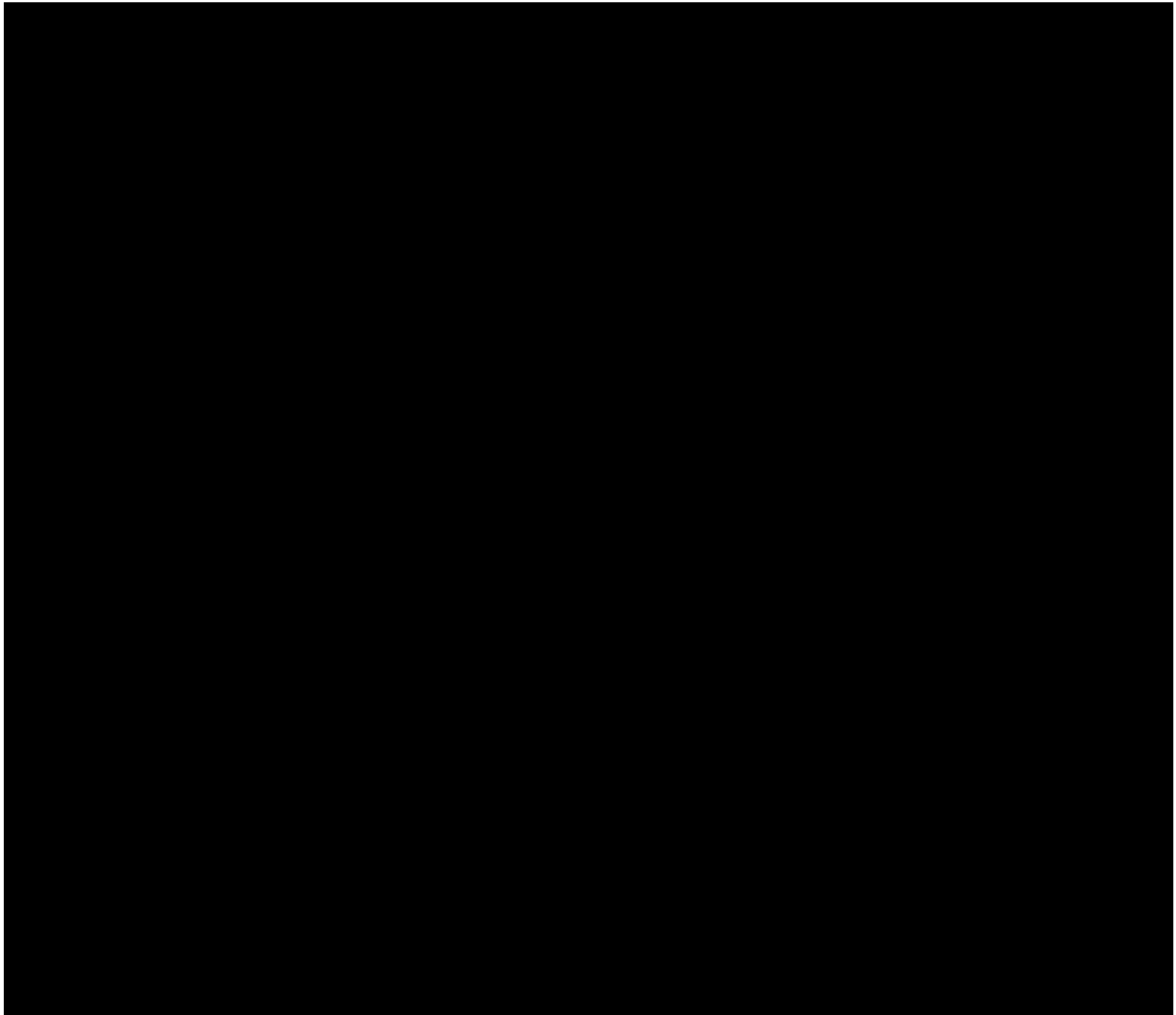


Figure 25. Schématisation de la séquence du gène *C9ORF72* et de ses transcrits. D'après (Balendra and Isaacs 2018).

Les mutations *C9ORF72* (Chromosome 9 Open Reading Frame 72) ont été découverte en 2011 (DeJesus-Hernandez et al. 2011; Renton et al. 2011). Elles correspondent à une répétition de l'hexanucléotide GGGGCC (G_4C_2), dans la région non codante de la phase ouverte de lecture 72 sur le chromosome 9p21 (*C9ORF72*). La répétition de cet hexanucléotide est la cause génétique la plus fréquente des formes familiales de DFT-SLA (80%) (DeJesus-Hernandez et al. 2011). La mutation est hétérozygote et le mode de transmission est autosomique dominant.

Dans les variants 1 et 3, la répétition hexanucléotidique est localisée dans le premier intron, alors que dans le variant 2, la répétition est localisée dans la région promotrice. La présence de cette répétition de taille importante entraîne alors une inhibition de la transcription du variant 2 ce qui provoque une haploinsuffisance de la protéine *C9ORF72* dans le cerveau des patients (Viodé et al. 2018), cette isoforme étant de

loin la plus fortement exprimée (Balendra and Isaacs 2018; Rizzu et al. 2016a). En parallèle, des portions d'ARN des variants 1 et 3 contenant une partie de la répétition sont transcrits sur les deux brins, conduisant à la formation de foci d'ARN et à l'expression de dipeptides répétés (DPRs) obtenus par traduction non ATG-dépendante (repeat-associated non-ATG translation) de ces ARNs. Ces deux derniers effets constituent un mécanisme gain de fonction dont on pense qu'ils contribuent à la pathologie. Certains DPRs se sont montrés toxiques dans une partie au moins des modèles étudiés (Figure 26) (Balendra and Isaacs 2018; Mizielinska et al. 2014).

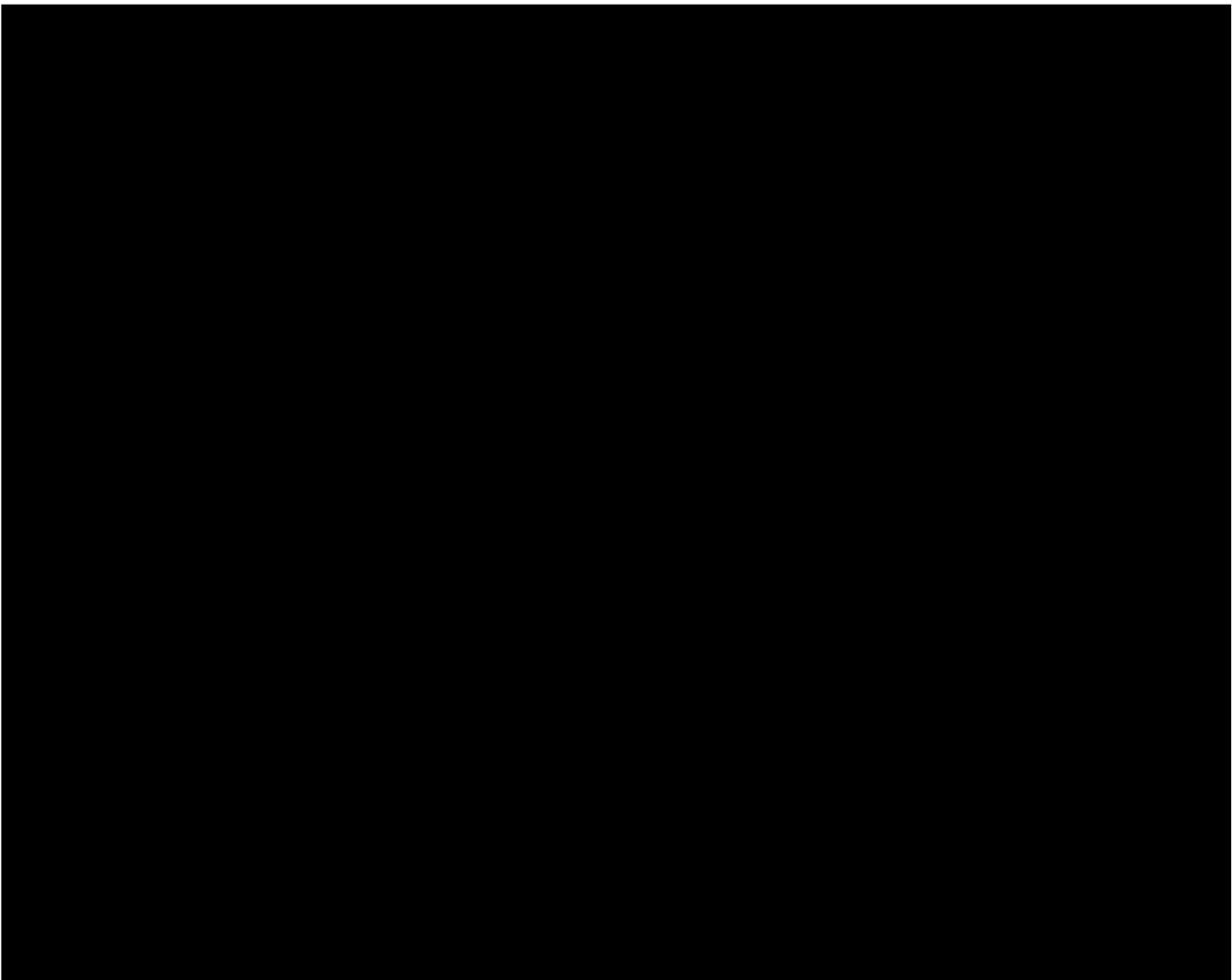


Figure 26. Conséquences gain et perte de fonction de C9ORF72. D'après (Balendra and Isaacs 2018).

Les premières études se concentrant sur les mutations *C9ORF72* ont mis en évidence la diminution des niveaux d'expression des transcrits du variant 2 dans les cellules lymphocytaires d'individus porteurs de la mutation (DeJesus-Hernandez et al. 2011; Gijssels et al. 2012). Celle-ci pourra générer un effet perte de fonction hétérozygote de la protéine C9ORF72. Cette haploinsuffisance pourrait être la conséquence de

plusieurs effets comme la localisation de la répétition au sein du promoteur ou encore la structure formée par la répétition dite en "R-loop" entraînant une transcription abortive. L'expansion pourrait aussi interférer avec la transcription ou l'épissage des autres variants, et parallèlement elle semble mener à l'hyperméthylation du locus *C9ORF72* (Kumar, Hasan, and Hassan 2017; K. Mori et al. 2013; Xi et al. 2013). La méthylation des cytosines présentes aux îlots CpG intervient comme répresseur de l'expression génique (K. Mori et al. 2013; Sareen et al. 2013; Haeusler et al. 2014). Cette diminution d'expression protéique a été mise en évidence dans des neurones dérivés de cellules IPS de patients porteurs de la mutation mais aussi directement dans les cerveaux de patients *C9ORF72*-DFT/SLA (Almeida et al. 2013; Belzil et al. 2013; Donnelly et al. 2013; Tran et al. 2015; Waite et al. 2014; Viodé et al. 2018). Parallèlement à cette haploinsuffisance, la répétition de l'expansion G₄C₂ peut être bidirectionnellement transcrite en ARN répétitif, permettant ainsi la formation de foci d'ARN sens et anti-sens. Même si l'expansion se trouve dans une séquence non-codante de *C9ORF72*, les ARNs répétitifs pourront être traduits dans toutes les phases de lectures par un mécanisme non-canonique appelé traduction associée aux répétitions non-ATG dépendante (Repeat-associated non-ATG translation ou RAN translation), pour former cinq protéines à répétition de dipeptides ou DPRs, à savoir : poly-GA, poly-GP, poly-GR, poly-PA et poly-PR (Figure 27)(Schludi et al. 2015). Ainsi, la mutation entraînera d'une part, une haploinsuffisance de la protéine, et d'autre part un effet gain de fonction par l'apparition de foci d'ARN et de dipeptides non fonctionnels (K. Mori et al. 2013; Gendron et al. 2013; Mann et al. 2013; Gomez-Deza et al. 2015b), l'ensemble de ces effets participant probablement aux mécanismes neurotoxiques.

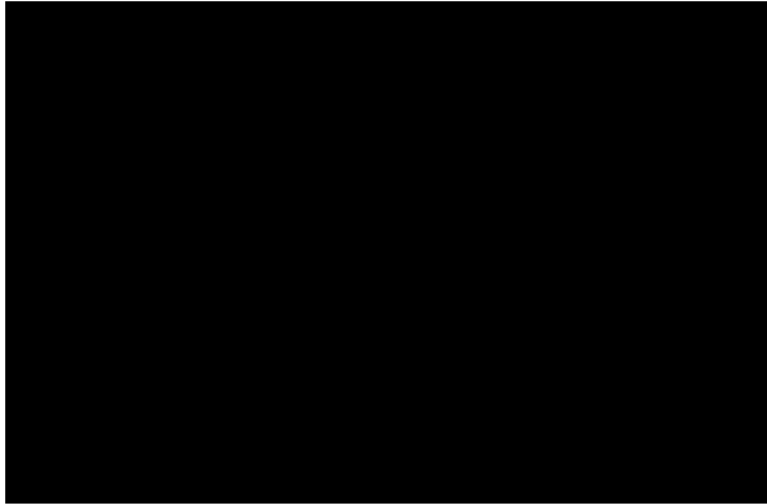


Figure 27. Différents dipeptides sens et anti-sens. D'après (Balendra and Isaacs 2018).

La taille de l'expansion hexanucléotidique consensus chez les sujets sains se situe entre 2 et 23 ; de même une taille d'expansion comprise entre 700 et 1600 (DeJesus-Hernandez et al. 2011) est associée aux pathologies DFT, SLA ou DFT-SLA. Toutefois, la taille de l'expansion varie hautement d'un patient à l'autre, pouvant peut-être expliquer l'hétérogénéité clinique observée ainsi que la large distribution de l'âge de début. Définir un nombre minimal de répétition de l'hexanucléotide causant la maladie serait idéal pour pouvoir diagnostiquer efficacement les individus porteurs. Cependant il est à ce jour presque impossible d'établir une limite franche. En effet, il a été montré que certains patients pouvaient déclarer une DFT en étant porteurs d'une taille d'expansion de 20 à 30 répétitions. Or, cette petite taille d'expansion a longtemps été considérée comme physiologique puisque la plupart des individus sains portent moins de 24 répétitions (Fournier et al. 2019; Renton et al. 2011; DeJesus-Hernandez et al. 2011). De plus, l'analyse post-mortem d'un individu de 84ans porteur de 30 répétitions et n'ayant jamais déclaré de symptômes neurologiques, a révélé la présence de Foci d'ARN et d'inclusion de DPR dans le cortex frontal (Gami et al. 2015). Ainsi, le lien entre la longueur de l'expansion et la pathogénèse est encore obscur. D'autant plus qu'il a été montré que la taille de l'expansion n'était pas la même selon les tissus, on parle d'instabilité somatique. Ainsi, chez un même patient, des expansions longues peuvent être mesurées dans le SNC alors que la mesure de l'expansion dans le sang pourra être de plus petite taille (Cooper-Knock et al. 2013). Des études décrivent que lorsque la taille de l'expansion est longue dans le SNC, elle est associée à plus de 50 répétitions dans l'ADN sanguin ; laissant penser que cette limite de 50 répétitions pourrait être utilisée dans le cadre d'un diagnostic sanguin

(Cooper-Knock et al. 2013; Balendra and Isaacs 2018). Cependant, cette limite est critiquable puisque un individu âgé de 89ans, porteur de 70 répétitions n'a jamais déclaré la maladie (Gitler and Tsuiji 2016; Balendra and Isaacs 2018; Ash et al. 2013). Une étude réalisée dans notre équipe a également montré que la mesure de l'expansion à partir du sang des patients n'était pas un bon marqueur prédictif de l'évolution de la DFT (Fournier et al. 2019). En effet, même si une corrélation entre la taille de l'expansion et l'âge de début de la maladie a pu être observée, l'âge au prélèvement est un facteur confondant, et la mesure de l'expansion au sein des lymphocytes circulants est trop instable (Fournier et al. 2019).

Le mosaïcisme d'expression de l'expansion est encore plus complexe puisque le nombre de répétitions est également variable d'une région cérébrale à l'autre. Ce mosaïcisme du SNC pourrait expliquer l'hétérogénéité clinique observée entre les patients mais elle n'est pas correctement comprise (Gitler and Tsuiji 2016).

Chez les patients, les mutations *C9ORF72* sont toujours associées à la présence d'inclusions protéiques TDP-43 mais le lien exact entre ces deux éléments reste éluif. Les sous-types neuropathologiques précis associés à cette mutation correspondent aux formes DLFT-TDP-43 de type B (MacKenzie et al. 2013; Snowden et al. 2015). D'autres stigmates sont associés aux mutations *C9ORF72*. En effet, les foci d'ARNs sens ou anti-sens sont largement distribués le long du SNC des patients porteurs de mutation *C9ORF72* (Haeusler et al. 2014). Ces foci sont trouvés de façon prédominante dans les noyaux des neurones des cortex moteur et frontaux, de l'hippocampe, du cervelet, et de la moelle épinière (Cooper-Knock et al., n.d.). De façon occasionnelle, ils peuvent être présents dans les interneurones et encore moins fréquemment, ils sont détectés dans les cellules gliales de type astrocytes, microglies et oligodendrocytes. On trouve des foci d'ARN sens et des foci anti-sens dans respectivement 37% et 26% des neurones du cortex frontal. Ils sont colocalisés dans 14% de ces cellules neuronales (Mizielinska et al. 2013; DeJesus-Hernandez et al. 2017).

Les inclusions de DPRs peuvent être mises en évidence par immunohistochimie, immunoblotting ou immunoassay. Elles sont positives pour P62 et négatives à TDP-43 et peuvent correspondre à un ou plusieurs dipeptide (Gendron et al. 2013; Ash et al. 2013; Zu et al. 2013; K. Mori et al. 2013). Les inclusions de DPRs sont neuronales

cytoplasmiques, mais peuvent aussi être localisées au sein des neurites ou encore être présentes au stade de pré-inclusions, le marquage est alors diffus dans le cytoplasme. Plus rarement, des inclusions neuronales intranucléaires et occasionnellement périnucléaires sont parfois observées (Gomez-Deza et al. 2015a). Les dipeptides poly-GA dérivés d'ARN sens sont les dipeptides les plus représentés, suivis par les poly-GP et poly-GR. Ainsi, les DPR dérivés d'ARNs antisens, poly-PA et poly-PR sont les formes les moins fréquentes. Il est à noter que les poly-GP dérivés à la fois d'ARN sens et anti-sens sont détectés dans les neurones hippocampiques (Al 2015; Lehmer et al. 2017) (Figure 28).



Figure 28. Foci ARN dans les cerveaux de patient DFT-SLA porteur de mutation C9ORF72. A et B. Foci antisens (en vert) et sens (en rouge) présents dans le noyau d'un neurone cortical. C. Inclusion TDP-43 chez un patient DFT-SLA avec mutation C9ORF72. D. Inclusion de DPR poly-GA cytoplasmique. Barre d'échelle : 50 μ m D'après (Balendra and Isaacs 2018).

Sur le plan clinique, il s'agit de la mutation la plus fréquemment associée au variant comportemental des DFTs, qu'il soit d'origine familiale ou sporadique. A l'IRM, l'atrophie est atypique comparée aux autres formes de DFT puisqu'elle démarre par le thalamus (Sha et al. 2012; Whitwell et al. 2015). Physiologiquement, la protéine C9ORF72 semble jouer des rôles dans la régulation du flux endo-lysosomal et de

l'autophagie, notamment au sein des cellules de l'immunité innée (Balendra and Isaacs 2018; Y. Shi et al. 2018).

iv. GENES MINORITAIRES DES DFTs

Des mutations rares associées aux DFTs ont été répertoriées dans les gènes suivant : *TARDNA binding protein 43 encoding gene (TARDP)*, *valosin-containing protein (VCP)*, *chromatin-modifying 2B (CHMP2B)*, *integral membrane protein 2B (ITM2B or BRI2)*, *tank-binding kinase 1 (TBK1)*, *TATAbox binding protein (TBP)*, *Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2)* (Rita João Guerreiro et al. 2013; Rayaprolu et al. 2013) et encore *sequestosome 1 (SQSTM1)* (Olszewska et al. 2016a).

Toutes ces mutations ne vont pas être décrites ci-dessous, mais j'ai choisi de me focaliser sur quelques gènes ayant un intérêt particulier dans le cadre de cette thèse.

Les mutations du gène *TARDBP* codant la protéine TDP-43 ont été identifiées dans la population sarde (Quadri et al. 2011). La mutation principale hétérozygote A382T faux sens (Quadri et al. 2011) semble causer l'accumulation cytoplasmique de TDP-43 (Prasad et al. 2019).

Le gène *sequestosome 1 (SQSTM1)* est localisé au locus 5q35 et code la protéine p62, protéine adaptatrice multifonctionnelle, impliquée dans l'autophagie, et dans la voie de dégradation du protéasome (Rubino et al. 2012). Des mutations faux-sens hétérozygotes à transmission dominantes ont été identifié dans les cohortes françaises de patients DFT. Ces mutations semblent mener à une perte de fonction de la protéine qui ne pourra plus se fixer aux protéines ubiquitinylées (Le Ber et al. 2013).

Le gène *VCP (valosin-containing protein)* codant la protéine du même nom, impliquée dans la dégradation protéique, la fusion membranaire, l'activation transcriptionnelle et l'apoptose, a été mis en évidence en 2004 chez les patients DFT et dans d'autres maladies comme les myopathies et la maladie de Paget (Watts et al. 2004). A l'heure actuelle, 30 mutations faux-sens (Meyer and Weihl 2014), 19 mutations non-sens hétérozygotes à transmission autosomique dominante, ont été mises en évidence, et 80% des patients avec mutations *VCP* ont une histoire familiale de DFT (Saracino et al. 2018). Les inclusions neuropathologiques strictement associées correspondent aux

DLFT-TDP de type D (Cairns et al. 2007; I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011). Les patients DFT présentent plutôt la maladie aux alentours de 40 ans avec une forme comportementale prédominante (Meyer and Weihl 2014).

Les mutations faux-sens et non-sens hétérozygotes du gène *CHMP2B* localisé sur le chromosome 3p11.2 ont été mises en évidence en 2005 dans une famille danoise avec DFT comportementale autosomique dominante et un âge de début moyen de 55ans (Skibinski et al. 2005). La protéine CHMP2B appartient à la famille des chromatin-modifying protein/charged multivesicular body protein (Skibinski et al. 2005; M. Isaacs et al. 2011) et fait partie du complexe ESCRT-III nécessaire au bon fonctionnement du trafic endo-lysosomal (Urwin et al. 2010). Les formes neuropathologiques retrouvées dans les cerveaux de patients DFTs porteurs de ces mutations correspondent aux DLFT-UPS : Ubiquitine/P62 positives et TDP-43/Tau négatives (Holm et al. 2007; Rohrer et al. 2009).

Le gène *TBK1* est également un gène mineur des DFTs. La fréquence des mutations hétérozygotes menant à perte de fonctions de *TBK1* (Freischmidt et al. 2015a) est d'environ 1%. Elles ont été reportées premièrement dans une cohorte de patients DFTs belges, où l'âge de début observé de la maladie était plus jeune ($63,3 \pm 7,7$ ans) comparé aux porteurs de mutations *C9ORF72*. Les patients porteurs de mutations *TBK1* présentent généralement des déshinibitions, agressivité, syndromes psychiatriques marqués et des syndromes extra-pyramidaux (Olszewska et al. 2016a). *TBK1* est une sérine/Thréonine kinase qui joue des rôles essentiels dans la régulation des réponses inflammatoires (Ahmad et al. 2016). Les patients DFT avec cette mutation présente une DLFT-TDP (Gijssels et al. 2015).

b) Génétique de la SLA : des mutations communes à la SLA et aux DFTs ?

Environ 10% des cas de SLA sont d'origine génétique (Figure 29). La transmission des mutations est majoritairement autosomique dominante (Majounie et al. 2012).



Figure 29 Proportions des gènes les plus fréquemment mutés dans les cas de SLA familiales et sporadiques en Europe. D'après (Mejzini et al. 2019).

i. SOD1

C'est en 1993 qu'a été mis en évidence le premier gène associé à la SLA (Rosen et al. 1993a) : le gène *SOD1* au locus 21q22.1, codant la métalloprotéase du même nom. Une méta-analyse récente a mis en évidence la présence de variants pathogènes de *SOD1* dans approximativement 15-30% des formes familiales de SLA et dans moins de 2% des cas sporadiques de SLA (Zou et al. 2017). A l'heure actuelle, plus de 185 variants pathologiques de *SOD1* ont été identifiés (Yamashita and Ando 2015). La majorité de ces mutations correspond à des mutations faux-sens, le variant D90A étant le plus répandu (Felbecker et al. 2010). Le phénotype clinique, la durée de la maladie et la sévérité peuvent varier de façon conséquente dépendamment des mutations. Une progression rapide de la maladie ainsi qu'une longévité plus courte ont été constatées chez les patients avec variant A4V, H43R, L84V, G85R, N86S et G93A (Yamashita and Ando 2015). En revanche, l'espérance de vie des patients avec mutations G93C, D90A ; H46R est généralement plus longue (Yamashita and Ando 2015).

Les mutations de *SOD1* sont associées à une diminution de l'activité de l'enzyme de 50 à 80% (Rosen et al. 1993a; Deng et al. 1993) menant à l'hypothèse que la pathologie est liée à une diminution de l'activité de SOD1. Cependant, une étude plus tardive a mis en évidence que la réduction de l'activité dismutase n'était corrélée ni à la sévérité de la maladie, ni à l'âge de début de la maladie, indiquant qu'un mécanisme gain de fonction pouvait entrer dans la balance (Cleveland, Laing, and Brown 1995). Cette dernière supposition a été renforcée par un modèle murin *Sod1*-knockout ne présentant pas de phénotype de SLA (Reaume et al. 1996). En effet, l'effet gain de

fonction pourrait s'expliquer par les mutations qui vont induire des changements conformationnels et fonctionnels de SOD1. De ce fait, les interactions avec les protéines cibles se verront modifiées, un mécanisme toxique pourra se mettre en place suite à la dérégulation ou l'apparition d'activité telles que l'excitotoxicité, le stress oxydatif, le stress du réticulum endoplasmique, les dysfonctions mitochondriales et la propagation prion-like de la protéine elle-même (Hayashi, Homma, and Ichijo 2016). L'excitotoxicité correspond à la toxicité cellulaire induite par l'accumulation du neurotransmetteur glutamate (J. W. Olney 1969). Ce neurotransmetteur va sur-activer les récepteurs au glutamate présents à la membrane post-synaptique neuronale menant à l'activation intracellulaire de cascades de mort (Starr and Sattler 2018).

Dans la SLA-SOD1, des corrélations génotype-phénotype ont été établies puisque les signes cliniques du patient sont différents selon la mutation (Juneja et al. 1997). Par exemple, le variant A4V est associé à une forme agressive de SLA avec un début de la pathologie touchant les membres périphériques (Juneja et al. 1997). Les patients homozygotes pour D90A présentent une progression lente de la maladie, avec une parésie commençant dans les jambes puis remontant progressivement induisant des symptômes atypiques comme des troubles de la vessie. Au contraire, les mutations hétérozygotes D90A sont associées à plusieurs formes de SLA incluant les formes bulbaires, les formes avec début de la pathologie dans les membres supérieurs et celles avec commencement dans les membres inférieurs avec progression plus rapide (H. F. Li and Wu 2016).

ii. C9ORF72

La mutation correspond à celle décrite dans le chapitre concernant les DFTs. En effet, plus de 50% des patients SLA porteurs de l'expansion hexanucléotidique développent également une DFT ou ont une histoire familiale de DFT (Ling, Polymenidou, and Cleveland 2013). Ainsi, une même mutation de *C9ORF72* sera responsable soit d'une forme pure de DFT, soit d'une forme pure de SLA, soit d'une forme mixte de DFT-SLA. En Europe, cette répétition d'expansion anormale est présente dans 40% des formes familiales de SLA et dans 7% des formes sporadiques (Majounie et al. 2012). Cependant, l'observation des fréquences de l'expansion au sein de différentes populations a permis de mettre en évidence un effet fondateur. En effet, en Finlande, l'expansion *C9ORF72* a été trouvée dans 61% des patients avec SLA familiale et 19%

des patients avec SLA sporadique (Majounie et al. 2012). Mais, plus on s'éloigne de la Scandinavie, plus la fréquence est faible. Ainsi, dans le nord de l'Angleterre les expansions *C9ORF72* sont présentes chez 43% des patients avec SLA à histoire familiale et 7% des patients avec SLA sporadique (Cooper-Knock et al. 2012). En Allemagne, 22% des patients SLA avec histoire familiale (Majounie et al. 2012) portent l'expansion alors qu'au Japon ce pourcentage baisse à 3,4% (Konno et al. 2013). En Amérique du Nord, la fréquence d'apparition de l'expansion est comparable à celle des populations européennes et a été reportée chez 36% des patients avec SLA familiale et 6% des SLA sporadiques (Cooper-Knock et al. 2015).

Concernant la présentation clinique, les patients SLA porteurs de la mutation *C9ORF72* présentent plus de formes bulbaires (44% des formes totales) que les patients SLA non porteurs (25% des formes totales) et la maladie se déclare en moyenne 2 à 5 ans plus tôt (Ling, Polymenidou, and Cleveland 2013).

Pour l'aspect neuropathologique, tout comme dans la plupart des autres formes de SLA, des corps de Bunina, des inclusions p62 ou TDP-43 neuronales cytoplasmiques sont prédominantes dans le cortex moteur et la corne antérieure de la moelle épinière des patients (Saber et al. 2015). Cela accompagné par une mort des neurones moteurs. Cependant, ces cas de SLA ou de DFT-SLA avec mutations *C9ORF72* sont associées à une protéinopathie TDP-43 particulière car en plus des zones corticales motrices, elle peut être localisée dans le cervelet et dans l'hippocampe des patients (MacKenzie et al. 2013). Des inclusions p62 et ubiquitine positives mais négatives à TDP-43 ont été trouvées dans les cellules pyramidales de la couche III du cortex cérébelleux et dans l'hippocampe de certains patients (MacKenzie et al. 2013). Ces pathologies protéiques dans les régions extramotrices qu'on ne pensait pas atteintes dans la SLA pendant longtemps, ont été décrites premièrement dans la DFT et DFT-SLA, puis dans la SLA avec expansion *C9ORF72* (Hsiung et al. 2012). Comme précédemment expliqué, des DPRs identiques à ceux présentés dans le chapitre des DFT, peuvent aussi être trouvés dans les inclusions P62 et ubiquitine positives mais TDP-43 négatives. Et des inclusions nucléaires de foci d'ARN sont aussi associées à la SLA ou DFT-SLA avec mutations *C9ORF72* (Mann et al. 2013).

iii. FUS

En 2009, des mutations ont été mises en évidence dans le gène de *Fused in Sarcoma (FUS)*, lié aux formes familiales de maladie du motoneurone (Vance et al. 2009). Des inclusions de la protéine FUS codée par ce même gène ont été mises en évidence dans des cerveaux post-mortem de patients SLA (Kwiatkowski et al. 2009; Vance et al. 2009).

Ces mutations *FUS* sont causales dans 4-5% des formes familiales de SLA et dans quelques cas de SLA sporadiques (Deng et al. 2010). Plus de 50 variants pathologiques de FUS à transmission autosomique dominante ont été identifiées chez les patients SLA (Vance et al. 2009). La majorité correspond à des mutations faux-sens, bien qu'il y ait de rares cas d'insertion, délétions, épissage et mutations non-sens qui ont été reportés (Kwiatkowski et al. 2009). Plusieurs de ces variants pathologiques sont situés au niveau du signal de localisation nucléaire au sein de la séquence peptidique. Ce qui conduit à une redistribution de la protéine dans le cytoplasme et à des effets perte de fonction nucléaire et gain de fonction cytoplasmique (Vance et al. 2013). D'autres variants sont situés dans les régions riches en glycine et arginine, dans le domaine prion-like ou au niveau 3'UTR. Ces variants vont ainsi augmenter certaines propriétés de la protéine à former des agrégats solides (Nomura et al. 2014; Mejjini et al. 2019). Ces mutations sont associées à un début précoce de la pathologie et à des formes de SLA juvéniles (Bäumer et al. 2010).

iv. TARDBP

En 2008 des mutations à transmissions dominantes dans le gène *TARDBP* ont été identifiées comme causes primaires de SLA, mettant en évidence l'implication de TDP-43 dans la neurodégénérescence (Gitcho et al. 2008b; Kabashi et al. 2008; Sreedharan et al. 2008; Van Deerlin et al. 2008; Yokoseki et al. 2008). Depuis, plus de 48 variants de *TARDBP* ont été associés à la SLA (Lattante, Rouleau, and Kabashi 2013). La plupart des mutations de *TARDBP* sont localisées dans l'exon 6, codant la région Carboxy-terminale hautement conservée du transcrit. Cette dernière permet l'interaction de TDP-43 avec d'autres ribonucléoprotéines et est impliquée dans la régulation de l'épissage des pré-ARNm (Buratti et al. 2005; M. Neumann et al. 2006) (Figure 30). Aucune corrélation entre la localisation des mutations et l'âge de début de la maladie ou l'espérance de vie des patients n'a été établie.

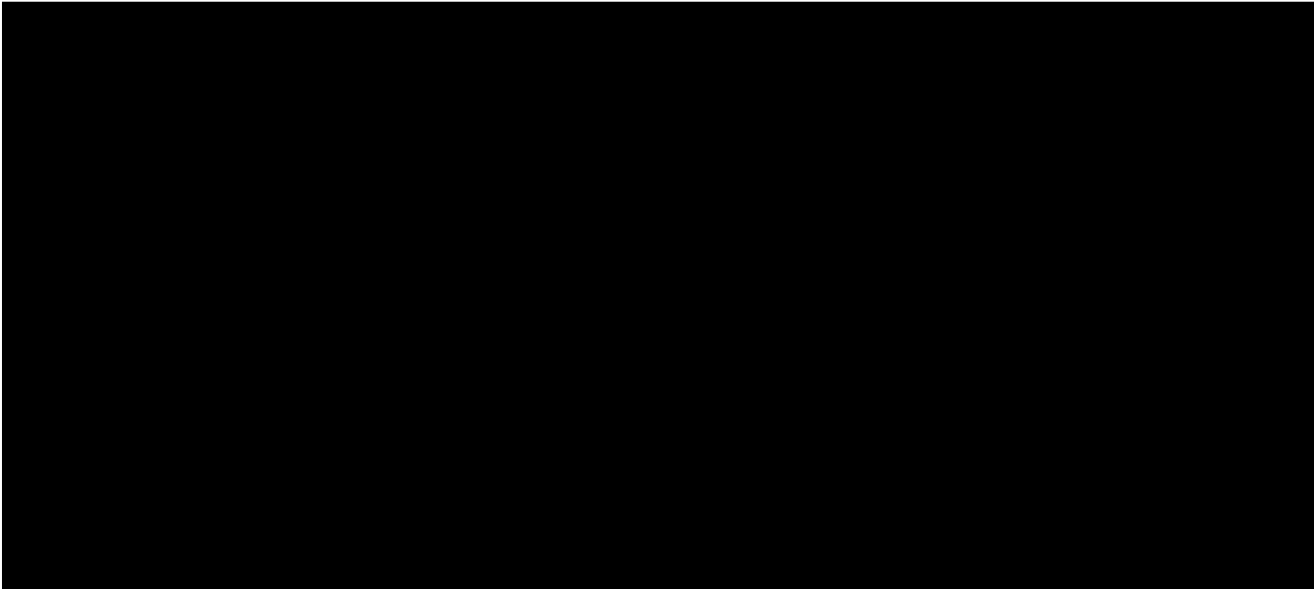


Figure 30. Localisation des mutations dans la séquence *TARDBP*. D'après (I. R. A. Mackenzie and Rademakers 2008).

Une analyse de population à grande échelle basée sur l'étude de *TARDBP* a permis d'identifier 16 mutations faux-sens chez 19 patients SLA n'ayant aucune affiliation. Parmi elles, 8 mutations ont été relevées chez des patients avec SLA familiale, alors que les 8 autres ont été trouvés chez des patients SLA sporadique (Mentula et al. 2012). Les mutations de *TARDBP* ne sont pas strictement associées à la population caucasienne car elles ont également été mises en évidence dans des familles asiatiques (Sreedharan et al. 2008).

La fréquence des mutations *TARDBP* dans la SLA est comprise entre 1 et 6% (I. R. A. Mackenzie and Rademakers 2008). Des études dans lesquelles les populations SLA sporadiques et familiales ont été comparées, ont montré que la fréquence de *TARDBP* dans ces deux cohortes était comparable (Kabashi et al. 2008; Sreedharan et al. 2008). Cependant, une autre étude réalisée sur les formes de SLA sporadiques européennes n'a pas mis en évidence de mutations de *TARDBP* (Rita J. Guerreiro et al. 2008) et d'autres études encore, n'ont permis la découverte de mutations *TARDBP* que dans les formes familiales de SLA (Van Deerlin et al. 2008; Yokoseki et al. 2008; Gitcho et al. 2008b). Ces données sont encore discutées. Le phénotype clinique associé aux mutations *TARDBP* ressemble aux formes classiques de SLA adulte. L'âge de début moyen des individus porteurs de la mutation est d'environ 56 ans et la durée moyenne de la maladie est de 4 ans (Gitcho et al. 2008b; Kabashi et al. 2008; Sreedharan et al. 2008; Yokoseki et al. 2008; Van Deerlin et al. 2008). Cependant,

même au sein d'une même famille, l'âge de début varie significativement, suggérant que des facteurs génétiques additionnels et environnementaux vont déterminer l'expression de la mutation *TARDBP*. La part des formes bulbaires associées à la mutation est de 33 % et 67% des porteurs développent des formes spinales de SLA (Traynor et al. 2000; Zoccolella et al. 2006), ce qui correspond à une distribution comparable aux patients SLA non porteurs de la mutation *TARDBP*.

Sur un plan neuropathologique, les patients avec mutations *TARDBP* présentent des inclusions neuronales et oligodendrocytaires TDP-43 positives dans les cellules de la corne antérieure de la moelle épinière et dans d'autres régions du SNC (Yokoseki et al. 2008; Van Deerlin et al. 2008). Des observations post-mortem semblent indiquer que la présence de pré-inclusions TDP-43 et de formes pathologiques clivée de 25 KDa est accrue dans les cas de SLA avec mutations *TARDBP* par rapport aux autres cas de SLA avec inclusions TDP-43 (Yokoseki et al. 2008; Van Deerlin et al. 2008).

v. GENES MINORITAIRES DE LA SLA

Nous avons précédemment évoqué les gènes principaux de la SLA, mais d'autres mutations ont également été mises en évidence dans des formes minoritaires de SLA. De rares cas de SLA existent également avec mutations dans les gènes *TANK-binding kinase-1 (TBK-1)* (Cirulli et al. 2015), *valosin containing protein (VCP)* (J. O. Johnson et al. 2010), *ubiquilin-2* (Deng et al. 2011), *cyclin-F* (K. L. Williams et al. 2016), et *optineurin* (Maruyama et al. 2010), et bien d'autres. Les mutations des gènes précédemment cités dans le chapitre « gènes minoritaires des DFTs » peuvent être identiques dans les DFTs et la SLA. C'est par exemple le cas des mutations hétérozygotes menant à des pertes de fonctions de *TBK1* (Cirulli et al. 2015).

Toutes les mutations ne peuvent pas être décrites dans ce chapitre, mais les gènes connus dans les formes familiales de SLA sont résumés dans le tableau ci-dessous (Figure 31).

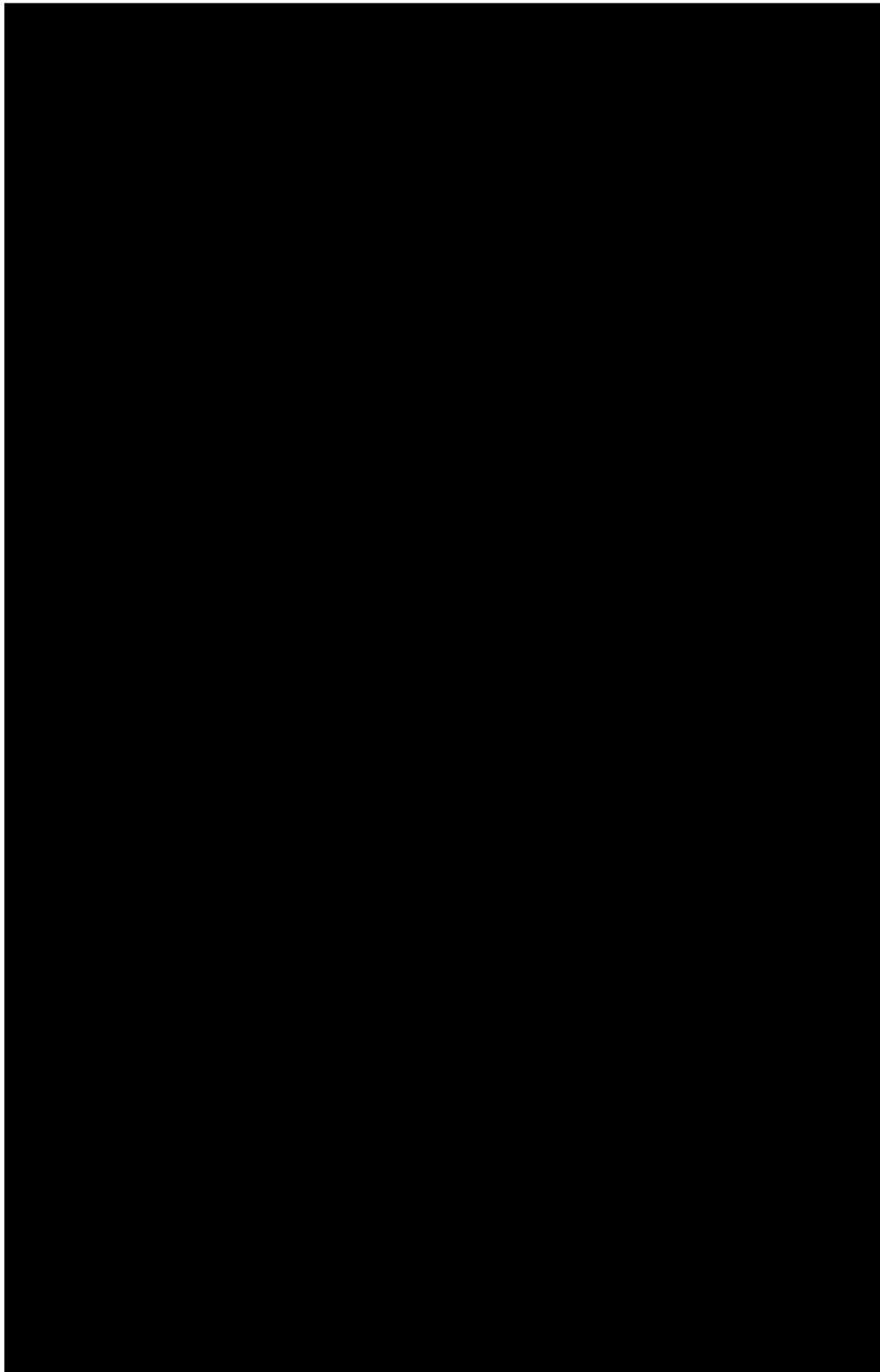


Figure 31. Tableau listant les gènes impliqués dans la SLA (liste non exhaustive). D'après (Toth and Atkin 2018).

Les mutations hétérozygotes faux-sens du gène *sequestosome 1* (*SQSTM1*) codant la protéine p62 ont été mises en évidence dans la SLA en 2011 (Fecto et al. 2011). Cette même année ont été découvertes des mutations du gène *UBQLN2* codant l'ubiquilin-2, autre protéine jouant un rôle dans les mécanismes de dégradation. Les

mutations *SQSTM1* (à transmission autosomale dominante) (Fecto et al. 2011) et *UBQLN2* (à transmission dominante et pouvant être liées à l'X) peuvent être associées aux formes pures de SLA mais également aux formes mixtes de DFT-SLA (Deng et al. 2011). Ces mutations peuvent déréguler les voies de dégradation protéique comme l'autophagie ou dans la voie de l'ubiquitine-protéasome (Kleijnen et al. 2000).

D'autres mutations ont été mises en évidence dans le gène codant l'optineurine (*OPTN*). Ce gène a premièrement été mis en évidence chez des patients avec glaucome. Les mutations du gène *OPTN* ont été identifiées chez 0,3% des patients SLA à forme sporadique et 1,5% des patients à formes familiales. Trois types de mutations perte de fonctions de *OPTN* sont associés à la SLA : une délétion homozygote de l'exon 5, une mutation non-sens homozygote Q398X et une mutation faux-sens hétérozygote E478G dans le domaine de liaison à l'ubiquitine (Maruyama et al. 2010). Ces mutations peuvent ainsi avoir des effets perte de fonction. L'optineurine est une protéine ubiquitaire jouant des rôles dans la réponse inflammatoire, l'autophagie, la maintenance du Golgi, et le transport vésiculaire (Toth and Atkin 2018).

C. Hypothèses concernant les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les DFTs, DFT-SLA et SLA

De nombreuses publications ont mis en évidence les voies cellulaires impliquées dans la pathogénèse de la SLA. Celles-ci sont nombreuses (Ragagnin et al. 2019; Balendra and Isaacs 2018; J. P. Taylor, Brown, and Cleveland 2016). Elles concernent par exemple le métabolisme des ARNs, le transport nucléo-cytoplasmique et des défauts de la protéostase. En effet, les fonctions de dégradation lysosomales et le système ubiquitine-protéasome peuvent être défectueux (Maharjan et al. 2017; Ruegsegger and Saxena 2016). De plus, plusieurs modes de trafic vésiculaires sont défectueux dans la SLA, incluant le transport RE-Golgi (Soo et al. 2015) et le transport axonal (De Vos and Hafezparast 2017). La voie nucléocytoplasmique peut, elle aussi être perturbée (H. J. Kim and Taylor 2017). Des mécanismes biologiques défectueux ne concernant que les cellules neuronales peuvent aussi être mis en place tels que l'hypo-excitabilité et hyper-excitabilité, l'excitotoxicité au glutamate, et des défauts de connexion synaptique (Fogarty 2018). Dans ce chapitre nous allons revenir sur différentes hypothèses concernant certains mécanismes biologiques cellulaires et

moléculaires, pouvant être impliqués dans les DFTs, DFT-SLA ou SLA. Nous nous focaliserons essentiellement sur les hypothèses faisant intervenir les gènes majeurs des DFTs, DFT-SLA et SLA : *MAPT*/*FUS* / *TARDBP*/*SOD1* / *C9ORF72* / *GRN* mais nous évoquerons également quelques hypothèses impliquant les gènes minoritaires. Il est à noter que pour les paragraphes s'intéressants aux hypothèses impliquant les gènes *TARDBP* et *FUS*, je ne me suis pas limitée à ces mutations mais je me suis intéressée à l'impact d'un dysfonctionnement des protéines codées par ces deux gènes. C'est-à-dire aux hypothèses au sens large concernant les neuropathologies TDP-43 et FUS associées également à d'autres mutations comme celles de *C9ORF72* par exemple.

1. A chaque gène ou protéine, son hypothèse

a) FUS

La majorité des mutations causales identifiées dans le gène *FUS* dans des formes familiales de SLA (Kwiatkowski et al. 2009; Vance et al. 2009; Da Cruz and Cleveland 2011) sont localisées dans le domaine C-terminal, notamment dans la séquence de localisation nucléaire NLS (Nuclear Localization Sequence). Elles résultent en la localisation cytoplasmique anormale de FUS. Cette relocalisation peut alors perturber les fonctions physiologiques nucléaires de la protéine et promouvoir à la fois une perte de fonction nucléaire et un gain de fonction cytoplasmique (Orozco et al. 2012; Qiu et al. 2014; Hoell et al. 2011). L'origine de la pathogénèse est encore débattue. Elle pourrait être dépendante soit de la perte de fonction nucléaire, soit du gain de fonction cytoplasmique de FUS, soit des deux. Différents modèles d'étude présentés ci-dessous, ont été développés pour tenter de répondre à cette question.

Un modèle murin *FUS* Knock-out homozygote a été développé en 2015. Les souris peuvent vivre jusqu'à l'âge adulte et ne montrent pas de phénotype évocateur de la SLA (Kino et al. 2015). Cela suggère que la perte de fonction de FUS n'est pas suffisante à elle seule pour causer la maladie (Kino et al. 2015). Ce résultat a été supporté par le développement de nouveaux modèles *FUS* Knock-out conditionnels spécifiques aux neurones moteurs de la souris. Ces modèles murins ne montrent aucun signe de perte de neurones moteurs ou de dénervation (Sharma et al. 2016). Cependant ces résultats sont contradictoires à ceux obtenus dans un modèle

drosophile FUS knock-down, dans lequel une dégénérescence neuronale et des défauts de locomotion ont été observés (Sasayama et al. 2012).

L'effet perte de fonction de la mutation est associée à une diminution d'expression de la protéine FUS au sein du noyau, alors que l'effet de gain de fonction cytoplasmique est dû à sa relocalisation anormale cytoplasmique. La protéine FUS mutée est délocalisée dans le cytoplasme au sein de granules de stress. Cela a été mis en évidence dans les lignées cellulaires mammifères et dans des neurones primaires de rongeurs (Bosco et al. 2010; Dormann et al. 2010; Ito et al. 2011; Bentmann et al. 2012; Baron et al. 2013; Lenzi et al. 2015; Kuang et al. 2017). Au sein de granules de stress, les interactions de la protéine avec ses ARNs cibles pourront être modifiées (Walsh et al. 2015). Des altérations d'expression de gènes et d'épissage des ARNs ont notamment été relevés dans des cas de localisation cytoplasmique de la protéine (Scekic-Zahirovic et al. 2016). Appuyant l'hypothèse que la perte de fonction de FUS contribue à la neurotoxicité, dans un modèle de cellules neuronales murines *in vitro* et grâce à des analyses de séquençage ARN, il a été mis en évidence que le mutant FUS R495X présentait un profil génomique altéré. Cela était associé à un profil mitochondrial perturbé et une taille réduite de ces dernières. Ce profil pourrait être causé par une liaison altérée entre FUS^{R495X} et ses ARNs cibles puisque la mutation R495X résulte en la perte complète du NLS (Bosco et al. 2010; Waibel et al. 2010).

Quelques preuves expérimentales ont montré que la neurotoxicité pouvait être causée par les agrégats FUS dans la SLA. En effet, un modèle transgénique murin surexprimant la protéine FUS sauvage humaine développe un phénotype agressif de neurodégénérescence et une accumulation cytoplasmique de FUS (Mitchell and Borasio 2007). En accord avec ce résultat, un autre modèle murin transgénique exprimant un variant de FUS pouvant s'auto-agréger et perdant la capacité de reconnaître et de se lier aux ARNs, développe un phénotype moteur sévère corrélé à une accumulation de FUS cytoplasmique (Shelkovnikova et al. 2013; Robinson et al. 2015). Une accumulation seule de protéines solubles au sein du cytoplasme sans formation d'agrégat, suffit à induire une neurodégénérescence dans différents modèles murins (Huang et al. 2011; Scekic-Zahirovic et al. 2016; Sharma et al. 2016). Cependant ces modèles sont discutables puisque l'accumulation de la protéine FUS

dans le cytoplasme est associée à une perte nucléaire. L'effet neurotoxique est donc également accompagné d'une perte de fonction nucléaire de la protéine FUS.

La surexpression de FUS wild-type chez les rongeurs, ou la drosophile induit à elle-seule une neurotoxicité (Mitchell and Borasio 2007; Huang et al. 2011; Y. Chen et al. 2011). Le mutant FUS cause également la dégénérescence des neurones moteurs chez la souris (Sharma et al. 2016). Après surexpression de FUS mutante dans des cellules HEK293T, le profil génomique observé se rapproche du profil obtenu après surexpression de la protéine FUS wild-type dans des cellules plutôt que d'un knock-down de la protéine (Van Blitterswijk et al. 2013). La protéine FUS wild-type ne rétablit pas le phénotype d'un nématode *C. elegans* mutant FUS (Murakami et al. 2012).

Un modèle murin transgénique surexprimant la protéine mutante FUS^{R521G}, présente une arborisation dendritique considérablement réduite dans les neurones spinaux et neurones corticaux des couches IV-V (Sephtona et al. 2014). Des changements similaires ont été observés dans un modèle transgénique murin exprimant la protéine FUS déplétée de son domaine NLS (Shiihashi et al. 2017). Une diminution du nombre d'épines dendritiques dans le cortex frontal et une diminution d'expression de protéine synaptique ont été reportées (Shiihashi et al. 2017). De même, le knock-down de FUS dans les neurones primaires hippocampaux murins mène à une diminution de la densité des épines et de leur maturité et entraîne la réduction d'expression synaptique des protéines post-synaptiques PSD-95 (Post-synaptic density protein 95) et de son interacteur SynGAP (Yokoi et al. 2017). Ainsi, la mutation de FUS résultera à la fois en la perte de fonction nucléaire et d'un gain de fonction cytoplasmique. Il est à l'heure impossible de dissocier ces deux effets afin de mieux comprendre l'origine de la pathogénèse. Cependant, FUS semble induire une neurotoxicité par ses interactions modifiées avec des protéines importantes pour le fonctionnement neuronal, comme les protéines synaptiques (Yokoi et al. 2017).

b) TDP-43

Dans ce paragraphe, je me suis intéressée aux hypothèses concernant les protéinopathies TDP-43 non uniquement associées aux formes génétiques *TARDBP*. Cela parce que les inclusions TDP-43 représentent les inclusions majoritaires de DFT,

SLA et DFT-SLA, alors que les mutations de *TARDBP* sont retrouvées dans quelques cas minoritaires de DFT et dans des cas un peu plus nombreux de SLA (voir chapitre génétique). L'identification de mutations *TARDBP* dans la SLA a apporté d'importants indices quant au mécanisme pathogénique impliqué dans les protéinopathies TDP-43. En effet, le cluster de mutations dans l'exon 6 codant le domaine C-terminal, suggère que ces mutations perturbent les interactions protéine-protéine de TDP-43, affectent son transport par le pore nucléaire ou influencent son activité de répresseur de la transcription (Kabashi et al. 2008; Sreedharan et al. 2008). De façon similaire à d'autres pathologies neurodégénératives caractérisées par l'accumulation de protéines mal conformées, la question se pose alors quant à la nature de la pathogénèse : est-elle dépendante de la perte de fonction de la protéine agrégée, du gain de fonction toxique dû à la présence des agrégats, ou des deux (I. R. A. Mackenzie and Rademakers 2008) ?

La localisation anormale de TDP-43 dans le cytoplasme des neurones DFT et SLA, indépendamment de la présence de mutations de *TARDBP*, pourrait contribuer à la pathogénèse par perte de fonction nucléaire ou gain de fonction cytoplasmique de TDP-43 (Strong et al. 2007a; I. F. Wang et al. 2008) (Figure 32).

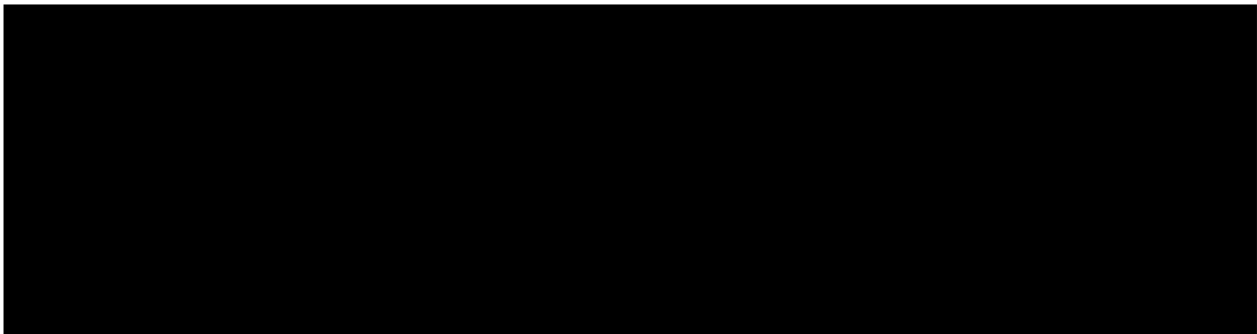


Figure 32. Délocalisation anormale de TDP-43 du noyau au cytoplasme, dans un neurone moteur de moelle épinière d'un patient SLA. D'après (Feneberg et al. 2018).

L'hypothèse perte de fonction de TDP-43, protéine de liaison à l'ARN, suggère que si la protéine est relocalisée au sein du cytoplasme, elle n'est alors plus capable d'exercer ses fonctions physiologiques au sein du noyau (Figure 33).

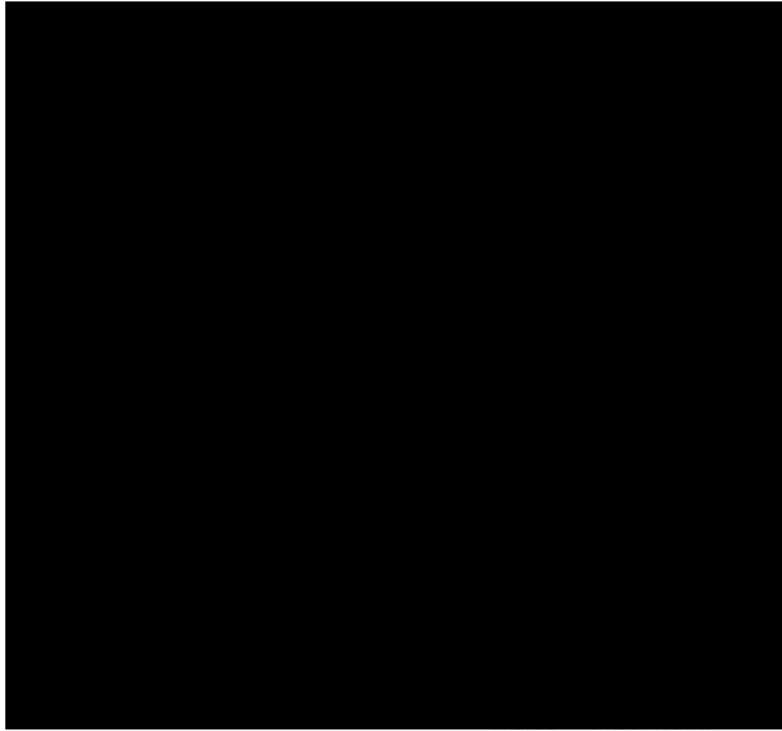


Figure 33. Schématisation des effets perte et gain de fonction de TDP-43. D'après (Vanden Broeck, Callaerts, and Dermaut 2014).

Supportant cette idée, une déplétion de TDP-43 dans des cellules HeLa par siRNA induit une morphologie nucléaire altérée (structure de l'hétérochromatine et taille nucléaire anormale) et une augmentation de l'apoptose (Ayala, Misteli, and Baralle 2008). Dans d'autres modèles, comme la drosophile ou dans des neurones moteurs dérivés d'IPS de patients SLA avec mutations *TARDBP*, une diminution d'expression de TDP-43 est corrélée à une expression réduite des microARNs (Z. Zhang et al. 2013a). Cela suggère un lien étroit entre perte de fonction de TDP-43, trouble du métabolisme des ARNs et altération des ARNs extincteurs de gènes dans la SLA. Au sein du SNC, les microARNs contribuent à la maintenance des jonctions neuromusculaires (G. Valdez et al. 2014). C'est par exemple le cas du mir-206 qui est essentiel pour des mécanismes de réinnervation (A. H. Williams et al. 2009). Les neurones moteurs pourraient être spécifiquement sensibles à des perturbations dans la biogénèse des microARNs. De façon intéressante, une diminution de la régulation des microARNs a été reportée dans les neurones moteurs de patients avec SLA sporadique (Emde et al. 2015). De plus, l'expression des ARNs régulateurs est toujours et de façon conséquente, altérée dans les sérums de patients SLA (Cloutier et al. 2015).

La localisation cytoplasmique et l'agrégation de TDP-43 peuvent être associés à un dysfonctionnement du transport nucléocytoplasmique. En effet, la composition des agrégats et leur distribution au cours de la maladie reste inconnue, mais une étude a permis, par une technique appelée BioID, d'identifier les interactomes de TDP-43 au sein des agrégats insolubles et résistants au détergent (Chou et al. 2018a). Ainsi, il est avéré que les agrégats TDP-43 sont enrichis en protéines ayant des rôles dans la constitution des pores nucléaires ou dans le fonctionnement du transport nucléocytoplasmique (Chou et al. 2018a). De plus, dans des modèles de cultures primaires de neurones corticaux murins, de fibroblastes humains et de neurones dérivés d'IPS, il a été démontré que les agrégats ou les protéines mutantes TDP-43 induisaient une localisation anormale des nucléoporines et facteurs de transport nucléocytoplasmique (Chou et al. 2018a). De plus, ils interfèrent avec les protéines nucléaires d'import et d'export de l'ARN (Chou et al. 2018b).

Un stress cellulaire peut aussi perturber le transport nucléocytoplasmique en localisant des facteurs protéiques cruciaux pour le bon fonctionnement de ce transport au sein de granules de stress, ou dans des complexes associant ARNs et protéines, maintenant connus comme jouant un rôle dans la pathogénèse de la SLA. Si l'assemblage des granules de stress est inhibé en diminuant, par exemple l'expression de l'ataxin-2, alors les défauts de transports nucléocytoplasmiques ainsi que la neurodégénérescence associée aux DFT/SLA avec mutations *C9ORF72* se trouvent eux aussi diminués. Cela met en évidence un lien entre granules de stress et transport nucléocytoplasmique (Chou et al. 2018b; K. Zhang et al. 2018).

L'agrégation nucléaire de TDP-43 est également constatée dans de cas plus rares de DFT (DLFT-type D voir p52). Les agrégats nucléaires de TDP-43 sont principalement associés aux mutations du gène *VCP* (Forman et al. 2006). Le lien entre la mutation *VCP* et l'agrégation nucléaire de TDP-43 est encore peu comprise mais un défaut du transport nucléocytoplasmique semble être une piste d'étude intéressante (Archbold et al. 2018). En effet, *in vitro* l'agrégation nucléaire de TDP-43 est reproduite lors d'une délétion de la séquence d'export nucléaire (NES) (Winton et al. 2008). De plus, les protéines *VCP* et TDP-43 interagissent ensemble (Freibaum et al. 2010). *VCP* pourrait jouer un rôle dans le transport nucléocytoplasmique de TDP-43 (Ritson et al. 2010). Comme la protéine *VCP* est localisée dans le noyau lorsqu'elle est mutée, nous

pouvons extrapoler que celle-ci ne permettra plus la localisation cytoplasmique de TDP-43.

La séquestration de TDP-43 dans les inclusions cellulaires peut induire un gain de fonction toxique indépendant du rôle biologique de TDP-43. Une étude dans laquelle TDP-43 est surexprimée dans la levure laisse à penser que seules les formes agrégées de TDP-43 sont toxiques (B. S. Johnson et al. 2008). La propagation de la protéinopathie TDP-43 dans les DFTs et SLA dans différentes zones cérébrales, à partir d'un point focal est associée à une diversification symptomatique (Brettschneider et al. 2014). Cela suggère que la pathogénèse est liée à l'accumulation de TDP-43 mais aussi que l'évolution de maladie est liée à la transmission protéique de TDP-43 de cellule en cellule (Mejzini et al. 2019; Ravits, Paul, and Jorg 2007; Brettschneider et al. 2013; Nonaka et al. 2013; Mompeán, Romano, et al. 2016) (Figure 34).

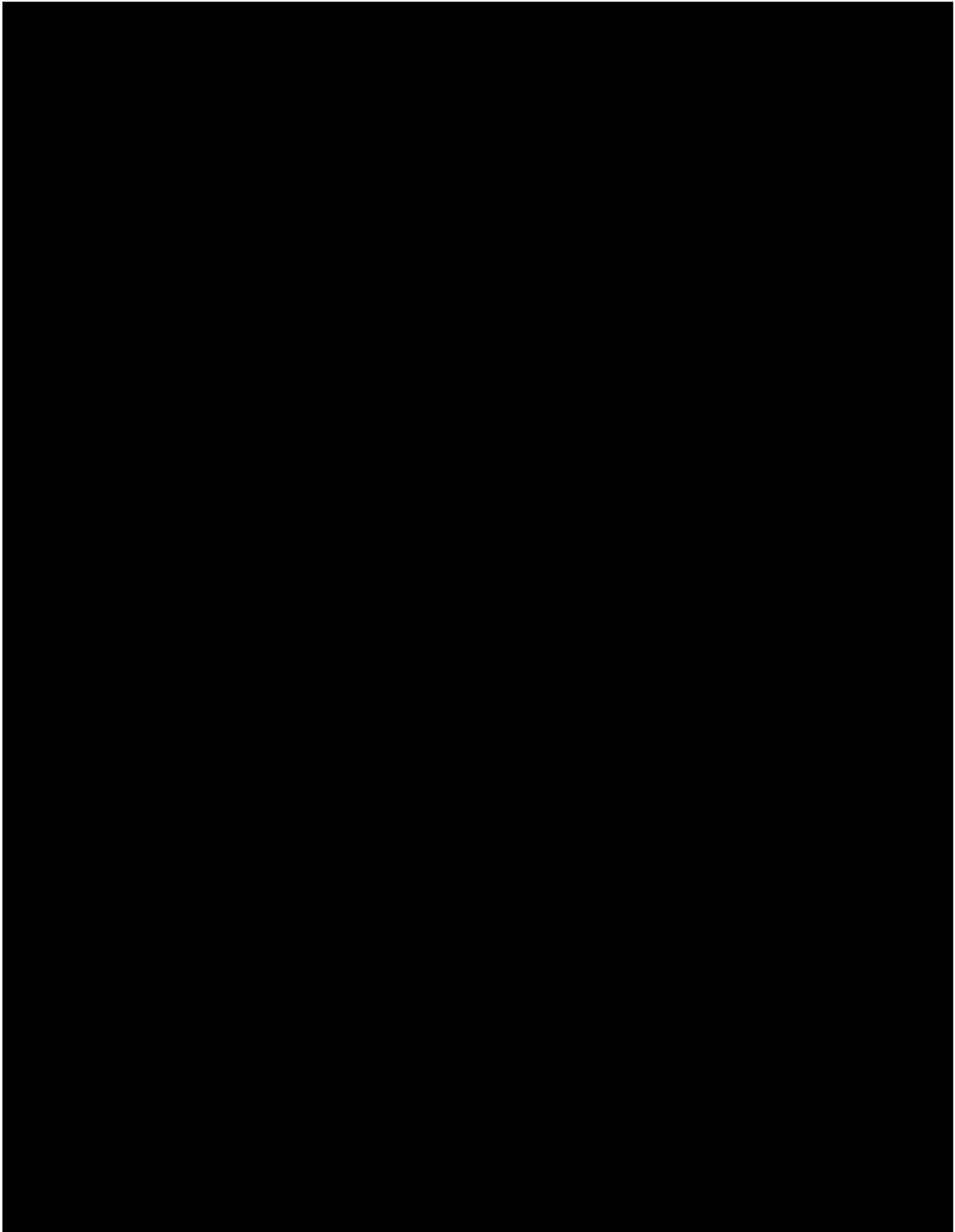


Figure 34. Développement de la protéinopathie TDP-43 au cours du temps dans les cas de DFTs et de SLA. D'après (Burrell et al. 2016).

Le caractère "prion-like" de la protéine TDP-43 a été mis en évidence *in-vitro* (Smethurst et al. 2016). La propagation de TDP-43 découle en la formation d'agrégats insolubles comportant des protéines TDP-43 phosphorylées qui récapitulent la diversité morphologique des inclusions TDP-43 détectées dans le SNC de patients DFT/SLA. Cette réaction peut être propagée en série pour produire une grande proportion de TDP-43 phosphorylée, et ces agrégats peuvent se répandre de cellule en cellule, de façon similaire à ce qui est observé dans les maladies à prions (Figure 35) (Maniecka and Polymenidou 2015).

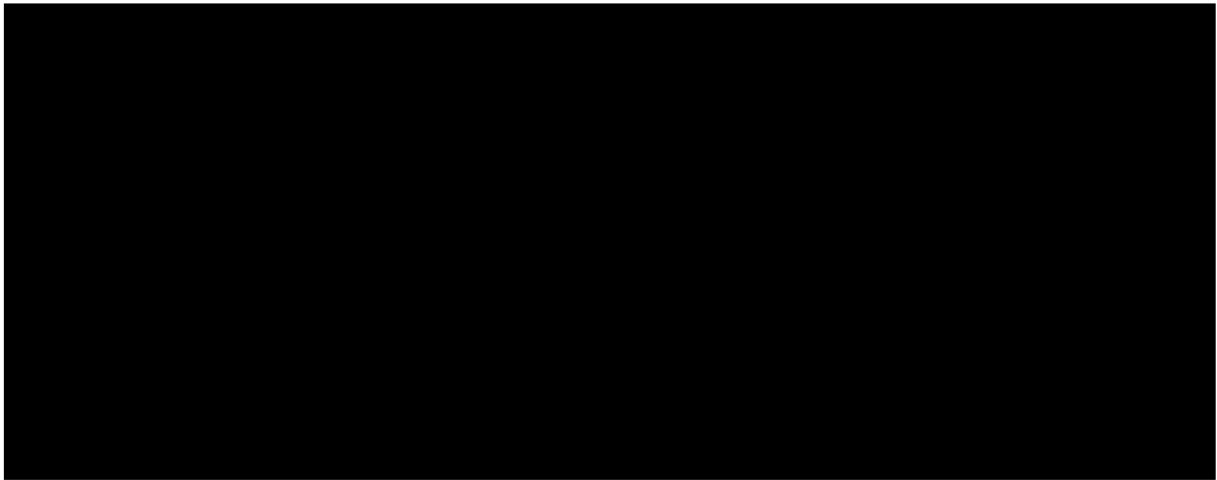


Figure 35. Mécanisme moléculaire de transmission "prion-like". A. Amplification de la transmission prion-like par contact et transformation d'une protéine native en protéine pathologique. B. Les protéines prion-like pourraient commencer à s'agréger et à se répandre au sein de granules de stress. D'après (Maniecka and Polymenidou 2015).

En culture, les protéines TDP-43 recombinantes peuvent s'agréger spontanément (Furukawa et al. 2011), et les agrégats TDP-43 extraits des cerveaux de patients SLA et DLFT-TDP43 peuvent aussi se propager de cellule en cellule SH-SY5Y (Nonaka et al. 2013). En plus de leurs capacités de propagation, les espèces protéiques TDP-43 extraites directement du SNC humain et ajoutées sur des cellules en culture, induisent une toxicité cellulaire et un dysfonctionnement du protéasome (Nonaka et al. 2013). Ils résistent à la chaleur, à la dénaturation et aux protéases (Nonaka et al. 2013). De plus, Feiler et al. (2015) ont confirmé que les espèces oligomériques de TDP-43 pouvaient se transmettre de cellules en cellules par l'espace trans-synaptique (Feiler et al. 2015).

TDP-43 a été détectée dans les vésicules exosomales secrétés des cellules Neuro2a et dans les cultures primaires neuronales, mais pas dans les populations astrocytaires ni microgliales (Iguchi et al. 2016).

Les vésicules exosomales (ou exosomes) sont des vésicules extracellulaires sécrétées d'une taille de 30 à 100nm. Les vésicules extracellulaires regroupent les exosomes et les microvésicules qui ont une taille plus grande (>1000nm) (Hill 2019; Raposo and Stoorvogel 2013; Brundin, Melki, and Kopito 2010) (Figure 36).

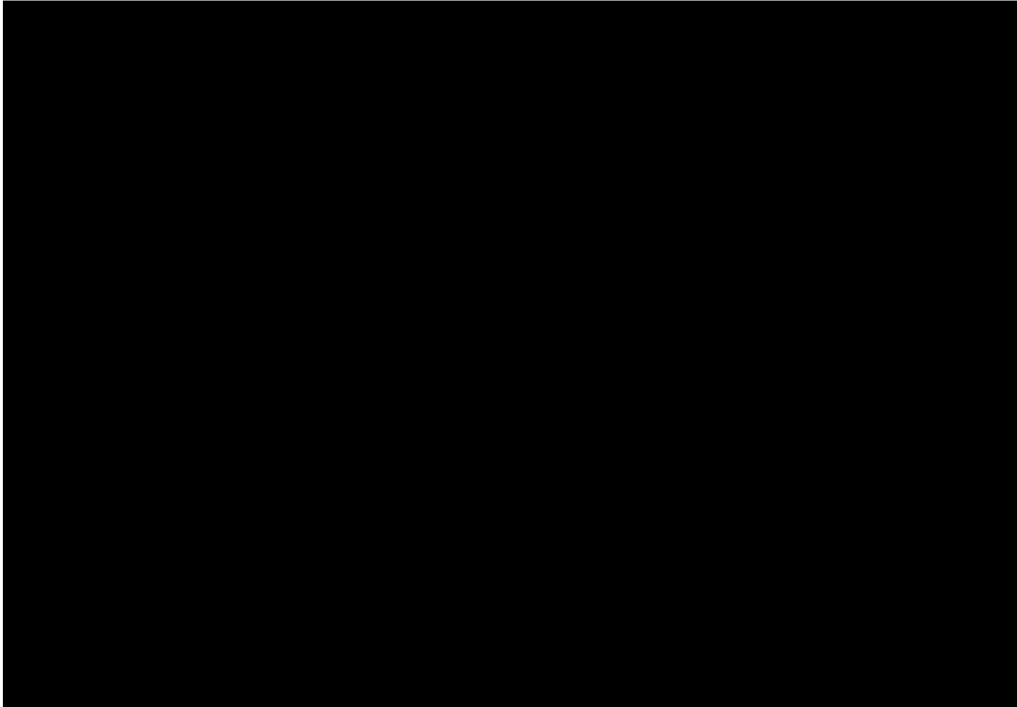


Figure 36. Transmission possible des protéines associées aux DFT/SLA par la voie de sécrétion de vésicules extracellulaires. 1) Les endosomes multivésiculaires (MVE) et exosomes se fixent sur la membrane de la cellule cible. 2) Les vésicules fusionnent avec la membrane plasmique.3) ou sont endocytées. 4) les vésicules endocytées peuvent fusionner avec un compartiment interne. D'après (Raposo and Stoorvogel 2013).

Il a été démontré que l'agrégation protéique et l'inhibition de l'autophagie sont des facteurs promouvant la sécrétion exosomale de TDP-43 (Iguchi et al. 2016). Si des cellules Neuro2a sont exposées à des exosomes de cerveaux de patients SLA, une redistribution cytoplasmique de TDP-43 est constatée, mais elle n'a pas lieu quand il s'agit de vésicules extraites de cerveaux contrôles (Iguchi et al. 2016). Ainsi, cela laisse à penser que les vésicules extracellulaires peuvent jouer un rôle dans la propagation de la protéinopathie TDP-43. Cette sécrétion vésiculaire servirait de mécanisme de clairance des protéines pathologiques. En effet, l'inhibition de la sécrétion par GW4869, un inactivateur de la sphingomyélinidase 2 qui bloque ainsi la biogénèse et la libération des exosomes matures à partir des corps multivésiculaires (MVB) (Essandoh et al. 2015), provoque la formation d'agrégats de TDP-43 dans les cellules Neuro2a. De plus, l'administration de cette même drogue dans un modèle

murin transgénique exprimant la protéine TDP-43 humaine mutante TDP-43^{A315T} intensifie le phénotype (Iguchi et al. 2016).

Une autre étude, grâce au développement d'une technique de complémentation permettant la quantification des espèces TDP-43 oligomériques consistant en la fusion de TDP-43 et d'une partie de la luciférase *Gaussia princeps* en position N-terminale ou C-terminale (l'activité de la luciférase est alors reconstituée quand TDP-43 s'oligomérisse ou s'agrège) a permis de mettre en évidence la présence d'oligomères TDP-43 dans les vésicules extracellulaires sécrétées par des cellules HEK-293 co-transfectées par les constructions précédentes. Il a aussi été montré que les espèces oligomériques TDP-43 au sein des vésicules étaient préférablement acceptées par les cellules et étaient également plus toxiques par rapport aux espèces libres solubles (Feiler et al. 2015).

Plusieurs études suggèrent que les exosomes contribuent à la propagation des protéines pathologiques dans des maladies neurodégénératives (Fevrier et al. 2004; Rajendran et al. 2006; Asai et al. 2015). La façon dont les exosomes participent à la propagation de TDP-43 n'est cependant pas encore bien comprise. TDP-43 a été détectée dans les fractions exosomales de cellules en culture (Nonaka et al. 2013; Feiler et al. 2015) et dans le LCR humain (Feneberg et al. 2018; Ding et al. 2015). Un modèle de culture cellulaire avec LCR a été développé dans le but de disséquer les mécanismes d'agrégation et de propagation de TDP-43 (Ding et al. 2015). Les vésicules exosomales présentes dans le LCR de patients DFT-SLA sont enrichies en fragments C-terminal de TDP-43. La relocalisation ainsi que l'agrégation intracellulaire de TDP-43 est induite dans les cellules humaines de gliome U251 après exposition au LCR de patients DFT-SLA mais pas au LCR de patients SLA ni de contrôle. L'incubation de ce LCR avec les cellules induit par ailleurs le développement à la fois d'exosomes mais aussi de structures membranaires s'apparentant à des nanotubes nécessaires à la propagation des agrégats TDP-43 entre les cellules. Cela met en évidence que parallèlement à une transmission des protéines pathologiques par sécrétion vésiculaire, une transmission directe de TDP-43 entre les cellules, par nanotubes est aussi possible (Ding et al. 2015).

c) SOD1

Les mutations de *SOD1* dans la SLA ont été mises en évidence en 1993 (Rosen et al. 1993b). Celles-ci sont localisées dans les régions exoniques, suggérant que l'effet toxique est dû à une dysfonction de l'enzyme entraînant alors l'apparition d'un stress oxydatif exacerbé et l'accumulation de radicaux superoxydes toxiques (Rosen et al. 1993a; Pansarasa et al. 2018).

Cependant le mécanisme pathologique semble beaucoup plus complexe que cela. En effet, des modèles murins transgéniques exprimant le gène *Sod1* porteur de mutations associées aux formes familiales de SLA : G93A, G37R ou G85R ont permis de démontrer qu'une perte progressive des neurones moteurs n'était pas forcément associée à une activité enzymatique de SOD1 réduite, puisque celle-ci était plutôt inchangée voire augmentée (Wong et al. 1995; L. I. Bruijn et al. 1997). De plus, le fait d'abolir ou de surexprimer SOD1 wild-type chez ces souris, n'affecte en rien la progression du phénotype pathologique (Lucie I. Bruijn et al. 1998).

Ainsi la protéine SOD1 mutante aurait des fonctions toxiques envers les neurones moteurs indépendamment d'une diminution de l'activité enzymatique. Cette neurotoxicité pourrait alors être dépendante d'une augmentation du stress oxydatif, d'une accumulation d'agrégats intracellulaires, de dysfonctions mitochondriales, d'un transport axonal altéré et d'une excitotoxicité au glutamate (Rothstein 2009). Les différents mécanismes par lesquels SOD1 pourrait induire ces dysfonctions sont décrits ci-après.

Physiologiquement, SOD1 converti les anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène. Les mutations de *SOD1* vont induire des changements conformationnels de la protéine. Le site actif de l'enzyme sera alors exposé à des substrats non conventionnels (Beckman et al. 1993; Cleveland and Rothstein 2001). L'enzyme SOD1 mutée convertirait alors le peroxyde d'hydrogène en radicaux hydroxyle ou en peroxynitrite (Wiedau-Pazos et al. 1996). Ces radicaux entraîneraient des dommages oxydatifs à l'origine d'une mort neuronale par apoptose (Wiedau-Pazos et al. 1996). La production de ces espèces anormales a été remarquée chez la souris *SOD1^{G93A}* parallèlement au développement du phénotype SLA (Kabashi et al. 2008).

Le gain de fonction toxique de SOD1 pourrait être directement lié à son agrégation au sein des neurones moteurs (Cleveland and Rothstein 2001; Boillée, Vande Velde, and Cleveland 2006). Des modèles murins transgéniques porteurs de mutations *SOD1^{G93A}*, *SOD1^{L126Z}*, présentant des phénotypes SLA tardifs ont chacun été croisé avec des souris surexprimant le transgène *hwtSOD1* ne présentant pas de phénotype SLA (Deng et al. 2006). Les souris doubles transgéniques résultantes ont présenté un phénotype moteur exacerbé ainsi qu'une espérance de vie limitée. D'autres modèles murins (*SOD1^{A4V}*) ne développant de phénotype SLA avant 2ans, ont été croisées avec ces mêmes souris *hwtSOD1*. De façon intéressante, les souris doubles transgéniques *SOD1^{A4V}/hwtSOD1* ont développé un phénotype SLA-like. Des agrégats de protéines SOD1 insolubles ont été observés dans la moelle épinière des souris *SOD1^{A4V}/hwtSOD1* alors que qu'ils ne sont pas présents dans la moelle des souris *SOD1^{A4V}*. La présence de ces agrégats corrélée au développement d'un phénotype SLA-like dans ce modèle murin, semble montrer que l'agrégation protéique joue un rôle important dans la pathogénèse (Deng et al. 2006). Appuyant cette idée, des injections focales d'homogénats de moelle épinière de souris *SOD1^{G93A}* paralysée ont été réalisées chez une souris nouveau-née *SOD1^{G85-R-YFP}*. Des inclusions SOD1 insolubles et détergent-résistantes ont été observées dans la moelle épinière des souris injectées. De plus, elles développent un phénotype SLA-like à 6 mois, alors que les contrôles *SOD1^{G85-R-YFP}* non injectées développent ce phénotype à 20 mois (Silverman et al. 2019; Ayers et al. 2016). Cela montre que les agrégats protéiques SOD1 contribuent au phénotype et induisent donc un effet toxique. Cette étude met une nouvelle fois les propriétés prion-like de SOD1 en évidence (L. I. Bruijn et al. 1997; Lucie I. Bruijn et al. 1998; Rothstein 2009).

La toxicité des agrégats peut aussi résulter d'une perte de fonction d'autres protéines anormalement présentes dans les inclusions SOD1. En effet, ces agrégats insolubles intracellulaires peuvent séquestrer des composants cellulaires essentiels, (Lucie I. Bruijn et al. 1998) entraînant une activité chaperonne réduite et une voie ubiquitine-protéasome altérée. Rendant compte de la liaison étroite de cette voie et de l'agrégation de SOD1, l'ubiquitination de cette protéine au sein des inclusions est une marque histopathologique de la SLA (Niwa et al. 2002).

Un dysfonctionnement mitochondrial pourrait aussi être à l'origine de la toxicité. En effet, une morphologie et une distribution atypique pathologique de ces organelles a

été observée dans les axones distaux des modèles murins *SOD1* mutants (Wong et al. 1995). Cette accumulation mitochondriale probablement dépendante d'un problème de transport peut contribuer à une dégénérescence distale de l'axone (Rothstein 2009). Il a d'ailleurs été mis en évidence que le transport axonal mitochondrial était perturbé et ralenti dans un modèle murin *SOD1^{G93A}* (Moller et al. 2017; B. Zhang et al. 1997). La présence de ces mitochondries anormales est peut-être le reflet d'une perturbation du métabolisme énergétique, d'un dysfonctionnement de la machinerie protéique d'import mitochondriale, ou d'un trouble de la signalisation calcique (Boillée, Vande Velde, and Cleveland 2006) (Figure 37).

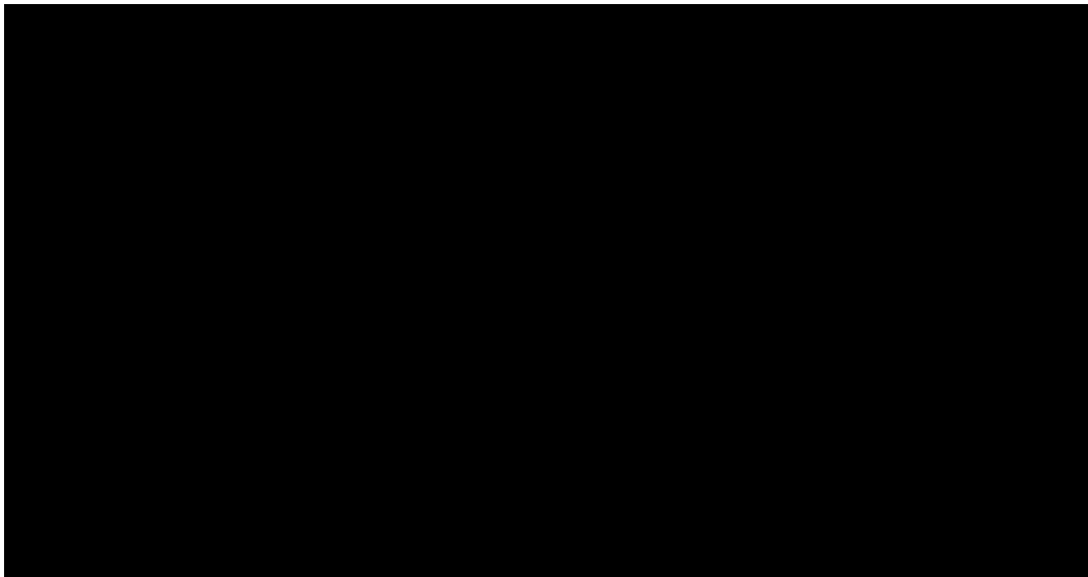


Figure 37. Perturbation des fonctions mitochondriales par la protéine SOD1 mutante. La protéine pourrait interagir avec la chaîne de transport aux électrons perturbant la phosphorylation oxydative de l'ATP. SOD1 pourrait aussi perturber l'homéostasie calcique de la mitochondrie. Les agrégats protéiques peuvent interagir avec Bcl-2, activant la machinerie apoptotique de la mitochondrie. Ces mécanismes induisent des perturbations de l'homéostasie cellulaire et engendrer une neurotoxicité. D'après (Boillée, Vande Velde, and Cleveland 2006).

La protéine SOD1 pourrait également moduler la connectivité neuronale. Les mécanismes sous-jacents sont encore inconnus mais il est possible qu'une connectivité défaillante contribue à la mise en place d'un phénotype moteur. Les neurones corticaux et spinaux murins exprimant la mutation *SOD1^{G93A}* présentent des dendrites réduits et moins complexes ainsi qu'une plus faible densité d'épines dendritiques (Fogarty 2018; Fogarty et al. 2017; Sgobio et al. 2008; Spalloni et al. 2011). Des neurones moteurs spinaux postnataux de souris porteurs de la mutation *SOD^{G85R}* s'allongent et forment des connexions plus rapidement que les neurones moteurs contrôles (Filipchuk and Durand 2012). Dépendamment des mutations, les mécanismes d'élaboration des synapses sont un peu différents. Dans la SLA, une

cause majeure de l'apparition des symptômes est constituée par la dénervation des muscles, celle-ci résulte en une perte du contrôle musculaire, une paralysie et une atrophie. L'analyse de morphologie des jonctions neuromusculaires peut être effectuée selon différents critères : nombre et taille des boutons cholinergiques, et degrés de fractionnement. Différentes études s'intéressant à l'altération des jonctions neuromusculaires (JMN) chez la souris $SOD1^{G93A}$ ont conduit à l'obtention de résultats conflictuels entre augmentation ou réduction du nombre de boutons cholinergiques (Casas et al. 2013; Milan et al. 2015; Lasiene et al. 2016).

L'hypothèse d'un mécanisme dégénératif non neurone-autonome a également été posée. En effet, elle pourrait être dépendante des astrocytes environnants. Dans les années 1990, il a été montré que les niveaux de transporteurs au glutamate astrocytaires EAAT2 étaient fortement diminués dans les modèles murins $SOD1$ mutants de SLA (L. I. Bruijn et al. 1997; Rothstein et al. 1995; Howland et al. 2002). De même, l'analyse post-mortem des cortex moteurs et moelle épinière de patients SLA a montré une perte complète de la protéine EAAT2 chez 25% des patients et un niveau d'expression anormal dans plus de 80% des cas (Rothstein et al. 1995). De plus, des taux importants de glutamate ont été mesurés dans le liquide céphalorachidien des patients SLA (Spreux-Varoquaux et al. 2002). Cela laisse envisager que suite à la diminution d'activité du transporteur au glutamate EAAT2 sur la membrane astrocytaire, le glutamate présent dans l'espace synaptique ne pourra pas être recapturé. Le neurotransmetteur sera alors présent en concentration trop importante et activera les récepteurs glutamatergiques de la membrane post-synaptique neuronale. Consécutivement, les flux de calcium au sein du neurone seront plus importants et entraîneront la mort neuronale. Il s'agit d'une mort des motoneurones par excitotoxicité au glutamate. Expérimentalement, la déplétion de ce transporteur chez la souris cause la mort neuronale (Rothstein et al. 1996). Conformément à cette idée, le niveau de la protéine EAAT2 dans la moelle épinière des souris $SOD1^{G85R}$ est réduit de moitié par rapport aux souris contrôles (Lucie I. Bruijn et al. 1998).

La protéine $SOD1$ mutante pourrait donc bloquer le transporteur au glutamate. Une diminution d'expression de la protéine $SOD1$ mutée dans les astrocytes permet de ralentir la mise en place du phénotype SLA-like (Guo et al. 2017; Trotti et al. 1999).

Les astrocytes pourraient également contribuer à la neurotoxicité via la sécrétion de facteurs toxiques tels que les cytokines pro-inflammatoires (Julien 2007).

L'hypothèse d'un lien entre SOD1 et neuroinflammation a également été formulée. Chez les patients, des cellules microgliales activées sont présentes dans les régions où une perte neuronale a été constatée (Kawamata et al. 1992; Henkel et al. 2004). Les cellules microgliales mutantes $SOD1^{G93A}$ présentent un phénotype pro-inflammatoire anormal (Sargsyan et al. 2009).

Pour tester le rôle de SOD1 mutant au sein des cellules microgliales, des modèles murins exprimant la recombinaise Cre sous contrôle du promoteur CD11b ont été générées et ont été croisées avec des souris $LoxSOD1^{G37R}$ (Boillée et al. 2006). Ces animaux présentent une diminution significative de la protéine SOD1 mutée dans les macrophages et microglies. Le modèle murin $SOD1^{G37R}$ montre les signes d'une activation microgliale à l'apparition du phénotype moteur (21, 28, 29). Le nombre de cellules microgliales augmente au fil de la progression de la maladie. Diminuer l'expression de la protéine mutante au sein des cellules microgliales a permis d'augmenter significativement l'espérance de vie des souris (99 jours de plus que les souris $LoxSOD1^{G37R}$). En effet, la progression de la phase tardive de la maladie a été ralentie de 75 jours. Ce ralentissement est peut être aussi dû aux macrophages périphériques, qui ne migreront pas dans le SNC après les premières altérations du neurone moteur. Même si l'initiation de la pathologie requière des dommages neuronaux, et probablement d'autres types cellulaires cette étude montre que les cellules microgliales et macrophages périphériques jouent un rôle dans la phase tardive de la pathologie (Boillée et al. 2006).

Corroborant l'hypothèse d'un rôle des cellules immunitaires dans la pathogénèse, une autre étude a montré que les motoneurones mutés $SOD1^{G37R}$ ou $SOD1^{G85R}$ exprimaient les protéines du complément C1qa, C1qb, C1qc (Lobsiger and Cleveland 2007). Des analyses de moelle épinière de $SOD1^{G93A}$ ont également mis en évidence une suractivation des protéines du complément aux phases symptomatiques précoces de la maladie (Olsen et al. 2001). La protéine C1q permet d'initier la voie du complément dont la fonction est de permettre l'élimination des débris, des pathogènes et des cellules en dégénérescence (Kishore and Reid 2000). Ainsi, les motoneurones en souffrance pourraient émettre des signaux pour recruter les cellules immunitaires.

Une survie améliorée des motoneurones d'un modèle murin SOD1 lorsque les souris n'exprimaient plus de lymphocytes T CD8+ a été mise en évidence (Coque et al. 2019). Ces derniers sont capables d'infiltrer le SNC dans des phases plus avancées de la maladie et cibler les neurones moteurs. Les cellules immunitaires macrophagiques et lymphocytaires pourraient donc contribuer à la pathologie (Coque et al. 2019; Hayashi, Homma, and Ichijo 2016).

Pour compléter ces aspects appuyant un mécanisme toxique cellulaire non-autonome, l'apparition d'un phénotype moteur chez la souris n'est induit que si la mutation de *SOD1* est exprimée dans plusieurs types cellulaires (Pramatarova et al. 2001). Le mécanisme pathologique n'est donc pas réduit aux neurones, ni aux astrocytes, ni aux cellules microgliales mais il s'agit plutôt de la combinaison de plusieurs effets (Gong et al. 2000; Pramatarova et al. 2001) (Figure 38).

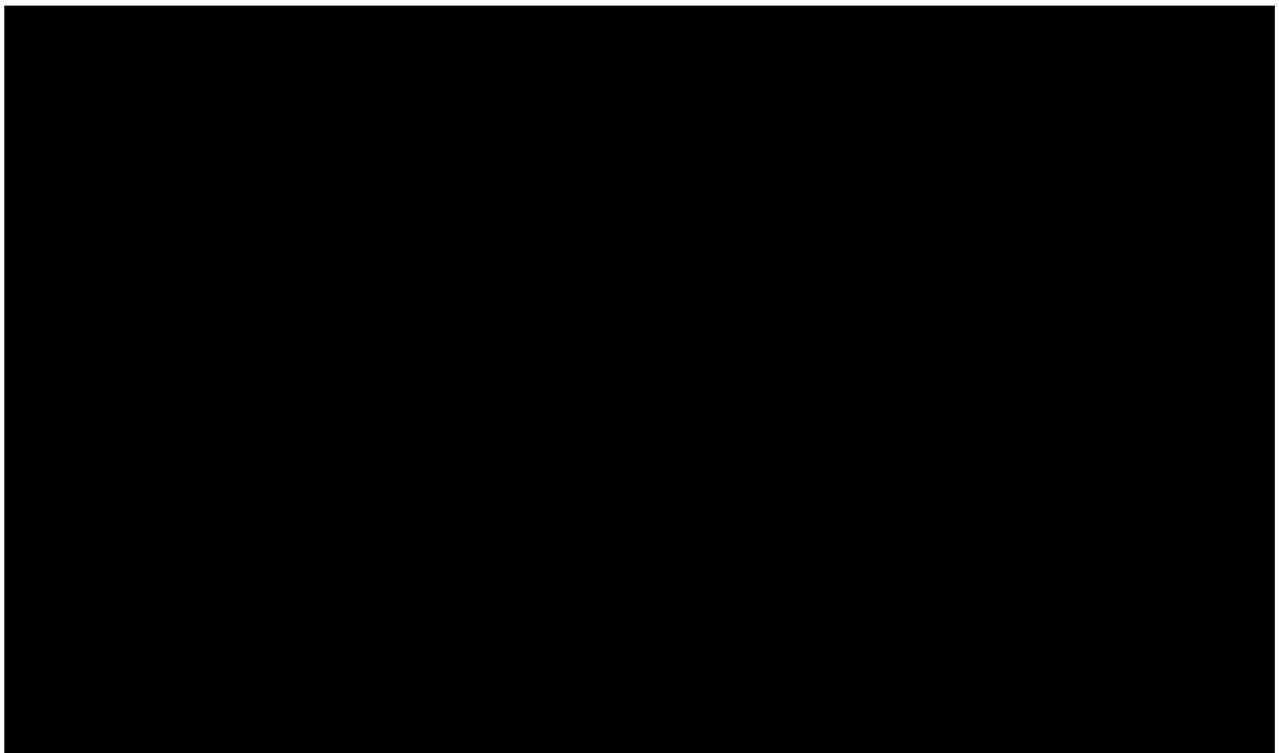


Figure 38. Evolution schématique de l'activation gliale associée à la dégénérescence des neurones moteurs. Quatre phases sont décrites : « normal ou physiologique », « early phase ou phase précoce », « symptomatique », « End stage ou stade final ». Cette figure illustre la toxicité cellulaire autonome et non-autonome induite par SOD1. D'après (Boillée, Vande Velde, and Cleveland 2006).

d) MAPT

Les mutations de *MAPT* dans la DFT sont associées à des phosphorylations anormales de la protéine ou à des hyperphosphorylations. Les fonctions physiologiques de Tau sont tellement larges que les mutations ou toutes modifications conformationnelles de la protéine, induites par modifications post-traductionnelles vont induire une dérégulation importante de ses fonctions. De même, les mutations situées dans les domaines de liaisons de Tau à la tubuline vont induire des modifications du ratio 3R / 4 R et perturber la liaison de la protéine Tau à la tubuline. Quand Tau est phosphorylée physiologiquement, elle contribue au recyclage des microtubules et à d'autres fonctions cellulaires, alors que l'hyperphosphorylation de la protéine va induire sa séquestration, menant à des changements conformationnels et a posteriori à son agrégation. On la trouve alors accumulée dans les dépôts appelés NFT (Neurofibrillary tangle) constitués de Tau agrégée anormalement et hyperphosphorylée (Grundke-Iqbal et al. 1986; Bancher et al. 1989).

Les mécanismes possibles de l'agrégation de Tau et de la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires (NFTs) ne sont pas complètement compris. Mais il s'agit à priori d'un processus progressif, débutant par l'oligomérisation de la protéine, son hyperphosphorylation, un changement de conformation en feuillet bêta, puis par le passage sous forme de filaments hélicoïdaux "types paired helical filaments "(PHFs) et finalement l'assemblage des protéines sous forme de NFTs (Ballatore, Lee, and Trojanowski 2007) (Figure 39).



Figure 39. Transitions possibles permettant la formation d'agrégats Tau. D'après (Ballatore, Lee, and Trojanowski 2007).

Le rôle des différentes formes d'agrégats Tau dans la pathologie a été revu récemment indiquant que les formes oligomériques hyperphosphorylées de cette protéine sont impliquées dans la perte synaptique alors que les oligomères Tau granulaires semblent responsables de la perte neuronale (Bodea et al. 2016; Takashima 2013). Tau est une molécule de signal, et interagit avec de nombreux partenaires protéiques (Arendt, Stieler, and Holzer 2016). Bien que la protéine Tau soit majoritairement axonale, elle peut être localisée aux dendrites et à de plus rares occasions dans les épines dendritiques (Ittner et al. 2010a). Elle est impliquée dans la plasticité synaptique (Fransdemiche et al. 2014; Ittner et al. 2010b; Kimura et al. 2014; Tai et al. 2014) mais également dans la régulation de l'activité transcriptionnelle et dans le maintien de l'intégrité ARN/ADN sous conditions physiologiques et en conditions de stress car elle peut aussi être localisée dans le noyau (Mansuroglu et al. 2016; Violet et al. 2014; 2015). Ainsi sa dérégulation pourra avoir des effets à différents niveaux, par exemple dans le transport axonal et dans la redistribution des mitochondries, dans l'activité synaptique, dans l'inflammation, et comme pour d'autres protéines agrégées, se pose la question de sa diffusion de cellule à cellule (Figure 40).

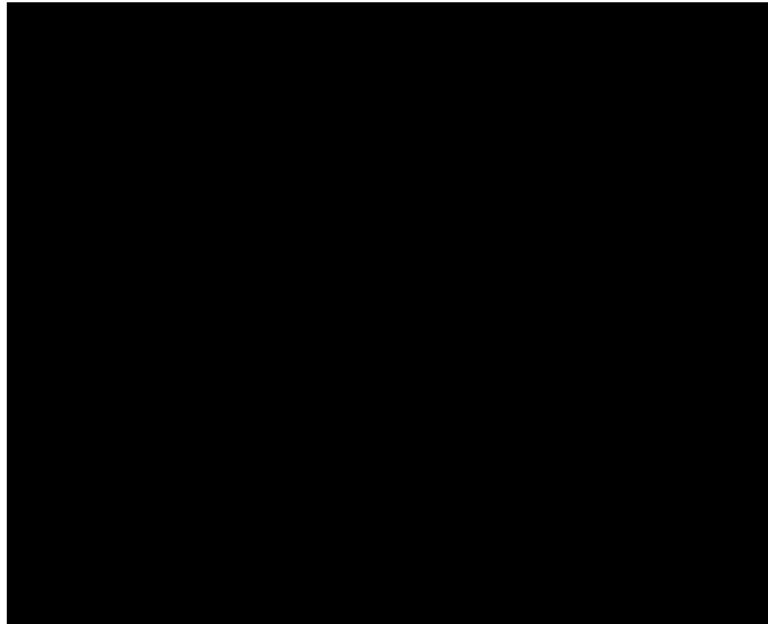


Figure 40. Représentation des mécanismes cellulaires défectueux dans la DFT associée à une accumulation protéique de Tau. D'après (Bodea et al. 2016).

Une étude *in vitro* a montré que la surexpression de différentes formes de Tau pouvait inhiber le transport des vésicules par les kinésines le long des microtubules, ce qui aboutit à une prédominance du transport rétrograde via la dynéine (Figure 41) (Ebner et al. 1998). Des modèles murins reproduisant la mutation K369I de *MAPT* ont montré un transport axonal dérégulé (Ittner, Ke, and Götz 2009). Grâce à ce modèle, il a été montré que Tau hyperphosphorylée interagissait avec la protéine JIP1 (c-Jun N-terminal kinase-interacting protein 1) qui n'est alors plus capable de s'associer avec la kinésine puisque trappée avec la protéine Tau dans le soma. De ce fait le transport axonal s'en trouve altéré (Ittner, Ke, and Götz 2009). Ainsi, l'exocytose est perturbée, la distribution des mitochondries est également ralentie, elles forment des spots ou cluster proche du microtubule-organizing center (Ebner et al. 1998) (Figure 41).

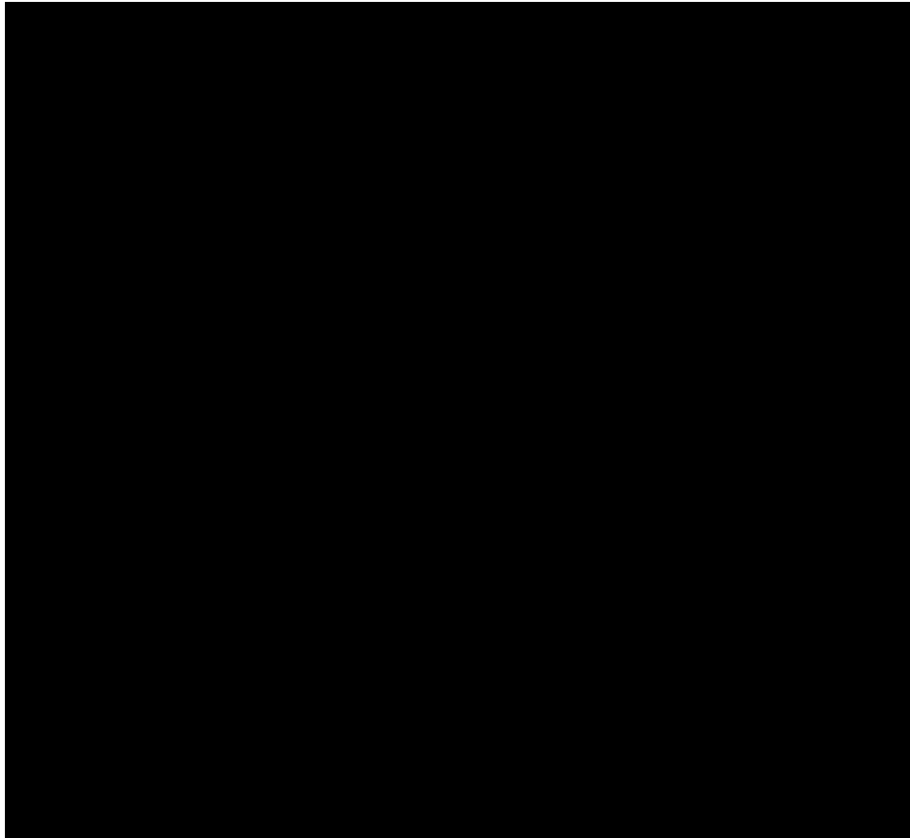


Figure 41. Représentation des transports antérogrades et rétrogrades axonaux par l'intermédiaire de la kinésine et la dynactine. D'après (Sleigh et al. 2019).

Chez la drosophile mutante Tau^{T406W}, la stabilisation de l'actine inhibe l'association de la protéine de fission dynamin-related 1 avec la mitochondrie, entraînant un blocage de la dynamique mitochondriale et une augmentation de la production de ROS (DuBoff, Götz, and Feany 2012). Par analyse protéomique, la phosphorylation oxydative anormale liée à une dysfonction mitochondriale a pu être mise en évidence dans un modèle de souris pR5 surexprimant la protéine Tau humaine mutée en P301L (David et al. 2005; Rhein et al. 2009). Une étude de Amadoro et al, montre que le fragment N-terminal de Tau induit une mort neuronale qui corrèle avec une dynamique mitochondriale dystrophique, une fragmentation et une localisation anormale périnucléaire des mitochondries qui apparaissent plus denses et de taille réduite (Amadoro et al. 2014). Cela met en évidence le dysfonctionnement mitochondrial induit par Tau.

Il a été montré qu'une des cibles de Tau était la kinase Fyn. Cette kinase phosphoryle les sous-unités du récepteur NMDA présent à la membrane post-synaptique. Après phosphorylation du récepteur au NMDA, la protéine adaptatrice PSD-95 est recrutée. L'interaction de PSD-95 et du récepteur au NMDA médie l'excitotoxicité au glutamate

(Ittner et al. 2010b). Il a été montré que la protéine Tau phosphorylée se liait plus fortement à la protéine Fyn que la protéine Tau non phosphorylée, augmentant alors l'activité de Fyn et les perturbations synaptiques (Bhaskar, Yen, and Lee 2005).

Dans un modèle de tranche d'hippocampe murine, l'induction d'une dépression à long terme (LTD) est corrélée à l'activation du récepteur NMDA, mais aussi à la phosphorylation réversible de Tau à plusieurs épitopes différents (Mondragón et al. 2012).

Des modèles murins *Tau*^{V337M} transgéniques présentent une déplétion de PSD-95, qui résulte en une densité plus faible post-synaptique des récepteurs NMDA, et à une diminution de l'excitabilité des neurones striataux (Warmus et al. 2014). A l'inverse, Tau pourrait causer une hyperexcitabilité neuronale (Hunsberger, Rudy, et al. 2015a). En effet, des modèles murins inductibles Tg4510 exprimant la mutation P301L ont montré que les transporteurs au glutamate vésiculaires (vGLUT) hippocampiques permettant de grouper le glutamate dans des vésicules sont augmentés de 40% par rapport aux souris wild-type. En parallèle, une diminution de 40% du transporteur 1 hippocampique (GLT-1) au glutamate responsable de récupérer le glutamate de l'espace extracellulaire (Hunsberger, Rudy, et al. 2015a). Ainsi, après stimulation, la libération de glutamate dans l'hippocampe est beaucoup plus importante alors que le recyclage est lui diminué (Figure 42). Ce qui est à l'origine de troubles de la mémoire (Hunsberger, Weitzner, et al. 2015).



Figure 42. Modulation d'expression des récepteurs GLT-1 et VGLUT et influence sur les concentrations de glutamate dans l'espace synaptique, dans un modèle murin Tau P301L. D'après (Hunsberger, Rudy, et al. 2015b).

La protéine Tau a été trouvée dans l'espace trans-synaptique. Cela a été une indication de la transmission possible de cette protéine. La propagation semble

préférentiellement s'effectuer quand les cellules sont connectées entre elles par des tubules et non quand ces dernières sont très proches (Ahmed et al. 2014). La propagation s'opère principalement par des connexions afférentes et est médiée par des mécanismes trans-synaptiques (Dujardin et al. 2014). Bien que la propagation ait lieu principalement par des connexions afférentes ; des petites espèces de Tau peuvent être transportées de façon rétrograde et antérograde entre les neurones (J. W. Wu et al. 2013). Dans la DLFT-Tau, il a été montré que celle-ci pouvait être tronquée à la position D421 (Q. Zhang, Zhang, and Sun 2009). Cette forme particulière est aussi commune à la maladie d'Alzheimer. Dans ces cas, la partie C-terminale tronquée a été proposée comme l'isoforme la plus retrouvée au sein des exosomes (Mena et al. 1996; Gamblin et al. 2003; Basurto-Islas et al. 2008; Mondragón-Rodríguez et al. 2008; Kanmert et al. 2015). Comme évoqué précédemment, Tau peut être transmise entre les cellules en passant par l'espace trans-synaptique. Il a été proposé que cette transmission se fasse via les exosomes (Yipeng Wang et al. 2017). Ainsi, la propagation de Tau s'effectuerait par plusieurs mécanismes en parallèle. Une conformation anormale de Tau neuronale est suffisante pour induire des changements morphologiques des astrocytes et impacter les fonctions physiologiques (Sidoryk-Wegrzynowicz et al. 2017). Ces cellules astrocytaires entrent dans un profil pro-inflammatoire, surexprimant la GFAP (Glial fibrillary acidic protein) ainsi que des facteurs pro-inflammatoires qui contribuent à la pathogénèse (Rodríguez-Arellano et al. 2016). Des souris transgéniques surexprimant la protéine Tau humaine sous promoteur GFAP développent une accumulation de Tau dans les astrocytes selon l'âge, associée à une mort focale des neurones (Forman et al. 2005) et une rupture de la barrière hémato-encéphalique.

La microglie pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse. En effet, une surexpression des récepteurs à l'adénosine A2A (A2AR) a été mise en évidence chez des patients DFTs porteurs de mutations *MAPT* P301L (José Luís Albasanz et al. 2006; José L. Albasanz et al. 2008). Dans un modèle murin de tauopathie THY-Tau22, la surexpression de ce récepteur induit l'hyperphosphorylation de Tau et l'apparition de troubles mnésiques (Carvalho et al 2019). Par études de séquençage ARN une signature microgliale chez ces souris a été mise en évidence, notamment une surexpression des protéines du complément C1q concomitante à une perte de

synapses glutamatergiques mettant en exergue l'activation microgliale induite dans les cas de tauopathie et leur rôle dans l'élagage des synapses (Carvalho et al 2019).

e) C9ORF72

Les hypothèses concernant C9ORF72 se sont longtemps concentrées autour de deux aspects : la perte de fonction de C9ORF72 et le gain de fonction toxique. Plusieurs questions se posent alors : 1/ En quoi la perte de fonction joue-t-elle un rôle dans la neurodégénérescence ? 2/ Est-ce plutôt le gain de fonction toxique qui va entraîner dysfonctionnement et mort neuronale ? 3/ Dans ce dernier cas, quelle est l'espèce toxique ? Les Foci d'ARN ? Les DPRs ? 4/ Si les DPRs sont toxiques, l'un ou plusieurs sont-ils plus toxiques que les autres ?

Pour explorer ces différents points, un grand nombre de modèles *in vitro* et *in vivo* ont été mis en place et ont permis de mettre en évidence des fonctions de la protéine C9ORF72 et certains dysfonctionnements conséquents à des mutations dirigées (Balendra and Isaacs 2018). Pour étudier l'hypothèse perte de fonction, plusieurs modèles murins ont été développés (Figure 43). Le modèle murin est intéressant puisque le gène *C9orf72* murin orthologue partage 98% d'homologie avec le gène humain (Suzuki et al. 2013).

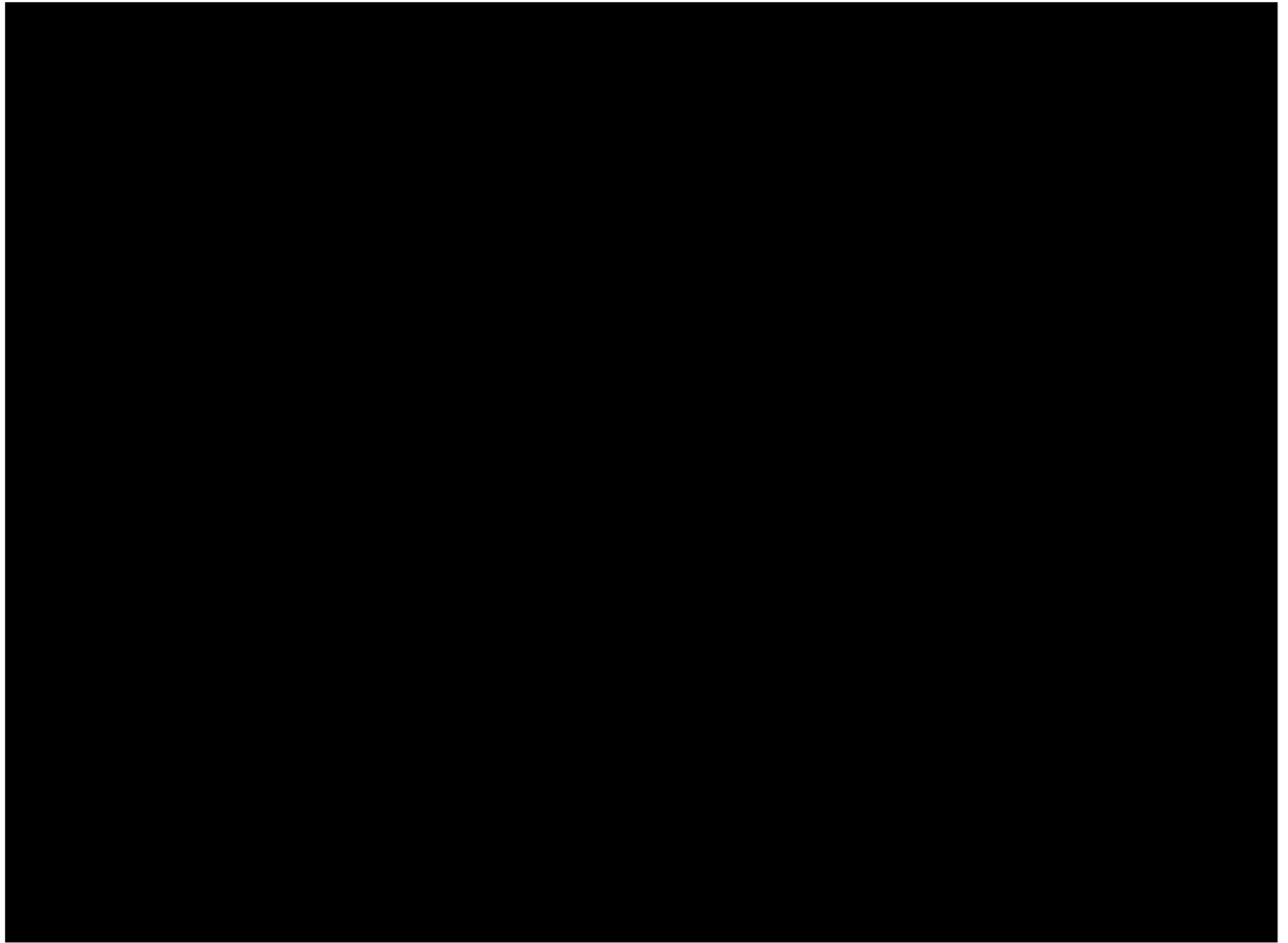


Figure 43. Tableau récapitulatif des modèles murins C9ORF72 perte de fonction. D'après (Balendra and Isaacs 2018).

Les modèles murins perte d'expression et de fonction transitoire, partielle ou totale (par ASO) et conditionnels de C9ORF72 dans les cellules neuronales et gliales ne développent pas de phénotypes comportementaux ou moteurs (Lagier-Tourenne et al. 2013; Koppers et al. 2015). Un modèle murin C9orf72-KD mimant l'haploinsuffisance de C9ORF72 a été développé par notre équipe (Lopez-Herdoiza et al, n.d.). Ce modèle ne présente ni espérance de vie réduite, ni trouble locomoteur mais développe un phénotype « DFT-like » se traduisant par une apathie et une diminution d'interaction sociale. Ce modèle ne présente ni neurodégénérescence, ni gliose mais une accumulation cytoplasmique des protéines p62 et TDP-43 ont été observées principalement dans le cortex frontal. L'haploinsuffisance semble alors induire l'apparition d'événements moléculaires pathologiques mais ne provoquerait pas une mort neuronale chez la souris.

De façon totalement inattendue, plusieurs modèles murins perte d'expression ubiquitaire homozygote de C9ORF72 n'ont pas montré de phénotypes type DFT ou SLA, mais ont présenté des dérégulations du système immunitaire inné se traduisant par des splénomégalies et lymphadénopathies (J. G. O'Rourke et al. 2016; Atanasio et al. 2016; Ugolino et al. 2016; Burberry et al. 2016; Sullivan et al. 2016b; Sudria-Lopez et al. 2016). Un engorgement de ces organes immunitaires par les cellules des lignées myéloïdes et lymphoïdes a été observé (J. G. O'Rourke et al. 2016). Une sécrétion plus importante de cytokines inflammatoires a été relevée (Atanasio et al. 2016; Burberry et al. 2016). Cela s'accompagne parfois de sécrétion d'anticorps auto-immuns (Atanasio et al. 2016; Burberry et al. 2016). Le séquençage de cohortes de patients porteurs de la répétition hexanucléotidique a permis de montrer que C9ORF72 était plus fortement exprimée dans les cellules immunitaires et en particulier dans les cellules microgliales au niveau du système nerveux central (Rizzu et al. 2016a). Les profils transcriptomiques des souris *C9orf72^{-/-}* ont confirmé ces observations (J. G. O'Rourke et al. 2016). Ainsi, même si la perte de fonction de C9ORF72 n'est pas la seule cause de la pathogénèse dans les DFT/SLA, ces modèles ont permis d'identifier le rôle immunitaire de C9ORF72. Celui-ci n'est pas encore compris mais quelques pistes sont en cours d'étude. Il s'agit de l'un des aspects que nous avons étudiés au cours de cette thèse.

Les macrophages et cellules microgliales des modèles murins *C9orf72^{-/-}* présentent une augmentation de protéines LC3 lysosomales et une accumulation de p62, suggérant que la protéine C9ORF72 pourrait avoir un rôle dans la régulation de l'autophagie dans ces cellules immunitaires (J. G. O'Rourke et al. 2016; Atanasio et al. 2016). Le rôle de la protéine C9ORF72 dans l'autophagie est probable puisqu'elle fait partie de la famille des protéines DENN (Differentially expressed in normal and neoplastic cells). Elle régule les Rab GTPases (Webster et al. 2018). Ces protéines Rabs exercent un rôle important puisqu'elles interviennent dans le trafic vésiculaire. Ainsi, plusieurs études ont souligné le rôle de C9ORF72 dans la régulation des voies autophago-lysosomales (Figure 44)(Farg et al. 2014; Webster et al. 2016; Sellier et al. 2016a).



Figure 44. Vue d'ensemble du mécanisme autophagique. D'après (Dikic and Elazar 2018).

L'inactivation de C9ORF72 dans des lignées de cellules humaines et dans des neurones primaires inhibe l'induction de l'autophagie mais pas les étapes tardives de la voie autophagique (Z. Zhang et al. 2013b; Morita et al. 2006) conduisant à l'accumulation de p62 et des agrégats TDP-43 cytoplasmiques (Morita et al. 2006). A l'inverse, la surexpression de C9ORF72 peut activer l'autophagie, conduisant à une augmentation du nombre d'autophagosomes dans les cellules (Z. Zhang et al. 2013b). L'autophagie semble être régulée par la forme longue de la protéine C9ORF72 et non par les formes courtes (Morita et al. 2006). Les mécanismes autophagiques pourraient être défectueux suite à des interactions modifiées entre C9ORF72 et différentes protéines :

- les protéines Rab (Sullivan et al. 2016a; Sellier et al. 2016b; M. Yang et al. 2016; Farg et al. 2014) qui participent par exemple à la fusion des membranes endosomales et lysosomales.
- les protéines GEF (guanine nucleotide exchange factor) SMCR8 et WDR41, protéines avec lesquelles elle pourrait former un complexe permettant de délivrer le cargo à l'autophagosome (Sellier et al. 2016b).
- la sérine/thréonine kinase ULK1, médiatrice clé de l'autophagie puisque phosphorylée, elle permet l'initiation de l'autophagosome (Dikic and Elazar 2018; Nassif, Woehlbier, and Manque 2017) (Figure 45).

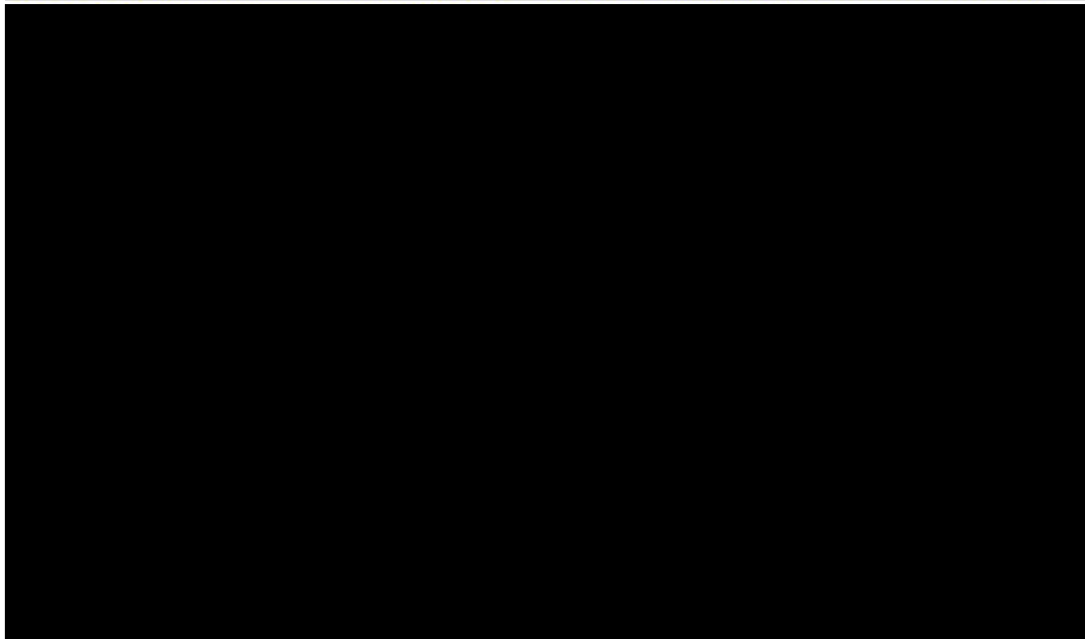


Figure 45. Rôle de C9ORF72 dans l'autophagie. A) C9ORF72 permet la formation du phagophore par son interaction avec Rab1a. B) Par son interaction avec p62, C9ORF72 permet de délivrer les protéines ubiquitinées à l'autophagosome. C) C9ORF72 contribue au trafic de membrane et à la fusion de l'endosome au lysosome. D. En modulant mTORC1, C9ORF72 contribuerait à la biogénèse lysosomale. D'après (Nassif, Woehlbier, and Manque 2017).

La présence d'inclusions de protéine p62, récepteur autophagique, parmi les stigmates neuropathologiques caractéristiques des DFT-*C9ORF72* soutient l'idée qu'une perturbation de l'autophagie pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse. Par ailleurs, une augmentation d'expression des marqueurs autophagosomaux p62 et LC3-II a été mise en évidence dans des neurones dérivés de cellules IPS de patients DFT-SLA avec mutations *C9ORF72* (Aoki et al. 2017). Par microscopie électronique ces phagosomes présentaient un volume plus important (Aoki et al. 2017; Stepto et al. 2014). Cela semble montrer que le contenu des phagosomes ne peut pas être dégradés. C9ORF72 et RAB7L1 interagissent pour réguler le trafic vésiculaire intracellulaire (Sellier et al. 2016a). Une réduction d'expression de C9ORF72 ou de la RAB7L1 dans des cellules SH-SY5Y récapitulent les observations précédemment citées dans les cellules de patients (Aoki et al. 2017).

L'accumulation de vésicules positives au marquage LAMP1 et lysotracker a aussi été mise en évidence dans les macrophages de modèles murins *C9orf72*^{-/-} (Atanasio et al. 2016; J. G. O'Rourke et al. 2016). Ces résultats reflètent les perturbations du trafic endolysosomal décrit précédemment chez les patients (Farg et al. 2014; Aoki et al. 2017). Dans des neurones moteurs dérivés de cellules IPS, la protéine C9ORF72 co-

localise avec les endosomes précoces et on constate qu'il y a moins de lysosomes dans ces cellules (Y. Shi et al. 2018). De plus, les neurones dérivés de cellules IPS de patients DFT-SLA avec mutation *C9ORF72* et neurones dérivés de cellules IPS contrôles déplétés en *C9ORF72* par CRISPR-Cas9, présentent un trafic vésiculaire réduit (Y. Shi et al. 2018). Celui-ci peut revenir à un niveau basal après ré-expression de *C9ORF72* (Y. Shi et al. 2018).

Pour déterminer si le mécanisme gain de fonction toxique de *C9ORF72* est à l'origine de la pathogénèse, des modèles murins « gain de fonction » ont été développés.

Un modèle murin sur-exprimant une répétition de (GGGGCC)₆₆, obtenu par transgénèse virale AAV, présente un phénotype moteur et comportemental à partir de 6 mois (Chew et al. 2015). A l'histologie, des inclusions de foci ARN, de DPR et de P-TDP-43 ainsi qu'une mort neuronale sont remarqués (Chew et al. 2015). D'autres modèles toujours obtenus par transgénèse virale AAV surexprimant spécifiquement des poly-(GA)₅₀, développent également des phénotype moteurs et comportementaux (Y. J. Zhang et al. 2016). L'expression d'inclusion poly(GA) fibrillaire accompagne une neurodégénérescence (Y. J. Zhang et al. 2016). Cependant, l'inclusion de P-TDP43 n'est pas observée comme cela est le cas dans un autre modèle transgénique surexprimant des dipeptides poly(GA)₁₄₉ (Schludi et al. 2015). Dans ce modèle les phénotypes moteurs s'accompagnent d'une microgliose mais pas de perte neuronale (Schludi et al. 2017).

Des modèles murins transgénique BAC (Bacterial artificial Cloning) ont pour avantage d'exprimer le gène *C9ORF72* humain (Jacqueline G. O'Rourke et al. 2015; Jiang et al. 2016; Peters et al. 2015) avec un nombre variable de répétitions de l'expansion hexanucléotidique (Figure 46). Trois modèles murins BAC ne récapitulent pas de phénotype DFT/SLA. Ils présentent des inclusions de Foci ARN et DPR mais pas d'agrégation de TDP-43 dans le SNC. Aucune perte neuronale n'a été constatée (Jacqueline G. O'Rourke et al. 2015; Y. J. Zhang et al. 2016; Peters et al. 2015). Un autre modèle murin BAC sur fond génétique différent, développe un phénotype moteur important entraînant paralysie, perte de poids et espérance de vie réduite (Y. Liu et al. 2016). Dans ce modèle, des inclusions TDP-43, des foci d'ARN et des DPRs ainsi qu'une neurodégénérescence sont constatés (Y. Liu et al. 2016). Des ARNs anti-sens ont été observés dans les régions cérébrales de neurodégénérescence (Y. Liu et al. 2016). Ils pourraient alors être à l'origine de la neurotoxicité, mais comme ce modèle

présente à la fois des foci d'ARN, des DPRs et l'inclusion de TDP-43, il est difficile de conclure quant à l'origine de la neurotoxicité.

Globalement, il est difficile de conclure quant au rôle toxique du gain de fonction compte-tenu des données de la littérature sur les différents modèles murins générés. Toutefois, il semble que si le niveau d'expression des ARN répétés est suffisamment important il puisse à lui seul déclencher une neurotoxicité. A niveau d'expression physiologique, en l'absence de perte de fonction concomitante de *C9orf72* cela est plus discutable.

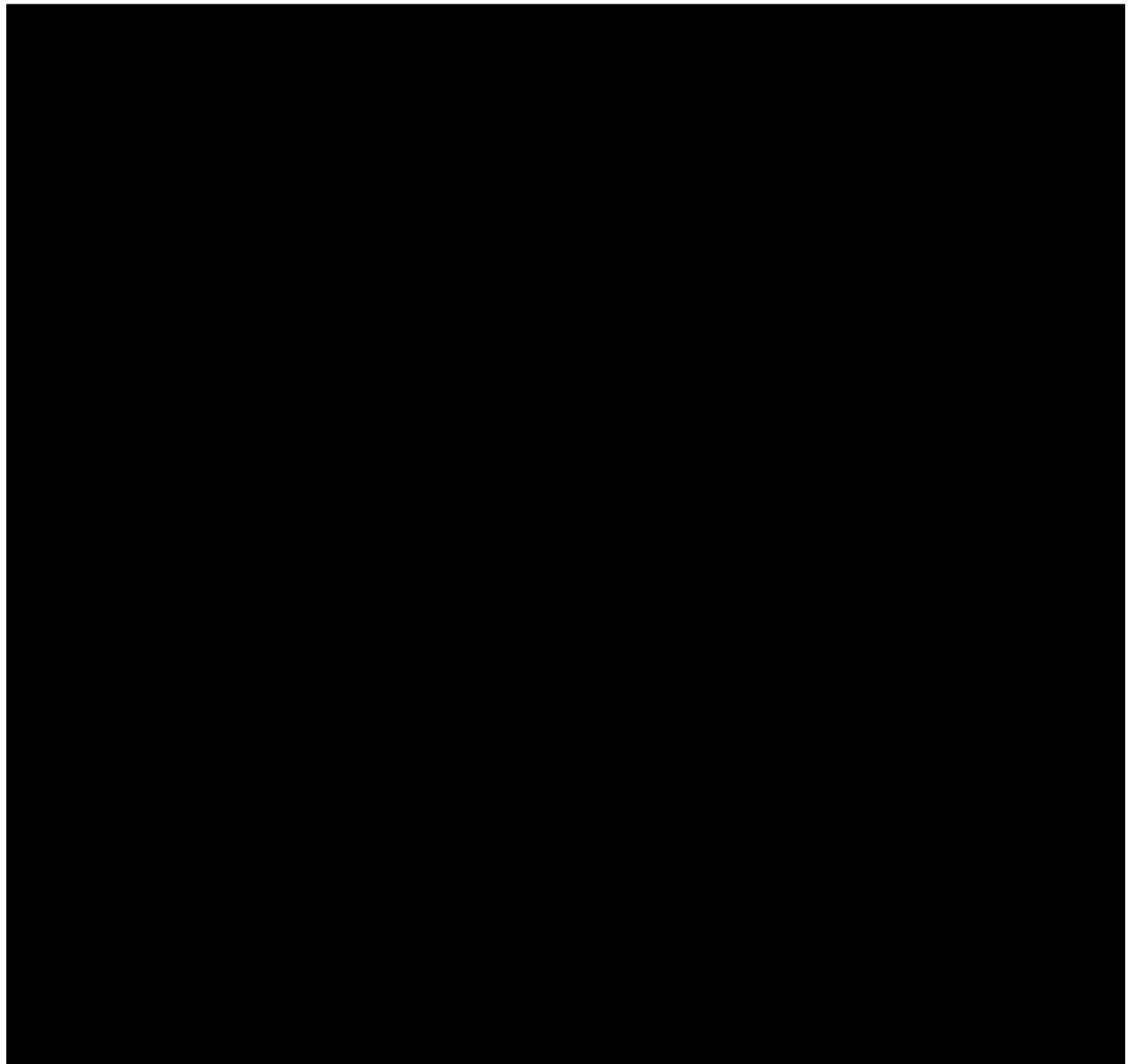


Figure 46. Tableau récapitulatif des modèles murins *C9ORF72* gain de fonction.

Certaines études proposent que les DPRs ne soient pas à l'origine de la pathogénèse mais en soient plutôt la conséquence, c'est-à-dire qu'ils résulteraient d'un stress cellulaire. En effet, après activation des récepteurs au glutamate ou augmentation de l'activité neuronale en appliquant des trains successifs de dépolarisation par méthode optogénétique, des DPRs se forment au sein des neurones corticaux primaires et dans des neurones moteurs spinaux dérivés de cellules IPS de patients SLA (Westergard et al. 2019).

D'autres études montrent que les DPRs sont toxiques et peuvent participer à la neuropathogénèse. En effet, les DPRs forment des agrégats insolubles dans les tissus humains (Y.-B. Lee et al. 2017). *In vitro*, l'agrégation des DPRs induit une cytotoxicité (Y.-B. Lee et al. 2017). Mizielinska et al, montre *in vitro* dans des cultures neuronales et *in vivo* chez la Drosophile, que les DPRs sont responsables de dégénérescence (Mizielinska et al. 2014). Les DPRs contenant un résidu arginine, sont les moins exprimés mais les plus toxiques (Mizielinska et al. 2014; Sakae et al. 2018). Les raisons de cette neurotoxicité plus accrue que celle induite par les autres DPRs sont encore peu comprises. Il a été montré que les DPRs avec arginine étaient les seuls à subir une modification post-traductionnelle par une méthyl-transferase, produisant des DPR-méthylarginine (Sakae et al. 2018). La contribution du méthylarginine à la toxicité n'est pas encore avérée mais cela représente une piste d'étude. Les DPRs avec résidu arginine pourraient également interagir spécifiquement avec les protéines ribosomales (Hartmann et al. 2018; Moens et al. 2019). Les mécanismes de traduction de la cellule pourraient alors être inhibés, et être à l'origine d'une mort neuronale (Y. J. Zhang et al. 2018). Une étude a montré que la présence des agrégats de poly(GR) (mais pas des autres DPRs) étaient corrélée aux aires de neurodégénérescence dans des tissus post-mortem de patients SLA porteurs de mutations *C9ORF72* (Saber et al. 2018).

Alors que le rôle potentiellement toxique de ces DPRs est encore débattu, des cultures de neurones moteurs spinaux dérivés de cellules IPS de patients SLA porteurs de mutations *C9ORF72* ont permis de montrer, grâce à l'utilisation de constructions DPR-GFP, que les DPRs pouvaient se propager de cellule en cellule par l'intermédiaire ou non d'exosomes. Pour cela, après transfection des constructions DPR-GFP dans des NSC-34, une purification des exosomes a été réalisée (Bellingham et al. 2012). La présence de DPRs a été mise en évidence par Dot-blot au sein de la fraction extraite du milieu de culture, enrichie en marqueur exosomal flotilline, TSG101 et CD63

(Bellingham et al. 2012). Les poly(GP) peuvent être détectés dans le LCR des patients, laissant entendre que les DPRs peuvent être sécrétés chez l'homme (Su et al. 2014). De plus, des méthodes de culture en chambre microfluidiques, de co-cultures et utilisation de milieux conditionnés ont permis de montrer que la propagation des DPRs n'était pas neurone spécifique, mais qu'elle intervenait également entre neurones et cellules gliales (Westergard et al. 2019). Supportant l'hypothèse d'une propagation des DPRs, des analyses neuropathologiques de cerveaux post-mortem de patients DFT-SLA avec mutations *C9ORF72* ont mis en évidence des clusters d'agrégation de DPRs dans des zones de très forte densité cellulaire et des agrégats plus épars dans des cellules isolées dans d'autres zones (Zu et al. 2013).

Alors que la nature du gain de fonction toxique associé à *C9ORF72* est encore une question ouverte, il est maintenant évident qu'une des fonctions dérégulées par la mutation de *C9ORF72* concerne le trafic nucléocytoplasmique (Mizielinska et al. 2013). Une étude des gènes modificateurs de la toxicité induite par l'expansion hexanucléotidique GGGGCC chez la drosophile a permis l'identification de 18 gènes impliqués dans le transport nucléocytoplasmique (Freibaum et al. 2015). Une autre étude s'intéressant à la toxicité induite par les dipeptides PR chez *C. Elegans* a aussi mis en évidence de nombreux gènes codant des composants protéiques des pores nucléaires et d'autres protéines effectrices du transport nucléocytoplasmique, laissant entendre que les DPRs pouvaient participer à la perturbation du transport nucléocytoplasmique (Jovičić et al. 2015). Une troisième étude focalisée sur le facteur de transport nucléocytoplasmique RANGAP, qui se lie aux ARNs GGGGCC, a montré que ce dernier, ainsi que d'autres facteurs de transport nucléocytoplasmiques pouvaient modifier la toxicité induite par l'expansion GGGGCC dans un modèle de drosophile (K. Zhang et al. 2015a). De façon complémentaire, des défauts du transport nucléocytoplasmique des ARNs et des protéines ont été observés dans des cellules neuronales dérivées d'IPS de patients DFT-SLA porteurs de la mutation (K. Zhang et al. 2015a; Jovičić et al. 2015; Freibaum et al. 2015). Des anomalies morphologiques ont été mises en évidence dans l'enveloppe nucléaire des cellules, dans des modèles *in vivo* pathologiques ou dans des cerveaux post-mortem de patients DFT/SLA avec mutations *C9ORF72* (K. Zhang et al. 2015b). Ces derniers ne sont pas des cas isolés puisque ces défauts ont également été vus dans des cas de SLA sporadiques et familiaux associés à la mutation *TARDBP* (Chou et al. 2018a).

De façon intéressante, les neurones dérivés de cellules IPS de patients DFT-SLA avec mutation *C9ORF72* présentent également plus de récepteurs au glutamate créant ainsi un terrain favorable à l'excitotoxicité (Y. Shi et al. 2018; Selvaraj et al. 2018). Cette observation n'est pas isolée puisque des taux élevés de récepteurs au glutamate ont été rapportés dans la moelle épinière de souris *C9orf72*^{-/-} ainsi que dans des prélèvements post-mortem de moelle épinière (Y. Shi et al. 2018; Selvaraj et al. 2018) et cortex (Y. Shi et al. 2018) de patients DFT-SLA porteurs de mutations *C9ORF72*.

L'excitotoxicité n'est pas le seul mécanisme défaillant à la synapse dans des modèles mutants pour *C9ORF72*. En effet, l'arborisation dendritique altérée des neurones corticaux primaires murins a été observé après surexpression de DPR poly(GA) (May et al. 2014). Dans un autre modèle de motoneurones spinaux de rat exprimant l'expansion (G₄C₂)₄₈, le nombre d'épines dendritiques des neurones comportant des foci d'ARN est considérablement réduit (Burguete et al. 2015). Cette observation a été réitérée dans un modèle drosophile exprimant la même expansion (G₄C₂)₄₈ (Burguete et al. 2015). La jonction neuromusculaire (JMN) impactée dans la SLA, est également détériorée dans des modèles drosophiles surexprimant des DPRs poly(GR) sans la présence de foci d'ARN (S. Perry et al. 2017; Starr and Sattler 2018).

En conclusion, nous avons évoqué ici certaines des très nombreuses dérégulations cellulaires qui ont été liées aux aspects gain de fonction selon les modèles (protéostase, autophagie, fonctions lysosomales, système ubiquitine-protéasome, transport nucléocytoplasmique, trafic vésiculaire, fonctions mitochondriales, etc) (Balendra and Isaacs 2018). Des défauts spécifiques aux cellules neuronales ont aussi été observées telles qu'hyperexcitabilité ou hypoexcitabilité, excitotoxicité au glutamate, défauts de transports axonaux et de formations de ramifications neuritiques. Face à toutes ces données et aux difficultés d'évaluer les liens de causalités entre la présence de DPRs et/ou de foci ARN chez les patients de leur vivant, le rôle des différentes entités reste intensément débattu. Il faudra sans doute attendre le développement d'outils d'exploration *in vivo* chez l'homme (qui sont à l'étude) pour aller plus loin. Cependant, il semble assez certain que plusieurs des espèces anormales produites, qu'il s'agisse d'agrégats d'ARN ou de DPRs, ont la potentialité d'être toxiques pour les cellules et les neurones en particulier. Les aspects pertes de fonctions de *C9ORF72* ont surtout mis en évidence, d'une part des anomalies de la voie autophago-lysosomale (Corrionero and Horvitz 2018) et d'autre

part des troubles de l'immunité (Mizielinska et al. 2013). Globalement, tous ces éléments expliquent qu'il est aujourd'hui considéré que les deux effets, à la fois perte et gain de fonction, participent d'une façon ou d'autre à la pathogénèse, soit en synergie, soit de façon additive. La compréhension de l'interaction de ces deux effets sera certainement essentielle à la mise en place de traitements adaptés à la DFT/SLA-C9ORF72. A ce jour l'expression physiologique de C9ORF72 est reconnue comme étant surtout microgliale alors que les DPRs et foci d'ARN semblent des stigmates plutôt neuronaux, il sera donc très important de prendre en compte les interactions de ces effets entre différents types de cellules (Figure 47).

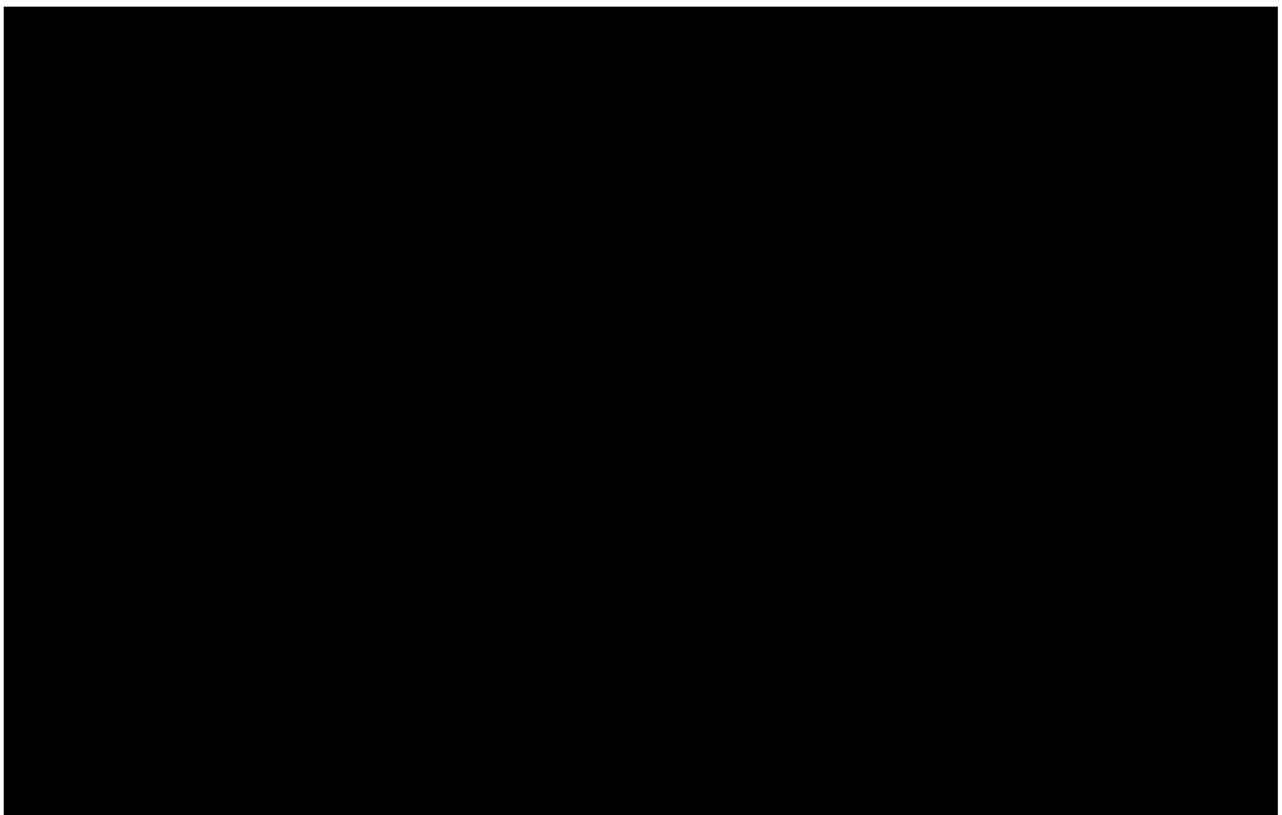


Figure 47 . Mécanismes cellulaires impactés par les mutations C9ORF72. D'après (Balendra and Isaacs 2018).

f) GRN

La progranuline est exprimée dans de nombreux types cellulaires, incluant cellules endothéliales, astrocytaires, neuronales et microgliales (Ryan et al. 2009b; Petkau et al. 2010). Les premières expériences s'intéressant au rôle de la PGRN dans le SNC ont montré *in vitro*, que la PGRN avait des fonctions neurotrophiques (Van Damme et al. 2008a; Ryan et al. 2009b). Elle promeut la survie neuronale et stimule la pousse

axonale et dendritique (Van Damme et al. 2008a; Ryan et al. 2009b; Chitramuthu et al. 2010b; Gass et al. 2012; De Muynck et al. 2013; Beel et al. 2017).

Les grandes fonctions de la progranuline dans les processus de cicatrisation, d'inflammation et de neuroprotection commencent à être connus mais les mécanismes précis par lesquels cette protéine agit sont mal compris (J. Jian, Konopka, and Liu 2013; Van Damme et al. 2008a)

Les niveaux protéiques de progranuline dans le sérum et dans le LCR de patients DFTs asymptomatiques et symptomatiques porteurs de mutations *GRN* sont réduits de plus de 50% en moyenne (Finch et al. 2009). Cependant, les effets exacts de l'haploinsuffisance en *GRN* sont mal connus (Ghidoni et al. 2008). Pour mieux comprendre le rôle d'une déficience en progranuline dans les DFTs, des modèles murins *Grn*^{+/-} et *Grn*^{-/-} ont été développés (Kayasuga et al. 2007; Ghoshal et al. 2012; Yin, Banerjee, et al. 2010a; Petkau et al. 2012; Roberson et al. 2013). La grande majorité d'entre eux sont résumés dans le tableau ci-dessous (Figure 48).

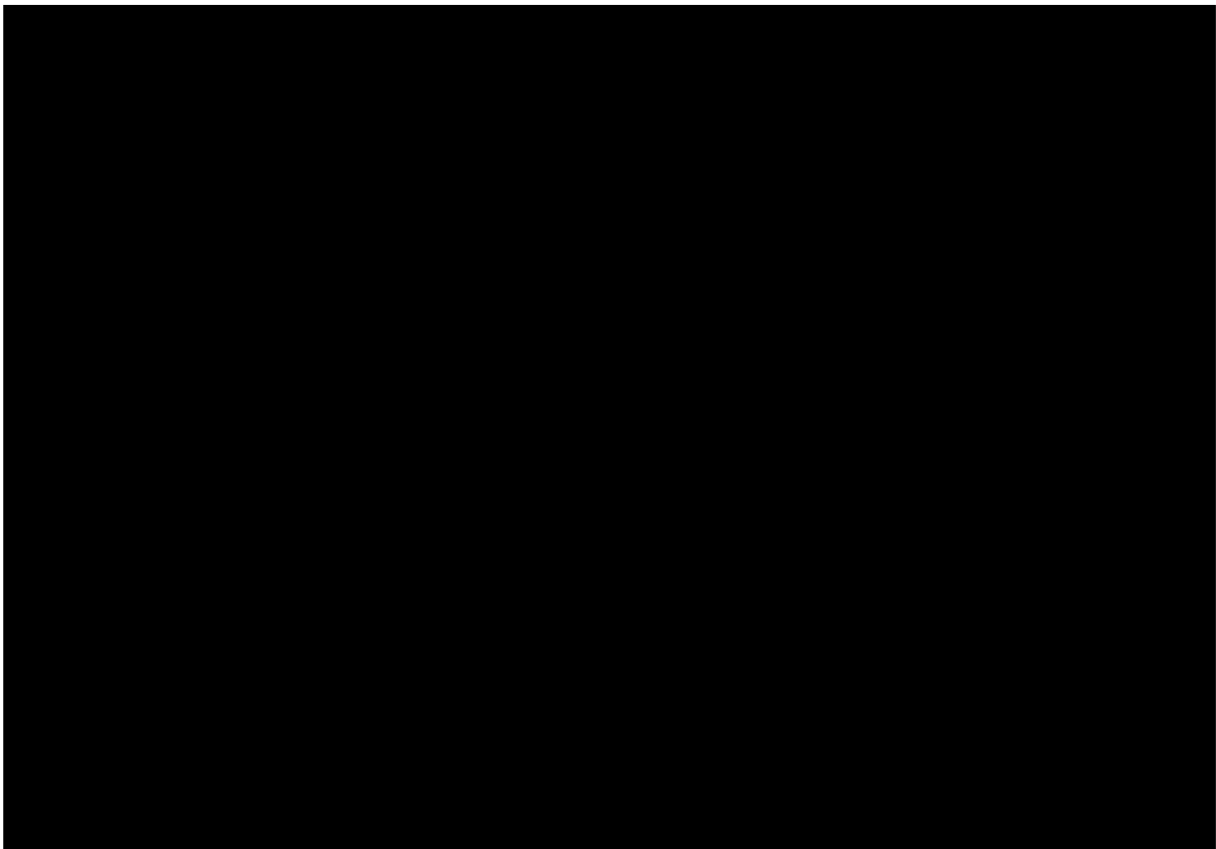


Figure 48. Tableau récapitulatif des modèles murins *PGRN* déficients. D'après(Petkau and Leavitt 2014)..

Une perte d'expression hétérozygote de la progranuline n'induit pas ou peu de modifications du phénotype comportemental à plus de 23 mois (Kayasuga et al. 2007; Ahmed et al. 2010). Dans un seul modèle $Grn^{+/-}$ un déficit social représenté par une diminution des interactions inter-individuelles a été noté à partir 6mois (Roberson et al. 2013). Ces modèles murins hétérozygotes ne présentent pas de stigmates neuropathologiques.

Les modèles homozygotes présentent tous des troubles comportementaux. Cependant, ils peuvent être légèrement différents selon les modèles (Figure 48). Par exemple des phénotypes dépressifs ou des comportements de "grooming" excessif sont rapportés chez une souris, (Yin, Dumont, et al. 2010). Ces modèles $Grn^{-/-}$ ont une espérance de vie réduite. Un autre modèle murin Knock-in Grn^{R493X} a été développé (Nguyen et al. 2018). Il s'agit d'une mutation fréquente chez les patients DFTs (Chen-Plotkin et al. 2011). Cette mutation R493X non-sens et va provoquer la dégradation de l'ARNm tronqué de PGRN (perte de plus de 90%) (Nguyen et al. 2018). Ce modèle murin reproduit ainsi la perte d'expression protéique et de fonction de PGRN. Ces souris $Grn^{R493X/R493X}$ reproduisent le phénotype des souris $Grn^{-/-}$: comportement de "grooming" excessif, une espère de vie réduite (Yin, Dumont, et al. 2010),

Les différents modèles $Grn^{-/-}$ et $Grn^{R493X/R493X}$ présentent des similitudes neuropathologiques : astroglioses et microglioses à partir de 12 mois ; dépôt de lipofuscine neuronale dans le cortex, hippocampe et thalamus récapitulant les stigmates d'une maladie de surcharge lysosomale (Ahmed et al. 2010; Petkau et al. 2010). Des accumulations de protéines ubiquitinyliées et positives pour p62 sont également observées. Ni les souris perte d'expression Grn homozygotes ou hétérozygotes ne comportent d'agrégats TDP-43. Cependant, la protéine P-TDP-43 cytoplasmique neuronale est observée dans trois modèles (Yin, Dumont, et al. 2010; Wils et al. 2012; Lui et al. 2016). Les modèles murins déficient progranuline ne récapitulent pas toutes les caractéristiques des DLFTs ; mais la présence de gliose dans les cerveaux murins met en évidence une perturbation de l'homéostasie et un stress neuronal.

Il a été mis en évidence que les cellules microgliales et les neurones $GRN^{-/-}$ présentaient des anomalies lysosomales (Lui et al. 2016; Chang et al. 2017) se traduisant par une augmentation du nombre et de la taille des lysosomes (Lui et al. 2016). Ces observations tendent à suggérer une fonction lysosomale microgliale de la

progranuline. De plus, les cellules microgliales *Grn*^{-/-} sécrètent des cytokines pro-inflammatoires et les protéines du complément C1q et C3 impliquées dans l'élagage synaptique. En effet, une perte de synapse dans le thalamus ventral a également été mise en évidence (Lui et al. 2016). Cette perte de synapse mène à une hyperexcitabilité des circuits thalamocorticaux menant au « grooming » excessif observé dans le modèle *Grn*^{-/-} (Lui et al. 2016).

Les observations précédentes tendent à suggérer une fonction lysosomale microgliale de la progranuline. Cela est appuyé par une étude transcriptomique de la déficience en progranuline qui entraîne une surexpression des gènes lysosomaux et de l'immunité innée (Figure 49).

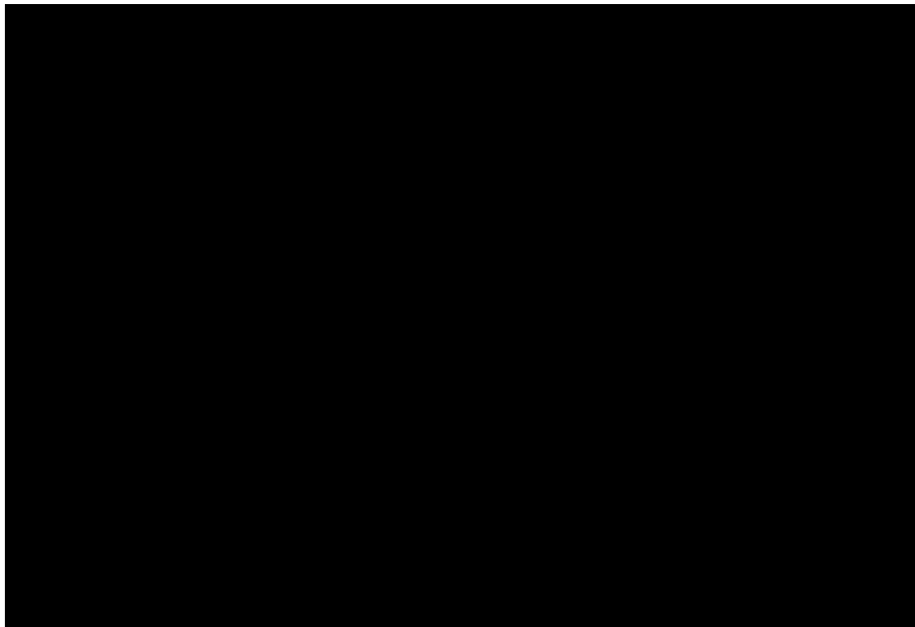


Figure 49. Une déficience en progranuline rompt l'homéostasie glie-neurone et induit la neurodégénérescence. D'après (Kao et al. 2017).

Il est très probable par ailleurs que PGRN puisse rejoindre le système endolysosomal grâce à sa liaison au récepteur sortiline. En effet, la progranuline reconnaît le récepteur sortiline par lequel elle va être internalisée et transportée dans l'endosome et ensuite dans lysosome (Kao et al. 2017; F. Hu et al. 2010) (Figure 50).

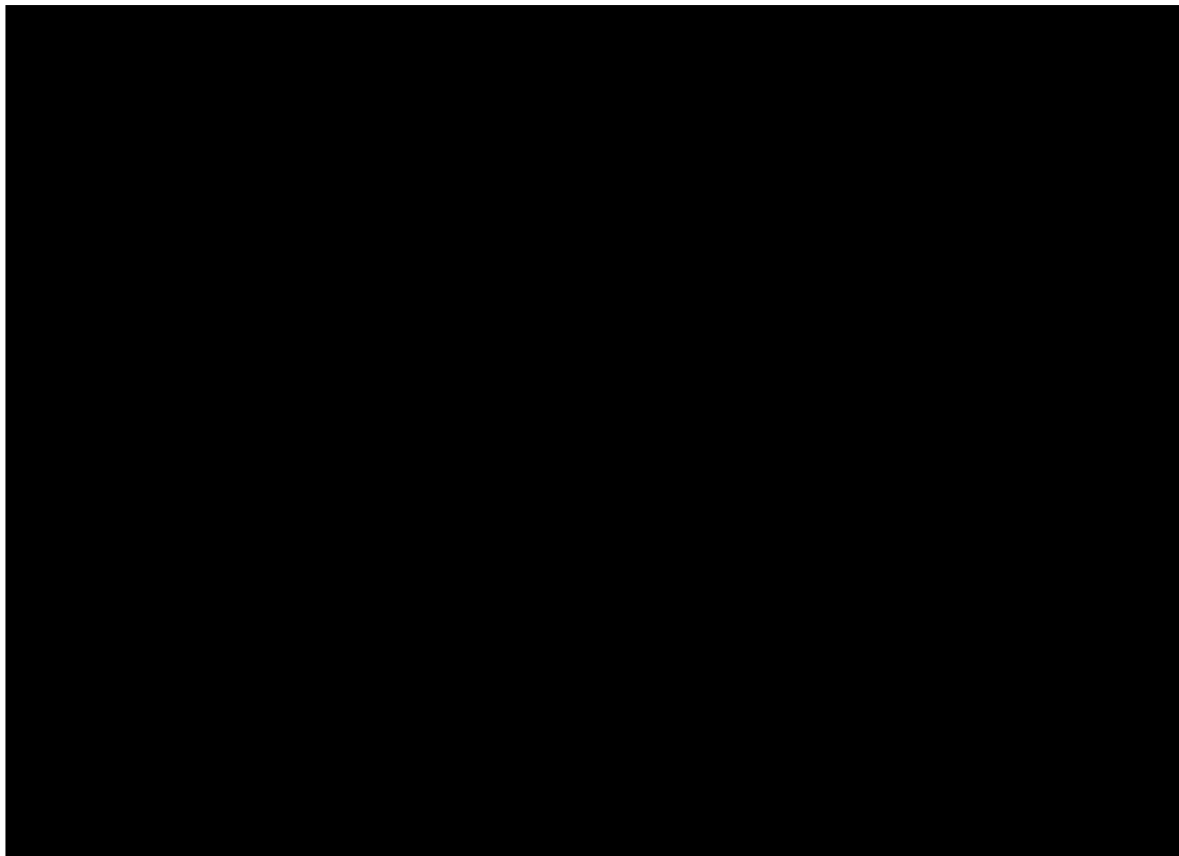


Figure 50. Le trafic cellulaire de la progranuline et son rôle dans la fonction lysosomale. D'après (Kao et al. 2017).

Il semble par ailleurs probable que la progranuline soit critique pour maintenir les fonctions lysosomales en régulant l'activité enzymatique locale (Tanaka et al. 2013; Lui et al. 2016; Beel et al. 2017; Chang et al. 2017; C. Valdez et al. 2017; X. Zhou et al. 2017). Des études récentes semblent montrer que la progranuline permettrait de réguler deux hydrolases lysosomales, la cathepsine D (CTSD) et la glucocerebrosidase (GCase). PGRN stabilise et module directement l'activité de la CTSD *in vitro* et une déficience en PGRN résulte en la réduction d'activité de CTSD *in vivo* (C. Valdez et al. 2017; Beel et al. 2017; X. Zhou et al. 2017). Les neurones mutants *GRN* montrent une protéolyse lysosomale altérée avec diminution d'activité de la cathepsine D. PGRN interagit avec la CTSD, et elle est capable d'augmenter son activité spécifiquement. L'activité des cathepsines B et L en revanche, n'augmente pas (C. Valdez et al. 2017). La granuline E, produit de clivage de la progranuline, est suffisante pour induire une augmentation d'activité de la cathepsine D. De façon surprenante, cette diminution d'activité n'a pas seulement été trouvée dans des cas de CNL, mais aussi directement dans des neurones corticaux dérivés de cellules IPS de patients DFT avec mutation

hétérozygote *GRN* (C. Valdez et al. 2017). Des mutations homozygotes de la cathepsine D donnent une forme de CLN similaire à celle induite par des mutations homozygotes de *GRN* (X. Zhou et al. 2017; Holler et al. 2017; Ward et al. 2017b; Choy and Christensen 2016). La cathepsine D est principalement exprimée dans le SNC où elle régule la dégradation de protéines, mais son activation dans le lysosome est peu comprise. Il est possible que celle-ci soit dépendante de la progranuline et surtout de la granuline-E et que par un mécanisme dose-dépendant, ce mécanisme engendre l'apparition d'une neurodégénérescence (X. Zhou et al. 2019). PGRN pourrait être une co-chaperone de la GCase, une β -glucosidase mutée dans la maladie de Gaucher, permettant sa localisation lysosomale (Jinlong Jian, Tian, et al. 2016).

La PGRN aurait également des fonctions inflammatoires puisqu'elle permet le recrutement des fibroblastes et macrophages au site de lésion des tissus (Guerra et al. 2007). Ses effets sont plutôt anti-inflammatoires (Z. He et al. 2003). Des macrophages ou cellules microgliales déficientes en progranuline présentent des phénotypes activés et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires (Yin, Banerjee, et al. 2010b; Martens et al. 2012; Lui et al. 2016; Krabbe et al. 2017). De plus, les taux basaux de sécrétion de progranuline par les cellules microgliales sont faibles. Après activation, l'expression microgliale de progranuline augmente significativement, laissant présager une régulation de l'activation de ces cellules (Suh et al. 2012). Les capacités de la PGRN à inhiber la sécrétion des cytokines IL-6, TNF- α et MCP-1 et IL-10 par les macrophages stimulés par le LPS ont été mise en évidence (Yin, Banerjee, et al. 2010b). Par ailleurs, dans des maladies à inflammations chroniques telle que l'arthrose, la PGRN aurait un rôle protecteur (Tang et al. 2011). En effet, la progranuline peut se fixer à différents récepteurs membranaires, par exemple, aux TNFR1 et TNFR2 (Tang et al. 2011; Park et al. 2011). Elle empêche alors la liaison du TNF- α à ses récepteurs d'affinité et la suractivation des lymphocytes T (C. J. Liu and Bosch 2012a). Récemment, la PGRN a été rapportée comme promouvant la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en lymphocytes T régulateurs Foxp3⁺ (Tang et al. 2011). Elle est aussi très exprimée dans une sous population de neutrophiles (Puga et al. 2012).

Compte-tenu de la fonction essentielle de la voie autophago-lysosomale dans les phagocytes, c'est-à-dire macrophages et microglies, la question se pose du lien entre

activation du système immunitaire inné et rôle endolysosomal de la PGRN. C'est l'une des questions que nous nous sommes posés au cours de cette thèse.

g) Gènes minoritaires de la SLA, des DFTs et des DFT-SLA

Les fonctions des gènes minoritairement impliqués dans les DFT, la SLA ou les DFT-SLA ont elles aussi été étudiées pour mieux comprendre leur implication dans la maladie. De façon intéressante, un grand nombre de fonctions mises en évidence sont communes avec les gènes majeurs des DFT/SLA. Par exemple, plusieurs gènes dont les mutations ont été associées aux DFT/SLA codent des protéines ayant des fonctions directes dans la dégradation protéique.

C'est par exemple le cas de *l'ubiquiline 2* et de *SQSTM1* codant p62, qui remplissent toutes deux des fonctions de protéine adaptatrice pour amener les protéines polyubiquitinées au protéasome ou à l'autophagosome pour dégradation (Pankiv et al. 2007) (Figure 51).

Une étude a d'ailleurs permis de montrer que l'agrégation de TDP-43 était significativement influencée par p62. En effet, une surexpression de p62 réduit l'agrégation de TDP-43 par un mécanisme dépendant de l'autophagie et du protéasome (Brady et al. 2011), mettant en évidence le lien entre autophagie et agrégation de TDP-43.

De même une étude visant à mieux comprendre les rôles de l'ubiquiline-2 par l'intermédiaire de l'identification de ses interacteurs protéiques, a permis de mettre en évidence parmi ces derniers, un enrichissement en granules de stress et en protéine FUS (Alexander et al. 2018).

Appuyant le fait que l'autophagie fasse partie des mécanismes biologiques pouvant être dérégulés et associés aux DFT, DFT-SLA ou SLA, *TBK1* dont les mutations perte de fonction ont été trouvées dans les DFT/SLA, est une sérine/thréonine kinase physiologiquement impliquée dans l'autophagie et dans la régulation de l'immunité innée (Freischmidt et al. 2015b; Sellier et al. 2016b; J. H. Shi, Xie, and Sun 2018; Xiao et al. 2017).

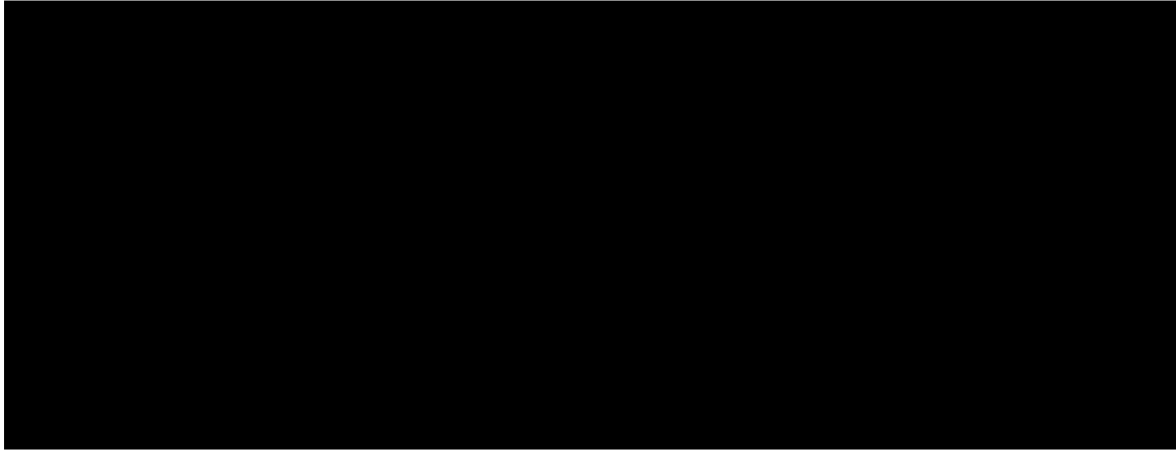


Figure 51. Illustration du rôle de p62 dans l'autophagie. Cette protéine permet d'apporter le cargo protéique ubiquitiné à dégrader au phagosome. D'après ("P62/Sqstm1: The Molecule That Links Autophagy to the Keap1-Nrf2 System," n.d.).

Des mutations ont aussi été rapportées dans le gène codant l'optineurine, un récepteur de l'autophagie, et dans VCP (valosin-containing protein), qui fonctionne au sein du complexe de dégradation ERAD (Endoplasmic reticulum associated degradation) et dans le tri des protéines endosomales. Des études complémentaires ont également montré que CHMP2B (S. Chen et al. 2012), a des fonctions dans la maturation de l'autophagosome et/ou dans la dégradation du cargo endosomal (Deng et al. 2011; J. O. Johnson et al. 2010; Urwin et al. 2010). Toutes ces mutations pourraient alors avoir un impact sur les voies endolysosomales.

D'autres effets de ces mutations sont plutôt liées à des désordres synaptiques de type modifications de l'arborisation dendritique neuronale. En effet, un modèle murin exprimant la protéine UBQLN2 mutée (*UBQLN2^{P497H}*) montre des troubles comportementaux et cognitifs associé à une morphologie synaptique anormale, à la présence d'agrégats protéiques dans les épines dendritiques des neurones de l'hippocampe et du cortex frontal, et une diminution de la densité des épines dendritiques dans le gyrus denté (Gorrie et al. 2014). Des neurones moteurs spinaux dérivés de cellules IPS de patients SLA porteurs de mutations *VCP*, il a été observé une réduction de la formation de synapses (Hall et al. 2017). Ces derniers éléments indiquent que des défauts de transmission de l'information neuronale pourraient découler de différentes mutations des gènes minoritairement impliqués dans les DFT-SLA.

2. Quelles sont les hypothèses communes aux DFTs, DFT-SLA et SLA ?

Dans la partie précédente « III.1. » nous avons évoqués différentes hypothèses concernant les mécanismes neuropathologiques pouvant découler de mutations de gènes spécifiques aux DFTs, SLA et DFT-SLA. Parmi ces mécanismes, nous avons identifiés un grand nombre de voies biologiques pouvant être dérégulées dans plusieurs cas, cette liste est non exhaustive, mais nous pouvons citer : l'hyperexcitabilité (*SOD1*), les dysfonctions gliales (*SOD1*, *C9ORF72*, *GRN*), l'axonopathie (*SOD1*, *MAPT*), homéostasie protéique (*C9ORF72*, *GRN*, *SOD1*, *CHMP2B*, *SQSTM1*, *OPTN*, *VCP*, *TBK1*,...), dysfonctions mitochondriales (*SOD1*, *TARDBP*), transport nucléocytoplasmique (*C9ORF2*), métabolisme des ARNs (*FUS*, *TARDBP*, *C9ORF72*, *HnRNPA1*), transport vésiculaire dérégulé (*SOD1*, *OPTN2*, *CHMP2B*,...) (Figure 52).

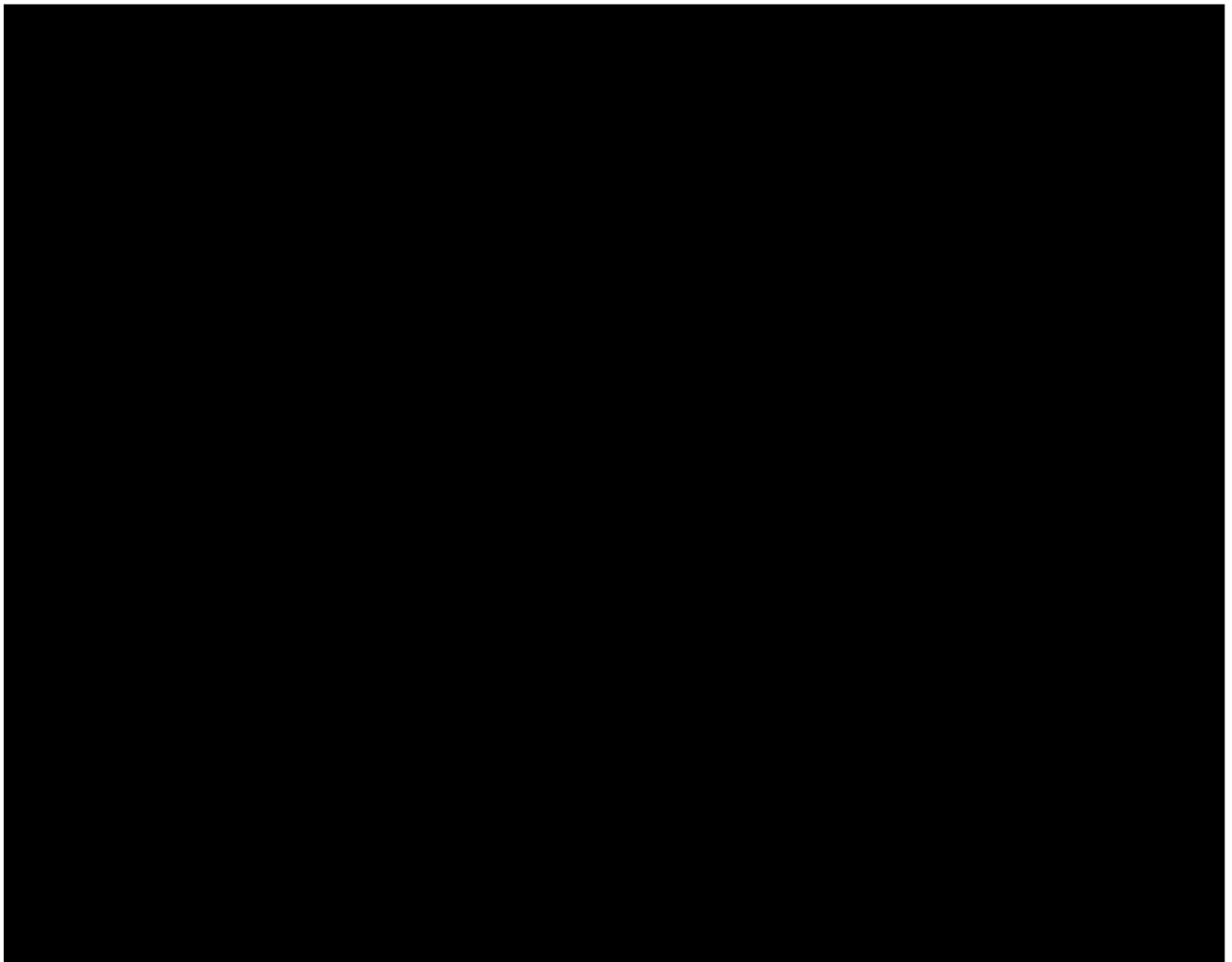


Figure 52. Fonctions cellulaires altérées dans les cas de DFT/SLA. D'après (Hardiman et al. 2017).

Dans la partie suivante, nous allons revenir sur trois voies biologiques particulières communes à plusieurs gènes ou protéines. Puisque ces voies sont importantes dans le cadre de ma thèse, j'ai choisi de revenir sur les hypothèses communes de dérégulation des protéines de liaisons aux ARNs, de dysfonction des voies autophagiques et endolysosomales, et sur la neuroinflammation.

a) Dérégulation des protéines de liaison aux ARNs

L'importance des protéines de liaison à l'ARN dans les DFTs et SLA a été soulignée lors de la découverte de mutations causales dans les gènes *TARDBP*, *FUS*, *hnRNP*, *matrin-3*, ou *ataxine-2* (Kwiatkowski et al. 2009; Vance et al. 2009; J. O. Johnson et al. 2014; H. J. Kim et al. 2013a). Ces aspects génétiques ainsi que l'importance neuropathologique des inclusions de protéines TDP-43 et FUS dans ces maladies suggère que le métabolisme des ARNs joue un rôle clé dans ces pathologies (Mandrioli et al. 2020; Sobue et al. 2018).

Les protéines de liaison à l'ARN TDP-43, FUS et hnRNPA1 sont des ribonucléoprotéines nucléaires hétérogènes (hnRNPs) ayant pour rôle de réguler le métabolisme des ARNs comprenant l'épissage des ARNm, la polyadénylation, l'export nucléaire, la localisation et la traduction des ARNs (Sobue et al. 2018; Buratti et al. 2005; Mompeán, Baralle, et al. 2016). Les hnRNPs sont des protéines hautement conservées, ubiquitaires, abondantes au sein du noyau (Dreyfuss, Kim, and Kataoka 2002). Avant de considérer les protéines TDP-43 et FUS comme protéines hnRNPs (Calvio et al. 1995; Romano et al. 2014; Dreyfuss, Kim, and Kataoka 2002) cette famille était composée de 24 protéines nommées de hnRNPA1 à hnRNPU (Geuens, Bouhy, and Timmerman 2016). Les hnRNPs sont aussi présentes dans le cytoplasme puisqu'elles permettent le transport des ARNs du noyau au cytoplasme (Piñol-Roma and Dreyfuss 1992), ou encore le transport des ARNm (Dreyfuss, Kim, and Kataoka 2002; Piñol-Roma and Dreyfuss 1992) (Figure 53).

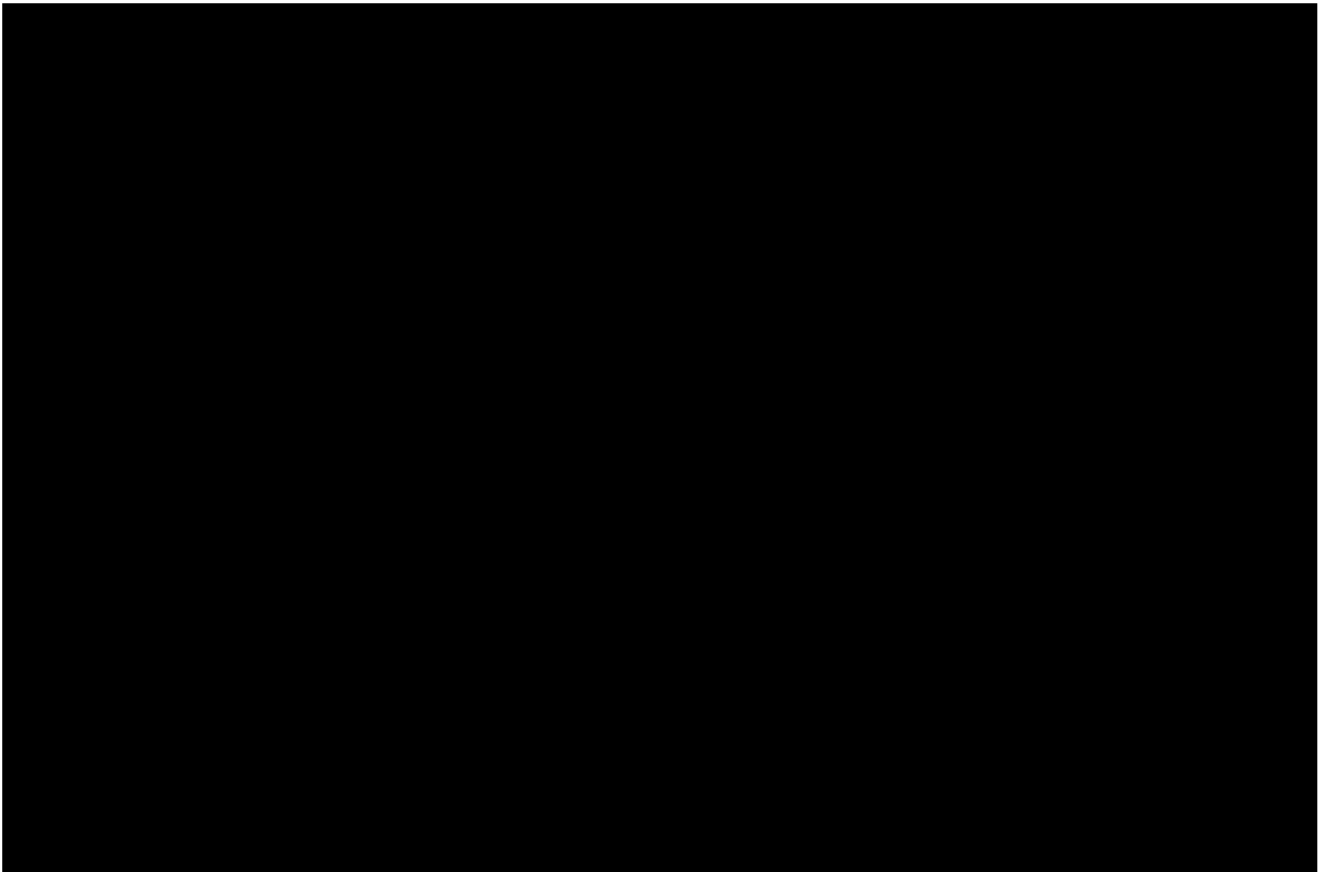


Figure 53. Représentation de la localisation et des différentes fonctions des hnRNPs dans les DFTs et SLA. D'après (Rage et al. 2020).

Structurellement, toutes les hnRNPs contiennent un ou plusieurs domaines de liaison à l'ARN, le plus commun correspondant au motif de reconnaissance à l'ARN, RRM. Elles contiennent également un second domaine de liaison à l'ARN, spécifique de certaines séquences d'ARN comme par exemple RGG (Arginine-glycine-glycine). Il peut s'agir de domaine homologue à la lysine (KH) ou à motif doigt de Zinc. Cela permet une interaction forte et spécifique des protéines avec les ARNs. Ces protéines ont également toutes un domaine "low complexity sequence domains (LCD)" qui permet la formation d'organelles dépourvus de membrane, appelés granules (Sobue et al. 2018) (Figure 54).

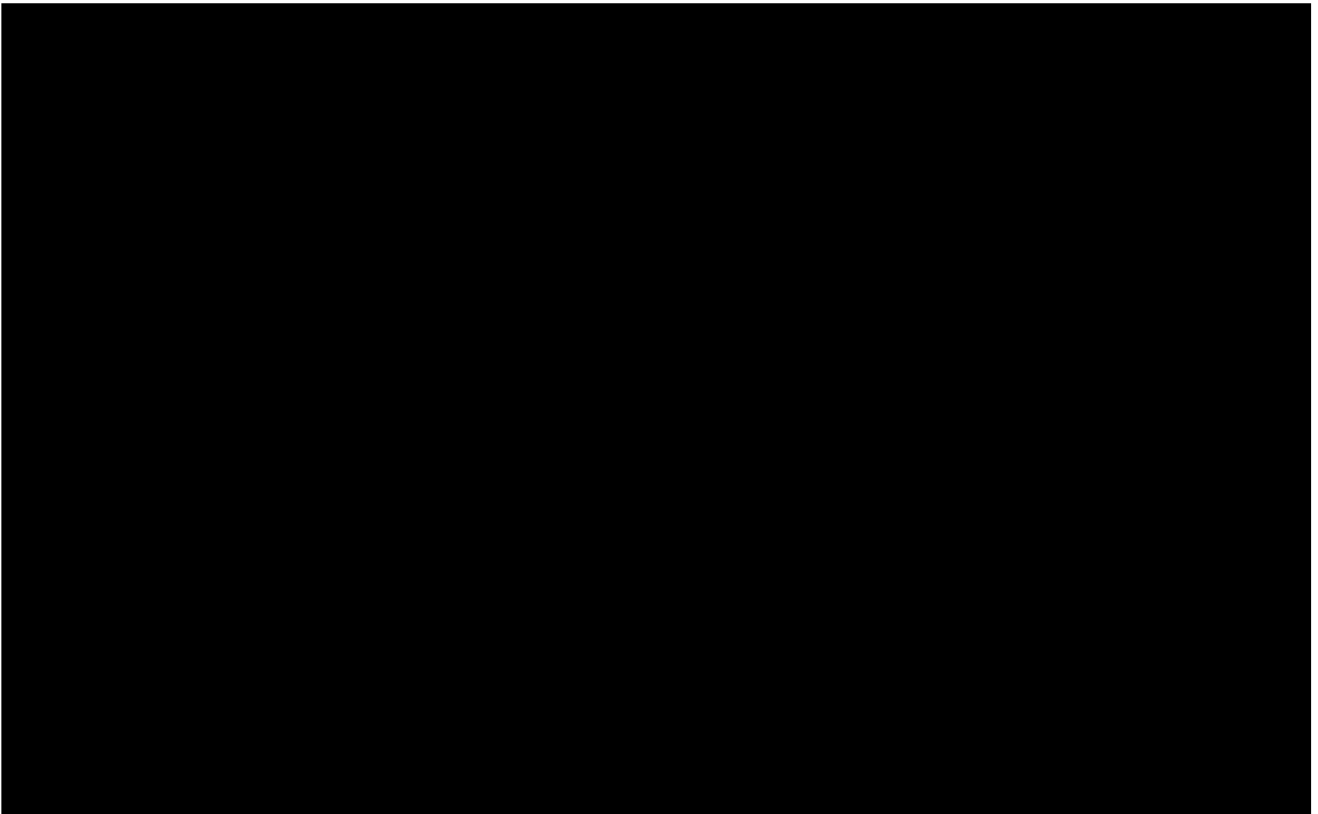


Figure 54. Les protéines de liaison à l'ARN qui contiennent un domaine LCD peuvent changer de phase. Illustration d'une séparation de phase entre phase mixte (en haut) à formation de gouttelette (en bas). D'après (J. P. Taylor, Brown, and Cleveland 2016).

Ces structures sont dynamiques et se comportent comme des liquides complexes et se forment par séparation de phase. Les ARNs et protéines de liaison sont isolés du cytoplasme aqueux environnant (Hyman, Weber, and Jülicher 2014). Les granules jouent un rôle dans le métabolisme des ARNs puisque, en les protégeant, elles permettent d'inhiber leur traduction jusqu'aux sites de destination spécifiques des ARNs au sein la cellule (I. F. Wang et al. 2008; Kanai, Dohmae, and Hirokawa 2004; Elvira et al. 2006; Sephton and Yu 2015) (Figure 55).

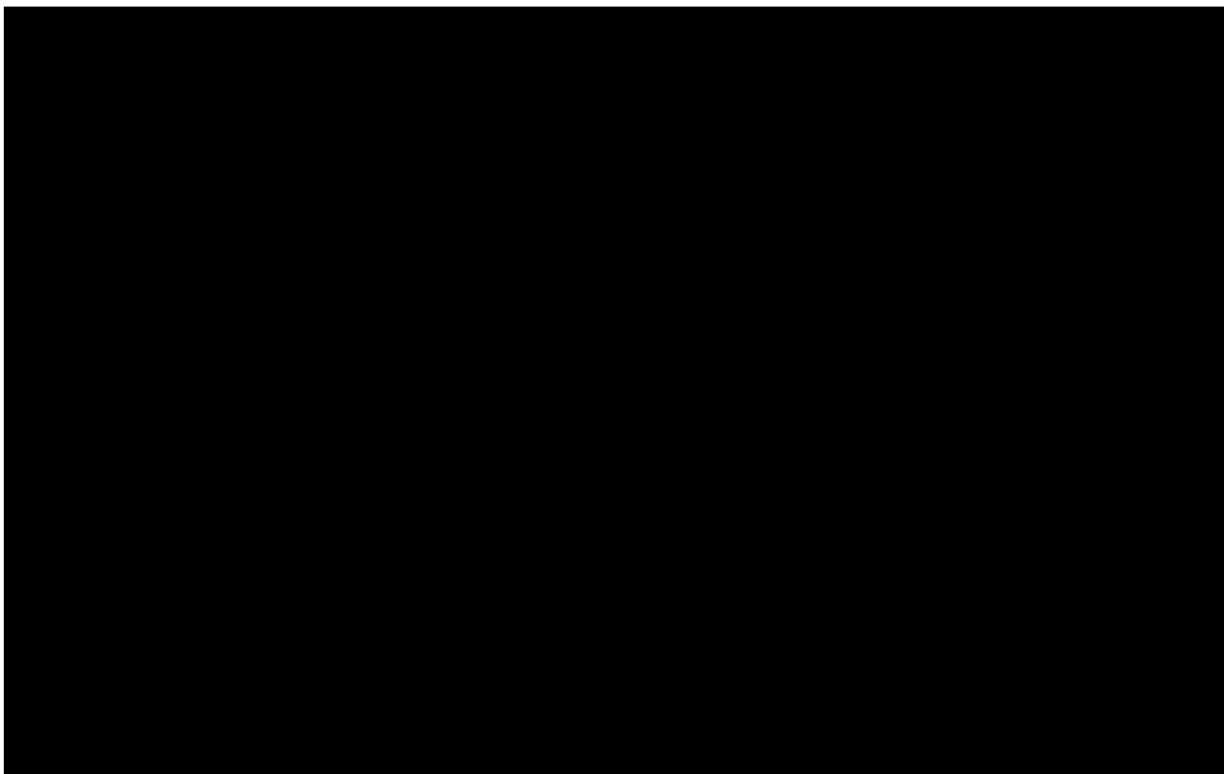


Figure 55. Représentation schématique des séquences des hnRNPs impliquées dans les DFTs/SLA. D'après (Sobue et al. 2018).

La majorité des mutations des hnRNPs identifiés dans les DFT et SLA touchent les domaines LCD et NLS (Gopal et al. 2017). La nature réelle du mécanisme de toxicité cellulaire découlant n'est pas encore connue. Cette toxicité pourrait être consécutive à une perte de fonction nucléaire, à un gain de fonction cytoplasmique ou aux deux aspects cumulés.

Trois hypothèses existent concernant l'effet direct de ces mutations.

Premièrement, la dynamique des granules ARNs peut être modifiée suite à une mutation du domaine LCD. La viscosité peut augmenter, entraînant des échanges réduits entre granules et cytoplasme environnant. La distribution des cargos ARN à une localisation précise peut être perturbée. Ainsi, les propriétés altérées de ces granules peuvent perturber les processus biologiques ciblés par la traduction locale précise des ARNs présents dans les granules. Appuyant cette hypothèse, des mutations de hnRNPA1, hnRNPA2B1, and TIA1 (H. J. Kim et al. 2013b) augmentent les forces d'adhésion, qui altèrent la structure mais aussi la dynamique de ces organelles (H. J. Kim et al. 2013b; I. R. Mackenzie et al. 2017).

Une deuxième hypothèse concerne la formation d'espèce protéique toxique. En effet, dans ces organelles, les protéines de liaison à l'ARN sont présentes en grande

concentration, à proximité les unes des autres. Les domaines LCD ont donc des risques d'interaction plus forts. L'accumulation de granules ARN peu dynamiques pourrait promouvoir sur le long terme l'agrégation des protéines de liaison à l'ARN sous forme d'oligomères ou de structures fibrillaires neurotoxiques (Patel et al. 2015; Murakami et al. 2012; Lin et al. 2015) (Figure 56).

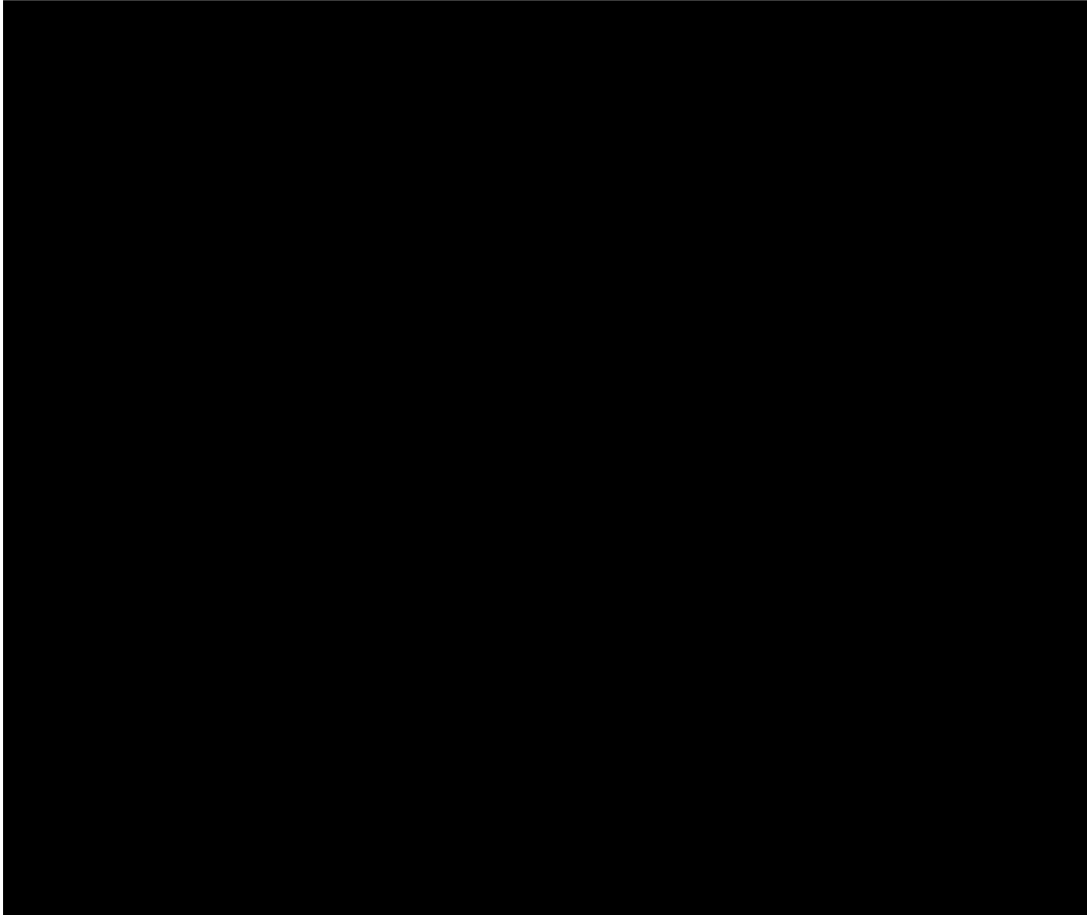


Figure 56. Les mutations des gènes codant les protéines de liaison à l'ARN entraînent des perturbations dans l'assemblage, la dynamique et la fonction des organelles sans membranes comme les granules de stress. D'après (Lin et al. 2015).

Troisièmement, des mutations de la séquence NLS de ces protéines hnRNPs vont induire à la fois un mécanisme de perte de fonction nucléaire et un gain de fonction cytoplasmique. La délocalisation des hnRNPs en grande concentration dans le cytoplasme (Molliex et al. 2015), conduit à une séparation de phase excessive, et à la présence de plus de granules de stress dans les cellules murines (Baron et al. 2013; Bosco et al. 2010; Dormann et al. 2010; Kuang et al. 2017) et cellules de patients mutées (Lim et al. 2016; H. J. Kim et al. 2013a). Physiologiquement, la protéine TDP-43 est redistribuée dans les axones et dendrites en réponse à l'activité neuronale et

influence la croissance des neurites (Alami et al. 2014). Il est ainsi probable qu'une redistribution cytoplasmique de TDP-43 en contexte pathologique entraîne des dysfonctions cellulaires nombreuses ainsi que des désordres axonaux.

La perte de fonction nucléaire de ces protéines peut entraîner une perte de fonction partielle ou totale des hnRNPs (Ramaswami, Taylor, and Parker 2013). Elle peut aussi avoir des effets directs sur les fonctions neuronales. En effet, la déplétion expérimentale de TDP-43 perturbe l'épissage d'un grand nombre d'ARN cibles et entraîne une diminution d'ARNs codant des protéines synaptiques (Polymenidou et al. 2011a). Une perte d'expression de FUS ou hnRNPA1 dans le SNC produits des effets similaires mais sur d'autres cibles ARNs codant d'autres protéines (Lagier-Tourenne et al. 2012b; Huelga et al. 2012). Ainsi, une perte de fonction nucléaire de ces protéines entraîne des pertes de fonctions subséquentes d'autres protéines suite à une perte de régulation des ARNs cibles. Puisque les protéines TDP-43, FUS et hnRNPA1 peuvent chacune se lier à des milliers d'ARNs cibles (Tollervey et al. 2011; Polymenidou et al. 2011b), une dérégulation dans la fonction d'une ou plusieurs de ces protéines aura un impact considérable sur le métabolisme des ARNs (Sobue et al. 2018).

Cette perte de fonction nucléaire pourrait alors être responsable de la neurotoxicité.

Les effets perte de fonction nucléaire et gain de fonction cytoplasmique sur la neurotoxicité sont difficilement discriminables.

Les protéines de liaison à l'ARN, qu'il s'agisse de TDP-43 ou de FUS, semblent pouvoir se propager grâce à leur domaine prion-like, répandant ainsi la pathologie de région en région au sein de l'organisme. L'étude des lésions post-mortem présentes dans le SNC des patients DFT, DFT-SLA ou SLA, a permis de mettre en évidence un effet de diffusion des protéines mal conformées ou agrégées d'un point focal aux zones alentours. Cette régionalisation est co-occurrence à la diversification des symptômes du patient au cours de la maladie, ainsi qu'à une dégénérescence cellulaire dont le degré de sévérité est inversement proportionnel à la distanciation du point focal (Ravits, Paul, and Jorg 2007). Cet élément représente un argument quant à la possibilité des protéines agrégées ou mal conformées d'induire la pathogénèse, en induisant un effet toxique puisqu'elles peuvent diffuser de cellule en cellule et convertir les protéines endogènes et natives en protéines pathologiques. Par ces modulations, l'effet sera aussi perte de fonction puisque la protéine native sera déplétée du noyau et n'y exercera plus ses fonctions. Plusieurs facteurs peuvent jouer dans la

transmission toxique des protéines, par exemple la réversion possible ou non de l'assemblage des protéines non-natives, l'efficacité avec laquelle les précurseurs polypeptidiques sont recrutés au sein des agrégats, la résistance des agrégats face à la machinerie de clairance cellulaire (protéasome, autophagie) et l'efficacité avec laquelle les agrégats peuvent se transmettre aux cellules environnantes (Brundin, Melki, and Kopito 2010).

De plus la nature de l'espèce protéique toxique est encore débattue. Sous quelle forme ? Soluble ? Agrégée ? Assemblées dans des granules de stress ? A ce jour il n'y a pas encore de réponses, mais une multitude d'hypothèses. Certains ont proposé que l'agrégation des protéines pouvait être un mécanisme compensatoire de la cellule afin de limiter le stress induit par l'augmentation d'espèces protéiques solubles ou oligomériques au sein du cytoplasme, et ainsi limiter la toxicité (Figure 57) (Carija et al. 2017). Ainsi il est possible que les conformations oligomériques protéiques soient les plus toxiques. Elles correspondent à des formes protéiques non fibrillaires, multimériques et solubles (Haase et al. 2004; Ghag et al. 2018).

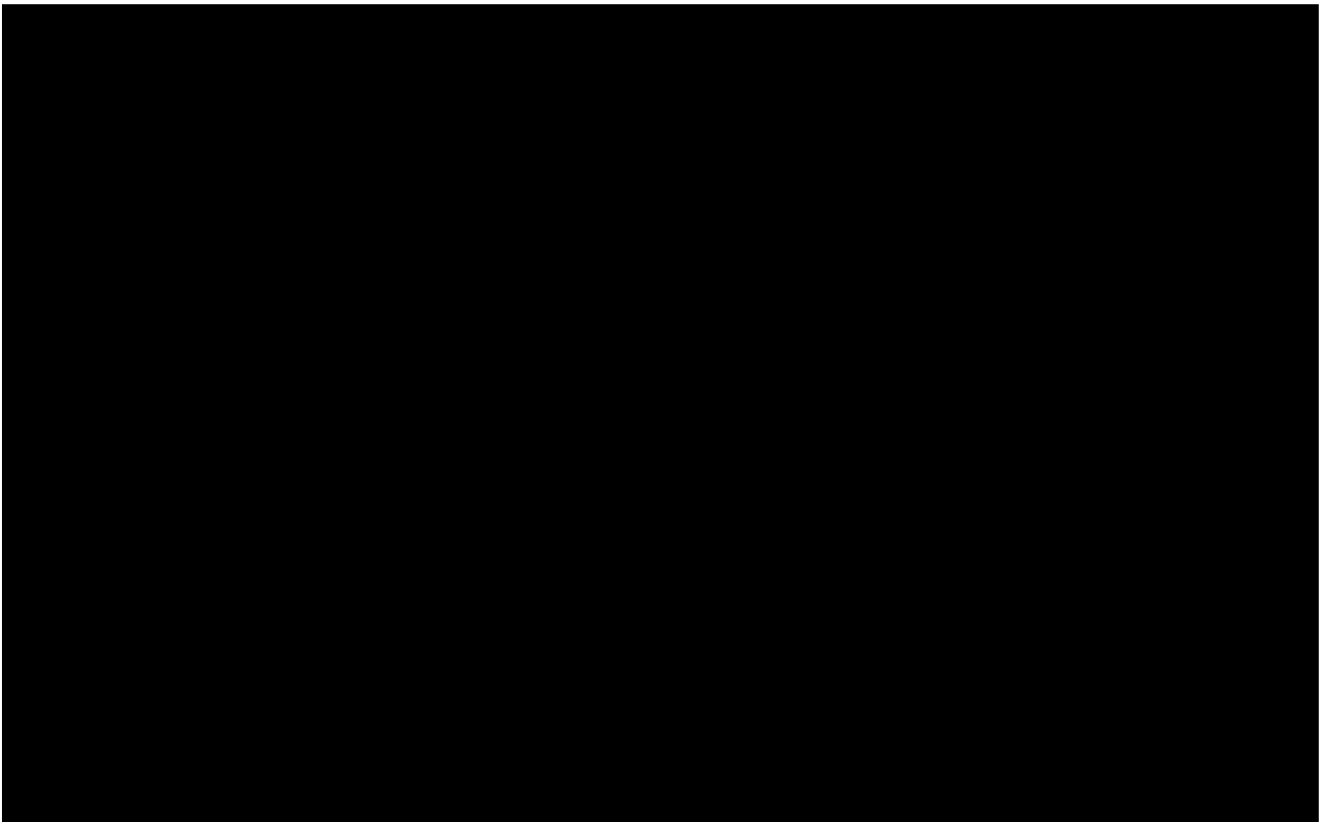


Figure 57. La séparation de phases contribue à l'assemblage, à la dynamique des organites sans membrane. Toutefois, le positionnement étroit des domaines de faible complexité risque d'entraîner des changements de conformations et agrégations protéiques. D'après (J. P. Taylor, Brown, and Cleveland 2016).

b) Autophagie et transport vésiculaire

L'autophagie fait partie des mécanismes biologiques pouvant être dérégulés et associés aux DFT, DFT-SLA ou SLA. Il s'agit d'une voie de dégradation des composants cellulaires (y compris des organelles entiers) comportant 4 phases : initiation/nucléation, formation de l'autophagosome, maturation, la libération/recyclage.

Plusieurs gènes dont les mutations ont été associés aux DFT/SLA codent des protéines ayant des fonctions directes dans la dégradation protéique. C'est par exemple le cas de *l'ubiquiline 2*, de *SQSTM1*, de *l'optineurine*, de *VCP*, de *CHMP2B*, de *VAPB*...Ensemble de gènes exerçant des fonctions tout au long de la voie autophagique ou de dégradation UPS-protéasome.

Depuis quelques années, les fonctions de C9ORF72 sont de mieux en mieux décrites. Il se trouve que celles-ci concernent également l'autophagie puisque cette protéine est capable de réguler les Rab GTPases qui elles-mêmes interviennent dans le trafic vésiculaire, la voie endolysosomale et l'autophagie. La progranuline intervient également dans les processus de dégradation protéique puisqu'elle a été montrée comme exerçant des fonctions de régulation enzymatique au sein des lysosomes (Figure 58).

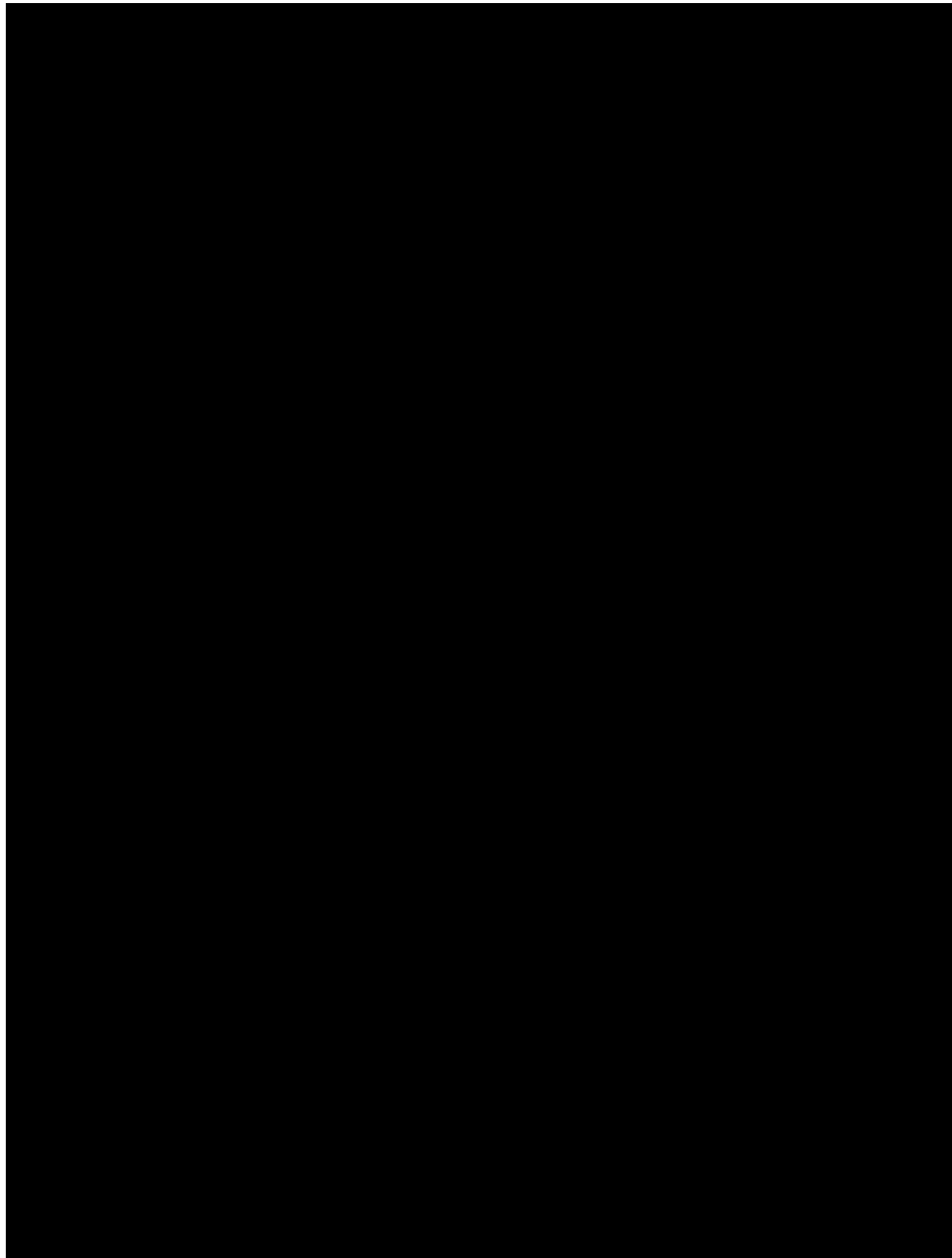


Figure 58. Représentation des différentes fonctions des protéines impliquées dans les DFT/SLA dans les voies de dégradation cellulaire... D'après (Götzl et al. 2014).

Ainsi, il apparait presque évident, que des mutations apparaissant dans les gènes précédemment cités vont entraîner, par des mécanismes pertes de fonctions principalement, des dérégulations de ces voies de dégradation et de recyclage, nécessaires au bon fonctionnement cellulaire.

Par ailleurs, il est également probable que l'accumulation des protéines mal conformées de type Tau, SOD1, TDP-43 soit dépendantes d'un blocage de ces voies. Parallèlement, il est aussi possible que ces accumulations et agrégations protéiques soient plutôt à l'origine d'une perturbation de ces systèmes (Urwin et al. 2010).

Aussi, dans un modèle murin exprimant la protéine SOD1 mutée, il a été mis en évidence une diminution de l'activité du protéasome pré-symptomatique dans la moelle épinière lombaire. Cette diminution d'activité a également été rapportée après expression de la protéine mutée SOD1 dans une lignée cellulaire neuronale (Almeida and Gao 2016; J. P. Taylor, Brown, and Cleveland 2016).

De plus, par les pertes de fonctions de protéines de liaison à l'ARN, il est possible que la traduction des protéines nécessaires à l'autophagie ne soit pas régulée correctement entraînant des dysfonctionnements. En effet, TDP-43 a été mise en évidence comme stabilisant l'ARNm de la protéine adaptatrice de mTOR nommée raptor. Ainsi, une diminution d'expression de TDP-43 par invalidation dans des cellules neuronales mène à une perte d'expression de raptor compromettant l'activité de mTOR et menant à la déphosphorylation du facteur de transcription TFEB. Celui-ci régule physiologiquement l'expression de gènes impliqués dans la biogénèse lysosomale et dans l'autophagie (Cheng, Lin, and Shen 2015). Par cette observation, TDP-43 semble intervenir dans une boucle de régulation négative, où une perte d'expression de la protéine ou une mutation empêchant sa fonction physiologique induit une perturbation de l'autophagie, qui elle-même si elle est dérégulée, va amplifier les phénomènes d'agrégation protéique (Casterton, Hunt, and Fanto 2020) (Figure 59).

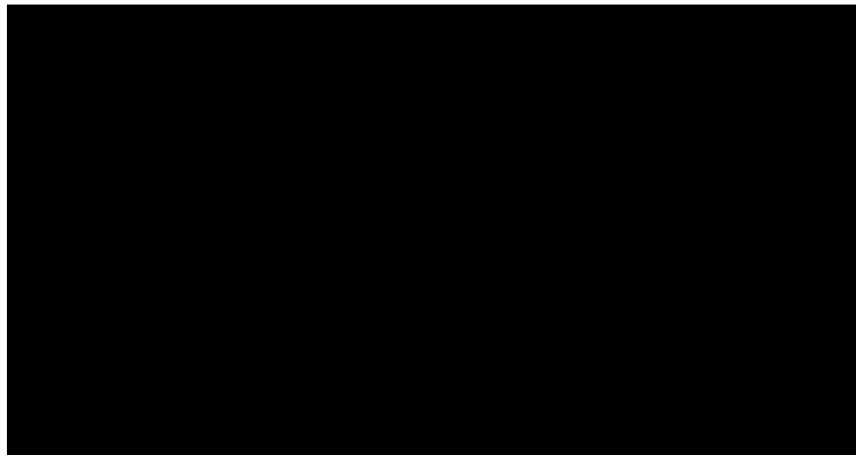


Figure 59. Illustration d'un lien entre autophagie et agrégation protéique. Si les protéines de liaison à l'ARN possédant un domaine LCD sont trop concentrées dans les granules de stress, elles peuvent changer de conformation et devenir insoluble. La machinerie de dégradation sera inefficace. En parallèle, si l'autophagie n'est pas efficace, alors les protéines ne seront pas dégradées de façon efficace, elles s'agrègeront alors. D'après (Sobue et al. 2018).

Le système pourrait lui aussi être saturé face à la transmission prion-like des espèces pathologiques protéiques. Ces espèces étant résistantes aux protéases et aux détergents, il n'est pas aberrant que les systèmes de dégradation classiques soient

inefficaces face à ces protéines anormales. Pour supporter ces hypothèses d'une défaillance collaborative des mécanismes cellulaires, les protéines p62 et ubiquitine sont retrouvés dans une majorité des cas d'inclusions protéiques dans les cerveaux post-mortem des patients SLA, DFT et DFT-SLA (Mizielinska et al. 2013; Snowden et al. 2015; Ljubenkov and Miller 2016).

c) Neuroinflammation dans les DFT/SLA

Les observations neuropathologiques et d'imagerie clinique chez les patients, précédemment évoqués dans la partie I.3.C.ii (p38) ont permis de mettre en lumière la contribution d'événements neuroinflammatoires dans les DFT/SLA. De plus, l'étude des modèles murins reproduisant la perte de fonction des protéines C9ORF72 et PGRN a mis en exergue le rôle immunitaire de ces protéines (Atanasio et al. 2016; J. G. O'Rourke et al. 2016; Nguyen et al. 2018).

La protéine TDP-43 représente un stigmate neuropathologique associé aux mutations C9ORF72 et GRN. Dans d'autres maladies neurodégénératives, les protéines mutées, mal conformées ou agrégées pourraient être responsables de modifications fonctionnelles des cellules microgliales, en induisant par exemple une réduction des capacités de motilité et de phagocytose *in vivo* comme cela est le cas pour les dépôts β -amyloïdes dans la MA (Krabbe et al. 2017; 2013). Ces modifications microgliales pourraient résulter de leur activation par les protéines anormales, via la voie de signalisation immunitaire de l'inflammasome NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3) (Heneka, McManus, and Latz 2018) (Figure 60).

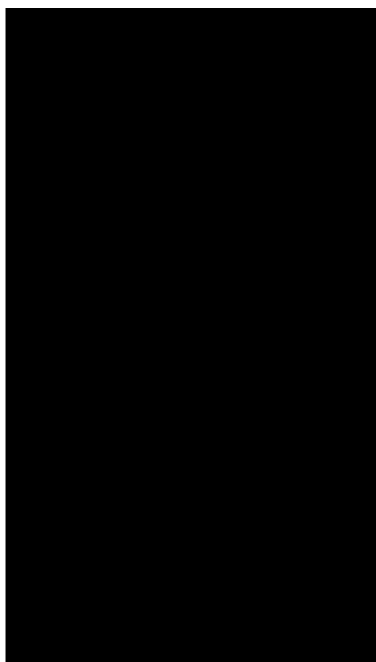


Figure 60. Représentation du complexe inflammasome NLRP3. L'inflammasome est composé d'un senseur (NLR), d'un adaptateur (ASC) et d'une enzyme (pro-caspase-1). D'après (Malik and Kanneganti 2017).

Il s'agit du premier inflammasome étudié dans le cerveau, notamment dans des cas pathologiques incluant la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique, et dans des infections virales du SNC (Martinon, Burns, and Tschopp 2002; Storek and Monack 2015). L'inflammasome NLRP3 est principalement exprimé par les microglies dans le SNC, mais pas seulement puisque son activation a par exemple, été décrite dans les oligodendrocytes de souris après exposition prénatale au dexaméthasone, un agoniste du récepteur aux glucocorticoïdes ; ou dans les astrocytes de modèles murins pathologiques (Jialei Zhu et al. 2018; Feng et al. 2019).

Bien que NLRP3 soit l'inflammasome le plus communément étudié, d'autres inflammasomes dans le SNC peuvent être impliqués dans la progression de pathologies neurodégénératives, par exemple : NLRP1, NLRP2, NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4, aussi connu comme protease ICE activating factor IPAF) et AIM2 (Voet et al. 2019; P. J. Wu et al. 2017). Ces complexes protéiques inflammasomes se comportent de façon très similaire. Ainsi l'activation des différents senseurs qui les constituent, conduit à une première étape d'oligomérisation, puis à la formation de complexes multiprotéiques servant eux-mêmes de plateformes permettant l'activation d'une caspase. Quelques différences sont toutefois majeures. Par exemple, les complexes NLRP1 et NLRC4 peuvent activer la caspase-1 sans avoir recours à la protéine ASC (adapter protein apoptosis associated speck-like protein

containing a CARD) (Figure 61) (Malik and Kanneganti 2017). Pour les inflammasomes dépendants de ASC, un mécanisme additionnel a été identifié.

Le processus n'est pas encore compris clairement mais des agrégats appelés « speck » de la protéine ASC peuvent se former et être libérés dans le milieu extracellulaire par la microglie, une fois activée. Il est possible que ce signal agisse comme amplificateur d'activation (X. Liu et al. 2016; Dick et al. 2016).

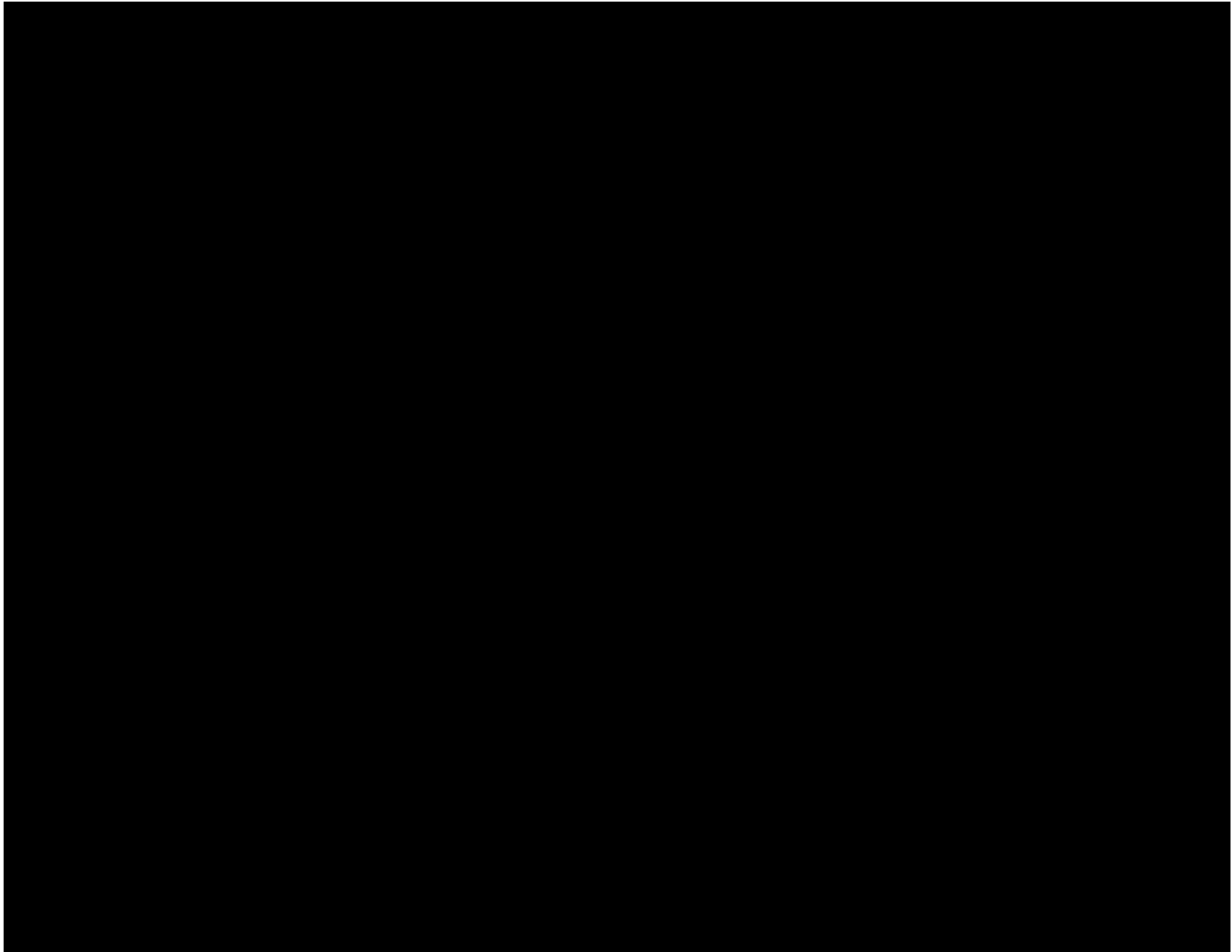


Figure 61. Illustrations des différents inflammasomes. D'après (Hayward et al. 2018).

L'activation de l'inflammasome NLRP3 peut s'exécuter de deux façons différentes : par la voie canonique, ou la voie non-canonique.

→ Canonique

Deux signaux sont nécessaires à l'activation de cette voie. Tout d'abord un signal initiateur permettant d'activer en premier lieu la voie NFkB qui permettra la surexpression des composants du future complexe NLRP3. Le second signal a pour

rôle d'initier les modifications conformationnelles et l'assemblage de ce complexe (NLRP3 – ASC – pro-caspase-1).

Différents modes d'activation, c'est-à-dire de seconds signaux, semblent pouvoir se mettre en place, par exemple :

- i. Formation de pores dans la membrane cellulaire et efflux de potassium K^+ .
- ii. Rupture lysosomale et libération de cathepsines dans le cytosol
- iii. Dysfonction mitochondriale et production de ROS
- iv. Modification post-traductionnelles de NLRP3 ou interacteurs, incluant une déubiquitination (Kelley et al. 2019)

Une fois formé, l'inflammasome NLRP3 permettra la maturation de la caspase-1. Cette dernière pourra alors cliver les pro-cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-18 afin qu'elles soient sécrétées dans le milieu extracellulaire et permettent le recrutement d'autres cellules ou d'induire une mort des neurones dysfonctionnels. D'autre part, la caspase-1 active pourra induire la maturation de la Gasdermin D, dont la partie N-terminale formera des pores à la membrane conduisant à une mort cellulaire par pyroptose.

→ Non-canonique

Cette voie non-canonique a été mise en évidence pour la première fois par Kayagaki et al, en 2011 (Kayagaki et al. 2011). A la différence de la voie canonique, en amont de la caspase-1, elle recrute également la caspase-11 murine ou ses orthologues humains, les caspases 4 et 5 (Figure 62).

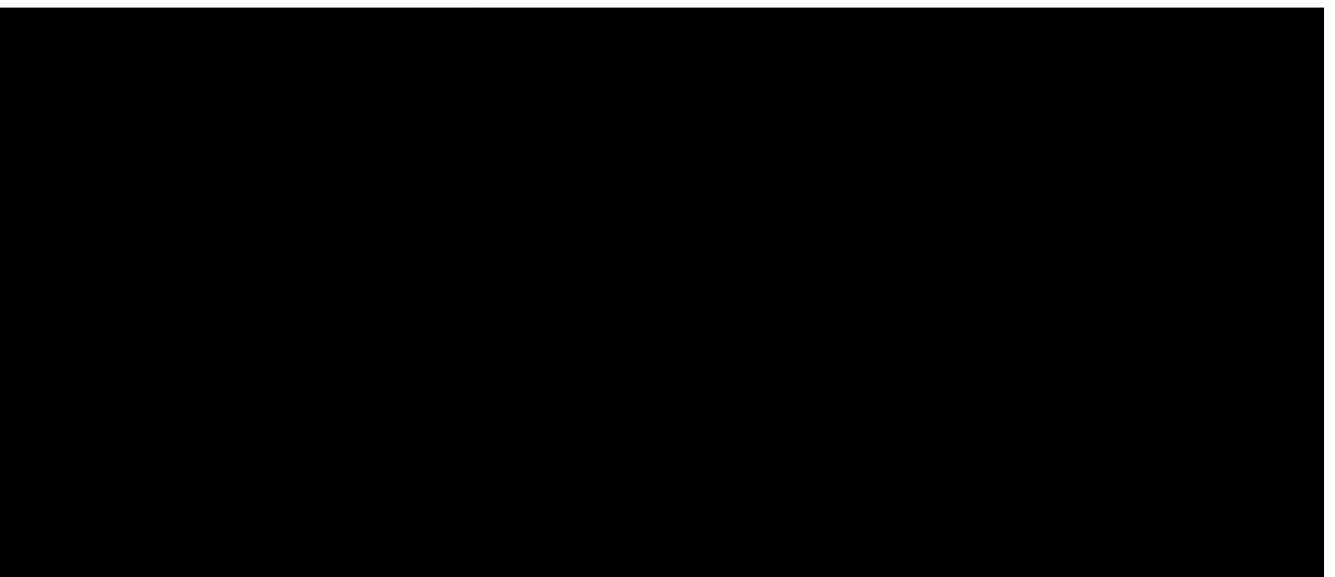


Figure 62. Comparaison des voies canonique et non-canonique de l'inflammasome NLRP3. D'après (Malik and Kanneganti 2017).

L'activation de l'inflammasome NLRP3 a été rapportée dans les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Heneka, McManus, and Latz 2018) et plus récemment dans des cas de SLA (Johann et al. 2015a) mais pas encore dans les DFTs bien que des résultats récents *in vitro* suggèrent que les agrégats protéiques caractéristiques des DFTs type Tau et TDP-43 pourraient activer l'inflammasome NLRP3 (Stancu et al. 2019a; Zhao et al. 2015).

De façon intéressante, il a été démontré qu'un lien direct existait entre autophagie et inflammasomes (C. S. Shi et al. 2012). En effet, l'assemblage des plateformes protéiques AIM2 et NLRP3 peut induire la mise en place de l'autophagie. De plus, par son activité de dégradation des constituants de l'inflammasome, l'autophagie participe à leur régulation (Zhong et al. 2016) (Figure 63).

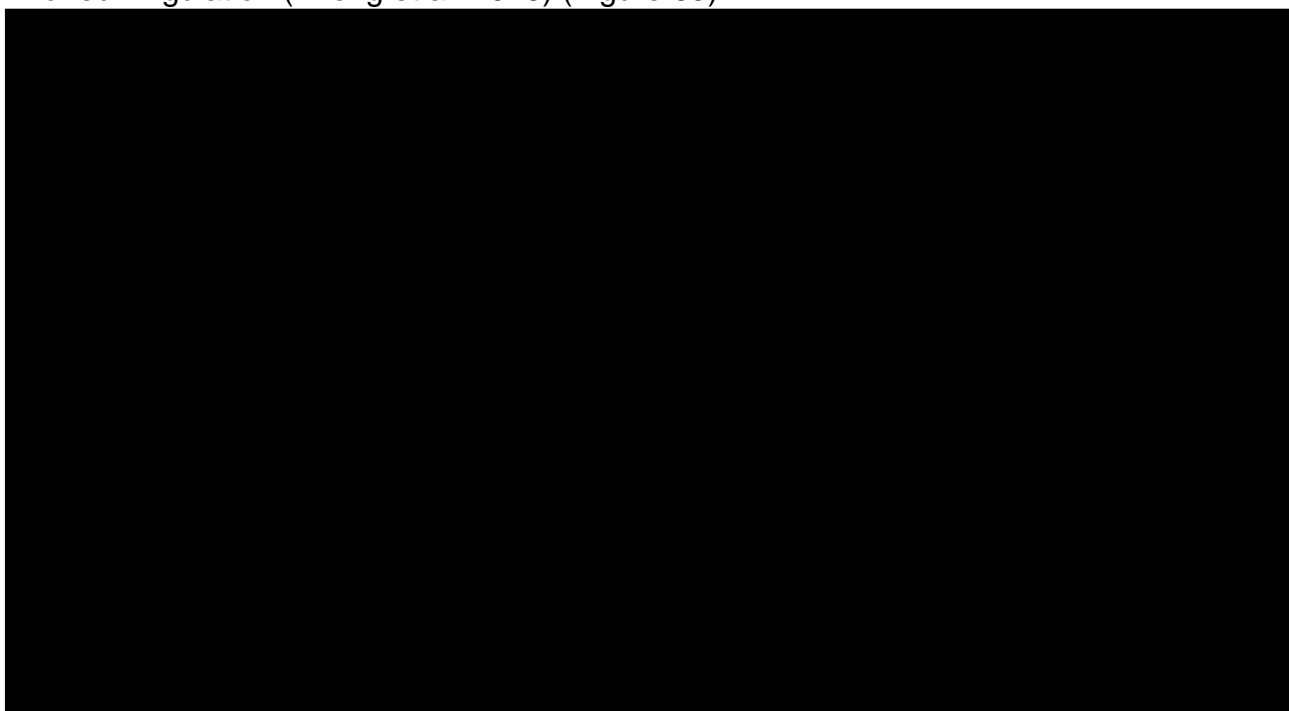


Figure 63. Hypothèse concernant les liens de rétroaction entre autophagie et inflammasome NLRP3. L'activation des TLRs résulte en l'activation du facteur de transcription NF- κ B. Celui-ci permet la régulation de NLRP3 et de pro-IL-1 β . Les ROS et ADN mitochondriaux peuvent entraîner l'activation et l'oligomérisation de NLRP3 ainsi que le recrutement de ASC. Cela va entraîner l'activation de la caspase-1 qui va à son tour activer l'IL-1 β . L'autophagie est aussi induite par la signalisation des TLRs, parallèlement à l'inflammasome. L'autophagie va ainsi permettre la régulation de l'inflammasome en dégradant/recyclant les activateurs (mitochondries), les complexes inflammasomes et sous-unités (ASC), les substrats (pro-IL-1 β). En l'absence d'autophagie, les mitochondries endommagées peuvent s'accumuler et activer l'inflammasome menant à la dérégulation de la sécrétion d'IL-1 β . D'après (Merkley et al. 2018).

Il a aussi été mis en évidence qu'une inhibition de l'autophagie dans des monocytes humains conduit à une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires

dans le milieu extracellulaire et une accumulation de p62 dans les monocytes (C. S. Shi et al. 2012)

Même si leurs fonctions précises dans l'inflammation sont encore peu comprises, nous savons que C9ORF72 et PGRN présentent toutes deux des fonctions dans les voies endolysosomales et autophagiques (Corrionero and Horvitz 2018; Holler et al. 2017). Ces voies de dégradation sont primordiales pour l'activité de cellules phagocytaires. Puisque les niveaux d'expression de C9ORF72 et PGRN sont élevés dans les macrophages et cellules microgliales en conditions physiologiques (Rizzu et al. 2016b), il est possible qu'une perte de fonction de ces protéines perturbent les voies de dégradation lysosomale au sein des cellules microgliales, menant à une dérégulation immunitaire.

Des hypothèses neuroinflammatoires spécifiques aux mutations *C9ORF72*, prenant en compte à la fois les effets perte de fonction et gain de fonction co-existants, ont été proposées et sont résumées dans le schéma suivant (Figure 64). Dans les cellules neuronales, l'aspect gain de fonction entraîne la formation de foci d'ARN et de DPRs, et contribuera à la toxicité et dégénérescence neuronale autonome cellulaire (McCauley and Baloh 2019). Dans les microglies la perte de fonction de C9ORF72, par des mécanismes non encore identifiés mais potentiellement liés aux perturbations de la voie endo-lysosomale, rend les cellules hyper-activées, créant alors un environnement toxique pour les neurones.

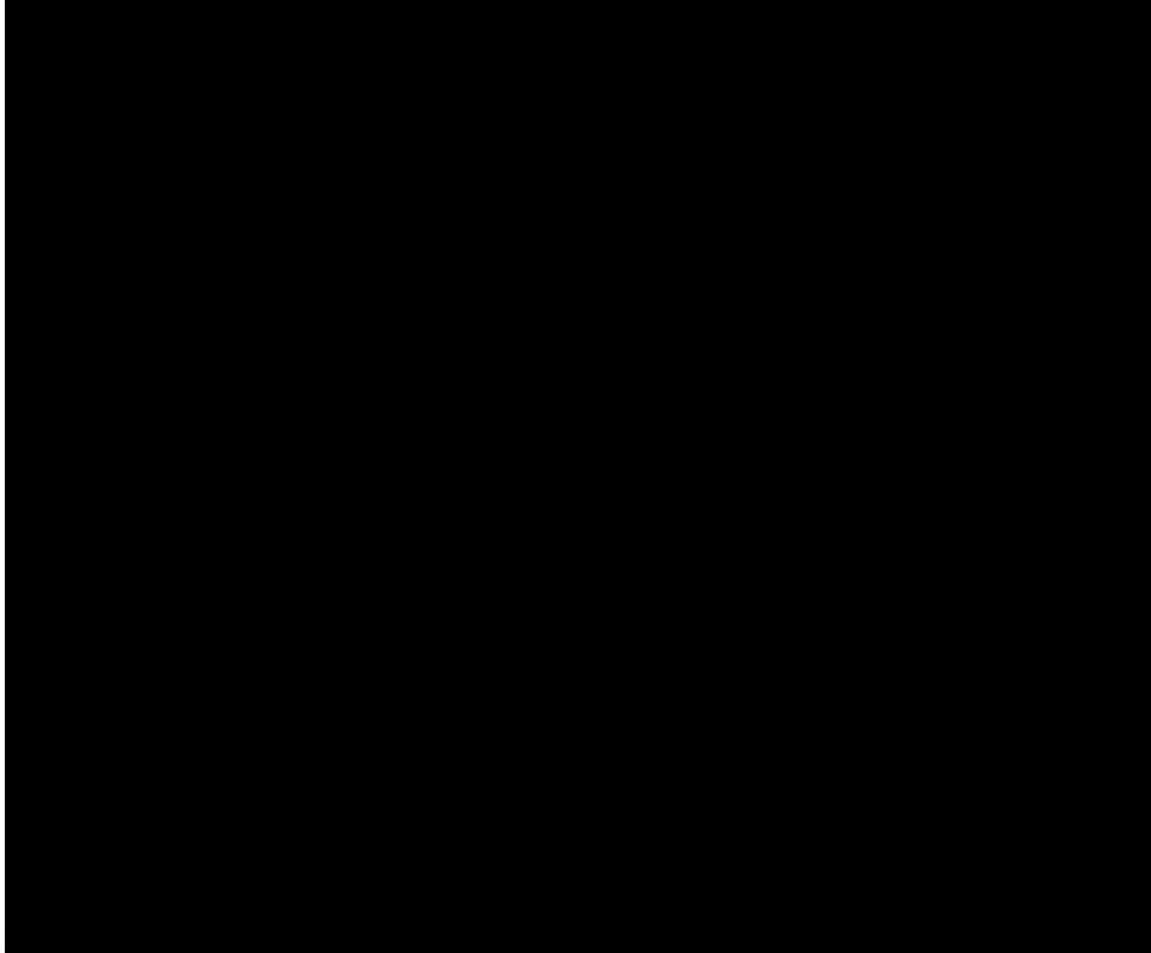


Figure 64. Hypothèse d'une coopération des effets gain et perte de fonction de la protéine C9ORF72 à la fois dans neurones et glie, contribuant à la neurodégénérescence. D'après (McCauley and Baloh 2019).

La perte de fonction de la progranuline pourrait avoir ce même rôle pro-inflammatoire par une dérégulation de fonction lysosomale. La microglie hyper-activée pourra alors également contribuer à un dysfonctionnement et une mort neuronale (Kao et al. 2017).

D. Hypothèses et Objectif de la thèse

Dans les maladies neurodégénératives, l'étude de la neuroinflammation est en pleine expansion depuis quelques années. Il est maintenant connu et admis que les protéines mal conformées ou agrégées telles que l'A β ou l' α -synucléine respectivement dans les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Codolo et al. 2013; Lučiūnaitė et al. 2020; Schnaars, Beckert, and Halle 2013), peuvent activer les cellules microgliales par la voie de l'inflammasome NLRP3. Lors de mon master 2 et de ma première année de thèse, deux publications ont montré que la protéine TDP-43 sous différentes formes pouvait également activer la microglie par la voie de l'inflammasome NLRP3 (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017). Cependant les mécanismes de cette activation était peu clair et son lien réel avec la maladie restait à étudier.

Ce projet de thèse s'est inscrit dans le cadre d'un consortium européen InCure (InCure n.d.) regroupant 6 équipes partenaires. Ce consortium a pour but de mettre en évidence les voies d'activations microgliales communes dans différentes maladies neurodégénératives, à savoir maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, démences fronto-temporales.

Les questions posées étaient multiples :

Les agrégats protéiques caractéristiques de différentes maladies neurodégénératives peuvent-ils activer les cellules microgliales ? Quelles sont les voies de signalisation activées par la microglie dans les différentes maladies neurodégénératives ? Quels sont les impacts de cette activation microgliale sur les neurones ? Les voies de signalisation identifiées dans les modèles *in vitro* ou murins *in vivo* sont-ils les mêmes que chez l'homme ? Enfin à terme, ces voies identifiées, peuvent-elles être utilisées à des fins thérapeutiques ou pour établir des biomarqueurs ?

Dans le contexte des formes familiales de DFT et DFT/SLA, un constat majeur est que les mutations *C9ORF72* et *GRN* rendent les cellules microgliales plus réactives si on les compare aux cellules microgliales WT, et des niveaux anormalement élevés de cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-1 β ont été détectés dans les modèles animaux déficients en *C9orf72*^{-/-} et en *Grn*^{R493X/R493X} (J. G. O'Rourke et al. 2016; Atanasio et al. 2016; Lui et al. 2016; Nguyen et al. 2018; Viodé et al. 2018). L'agrégation de TDP-43 est commune aux DFT/SLA-*C9ORF72* et aux DFT-*GRN* et la sécrétion d'IL-1 β est caractéristique de l'activation des inflammasomes. La régulation de l'activité de l'inflammasome NLRP3 est par ailleurs sous le contrôle de la voie de l'autophagie (Aflaki et al. 2016; Kinnunen et al. 2017; Q. Sun et al. 2017). Ainsi, les mutations *C9ORF72* et *GRN* étant connues pour entraîner un dysfonctionnement des lysosomes et/ou une autophagie défectueuse pourrait agir en synergie avec les agrégats de protéine TDP-43 pour déclencher dans les cellules microgliales une activation pro-inflammatoire chronique majeure. Le but de cette thèse a été d'étudier cette hypothèse et de caractériser les mécanismes cellulaires en jeu et leur relevance par rapport à la maladie.

Ainsi, dans le but d'identifier un mécanisme biologique commun à différentes formes de DFT, nous nous sommes demandé si les mutations *C9ORF72* et *GRN* pouvaient agir sur l'activation de cette voie microgliale par TDP-43 et si oui, comment ?

Afin de répondre à ces questions, nous avons mis en place un modèle de culture primaire de cellules microgliales WT, *Nlrp3*^{-/-}, *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X}, et avons choisi de travailler avec la protéine TDP-43 humaine recombinante. Le but étant dans premier temps de décrypter les mécanismes d'activation microgliale par TDP-43 dans les cellules WT. Puis de comparer la réactivité des cellules mutantes aux cellules WT. Ainsi, après avoir mis en évidence l'agrégation spontanée de TDP-43, nous avons stimulé les microglies avec cette protéine et avons analysé la réponse immunitaire par dosage des cytokines secrétées. En parallèle, nous avons extrait l'ARN des cellules stimulées par TDP-43 afin de les faire séquencer au sein du consortium INCURE, et ainsi comparer les voies d'activations entre les différents modèles de maladies neurodégénératives. Afin d'effectuer aussi cette comparaison *in vivo* nous avons importés des modèles murins Wild-type, *C9orf2*^{-/-} et *Nlrp3*^{-/-}, et nous avons généré des souris *C9orf72*^{-/-} x *Nlrp3*^{-/-} afin d'extraire les microglies de cerveaux murins adultes (4mois, 6mois, 12mois).

Nous avons aussi voulu nous assurer que les mécanismes identifiés dans ces situations de perte de fonction totales de *C9ORF72* et *GRN* sont bien en jeu dans le réel contexte physiopathologique où les cellules humaines présentent seulement une haploinsuffisance. Pour cela nous avons commencé à mettre en place un modèle de culture de *MDMi* (Monocyte Derived Microglia induced) à partir de prélèvements sanguins de patients DFTs. Cela nous a ainsi permis d'étudier la réactivité des cellules d'individus porteurs de mutations *C9ORF72* et *GRN* hétérozygotes et de valider les observations effectuées précédemment sur les cellules murines.

Parallèlement, nous avons aussi souhaité nous approcher d'un stimulus plus physiologique. En effet, la protéine recombinante TDP-43 s'agrège certes, mais elle ne comporte ni ARN partenaire, ni modifications post-traductionnelles. Nous avons tenté de mettre en place des méthodes d'extraction d'agrégats TDP-43 directement à partir de cerveaux post-mortem. Pour cela, nous avons essayé par technique de fractionnement, d'une part d'isoler les fractions protéiques insolubles et résistantes aux détergents, d'autre part d'isoler les vésicules extracellulaires du liquide interstitiel. En complément, comme les protéines pourraient être sécrétées par ces vésicules et qu'elles sont plus simples à isoler à partir de plasma frais, nous avons commencé à mettre en place des techniques d'isolement à partir de ce fluide biologique.

II. RESULTATS

A. TDP-43 active les cellules microgliales

Afin de répondre aux différentes problématiques *in vitro*, nous avons mis en place un modèle de cultures primaires de microglies murines. Dans un premier temps, nous avons souhaité répliquer les résultats préalablement publiés (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017) c'est-à-dire montrer que la protéine TDP-43 était capable d'activer les cellules microgliales. Pour cela nous avons choisi d'utiliser la protéine TDP-43 recombinante humaine et de l'utiliser à quatre concentrations croissantes : 100ng/mL ; 500ng/mL ; 2,5µg/mL ; 5µg/mL, puisque les concentrations protéiques utilisées dans les deux publications précédemment citées, qui permettent de voir un effet sur les cellules, correspondaient à 500ng/mL (Zhao et al. 2015) et 2,5µg/mL (Leal-Lasarte et al. 2017). Cette protéine a la particularité de s'agréger spontanément (B. S. Johnson et al. 2008; Furukawa et al. 2011) dans le milieu de culture (Annexe 1A) pour former des structures granulo-fibrillaires comme observé par microscopie électronique (Figure 65A). Bien que la structure des agrégats TDP-43 observés chez les patients soit encore très mal connue et controversée, on sait qu'il ne s'agit pas de structures fibrillaires amyloïdes et les agrégats que nous obtenons *in vitro* les rappellent fortement (Nishihira et al. 2008; F. Mori et al. 2008; M. Neumann et al. 2006).

Lorsque les cellules microgliales sont exposées à ces agrégats TDP-43, nous observons un changement de morphologie de ces cellules marquées par un anti-CD11b (protéine composant le récepteur aux compléments CR3 présent à la membrane des cellules microgliales (Korzhevskii and Kirik 2016)) qui présentent un profil plus étalé, avec moins de ramifications, suggérant une activation par TDP-43 (Figure 65B). Aucune variation significative du nombre de cellules microgliales (due à une prolifération ou une mort cellulaire) n'a été observée suite à la stimulation par TDP-43 (Annexe 1D). Pour pouvoir distinguer la protéine TDP-43 endogène de la protéine recombinante, cette dernière est associée à une étiquette poly-histidine. Ainsi par marquage anti-histidine, nous pouvons visualiser la protéine ajoutée artificiellement au système d'étude. Celle-ci apparaît sous forme de « paquets », augmentant en nombre et en taille en fonction de la concentration de protéine TDP-43 utilisée, parsemés sur les cellules microgliales (Figure 65B et Annexe 1A).

Nous avons choisi dans cette étude d'utiliser deux contrôles d'activation microgliale :
1/ un contrôle négatif : l'urée à 2mM appelé « vehicle », car la protéine TDP-43 recombinante est initialement en suspension à 1µg/µL dans de l'urée à 0,4 M (afin de la maintenir soluble) ce qui signifie qu'à sa plus faible dilution il restera 2mM d'urée dans le milieu ; 2/ un contrôle positif d'activation de l'inflammasome NLRP3 : LPS (lipopolysaccharide) 50ng/mL + Nigéricine 2,5µM.

Après 16h ou 24h de stimulation, nous avons pu mettre en évidence, par dosage ELISA des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-1β sécrétées dans le milieu de culture, augmentant avec les doses croissantes de TDP-43 utilisées. Cependant, à partir de la dose de 2,5µg/mL, il semble que l'on atteigne le maximum de sécrétion d'IL1β provoquée par les agrégats TDP-43 puisque la sécrétion d'IL-1β n'augmente pas notablement quand elles sont stimulées par TDP-43 à la concentration de 5µg/mL (Figure 65C).

Comme la protéine recombinante a été produite chez E.coli nous avons voulu nous assurer que les effets observés découlaient bien de la protéine TDP-43 elle-même et non d'une contamination par les endotoxines bactériennes. Ainsi nous avons choisi d'utiliser le PMBS (Polymyxin B sulfate), qui en se fixant au lipide A du lipopolysaccharide (LPS) bactérien, va empêcher sa fixation au TLR4, son récepteur d'affinité sur la membrane microgliale (Figure d'annexe 1B). Après application de cet inhibiteur, nous pouvons observer que la concentration d'IL-1β sécrétée est inchangée après stimulation des cellules par TDP-43. La sécrétion induite par l'association LPS + nigéricine est quant à elle, totalement inhibée. C'est donc bien la protéine TDP-43 qui active les cellules microgliales.

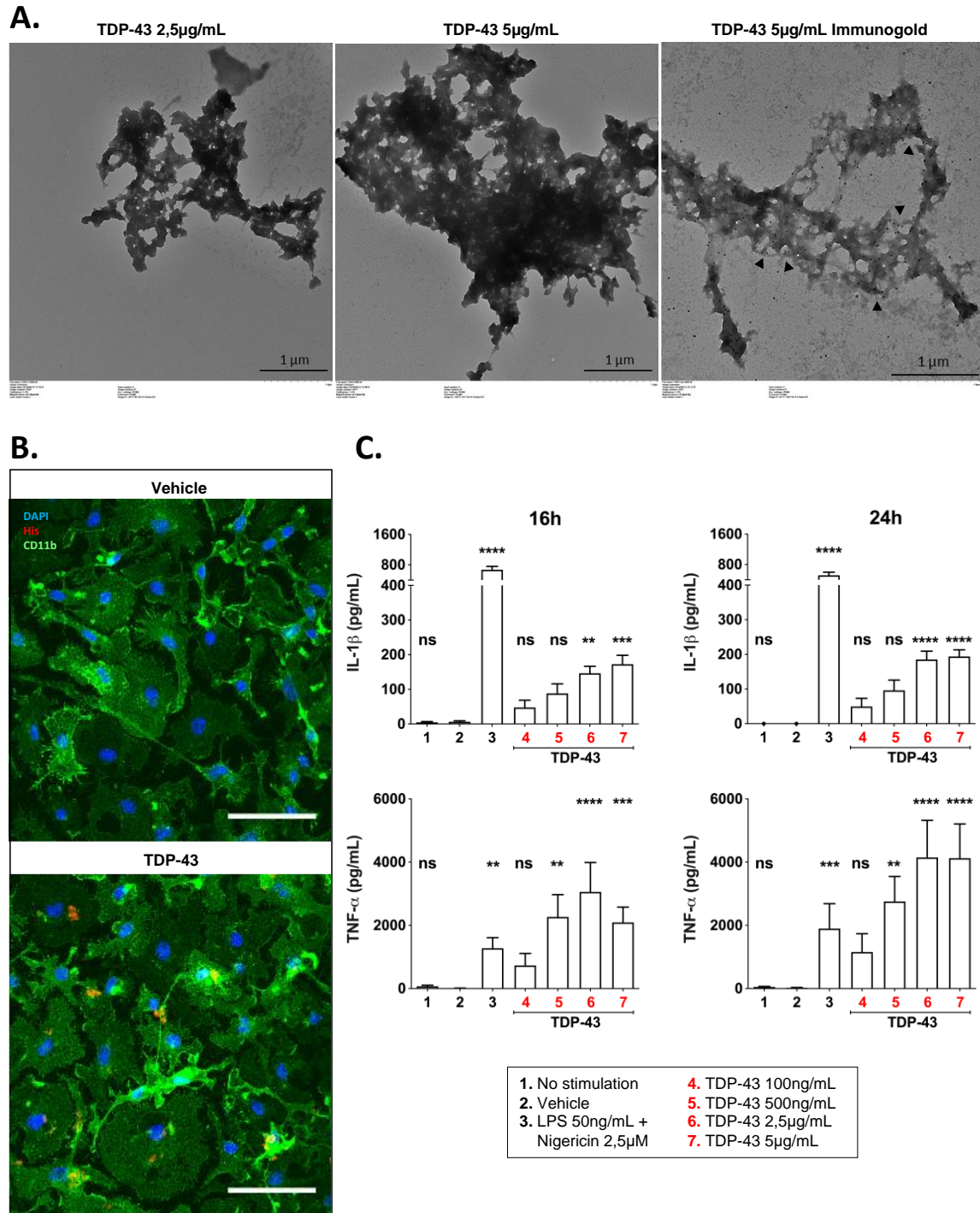


Figure 65. La protéine TDP-43 active les cellules microgliales WT. A) Image par microscopie électronique de la protéine recombinante TDP-43 qui s'agrège spontanément dans un milieu non réducteur. Par un marquage anti-TDP-43 couplé à des billes d'or (image de droite), nous confirmons que les structures observées correspondent à la protéine TDP-43. **B)** Analyse par microscopie confocale de la présence des amas de protéine TDP-43 par marquage anti-histidine (rouge) sur les cellules microgliales marquées par un anti-CD11b (vert). La morphologie des cellules microgliales est modifiée après stimulation par TDP-43. Échelle = 50µm. **C)** Les cellules microgliales sont traitées 16h ou 24h avec quatre concentrations de la protéine TDP-43 et des contrôles négatifs (urée 2mM) et positifs (LPS+nigéricine). A 16h et 24h, les stimulations aux concentrations 2,5µg/mL et 5µg/mL induisent l'augmentation significative de la sécrétion de cytokine pro-inflammatoire IL-1β. La sécrétion de cytokines TNF-α augmente elle aussi de façon significative après stimulation des cellules par TDP-43 aux 3 doses les plus fortes. (N ≥ 12) Test statistique Kruskal-Wallis non paramétrique, comparaison des différentes conditions à la condition 2. * p<0.05, **p<0.01 ns : non significatif.

B. L'activation des cellules microgliales par TDP-43 est NLRP3-dépendante

Puisque la sécrétion en IL-1 β augmente de façon conséquente après stimulation des cellules microgliales par TDP-43, nous avons voulu vérifier si cette activation était dépendante de l'inflammasome NLRP3 comme cela a été mis en évidence auparavant (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017). Nous avons choisi deux approches complémentaires, d'une part l'utilisation d'un inhibiteur de l'inflammasome NLRP3 et d'autre part le traitement de cellules Nlrp3^{-/-} avec TDP-43.

L'inhibiteur CRID3 (Cytokine release inhibitory drugs - CP-456,773 aussi connu sous le nom de MCC950) empêche l'oligomérisation du complexe NLRP3 et consécutivement, la maturation des cytokines pro-inflammatoires. Après application de cet inhibiteur et stimulation des cellules par TDP-43, la sécrétion d'IL-1 β est totalement inhibée. Cela montre que la sécrétion de cette cytokine consécutivement à une stimulation par TDP-43 est totalement dépendante de l'inflammasome NLRP3 (Figure 66A). Bien que cet inhibiteur soit considéré comme très spécifique de l'inflammasome NLRP3 par rapport aux autres inflammasomes, nous avons mis en place des cultures primaires de cellules microgliales Nlrp3^{-/-} afin de confirmer de façon absolue ce résultat. En effet, après stimulation des microglies Nlrp3^{-/-} par TDP-43, la sécrétion en IL-1 β est nulle (Figure 66B).

Pour confirmer l'activation de l'inflammasome NLRP3 par d'autres méthodes, nous avons voulu mettre en évidence l'activation des autres composants de cet inflammasome : les protéines ASC et la caspase-1. C'est par immunofluorescence que nous avons détecté la présence d'agrégats (aussi appelés « specks ») de la protéine ASC. En effet, après activation de l'inflammasome, cette protéine se regroupe sous forme de puncta au sein de la cellule, cet assemblage rapide et irréversible de la protéine aurait pour but de permettre la maturation d'une plus grande quantité de caspase-1 et agirait comme phénomène amplificateur (Sborgi et al. 2015; Lu et al. 2014; Kuri et al. 2017). Après stimulation des cellules microgliales par TDP-43, des specks ASC sont bien observés dans les microglies (Figure 66C).

En parallèle, j'ai tenté de mettre en évidence la caspase-1 clivée par Western-Blot dans le surnageant des cellules. En effet, une fois maturée, la caspase-1 est sécrétée (Shamaa et al. 2015; Scheiblich et al. 2017). Malgré de nombreuses mises au point,

j'ai eu des difficultés à faire fonctionner le marquage anti-caspase-1 sur membrane. Les quelques résultats préliminaires obtenus sont tout de même encourageants puisqu'ils nous laissent deviner la présence de caspase-1 mature dans le surnageant de cellules stimulées par TDP-43 (Annexe 1C).

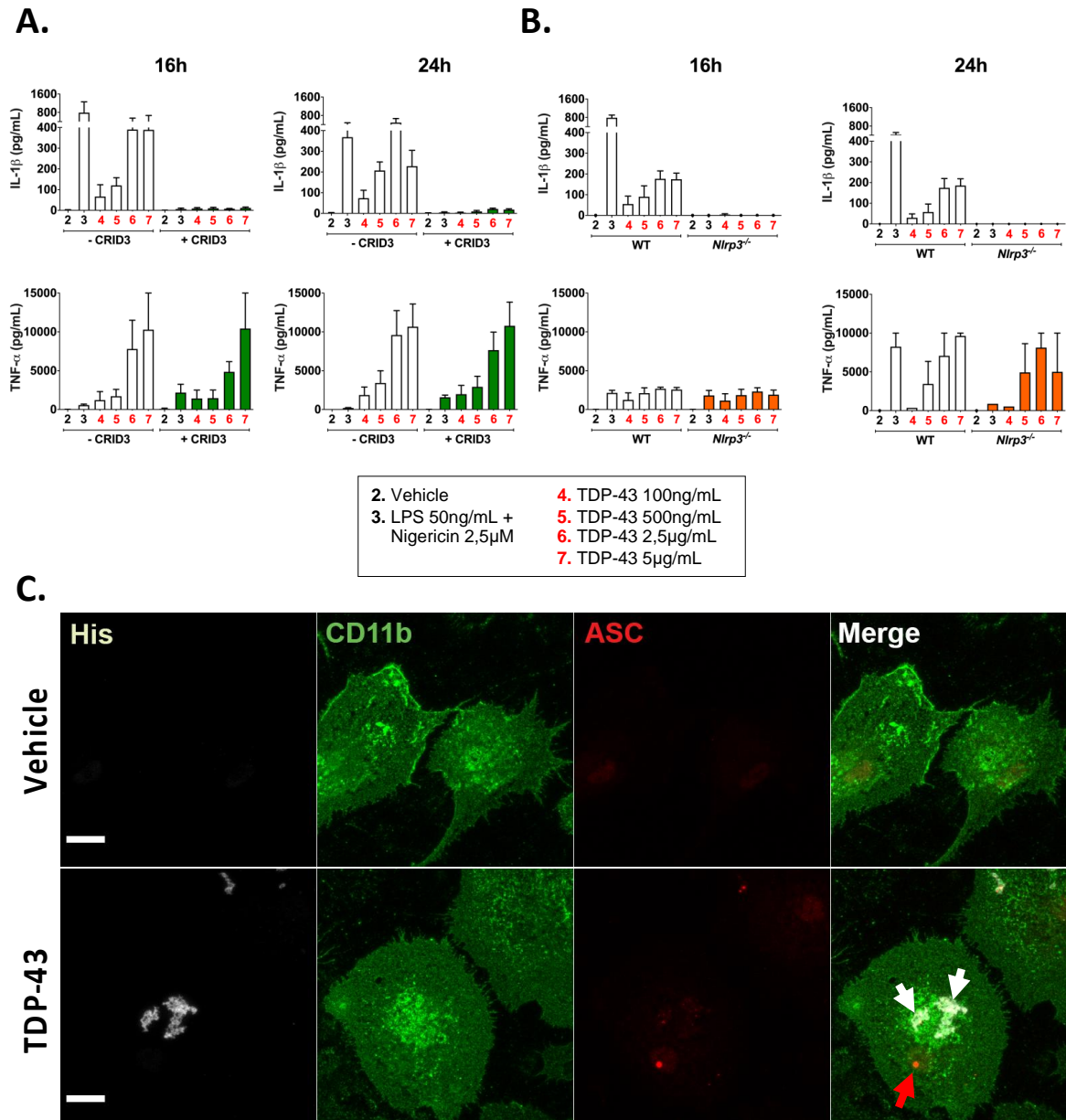


Figure 66. La protéine TDP-43 active l'inflammasome NLRP3. **A)** Les cellules microgliales ont été traitées ou non pendant 16h ou 24h avec CRID3, un inhibiteur de la voie de l'inflammasome NLRP3. Avec le traitement CRID3, la sécrétion d'IL-1 β est inhibée après stimulation des cellules par TDP-43. Ce n'est pas le cas pour la sécrétion de TNF- α . **B)** Les cellules microgliales *Nlrp3*^{-/-} ont été traitées avec les mêmes stimuli que les cellules WT. Après stimulation des cellules *Nlrp3*^{-/-} par TDP-43, aucune sécrétion d'IL-1 β n'a été mesurée en comparaison aux cellules WT. La sécrétion de TNF- α est quasi identique entre les cellules WT et *Nlrp3*^{-/-}. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (N \geq 3). **C)** Analyse Co-IF par microscopie confocale de CD11b (en vert), TDP-43 avec histidine-tag (His en blanc) et ASC (en rouge), avec ou sans stimulation de TDP-43 pendant 24H. Les agrégats de TDP-43 colocalisés avec CD11b sont indiqués par des flèches blanches ; les agrégats ASC par des flèches rouges. Échelle = 20 μ m.

C. L'activation microgliale par TDP-43 passe par une fixation de TDP-43 aux récepteurs TLR2/4, par son internalisation et l'activation de la caspase 1

Nous avons montré que TDP-43 activait les cellules microgliales par la voie de l'inflammasome NLRP3. Par la suite, nous avons voulu comprendre le mécanisme plus détaillé par lequel cette protéine était capable d'activer ces cellules.

Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, il a été montré que les récepteurs TLR2/4 étaient nécessaires pour la reconnaissance de la protéine amyloïde A β par la cellule microgliale, son internalisation et l'initiation de voies de signalisation (Erin G. Reed-Geaghan et al. 2009; Arroyo et al. 2011). Ces mêmes récepteurs TLR2 et TLR4 semblent pouvoir reconnaître l' α -synucléine et permettre sa phagocytose ainsi que la mise en place d'une réponse immunitaire dans des modèles cellulaires et murins de la maladie de Parkinson (C. Kim et al. 2013; Daniele et al. 2015; Fellner et al. 2013; Stefanova et al. 2011). Ces récepteurs semblent donc être de bons candidats pour la reconnaissance des protéines à conformation anormale ou agrégées, par les cellules microgliales. De plus, Zhao *et al.* (Zhao et al. 2015) a montré que TDP-43 pouvait activer la cellule microgliale par CD14, un co-récepteur des TLR2 et TLR4. Afin de mieux décrypter les mécanismes d'activation microgliale par TDP-43 dans notre modèle, nous avons choisi d'utiliser un inhibiteur des TLRs 2/4 : OxPAPC (Oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine). Il agit en bloquant la signalisation des TLR2 et TLR4 par compétition avec les protéines CD14, LBP and MD2 (Erridge et al. 2008). Nous l'utilisons sur les cellules microgliales que nous avons traitées avec nos stimuli classiques, c'est-à-dire urée, LPS 50ng/mL +Nigéricine 2,5 μ M et TDP-43 5 μ g/mL. Suite au traitement par l'OxPAPC, nous avons observé une diminution de la sécrétion d'IL-1 β après stimulation des microglies par le LPS 50ng/mL +Nigéricine 2,5 μ M. Cela s'explique par le fait que le LPS est un activateur connu du TLR4. Ainsi inhiber ce TLR induit donc une diminution de la réponse microgliale. Dans le cas de la stimulation des microglies par TDP-43, le traitement à l'OxPAPC inhibe totalement la sécrétion d'IL-1 β et de TNF- α , ce qui confirme que TDP-43 a besoin d'interagir avec TLR2 ou TLR4 pour activer les microglies (Figure 67A).

Après fixation aux récepteurs TLR2/4, les protéines pathogènes comme l'A β sont internalisées par les cellules microgliales (J. Yang, Wise, and Fukuchi 2020; Sheedy et al. 2013; E. G. Reed-Geaghan et al. 2009). Nous avons voulu savoir si ce

mécanisme était également vrai pour TDP-43. Pour répondre à cette question, nous avons choisi d'utiliser la microscopie électronique. Après marquage des protéines TDP-43 par billes d'or, nous observons que les agrégats TDP-43 nouvellement formés sont internalisés dans les cellules. En effet, le marquage aux billes d'or est présent dans la cellule et est centralisé sur des formes amorphes. Comme attendu, lorsque les cellules microgliales sont stimulées avec l'urée (véhicule), aucune bille d'or n'est observée (Figure 67B).

Il semblerait donc que TDP-43 soit capable d'activer les cellules microgliales et d'être internalisée suite à sa fixation aux récepteurs TLR2/4.

Pour poursuivre la caractérisation de la voie d'activation microgliale découlant de la fixation de la protéine TDP-43 aux TLR2/4 et à son internalisation, nous nous sommes demandé quelle voie spécifique de l'inflammasome NLRP3 pouvait être activée. En effet, dans l'introduction nous avons décrit deux voies NLRP3 différentes, les voies canoniques et non-canoniques. Celles-ci se différencient par les caspases impliquées. La voie canonique passe par une maturation de la caspase-1, alors que la voie non-canonique met en jeu cette même caspase-1 mais son activation passe par l'intermédiaire de la caspase-11 chez la souris (ou caspase 4/5 chez l'homme) (Malik and Kanneganti 2017).

Nous avons traité les microglies avec un inhibiteur de caspase-1, l'Ac-YVAD-cmk, et un autre de la caspase-11, le wedelolactone, afin de savoir si l'activation microgliale par TDP-43 passait par la voie canonique ou non canonique de l'inflammasome NLRP3. Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif puisqu'il s'agit du tampon de resuspension des deux inhibiteurs. En présence de 30µg/mL de l'Ac-YVAD-cmk, nous observons une diminution presque complète de la sécrétion d'IL-1β après stimulation des cellules microgliales par TDP-43 5µg/mL (Figure 67C). Une diminution importante de la sécrétion en IL-1β est aussi constatée en présence de 30µM de wedelolactone après stimulation par TDP-43 5µg/mL. Cela indique donc que TDP-43 active l'inflammasome NLRP3 par la voie non-canonique (Figure 67C).

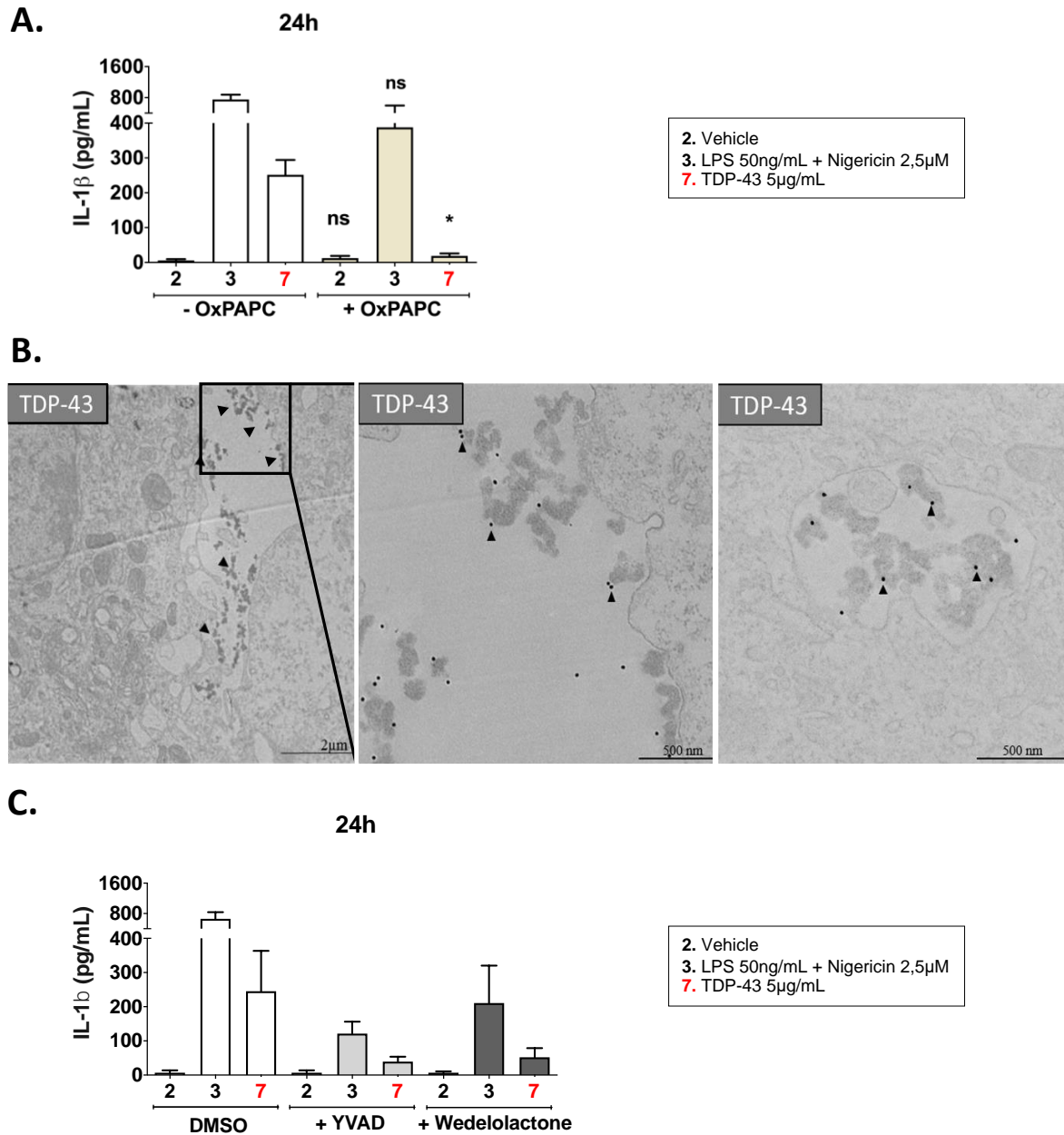


Figure 67. La protéine TDP-43 est internalisée par les cellules microgliales après sa liaison aux récepteurs TLR2/4, et active l'inflammasome NLRP3 par la voie non canonique. A) Les cellules ont été traitées pendant 24h avec un inhibiteur des TLR2/4 : OxPAPC. Après traitement par l'OxPAPC, la sécrétion d'IL-1β induite par TDP-43 est inhibée de façon significative, par rapport au traitement TDP-43 sans OxPAPC. Les sécrétions d'IL-1β en conditions contrôles sont inchangées par la présence de l'inhibiteur des TLR2/4 ($N \geq 4$) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Comparaison d'une même stimulation avec ou sans traitement oxPAPC par test Mann Whitney. **B)** Après 16h de stimulation avec TDP-43 à 2,5μg/mL, les cellules ont été observées par microscopie électronique. Grâce à un marquage aux billes d'or contre TDP-43, la structure des agrégats de TDP-43 a été montrée à proximité de, et internalisée par les cellules microgliales (flèches). Dans l'image de gauche, les flèches pointent les structures agrégées alors que sur les deux autres clichés, les flèches pointent les billes d'or. **C)** Les cellules microgliales WT ont été traitées avec YVAD, un inhibiteur de la caspase-1, et Wedelolactone, un inhibiteur de la caspase-11. Après traitement par YVAD et stimulation des cellules par TDP-43 5μg/mL, la sécrétion d'IL-1β est diminuée par rapport à cette même condition sans YVAD. La sécrétion d'IL-1β est également diminuée après traitement Wedelolactone.

D. Les cellules microgliales déficientes en protéines C9ORF72 et PGRN sont suractivées par TDP-43

Nous avons pu établir que la protéine TDP-43 activait l'inflammasome NLRP3 par la voie non canonique via sa fixation aux récepteurs TLR2/4 et son internalisation par les cellules microgliales. Cela nous donne une première idée du mécanisme neuroinflammatoire initié par TDP-43. Comme les inclusions TDP-43 sont retrouvées systématiquement dans les formes familiales de DFT-*GRN* et de DFT/*SLA-C9ORF72* et compte-tenu des fonctions des protéines PGRN et C9ORF72 nous avons ensuite voulu déterminer si la déficience en PGRN ou en C9ORF72 pouvait moduler la réactivité microgliale en présence de TDP-43.

Nous avons alors réalisé des cultures primaires de microglies *C9orf72*^{-/-} (J. G. O'Rourke et al. 2016) et *Grr*^{R493X/R493X} (Nguyen et al. 2018) et nous les avons traitées avec les mêmes stimuli que précédemment. Aucune variation significative du nombre de cellules n'a été observée entre les différents génotypes suite à la stimulation par TDP-43 (Annexe 1D). Après 16h ou 24h de stimulation, les cellules microgliales ayant une perte de fonction de C9ORF72 ou PGRN présentent une sécrétion d'IL-1 β quasi identique par rapport aux WT en réponse au stimulus LPS+Nigéricine. La sécrétion d'IL-1 β après stimulation des cellules par TDP-43 à 2,5 et 5 μ g/mL est en revanche significativement plus importante chez les cellules mutantes par rapport aux WT (Figure 68A). Nous n'avons pas observé de sécrétion d'IL-1 β après traitement urée (vehicle) chez les microglies mutantes par rapport aux WT, ce qui nous montre que les cellules ne sont pas activées à l'état basal. Les résultats obtenus semblent indiquer que les protéines C9ORF72 et PGRN jouent un rôle important dans la réactivité microgliale à TDP-43. Cependant, nos observations ont été faites à partir de microglies murines présentant une déficience homozygote afin de caractériser plus simplement le rôle des protéines C9ORF72 et PGRN dans cette voie. Il est donc primordial de s'assurer que nos conclusions sont valides dans des cellules humaines présentant des altérations de *C9ORF72* et *PGRN* correspondant vraiment à ce qui est observé chez les patients pour être sûrs que les mécanismes identifiés peuvent jouer un rôle dans la maladie. Pour cela, nous avons mis en place un modèle de cellules de type microglial induites à partir de monocytes sanguins de patients ou *MDMi* (*Monocyte-Derived Microglia-like cells*), d'après le protocole établi par Sellgren et al (Sellgren et al. 2017).

Afin de confirmer que les *MDMi* obtenues ressemblent bien à des microglies nous avons réalisé des immunomarquages classiquement utilisés pour mettre en évidence les microglies tels que Iba1, CD11b, CD68 et CD45. Les protéines Iba1 (Ionized calcium binding adaptor molecule 1) et CD68 sont des marqueurs communs aux macrophages et à la microglie. Un profil CD11b^{hi} / CD45^{low} caractérise quant à lui, les cellules microgliales quiescentes. Les marquages observés et la morphologie des cellules obtenues semblent en effet compatibles avec un profil de type microglial (Figure 68B). Les cellules *MDMi* ainsi générées ont été incubées durant 24h en présence de TDP-43 à 2,5µg/mL. Ensuite, les cytokines pro-inflammatoires secrétées ont été dosées par ELISA. Les résultats indiquent que la stimulation des cellules contrôles (issus d'apparentés non malades et non-porteurs de mutation *C9ORF72* ou *GRN*) par TDP-43 induit une sécrétion importante d'IL1-β dans le surnageant comparé au témoin négatif urée "vehicle". Cette concentration d'IL1-β est proche de celle obtenu pour le contrôle positif LPS + Nigéricine. De façon très intéressante, la sécrétion d'IL1-β après stimulation des cellules mutantes par TDP-43 est beaucoup plus importante que celle mesurée après stimulation des cellules contrôles (Figure 68C). Cela reflète nos précédentes observations sur cellules microgliales murines. Ces résultats sont donc vraiment très encourageants et nous espérons avoir très bientôt de nouvelles données pour nous permettre d'affirmer cet effet.

Qu'il s'agisse des cellules microgliales murines ou des *MDMi*, les cellules déficientes pour *C9ORF72* et *GRN* semblent hyperactivées par TDP-43 comparées aux cellules contrôles. Nous nous sommes alors demandé par quel(s) mécanisme(s) la déficience en *C9ORF72* et *GRN* conduisait à cette hyperactivation de l'inflammasome. Les protéines *C9ORF72* et *PGRN* sont impliquées dans la régulation de la voie autophagique, et les études réalisées par Shi *et al.* dans les macrophages montrent que cette voie régule l'activation de l'inflammasome NLRP3 par un mécanisme de rétrocontrôle (C. S. Shi et al. 2012). Lorsqu'un stimulus vient activer l'inflammasome cela conduit à une augmentation du flux autophagique (marqué par l'augmentation du ratio LC3II/LC3I et du nombre de vésicules positives pour p62) permettant de limiter l'inflammation excessive et de restaurer l'homéostasie cellulaire en dégradant les complexes inflammasomes et/ou en dégradant les stimuli eux-même. Nous avons donc analysé la dynamique des vésicules p62 positives dans les microglies des différents génotypes avant et après activation de l'inflammasome NLRP3 par TDP-43

(Figure 68D et E). Dans les microglies WT comme *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X} nous observons bien que l'activation de l'inflammasome par TDP-43 conduit à une augmentation des structures marquées par p62, cependant cette augmentation est beaucoup moins forte en l'absence de C9ORF72 ou de PGRN. En revanche, l'augmentation de taille de ces vésicules p62 semble plus importante après stimulation par TDP-43 dans les microglies *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X}. Ainsi les déficiences en C9ORF72 et GRN dérégulent effectivement la boucle de rétro-contrôle entre inflammasome NLRP3 et autophagie.

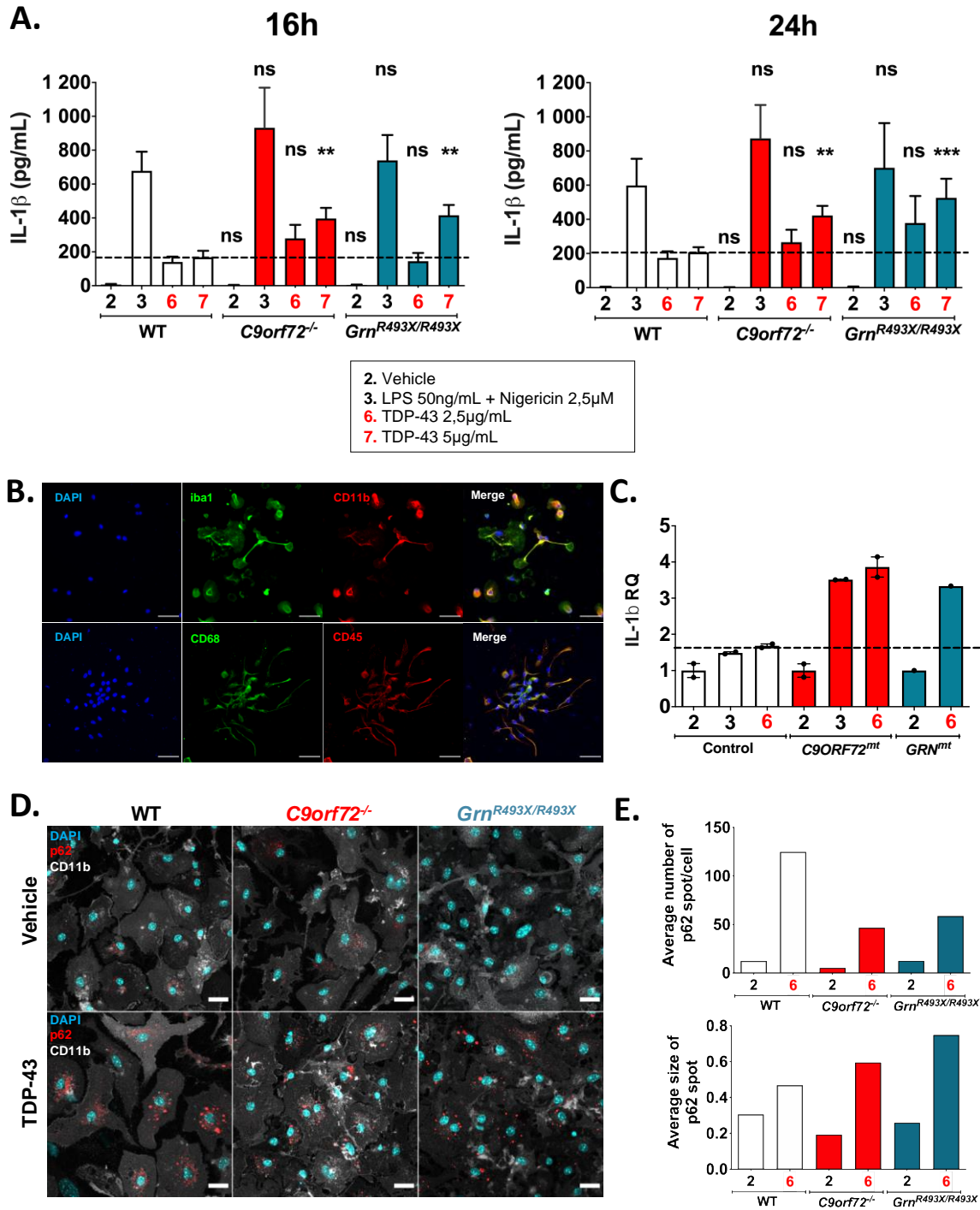


Figure 68. Les cellules microgliales déficientes en C9ORF72 et en PGRN sont hyperactivées par TDP-43. A) Les cellules microgliales WT, C9orf72^{-/-} et Grn^{R493X/R493X} ont été traitées par les deux concentrations les plus élevées de TDP-43 et par contrôles négatifs et positifs pendant 16 ou 24 heures. La ligne horizontale noire représente la sécrétion d'IL-1β par les cellules WT après stimulation par TDP-43 à 5μg/mL. À 16h et 24h, la sécrétion d'IL-1β est significativement augmentée, voire doublée, après stimulation des microglies mutantes par TDP-43 5μg/mL par rapport aux contrôles. La sécrétion d'IL-1β est également augmentée après stimulation des cellules mutantes par TDP-43 à 2,5μg/mL mais cette différence n'est pas significative. Données présentées sous forme de moyenne ± SEM (N ≥ 6). * p<0,05, **p<0,01. Comparaison d'une même condition de stimulation dans les différents génotypes par test de Mann-Whitney. **B)** Analyse Co-IF par microscopie confocale de iba1 (vert) et CD11b (rouge), ou CD68 (vert) et CD45 (rouge) dans des cellules MDMi contrôles. Échelle = 50μm **C)** Les MDMi d'un témoin, d'un porteur de mutation C9ORF72 et d'un porteur de mutation GRN ont été traitées 24h avec TDP-43 2,5μg/mL. La ligne horizontale noire représente la sécrétion d'IL-1β des MDMi témoins après stimulation par TDP-43 2,5μg/mL. La sécrétion d'IL-1β après traitement par TDP-43, est augmentée pour les MDMi mutées (N = 1). **D)** Analyse Co-IF

par microscopie confocale de p62 (rouge) et CD11b (blanc) dans des microglies murines WT, *C9orf72*^{-/-} et *Grn*^{R493X/R493X} avec ou sans stimulation TDP-43. Échelle = 20µm E) Quantification du nombre moyen de spot/cellule de p62 et de la taille moyenne des spots p62, en fonction du génotype des cellules. Après traitement des cellules par TDP-43, le nombre moyen de spots p62 est diminué dans les cellules mutantes alors que la taille moyenne des spots p62 est augmentée dans les cellules mutantes.

E. Analyse globale de l'activation des microglies par TDP-43

Jusqu'à présent, nous avons utilisé une approche candidate en nous focalisant sur l'inflammasome NLRP3 pour essayer de comprendre l'activation des microglies par TDP-43 et les différences de réactivité des cellules mutantes comparées aux cellules contrôles. Cependant, cette approche ne nous permet pas d'avoir une vue générale de toutes les différences et modifications pouvant avoir lieu dans les cellules microgliales contrôles et mutantes. En effet, d'autres voies d'activation microgliales peuvent être dérégulées lors d'une mutation *C9ORF72* ou *GRN*, lors d'une stimulation par TDP-43, ou lorsque les deux variables sont combinées. Nous avons donc, en collaboration avec le consortium INCURE, réalisé une deuxième partie d'étude par approche non biaisée dont le but est quadruple : 1/ Observer les changements d'expression associés à une activation de l'inflammasome NLRP3, 2/ Mettre en évidence, à large échelle, les voies de signalisation impliquées autre que NLRP3, 3/ Déterminer une signature ARN spécifique aux DLFT-TDP-43 et DLFT/SLA-TDP43, 4/ Mettre en évidence les similitudes entre les différentes pathologies neurodégénératives étudiées au sein du consortium européen INCURE.

A ces fins, nous avons extrait les ARNs de cellules microgliales murines WT, *C9orf72*^{-/-} et *Nlrp3*^{-/-}, après les avoir exposées avec TDP-43 2,5µg/mL ou nos contrôles positifs et négatifs (Figure 69A). Cela constitue une première approche *in vitro*, dans laquelle les cellules *Grn*^{R493X/R493X} mutantes n'ont pas encore été incluses puisqu'elles ne faisaient pas parties de l'étude INCURE, mais nous les utiliserons en parallèle de notre côté. Une approche *ex vivo* a aussi été menée. Pour cela, j'ai procédé à l'isolement de cellules microgliales de souris WT, *C9orf72*^{-/-} et *Nlrp3*^{-/-} âgées de 4, 6 ou 12 mois (Figure 69B). Il n'y a pas eu de stimulation par du TDP-43 exogène chez ces souris mais il a été montré que dans des cas de perte de fonction de C9ORF72, des accumulations intraneuronales corticales de la protéine TDP-43 sont associées (Sellier et al. 2016b). Notre équipe a pu effectuer une observation similaire chez des souris âgées ayant une diminution d'expression de C9ORF72 générées au laboratoire

(Lopez-Herdoiza et al, n.d.). Ainsi nous pourrions savoir si, physiologiquement, l'accumulation de TDP-43 induit un profil inflammatoire intéressant et le comparer au profil d'activation de l'inflammasome par TDP-43 *in vitro*. Les cellules microgliales sont isolées sur la base d'un tri magnétique qui permet premièrement d'éliminer la myéline puis, de récupérer les cellules CD11b+ dont l'ARN est ensuite extrait. En parallèle une petite fraction des cellules a été passée à l'analyseur MACSquant pour avoir une estimation de la proportion de cellules microgliales vivantes. Il est à noter que dans le cas de cet isolement par tri magnétique, la fraction cellulaire finale récupérée n'est pas purement microgliale, mais fortement enrichie (Figure 69C). Les analyses de séquençage ARN devaient être réalisées début 2020 par notre collaborateur INCURE Jesper Tegnér, malheureusement nous sommes toujours en attente des résultats suite à la Pandémie de Covid-19.

A.

Genotype	Time Point	Stimulus	tube name	RNA Q (ng/μL)	RNA Q (μg)	RIN	Date/Experiment n°
WT	0H	no stim	WT 0H 1	69.22	1.3844	10	19.03.25
			WT 0H 2	1.9656	0.109252	9.6	18.11.21
			WT 0H 3	21.07	0.46354	9.4	19.06.26
			WT 0H 4	14.07	0.30954	9.6	19.07.01
			WT 0H 5	20.09	0.42189	9.6	19.07.23
	6H	vehicle	WT 6H urea 1	60.42	1.2064	10	19.03.25
			WT 6H urea 2	8.667	0.182007	9.7	18.11.28
			WT 6H urea 3	42.29	0.93038	9.8	19.06.26
			WT 6H urea 4	37.08	0.77868	10	19.07.16
			WT 6H TDP 1	50.77	1.0154	10	19.03.25
		TDP-43 2,5ug/mL	WT 6H TDP 2	7.163	0.157566	9.3	18.11.28
			WT 6H TDP 3	54.4	1.1968	9.4	19.06.26
			WT 6H TDP 4	50.06	1.05126	10	19.07.16
			WT 6H TDP 5	24.03	0.52866	10	19.07.25
			WT 16H urea 1	26.9	0.538	10	19.03.25
	16H	vehicle	WT 16H urea 2	83.37	1.83414	9.9	19.03.06
			WT 16H urea 3	32.3	0.7106	10	19.02.19
			WT 16H urea 4	45.93	0.96453	10	19.07.23
			WT 16H urea 5	7.741	0.170302	9.6	19.07.25
			WT 16H TDP 1	31.93	0.70246	10	19.03.25
		TDP-43 2,5ug/mL	WT 16H TDP 2	99.44	2.18768	10	19.03.06
			WT 16H TDP 3	67.87	1.49314	10	19.02.19
			WT 16H TDP 4	30.11	0.63321	10	19.07.23
			WT 16H TDP 5	39.02	0.85844	10	19.07.25
WT 24H urea 1			22.19	0.48818	9.7	19.03.25	
24H	vehicle	WT 24H urea 2	55.72	1.22584	10	19.02.19	
		WT 24H urea 3	25.15	0.5533	10	19.07.01	
		WT 24H urea 4	37.47	0.78687	9.9	19.07.26	
		WT 24H urea 5	12.75	0.2805	9.5	19.07.25	
		WT 24H TDP 1	62.54	1.37808	10	19.03.25	
	TDP-43 2,5ug/mL	WT 24H TDP 2	63.35	1.3937	9.8	19.02.19	
		WT 24H TDP 3	16.26	0.35772	9.4	19.07.01	
		WT 24H TDP 4	64.34	1.71714	10	19.07.26	
		WT 24H TDP 5	39.02	0.85844	9.7	19.07.25	
		C9orf72-/-	0H	no stim	C9 0H 1	7.849	0.172678
C9 0H 2	16.39				0.36058	9.9	19.07.12 exp 2
C9 0H 3	26.68				0.58696	9.2	19.07.01
C9 0H 4	38.78				0.85316	10	19.07.26
C9 0H 5	19.26				0.42372	8.9	19.07.23
C9 0H 6	22.69				0.49918	9.8	19.07.18
C9 0H 7	5.047				0.11034	9.4	19.07.25
6H	vehicle		C9 6H urea 1	25.13	0.57486	9.8	19.07.12 exp 1
			C9 6H urea 2	24.1	0.5302	9.7	19.07.12 exp 2
			C9 6H urea 3	21.08	0.46376	9.5	19.07.01
			C9 6H urea 4	23.46	0.51612	9.1	19.07.26
			C9 6H urea 5	50.42	1.10924	10	19.07.23
	TDP-43 2,5ug/mL		C9 6H TDP 1	43.54	0.95768	10	19.07.25
			C9 6H TDP 2	9.12	0.20064	9.8	19.07.12 exp 1
		C9 6H TDP 3	30.06	0.66132	9.9	19.07.12 exp 2	
		C9 6H TDP 4	17.18	0.37796	9.5	19.07.01	
		C9 6H TDP 5	30.93	0.68046	10	19.07.26	
16H	vehicle	C9 16H urea 1	30.23	0.68506	10	19.07.23	
		C9 16H TDP 6	48.28	1.08216	8	19.07.25	
		C9 16H urea 1	31.03	0.68266	9.8	19.07.12 exp 1	
		C9 16H urea 2	44.45	0.9779	9.7	19.07.12 exp 2	
		C9 16H urea 3	27.88	0.61336	10	19.07.26	
	TDP-43 2,5ug/mL	C9 16H urea 4	42.44	0.93368	10	19.07.23	
		C9 16H urea 5	28.91	0.63602	10	19.07.18	
		C9 16H urea 6	17.16	0.37752	10	19.07.25	
		C9 16H TDP 1	13.77	0.236055	9.7	19.07.12 exp 1	
		C9 16H TDP 2	10.27	0.22594	9.6	19.07.12 exp 2	
24H	vehicle	C9 24H TDP 3	60.07	1.32154	10	19.07.26	
		C9 24H TDP 4	58.54	1.28788	10	19.07.23	
		C9 24H TDP 5	42.42	0.93324	10	19.07.18	
		C9 24H TDP 6	21.85	0.4829	10	19.07.25	
		C9 24H urea 1	14.47	0.31834	9.7	19.07.12 exp 1	
	TDP-43 2,5ug/mL	C9 24H urea 2	50.2	1.1044	9.7	19.07.12 exp 2	
		C9 24H urea 3	41.46	0.89139	10	19.07.01	
		C9 24H urea 4	45.23	0.95325	9.6	19.07.26	
		C9 24H urea 5	44.39	0.97658	9.7	19.07.23	
		C9 24H urea 6	36.56	0.80432	9.7	19.07.18	
Nlrp3-/-	0H	no stim	N3 0H 1	71.08	1.56376	10	18.11.21
			N3 0H 2	11.18	0.245996	9.1	18.11.23
			N3 0H 3	20.01	0.44022	9.5	19.07.01
			N3 0H 4	33.41	0.73502	10	19.07.26
			N3 0H 5	20.81	0.45782	9.4	19.07.23 exp 1
	6H	vehicle	N3 6H urea 1	53.36	1.17392	9.8	18.11.21
			N3 6H urea 2	13.14	0.27594	9.4	18.11.23
			N3 6H urea 3	23.77	0.65494	9.8	19.07.01
			N3 6H urea 4	25.65	0.5643	10	19.07.26
			N3 6H urea 5	43.7	0.9614	10	19.07.23 exp 1
		TDP-43 2,5ug/mL	N3 6H TDP 1	60.03	1.32066	10	18.11.21
			N3 6H TDP 2	8.79	0.21538	9.4	18.11.23
			N3 6H TDP 3	25.52	0.56144	10	19.07.01
			N3 6H TDP 4	24.63	0.54186	10	19.07.26
N3 6H TDP 5			23.37	0.51414	9.9	19.07.23 exp 1	
16H	vehicle	N3 16H urea 1	92.26	2.02972	9.8	18.11.21	
		N3 16H urea 2	19.77	0.3954	9.6	18.11.23	
		N3 16H urea 3	46.71	1.02762	10	19.07.26	
		N3 16H urea 4	45.93	1.01046	9.9	19.07.23 exp 1	
		N3 16H urea 5	24.52	0.53944	9.6	19.07.23 exp 2	
	TDP-43 2,5ug/mL	N3 16H TDP 1	71.99	1.58378	9.9	18.11.21	
		N3 16H TDP 2	9.657	0.19314	8.7	18.11.23	
		N3 16H TDP 3	85.7	1.8854	10	19.07.26	
		N3 16H TDP 4	30.11	0.66242	10	19.07.23 exp 1	
		N3 16H TDP 5	23.43	0.51546	9.3	19.07.23 exp 2	
24H	vehicle	N3 24H urea 1	133.7	2.9414	10	18.11.21	
		N3 24H urea 2	31.8	0.636	9.6	18.11.23	
		N3 24H urea 3	32.09	0.70598	9.4	19.07.01	
		N3 24H urea 4	15.92	0.35024	9.6	19.07.26	
		N3 24H urea 5	42.75	0.919125	9.7	19.07.23 exp 1	
	TDP-43 2,5ug/mL	N3 24H TDP 1	52.93	1.18446	9.9	18.11.21	
		N3 24H TDP 2	7.092	0.134748	9.6	18.11.23	
		N3 24H TDP 3	23.85	0.5247	9.4	19.07.01	
		N3 24H TDP 4	39.65	0.8723	10	19.07.26	
		N3 24H TDP 5	39.86	0.85492	10	19.07.23 exp 1	

B.

Genotype	Age	Number	DOB	DOD	Done	Qté RNA (ng/μL)	RIN
C57BL6/J	4 months	33	23/12/2018	23/04/2019	✓	83.04	9.2
		34	23/12/2018	23/04/2019	✓	41.72	9.2
		38	04/02/2019	04/06/2019	✓	27.03	8.3
		47	06/05/2019	06/09/2019	✓	38.37	9.5
		51	06/05/2019	11/09/2019	✓	103.1	8.6
	6 months	161	16/10/2018	14/03/2019	✓	45.92	8.6
		128	20/09/2018	02/04/2019	✓	49.34	9.1
		138	22/09/2018	02/04/2019	✓	56.97	8.9
		144	21/09/2018	02/04/2019	✓	52.95	9.3
		145	21/09/2018	02/04/2019	✓	43.3	9.2
		43	03/03/2019	03/09/2019	✓	41.15	9.3
		8	16/08/2018	16/08/2019	✓	38.5	9.3
C9orf72 ^{-/-}	12 months	9	16/08/2018	16/08/2019	✓	37.84	8.6
		10	16/08/2018	16/08/2019	✓	17.74	9
		11	16/08/2018	16/08/2019	✓	27.23	9.1
		12	16/08/2018	16/08/2019	✓	34.33	8.9
		17	25/09/2018	11/09/2019	✓	83.32	8.8
	4 months	37	29/03/2018	15/03/2019	✓	38.15	9.2
		103	19/07/2018	21/11/2018	✓	48.14	8.2
		104	19/07/2018	21/11/2018	✓	37.59	8.6
		105	19/07/2018	21/11/2018	✓	34.32	9.1
		106	19/07/2018	21/11/2018	✓	47.86	8.8
		107	19/07/2018	22/11/2018	✓	31.49	9.2
		108	19/07/2018	22/11/2018	✓	49.81	7.8
Nlrp3 ^{-/-}	6 months	88	04/06/2018	03/12/2018	✓	30.75	7.1
		89	04/06/2018	03/12/2018	✓	25.99	7.5
		90	18/06/2018	18/12/2018	✓	9.1	8.1
		76	07/09/2018	15/03/2019	✓	32.47	9.4
		77	07/09/2018	15/03/2019	✓	59.55	9.4
	12 months	126	01/09/2019	01/11/2019	✓	50.5	9.1
		227	01/05/2019	01/11/2019	✓	12.69	8.2
		237	18/05/2019	18/12/2019	✓	44.85	6.1
		48	18/02/2018	18/02/2019	✓	33.7	9.2
		49	18/02/2018	18/02/2019	✓	23.65	9.2
		50	18/02/2018	18/02/2019	✓	33.88	9.1
		69	08/05/2018	15/05/2019	✓	9.797	9.1
C9orf72 ^{-/-} x Nlrp3 ^{-/-}	4 months	67	28/07/2018	27/11/2018	✓	36.79	7.8
		70	17/05/2019	11/09/2019	✓	84.45	8.7
		102	17/05/2019	11/09/2019	✓	81.18	9
		116	23/06/2019	23/12/2019	✓	37	8.1
		55	26/05/2018	26/11/2018	✓	20.17	8.1
	6 months	107	18/07/2018	19/01/2019	✓	49.23	9
		58	19/07/2018	19/01/2019	✓	45.39	9.1
		87	21/01/2019	21/07/2019	✓	3.439	9.2
		112	29/07/2019	29/01/2020	✓	34.87	8.2
		31	07/03/2018	07/03/2019	✓	37.62	9
		40	31/03/2018	28/03/2019	✓	40.21	9.3
		41	31/03/2018	28/03/2019	✓	30.92	9.3
12 months	42	31/03/2018	28/03/2019	✓	31.51	9.3	
	43	31/03/2018	28/03/2019	✓	20.18	9.1	
	123	29/12/2018	02/05/2019	✓	44.95	9.2	
	124	29/12/2018	02/05/2019	✓	51.12	9	
	132	28/05/2019	11/09/2019	✓	71.53	7.9	
	152	11/09/2019	11/01/2019	✓	25.77	9.2	
	153	11/09/2019	11/01/2019	✓	35.66	9.3	
	6 months	97	11/09/2018	15/03/2019	✓		

F. Extraction des formes pathologiques TDP-43 à partir d'échantillons de patients DFT-C9ORF72 et DFT-GRN

Nos études ont permis de montrer que la protéine TDP-43 recombinante était capable d'activer les microglies sauvages ou déficientes en C9ORF72 ou PGRN par la voie de l'inflammasome NLRP3. Cependant, même si cette protéine humaine a la capacité de s'agréger, elle ne comporte ni modifications post-traductionnelles, ni ses interacteurs ARNs ou protéines comme cela est le cas chez les patients DFT/SLA. Afin de pouvoir utiliser ces espèces pathologiques comme stimulus microglial, nous avons tenté d'extraire les agrégats protéiques TDP-43 humains pathologiques de deux façons différentes.

Premièrement, la protéine TDP-43 pourrait être transmise de cellule en cellule par l'intermédiaire de vésicules extracellulaires (Sproviero et al. 2018; Iguchi et al. 2016). Ainsi, nous avons essayé de mettre en place une technique de purification de ces vésicules à partir du liquide interstitiel (ISF) de cerveau post-mortem, pour ensuite les caractériser. Si ces vésicules contiennent notre protéine d'intérêt, nous pourrions stimuler les cellules microgliales directement avec ces vésicules. Nous avons essayé de mettre en place ce protocole sur le liquide interstitiel de cerveaux post-mortem de patient DFT porteur d'une mutation *GRN*, ou d'individus contrôles. Après ultracentrifugations différentielles sur gradient de sucrose, les fractions A, B et C ont été observées enrichies en vésicules (présence des marqueurs AIP-1 et Flotilin) (Figure 70A). La présence de TDP-43 a été constatée dans ces fractions également, avec des formes de TDP-43 clivées chez le patient porteur de mutations *GRN*. Ainsi, bien que préliminaires, ces résultats sont très encourageants. Comme le plasma regorge également de vésicules extracellulaires, nous souhaitons utiliser aussi cette source pour isoler les microvésicules. Si elles contiennent elles aussi la protéine TDP-43, et notamment les formes pathologiques clivées, nous pourrions en faire un stimulus que nous obtiendrions plus facilement et sans les biais possibles de l'extraction post-mortem. Nous avons commencé à collecter le plasma de patients lorsque nous récupérons les PBMS pour différenciation en *MDMi*. Les expériences de traitement des cultures microgliales avec les premiers échantillons de microvésicules extraits étaient prévues fin mars, mais malheureusement, suite à l'épidémie de COVID-19, ces expériences ont dûes être annulées.

Dans un second temps, les agrégats protéiques étant insolubles et résistants aux détergents, nous avons suivi le protocole sarkosyl publié par Laferrière et al (Laferrière et al. 2019) afin d'extraire les espèces protéiques résistantes aux détergents sarkosyl dans les cerveaux post-mortem de patients DFT, porteurs de mutations *GRN* dans un premier temps. Cette technique nous permet d'obtenir des agrégats de protéines comportant des modifications post-traductionnelles, mais l'utilisation de benzonase ne permettra sans doute pas de garder intègre les agrégats, ou en tous cas, pas sous leurs formes natives à cause de la dénaturation des acides ribonucléiques par cette nucléase. A l'heure actuelle, suite à l'application de cette technique d'extraction, une caractérisation par Western Blot nous a permis de mettre en évidence un enrichissement d'espèces protéiques TDP-43 clivées ou natives, que ce soit dans les fractions sarkosyl-solubles ou insolubles chez les patients porteurs de mutations *GRN* par rapport au contrôle. Cependant la forme clivée phosphorylée de 25KDa n'est présente que dans les fractions insolubles au sarkosyl (Figure 70B). Pour les mêmes raisons que précédemment avec les microvésicules, nous n'avons pas encore stimulé les microglies avec ces extraits protéiques.

Pour de futures expériences, il serait encore plus relevant de stimuler directement les *MDMi* humaines avec ces agrégats.

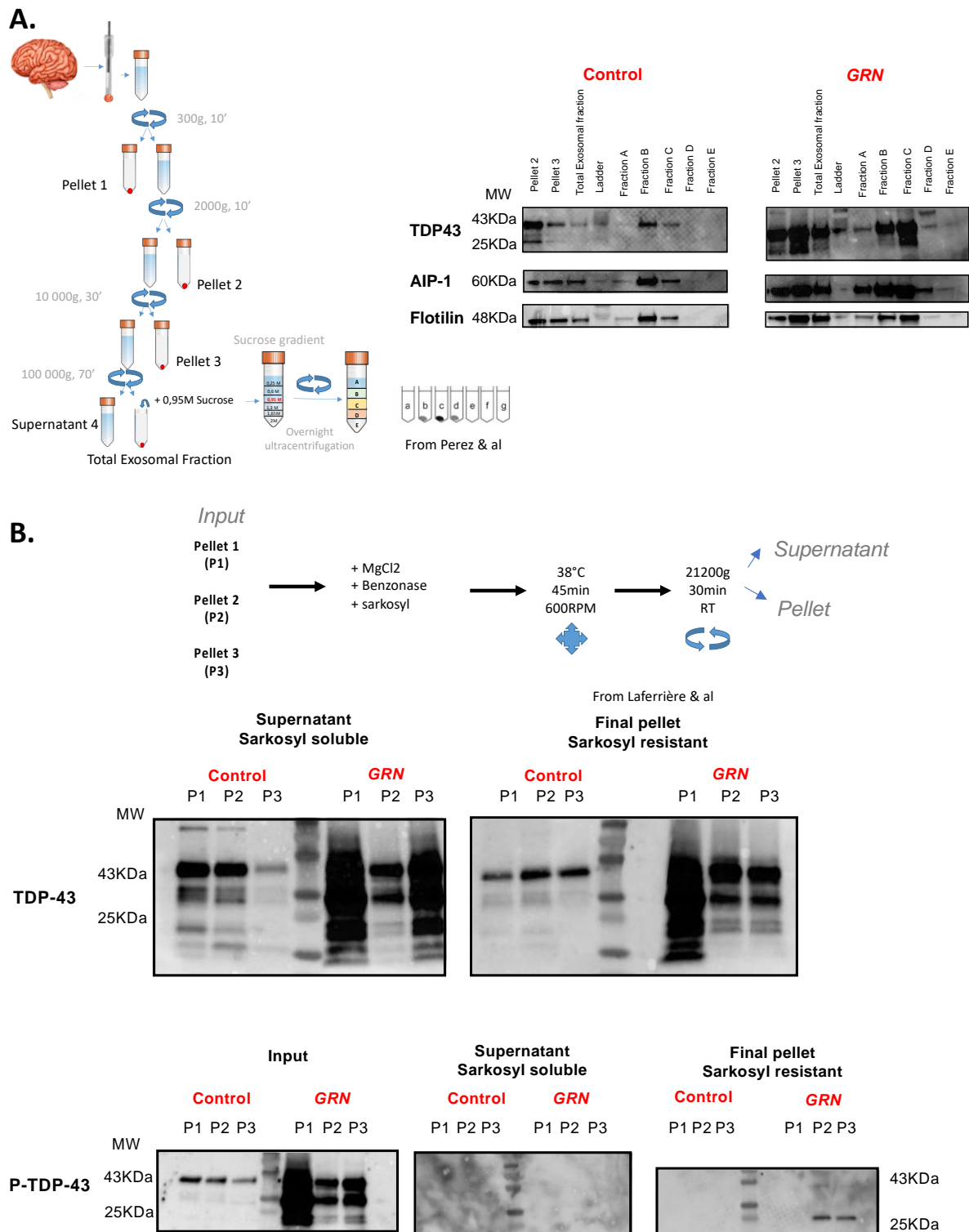


Figure 70 Extraction d'espèce protéique TDP-43 pathologique A) Extraction de vésicules extracellulaires à partir de l'ISF de cortex frontal d'un individu contrôlé et d'un patient DFT porteur de mutation GRN. Les marqueurs Flotilin et AIP1 nous permettent de montrer que les fractions A, B et C sont enrichies en vésicules exosomales. Ces mêmes fractions, chez le contrôlé et chez le patient, expriment la protéine TDP-43 (43KDa). Il semble y avoir une quantité plus importante de protéine TDP-43 dans ces fractions chez le patient, de plus, des formes clivées pathologiques sont également présentes. **B)** Extraction des formes protéiques résistantes au sarkosyl, présentes dans les culots résultants de la préparation de l'ISF. La protéine TDP-43 (43KDa) est présente dans les 3 culots (P1, P2, P3) chez le patient et le contrôlé, dans la fraction sarkosyl-soluble mais également dans la fraction sarkosyl-insoluble. Cependant, à l'inverse du contrôlé, les formes clivées semblent majoritaires chez le patient DFT,

notamment dans la fraction sarkosyl-résistante. Pour appuyer cela, la protéine TDP-43 phosphorylée n'est présente que sous forme clivée (25KDa) dans la fraction sarkosyl-résistante des culots P2 et P3 du patient GRN.

III. DISCUSSION

Dans le but d'identifier une voie biologique commune à plusieurs formes de DFT/SLA, nous nous sommes intéressés à la protéine TDP-43 qui représente la composante majeure des inclusions neuropathologiques associée aux DFTs, aux DFT-SLA et à la SLA (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009) ainsi qu'aux deux formes génétiques les plus fréquentes présentant des inclusions TDP-43 : les DFT-*GRN* et DFT/SLA-*C9ORF72*.

Notre étude nous a permis de mettre en évidence l'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3 dans les cellules microgliales via les récepteurs TLR2/4, et endocytose. Nos résultats confirment les observations de Zhao et al et Leal-Lasarte et al. (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017), même si les modèles utilisés sont différents. Nous avons pu décrire cette voie d'activation plus en détail en observant l'internalisation des agrégats TDP-43 en microscopie électronique et en utilisant des inhibiteurs de caspase, et nous savons maintenant que TDP-43 met en jeu la voie non-canonique d'activation de l'inflammasome NLRP3. Nous avons ensuite montré que la déficience en *C9ORF72* ou en *PGRN* dans nos modèles de cultures primaires de cellules microgliales murines, ou dans les *MDM*s dérivées de monocytes de patients, conduisait à une hyperactivation de l'inflammasome NLRP3 par TDP-43 comparées aux cellules contrôles. Compte-tenu des fonctions connues de *C9ORF72* et *PGRN* dans les voies endo-lysosomales et autophagiques (Sellier et al. 2016b; Chang et al. 2017; Jinlong Jian, Zhao, et al. 2016) nous avons pu montrer que la déficience en *C9ORF72* ou en *PGRN* perturbe la boucle de rétrocontrôle entre l'activation de l'inflammasome et l'autophagie. Cela pourrait être le mécanisme ou l'un des mécanismes conduisant à l'hyperactivation de l'inflammasome NLRP3 par TDP-43 dans les cellules mutantes pour *C9ORF72* et *GRN*.

Notre étude était ciblée sur l'inflammasome NLRP3 dans le but de comparer les modes d'activation de cette voie au sein de différents modèles de maladies neurodégénératives (InCure n.d.). Mais, il ne s'agit probablement pas de la seule voie biologique modulée au cours d'une stimulation microgliale par TDP-43. C'est pourquoi nous avons en parallèle, recueilli le matériel biologique nécessaire à l'étude transcriptomique des cellules microgliales primaires non stimulées et stimulées par TDP-43, et cellules microgliales isolées de modèles murins adultes. Nous espérons,

par cette méthode, identifier de nouvelles cibles moléculaires communes à différentes formes de DFT, de SLA ou de DFT-SLA.

Dans cette partie, je voudrais discuter de notre modèle d'étude, de ses limites, des nouvelles hypothèses qu'apportent nos résultats, puis de l'intérêt de notre étude d'un point de vue translationnel.

A. Limites de notre modèle d'étude

1. Le stimulus choisi

Dans notre modèle, nous avons choisi d'utiliser la protéine TDP-43 humaine recombinante. Comme nous l'avons vu dans la partie résultats, cette protéine a la capacité de s'agréger spontanément dans le milieu de culture. Seulement, ces agrégats ne comportent ni modifications post-traductionnelles, ni ARNs enchevêtrés. Ainsi, la structure même de l'agrégat est probablement différente de celle que l'on peut observer dans les cerveaux post-mortem de patients.

Le fait d'utiliser des cellules microgliales murines et des *MDMi* nous a permis de nous assurer que les effets observés post-stimulation n'étaient pas dû à une réactivité inter-espèce. Même si les doutes étaient très faibles étant donné l'homologie de séquences entre les protéines TDP-43 humaine et murine qui est de 96% (Tsao et al. 2012).

Cependant, nous pouvons toujours nous demander si les concentrations de TDP-43 que nous utilisons sont pertinentes par rapport aux concentrations physiologiques de la protéine chez le patient. Malheureusement il est très compliqué d'avoir une réponse précise à cette question. En effet, connaître la concentration approximative de la protéine TDP-43 présente dans le milieu extracellulaire du SNC revient à doser la protéine TDP-43 dans le LCR. Pour cela, des équipes de recherche ont comparé les dosages de la protéine dans les LCRs ventriculaires ou lombaires de patients DFTs extraits post-mortem (Feneberg et al. 2018). Dans ces LCRs, la concentration de TDP-43 mesurée est faible (entre 1 et 4ng/mL) et de façon étrange, cette concentration est même plus faible que dans les LCRs contrôles dans une étude (Kuiperij et al. 2017). Dans d'autres études, cette concentration est toutefois plus élevée chez les patients que les contrôles pouvant aller jusqu'à 70ng/ml (Noto et al. 2011). Cela peut potentiellement s'expliquer par les limites de détection de TDP-43 : si cette-protéine est agrégée il sera sans doute plus compliqué de la doser. Par ailleurs, d'autres études

dont le but était de doser la protéine TDP-43 plasmatique afin de savoir si elle pouvait être utilisée en tant que biomarqueur pour les patients DFTs, se sont heurtées aux limites de détection du kit ELISA. Seulement 46% des plasmas de patients DFTs comportaient des concentrations protéiques au-dessus de la limite de détection du kit (Foulds et al. 2008). Ces expériences ont permis de mettre en avant une variabilité inter-individuelle très importante.

Même si les concentrations de TDP-43 peuvent être difficiles à mesurer de façon fiable chez les patients, l'hétérogénéité constatée entre ces derniers peut laisser penser que la neuroinflammation dépendante des protéines agrégées se mettra en place chez les patients de façon hétérogène également.

Pour avoir un stimulus plus représentatif de la situation intra-cérébrale chez les patients, nous avons décidé de mettre en place des méthodes d'extraction, d'une part d'agrégats TDP-43 sarkosyl-insolubles (Laferrière et al. 2019) à partir de cortex frontal post-mortem de patients DFTs porteurs de mutations *C9ORF72*, *GRN*, ou contrôles, d'autre part, de microvésicules plasmatiques ou cérébrales de patients DFTs porteurs de mutations *C9ORF72*, *GRN* ou individus contrôles. En effet, il a été montré que la protéine TDP-43 pouvait être sécrétée par les vésicules extracellulaires (Iguchi et al. 2016; Feiler et al. 2015). Cependant, il sera difficile de contrôler la quantité de protéine TDP-43 que nous allons mettre en contact de nos cellules microgliales à cause de l'hétérogénéité des prélèvements, et les préparations ne seront pas pures puisque des vésicules plasmatiques pourront contenir des molécules différentes de TDP-43. L'étude récente de l'équipe de Jean-Pierre Julien est pourtant encourageante sur ce point car elle a montré que le CSF de patient SLA contenait des facteurs moléculaires capables de propager la pathologie, en fonction de la présence de protéine TDP-43 humaine (Mishra et al. 2020). En effet, ils ont procédé à la perfusion intraventriculaire de CSFs de patients SLA sporadiques poolés, chez une souris transgénique exprimant la protéine TDP-43 WT humaine (hTDP43^{WT}) dans les neurones, qui ne développait pas précédemment de phénotype pathologique. Après diffusion des CSFs de patients, les souris ont développé des phénotypes cognitifs et moteurs, une protéinopathie TDP-43, ainsi qu'une désorganisation des neurofilaments et une neuroinflammation correspondant à une astroglie et microglie. L'infusion de CSF a également été effectuée sur des souris WT. Ces souris n'ont développé que de légers troubles moteurs beaucoup moins marqués que les souris surexprimant la protéine hTDP43^{WT} dans les neurones, et pas de pathologie TDP-43. Cela laisse entendre que des

facteurs moléculaires tels que la protéine TDP-43 pathologique sont présents dans le CSF des patients en quantité suffisante pour induire des dysfonctions motrices et cognitives et la propagation de la protéinopathie TDP-43. Il est particulièrement intéressant de noter que le CSF de patients SLA utilisé dans cette étude et infusé dans une souris avec expression neuronale mais pas gliale de hTDP43^{WT} a pu induire l'activation de la voie NF-κB et une réaction microgiale proinflammatoire.

Dans notre étude nous avons étudié le comportement des cellules microgliales en réponse à la protéine TDP-43 car nous nous sommes intéressés au cas général de protéinopathie TDP-43 dans les DFTs et DFT-SLA. Cependant, chez le patient, il est possible que les cellules immunitaires ne soient pas réactives uniquement à TDP-43. En effet, dans les cas des DFTs ou de SLA avec mutations *C9ORF72*, des foci d'ARN et des dipeptides non fonctionnels sont produits et s'agrègent au sein des cellules (Tran et al. 2015; MacKenzie et al. 2013). Par leur neurotoxicité, ces ARNs et dipeptides pourraient également être présents dans le milieu extracellulaire et être en contact des cellules microgliales. De même, les DPRs semblent également pouvoir être sécrétés par vésicules extracellulaires (Bellingham et al. 2012). Des études sont en actuellement en cours afin de montrer que ces DPR peuvent activer les cellules microgliales, également par la voie de l'inflammasome NLRP3 ("TDP-43 and C9orf72-Derived Dipeptide Repeats as DAMPs in ALS – BonnBrain³ Meeting" n.d.). Il serait intéressant de savoir si seuls les dipeptides contenant un résidu arginine (apparemment les plus toxiques) (Mizielinska et al. 2014) sont capables d'activer la microglie par la voie NLRP3 ou si ce mécanisme est commun quelques soient les dipeptides concernés.

D'autre part, l'activation microgiale par la voie de l'inflammasome NLRP3 pourrait être un mécanisme commun à toutes les formes de DFTs et DFT-SLA. En effet, qu'il s'agisse des protéines Tau et SOD1, elles sont toutes deux connues comme activant cette voie de signalisation (Debye et al. 2018; Bellezza et al. 2018; Stancu et al. 2019a).

De plus, il a été montré dans un modèle murin, que la voie de l'inflammasome NLRP3 pouvait contribuer à la tauopathie puisque lorsque la fonction de l'inflammasome NLRP3 est inhibée, une diminution de la phosphorylation et de l'agrégation de Tau est constatée (Ising et al. 2019). Il serait intéressant de savoir si ce mécanisme s'applique également à TDP-43. Une étude de 2017 semble aller dans ce sens en montrant que l'inhibition de NLRP3 permet de diminuer la quantité de protéine TDP-43 (Zhuang et

al. 2017). L'activation de l'inflammasome NLRP3 par la protéine FUS n'a pas encore été démontré.

Nous nous sommes focalisés dans cette thèse, sur l'effet gain de fonction toxique de la protéine TDP-43, mais il a aussi été montré que la perte de fonction de cette protéine de liaison à l'ARN pouvait causer l'activation des cellules astrocytaires. En effet, la perte de fonction de TDP-43 va entraîner l'accumulation de transcrits non-codants répétitifs et d'ARN double brins (LaRocca et al. 2019). Les effets à la fois perte de fonction de la protéine et gain de fonction toxique pourraient participer à la neuroinflammation dans les DFTs et DFT-SLA.

2. Le modèle cellulaire

Notre modèle d'étude nous a permis de mettre en évidence une activation microgliale par TDP-43. Cependant, il s'agit d'un modèle très simplifié puisque nous ne nous sommes focalisés que sur un type cellulaire. Ces cellules ne sont pourtant pas les seules à pouvoir réagir face à un stimulus dans le SNC. En effet, les astrocytes ont aussi la capacité de sécréter des cytokines (Choi et al. 2014). Il semblerait d'ailleurs que l'Inflammasome NLRP3 puisse être exprimé par les astrocytes et stimulé par la protéine SOD1 (Johann et al. 2015b). Nous pouvons alors tout à fait envisager que ces cellules soient capables de réagir face au stimulus TDP-43 et qu'il y ait finalement des collaborations entre différents types cellulaires, aboutissant à des modifications de fonctions ou de survie neuronale (Figure 71).

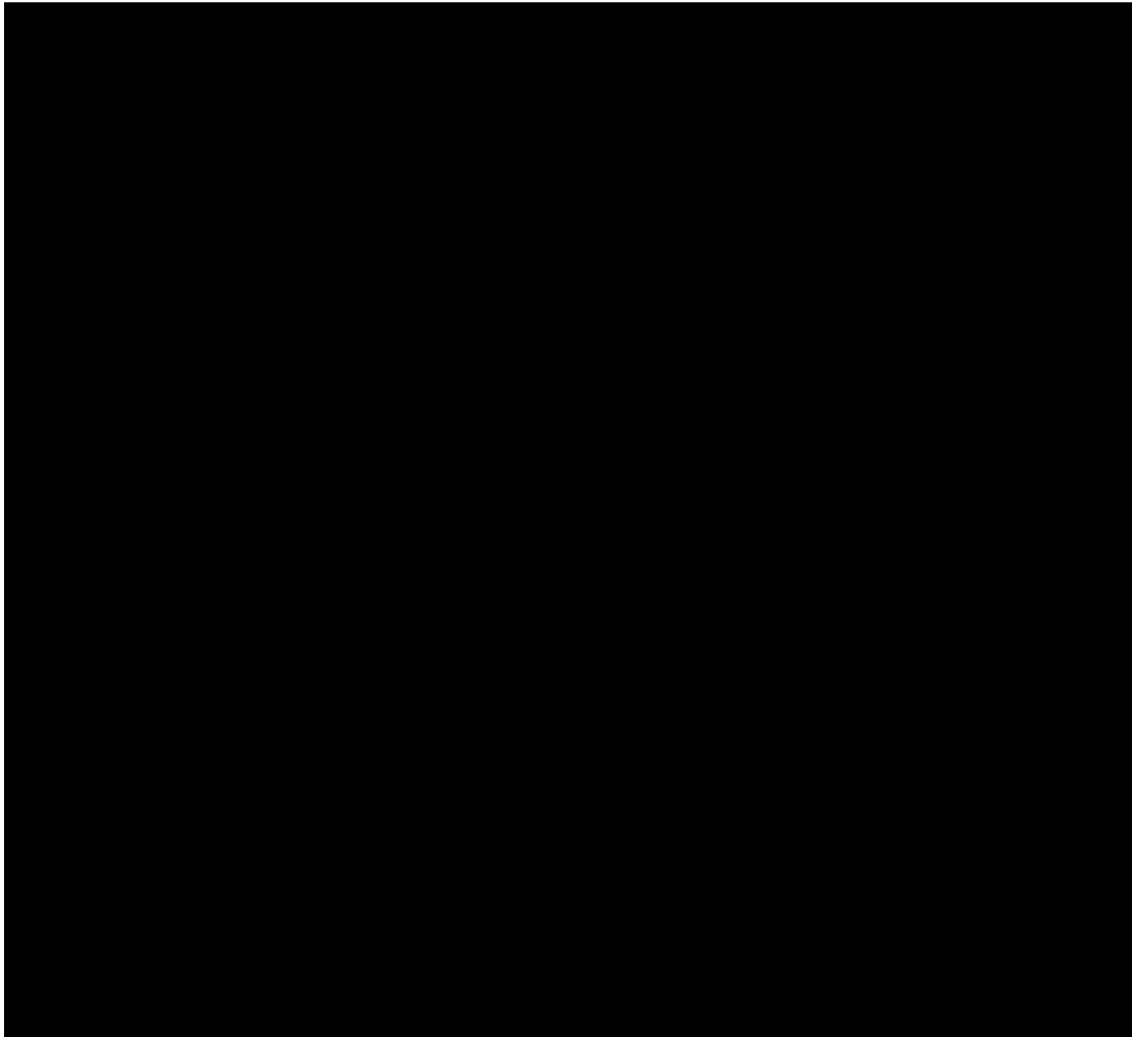


Figure 71. Illustration de l'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3 au sein des cellules microgliales conduisant à une activation pro-inflammatoire de ces cellules (A) et conséquences de cette activation sur les autres types cellulaires (B). La sécrétion d'IL-1 β va exercer des actions multiples, en agissant directement sur la plasticité neuronale, en activant les astrocytes qui vont moduler les propriétés électrophysiologiques des neurones, et en perméabilisant la BHE. D'après (Swanton et al. 2018).

Même en ne considérant que la réactivité microgliale à TDP-43, il est primordial de comprendre comment celle-ci va affecter les neurones voisins afin de mieux appréhender son importance dans la maladie. Pour cela, une collaboration avec le Dr Matthew Livesey a été mise en place dans le but de mettre en contact des cellules neuronales dérivées de cellules IPS de patients SLA-C9ORF72 avec des milieux conditionnés de cellules microgliales préalablement stimulées avec la protéine TDP-43. Le but sera ainsi de savoir si les facteurs sécrétés par les microglies stimulées par TDP-43, peuvent avoir un effet sur la survie et l'activité électrophysiologique des cellules neuronales humaines. Afin d'étudier les effets directs des perturbations de la réactivité microgliale vis-à-vis des neurones, nous pourrions tout à fait envisager des expériences de co-cultures (Goshi et al. 2020). De telles expériences ont déjà permis

de montrer que la co-culture de microglies murines stimulées par TDP-43 avec des motoneurons de souris était neurotoxique (Zhao et al. 2015). Cependant, pour rester dans un contexte de cellules humaines, et pouvoir étudier les interactions entre plusieurs types cellulaires au plus proche de la situation *in vivo*, les modèles de culture en trois dimensions tels que les organoïdes pourraient être extrêmement intéressants et utiles (Kelava and Lancaster 2016). C'est pourquoi l'une des perspectives de ce travail est de mettre en contact des *MDMi* de patients *C9ORF72* ou *GRN* avec un organoïde cortical contrôle ou formé à partir de cellules iPS issues de patients *C9ORF72* ou *GRN*. Nous pourrions ainsi analyser l'interaction de ces cellules mutantes parmi les autres cellules ainsi que les phénotypes pathologiques en résultants.

Lors de ce projet de thèse, nous avons travaillé selon l'hypothèse que le mécanisme d'activation microgliale par TDP-43 est non-autonome cellulaire. Cependant, il est possible que ce mécanisme soit en partie autonome cellulaire. En effet, une étude suggère que les cellules microgliales expriment également la protéine TDP-43 de façon endogène (Paolicelli et al. 2017). Il pourrait être possible que celle-ci s'agrège ou subisse des modifications post-traductionnelles au sein même de ces cellules entraînant alors une auto-activation et l'activation des cellules alentours. Mais au regard de la littérature et de l'ensemble des études neuropathologiques qui ont été menées sur les TDP-43 protéinopathies, il semble que la protéine TDP-43 soit très majoritairement exprimée par les neurones et que les inclusions de TDP-43 ne soient que très exceptionnellement observées dans des microglies, toujours selon un profil compatible avec une phagocytose (M. Neumann et al. 2006; M. Neumann, Kwong, Truax, et al. 2007).

3. Contribution de l'Immunité adaptative

Nous nous sommes intéressés à la voie de l'inflammasome NLRP3 dans les cellules microgliales. La reconnaissance des DAMPs ou PAMPs par la microglie fait partie de ce que l'on appelle l'immunité innée. La réponse immunitaire est aspécifique, elle se met en place très rapidement pour combattre l'élément étranger ; c'est à-dire qu'elle ne fait pas intervenir de réponse cytotoxique ou n'induit pas de sécrétion d'anticorps. Pour cela la microglie, après décomposition du pathogène ou du DAMP, doit présenter

l'antigène aux cellules de l'immunité adaptative tels que les lymphocytes B ou T. Contrairement à d'autres pathologies, nous n'avons aucune indication de l'implication de l'immunité adaptative au sein des DFTs. Une seule étude s'est intéressée aux cellules immunitaires périphériques chez les patients (Busse et al. 2017). Un nombre plus faible de lymphocytes B et T a été mesuré par rapport aux individus contrôles, mais cette étude n'a été réalisée que sur 12 patients DFT et ils n'ont pas été classés selon l'origine génétique de la pathologie (Busse et al. 2017). Autrement dit, à l'heure actuelle, nous ne savons pas si l'immunité adaptative contribue à la progression de la neuroinflammation dans les DFTs. Il est compliqué de connaître le rôle de l'immunité adaptative dans la progression de la pathologie puisque, l'une des façons de procéder consiste à analyser des tissus post-mortem de patients, c'est-à-dire à des stades très tardifs de la maladie. Cela a été réalisé chez des patients SLA, et de nombreux types cellulaires immunitaires incluant les lymphocytes T, les mastocytes, les macrophages et les cellules dendritiques ont été observés aux zones de lésions. Cependant il est compliqué de connaître l'importance de ces cellules dans la pathogénèse puisque, comparativement à d'autres pathologies comme les maladies infectieuses ou inflammatoires, ces cellules ne représentent qu'une composante mineure des lésions (McCauley and Baloh 2019; Graves et al. 2004; Engelhardt, Tajti, and Appel 1993). Cependant, grâce à l'utilisation de modèles murins, il a été montré que d'autres cellules immunitaires pouvaient contribuer à la neurodégénérescence dans la SLA. Par exemple, dans un modèle murin hSOD1^{G93A} il apparaît que les cellules NK contribuent à la dégénérescence des neurones moteurs du cortex et de la moelle épinière, et modulent le recrutement de lymphocytes T régulateurs et les phénotypes des cellules microgliales (Garofalo et al. 2020).

Même si nous n'avons pas d'indication précise de l'implication des lymphocytes dans la DFT, nous pouvons tout à fait envisager que les cellules lymphocytaires parviennent à atteindre le SNC après une première activation microgliale prolongée, entraînant une fragilisation de la BHE comme cela a pu être observé par TEP-scan directement chez les patients PSP avec tauopathie (Bartels et al. 2008). Par ailleurs, une surexpression de chemokines comme CL3, CCL4, CCL12 and CXCL2 a été mesurée dans les cortex de souris hTau (Garwood et al. 2010; Laurent, Bu Ee, and Blum 2018). Ces chemokines probablement sécrétées par les cellules gliales pourraient attirer les lymphocytes sur le site de lésion. Ces dernières pourraient entrer directement en

contact avec les cellules neuronales pour induire leur mort par l'intermédiaire d'enzymes (Liblau et al. 2013)(Figure 72). Mais la mécanistique réelle est encore incertaine.

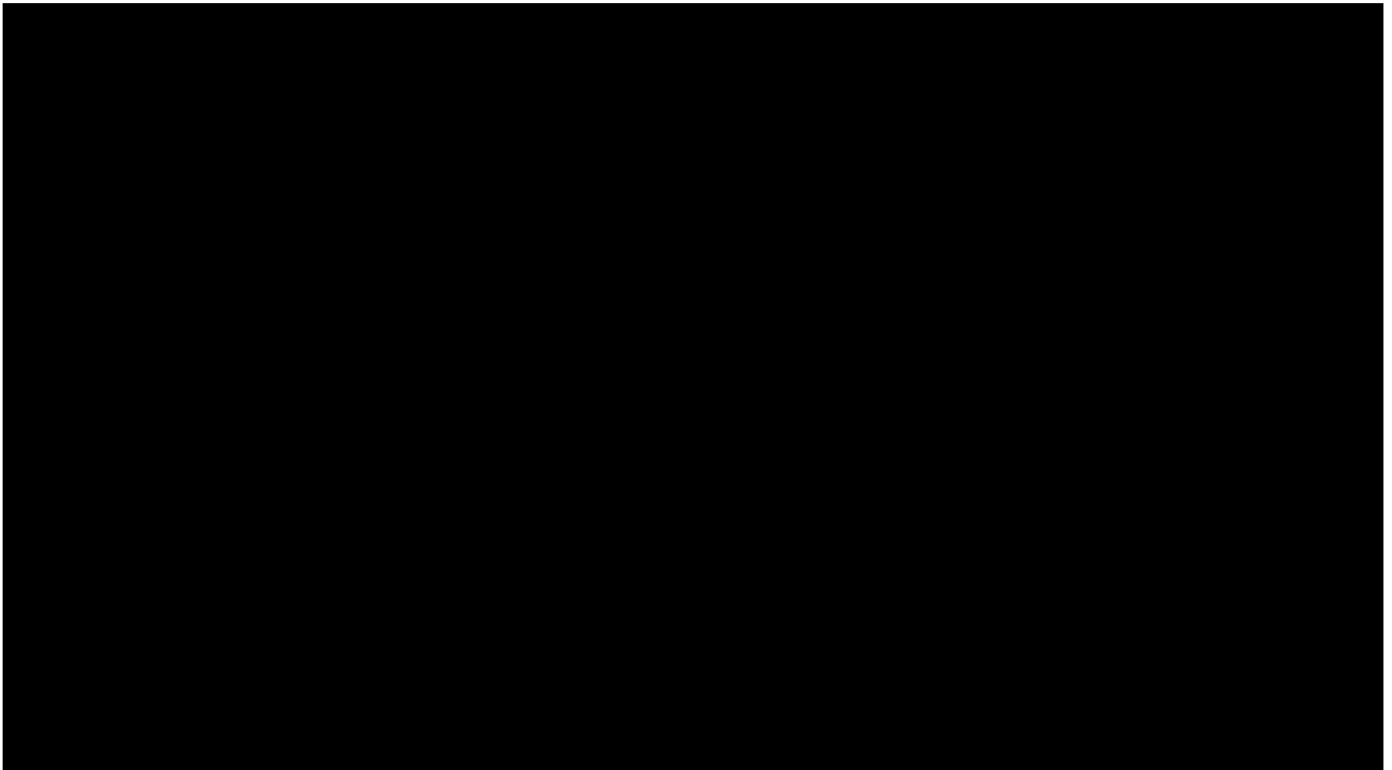


Figure 72. La protéine Tau pathologique peut activer les cellules gliales de type microglies et astrocytes. Ces cellules activées vont sécréter des cytokines pro-inflammatoires et chemokines qui vont attirer les lymphocytes circulants. Après fragilisation de la BHE, ces lymphocytes pourront rejoindre le site de lésion et induire la mort neuronale, par exemple par perforation de la membrane. D'après (Laurent, Bu Ee, and Blum 2018; Walton 2018).

B. Hypothèses concernant la mécanistique d'activation microgliale

1. Activation microgliale et mitophagie

Au cours de cette thèse nous nous sommes intéressés aux liens entre perturbation des voies endolysosomales ou de l'autophagie et inflammasome NLRP3. En effet ces voies de dégradation d'éléments endocytés ou d'organelles intracellulaires sont très importantes pour les cellules phagocytaires. Par les fonctions décrites des protéines C9ORF72 et PGRN dans ces voies, et puisqu'il a été montré que ces protéines sont exprimées dans les cellules microgliales, nous avons fait le lien entre leur perte de fonction, une dérégulation d'activité microgliale et la protéinopathie TDP-43.

Mais le lien entre l'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3 microgliale par TDP-43 et ces voies de dégradation pourrait être indirecte et passer par une dérégulation de la mitophagie.

En effet, pour corroborer cette hypothèse, des liens entre la protéine TDP-43 et un dysfonctionnement mitochondrial ont été établis. En effet, une architecture anormale du réseau mitochondrial et des vésiculations anormales de ces organelles ont été observées par microscopie électronique dans des cortex temporaux post-mortem de patients DFTs avec protéinopathie TDP-43 (P. Wang et al. 2019). La surexpression de la forme entière de la protéine TDP-43 ou de sa forme C-terminale clivée (25kDa) dans des cellules NSC-34 a été associée à une augmentation de la mitophagie (Hong et al. 2012; Davis et al. 2018). De plus, des modifications de la dynamique de fusion/fission mitochondriale ainsi que l'agrégation de mitochondries ont été reportées dans différents modèles murins TDP-43 (Shan et al. 2010; W. Wang et al. 2013; Xu et al. 2011; Stribl et al. 2014). Une étude récente a mis en évidence que la forme entière de TDP-43 était localisée à la mitochondrie dans des conditions de stress (W. Wang et al. 2016). Dans ces conditions, la protéine TDP-43 pourra se lier aux ARNm codant les protéines mitochondriales ND3 (NADH : ubiquinone oxidoreductase core subunit 3) et ND6 (NADH : ubiquinone oxidoreductase core subunit 6), perturbant alors leur expression et le complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale (W. Wang et al. 2016). Une réduction de la localisation de TDP-43 à la mitochondrie, dans des modèles murins SLA transgéniques, montrent une amélioration des fonctions motrices. Des études protéomiques ont conduit à l'identification d'interacteurs de TDP-43 cruciaux pour la mitophagie tel est VDAC1 (voltage-gated anion channel 1) et PHB2 (prohibitine 2) (Davis et al. 2018). Par immunoprécipitation, TDP-43 a aussi été montré comme interagissant avec la protéine de pro-fusion mitochondriale MFN2, dans des cortex post-mortem de patients DFTs (Davis et al. 2018). Ainsi, par l'identification de ces interacteurs mitochondriaux (Figure 73), TDP-43 semble jouer un rôle dans la mitophagie qui est dérégulée chez les patients DFT et SLA. Nous pouvons nous demander, si, après endocytose par les cellules microgliales, la protéine TDP-43 ne serait pas capable d'induire des perturbations directes ou indirectes (en induisant un stress) des mitochondries. Il serait intéressant de voir si une stimulation par TDP-43 ne serait pas capable de mobiliser la protéine TDP-43 endogène, qui pourrait induire un stress mitochondrial.

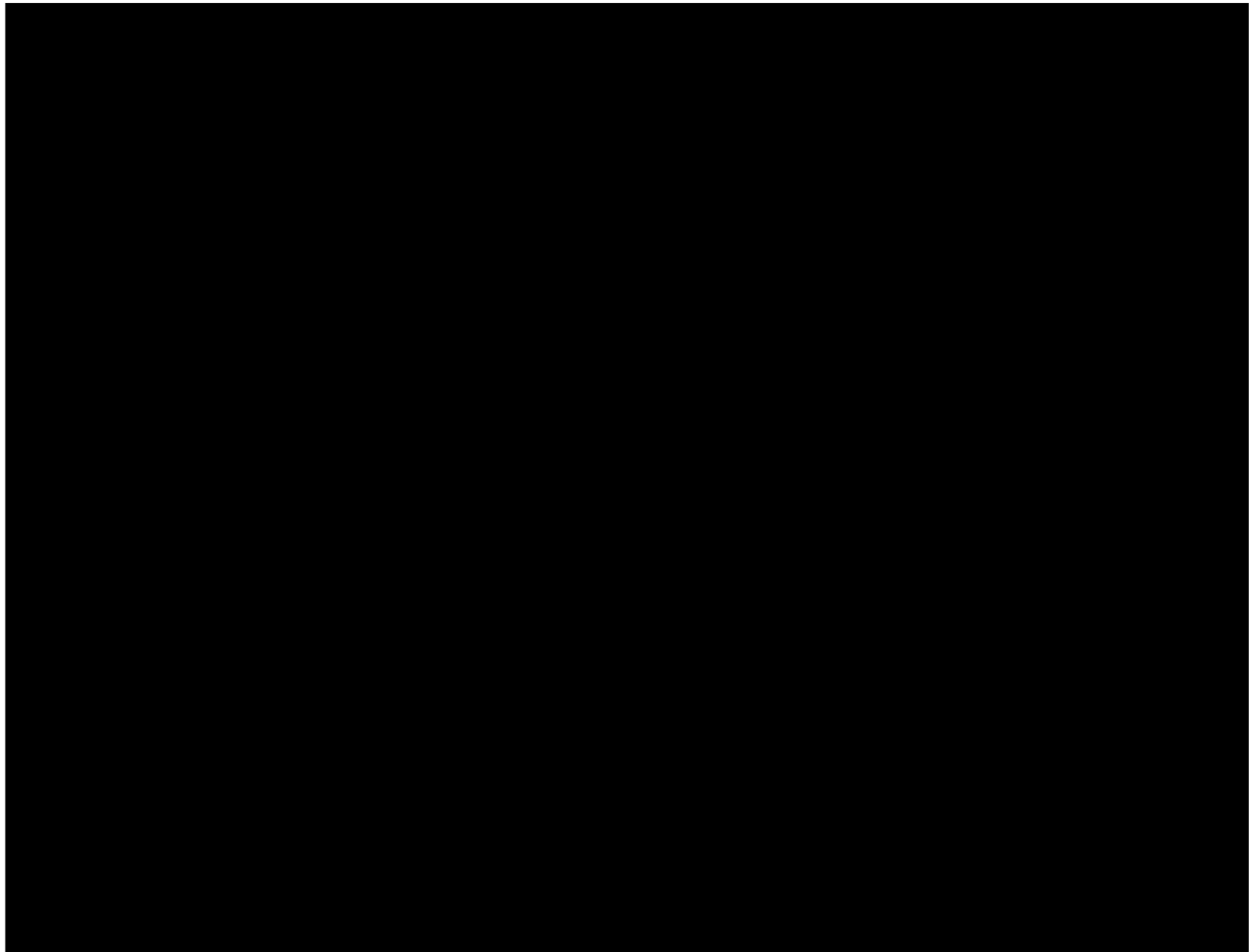


Figure 73. Représentation des perturbations mitochondriales induites par TDP-43. TDP-43 présent dans le cytosol va interagir avec VDAC1. La polyubiquitinylation de VDAC1 par PRKN est essentielle pour le déclenchement de la mitophagie. TDP-43 peut aussi interagir avec PHB2 sur la membrane externe mitochondriale. PHB2 interagit avec LC3-II pour induire la mitophagie et est aussi impliqué dans la fusion mitochondriale. TDP-43 peut aussi interagir avec MFN1 qui va augmenter les niveaux de DRP1 et FIS1, protéines induisant les processus de fissions mitochondriales. TDP-43 peut aussi altérer le protéasome et entraîner l'accumulation de protéine PINK clivée. Sous stress, la mitophagie de mitochondrie non défectueuse, dite non sélective se met en place. D'après (Ravanidis and Doxakis 2020).

Pour appuyer l'hypothèse d'une contribution de la mitophagie dans l'activation microgiale de l'inflammasome par TDP-43, des liens complexes entre stress mitochondrial/mitophagie et régulation de l'inflammasome NLRP3 ont également été mis en évidence par différentes études (Zhong et al. 2016; Lazarou 2015). Ainsi il a été montré qu'un dommage mitochondrial pouvait être la cause de l'activation de l'inflammasome NLRP3. En effet, la mitochondrie joue un rôle important pour les cellules en permettant la production d'ATP nécessaire à la réalisation des fonctions biologiques. Elle est aussi impliquée dans l'homéostasie calcique et dans la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) (Kataoka et al. 2020). Ces ROS produites par la mitochondrie ainsi que l'ADN mitochondrial, ont été reconnus comme faisant partie des signaux de danger (DAMPs) pour les cellules microgiales, et peuvent activer la

voie de l'inflammasome NLRP3 (Franchi, Muñoz-Planillo, and Núñez 2012). De même, l'étude de Zhong et al, a permis de montrer que lorsqu'un DAMP était reconnu par une cellule microgliale, l'inflammasome NLRP3 était activé (Zhong et al. 2016). Seulement pour activer cet inflammasome, une première activation du facteur de transcription NF- κ B est nécessaire puisqu'elle permet la transcription des pro-cytokines pro-inflammatoires. Le facteur NF- κ B va être capable de prévenir une activation soutenue de l'inflammasome, et donc une inflammation chronique en augmentant l'expression de p62, récepteur de l'autophagie. D'autre part, le stimulus activateur externe de l'inflammasome NLRP3, probablement en induisant une forme de stress, va endommager la mitochondrie qui va alors produire des ROS en excès. Ces derniers vont contribuer à l'activation de l'inflammasome NLRP3. Les mitochondries endommagées vont alors être ubiquitinylées par une protéine nommée Parkin, dont il est à noter que la perte de fonction homozygote est responsable de formes génétiques de maladie de Parkinson (Periquet et al. 2003). Les résidus ubiquitine vont être reconnus spécifiquement par la protéine p62 qui permettra alors la mise en place de la mitophagie (Figure 74). De façon intéressante, l'ablation de p62 spécifique aux macrophages induit l'accumulation de mitochondries endommagées et une sécrétion exacerbée d'IL-1 β ce qui a pour conséquence la mort prononcée des macrophages (Zhong et al. 2016). La mitophagie permet de maintenir l'homéostasie mitochondriale par l'élimination des mitochondries endommagées. Mais elle permettrait également de réguler négativement l'activation de l'inflammasome NLRP3. Elle préviendrait ainsi l'hyperinflammation ou inflammation chronique. (Franchi, Muñoz-Planillo, and Núñez 2012; M. J. Kim, Yoon, and Ryu 2016)

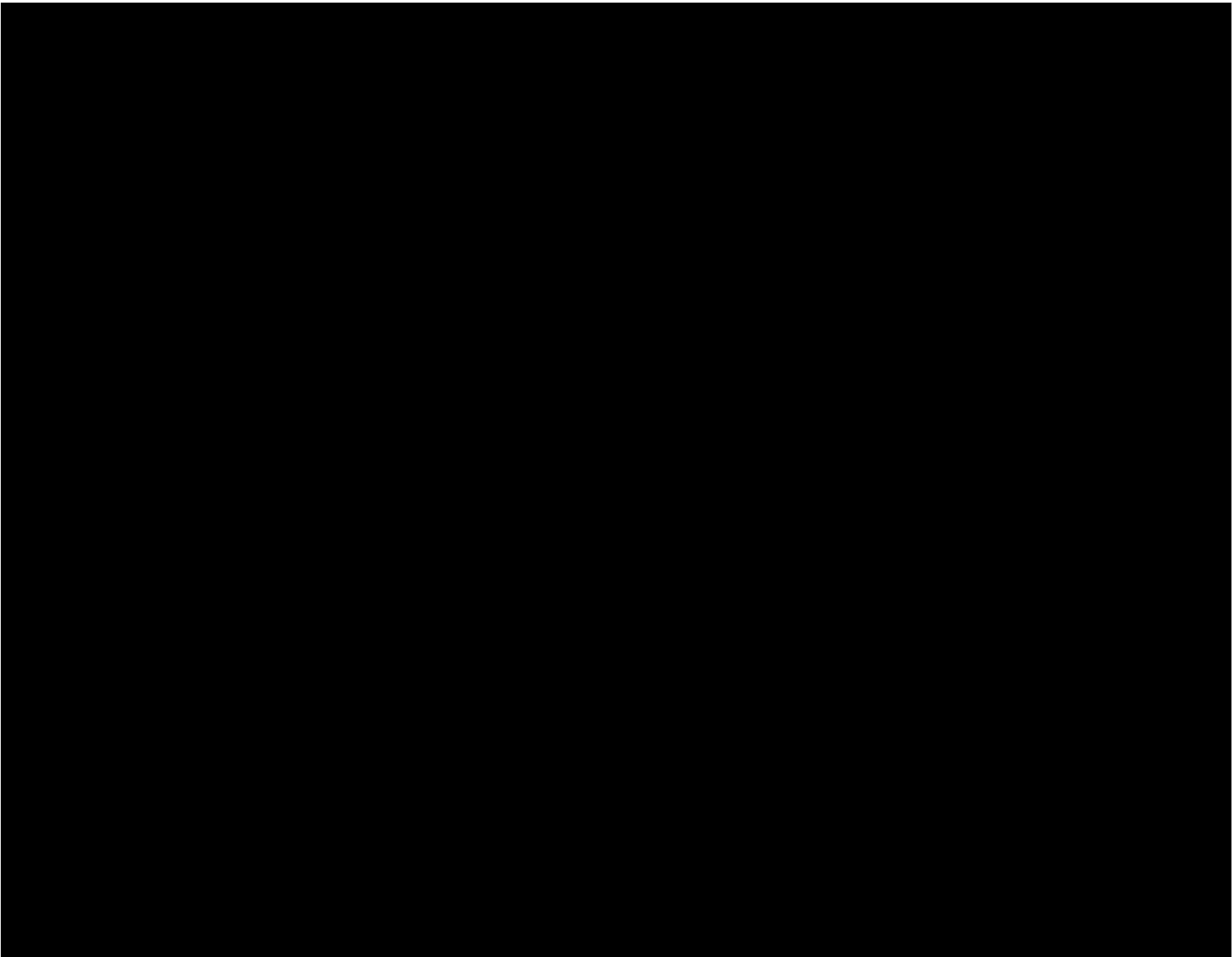


Figure 74. Boucle de régulation de la mitophagie sur l'inflammasome NLRP3. Une fois les cellules microgliales activées par des agonistes, la voie NFκB est activée. Celle-ci va permettre la transcription de NLRP3 mais aussi de p62. Ainsi, la voie de l'inflammasome NLRP3 est activée, et en parallèle, les mitochondries endommagées par les agonistes de la voie NLRP3, vont être ubiquitinylées et reconnues par les protéines p62. La mitophagie se met alors en place et inhibe l'inflammasome NLRP3. Ce mécanisme permet de limiter l'inflammation. D'après (Zhong et al. 2016).

Il est donc envisageable que TDP-43 active l'inflammasome NLRP3 en mettant en jeu un stress mitochondrial et en interférant avec la mitophagie. En présence de mutations *C9ORF72* ou *GRN*, nous pouvons envisager que les machineries autophagiques soient défectueuses à l'état basal avant même toute stimulation particulière. Ainsi, les mitochondries endommagées ne seraient pas dégradées et les inflammasomes et leurs constituants ne seraient pas régulés correctement, conduisant à une neuroinflammation chronique négative pour les cellules neuronales.

Ce mécanisme pourrait être encore plus complexe. En effet, l'expression de protéines neurotoxiques par les cellules microgliales pourrait induire une libération de mitochondries fragmentées et dysfonctionnelles par les cellules microgliales dans le

milieu extracellulaire. Cela aurait pour conséquence de propager l'inflammation en activant les cellules astrocytaires mais aussi d'induire une mort neuronale (Joshi et al. 2019).

Enfin, puisque les protéines FUS (Kataoka et al. 2020), SOD1 (R. S. Rogers et al. 2017; Yan Wang, Liu, and Lu 2019) et Tau (Cummins et al. 2019; Y. Hu et al. 2016) sont aussi connues comme provoquant des perturbations de la mitophagie, et, comme en contexte pathologique, elles peuvent être mal conformées ou agrégées, il serait intéressant de savoir si elles sont capables d'activer les mêmes voies d'activation microgliale que TDP-43.

2. Fonctions lysosomales défectueuses et maladies neurodégénératives

Au-delà de la mitophagie et du rétrocontrôle de l'activité de l'inflammasome, il est possible que les mutations de *C9ORF72* et *GRN* affectent la réactivité microgliale en perturbant la dynamique du trafic vésiculaire dans ces cellules notamment celui des lysosomes. En effet, ces vésicules sont intéressantes puisque qu'elles contiennent les enzymes nécessaires à la dégradation des phagophores et protéines ou organelles ubiquitinyliées. Dans le cas d'une perte de fonction des protéines *C9ORF72* ou *PGRN* il est possible que la dégradation des contenus des phagolysosomes ne soit pas optimale et que cela ait un effet direct sur l'activation des cellules microgliales (Corrionero and Horvitz 2018; Amick, Rocznik-Ferguson, and Ferguson 2016; Evers et al. 2017). D'une part, en empêchant les cellules d'être efficaces dans la dégradation des DAMPS et PAMPS extracellulaires, d'autre part en entraînant l'activation des voies d'inflammation. Les cathepsines font parties de ces enzymes lysosomales. Il a été montré que ces cathepsines sont capables d'activer l'inflammasome NLRP3. En effet, dans des cultures primaires microgliales murines, il a été montré que l'A β pouvait induire des dommages lysosomaux, permettant la libération de cathepsine B qui est à l'origine de l'activation de l'inflammasome NLRP3 (Halle et al. 2008). Ces dommages lysosomaux correspondent à une perméabilisation plus ou moins importante de la membrane lysosomale (Figure 75) (Elliott and Sutterwala 2015; Campden and Zhang 2019). Il serait intéressant d'observer si la protéine TDP-43 est capable, sous forme agrégée ou clivée, de perméabiliser la membrane lysosomale lors de son internalisation. Nous pourrions comparer cela dans des cellules microgliales de

différents génotypes afin de savoir si la perméabilisation des lysosomes peut être différente, et peut expliquer les différences de réactivité des cellules face au même stimulus. Ces pistes d'études sont encourageantes dans un contexte DFT puisque la protéine TMEM106B, qui est aussi un facteur de risque génétique associé aux formes de DFTs *C9ORF72* et *GRN*, est une protéine transmembranaire lysosomale importante pour la régulation de la taille des lysosomes, de la motilité de ces vésicules et de l'intégrité de leurs membranes (Nicholson and Rademakers 2016; Stagi et al. 2014; Papadopoulos and Meyer 2017; Lüningschrör et al. 2020).

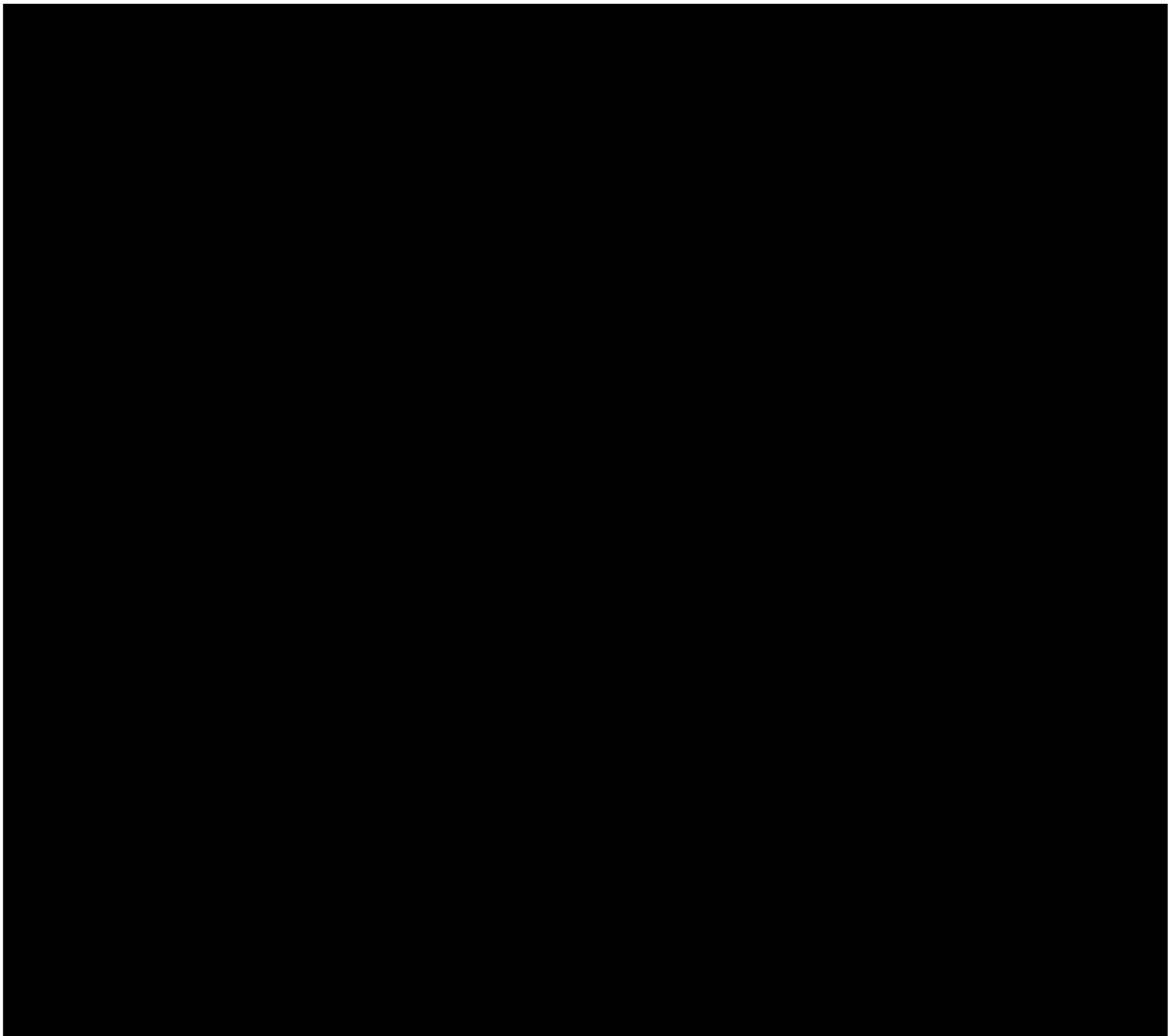


Figure 75. Après endocytose de cristaux de cholestérol ou d'autres stimuli par les cellules microgliales, les lysosomes sont fragilisés par perméabilisation de leurs membranes. Suite à une perméabilisation faible, quelques cathepsines sont libérées dans la cellule et sont capables d'activer l'inflammasome NLRP3. En cas de perméabilisation membranaire lysosomale totale, les cathepsines libérées dans la cellule vont dégrader les composants de l'inflammasome NLRP3. (Les lettres B L C Z représentent les cathepsines) (LMP : Lysosomal membrane permeabilisation). D'après (Campden and Zhang 2019).

Chez les patients cependant, une étude immunohistochimique des hippocampes et lobes temporaux post-mortem de patients DLFT-Tau et DFLT-TDP a mis en évidence que les marquages lysosomaux LAMP-1 neuronaux étaient moins importants chez les patients DLFT-Tau par rapport aux DLFT-TDP (Bain et al. 2019). L'observation fut la même chez les patients avec neuropathologie DFLT-TDP de type C par rapport aux DFT-TDP de type A et B. Ces inclusions de types A et B sont souvent associés aux mutations *C9ORF72* et *GRN* (I. R. A. Mackenzie, Neumann, Baborie, Sampathu, Plessis, et al. 2011). Ainsi, l'hypothèse proposée par les auteurs de l'étude est que la DLFT-Tau est associée à une déficience du nombre de lysosomes ou d'un transport vésiculaire défectueux, tandis que les mécanismes liés à l'agrégation de TDP-43 seraient plutôt associés à une dysfonction de l'activité lysosomale plutôt qu'à un nombre de lysosomes réduit. Dans de futures analyses, il serait intéressant, en plus d'analyser les flux vésiculaires, d'étudier l'activité fonctionnelle des lysosomes. Par cela, j'entends l'étude de la maturation et de l'activité des cathepsines, mais également des analyses du pH des lysosomes puisque l'activité enzymatique est dépendante du pH.

C. Importance de la neuroinflammation dans la maladie et le traitement des patients

1. Activation microgliale : cause ou conséquence ?

Nous pouvons nous interroger quant à la chronologie des événements entre neuroinflammation et neurodégénérescence. En effet, la neuroinflammation est-elle un processus précoce ou tardif dans la pathologie ? Cette question revient finalement à nous demander si la neuroinflammation constitue une cause ou une conséquence. Un article très récent a permis de montrer par TEP-scan *in vivo*, chez des patients DFTs, que les cellules microgliales étaient activées et que cette activation co-localisait avec les protéines agrégées TDP-43 et Tau (Bevan-Jones et al. 2020). Une confirmation de cette association entre cellules microgliales activées amiboïdes et inclusions protéiques a été validée par marquages immunohistochimiques sur des cerveaux post-mortem. Les profils spatiaux de neuroinflammation peuvent être différents dans les cerveaux de patients. Ils ont été associés à différents types de syndrômes DFT. Cela

tend à montrer que la composante inflammatoire dans les DFTs pourrait jouer un rôle important dans l'évolution clinique de la pathologie. Il s'agirait d'un processus pathophysiologique précoce, qui pourrait promouvoir ou accélérer la conformation anormale ou l'agrégation des protéines (Bevan-Jones et al. 2020). Par ailleurs, dans un modèle murin de tauopathie, les modifications inflammatoires précèdent l'accumulation des inclusions de la protéine Tau (Yoshiyama et al. 2007) et les molécules pro-inflammatoires augmentent l'hyperphosphorylation et l'agrégation de Tau (Bhaskar et al. 2010). Par TEP-scan, des études ont montré que la neuroinflammation anticipait l'atrophie cérébrale dans des cohortes de patients DFTs classés par spectre clinique (Cagnin 2006). Et elle précède l'apparition des symptômes et la détectabilité de l'agrégation de Tau par TEP-scan chez des patients porteurs de mutations *MAPT* (Miyoshi et al. 2010; Bevan-Jones et al. 2019). Ces éléments sont en faveur d'une neuroinflammation précoce qui jouerait un rôle dans le développement de la pathologie.

2. Thérapies existantes et perspectives dans les DFTs et DFT-SLA

A l'heure actuelle, les traitements proposés aux patients DFTs sont symptomatiques et apportent des bénéfices limités. La compréhension croissante des mécanismes biologiques associés au développement de la pathologie permet de réfléchir à de nouvelles thérapies (Panza et al. 2020). La majorité des nouvelles drogues proposées concernent les DLFT-Tau. Elles ont pour but principal de cibler sa phosphorylation et son agrégation. Certaines de ces thérapeutiques sont testées en phase II d'étude clinique (Figure 76).

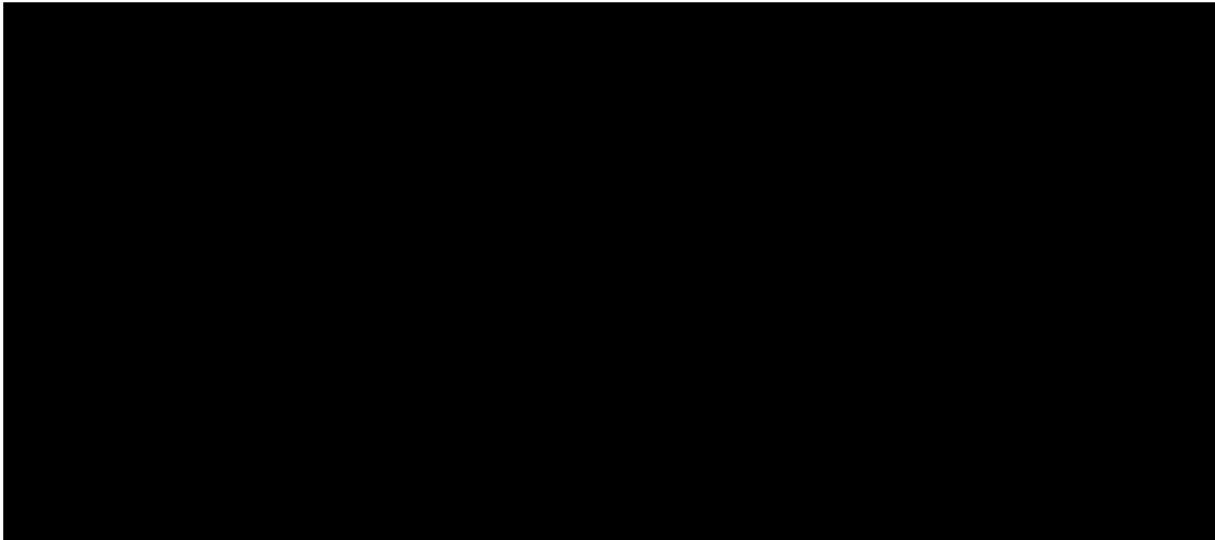


Figure 76. Principales drogues en développement ciblant les DLFT-Tau. D'après (Panza et al. 2020).

Cibler l'agrégation anormale des protéines pourrait être une approche intéressante (Buratti 2020). En effet, il est probable que sans conformation anormale ou agrégation protéique, les effets gain de fonctions toxiques des protéines ne se mettent pas en place. De même, les aspects perte de fonction induites par les déplétions nucléaires des protéines et perturbations du métabolisme des ARNs (Alami et al. 2014; Strong et al. 2007b; Fiesel and Kahle 2011) pourraient être rétablis. Il est également possible que sans agrégation protéique ou sans modifications anormales post-traductionnelles de ces protéines, il n'y ait pas ou peu d'inflammation. Cela réduirait ainsi les dysfonctions et la mort neuronale.

Des thérapeutiques concernant TDP-43 sont de plus en plus à l'ordre du jour. Une étude récente utilisant des lymphocytes immortalisés de patients DLFT-TDP, porteur de mutations perte de fonction *GRN* et de patients SLA sporadiques, propose par exemple de moduler l'activité de CDC-7 (Cell Division Cycle Kinase 7), une kinase connue pour phosphoryler la protéine TDP-43. En inhibant CDC7, les auteurs ont pu diminuer la phosphorylation de TDP-43 et prévenir son accumulation cytoplasmique. Cette kinase pourrait donc être une bonne cible thérapeutique (Vaca et al. 2020). Les cibles thérapeutiques proposées concernant les DFTs avec neuropathologie Tau ou TDP-43 sont schématisés dans la figure ci-dessous (Figure 77).

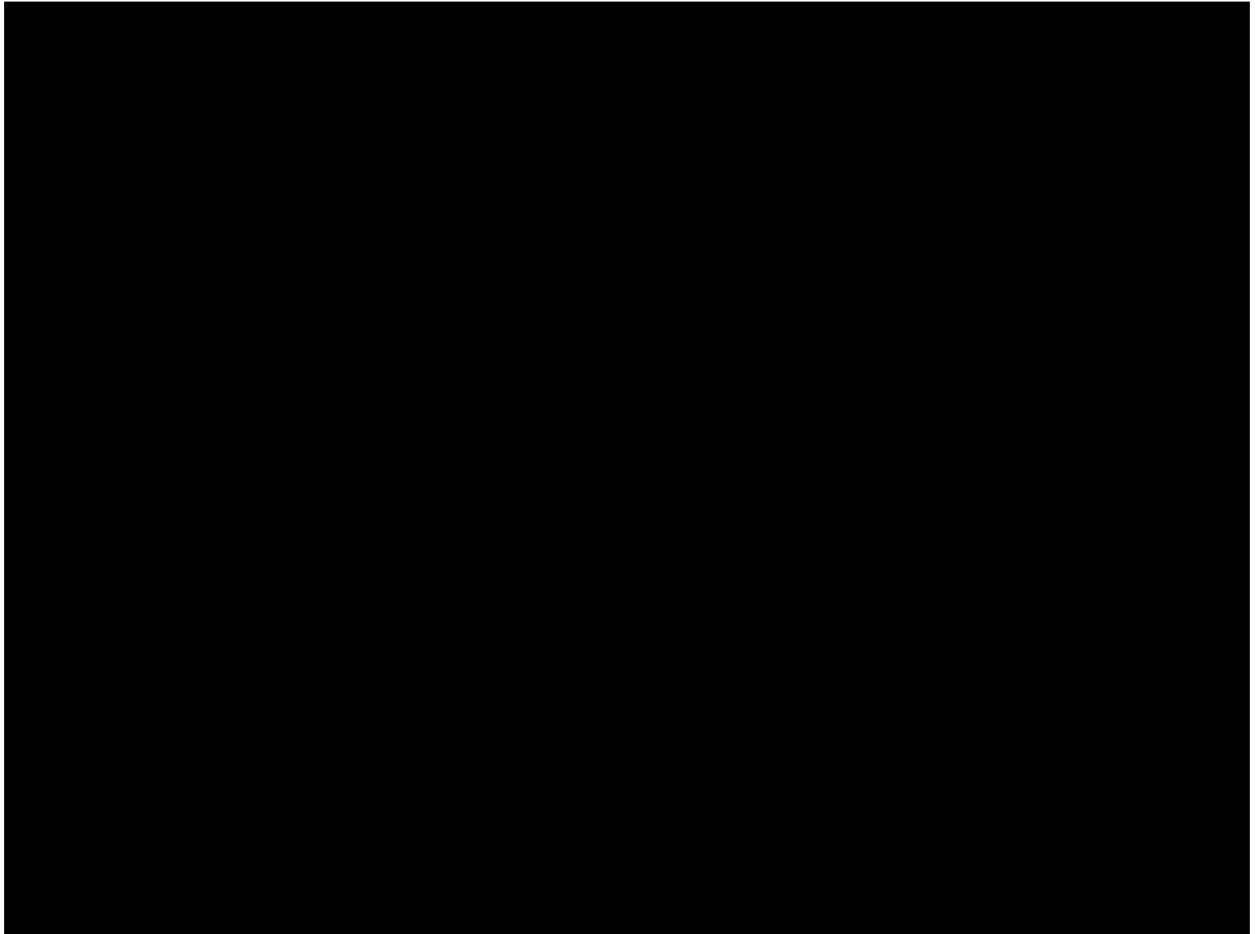


Figure 77. Schématisation des principales cibles thérapeutiques principalement étudiées dans les DLFT-Tau et DLFT-TDP. D'après (Panza et al. 2020).

Cependant, par l'hétérogénéité clinique, génétique et neuropathologique observée chez les patients, il est compliqué de définir une thérapie efficace. Les profils neuropathologiques TDP-43 associées aux DFTs comportent des différences de composition et morphologies pouvant complexifier l'obtention d'une molécule efficace (Yousef et al. 2017).

Des approches pharmacologiques tentent par ailleurs de cibler les effets des mutations de *GRN* et *C9ORF72* en visant principalement à augmenter la quantité de protéine PGRN ou à moduler l'expression de *C9ORF72* pour éviter l'accumulation d'ARN répétés et/ou de DPRs toxiques (Panza et al. 2020). D'après une étude sur modèle murin transgénique (GA)₁₄₉-CFP, une vaccination anti-poly-GA diminuerait la neuroinflammation observée chez cette souris, laissant entendre que ces poly-GA sont une bonne cible thérapeutique (Q. Zhou et al. 2020).

Des premiers tests de thérapie génique chez la souris *Grn*^{-/-} par traitement AAV-*Grn*, ont permis d'améliorer l'accumulation de LAMP1 dans les lysosomes observés dans ce modèle mutant et de restaurer l'activité de la cathepsine-D. Ce traitement semble donc prometteur et confirme qu'il est important de mieux connaître les fonctions spécifiques des protéines impliquées dans les DFTs et leurs interacteurs pour permettre le développement de nouveaux traitements (Trageser et al. 2019).

De plus, les lysosomes pourraient être une bonne cible thérapeutique dans ces pathologies. Les lysosomes pourraient en effet être impliqués dans de nombreuses étapes de la pathogénèse. Ils joueraient un rôle dans la propagation de protéines mal conformées au sein des nanotubes (Victoria and Zurzolo 2017). De plus, compte-tenu des liens émergents entre les lysosomes et l'inflammasome NLRP3, il serait peut-être envisageable de moduler l'activation de cette voie en régulant l'activité des lysosomes (Aflaki et al. 2016; Campden and Zhang 2019).

Les fonctions immunitaires de la progranuline peuvent être plus larges que son activité lysosomale. En effet, par sa liaison au récepteur du TNF- α , la progranuline pourrait moduler les réactions inflammatoires. On peut envisager que dans le cas d'une mutation perte de fonction, la protéine ne puisse plus interagir avec ce récepteur par compétition avec le TNF- α , et donc l'inflammation ne serait plus réduite. Un rétablissement de l'expression de progranuline pourrait être bénéfique à plusieurs niveaux (C. J. Liu and Bosch 2012b).

IV. CONCLUSION

Par notre étude, qui est encore préliminaire, nous espérons apporter à la fois un mécanisme d'activation microgliale généralisable aux DLFT-TDP, puisque la protéine TDP-43 est commune à toutes ces formes ; mais également un mécanisme biologique commun aux formes génétiques *C9ORF72* et *GRN*. Il serait intéressant de savoir si la réactivité plus importante des microglies mutantes pour *C9ORF72* et *GRN* peut mener au développement d'une neuroinflammation plus précoce chez ces patients. Si l'activation de l'inflammasome NLRP3 est généralisable à toutes les formes de DFTs et DFT-SLA, voire à une majorité de maladies neurodégénératives, nous pouvons imaginer pouvoir utiliser l'activation de cette voie comme biomarqueur pour suivre

l'évolution de la maladie. Cela pourrait passer par TEP-Scan ou par dosage des cytokines dans les fluides biologiques si leur présence est démontrée et validée.

De même, l'inflammasome NLRP3 pourrait être une cible thérapeutique commune aux DFTs, DFT-SLA et SLA ainsi qu'à d'autres maladies neurodégénératives. Des inhibiteurs de cette voie sont déjà disponibles (Zahid et al. 2019). Seulement faut-il l'inhiber ou plutôt moduler son activité ? Chez la souris, la délétion homozygote du gène *Nlrp3* ne provoque pas de phénotype dommageable. Cependant le système immunitaire d'un humain est soumis tout au long de sa vie à beaucoup d'évènements difficilement modélisables chez une souris de laboratoire étudiée en environnement très contrôlé et ayant une durée de vie beaucoup plus courte.

Enfin, nous nous sommes focalisés sur l'inflammasome NLRP3, mais nous sommes également en attente de nos résultats de séquençage ARN. Avec cette étude non biaisée, nous espérons mettre en évidence d'autres voies de signalisation microgliales pouvant être modulées par une stimulation par TDP-43, ou des différences d'activation de voies selon les profils génétiques. Cela nous permettrait d'identifier de nouvelles cibles sur lesquelles une thérapeutique pourrait être développée.

Il est difficile de nous prononcer sur les voies de signalisation autres que l'inflammasome NLRP3 qui pourraient être communes à différentes maladies neurodégénératives. Mais une étude de séquençage ARN de microglies concernant la maladie d'Alzheimer, à partir de souris surexprimant les protéines Tau ou A β , a mis en évidence que les gènes dérégulés et surexprimés dans les microglies, correspondaient à des facteurs de risques génétiques préalablement identifiés chez les patients (Marioni et al. 2018). Il s'agit en fait principalement de gènes microgliaux lysosomiaux (Sierksma et al. 2020). Cette étude irait dans le sens d'une dérégulation généralisée de la voie de dégradation endolysosomale dans les maladies neurodégénératives. Même si des voies de signalisation peuvent être communes à différentes maladies neurodégénératives, il est aussi probable, par les spécificités cliniques de chaque pathologie, que des différences d'activation inflammatoires soient elles aussi spécifiques selon les agrégats protéiques concernés et les susceptibilités génétiques particulières.

V. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. Modèles murins utilisés

Afin d'étudier la neuroinflammation dans les DFT/SLA, nous avons tiré parti de lignées murines existantes reproduisant les déficiences en C9ORF72 (lignée C57BL/6J3110043O21Rik^{em5Lutzy/J-C9orf72^{-/-}}) (J. G. O'Rourke et al. 2016) et progranuline (lignée B6.129S4(SJL)-*Gn^{tm2.1Far/J(Gn^{R493X/R493X})}*) (Nguyen et al. 2018) qui sont retrouvées chez les patients porteurs de ces mutations. Les souris sont enlevées à l'animalerie de l'ICM selon les normes en vigueur. Les expérimentations animales ont été approuvées par le comité CEEA - 005 Comité d'éthique en expérimentation animale Charles Darwin et selon la directive du parlement européen **2010/63/UE**. Les mâles fondateurs des lignées C57BL/6J-3110043O21Rik^{em5Lutzy/J(C9orf72^{-/-})} et B6.129S6-Nlrp3^{tm1Bhk/J (Nlrp3^{-/-})} nous ont été fournis par Jackson Laboratory, ceux de la lignée B6.129S4(SJL)-*Gn^{tm2.1Far/J(Gn^{R493X/R493X})}* nous ont été donnés par collaboration avec le Pr. Éric Huang. Des souris C57BL6/N sont également utilisées.

B. Culture primaire de cellules microgliales murines

Pour étudier *in vitro* l'implication de la microglie dans les DFT/SLA, nous réalisons des cultures primaires de microglies murines à partir de cerveaux de nouveau-nés des lignées contrôles C57BL/6N et transgéniques *Nlrp3^{-/-}*, *C9orf72^{-/-}* ou *Gn^{R493X/R493X}*. La culture primaire de cellules microgliales se compose de deux étapes principales : premièrement une culture mixte de microglie sur tapis d'astrocytes, et dans un second temps, une culture pure de cellules microgliales. Les cerveaux de nouveau-nés murins (âgés de moins de 2 jours) sont prélevés, une fois les méninges retirées, les cerveaux sont placés dans un Falcon 50mL, contenant 5mL de Hanks'Balanced Salt solution (HBSS, Gibco #14025-050), où ils sont dissociés par pipetage doux puis laissés à décanter suite à l'ajout de 10mL de HBSS. Après 5 minutes de décantation, 10mL de la suspension cellulaire mixte sont récupérés dans un Falcon 50mL froid, ce sans récupérer les débris et fragments de cerveau non encore dissociés. Ces étapes de dissociation et décantation sont renouvelées à deux reprises. Après centrifugation (1200rpm, 10 min à 4°C), le culot de cellules est repris dans du milieu de culture constitué de DMEM (Gibco #31885-023), complémenté de 10% sérum de veau foetal

(décomplémenté et dépourvu d'endotoxine, Gibco #10082147), 1% Pénicilline et 1% Streptomycine. La suspension de cellulaire mixte est incubée pendant huit jours à 37°C (5% CO₂) sur flasque de 75cm², à raison d'un cerveau par flasque dans 10mL de milieu de culture. Pour permettre l'adhésion cellulaire, les flasques sont au préalable, couvertes de Poly-L-lysine (SIGMA #P4832) pendant 30 minutes à 37°C puis lavées avec du Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS, Gibco #14190-094). Lorsque le tapis d'astrocytes est à confluence, 8 jours après mise en flasque, le milieu est remplacé par du milieu frais. Cinq jours après le changement de milieu, les cellules microgliales se retrouvent en suspension dans le milieu de culture, le tapis d'astrocytes lui reste adhérent au plastique de la flasque. Ceci permet de procéder facilement à la **récolte des cellules microgliales**, sans perturber le tapis astrocytaire. Le milieu de culture contenant les microglies en suspension, est récupéré dans un Falcon 50mL après une douce agitation manuelle de la flasque. Après centrifugation (1200rpm, 10 min à 4°C), le culot de cellules est repris dans du milieu de culture. Les cellules sontensemencées à la densité de $1,5 \cdot 10^5$ cellules par puit de plaque 96 puits pour stimulation et dosage des cytokines, ou à la densité de $1,5 \cdot 10^5$ cellules par puit de lame Lab-tek (BD Falcon™ #354108) pour de l'immunofluorescence et microscopie électronique, ou à la densité de $1,5 \cdot 10^5$ cellules par puit de plaque 24 puits pour une extraction protéique ou d'ARN.

C. Stimulation des cellules microgliales murines

Le milieu de culture est changé le jour suivant l'ensemencement des cellules microgliales, par du milieu de stimulation, c'est à dire du milieu sans sérum afin de limiter l'activation basale des cellules microgliales. Ce milieu correspond à du DMEM (Gibco #31885-023), complémenté de N-2 (Gibco #17502-048), 1%P/S. Le 3^{ème} jour après ensemencement, les microglies sont stimulées par la protéine TDP-43 recombinante humaine (Abcam #ab156345 solubilisée dans de l'urée 2mM) aux concentrations 100ng/mL, 500ng/mL, 2,5µg/mL ou 5µg/mL. En parallèle, les stimulations avec du milieu seul ou de l'urée (2mM) nous servent de contrôle négatif. Comme contrôle positif d'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3, les microglies sont pré-stimulées pendant 3,5h par du LPS (Invivogen # tlr1-pek1ps 50ng/mL) suivi d'une stimulation de 30 minutes par la nigéricine (Invivogen # tlr1-nig 2,5µM), qui est ensuite remplacée par du milieu de stimulation frais. Un inhibiteur des endotoxines, PMBS (Sigma Aldrich #5291 à 10µg/mL) a été utilisé pour vérifier que la

solution commerciale de protéine TDP-43 n'en contenait pas. Un inhibiteur de la voie de l'inflammasome NLRP3, CRID3 (Tocris #5479 à 1µM) a été utilisé pour vérifier l'implication de cette voie de signalisation suite à l'activation des microglies par la protéine TDP-43. Afin d'étudier les voies d'activation microgliales induites par TDP-43, un inhibiteur des TLR2/4 a été utilisé, OxPAPC (InvivoGen #tlrl-oxp à 10µg/mL), ainsi que des inhibiteurs de caspase-1, Ac-YVAD-cmk (InvivoGen #inh-yvad à 30µg/mL, reconstitué dans du DMSO) et caspase-11, Wedelolactone (Santa-Cruz #2006-648 à 30µM, reconstitué dans du DMSO). Enfin, suite à 16h ou 24h de stimulation, le surnageant est conservé à -80°C pour de futurs dosages cytokiniques et les cellules sont soit fixées au paraformaldéhyde (PFA, Sigma Aldrich #SHBG7263V à 4%), soit congelées à -80°C après un rinçage au PBS 1X.

D. Culture de cellules dites « microglie-like » humaines

1. Prélèvements sanguins

Les échantillons de sang sont prélevés chez des individus faisant partie des cohortes PredictPGRN et PrevDemAls. Dans ce manuscrit, je parlerai indifféremment d'individus « *C9ORF72^{mt}* » pour les patients DFT, SLA ou DFT-SLA ou individus pré-symptomatiques porteurs de mutation dans le gène *C9ORF72*. De même, j'utiliserai le terme d'individus « *GRN^{mt}* » pour les personnes porteuses d'une mutation causale dans le gène *GRN*, qu'elles soient symptomatiques ou présymptomatiques.

2. Isolement des PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) à partir de sang frais

Le sang veineux est prélevé dans des tubes contenant un anticoagulant, l'EDTA. Le sang est dilué dans du DPBS puis versé doucement sur de l'Histopaque (Sigma #1077). Les PBMC sont isolées par gradient de densité après centrifugation (2200rpm accélération 1 et frein 0, 20min à 20°C). Les PBMC sont congelées à -80°C dans un milieu de congélation (90% FBS Lifetech A3840401 + 10% DMSO).

3. Isolement des monocytes à partir des PBMC

Les monocytes sont isolés, à partir des PBMC décongelées, à l'aide d'une sélection négative grâce au kit « Pan Monocyte Isolation Kit, human » (Miltenyi #130-096-537). Enfin, à l'aide du protocole de différenciation des monocytes ci-après, nous obtenons

des cellules « microglies-like » humaine appelées *MDMi* (pour Monocyte-Derived Microglia-like cells).

4. Culture de MDMi

Les monocytes sontensemencés à la densité de 1.10^5 cellules par puit de plaque 6 puits, dans un milieu de différenciation constitué de RPMI Lifetech 21875034 complet (RPMI + 1%P/S + 10%FBS), complémenté d'IL-34 (R&D systems #5265-IL-010/CF à 100ng/mL) et de GM-CSF (R&D systems #215-GM-050/CF à 10ng/ml). Au préalable, pour permettre l'adhésion cellulaire, un revêtement à partir de Matrigel (Corning® #356231) est réalisé pendant 2h à température ambiante. Aux jours 2, 4, 8 et 10 suivant l'ensemencement, 1mL de milieu de différenciation est ajouté par puit. Les jours 6 et 12, le milieu est remplacé par 1mL de milieu de différenciation frais et 1mL d'ancien milieu. Le quatorzième jour, les *MDMi* sont collectées en les détachant avec un grattoir après incubation avec de l'EDTA (Sigma #E5134-50G à 1mM) pendant 8 minutes à 37°C. Les *MDMi* obtenues sont ensuite mises en plaque pendant 24h dans un milieu sans sérum afin de limiter l'activation microgliale (RPMI + 1%P/S). Les cellules obtenues après différenciation, sont stimulées durant 24h par les différents stimuli précédemment décrits dans la partie « *stimulation des cellules microgliales murines* ». Suite à une stimulation de 24h, le surnageant est conservé à -80°C pour de futurs dosages cytokiniques et les cellules sont soit fixées (PFA 4%), soit congelées à -80°C après un rinçage au PBS 1X.

E. ELISA

Dans le but de doser les cytokines pro-inflammatoires d'intérêt dans ce projet, c'est-à-dire le TNF α et l'IL-1 β , nous réalisons des tests ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay). Les kits Abcam #ab210895 et #ab212073 sont utilisés pour doser l'IL-1 β et TNF- α murins respectivement. Tandis que les kits ELISA anti-IL-1 β Peprotech #900-T95 et anti- TNF- α Peprotech #900-T25 sont utilisés pour doser les cytokines humaines.

F. Marquages Immunocytochimiques

Les cellules microgliales précédemment ensemencées sur Lab-tek stimulées pendant 16h et fixées (PFA 4%), sont incubées pendant 2h dans une solution de saturation contenant du PBS 1X, 20% de sérum, 1% de BSA et 0,2% Triton. Les anticorps primaires référencés dans le tableau ci-après, sont dilués dans la solution de saturation et incubés sur la nuit à 4°C. Après lavages au PBS 1X, les anticorps secondaires et le DAPI (Roche #10236276001 au 1 :1000) dilués dans la solution de saturation, sont incubés pendant 2h. Une fois lavées au PBS 1X les microglies sont montées pour être observées.

Anticorps primaires	Espèce	Dilution	Référence
Anti-CD11b	Rat	1 :200	MCA711 AB Serotec
Anti-ASC	Rabbit	1 :500	AG-20B-006 AdipoGen
Anti-Histidine	Mouse	1 :1000	H1029 Sigma Aldrich
Anti-p62	Mouse	1 :1000	Ab56416 Abcam
Anti-iba1	Rabbit	1 :500	019-19741WAKO WDE1198
Anti-CD45	Rat	1 :100	14045182 Invitrogen
Anti-CD68	Mouse	1 :200	MCA 341R Serotec

G. Microscopie confocale

L'ensemble des images de cellules microgliales ont été prises avec un microscope confocal inversé Leica SP8X sur la plateforme d'imagerie de l'ICM (ICM-Quant) et acquises au grossissement x60. Cela nous permet d'avoir une visibilité plus précise des marquages intracellulaires. Les images ont été traitées et analysées avec le logiciel Fiji (version 2.0.0-rc-69/1.52p).

H. Analyse des images de microscopie confocale pour quantification des vésicules p62

Pour chaque condition de stimulation, 250 cellules sont analysées. À l'aide d'une macro établie avec le logiciel Fiji, le diamètre et le nombre de vésicules p62 par cellule sont quantifiés.

I. Microscopie Électronique à Transmission (MET)

Pour observer les agrégats TDP-43 seuls : 5µL de solution de TDP-43 recombinante à 2,5 ou 5µg/mL diluées dans du PB sont déposés sur grilles de formvar-carbon de 200 mesh et incubés pendant 2h à température ambiante, puis lavées au PB. Pour un marquage aux billes d'or : l'anticorps primaire anti-TDP-43 (Proteintech #10782-2-AP au 1:200) dilué dans la solution de saturation (PB + 1%BSA) est incubé 1h sur les grilles, puis lavé au PB. Les grilles sont ensuite incubées 30 minutes avec l'anticorps secondaire couplé à des billes d'or de 15nm (Aurion #815.166 au 1:40) puis lavées avec de l'eau MiliQ. Les grilles sont enfin contrastées à l'acétate d'uranyl pendant 5min puis lavées à l'eau MiliQ. **Pour observer les agrégats TDP-43 en contact avec les cellules microgliales murines :** après 16h de stimulation, les cellules sont fixées pendant 30min (PFA 4%, Glutaraldehyde 0.1%, CaCl₂ 1mM, qsp NaH₂PO₄ 0.1M). Après lavages à l'eau MiliQ afin d'éliminer les sels, les cellules sont contrastées successivement avec du tétraxide d'osmium 2% pendant 30min, et de l'acétate d'uranyle 5% pendant 30min. Les cellules sont déshydratées par bains successifs d'éthanol à pourcentage croissant (de 50 à 100%). Les cellules sont ensuite incluses en résine à l'aide du kit EMBED 812 (EMS #14120), avec une polymérisation de la résine qui se fait pendant 48h à 60°C. À l'aide d'un ultra-microtome EM UC7 (Leica, Germany) des coupes ultrafines (70nm) de cellules sont obtenues et déposées sur grilles de nickel. Un immuno-marquage est ensuite réalisé sur les coupes ultrafines. Les coupes sont pré-incubées 30 minutes dans une solution de saturation (PBS 1X, tween 0.1%, BSA-c 0.1% Aurion #900.099), puis 1h avec l'anticorps primaire anti-TDP-43 (au 1:200) dilué dans la solution de saturation. Après lavages au PBS 1X, les coupes sont incubées 30min avec l'anticorps secondaire couplé à des billes d'or de 15nm (au 1:40), dilué dans du PBS 1X et BSA-c 0,1%. Après lavages à l'eau MiliQ, les coupes sont enfin contrastées avec du citrate de plomb 3% (Deltavision #11300) pendant 5min puis lavées à l'eau MiliQ. Une fois sèches, les grilles sont observées avec un microscope électronique Hitachi HT7700 (voltage opérationnel de 70kV). Les images sont obtenues à l'aide d'une caméra intégrée au microscope électronique AMT XR41-B (2048x2048 pixels) et analysées avec le logiciel Fiji.

J. Détection de la caspase-1 clivée et de protéine ASC dans le surnageant des cellules microgliales murines traitées par TDP-43

Après stimulation des cellules microgliales en plaque 24puits (ensemencées à $4,5 \cdot 10^5$ cellules par puit), 500 μ L de surnageant sont récupérés et ajoutés à un volume équivalent de méthanol. Après pipetage, 125 μ L de chloroforme sont ajoutés. Après vortex et centrifugation (13 000g, 5min) les protéines précipitent dans l'interphase, les sels et autres molécules solubles sont localisées dans la phase aqueuse supérieure. Cette phase est alors éliminée et remplacée par 500 μ L de méthanol. Après vortex et centrifugation (13 000g, 5min), les échantillons sont placés à -20°C pendant 30min. Après centrifugation (13 000g, 15min), le surnageant est éliminé et le culot est séché au Speed Vacuum Concentrator pendant 5min. Le culot est ensuite repris dans 30 μ L RIPA (50mM 1M Tris pH7,4 + 150mM NaCl + 1% Triton X-100, + 1% deoxycholate + 0.1% SDS) et bleu de Laemmli. Après dénaturation (3min à 95°C), les protéines sont déposées sur gel (4-15%, Biorad, Criterion© TGX stain-free precast gels). Suite à une migration (1h30 à 80V), les protéines sont transférées sur membranes de nitrocellulose par transfert liquide (1H30, 80V). Les membranes sont incubées dans une solution de PBS-Tween + 3% BSA, avec l'anticorps primaire sur la nuit à 4°C puis avec l'anticorps secondaire pendant 1h. Les anticorps primaires utilisés sont l'anti-caspase-1 (1Genentech, Clone 4B4, rat, au 1 :1000) et l'anti-ASC (AdipoGen AG-20B-006, rabbit, au 1:500).

K. Isolement de cellules microgliales à partir de cerveaux de souris adultes

L'isolement de cellules microgliales à partir de cerveaux de souris adultes (à 4, 6 et 12mois) a été effectué sur les souris de génotypes *C57BL6/J*, *C9orf72^{-/-}*, *Nlrp3^{-/-}* et *C9orf72^{-/-}xNlrp3^{-/-}*, dans le but d'extraire l'ARN de ces cellules et de comparer les voies de signalisation activées entre les génotypes, par RNAséq (collaboration avec Pr Jesper Tegnér). Après euthanasie des souris par injection intrapéritonéale d'euthasol et perfusion intracardiaque des souris au PBS 1X, les méninges sont retirées et les cerveaux disséqués. Pour dissocier les tissus, le kit « Neural Tissue Dissociation Kits » (130-092-628 Miltenyi Biotec) est utilisé. Les cerveaux sont coupés en morceaux et transférés dans un tube « gentleMACS-C » contenant un premier mix enzymatique

(1,9mL de buffer X + 50µL d'enzyme P). Ensuite, 30µL d'un second mix enzymatique (20µL de buffer Y + 10µL d'enzyme A) sont ajoutés. La dissociation mécanique et enzymatique peut alors avoir lieu grâce au gentleMACS Octo Dissociator with Heaters (Miltenyi Biotec) suivant le programme *37C_ABDK_1*. Les lysats sont ensuite déposés sur un filtre SmartStrainers (70µm), puis dilués dans 10mL de PBS. Après centrifugation (300g, 10min à température ambiante) le surnageant est éliminé. Le culot est repris dans 1,8mL de MACS running buffer (Miltenyi Biotec #130-091-22) avec 200µL de billes magnétique anti-myéline (Miltenyi Biotec #130-096-731). La suspension cellulaire est incubée 15min à 4°C. Après lavage des cellules avec 20mL de running buffer et centrifugation (300g, 10min), le culot est repris dans 3mL de Running buffer. La suspension cellulaire est ensuite déposée sur colonne LS (Miltenyi #130-042-401) placée sur aimant (QuadroMACS Separator #130-091-051) et équilibrée avec du running buffer. Cette étape permet de séparer les microglies de la myéline. Après lavages des colonnes avec du running buffer l'échantillon cellulaire est dilué puis centrifugé (300g, 10min). Le culot est repris dans 90µL de running buffer et 10µL de billes magnétiques anti-CD11b (Miltenyi #130-049-601). Les cellules sont incubées 15min à 4°C avec ces billes. Après lavage des cellules avec 20mL de running buffer et centrifugation (300g, 10min), le culot est repris dans 1mL de running buffer. La suspension cellulaire est à nouveau déposée sur colonne LS, placée sur aimant et équilibrée avec du running buffer. Cette étape permet par sélection positive, de retenir les microglies, cellules CD11b+ (marquer membranaire des microglies). Après lavages au running buffer, les cellules CD11b+ sont éluées dans 5mL de running buffer. Afin de déterminer la proportion de cellules microgliales vivantes, 100µL de cette suspension cellulaire finale est incubée 10 min à l'obscurité, avec un mix d'anticorps couplés à des fluorochromes anti-**CD45**-APC (Miltenyi #130-102-544, au 1 :25), anti-**CD11b**-PE (Miltenyi #130-113-235, au 1 :66) et un marqueur de viabilité cellulaire (Miltenyi #130-109-816, au 1 :200). Cette suspension cellulaire ainsi marquée, est acquise sur MACSQuant Analyseur et les données sont analysées à l'aide du logiciel Flowlogic. Le reste de la suspension cellulaire, non marquée, est lavée avec du PBS 1X puis utilisée pour une extraction d'ARN.

L. Extraction d'ARN

Afin d'étudier les voies d'activation microgliales induites par TDP-43, au niveau transcriptionnel, des études de séquençage d'ARN par nos collaborateurs sont

prévues (collaboration avec Pr. Jesper Tegnér). Pour cela, l'ARN de cellules microgliales murines précédemment stimulées *in vitro*, ou de cellules microgliales extraites de cerveaux de souris adultes, a été extrait à l'aide du kit miRNeasy Micro kit (Qiagen #217084). La qualité de l'ARN est vérifiée grâce à la technologie Agilent Tape Station.

M. Isolement de la protéine TDP-43 à partir de cerveaux de patients

1. Fractions vésiculaires

Ce protocole a été obtenu grâce à l'équipe du Dr Morvane Colin et adapté de *Polanco et al., 2016*. Les échantillons de cerveaux humains ont été obtenus auprès de la banque de cerveau GIE-Neuro-CEB (<http://www.neuroceb.org>). Les patients étudiés présentent une mutation du gène *GRN*, en parallèle des sujets sains sont utilisés comme contrôles. Pour cette étude, nous avons utilisé 200mg de cortex frontal de cerveau par individu. Pour obtenir le liquide interstitiel cérébral (ou ISF pour brain Interstitial Fluid), les fragments de cortex sont déposés sur glace dans un tampon Hibernate-A (ThermoFisher #A1247501) puis dissociés mécaniquement à l'aide d'un Potter. Ils sont ensuite dissociés enzymatiquement (20min à 37°C) suite à l'ajout de 5mL de tampon Hibernate-A et de 2mL de papaine 20U/mL (Worthington #LS003119). La réaction enzymatique est arrêtée par ajout de 15mL de tampon Hibernate-A complet : Hibernate-A + 50mM de Fluorure de sodium (Sigma #201154) + 200nM de sodium orthovanadate Na₃VO₄ (Sigma #450243) + 10nM E64 inhibiteur (Sigma #E3132) + Pastille d'inhibiteur de protéase (ROCHE). Les tissus sont à nouveau dissociés par aspiration/refoulement. Trois centrifugations successives à 4°C sont réalisées afin de débarrasser l'ISF de cellules, membranes et de débris : 10min à 300g (**culot 1** - cellules), 10min à 200g (**culot 2** - membranes), puis 30min à 10 000g (**culot 3** - débris). Le surnageant est enfin ultra-centrifugé (100 000g, 70min à 4°C). Afin de séparer les exosomes d'autres vésicules ou débris, le culot est déposé dans un gradient de sucrose. Le culot est repris dans 2mL de sucrose 0,95M qui est ensuite déposé dans un gradient de sucrose à 7 densités décroissantes de 2mL : à partir de 2M par incrément de 0,35M jusqu'à 0,25M en surface. Le gradient de sucrose est centrifugé à 200 000g pendant 16h à 4°C. Les fractions **a** à **g** sont récupérées et diluées dans 3mL de PBS 1X froid puis centrifugées (100 000, 70min à 4°C). Ces

fractions correspondent à : **a**-1mL de la fraction supérieure, **b**-2mL, **c**-2mL, **d**-2mL, **e**-2m, **f**-2mL et **g**-1mL de la fraction inférieure. Les culots sont finalement repris dans 20µL de PBS 1X froid et conservés à -80°C pour une utilisation ultérieure. Pour un Western Blot, 10µL de suspensions vésiculaires sont utilisés.

2. Fractions sarkosyl insolubles

Les culots 1, 2 et 3 résultants des centrifugations à 300g, 2000g et 10 000g ont été traités selon la technique du sarkosin (Laferrière et al. 2019) afin de récupérer les espèces protéiques résistantes au détergent sarkosyl, également appelées sarkosyl-insolubles. Les culots sont repris dans 130µL de tampon HSI 1X. Sont ensuite ajoutés 8µL de MgCl₂ 100mM et 1µL de benzonase (250units). Après vortex et incubation de 10min à température ambiante, 200µL de HSI 2X est ajouté (TRIS 1M, NaCl 5M, EDTA 0.5M, DTT 1M, PhosSTOP, H₂O miliQ) supplémenté de Sarkosyl 4%. Après vortex et agitation (600rpm, 45min à 38°C), 200µL de HSI 1X supplémenté de Sarkosyl 0,5% est ajouté. 600µL des échantillons sont transférés dans un Eppendorf (Protein Low-Bind) et centrifugés (21 2000g, 30min). Le surnageant est conservé, l'interface est éliminée (fraction soluble), et le culot est repris dans 20µL de PBS 1X. Pour un Western Blot, 10µg de protéine de chaque fraction sont utilisés.

3. Western Blot pour mise en évidence TDP43 dans les fractions protéiques et vésiculaires

Pour réaliser un western blot, 10µL de la suspension de vésicules extracellulaires et 10µg des fractions sarkosyl-insolubles sont repris dans la solution RIPA (50mM 1M Tris pH7,4 + 150mM NaCl + 1% Triton X-100, + 1% deoxycholate + 0,1% SDS) et bleu de Laemmli. Les lysats sont ensuite déposés sur un gel 4-15% (BioRad, Criterion® TGX stain-free precast gels). La migration dure 1h à 100V. Après transfert liquide (1H30, 80V) des protéines sur membranes de nitrocellulose, les membranes sont incubées avec l'anticorps primaire sur la nuit à 4°C. L'anticorps secondaire est ensuite incubé pendant 1h et le système ChemiDoc™ est utilisé pour révéler une réaction de chimiluminescence. Les anticorps suivants ont été utilisés :

Anticorps	Espèce	Dilution	Référence
Anti-TDP-43	Rabbit	1 :1000	Proteintech #10782-2
Anti-Phospho-TDP-43	Mouse	1 :1000	Cosmo Bio #TIP-PTD-M01
Anti-Flotillin	Mouse	1 :1000	BD Transduction #610821
Anti-AIP1	Mouse	1 :1000	BD Transduction #611 621

N. Analyses statistiques

Les données de la figure () ont été analysées par test non-paramétrique de Kruskal-Wallis, suivi d'un test de comparaison multiple. Pour toutes les autres données des tests statistiques non paramétriques Mann-Whitney ont été réalisées. Toutes ces comparaisons ont été réalisées grâce au logiciel Prism version 6.07 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA USA, « www.graphpad.com ») pour Windows. Toutes les données sont représentées sous forme Moyenne \pm SEM ; $p < 0.05$ est considéré comme statistiquement significatif (*). NS = Non significatif. N= nombre d'expérience indépendante. Pour chaque expérience indépendante, des duplicats ou triplicats ont été réalisés.

REFERENCES

- Abbott, N. Joan, Lars Rönneback, and Elisabeth Hansson. 2006. "Astrocyte-Endothelial Interactions at the Blood-Brain Barrier." *Nature Reviews Neuroscience*. Nat Rev Neurosci. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>.
- Abramzon, Yevgeniya A., Pietro Fratta, Bryan J. Traynor, and Ruth Chia. 2020. "The Overlapping Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00042>.
- Adams, Scott, and Jonathan Isaacs. 2010. "Amyotrophic Lateral Sclerosis." *JHS*. <https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2009.08.015>.
- Aflaki, Elma, Nima Moaven, Daniel K. Borger, Grisel Lopez, Wendy Westbroek, Jae Jin Chae, Juan Marugan, et al. 2016. "Lysosomal Storage and Impaired Autophagy Lead to Inflammasome Activation in Gaucher Macrophages." *Aging Cell* 15 (1): 77–88. <https://doi.org/10.1111/accel.12409>.
- Ahmad, Liyana, Shen Ying Zhang, Jean Laurent Casanova, and Vanessa Sancho-Shimizu. 2016. "Human TBK1: A Gatekeeper of Neuroinflammation." *Trends in Molecular Medicine*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.04.006>.
- Ahmed, Zeshan, Jane Cooper, Tracey K. Murray, Katya Garn, Emily McNaughton, Hannah Clarke, Samira Parhizkar, et al. 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 Neuropathologica* 127 (5): 667–83. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1254-6>.
- Ahmed, Zeshan, Hong Sheng, Ya Fei Xu, Wen Lang Lin, Amy E. Innes, Jennifer Gass, Xin Yu, et al. 2010. "Accelerated Lipofuscinosis and Ubiquitination in Granulin Knockout Mice Suggest a Role for Progranulin in Successful Aging." *American Journal of Pathology* 177 (1): 311–24. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090915>.
- Akhmetzyanova, Elvira, Konstantin Kletenkov, Yana Mukhamedshina, and Albert Rizvanov. 2019. "Different Approaches to Modulation of Microglia Phenotypes After Spinal Cord Injury." *Frontiers in Systems Neuroscience* 13 (June). <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00037>.
- Al, Schludi et. 2015. "Distribution of Dipeptide Repeat Proteins in Cellular Models and C9orf72 Mutation Cases Suggests Link to Transcriptional Silencing." *Acta Neuropathologica* 130 (4): 537–55. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1450-z>.
- Alami, Nael H., Rebecca B. Smith, Monica A. Carrasco, Luis A. Williams, Christina S. Winborn, Steve S.W. Han, Evangelos Kiskinis, et al. 2014. "Axonal Transport of TDP-43 mRNA Granules Is Impaired by ALS-Causing Mutations." *Neuron* 81 (3): 536–43. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.018>.
- Albasanz, José L., Sandra Perez, Marta Barrachina, Isidro Ferrer, and Mairena Martín. 2008. "Up-Regulation of Adenosine Receptors in the Frontal Cortex in Alzheimer's Disease." *Brain Pathology* 18 (2): 211–19. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00112.x>.
- Albasanz, José Luís, Agustín Rodríguez, Isidro Ferrer, and Mairena Martín. 2006. "Adenosine A2A Receptors Are Up-Regulated in Pick's Disease Frontal Cortex." *Brain Pathology* 16 (4): 249–55. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2006.00026.x>.
- Alexander, Elizabeth J., Amirhossein Ghanbari Niaki, Tao Zhang, Jaya Sarkar, Yang Liu, Raja Sekhar Nirujogi, Akhilesh Pandey, Sua Myong, and Jiou Wang. 2018. "Ubiquilin 2 Modulates ALS/FTD-Linked FUS–RNA Complex Dynamics and

- Stress Granule Formation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (49): E11485–94.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1811997115>.
- Alirezaei, Mehrdad, William B. Kiosses, Claudia T. Flynn, Nathan R. Brady, and Howard S. Fox. 2008. "Disruption of Neuronal Autophagy by Infected Microglia Results in Neurodegeneration." *PLoS ONE* 3 (8).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002906>.
- Alliot, Françoise, Isabelle Godin, and Bernard Pessac. 1999. "Microglia Derive from Progenitors, Originating from the Yolk Sac, and Which Proliferate in the Brain." *Developmental Brain Research* 117 (2): 145–52. [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(99\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(99)00113-3).
- Almeida, Sandra, and Fen-Biao Gao. 2016. "Lost & Found: C9ORF72 and the Autophagy Pathway in ALS / FTD." *The EMBO Journal* 35 (12): 1251–53.
<https://doi.org/10.15252/emj.201694578>.
- Almeida, Sandra, Eduardo Gascon, Hélène Tran, Hsin Jung Chou, Tania F. Gendron, Steven Degroot, Andrew R. Tapper, et al. 2013. "Modeling Key Pathological Features of Frontotemporal Dementia with C9ORF72 Repeat Expansion in iPSC-Derived Human Neurons." *Acta Neuropathologica* 126 (3): 385–99. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1149-y>.
- Alonso, Alejandra Del C., Anna Mederlyova, Michal Novak, Inge Grundke-Iqbal, and Khalid Iqbal. 2004. "Promotion of Hyperphosphorylation by Frontotemporal Dementia Tau Mutations." *Journal of Biological Chemistry* 279 (33): 34873–81.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M405131200>.
- Amadoro, G., V. Corsetti, F. Florenzano, A. Atlante, M. T. Ciotti, M. P. Mongiardi, R. Bussani, et al. 2014. "AD-Linked, Toxic NH₂ Human Tau Affects the Quality Control of Mitochondria in Neurons." *Neurobiology of Disease* 62: 489–507.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.10.018>.
- Amick, Joseph, Agnes Rocznik-Ferguson, and Shawn M. Ferguson. 2016. "C9orf72 Binds SMCR8, Localizes to Lysosomes, and Regulates MTORC1 Signaling." *Molecular Biology of the Cell* 27 (20): 3040–51. <https://doi.org/10.1091/mbc.E16-01-0003>.
- Angelova, Dafina M, and David R Brown. 2019. "Microglia and the Aging Brain: Are Senescent Microglia the Key to Neurodegeneration?" *Journal of Neurochemistry* 151 (6): 676–88. <https://doi.org/10.1111/jnc.14860>.
- Aoki, Yoshitsugu, Raquel Manzano, Yi Lee, Ruxandra Dafinca, Misako Aoki, Andrew G L Douglas, Miguel A Varela, et al. 2017. "C9orf72 and RAB7L1 Regulate Vesicle Trafficking in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Brain: A Journal of Neurology*. <https://doi.org/10.1093/brain/awx024>.
- Arai, Tetsuaki, Masato Hasegawa, Haruhiko Akiyama, Kenji Ikeda, Takashi Nonaka, Hiroshi Mori, David Mann, et al. 2006. "TDP-43 Is a Component of Ubiquitin-Positive Tau-Negative Inclusions in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351 (3): 602–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.10.093>.
- Archbold, Hilary C., Kasey L. Jackson, Ayush Arora, Kaitlin Weskamp, Elizabeth M.H. Tank, Xingli Li, Roberto Miguez, et al. 2018. "TDP43 Nuclear Export and Neurodegeneration in Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Scientific Reports* 8 (1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-22858-w>.
- Arendt, Thomas, Jens T. Stieler, and Max Holzer. 2016. "Tau and Tauopathies."

- Brain Research Bulletin*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.018>.
- Arroyo, Daniela S., Javier A. Soria, Emilia A. Gaviglio, Maria C. Rodriguez-Galan, and Pablo Iribarren. 2011. "Toll-like Receptors Are Key Players in Neurodegeneration." *International Immunopharmacology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.05.006>.
- Asai, Hirohide, Seiko Ikezu, Satoshi Tsunoda, Maria Medalla, Jennifer Luebke, Tarik Haydar, Benjamin Wolozin, Oleg Butovsky, Sebastian Kügler, and Tsuneya Ikezu. 2015. "Depletion of Microglia and Inhibition of Exosome Synthesis Halt Tau Propagation." *Nature Neuroscience* 18 (11): 1584–93. <https://doi.org/10.1038/nn.4132>.
- Ash, Peter E.A., Kevin F. Bieniek, Tania F. Gendron, Thomas Caulfield, Wen Lang Lin, Mariely DeJesus-Hernandez, Marka M. Van Blitterswijk, et al. 2013. "Unconventional Translation of C9ORF72 GGGGCC Expansion Generates Insoluble Polypeptides Specific to C9FTD/ALS." *Neuron* 77 (4): 639–46. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.004>.
- Atanasio, Amanda, Vilma Decman, Derek White, Meg Ramos, Burcin Ikiz, Hoi Ching Lee, Chia Jen Siao, et al. 2016. "C9orf72 Ablation Causes Immune Dysregulation Characterized by Leukocyte Expansion, Autoantibody Production, and Glomerulonephropathy in Mice." *Scientific Reports* 6 (March). <https://doi.org/10.1038/srep23204>.
- Ayala, Youhna M., Tom Misteli, and Francisco E. Baralle. 2008. "TDP-43 Regulates Retinoblastoma Protein Phosphorylation through the Repression of Cyclin-Dependent Kinase 6 Expression." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (10): 3785–89. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800546105>.
- Ayers, Jacob I., Susan E. Fromholt, Veronica M. O'Neal, Jeffrey H. Diamond, and David R. Borchelt. 2016. "Prion-like Propagation of Mutant SOD1 Misfolding and Motor Neuron Disease Spread along Neuroanatomical Pathways." *Acta Neuropathologica* 131 (1): 103–14. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1514-0>.
- Bain, H. D. C., Y. S. Davidson, A. C. Robinson, S. Ryan, S. Rollinson, A. Richardson, M. Jones, J. S. Snowden, S. Pickering-Brown, and D. M. A. Mann. 2019. "The Role of Lysosomes and Autophagosomes in Frontotemporal Lobar Degeneration." *Neuropathology and Applied Neurobiology* 45 (3): 244–61. <https://doi.org/10.1111/nan.12500>.
- Baker, Matt, Ian R. Mackenzie, Stuart M. Pickering-Brown, Jennifer Gass, Rosa Rademakers, Caroline Lindholm, Julie Snowden, et al. 2006. "Mutations in Progranulin Cause Tau-Negative Frontotemporal Dementia Linked to Chromosome 17." *Nature* 442 (7105): 916–19. <https://doi.org/10.1038/nature05016>.
- Balendra, Rubika, and Adrian M. Isaacs. 2018. "C9orf72-Mediated ALS and FTD: Multiple Pathways to Disease." *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0047-2>.
- Ballatore, Carlo, Virginia M.Y. Lee, and John Q. Trojanowski. 2007. "Tau-Mediated Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Related Disorders." *Nature Reviews Neuroscience*. Nat Rev Neurosci. <https://doi.org/10.1038/nrn2194>.
- Baloh, Robert H. 2011. "TDP-43: The Relationship between Protein Aggregation and Neurodegeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration." *FEBS Journal*. FEBS J. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08256.x>.

- . 2012. “How Do the RNA-Binding Proteins TDP-43 and FUS Relate to Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration, and to Each Other?” *Current Opinion in Neurology*. *Curr Opin Neurol*. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835a269b>.
- Bancher, C., C. Brunner, H. Lassmann, H. Budka, K. Jellinger, G. Wiche, F. Seitelberger, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, and H. M. Wisniewski. 1989. “Accumulation of Abnormally Phosphorylated τ Precedes the Formation of Neurofibrillary Tangles in Alzheimer’s Disease.” *Brain Research* 477 (1–2): 90–99. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)91396-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91396-6).
- Baralle, Marco, Emanuele Buratti, and Francisco E. Baralle. 2013. “The Role of TDP-43 in the Pathogenesis of ALS and FTLD.” In *Biochemical Society Transactions*, 41:1536–40. *Biochem Soc Trans*. <https://doi.org/10.1042/BST20130186>.
- Barcia, C, C M Ros, V Annese, A Gómez, F Ros-Bernal, D Aguado-Yera, M E Martínez-Pagán, V de Pablos, E Fernandez-Villalba, and M T Herrero. 2011. “IFN- γ Signaling, with the Synergistic Contribution of TNF- α , Mediates Cell Specific Microglial and Astroglial Activation in Experimental Models of Parkinson’s Disease.” *Cell Death & Disease* 2 (4): e142. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.17>.
- Baron, Desiree M., Laura J. Kaushansky, Catherine L. Ward, Reddy Ranjith K. Sama, Ru Ju Chian, Kristin J. Boggio, Alexandre J.C. Quaresma, Jeffrey A. Nickerson, and Daryl A. Bosco. 2013. “Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked FUS/TLS Alters Stress Granule Assembly and Dynamics.” *Molecular Neurodegeneration* 8 (1). <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-30>.
- Bartels, A. L., A. T.M. Willemsen, R. Kortekaas, B. M. De Jong, R. De Vries, O. De Klerk, J. C.H. Van Oostrom, A. Portman, and K. L. Leenders. 2008. “Decreased Blood-Brain Barrier P-Glycoprotein Function in the Progression of Parkinson’s Disease, PSP and MSA.” *Journal of Neural Transmission* 115 (7): 1001–9. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0030-y>.
- Basurto-Islas, Gustavo, Jose Luna-Muñoz, Angela L. Guillozet-Bongaarts, Lester I. Binder, Raul Mena, and Francisco García-Sierra. 2008. “Accumulation of Aspartic Acid421- and Glutamic Acid 391-Cleaved Tau in Neurofibrillary Tangles Correlates with Progression in Alzheimer Disease.” *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 67 (5): 470–83. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31817275c7>.
- Bäumer, D., D. Hilton, S. M.L. Paine, M. R. Turner, J. Lowe, K. Talbot, and O. Ansorge. 2010. “Juvenile ALS with Basophilic Inclusions Is a FUS Proteinopathy with FUS Mutations.” *Neurology* 75 (7): 611–18. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181ed9cde>.
- Beckman, Joseph S., Michael Carson, Craig D. Smith, and Willem H. Koppenol. 1993. “ALS, SOD and Peroxynitrite [10].” *Nature*. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/364584a0>.
- Beel, Sander, Matthieu Moisse, Markus Damme, Louis De Muynck, Wim Robberecht, Ludo Van, Den Bosch, Paul Saftig, and Philip Van Damme. 2017. “Progranulin Functions as a Cathepsin D Chaperone to Stimulate Axonal Outgrowth in Vivo.” *Human Molecular Genetics*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx162>.
- Bellezza, Ilaria, Silvia Grottelli, Egidia Costanzi, Paolo Scarpelli, Eva Pigna, Giulio Morozzi, Letizia Mezzasoma, et al. 2018. “Peroxynitrite Activates the NLRP3 Inflammasome Cascade in SOD1(G93A) Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Molecular Neurobiology* 55 (3): 2350–61. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0502-x>.

- Bellingham, Shayne A., Belinda B. Guo, Bradley M. Coleman, and Andrew F. Hill. 2012. "Exosomes: Vehicles for the Transfer of Toxic Proteins Associated with Neurodegenerative Diseases?" *Frontiers in Physiology* 3 MAY. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00124>.
- Belzil, Veronique V., Peter O. Bauer, Mercedes Prudencio, Tania F. Gendron, Caroline T. Stetler, Irene K. Yan, Luc Pregent, et al. 2013. "Reduced C9orf72 Gene Expression in C9FTD/ALS Is Caused by Histone Trimethylation, an Epigenetic Event Detectable in Blood." *Acta Neuropathologica* 126 (6): 895–905. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1199-1>.
- Bentmann, Eva, Manuela Neumann, Sabina Tahirovic, Ramona Rodde, Dorothee Dormann, and Christian Haass. 2012. "Requirements for Stress Granule Recruitment of Fused in Sarcoma (FUS) and TAR DNA-Binding Protein of 43 KDa (TDP-43)." *Journal of Biological Chemistry* 287 (27): 23079–94. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.328757>.
- Benveniste. 2020. "Benveniste, E. N., and Benos, D. J. (1995). TNF-Alpha- and IFN-Gamma-Mediated Signal Transduction Pathways: Effects on Glial Cell Gene Expression and Function. *FASEB J.* 9, 1577–1584. Doi: 10.1096/Fasebj.9.15.8529837 - Recherche Google." [https://www.google.com/search?q=Benveniste%2C+E.+N.%2C+and+Benos%2C+D.+J.+\(1995\).+TNF-alpha+and+IFN-gamma-mediated+signal+transduction+pathways%3A+effects+on+glial+cell+gene+expression+and+function.+FASEB+J.+9%2C+1577-1584.+doi%3A+10.1096%2Ffasebj.9.15.8](https://www.google.com/search?q=Benveniste%2C+E.+N.%2C+and+Benos%2C+D.+J.+(1995).+TNF-alpha+and+IFN-gamma-mediated+signal+transduction+pathways%3A+effects+on+glial+cell+gene+expression+and+function.+FASEB+J.+9%2C+1577-1584.+doi%3A+10.1096%2Ffasebj.9.15.8).
- Ber, Isabelle Le, Ñ Agne, Ñ Didier Hannequin, Florence Pasquier, Eric Guedj, Anne Rovelet-Lecrux, Rie Hahn-Barma, et al. 2008. "Phenotype Variability in Progranulin Mutation Carriers: A Clinical, Neuropsychological, Imaging and Genetic Study." <https://doi.org/10.1093/brain/awn012>.
- Ber, Isabelle Le, Agnès Camuzat, Rita Guerreiro, Kawtar Bouya-Ahmed, Jose Bras, Gael Nicolas, Audrey Gabelle, et al. 2013. "SQSTM1 Mutations in French Patients with Frontotemporal Dementia or Frontotemporal Dementia with Amyotrophic Lateral Sclerosis." *JAMA Neurology* 70 (11): 1403–10. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.3849>.
- Berry, R. W., A. P. Sweet, F. A. Clark, S. Lagalwar, B. R. Lapin, T. Wang, S. Topgi, et al. 2004. "Tau Epitope Display in Progressive Supranuclear Palsy and Corticobasal Degeneration." *Journal of Neurocytology* 33 (3): 287–95. <https://doi.org/10.1023/B:NEUR.0000044190.96426.b9>.
- Bevan-Jones, W. Richard, Thomas E Cope, P Simon Jones, Luca Passamonti, Young T Hong, Tim Fryer, Robert Arnold, et al. 2019. "In Vivo Evidence for Pre-Symptomatic Neuroinflammation in a MAPT Mutation Carrier." *Annals of Clinical and Translational Neurology* 6 (2): 373–78. <https://doi.org/10.1002/acn3.683>.
- Bevan-Jones, W Richard, Thomas E Cope, P Simon Jones, Sanne S Kaalund, Luca Passamonti, Kieren Allinson, Oliver Green, et al. 2020. "Neuroinflammation and Protein Aggregation Co-Localize across the Frontotemporal Dementia Spectrum." *Brain : A Journal of Neurology* 143 (3): 1010–26. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa033>.
- Bhaskar, Kiran, Megan Konerth, Olga N. Kokiko-Cochran, Astrid Cardona, Richard M. Ransohoff, and Bruce T. Lamb. 2010. "Regulation of Tau Pathology by the Microglial Fractalkine Receptor." *Neuron* 68 (1): 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.023>.
- Bhaskar, Kiran, Shu Hui Yen, and Gloria Lee. 2005. "Disease-Related Modifications

- in Tau Affect the Interaction between Fyn and Tau." *Journal of Biological Chemistry* 280 (42): 35119–25. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505895200>.
- Blasko, Imrich, Michaela Stampfer-Kountchev, Peter Robatscher, Robert Veerhuis, Piet Eikelenboom, and Beatrix Grubeck-Loebenstein. 2004a. "How Chronic Inflammation Can Affect the Brain and Support the Development of Alzheimer's Disease in Old Age: The Role of Microglia and Astrocytes." *Aging Cell*. *Aging Cell*. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2004.00101.x>.
- . 2004b. "How Chronic Inflammation Can Affect the Brain and Support the Development of Alzheimer's Disease in Old Age: The Role of Microglia and Astrocytes." *Aging Cell*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2004.00101.x>.
- Blitterswijk, Marka van, Eric T. Wang, Brad A. Friedman, Pamela J. Keagle, Patrick Lowe, Ashley Lyn Leclerc, Leonard H. van den Berg, David E. Housman, Jan H. Veldink, and John E. Landers. 2013. "Characterization of FUS Mutations in Amyotrophic Lateral Sclerosis Using RNA-Seq." *PLoS ONE* 8 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060788>.
- Bodea, Liviu Gabriel, Anne Eckert, Lars Matthias Ittner, Olivier Piguet, and Jürgen Götz. 2016. "Tau Physiology and Pathomechanisms in Frontotemporal Lobar Degeneration." *Journal of Neurochemistry*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jnc.13600>.
- Boillée, Séverine, Christine Vande Velde, and Don W W. Cleveland. 2006. "ALS: A Disease of Motor Neurons and Their Nonneuronal Neighbors." *Neuron*. *Neuron*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.018>.
- Boillée, Séverine, Koji Yamanaka, Christian S. Lobsiger, Neal G. Copeland, Nancy A. Jenkins, George Kassiotis, George Kollias, and Don W. Cleveland. 2006. "Onset and Progression in Inherited ALS Determined by Motor Neurons and Microglia." *Science* 312 (5778): 1389–92. <https://doi.org/10.1126/science.1123511>.
- Boje, Kathleen M., and Prince K. Arora. 1992. "Microglial-Produced Nitric Oxide and Reactive Nitrogen Oxides Mediate Neuronal Cell Death." *Brain Research* 587 (2): 250–56. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91004-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91004-X).
- Bosco, Daryl A, Nathan Lemay, Hae Kyung Ko, Hongru Zhou, Chris Burke, Thomas J Kwiatkowski, Peter Sapp, Diane Mckenna-Yasek, Robert H Brown, and Lawrence J Hayward. 2010. "Mutant FUS Proteins That Cause Amyotrophic Lateral Sclerosis Incorporate into Stress Granules." *Hum Mol Genet*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq335>.
- Bradt, Bonnie M., William P. Kolb, and Neil R. Cooper. 1998. "Complement-Dependent Proinflammatory Properties of the Alzheimer's Disease β -Peptide." *Journal of Experimental Medicine* 188 (3): 431–38. <https://doi.org/10.1084/jem.188.3.431>.
- Brady, Owen A., Peter Meng, Yanqiu Zheng, Yuxin Mao, and Fenghua Hu. 2011. "Regulation of TDP-43 Aggregation by Phosphorylation Andp62/SQSTM1." *Journal of Neurochemistry* 116 (2): 248–59. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07098.x>.
- Brait, Vanessa H., Thiruma V. Arumugam, Grant R. Drummond, and Christopher G. Sobey. 2012. "Importance of T Lymphocytes in Brain Injury, Immunodeficiency, and Recovery after Cerebral Ischemia." *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. SAGE Publications. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.6>.
- Brelstaff, Jack, Tammarny Lashley, Janice L. Holton, Andrew J. Lees, Martin N. Rossor, Rina Bandopadhyay, and Tamas Revesz. 2011. "Transportin1: A Marker of FTLD-FUS." *Acta Neuropathologica* 122 (5): 591–600.

- <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0863-6>.
- Brettschneider, Johannes, Kelly Del Tredici, David J. Irwin, Murray Grossman, John L. Robinson, Jon B. Toledo, Lubin Fang, et al. 2014. "Sequential Distribution of PTDP-43 Pathology in Behavioral Variant Frontotemporal Dementia (BvFTD)." *Acta Neuropathologica* 127 (3): 423–39. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1238-y>.
- Brettschneider, Johannes, Kelly Del Tredici, Virginia M.Y. Lee, and John Q. Trojanowski. 2015. "Spreading of Pathology in Neurodegenerative Diseases: A Focus on Human Studies." *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn3887>.
- Brettschneider, Johannes, Kelly Del Tredici, Jon B. Toledo, John L. Robinson, David J. Irwin, Murray Grossman, Eunran Suh, et al. 2013. "Stages of PTDP-43 Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Annals of Neurology* 74 (1): 20–38. <https://doi.org/10.1002/ana.23937>.
- Bright, Fiona, Eryn L Werry, Carol Dobson-Stone, Olivier Piguet, Lars M Ittner, Glenda M Halliday, John R Hodges, et al. 2019. "Neuroinflammation in Frontotemporal Dementia." *Nature Reviews. Neurology* 15 (9): 540–55. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0231-z>.
- Broce, Iris, Celeste M Karch, Natalie Wen, Chun C Fan, Yunpeng Wang, Chin Hong Tan, Naomi Kouri, et al. 2018. "Immune-Related Genetic Enrichment in Frontotemporal Dementia: An Analysis of Genome-Wide Association Studies." *PLoS Medicine* 15 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002487>.
- Brochard, Vanessa, Béhazine Combadière, Annick Prigent, Yasmina Laouar, Aline Perrin, Virginie Beray-Berthat, Olivia Bonduelle, et al. 2009. "Infiltration of CD4+ Lymphocytes into the Brain Contributes to Neurodegeneration in a Mouse Model of Parkinson Disease." *Journal of Clinical Investigation* 119 (1): 182–92. <https://doi.org/10.1172/JCI36470>.
- Broeck, Lies Vanden, Patrick Callaerts, and Bart Dermaut. 2014. "TDP-43-Mediated Neurodegeneration: Towards a Loss-of-Function Hypothesis?" *Trends in Molecular Medicine*. Trends Mol Med. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.11.003>.
- Brujin, L. I., M. W. Becher, M. K. Lee, K. L. Anderson, N. A. Jenkins, N. G. Copeland, S. S. Sisodia, et al. 1997. "ALS-Linked SOD1 Mutant G85R Mediates Damage to Astrocytes and Promotes Rapidly Progressive Disease with SOD1-Containing Inclusions." *Neuron* 18 (2): 327–38. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80272-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80272-X).
- Brujin, Lucie I., Megan K. Houseweart, Shinsuke Kato, Karen L. Anderson, Scott D. Anderson, Eisaku Ohama, Andrew G. Reaume, Rick W. Scott, and Don W. Cleveland. 1998. "Aggregation and Motor Neuron Toxicity of an ALS-Linked SOD1 Mutant Independent from Wild-Type SOD1." *Science* 281 (5384): 1851–54. <https://doi.org/10.1126/science.281.5384.1851>.
- Brundin, Patrik, Ronald Melki, and Ron Kopito. 2010. "Prion-like Transmission of Protein Aggregates in Neurodegenerative Diseases." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1038/nrm2873>.
- Budini, Mauricio, Emanuele Buratti, Eugenia Morselli, and Alfredo Criollo. 2017. "Autophagy and Its Impact on Neurodegenerative Diseases: New Roles for TDP-43 and C9orf72." *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00170>.
- Budini, Mauricio, Valentina Romano, S. Eréndira Avendaño-Vázquez, Sara Bembich, Emanuele Buratti, and Francisco E. Baralle. 2012. "Role of Selected Mutations in

- the Q/N Rich Region of TDP-43 in EGFP-12xQ/N-Induced Aggregate Formation." *Brain Research* 1462 (June): 139–50.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.02.031>.
- Buée, Luc, and André Delacourte. 1999. "Comparative Biochemistry of Tau in Progressive Supranuclear Palsy, Corticobasal Degeneration, FTDP-17 and Pick's Disease." In *Brain Pathology*, 9:681–93. International Society of Neuropathology. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00550.x>.
- Buratti, Emanuele. 2018. "TDP-43 Post-Translational Modifications in Health and Disease." *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1439923>.
- . 2020. "Targeting TDP-43 Proteinopathy with Drugs and Drug-like Small Molecules." *British Journal of Pharmacology*, May. <https://doi.org/10.1111/bph.15148>.
- Buratti, Emanuele, Antonia Brindisi, Maurizio Giombi, Sergio Tisminetzky, Youhna M. Ayala, and Francisco E. Baralle. 2005. "TDP-43 Binds Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein A/B through Its C-Terminal Tail: An Important Region for the Inhibition of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Exon 9 Splicing." *Journal of Biological Chemistry* 280 (45): 37572–84. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505557200>.
- Burberry, Aaron, Naoki Suzuki, Jin Yuan Wang, Rob Moccia, Daniel A. Mordes, Morag H. Stewart, Satomi Suzuki-Uematsu, et al. 2016. "Loss-of-Function Mutations in the C9ORF72 Mouse Ortholog Cause Fatal Autoimmune Disease." *Science Translational Medicine* 8 (347): 347ra93. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6038>.
- Burguete, Alondra Schweizer, Sandra Almeida, Fen Biao Gao, Robert Kalb, Michael R. Akins, and Nancy M. Bonini. 2015. "GGGGCC Microsatellite RNA Is Neuritically Localized, Induces Branching Defects, and Perturbs Transport Granule Function." *ELife* 4 (DECEMBER2015). <https://doi.org/10.7554/eLife.08881>.
- Burrell, James R., Glenda M. Halliday, Jillian J. Kril, Lars M. Ittner, Jürgen Götz, Matthew C. Kiernan, and John R. Hodges. 2016. "The Frontotemporal Dementia-Motor Neuron Disease Continuum." *The Lancet*. Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00737-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00737-6).
- Busse, Mandy, Enrico Michler, Franz Von Hoff, Henrik Dobrowolny, Roland Hartig, Thomas Frodl, and Stefan Busse. 2017. "Alterations in the Peripheral Immune System in Dementia." *Journal of Alzheimer's Disease* 58 (4): 1303–13. <https://doi.org/10.3233/JAD-161304>.
- Cagnin. 2006. "Cagnin A, Kassiou M, Meikle SR, Banati RB. In Vivo Evidence for Microglial Activation in Neurodegenerative Dementia. *Acta Neurol Scand*. 2006;114(Suppl 185):107–14. Doi: 10.1111/j.1600-0404.2006.00694.x. - Recherche Google." [https://www.google.com/search?q=Cagnin+A%2C+Kassiou+M%2C+Meikle+SR%2C+Banati+RB.+In+vivo+evidence+for+microglial+activation+in+neurodegenerative+dementia.+Acta+Neurol+Scand.+2006%3B114\(Suppl+185\)%3A107-14.+doi%3A+10.1111%2Fj.1600-0404.2006.00694.x.&rlz=1C](https://www.google.com/search?q=Cagnin+A%2C+Kassiou+M%2C+Meikle+SR%2C+Banati+RB.+In+vivo+evidence+for+microglial+activation+in+neurodegenerative+dementia.+Acta+Neurol+Scand.+2006%3B114(Suppl+185)%3A107-14.+doi%3A+10.1111%2Fj.1600-0404.2006.00694.x.&rlz=1C).
- Cagnin, Annachiara, Martin Rossor, Elizabeth L. Sampson, Toby MacKinnon, and Richard B. Banati. 2004. "In Vivo Detection of Microglial Activation in Frontotemporal Dementia." *Annals of Neurology* 56 (6): 894–97. <https://doi.org/10.1002/ana.20332>.
- Cairns, Nigel J, Eileen H Bigio, Ian R A Mackenzie, Manuela Neumann, Virginia M -Y

- Lee, Kimmo J Hatanpaa, Charles L White III, et al. 2007. "Neuropathologic Diagnostic and Nosologic Criteria for Frontotemporal Lobar Degeneration: Consensus of the Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration." *Acta Neuropathol* 114 (1): 5–22. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0237-2>.
- Calvio, Cinzia, Gitte Neubauer, Matthias Mann, and Angus I. Lamond. 1995. "Identification of HnRNP P2 as TLS/FUS Using Electrospray Mass Spectrometry." *RNA* 1 (7): 724–33. [/pmc/articles/PMC1369314/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1369314/).
- Campden, Rhiannon I., and Y. Zhang. 2019. "The Role of Lysosomal Cysteine Cathepsins in NLRP3 Inflammasome Activation." *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.02.015>.
- Carija, Anita, Susanna Navarro, Natalia Sanchez de Groot, and Salvador Ventura. 2017. "Protein Aggregation into Insoluble Deposits Protects from Oxidative Stress." *Redox Biology* 12 (August): 699–711. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.027>.
- Carvalho et al. 2019. "Exacerbation of C1q Dysregulation, Synaptic Loss and Memory Deficits in Tau Pathology Linked to Neuronal Adenosine A2A Receptor." *Brain*.
- Casas, Caty, Mireia Herrando-Grabulosa, Raquel Manzano, Renzo Mancuso, Rosario Osta, and Xavier Navarro. 2013. "Early Presymptomatic Cholinergic Dysfunction in a Murine Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Brain and Behavior* 3 (2): 145–58. <https://doi.org/10.1002/brb3.104>.
- Casterton, Rebecca L., Rachel J. Hunt, and Manolis Fanto. 2020. "Pathomechanism Heterogeneity in the Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Disease Spectrum: Providing Focus Through the Lens of Autophagy." *Journal of Molecular Biology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.02.018>.
- Cerami, Chiara, Leonardo Iaccarino, and Daniela Perani. 2017. "Molecular Imaging of Neuroinflammation in Neurodegenerative Dementias: The Role of in Vivo PET Imaging." *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms18050993>.
- Chang, Michael C., Karpagam Srinivasan, Brad A. Friedman, Eric Suto, Zora Modrusan, Wyne P. Lee, Joshua S. Kaminker, David V. Hansen, and Morgan Sheng. 2017. "Progranulin Deficiency Causes Impairment of Autophagy and TDP-43 Accumulation." *Journal of Experimental Medicine* 214 (9): 2611–28. <https://doi.org/10.1084/jem.20160999>.
- Charcot J-M, Joffroy A. 1869. "Deux Cas d'atrophie Musculaire Progressive Avec Lésions de La Substance Grise et de Faisceaux Ante Érolatéraux de La Moelle Épinière." *Arch Physiol Norm Pathol* ;, 1:354–367; 2:628–649; 3:744–757.
- Chen-Plotkin, Alice S., Maria Martinez-Lage, Patrick M.A. Sleiman, William Hu, Robert Greene, Elisabeth Mc Carty Wood, Shaoxu Bing, et al. 2011. "Genetic and Clinical Features of Progranulin-Associated Frontotemporal Lobar Degeneration." *Archives of Neurology* 68 (4): 488–97. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.53>.
- Chen, Linlin, Huidan Deng, Hengmin Cui, Jing Fang, Zhicai Zuo, Junliang Deng, Yinglun Li, Xun Wang, and Ling Zhao. 2018. "Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs." *Oncotarget*. Impact Journals LLC. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>.
- Chen, Sheng, Xiaojie Zhang, Lin Song, and Weidong Le. 2012. "Autophagy Dysregulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis." In *Brain Pathology*, 22:110–16. *Brain Pathol*. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2011.00546.x>.

- Chen, Xi, Yang Hu, Zongze Cao, Qingshan Liu, and Yong Cheng. 2018. "Cerebrospinal Fluid Inflammatory Cytokine Aberrations in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02122>.
- Chen, Yanbo, Mengxue Yang, Jianwen Deng, Xiaoping Chen, Ye Ye, Li Zhu, Jiangong Liu, et al. 2011. "Expression of Human FUS Protein in Drosophila Leads to Progressive Neurodegeneration." *Protein and Cell* 2 (6): 477–86. <https://doi.org/10.1007/s13238-011-1065-7>.
- Cheng, Ching Wei, Meng Jau Lin, and Che Kun James Shen. 2015. "Rapamycin Alleviates Pathogenesis of a New Drosophila Model of ALS-TDP." *Journal of Neurogenetics* 29 (2–3): 59–68. <https://doi.org/10.3109/01677063.2015.1077832>.
- Cherry, D. 2014. "Neuroinflammation and M2 Microglia: The Good, the Bad, and the Inflamed | Journal of Neuroinflammation | Full Text." <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-11-98>.
- Cherry, Jonathan D., John A. Olschowka, and M. K. O'Banion. 2014. "Neuroinflammation and M2 Microglia: The Good, the Bad, and the Inflamed." *Journal of Neuroinflammation*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-98>.
- Chew, Jeannie, Tania F. Gendron, Mercedes Prudencio, Hiroki Sasaguri, Yong Jie Zhang, Monica Castanedes-Casey, Chris W. Lee, et al. 2015. "C9ORF72 Repeat Expansions in Mice Cause TDP-43 Pathology, Neuronal Loss, and Behavioral Deficits." *Science* 348 (6239): 1151–54. <https://doi.org/10.1126/science.aaa9344>.
- Chio, A., G. Mora, A. Calvo, L. Mazzini, E. Bottacchi, and R. Mutani. 2009. "Epidemiology of ALS in Italy: A 10-Year Prospective Population-Based Study." *Neurology* 72 (8): 725–31. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000343008.26874.d1>.
- Chiò, Adriano, Andrea Calvo, Cristina Moglia, Letizia Mazzini, Gabriele Mora, R. Mutani, M. Balma, et al. 2011. "Phenotypic Heterogeneity of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population Based Study." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 82 (7): 740–46. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2010.235952>.
- Chiò, Adriano, Cristina Moglia, Antonio Canosa, Umberto Manera, Fabrizio D'Ovidio, Rosario Vasta, Maurizio Grassano, et al. 2020. "ALS Phenotype Is Influenced by Age, Sex, and Genetics: A Population-Based Study." *Neurology*. NLM (Medline). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008869>.
- Chitramuthu, Babykumari P., David C. Baranowski, Denis G. Kay, Andrew Bateman, and Hugh P.J. Bennett. 2010a. "Progranulin Modulates Zebrafish Motoneuron Development in Vivo and Rescues Truncation Defects Associated with Knockdown of Survival Motor Neuron 1." *Molecular Neurodegeneration* 5 (1): 41. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-5-41>.
- . 2010b. "Progranulin Modulates Zebrafish Motoneuron Development in Vivo and Rescues Truncation Defects Associated with Knockdown of Survival Motor Neuron 1." *Molecular Neurodegeneration* 5 (1): 41. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-5-41>.
- Chiu, Isaac M., Emiko T.A. Morimoto, Hani Goodarzi, Jennifer T. Liao, Sean O'Keefe, Hemali P. Phatnani, Michael Muratet, et al. 2013. "A Neurodegeneration-Specific Gene-Expression Signature of Acutely Isolated Microglia from an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model." *Cell Reports* 4 (2): 385–401. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.018>.

- Chiu, Wang Zheng, L. D. Kaat, Harro Seelaar, Sonia M. Rosso, Agnita J.W. Boon, Wouter Kamphorst, and John C. Van Swieten. 2010. "Survival in Progressive Supranuclear Palsy and Frontotemporal Dementia." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 81 (4): 441–45. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.195719>.
- Choi, Sung S., Hong J. Lee, Inja Lim, Jun Ichi Satoh, and Seung U. Kim. 2014. "Human Astrocytes: Secretome Profiles of Cytokines and Chemokines." *PLoS ONE* 9 (4): 92325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092325>.
- Chou, Ching Chieh, Yi Zhang, Mfon E. Umoh, Spencer W. Vaughan, Ileana Lorenzini, Feilin Liu, Melissa Sayegh, et al. 2018a. "TDP-43 Pathology Disrupts Nuclear Pore Complexes and Nucleocytoplasmic Transport in ALS/FTD." *Nature Neuroscience* 21 (2): 228–39. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0047-3>.
- . 2018b. "TDP-43 Pathology Disrupts Nuclear Pore Complexes and Nucleocytoplasmic Transport in ALS/FTD." *Nature Neuroscience* 21 (2): 228–39. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0047-3>.
- Chow, Tiffany W., Bruce L. Miller, Vivian N. Hayashi, and Daniel H. Geschwind. 1999. "Inheritance of Frontotemporal Dementia." *Archives of Neurology* 56 (7): 817–22. <https://doi.org/10.1001/archneur.56.7.817>.
- Choy, Francis Y.M., and Chloe L. Christensen. 2016. "Progranulin as a Novel Factor in Gaucher Disease." *EBioMedicine*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.11.006>.
- Cirulli, Elizabeth T., Brittany N. Lasseigne, Slavé Petrovski, P. C. Sapp, Patrick A. Dion, C. S. Leblond, Julien Couthouis, et al. 2015. "Exome Sequencing in Amyotrophic Lateral Sclerosis Identifies Risk Genes and Pathways." *Science* 347 (6229): 1436–41. <https://doi.org/10.1126/science.aaa3650>.
- Claycomb, Kumiko I, Kasey M Johnson, Paige N Winokur, Anthony V Sacino, and Stephen J Crocker. 2013. "Astrocyte Regulation of CNS Inflammation and Remyelination." *Brain Sciences* 3 (3): 1109–27. <https://doi.org/10.3390/brainsci3031109>.
- Cleveland, Don W., Nigel Laing, and Robert H. Brown. 1995. "Toxic Mutants in Charcot's Sclerosis." *Nature* 378 (6555): 342–43. <https://doi.org/10.1038/378342a0>.
- Cleveland, Don W., and Jeffrey D. Rothstein. 2001. "From Charcot to Lou Gehrig: Deciphering Selective Motor Neuron Death in Als." *Nature Reviews Neuroscience* 2 (11): 806–19. <https://doi.org/10.1038/35097565>.
- Cloutier, Frank, Alier Marrero, Colleen O'Connell, and Pier Morin. 2015. "MicroRNAs as Potential Circulating Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Journal of Molecular Neuroscience*. Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0471-8>.
- Codolo, Gaia, Nicoletta Plotegher, Tommaso Pozzobon, Marco Brucale, Isabella Tessari, Luigi Bubacco, and Marina de Bernard. 2013. "Triggering of Inflammasome by Aggregated α -Synuclein, an Inflammatory Response in Synucleinopathies." *PLoS ONE* 8 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055375>.
- Colton, Carol A. 2009. "Heterogeneity of Microglial Activation in the Innate Immune Response in the Brain." *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11481-009-9164-4>.
- Constantinescu, Cris S, Marie Tani, Richard M Ransohoff, Maria Wysocka, Brendan Hilliard, Toshiki Fujioka, Sean Murphy, et al. 2005. "Astrocytes as Antigen-Presenting Cells: Expression of IL-12/IL-23." *Journal of Neurochemistry* 95 (2):

- 331–40. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03368.x>.
- Cooper-Knock, Johnathan, Christopher Hewitt, J Robin Highley, Alice Brockington, Antonio Milano, Somai Man, Joanne Martindale, et al. 2012. “Clinico-Pathological Features in Amyotrophic Lateral Sclerosis with Expansions in C9ORF72.” *A JOURNAL OF NEUROLOGY*. <https://doi.org/10.1093/brain/awr365>.
- Cooper-Knock, Johnathan, Adrian Higginbottom, Natalie Connor-Robson, Nadhim Bayatti, Joanna J. Bury, Janine Kirby, Natalia Ninkina, Vladimir L. Buchman, and Pamela J. Shaw. 2013. “Clinical/Scientific Notes C9ORF72 Transcription in a Frontotemporal Dementia Case with Two Expanded Alleles.” *Neurology* 81 (19): 1719–21. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000435295.41974.2e>.
- Cooper-Knock, Johnathan, Janine Kirby, Robin Highley, and Pamela J. Shaw. 2015. “The Spectrum of C9orf72-Mediated Neurodegeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Neurotherapeutics* 12 (2): 326–39. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0342-1>.
- Cooper-Knock, Johnathan, Matthew J Walsh, Adrian Higginbottom, J Robin Highley, Mark J Dickman, Dieter Edbauer, Paul G Ince, et al. n.d. “Sequestration of Multiple RNA Recognition Motif-Containing Proteins by C9orf72 Repeat Expansions.” *A JOURNAL OF NEUROLOGY*. <https://doi.org/10.1093/brain/awu120>.
- Coppola, Giovanni, Anna Karyda, Rosa Rademakers, Qing Wang, Matt Baker, Mike Hutton, Bruce L. Miller, and Daniel H. Geschwind. 2008. “Gene Expression Study on Peripheral Blood Identifies Progranulin Mutations.” *Annals of Neurology* 64 (1): 92–96. <https://doi.org/10.1002/ana.21397>.
- Coque, Emmanuelle, Céline Salsac, Gabriel Espinosa-Carrasco, Béla Varga, Nicolas Degauque, Marion Cadoux, Roxane Crabé, et al. 2019. “Cytotoxic CD8 + T Lymphocytes Expressing ALS-Causing SOD1 Mutant Selectively Trigger Death of Spinal Motoneurons.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116 (6): 2312–17. <https://doi.org/10.1073/pnas.1815961116>.
- Corrionero, Anna, and H. Robert Horvitz. 2018. “A C9orf72 ALS/FTD Ortholog Acts in Endolysosomal Degradation and Lysosomal Homeostasis.” *Current Biology* 28 (10): 1522-1535.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.03.063>.
- Coyle-Gilchrist, Ian T.S., Katrina M. Dick, Karalyn Patterson, Patricia Vázquez Rodríguez, Eileen Wehmann, Alicia Wilcox, Claire J. Lansdall, et al. 2016. “Prevalence, Characteristics, and Survival of Frontotemporal Lobar Degeneration Syndromes.” *Neurology* 86 (18): 1736–43. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002638>.
- Cruts, Marc, Ilse Gijselinck, Julie Van Der Zee, Sebastiaan Engelborghs, Hans Wils, Daniel Pirici, Rosa Rademakers, et al. 2006. “Null Mutations in Progranulin Cause Ubiquitin-Positive Frontotemporal Dementia Linked to Chromosome 17q21.” *Nature* 442 (7105): 920–24. <https://doi.org/10.1038/nature05017>.
- Cruz, Sandrine Da, and Don W. Cleveland. 2011. “Understanding the Role of TDP-43 and FUS/TLS in ALS and Beyond.” *Current Opinion in Neurobiology*. Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.05.029>.
- Cuadros, Miguel A., and Julio Navascués. 2001. “Early Origin and Colonization of the Developing Central Nervous System by Microglial Precursors.” *Progress in Brain Research* 132 (January): 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)32065-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(01)32065-4).
- Cummins, Nadia, Andrea Tweedie, Steven Zuryn, Jesus Bertran-Gonzalez, and

- Jürgen Götz. 2019. "Disease-associated Tau Impairs Mitophagy by Inhibiting Parkin Translocation to Mitochondria." *The EMBO Journal* 38 (3). <https://doi.org/10.15252/emboj.201899360>.
- Cykowski, Matthew D., Suzanne Z. Powell, Leif E. Peterson, Joan W. Appel, Andreeana L. Rivera, Hidehiro Takei, Ellen Chang, and Stanley H. Appel. 2017. "Clinical Significance of TDP-43 Neuropathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 76 (5): 402. <https://doi.org/10.1093/JNEN/NLX025>.
- Damme, Philip Van, Annelies Van Hoecke, Diether Lambrechts, Peter Vanacker, Elke Bogaert, John Van Swieten, Peter Carmeliet, Ludo Van Den Bosch, and Wim Robberecht. 2008a. "Progranulin Functions as a Neurotrophic Factor to Regulate Neurite Outgrowth and Enhance Neuronal Survival." *Journal of Cell Biology* 181 (1): 37–41. <https://doi.org/10.1083/jcb.200712039>.
- . 2008b. "Progranulin Functions as a Neurotrophic Factor to Regulate Neurite Outgrowth and Enhance Neuronal Survival." *Journal of Cell Biology* 181 (1): 37–41. <https://doi.org/10.1083/jcb.200712039>.
- Daneman, Richard. 2012. "The Blood-Brain Barrier in Health and Disease." *Annals of Neurology* 72 (5): 648–72. <https://doi.org/10.1002/ana.23648>.
- Daneman, Richard, and Alexandre Prat. 2015. "The Blood–Brain Barrier." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (1). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020412>.
- Daniele, Stefano G., Dawn Béraud, Connor Davenport, Kui Cheng, Hang Yin, and Kathleen A. Maguire-Zeiss. 2015. "Activation of MyD88-Dependent TLR1/2 Signaling by Misfolded α -Synuclein, a Protein Linked to Neurodegenerative Disorders." *Science Signaling* 8 (376): ra45. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2005965>.
- Das, Rashmi, and Subashchandrabose Chinnathambi. 2019. "Microglial Priming of Antigen Presentation and Adaptive Stimulation in Alzheimer's Disease." *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03132-2>.
- David, Della C., Susanne Hauptmann, Isabel Scherping, Katrin Schuessel, Uta Keil, Patrizia Rizzu, Rivka Ravid, et al. 2005. "Proteomic and Functional Analyses Reveal a Mitochondrial Dysfunction in P301L Tau Transgenic Mice." *Journal of Biological Chemistry* 280 (25): 23802–14. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500356200>.
- Davis, Stephani A., Sheed Itaman, Christopher M. Khalid-Janney, Justin A. Sherard, James A. Dowell, Nigel J. Cairns, and Michael A. Gitcho. 2018. "TDP-43 Interacts with Mitochondrial Proteins Critical for Mitophagy and Mitochondrial Dynamics." *Neuroscience Letters* 678 (June): 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.04.053>.
- Debye, Berthold, Lena Schmülling, Lepu Zhou, Gabriele Rune, Cordian Beyer, and Sonja Johann. 2018. "Neurodegeneration and NLRP3 Inflammasome Expression in the Anterior Thalamus of SOD1(G93A) ALS Mice." *Brain Pathology* 28 (1): 14–27. <https://doi.org/10.1111/bpa.12467>.
- Deerlin, Viviana M. Van, James B. Leverenz, Lynn M. Bekris, Thomas D. Bird, Wuxing Yuan, Lauren B. Elman, Dana Clay, et al. 2008. "TARDBP Mutations in Amyotrophic Lateral Sclerosis with TDP-43 Neuropathology: A Genetic and Histopathological Analysis." *The Lancet Neurology* 7 (5): 409–16. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70071-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70071-1).
- DeJesus-Hernandez, Mariely, Ni Cole A. Finch, Xue Wang, Tania F. Gendron, Kevin

- F. Bieniek, Michael G. Heckman, Aliaksei Vasilevich, et al. 2017. "In-Depth Clinico-Pathological Examination of RNA Foci in a Large Cohort of C9ORF72 Expansion Carriers." *Acta Neuropathologica* 134 (2): 255–69. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1725-7>.
- DeJesus-Hernandez, Mariely, Jannet Kocerha, NiCole Finch, Richard Crook, Matt Baker, Pamela Desaro, Amelia Johnston, et al. 2010. "De Novo Truncating FUS Gene Mutation as a Cause of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Human Mutation* 31 (5): E1377–89. <https://doi.org/10.1002/humu.21241>.
- DeJesus-Hernandez, Mariely, Ian R. Mackenzie, Bradley F. Boeve, Adam L. Boxer, Matt Baker, Nicola J. Rutherford, Alexandra M. Nicholson, et al. 2011. "Expanded GGGGCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS." *Neuron* 72 (2): 245–56. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.011>.
- Deng, Han Xiang, Wenjie Chen, Seong Tshool Hong, Kym M. Boycott, George H. Gorrie, Nailah Siddique, Yi Yang, et al. 2011. "Mutations in UBQLN2 Cause Dominant X-Linked Juvenile and Adult-Onset ALS and ALS/Dementia." *Nature* 477 (7363): 211–15. <https://doi.org/10.1038/nature10353>.
- Deng, Han Xiang, Afif Hentati, John A. Tainer, Zafar Iqbal, Annarueber Cayabyab, Wu Yen Hung, Elizabeth D. Getzoff, et al. 1993. "Amyotrophic Lateral Sclerosis and Structural Defects in Cu,Zn Superoxide Dismutase." *Science* 261 (5124): 1047–51. <https://doi.org/10.1126/science.8351519>.
- Deng, Han Xiang, Yong Shi, Yoshiaki Furukawa, Hong Zhai, Ronggen Fu, Erdong Liu, George H. Gorrie, et al. 2006. "Conversion to the Amyotrophic Lateral Sclerosis Phenotype Is Associated with Intermolecular Linked Insoluble Aggregates of SOD1 in Mitochondria." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (18): 7142–47. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602046103>.
- Deng, Han Xiang, Hong Zhai, Eileen H. Bigio, Jianhua Yan, Faisal Fecto, Kaouther Ajroud, Manjari Mishra, et al. 2010. "FUS-Immunoreactive Inclusions Are a Common Feature in Sporadic and Non-SOD1 Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Annals of Neurology* 67 (6): 739–48. <https://doi.org/10.1002/ana.22051>.
- Deora, Vandana, John D. Lee, Eduardo A. Albornoz, Luke McAlary, Cyril J. Jagaraj, Avril A. B. Robertson, Julie D. Atkin, et al. 2020. "The Microglial NLRP3 Inflammasome Is Activated by Amyotrophic Lateral Sclerosis Proteins." *Glia* 68 (2): 407–21. <https://doi.org/10.1002/glia.23728>.
- Dick, Mathias S., Lorenzo Sborgi, Sebastian Rühl, Sebastian Hiller, and Petr Broz. 2016. "ASC Filament Formation Serves as a Signal Amplification Mechanism for Inflammasomes." *Nature Communications* 7 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms11929>.
- Dikic, Ivan, and Zvulun Elazar. 2018. "Mechanism and Medical Implications of Mammalian Autophagy." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0003-4>.
- Ding, Xuebing, Mingming Ma, Junfang Teng, Robert K.F. Teng, Shuang Zhou, Jingzheng Yin, Ekokobe Fonkem, Jason H. Huang, Erxi Wu, and Xuejing Wang. 2015. "Exposure to ALS-FTD-CSF Generates TDP-43 Aggregates in Glioblastoma Cells through Exosomes and TNTs-like Structure." *Oncotarget* 6 (27): 24178–91. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4680>.
- Donnelly, Christopher J., Ping Wu Zhang, Jacqueline T. Pham, Aaron R. Heusler, Nipun A. Mistry, Svetlana Vidensky, Elizabeth L. Daley, et al. 2013. "RNA

- Toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 Expansion Is Mitigated by Antisense Intervention." *Neuron* 80 (2): 415–28.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.015>.
- Dormann, Dorothee, Tobias Madl, Chiara F. Valori, Eva Bentmann, Sabina Tahirovic, Claudia Abou-Ajram, Elisabeth Kremmer, et al. 2012. "Arginine Methylation next to the PY-NLS Modulates Transportin Binding and Nuclear Import of FUS." *EMBO Journal* 31 (22): 4258–75. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.261>.
- Dormann, Dorothee, Ramona Rodde, Dieter Edbauer, Eva Bentmann, Ingeborg Fischer, Alexander Hruscha, Manuel E. Than, et al. 2010. "ALS-Associated Fused in Sarcoma (FUS) Mutations Disrupt Transportin-Mediated Nuclear Import." *EMBO Journal* 29 (16): 2841–57.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2010.143>.
- Dreyfuss, Gideon, V. Narry Kim, and Naoyuki Kataoka. 2002. "Messenger-RNA-Binding Proteins and the Messages They Carry." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrm760>.
- Dubbelaar, Marissa L., Laura Kracht, Bart J.L. Eggen, and Erik W.G.M. Boddeke. 2018. "The Kaleidoscope of Microglial Phenotypes." *Frontiers in Immunology*. NLM (Medline). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01753>.
- DuBoff, Brian, Jürgen Götz, and Mel B. Feany. 2012. "Tau Promotes Neurodegeneration via DRP1 Mislocalization In Vivo." *Neuron* 75 (4): 618–32.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.06.026>.
- Dujardin, Simon, Katia Lécolle, Raphaëlle Caillierez, Séverine Bégard, Nadège Zommer, Cédric Lachaud, Sébastien Carrier, et al. 2014. "Neuron-to-Neuron Wild-Type Tau Protein Transfer through a Trans-Synaptic Mechanism: Relevance to Sporadic Tauopathies." *Acta Neuropathologica Communications* 2 (1): 14. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-14>.
- Dupuis, Luc, and Andoni Echaniz-Laguna. 2010. "Skeletal Muscle in Motor Neuron Diseases: Therapeutic Target and Delivery Route for Potential Treatments." *Current Drug Targets*, 1250. [/pmc/articles/PMC4834127/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21250/).
- Ebneth, A., R. Godemann, K. Stamer, S. Illenberger, B. Trinczek, E. M. Mandelkow, and E. Mandelkow. 1998. "Overexpression of Tau Protein Inhibits Kinesin-Dependent Trafficking of Vesicles, Mitochondria, and Endoplasmic Reticulum: Implications for Alzheimer's Disease." *Journal of Cell Biology* 143 (3): 777–94.
<https://doi.org/10.1083/jcb.143.3.777>.
- Edison, Paul, Hilary A. Archer, Alexander Gerhard, Rainer Hinz, Nicola Pavese, Federico E. Turkheimer, Alexander Hammers, et al. 2008. "Microglia, Amyloid, and Cognition in Alzheimer's Disease: An [11C](R)PK11195-PET and [11C]PIB-PET Study." *Neurobiology of Disease* 32 (3): 412–19.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.08.001>.
- Elliott, Eric I., and Fayyaz S. Sutterwala. 2015. "Initiation and Perpetuation of NLRP3 Inflammasome Activation and Assembly." *Immunological Reviews*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/imr.12286>.
- Elvira, George, Sylwia Wasiak, Vanessa Blandford, Xin Kang Tong, Alexandre Serrano, Xiaotang Fan, Maria del Rayo Sánchez-Carbente, et al. 2006. "Characterization of an RNA Granule from Developing Brain." *Molecular and Cellular Proteomics* 5 (4): 635–51. <https://doi.org/10.1074/mcp.M500255-MCP200>.
- Emde, Anna, Chen Eitan, Lee-Loung Liou, Ryan T Libby, Natali Rivkin, Iddo Magen, Irit Reichenstein, et al. 2015. "Dysregulated MiRNA Biogenesis Downstream of Cellular Stress and ALS-causing Mutations: A New

- Mechanism for <sc>ALS</Sc>.” *The EMBO Journal* 34 (21): 2633–51.
<https://doi.org/10.15252/emj.201490493>.
- Engelhardt, J. I., J. Tajti, and S. H. Appel. 1993. “Lymphocytic Infiltrates in the Spinal Cord in Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Archives of Neurology* 50 (1): 30–36.
<https://doi.org/10.1001/archneur.1993.00540010026013>.
- Eréndira Avendaño-Vázquez, S., Ashish Dhir, Sara Bembich, Emanuele Buratti, Nicholas Proudfoot, and Francisco E. Baralle. 2012. “Autoregulation of TDP-43 mRNA Levels Involves Interplay between Transcription, Splicing, and Alternative PolyA Site Selection.” *Genes and Development* 26 (15): 1679–84.
<https://doi.org/10.1101/gad.194829.112>.
- Erridge, Clett, Simon Kennedy, Corinne M. Spickett, and David J. Webb. 2008. “Oxidized Phospholipid Inhibition of Toll-Like Receptor (TLR) Signaling Is Restricted to TLR2 and TLR4: Roles for CD14, LPS-Binding Protein, and MD2 as Targets for Specificity of Inhibition.” *Journal of Biological Chemistry* 283 (36): 24748–59. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800352200>.
- Essandoh, Kobina, Liwang Yang, Xiaohong Wang, Wei Huang, Dongze Qin, Jiukuan Hao, Yigang Wang, Basilia Zingarelli, Tianqing Peng, and Guo Chang Fan. 2015. “Blockade of Exosome Generation with GW4869 Dampens the Sepsis-Induced Inflammation and Cardiac Dysfunction.” *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* 1852 (11): 2362–71.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.08.010>.
- Evers, Bret M., Carlos Rodriguez-Navas, Rachel J. Tesla, Janine Prange-Kiel, Catherine R. Wasser, Kyoung Shin Yoo, Jeffrey McDonald, et al. 2017. “Lipidomic and Transcriptomic Basis of Lysosomal Dysfunction in Progranulin Deficiency.” *Cell Reports* 20 (11): 2565–74.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.056>.
- Farg, Manal A, Vinod Sundaramoorthy, Jessica M Sultana, Shu Yang, Rachel A K Atkinson, Vita Levina, Mark A Halloran, et al. 2014. “C9ORF72, Implicated in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia, Regulates Endosomal Trafficking.” *Human Molecular Genetics*.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddu068>.
- Fecto, Faisal, Jianhua Yan, S. Pavan Vemula, Erdong Liu, Yi Yang, Wenjie Chen, Jian Guo Zheng, et al. 2011. “SQSTM1 Mutations in Familial and Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Archives of Neurology* 68 (11): 1440–46.
<https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.250>.
- Fedoroff, Sergey, Ruiling Zhai, and Jaroslav P. Novak. 1997. “Microglia and Astroglia Have a Common Progenitor Cell.” *Journal of Neuroscience Research* 50 (3): 477–86. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19971101\)50:3<477::AID-JNR14>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19971101)50:3<477::AID-JNR14>3.0.CO;2-3).
- Feiler, Marisa S., Benjamin Strobel, Axel Freischmidt, Anika M. Helferich, Julia Kappel, Bryson M. Brewer, Deyu Li, et al. 2015. “TDP-43 Is Intercellularly Transmitted across Axon Terminals.” *Journal of Cell Biology* 211 (4): 897–911.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201504057>.
- Felbecker, Ansgar, William Camu, Paul Valdmanis, Anne-Dorte Sperfeld, Stefan Waibel, Peter Steinbach, Guy A Rouleau, et al. 2010. “Four Familial ALS Pedigrees Discordant for Two SOD1 Mutations: Are All SOD1 Mutations Pathogenic?” *Neurosurgery and Psychiatry*, no. 5: 572.
<https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.192310i>.
- Fellner, Lisa, Regina Irschick, Kathrin Schanda, Markus Reindl, Lars Klimaschewski, Werner Poewe, Gregor K. Wenning, and Nadia Stefanova. 2013. “Toll-like

- Receptor 4 Is Required for α -Synuclein Dependent Activation of Microglia and Astroglia." *GLIA* 61 (3): 349–60. <https://doi.org/10.1002/glia.22437>.
- Feneberg, Emily, Elizabeth Gray, Olaf Ansorge, Kevin Talbot, and Martin R. Turner. 2018. "Towards a TDP-43-Based Biomarker for ALS and FTLD." *Molecular Neurobiology*. Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0947-6>.
- Feng, Xiujing, Yuan Zhao, Tianyuan Yang, Manyu Song, Chaoran Wang, Yujie Yao, and Honggang Fan. 2019. "Glucocorticoid-Driven NLRP3 Inflammasome Activation in Hippocampal Microglia Mediates Chronic Stress-Induced Depressive-Like Behaviors." *Frontiers in Molecular Neuroscience* 12 (August). <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00210>.
- Fevrier, Benoit, Didier Vilette, Fabienne Archer, Damaris Loew, Wolfgang Faigle, Michel Vidal, Hubert Laude, and Graça Raposo. 2004. "Cells Release Prions in Association with Exosomes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (26): 9683–88. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308413101>.
- Fiesel, Fabienne C., and Philipp J. Kahle. 2011. "TDP-43 and FUS/TLS: Cellular Functions and Implications for Neurodegeneration." *FEBS Journal*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08258.x>.
- Filipchuk, A. A., and J. Durand. 2012. "Postnatal Dendritic Development in Lumbar Motoneurons in Mutant Superoxide Dismutase 1 Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Neuroscience* 209 (May): 144–54. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.01.046>.
- Finch, Nicole, Matt Baker, Richard Crook, Katie Swanson, Karen Kuntz, Rebecca Surtees, Gina Bisceglia, et al. 2009. "Plasma Progranulin Levels Predict Progranulin Mutation Status in Frontotemporal Dementia Patients and Asymptomatic Family Members." *Brain* 132 (3): 583–91. <https://doi.org/10.1093/brain/awn352>.
- Finger, Elizabeth C. 2016. "Frontotemporal Dementias." *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*. Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000300>.
- Fogarty, Matthew J. 2018. "Driven to Decay: Excitability and Synaptic Abnormalities in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Brain Research Bulletin*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.05.023>.
- Fogarty, Matthew J., Erica W.H. Mu, Nickolas A. Lavidis, Peter G. Noakes, and Mark C. Bellingham. 2017. "Motor Areas Show Altered Dendritic Structure in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model." *Frontiers in Neuroscience* 11 (NOV). <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00609>.
- Forman, Mark S., Devika Lal, Bin Zhang, Deepa V. Dabir, Eric Swanson, Virginia M.Y. Lee, and John Q. Trojanowski. 2005. "Transgenic Mouse Model of Tau Pathology in Astrocytes Leading to Nervous System Degeneration." *Journal of Neuroscience* 25 (14): 3539–50. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0081-05.2005>.
- Forman, Mark S., Ian R. Mackenzie, Nigel J. Cairns, Eric Swanson, Philip J. Boyer, David A. Drachman, Bharati S. Jhaveri, et al. 2006. "Novel Ubiquitin Neuropathology in Frontotemporal Dementia with Valosin-Containing Protein Gene Mutations." *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 65 (6): 571–81. <https://doi.org/10.1097/00005072-200606000-00005>.
- Forsberg, Karin, Karin Graffmo, Bente Pakkenberg, Markus Weber, Martin Nielsen, Stefan Marklund, Thomas Brännström, and Peter Munch Andersen. 2019. "Misfolded SOD1 Inclusions in Patients with Mutations in C9orf72 and Other

- ALS/FTD-Associated Genes.” *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 90 (8). <https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-319386>.
- Forsberg, Karin, P. Andreas Jonsson, Peter M. Andersen, Daniel Bergemalm, Karin S. Graffmo, Magnus Hultdin, Johan Jacobsson, Roland Rosquist, Stefan L. Marklund, and Thomas Brännström. 2010. “Novel Antibodies Reveal Inclusions Containing Non-Native SOD1 in Sporadic ALS Patients.” *PLoS ONE* 5 (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011552>.
- Foulds, Penelope, Erica McAuley, Linda Gibbons, Yvonne Davidson, Stuart M. Pickering-Brown, David Neary, Julie S. Snowden, David Allsop, and David M.A. Mann. 2008. “TDP-43 Protein in Plasma May Index TDP-43 Brain Pathology in Alzheimer’s Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration.” *Acta Neuropathologica* 116 (2): 141–46. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0389-8>.
- Fournier, Clémence, Mathieu Barbier, Agnès Camuzat, Vincent Anquetil, Serena Lattante, Fabienne Clot, Cécile Cazeneuve, et al. 2019. “Relations between C9orf72 Expansion Size in Blood, Age at Onset, Age at Collection and Transmission across Generations in Patients and Presymptomatic Carriers.” *Neurobiology of Aging* 74 (February): 234.e1-234.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.09.010>.
- Franchi, Luigi, Raul Muñoz-Planillo, and Gabriel Núñez. 2012. “Sensing and Reacting to Microbes through the Inflammasomes.” *Nature Immunology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1038/ni.2231>.
- Franco-Bocanegra, McAuley, Nicoll, and Boche. 2019. “Molecular Mechanisms of Microglial Motility: Changes in Ageing and Alzheimer’s Disease.” *Cells* 8 (6): 639. <https://doi.org/10.3390/cells8060639>.
- Frandemiche, Marie Lise, Sandrine De Seranno, Travis Rush, Eve Borel, Auréliane Elie, Isabelle Arnal, Fabien Lanté, and Alain Buisson. 2014. “Activity-Dependent Tau Protein Translocation to Excitatory Synapse Is Disrupted by Exposure to Amyloid-Beta Oligomers.” *Journal of Neuroscience* 34 (17): 6084–97. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4261-13.2014>.
- Fred, Herbert L. 2017. “Lou Gehrig and Ed Todd: Greatness Interrupted.” *Texas Heart Institute Journal*. Texas Heart Institute. <https://doi.org/10.14503/THIJ-17-6540>.
- Freibaum, Brian D., Raghu K. Chitta, Anthony A. High, and J. Paul Taylor. 2010. “Global Analysis of TDP-43 Interacting Proteins Reveals Strong Association with RNA Splicing and Translation Machinery.” *Journal of Proteome Research* 9 (2): 1104–20. <https://doi.org/10.1021/pr901076y>.
- Freibaum, Brian D., Yubing Lu, Rodrigo Lopez-Gonzalez, Nam Chul Kim, Sandra Almeida, Kyung Ha Lee, Nisha Badders, et al. 2015. “GGGGCC Repeat Expansion in C9orf72 Compromises Nucleocytoplasmic Transport.” *Nature* 525 (7567): 129–33. <https://doi.org/10.1038/nature14974>.
- Freischmidt, Axel, Thomas Wieland, Benjamin Richter, Wolfgang Ruf, Veronique Schaeffer, Kathrin Müller, Nicolai Marroquin, et al. 2015a. “Haploinsufficiency of TBK1 Causes Familial ALS and Fronto-Temporal Dementia.” *Nature Neuroscience* 18 (5): 631–36. <https://doi.org/10.1038/nn.4000>.
- . 2015b. “Haploinsufficiency of TBK1 Causes Familial ALS and Fronto-Temporal Dementia.” *Nature Neuroscience* 18 (5): 631–36. <https://doi.org/10.1038/nn.4000>.
- Furukawa, Yoshiaki, Kumi Kaneko, Shoji Watanabe, Koji Yamanaka, and Nobuyuki Nukina. 2011. “A Seeding Reaction Recapitulates Intracellular Formation of Sarkosyl-Insoluble Transactivation Response Element (TAR) DNA-Binding

- Protein-43 Inclusions." *Journal of Biological Chemistry* 286 (21): 18664–72. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.231209>.
- Galea, Ian, Martine Bernardes-Silva, Penny A. Forse, Nico Van Rooijen, Roland S. Liblau, and V. Hugh Perry. 2007. "An Antigen-Specific Pathway for CD8 T Cells across the Blood-Brain Barrier." *Journal of Experimental Medicine* 204 (9): 2023–30. <https://doi.org/10.1084/jem.20070064>.
- Gamblin, T. Chris, Feng Chen, Angara Zambrano, Aida Abraha, Sarita Lagalwar, Angela L. Guillozet, Meiling Lu, et al. 2003. "Caspase Cleavage of Tau: Linking Amyloid and Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (17): 10032–37. <https://doi.org/10.1073/pnas.1630428100>.
- Gami, Priya, Christina Murray, Lucia Schottlaender, Conceição Bettencourt, Eduardo De Pablo Fernandez, Ese Mudanohwo, Sarah Mizielinska, et al. 2015. "A 30-Unit Hexanucleotide Repeat Expansion in C9orf72 Induces Pathological Lesions with Dipeptide-Repeat Proteins and RNA Foci, but Not TDP-43 Inclusions and Clinical Disease." *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1473-5>.
- Garofalo, Stefano, Germana Coccozza, Alessandra Porzia, Maurizio Inghilleri, Marcello Raspa, Ferdinando Scavizzi, Eleonora Aronica, et al. 2020. "Natural Killer Cells Modulate Motor Neuron-Immune Cell Cross Talk in Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Communications* 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15644-8>.
- Garwood, Claire J., Jonathan D. Cooper, Diane P. Hanger, and Wendy Noble. 2010. "Anti-Inflammatory Impact of Minocycline in a Mouse Model of Tauopathy." *Frontiers in Psychiatry* 1 (OCT). <https://doi.org/10.3389/fpsy.2010.00136>.
- Gass, Jennifer, Wing C. Lee, Casey Cook, Nicole Finch, Caroline Stetler, Karen Jansen-West, Jada Lewis, et al. 2012. "Progranulin Regulates Neuronal Outgrowth Independent of Sortilin." *Molecular Neurodegeneration* 7 (1): 33. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-33>.
- Gendron, Tania F., Kevin F. Bieniek, Yong Jie Zhang, Karen Jansen-West, Peter E.A. Ash, Thomas Caulfield, Lillian Daugherty, et al. 2013. "Antisense Transcripts of the Expanded C9ORF72 Hexanucleotide Repeat Form Nuclear RNA Foci and Undergo Repeat-Associated Non-ATG Translation in C9FTD/ALS." *Acta Neuropathologica* 126 (6): 829–44. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1192-8>.
- Geuens, Thomas, Delphine Bouhy, and Vincent Timmerman. 2016. "The HnRNP Family: Insights into Their Role in Health and Disease." *Human Genetics*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1683-5>.
- Ghag, Gaurav, Nemil Bhatt, Daniel V. Cantu, Marcos J. Guerrero-Munoz, Anna Ellsworth, Urmi Sengupta, and Rakez Kaye. 2018. "Soluble Tau Aggregates, Not Large Fibrils, Are the Toxic Species That Display Seeding and Cross-Seeding Behavior." *Protein Science* 27 (11): 1901–9. <https://doi.org/10.1002/pro.3499>.
- Ghidoni, R., L. Benussi, M. Glionna, M. Franzoni, and G. Binetti. 2008. "Low Plasma Progranulin Levels Predict Progranulin Mutations in Frontotemporal Lobar Degeneration." *Neurology* 71 (16): 1235–39. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000325058.10218.fc>.
- Ghoshal, N., J. T. Dearborn, D. F. Wozniak, and N. J. Cairns. 2012. "Core Features of Frontotemporal Dementia Recapitulated in Progranulin Knockout Mice." *Neurobiology of Disease* 45 (1): 395–408. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.08.029>.

- Gijselinck, Ilse, Tim Van Langenhove, Julie van der Zee, Kristel Slegers, Stéphanie Philtjens, Gernot Kleinberger, Jonathan Janssens, et al. 2012. "A C9orf72 Promoter Repeat Expansion in a Flanders-Belgian Cohort with Disorders of the Frontotemporal Lobar Degeneration-Amyotrophic Lateral Sclerosis Spectrum: A Gene Identification Study." *The Lancet Neurology* 11 (1): 54–65. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70261-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70261-7).
- Gijselinck, Ilse, Sara Van Mossevelde, Julie Van Der Zee, Anne Sieben, Stéphanie Philtjens, Bavo Heeman, Sebastiaan Engelborghs, et al. 2015. "Loss of TBK1 Is a Frequent Cause of Frontotemporal Dementia in a Belgian Cohort." *Neurology* 85 (24): 2116–25. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002220>.
- Ginhoux, Florent, and Sonia Garel. 2018. "The Mysterious Origins of Microglia." *Nature Neuroscience* 21 (7): 897–99. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0176-3>.
- Ginhoux, Florent, Melanie Greter, Marylene Leboeuf, Sayan Nandi, Peter See, Solen Gokhan, Mark F Mehler, et al. 2010. "Fate Mapping Analysis Reveals That Adult Microglia Derive from Primitive Macrophages." *Science (New York, N.Y.)* 330 (6005): 841–45. <https://doi.org/10.1126/science.1194637>.
- Ginhoux, Florent, and Marco Prinz. 2015. "Origin of Microglia: Current Concepts and Past Controversies." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020537>.
- Gitcho, Michael A., Robert H. Baloh, Sumi Chakraverty, Kevin Mayo, Joanne B. Norton, Denise Levitch, Kimmo J. Hatanpaa, et al. 2008a. "TDP-43 A315T Mutation in Familial Motor Neuron Disease." *Annals of Neurology* 63 (4): 535–38. <https://doi.org/10.1002/ana.21344>.
- . 2008b. "TDP-43 A315T Mutation in Familial Motor Neuron Disease." *Annals of Neurology* 63 (4): 535–38. <https://doi.org/10.1002/ana.21344>.
- Gitler, Aaron D., and Hitomi Tsuiji. 2016. "There Has Been an Awakening: Emerging Mechanisms of C9orf72 Mutations in FTD/ALS." *Brain Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.04.004>.
- Goedert, Michel. 1999. "Filamentous Nerve Cell Inclusions in Neurodegenerative Diseases: Tauopathies and α -Synucleinopathies." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 354 (1386): 1101–18. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0466>.
- Goedert, Michel, Bernardino Ghetti, and Maria Grazia Spillantini. 2012. "Frontotemporal Dementia: Implications for Understanding Alzheimer Disease." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006254>.
- Goldman, J. S., J. M. Farmer, E. M. Wood, J. K. Johnson, A. Boxer, J. Neuhaus, C. Lomen-Hoerth, et al. 2005. "Comparison of Family Histories in FTLN Subtypes and Related Tauopathies." *Neurology* 65 (11): 1817–19. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000187068.92184.63>.
- Gomez-Deza, Jorge, Youn-bok Lee, Claire Troakes, Matthew Nolan, Safa Al-Sarraj, Jean-Marc Gallo, and Christopher E. Shaw. 2015a. "Dipeptide Repeat Protein Inclusions Are Rare in the Spinal Cord and Almost Absent from Motor Neurons in C9ORF72 Mutant Amyotrophic Lateral Sclerosis and Are Unlikely to Cause Their Degeneration." *Acta Neuropathologica Communications* 3 (1): 38. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0218-y>.
- Gomez-Deza, Jorge, Youn Bok Lee, Claire Troakes, Matthew Nolan, Safa Al-Sarraj, Jean Marc Gallo, and Christopher E. Shaw. 2015b. "Dipeptide Repeat Protein Inclusions Are Rare in the Spinal Cord and Almost Absent from Motor Neurons

- in C9ORF72 Mutant Amyotrophic Lateral Sclerosis and Are Unlikely to Cause Their Degeneration." *Acta Neuropathologica Communications* 3 (June): 38. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0218-y>.
- Gong, Yun H., Alexander S. Parsadanian, Albina Andreeva, William D. Snider, and Jeffrey L. Elliott. 2000. "Restricted Expression of G86R Cu/Zn Superoxide Dismutase in Astrocytes Results in Astrocytosis but Does Not Cause Motoneuron Degeneration." *Journal of Neuroscience* 20 (2): 660–65. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-02-00660.2000>.
- Gopal, Pallavi P., Jeffrey J. Nirschl, Eva Klinman, and Erika L.F. Holzbaurb. 2017. "Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Mutations Increase the Viscosity of Liquid-like TDP-43 RNP Granules in Neurons." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (12): E2466–75. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614462114>.
- Gorrie, George H., Faisal Fecto, Daniel Radzicki, Craig Weiss, Yong Shi, Hongxin Dong, Hong Zhai, et al. 2014. "Dendritic Spinopathy in Transgenic Mice Expressing ALS/Dementia-Linked Mutant UBQLN2." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (40): 14524–29. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405741111>.
- Goshi, Noah, Rhianna K. Morgan, Pamela J. Lein, and Erkin Seker. 2020. "A Primary Neural Cell Culture Model to Study Neuron, Astrocyte, and Microglia Interactions in Neuroinflammation." *Journal of Neuroinflammation* 17 (1). <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01819-z>.
- Götzl, Julia K., Kohji Mori, Markus Damme, Katrin Fellerer, Sabina Tahirovic, Gernot Kleinberger, Jonathan Janssens, et al. 2014. "Common Pathobiochemical Hallmarks of Progranulin-Associated Frontotemporal Lobar Degeneration and Neuronal Ceroid Lipofuscinosis." *Acta Neuropathologica* 127 (6): 845–60. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1262-6>.
- Grad, Leslie I., Guy A. Rouleau, John Ravits, and Neil R. Cashman. 2017. "Clinical Spectrum of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024117>.
- Graves, Michael C., Milan Fiala, Lu Anne V. Dinglasan, Nancy Q. Liu, James Sayre, Francesco Chiappelli, Cees van Kooten, and Harry V. Vinters. 2004. "Inflammation in Amyotrophic Lateral Sclerosis Spinal Cord and Brain Is Mediated by Activated Macrophages, Mast Cells and t Cells." *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders* 5 (4): 213–19. <https://doi.org/10.1080/14660820410020286>.
- Griffin, W. S.T., L. C. Stanley, C. Ling, L. White, V. MacLeod, L. J. Perrot, C. L. White, and C. Araoz. 1989. "Brain Interleukin 1 and S-100 Immunoreactivity Are Elevated in Down Syndrome and Alzheimer Disease." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86 (19): 7611–15. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.19.7611>.
- Groot, Corline J.A. De, Wim Huppes, Taede Sminia, Georg Kraal, and Christine D. Dijkstra. 1992. "Determination of the Origin and Nature of Brain Macrophages and Microglial Cells in Mouse Central Nervous System, Using Non-radioactive in Situ Hybridization and Immunoperoxidase Techniques." *Glia* 6 (4): 301–9. <https://doi.org/10.1002/glia.440060408>.
- Grundke-Iqbal, I., K. Iqbal, Y. C. Tung, M. Quinlan, H. M. Wisniewski, and L. I. Binder. 1986. "Abnormal Phosphorylation of the Microtubule-Associated Protein Tau (Tau) in Alzheimer Cytoskeletal Pathology." *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America* 83 (13): 4913–17.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>.
- Guerra, Ricardo R., Leonid Kriazhev, Francisco J. Hernandez-Blazquez, and Andrew Bateman. 2007. "Progranulin Is a Stress-Response Factor in Fibroblasts Subjected to Hypoxia and Acidosis." *Growth Factors* 25 (4): 280–85.
<https://doi.org/10.1080/08977190701781222>.
- Guerreiro, Rita J., Jennifer C. Schymick, Cynthia Crews, Andrew Singleton, John Hardy, and Bryan J. Traynor. 2008. "TDP-43 Is Not a Common Cause of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis." *PLoS ONE* 3 (6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002450>.
- Guerreiro, Rita João, Ebba Lohmann, José Miguel Brás, Jesse Raphael Gibbs, Jonathan D. Rohrer, Nicole Gurunlian, Burcu Dursun, et al. 2013. "Using Exome Sequencing to Reveal Mutations in TREM2 Presenting as a Frontotemporal Dementia-like Syndrome without Bone Involvement." *Archives of Neurology* 70 (1): 78–84. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.579>.
- Guo, Jian-Rong, Huan Wang, Xiao-Ju Jin, Dong-Lin Jia, Xun Zhou, and Qiang Tao. 2017. "Effect and Mechanism of Inhibition of PI3K/Akt/MTOR Signal Pathway on Chronic Neuropathic Pain and Spinal Microglia in a Rat Model of Chronic Constriction Injury." *Oncotarget* 8 (32): 52923–34.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.17629>.
- Haase, C., J. T. Stieler, T. Arendt, and M. Holzer. 2004. "Pseudophosphorylation of Tau Protein Alters Its Ability for Self-Aggregation." *Journal of Neurochemistry* 88 (6): 1509–20. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02287.x>.
- Haeusler, Aaron R., Christopher J. Donnelly, Goran Periz, Eric A.J. Simko, Patrick G. Shaw, Min Sik Kim, Nicholas J. Maragakis, et al. 2014. "C9orf72 Nucleotide Repeat Structures Initiate Molecular Cascades of Disease." *Nature* 507 (7491): 195–200. <https://doi.org/10.1038/nature13124>.
- Hall, Claire E., Zhi Yao, Minee Choi, Giulia E. Tyzack, Andrea Serio, Raphaëlle Luisier, Jasmine Harley, et al. 2017. "Progressive Motor Neuron Pathology and the Role of Astrocytes in a Human Stem Cell Model of VCP-Related ALS." *Cell Reports* 19 (9): 1739–49. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.05.024>.
- Halle, Annett, Veit Hornung, Gabor C. Petzold, Cameron R. Stewart, Brian G. Monks, Thomas Reinheckel, Katherine A. Fitzgerald, Eicke Latz, Kathryn J. Moore, and Douglas T. Golenbock. 2008. "The NALP3 Inflammasome Is Involved in the Innate Immune Response to Amyloid- β ." *Nature Immunology* 9 (8): 857–65.
<https://doi.org/10.1038/ni.1636>.
- Hao, C., A. Richardson, and S. Fedoroff. 1991. "Macrophage-like Cells Originate from Neuroepithelium in Culture: Characterization and Properties of the Macrophage-like Cells." *International Journal of Developmental Neuroscience* 9 (1): 1–14. [https://doi.org/10.1016/0736-5748\(91\)90067-V](https://doi.org/10.1016/0736-5748(91)90067-V).
- Hardiman, Orla, Ammar Al-Chalabi, Adriano Chio, Emma M. Corr, Giancarlo Logroscino, Wim Robberecht, Pamela J. Shaw, Zachary Simmons, and Leonard H. Van Den Berg. 2017. "Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Reviews Disease Primers*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.71>.
- Harry, G. Jean. 2013. "Microglia during Development and Aging." *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.04.013>.
- Hartmann, Hannelore, Daniel Hornburg, Mareike Czuppa, Jakob Bader, Meike Michaelsen, Daniel Farny, Thomas Arzberger, Matthias Mann, Felix Meissner, and Dieter Edbauer. 2018. "Proteomics and C9orf72 Neuropathology Identify Ribosomes as Poly-GR/PR Interactors Driving Toxicity." *Life Science Alliance* 1

- (2). <https://doi.org/10.26508/lsa.201800070>.
- Harvey, R. J., M. Skelton-Robinson, and M. N. Rossor. 2003. "The Prevalence and Causes of Dementia in People under the Age of 65 Years." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 74 (9): 1206–9. <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.9.1206>.
- Hasegawa, Masato, Michael J. Smith, and Michel Goedert. 1998. "Tau Proteins with FTDP-17 Mutations Have a Reduced Ability to Promote Microtubule Assembly." *FEBS Letters* 437 (3): 207–10. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01217-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01217-4).
- Hayashi, Yuki, Kengo Homma, and Hidenori Ichijo. 2016. "SOD1 in Neurotoxicity and Its Controversial Roles in SOD1 Mutation-Negative ALS." *Advances in Biological Regulation*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2015.10.006>.
- Hayward, Jenni A, Anukriti Mathur, Chinh Ngo, and Si Ming Man. 2018. "Cytosolic Recognition of Microbes and Pathogens: Inflammasomes in Action." <https://doi.org/10.1128/MMBR.00015-18>.
- He, Shuang, Shuai Chen, Ming Rong Xia, Zhi Kun Sun, Yue Huang, and Jie Wen Zhang. 2018. "The Role of MAPT Gene in Chinese Dementia Patients: A P301I Pedigree Study and Brief Literature Review." *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 14 (June): 1627–33. <https://doi.org/10.2147/NDT.S155521>.
- He, Yingli, Hua She, Ting Zhang, Haidong Xu, Lihong Cheng, Manuel Yepes, Yingren Zhao, and Zixu Mao. 2018. "P38 MAPK Inhibits Autophagy and Promotes Microglial Inflammatory Responses by Phosphorylating ULK1." *The Journal of Cell Biology* 217 (1): 315–28. <https://doi.org/10.1083/jcb.201701049>.
- He, Zhiheng, Colin H.P. Ong, Jaroslava Halper, and Andrew Bateman. 2003. "Progranulin Is a Mediator of the Wound Response." *Nature Medicine* 9 (2): 225–29. <https://doi.org/10.1038/nm816>.
- Heneka, Michael T., Markus P. Kummer, and Eicke Latz. 2014. "Innate Immune Activation in Neurodegenerative Disease." *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri3705>.
- Heneka, Michael T., Róisín M. McManus, and Eicke Latz. 2018. "Inflammasome Signalling in Brain Function and Neurodegenerative Disease." *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0055-7>.
- Henkel, Jenny S., Joseph I. Engelhardt, László Siklós, Ericka P. Simpson, Seung H. Kim, Tianhong Pan, J. Clay Goodman, Teepu Siddique, David R. Beers, and Stanley H. Appel. 2004. "Presence of Dendritic Cells, MCP-1, and Activated Microglia/Macrophages in Amyotrophic Lateral Sclerosis Spinal Cord Tissue." *Annals of Neurology* 55 (2): 221–35. <https://doi.org/10.1002/ana.10805>.
- Hergesheimer, Rudolf C, Anna A Chami, Denis Reis De Assis, Patrick Vourc, Christian R Andres, Philippe Corcia, Dé Bora Lanznaster, and Hé Lè Ne Blasco. 2019. "The Debated Toxic Role of Aggregated TDP-43 in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Resolution in Sight? Abbreviations: ALS = Amyotrophic Lateral Sclerosis; CTF = C-Terminal Fragment; ELP = Endosomal-Lysosomal Pathway; NLS = Nuclear Localization Sequence; RRM." *Brain: A Journal of Neurology*. <https://doi.org/10.1093/brain/awz078>.
- Herz, Jasmin, Anthony J. Filiano, Ashtyn Smith, Nir Yogev, and Jonathan Kipnis. 2017. "Myeloid Cells in the Central Nervous System." *Immunity*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.007>.
- Hill, Andrew F. 2019. "Extracellular Vesicles and Neurodegenerative Diseases." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 39 (47): 9269–73. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0147-18.2019>.

- Hinchcliffe, Michael, and Alan Smith. 2017. "Riluzole: Real-World Evidence Supports Significant Extension of Median Survival Times in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease* Volume 7 (May): 61–70. <https://doi.org/10.2147/dnnd.s135748>.
- Hoell, Jessica I., Erik Larsson, Simon Runge, Jeffrey D. Nusbaum, Sujitha Duggimpudi, Thalia A. Farazi, Markus Hafner, Arndt Borkhardt, Chris Sander, and Thomas Tuschl. 2011. "RNA Targets of Wild-Type and Mutant FET Family Proteins." *Nature Structural and Molecular Biology* 18 (12): 1428–31. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2163>.
- Hogan, David B., Nathalie Jetté, Kirsten M. Fiest, Jodie I. Roberts, Dawn Pearson, Eric E. Smith, Pamela Roach, Andrew Kirk, Tamara Pringsheim, and Colleen J. Maxwell. 2016. "The Prevalence and Incidence of Frontotemporal Dementia: A Systematic Review." *Canadian Journal of Neurological Sciences*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.25>.
- Holler, Christopher J., Georgia Taylor, Qiudong Deng, and Thomas Kukar. 2017. "Intracellular Proteolysis of Progranulin Generates Stable, Lysosomal Granulins That Are Haploinsufficient in Patients with Frontotemporal Dementia Caused by GRN Mutations." *ENeuro* 4 (4). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0100-17.2017>.
- Holm, Ida Elisabeth, Elisabet Englund, Ian R.A. Mackenzie, Peter Johannsen, and Adrian M. Isaacs. 2007. "A Reassessment of the Neuropathology of Frontotemporal Dementia Linked to Chromosome 3." *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 66 (10): 884–91. <https://doi.org/10.1097/nen.0b013e3181567f02>.
- Hong, Kun, Yi Li, Weisong Duan, Yansu Guo, Hong Jiang, Wenju Li, and Chunyan Li. 2012. "Full-Length TDP-43 and Its C-Terminal Fragments Activate Mitophagy in NSC34 Cell Line." *Neuroscience Letters* 530 (2): 144–49. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.10.003>.
- Hoogland, Inge C M, Carin Houbolt, David J van Westerloo, Willem A van Gool, and Diederik van de Beek. 2015. "Systemic Inflammation and Microglial Activation: Systematic Review of Animal Experiments." *Journal of Neuroinflammation* 12: 114. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0332-6>.
- Horinokita, Ichiro, Hideki Hayashi, Rika Oteki, Risa Mizumura, Tatsuaki Yamaguchi, Akane Usui, Bo Yuan, and Norio Takagi. 2019. "Involvement of Progranulin and Granulin Expression in Inflammatory Responses after Cerebral Ischemia." *International Journal of Molecular Sciences* 20 (20). <https://doi.org/10.3390/ijms20205210>.
- Howland, David S., Jian Liu, Yijin She, Beth Goad, Nicholas J. Maragakis, Benjamin Kim, Jamie Erickson, et al. 2002. "Focal Loss of the Glutamate Transporter EAAT2 in a Transgenic Rat Model of SOD1 Mutant-Mediated Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (3): 1604–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.032539299>.
- Hsiung, Ging Yuek R., Mariely Dejesus-Hernandez, Howard H Feldman, Pheth Sengdy, Phoenix Bouchard-Kerr, Emily Dwosh, Rachel Butler, et al. 2012. "Clinical and Pathological Features of Familial Frontotemporal Dementia Caused by C9ORF72 Mutation on Chromosome 9p." *Brain* 135 (3): 709–22. <https://doi.org/10.1093/brain/awr354>.
- Hu, Fenghua, Thihan Padukkavidana, Christian B. Vægter, Owen A. Brady, Yanqiu Zheng, Ian R. Mackenzie, Howard H. Feldman, Anders Nykjaer, and Stephen M. Strittmatter. 2010. "Sortilin-Mediated Endocytosis Determines Levels of the

- Frontotemporal Dementia Protein, Progranulin." *Neuron* 68 (4): 654–67. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.034>.
- Hu, Yu, Xia Chun Li, Zhi Hao Wang, Yu Luo, Xiangnan Zhang, Xiu Ping Liu, Qiong Feng, et al. 2016. "Tau Accumulation Impairs Mitophagy via Increasing Mitochondrial Membrane Potential and Reducing Mitochondrial Parkin." *Oncotarget* 7 (14): 17356–68. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7861>.
- Huang, Cao, Hongxia Zhou, Jianbin Tong, Han Chen, Yong Jian Liu, Dian Wang, Xiaotao Wei, and Xu Gang Xia. 2011. "FUS Transgenic Rats Develop the Phenotypes of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration." *PLoS Genetics* 7 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002011>.
- Huelga, Stephanie C., Anthony Q. Vu, Justin D. Arnold, Tiffany D. Liang, Patrick P. Liu, Bernice Y. Yan, John Paul Donohue, et al. 2012. "Integrative Genome-Wide Analysis Reveals Cooperative Regulation of Alternative Splicing by HnRNP Proteins." *Cell Reports* 1 (2): 167–78. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.02.001>.
- Huin, Vincent, Mathieu Barbier, Armand Bottani, Johannes Alexander Lobrinus, Fabienne Clot, Foudil Lamari, Laureen Chat, et al. 2019. "Homozygous GRN Mutations: New Phenotypes and New Insights into Pathological and Molecular Mechanisms Fré Dé Rique Fluchè Re, 6 Sté Phane Auvin" 19. <https://doi.org/10.1093/brain/awz377>.
- Hunsberger, Holly C., Carolyn C. Rudy, Seth R. Batten, Greg A. Gerhardt, and Miranda N. Reed. 2015a. "P301L Tau Expression Affects Glutamate Release and Clearance in the Hippocampal Trisynaptic Pathway." *Journal of Neurochemistry* 132 (2): 169–82. <https://doi.org/10.1111/jnc.12967>.
- . 2015b. "P301L Tau Expression Affects Glutamate Release and Clearance in the Hippocampal Trisynaptic Pathway." *Journal of Neurochemistry* 132 (2): 169–82. <https://doi.org/10.1111/jnc.12967>.
- Hunsberger, Holly C., Daniel S. Weitzner, Carolyn C. Rudy, James E. Hickman, Eric M. Libell, Rebecca R. Speer, Greg A. Gerhardt, and Miranda N. Reed. 2015. "Riluzole Rescues Glutamate Alterations, Cognitive Deficits, and Tau Pathology Associated with P301L Tau Expression." *Journal of Neurochemistry* 135 (2): 381–94. <https://doi.org/10.1111/jnc.13230>.
- Hutton, M., C. L. Lendon, P. Rizzu, M. Baker, S. Froelich, H. H. Houlden, S. Pickering-Brown, et al. 1998. "Association of Missense and 5'-Splice-Site Mutations in Tau with the Inherited Dementia FTDP-17." *Nature* 393 (6686): 702–4. <https://doi.org/10.1038/31508>.
- Hyman, Anthony A., Christoph A. Weber, and Frank Jülicher. 2014. "Liquid-Liquid Phase Separation in Biology." *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 30 (1): 39–58. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013325>.
- Iguchi, Yohei, Lara Eid, Martin Parent, Geneviève Ve Soucy, Christine Bareil, Yuichi Riku, Kaori Kawai, et al. 2016. "Exosome Secretion Is a Key Pathway for Clearance of Pathological TDP-43." *Brain: A Journal of Neurology*. <https://doi.org/10.1093/brain/aww237>.
- Ince, Paul G., Janine Tomkins, Janet Y. Slade, Nicola M. Thatcher, and Pamela J. Shaw. 1998. "Amyotrophic Lateral Sclerosis Associated with Genetic Abnormalities in the Gene Encoding Cu/Zn Superoxide Dismutase: Molecular Pathology of Five New Cases, and Comparison with Previous Reports and 73 Sporadic Cases of ALS." *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 57 (10): 895–904. <https://doi.org/10.1097/00005072-199810000->

00002.

InCure. n.d. "DZNE." Accessed June 10, 2020.

<https://www.dzne.de/en/research/studies/projekte-grundlagenforschung/incure/>.

Irwin, David J., Nigel J. Cairns, Murray Grossman, Corey T. McMillan, Edward B. Lee, Viviana M. Van Deerlin, Virginia M.Y. Lee, and John Q. Trojanowski. 2015. "Frontotemporal Lobar Degeneration: Defining Phenotypic Diversity through Personalized Medicine." *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1380-1>.

Ising, Christina, Carmen Venegas, Shuangshuang Zhang, Hannah Scheiblich, Susanne V. Schmidt, Ana Vieira-Saecker, Stephanie Schwartz, et al. 2019. "NLRP3 Inflammasome Activation Drives Tau Pathology." *Nature* 575 (7784): 669–73. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1769-z>.

Ito, Hidefumi, Kengo Fujita, Masataka Nakamura, Reika Wate, Satoshi Kaneko, Shoichi Sasaki, Kiyomi Yamane, et al. 2011. "Optineurin Is Co-Localized with FUS in Basophilic Inclusions of ALS with FUS Mutation and in Basophilic Inclusion Body Disease." *Acta Neuropathologica* 121 (4): 555–57. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0809-z>.

Ittner, Lars M., Yazı D. Ke, Fabien Delerue, Mian Bi, Amadeus Gladbach, Janet van Eersel, Heidrun Wölfling, et al. 2010a. "Dendritic Function of Tau Mediates Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Mouse Models." *Cell* 142 (3): 387–97. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.036>.

———. 2010b. "Dendritic Function of Tau Mediates Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Mouse Models." *Cell* 142 (3): 387–97. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.036>.

Ittner, Lars M., Yazı D. Ke, and Jürgen Götz. 2009. "Phosphorylated Tau Interacts with C-Jun N-Terminal Kinase-Interacting Protein 1 (JIP1) in Alzheimer Disease." *Journal of Biological Chemistry* 284 (31): 20909–16. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.014472>.

Jeohn, Gwang Ho, Ling Yuan Kong, Belinda Wilson, Pearlie Hudson, and Jau Shyong Hong. 1998. "Synergistic Neurotoxic Effects of Combined Treatments with Cytokines in Murine Primary Mixed Neuron/Glia Cultures." *Journal of Neuroimmunology* 85 (1): 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(97\)00204-X](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(97)00204-X).

Jian, J., J. Konopka, and C. Liu. 2013. "Insights into the Role of Progranulin in Immunity, Infection, and Inflammation." *Journal of Leukocyte Biology* 93 (2): 199–208. <https://doi.org/10.1189/jlb.0812429>.

Jian, Jinlong, Qing Yun Tian, Aubryanna Hettinghouse, Shuai Zhao, Helen Liu, Jianlu Wei, Gabriele Grunig, et al. 2016. "Progranulin Recruits HSP70 to β -Glucocerebrosidase and Is Therapeutic Against Gaucher Disease." *EBioMedicine* 13 (November): 212–24. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.10.010>.

Jian, Jinlong, Shuai Zhao, Qing Yun Tian, Helen Liu, Yunpeng Zhao, Wen Chi Chen, Gabriele Grunig, et al. 2016. "Association Between Progranulin and Gaucher Disease." *EBioMedicine* 11 (September): 127–37. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.08.004>.

Jiang, Jie, Qiang Zhu, Tania F. Gendron, Shahram Saberi, Melissa McAlonis-Downes, Amanda Seelman, Jennifer E. Stauffer, et al. 2016. "Gain of Toxicity from ALS/FTD-Linked Repeat Expansions in C9ORF72 Is Alleviated by Antisense Oligonucleotides Targeting GGGGCC-Containing RNAs." *Neuron* 90 (3): 535–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.006>.

- Johann, Sonja, Marius Heitzer, Mithila Kanagaratnam, Anand Goswami, Tania Rizo, Joachim Weis, Dirk Troost, and Cordian Beyer. 2015a. "NLRP3 Inflammasome Is Expressed by Astrocytes in the SOD1 Mouse Model of ALS and in Human Sporadic ALS Patients." *GLIA* 63 (12): 2260–73. <https://doi.org/10.1002/glia.22891>.
- . 2015b. "NLRP3 Inflammasome Is Expressed by Astrocytes in the SOD1 Mouse Model of ALS and in Human Sporadic ALS Patients." *GLIA* 63 (12): 2260–73. <https://doi.org/10.1002/glia.22891>.
- Johnson, Brian S., J. Michael McCaffery, Susan Lindquist, and Aaron D. Gitler. 2008. "A Yeast TDP-43 Proteinopathy Model: Exploring the Molecular Determinants of TDP-43 Aggregation and Cellular Toxicity." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (17): 6439–44. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802082105>.
- Johnson, Janel O., Jessica Mandrioli, Michael Benatar, Yevgeniya Abramzon, Viviana M. Van Deerlin, John Q. Trojanowski, J. Raphael Gibbs, et al. 2010. "Exome Sequencing Reveals VCP Mutations as a Cause of Familial ALS." *Neuron* 68 (5): 857–64. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.036>.
- Johnson, Janel O., Erik P. Piro, Ashley Boehringer, Ruth Chia, Howard Feit, Alan E. Renton, Hannah A. Pliner, et al. 2014. "Mutations in the Matrin 3 Gene Cause Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Neuroscience* 17 (5): 664–66. <https://doi.org/10.1038/nn.3688>.
- Johnson, Julene K., Janine Diehl, Mario F. Mendez, John Neuhaus, Jill S. Shapira, Mark Forman, Dennis J. Chute, et al. 2005. "Frontotemporal Lobar Degeneration: Demographic Characteristics of 353 Patients." *Archives of Neurology* 62 (6): 925–30. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.6.925>.
- Jonsson, P. Andreas, Daniel Bergemalm, Peter M. Andersen, Ole Gredal, Thomas Brännström, and Stefan L. Marklund. 2008. "Inclusions of Amyotrophic Lateral Sclerosis-Linked Superoxide Dismutase in Ventral Horns, Liver, and Kidney." *Annals of Neurology* 63 (5): 671–75. <https://doi.org/10.1002/ana.21356>.
- Josephs, K. A., R. C. Petersen, D. S. Knopman, B. F. Boeve, J. L. Whitwell, J. R. Duffy, J. E. Parisi, and D. W. Dickson. 2006. "Clinicopathologic Analysis of Frontotemporal and Corticobasal Degenerations and PSP." *Neurology* 66 (1): 41–48. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000191307.69661.c3>.
- Joshi, Amit U., Paras S. Minhas, Shane A. Liddelow, Bereketiab Haileselassie, Katrin I. Andreasson, Gerald W. Dorn, and Daria Mochly-Rosen. 2019. "Fragmented Mitochondria Released from Microglia Trigger A1 Astrocytic Response and Propagate Inflammatory Neurodegeneration." *Nature Neuroscience* 22 (10): 1635–48. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0486-0>.
- Jovičić, Ana, Jerome Mertens, Steven Boeynaems, Elke Bogaert, Noori Chai, Shizuka B. Yamada, Joseph W. Paul, et al. 2015. "Modifiers of C9orf72 Dipeptide Repeat Toxicity Connect Nucleocytoplasmic Transport Defects to FTD/ALS." *Nature Neuroscience* 18 (9): 1226–29. <https://doi.org/10.1038/nn.4085>.
- Julien, Jean Pierre. 2007. "ALS: Astrocytes Move in as Deadly Neighbors." *Nature Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nn0507-535>.
- Juneja, Tony, Margaret A. Pericak-Vance, Nigel G. Laing, Sundeep Dave, and Teepu Siddique. 1997. "Prognosis in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis: Progression and Survival in Patients with Glu100gly and Ala4val Mutations in Cu,Zn Superoxide Dismutase." *Neurology* 48 (1): 55–57. <https://doi.org/10.1212/WNL.48.1.55>.

- Junhee Seok, H. Shaw Warren, G. Cuenca Alex, N. Mindrinos Michael, V. Baker Henry, Weihong Xu, Daniel R. Richards, et al. 2013. "Genomic Responses in Mouse Models Poorly Mimic Human Inflammatory Diseases." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (9): 3507–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222878110>.
- Kabashi, Edor, Paul N. Valdmanis, Patrick Dion, Dan Spiegelman, Brendan J. McConkey, Christine Vande Velde, Jean Pierre Bouchard, et al. 2008. "TARDBP Mutations in Individuals with Sporadic and Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Genetics* 40 (5): 572–74. <https://doi.org/10.1038/ng.132>.
- Kanai, Yoshimitsu, Naoshi Dohmae, and Nobutaka Hirokawa. 2004. "Kinesin Transports RNA: Isolation and Characterization of an RNA-Transporting Granule." *Neuron* 43 (4): 513–25. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.07.022>.
- Kanmert, Daniel, Adam Cantlon, Christina R. Muratore, Ming Jin, Tiernan T. O'Malley, Gloria Lee, Tracy L. Young-Pearse, Dennis J. Selkoe, and Dominic M. Walsh. 2015. "C-Terminally Truncated Forms of Tau, but Not Full-Length Tau or Its C-Terminal Fragments, Are Released from Neurons Independently of Cell Death." *Journal of Neuroscience* 35 (30): 10851–65. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0387-15.2015>.
- Kao, Aimee W., Andrew McKay, Param Priya Singh, Anne Brunet, and Eric J. Huang. 2017. "Progranulin, Lysosomal Regulation and Neurodegenerative Disease." *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.36>.
- Kataoka, Takao, George Simos, Stylianos Ravanidis, and Epaminondas Doxakis. 2020. "RNA-Binding Proteins Implicated in Mitochondrial Damage and Mitophagy." <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00372>.
- Kaushal, Vikas, and Lyanne C Schlichter. 2008. "Mechanisms of Microglia-Mediated Neurotoxicity in a New Model of the Stroke Penumbra." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 28 (9): 2221–30. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5643-07.2008>.
- Kawamata, T., H. Akiyama, T. Yamada, and P. L. McGeer. 1992. "Immunologic Reactions in Amyotrophic Lateral Sclerosis Brain and Spinal Cord Tissue." *American Journal of Pathology* 140 (3): 691–707. [/pmc/articles/PMC1886170/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1886170/).
- Kayagaki, Nobuhiko, Søren Warming, Mohamed Lamkanfi, Lieselotte Vande Walle, Salina Louie, Jennifer Dong, Kim Newton, et al. 2011. "Non-Canonical Inflammasome Activation Targets Caspase-11." *Nature* 479 (7371): 117–21. <https://doi.org/10.1038/nature10558>.
- Kayasuga, Yuko, Shuichi Chiba, Masatoshi Suzuki, Takefumi Kikusui, Takashi Matsuwaki, Keitaro Yamanouchi, Hayato Kotaki, Reiko Horai, Yoichiro Iwakura, and Masugi Nishihara. 2007. "Alteration of Behavioural Phenotype in Mice by Targeted Disruption of the Progranulin Gene." *Behavioural Brain Research* 185 (2): 110–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.07.020>.
- Kelava, Iva, and Madeline A. Lancaster. 2016. "Dishing out Mini-Brains: Current Progress and Future Prospects in Brain Organoid Research." *Developmental Biology*. Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.06.037>.
- Kelley, Nathan, Devon Jeltama, Yanhui Duan, and Yuan He. 2019. "The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation." *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20133328>.
- Kent Wood, L., and Dennis J. Thiele. 2009. "Transcriptional Activation in Yeast in

- Response to Copper Deficiency Involves Copper-Zinc Superoxide Dismutase.” *Journal of Biological Chemistry* 284 (1): 404–13. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807027200>.
- Kielian, Tammy, Patrick Mayes, and Mark Kielian. 2002. “Characterization of Microglial Responses to Staphylococcus Aureus: Effects on Cytokine, Costimulatory Molecule, and Toll-like Receptor Expression.” *Journal of Neuroimmunology* 130 (1–2): 86–99. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(02\)00216-3](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(02)00216-3).
- Kierdorf, Katrin, Daniel Erny, Tobias Goldmann, Victor Sander, Christian Schulz, Elisa Gomez Perdiguero, Peter Wieghofer, et al. 2013. “Microglia Emerge from Erythromyeloid Precursors via Pu.1-and Irf8-Dependent Pathways.” *Nature Neuroscience* 16 (3): 273–80. <https://doi.org/10.1038/nn.3318>.
- Kim, Changyoun, Dong Hwan Ho, Ji Eun Suk, Sungyong You, Sarah Michael, Junghee Kang, Sung Joong Lee, et al. 2013. “Neuron-Released Oligomeric α -Synuclein Is an Endogenous Agonist of TLR2 for Paracrine Activation of Microglia.” *Nature Communications* 4. <https://doi.org/10.1038/ncomms2534>.
- Kim, Hong Joo, Nam Chul Kim, Yong Dong Wang, Emily A. Scarborough, Jennifer Moore, Zamia Diaz, Kyle S. MacLea, et al. 2013a. “Mutations in Prion-like Domains in HnRNPA2B1 and HnRNPA1 Cause Multisystem Proteinopathy and ALS.” *Nature* 495 (7442): 467–73. <https://doi.org/10.1038/nature11922>.
- . 2013b. “Mutations in Prion-like Domains in HnRNPA2B1 and HnRNPA1 Cause Multisystem Proteinopathy and ALS.” *Nature* 495 (7442): 467–73. <https://doi.org/10.1038/nature11922>.
- Kim, Hong Joo, and J. Paul Taylor. 2017. “Lost in Transportation: Nucleocytoplasmic Transport Defects in ALS and Other Neurodegenerative Diseases.” *Neuron*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.029>.
- Kim, Min Ji, Joo Heon Yoon, and Ji Hwan Ryu. 2016. “Mitophagy: A Balance Regulator of NLRP3 Inflammasome Activation.” *BMB Reports* 49 (10): 529–35. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.10.115>.
- Kimura, Tetsuya, Daniel J. Whitcomb, Jihoon Jo, Philip Regan, Thomas Piers, Seonghoo Heo, Christopher Brown, et al. 2014. “Microtubule-Associated Protein Tau Is Essential for Long-Term Depression in the Hippocampus.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369 (1633). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0144>.
- Kinnunen, K., N. Piippo, S. Loukovaara, M. Hytti, K. Kaarniranta, and A. Kauppinen. 2017. “Lysosomal Destabilization Activates the NLRP3 Inflammasome in Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs).” *Journal of Cell Communication and Signaling* 11 (3): 275–79. <https://doi.org/10.1007/s12079-017-0396-4>.
- Kino, Yoshihiro, Chika Washizu, Masaru Kurosawa, Mizuki Yamada, Haruko Miyazaki, Takumi Akagi, Tsutomu Hashikawa, et al. 2015. “FUS/TLS Deficiency Causes Behavioral and Pathological Abnormalities Distinct from Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Acta Neuropathologica Communications* 3 (April): 24. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0202-6>.
- Kishore, Uday, and Kenneth B.M. Reid. 2000. “C1q: Structure, Function, and Receptors.” In *Immunopharmacology*, 49:159–70. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)80301-X](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)80301-X).
- Kleijnen, Maurits F., Alan H. Shih, Pengbo Zhou, Sushant Kumar, Raymond E. Soccio, Nancy L. Kedersha, Grace Gill, and Peter M. Howley. 2000. “The HPLIC Proteins May Provide a Link between the Ubiquitination Machinery and the Proteasome.” *Molecular Cell* 6 (2): 409–19. <https://doi.org/10.1016/S1097->

2765(00)00040-X.

- Klos, Andreas, Andrea J. Tenner, Kay Ole Johswich, Rahasson R. Ager, Edimara S. Reis, and Jörg Köhl. 2009. "The Role of the Anaphylatoxins in Health and Disease." *Molecular Immunology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.04.027>.
- Koenigsknecht-Talboo, Jessica, and Gary E. Landreth. 2005. "Microglial Phagocytosis Induced by Fibrillar β -Amyloid and IgGs Are Differentially Regulated by Proinflammatory Cytokines." *Journal of Neuroscience* 25 (36): 8240–49. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1808-05.2005>.
- Kollewe, Katja, Thomas F. Münte, Amir Samii, Reinhard Dengler, Susanne Petri, and Bahram Mohammadi. 2011. "Patterns of Cortical Activity Differ in ALS Patients with Limb and/or Bulbar Involvement Depending on Motor Tasks." *Journal of Neurology* 258 (5): 804–10. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5842-7>.
- Konno, Takuya, Atsushi Shiga, Akira Tsujino, Akihiro Sugai, Taisuke Kato, Kazuaki Kanai, Akio Yokoseki, et al. 2013. "Japanese Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients with GGGGCC Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 84 (4): 398–401. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-302272>.
- Koppers, Max, Anna M. Blokhuis, Henk Jan Westeneng, Margo L. Terpstra, Caroline A.C. Zundel, Renata Vieira De Sá, Raymond D. Schellevis, et al. 2015. "C9orf72 Ablation in Mice Does Not Cause Motor Neuron Degeneration or Motor Deficits." *Annals of Neurology* 78 (3): 426–38. <https://doi.org/10.1002/ana.24453>.
- Korzhevskii, D. E., and O. V. Kirik. 2016. "Brain Microglia and Microglial Markers." *Neuroscience and Behavioral Physiology* 46 (3): 284–90. <https://doi.org/10.1007/s11055-016-0231-z>.
- Koval'chuk, D V, M V Khoreva, and A S Nikonova. 2011. "[Recognition receptors of innate immunity (NLR, RLR, and CLR)]." *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii*, no. 1: 93–100. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21446175>.
- Krabbe, Grietje, Annett Halle, Vitali Matyash, Jan L. Rinnenthal, Gina D. Eom, Ulrike Bernhardt, Kelly R. Miller, Stefan Prokop, Helmut Kettenmann, and Frank L. Heppner. 2013. "Functional Impairment of Microglia Coincides with Beta-Amyloid Deposition in Mice with Alzheimer-Like Pathology." *PLoS ONE* 8 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060921>.
- Krabbe, Grietje, S. Sakura Minami, Jon I. Etcheagaray, Praveen Taneja, Biljana Djukic, Dimitrios Davalos, David Le, et al. 2017. "Microglial NF κ B-TNF α Hyperactivation Induces Obsessive-Compulsive Behavior in Mouse Models of Progranulin-Deficient Frontotemporal Dementia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (19): 5029–34. <https://doi.org/10.1073/pnas.1700477114>.
- Kuang, Lisha, Marisa Kamelgarn, Alexandra Arenas, Jozsef Gal, Deborah Taylor, Weiming Gong, Martin Brown, Daret St Clair, Edward J. Kasarskis, and Haining Zhu. 2017. "Clinical and Experimental Studies of a Novel P525R FUS Mutation in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Neurology: Genetics* 3 (4). <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000172>.
- Kuiperij, H. Bea, Alexandra A.M. Versleijen, Marijke Beenes, Nicolaas A. Verwey, Luisa Benussi, Anna Paterlini, Giuliano Binetti, et al. 2017. "Tau Rather than TDP-43 Proteins Are Potential Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Frontotemporal Lobar Degeneration Subtypes: A Pilot Study." *Journal of Alzheimer's Disease* 55 (2): 585–95. <https://doi.org/10.3233/JAD-160386>.
- Kumar, Vijay, Gulam M. Hasan, and Md Imtaiyaz Hassan. 2017. "Unraveling the Role

- of RNA Mediated Toxicity of C9orf72 Repeats in C9-FTD/ALS.” *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00711>.
- Kuri, Paola, Nicole L. Schieber, Thomas Thumberger, Joachim Wittbrodt, Yannick Schwab, and Maria Leptin. 2017. “Dynamics of in Vivo ASC Speck Formation.” *Journal of Cell Biology* 216 (9): 2891–2909. <https://doi.org/10.1083/jcb.201703103>.
- Kwiatkowski, T. J., D. A. Bosco, A. L. LeClerc, E. Tamrazian, C. R. Vanderburg, C. Russ, A. Davis, et al. 2009. “Mutations in the FUS/TLS Gene on Chromosome 16 Cause Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Science* 323 (5918): 1205–8. <https://doi.org/10.1126/science.1166066>.
- Laferrière, Florent, Zuzanna Maniecka, Manuela Pérez-Berlanga, Marian Hruska-Plochan, Larissa Gilhespy, Eva Maria Hock, Ulrich Wagner, et al. 2019. “TDP-43 Extracted from Frontotemporal Lobar Degeneration Subject Brains Displays Distinct Aggregate Assemblies and Neurotoxic Effects Reflecting Disease Progression Rates.” *Nature Neuroscience* 22 (1): 65–77. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0294-y>.
- Lagier-Tourenne, Clotilde, Michael Baughn, Frank Rigo, Shuying Sun, Patrick Liu, Hai Ri Li, Jie Jiang, et al. 2013. “Targeted Degradation of Sense and Antisense C9orf72 RNA Foci as Therapy for ALS and Frontotemporal Degeneration.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (47): E4530. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318835110>.
- Lagier-Tourenne, Clotilde, Magdalini Polymenidou, Kasey R. Hutt, Anthony Q. Vu, Michael Baughn, Stephanie C. Huelga, Kevin M. Clutario, et al. 2012a. “Divergent Roles of ALS-Linked Proteins FUS/TLS and TDP-43 Intersect in Processing Long Pre-mRNAs.” *Nature Neuroscience* 15 (11): 1488–97. <https://doi.org/10.1038/nn.3230>.
- . 2012b. “Divergent Roles of ALS-Linked Proteins FUS/TLS and TDP-43 Intersect in Processing Long Pre-mRNAs.” *Nature Neuroscience* 15 (11): 1488–97. <https://doi.org/10.1038/nn.3230>.
- Lannes, Nils, Elisabeth Eppler, Samar Etemad, Peter Yotovski, and Luis Filgueira. 2017. “Microglia at Center Stage: A Comprehensive Review about the Versatile and Unique Residential Macrophages of the Central Nervous System.” *Oncotarget*. Impact Journals LLC. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23106>.
- LaRocca, Thomas J., Andrea Mariani, Linda R. Watkins, and Christopher D. Link. 2019. “TDP-43 Knockdown Causes Innate Immune Activation via Protein Kinase R in Astrocytes.” *Neurobiology of Disease* 132 (December): 104514. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104514>.
- Lasiene, Jurate, Okiru Komine, Noriko Fujimori-Tonou, Berit Powers, Fumito Endo, Seiji Watanabe, Jin Shijie, et al. 2016. “Neuregulin 1 Confers Neuroprotection in SOD1-Linked Amyotrophic Lateral Sclerosis Mice via Restoration of C-Boutons of Spinal Motor Neurons.” *Acta Neuropathologica Communications* 4 (February): 15. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0286-7>.
- Lattante, Serena, Guy A. Rouleau, and Edor Kabashi. 2013. “TARDBP and FUS Mutations Associated with Amyotrophic Lateral Sclerosis: Summary and Update.” *Human Mutation* 34 (6): 812–26. <https://doi.org/10.1002/humu.22319>.
- Laurent, Cyril, Luc Bu Ee, and David Blum. 2018. “Tau and Neuroinflammation: What Impact for Alzheimer’s Disease and Tauopathies?” <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.01.003>.
- Lawson, L. J., V. H. Perry, P. Dri, and S. Gordon. 1990. “Heterogeneity in the Distribution and Morphology of Microglia in the Normal Adult Mouse Brain.”

- Neuroscience* 39 (1): 151–70. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90229-W](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90229-W).
- Lazarou, Michael. 2015. “Keeping the Immune System in Check: A Role for Mitophagy.” *Immunology and Cell Biology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/icb.2014.75>.
- Leal-Lasarte, María M., Jaime M. Franco, Adahir Labrador-Garrido, David Pozo, and Cintia Roodveldt. 2017. “Extracellular TDP-43 Aggregates Target MAPK/MAK/MRK Overlapping Kinase (MOK) and Trigger Caspase-3/IL-18 Signaling in Microglia.” *FASEB Journal* 31 (7): 2797–2816. <https://doi.org/10.1096/fj.201601163R>.
- Lee, Edward B., Sílvia Porta, G. Michael Baer, Yan Xu, EunRan Suh, Linda K. Kwong, Lauren Elman, et al. 2017. “Expansion of the Classification of FTLD-TDP: Distinct Pathology Associated with Rapidly Progressive Frontotemporal Degeneration.” *Acta Neuropathologica* 134 (1): 65–78. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1679-9>.
- Lee, Youn-Bok, Pranetha Baskaran, Jorge Gomez-Deza, Han-Jou Chen, Agnes L Nishimura, Bradley N Smith, Claire Troakes, et al. 2017. “C9orf72 Poly GA RAN-Translated Protein Plays a Key Role in Amyotrophic Lateral Sclerosis via Aggregation and Toxicity.” *Human Molecular Genetics* 26 (24): 4765–77. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx350>.
- Lehmer, Carina, Patrick Oeckl, Jochen H Weishaupt, Alexander E Volk, Janine Diehl-Schmid, Matthias L Schroeter, Martin Lauer, et al. 2017. “Poly- GP in Cerebrospinal Fluid Links C9orf72 -associated Dipeptide Repeat Expression to the Asymptomatic Phase of ALS / FTD .” *EMBO Molecular Medicine* 9 (7): 859–68. <https://doi.org/10.15252/emmm.201607486>.
- Lenzi, Jessica, Riccardo De Santis, Valeria De Turreis, Mariangela Morlando, Pietro Laneve, Andrea Calvo, Virginia Caliendo, Adriano Chiò, Alessandro Rosa, and Irene Bozzoni. 2015. “ALS Mutant FUS Proteins Are Recruited into Stress Granules in Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Motoneurons.” *DMM Disease Models and Mechanisms* 8 (7): 755–66. <https://doi.org/10.1242/dmm.020099>.
- Li, Hong Fu, and Zhi Ying Wu. 2016. “Genotype-Phenotype Correlations of Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Translational Neurodegeneration* 5 (1). <https://doi.org/10.1186/s40035-016-0050-8>.
- Li, Xiaohua, Dalin Song, and Sean X. Leng. 2015. “Link between Type 2 Diabetes and Alzheimer’s Disease: From Epidemiology to Mechanism and Treatment.” *Clinical Interventions in Aging*. Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/CIA.S74042>.
- Liblau, Roland S., Daniel Gonzalez-Dunia, Heinz Wiendl, and Frauke Zipp. 2013. “Neurons as Targets for T Cells in the Nervous System.” *Trends in Neurosciences*. Trends Neurosci. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.01.008>.
- Lim, Su Min, Won Jun Choi, Ki Wook Oh, Yuanchao Xue, Ji Young Choi, Sung Hoon Kim, Minyeop Nahm, et al. 2016. “Directly Converted Patient-Specific Induced Neurons Mirror the Neuropathology of FUS with Disrupted Nuclear Localization in Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Molecular Neurodegeneration* 11 (1): 8. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0075-6>.
- Lin, Yuan, David S W Protter, Michael K Rosen, and Roy Parker Correspondence. 2015. “Formation and Maturation of Phase-Separated Liquid Droplets by RNA-Binding Proteins.” *Molecular Cell* 60: 208–19. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.08.018>.
- Ling, Shuo Chien, Magdalini Polymenidou, and Don W. Cleveland. 2013. “Converging Mechanisms in Als and FTD: Disrupted RNA and Protein

- Homeostasis." *Neuron*. Neuron. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.033>.
- Lippai, Mónika, and Péter Lyw. 2014. "The Role of the Selective Adaptor P62 and Ubiquitin-Like Proteins in Autophagy." <https://doi.org/10.1155/2014/832704>.
- Liu, Chuan Ju, and Xavier Bosch. 2012a. "Progranulin: A Growth Factor, a Novel TNFR Ligand and a Drug Target." *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.10.003>.
- . 2012b. "Progranulin: A Growth Factor, a Novel TNFR Ligand and a Drug Target." *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.10.003>.
- Liu, Fei, and Cheng Xin Gong. 2008. "Tau Exon 10 Alternative Splicing and Tauopathies." *Molecular Neurodegeneration* 3 (1). <https://doi.org/10.1186/1750-1326-3-8>.
- Liu, Xing, Zhibin Zhang, Jianbin Ruan, Youdong Pan, Venkat Giri Magupalli, Hao Wu, and Judy Lieberman. 2016. "Inflammasome-Activated Gasdermin D Causes Pyroptosis by Forming Membrane Pores." *Nature* 535 (7610): 153–58. <https://doi.org/10.1038/nature18629>.
- Liu, Yuanjing, Amrutha Pattamatta, Tao Zu, Tammy Reid, Olgerd Bardhi, David R. Borchelt, Anthony T. Yachnis, and Laura P.W. Ranum. 2016. "C9orf72 BAC Mouse Model with Motor Deficits and Neurodegenerative Features of ALS/FTD." *Neuron* 90 (3): 521–34. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.005>.
- Ljubenkov, Peter A, and Bruce L Miller. 2016. "A Clinical Guide to Frontotemporal Dementias." *Focus (American Psychiatric Publishing)* 14 (4): 448–64. <https://doi.org/10.1176/appi.focus.20160018>.
- Lobsiger, Christian S., and Don W. Cleveland. 2007. "Glial Cells as Intrinsic Components of Non-Cell-Autonomous Neurodegenerative Disease." *Nature Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nn1988>.
- Lopez-Herdoiza et al. n.d. "C9ORF72 Knockdown Triggers FTD-like Symptoms and Cell Pathology in Mice."
- Louveau, Antoine, Jasmin Herz, Maria Nordheim Alme, Andrea Francesca Salvador, Michael Q. Dong, Kenneth E. Viar, S. Grace Herod, et al. 2018. "CNS Lymphatic Drainage and Neuroinflammation Are Regulated by Meningeal Lymphatic Vasculature." *Nature Neuroscience* 21 (10): 1380–91. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0227-9>.
- Louveau, Antoine, Igor Smirnov, Timothy J. Keyes, Jacob D. Eccles, Sherin J. Rouhani, J. David Peske, Noel C. Derecki, et al. 2015. "Structural and Functional Features of Central Nervous System Lymphatic Vessels." *Nature* 523 (7560): 337–41. <https://doi.org/10.1038/nature14432>.
- Lu, Alvin, Venkat Giri Magupalli, Jianbin Ruan, Qian Yin, Maninjay K. Atianand, Matthijn R. Vos, Gunnar F. Schröder, Katherine A. Fitzgerald, Hao Wu, and Edward H. Egelman. 2014. "Unified Polymerization Mechanism for the Assembly of Asc-Dependent Inflammasomes." *Cell* 156 (6): 1193–1206. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.008>.
- Lučiūnaitė, Asta, Róisín M. McManus, Marija Jankunec, Ildikó Rácz, Cira Dansokho, Indrė Dalgėdienė, Stephanie Schwartz, Frederic Brosseron, and Michael T. Heneka. 2020. "Soluble A β Oligomers and Protofibrils Induce NLRP3 Inflammasome Activation in Microglia." *Journal of Neurochemistry*, January. <https://doi.org/10.1111/jnc.14945>.
- Lui, Hansen, Jiasheng Zhang, Stefanie R. Makinson, Michelle K. Cahill, Kevin W. Kelley, Hsin Yi Huang, Yulei Shang, et al. 2016. "Progranulin Deficiency Promotes Circuit-Specific Synaptic Pruning by Microglia via Complement

- Activation." *Cell* 165 (4): 921–35. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.001>.
- Lund, Søren, Kenneth Vielsted Christensen, Maj Hedtjærn, Anne Louise Mortensen, Henrik Hagberg, Jeppe Falsig, Henrik Hasseldam, André Schratzenholz, Peter Pörzgen, and Marcel Leist. 2006. "The Dynamics of the LPS Triggered Inflammatory Response of Murine Microglia under Different Culture and in Vivo Conditions." *Journal of Neuroimmunology* 180 (1–2): 71–87. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.07.007>.
- Lüningschrör et al. 2020. "The FTLD Risk Factor TMEM106B Regulates the Transport of Lysosomes at the Axon Initial Segment of Motoneurons." <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.060>.
- Luo, Xiao Guang, and Sheng Di Chen. 2012. "The Changing Phenotype of Microglia from Homeostasis to Disease." *Translational Neurodegeneration*. BioMed Central. <https://doi.org/10.1186/2047-9158-1-9>.
- M. Isaacs, A., P. Johannsen, I. Holm, J. E. Nielsen, and FReJA Consortium. 2011. "Frontotemporal Dementia Caused by CHMP2B Mutations." *Current Alzheimer Research* 8 (3): 246–51. <https://doi.org/10.2174/156720511795563764>.
- MacKenzie, Ian R., Thomas Arzberger, Elisabeth Kremmer, Dirk Troost, Stefan Lorenzl, Kohji Mori, Shih Ming Weng, et al. 2013. "Dipeptide Repeat Protein Pathology in C9ORF72 Mutation Cases: Clinico-Pathological Correlations." *Acta Neuropathologica* 126 (6): 859–79. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1181-y>.
- Mackenzie, Ian R., and Manuela Neumann. 2017. "Reappraisal of TDP-43 Pathology in FTLD-U Subtypes." *Acta Neuropathologica* 134 (1): 79–96. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1716-8>.
- Mackenzie, Ian R., Alexandra M. Nicholson, Mohona Sarkar, James Messing, Maria D. Purice, Cyril Pottier, Kavya Annu, et al. 2017. "TIA1 Mutations in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Promote Phase Separation and Alter Stress Granule Dynamics." *Neuron* 95 (4): 808-816.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.025>.
- Mackenzie, Ian R.A. 2007. "The Neuropathology and Clinical Phenotype of FTD with Progranulin Mutations." *Acta Neuropathologica*. *Acta Neuropathol.* <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0223-8>.
- Mackenzie, Ian R.A., Olaf Ansorge, Michael Strong, Juan Bilbao, Lorne Zinman, Lee Cyn Ang, Matt Baker, et al. 2011. "Pathological Heterogeneity in Amyotrophic Lateral Sclerosis with FUS Mutations: Two Distinct Patterns Correlating with Disease Severity and Mutation." *Acta Neuropathologica* 122 (1): 87–98. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0838-7>.
- Mackenzie, Ian R.A., Eileen H. Bigio, Paul G. Ince, Felix Geser, Manuela Neumann, Nigel J. Cairns, Linda K. Kwong, et al. 2007. "Pathological TDP-43 Distinguishes Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis from Amyotrophic Lateral Sclerosis with SOD1 Mutations." *Annals of Neurology* 61 (5): 427–34. <https://doi.org/10.1002/ana.21147>.
- Mackenzie, Ian R.A., Manuela Neumann, Atik Baborie, Deepak M. Sampathu, Daniel Du Plessis, Evelyn Jaros, Robert H. Perry, John Q. Trojanowski, David M.A. Mann, and Virginia M.Y. Lee. 2011. "A Harmonized Classification System for FTLD-TDP Pathology." *Acta Neuropathologica*. *Acta Neuropathol.* <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0845-8>.
- Mackenzie, Ian R.A., and Rosa Rademakers. 2008. "The Role of Transactive Response DNA-Binding Protein-43 in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Current Opinion in Neurology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3283168d1d>.

- Mackenzie, Ian R A, Manuela Neumann, Atik Baborie, Deepak M Sampathu, Daniel Du Plessis, Evelyn Jaros, Robert H Perry, John Q Trojanowski, David M A Mann, and Virginia M Y Lee. 2011. "A Harmonized Classification System for FTLD-TDP Pathology." *Acta Neuropathol* 122 (1): 111–13. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0845-8>.
- Maharjan, Niran, Christina Künzli, Kilian Buthey, and Smita Saxena. 2017. "C9ORF72 Regulates Stress Granule Formation and Its Deficiency Impairs Stress Granule Assembly, Hypersensitizing Cells to Stress." *Molecular Neurobiology* 54 (4): 3062–77. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9850-1>.
- Majounie, Elisa, Alan E. Renton, Kin Mok, Elise G.P. Dopper, Adrian Waite, Sara Rollinson, Adriano Chiò, et al. 2012. "Frequency of the C9orf72 Hexanucleotide Repeat Expansion in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia: A Cross-Sectional Study." *The Lancet Neurology* 11 (4): 323–30. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70043-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70043-1).
- Malik, Ankit, and Thirumala-Devi Kanneganti. 2017. "Inflammasome Activation and Assembly at a Glance." *Journal of Cell Science* 130: 3955–63. <https://doi.org/10.1242/jcs.207365>.
- Mandelkow, Eva Maria, and Eckhard Mandelkow. 2011. "Biochemistry and Cell Biology of Tau Protein in Neurofibrillary Degeneration." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Cold Spring Harb Perspect Med. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006247>.
- Mandrioli, Jessica, Pietro Faglioni, Elisa Merelli, and Patrizia Sola. 2003. "The Epidemiology of ALS in Modena, Italy." *Neurology* 60 (4): 683–89. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000048208.54755.78>.
- Mandrioli, Jessica, Laura Mediani, Simon Alberti, and Serena Carra. 2020. "ALS and FTD: Where RNA Metabolism Meets Protein Quality Control." *Seminars in Cell and Developmental Biology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.06.003>.
- Maniecka, Zuzanna, and Magdalini Polymenidou. 2015. "From Nucleation to Widespread Propagation: A Prion-like Concept for ALS." *Virus Research* 207 (September): 94–105. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.12.032>.
- Mann, David MA, Sara Rollinson, Andrew Robinson, Janis Bennion Callister, Jennifer C Thompson, Julie S Snowden, Tania Gendron, et al. 2013. "Dipeptide Repeat Proteins Are Present in the P62 Positive Inclusions in Patients with Frontotemporal Lobar Degeneration and Motor Neurone Disease Associated with Expansions in C9ORF72." *Acta Neuropathologica Communications* 1 (1). <https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-68>.
- Mansuroglu, Zeyni, Houda Benhelli-Mokrani, Vasco Marcato, Audrey Sultan, Marie Violet, Alban Chauderlier, Lucie Delattre, et al. 2016. "Loss of Tau Protein Affects the Structure, Transcription and Repair of Neuronal Pericentromeric Heterochromatin." *Scientific Reports* 6 (September). <https://doi.org/10.1038/srep33047>.
- Marie, Pierre. 1892. "Leçons Sur Les Maladies de La Moelle." https://books.google.fr/books/about/Leçons_sur_les_maladies_de_la_moelle.html?id=VkZQc-ZiRkIC&redir_esc=y.
- Marioni, Riccardo E., Sarah E. Harris, Qian Zhang, Allan F. McRae, Saskia P. Hagenaars, W. David Hill, Gail Davies, et al. 2018. "GWAS on Family History of Alzheimer's Disease." *Translational Psychiatry* 8 (1). <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0150-6>.
- Martens, Lauren Herl, Jiasheng Zhang, Sami J. Barmada, Ping Zhou, Sherry Kamiya,

- Binggui Sun, Sang Won Min, et al. 2012. "Progranulin Deficiency Promotes Neuroinflammation and Neuron Loss Following Toxin-Induced Injury." *Journal of Clinical Investigation* 122 (11): 3955–59. <https://doi.org/10.1172/JCI63113>.
- Martinon, Fabio, Kimberly Burns, and Jürg Tschopp. 2002. "The Inflammasome: A Molecular Platform Triggering Activation of Inflammatory Caspases and Processing of ProIL- β ." *Molecular Cell* 10 (2): 417–26. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00599-3](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00599-3).
- Maruyama, Hirofumi, Hiroyuki Morino, Hidefumi Ito, Yuishin Izumi, Hidemasa Kato, Yasuhito Watanabe, Yoshimi Kinoshita, et al. 2010. "Mutations of Optineurin in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature* 465 (7295): 223–26. <https://doi.org/10.1038/nature08971>.
- Mary Beard, C., Stephen C. Waring, Peter C. O'Brien, Leonard T. Kurland, and Emre Kokmen. 1998. "Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Use and Alzheimer's Disease: A Case-Control Study in Rochester, Minnesota, 1980 through 1984." *Mayo Clinic Proceedings* 73 (10): 951–55. <https://doi.org/10.4065/73.10.951>.
- May, Stephanie, Daniel Hornburg, Martin H. Schludi, Thomas Arzberger, Kristin Rentzsch, Benjamin M. Schwenk, Friedrich A. Grässer, et al. 2014. "C9orf72 FTLD/ALS-Associated Gly-Ala Dipeptide Repeat Proteins Cause Neuronal Toxicity and Unc119 Sequestration." *Acta Neuropathologica* 128 (4): 485–503. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1329-4>.
- McAlary, Luke, and Justin J. Yerbury. 2019. "Strategies to Promote the Maturation of ALS-Associated SOD1 Mutants: Small Molecules Return to the Fold." *Neural Regeneration Research* 14 (9): 1511. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.255962>.
- McCauley, Madelyn E., and Robert H. Baloh. 2019. "Inflammation in ALS/FTD Pathogenesis." *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1933-9>.
- Mccords, Joe M, and Irwin Fridovich. 1969. "Superoxide Dismutase AN ENZYMIC FUNCTION FOR ERYTHROCUPREIN (HEMOCUPREIN)*." *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. Vol. 244. <http://www.jbc.org/>.
- Meda, Lucia, Marco A. Cassatella, Gyorgyi I. Szendrei, Laszlo Otvos, Pierluigi Baron, Martin Villalba, Davide Ferrari, and Filippo Rossi. 1995. "Activation of Microglial Cells by β -Amyloid Protein and Interferon- γ ." *Nature* 374 (6523): 647–50. <https://doi.org/10.1038/374647a0>.
- Mejzini, Rita, Loren L. Flynn, Ianthe L. Pitout, Sue Fletcher, Steve D. Wilton, and P. Anthony Akkari. 2019. "ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now?" *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01310>.
- Mena, Raúl, Patricia C. Edwards, Charles R. Harrington, Elizabeta B. Mukaetova-Ladinska, and Claude M. Wischik. 1996. "Staging the Pathological Assembly of Truncated Tau Protein into Paired Helical Filaments in Alzheimer's Disease." *Acta Neuropathologica* 91 (6): 633–41. <https://doi.org/10.1007/s004010050477>.
- Mentula, Hanna-Kaisa, Laura Tuovinen, Sini Penttilä, Tiina Suominen, Bjarne Udd, and Johanna Palmio. 2012. "TARDBP Mutations Are Not a Frequent Cause of ALS in Finnish Patients." *Acta Myologica : Myopathies and Cardiomyopathies : Official Journal of the Mediterranean Society of Myology* 31 (2): 134–38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23097605>.
- Merkley, Seth D., Cameron J. Chock, Xuexian O. Yang, James Harris, and Eliseo F. Castillo. 2018. "Modulating T Cell Responses via Autophagy: The Intrinsic Influence Controlling the Function of Both Antigen-Presenting Cells and T Cells." *Frontiers in Immunology*. NLM (Medline).

- <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02914>.
- Mesulam, M. -Marsel. 1982. "Slowly Progressive Aphasia without Generalized Dementia." *Annals of Neurology* 11 (6): 592–98. <https://doi.org/10.1002/ana.410110607>.
- Meyer, Hemmo, and Conrad C. Wehl. 2014. "The VCP/P97 System at a Glance: Connecting Cellular Function to Disease Pathogenesis." *Journal of Cell Science* 127 (18): 3877–83. <https://doi.org/10.1242/jcs.093831>.
- Milan, Léa, Gilles Courtand, Laura Cardoit, Frédérique Masméjean, Grégory Barrière, Jean René Cazalets, Maurice Garret, and Sandrine S. Bertrand. 2015. "Age-Related Changes in Pre- and Postsynaptic Partners of the Cholinergic C-Boutons in Wild-Type and SOD1G93A Lumbar Motoneurons." *PLoS ONE* 10 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135525>.
- Miller, Florence, Philippe V. Afonso, Antoine Gessain, and Pierre Emmanuel Ceccaldi. 2012. "Blood-Brain Barrier and Retroviral Infections." *Virulence*. Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.4161/viru.19697>.
- Mishra, Pooja Shree, Hejer Boutej, Geneviève Soucy, Christine Bareil, Sunny Kumar, Vincent Picher-Martel, Nicolas Dupré, Jasna Kriz, and Jean Pierre Julien. 2020. "Transmission of ALS Pathogenesis by the Cerebrospinal Fluid." *Acta Neuropathologica Communications* 8 (1): 65. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00943-4>.
- Mitchell, JD, and GD Borasio. 2007. "Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Lancet*. Lancet. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60944-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60944-1).
- Miyoshi, Michie, Hitoshi Shinotoh, Zbigniew K. Wszolek, Audrey J. Strongosky, Hitoshi Shimada, Ryosuke Arakawa, Makoto Higuchi, et al. 2010. "In Vivo Detection of Neuropathologic Changes in Presymptomatic MAPT Mutation Carriers: A PET and MRI Study." *Parkinsonism and Related Disorders* 16 (6): 404–8. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.04.004>.
- Mizielinska, Sarah, Sebastian Grönke, Teresa Niccoli, Charlotte E. Ridler, Emma L. Clayton, Anny Devoy, Thomas Moens, et al. 2014. "C9orf72 Repeat Expansions Cause Neurodegeneration in Drosophila through Arginine-Rich Proteins." *Science* 345 (6201): 1192–94. <https://doi.org/10.1126/science.1256800>.
- Mizielinska, Sarah, Tammarny Lashley, Frances E. Norona, Emma L. Clayton, Charlotte E. Ridler, Pietro Fratta, and Adrian M. Isaacs. 2013. "C9orf72 Frontotemporal Lobar Degeneration Is Characterised by Frequent Neuronal Sense and Antisense RNA Foci." *Acta Neuropathologica* 126 (6): 845–57. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1200-z>.
- Mizusawa, H., S. Matsumoto, S. H. Yen, A. Hirano, R. R. Rojas-Corona, and H. Donnerfeld. 1989. "Focal Accumulation of Phosphorylated Neurofilaments within Anterior Horn Cell in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Acta Neuropathologica* 79 (1): 37–43. <https://doi.org/10.1007/BF00308955>.
- Moens, Thomas G., Teresa Niccoli, Katherine M. Wilson, Magda L. Atilano, Nicol Birsa, Lauren M. Gittings, Benedikt V. Holbling, et al. 2019. "C9orf72 Arginine-Rich Dipeptide Proteins Interact with Ribosomal Proteins in Vivo to Induce a Toxic Translational Arrest That Is Rescued by EIF1A." *Acta Neuropathologica* 137 (3): 487–500. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1946-4>.
- Moller, Annkathrin, Claudia S Bauer, Rebecca N Cohen, Christopher P Webster, and Kurt J De Vos. 2017. "Amyotrophic Lateral Sclerosis-Associated Mutant SOD1 Inhibits Anterograde Axonal Transport of Mitochondria by Reducing Miro1 Levels." <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx348>.
- Molliex, Amandine, Jamshid Temirov, Jihun Lee, Maura Coughlin, Anderson P.

- Kanagaraj, Hong Joo Kim, Tanja Mittag, and J. Paul Taylor. 2015. "Phase Separation by Low Complexity Domains Promotes Stress Granule Assembly and Drives Pathological Fibrillization." *Cell* 163 (1): 123–33. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.015>.
- Momeni, Parastoo, Mirdhu M. Wickremaratchi, Jason Bell, Richard Arnold, Roger Beer, John Hardy, Tamas Revesz, James W. Neal, and Huw R. Morris. 2010. "Familial Early Onset Frontotemporal Dementia Caused by a Novel S356T MAPT Mutation, Initially Diagnosed as Schizophrenia." *Clinical Neurology and Neurosurgery* 112 (10): 917–20. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2010.07.015>.
- Mompeán, Miguel, Marco Baralle, Emanuele Buratti, and Douglas V. Laurents. 2016. "An Amyloid-like Pathological Conformation of TDP-43 Is Stabilized by Hypercooperative Hydrogen Bonds." *Frontiers in Molecular Neuroscience* 9 (NOV2016). <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00125>.
- Mompeán, Miguel, Valentina Romano, David Pantoja-Uceda, Cristiana Stuani, Francisco E. Baralle, Emanuele Buratti, and Douglas V. Laurents. 2016. "The TDP-43 N-Terminal Domain Structure at High Resolution." *The FEBS Journal* 283 (7): 1242–60. <https://doi.org/10.1111/febs.13651>.
- Mondragón-Rodríguez, Siddhartha, Gustavo Basurto-Islas, Ismael Santa-Maria, Raúl Mena, Lester I. Binder, Jesús Avila, Mark A. Smith, George Perry, and Francisco García-Sierra. 2008. "Cleavage and Conformational Changes of Tau Protein Follow Phosphorylation during Alzheimer's Disease." *International Journal of Experimental Pathology* 89 (2): 81–90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2007.00568.x>.
- Mondragón, Siddhartha, Mondrag´ Mondragón-Rodríguez, George Perry, Xiongwei Zhu, and Jannic Boehm. 2012. "Amyloid Beta and Tau Proteins as Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease Treatment: Rethinking the Current Strategy." *International Journal of Alzheimer's Disease* 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/630182>.
- Monje, Michelle L., Hiroki Toda, and Theo D. Palmer. 2003. "Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis." *Science* 302 (5651): 1760–65. <https://doi.org/10.1126/science.1088417>.
- Montuschi, Anna, Barbara Iazzolino, Andrea Calvo, Cristina Moglia, Leonardo Lopiano, Gabriella Restagno, Maura Brunetti, et al. 2015. "Cognitive Correlates in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population-Based Study in Italy." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 86 (2): 168–73. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2013-307223>.
- Mori, Fumiaki, Kunikazu Tanji, Hai Xin Zhang, Yasushi Nishihira, Chun Feng Tan, Hitoshi Takahashi, and Koichi Wakabayashi. 2008. "Maturation Process of TDP-43-Positive Neuronal Cytoplasmic Inclusions in Amyotrophic Lateral Sclerosis with and without Dementia." *Acta Neuropathologica* 116 (2): 193–203. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0396-9>.
- Mori, Kohji, Shih Ming Weng, Thomas Arzberger, Stephanie May, Kristin Rentzsch, Elisabeth Kremmer, Bettina Schmid, et al. 2013. "The C9orf72 GGGGCC Repeat Is Translated into Aggregating Dipeptide-Repeat Proteins in FTL/ALS." *Science* 339 (6125): 1335–38. <https://doi.org/10.1126/science.1232927>.
- Morita, M., A. Al-Chalabi, P. M. Andersen, B. Hosler, P. Sapp, E. Englund, J. E. Mitchell, et al. 2006. "A Locus on Chromosome 9p Confers Susceptibility to ALS and Frontotemporal Dementia." *Neurology* 66 (6): 839–44. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000200048.53766.b4>.
- Mosser, Coralie-Anne, Sofia Baptista, Isabelle Arnoux, and Etienne Audinat. 2017.

- “Microglia in CNS Development: Shaping the Brain for the Future.” *Progress in Neurobiology* 149–150: 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.01.002>.
- Murakami, Tetsuro, Seung Pil Yang, Lin Xie, Taizo Kawano, Donald Fu, Asuka Mukai, Christopher Bohm, et al. 2012. “Als Mutations in FUS Cause Neuronal Dysfunction and Death in *Caenorhabditis Elegans* by a Dominant Gain-of-Function Mechanism.” *Human Molecular Genetics* 21 (1): 1–9. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr417>.
- Murray, Peter J., Judith E. Allen, Subhra K. Biswas, Edward A. Fisher, Derek W. Gilroy, Sergij Goerdt, Siamon Gordon, et al. 2014. “Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines.” *Immunity*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>.
- Muynck, Louis De, Sarah Herdewyn, Sander Beel, Wendy Scheveneels, Ludo Van Den Bosch, Wim Robberecht, and Philip Van Damme. 2013. “The Neurotrophic Properties of Progranulin Depend on the Granulin E Domain but Do Not Require Sortilin Binding.” *Neurobiology of Aging* 34 (11): 2541–47. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.04.022>.
- Nacharaju, Parimala, Jada Lewis, Colin Easson, Samuel Yen, Jennifer Hackett, Mike Hutton, and Shu Hui Yen. 1999. “Accelerated Filament Formation from Tau Protein with Specific FTDP-17 Missense Mutations.” *FEBS Letters* 447 (2–3): 195–99. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00294-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00294-X).
- Nagatsu, T., and M. Sawada. 2005. “Inflammatory Process in Parkinsons Disease: Role for Cytokines.” *Current Pharmaceutical Design* 11 (8): 999–1016. <https://doi.org/10.2174/1381612053381620>.
- Nassif, Melissa, Ute Woehlbier, and Patricio A. Manque. 2017. “The Enigmatic Role of C9ORF72 in Autophagy.” *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00442>.
- Nayak, Debasis, Theodore L Roth, and Dorian B McGavern. 2014. “Microglia Development and Function.” *Annual Review of Immunology* 32 (June): 367–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240>.
- Neumann, H, M R Kotter, and R J M Franklin. 2009. “Debris Clearance by Microglia: An Essential Link between Degeneration and Regeneration.” *Brain: A Journal of Neurology* 132 (Pt 2): 288–95. <https://doi.org/10.1093/brain/awn109>.
- Neumann, Manuela, Linda K. Kwong, Deepak M. Sampathu, John Q. Trojanowski, and Virginia M.Y. Lee. 2007. “TDP-43 Proteinopathy in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Protein Misfolding Diseases without Amyloidosis.” *Archives of Neurology*. American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.10.1388>.
- Neumann, Manuela, Linda K. Kwong, Adam C. Truax, Ben Vanmassenhove, Hans A. Kretzschmar, Vivianna M. Van Deerlin, Chrisopher M. Clark, et al. 2007. “TDP-43-Positive White Matter Pathology in Frontotemporal Lobar Degeneration With Ubiquitin-Positive Inclusions.” *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 66 (3): 177–83. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000248554.45456.58>.
- Neumann, Manuela, Deepak M. Sampathu, Linda K. Kwong, Adam C. Truax, Matthew C. Micsenyi, Thomas T. Chou, Jennifer Bruce, et al. 2006. “Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Science* 314 (5796): 130–33. <https://doi.org/10.1126/science.1134108>.
- Neumann, Manuela, Markus Tolnay, and Ian R.A. Mackenzie. 2009. “The Molecular Basis of Frontotemporal Dementia.” *Expert Reviews in Molecular Medicine*.

- Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001136>.
- Neumann, Manuela, Chiara F. Valori, Olaf Ansorge, Hans A. Kretschmar, David G. Munoz, Hirofumi Kusaka, Osamu Yokota, et al. 2012. "Transportin 1 Accumulates Specifically with FET Proteins but No Other Transportin Cargos in FTLD-FUS and Is Absent in FUS Inclusions in ALS with FUS Mutations." *Acta Neuropathologica* 124 (5): 705–16. <https://doi.org/10.1007/s00401-012-1020-6>.
- Nguyen, Andrew D., Thi A. Nguyen, Jiasheng Zhang, Swathi Devireddy, Ping Zhou, Anna M. Karydas, Xialian Xu, et al. 2018. "Murine Knockin Model for Progranulin-Deficient Frontotemporal Dementia with Nonsense-mediated mRNA Decay." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (12): E2849–58. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722344115>.
- Nicholson, Alexandra M., and Rosa Rademakers. 2016. "What We Know about TMEM106B in Neurodegeneration." *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1610-9>.
- Nishihira, Yasushi, Chun-Feng Tan, Osamu Onodera, Yasuko Toyoshima, Mitsunori Yamada, Takashi Morita, Masatoyo Nishizawa, Akiyoshi Kakita, and Hitoshi Takahashi. 2008. "Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis: Two Pathological Patterns Shown by Analysis of Distribution of TDP-43-Immunoreactive Neuronal and Glial Cytoplasmic Inclusions." *Acta Neuropathologica* 116 (2): 169–82. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0385-z>.
- Nitrini, Ricardo. 2014. "Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Revisiting One of the First Case Reports with Neuropathology Examination." *Dementia & Neuropsychologia* 8 (1): 83–86. <https://doi.org/10.1590/S1980-57642014DN81000013>.
- Niwa, Jun Ichi, Shinsuke Ishigaki, Nozomi Hishikawa, Masahiko Yamamoto, Manabu Doyu, Shigeo Murata, Keiji Tanaka, Naoyuki Taniguchi, and Gen Sobue. 2002. "Dorfin Ubiquitylates Mutant SOD1 and Prevents Mutant SOD1-Mediated Neurotoxicity." *Journal of Biological Chemistry* 277 (39): 36793–98. <https://doi.org/10.1074/jbc.M206559200>.
- Nomura, Takao, Shoji Watanabe, Kumi Kaneko, Koji Yamanaka, Nobuyuki Nukina, and Yoshiaki Furukawa. 2014. "Intranuclear Aggregation of Mutant FUS/TLS as a Molecular Pathomechanism of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Journal of Biological Chemistry* 289 (2): 1192–1202. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.516492>.
- Nonaka, Takashi, Masami Masuda-Suzukake, Tetsuaki Arai, Yoko Hasegawa, Hiroyasu Akatsu, Tomokazu Obi, Mari Yoshida, et al. 2013. "Prion-like Properties of Pathological TDP-43 Aggregates from Diseased Brains." *Cell Reports* 4 (1): 124–34. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.007>.
- Noto, Yu Ichi, Kazumoto Shibuya, Yasunori Sato, Kazuaki Kanai, Sonoko Misawa, Setsu Sawai, Masahiro Mori, et al. 2011. "Elevated CSF TDP-43 Levels in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Specificity, Sensitivity, and a Possible Prognostic Value." *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 12 (2): 140–43. <https://doi.org/10.3109/17482968.2010.541263>.
- O'Rourke, J. G., L. Bogdanik, A. Yáñez, D. Lall, A. J. Wolf, A. K.M.G. Muhammad, R. Ho, et al. 2016. "C9orf72 Is Required for Proper Macrophage and Microglial Function in Mice." *Science* 351 (6279): 1324–29. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1064>.
- O'Rourke, Jacqueline G., Laurent Bogdanik, A. K.M.G. Muhammad, Tania F. Gendron, Kevin J. Kim, Andrew Austin, Janet Cady, et al. 2015. "C9orf72 BAC Transgenic Mice Display Typical Pathologic Features of ALS/FTD." *Neuron* 88

- (5): 892–901. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.027>.
- Okamoto, Yoko, Yoshitomo Shirakashi, Masafumi Ihara, Makoto Urushitani, Miki Oono, Yasuhiro Kawamoto, Hirofumi Yamashita, et al. 2011. “Colocalization of 14-3-3 Proteins with SOD1 in Lewy Body-like Hyaline Inclusions in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Cases and the Animal Model.” *PLoS ONE* 6 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020427>.
- Olney, John W. 1969. “Brain Lesions, Obesity, and Other Disturbances in Mice Treated with Monosodium Glutamate.” *Science* 164 (3880): 719–21. <https://doi.org/10.1126/science.164.3880.719>.
- Olney, Nicholas T., Salvatore Spina, and Bruce L. Miller. 2017. “Frontotemporal Dementia.” *Neurologic Clinics*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.008>.
- Olsen, Mary K., Steven L. Roberds, Brenda R. Ellerbrock, Timothy J. Fleck, Denise K. McKinley, and Mark E. Gurney. 2001. “Disease Mechanisms Revealed by Transcription Profiling in SOD1-G93A Transgenic Mouse Spinal Cord.” *Annals of Neurology* 50 (6): 730–40. <https://doi.org/10.1002/ana.1252>.
- Olson, Julie K., and Stephen D. Miller. 2004. “Microglia Initiate Central Nervous System Innate and Adaptive Immune Responses through Multiple TLRs.” *The Journal of Immunology* 173 (6): 3916–24. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.6.3916>.
- Olszewska, Diana A., Roisin Lonergan, Emer M. Fallon, and Tim Lynch. 2016a. “Genetics of Frontotemporal Dementia.” *Current Neurology and Neuroscience Reports*. Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11910-016-0707-9>.
- . 2016b. “Genetics of Frontotemporal Dementia.” *Current Neurology and Neuroscience Reports*. Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11910-016-0707-9>.
- Onyike, Chiadi U., and Janine Diehl-Schmid. 2013. “The Epidemiology of Frontotemporal Dementia.” *International Review of Psychiatry* 25 (2): 130–37. <https://doi.org/10.3109/09540261.2013.776523>.
- Orozco, Denise, Sabina Tahirovic, Kristin Rentzsch, Benjamin M Schwenk, Christian Haass, and Dieter Edbauer. 2012. “Loss of Fused in Sarcoma (FUS) Promotes Pathological Tau Splicing.” *EMBO Reports* 13 (8): 759–64. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.90>.
- Orr, Harry T. 2011. “FTD and ALS: Genetic Ties That Bind.” *Neuron*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.10.001>.
- “P62/Sqstm1: The Molecule That Links Autophagy to the Keap1-Nrf2 System.” n.d.
- Pankiv, Serhiy, Terje Høyvarde Clausen, Trond Lamark, Andreas Brech, Jack Ansgar Bruun, Heidi Outzen, Aud Øvervatn, Geir Bjørkøy, and Terje Johansen. 2007. “P62/SQSTM1 Binds Directly to Atg8/LC3 to Facilitate Degradation of Ubiquitinated Protein Aggregates by Autophagy*[S].” *Journal of Biological Chemistry* 282 (33): 24131–45. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702824200>.
- Pansarasa, Orietta, Matteo Bordoni, † Id, Luca Diamanti, Daisy Sproviero, Stella Gagliardi, and Cristina Cereda. 2018. “Molecular Sciences Review SOD1 in Amyotrophic Lateral Sclerosis: ‘Ambivalent’ Behavior Connected to the Disease.” *International Journal of Molecular Science*. <https://doi.org/10.3390/ijms19051345>.
- Panza, Francesco, Madia Lozupone, Davide Seripa, Antonio Daniele, Mark Watling, Gianluigi Giannelli, and Bruno P. Imbimbo. 2020. “Development of Disease-Modifying Drugs for Frontotemporal Dementia Spectrum Disorders.” *Nature*

- Reviews Neurology*. Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0330-x>.
- Paolicelli, Rosa C., Ali Jawaid, Christopher M. Henstridge, Andrea Valeri, Mario Merlini, John L. Robinson, Edward B. Lee, et al. 2017. "TDP-43 Depletion in Microglia Promotes Amyloid Clearance but Also Induces Synapse Loss." *Neuron* 95 (2): 297-308.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.05.037>.
- Papadopoulos, Chrisovalantis, and Hemmo Meyer. 2017. "Detection and Clearance of Damaged Lysosomes by the Endo-Lysosomal Damage Response and Lysophagy." *Current Biology*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.11.012>.
- Pape, Katrin, Ryad Tamouza, Marion Leboyer, and Frauke Zipp. 2019. "Immunoneuropsychiatry — Novel Perspectives on Brain Disorders." *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0174-4>.
- Park, Boyoun, Ludovico Buti, Sungwook Lee, Takashi Matsuwaki, Eric Spooner, Melanie M. Brinkmann, Masugi Nishihara, and Hidde L. Ploegh. 2011. "Granulin Is a Soluble Cofactor for Toll-like Receptor 9 Signaling." *Immunity* 34 (4): 505–13. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.01.018>.
- Parkhurst, Christopher N., Guang Yang, Ipe Ninan, Jeffrey N. Savas, John R. Yates, Juan J. Lafaille, Barbara L. Hempstead, Dan R. Littman, and Wen Biao Gan. 2013. "Microglia Promote Learning-Dependent Synapse Formation through Brain-Derived Neurotrophic Factor." *Cell* 155 (7): 1596–1609. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.030>.
- Patel, Avinash, Hyun O. Lee, Louise Jawerth, Shovamayee Maharana, Marcus Janel, Marco Y. Hein, Stoyno Stoynov, et al. 2015. "A Liquid-to-Solid Phase Transition of the ALS Protein FUS Accelerated by Disease Mutation." *Cell* 162 (5): 1066–77. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.047>.
- Pattamatta, Amrutha, John D. Cleary, and Laura P.W. Ranum. 2018. "All in the Family: Repeats and ALS/FTD." *Trends in Neurosciences*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.03.010>.
- Paushter, Daniel H., Huan Du, Tuancheng Feng, and Fenghua Hu. 2018. "The Lysosomal Function of Progranulin, a Guardian against Neurodegeneration." *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1861-8>.
- Periquet, Magali, Morwena Latouche, Ebba Lohmann, Nina Rawal, Giuseppe De Michele, Sylvain Ricard, Hélio Teive, et al. 2003. "Parkin Mutations Are Frequent in Patients with Isolated Early-Onset Parkinsonism." *Brain* 126 (6): 1271–78. <https://doi.org/10.1093/brain/awg136>.
- Perry, Sarah, Yifu Han, Anushka Das, and Dion Dickman. 2017. "Homeostatic Plasticity Can Be Induced and Expressed to Restore Synaptic Strength at Neuromuscular Junctions Undergoing ALS-Related Degeneration." *Human Molecular Genetics* 26 (21): 4153–67. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx304>.
- Perry, V H, and P B Andersson. 1992. "The Inflammatory Response in the CNS." *Neuropathology and Applied Neurobiology* 18 (5): 454–59. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1992.tb00811.x>.
- Peters, Owen M., Gabriela Toro Cabrera, Helene Tran, Tania F. Gendron, Jeanne E. McKeon, Jake Metterville, Alexandra Weiss, et al. 2015. "Human C9ORF72 Hexanucleotide Expansion Reproduces RNA Foci and Dipeptide Repeat Proteins but Not Neurodegeneration in BAC Transgenic Mice." *Neuron* 88 (5): 902–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.018>.

- Petkau, Terri L., and Blair R. Leavitt. 2014. "Progranulin in Neurodegenerative Disease." *Trends in Neurosciences*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.04.003>.
- Petkau, Terri L., S. J. Neal, P. C. Orban, J. L. MacDonald, A. M. Hill, G. Lu, H. H. Feldman, I. R.A. MacKenzie, and B. R. Leavitt. 2010. "Progranulin Expression in the Developing and Adult Murine Brain." *Journal of Comparative Neurology* 518 (19): 3931–47. <https://doi.org/10.1002/cne.22430>.
- Petkau, Terri L., Scott J. Neal, Austen Milnerwood, Ada Mew, Austin M. Hill, Paul Orban, Jenny Gregg, et al. 2012. "Synaptic Dysfunction in Progranulin-Deficient Mice." *Neurobiology of Disease* 45 (2): 711–22. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.016>.
- Pick, A. 1906. "Über Einen Weiteren Symptomenkomplex Im Rahmen Der Dementia Senilis, Bedingt Durch Umschriebene Stärkere Hirnatrophie (Gemischte Apraxie)." *European Neurology* 19 (2): 97–108. <https://doi.org/10.1159/000213372>.
- Pick, Prof. 1892. "Über Die Beziehungen Der Senilen Hirnatrophie Zur Aphasie. Prager Medicinische Wochenschrift 1," ;17:165–7.
- Pickering-Brown, S M, A. M.T. Richardson, J S Snowden, A. M. McDonagh, A Burns, W Braude, M Baker, et al. 2002. "Inherited Frontotemporal Dementia in Nine British Families Associated with Intronic Mutations in the Tau Gene." *Brain* 125 (4): 732–51. <https://doi.org/10.1093/brain/awf069>.
- Piñol-Roma, Serafm, and Gideon Dreyfuss. 1992. "Shuttling of Pre-mRNA Binding Proteins between Nucleus and Cytoplasm." *Nature* 355 (6362): 730–32. <https://doi.org/10.1038/355730a0>.
- Polymenidou, Magdalini, Clotilde Lagier-Tourenne, Kasey R. Hutt, Stephanie C. Huelga, Jacqueline Moran, Tiffany Y. Liang, Shuo Chien Ling, et al. 2011a. "Long Pre-mRNA Depletion and RNA Missplicing Contribute to Neuronal Vulnerability from Loss of TDP-43." *Nature Neuroscience* 14 (4): 459–68. <https://doi.org/10.1038/nn.2779>.
- . 2011b. "Long Pre-mRNA Depletion and RNA Missplicing Contribute to Neuronal Vulnerability from Loss of TDP-43." *Nature Neuroscience* 14 (4): 459–68. <https://doi.org/10.1038/nn.2779>.
- Poorkaj, Parvoneh, Thomas D. Bird, Ellen Wijsman, Ellen Nemens, Ralph M. Garruto, Leojean Anderson, Athena Andreadis, Wigbert C. Wiederholt, Murray Raskind, and Gerard D. Schellenberg. 1998. "Tau Is a Candidate Gene for Chromosome 17 Frontotemporal Dementia." *Annals of Neurology* 43 (6): 815–25. <https://doi.org/10.1002/ana.410430617>.
- Pramatarova, Albéna, Janet Laganière, Julie Roussel, Katéri Brisebois, and Guy A. Rouleau. 2001. "Neuron-Specific Expression of Mutant Superoxide Dismutase 1 in Transgenic Mice Does Not Lead to Motor Impairment." *Journal of Neuroscience* 21 (10): 3369–74. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-10-03369.2001>.
- Prasad, Archana, Vidhya Bharathi, Vishwanath Sivalingam, Amandeep Girdhar, and Basant K. Patel. 2019. "Molecular Mechanisms of TDP-43 Misfolding and Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00025>.
- Presta, Ivan, Marco Vismara, Fabiana Novellino, Annalidia Donato, Paolo Zaffino, Elisabetta Scali, Krizia Caterina Pirrone, Maria Francesca Spadea, Natalia Malara, and Giuseppe Donato. 2018. "Innate Immunity Cells and the Neurovascular Unit." *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG.

- <https://doi.org/10.3390/ijms19123856>.
- Prudlo, J. 2009. “[TDP-43 proteinopathies: ALS and frontotemporal dementias].” *Fortschritte Der Neurologie-Psychiatrie* 77 Suppl 1: S25-27. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1109602>.
- Puga, Irene, Montserrat Cols, Carolina M. Barra, Bing He, Linda Cassis, Maurizio Gentile, Laura Comerma, et al. 2012. “B Cell-Helper Neutrophils Stimulate the Diversification and Production of Immunoglobulin in the Marginal Zone of the Spleen.” *Nature Immunology* 13 (2): 170–80. <https://doi.org/10.1038/ni.2194>.
- Q, Mao, Zheng X, Gefen T, Rogalski E, Spencer CL, Rademakers R, Fought AJ, et al. 2019. “FTLD-TDP With and Without GRN Mutations Cause Different Patterns of CA1 Pathology.” *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 78 (9). <https://doi.org/10.1093/JNEN/NLZ059>.
- Qiao, Xiaoxi, David J. Cummins, and Steven M. Paul. 2001. “Neuroinflammation-Induced Acceleration of Amyloid Deposition in the APPV717F Transgenic Mouse.” *European Journal of Neuroscience* 14 (3): 474–82. <https://doi.org/10.1046/j.0953-816X.2001.01666.x>.
- Qiu, Haiyan, Sebum Lee, Yulei Shang, Wen Yuan Wang, Kin Fai Au, Sherry Kamiya, Sami J. Barmada, et al. 2014. “ALS-Associated Mutation FUS-R521C Causes DNA Damage and RNA Splicing Defects.” *Journal of Clinical Investigation* 124 (3): 981–99. <https://doi.org/10.1172/JCI72723>.
- Quadri, Marialuisa, Giovanni Cossu, Valeria Saggi, Erik J. Simons, Daniela Murgia, Maurizio Melis, Anna Ticca, Ben A. Oostra, and Vincenzo Bonifati. 2011. “Broadening the Phenotype of TARDBP Mutations: The TARDBP Ala382Thr Mutation and Parkinson’s Disease in Sardinia.” *Neurogenetics* 12 (3): 203–9. <https://doi.org/10.1007/s10048-011-0288-3>.
- Rademakers, R., M. Cruts, and C. Van Broeckhoven. 2004. “The Role of Tau (MAPT) in Frontotemporal Dementia and Related Tauopathies.” *Human Mutation*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/humu.20086>.
- Ragagnin, Audrey M.G., Sina Shadfar, Marta Vidal, Md Shafi Jamali, and Julie D. Atkin. 2019. “Motor Neuron Susceptibility in ALS/FTD.” *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00532>.
- Rage, Florence, Délégation Languedoc Roussillon, Gabriele Fuchs, Maria Paola Paronetto, Min Jeong Kye, and Maximilian Paul Thelen. 2020. “Article 161 Thelen MP and Kye MJ (2020) The Role of RNA Binding Proteins for Local mRNA Translation: Implications in Neurological Disorders.” *Front. Mol. Biosci* 6: 161. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00161>.
- Rajendran, Lawrence, Masanori Honsho, Tobias R. Zahn, Patrick Keller, Kathrin D. Geiger, Paul Verkade, and Kai Simons. 2006. “Alzheimer’s Disease β -Amyloid Peptides Are Released in Association with Exosomes.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (30): 11172–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603838103>.
- Ramaswami, Mani, J. Paul Taylor, and Roy Parker. 2013. “Altered Ribostasis: RNA-Protein Granules in Degenerative Disorders.” *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.038>.
- Ramón y Cajal. 1913. “Contribución Al Conocimiento de La Neuroglía Del Cerebro Humano. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid.”
- Ransohoff, Richard M. 2016. “A Polarizing Question: Do M1 and M2 Microglia Exist.” *Nature Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nn.4338>.
- Ransohoff, Richard M, and Melissa A Brown. 2012. “Innate Immunity in the Central Nervous System.” *The Journal of Clinical Investigation* 122 (4): 1164–71.

- <https://doi.org/10.1172/JCI58644>.
- Ransohoff, Richard M, and V Hugh Perry. 2009. "Microglial Physiology: Unique Stimuli, Specialized Responses." *Annual Review of Immunology* 27: 119–45. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132528>.
- Raposo, Graça, and Willem Stoorvogel. 2013. "Extracellular Vesicles: Exosomes, Microvesicles, and Friends." *Journal of Cell Biology*. The Rockefeller University Press. <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>.
- Rascovsky, Katya, John R Hodges, David Knopman, Mario F Mendez, Joel H Kramer, John Neuhaus, John C Van Swieten, et al. 2011. "Sensitivity of Revised Diagnostic Criteria for the Behavioural Variant of Frontotemporal Dementia." *Brain* 134 (9): 2456–77. <https://doi.org/10.1093/brain/awr179>.
- Rathinam, Vijay A.K., and Francis Ka Ming Chan. 2018. "Inflammasome, Inflammation, and Tissue Homeostasis." *Trends in Molecular Medicine*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.01.004>.
- Ravanidis, Stylianos, and Epaminondas Doxakis. 2020. "RNA-Binding Proteins Implicated in Mitochondrial Damage and Mitophagy." *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00372>.
- Ravits, John, Piper Paul, and Cathy Jorg. 2007. "Focality of Upper and Lower Motor Neuron Degeneration at the Clinical Onset of ALS." *Neurology* 68 (19): 1571–75. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000260965.20021.47>.
- Rayaprolu, Sruti, Bianca Mullen, Matt Baker, Timothy Lynch, Elizabeth Finger, William W. Seeley, Kimmo J. Hatanpaa, et al. 2013. "TREM2 in Neurodegeneration: Evidence for Association of the p.R47H Variant with Frontotemporal Dementia and Parkinson's Disease." *Molecular Neurodegeneration* 8 (1): 19. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-19>.
- Reaume, Andrew G., Jeffrey L. Elliott, Eric K. Hoffman, Neil W. Kowall, Robert J. Ferrante, Donald F. Siwek, Heide M. Wilcox, et al. 1996. "Motor Neurons in Cu/Zn Superoxide Dismutase-Deficient Mice Develop Normally but Exhibit Enhanced Cell Death after Axonal Injury." *Nature Genetics* 13 (1): 43–47. <https://doi.org/10.1038/ng0596-43>.
- Reed-Geaghan, E. G., J. C. Savage, A. G. Hise, and G. E. Landreth. 2009. "CD14 and Toll-Like Receptors 2 and 4 Are Required for Fibrillar A β -Stimulated Microglial Activation." *Journal of Neuroscience* 29 (38): 11982–92. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3158-09.2009>.
- Reed-Geaghan, Erin G., Julie C. Savage, Amy G. Hise, and Gary E. Landreth. 2009. "CD14 and Toll-like Receptors 2 and 4 Are Required for Fibrillar A β -Stimulated Microglial Activation." *Journal of Neuroscience* 29 (38): 11982–92. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3158-09.2009>.
- Ren, Ke, and Richard Torres. 2009. "Role of Interleukin-1 β during Pain and Inflammation." *Brain Research Reviews*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.020>.
- Renton, Alan E., Elisa Majounie, Adrian Waite, Javier Simón-Sánchez, Sara Rollinson, J. Raphael Gibbs, Jennifer C. Schymick, et al. 2011. "A Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72 Is the Cause of Chromosome 9p21-Linked ALS-FTD." *Neuron* 72 (2): 257–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.010>.
- Réu, Pedro, Azadeh Khosravi, Samuel Bernard, Jeff E. Mold, Mehran Salehpour, Kanar Alkass, Shira Perl, et al. 2017. "The Lifespan and Turnover of Microglia in the Human Brain." *Cell Reports* 20 (4): 779–84.

- <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.004>.
- Rezaie, Payam, and David Male. 2002. "Mesoglia and Microglia - A Historical Review of the Concept of Mononuclear Phagocytes within the Central Nervous System." *Journal of the History of the Neurosciences*. J Hist Neurosci. <https://doi.org/10.1076/jhin.11.4.325.8531>.
- Rhein, Virginie, Xiaomin Song, Andreas Wiesner, Lars M. Ittner, Ginette Baysang, Fides Meier, Laurence Ozmen, et al. 2009. "Amyloid- β and Tau Synergistically Impair the Oxidative Phosphorylation System in Triple Transgenic Alzheimer's Disease Mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (47): 20057–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905529106>.
- Rich, J. B., D. X. Rasmusson, M. F. Folstein, K. A. Carson, C. Kawas, and J. Brandt. 1995. "Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Alzheimer's Disease." *Neurology* 45 (1): 51–55. <https://doi.org/10.1212/WNL.45.1.51>.
- Rigato, C., R. Buckinx, H. Le-Corronc, J. M. Rigo, and P. Legendre. 2011. "Pattern of Invasion of the Embryonic Mouse Spinal Cord by Microglial Cells at the Time of the Onset of Functional Neuronal Networks." *GLIA* 59 (4): 675–95. <https://doi.org/10.1002/glia.21140>.
- Rio-Hortega D. 1939. "The Microglia." *Lancet*.
- Ritson, Gillian P., Sara K. Custer, Brian D. Freibaum, Jake B. Guinto, Dyanna Geffel, Jennifer Moore, Waixing Tang, et al. 2010. "TDP-43 Mediates Degeneration in a Novel Drosophila Model of Disease Caused by Mutations in VCP/P97." *Journal of Neuroscience* 30 (22): 7729–39. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5894-09.2010>.
- Rizzu, Patrizia, Cornelis Blauwendraat, Sasja Heetveld, Emily M. Lynes, Melissa Castillo-Lizardo, Ashutosh Dhingra, Elwira Pyz, et al. 2016a. "C9orf72 Is Differentially Expressed in the Central Nervous System and Myeloid Cells and Consistently Reduced in C9orf72, MAPT and GRN Mutation Carriers." *Acta Neuropathologica Communications* 4 (1): 37. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0306-7>.
- . 2016b. "C9orf72 Is Differentially Expressed in the Central Nervous System and Myeloid Cells and Consistently Reduced in C9orf72, MAPT and GRN Mutation Carriers." *Acta Neuropathologica Communications* 4 (1): 37. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0306-7>.
- Roberson, Erik D., Anthony J. Filiano, Lauren Herl Martens, Allen H. Young, Brian A. Warmus, Ping Zhou, Grisell Diaz-Ramirez, et al. 2013. "Dissociation of Frontotemporal Dementia-Related Deficits and Neuroinflammation in Progranulin Haploinsufficient Mice." *Annals of Internal Medicine* 158 (6): 5352–62. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6103-11.2013>.
- Robinson, Hannah K., Alexey V. Deykin, Evgeny V. Bronovitsky, Ruslan K. Ovchinnikov, Alexey A. Ustyugov, Tatyana A. Shelkownikova, Michail S. Kukharsky, et al. 2015. "Early Lethality and Neuronal Proteinopathy in Mice Expressing Cytoplasm-Targeted FUS That Lacks the RNA Recognition Motif." *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 16 (5–6): 402–9. <https://doi.org/10.3109/21678421.2015.1040994>.
- Rodríguez-Arellano, J. J., V. Parpura, R. Zorec, and A. Verkhratsky. 2016. "Astrocytes in Physiological Aging and Alzheimer's Disease." *Neuroscience*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.01.007>.
- Rodríguez-Martín, Teresa, Inmaculada Cuchillo-Ibáñez, Wendy Noble, Fanon Nyenya, Brian H. Anderton, and Diane P. Hanger. 2013. "Tau Phosphorylation

- Affects Its Axonal Transport and Degradation." *Neurobiology of Aging* 34 (9): 2146–57. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.03.015>.
- Rogers, Joseph, Judith Lubner-Narod, Scot D. Styren, and W. Harold Civin. 1988. "Expression of Immune System-Associated Antigens by Cells of the Human Central Nervous System: Relationship to the Pathology of Alzheimer's Disease." *Neurobiology of Aging* 9 (C): 339–49. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(88\)80079-4](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(88)80079-4).
- Rogers, Joseph, Ron Strohmeyer, C. J. Kovelowski, and Rena Li. 2002. "Microglia and Inflammatory Mechanisms in the Clearance of Amyloid β Peptide." *GLIA*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/glia.10153>.
- Rogers, Robert S., Sudheer Tungtur, Tomohiro Tanaka, Lisa L. Nadeau, Yomna Badawi, Hua Wang, Hong Min Ni, Wen Xing Ding, and Hiroshi Nishimune. 2017. "Impaired Mitophagy Plays a Role in Denervation of Neuromuscular Junctions in ALS Mice." *Frontiers in Neuroscience* 11 (AUG): 473. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00473>.
- Rohrer, Jonathan D., R. Laila Ahsan, Adrian M. Isaacs, Jorgen E. Nielsen, Leif Ostergaard, Rachael Scahill, Jason D. Warren, Martin N. Rossor, Nick C. Fox, and Peter Johannsen. 2009. "Presymptomatic Generalized Brain Atrophy in Frontotemporal Dementia Caused by CHMP2B Mutation." *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 27 (2): 182–86. <https://doi.org/10.1159/000200466>.
- Rohrer, Jonathan D., Gerard R. Ridgway, Marc Modat, Sebastien Ourselin, Simon Mead, Nick C. Fox, Martin N. Rossor, and Jason D. Warren. 2010. "Distinct Profiles of Brain Atrophy in Frontotemporal Lobar Degeneration Caused by Progranulin and Tau Mutations." *NeuroImage* 53 (3): 1070–76. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.088>.
- Romano, Maurizio, Emanuele Buratti, Giulia Romano, Raffaella Klima, Lisa Del Bel Belluz, Cristiana Stuani, Francisco Baralle, and Fabian Feiguin. 2014. "Evolutionarily Conserved Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein (HnRNP) A/B Proteins Functionally Interact with Human and Drosophila Tar DNA-Binding Protein 43 (TDP-43)." *Journal of Biological Chemistry* 289 (10): 7121–30. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.548859>.
- Rosen, Daniel R., Teepu Siddique, David Patterson, Denise A. Figlewicz, Peter Sapp, Afif Hentati, Deirdre Donaldson, et al. 1993a. "Mutations in Cu/Zn Superoxide Dismutase Gene Are Associated with Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature* 362 (6415): 59–62. <https://doi.org/10.1038/362059a0>.
- . 1993b. "Mutations in Cu/Zn Superoxide Dismutase Gene Are Associated with Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature* 362 (6415): 59–62. <https://doi.org/10.1038/362059a0>.
- Rothstein, Jeffrey D. 2009. "Current Hypotheses for the Underlying Biology of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Annals of Neurology* 65 (S1): S3–9. <https://doi.org/10.1002/ana.21543>.
- Rothstein, Jeffrey D., Margaret Dykes-Hoberg, Carlos A. Pardo, Lynn A. Bristol, Lin Jin, Ralph W. Kuncl, Yoshikatsu Kanai, et al. 1996. "Knockout of Glutamate Transporters Reveals a Major Role for Astroglial Transport in Excitotoxicity and Clearance of Glutamate." *Neuron* 16 (3): 675–86. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80086-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80086-0).
- Rothstein, Jeffrey D., Marleen Van Kammen, Allan I. Levey, Lee J. Martin, and Ralph W. Kuncl. 1995. "Selective Loss of Glial Glutamate Transporter GLT-1 in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Annals of Neurology* 38 (1): 73–84. <https://doi.org/10.1002/ana.410380114>.

- Rubino, Elisa, Innocenzo Rainero, Adriano Chiò, Ekaterina Rogaeva, Daniela Galimberti, Pierpaola Fenoglio, Yakov Grinberg, et al. 2012. "SQSTM1 Mutations in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Neurology* 79 (15): 1556–62. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31826e25df>.
- Rueggsegger, Céline, and Smita Saxena. 2016. "Proteostasis Impairment in ALS." *Brain Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.03.032>.
- Ryan, Cara L., David C. Baranowski, Babykumari P. Chitramuthu, Suneil Malik, Zhi Li, Mingju Cao, Sandra Minotti, et al. 2009a. "Progranulin Is Expressed within Motor Neurons and Promotes Neuronal Cell Survival." *BMC Neuroscience* 10 (October): 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-130>.
- . 2009b. "Progranulin Is Expressed within Motor Neurons and Promotes Neuronal Cell Survival." *BMC Neuroscience* 10 (October): 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-130>.
- Saberi, Shahram, Jennifer E. Stauffer, Jie Jiang, Sandra Diaz Garcia, Amy E. Taylor, Derek Schulte, Takuya Ohkubo, et al. 2018. "Sense-Encoded Poly-GR Dipeptide Repeat Proteins Correlate to Neurodegeneration and Uniquely Co-Localize with TDP-43 in Dendrites of Repeat-Expanded C9orf72 Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Acta Neuropathologica* 135 (3): 459–74. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1793-8>.
- Saberi, Shahram, Jennifer E. Stauffer, Derek J. Schulte, and John Ravits. 2015. "Neuropathology of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Its Variants." *Neurologic Clinics*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2015.07.012>.
- Sakae, Nobutaka, Kevin F. Bieniek, Yong Jie Zhang, Kelly Ross, Tania F. Gendron, Melissa E. Murray, Rosa Rademakers, Leonard Petrucelli, and Dennis W. Dickson. 2018. "Poly-GR Dipeptide Repeat Polymers Correlate with Neurodegeneration and Clinicopathological Subtypes in C9ORF72-Related Brain Disease." *Acta Neuropathologica Communications* 6 (1): 63. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0564-7>.
- Sama, Reddy R.anjith Kumar, Catherine L. Ward, and Daryl A. Bosco. 2014. "Functions of FUS/TLS from DNA Repair to Stress Response: Implications for ALS." *ASN Neuro*. SAGE Publications. <https://doi.org/10.1177/1759091414544472>.
- Saracino, Dario, Fabienne Clot, Agnès Camuzat, Vincent Anquetil, Didier Hannequin, Lucie Guyant-Maréchal, Mira Didic, et al. 2018. "Novel VCP Mutations Expand the Mutational Spectrum of Frontotemporal Dementia." *Neurobiology of Aging* 72 (December): 187.e11-187.e14. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.037>.
- Sareen, Dhruv, Jacqueline G. O'Rourke, Pratap Meera, A. K.M.G. Muhammad, Sharday Grant, Megan Simpkinson, Shaughn Bell, et al. 2013. "Targeting RNA Foci in iPSC-Derived Motor Neurons from ALS Patients with a C9ORF72 Repeat Expansion." *Science Translational Medicine* 5 (208). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007529>.
- Sargsyan, Siranush A., Daniel J. Blackburn, Sign C. Barber, Peter N. Monk, and Pamela J. Shaw. 2009. "Mutant SOD1 G93A Microglia Have an Inflammatory Phenotype and Elevated Production of MCP-1." *NeuroReport* 20 (16): 1450–55. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328331e8fa>.
- Sasaki, Shoichi, Y. Ohsawa, K. Yamane, H. Sakuma, N. Shibata, R. Nakano, K. Kikugawa, T. Mizutani, S. Tsuji, and M. Iwata. 1998. "Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis with Widespread Vacuolation and Hyaline Inclusions." *Neurology* 51 (3): 871–73. <https://doi.org/10.1212/WNL.51.3.871>.

- Sasayama, Hiroshi, Mai Shimamura, Takahiko Tokuda, Yumiko Azuma, Tomokatsu Yoshida, Toshiki Mizuno, Masanori Nakagawa, Nobuhiro Fujikake, Yoshitaka Nagai, and Masamitsu Yamaguchi. 2012. "Knockdown of the Drosophila Fused in Sarcoma (FUS) Homologue Causes Deficient Locomotive Behavior and Shortening of Motoneuron Terminal Branches." Edited by Koichi M. Iijima. *PLoS ONE* 7 (6): e39483. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039483>.
- Satoh, Jun-ichi. 2018. "Gene Expression Profiles of M1 and M2 Microglia Characterized by Comparative Analysis of Public Datasets." *Clinical and Experimental Neuroimmunology* 9 (2): 124–38. <https://doi.org/10.1111/cen3.12426>.
- Sborgi, Lorenzo, Francesco Ravotti, Venkata P. Dandey, Mathias S. Dick, Adam Mazur, Sina Reckel, Mohamed Chami, et al. 2015. "Structure and Assembly of the Mouse ASC Inflammasome by Combined NMR Spectroscopy and Cryo-Electron Microscopy." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (43): 13237–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507579112>.
- Scekic-Zahirovic, Jelena, Oliver Sendscheid, Hajer El Oussini, Mélanie Jambeau, Ying Sun, Sina Mersmann, Marina Wagner, et al. 2016. "Toxic Gain of Function from Mutant FUS Protein Is Crucial to Trigger Cell Autonomous Motor Neuron Loss." *The EMBO Journal* 35 (10): 1077–97. <https://doi.org/10.15252/embj.201592559>.
- Schafer, Dorothy P., Emily K. Lehrman, Amanda G. Kautzman, Ryuta Koyama, Alan R. Mardinly, Ryo Yamasaki, Richard M. Ransohoff, Michael E. Greenberg, Ben A. Barres, and Beth Stevens. 2012. "Microglia Sculpt Postnatal Neural Circuits in an Activity and Complement-Dependent Manner." *Neuron* 74 (4): 691–705. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.026>.
- Scheiblich, Hannah, Anna Schlütter, Douglas T. Golenbock, Eicke Latz, Pilar Martinez-Martinez, and Michael T. Heneka. 2017. "Activation of the NLRP3 Inflammasome in Microglia: The Role of Ceramide." *Journal of Neurochemistry* 143 (5): 534–50. <https://doi.org/10.1111/jnc.14225>.
- Schetters, Sjoerd T.T., Diego Gomez-Nicola, Juan J. Garcia-Vallejo, and Yvette Van Kooyk. 2018. "Neuroinflammation: Microglia and T Cells Get Ready to Tango." *Frontiers in Immunology* 8 (JAN): 25. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01905>.
- Schludi, Martin H., Lore Becker, Lillian Garrett, Tania F. Gendron, Qihui Zhou, Franziska Schreiber, Bastian Popper, et al. 2017. "Spinal Poly-GA Inclusions in a C9orf72 Mouse Model Trigger Motor Deficits and Inflammation without Neuron Loss." *Acta Neuropathologica* 134 (2): 241–54. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1711-0>.
- Schludi, Martin H., Stephanie May, Friedrich A. Grässer, Kristin Rentzsch, Elisabeth Kremmer, Clemens Küpper, Thomas Klopstock, et al. 2015. "Distribution of Dipeptide Repeat Proteins in Cellular Models and C9orf72 Mutation Cases Suggests Link to Transcriptional Silencing." *Acta Neuropathologica* 130 (4): 537–55. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1450-z>.
- Schnaars, Mareike, Hannes Beckert, and Annett Halle. 2013. "Assessing β -Amyloid-Induced NLRP3 Inflammasome Activation in Primary Microglia." In *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1040:1–8. *Methods Mol Biol*. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-523-1_1.
- Schuitmaker, Alie, Marc A Kropholler, Ronald Boellaard, Wiesje M van der Flier, Reina W Kloet, Thalia F van der Doef, Dirk L Knol, et al. 2013. "Microglial Activation in Alzheimer's Disease: An (R)-[^{11}C]PK11195 Positron Emission

- Tomography Study." *Neurobiology of Aging* 34 (1): 128–36.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.04.021>.
- "Sclérose Latérale Amyotrophique (Maladie de Charcot) - Qu'est-Ce Que c'est ? - Fiches Santé et Conseils Médicaux." n.d. Accessed June 10, 2020.
<https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/sclerose-laterale-amyotrophique/quest-ce-que-cest>.
- Seetharaman, Sai V., Mercedes Prudencio, Celeste Karch, Stephen P. Holloway, David R. Borchelt, and P. John Hart. 2009. "Immature Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Experimental Biology and Medicine*. <https://doi.org/10.3181/0903-MR-104>.
- Sellgren, C. M., S. D. Sheridan, J. Gracias, D. Xuan, T. Fu, and R. H. Perlis. 2017. "Patient-Specific Models of Microglia-Mediated Engulfment of Synapses and Neural Progenitors." *Molecular Psychiatry* 22 (2): 170–77.
<https://doi.org/10.1038/mp.2016.220>.
- Sellier, Chantal, Maria-Letizia Campanari, Camille Julie Corbier, Angeline Gaucherot, Isabelle Kolb-Cheynel, Mustapha Oulad-Abdelghani, Frank Ruffenach, et al. 2016a. "Loss of C9 ORF 72 Impairs Autophagy and Synergizes with PolyQ Ataxin-2 to Induce Motor Neuron Dysfunction and Cell Death ." *The EMBO Journal* 35 (12): 1276–97. <https://doi.org/10.15252/embj.201593350>.
- . 2016b. "Loss of C9 ORF 72 Impairs Autophagy and Synergizes with PolyQ Ataxin-2 to Induce Motor Neuron Dysfunction and Cell Death ." *The EMBO Journal* 35 (12): 1276–97. <https://doi.org/10.15252/embj.201593350>.
- Selvaraj, Bhuvaneish T., Matthew R. Livesey, Chen Zhao, Jenna M. Gregory, Owain T. James, Elaine M. Cleary, Amit K. Chouhan, et al. 2018. "C9ORF72 Repeat Expansion Causes Vulnerability of Motor Neurons to Ca²⁺-Permeable AMPA Receptor-Mediated Excitotoxicity." *Nature Communications* 9 (1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-02729-0>.
- Sephton, Chantelle F., and Gang Yu. 2015. "The Function of RNA-Binding Proteins at the Synapse: Implications for Neurodegeneration." *Cellular and Molecular Life Sciences*. Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-1943-x>.
- Sephtona, Chantelle F., Amy A. Tangc, Ashwinikumar Kulkarnia, James Westa, Mieu Brooksa, Jeremy J. Stubblefielda, Yun Liua, et al. 2014. "Activity-Dependent FUS Dysregulation Disrupts." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (44): E4769–78.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1406162111>.
- Sgobio, C., A. Trabalza, A. Spalloni, C. Zona, I. Carunchio, P. Longone, and M. Ammassari-Teule. 2008. "Abnormal Medial Prefrontal Cortex Connectivity and Defective Fear Extinction in the Presymptomatic G93A SOD1 Mouse Model of ALS." *Genes, Brain and Behavior* 7 (4): 427–34. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00367.x>.
- Sha, Sharon J., Leonel T. Takada, Katherine P. Rankin, Jennifer S. Yokoyama, Nicola J. Rutherford, Jamie C. Fong, Baber Khan, et al. 2012. "Frontotemporal Dementia Due To C9ORF72 Mutations Clinical and Imaging Features." *Neurology* 79 (10): 1002–11. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318268452e>.
- Shamaa, Obada R., Srabani Mitra, Mikhail A. Gavrilin, and Mark D. Wewers. 2015. "Monocyte Caspase-1 Is Released in a Stable, Active High Molecular Weight Complex Distinct from the Unstable Cell Lysate-Activated Caspase-1." *PLoS ONE* 10 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142203>.
- Shan, Xiu, Po Min Chiang, Donald L. Price, and Philip C. Wong. 2010. "Altered Distributions of Gemini of Coiled Bodies and Mitochondria in Motor Neurons of

- TDP-43 Transgenic Mice.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (37): 16325–30.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1003459107>.
- Sharma, Aarti, Alexander K. Lyashchenko, Lei Lu, Sara Ebrahimi Nasrabady, Margot Elmaleh, Monica Mendelsohn, Adriana Nemes, Juan Carlos Tapia, George Z. Mentis, and Neil A. Shneider. 2016. “ALS-Associated Mutant FUS Induces Selective Motor Neuron Degeneration through Toxic Gain of Function.” *Nature Communications* 7 (February). <https://doi.org/10.1038/ncomms10465>.
- Shaw, Christopher E., Ammar Al-Chalabi, and Nigel Leigh. 2001. “Progress in the Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Current Neurology and Neuroscience Reports*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11910-001-0078-7>.
- Sheedy, Frederick J., Alena Grebe, Katey J. Rayner, Parisa Kalantari, Bhama Ramkhelawon, Susan B. Carpenter, Christine E. Becker, et al. 2013. “CD36 Coordinates NLRP3 Inflammasome Activation by Facilitating Intracellular Nucleation of Soluble Ligands into Particulate Ligands in Sterile Inflammation.” *Nature Immunology* 14 (8): 812–20. <https://doi.org/10.1038/ni.2639>.
- Shelkovernikova, Tatyana A., Owen M. Peters, Alexey V. Deykin, Natalie Connor-Robson, Hannah Robinson, Alexey A. Ustyugov, Sergey O. Bachurin, et al. 2013. “Fused in Sarcoma (FUS) Protein Lacking Nuclear Localization Signal (NLS) and Major RNA Binding Motifs Triggers Proteinopathy and Severe Motor Phenotype in Transgenic Mice.” *Journal of Biological Chemistry* 288 (35): 25266–74. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.492017>.
- Shi, Chong Shan, Kevin Shenderov, Ning Na Huang, Juraj Kabat, Mones Abu-Asab, Katherine A. Fitzgerald, Alan Sher, and John H. Kehrl. 2012. “Activation of Autophagy by Inflammatory Signals Limits IL-1 β Production by Targeting Ubiquitinated Inflammasomes for Destruction.” *Nature Immunology* 13 (3): 255–63. <https://doi.org/10.1038/ni.2215>.
- Shi, Jian Hong, Xiaoping Xie, and Shao Cong Sun. 2018. “TBK1 as a Regulator of Autoimmunity and Antitumor Immunity.” *Cellular and Molecular Immunology* 15 (8): 743–45. <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.165>.
- Shi, Yingxiao, Shaoyu Lin, Kim A. Staats, Yichen Li, Wen Hsuan Chang, Shu Ting Hung, Eric Hendricks, et al. 2018. “Haploinsufficiency Leads to Neurodegeneration in C9ORF72 ALS/FTD Human Induced Motor Neurons.” *Nature Medicine* 24 (3): 313–25. <https://doi.org/10.1038/nm.4490>.
- Shigemoto-Mogami, Yukari, Kazue Hoshikawa, and Kaoru Sato. 2018. “Activated Microglia Disrupt the Blood-Brain Barrier and Induce Chemokines and Cytokines in a Rat in Vitro Model.” *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12 (December): 494. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00494>.
- Shihashi, Gen, Daisuke Ito, Itaru Arai, Yuki Kobayashi, Kanehiro Hayashi, Shintaro Otsuka, Kazunori Nakajima, Michisuke Yuzaki, Shigeyoshi Itohara, and Norihiro Suzuki. 2017. “Dendritic Homeostasis Disruption in a Novel Frontotemporal Dementia Mouse Model Expressing Cytoplasmic Fused in Sarcoma.” *EBioMedicine* 24 (October): 102–15.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.005>.
- Sidoryk-Wegrzynowicz, Marta, Yannick N. Gerber, Miriam Ries, Magdalena Sastre, Aviva M. Tolkovsky, and Maria Grazia Spillantini. 2017. “Astrocytes in Mouse Models of Tauopathies Acquire Early Deficits and Lose Neurosupportive Functions.” *Acta Neuropathologica Communications* 5 (1): 89.
<https://doi.org/10.1186/s40478-017-0478-9>.
- Sierksma, Annerieke, Ashley Lu, Renzo Mancuso, Nicola Fattorelli, Nicola Thrupp,

- Evgenia Salta, Jesus Zoco, et al. 2020. "Novel Alzheimer Risk Genes Determine the Microglia Response to Amyloid- β but Not to TAU Pathology." *EMBO Molecular Medicine* 12 (3). <https://doi.org/10.15252/emmm.201910606>.
- Silverman, Judith M, Darren Christy, Chih Cheih Shyu, Kyung-Mee Moon, Sarah Fernando, Zoe Gidden, Catherine M Cowan, et al. 2019. "CNS-Derived Extracellular Vesicles from Superoxide Dismutase 1 (SOD1) G93A ALS Mice Originate from Astrocytes and Neurons and Carry Misfolded SOD1." *J. Biol. Chem* 294 (10): 3744–59. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004825>.
- Simmons, Martha L., and Sean Murphy. 1992. "Induction of Nitric Oxide Synthase in Glial Cells." *Journal of Neurochemistry* 59 (3): 897–905. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb08328.x>.
- Sjögren, M, S Folkesson, and K Blennow. 2004. "Increased Intrathecal Inflammatory Activity in Frontotemporal Dementia: Pathophysiological Implications." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 1107–11. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.019422>.
- Skibinski, Gaia, Nicholas J. Parkinson, Jeremy M. Brown, Lisa Chakrabarti, Sarah L. Lloyd, Holger Hummerich, Jørgen E. Nielsen, et al. 2005. "Mutations in the Endosomal ESCRTIII-Complex Subunit CHMP2B in Frontotemporal Dementia." *Nature Genetics* 37 (8): 806–8. <https://doi.org/10.1038/ng1609>.
- Sleigh, James N., Alexander M. Rossor, Alexander D. Fellows, Andrew P. Tosolini, and Giampietro Schiavo. 2019. "Axonal Transport and Neurological Disease." *Nature Reviews Neurology*. Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0257-2>.
- Smethurst, Phillip, Jia Newcombe, Claire Troakes, Roberto Simone, Yun Ru Chen, Rickie Patani, and Katie Sidle. 2016. "In Vitro Prion-like Behaviour of TDP-43 in ALS." *Neurobiology of Disease* 96 (December): 236–47. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.08.007>.
- Smith, Katherine R., John Damiano, Silvana Franceschetti, Stirling Carpenter, Laura Canafoglia, Michela Morbin, Giacomina Rossi, et al. 2012. "Strikingly Different Clinicopathological Phenotypes Determined by Progranulin-Mutation Dosage." *American Journal of Human Genetics* 90 (6): 1102–7. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.04.021>.
- Snowden, Julie S., Jennifer Adams, Jennifer Harris, Jennifer C. Thompson, Sara Rollinson, Anna Richardson, Matthew Jones, David Neary, David M. Mann, and Stuart Pickering-Brown. 2015. "Distinct Clinical and Pathological Phenotypes in Frontotemporal Dementia Associated with MAPT, PGRN and C9orf72 Mutations." *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 16 (7–8): 497–505. <https://doi.org/10.3109/21678421.2015.1074700>.
- Sobue, Gen, Luke Mcalary, J Paul Taylor, and Maria D Purice. 2018. "Linking HnRNP Function to ALS and FTD Pathology." *Frontiers in Neuroscience | Www.Frontiersin.Org* 1: 326. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00326>.
- Soo, K. Y., J. Sultana, Ae King, Rak Atkinson, S. T. Warraich, V. Sundaramoorthy, I. Blair, M. A. Farg, and J. D. Atkin. 2015. "ALS-Associated Mutant FUS Inhibits Macroautophagy Which Is Restored by Overexpression of Rab1." *Cell Death Discovery* 1 (1). <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2015.30>.
- Spalloni, A, N Origlia, C Sgobio, A Trabalza, M Nutini, N Berretta, G Bernardi, L Domenici, M Ammassari-Teule, and P Longone. 2011. "Postsynaptic Alteration of NR2A Subunit and Defective Autophosphorylation of AlphaCaMKII at Threonine-286 Contribute to Abnormal Plasticity and Morphology of Upper Motor Neurons in Presymptomatic SOD1 G93A Mice, a Murine Model for Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Cerebral Cortex* 21: 796–805.

- <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq152>.
- Spillantini, M. G., R. A. Crowther, W. Kamphorst, P. Heutink, and J. C. Van Swieten. 1998. "Tau Pathology in Two Dutch Families with Mutations in the Microtubule-Binding Region of Tau." *American Journal of Pathology* 153 (5): 1359–63. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65721-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65721-5).
- Spillantini, Maria Grazia, Jill R. Murrell, Michel Goedert, Martin R. Farlow, Aaron Klug, and Bernardino Ghetti. 1998. "Mutation in the Tau Gene in Familial Multiple System Tauopathy with Presenile Dementia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (13): 7737–41. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.13.7737>.
- Spreux-Varoquaux, Odile, Gilbert Bensimon, Lucette Lacomblez, François Salachas, Pierre François Pradat, Nadine Le Forestier, Abdellatif Marouan, Michel Dib, and Vincent Meininger. 2002. "Glutamate Levels in Cerebrospinal Fluid in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Reappraisal Using a New HPLC Method with Coulometric Detection in a Large Cohort of Patients." *Journal of the Neurological Sciences* 193 (2): 73–78. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(01\)00661-X](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(01)00661-X).
- Sproviero, Daisy, Sabrina La Salvia, Marta Giannini, Valeria Crippa, Stella Gagliardi, Stefano Bernuzzi, Luca Diamanti, et al. 2018. "Pathological Proteins Are Transported by Extracellular Vesicles of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients." *Frontiers in Neuroscience* 12 (JUL): 487. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00487>.
- Sreedharan, Jemeen, Ian P. Blair, Vineeta B. Tripathi, Xun Hu, Caroline Vance, Boris Rogelj, Steven Ackerley, et al. 2008. "TDP-43 Mutations in Familial and Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Science* 319 (5870): 1668–72. <https://doi.org/10.1126/science.1154584>.
- Stagi, Massimiliano, Zoe A. Klein, Travis J. Gould, Joerg Bewersdorf, and Stephen M. Strittmatter. 2014. "Lysosome Size, Motility and Stress Response Regulated by Fronto-Temporal Dementia Modifier TMEM106B." *Molecular and Cellular Neuroscience* 61: 226–40. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.07.006>.
- Stancu, Ilie Cosmin, Niels Cremers, Hannah Vanrusselt, Julien Couturier, Alexandre Vanoosthuyse, Sofie Kessels, Chritica Lodder, et al. 2019a. "Aggregated Tau Activates NLRP3–ASC Inflammasome Exacerbating Exogenously Seeded and Non-Exogenously Seeded Tau Pathology in Vivo." *Acta Neuropathologica* 137 (4): 599–617. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01957-y>.
- . 2019b. "Aggregated Tau Activates NLRP3–ASC Inflammasome Exacerbating Exogenously Seeded and Non-Exogenously Seeded Tau Pathology in Vivo." *Acta Neuropathologica* 137 (4): 599–617. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01957-y>.
- Starr, Alexander, and Rita Sattler. 2018. "Synaptic Dysfunction and Altered Excitability in C9ORF72 ALS/FTD." *Brain Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.02.011>.
- Stefanova, Nadia, Lisa Fellner, Markus Reindl, Eliezer Masliah, Werner Poewe, and Gregor K. Wenning. 2011. "Toll-like Receptor 4 Promotes α -Synuclein Clearance and Survival of Nigral Dopaminergic Neurons." *American Journal of Pathology* 179 (2): 954–63. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.04.013>.
- Stepto, Alan, Jean Marc Gallo, Christopher E. Shaw, and Frank Hirth. 2014. "Modelling C9ORF72 Hexanucleotide Repeat Expansion in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Acta Neuropathologica*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1235-1>.
- Storek, Kelly M., and Denise M. Monack. 2015. "Bacterial Recognition Pathways That

- Lead to Inflammasome Activation.” *Immunological Reviews*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/imr.12289>.
- Stribl, Carola, Aladin Samara, Dietrich Trümbach, Regina Peis, Manuela Neumann, Helmut Fuchs, Valerie Gailus-Durner, et al. 2014. “Mitochondrial Dysfunction and Decrease in Body Weight of a Transgenic Knock-in Mouse Model for TDP-43.” *Journal of Biological Chemistry* 289 (15): 10769–84. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.515940>.
- Strong, Michael J., Gloria M. Grace, Morris Freedman, Cathy Lomen-Hoerth, Susan Woolley, Laura Goldstein, Jennifer Murphy, et al. 2009. “Consensus Criteria for the Diagnosis of Frontotemporal Cognitive and Behavioural Syndromes in Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 10 (3): 131–46. <https://doi.org/10.1080/17482960802654364>.
- Strong, Michael J., Catherine Lomen-Hoerth, Richard J. Caselli, Eileen H. Bigio, and Wencheng Yang. 2003. “Cognitive Impairment, Frontotemporal Dementia, and the Motor Neuron Diseases.” *Annals of Neurology* 54 (S5): S20–23. <https://doi.org/10.1002/ana.10574>.
- Strong, Michael J., Kathryn Volkening, Robert Hammond, Wencheng Yang, Wendy Strong, Cheryl Leystra-Lantz, and Christen Shoemith. 2007a. “TDP43 Is a Human Low Molecular Weight Neurofilament (HNFL) mRNA-Binding Protein.” *Molecular and Cellular Neuroscience* 35 (2): 320–27. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.03.007>.
- . 2007b. “TDP43 Is a Human Low Molecular Weight Neurofilament (HNFL) mRNA-Binding Protein.” *Molecular and Cellular Neuroscience* 35 (2): 320–27. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.03.007>.
- Su, Zhaoming, Yongjie Zhang, Tania F. Gendron, Peter O. Bauer, Jeannie Chew, Wang Yong Yang, Erik Fostvedt, et al. 2014. “Discovery of a Biomarker and Lead Small Molecules to Target r(GGGGCC)-Associated Defects in C9FTD/ALS.” *Neuron* 83 (5): 1043–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.041>.
- Sudria-Lopez, Emma, Max Koppers, Marina de Wit, Christiaan van der Meer, Henk Jan Westeneng, Caroline A.C. Zundel, Sameh A. Youssef, et al. 2016. “Full Ablation of C9orf72 in Mice Causes Immune System-Related Pathology and Neoplastic Events but No Motor Neuron Defects.” *Acta Neuropathologica*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1581-x>.
- Suh, Hyeon Sook, Namjong Choi, Leonid Tarassishin, and Sunhee C. Lee. 2012. “Regulation of Progranulin Expression in Human Microglia and Proteolysis of Progranulin by Matrix Metalloproteinase-12 (Mmp-12).” *PLoS ONE* 7 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035115>.
- Sullivan, Peter M., Xiaolai Zhou, and Fenghua Hu. 2017. “Autophagy-Lysosome Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration.” In *Lysosomes - Associated Diseases and Methods to Study Their Function*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69371>.
- Sullivan, Peter M., Xiaolai Zhou, Adam M. Robins, Daniel H. Paushter, Dongsung Kim, Marcus B. Smolka, and Fenghua Hu. 2016a. “The ALS/FTLD Associated Protein C9orf72 Associates with SMCR8 and WDR41 to Regulate the Autophagy-Lysosome Pathway.” *Acta Neuropathologica Communications* 4 (1): 51. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0324-5>.
- . 2016b. “The ALS/FTLD Associated Protein C9orf72 Associates with SMCR8 and WDR41 to Regulate the Autophagy-Lysosome Pathway.” *Acta Neuropathologica Communications* 4 (1): 51. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0324-5>.

016-0324-5.

- Sun, Bao Liang, Li hua Wang, Tuo Yang, Jing yi Sun, Lei lei Mao, Ming feng Yang, Hui Yuan, Robert A. Colvin, and Xiao yi Yang. 2018. "Lymphatic Drainage System of the Brain: A Novel Target for Intervention of Neurological Diseases." *Progress in Neurobiology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.08.007>.
- Sun, Qian, Jie Fan, Timothy R. Billiar, and Melanie J. Scott. 2017. "Inflammasome and Autophagy Regulation: A Two-Way Street." *Molecular Medicine* 23: 188–95. <https://doi.org/10.2119/molmed.2017.00077>.
- Sun, Yulong, Pharhad E. Arslan, Amy Won, Christopher M. Yip, and Avi Chakrabartty. 2014. "Binding of TDP-43 to the 3'UTR of Its Cognate mRNA Enhances Its Solubility." *Biochemistry* 53 (37): 5885–94. <https://doi.org/10.1021/bi500617x>.
- Suzuki, Naoki, Asif M. Maroof, Florian T. Merkle, Kathryn Koszka, Atsushi Intoh, Ian Armstrong, Rob Moccia, Brandi N. Davis-Dusenbery, and Kevin Eggan. 2013. "The Mouse C9ORF72 Ortholog Is Enriched in Neurons Known to Degenerate in ALS and FTD." *Nature Neuroscience* 16 (12): 1725–27. <https://doi.org/10.1038/nn.3566>.
- Swanton, Tessa, James Cook, James A Beswick, Sally Freeman, Catherine B Lawrence, and David Brough. 2018. "Is Targeting the Inflammasome a Way Forward for Neuroscience Drug Discovery?" *SLAS Discovery : Advancing Life Sciences R & D* 23 (10): 991–1017. <https://doi.org/10.1177/2472555218786210>.
- Sweet, M J, and D A Hume. 1996. "Endotoxin Signal Transduction in Macrophages." *Journal of Leukocyte Biology* 60 (1): 8–26. <https://doi.org/10.1002/jlb.60.1.8>.
- Swieten, John C. van, and Peter Heutink. 2008. "Mutations in Progranulin (GRN) within the Spectrum of Clinical and Pathological Phenotypes of Frontotemporal Dementia." *The Lancet Neurology*. Lancet Neurol. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70194-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70194-7).
- Tai, Hwan Ching, Bo Y. Wang, Alberto Serrano-Pozo, Matthew P. Frosch, Tara L. Spire-Jones, and Bradley T. Hyman. 2014. "Frequent and Symmetric Deposition of Misfolded Tau Oligomers within Presynaptic and Postsynaptic Terminals in Alzheimer's Disease." *Acta Neuropathologica Communications* 2 (1). <https://doi.org/10.1186/s40478-014-0146-2>.
- Takada, Leonel T. 2015. "Genética Da Demência Frontotemporal Monogênica." *Dementia e Neuropsicologia*. Academia Brasileira de Neurologia. <https://doi.org/10.1590/1980-57642015DN93000003>.
- Takashima, Akihiko. 2013. "Tauopathies and Tau Oligomers." *Journal of Alzheimer's Disease*. IOS Press. <https://doi.org/10.3233/JAD-130653>.
- Takeuchi, Osamu, Katsuaki Hoshino, Taro Kawai, Hideki Sanjo, Haruhiko Takada, Tomohiko Ogawa, Kiyoshi Takeda, and Shizuo Akira. 1999. "Differential Roles of TLR2 and TLR4 in Recognition of Gram-Negative and Gram-Positive Bacterial Cell Wall Components." *Immunity* 11 (4): 443–51. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80119-3](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80119-3).
- Tan, Adelene Y., and James L. Manley. 2009. "The TET Family of Proteins: Functions and Roles in Disease." *Journal of Molecular Cell Biology* 1 (2): 82. <https://doi.org/10.1093/JMCB/MJP025>.
- Tanaka, Y., T. Matsuwaki, K. Yamanouchi, and M. Nishihara. 2013. "Increased Lysosomal Biogenesis in Activated Microglia and Exacerbated Neuronal Damage after Traumatic Brain Injury in Progranulin-Deficient Mice." *Neuroscience* 250 (October): 8–19.

- <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.06.049>.
- Tang, Wei, Yi Lu, Qing Yun Tian, Yan Zhang, Feng Jin Guo, Guang Yi Liu, Nabeel Muzaffar Syed, et al. 2011. "The Growth Factor Progranulin Binds to Tnf Receptors and Is Therapeutic against Inflammatory Arthritis in Mice." *Science* 332 (6028): 478–84. <https://doi.org/10.1126/science.1199214>.
- Tarkowski, E, N Andreasen, A Tarkowski, and K Blennow. 2003. "Intrathecal Inflammation Precedes Development of Alzheimer's Disease." *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 74 (9): 1200–1205. <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.9.1200>.
- Taylor, J. Paul, Robert H. Brown, and Don W. Cleveland. 2016. "Decoding ALS: From Genes to Mechanism." *Nature*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature20413>.
- Taylor, P R, L Martinez-Pomares, M Stacey, H.-H. Lin, G D Brown, and S Gordon. 2005. "Macrophage Receptors and Immune Recognition." *Annual Review of Immunology* 23: 901–44. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115816>.
- "TDP-43 and C9orf72-Derived Dipeptide Repeats as DAMPs in ALS – BonnBrain³ Meeting." n.d. Accessed July 9, 2020. <https://bonnbrain.de/abstracts/tdp-43-and-c9orf72-derived-dipeptide-repeats-as-damps-in-als/>.
- Thelin, Eric Peter, Tamara Tajsic, Frederick Adam Zeiler, David K. Menon, Peter J.A. Hutchinson, Keri L.H. Carpenter, Maria Cristina Morganti-Kossmann, and Adel Helmy. 2017. "Monitoring the Neuroinflammatory Response Following Acute Brain Injury." *Frontiers in Neurology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00351>.
- Tollervey, James R., Tomaž Curk, Boris Rogelj, Michael Briese, Matteo Cereda, Melis Kayikci, Julian König, et al. 2011. "Characterizing the RNA Targets and Position-Dependent Splicing Regulation by TDP-43." *Nature Neuroscience* 14 (4): 452–58. <https://doi.org/10.1038/nn.2778>.
- Toth, Reka P., and Julie D. Atkin. 2018. "Dysfunction of Optineurin in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Glaucoma." *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01017>.
- Town, Terrence, Veljko Nikolic, and Jun Tan. 2005. "The Microglial 'Activation' Continuum: From Innate to Adaptive Responses." <https://doi.org/10.1186/1742-2094-2-24>.
- Trageser, Kyle J., Chad Smith, Francis J. Herman, Kenjiro Ono, and Giulio Maria Pasinetti. 2019. "Mechanisms of Immune Activation by C9orf72-Expansions in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01298>.
- Tran, Helene, Sandra Almeida, Jill Moore, Tania F. Gendron, Uma Devi Chalasani, Yubing Lu, Xing Du, et al. 2015. "Differential Toxicity of Nuclear RNA Foci versus Dipeptide Repeat Proteins in a Drosophila Model of C9ORF72 FTD/ALS." *Neuron* 87 (6): 1207–14. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.015>.
- Traynor, Bryan J., Mary B. Codd, Bernadette Corr, Colm Forde, Eithne Frost, and Orla M. Hardiman. 2000. "Clinical Features of Amyotrophic Lateral Sclerosis According to the El Escorial and Airlie House Diagnostic Criteria: A Population-Based Study." *Archives of Neurology* 57 (8): 1171–76. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.8.1171>.
- Tremblay, Marie-Ève, Rebecca L. Lowery, and Ania K. Majewska. 2010. "Microglial Interactions with Synapses Are Modulated by Visual Experience." Edited by Matthew Dalva. *PLoS Biology* 8 (11): e1000527.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000527>.
- Trotti, Davide, Andreas Rolfs, Niels C. Danbolt, Robert H. Brown, and Matthias A. Hediger. 1999. "SOD1 Mutants Linked to Amyotrophic Lateral Sclerosis Selectively Inactivate a Glial Glutamate Transporter." *Nature Neuroscience* 2 (5): 427–33. <https://doi.org/10.1038/8091>.
- Tsao, William, Yun Ha Jeong, Sophie Lin, Jonathan Ling, Donald L. Price, Po Min Chiang, and Philip C. Wong. 2012. "Rodent Models of TDP-43: Recent Advances." *Brain Research*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.04.031>.
- Turner, Martin R., Jakub Scaber, John A. Goodfellow, Melanie E. Lord, Rachael Marsden, and Kevin Talbot. 2010. "The Diagnostic Pathway and Prognosis in Bulbar-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Journal of the Neurological Sciences* 294 (1–2): 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.03.028>.
- Ugolino, Janet, Yon Ju Ji, Karen Conchina, Justin Chu, Raja Sekhar Nirujogi, Akhilesh Pandey, Nathan R. Brady, Anne Hamacher-Brady, and Jiou Wang. 2016. "Loss of C9orf72 Enhances Autophagic Activity via Deregulated MTOR and TFEB Signaling." Edited by Gregory A. Cox. *PLOS Genetics* 12 (11): e1006443. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006443>.
- Urwin, Hazel, Astrid Authier, Jorgen E Nielsen, Daniel Metcalf, Caroline Powell, Kristina Froud, Denise S Malcolm, et al. 2010. "Disruption of Endocytic Trafficking in Frontotemporal Dementia with CHMP2B Mutations." <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq100>.
- Vaca, Gabriela, Loreto Martinez-Gonzalez, Ana Fernandez, Elisa Rojas-Prats, Gracia Porras, Eva P. Cuevas, Carmen Gil, Ana Martinez, and Ángeles Martin-Requero. 2020. "Therapeutic Potential of Novel Cell Division Cycle Kinase 7 Inhibitors on TDP-43-Related Pathogenesis Such as Frontotemporal Lobar Degeneration (FTLD) and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)." *Journal of Neurochemistry*, July, jnc.15118. <https://doi.org/10.1111/jnc.15118>.
- Valdez, Clarissa, Yvette C Wong, Michael Schwake, Guojun Bu, Zbigniew K Wszolek, and Dimitri Krainc. 2017. "Progranulin-Mediated Deficiency of Cathepsin D Results in FTD and NCL-like Phenotypes in Neurons Derived from FTD Patients." *Human Molecular Genetics*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx364>.
- Valdez, Gregorio, Mary P. Heyer, Guoping Feng, and Joshua R. Sanes. 2014. "The Role of Muscle MicroRNAs in Repairing the Neuromuscular Junction." Edited by Lin Mei. *PLoS ONE* 9 (3): e93140. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093140>.
- Vance, Caroline, Boris Rogelj, Tibor Hortobágyi, Kurt J. De Vos, Agnes Lumi Nishimura, Jemeen Sreedharan, Xun Hu, et al. 2009. "Mutations in FUS, an RNA Processing Protein, Cause Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 6." *Science* 323 (5918): 1208–11. <https://doi.org/10.1126/science.1165942>.
- Vance, Caroline, Emma L Scotter, Agnes L Nishimura, Claire Troakes, Jacqueline C Mitchell, Claudia Kathe, Hazel Urwin, et al. 2013. "ALS Mutant FUS Disrupts Nuclear Localization and Sequesters Wild-Type FUS within Cytoplasmic Stress Granules." *Human Molecular Genetics* 22 (13): 2676–88. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt117>.
- Victoria, Guiliana Soraya, and Chiara Zurzolo. 2017. "The Spread of Prion-like Proteins by Lysosomes and Tunneling Nanotubes: Implications for Neurodegenerative Diseases." *Journal of Cell Biology*. Rockefeller University Press. <https://doi.org/10.1083/jcb.201701047>.
- Viodé, Arthur, Clémence Fournier, Agnès Camuzat, François Fenaille, Morwena Latouche, Fanny Elahi, Isabelle Le Ber, et al. 2018. "New Antibody-Free Mass

- Spectrometry-Based Quantification Reveals That C9ORF72 Long Protein Isoform Is Reduced in the Frontal Cortex of Hexanucleotide-Repeat Expansion Carriers." *Frontiers in Neuroscience* 12 (AUG).
<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00589>.
- Violet, Marie, Alban Chauderlier, Lucie Delattre, Meryem Tardivel, Meliza Sendid Chouala, Audrey Sultan, Elodie Marciniak, et al. 2015. "Prefibrillar Tau Oligomers Alter the Nucleic Acid Protective Function of Tau in Hippocampal Neurons in Vivo." *Neurobiology of Disease* 82 (October): 540–51.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.09.003>.
- Violet, Marie, Lucie Delattre, Meryem Tardivel, Audrey Sultan, Alban Chauderlier, Raphaelle Caillierez, Smail Talahari, et al. 2014. "A Major Role for Tau in Neuronal DNA and RNA Protection in Vivo under Physiological and Hyperthermic Conditions." *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8 (MAR).
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00084>.
- Virchow R. 1856. "Gesammelte Abhandlungen Zyr Wissenschaftlichen Medizin."
- Voet, Sofie, Sahana Srinivasan, Mohamed Lamkanfi, and Geert Loo. 2019. "Inflammasomes in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Diseases." *EMBO Molecular Medicine* 11 (6): 10248.
<https://doi.org/10.15252/emmm.201810248>.
- Vos, Kurt J. De, and Majid Hafezparast. 2017. "Neurobiology of Axonal Transport Defects in Motor Neuron Diseases: Opportunities for Translational Research?" *Neurobiology of Disease*. Academic Press Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.02.004>.
- Vukovic, Jana, Michael J. Colditz, Daniel G. Blackmore, Marc J. Ruitenber, and Perry F. Bartlett. 2012. "Microglia Modulate Hippocampal Neural Precursor Activity in Response to Exercise and Aging." *Journal of Neuroscience* 32 (19): 6435–43. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5925-11.2012>.
- Waibel, S., M. Neumann, M. Rabe, T. Meyer, and A. C. Ludolph. 2010. "Novel Missense and Truncating Mutations in FUS/TLS in Familial ALS." *Neurology* 75 (9): 815–17. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181f07e26>.
- Waite, Adrian J., Dirk Bäumer, Simon East, James Neal, Huw R. Morris, Olaf Ansorge, and Derek J. Blake. 2014. "Reduced C9orf72 Protein Levels in Frontal Cortex of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration Brain with the C9ORF72 Hexanucleotide Repeat Expansion." *Neurobiology of Aging* 35 (7): 1779.e5-1779.e13. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.016>.
- Wake, Hiroaki, Andrew J. Moorhouse, Shozo Jinno, Shinichi Kohsaka, and Junichi Nabekura. 2009. "Resting Microglia Directly Monitor the Functional State of Synapses in Vivo and Determine the Fate of Ischemic Terminals." *Journal of Neuroscience* 29 (13): 3974–80. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009>.
- Walsh, M J, J Cooper-Knock, J E Dodd, M J Stopford, S R Mihaylov, J Kirby, P J Shaw, and G M Hautbergue. 2015. "Invited Review: Decoding the Pathophysiological Mechanisms That Underlie RNA Dysregulation in Neurodegenerative Disorders: A Review of the Current State of the Art Decoding the Pathophysiological Mechanisms That Underlie RNA Dysregulation in Neurodegenerative Disorders: A Review of the Current State of the Art." *Neuropathology and Applied Neurobiology* 41: 109–34.
<https://doi.org/10.1111/nan.12187>.
- Walton, Emma L. 2018. "For Better or Worse: Immune System Involvement in Alzheimer's Disease." *Biomedical Journal*. Elsevier B.V.

- <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.03.001>.
- Wang, I. Fan, Lien Szn Wu, Hsiang Yu Chang, and C. K. James Shen. 2008. "TDP-43, the Signature Protein of FTL-D, Is a Neuronal Activity-Responsive Factor." *Journal of Neurochemistry* 105 (3): 797–806. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05190.x>.
- Wang, Peng, Jianwen Deng, Jie Dong, Jianghong Liu, Eileen H. Bigio, Marsel Mesulam, Tao Wang, et al. 2019. "TDP-43 Induces Mitochondrial Damage and Activates the Mitochondrial Unfolded Protein Response." *PLoS Genetics* 15 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007947>.
- Wang, Wenzhang, Li Li, Wen-Lang Lin, Dennis W Dickson, Leonard Petrucelli, Teng Zhang, and Xinglong Wang. 2013. "The ALS Disease-Associated Mutant TDP-43 Impairs Mitochondrial Dynamics and Function in Motor Neurons." *Hum Mol Genet*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt319>.
- Wang, Wenzhang, Luwen Wang, Junjie Lu, Sandra L. Siedlak, Hisashi Fujioka, Jingjing Liang, Sirui Jiang, et al. 2016. "The Inhibition of TDP-43 Mitochondrial Localization Blocks Its Neuronal Toxicity." *Nature Medicine* 22 (8): 869–78. <https://doi.org/10.1038/nm.4130>.
- Wang, Xu, Lian Zhao, Jun Zhang, Robert N Fariss, Wenxin Ma, Friedrich Kretschmer, Minhua Wang, et al. 2016. "Requirement for Microglia for the Maintenance of Synaptic Function and Integrity in the Mature Retina." *The Journal of Neuroscience* 36 (9): 2827–42. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3575-15.2016>.
- Wang, Yan, Na Liu, and Bingwei Lu. 2019. "Mechanisms and Roles of Mitophagy in Neurodegenerative Diseases." *CNS Neuroscience & Therapeutics* 25 (7): cns.13140. <https://doi.org/10.1111/cns.13140>.
- Wang, Yipeng, Varun Balaji, Senthilvelrajan Kaniyappan, Lars Krüger, Stephan Irsen, Katharina Tepper, Ramreddy Chandupatla, et al. 2017. "The Release and Trans-Synaptic Transmission of Tau via Exosomes." *Molecular Neurodegeneration* 12 (1). <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0143-y>.
- Ward, Michael E., Robert Chen, Hsin Yi Huang, Connor Ludwig, Maria Telpoukhovskaia, Ali Taubes, Helene Boudin, et al. 2017a. "Individuals with Progranulin Haploinsufficiency Exhibit Features of Neuronal Ceroid Lipofuscinosis." *Science Translational Medicine* 9 (385). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah5642>.
- . 2017b. "Individuals with Progranulin Haploinsufficiency Exhibit Features of Neuronal Ceroid Lipofuscinosis." *Science Translational Medicine* 9 (385). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah5642>.
- Warmus, Brian A., Dheepa R. Sekar, Eve McCutchen, Gerard D. Schellenberg, Rosalinda C. Roberts, Lori L. McMahon, and Erik D. Roberson. 2014. "Tau-Mediated NMDA Receptor Impairment Underlies Dysfunction of a Selectively Vulnerable Network in a Mouse Model of Frontotemporal Dementia." *Journal of Neuroscience* 34 (49): 16482–95. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3418-14.2014>.
- Watts, Giles D.J., Jill Wymer, Margaret J. Kovach, Sarju G. Mehta, Steven Mumm, Daniel Darvish, Alan Pestronk, Michael P. Whyte, and Virginia E. Kimonis. 2004. "Inclusion Body Myopathy Associated with Paget Disease of Bone and Frontotemporal Dementia Is Caused by Mutant Valosin-Containing Protein." *Nature Genetics* 36 (4): 377–81. <https://doi.org/10.1038/ng1332>.
- Webster, Christopher P., Emma F. Smith, Andrew J. Grierson, and Kurt J. De Vos. 2018. "C9orf72 Plays a Central Role in Rab GTPase-Dependent Regulation of

- Autophagy." *Small GTPases*. Taylor and Francis Inc.
<https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1240495>.
- Webster, Christopher P, Emma F Smith, Claudia S Bauer, Annekathrin Moller, Guillaume M Hautbergue, Laura Ferraiuolo, Monika A Myszczyńska, et al. 2016. "The C9orf72 Protein Interacts with Rab1a and the <sc>ULK</Sc> 1 Complex to Regulate Initiation of Autophagy." *The EMBO Journal* 35 (15): 1656–76.
<https://doi.org/10.15252/embj.201694401>.
- Weingarten, M. D., A. H. Lockwood, S. Y. Hwo, and M. W. Kirschner. 1975. "A Protein Factor Essential for Microtubule Assembly." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72 (5): 1858–62.
<https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>.
- Welsen, M. E. van, J. A. Hogenhuis, V. Meininger, W. P. Metsaars, J. J. Hauw, and D. Seilhean. 2002. "The Relationship between Bunina Bodies, Skein-like Inclusions and Neuronal Loss in Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Acta Neuropathologica* 103 (6): 583–89. <https://doi.org/10.1007/s00401-001-0507-3>.
- Wes, Paul D., Inge R. Holtman, Erik W.G.M. Boddeke, Thomas Möller, and Bart J.L. Eggen. 2016. "Next Generation Transcriptomics and Genomics Elucidate Biological Complexity of Microglia in Health and Disease." *GLIA* 64 (2): 197–213.
<https://doi.org/10.1002/glia.22866>.
- Weskamp, Kaitlin, Elizabeth M. Tank, Roberto Miguez, Jonathon P. McBride, Nicolás B. Gómez, Matthew White, Ziqiang Lin, et al. 2020. "Shortened TDP43 Isoforms Upregulated by Neuronal Hyperactivity Drive TDP43 Pathology in ALS." *Journal of Clinical Investigation* 130 (3): 1139–55. <https://doi.org/10.1172/JCI1130988>.
- Westergard, Thomas, Kevin McAvoy, Katelyn Russell, Xinmei Wen, Yu Pang, Brandie Morris, Piera Pasinelli, Davide Trotti, and Aaron Haeusler. 2019. "Repeat-associated Non- AUG Translation in C9orf72- ALS / FTD Is Driven by Neuronal Excitation and Stress." *EMBO Molecular Medicine* 11 (2).
<https://doi.org/10.15252/emmm.201809423>.
- Whitwell, J. L., B. F. Boeve, S. D. Weigand, M. L. Senjem, J. L. Gunter, M. C. Baker, M. DeJesus-Hernandez, et al. 2015. "Brain Atrophy over Time in Genetic and Sporadic Frontotemporal Dementia: A Study of 198 Serial Magnetic Resonance Images." *European Journal of Neurology* 22 (5): 745–52.
<https://doi.org/10.1111/ene.12675>.
- Wiedau-Pazos, Martina, Joy J. Goto, Shahrooz Rabizadeh, Edith B. Gralla, James A. Roe, Michael K. Lee, Joan S. Valentine, and Dale E. Bredesen. 1996. "Altered Reactivity of Superoxide Dismutase in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Science* 271 (5248): 515–18. <https://doi.org/10.1126/science.271.5248.515>.
- Wiley, Clayton A, Brian J Lopresti, Sriram Venneti, Julie Price, William E Klunk, Steven T DeKosky, and Chester A Mathis. 2009. "Carbon 11-Labeled Pittsburgh Compound B and Carbon 11-Labeled (R)-PK11195 Positron Emission Tomographic Imaging in Alzheimer Disease." *Archives of Neurology* 66 (1): 60–67. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2008.511>.
- Williams, Andrew H., Gregorio Valdez, Viviana Moresi, Xiaoxia Qi, John McAnally, Jeffrey L. Elliott, Rhonda Bassel-Duby, Joshua R. Sanes, and Eric N. Olson. 2009. "MicroRNA-206 Delays ALS Progression and Promotes Regeneration of Neuromuscular Synapses in Mice." *Science* 326 (5959): 1549–54.
<https://doi.org/10.1126/science.1181046>.
- Williams, Kelly L., Simon Topp, Shu Yang, Bradley Smith, Jennifer A. Fifita, Sadaf T. Warraich, Katharine Y. Zhang, et al. 2016. "CCNF Mutations in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Nature Communications* 7

- (April). <https://doi.org/10.1038/ncomms11253>.
- Wils, Hans, Gernot Kleinberger, Sandra Pereson, Jonathan Janssens, Anja Capell, Debby Van Dam, Ivy Cuijt, et al. 2012. "Cellular Ageing, Increased Mortality and FTLD-TDP-Associated Neuropathology in Progranulin Knockout Mice." *The Journal of Pathology* 228 (1): n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/path.4043>.
- Winton, Matthew J., Lionel M. Igaz, Margaret M. Wong, Linda K. Kwong, John Q. Trojanowski, and Virginia M.Y. Lee. 2008. "Disturbance of Nuclear and Cytoplasmic TAR DNA-Binding Protein (TDP-43) Induces Disease-like Redistribution, Sequestration, and Aggregate Formation." *Journal of Biological Chemistry* 283 (19): 13302–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800342200>.
- Wong, Philip C., Carlos A. Pardo, David R. Borchelt, Michael K. Lee, Neal G. Copeland, Nancy A. Jenkins, Sangram S. Sisodia, Don W. Cleveland, and Donald L. Price. 1995. "An Adverse Property of a Familial ALS-Linked SOD1 Mutation Causes Motor Neuron Disease Characterized by Vacuolar Degeneration of Mitochondria." *Neuron* 14 (6): 1105–16. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90259-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90259-7).
- Wu, Jessica W., Mathieu Herman, Li Liu, Sabrina Simoes, Christopher M. Acker, Helen Figueroa, Joshua I. Steinberg, et al. 2013. "Small Misfolded Tau Species Are Internalized via Bulk Endocytosis and Anterogradely and Retrogradely Transported in Neurons." *Journal of Biological Chemistry* 288 (3): 1856–70. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.394528>.
- Wu, Pei Jung, Yun Fen Hung, Hsin Yu Liu, and Yi Ping Hsueh. 2017. "Deletion of the Inflammasome Sensor Aim2 Mitigates A β Deposition and Microglial Activation but Increases Inflammatory Cytokine Expression in an Alzheimer Disease Mouse Model." *NeuroImmunoModulation* 24 (1): 29–39. <https://doi.org/10.1159/000477092>.
- Wyss-Coray, Tony, and Joseph Rogers. 2012. "Inflammation in Alzheimer Disease-A Brief Review of the Basic Science and Clinical Literature." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (1). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006346>.
- Wyss-Coray, Tony, Fengrong Yan, Amy Hsiu Ti Lin, John D. Lambris, Jessy J. Alexander, Richard J. Quigg, and Eliezer Masliah. 2002. "Prominent Neurodegeneration and Increased Plaque Formation in Complement-Inhibited Alzheimer's Mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (16): 10837–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.162350199>.
- Xi, Zhengrui, Lorne Zinman, Danielle Moreno, Jennifer Schymick, Yan Liang, Christine Sato, Yonglan Zheng, et al. 2013. "Hypermethylation of the CpG Island near the G4C2 Repeat in ALS with a C9orf72 Expansion." *American Journal of Human Genetics* 92 (6): 981–89. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.017>.
- Xiao, Yichuan, Qiang Zou, Xiaoping Xie, Ting Liu, Haiyan S. Li, Zuliang Jie, Jin Jin, et al. 2017. "The Kinase TBK1 Functions in Dendritic Cells to Regulate T Cell Homeostasis, Autoimmunity, and Antitumor Immunity." *Journal of Experimental Medicine* 214 (5): 1493–1507. <https://doi.org/10.1084/jem.20161524>.
- Xu, Ya-Fei, Yong-Jie Zhang, Wen-Lang Lin, Xiangkun Cao, Caroline Stetler, Dennis W Dickson, Jada Lewis, and Leonard Petrucelli. 2011. "Expression of Mutant TDP-43 Induces Neuronal Dysfunction in Transgenic Mice." *Molecular Neurodegeneration* 6 (1): 73. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-73>.
- Xue, Jia, Susanne V. Schmidt, Jil Sander, Astrid Draffehn, Wolfgang Krebs, Inga Quester, Dominic DeNardo, et al. 2014. "Transcriptome-Based Network Analysis Reveals a Spectrum Model of Human Macrophage Activation." *Immunity* 40 (2):

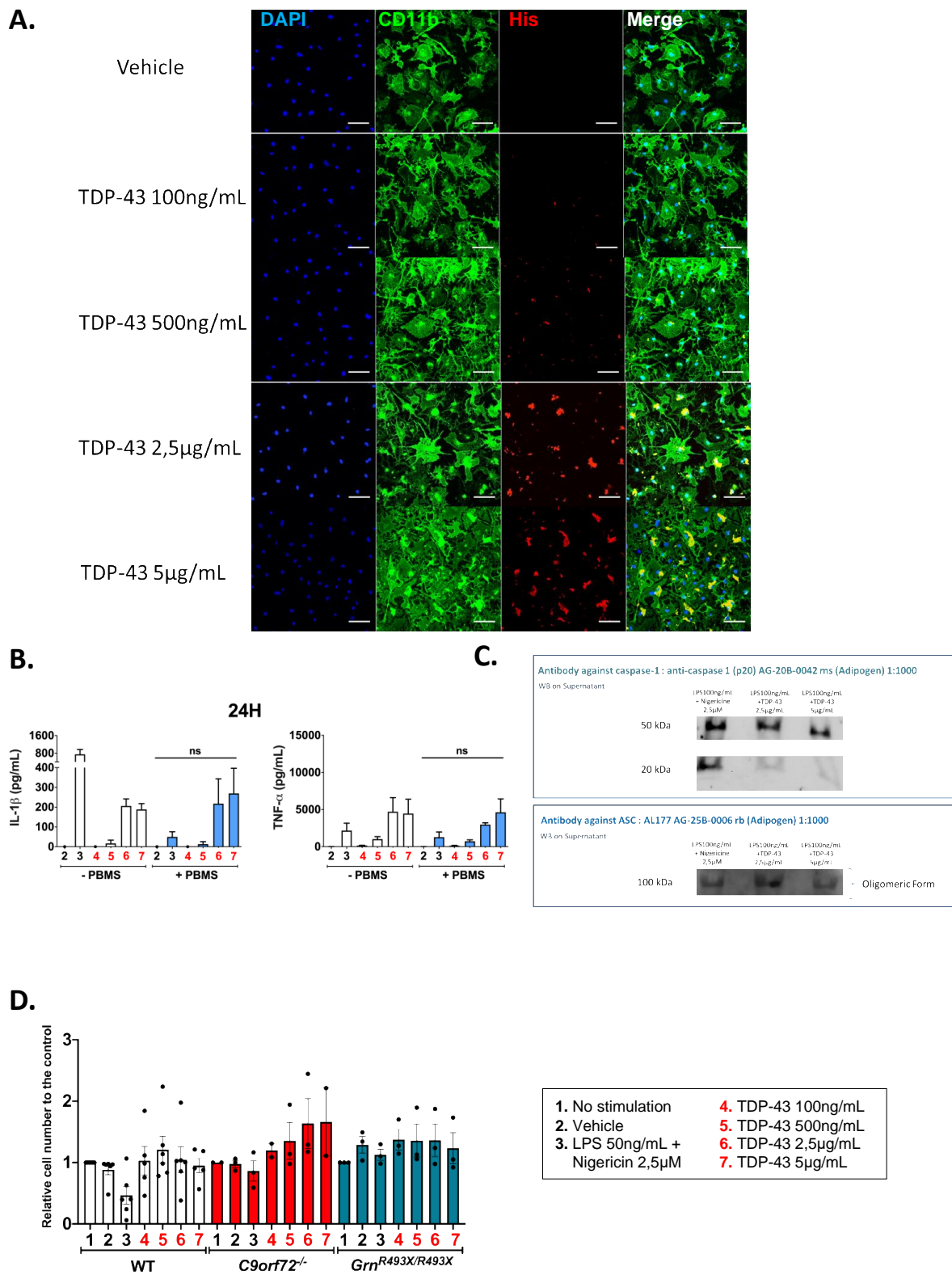
- 274–88. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.01.006>.
- Yamamoto, Masaru, Tomomi Kiyota, Masahide Horiba, James L Buescher, Shannon M Walsh, Howard E Gendelman, and Tsuneya Ikezu. 2007. “Interferon-Gamma and Tumor Necrosis Factor-Alpha Regulate Amyloid-Beta Plaque Deposition and Beta-Secretase Expression in Swedish Mutant APP Transgenic Mice.” *The American Journal of Pathology* 170 (2): 680–92. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060378>.
- Yamanaka, Koji, and Okiru Komine. 2018. “The Multi-Dimensional Roles of Astrocytes in ALS.” *Neuroscience Research*. Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.09.011>.
- Yamashita, Satoshi, and Yukio Ando. 2015. “Genotype-Phenotype Relationship in Hereditary Amyotrophic Lateral Sclerosis.” *Translational Neurodegeneration*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40035-015-0036-y>.
- Yang, Chunxing, Weijia Tan, Catheryne Whittle, Linghua Qiu, Lucheng Cao, Schahram Akbarian, and Zuoshang Xu. 2010. “The C-Terminal TDP-43 Fragments Have a High Aggregation Propensity and Harm Neurons by a Dominant-Negative Mechanism.” *PLoS ONE* 5 (12): 15878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015878>.
- Yang, Junling, Leslie Wise, and Ken Ichiro Fukuchi. 2020. “TLR4 Cross-Talk With NLRP3 Inflammasome and Complement Signaling Pathways in Alzheimer’s Disease.” *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00724>.
- Yang, Mei, Liang Chen, Kunchithapadam Swaminathan, Stephanie Herrlinger, Fan Lai, Ramin Shiekhata, and Jian Fu Chen. 2016. “A C9ORF72/SMCR8-Containing Complex Regulates ULK1 and Plays a Dual Role in Autophagy.” *Science Advances* 2 (9). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1601167>.
- Yang, Ruey Bing, Melanie R. Mark, Alane Gray, Arthur Huang, Ming Hong Xie, Min Zhang, Audrey Goddard, William I. Wood, Austin L. Gurney, and Paul J. Godowski. 1998. “Toll-like Receptor-2 Mediates Lipopolysaccharide-Induced Cellular Signalling.” *Nature* 395 (6699): 284–88. <https://doi.org/10.1038/26239>.
- Yin, Fangfang, Rebecca Banerjee, Bobby Thomas, Ping Zhou, Liping Qian, Ting Jia, Xiaojing Ma, et al. 2010a. “Exaggerated Inflammation, Impaired Host Defense, and Neuropathology in Progranulin-Deficient Mice.” *Journal of Experimental Medicine* 207 (1): 117–28. <https://doi.org/10.1084/jem.20091568>.
- . 2010b. “Exaggerated Inflammation, Impaired Host Defense, and Neuropathology in Progranulin-Deficient Mice.” *Journal of Experimental Medicine* 207 (1): 117–28. <https://doi.org/10.1084/jem.20091568>.
- Yin, Fangfang, Magali Dumont, Rebecca Banerjee, Yao Ma, Huihong Li, Michael T. Lin, M. Flint Beal, Carl Nathan, Bobby Thomas, and Aihao Ding. 2010. “Behavioral Deficits and Progressive Neuropathology in Progranulin-Deficient Mice: A Mouse Model of Frontotemporal Dementia.” *The FASEB Journal* 24 (12): 4639–47. <https://doi.org/10.1096/fj.10-161471>.
- Yokoi, Satoshi, Tsuyoshi Udagawa, Yusuke Fujioka, Daiyu Honda, Haruo Okado, Hirohisa Watanabe, Masahisa Katsuno, Shinsuke Ishigaki, and Gen Sobue. 2017. “3’UTR Length-Dependent Control of SynGAP Isoform A2 mRNA by FUS and ELAV-like Proteins Promotes Dendritic Spine Maturation and Cognitive Function.” *Cell Reports* 20 (13): 3071–84. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.100>.
- Yokoseki, Akio, Atsushi Shiga, Chun Feng Tan, Asako Tagawa, Hiroyuki Kaneko, Akihito Koyama, Hiroto Eguchi, et al. 2008. “TDP-43 Mutation in Familial

- Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Annals of Neurology* 63 (4): 538–42. <https://doi.org/10.1002/ana.21392>.
- Yoshiyama, Yasumasa, Makoto Higuchi, Bin Zhang, Shu Ming Huang, Nobuhisa Iwata, Takaomi C C. Saito, Jun Maeda, Tetsuya Suhara, John Q. Trojanowski, and Virginia M.Y. Lee. 2007. "Synapse Loss and Microglial Activation Precede Tangles in a P301S Tauopathy Mouse Model." *Neuron* 53 (3): 337–51. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.010>.
- Yousef, Ahmed, John L. Robinson, David J. Irwin, Matthew D. Byrne, Linda K. Kwong, Edward B. Lee, Yan Xu, et al. 2017. "Neuron Loss and Degeneration in the Progression of TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration." *Acta Neuropathologica Communications* 5 (1): 68. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0471-3>.
- Zahid, Ayesha, Bofeng Li, Arnaud John Kombe Kombe, Tengchuan Jin, and Jinhui Tao. 2019. "Pharmacological Inhibitors of the Nlrp3 Inflammasome." *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02538>.
- Zarei, Sara, Karen Carr, Luz Reiley, Kelvin Diaz, Orleiquis Guerra, Pablo Fernandez Altamirano, Wilfredo Pagani, Daud Lodin, Gloria Orozco, and Angel Chinaea. 2015. "A Comprehensive Review of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Surgical Neurology International*. Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.169561>.
- Zhang, Bin, Chris Gaiteri, Liviu Gabriel Bodea, Zhi Wang, Joshua McElwee, Alexei A. Podtelezchnikov, Chunsheng Zhang, et al. 2013. "Integrated Systems Approach Identifies Genetic Nodes and Networks in Late-Onset Alzheimer's Disease." *Cell* 153 (3): 707–20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.030>.
- Zhang, Bin, Pang Hsien Tu, Farhad Abtahian, John Q. Trojanowski, and Virginia M.Y. Lee. 1997. "Neurofilaments and Orthograde Transport Are Reduced in Ventral Root Axons of Transgenic Mice That Express Human SOD1 with a G93A Mutation." *Journal of Cell Biology* 139 (5): 1307–15. <https://doi.org/10.1083/jcb.139.5.1307>.
- Zhang, Jing. 2015a. "Mapping Neuroinflammation in Frontotemporal Dementia with Molecular PET Imaging." *Journal of Neuroinflammation*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0236-5>.
- . 2015b. "Mapping Neuroinflammation in Frontotemporal Dementia with Molecular PET Imaging." *Journal of Neuroinflammation* 12 (June). <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0236-5>.
- Zhang, Jinqiang, Peijing Rong, Lijuan Zhang, Hui He, Tao Zhou, Yonghua Fan, Li Mo, et al. 2020. "IL4-Driven Microglia Modulate Stress Resilience through BDNF-Dependent Neurogenesis." *BioRxiv*, February, 2020.02.01.929646. <https://doi.org/10.1101/2020.02.01.929646>.
- Zhang, Ke, J. Gavin Daigle, Kathleen M. Cunningham, Alyssa N. Coyne, Kai Ruan, Jonathan C. Grima, Kelly E. Bowen, et al. 2018. "Stress Granule Assembly Disrupts Nucleocytoplasmic Transport." *Cell* 173 (4): 958-971.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.025>.
- Zhang, Ke, Christopher J. Donnelly, Aaron R. Haeusler, Jonathan C. Grima, James B. Machamer, Peter Steinwald, Elizabeth L. Daley, et al. 2015a. "The C9orf72 Repeat Expansion Disrupts Nucleocytoplasmic Transport." *Nature* 525 (7567): 56–61. <https://doi.org/10.1038/nature14973>.
- . 2015b. "The C9orf72 Repeat Expansion Disrupts Nucleocytoplasmic Transport." *Nature* 525 (7567): 56–61. <https://doi.org/10.1038/nature14973>.
- Zhang, Qipeng, Xiaoguang Zhang, and Anyang Sun. 2009. "Truncated Tau at D421

- Is Associated with Neurodegeneration and Tangle Formation in the Brain of Alzheimer Transgenic Models." *Acta Neuropathologica* 117 (6): 687–97. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0491-6>.
- Zhang, Yong-Jie, Thomas Caulfield, Ya-Fei Xu, Tania F Gendron, Jaime Hubbard, Caroline Stetler, Hiroki Sasaguri, et al. 2013. "The Dual Functions of the Extreme N-Terminus of TDP-43 in Regulating Its Biological Activity and Inclusion Formation." *Hum Mol Genet.* <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt166>.
- Zhang, Yong Jie, Tania F. Gendron, Mark T.W. Ebbert, Aliesha D. O'Raw, Mei Yue, Karen Jansen-West, Xu Zhang, et al. 2018. "Poly(GR) Impairs Protein Translation and Stress Granule Dynamics in C9orf72-Associated Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Medicine* 24 (8): 1136–42. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0071-1>.
- Zhang, Yong Jie, Tania F. Gendron, Jonathan C. Grima, Hiroki Sasaguri, Karen Jansen-West, Ya Fei Xu, Rebecca B. Katzman, et al. 2016. "C9ORF72 Poly(GA) Aggregates Sequester and Impair HR23 and Nucleocytoplasmic Transport Proteins." *Nature Neuroscience* 19 (5): 668–77. <https://doi.org/10.1038/nn.4272>.
- Zhang, Yun, Zhifang Dong, and Weihong Song. 2020. "NLRP3 Inflammasome as a Novel Therapeutic Target for Alzheimer's Disease." *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5 (1): 1–2. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0145-7>.
- Zhang, Zhijun, Sandra Almeida, Yubing Lu, Agnes L. Nishimura, Lingtao Peng, Danqiong Sun, Bei Wu, et al. 2013a. "Downregulation of MicroRNA-9 in iPSC-Derived Neurons of FTD/ALS Patients with TDP-43 Mutations." *PLoS ONE* 8 (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076055>.
- . 2013b. "Downregulation of MicroRNA-9 in iPSC-Derived Neurons of FTD/ALS Patients with TDP-43 Mutations." *PLoS ONE* 8 (10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076055>.
- Zhao, Weihua, David R. Beers, Shaughn Bell, Jinghong Wang, Shixiang Wen, Robert H. Baloh, and Stanley H. Appel. 2015. "TDP-43 Activates Microglia through NF- κ B and NLRP3 Inflammasome." *Experimental Neurology* 273 (November): 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.07.019>.
- Zhong, Zhenyu, Atsushi Umemura, Elsa Sanchez-Lopez, Shuang Liang, Shabnam Shalpour, Jerry Wong, Feng He, et al. 2016. "NF- κ B Restricts Inflammasome Activation via Elimination of Damaged Mitochondria." *Cell* 164 (5): 896–910. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.057>.
- Zhou, Qihui, Nikola Mareljic, Meike Michaelsen, Samira Parhizkar, Steffanie Heindl, Brigitte Nuscher, Daniel Farny, et al. 2020. "Active Poly-GA Vaccination Prevents Microglia Activation and Motor Deficits in a C9orf72 Mouse Model." *EMBO Molecular Medicine* 12 (2). <https://doi.org/10.15252/emmm.201910919>.
- Zhou, Xiaolai, Daniel H. Paushter, Mitchell D. Pagan, Dongsung Kim, Mariela Nunez Santos, Raquel L. Lieberman, Herman S. Overkleeft, Ying Sun, Marcus B. Smolka, and Fenghua Hu. 2019. "Progranulin Deficiency Leads to Reduced Glucocerebrosidase Activity." Edited by Thomas Kukar. *PLOS ONE* 14 (7): e0212382. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212382>.
- Zhou, Xiaolai, Peter M. Sullivan, Lirong Sun, and Fenghua Hu. 2017. "The Interaction between Progranulin and Prosaposin Is Mediated by Granulins and the Linker Region between Saposin B and C." *Journal of Neurochemistry* 143 (2): 236–43. <https://doi.org/10.1111/jnc.14110>.
- Zhu, Jialei, Zhaoli Hu, Xiaojuan Han, Dongshuo Wang, Qingling Jiang, Jianhua Ding, Ming Xiao, Cong Wang, Ming Lu, and Gang Hu. 2018. "Dopamine D2 Receptor Restricts Astrocytic NLRP3 Inflammasome Activation via Enhancing the

- Interaction of β -Arrestin2 and NLRP3." *Cell Death and Differentiation* 25 (11): 2037–49. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0127-2>.
- Zhu, Jing, Carl Nathan, Wenwen Jin, Davis Sim, Gillian S. Ashcroft, Sharon M. Wahl, Lynne Lacomis, et al. 2002. "Conversion of Proepithelin to Epithelins: Roles of SLPI and Elastase in Host Defense and Wound Repair." *Cell*. Cell Press. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)01141-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)01141-8).
- Zhuang, Juan, Xin Wen, Yan qiu Zhang, Qun Shan, Zi feng Zhang, Gui hong Zheng, Shao hua Fan, et al. 2017. "TDP-43 Upregulation Mediated by the NLRP3 Inflammasome Induces Cognitive Impairment in 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether (BDE-47)-Treated Mice." *Brain, Behavior, and Immunity* 65 (October): 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.05.014>.
- Zoccolella, S., E. Beghi, G. Palagano, A. Fraddosio, V. Samarelli, P. Lamberti, V. Lepore, L. Serlenga, and G. Logroscino. 2006. "Signs and Symptoms at Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population-Based Study in Southern Italy." *European Journal of Neurology* 13 (7): 789–92. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2006.01384.x>.
- Zou, Zhang Yu, Zhi Rui Zhou, Chun Hui Che, Chang Yun Liu, Rao Li He, and Hua Pin Huang. 2017. "Genetic Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 88 (7): 540–49. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-315018>.
- Zu, Tao, Yuanjing Liu, Monica Bañez-Coronel, Tammy Reid, Olga Pletnikova, Jada Lewis, Timothy M. Miller, et al. 2013. "RAN Proteins and RNA Foci from Antisense Transcripts in C9ORF72 ALS and Frontotemporal Dementia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (51): E4968. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315438110>.

VI. ANNEXE 1



Annexe 1. A) Imagerie confocale de la protéine recombinante TDP-43 à différentes concentrations, mis en contact des cellules microgliales. Ces cellules changent de

morphologie après stimulation par TDP-43 comparé au contrôle véhicule seul. Elles sont plus « rondes », amiboïdes. Le marquage anti-Histidine (His) nous permet de voir que la protéine TDP-43 forme des amas de taille de plus en plus importante lorsque la concentration protéique est augmentée. La protéine semble s'agréger. Échelle = 50µm.

B) Le traitement des microglies avec le PBMS, un inhibiteur d'endotoxines bactériennes, ne modifie pas la sécrétion de l'IL-1β après stimulation avec TDP-43 contrairement au contrôle LPS-Nigéricine dont la sécrétion d'IL-1β est diminuée après traitement au PBMS. Les sécrétions de cytokine TNF-α sont inchangés. La sécrétion de cytokines par les cellules microgliales mesurée après traitement TDP-43 est donc indépendante de contamination résiduelle bactérienne. NS = non significatif, comparaison des conditions -PBMS et +PBMS par test de Mann-Whitney.

C) Premier test de mise au point de détection de caspase-1 clivée et de protéine ASC dans le surnageant de cellules microgliales traitées par LPS + Nigéricine ou par LPS + TDP-43. **D)** Après stimulation, les cellules microgliales WT, C9orf72^{-/-} et *GRN*^{R493/R493X} ont été fixées puis comptées grâce au marquage DAPI. Le nombre de cellule est exprimé en quantité relative par rapport au contrôle 1. Les cellules microgliales mutantes ne semblent pas présenter de différences de survie face aux stimuli comparées aux cellules WT. Données présentées sous forme de moyenne ±SEM.

VII. ANNEXE 2

EN PREPARATION:

GRN and C9ORF72 mutations lead to hyperactivity of a common neuropathological pathway in microglia via the activation of the NLRP3 inflammasome by TDP-43 aggregates.

AUTHORS/AFFILIATIONS :

Julie Smeyers^{1,2}, Elena-Gaia Banchi¹, Ruiyi Yuan¹, Charlène Dabout¹, Paul Magneron¹, Dominique Langui¹, Mickaël Heneka^{5,6,7}, Isabelle Le Ber^{1,3}, Morwena Latouche^{1,2*}

1: ICM, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC-P6 UMR S 1127 - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2: École Pratique des Hautes Études - EPHE, PSL Research University, Laboratoire de Neurogénétique, F-75014, Paris, France

3: CNR-MAJ, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

4: Department of Neurodegenerative Disease and Geriatric Psychiatry, University of Bonn, Bonn, Germany.

5: German Center for Neurodegenerative Diseases, Bonn, Germany.

6: Department of Infectious Diseases and Immunology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA, USA.

7: Institute of Innate Immunity, University of Bonn, Bonn, Germany.

*: Correspondence: morwena.latouche@icm-institute.org

KEYWORDS: NLRP3 Inflammasome, TDP-43, FTD, ALS, Neuroinflammation

Abstract

Frontotemporal dementia (FTD) and Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) are two neurodegenerative diseases of a common clinical, genetic and neuropathological spectrum but common biological pathways leading to these two diseases remain elusive. In this study, we show that TDP-43, the most common form of aggregated protein in ALS and FTD, activates microglial NLRP3 inflammasome pathway through recognition by TLR receptors and its endocytosis. By stimulating *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} deficient murine microglia with TDP-43, we were able to show that these cells were hyperreactive, secreting more IL-1 β than WT cells. This effect was reproducible using monocyte-derived-microglia-like cells obtained from FTD patients with *C9ORF72* and *GRN* mutations. Our data highlight for the first time a similar dysregulation by mutations in the two main genes responsible for TDP-43 proteinopathy and causing, respectively, FTD and FTD/ALS. It points to neuroinflammation and microglia endolysosomal dynamics as key players in FTD and ALS and open new avenues for therapeutic development in these diseases.

Introduction

Frontotemporal dementia (FTD) and Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) are two neurodegenerative diseases that share common clinical, neuropathologic and genetic features (Abramzon et al. 2020; Nitrini 2014; Vanden Broeck, Callaerts, and Dermaut 2014). FTD is the second most frequent presenile dementia after Alzheimer disease (AD). It is characterized by behavioral disorders, cognitive dysfunctions and language impairments. These symptoms are accompanied by frontal and temporal lobes atrophy (Whitwell et al. 2015). In contrast, ALS is a progressive motor neuron disease which causes paralysis and muscle atrophy, leading to the patient's death within 3 to 5 years after the onset of symptoms (Mejzini et al. 2019). Nevertheless these two diseases are recognized as part of a common spectrum. Indeed, 50% of ALS patient develop "FTD-like" cognition and behavior disorders while up to 30% of FTD patients develop motor neuron disease (Adams and Isaacs 2010; Hardiman et al. 2017). Moreover, they share some genetic etiology (Burrell et al. 2016) and present common neuropathological hallmarks (M. Neumann et al. 2006; M. Neumann, Kwong, Sampathu, et al. 2007). Lately, these 2 diseases have been shown to have a strong neuroinflammatory component. Some genetic factors like *TREM2* and *TBK1*, two genes related to innate immunity, were identified in FTD and ALS patient cohorts (Rayaprolu et al. 2013; Rita João Guerreiro et al. 2013; Gijssels et al. 2015; Freischmidt et al. 2015b). Several murine models of FTD and FTD/ALS were also shown to develop immune dysregulation (J. G. O'Rourke et al. 2016; Atanasio et al. 2016; Nguyen et al. 2018; Yin, Banerjee, et al. 2010a). In particular, abnormal immune activation is the main phenotype of *C9orf72*^{-/-} mice, which reproduce the loss of function effect of *C9ORF72* intronic G4C2 repeats, the most common mutation in familial FTD and ALS (Renton et al. 2011; DeJesus-Hernandez et al. 2011; Gijssels et al. 2012). In 2016, these mice were shown to develop auto-immune disease with splenomegaly and lymphadenopathy due to lysosomal tissue engorgement, and abnormal peripheral immunity (Atanasio et al. 2016; J. G. O'Rourke et al. 2016). The second most frequent genetic cause of FTD is haploinsufficiency of progranulin (PGRN) resulting from loss of function mutations in the *GRN* gene (van Swieten and Heutink 2008; Viodé et al. 2018; Gass et al. 2012). Interestingly, *Grn*^{R493X/R493X} knockin mice that phenocopy *Grn* knockout mice, present massive microgliosis, cytoplasmic TDP-43 accumulation, reduced synaptic density, lipofuscinosis, hyperinflammatory

macrophages, excessive grooming behavior, and reduced survival (Nguyen et al. 2018). Other characteristics may vary but proinflammatory hyper-activated microglia have been reported in all PGRN loss of function murine models (Yousef et al. 2017; Petkau et al. 2012; Ahmed et al. 2010; Yin, Banerjee, et al. 2010a). These murine models highlighted the fact that C9ORF72 and PGRN are functionally important for microglia, the innate immunity cells in the central nervous system (CNS). In addition, these proteins are also known to play a crucial role in lysosomal function (Amick, Roczniak-Ferguson, and Ferguson 2016; X. Zhou et al. 2019). However, the mechanisms through which C9ORF72 or PGRN deficiency affect microglia reactivity are still unknown.

In 2006, TDP-43 (Transactive response DNA-binding protein-43) protein was discovered as the major component of neuropathologic inclusions in FTD (50%) and in ALS (98%) (Arai et al. 2006; M. Neumann et al. 2006). Interestingly, TDP-43 aggregates are found in all cases with *C9ORF72* or *GRN* mutations. TDP-43 is an RNA-binding protein involved in RNA metabolism, normally expressed in cell nucleus. In FTD and ALS patient brains, TDP-43 was found relocated in the cytoplasm of neurons and some glial cells (Baloh 2011) in the form of aggregates, where it is truncated, hyperphosphorylated, and/or ubiquitinated (Arai et al. 2006). TDP-43 was shown to be secreted by neurons via extracellular vesicles (Iguchi et al. 2016; Yipeng Wang et al. 2017). Moreover, this protein has prion-like properties (Nonaka et al. 2013) which could explain its propagation throughout the brain over time (Brettschneider et al. 2015). A major issue is now to understand if these neuropathological events leading to neuron degeneration are cellular or non-cellular autonomous (Boillée, Vande Velde, and Cleveland 2006). In the extracellular space, aberrant proteins can be recognized as danger elements by microglia. Interestingly, misfolded proteins or aggregates like A β in Alzheimer's disease or α -syn in Parkinson's disease were demonstrated to activate a microglial signaling pathway called the NLRP3 inflammasome (Heneka, McManus, and Latz 2018; Lučiūnaitė et al. 2020; Codolo et al. 2013). This pathway leads to pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IL-18 secretion in the extracellular space promoting neuroinflammation and cell death (Y. Zhang, Dong, and Song 2020). TDP-43 was also shown to be able to activate NLRP3 inflammasome (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017) but the mechanism by which this activation occurs is not clear. The work presented here aimed first to further elucidate how TDP-43 activates the NLRP3 inflammasome in microglia. Then, we investigated whether *C9ORF72* and

GRN mutated microglia would be abnormally sensitized to this activation and whether this would correlate with abnormal autophago-lysosomal dynamics... To this end, we analyzed differences in NLRP3 inflammasome activation after TDP-43 stimulation in wild-type (WT), *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} microglia as well as in monocyte-derived-microglia-like cells obtained from *C9ORF72* and *GRN* mutated patients.

Results

1/ TDP-43 activates microglia through the NLRP3 Inflammasome

In order to explore the mechanism by which TDP-43 is capable of activating microglial cells and to confirm that this activation triggers the inflammasome NLRP3 (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017), we have set up a model of primary cultures of murine microglia. We chose to use recombinant human TDP-43 carrying a N-terminal 6xHis tag at four increasing concentrations in agreement with previous work (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017): 100ng/mL; 500ng/mL; 2,5µg/mL and 5µg/mL. TDP-43 is known to spontaneously aggregate in physiological buffers (B. S. Johnson et al. 2008; Furukawa et al. 2011). In our hands, it formed granulo-fibrillar structures within 30 minutes in the culture medium as observed by electronmicroscopy (Supplemental Figure 1A). Treatment with LPS (lipopolysaccharide) 50ng/mL for 3,5 hours followed by a 30 minutes exposure to Nigericin 2,5µM was used as a positive control for NLRP3 inflammasome activation. After 16h or 24h of stimulation, pro-inflammatory cytokines TNF-α and IL-1β concentrations were measured in cell supernatants by ELISA. TDP-43 treatment resulted in TNF-α and IL-1β secretion increasing with TDP-43 concentrations from 100ng/mL to 2,5 µg/mL (Figure 1A). Between 2,5 µg/mL and 5 µg/mL there is no further increase in IL-1β secretion.

By confocal microscopy, we observed a change in the morphology of microglial cells labeled with anti-CD11b. When stimulated by TDP-43, microglia present a more spread-out profile, with fewer branches, characteristic of activated microglia in culture... Exogeneous TDP-43 (marked by anti-His antibodies) seems to form "clusters" on the surface of microglial cells (Figure 1B). Co-treatment of microglial cells with 10 µg/ml PMBS (Polymyxin B sulfate), an inhibitor of LPS binding to TLR4, did not alter the activation of microglia by TDP43, ruling out the chance that activation was due to contaminating endotoxins associated with the recombinant TDP-43 (Supplemental Figure 1B). On the opposite, PMBS treatment abrogated the effect of

LPS + nigericine as expected. Since IL-1 β secretion increased significantly after microglial cells stimulation by TDP-43, we wanted to assess whether that activation depends on the NLRP3 inflammasome (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017). We chose two complementary approaches, first using an NLRP3 inflammasome inhibitor and then *Nlrp3*^{-/-} cells.

The CRID3 inhibitor also known as MCC95 prevents oligomerization of the NLRP3 complex and subsequent maturation of pro-inflammatory cytokines (Deora et al. 2020). After application of this inhibitor and microglia stimulation by TDP-43, IL-1 β secretion was completely inhibited (Figure 2A). This suggests that the IL-1 β secretion following TDP-43 stimulation is entirely dependent on the NLRP3 inflammasome. To confirm this result, we set up *Nlrp3*^{-/-} microglia primary cultures. Similarly, after stimulation of those microglia by TDP-43, there was no IL-1 β secretion anymore (Figure 2B).

Furthermore, by immunofluorescence, we detected the presence of aggregates (also called "specks") of the ASC protein, which are hallmarks of inflammasomes activation (Kuri et al. 2017; Lu et al. 2014), after treatment with TDP-43 (Figure 2C). Indeed, following inflammasome activation, this protein gathers to form puncta within the cell. This rapid and irreversible assembly of the protein would allow the maturation of a greater quantity of caspase-1 and would act as an amplifying phenomenon (Sborgi et al. 2015; Lu et al. 2014; Kuri et al. 2017). After confirming that TDP-43 activates microglia via the NLRP3 inflammasome pathway, we wanted to understand the mechanism of this activation in more details

2/ TDP-43 interacts with TLR2/4 and is internalized by microglia to trigger the non-canonical activation of the NLRP3 inflammasome

In other neurodegenerative diseases, it has been shown that protein aggregates can bind to TLRs and be internalized by microglia to activate the NLRP3 inflammasome. In Alzheimer's disease, TLR2/4 receptors and their CD14 co-receptor have been shown to be necessary for A β recognition, internalization and initiation of signaling pathways within the cell (Erin G. Reed-Geaghan et al. 2009; Arroyo et al. 2011). These same TLR2 and TLR4 receptors appear to be able to recognize α -synuclein and allow its phagocytosis and the establishment of an immune response in mouse and cellular models of Parkinson's disease (C. Kim et al. 2013; Daniele et al. 2015; Stefanova et al. 2011; Fellner et al. 2013). These receptors therefore appear to be good candidates

for the recognition of aggregated or abnormally conformed proteins by microglia. In order to better decipher the mechanisms of microglial activation by TDP-43 in our model, we chose to use a TLRs 2/4 inhibitor, OxPAPC (Oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) which acts by competing with TLR2/4 partners CD14, LBP and MD2 (Erridge et al. 2008). Following this OxPAPC treatment, we observed a total inhibition of IL-1 β secretion after microglia stimulation by TDP-43 (Figure 3A), confirming that TDP-43 aggregates need to interact with TLR2/4 to activate the NLRP3 inflammasome in microglia. Immunogold labeling of ultrathin sections of microglia stimulated with TDP-43 aggregates were analyzed by electron microscopy. They revealed that pieces of extracellular TDP-43 aggregates were phagocytosed and internalized (Figure 3B).

To further characterize the microglial activation pathway resulting from TDP-43 recognition by TLR2/4 and internalization of the protein, we investigated through which specific pathway the NLRP3 inflammasome could be activated. Indeed, two different pathways exist: the canonical and non-canonical pathways (Kayagaki et al. 2011; Malik and Kanneganti 2017) which differ by the caspases involved. The canonical pathway involves caspase-1 maturation, whereas in the non-canonical pathway maturation of murine caspase 11 (or caspase 4/5 in humans) precedes caspase-1 activation (Malik and Kanneganti 2017). We treated microglia with Ac-YVAD-cmk, a caspase-1 inhibitor, and wedelolactone, a caspase-11 inhibitor, to determine whether microglial NLRP3 inflammasome activation by TDP-43 was via the canonical or noncanonical pathway. DMSO, the resuspension buffer for Ac-YVAD-cmk and wedelolactone was used as a control. We observed an almost complete decrease of IL-1 β secretion after microglia stimulation by TDP-43 when treating cells with Ac-YVAD-cmk as expected, but also with wedelolactone (Figure 3C). Since caspase-11 activation appears necessary for IL-1 β secretion after microglia stimulation by TDP-43, we concluded that TDP-43 activates the non-canonical pathway of the NLRP3 inflammasome.

3/ C9ORF72 and GRN deficient microglia are hyperactivated by TDP-43

Since TDP-43 aggregates are associated with a major proportion of both sporadic and familial forms of FTD and ALS, our results bring new insights on neuroinflammatory mechanisms in both diseases and in TDP-43 proteinopathies in general. However, because *C9ORF72* and *GRN* mutations are always associated with this type of

inclusions and both C9ORF72 and PGRN appear to regulate immune mechanisms, we then investigated the impact of *C9ORF72* and *GRN* mutations on microglial reactivity to TDP-43 aggregates. When *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} microglia primary cultures were exposed to TDP-43 stimulation IL-1β secretion was twice higher than in WT cells (Figure 4A). Interestingly, we did not observe IL-1β secretion after vehicle treatment in mutant microglia, which shows that cells are not basically activated but simply sensitized to certain types of activation. These results suggest that C9ORF72 and PGRN proteins play a key role in microglial reactivity. However, these are complete loss of function models in murine microglia. FTD and FTD/ALS patients are heterozygotes for *C9ORF72* and *GRN* mutations, and *C9ORF72* mutations do not cause only haploinsufficiency (Balendra and Isaacs 2018). Moreover human and murine immune pathways are not identical (Junhee Seok et al. 2013). To address these issues we set up a "human microglia-like" model using monocyte-derived microglia-like cells (MDMi) from control individuals or *C9ORF72* or *GRN* mutation carriers (named *C9ORF72*^{mut} or *GRN*^{mut}) (Figure 4B)(Sellgren et al. 2017). MDMi stimulation by TDP-43 induces greater IL1-β secretion in the supernatant of *C9ORF72*^{mut} or *GRN*^{mut} cells compared to control cells (Figure 4C). This result confirmed that in a real mutational context, in human microglia-like cells, C9ORF72 and PGRN deficiencies cause hyper-reactivity of the NLRP3 inflammasome pathway to stimulation by TDP-43. Studies conducted by (C. S. Shi et al. 2012) show that activation of the NLRP3 inflammasome triggers a negative feedback through the autophagy pathway. Indeed, targeted degradation by autophagy of the inflammasome components and of the inflammasome activators serves to dampen the activity of this pro-inflammatory complex. Since C9ORF72 and PGRN are known to regulate the autophago-lysosomal pathway we wondered if lack of C9ORF72 or PGRN protein would disrupt the inflammasome-autophagy negative feedback loop. We first immunolabelled the p62 protein since it is an adaptor protein for the delivery of ubiquitinated phagophore proteins (Lippai and Lyw 2014) (Figure 4D). As expected (C. S. Shi et al. 2012), the number of p62-positive structures increases massively in WT upon NLRP3 inflammasome stimulation (Figure 4E). However, this increase is much smaller in *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} microglia while the average diameter of p62-positive structures gets larger in *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} microglia compared to WT (Figure 4E). These alterations do suggest that the negative feedback loop between the inflammasome activation and autophagy is indeed impaired by C9ORF72

or PGRN deficiency and this may lead to excessive activation of the NLRP3 inflammasome.

Discussion

In order to identify a common biological pathway to several forms of FTD-ALS, we focused our study on neuroinflammation and TDP-43 protein, the major component of neuropathological inclusions associated with FTD and ALS (M. Neumann, Tolnay, and Mackenzie 2009). We demonstrate that TDP-43 is able to activate the microglial NLRP3 inflammasome pathway, through interaction with TLR2/4 receptors and endocytosis. Our results confirm the observations of Zhao et al and Leal-Lasarte et al (Zhao et al. 2015; Leal-Lasarte et al. 2017), although our models are different. We were able to describe this activation pathway further using caspase inhibitors to show that TDP-43 activates the non-canonical pathway of the NLRP3 inflammasome. Then, we focused to the two most common genetic forms of FTD and FTD/ALS, *C9ORF72* and *GRN* mutations (Finger 2016; Casterton, Hunt, and Fanto 2020). Based on their known impact on the regulation of the immune system (Atanasio et al. 2016; J. G. O'Rourke et al. 2016; Nguyen et al. 2018; Yin, Banerjee, et al. 2010b), we investigated the consequences of their loss of function on microglial reactivity. In our primary murine microglia culture models, or in the *MDMi* model, mutant cells were hyperactivated by TDP-43 compared to control cells. This raised the question as to the actual cause of this hyperactivation. To answer it, we studied the inflammasome-autophagy negative feedback loop, looking at p62-positive structures number and diameter in microglia upon stimulation by TDP-43. Decrease in the mean number of p62-positive structures, together with an increase in their diameters upon activation of *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493/R493X} microglia, may reflect an alteration of this pathway that is necessary to regulate inflammasomes activation.

With this study, we identified new common molecular targets to different forms of TDP-43-FTD and TDP-43-FTD/ALS. On the other hand, microglial activation of the NLRP3 inflammasome pathway may be a common mechanism to all forms of FTD and FTD-ALS. Indeed, both Tau and SOD1 proteins are known to activate this signaling pathway (Debye et al. 2018; Bellezza et al. 2018; Stancu et al. 2019b). A very recent paper showed by *In vivo* PET-scan in FTD patients, that activated microglial cells were co-localized with TDP-43 and Tau aggregated proteins (Bevan-Jones et al. 2019). A

confirmation of this association between activated amoeboid microglial cells and protein inclusions was validated by immunohistochemical labelling in postmortem brains (Bevan-Jones et al. 2020). This data provides new elements of microglia activation by protein aggregates in FTD patient brains. Concerning pure ALS, high levels of NLRP3, ASC, IL-1 β , IL-18 and active caspase-1 were detected in patient tissue (Debye et al. 2018).

Nevertheless, we show here for the first time that *C9ORF72* and *GRN* mutations sensitize microglia to the activation of this pathway, making it an even stronger case in favor of the role of the NLRP3 inflammasome in FTD and FTD/ALS. While it is hypothesized that the impairment of the autophago-lysosomal pathway resulting from *C9ORF72* and *PGRN* haploinsufficiency in neurons may be the cause of TDP-43 accumulation and aggregation (Sullivan, Zhou, and Hu 2017; Budini et al. 2017), we show here that in microglia this impairment may result in hyper-reactivity of microglial cells to TDP-43. Hyper-activated microglia then secrete a massive amount of pro-inflammatory cytokines that generate a toxic environment for neurons.

FIGURES

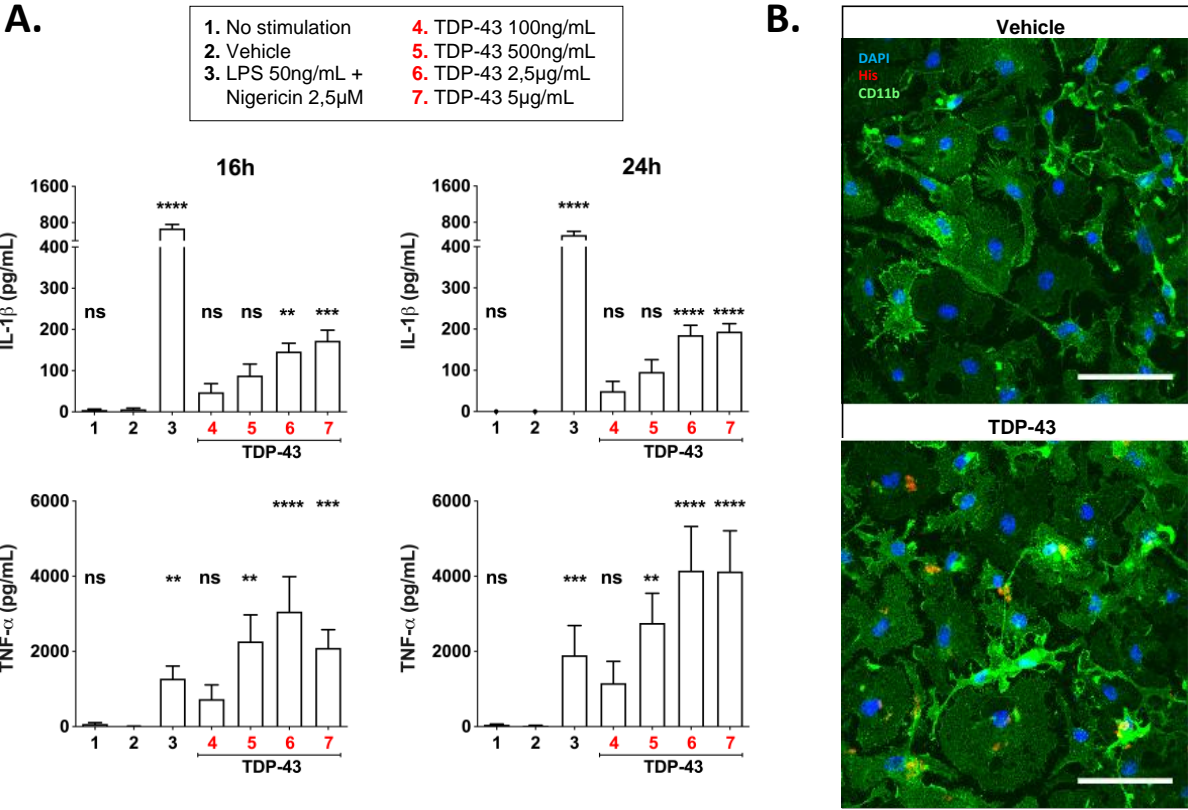


Figure 1. TDP-43 protein activates WT microglia. **A)** Microglia were treated 16h or 24h with TDP-43 at four different concentration or with controls. The addition of TDP-43 at 2,5μg/mL and 5μg/mL significantly increase IL-1β secretion. TNF-α secretion is increased significantly after TDP-43 stimulation. Comparison of the different condition with 2 by non-parametric Kruskal-Wallis Test * p<0.05, **p<0.01 ns : non significant (N ≥ 12). **B)** Co-IF analysis by confocal microscopy of CD11b (green) and TDP-43 with histidine-tag (His in red). Microglia morphology differ after stimulation with TDP-43. Scale = 50μm.

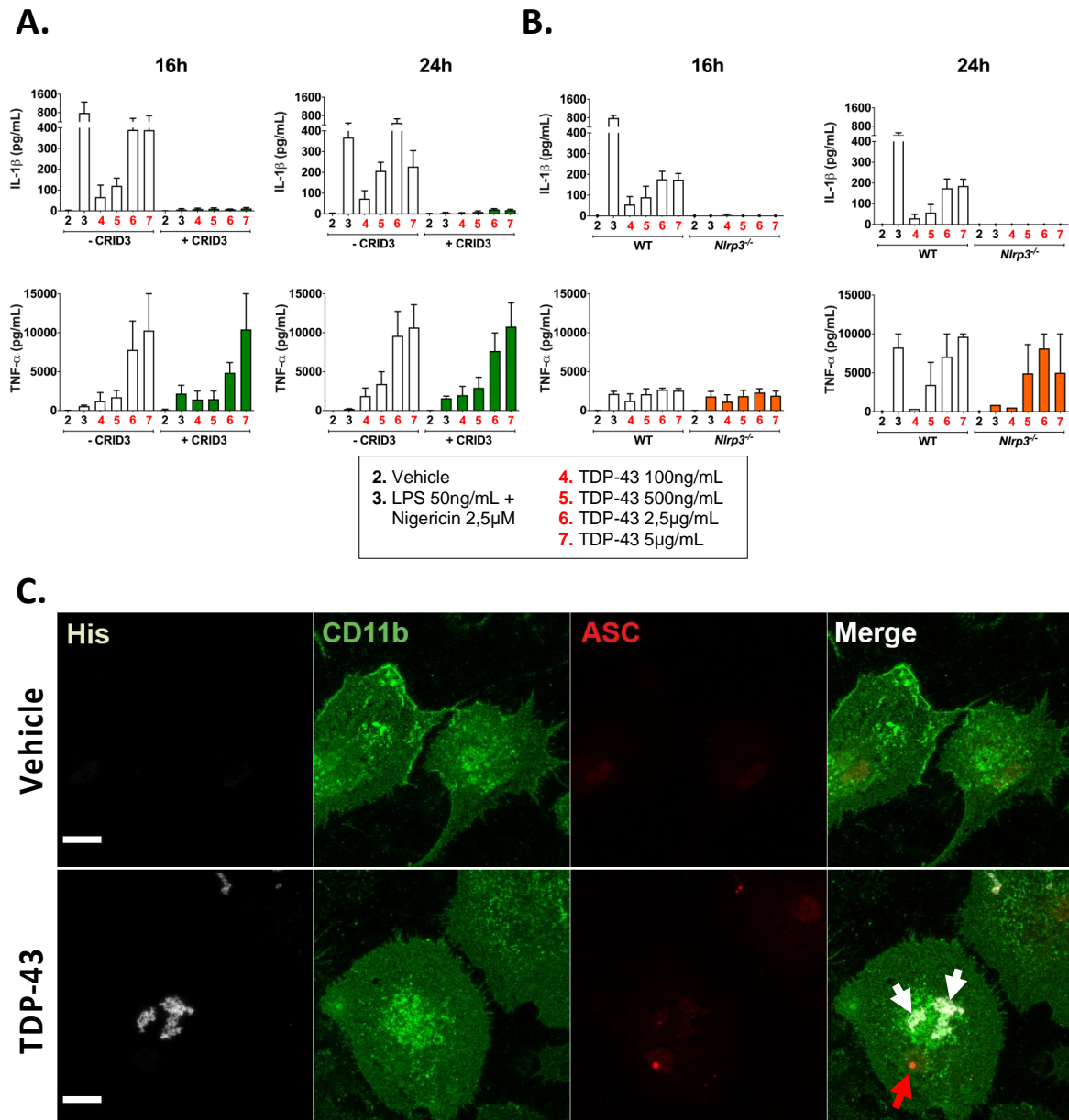


Figure 2. TDP-43 protein activates the NLRP3 inflammasome. **A)** Microglia were treated or not during 16h or 24h with CRID3, an inhibitor of NLRP3 inflammasome pathway. With CRID3 treatment, IL-1 β secretion is abolished after microglia stimulation by TDP-43. This is not the case for TNF- α . **B)** *Nlrp3*^{-/-} microglia were treated with the same stimuli than WT cells. After *Nlrp3*^{-/-} microglia stimulation by TDP-43, no secretion of IL-1 β were measured as compared as WT cells. TNF- α secretion is nearly the same between *Nlrp3*^{-/-} and WT microglia. **C)** Co-IF analysis by confocal microscopy of CD11b (green), TDP-43 with histidine-tag (His in white) and ASC (in red), with or without 24H of TDP-43 stimulation. TDP-43 aggregates colocalizing with CD11b are shown with white arrows; ASC specks are shown with red arrows in microglia. Scale = 20 μ m.

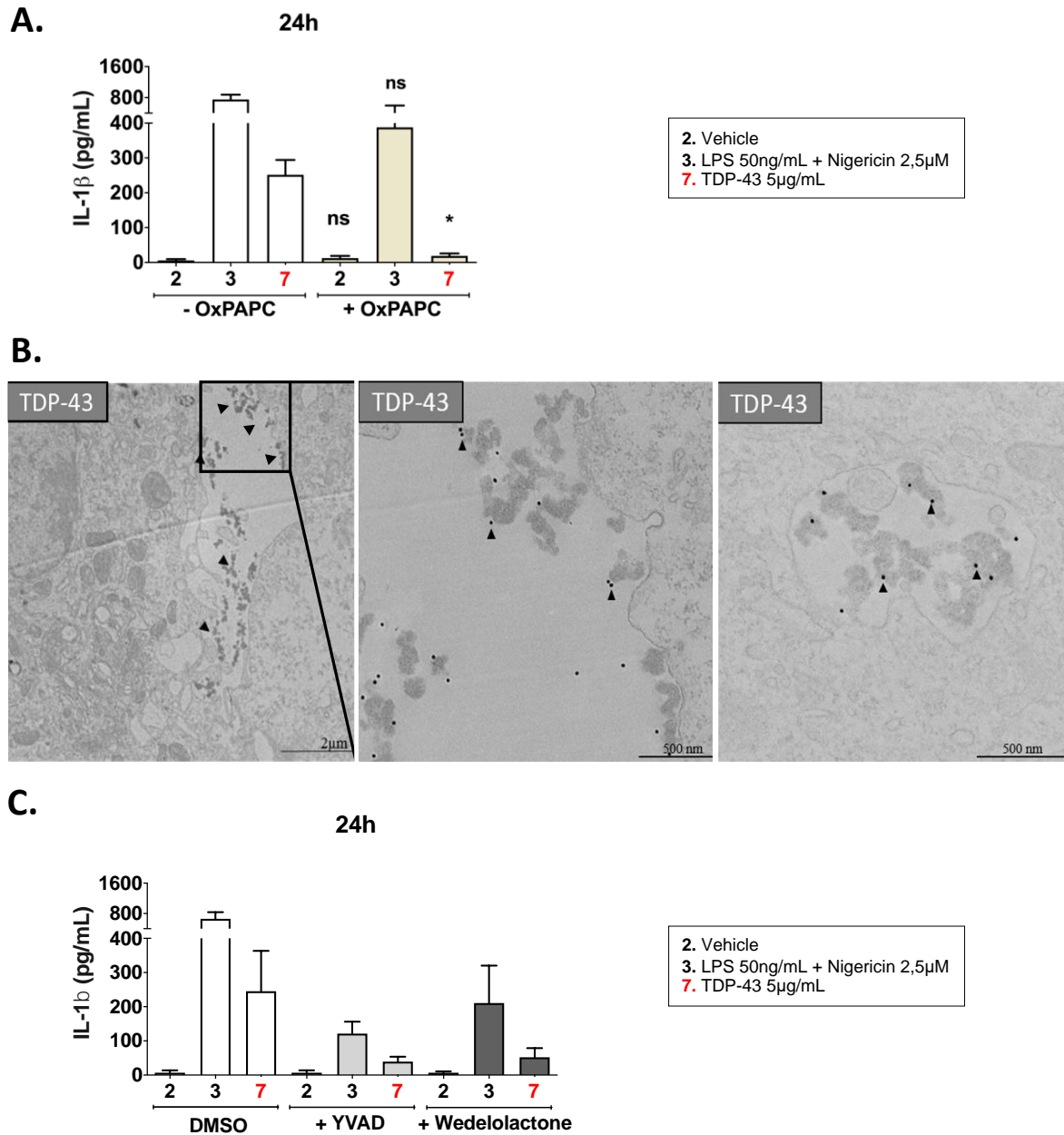


Figure 3. TDP-43 protein is internalised by microglia after its binding to CD14 receptor, and activates both canonical and non-canonical pathways of the NLRP3 inflammasome. **A)** Microglia were treated for 24h with a CD14 antagonist and inhibitor of TLR2/4 receptors, OxPAPC. Secretion of IL-1 β is totally abolished after TDP-43 microglia stimulation and OxPAPC treatment. Ns: no significant * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Comparison of a same stimulus in condition +OxPAPC with -OxPAPC using non parametric Mann-Whitney Test. **B)** After 16h of stimulation with TDP-43 at 2,5 μ g/mL, microglia were observed by electronic microscopy. Thanks to immunogold against TDP-43, TDP-43 aggregates structure were shown nearby and internalised within the cells (arrow). **C)** WT microglia were treated with YVAD, a caspase-1 inhibitor, and Wedelolactone, inhibitor of caspase-11. After these treatment, IL-1 β secretion induced by TDP-43 is decreased ($N \geq 3$).

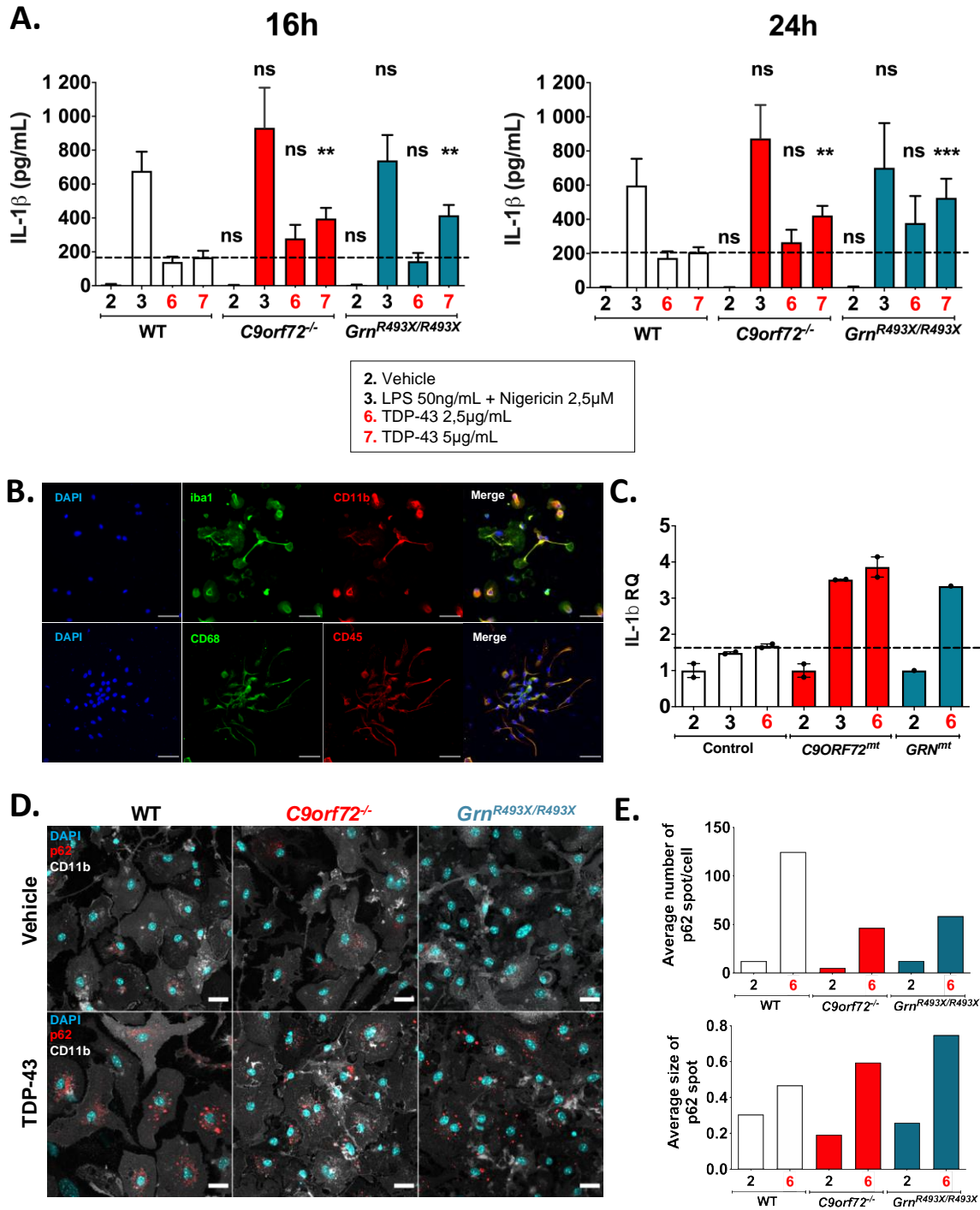
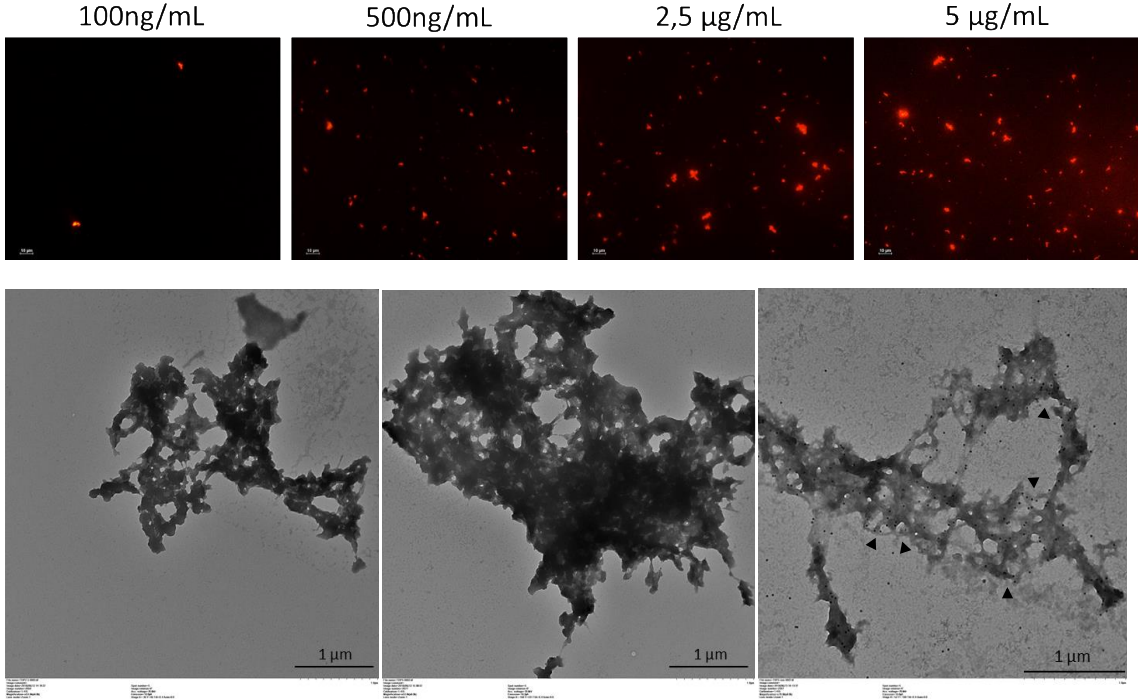


Figure 4. C9ORF72 and PGRN deficient microglia are hyperreactive to TDP-43 stimulation. **A)** WT, *C9orf72*^{-/-} and *Grn*^{R493X/R493X} microglia were treated with the two higher concentrations of TDP-43 and controls for 16h or 24h. The horizontal black line represents the IL-1 β secretion by WT microglia after TDP-43 5 μ g/mL stimulation. At 16h and 24h, IL-1 β secretion is significantly increased, almost doubled, after TDP-43 5 μ g/mL stimulation of mutated microglia. (N \geq 6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Comparison of a same stimulus between mutant and control cells using non parametric Mann-Whitney Test. **B)** Co-IF analysis by confocal microscopy of iba1 (green) and CD11b (red), or CD68 (green) and CD45 (red) in *MDMi* control cells. Scale = 50 μ m **C)** *MDMi* from one control, one *C9ORF72* mutation carrier and one *GRN* mutation carrier were treated

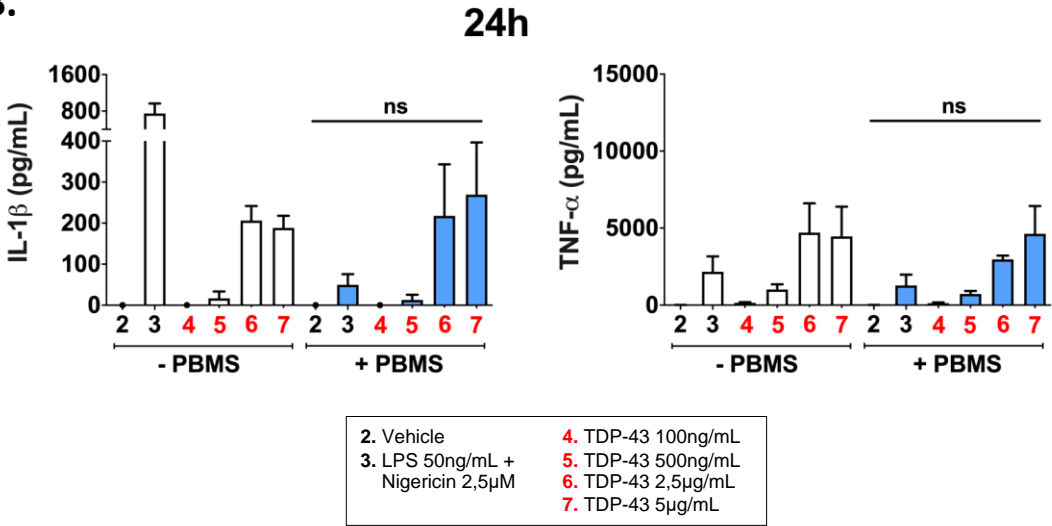
24h with TDP-43 2,5µg/mL. The horizontal black line represents the IL-1β secretion by control *MDMi* after TDP-43 2,5µg/mL stimulation. As for murine microglia, the IL-1β secretion after TDP-43 treatment, is increased for mutated *MDMi*. **D)** Co-IF analysis by confocal microscopy of p62 (red) and CD11b (white) in WT, *C9orf72^{-/-}* and *Grn^{R493/R493X}* murine microglia without or with TDP-43 stimulation. Scale = 20 µm. **E)** Quantification of the average number of p62 spot/cell and the average size of p62 spot, depending on microglia genotype. After cells treatment by TDP-43, the average number of p62 spots are decreased in mutant cells whereas p62 spot average size are increased in mutant.

SUPPLEMENTAL 1

A.



B.



Supplemental 1. A) Confocal and electronic microscopy imaging of the recombinant protein TDP-43. By anti-TDP-43 labelling coupled to gold beads (image on the top-right) we confirm that the observed structures correspond to the TDP-43 protein. **B)** Treatment of microglia with PMBS, an endotoxin inhibitor, do not change IL-1β secretion after TDP-43 stimulation. This secretion is TDP-43 dependant only.

SUPPLEMENTAL 2: Materials and Methods

1/ Materials

Culture media, serum and antibiotics were purchased from Gibco BRL (Rockville, MD, USA). All compounds used in this study are summarized in the following table:

Compound	References
TDP-43 recombinant human protein	Abcam #Ab156345
LPS	Invivogen # tlr-pekips
Nigericin	InvivoGen # tlr-nig
PBMC	Sigma Aldrich #5291
CRID3	TOCRIS #5479
OxPAPC	OxPAPC #tlr-oxp, InvivoGen
YVAD	Ac-YVAD-cmk #inh-yvad, InvivoGen
Wedelolactone	Wedelolactone , Santa-Cruz#2006-648

2/ Cell cultures

Animals

In order to study neuroinflammation in FTD/ALS, we took advantage of existing mouse lines reproducing C9ORF72 (C57BL/6J3110043O21Rikem5Lutzy/J(C9orf72^{-/-}) line) and progranulin (B6.129S4(SJL)- Grntm2.1Far/J(GRNR493X/R493X) deficiencies that are found in patients with these mutations. The mice are bred at the Paris Brain Institute animal care facilities according to current standards. All animal experiments were approved by the institutional animal care and use committee CEEA – 005 and in agreement with the European legislation N°2010/63 UE. The founding males of the C57BL/6J- 3110043O21Rikem5Lutzy/J(C9orf72^{-/-}) line were provided to us by Jackson Laboratory and those of the B6.129S4(SJL)- Grntm2.1Far/J(GRNR493X/R493X) line were given to us in collaboration with Eric Huang.

Microglia murine primary culture

Microglia primary cultures were performed using newborn brains of controls (C57BL6/N), the transgenic line C57BL/6J-3110043O21Rikem5Lutzy/J(C9orf72^{-/-}) or B6.129S4(SJL)-Grntm2.1Far/J(GRNR^{R493X/R493X}). Primary microglia culture consists of two main steps: first a mixed culture of microglia on astrocyte mats, and secondly a

pure culture of microglia. Newborn mice brains (less than two days old) are collected by dissection of the skull. Brains are placed in a petri dish (60 mm) containing Hank's Balanced Salt Solution (HBSS Gibco™ #14025-050) for meninges removal under a binocular magnifying glass (Nikon SMZ800). The brains are recovered in a 50mL Falcon and mechanically dissociated by gentle pipetting into 5mL of HBSS. After dissociation, HBSS medium is added. After 5 minutes of settling, the mixed cell suspension is recovered in a cold 50mL Falcon. Brain pieces are dissociated again. Decantation and cell suspension recovery steps are repeated twice. The resulting cell suspension is then centrifuged at 1200rpm for 10 minutes at 4°C. The pellet is resuspended with culture medium containing DMEM (Gibco™ GlutaMAX™ #31885-023), supplemented with 10% decompemented calf fetal serum free of endotoxins (HI FBS Gibco™ #10082-147), 1% Penicillin and 1% Streptomycin (Gibco #15070-063). The cell suspension is cultured in flasks (75 mm²) previously coated with Poly-L-Lysine (SIGMA #P4832) for 30 minutes at 37°C (5% CO₂) then washed three times with Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS 1x, Gibco™ #14190-094). We place 1 brain per flask. The culture flasks are incubated at 37°C (5% CO₂). The cell culture medium is changed 8 days after culture. Eight days after this change of medium, microglia are ready for harvest. As microglia are suspended in the culture medium (astrocyte remain adherent to the plastic), microglia are obtained by light shaking and recovery of the culture medium in a 50mL Falcon. After centrifugation, cells are resuspended in fresh culture medium. Microglia are harvested and inoculated at the density of 1,5x10⁵ per 96-well plate well for stimulation and ELISA analysis, or at the density of 1,5x10⁵ cells per Lab-Tek slide well (BD Falcon™ #354108) for immunofluorescence and electron microscopy.

MDMi (monocyte-derived microglia-like)

Blood monocytes from FTD patients with *GRN* or *C9ORF72* mutation and control individuals are first isolated using a Ficoll gradient cell separation protocol and then with a Miltenyi selection kit (MACS® cell separation). Recovered Monocytes are then differentiated into MDMi according to the published protocol of Sellgren et al. (Sellgren et al. 2017). Briefly, after obtaining PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) from control individuals or *C9ORF72* or *GRN* mutation carriers blood samples (named *C9ORF72*^{mut} or *GRN*^{mut}), monocytes positively-selected are plated in a differentiation medium containing GM-CSF and IL-34. After 15 days, MDMis positive to CD11b, CD68

and CD45 staining (Figure 4B), are harvested and plated to be stimulated by TDP-43 recombinant protein. To determine whether TDP-43 also causes activation in our human cell models, microglia were incubated for 24 hours with recombinant TDP-43 at 2,5µg/mL.

3/ ELISA assay

In order to measure IL-1β and TNF-α pro-inflammatory cytokines concentration in cell culture medium after microglia stimulation, we used these two Abcam kits #ab210895 #ab212073.

4/ Transmission Electronic Microscopy (TEM)

For TEM, we plated 150 000 primary mice microglia/well per treatment onto Lab-Tek chamber (8 wells; #154534; ThermoFisher). After 4-16-24-hr stimulation, the cells were fixed for 30 minutes with 2% paraformaldehyde (PFA), 2% glutaraldehyde, 1mM CaCl in 0.1M cacodylate buffer (for morphology study) or 4% PFA, 0.1% glutaraldehyde, 1mM CaCl in 0.1M NaH₂PO₄ buffer (for immuno-gold staining study). For TDP-43 immuno-gold staining, after washes, the cells were incubated with rabbit anti-TDP43 primary antibody (1:200; #10782-2-AP; Proteintech), 0.1% Tween in 0.1M NaH₂PO₄ buffer overnight at 4°C. After washes, the cells were incubated with 15nm immuno-gold secondary antibody F(ab')₂ fragment of goat anti-rabbit IgG (1:40; #815.166; Aurion) in 0.1M NaH₂PO₄ buffer 1-hr at RT and washed. All washing steps were performed so far in 0.1M NaH₂PO₄ buffer. The cells were then contrasted for 30min with 2% osmium tetroxide, then washed with H₂O MiliQ and incubated with 5% uranyl acetate for 30min. Subsequently, cells were dehydrated in an ascending ethanol series (50% to 100%) and embedded thanks to EMbed 812 Kit (#14120; EMS). After hardening at 60°C for 48-hr, blocs were cut in ultra-thin slices of 70nm (ultra-microtome EM UC7; Leica Germany). The ultra-thin sections were mounted on copper grid (for morphology study) or nickel grid (for immuno-gold staining study). The sections were contrasted with 3% lead citrate solution (#11300; Deltavision) for 5min and washed with H₂O MiliQ. Images were taken using a camera AMT XR41-B (2048x2048 pixels) integrated into a Hitachi HT7700 (70kV operational voltage) TEM, and edited with Fiji software.

5/ Confocal microscopy

Microglia were stained thanks to multiples antibodies: anti-CD11b (MCA711 AB Setrotec), anti-ASC (AG-20B-0006 AdipoGen), anti-Histidine (H1029 Sigma Aldrich), anti-p62 (ab56416 abcam). Then, images of microglia are acquired by a confocal microscope (Leika DMI8) at x60 magnification. For images analysis which aimed at quantifying the p62 spots, each condition was photographed five times in different fields. Images were then analyzed on the Fiji software. On all images, the number of cells is counted thanks to the DAPI staining. After application of a filter allowing the software to recognize the nuclei as objects, it is able to count the number of nuclei. A second filter is applied allowing this time to create objects for each p62 spot, the software can then quantify the number of p62 spots and their average diameter. Then the number of p62 spot per cell per condition is calculated taking into account about 250 cells per condition.

6/ Statistical Analysis

The data were analyzed by Kruskal Wallis One-way ANOVA test followed by Dunn's multiple comparison test for figure 1. For others figures, non-parametric Mann-Whitney test were performed. All these comparisons were performed using Prism version 6.07 software (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA USA, " www.graphpad.com ") for Windows. All individual experiment was performed in duplicate or triplicate. All data are represented as Mean \pm SEM; $p < 0.05$ is considered statistically significant (*).

Acknowledgments

This study was supported by grants from JPND and France Alzheimer. The authors have no conflicting financial interests. The research leading to these results has received funding from the program "Investissements d'avenir" ANR-10-IAIHU-06. « All animal work was conducted at the PHENO-ICMice facility. This work benefited from equipment and services provided by the CELIS cell culture platform (Institut du cerceau, Paris, France), a core facility supported through ANR-1à-IAIHU-06 and ANR-11-INBS-0011-NeurATRIS funding.

References

- Abramzon, Yevgeniya A., Pietro Fratta, Bryan J. Traynor, and Ruth Chia. 2020. "The Overlapping Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia." *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00042>.
- Adams, Scott, and Jonathan Isaacs. 2010. "Amyotrophic Lateral Sclerosis." *JHS*. <https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2009.08.015>.
- Ahmed, Zeshan, Hong Sheng, Ya Fei Xu, Wen Lang Lin, Amy E. Innes, Jennifer Gass, Xin Yu, et al. 2010. "Accelerated Lipofuscinosis and Ubiquitination in Granulin Knockout Mice Suggest a Role for Progranulin in Successful Aging." *American Journal of Pathology* 177 (1): 311–24. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090915>.
- Amick, Joseph, Agnes Rocznia-Ferguson, and Shawn M. Ferguson. 2016. "C9orf72 Binds SMCR8, Localizes to Lysosomes, and Regulates MTORC1 Signaling." *Molecular Biology of the Cell* 27 (20): 3040–51. <https://doi.org/10.1091/mbc.E16-01-0003>.
- Arai, Tetsuaki, Masato Hasegawa, Haruhiko Akiyama, Kenji Ikeda, Takashi Nonaka, Hiroshi Mori, David Mann, et al. 2006. "TDP-43 Is a Component of Ubiquitin-Positive Tau-Negative Inclusions in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351 (3): 602–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.10.093>.
- Arroyo, Daniela S., Javier A. Soria, Emilia A. Gaviglio, Maria C. Rodriguez-Galan, and Pablo Iribarren. 2011. "Toll-like Receptors Are Key Players in Neurodegeneration." *International Immunopharmacology*. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.05.006>.
- Atanasio, Amanda, Vilma Decman, Derek White, Meg Ramos, Burcin Ikiz, Hoi Ching Lee, Chia Jen Siao, et al. 2016. "C9orf72 Ablation Causes Immune Dysregulation Characterized by Leukocyte Expansion, Autoantibody Production, and Glomerulonephropathy in Mice." *Scientific Reports* 6 (March). <https://doi.org/10.1038/srep23204>.
- Balendra, Rubika, and Adrian M. Isaacs. 2018. "C9orf72-Mediated ALS and FTD: Multiple Pathways to Disease." *Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0047-2>.
- Baloh, Robert H. 2011. "TDP-43: The Relationship between Protein Aggregation and Neurodegeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration." *FEBS Journal*. FEBS J. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08256.x>.
- Bellezza, Ilaria, Silvia Grottelli, Egidia Costanzi, Paolo Scarpelli, Eva Pigna, Giulio Morozzi, Letizia Mezzasoma, et al. 2018. "Peroxy-nitrite Activates the NLRP3 Inflammasome Cascade in SOD1(G93A) Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Molecular Neurobiology* 55 (3): 2350–61. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0502-x>.

- Bevan-Jones, W. Richard, Thomas E Cope, P Simon Jones, Luca Passamonti, Young T Hong, Tim Fryer, Robert Arnold, et al. 2019. "In Vivo Evidence for Pre-Symptomatic Neuroinflammation in a MAPT Mutation Carrier." *Annals of Clinical and Translational Neurology* 6 (2): 373–78. <https://doi.org/10.1002/acn3.683>.
- Bevan-Jones, W Richard, Thomas E Cope, P Simon Jones, Sanne S Kaalund, Luca Passamonti, Kieren Allinson, Oliver Green, et al. 2020. "Neuroinflammation and Protein Aggregation Co-Localize across the Frontotemporal Dementia Spectrum." *Brain: A Journal of Neurology* 143 (3): 1010–26. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa033>.
- Boillée, Séverine, Christine Vande Velde, and Don W W. Cleveland. 2006. "ALS: A Disease of Motor Neurons and Their Nonneuronal Neighbors." *Neuron*. Neuron. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.018>.
- Brettschneider, Johannes, Kelly Del Tredici, Virginia M.Y. Lee, and John Q. Trojanowski. 2015. "Spreading of Pathology in Neurodegenerative Diseases: A Focus on Human Studies." *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrn3887>.
- Broeck, Lies Vanden, Patrick Callaerts, and Bart Dermaut. 2014. "TDP-43-Mediated Neurodegeneration: Towards a Loss-of-Function Hypothesis?" *Trends in Molecular Medicine*. Trends Mol Med. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.11.003>.
- Budini, Mauricio, Emanuele Buratti, Eugenia Morselli, and Alfredo Criollo. 2017. "Autophagy and Its Impact on Neurodegenerative Diseases: New Roles for TDP-43 and C9orf72." *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00170>.
- Burrell, James R., Glenda M. Halliday, Jillian J. Kril, Lars M. Ittner, Jürgen Götz, Matthew C. Kiernan, and John R. Hodges. 2016. "The Frontotemporal Dementia-Motor Neuron Disease Continuum." *The Lancet*. Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00737-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00737-6).
- Casterton, Rebecca L., Rachel J. Hunt, and Manolis Fanto. 2020. "Pathomechanism Heterogeneity in the Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Disease Spectrum: Providing Focus Through the Lens of Autophagy." *Journal of Molecular Biology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.02.018>.
- Codolo, Gaia, Nicoletta Plotegher, Tommaso Pozzobon, Marco Bruciale, Isabella Tessari, Luigi Bubacco, and Marina de Bernard. 2013. "Triggering of Inflammasome by Aggregated α -Synuclein, an Inflammatory Response in Synucleinopathies." *PLoS ONE* 8 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055375>.
- Daniele, Stefano G., Dawn Béraud, Connor Davenport, Kui Cheng, Hang Yin, and Kathleen A. Maguire-Zeiss. 2015. "Activation of MyD88-Dependent TLR1/2 Signaling by Misfolded α -Synuclein, a Protein Linked to Neurodegenerative Disorders." *Science Signaling* 8 (376): ra45. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2005965>.
- Debye, Berthold, Lena Schmölling, Lepu Zhou, Gabriele Rune,

- Cordian Beyer, and Sonja Johann. 2018. "Neurodegeneration and NLRP3 Inflammasome Expression in the Anterior Thalamus of SOD1(G93A) ALS Mice." *Brain Pathology* 28 (1): 14–27. <https://doi.org/10.1111/bpa.12467>.
- DeJesus-Hernandez, Mariely, Ian R. Mackenzie, Bradley F. Boeve, Adam L. Boxer, Matt Baker, Nicola J. Rutherford, Alexandra M. Nicholson, et al. 2011. "Expanded GGGGCC Hexanucleotide Repeat in Noncoding Region of C9ORF72 Causes Chromosome 9p-Linked FTD and ALS." *Neuron* 72 (2): 245–56. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.011>.
- Deora, Vandana, John D. Lee, Eduardo A. Albornoz, Luke McAlary, Cyril J. Jagaraj, Avril A. B. Robertson, Julie D. Atkin, et al. 2020. "The Microglial NLRP3 Inflammasome Is Activated by Amyotrophic Lateral Sclerosis Proteins." *Glia* 68 (2): 407–21. <https://doi.org/10.1002/glia.23728>.
- Erridge, Clett, Simon Kennedy, Corinne M. Spickett, and David J. Webb. 2008. "Oxidized Phospholipid Inhibition of Toll-Like Receptor (TLR) Signaling Is Restricted to TLR2 and TLR4: Roles for CD14, LPS-Binding Protein, and MD2 as Targets for Specificity of Inhibition." *Journal of Biological Chemistry* 283 (36): 24748–59. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800352200>.
- Fellner, Lisa, Regina Irschick, Kathrin Schanda, Markus Reindl, Lars Klimaschewski, Werner Poewe, Gregor K. Wenning, and Nadia Stefanova. 2013. "Toll-like Receptor 4 Is Required for α -Synuclein Dependent Activation of Microglia and Astroglia." *GLIA* 61 (3): 349–60. <https://doi.org/10.1002/glia.22437>.
- Finger, Elizabeth C. 2016. "Frontotemporal Dementias." *CONTINUUM Lifelong Learning in Neurology*. Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000300>.
- Freischmidt, Axel, Thomas Wieland, Benjamin Richter, Wolfgang Ruf, Veronique Schaeffer, Kathrin Müller, Nicolai Marroquin, et al. 2015. "Haploinsufficiency of TBK1 Causes Familial ALS and Frontotemporal Dementia." *Nature Neuroscience* 18 (5): 631–36. <https://doi.org/10.1038/nn.4000>.
- Furukawa, Yoshiaki, Kumi Kaneko, Shoji Watanabe, Koji Yamanaka, and Nobuyuki Nukina. 2011. "A Seeding Reaction Recapitulates Intracellular Formation of Sarkosyl-Insoluble Transactivation Response Element (TAR) DNA-Binding Protein-43 Inclusions." *Journal of Biological Chemistry* 286 (21): 18664–72. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.231209>.
- Gass, Jennifer, Wing C. Lee, Casey Cook, Nicole Finch, Caroline Stetler, Karen Jansen-West, Jada Lewis, et al. 2012. "Progranulin Regulates Neuronal Outgrowth Independent of Sortilin." *Molecular Neurodegeneration* 7 (1): 33. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-33>.
- Gijselink, Ilse, Tim Van Langenhove, Julie van der Zee, Kristel Slegers, Stéphanie Philtjens, Gernot Kleinberger, Jonathan Janssens, et al. 2012. "A C9orf72 Promoter Repeat Expansion in a Flanders-Belgian Cohort with Disorders of the Frontotemporal Lobar Degeneration-Amyotrophic Lateral Sclerosis Spectrum: A Gene Identification Study." *The Lancet Neurology* 11 (1): 54–65. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70261-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70261-7).

- Gijselinck, Ilse, Sara Van Mossevelde, Julie Van Der Zee, Anne Sieben, Stéphanie Philtjens, Bavo Heeman, Sebastiaan Engelborghs, et al. 2015. "Loss of TBK1 Is a Frequent Cause of Frontotemporal Dementia in a Belgian Cohort." *Neurology* 85 (24): 2116–25. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002220>.
- Guerreiro, Rita João, Ebba Lohmann, José Miguel Brás, Jesse Raphael Gibbs, Jonathan D. Rohrer, Nicole Guranlian, Burcu Dursun, et al. 2013. "Using Exome Sequencing to Reveal Mutations in TREM2 Presenting as a Frontotemporal Dementia-like Syndrome without Bone Involvement." *Archives of Neurology* 70 (1): 78–84. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.579>.
- Hardiman, Orla, Ammar Al-Chalabi, Adriano Chio, Emma M. Corr, Giancarlo Logroscino, Wim Robberecht, Pamela J. Shaw, Zachary Simmons, and Leonard H. Van Den Berg. 2017. "Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Nature Reviews Disease Primers*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.71>.
- Heneka, Michael T., Róisín M. McManus, and Eicke Latz. 2018. "Inflammasome Signalling in Brain Function and Neurodegenerative Disease." *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0055-7>.
- Iguchi, Yohei, Lara Eid, Martin Parent, Geneviève Ve Soucy, Christine Bareil, Yuichi Riku, Kaori Kawai, et al. 2016. "Exosome Secretion Is a Key Pathway for Clearance of Pathological TDP-43." *Brain: A Journal of Neurology*. <https://doi.org/10.1093/brain/aww237>.
- Johnson, Brian S., J. Michael McCaffery, Susan Lindquist, and Aaron D. Gitler. 2008. "A Yeast TDP-43 Proteinopathy Model: Exploring the Molecular Determinants of TDP-43 Aggregation and Cellular Toxicity." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (17): 6439–44. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802082105>.
- Junhee Seok, H. Shaw Warren, G. Cuenca Alex, N. Mindrinos Michael, V. Baker Henry, Weihong Xu, Daniel R. Richards, et al. 2013. "Genomic Responses in Mouse Models Poorly Mimic Human Inflammatory Diseases." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (9): 3507–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222878110>.
- Kayagaki, Nobuhiko, Søren Warming, Mohamed Lamkanfi, Lieselotte Vande Walle, Salina Louie, Jennifer Dong, Kim Newton, et al. 2011. "Non-Canonical Inflammasome Activation Targets Caspase-11." *Nature* 479 (7371): 117–21. <https://doi.org/10.1038/nature10558>.
- Kim, Changyoun, Dong Hwan Ho, Ji Eun Suk, Sungyong You, Sarah Michael, Junghee Kang, Sung Joong Lee, et al. 2013. "Neuron-Released Oligomeric α -Synuclein Is an Endogenous Agonist of TLR2 for Paracrine Activation of Microglia." *Nature Communications* 4. <https://doi.org/10.1038/ncomms2534>.
- Kuri, Paola, Nicole L. Schieber, Thomas Thumberger, Joachim Wittbrodt,

- Yannick Schwab, and Maria Leptin. 2017. "Dynamics of in Vivo ASC Speck Formation." *Journal of Cell Biology* 216 (9): 2891–2909. <https://doi.org/10.1083/jcb.201703103>.
- Leal-Lasarte, María M., Jaime M. Franco, Adahir Labrador-Garrido, David Pozo, and Cintia Roodveldt. 2017. "Extracellular TDP-43 Aggregates Target MAPK/MAK/MRK Overlapping Kinase (MOK) and Trigger Caspase-3/IL-18 Signaling in Microglia." *FASEB Journal* 31 (7): 2797–2816. <https://doi.org/10.1096/fj.201601163R>.
- Lippai, Mónika, and Péter Lyw. 2014. "The Role of the Selective Adaptor P62 and Ubiquitin-Like Proteins in Autophagy." <https://doi.org/10.1155/2014/832704>.
- Lu, Alvin, Venkat Giri Magupalli, Jianbin Ruan, Qian Yin, Maninjay K. Atianand, Matthijn R. Vos, Gunnar F. Schröder, Katherine A. Fitzgerald, Hao Wu, and Edward H. Egelman. 2014. "Unified Polymerization Mechanism for the Assembly of Asc-Dependent Inflammasomes." *Cell* 156 (6): 1193–1206. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.008>.
- Lučiūnaitė, Asta, Róisín M. McManus, Marija Jankunec, Ildikó Rácz, Cira Dansokho, Indrė Dalgėdienė, Stephanie Schwartz, Frederic Brosseron, and Michael T. Heneka. 2020. "Soluble A β Oligomers and Protofibrils Induce NLRP3 Inflammasome Activation in Microglia." *Journal of Neurochemistry*, January. <https://doi.org/10.1111/jnc.14945>.
- Malik, Ankit, and Thirumala-Devi Kanneganti. 2017. "Inflammasome Activation and Assembly at a Glance." *Journal of Cell Science* 130: 3955–63. <https://doi.org/10.1242/jcs.207365>.
- Mejzini, Rita, Loren L. Flynn, Ianthe L. Pitout, Sue Fletcher, Steve D. Wilton, and P. Anthony Akkari. 2019. "ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now?" *Frontiers in Neuroscience*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01310>.
- Neumann, Manuela, Linda K. Kwong, Deepak M. Sampathu, John Q. Trojanowski, and Virginia M.Y. Lee. 2007. "TDP-43 Proteinopathy in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Protein Misfolding Diseases without Amyloidosis." *Archives of Neurology*. American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.10.1388>.
- Neumann, Manuela, Deepak M. Sampathu, Linda K. Kwong, Adam C. Truax, Matthew C. Micsenyi, Thomas T. Chou, Jennifer Bruce, et al. 2006. "Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Science* 314 (5796): 130–33. <https://doi.org/10.1126/science.1134108>.
- Neumann, Manuela, Markus Tolnay, and Ian R.A. Mackenzie. 2009. "The Molecular Basis of Frontotemporal Dementia." *Expert Reviews in Molecular Medicine*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001136>.
- Nguyen, Andrew D., Thi A. Nguyen, Jiasheng Zhang, Swathi Devireddy, Ping Zhou, Anna M. Karydas, Xialian Xu, et al. 2018. "Murine Knockin Model for

- Progranulin-Deficient Frontotemporal Dementia with Nonsense-mediated mRNA Decay." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (12): E2849–58. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722344115>.
- Nitrini, Ricardo. 2014. "Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Revisiting One of the First Case Reports with Neuropathology Examination." *Dementia & Neuropsychologia* 8 (1): 83–86. <https://doi.org/10.1590/S1980-57642014DN81000013>.
- Nonaka, Takashi, Masami Masuda-Suzukake, Tetsuaki Arai, Yoko Hasegawa, Hiroyasu Akatsu, Tomokazu Obi, Mari Yoshida, et al. 2013. "Prion-like Properties of Pathological TDP-43 Aggregates from Diseased Brains." *Cell Reports* 4 (1): 124–34. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.007>.
- O'Rourke, J. G., L. Bogdanik, A. Yáñez, D. Lall, A. J. Wolf, A. K.M.G. Muhammad, R. Ho, et al. 2016. "C9orf72 Is Required for Proper Macrophage and Microglial Function in Mice." *Science* 351 (6279): 1324–29. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1064>.
- Petkau, Terri L., Scott J. Neal, Austen Milnerwood, Ada Mew, Austin M. Hill, Paul Orban, Jenny Gregg, et al. 2012. "Synaptic Dysfunction in Progranulin-Deficient Mice." *Neurobiology of Disease* 45 (2): 711–22. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.016>.
- Rayaprolu, Sruti, Bianca Mullen, Matt Baker, Timothy Lynch, Elizabeth Finger, William W. Seeley, Kimmo J. Hatanpaa, et al. 2013. "TREM2 in Neurodegeneration: Evidence for Association of the p.R47H Variant with Frontotemporal Dementia and Parkinson's Disease." *Molecular Neurodegeneration* 8 (1): 19. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-19>.
- Reed-Geaghan, Erin G., Julie C. Savage, Amy G. Hise, and Gary E. Landreth. 2009. "CD14 and Toll-like Receptors 2 and 4 Are Required for Fibrillar A β -Stimulated Microglial Activation." *Journal of Neuroscience* 29 (38): 11982–92. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3158-09.2009>.
- Renton, Alan E., Elisa Majounie, Adrian Waite, Javier Simón-Sánchez, Sara Rollinson, J. Raphael Gibbs, Jennifer C. Schymick, et al. 2011. "A Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72 Is the Cause of Chromosome 9p21-Linked ALS-FTD." *Neuron* 72 (2): 257–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.010>.
- Sborgi, Lorenzo, Francesco Ravotti, Venkata P. Dandey, Mathias S. Dick, Adam Mazur, Sina Reckel, Mohamed Chami, et al. 2015. "Structure and Assembly of the Mouse ASC Inflammasome by Combined NMR Spectroscopy and Cryo-Electron Microscopy." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (43): 13237–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507579112>.
- Sellgren, C. M., S. D. Sheridan, J. Gracias, D. Xuan, T. Fu, and R. H. Perlis. 2017. "Patient-Specific Models of Microglia-Mediated Engulfment of Synapses and Neural Progenitors." *Molecular Psychiatry* 22 (2): 170–77.

- <https://doi.org/10.1038/mp.2016.20>.
- Shi, Chong Shan, Kevin Shenderov, Ning Na Huang, Juraj Kabat, Mones Abu-Asab, Katherine A. Fitzgerald, Alan Sher, and John H. Kehrl. 2012. "Activation of Autophagy by Inflammatory Signals Limits IL-1 β Production by Targeting Ubiquitinated Inflammasomes for Destruction." *Nature Immunology* 13 (3): 255–63. <https://doi.org/10.1038/ni.2215>.
- Stancu, Ilie Cosmin, Niels Cremers, Hannah Vanrusselt, Julien Couturier, Alexandre Vanoosthuysse, Sofie Kessels, Chritica Lodder, et al. 2019. "Aggregated Tau Activates NLRP3–ASC Inflammasome Exacerbating Exogenously Seeded and Non-Exogenously Seeded Tau Pathology in Vivo." *Acta Neuropathologica* 137 (4): 599–617. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01957-y>.
- Stefanova, Nadia, Lisa Fellner, Markus Reindl, Eliezer Masliah, Werner Poewe, and Gregor K. Wenning. 2011. "Toll-like Receptor 4 Promotes α -Synuclein Clearance and Survival of Nigral Dopaminergic Neurons." *American Journal of Pathology* 179 (2): 954–63. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.04.013>.
- Sullivan, Peter M., Xiaolai Zhou, and Fenghua Hu. 2017. "Autophagy-Lysosome Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration." In *Lysosomes - Associated Diseases and Methods to Study Their Function*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69371>.
- Swieten, John C. van, and Peter Heutink. 2008. "Mutations in Progranulin (GRN) within the Spectrum of Clinical and Pathological Phenotypes of Frontotemporal Dementia." *The Lancet Neurology*. *Lancet Neurol.* [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70194-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70194-7).
- Viodé, Arthur, Clémence Fournier, Agnès Camuzat, François Fenaille, Morwena Latouche, Fanny Elahi, Isabelle Le Ber, et al. 2018. "New Antibody-Free Mass Spectrometry-Based Quantification Reveals That C9ORF72 Long Protein Isoform Is Reduced in the Frontal Cortex of Hexanucleotide-Repeat Expansion Carriers." *Frontiers in Neuroscience* 12 (AUG). <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00589>.
- Wang, Yipeng, Varun Balaji, Senthilvelrajan Kaniyappan, Lars Krüger, Stephan Irsen, Katharina Tepper, Ramreddy Chandupatla, et al. 2017. "The Release and Trans-Synaptic Transmission of Tau via Exosomes." *Molecular Neurodegeneration* 12 (1). <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0143-y>.
- Whitwell, J. L., B. F. Boeve, S. D. Weigand, M. L. Senjem, J. L. Gunter, M. C. Baker, M. DeJesus-Hernandez, et al. 2015. "Brain Atrophy over Time in Genetic and Sporadic Frontotemporal Dementia: A Study of 198 Serial Magnetic Resonance Images." *European Journal of Neurology* 22 (5): 745–52. <https://doi.org/10.1111/ene.12675>.
- Yin, Fangfang, Rebecca Banerjee, Bobby Thomas, Ping Zhou, Liping Qian, Ting Jia, Xiaojing Ma, et al. 2010a. "Exaggerated Inflammation, Impaired Host Defense, and Neuropathology in Progranulin-Deficient Mice." *Journal of Experimental Medicine* 207 (1): 117–28.

- <https://doi.org/10.1084/jem.20091568>.
- . 2010b. “Exaggerated Inflammation, Impaired Host Defense, and Neuropathology in Progranulin-Deficient Mice.” *Journal of Experimental Medicine* 207 (1): 117–28. <https://doi.org/10.1084/jem.20091568>.
- Yousef, Ahmed, John L. Robinson, David J. Irwin, Matthew D. Byrne, Linda K. Kwong, Edward B. Lee, Yan Xu, et al. 2017. “Neuron Loss and Degeneration in the Progression of TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration.” *Acta Neuropathologica Communications* 5 (1): 68. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0471-3>.
- Zhang, Yun, Zhifang Dong, and Weihong Song. 2020. “NLRP3 Inflammasome as a Novel Therapeutic Target for Alzheimer’s Disease.” *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5 (1): 1–2. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0145-7>.
- Zhao, Weihua, David R. Beers, Shaughn Bell, Jinghong Wang, Shixiang Wen, Robert H. Baloh, and Stanley H. Appel. 2015. “TDP-43 Activates Microglia through NF- κ B and NLRP3 Inflammasome.” *Experimental Neurology* 273 (November): 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.07.019>.
- Zhou, Xiaolai, Daniel H. Paushter, Mitchell D. Pagan, Dongsung Kim, Mariela Nunez Santos, Raquel L. Lieberman, Herman S. Overkleeft, Ying Sun, Marcus B. Smolka, and Fenghua Hu. 2019. “Progranulin Deficiency Leads to Reduced Glucocerebrosidase Activity.” Edited by Thomas Kukar. *PLOS ONE* 14 (7): e0212382. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212382>.