



HAL
open science

Étude du rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau : mise en place de nouveaux modèles

Charlotte Duwat

► **To cite this version:**

Charlotte Duwat. Étude du rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau : mise en place de nouveaux modèles. Neurosciences. Université Paris-Saclay, 2021. Français. NNT : 2021UP-ASL033 . tel-04086283

HAL Id: tel-04086283

<https://theses.hal.science/tel-04086283>

Submitted on 2 May 2023

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.

Étude du rôle de la microglie dans la propagation
de la protéine Tau : mise en place de nouveaux
modèles

*Study of the role of microglia in Tau protein propagation:
Development of new models*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale • n°568 : signalisations et réseaux intégratifs en biologie (Biosigne)
Spécialité de doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie
Unité de recherche : Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Laboratoire des Maladies
Neurodégénératives : mécanismes, thérapies, imagerie, 92265, Fontenay-aux-Roses,
France
Référent : Faculté de Médecine

**Thèse présentée et soutenue à Fontenay-aux-Roses,
le 19/05/2021, par**

Charlotte DUWAT

Composition du Jury

Dr Elisabeth TRAIFFORT Directrice de recherche, INSERM	Présidente
Dr Marie Claude POTIER Directrice de recherche, Institut du Cerveau	Rapportrice & Examinatrice
Dr Nadia SOUSSI-YANICOSTAS Directrice de recherche, NeuroDiderot	Rapportrice & Examinatrice
Dr Jean LIVET Directeur de Recherche, Institut de la vision	Examineur

Direction de la thèse

Dr Alexis -Pierre BEMELMANS Ingénieur/chercheur CEA grade E5, MIRCen, Institut de Biologie François Jacob, CEA	Directeur de thèse
---	--------------------

« Comment des années si courtes se fabriquent-elles avec des journées si longues ? »

Vladimir Jankélévitch

Remerciements

Pour commencer, je souhaiterais remercier sincèrement les membres de mon jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et notamment Nadia Soussi-Yanicostas et Marie-Claude Potier pour leur rôle de rapportrice. Je souhaiterais également remercier chaleureusement Jean Livet qui m'a accompagné tout au long de ma thèse et ses conseils au cours des différents comités de suivi. Pour finir je souhaite remercier Élisabeth Traiffort pour sa présence le jour de ma soutenance.

Merci à Philippe Hantraye et Romina Aron Badin qui ont accepté mon entrée dans MIRCen dans un premier temps durant ma dernière année de licence et qui m'ont de nouveau accepté il y a 4 ans pour mon stage de fin de Master et ma thèse. Un très grand merci à Gilles Bonvento et Emmanuel Brouillet pour leur accueil dans l'UMR et pour leurs nombreux conseils au cours des dernières années. Merci aussi à Cécile et Marie-Laure pour leur aide pour toutes les démarches administratives, les réservations de train, d'hôtel, congrès ou encore formation...

Alexis, merci de m'avoir donné une chance à MIRCen si tôt dans mes études et de m'avoir donné l'opportunité de grandir au sein de ce laboratoire malgré mon côté Breton. Merci de toujours laisser ta porte ouverte pour que l'on te dérange au milieu de tes rédactions de projet. Merci de ton soutien et surtout de m'avoir laissé tester mes idées plus ou moins pertinentes/farfelues et de nous impliquer dans les différentes étapes des projets. Merci pour ton aide pendant mes manips et notamment pour le traitement des rétines. Merci de m'avoir fait confiance en me permettant d'encadrer différents étudiants avec toi que ce soit des petits 3^{èmes} ou encore des grands M2 comme Pauline. Ces expériences ont été vraiment très enrichissantes et je recommencerais sans hésiter. Merci pour les nombreux congrès auxquels tu m'as permis d'assister et ton accompagnement dans ces congrès que ce soit dans la partie scientifique, mais aussi les moments plus calmes comme les visites de Lille et Lisbonne. Merci également pour les dégustations de bières et de planteurs qui sont vraiment si bien réussis.

Cette thèse aurait été bien différente sans l'équipe BM, Karine, Marie-Claude, Noëlle, Charlène et Gwen, qui a été une mini-famille ces dernières années. Karine, merci d'avoir toujours répondu présente pour mes questions, pour ta gentillesse et ta joie de vivre, merci pour tes conseils et corrections toujours pertinentes. MCG, merci d'avoir été notre maman du labo, merci de toujours veiller sur nous ainsi que pour tes pâtisseries si bonnes. Noëlle merci de ta bonne humeur qui apporte énormément à ce labo, merci de m'avoir accompagnée dans mes très rares manips sur la construction 3R-4R et de m'avoir fait découvrir le L3 et les étapes de fabrication des virus. Charlène, merci pour tous

ces batchs produits en urgence, ton aide en BM et avec les rétines qui m'a permis d'obtenir les résultats présentés dans cette thèse. Gwen, ces remerciements ne seraient pas complets si je ne te disais pas un grand merci, je ne sais même pas par où commencer pour te remercier. Commençons alors peut-être par te remercier de m'avoir permis de commencer mes journées avec bonne humeur et beaucoup de café tous les matins de ma thèse. Merci pour ton aide dans le maintien des lignées, le nombre impressionnant de bagues posées, les injections, les coupes et les différentes immunos à n'en plus finir. Merci de m'avoir transmis ton sens de l'organisation qui m'a aidé à faire tenir trois journées en une. Et surtout, merci de m'avoir bousculé quand il a fallu ☺.

Julien, merci pour ton aide avec les souris (et le remplissage des étiquettes). Merci à vous Martine et Mylène de rendre les sessions d'injections si faciles avec vos conseils ainsi qu'avec votre bienveillance et bonne humeur. Sueva, merci pour les génotypages et la reprise des lignées pendant la fin de ma thèse.

Merci à Fanny, Caro et Pauline de m'avoir formé aux différents aspects de l'histologie et des appareils de coupe. Merci Anne So de toujours batailler pour nos scans et nous aider quand il fait ses crises. Merci Didier pour ton aide précieuse avec l'informatique du bâtiment et la bonne ambiance apportée au cours des repas de Noël, des jours de ménages.

Merci à celles que je n'ai pas encore citées, Carole, Maria et Géraldine pour vos conseils et vos réponses à mes questions. Carole, merci de m'avoir fait confiance en me laissant animer le cours sur la microglie du module pour les M2.

Une thèse, c'est bien plus que des heures à la paillasse, des tonnes de tableaux Excel et des graphiques. C'est également beaucoup de bons moments qui ne seraient pas possibles sans tous les étudiants présents à MIRCen ! Par ordre chronologique, je souhaiterais remercier les « anciennes de MIRCen », Séverine, Kelly, Marianne, Lucie, Petite Clémence et Laurene qui m'avaient si gentiment accueilli et orienté dans mon premier stage et aussi pour le deuxième. Merci à Anastasie pour les nombreux fous rires que tu as provoquée plus ou moins volontairement !! Audrey, merci de m'avoir acceptée dans cette aventure sur TREM2 que tu as commencé au cours de ton M2.

Pour continuer, je souhaiterais remercier JB, Yohann, Melissa, Marina, Suzanne, Audrey, Mathilde, Miriam, Pauline, Fanny, PA, Océ et Emma. Merci à tous pour les bons moments, les terrasses, les galettes, les crêpes, les raclettes, les visios pendant le confinement, les histoires abracadabrantes, les rires et la bonne humeur qui m'ont permis de faire face aux résultats négatifs, aux coups de mou et de survivre à la rédaction ! Merci de rendre ce labo si joyeux et de faire en sorte que MIRCen soit un endroit si chaleureux. Bon courage à vous tous pour la suite j'ai hâte de trinquer avec vous à la fin de vos thèses (si si en vrai il y a une fin à ce périple).

Bon courage à Amélie et Mathilde qui commencent tout juste.

Un petit mot pour Pauline. Merci de m'avoir laissé t'encadrer, je ne pouvais pas espérer mieux pour transmettre le flambeau, je sais que le projet est entre de bonnes mains. Merci pour ces heures de montage de coupes à discuter musique, ta volonté à toujours aider et du coup ton aide pour tout surtout ces derniers mois où je n'aurais pas pu faire autant sans toi, vraiment. Même si tu voulais que je te laisse une copie de mon cerveau, tu n'en as pas besoin, tu vas réussir ta thèse comme une cheffe mais n'oublie pas de profiter aussi des bons moments et de prendre des vacances ;). Bon courage pour la suite et puis si jamais je reste dispo pour t'aider ☺.

Cette thèse c'est aussi le bureau des Moulas AKA le bureau 210C ou d'autres petits noms. Un bureau plein de fous rires, de délires, d'entraide, de photos, de post-it, de phrases épiques et loufoques, de vidéo, de chants, de danse... Ce bureau ce sont trois étudiants, Océ, PA et Fanny. Océ, merci de ta gentillesse, de ton sens de la mode, de ton écoute mais aussi de ton rire si particulier et les heures de chansons françaises. PA, le bureau est bien plus (trop) calme depuis ton départ, depuis la fin des « Wonderfufulll ». Nyfa, merci de ton grand cœur, merci d'être toujours là pour nous, même quand ce n'était pas toujours le bon jour pour toi. Sans vous, la thèse aurait été bien moins joyeuse et bien moins drôle. Bien plus que des collègues, vous êtes devenus de vrais amis au fil de ces journées passées dans le même bureau et j'espère vraiment vous retrouver le plus souvent possible autour d'une bière ou d'une Pizza de Inovizza. Nyfa bon courage pour la dernière ligne droite, l'arrivée est toute proche, tu vas tout gérer !!

Ces dernières années, n'ont pas été juste des heures de laboratoire et c'est pourquoi je remercie mes amis Joey, Alex, Lulu, Julien et Jerem pour qui Tau est un Warhammer, mais qui ont quand même essayé de comprendre mon travail. Merci à vous d'être là depuis le lycée ou même avant et de répondre toujours présents pour les bons moments mais aussi les moins bons. Merci d'être des soutiens en toutes circonstances.

Merci à Pilou, petite boule de poils à moustaches, pour son aide dans la rédaction de ma thèse avec son occupation du clavier et les pauses forcées à coup de miaulements et de ronronnements.

La rédaction de cette thèse a été possible grâce à toi Greg. Tu m'as soutenue et encouragée sans relâche les derniers mois. Tu m'as permis de tenir le coup, tu m'as changé les idées, tu m'as écouté parler de mes différentes théories sans même comprendre tout ce que je raconte, mais tu essayes quand même, merci pour ça ! Merci d'avoir supporté mes différents états liés au stress et de ta patience. J'aimerais te remercier pour tellement de choses et je pourrai encore écrire de nombreuses lignes, mais tu sais déjà ce que je veux te dire, alors simplement merci pour tout mon amoureux ☺.

Pour finir, je voudrais remercier toute ma famille et plus particulièrement ma mère et ma sœur. Doudou d'amour, merci de nous avoir supportées parler biologie et de tes vengeances en citant tous les os du pied du cheval. Merci pour tout, tu es ma sœur et tu m'as aidée à devenir celle que je suis aujourd'hui.

Maman, merci de m'avoir toujours soutenue dans mon parcours alors que tu m'as toujours déconseillé de faire de la biologie. Pourtant, c'est bien « à cause » de toi et Papa que j'ai attrapé le virus de la recherche, vous m'avez appris à faire des clonages avant l'âge de 4 ans, les vortex ont été mes premiers jouets et j'ai été biberonnée par vos différentes hypothèses de travail. Merci maman, que ce soit pour les heures de discussions qui m'ont permis de prendre du recul sur mes résultats, les remarques sur les contrôles manquants, les pistes à explorer, les relectures de l'introduction... Ton accompagnement m'a fait grandir comme scientifique les dernières années, mais ce n'est rien par rapport à tout ce que tu as fait pour nous. Merci Maman, je t'aime.

Sommaire

SOMMAIRE	1
LISTE DES ABREVIATIONS	4
LISTE DES FIGURES	6
LISTE DES TABLEAUX	7
INTRODUCTION.....	9
1 AVANT-PROPOS.....	9
2 LA PROTEINE TAU.....	9
2.1 <i>Fonctions de la protéine Tau en conditions physiologiques.....</i>	<i>9</i>
2.1.1 Gène MAPT et isoformes de la protéine Tau.....	9
2.1.2 Distribution	12
2.1.3 Conformations et structures.....	13
2.1.4 Modifications post-traductionnelles	15
2.1.5 Fonctions.....	17
2.1.6 Turnover de la protéine Tau et dégradation.....	19
2.2 <i>La protéine Tau en conditions pathologiques.....</i>	<i>19</i>
2.2.1 Les Tauopathies.....	22
2.2.2 La maladie d'Alzheimer : la Tauopathie la plus fréquente.....	24
3 PROPAGATION INTRACEREBRALE DE LA PATHOLOGIE TAU	30
3.1 <i>Patrons de propagation dans les différentes Tauopathies</i>	<i>30</i>
3.1.1 Propagation de la pathologie Tau dans la MA : les stades de Braak.....	30
3.1.2 Propagation de la pathologie dans les autres Tauopathies	31
3.2 <i>Propagation de la pathologie Tau : l'hypothèse prion</i>	<i>31</i>
3.3 <i>Mécanismes de propagation</i>	<i>33</i>
3.3.1 Libération de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire	33
3.3.2 Internalisation de la protéine Tau par le neurone receveur	35
3.4 <i>Modèles d'étude de la propagation de la pathologie Tau</i>	<i>36</i>
3.4.1 Modèles <i>in vitro</i>	37
3.4.2 Modèles <i>in vivo</i>	37
4 LA NEUROINFLAMMATION	44
4.1 <i>La neuroinflammation au cœur de la pathologie Alzheimer.....</i>	<i>44</i>
4.2 <i>Les acteurs de la neuroinflammation autres que la microglie</i>	<i>45</i>
4.2.1 Les astrocytes	45
4.2.2 La réponse immunitaire adaptative périphérique.....	47
4.3 <i>La microglie</i>	<i>48</i>

4.3.1	Origine et maintien de la microglie	48
4.3.2	Fonctions de la microglie en conditions physiologiques.....	50
4.3.3	Hétérogénéité de la microglie	52
4.4	<i>Implication de la microglie dans les Tauopathies</i>	55
4.4.1	Généralités	55
4.4.2	Cas particulier du récepteur TREM2.....	57
4.4.3	Rôle de la microglie dans la propagation de la pathologie Tau.....	62
5	OBJECTIFS ET STRATEGIES	64
RESULTATS		67
1	UN NOUVEAU MODELE DE TAUOPATHIE FOCALE DANS LA RETINE PERMETTANT L'ETUDE DU ROLE DE LA MICROGLIE	67
1.1	<i>Contexte, objectifs et synthèse</i>	67
1.2	<i>Article</i>	69
1.3	<i>Conclusion</i>	97
2	MODELE DE PROPAGATION DE LA PROTEINE TAU DANS LE GYRUS DENTE.....	98
2.1	<i>Avant-propos</i>	98
2.2	<i>Stratégies expérimentales</i>	98
2.2.1	Vecteurs viraux et injection stéréotaxique	98
2.2.2	Analyse de la propagation.....	100
2.2.3	Remarque.....	101
2.3	<i>Validation du modèle de propagation dans le gyrus denté</i>	101
2.4	<i>Influence de l'activation microgliale dans la propagation de la protéine Tau</i>	103
2.5	<i>Influence de l'âge des souris sur la propagation de la protéine Tau</i>	106
3	PARTICIPATION A L'ETUDE DE L'IMPACT DE LA DEFICIENCE EN TREM2 CHEZ DES SOURIS THY-TAU22	107
3.1	<i>Contexte, objectifs et synthèse</i>	107
3.2	<i>Article</i>	108
DISCUSSION		145
1	IMPLICATION DE LA MICROGLIE ET DE SON RECEPTEUR TREM2 LA TAUOPATHIE	145
2	DEVELOPPEMENT DE NOUVEAUX MODELES DE TAUOPATHIE	147
2.1	<i>Mise en place d'un modèle de tauopathie pure dans la rétine</i>	147
2.2	<i>Nouveau modèle de propagation dans le gyrus denté</i>	148
2.3	<i>Mise en parallèle des deux modèles</i>	150
3	INFLUENCE DE LA MICROGLIE DANS LES MODELES DEVELOPPES	151
3.1	<i>Influence de la déficience en TREM2</i>	151
3.2	<i>Influence du vieillissement</i>	153
4	PERSPECTIVES	154
4.1	<i>Application de ces modèles pour mieux comprendre la propagation de la protéine Tau</i>	154
4.2	<i>Caractérisation de la microglie au site d'injection et au site de propagation</i>	154
4.3	<i>Autres acteurs potentiels impliqués dans la relation microglie-propagation de la protéine Tau</i>	155

4.3.1	Interaction de la microglie et des réseaux périneuronaux	155
4.3.2	Interaction des astrocytes et de la microglie	156
4.3.3	Apport de la composante amyloïde	157
5	CONCLUSION	157
RÉFÉRENCES		159
ANNEXES.....		193

Liste des abréviations

Aa : Acides aminés
AAV : virus adéno-associé
APP : amyloid Protein Precursor
AVC : accident vasculaire cérébral
BAM : Brain-border macrophages
BHE : barrière hémato-encéphalique
CDK5 : cyclin dependant kinase 5
CSF1R : Colony stimulating Factor 1 receptor
CSPG : protéoglycanes de sulfate de chondroïtines
DAM : disease associated microglia
DAP12 : DNAX-activation protein12
DCB : démence corticobasale
DNF : Dégénérescence neurofibrillaires
FAT : Fast Axonal Transport
FTDP-17 : démence frontotemporale avec parkinsonisme lié au chromosome 17
GCL : Ganglion cell layer
GFAP : *Glial Fibrillary Acidic Protein*
GFP : Green fluorescent protein
GSK3 β : Glycogen synthase kinase 3 β
GWAS : études génétiques d'association pan-génomique
HSPG : protéoglycane à héparane sulfate
IL-1 α : Interleukine 1 α
INL : Inner nuclear layer
IPS : Induced Pluripotent cells
IPSC : Induced pluripotent stem cells
ITAM : Immunoreceptor tyrosine-based activation motifs
IVT : intra-vitréen
LCR : liquide céphalo-rachidien
LRP1 : Low density lipoprotein receptor related protein 1
LTD : Long-term Depression
LTP : Long Term Potentialisation
LTP : long-term potentialisation
MA : Maladie d'Alzheimer
MAP : Microtubule Associated Protein
MAP6 (Microtubule Associated Protein)
MAPK : mitogen-activated protein kinases
MAPT : Microtubule Associated Protein Tau
MARK : Microtubule affinity-regulating kinase
MERTK : Myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase
MBD : microtubule binding domain
MCI : Mild-cognitive Impairment
MMP : metalloprotéinases matricielles
NI : non injecté
NMDA :
NPC : nuclear pore complex
ONL : Outer nuclear layer
PAM : proliferative-region-associated microglia

PART : Primary age-related tauopathy
PHF : Filament hélicoïdaux appariés
PiB : Pittsburg compound B
PKA/C: protein kinase A/C
PNN : perineuronal nets ou filets périneuronaux
PSP : paralysie supra-nucléaire progressive
PTM : Modifications post-traductionnelles
PXXP : Motifs riches en proline
rAAV : recombinant adeno-associated virus
RGC : Cellule ganglionnaire de la rétine
SH3 : SRC Homology 3
SNC : système nerveux central
TLR : toll like receptor
TNF : tumor necrosis factor
TNTs : tunneling nanotubes
TREM2 : Triggering Receptor Expressed on myeloid cells-2
tTA : protéine transactivatrice de la tétracycline.
TTBK1/2 : Tau-tubuline kinase
UPS : Ubiquitine Proteasome system
WFA : *Wisteria floribunda agglutin*

Liste des figures

FIGURE 1 : GENE <i>MAPT</i> ET ISOFORMES DE LA PROTEINE TAU.....	11
FIGURE 2 : EXPRESSION DE TAU DANS LES DIFFERENTES CELLULES CEREBRALES.....	13
FIGURE 3 : STRUCTURES ET DOMAINE DE LA PROTEINE TAU.....	14
FIGURE 4 : MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DE LA PROTEINE TAU.....	15
FIGURE 5 : SITES DE PHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU	16
FIGURE 6 : ÉTAPE DE L'AGREGATION DE TAU	20
FIGURE 7 : ILLUSTRATIONS DES PROCESSUS INTRANEURONAUX AFFECTES PAR LES OLIGOMERES DE TAU	22
FIGURE 8 : MUTATIONS DU GENE <i>MAPT</i> ASSOCIEES A LA FTDP-17.....	24
FIGURE 9 : ÉVOLUTION DES SYMPTOMES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	25
FIGURE 10 : PATHOLOGIE AMYLOÏDE.....	26
FIGURE 11 : PROPAGATION SPATIOTEMPORELLE DE LA PATHOLOGIE TAU	26
FIGURE 12 : BIOMARQUEURS DES DIFFERENTES ALTERATIONS DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	30
FIGURE 13 : MECANISMES DE PROPAGATION DE LA PROTEINE TAU PAR PASSAGE TRANS-SYNAPTIQUE	35
FIGURE 14 : VARIANTES GENETIQUES ASSOCIEES AUX FORMES TARDIVES DE LA MA	45
FIGURE 15 : HYPERTROPHIE DES ASTROCYTES REACTIFS MISE EN EVIDENCE PAR UNE SUREXPRESSON DE LA <i>GFAP</i>	46
FIGURE 16 : HYPOTHESE DE LA REACTIVITE ASTROCYTAIRE INDUITE PAR LA MICROGLIE	47
FIGURE 17 : ONTOLOGIE DE LA MICROGLIE CHEZ LA SOURIS.	49
FIGURE 18 : LA MICROGLIE EXERCE DE NOMBREUSES FONCTIONS DANS LE CERVEAU ADULTE ET EN DEVELOPPEMENT	50
FIGURE 19 : LA MICROGLIE, UNE POPULATION DE CELLULES TRES HETEROGENE	53
FIGURE 20 : SIGNALISATION ET FONCTION DU RECEPTEUR <i>TREM2</i>	59
FIGURE 21 : : INFLUENCE DE <i>TREM2</i> EN FONCTION DU STADE DE LA PATHOLOGIE.....	62
FIGURE 22 : SCHEMA DE PROJECTION DES CELLULES GANGLIONNAIRES DE LA RETINE	68
FIGURE 23 : EXPRESSION SPECIFIQUE DES TRANSGENES.....	68
FIGURE 24 : CONSTRUCTIONS AAVs UTILISEES	99
FIGURE 25 : COORDONNEES D'INJECTION STEREOTAXIQUE D'APRES L'ALLEN BRAIN ATLAS	100
FIGURE 26 : PROPAGATION A UN MOIS POST-INJECTION DE LA PROTEINE TAU HUMAINE APRES TRANSDUCTION DU GYRUS DENTE.	101
FIGURE 27 : MESURE DE LA PROPAGATION DANS L'HIPPOCAMPE CONTRALATERAL EN FONCTION DE LA DOSE DE VIRUS INJECTEE. 103	
FIGURE 28 : EXPRESSION DU GENE RAPPORTEUR GFP DANS L'HIPPOCAMPE IPSILATERAL A 3 ET 6 MOIS POST-INJECTION.....	104
FIGURE 29 : IMPACT DU SEXE SUR LA PROPAGATION DE LA PROTEINE TAU.....	105
FIGURE 30 : IMPACT DE LA DEFICIENCE EN <i>TREM2</i> SUR LA PROPAGATION DE LA PROTEINE TAU DANS LE MODELE MIS EN PLACE DANS LE GYRUS DENTE	106
FIGURE 31 : IMPACT DU VIEILLISSEMENT SUR LA PROPAGATION DE LA PROTEINE TAU DANS LE GYRUS DENTE CONTRALATERAL APRES INJECTION D'AAV-GFP-P2A-TAU DANS LA COUCHE POLYMORPHIQUE DU GYRUS DENTE.....	107

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : MODELES DE TRANSMISSION DE LA PATHOLOGIE TAU <i>IN VIVO</i>	40
TABLEAU 2 : EFFECTIFS DE SOURIS POUR L'ETUDE DANS LE GYRUS DENTE	100

Introduction

Introduction

1 Avant-propos

Les maladies neurodégénératives sont un enjeu majeur de santé publique. Décrites pour certaines il y a plus d'un siècle, les mécanismes pathologiques impliqués dans leur développement et leur progression ne sont que partiellement compris. De plus, les nombreuses études publiées soulèvent plus de questions qu'elles n'apportent de réponses. Dans un contexte où la durée de vie moyenne s'allonge et où la part de la population âgée s'accroît, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans ces pathologies permettrait de proposer de nouvelles options thérapeutiques.

La maladie d'Alzheimer (MA) est la plus commune de ces pathologies. Elle est caractérisée par une accumulation de peptides β -amyloïdes formant les plaques séniles ainsi que d'agrégats intra-neuronaux de protéine Tau hyperphosphorylée. Cette dernière composante permet de classer la MA dans le groupe des Tauopathies.

Le travail réalisé au cours de cette thèse s'est focalisé sur la composante Tau de la pathologie et plus précisément sur la propagation des formes pathologiques de la protéine bien caractérisée dans la MA et certaines autres Tauopathies. Ainsi la composante amyloïde de la pathologie ne sera que partiellement abordée dans ce manuscrit.

Avant de discuter des résultats obtenus au cours de mes quatre années de doctorat, nous aborderons l'état des connaissances sur les différentes notions importantes pour comprendre l'enjeu de ce projet. Cette introduction commencera donc par présenter la protéine Tau et ses fonctions dans un contexte physiologique avant d'aborder l'état de la protéine Tau dans les tauopathies et notamment dans la Ma. Ensuite nous exposerons les différentes hypothèses qui permettraient d'expliquer la propagation de la protéine Tau entre neurones. Cette introduction finira sur une présentation du rôle de la neuroinflammation et plus particulièrement de la microglie dans les processus pathologiques en jeu dans les tauopathies.

2 La protéine Tau

2.1 Fonctions de la protéine Tau en conditions physiologiques

2.1.1 Gène MAPT et isoformes de la protéine Tau

La protéine Tau appartient à la famille des protéines associées aux microtubules (MAP). Elle est codée par le gène *MAPT* (Microtubule Associated Protein Tau) situé sur le bras long du chromosome 17 au locus 17q21 (Neve et al., 1986). Dans le cerveau humain adulte, il existe 6 isoformes de la protéine Tau

(figure 1), générées par l'épissage alternatif du pré-ARN messenger du gène *MAPT*. Les exons soumis à l'épissage alternatif pour la formation de ces 6 isoformes sont les exons 2, 3 et 10. Les exons 2 et 3, interviennent dans la formation de la région amino-terminale, appelée aussi domaine de projection (Hirokawa et al., 1988). Ces exons codent pour des motifs de 29 acides aminés (aa) notés N et leur épissage va générer les isoformes 0N, 1N et 2N (Goedert et al., 1989a), nommées en fonction du nombre de motifs présents. Les exons 9 à 12 codent pour des répétitions imparfaites de 18 aa (motif R) constituant le domaine de liaison aux microtubules dans la région carboxy-terminale. L'épissage alternatif de l'exon 10 détermine donc l'absence (Tau 3R) ou la présence (Tau 4R) d'un motif R supplémentaire dans ce domaine (Goedert et al., 1989). Ainsi le résultat de l'épissage alternatif des exons 2, 3 et 10 va générer les 6 isoformes : 0N/3R, 0N/4R, 1N/3R, 1N/4R, 2N/3R et 2N/4R (figure 1). Ces isoformes sont exprimées différemment selon le stade de développement : chez l'Homme et les rongeurs, les six isoformes sont présentes dans le cerveau adulte alors que seule la forme 0N3R est retrouvée au cours du développement fœtal (Goedert and Jakes, 1990; Kosik et al., 1989). Chez l'adulte humain, les formes 3R et 4R sont présentes selon un ratio 1:1 et les formes 0N, 1N et 2N représentent respectivement 37%, 54% et 9% de la quantité totale de protéine Tau, si on considère le cerveau humain dans son ensemble (Goedert and Jakes, 1990; Hong et al., 1998). Ces six isoformes sont néanmoins différemment exprimées selon le type cellulaire, par exemple les cellules granulaires du gyrus denté dans l'hippocampe n'expriment que des formes 3R et non des formes 4R (Goedert et al., 1989). Il a également été montré que certaines isoformes pouvaient être exprimées différemment selon les régions cérébrales. Par exemple, l'isoforme 0N3R présente une expression plus faible dans le cervelet que dans les autres régions, et l'expression des isoformes 4R est augmentée dans le globus pallidus (Boutajangout et al., 2004; McMillan et al., 2008). L'expression des isoformes peut également différer selon les espèces, en effet chez la souris les formes 4R prédominent dans le cerveau adulte (Kosik et al., 1989) et les formes 3R sont exprimées de façon transitoire pendant le développement et dans le cerveau des nouveau-nés (McMillan et al., 2008). De plus, Zempel *et al.* ont mis en évidence des différences dans la localisation subcellulaire des différentes isoformes, avec une localisation des formes courtes 0N3R et 0N4R dans les axones alors que les formes longues sont partiellement maintenues dans le soma et les dendrites (Zempel et al., 2017). Cette différence de localisation serait liée entre autre à la barrière de diffusion de Tau (*Tau Diffusion Barrier-TDB*) située au niveau du segment initial de l'axone empêchant le retour rétrograde de la protéine Tau vers le soma et les dendrites (Li et al., 2011).

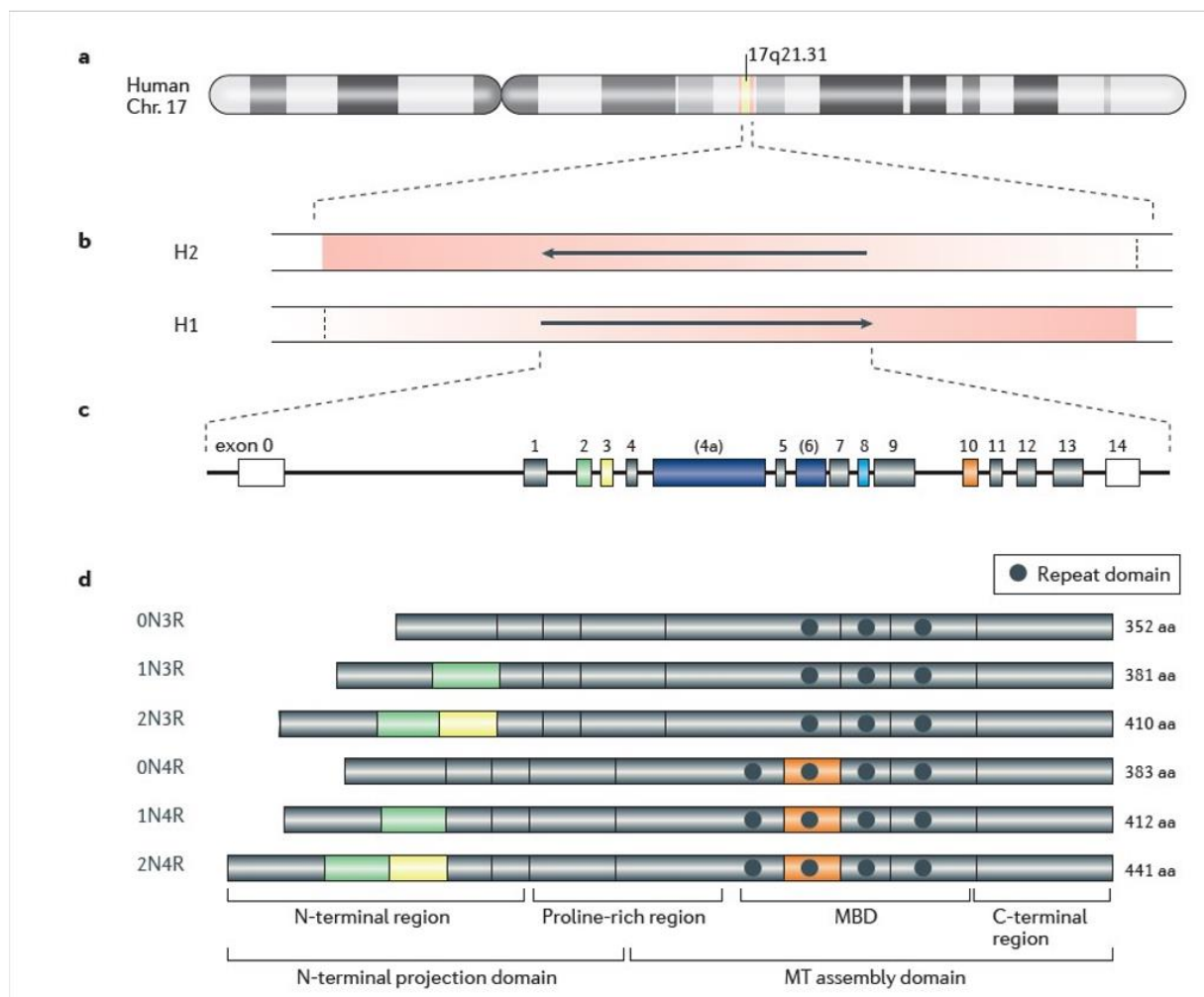


Figure 1 : Gène MAPT et isoformes de la protéine Tau

Le gène *MAPT* est situé sur le chromosome 17 en position 17q21.31. Dans le génome humain, il existe deux haplotypes H1 et H2 liés à une inversion de 900 kb. Dans le cerveau humain, l'épissage alternatif des exons 2, 3 et 10 entraîne la formation de 6 isoformes caractérisées par l'absence (0N) ou la présence d'un (1N) ou deux (2N) inserts au niveau n-terminal ainsi que la présence de 3 (3R) ou 4 (4R) motifs R dans le domaine de liaison aux microtubules (MBD). D'après Li and Götz, 2017

La caractérisation des différentes isoformes de la protéine Tau a également révélée des différences fonctionnelles entre ces dernières. En effet, bien que les isoformes 3R et 4R montrent certaines similitudes, elles adoptent différentes structures et fonctionnent différemment. Par exemple Goode *et al.* ont montré que la région C-terminale située juste après le 3^{ème} motif R dans l'isoforme 3R joue un rôle crucial dans l'interaction de Tau avec les microtubules alors que cette région n'est pas nécessaire dans les interactions des isoformes 4R avec les microtubules (Goode et al., 2000). De plus des études *in vitro* ont mis en avant que ces différences 3R/4R influent sur le transport axonal. Des expériences menées sur des neurones cultivées dans des chambres microfluidiques ont montré que,

comparées aux formes 3R, les formes 4R entraînent une diminution plus forte de la localisation des mitochondries sur les axones (Peck et al., 2011).

Les différences dans le nombre de motifs N ont également des conséquences sur la localisation subcellulaire de la protéine. Chez la souris, des expériences de fractionnement cellulaire et d'immunohistochimie ont mis en évidence que les formes 1N de Tau sont enrichies dans le noyau alors que les formes 0N et 2N sont enrichies dans les corps cellulaires et les axones des neurones (Liu and Götz, 2013). De plus, des expériences de co-immunoprécipitation couplées à de la spectrométrie de masse ont pu mettre en avant des différences d'affinité dans les liaisons de Tau et ses partenaires (Liu et al., 2016). En effet, dans cette étude les auteurs montrent que les formes 0N de la protéine Tau vont plutôt interagir avec des protéines impliquées dans la glycolyse, la respiration et l'homéostasie cellulaire alors que les formes 2N vont interagir avec des protéines impliquées dans la voie de biosynthèse de l'ATP et la transmission synaptique. Ces données et les données de localisation subcellulaire des différentes isoformes de la protéine Tau nous indiquent que les isoformes différenciées par le nombre de motifs N ont des rôles distincts dans les neurones.

2.1.2 Distribution

La protéine Tau est une protéine exprimée très majoritairement par les neurones mais elle serait aussi exprimée en plus faible quantité dans les cellules gliales (Papasozomenos and Binder, 1987) comme les astrocytes (Shin et al., 1991) et les oligodendrocytes chez le rat (LoPresti et al., 1995). Ces données de localisation de la protéine obtenues par immunohistochimie ont été récemment confirmées par quantification de l'expression du transcrite du gène MAPT obtenu par RNAseq sur cellules préalablement triées à partir d'échantillons d'origine humaine (Zhang et al., 2016) ou extraits de souris (Zhang et al., 2014) (figure 2).

En condition physiologique, dans les neurones, la protéine Tau est préférentiellement retrouvée dans le compartiment axonal (Binder et al., 1985) où elle participe au maintien du cytosquelette, mais elle est aussi présente dans le compartiment somatodendritique en moindre quantité (Tashiro et al., 1997). En effet, Dotti *et al.* ont mis en évidence un gradient de concentration de la protéine Tau, dans des neurones de rats *in situ* et en culture, avec une concentration plus forte au niveau distal, près des boutons synaptiques et diminuant progressivement vers le soma (Dotti et al., 1987). La protéine Tau est également retrouvée dans le noyau des neurones où elle aurait un rôle dans la protection de l'ADN contre le stress oxydatif (Sultan et al., 2011; Violet et al., 2014).

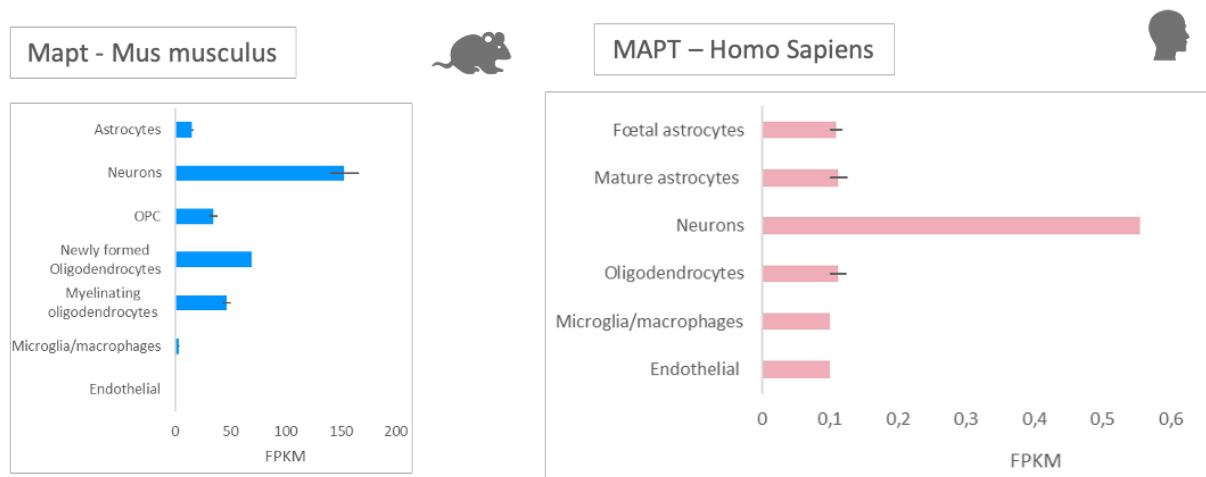


Figure 2 : Expression de Tau dans les différentes cellules cérébrales

Dans le cerveau Tau est majoritairement exprimée par les neurones et en faible quantité par les astrocytes et les oligodendrocytes (a) chez la souris et (b) chez l'Homme. Données de RNA-seq en FPKM (Fragment Per Kilobase Million) provenant du laboratoire de Ben Barres (<https://www.brainrnaseq.org>)

La protéine Tau est donc une protéine majoritairement intracellulaire mais des études récentes *in vitro* et *in vivo* montrent qu'elle peut également être libérée en conditions physiologiques dans le milieu extracellulaire par des neurones. Pooler *et al.* ont montré que l'activation des récepteurs NMDA de neurones corticaux matures de rat en culture entraîne une libération de la protéine Tau dans le milieu de culture. Dans cette étude, les auteurs ont également démontré que cette sécrétion de la protéine Tau est régulée par l'activité neuronale et passerait par des mécanismes de sécrétion pré-synaptique plutôt que par la voie des exosomes (Pooler *et al.*, 2013). Ces données ont été confirmées par Yamada *et al.* grâce à des expériences de microdialyse réalisées sur des souris WT et des souris surexprimant la protéine Tau humaine portant la mutation P301S (P301S ou PS19 (Yoshiyama *et al.*, 2007)) de 3 à 5 mois. Le rôle de cette protéine Tau extracellulaire est encore mal connu mais elle pourrait être impliquée dans la propagation de la protéine Tau et médier sa toxicité au cours de la MA. En effet, une étude *in vitro* sur cellules SH-SY5Y et sur des cultures primaires de neurones a montré que la protéine Tau entraîne une augmentation de la concentration en calcium extracellulaire en se fixant sur des récepteurs muscariniques de type M1 et M3 (Gómez-Ramos *et al.*, 2008). Une meilleure connaissance des rôles physiologiques et pathologiques de la protéine Tau extracellulaire permettrait peut-être de mieux cibler des espèces toxiques (conformation, différences post-traductionnelles...) de la protéine Tau dans un contexte thérapeutique.

2.1.3 Conformations et structures

La protéine Tau peut être divisée en 4 domaines : (i) une partie amino-terminale acide ou domaine de projection suivie (ii) d'une région riche en proline, (iii) d'un domaine de liaison aux microtubules et (iv) d'une queue C-terminale (figure 3).

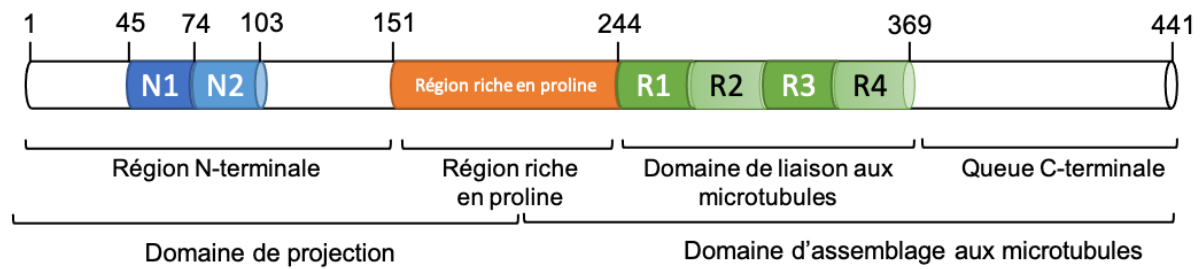


Figure 3 : Structures et domaine de la protéine Tau

La protéine Tau est composée de 4 domaines principaux : (i) une région N-terminale, (ii) une région riche en proline suivie (iii) d'un domaine de liaison aux microtubules et (iv) d'une queue C-terminale.

Le domaine de projection n'a pas de fonction bien caractérisée. D'après Chen *et al.* cette région pourrait contrôler l'espacement entre les microtubules dans les dendrites et les axones (Chen *et al.*, 1992) mais aussi l'interaction de la protéine Tau avec les microtubules. Des analyses d'ontologie de gènes ont pu montrer que le domaine de projection est également un domaine d'interaction avec d'autres protéines impliquées dans de nombreuses voies de signalisation (Brandt *et al.*, 2020) telle que GSK3 β (Glycogen synthase kinase 3 β) (Sun *et al.*, 2002). De plus le nombre de motif(s) N présent(s) (0N, 1N ou 2N) dans ce domaine de la protéine influence sa localisation subcellulaire (Liu and Götz, 2013).

La région riche en proline est impliquée dans l'interaction de la protéine Tau avec plusieurs partenaires. Elle contient 7 motifs riches en proline (PXXP), permettant ainsi une interaction avec les protéines ayant un domaine SH3 (SRC Homology 3) comme la protéine Fyn (Morris *et al.*, 2011). Ce domaine contient également des sites d'interaction avec d'autres protéines du cytosquelette comme l'actine (He *et al.*, 2009), mais aussi avec l'ADN (Qi *et al.*, 2015).

Comme son nom l'indique, le domaine de liaison aux microtubules permet la fixation de la protéine Tau aux microtubules et ainsi le maintien du cytosquelette. Cette interaction avec les microtubules est dynamique et ce mécanisme a été qualifié de « Kiss-and-Hop » par Janning *et al.* En effet l'interaction Tau-microtubule ne dure que quelques dizaines de millisecondes (Janning *et al.*, 2014).

La région C-terminale n'a à ce jour pas de fonction clairement identifiée et n'a pas d'interaction connue avec d'autres protéines.

Enfin, la protéine Tau est une protéine hautement soluble qui ne présente pas de structure tridimensionnelle déterminée. Elle est qualifiée de protéine dépliée nativement (*natively unfolded protein* en anglais). Elle est très flexible et présente peu de structures secondaires lorsqu'elle est sous forme libre dans le cytoplasme (Jeganathan *et al.*, 2008; Mukrasch *et al.*, 2009).

2.1.4 Modifications post-traductionnelles

Tau est une protéine dont les fonctions sont finement régulées par de nombreuses modifications post-traductionnelles (PTM pour « *post-translational modifications* ») qui ont des conséquences sur sa localisation subcellulaire et/ou ses interactions avec ses différents partenaires (figure 4) (Morris et al., 2015).

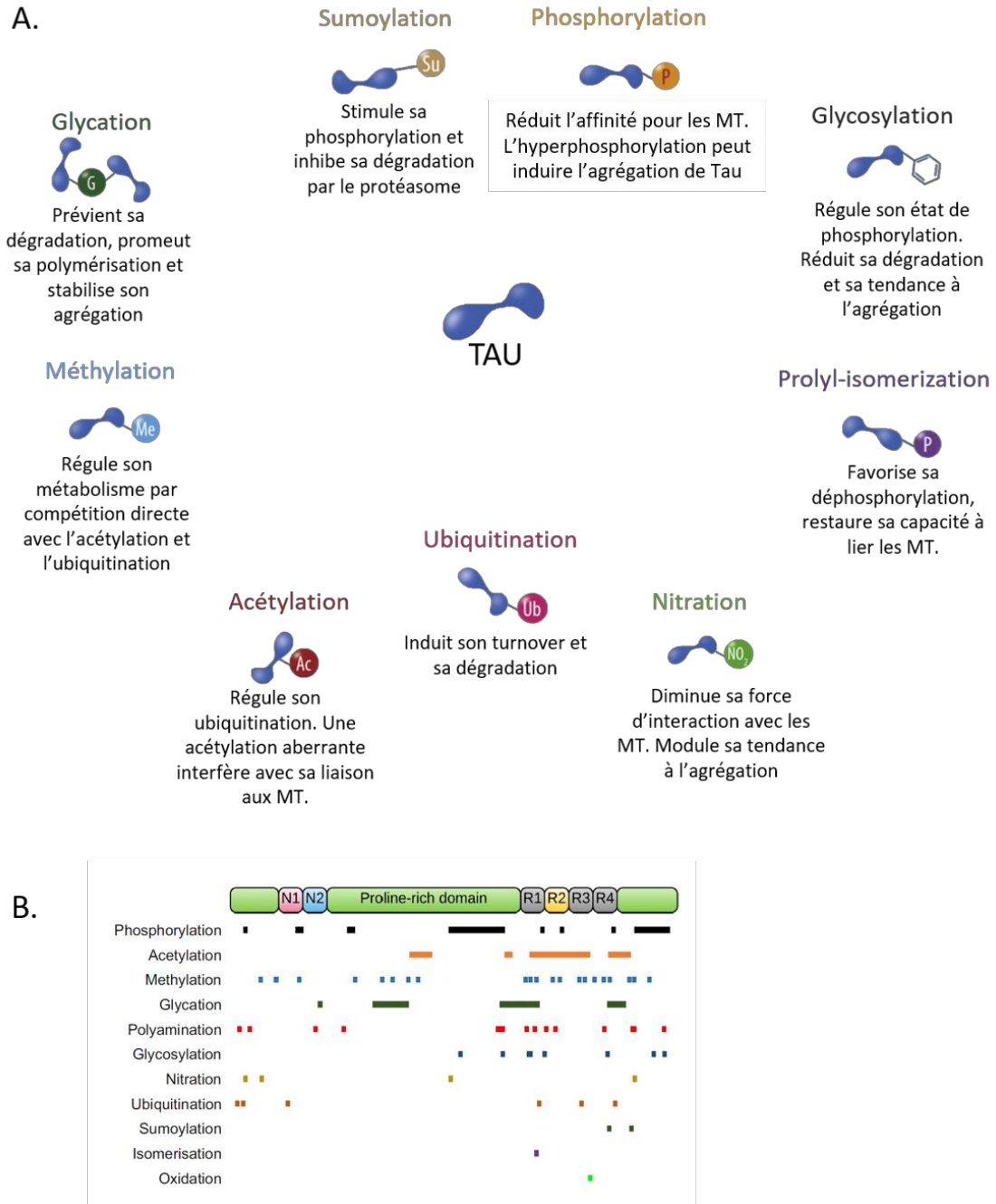


Figure 4 : Modifications post-traductionnelles de la protéine Tau.

(A) La protéine Tau est sujette à de nombreuses modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation, la glycosylation, l'acétylation, la nitration, la méthylation, la protyl-isomérisation, l'ubiquitination, la sumoylation et la glycation. L'ensemble de ces modifications peuvent réguler la liaison de Tau aux microtubules (MT), son métabolisme, son renouvellement ou son agrégation. D'après Tapia-Rojas *et al.* 2019

La PTM la plus abondante et la plus étudiée est la phosphorylation avec 85 sites potentiels décrits sur l'isoforme la plus longue de la protéine Tau (figure 5) : 45 sérines, 35 thréonines et 5 tyrosines (Hanger et al., 2009; Martin et al., 2011).

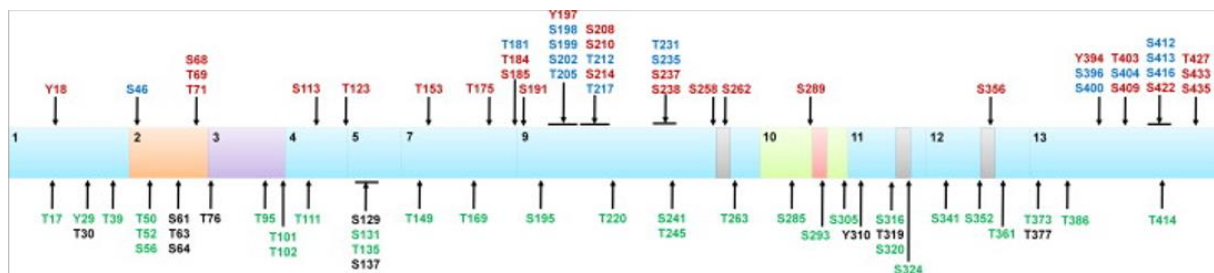


Figure 5 : Sites de phosphorylation de la protéine Tau

Représentation schématique des différents sites de phosphorylation de la protéine Tau sur l'isoforme la plus longue (2N4R, 441aa). Certains de ces sites ne sont retrouvés que dans des conditions pathologiques (en rouge), d'autres qu'en conditions physiologiques (en vert) ou dans les deux cas (en bleu). Les potentiels sites de phosphorylation notés en noir n'ont pas encore été montrés comme phosphorylés *in vitro* ou *in vivo*. D'après Martin *et al.*, 2011 (Martin et al., 2011)

De nombreuses kinases sont capables de phosphoryler la protéine Tau. Elles peuvent être subdivisées en trois groupes (Martin et al., 2011).:

- Les sérine-thréonine kinases ayant pour substrat des résidus prolines comme par exemple GSK3 β (Glycogen Synthase Kinase 3 β), les MAPK (Mitogen-activated Protein Kinases), et CDK5 (Cyclin Dependante Kinase 5).
- Les sérine-thréonine kinases non dirigées contre les prolines telles que MARK (Microtubule affinity-regulating kinase), TTBK1/2 (Tau-Tubuline kinase 1/2), PKA et PKC.
- Les tyrosines kinases comme Src, Fyn Abl et Syk

Cependant, il semble que GSK3 β joue un rôle prépondérant dans la phosphorylation de Tau avec 40 sites cibles potentiels dont au moins 29 ont été identifiés dans le cerveau des malades atteints de la MA (Hanger et al., 2009).

La déphosphorylation de Tau est assurée par plusieurs phosphatases mais l'activité phosphatase majoritaire provient de PP2A, responsable à 70% de la déphosphorylation de la protéine Tau dans le cerveau humain (Liu et al., 2005).

L'état de phosphorylation de la protéine Tau va principalement influencer sur son affinité avec les microtubules (MTs). Cependant, ces modifications sont très labiles et il est donc difficile de définir un rôle particulier pour chacune de ces phosphorylations dans des conditions physiologiques ou pathologiques. Certaines études ont mis en évidence que l'état de phosphorylation de la protéine Tau peut moduler sa localisation subcellulaire au noyau (Sultan et al., 2011) ou encore son association à la membrane plasmique (Pooler et al., 2012).

La protéine Tau est également régulée par d'autres PTM moins étudiées que la phosphorylation : la glycosylation, l'acétylation, la nitration, la méthylation, la protyl-isomérisation, l'ubiquination, la sumoylation et la glycation (figure 4). Ces modifications vont impacter l'état de phosphorylation de la protéine Tau, sa dégradation, son renouvellement, sa liaison avec les MT ainsi que sa capacité à s'agréger. Ces différentes modifications et leurs effets ont été décrites récemment dans la revue de Tapia-Rojas C. *et al.* (Tapia-Rojas et al., 2019).

En plus de ces différentes PTM, la protéine Tau peut être tronquée par plusieurs protéases dont des calpaïnes et des caspases. Les formes tronquées de la protéine Tau sont majoritairement décrites en conditions pathologiques. Plusieurs études rapportent que le clivage de la protéine Tau serait impliqué dans la physiopathologie des Tauopathies et semblent promouvoir la formation d'agrégats de Tau (Gu et al., 2020; Novak, 2010) ainsi que sa libération dans l'espace extracellulaire (Barten et al., 2011; Kim et al., 2010; Yamada et al., 2011).

2.1.5 Fonctions

Initialement, Tau a été décrite comme une protéine impliquée dans l'assemblage et la stabilisation des microtubules (Goedert and Jakes, 1990; Weingarten et al., 1975; Witman et al., 1976). Localisée majoritairement dans les axones (Aronov et al., 2001) elle peut, via son domaine MBD et ses domaines flanquants, interagir directement avec la tubuline polymérisée ou non (Butner and Kirschner, 1991; Kadavath et al., 2015). Cette interaction Tau-tubuline permet l'assemblage et la stabilisation de la tubuline en microtubules influant ainsi sur la morphologie neuronale (Gustke et al., 1994; Kanai et al., 1992). Cependant, ce dogme a récemment été remis en cause (Baas and Qiang, 2019), par des données montrant que *in vitro* la protéine Tau est principalement localisée dans le domaine labile des microtubules et que sa déplétion dans des cultures de neurones de rats, entraîne un raccourcissement et une stabilisation du domaine labile des microtubules, en lien avec une relocalisation de MAP6 (Microtubule Associated Protein 6). Cette étude suggère que la protéine Tau ne serait pas un stabilisateur des microtubules mais qu'elle préviendrait la stabilisation du domaine labile par d'autres protéines telle que MAP6 (Qiang et al., 2018).

De par sa présence sur les microtubules, plusieurs études ont suggéré un impact de Tau sur le transport axonal via une interaction avec les moteurs moléculaires des familles kinésines et dynéines permettant respectivement le transport antérograde et rétrograde. *In vitro*, de fortes concentrations de Tau entraînent une altération du transport axonal (Dixit et al., 2008; Dubey et al., 2008; Ebner et al., 1998). Cependant ces données ont été obtenues dans des conditions de surexpression de la protéine Tau et/ou dans des cellules non neuronales. De plus, une étude menée sur des modèles murins

transgéniques montre que le niveau d'expression de la protéine Tau n'affecte pas le transport axonal (Morfini et al., 2007; Yuan et al., 2008).

Plus récemment, la mise en évidence de la protéine Tau dans le compartiment somatodendritique et le noyau a permis de découvrir de nouvelles fonctions de la protéine.

La présence de la protéine Tau dans les dendrites a longtemps été associée à des situations pathologiques. Cette présence a été décrite *in vitro* et *in vivo* dans des conditions de surexpression de la protéine Tau mutante ou non (Götz et al., 1995; Hoffmann et al., 2013; Jaworski et al., 2011). La présence de la protéine Tau dans les dendrites a également été décrite dans des conditions physiologiques (Ittner et al., 2010). Ces différentes études suggèrent que la protéine Tau pourrait jouer un rôle dans des fonctions post-synaptiques. L'étude menée par Ittner et coll. a notamment montré que la protéine Tau est impliquée dans le ciblage postsynaptique de Fyn, un acteur essentiel de la signalisation des récepteurs NMDA (Ittner et al., 2010). La présence de la protéine Tau au niveau synaptique pourrait également être liée à un rôle dans la plasticité synaptique. En effet l'absence de Tau entraîne non seulement une diminution de la densité synaptique dans des cultures primaires de neurones d'hippocampe de rat (Chen et al., 2012) mais aussi un déficit de LTD (Long-term depression) *in vitro* sur des cultures organotypiques d'hippocampe de rat et *in vivo* chez des souris *MAPT*^{-/-} sans altérer la LTP (Long Term Potentialisation) (Kimura et al., 2014).

La localisation nucléaire de la protéine Tau a été décrite dans des cellules neuronales (Loomis et al., 1990; Rady et al., 1995; Wang et al., 1993) et non neuronales (Cross et al., 2000; Thurston et al., 1996). Une interaction entre la protéine Tau et l'ADN a été mise en évidence dans les cellules de la lignée HEK (Camero et al., 2014) mais également dans des neurones en cultures primaires (Sultan et al., 2011). Comme pour son interaction avec les microtubules, la liaison de Tau avec l'ADN est dépendante de son état de phosphorylation (Qi et al., 2015). Il a été suggéré que la protéine Tau serait impliquée dans la protection de l'ADN (Hua and He, 2003). En effet, chez les souris Tau KO en conditions de stress thermique, une augmentation des dommages de l'ADN a été observée (Violet et al., 2014). Plus récemment, une étude de ChIP-on-chip (Immunoprécipitation de la chromatine suivie d'une analyse par puces à ADN) menée sur des cultures primaires de souris wild-type, ou invalidées pour *Mapt*, ou exprimant une Tau humaine mutée sous contrôle d'un promoteur neuronal (Thy-Tau22 (Schindowski et al., 2006a)), a mis en évidence que la protéine Tau se fixait sur les séquences régulatrices de certains gènes agissant ainsi comme un répresseur de leur expression (Benhelli-Mokrani et al., 2018).

2.1.6 Turnover de la protéine Tau et dégradation.

Bien que plusieurs études se soient intéressées au métabolisme de Tau, il a fallu attendre 2014 pour que les premières mesures du turnover de la protéine Tau soient réalisées *in vivo* dans des modèles transgéniques : (i) des souris transgéniques hTau40 Δ K280 exprimant la forme 2N4R de la protéine Tau humaine avec les mutations Δ K280 entraînant une agrégation de la protéine Tau ou la mutation Δ K280/PP permettant d'obtenir un modèle antiagrégant, et (ii) des souris P301S exprimant la protéine Tau humaine sous sa forme 1N4R.

Ces études ont permis de montrer à l'aide de la technique de microdialyse que la demi-vie de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire est d'environ 11 jours (Yamada et al., 2014) et de 9,4 jours dans les neurones de l'hippocampe (Yamada et al., 2015). Plus récemment, une étude menée chez l'Homme sain sur le liquide céphalo-rachidien (LCR) a mis en évidence que la demi-vie de la protéine Tau est de $23 \pm 6,4$ jours (Sato et al., 2018). Cette étude a également montré que les formes phosphorylées de Tau et l'isoforme 4R présentent un turnover plus rapide dans des cultures de neurones dérivés d'IPS (induced pluripotent cells)

Les mécanismes de dégradation des protéines dans les neurones sont le système ubiquitine/protéasome (UPS pour "*ubuitin/proteasome system*") et la voie de l'autophagie et des lysosomes.

La dégradation par le système UPS, cible les protéines ubiquitinées par les ubiquitines ligases E1, E2 et/ou E3. Les protéines ainsi polyubiquitinylées sont reconnues par le protéasome 26S composé d'un cœur protéolytique, le protéasome 20s et d'un complexe régulateur appelé complexe 19s. L'effet du système UPS sur Tau a été mis en évidence *in vitro* en montrant que le blocage spécifique du protéasome 20S par la lactacystine entraîne une inhibition de la dégradation de la protéine Tau (David et al., 2002). De façon intéressante, le blocage du système UPS n'entraîne pas l'accumulation de la protéine Tau (Delobel et al., 2005) suggérant l'existence d'un autre système de dégradation de la protéine Tau.

En effet, plusieurs études montrent que la protéine Tau peut être dégradée par la voie de l'autophagie *in vitro* et *in vivo* (Bednarski and Lynch, 1996; Bendiske and Bahr, 2003). Le lien entre l'autophagie et la protéine Tau est décrit en détails dans les revues de Tapia-Rojas et coll. (Tapia-Rojas et al., 2019) et de Tang et coll. (Tang et al., 2019).

2.2 La protéine Tau en conditions pathologiques

Les modifications de la protéine Tau, telles que la troncature et les modifications post-traductionnelles peuvent entraîner une agrégation de la protéine Tau et la formation d'espèces toxiques. Notamment,

la présence de la protéine Tau sous sa forme hyperphosphorylée et/ou sa forme agrégée est l'une des caractéristiques d'un groupe de maladies neurodégénératives appelées Tauopathies.

En effet, en plus d'être phosphorylée sur ses sites « physiologiques », la protéine Tau présente aussi des motifs de phosphorylations sur d'autres sites qui ne sont décrits qu'étant associés à des conditions pathologiques (figure 5). Cette hyperphosphorylation peut entraîner une diminution de l'affinité de Tau pour les MT. Le pool de protéine Tau présente sous forme soluble dans le cytosol va ainsi augmenter et la protéine va être soumise à de nouvelles PTM qui vont entraîner un changement de conformation capable de promouvoir sa dimérisation. Ces dimères stables vont ensuite être la base de la formation de fibrilles appelés filament hélicoïdaux appariés (PHFs) qui vont eux-mêmes former les agrégats matures de Tau appelés dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (figure 6).

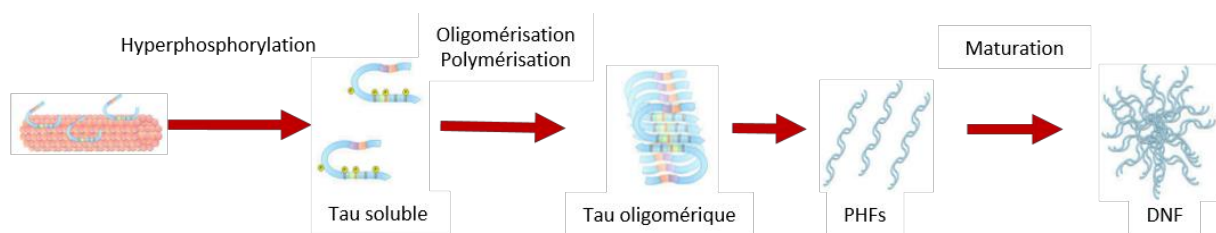


Figure 6 : Étape de l'agrégation de Tau

L'hyperphosphorylation de la protéine Tau entraîne son détachement des MTs et augmente la quantité de Tau monomérique soluble. Ensuite, les monomères se dimérisent et s'oligomérisent jusqu'à former des PHFs. La dernière étape est l'agrégation des PHFs en DNF. D'après Martin *et al.* 2011 (Martin *et al.*, 2011)

Bien que les agrégats aient longtemps été considérés comme l'espèce la plus toxique dans les Tauopathies, de nouvelles données montrent que les oligomères solubles de Tau seraient à l'origine de la neurotoxicité induite par la protéine Tau. En effet, de la neurodégénérescence a été observé dans des modèles murins surexprimant la protéine Tau en absence de DNF (J. Bonda *et al.*, 2011). De plus une étude récente menée au laboratoire grâce à un modèle développé sur le rat montre que les formes hyperphosphorylées solubles de Tau sont très toxiques alors que les agrégats sont moins ou non toxiques (d'Orange *et al.*, 2018). Ces résultats sont en accord avec une étude menée sur des tissus humains montrant une corrélation entre la concentration d'oligomères solubles et les défauts mnésiques (Mufson *et al.*, 2014).

Les mécanismes induisant la toxicité des oligomères et/ou des agrégats de la protéine Tau restent encore assez obscurs et pourraient être directs ou indirects via une perte de fonction de la protéine et/ou un gain de fonction toxique (figure 7).

La protéine Tau hyperphosphorylée entraîne une diminution de la stabilité des microtubules et peut donc affecter le transport et la signalisation cellulaire (Afreen *et al.*, 2017; Combs *et al.*, 2019; Swanson *et al.*, 2017). Ce défaut de transport axonal peut directement affecter le transport des

mitochondries. Ainsi, l'injection d'oligomères dans des cerveaux de souris sauvages (C57Bl6/J) entraîne une altération de la fonction mitochondriale (Lasagna-Reeves et al., 2011; Pérez et al., 2018). Ces défauts mitochondriaux ont été observés dans un modèle murin de Tauopathie, les souris transgéniques P301L qui surexpriment la forme humaine de la protéine Tau portant la mutation P301L (David et al., 2005), mais aussi dans des cerveaux de patients atteints de MA (Kim et al., 2001). Ces défauts structurels et énergétiques peuvent avoir un impact direct sur l'intégrité et la fonction synaptique. La protéine Tau hyperphosphorylée peut s'accumuler dans le compartiment somatodendritique (Hoover et al., 2010). Dans les modèles animaux, cette présence ectopique de la protéine Tau entraîne des dommages synaptiques tels qu'un défaut de LTP, une diminution du nombre de récepteurs au glutamate ou encore une excitotoxicité. Plusieurs études électrophysiologiques ont notamment mis en évidence que l'infusion d'oligomères synthétiques de Tau sur des tranches d'hippocampe entraîne une diminution de la LTP au niveau des synapses CA3-CA1 (Fá et al., 2016; Hill et al., 2019; Ondrejcek et al., 2018). Cette diminution de la LTP a également été décrite dans de nombreux modèles transgéniques exprimant la protéine Tau WT (lignées transgéniques hTau) ou les formes mutantes de la protéine (lignées transgéniques P301L, P301S, THY-Tau22 par exemple). La protéine Tau au niveau pré- et post-synaptique peut également jouer sur la morphologie des synapses et causer une forte diminution du nombre de vésicules synaptiques (Decker et al., 2015). L'ensemble des données de la littérature suggère que l'accumulation de la protéine Tau pathologique à la synapse suite à des PTM a pour conséquences une diminution du nombre de vésicules synaptiques et d'épines dendritiques mais également du niveau d'expression des protéines synaptiques telles que PSD95. Ces altérations vont entraîner une perte synaptique et induire finalement des déficits cognitifs et une altération de la mémoire (Tai et al., 2012, 2014).

Les modifications de la protéine Tau (mutations, troncatures, PTM) peuvent également affecter ses interactions avec ses différents partenaires.

Initialement des études ont mis en évidence que l'hyperphosphorylation de la protéine Tau entraîne une diminution de la liaison de Tau avec l'ADN (Camero et al., 2014; Lu et al., 2013). Cette diminution de l'interaction avec l'ADN était plutôt considérée comme une perte de fonction physiologique. Plus récemment, une étude menée par Benhelli-Mokorani et coll. suggère que l'hyperphosphorylation de la protéine Tau au niveau du noyau serait plutôt associée à un gain de fonction toxique (Benhelli-Mokorani et al., 2018). En effet le séquençage des ARNm (RNAseq) extraits de la région CA1 de l'hippocampe de souris THY-Tau22, montre que la répression de l'expression de gènes par la protéine Tau serait plus forte en présence d'oligomères.

En plus de l'effet toxique des oligomères au niveau de l'ADN, la protéine Tau hyperphosphorylée entraîne un défaut de transport nucléocytoplasmique (Eftekharzadeh et al., 2018). L'accumulation de la protéine Tau dans la périphérie nucléaire se traduit par une interaction anormale de la protéine Tau

avec Nup98, un des composants du complexe du pore nucléaire (NPC pour "nuclear pore complex"). Cette interaction va par la suite contribuer à la neurotoxicité de la protéine Tau en potentialisant son agrégation.

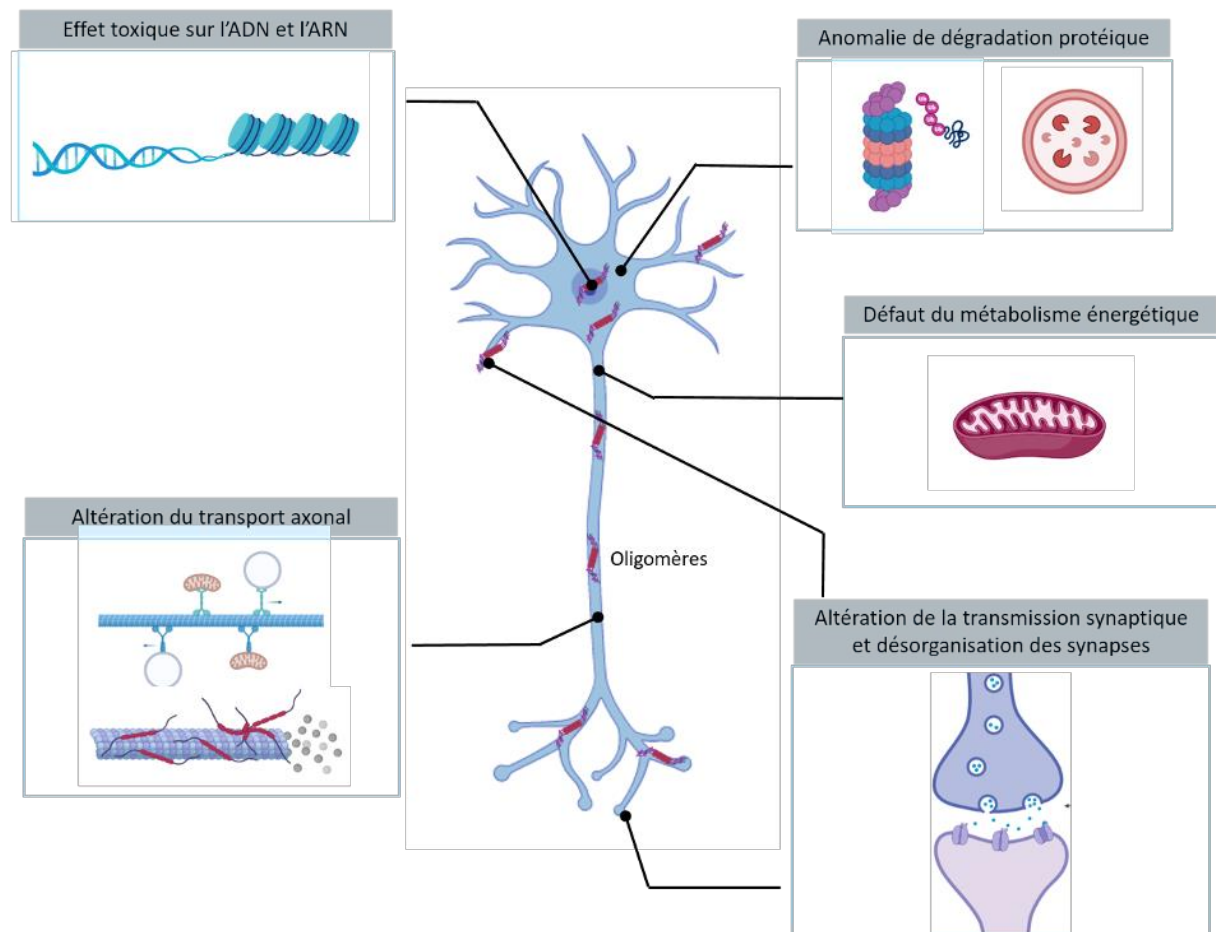


Figure 7 : Illustrations des processus intraneuronaux affectés par les oligomères de Tau

En conditions pathologiques, les modifications post-traductionnelles peuvent diminuer l'affinité de la protéine Tau pour les microtubules, entraîner son détachement de ces derniers et provoquer le désassemblage des microtubules. Ce désassemblage va conduire à des altérations du transport axonal. La délocalisation de la protéine Tau dans les synapses peut entraîner un dysfonctionnement synaptique lié à une diminution du nombre de vésicules présynaptiques, une excitotoxicité et à terme une perte synaptique. L'hyperphosphorylation de la protéine Tau empêche son entrée dans le noyau et entraîne donc une perte des fonctions de Tau au niveau de l'ADN et de l'épissage. Adapté de Niewiadomska *et al.* 2021 (Niewiadomska *et al.*, 2021)

Les différents effets des oligomères de Tau mentionnés ci-dessus sont détaillés dans la revue de Niewiadomska *et coll.* publiée en début d'année (Niewiadomska *et al.*, 2021)

2.2.1 Les Tauopathies

Les Tauopathies sont un groupe d'une vingtaine de maladies neurodégénératives caractérisées par la présence d'agrégats de la protéine Tau dans les neurones et/ou les cellules gliales. Bien qu'appartenant à un même groupe, ces pathologies sont très hétérogènes tant sur le plan clinique et

anatomopathologique que sur le plan biochimique. En effet, ces pathologies peuvent être distinguées par la nature des isoformes constituant les dépôts de la protéine, par les types cellulaires impliqués et les aires anatomiques touchées (Kovacs, 2018). Ces différentes caractéristiques vont entraîner des phénotypes cliniques relativement divers et associant des déficits cognitifs et des défauts moteurs.

Les Tauopathies peuvent être différenciées dans un premier temps par la nature des lésions. Les Tauopathies ayant des lésions histologiques liées à l'accumulation majoritaire de la protéine Tau sont qualifiées de Tauopathies primaires. La démence frontotemporale avec parkinsonisme liée au chromosome 17 (FTDP-17), la paralysie supra-nucléaire progressive (PSP), la démence corticobasale (DCB), la maladie de Pick et la démence à grains argyrophiles sont des Tauopathies primaires. Les Tauopathies secondaires quant à elles présentent une pathologie Tau associée à une pathologie amyloïde. La MA et la démence liée à la trisomie 21 sont considérées comme des Tauopathies secondaires.

Les Tauopathies peuvent également être classifiées selon le type et le ratio d'isoforme 3R/4R de la protéine Tau présente dans les agrégats.

- Les Tauopathies de classe I sont caractérisées par la présence des 6 isoformes de la protéine dans les lésions. La MA, la trisomie 21, l'encéphalopathie chronique ou encore certaine FTDP-17 sont considérées comme des Tauopathies de classe I.
- La classe II des Tauopathies comprend la PSP, la CBD ou encore la démence à grains argyrophiles. Ces Tauopathies sont toutes caractérisées par l'agrégation des isoformes 4R de la protéine.
- Dans la classe III des Tauopathies, ce sont les isoformes 3R qui sont présentes dans les agrégats. La maladie de Pick et certaines formes familiales de FTDP-17 font partie de cette classe III.
- Pour finir, la classe IV des Tauopathies est caractérisée par l'agrégation des isoformes 0N3R de la protéine Tau. Ces agrégats sont la cause des dystrophies myotoniques de type I et II.

Certaines de ces Tauopathies sont sporadiques (MA par exemple) alors que d'autres sont génétiques, associées à des mutations du gène *MAPT*. En effet, plus de 50 mutations de ce gène ont été associées à la FTDP-17 dans près de 150 familles à travers le monde (figure 8) (Ghetti et al., 2015; Strang et al., 2019). Certaines de ces mutations comme les mutations P301L ou Δ K280 dans l'exon 10 vont entraîner une augmentation de l'agrégation de la protéine Tau et une diminution de son affinité pour les microtubules (Barghorn et al., 2000). A l'inverse d'autres mutations comme la mutation E342V vont promouvoir l'assemblage des microtubules (Lippa et al., 2000).

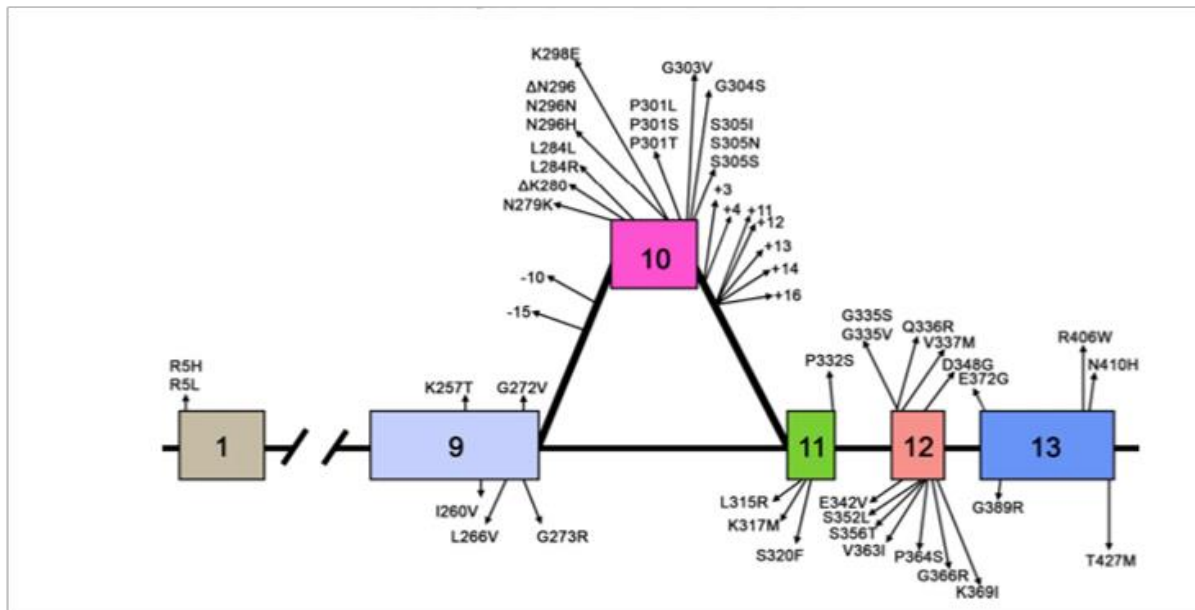


Figure 8 : mutations du gène *MAPT* associées à la FTDP-17
 D'après Ghetti *et al.*,2015 (Ghetti et al., 2015)

2.2.2 La maladie d'Alzheimer : la Tauopathie la plus fréquente

2.2.2.1 Généralités

La MA décrite en 1907 par Alois Alzheimer (Alzheimer et al., 1995) est la cause la plus fréquente de démence dans le monde. Entre 60 et 70% des cas de démences seraient des MA, ce qui représente près de 50 millions de personnes dans le monde et 900 000 personnes en France (Fondation Alzheimer, 2019). Des prévisions indiquent que ces chiffres devraient doubler tous les 20 ans avec une estimation de 2 millions de cas en France en 2050.

La MA existe sous deux formes : les formes familiales et les formes sporadiques. Les formes familiales sont rares (1,2 à 2% des cas) et précoces (avant 65 ans) et sont causées par des mutations autosomiques dominantes au niveau de trois gènes : le gène *APP* (amyloid Protein Precursor) et les gènes codant les présénilines 1 et 2 (*PS1* et *PS2*). Les formes sporadiques apparaissent plus tardivement et mettent en jeu différents facteurs de risque comme le vieillissement qui est considéré comme le premier facteur de risque de la maladie. D'autres facteurs de risque ont été décrits dans l'étiologie de la MA, ces facteurs peuvent être environnementaux (pollution de l'air, exposition à des toxines), liés à notre mode de vie (alimentation, sédentarité) ou encore associés à d'autres pathologies (maladies cardiovasculaires, diabète, infections bactériennes ou virales) (Breijyeh and Karaman, 2020). Ces différents facteurs « environnementaux » ont été décrits dans le rapport 2020 de l'Alzheimer Association (Alzheimer Association, 2020) et leur analyse dans la dernière étude de Lourida et coll.

conclue qu'un mode de vie sain est associé à un plus faible risque de développer une démence et ce même pour les personnes présentant un risque génétique (Lourida et al., 2019).

La MA, qui se déclare dans la majorité des cas après l'âge de 65 ans, est caractérisée dans un premier temps par des troubles cognitifs légers et des pertes de mémoire. Au cours de l'évolution de la maladie, de nouvelles altérations cognitives apparaissent, telles que des troubles du langage, de la reconnaissance ou encore de la motricité qui entraînent à terme une perte d'autonomie. Cependant ces symptômes et leur apparition sont variables d'un patient à l'autre et forment un continuum allant du stade préclinique jusqu'à une forme sévère de la pathologie (figure 9).

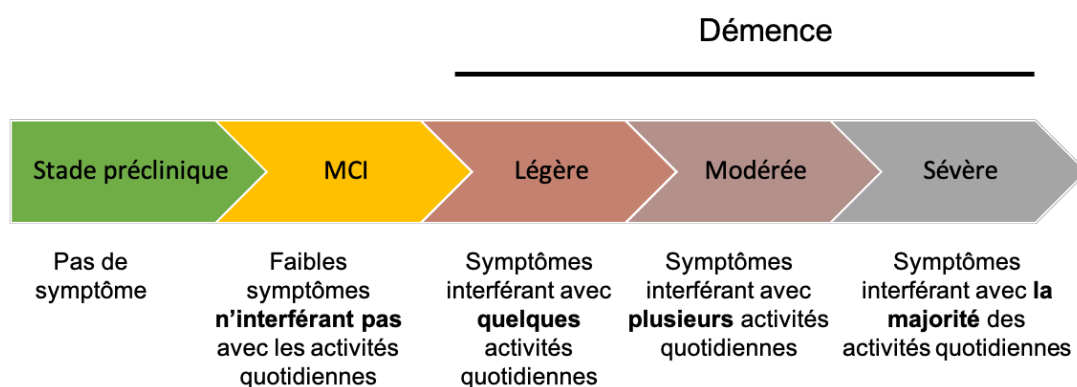


Figure 9 : Évolution des symptômes dans la maladie d'Alzheimer

L'apparition des symptômes cognitifs dans la maladie d'Alzheimer apparaissent selon un continuum allant d'un stade préclinique jusqu'à une démence sévère. Le temps d'évolution des symptômes sera variable selon les patients. MCI pour Mild Cognitive Impairment. Adapté de l'Alzheimer's Association report 2020

2.2.2.2 Les acteurs de la maladie d'Alzheimer

L'analyse post-mortem du tissu cérébral de patients atteints de la MA met en évidence deux marqueurs de la maladie : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires

Les plaques amyloïdes appelée également plaques séniles sont des agrégats extracellulaires insolubles de peptides A β (figure 10a). Le peptide A β provient d'un clivage de son précurseur l'APP conduisant à la formation d'un peptide de 37 à 49 acides aminées. L'APP peut-être clivé selon deux voies : la voie non-amyloïdogène et la voie amyloïdogène. La voie non-amyloïdogène favorisée en conditions physiologiques implique deux sécrétases : l' α -sécrétase générant deux fragments (CD83 et sAPP α) puis la γ -sécrétase clivant le fragment CD83 pour générer les fragments P3 et AICD. En conditions pathologiques, telles que la MA, le clivage de l'APP par la voie amyloïdogène, implique la β -sécrétase puis la gamma-sécrétase et entraîne la formation du peptide A β 42. Ce peptide de 42 aa s'accumule dans l'espace extracellulaire pour finalement former les plaques séniles. La pathologie

amyloïde n'est pas figée et on observe une évolution spatio-temporelle des lésions amyloïde définie par les phases de Thal (Thal et al., 2002) (figure 10b).

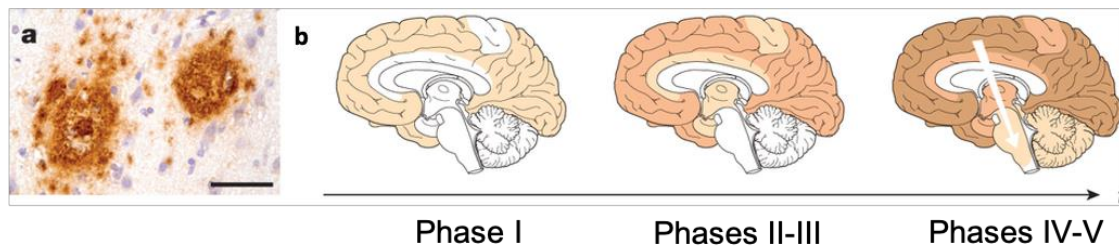


Figure 10 : Pathologie amyloïde

Les plaques amyloïdes (a) sont des agrégats extracellulaires de peptides A β se propageant d'une façon spatio-temporelle définie par les phases de Thal (b). En stade I, les dépôts amyloïdes sont localisés dans le néocortex. Les dépôts apparaissent de façon centripète pour gagner le cortex entorhinal, CA1 et l'insula (stade II) puis le noyau caudé, le putamen, le thalamus, l'hypothalamus et la substance blanche (III). Au cours des stades tardifs, les dépôts amyloïdes sont présents dans la substance noire, CA4, les colliculi supérieurs et inférieurs (stade IV) et pour finir le cervelet, le locus coeruleus, les noyaux réticulotegmental, dorso-tegmental et raphé (stade V). Adaptée de Jucker et Walker, 2013 (Jucker and Walker, 2013)

Les dégénérescences neurofibrillaires sont quant-à-elles formées par une agrégation de la protéine Tau (cf. partie « La protéine Tau en condition pathologique »). A l'instar de la pathologie amyloïde, la pathologie Tau se propage dans le cerveau selon un schéma spatiotemporel défini par les stades de Braak (Braak and Braak, 1991). Au cours des stades I et II de Braak, la pathologie Tau se situe dans le cortex transentorhinal puis elle se propage le long de voies synaptiquement connectées pour atteindre le cortex entorhinal et l'hippocampe au cours des stades III et IV de Braak aussi appelés stades limbiques. Dans les derniers stades de la pathologie, dit stades isocorticaux (V-VI), la pathologie Tau atteint l'ensemble du néocortex (figure 11).

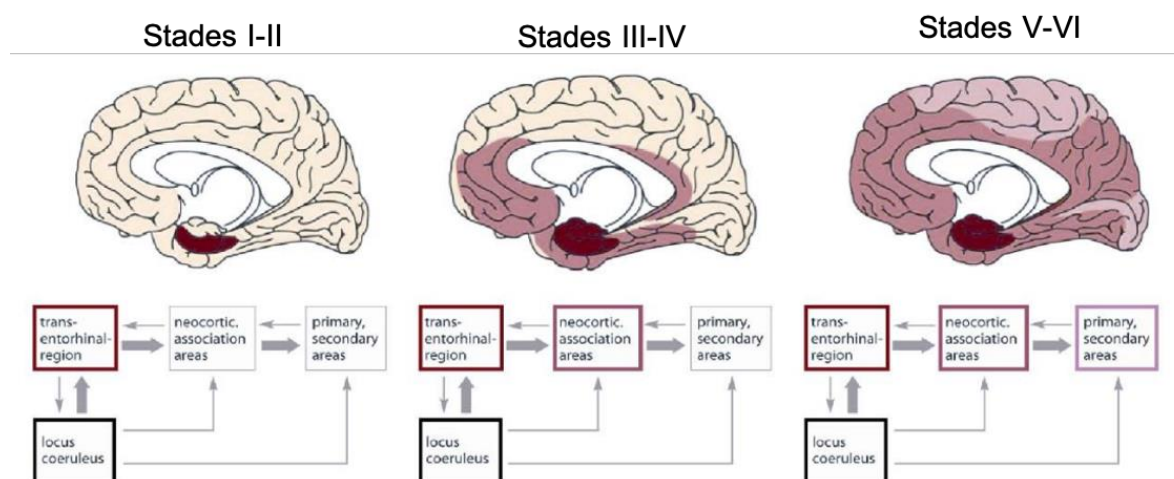


Figure 11 : Propagation spatiotemporelle de la pathologie Tau

Les agrégats de protéine Tau appelés aussi DNFs sont localisés en premier lieu dans le locus coeruleus puis la pathologie se propage à la région transentorhinal (stade I et II –rouge foncé). La pathologie atteint ensuite les aires associatives néocorticales (stades III et IV- rouge) pour se propager aux aires primaires et secondaires dans les stades les plus tardifs de la MA (stades V-VI-rose). D'après Braak et coll. 2011 (Braak et al., 2011)

Pendant de nombreuses années, les plaques séniles ont été considérées comme le cœur des mécanismes pathologiques de la MA. En effet, au cours des années 1990, Hardy et Higgins ont formulé l'hypothèse suivante : « *Notre hypothèse est que le dépôt de la protéine amyloïde β , le composant majoritaire des plaques, est l'agent responsable de la pathologie Alzheimer, et les dégénérescences neurofibrillaires, la perte cellulaire, les dommages vasculaires et la démence suivent comme un résultat direct de ce dépôt* » (Hardy and Higgins, 1992). Cette hypothèse a été formulée à la suite de la découverte d'une mutation pathologique sur le gène de l'APP sur le chromosome 21, puis confortée par la découverte des mutations des gènes PS1 et PS2 observées dans les formes familiales précoces.

Cependant, cette hypothèse a ensuite été remise en question, notamment par l'absence de corrélation entre la charge amyloïde et la perte neuronale ou encore les déficits mnésiques. Plusieurs études rapportent l'existence d'individus ayant une forte charge amyloïde (mesurée par TEP) sans présenter de déficit cognitif ni symptômes caractéristiques de la MA (Aizenstein et al., 2008; Delaère et al., 1990; Katzman et al., 1988; Villemagne et al., 2011). Cette remise en cause de l'hypothèse de la cascade amyloïde a de plus été renforcée par l'échec de nombreux essais cliniques visant à diminuer la charge amyloïde, ayant prouvé leur efficacité sur des modèles animaux de surcharge amyloïde, mais n'ayant pas permis d'amélioration clinique chez les patients (Ricciarelli and Fedele, 2017). Toutefois, les dernières données des essais cliniques en phases 2 par immunothérapie [Aducanumad](#) (Alzforum, 2020) et [Donenamab](#) (Alzforum, 2021) montrent un ralentissement du déclin cognitif si les patients sont traités suffisamment tôt et sont porteurs d'espoir pour l'avancée des traitements de la MA ciblant la composante amyloïde de la pathologie (qui ne seront pas traités en détails dans ce manuscrit).

A l'inverse, d'autres études ont permis de mettre en avant une corrélation forte entre la progression de la pathologie Tau, l'apparition des symptômes et l'atrophie cérébrale (Delacourte et al., 1999; Wilcock and Esiri, 1982). Ces analyses histologiques et biochimiques ont été confirmées par des études de TEP qui ont pu être menées plus récemment grâce à la mise au point de radioligands spécifiques des agrégats de protéine Tau (Bejanin et al., 2017; Richter et al., 2020; Xia et al., 2017). Ces résultats suggèrent que la Tauopathie et les DNFs ne sont pas seulement une conséquence de la pathologie amyloïde mais également un des acteurs principaux dans la survenue des symptômes de la MA.

Ainsi, les dernières théories sur l'étiologie de la MA n'opposent plus formellement les plaques séniles et la Tauopathie comme facteur unique responsable de la pathologie, mais proposent qu'A β et Tau agissent en interaction dans cette pathologie ce qui permettrait d'expliquer les différents échecs des thérapies dirigées seulement contre le peptide A β (Busche and Hyman, 2020). Plusieurs données expérimentales supportent cette hypothèse d'interaction. *In vitro* par exemple, l'exposition de cellules SH-SY5Y exprimant la protéine Tau humaine à des agrégats de peptides A β 42 synthétiques entraîne

une diminution de la solubilité de la protéine Tau et son agrégation sous forme de PHF (Ferrari et al., 2003). *In vivo*, de nombreux modèles murins de Tauopathie ont permis de mettre en évidence que l'injection d'A β (synthétique ou purifié de cerveaux de patients) au niveau cortical ou hippocampique accélère la formation de DNFs au site d'injection mais aussi dans les aires synaptiquement connectées (Bolmont et al., 2007; Götz et al., 2001). De plus, les plaques séniles pourraient fournir un environnement favorable à l'agrégation et la propagation de la pathologie Tau (He et al., 2018; Vergara et al., 2019). Ces données semblent indiquer que la pathologie Tau est potentialisée par les formes oligomériques et/ou fibrillaires d'A β , mais d'autres études montrent que la pathologie Tau potentialise également la pathologie A β (R. J. Jackson et al., 2016; Ribé et al., 2005). Cette « coopération » entre A β et Tau a été récemment mise en évidence grâce à un modèle de souris AAP/PS1 exprimant la protéine Tau humaine sans expression de la protéine Tau endogène (MAPT null) (Pickett et al., 2019). Ce travail met en évidence que la présence de Tau et d'A β entraîne des défauts cognitifs mais aussi des modifications transcriptionnelles (augmentation des gènes de l'inflammation et diminution de l'expression des gènes synaptiques). Cette synergie entre charge amyloïde et Tauopathie a été également rapportée chez les patients grâce à des études longitudinales d'imagerie TEP (Sperling et al., 2019) ou encore de mesures de marqueurs pathologiques présents dans le LCR (Timmers et al., 2019). Cette synergie entre les pathologies amyloïdes et Tau semblent entraîner les défauts métaboliques décrits chez les patients au stade pré-symptomatiques (Pascoal et al., 2017).

Cependant, les lésions liées aux protéines Tau et A β ne sont pas les seuls facteurs clefs de la pathologie. En effet aujourd'hui la neuroinflammation émerge comme acteur déterminant dans les processus neurodégénératifs de la MA. Cette composante sera décrite en détails dans la partie III de cette introduction.

2.2.2.3 Diagnostic de la MA

A ce jour, le diagnostic de la MA repose sur un ensemble d'examens.

En première intention, des tests cognitifs sont réalisés chez les patients par des neuropsychologues. Ces tests vont permettre une évaluation cognitive globale (langage, raisonnement, compréhension, orientation dans le temps et l'espace...) mais également une évaluation de la mémoire.

L'imagerie médicale permet également de détecter des signes spécifiques de la maladie. Depuis plusieurs années, l'IRM permet de mettre en évidence des changements de volume de différentes régions cérébrales. Dans le cerveau des patients il est possible d'observer une diminution du cortex cérébral et de l'hippocampe et une augmentation de la taille des ventricules (Bobinski et al., 1999; Whitwell et al., 2012). Il est possible d'associer d'autres méthodes d'imagerie dites

fonctionnelles aux données morphologiques acquises par IRM. En effet, des études récentes ont mis en évidence une diminution de la force d'interaction entre les zones cérébrales aux repos (imaginées par la technique de « *resting state* ») chez les patients au stade MCI (Mild Cognitive Impairment) et MA (Yuxia Li et al., 2015). De plus aujourd'hui l'imagerie TEP (Tomographie par Emission de Positons) permet un diagnostic plus précoce et plus spécifique de la MA. L'examen de TEP a notamment permis de mettre en évidence une diminution de la consommation cérébrale de glucose chez les patients pré symptomatiques (15 ans avant l'apparition des symptômes) atteints de formes familiales de la MA (Mosconi et al., 2006). Cette diminution de la consommation de glucose mesurée par tomographie par émission de positons du marqueur [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose (FDG-PET) permet de différencier les stades MCI et les stades plus avancés de la maladie. L'imagerie TEP permet également de détecter les plaques amyloïdes et la protéine Tau hyperphosphorylée présente dans le cerveau des patients (Matsuda et al., 2019; Villemagne et al., 2017). Le ligand amyloïde le plus connu, le ¹¹C-PiB (Pittsburg Compound), est un dérivé de la thioflavine T (marqueur histologique de la protéine amyloïde) et montre une forte affinité et une grande spécificité de liaison aux fibrilles A β . Cependant son utilisation est restreinte du fait de sa courte demi-vie (20min) et les nouveaux ligands amyloïdes marqués au ¹⁸F ont une demi-vie plus longue (Krishnadas et al., 2021). La première génération de traceur PET pour la pathologie Tau, comme le Flortaucipir, présentait de nombreux marquages non spécifiques. La deuxième génération de traceurs Tau comme le ¹⁸F-RO948 semblent plus spécifiques des DNFs et permettent un diagnostic différentiel des différentes Tauopathies (Brendel et al., 2020; Leuzy et al., 2020). Cependant ces techniques d'imagerie sont coûteuses (synthèse de radio-ligands, matériels d'imagerie...) et leur interprétation nécessite des spécialistes c'est pourquoi la recherche se tourne aujourd'hui vers des solutions de diagnostic précoce moins coûteuses.

Ainsi, il est possible aujourd'hui de renforcer le diagnostic à l'aide de marqueurs biochimiques détectés dans le LCR et plus récemment dans le plasma sanguin. Ces marqueurs visent à détecter les deux grands types de lésions caractéristiques de la MA avec des mesures d'A β 42 et de p-Tau181 au niveau du LCR, mais ils peuvent également mettre en évidence une altération synaptique ou encore une neuroinflammation (figure 9). De nouveaux biomarqueurs sanguins sont en cours de développement pour mesurer les taux d'A β et Tau dans le plasma. Ces différents biomarqueurs sont décrits dans les revues récentes de Tarawneh et coll. et de Ausó et coll. (Ausó et al., 2020; Tarawneh, 2020)

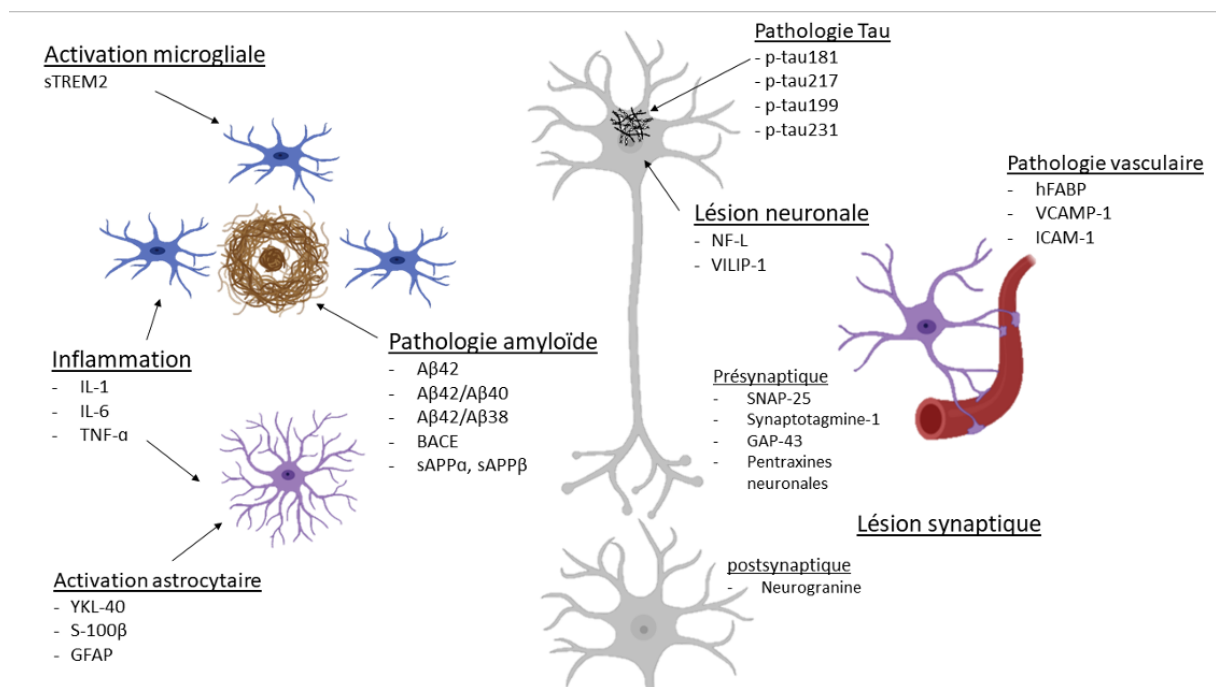


Figure 12 : Biomarqueurs des différentes altérations dans la maladie d'Alzheimer

Ce schéma synthétise les biomarqueurs les plus communément étudiés dans la MA. Abréviations : A β : peptide amyloïde β , BACE : β -sécrétase, GAP-43, growth-associated protein-43 ; GFAP, glial fibrillary acidic protein ; hFABP : heart-type fatty acid binding protein ; ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1 ; IL : interleukin ; NF-L : neurofilament light chain ; p-Tau : Tau hyperphosphorylée ; sAPP : soluble amyloid CNS-derived exosomes precursor protein fragment ; SNAP-25 : synaptosomal-associated protein-25 ; sTREM2 : soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-2 ; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1 ; VILIP-1 : visinin-like protein-1. Adapté de Tarawneh R. (2020) (Tarawneh, 2020)

3 Propagation intracérébrale de la pathologie Tau

3.1 Patrons de propagation dans les différentes Tauopathies

3.1.1 Propagation de la pathologie Tau dans la MA : les stades de Braak

La pathologie Tau, caractérisée par la présence de la protéine Tau hyperphosphorylée et agrégée, se propage selon un schéma spatio-temporel défini par les stades de Braak (Braak and Braak, 1991). Ces stades de Braak décrits précédemment ([cf. §2.2.2.2](#)) ont été mis en évidence par des études post-mortem sur des cerveaux de patients. Ces études par autopsie révélant la présence des agrégats aussi bien dans les corps cellulaires et les synapses que dans la matière blanche composée essentiellement d'axones comme le nerf optique (DeVos et al., 2018), appuie l'idée d'une propagation de la pathologie Tau dans les régions cérébrales par les connexions synaptiques entre les neurones.

Ces hypothèses de propagation entre régions synaptiquement connectées ont été testées chez l'Homme. Des analyses TEP mises en regard de modèle de propagation (Vogel et al., 2020) ou encore d'analyses par IRM fonctionnelle de l'état d'activation basal (Franzmeier et al., 2020, 2019) confirment

que la pathologie affecte des régions qui sont connectées entre elles par des synapses. Ces études mettent en évidence une accélération de la propagation de la protéine Tau en présence d'une pathologie amyloïde.

3.1.2 Propagation de la pathologie dans les autres Tauopathies

Le modèle de propagation de la pathologie Tau n'est pas le même dans l'ensemble des Tauopathies. Pour certaines Tauopathies, des stades de pathologie ont été définis, à l'instar des stades de Braak pour la MA, selon les zones touchées par la pathologie. Ainsi quatre stades ont été définis pour la maladie de Pick (Irwin et al., 2016), trois pour la démence à grain argyrophiles (Saito et al., 2004) et six stades pour la PSP (Verny et al., 1996; Williams et al., 2007).

La progression de la pathologie Tau de régions en régions peut être liée à deux facteurs : la propagation de la protéine le long des voies anatomiques et/ou une plus grande vulnérabilité de certaines régions anatomiques à la pathologie Tau.

3.2 Propagation de la pathologie Tau : l'hypothèse prion

La description de la protéine Prion comme agent pathologique dans les maladies à prions telles que l'encéphalopathie spongiforme (Prusiner, 1982) et la maladie de Creutzfeldt Jacob a mis en lumière l'existence d'un nouveau groupe de pathogènes et un nouveau mécanisme de transmission d'information biologique. Avec l'évolution des connaissances dans le domaine du prion, de nombreuses similitudes ont été soulignées entre les mécanismes pathologiques de cette protéine infectieuse et les protéines impliquées dans certaines maladies neurodégénératives comme la protéine A β ou encore la protéine Tau. Ces similitudes sont à l'origine de la terminologie « prion-like » permettant de décrire les protéines ayant la capacité de changer de conformation, s'agréger et de propager la pathologie d'une cellule à l'autre.

L'hypothèse de propagation « prion-like » de la protéine Tau a été testée et validée *in vitro* et *in vivo* par plusieurs équipes ces dernières années. En 2009, les premières études *in vitro* établissaient que les agrégats de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire pouvaient être internalisés par une cellule et entraîner la formation de nouveaux agrégats dans cette cellule (Frost et al., 2009). Afin de tester cette hypothèse *in vivo* des injections d'homogénats de cerveau de souris transgéniques (P301S) ont été réalisées dans le cerveau de souris transgéniques exprimant la protéine Tau humaine sauvage (souris ALZ17) (Clavaguera et al., 2009). A la suite de ces injections les souris exprimant la protéine Tau sauvage ont développé une pathologie Tau au site d'injection mais également dans des régions distales connectées. Ces résultats mettent donc en évidence la capacité de la protéine Tau mutée à recruter son homologue sauvage pour s'agréger et créer de nouvelles espèces pathogènes. Ces

données ont été depuis confirmées dans d'autres modèles, utilisant des lentivirus permettant l'expression de la protéine Tau mutée (Dujardin et al., 2018), des exosomes provenant de cellules IPS dérivées en neurones exprimant le domaine de répétition de Tau portant les mutations P301L et V337M (NiPSCEs) (Winston et al., 2019) ou encore des fibrilles de Tau purifiées (Peeraer et al., 2015).

L'utilisation de ces différents modèles a également permis de proposer un concept de souche pour la protéine Tau. La première observation de ce phénomène de souche *in vivo* a été rapportée en 2013 dans un modèle de souris ALZ17 ou non transgéniques injectées avec des homogénats de cerveau de patients atteints de différentes Tauopathies (Clavaguera et al., 2013). A la suite des injections, les souris ont développé des lésions Tau correspondant aux lésions de la pathologie dont souffraient les patients. Depuis, plusieurs études ont mis en évidence que différentes souches de Tau se propageaient entre les cellules et pouvaient se transmettre entre souris tout en définissant différentes Tauopathies (Kaufman et al., 2016; Narasimhan et al., 2017; Sanders et al., 2014). Ce concept de souche est également soutenu par des études réalisées par cryo-electromicroscopie révélant une diversité structurale des filaments Tau dont le repliement est unique et conservé pour chaque Tauopathie (Scheres et al., 2020).

Ces similitudes entre la protéine prion et la protéine Tau ont soulevé des questions sur sa possible infectiosité. Afin d'évaluer ce risque de transmissibilité de la protéine Tau via une source iatrogène, des études sur populations sentinelles ont été réalisées. Ces populations sentinelles sont constituées de personnes ayant reçues des hormones de croissance issues de cadavre ou encore des greffes de dure-mères. Bien que de la protéine Tau ait été retrouvée dans certains lots d'hormones de croissance produits entre 1974 et 1988 en France, des lésions Tau ont été détectées uniquement chez 4 des 73 patients analysés dans les quatre études indépendantes réalisées à ce jour (Cali et al., 2018; Duyckaerts et al., 2018; Jaunmuktane et al., 2015; Ritchie et al., 2017). De plus ces lésions pourraient être liées à la pathologie prion responsable de la mort de ces patients ou à d'autres causes telles que les radiothérapies subies par trois des quatre patients dans leur enfance (Riudavets et al., 2005)

Bien que les leçons tirées du domaine des maladies à Prion permettent de mieux comprendre la propagation de la protéine Tau, certains points restent en suspens. Par exemple, la nature des espèces toxiques de la protéine Tau est encore à définir ainsi que les mécanismes impliqués dans le recrutement de la protéine Tau « normale » ou le rôle de la protéine Tau physiologique dans le milieu extracellulaire. D'autres hypothèses sont à explorer pour mieux définir les mécanismes de propagation de la protéine Tau, telles que la vulnérabilité sélective de neurones. Pour répondre à ces différentes questions le développement de nouveaux modèles pertinents est nécessaire

3.3 Mécanismes de propagation

Cette partie sur les mécanismes de propagation de la protéine Tau traitera des mécanismes de propagation trans-synaptique de la protéine Tau impliquant seulement les neurones et pas les cellules gliales. L'implication des cellules gliales dans la propagation de la protéine Tau sera traitée dans la partie suivante.

3.3.1 Libération de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire

La première étape de la propagation de la protéine Tau d'un neurone vers un autre est la libération de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire.

Les premières descriptions de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire évoquaient des agrégats persistants après la mort de neurones (Probst et al., 1982). Bien qu'encore mal compris, différents mécanismes de sécrétion de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire, sous forme libre ou associée à différents types de vésicules, ont été mis en évidence (figure 13).

Les mécanismes de sécrétion de protéine par les cellules sont classifiés de conventionnels ou non-conventionnels. Les protéines sécrétées par la voie conventionnelle possèdent un peptide entraînant leur adressage à la membrane du réticulum endoplasmique. La protéine Tau ne possède pas ce peptide signal (Chai et al., 2012) et semble donc passer par un ou plusieurs des quatre mécanismes de sécrétion non conventionnels (Rabouille et al., 2012).

Un des mécanismes de libération de Tau sous forme libre peut se faire par une translocation directe de la protéine à travers la membrane plasmique. Deux études récentes menées sur des cultures cellulaires neuronales (N2A) ou non neuronales (CHO) ou encore des neurones en culture primaires, ont mis en évidence ce processus de libération de Tau phosphorylée facilité par des interactions avec $PI(4,5)P_2$ et les protéoglycanes à héparane sulfate (HSPG) (Katsinelos et al., 2018; Merezhko et al., 2018). L'autophagie peut jouer un rôle dans la régulation de la sécrétion non conventionnelle. Une étude récente a en effet mis en évidence l'implication de ce processus dans la sécrétion de la protéine Tau tant « normale » qu'hyperphosphorylée *in vitro* dans des cellules neuronales (SH-SY5Y) surexprimant la forme sauvage de la protéine Tau (Kang et al., 2019).

Bien que la majorité (90%) de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire soit sous forme libre (Dujardin et al., 2014a), certaines études rapportent que le transfert intercellulaire de Tau fait intervenir des vésicules. Les vésicules les plus impliquées dans le transfert intercellulaire de Tau sont les exosomes. Les exosomes sont des vésicules de 30-90 μ m ayant, à l'inverse des autres vésicules, une origine endosomale. Des études ont permis de mettre en évidence la présence d'exosomes contenant la protéine Tau dans le LCR de patients atteints de la MA (Saman et al., 2012; Wang et al., 2017).

Certains de ces exosomes ont également été trouvés dans le plasma des patients et contiennent des formes phosphorylées de la protéine Tau sur la thréonine 181 et sur la sérine 396 (Fiandaca et al., 2015). Cette dernière étude suggère que la présence de ces formes phosphorylées de Tau dans des exosomes dérivés de plasma de patients pourraient servir de biomarqueur. Ce mécanisme de propagation a été vérifié *in vitro* dans des cultures en chambres microfluidiques de neurones surexprimant la protéine Tau (Lee et al., 2019; Wang et al., 2017).

Les ectosomes sont des vésicules (0,1-1 μ m) formées par bourgeonnement depuis la membrane plasmique libérés dans le milieu extracellulaire. Comme les exosomes, ces ectosomes sont impliqués dans la libération de la protéine Tau (Dujardin et al., 2014a). Dujardin et coll. ont mis en évidence que la protéine Tau pouvait être sécrétée de cette manière en condition physiologique mais aussi que des ectosomes contenant la protéine Tau sont retrouvés dans le liquide interstitiel de rat. Cette étude montre également que l'accumulation pathologique de Tau à la membrane active la voie de libération exosomale suggérant que les mécanismes impliqués dans la libération physiologique de la protéine Tau sont peut-être différents de ceux impliqués dans le transfert de la protéine Tau pathologique.

Le dernier mécanisme de transfert interneuronal de la protéine Tau est le passage via des nanotubes en forme de tunnel (tunneling nanotubes ou TNTs). Ces TNTs sont des structures membranaires créant un pont entre deux cellules. *In vitro*, les monomères et fibrilles exogènes de Tau augmentent le nombre de TNTs facilitant ainsi le passage de la protéine entre deux cellules (Tardivel et al., 2016). Plus récemment, le passage d'agrégats de Tau dans ces TNTs a été montré dans des modèles cellulaires (Chastagner et al., 2020). Cependant, l'existence de telles structures *in vivo* est encore sujet à débat.

La libération de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire passe donc sans doute par plusieurs mécanismes, cependant ce phénomène est dépendant de différents facteurs tels que l'activité neuronale (Pooler et al., 2013; Wu et al., 2016; Yamada et al., 2014). En outre, la présence d'oligomères de Tau dans le milieu extracellulaire augmente l'activité neuronale (Fá et al., 2016) suggérant un cercle vicieux entraînant une potentialisation de la pathologie. L'état de la protéine Tau (clivage, isoforme, phosphorylation) module aussi sa libération dans le milieu extracellulaire. Par exemple, l'équipe de Pérez et coll. a montré que l'utilisation de différentes constructions de Tau dans des cellules non neuronales (COS-7) entraîne la libération de Tau par différents mécanismes (Pérez et al., 2016).

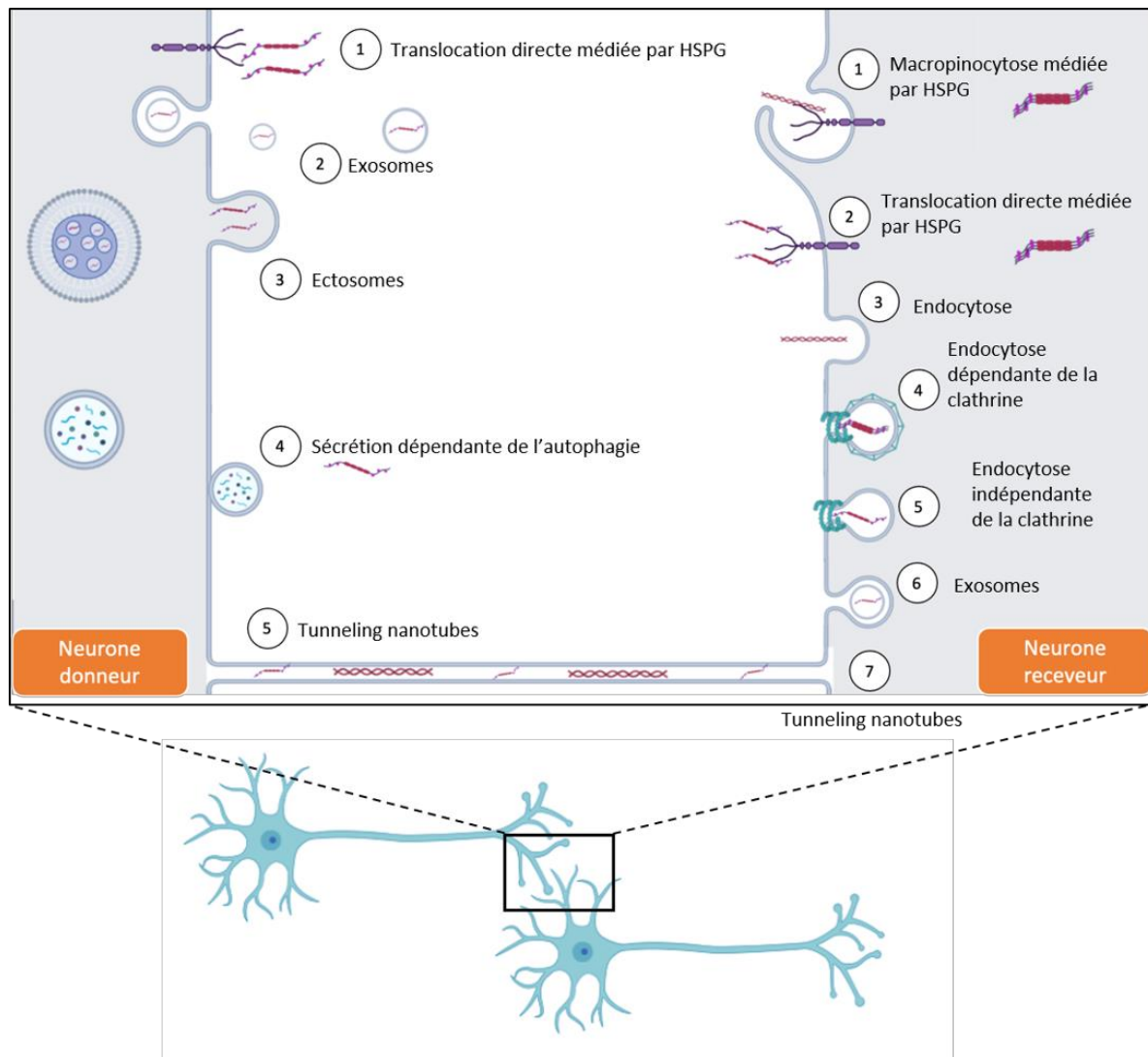


Figure 13 : Mécanismes de propagation de la protéine Tau par passage trans-synaptique

Différents processus sont impliqués dans la libération de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire : (1) la translocation directe médiée par les protéoglycanes à héparane sulfate (HSPG) ; (2) les exosomes ; (3) Les ectosomes ; (4) mécanisme de sécrétion non conventionnelle lié à l'autophagie ; (5) les Tunneling nanotubes. La protéine Tau dans le milieu extracellulaire peut être captée par un neurone receveur par différents mécanismes : (1) la macropinocytose dépendante des HSPG ; (2) la translocation directe médiée par les HSPG ; (3) l'endocytose « en vrac » ; (4) l'endocytose clathrine dépendante ; (5) l'endocytose indépendante de la clathrine ; (6) les exosomes et (7) les tunneling nanotubes. Adaptée de Jiang et Bhaskar, 2020 (Jiang and Bhaskar, 2020)

3.3.2 Internalisation de la protéine Tau par le neurone receveur

Une fois dans le milieu extracellulaire, la protéine Tau qu'elle soit libre ou dans des vésicules peut entrer dans un autre neurone par différents mécanismes référencés dans les revues de Zhao et coll. et de De La-Rocque et coll. (La-Rocque et al., 2021; Zhao et al., 2021) (figure 13).

Un des mécanismes les mieux décrits dans le phénomène d'internalisation de la protéine Tau par le neurone receveur est l'endocytose sous ses différentes formes. Plusieurs études ont mis en évidence un mécanisme d'endocytose clathrine- et dynamine-dépendants pour l'internalisation des

agrégats et des monomères de Tau (Evans et al., 2018; Falcon et al., 2018). Certains acteurs modulent ce phénomène, par exemple, en 2016, une équipe a montré que ce phénomène était modulé *in vitro* par l'activité et la quantité de BIN1 (Calafate et al., 2016). Cette protéine est impliquée dans de nombreuses fonctions cellulaires associées à la courbure de la membrane comme la phagocytose (Ren et al., 2006) Les récepteurs muscariniques à l'acétylcholine ont également été décrits comme médiateurs de l'entrée de Tau (sous sa forme monomérique « normale » et pathologique) *in vitro* (Morozova et al., 2019). Plus récemment encore, une étude de criblage par *CRISPR interference silencing* a souligné le rôle du récepteur LRP1 (Low density lipoprotein-receptor related protein 1) dans l'internalisation de Tau *in vitro* et *in vivo* (Rauch et al., 2020).

D'autres formes d'endocytoses ont été décrites dans l'internalisation d'agrégats ou de fibrilles de Tau comme l'endocytose en phase liquide ou la pinocytose (Frost et al., 2009; Wu et al., 2013). Les fibrilles de Tau peuvent également se lier aux protéoglycanes à heparane sulfate (HSPG) à la surface des neurones et induire leur internalisation via un processus de macropinocytose (Holmes et al., 2013; Puangmalai et al., 2020).

Les études menées par Evans et coll., sur des cultures de neurones humains dérivés d'iPS suggèrent différentes voies d'entrée pour la protéine Tau en fonction de son état (physiologique, pathologique, monomérique, agrégée...). Leurs résultats montrent que les agrégats de Tau rentrent préférentiellement dans le neurone via une endocytose clathrine-dépendante alors que les monomères seraient internalisés via un mécanisme de macropinocytose.

La protéine Tau peut également se retrouver dans le milieu extracellulaire encapsulée dans des vésicules. Le processus d'internalisation des exosomes a été mis en évidence dans plusieurs études *in vitro* dans des cultures cellulaires neuronales ou non (Polanco et al., 2018, 2016). Une fois dans le neurone receveur la protéine Tau entre dans la voie endo-lysosomale qu'elle détourne afin de s'échapper dans le cytosol du neurone receveur (Polanco et al., 2021, 2018).

A ce jour, la majorité des données de la littérature sur les mécanismes d'entrée de Tau a été obtenue *in vitro* et nécessite des vérifications *in vivo* ainsi qu'une étude des mécanismes moléculaires impliqués.

3.4 Modèles d'étude de la propagation de la pathologie Tau

L'intérêt grandissant pour les mécanismes conduisant à l'effet pathologique de la protéine Tau a entraîné le développement de nombreux nouveaux modèles à la fois *in vitro* et *in vivo*. Ces modèles ont permis d'améliorer nos connaissances sur les acteurs impliqués dans la propagation de Tau.

3.4.1 Modèles *in vitro*

Les modèles cellulaires de propagation de la protéine Tau permettent de mieux comprendre les mécanismes d'entrée et de sortie de Tau. Les premiers modèles décrits sont des modèles de co-cultures avec des cellules « donneuses » exprimant de façon stable la protéine Tau et contenant des agrégats et des cellules dites « receveuses » exprimant ou non la protéine Tau (Calafate et al., 2015; Frost et al., 2009; Katsinelos et al., 2018; Kfoury et al., 2012; Wu et al., 2016). Ces modèles ont permis d'établir que les agrégats de la protéine Tau pouvaient être transférés d'une cellule à l'autre. Cependant, ces modèles utilisent majoritairement des cellules non neuronales (lignées HEK, COS et CHO).

L'utilisation de vecteurs viraux (Dujardin et al., 2014b; Tardivel et al., 2016), de fibrilles (Calafate et al., 2015; Takeda et al., 2015) ou encore d'exosomes purifiés provenant de cerveaux de patients (Wang et al., 2017) a permis l'élaboration de nouveaux modèles sur des cultures primaires de neurones de souris. Afin de mieux comprendre le sens de propagation de la protéine Tau certains de ces modèles ont été mis en place dans des chambres de culture microfluidiques (Taylor et al., 2003) permettant de séparer les neurones afférents des neurones efférents et empêchant la contamination accidentelle du neurone receveur.

Ces modèles ont permis de comprendre certains mécanismes impliqués dans la propagation de la protéine Tau à la fois physiologique et pathologique et d'identifier de nouveaux acteurs moléculaires. L'utilisation de modèles animaux est cependant nécessaire pour confirmer la pertinence de ces résultats dans l'environnement cérébral.

3.4.2 Modèles *in vivo*

3.4.2.1 *Les modèles transgéniques*

Certaines études sont basées sur des modèles transgéniques présentant une expression restreinte de la protéine Tau dans le cortex entorhinal (de Calignon et al., 2012; Liu et al., 2012). Les deux modèles existant (Nop-tTA-Tau ou NT et rTgTauEC) ont été créés indépendamment au cours de la même année et sont basés sur un système de régulation de l'expression du transgène par la tétracycline (système Tet-OFF). Ils sont obtenus par un croisement entre une lignée « activatrice » la lignée neuropsin-tTA et une lignée « répondeuse » la lignée Tg(P301L)4510. La première lignée permet l'expression de la protéine transactivatrice de la tétracycline (tTA) dans les neurones de la couche II du cortex entorhinal à l'aide du promoteur neuropsine. Son croisement avec la lignée Tg(P301L)4510 permet alors une surexpression de la protéine Tau humaine portant la mutation P301L dans les neurones exprimant la tTA. Ces souris développent une pathologie Tau dans le cortex entorhinal dès l'âge de trois mois avec l'apparition d'oligomères et cette pathologie se propage le long des axes

synaptiquement connectées. Cependant une fuite d'expression du transactivateur tTA dans les aires CA1, CA3 et certains neurones du gyrus denté pourrait causer certains biais d'interprétation.

3.4.2.2 *Les modèles utilisant des fibrilles synthétiques*

Les modèles d'injections stéréotaxiques de fibrilles synthétiques sont très similaires à ceux présentés précédemment. La fabrication de fibrilles synthétiques est réalisée *in vitro* par incubation de monomères en présence d'héparine. Les fibrilles ainsi obtenues ressemblent aux agrégats de protéine Tau retrouvés chez les patients. Les fibrilles synthétiques les plus communément utilisées sont les fibrilles T40/PS constituées de protéines Tau sous sa forme 2N4R et portant la mutation P301S et les fibrilles K18 contenant le MBD de la forme 4R et portant la mutation P301L. L'injection de ces fibrilles dans des régions définies, majoritairement l'hippocampe dorsal, suffit à induire l'agrégation de la protéine Tau endogène et sa propagation dans les neurones de souris sauvages ou mutantes. Les études menées avec ce type de fibrilles ont révélé une vulnérabilité sélective de différentes régions à la pathologie Tau (Iba et al., 2015; Kaufman et al., 2016; Stancu et al., 2015). Cependant, ces filaments Tau dont l'agrégation a été induite par l'héparine diffèrent structurellement des fibrilles retrouvées dans la pathologie et présentent une grande hétérogénéité (Fichou et al., 2018). L'utilisation de l'héparine peut également modifier les propriétés d'agrégation et de propagation de la protéine Tau

3.4.2.3 *Les modèles d'injections d'homogénats*

Depuis la définition de la protéine Tau comme une protéine « prion-like » de nombreuses études ont testé les hypothèses d'infectiosité de la protéine Tau entre souris mais aussi entre espèces donnant ainsi le jour à de nouveaux modèles permettant l'étude de la protéine Tau. Dans cette sous partie, seuls les modèles murins seront abordés bien que la transmission de la pathologie entre l'humain, le primate et la souris a pu être prouvée récemment (Gary et al., 2019).

Plusieurs études d'injections stéréotaxiques d'homogénats provenant de souris transgéniques Tau ont été conduites. Les différences entre ces études se situent en premier lieu dans le type de matériel injecté : homogénats de cerveau total ou d'une certaine région, fraction de Tau insoluble dans le sarkozyl. Ces études permettent un ciblage précis d'une région, permettant ainsi d'induire la pathologie localement et de s'affranchir des fuites d'expression de gènes présentes dans les modèles transgéniques. Ces différentes études montrent que l'injection d'homogénats de souris transgéniques chez des souris transgéniques exprimant la protéine Tau humaine mutée (P301S) ou non (ALZ17) entraîne une agrégation de la protéine Tau au site d'injection mais aussi dans des régions distales laissant supposer une propagation de la pathologie de cellules à cellules (Asai et al., 2015; Dujardin et al., 2018, 2014b; Schultz et al., 2018; Wegmann et al., 2019).

Plus récemment, les homogénats de cerveaux de souris ont été remplacés par des homogénats de cerveaux de patients présentant différentes pathologies Tau (DBC, MA, PSP...). Ces nouveaux modèles ont permis de mieux comprendre les caractéristiques de souche de la protéine Tau. L'injection stéréotaxique de tels homogénats entraîne une pathologie au site d'injection mais également dans des régions distales. Dans ces modèles, les lésions observées chez les souris injectées correspondent aux lésions observées chez les patients dont proviennent les homogénats mettant en avant que la protéine Tau pathologique est capable de garder sa conformation tridimensionnelle et de transmettre dans un nouvel hôte (Clavaguera et al., 2013; He et al., 2020; Narasimhan et al., 2017).

3.4.2.4 Les modèles basés sur le transfert de gènes

Le dernier type de modèle d'étude utilise la technique de transfert de gènes à l'aide de virus permettant l'expression de la protéine Tau. L'utilisation de tels outils permet (1) de cibler une région et une population cellulaire à l'aide de promoteurs et de capsides spécifiques, (2) d'exprimer la protéine Tau en intracellulaire et donc ne pas l'apporter dans le milieu extracellulaire, (3) d'exprimer la protéine Tau avec ou sans mutations pour étudier leur effet, (4) de ne pas injecter de contaminants tels que les cytokines ou des peptides amyloïdes pouvant être contenus dans les homogénats. L'injection de ces virus dans la région de l'hippocampe a permis l'induction de la pathologie au site choisi et la propagation de cette pathologie à des régions synaptiquement connectées. Cependant, ces modèles peuvent également présenter des inconvénients. Tout d'abord l'utilisation de vecteurs viraux conduit à une surexpression du transgène qui n'est pas présente chez les patients. De plus les types cellulaires ciblés avec par des vecteurs sous contrôle de promoteurs ubiquitaires ne sont pas non plus fidèles à la réalité de la pathologie.

Ainsi, à ce jour, plusieurs modèles animaux permettant l'étude de la protéine Tau existent, avec leurs avantages mais également leurs inconvénients. Certains contrôles sont essentiels pour exclure la fuite de transgène dans les modèles génétiquement modifiés ou encore exclure la diffusion du matériel injecté (homogénats, fibrilles, virus).

Tableau 1 : Modèles de transmission de la pathologie Tau *in vivo*

Abréviations : CE : Cortex entorhinal, h : heure, j : jour, s : semaine, m : mois p.i. : post-injection, Tg : transgénique, PHF : filaments hélicoïdaux appariés, MA : Maladie d'Alzheimer, PiD : Maladie de Pick, AGD : Démence à grain argyrophile, PSP : Paralyse supranucléaire progressive, DCB : Démence Cortico-basale.

Référence	Matériel injecté	Animal étudié/injecté	Site d'injection	Temps d'étude
Modèles transgéniques				
(Liu et al., 2012)	-	NT lignée inductible exprimant Tau dans le CE	-	10-11m (jeunes) et 22m (âgés)
(de Calignon et al., 2012)	-	rTgtauEC (expression inductible de la protéine Tau humaine avec la mutation P301L dans le CE)	-	Tous les trois mois entre 3m et 24m
(Wegmann et al., 2015)	-		-	9 et 12m
(Pooler et al., 2015)	-		-	10 et 16m
Homogénats provenant de cerveaux de souris				
(Clavaguera et al., 2009)	Lysat du tronc cérébral (soluble/insoluble) de souris P301S (âge :6m)	ALZ17 (WT 2N4R hTau) ; âge 3m	Hippocampe et cortex	6, 12 et 15 m.p.i.
(Ahmed et al., 2014)	Lysat du tronc cérébral de souris P301S (âge : 5m)	P301S ; âge 2m	Hippocampe et cortex	1j, 2s, 1, 2 et 2,5 m.p.i.
(Clavaguera et al., 2014)	Lysat cérébral de souris P301S (âge :6m)	P301S (hétérozygote) ; âge 3m	Intra-péritonéal	9 m.p.i.
(Maphis et al., 2015)	Microglie purifiée provenant de souris hTau	Souris non-Tg ; âge 2m	Striatum	72 h.p.i.
(S. J. Jackson et al., 2016)	Lysat cérébral de souris P301S (âge : 4 et 24m)	P301S ; âge 10s	Hippocampe et cortex	10 s.p.i.

Homogénats provenant de cerveaux humains				
(Lasagna-Reeves et al., 2012)	Oligomères et PHF purifiés ; Patients MA : Braak V et VI	C57Bl6/J et Tau KO ; âge 3m	Hippocampe	3 j.p.i. et 11 m.p.i.
(Clavaguera et al., 2013)	Homogénats totaux ; patients MA, PiD, AGD, PSP, DCB	ALZ17 (WT 2N4R hTau); âge 3m	Hippocampe	6 et 12 m.p.i.
(Boluda et al., 2015)	Fraction insoluble ; patients DCB et MA (avec syndrome de Down)	PS19 ; âge 2 à 5m	Hippocampe et cortex	1, 3 et 6 m.p.i.
(Narasimhan et al., 2017)	Fraction insoluble ; cortex préfrontal de patients MA, DCB, PSP	C57Bl6/J ; âge 2-3m	Hippocampe, cortex et thalamus	1, 3, 6 et 9 m.p.i.
(Smolek et al., 2019)	Fraction insoluble ; cortex pariétal de patient MA (Braak V)	Rat W72 ou SHR72 (hypertension) ; âge 3m	Hippocampe	3 m.p.i.
(Saito et al., 2019)	Fibrilles dérivées de cerveaux MA	Souris <i>MAPT/KI</i> (Tau humanisée) ; âge 19m	Hippocampe et cortex	3 m.p.i.
(He et al., 2020)	Fraction insoluble ; patients MA, PiD, DCB, PSP	6htau (6 isoformes humaines et absence de Tau murine) et T44mTauKO (isoformes 3R, absence de Tau murine) ; âge 3 à 5m	Hippocampe et cortex	1, 3 et 6 m.p.i.
Fibrilles synthétiques				
(Iba et al., 2013)	T40/PS (Tau 2N4R ; P301S) et K18 (Tau 4R tronquée ; P301L)	PS19 ; âge 2 à 3m	Hippocampe, striatum et cortex	1, 3, 6 et 9 m.p.i.
(Sanders et al., 2014)	Lysat de cultures de HEK293 avec agrégats	P301S ; âge 3m	Hippocampe	21j.p.i., 4 et 5 s.p.i.

(Iba et al., 2015)	T40/PS (Tau 2N4R ; P301S)	PS19 ; âge 2 à 3m	Locus coeruleus	2s,1, 3, 6 et 12 m.p.i.
(Peeraer et al., 2015)	K18 (Tau 4R tronquée ; P301L)	P301L ; âge 3m	Hippocampe et cortex frontal	1, 2 et 3 m.p.i.
(Stancu et al., 2015)	K18 (Tau 4R tronquée ; P301L)	PS19 ; âge 3m	Hippocampe, CE, substance noire et cortex frontal	1,5 ; 2,5; 3,5 et 6 m.p.i.
(Guo et al., 2016)	T40 (Tau 2N4R) ou Fibrilles dérivées de cerveaux MA	C57Bl6/J ; âge 2-3m et 15-19m	Hippocampe et cortex	3, 6 et 9 m.p.i.
(Kaufman et al., 2016)	Lysat de cultures de HEK293 avec agrégats (18 souches)	PS19 ; âge 2 à 3m	Hippocampe, cortex visuel, thalamus, colliculi inférieurs, caudé putamen, cortex somato-sensoriel	4, 5, 8 et 12 s.p.i.
(Gibbons et al., 2017)	T40 (Tau 2N4R) ou Fibrilles dérivées de cerveaux MA	T40PL-GFP (Tau 2N4R ; P301L ; GFP) ; âge 2-3m	Hippocampe	3 m.p.i.
(He et al., 2018)	T40 ou homogénats patients MA +/- syndrome de Down	APP-KI, 5XFAD-TauKO ; âge 2-3m et 15m	Hippocampe et cortex	1, 3 et 6 m.p.i.
(Albert et al., 2019)	K18 (Tau 4R tronquée ; P301L)	Tg30 (1N4R, P301S et G272V); âge 1m (K18) et htauP301L (2N4R; P301L)		5 s.p.i.
Virus				
(Dujardin et al., 2014b)	LV-htauWT, LV-htauWT V5, LV-hTtauP301L ; promoteur CMV	Rat W72 ; âge 2m	Hippocampe	2, 4 et 8 m.p.i.

(Asai et al., 2015)	AAV6-htauP301L ; promoteur Syn1	C57Bl6/J ; âge 4m	CE	7 et 28 j.p.i.
(Dujardin et al., 2018)	LV-htau forme : 1N4R/1N3R, WT, P301L, P332S ; promoteur CMV	Rat W72 ; âge 2m	Hippocampe	2 s.p.i. (RNAseq) et 8 m.p.i.
(Schultz et al., 2018)	AAV-Tau WT ou TauP301L ; promoteur Syn1	C57Bl6/J, rTg4510, P301L, TauKO ; âge 11s	Gyrus Denté	6 et 8 s.p.i.
(Wegmann et al., 2019)	AAV-GFP-P2A-Tau WT ou Tau P310L ; promoteur CBA	C57Bl6/J ; âge 3m, 8-10m et 22-24m	CE	10 s.p.i.

Ainsi, l'hypothèse de la propagation de cellule en cellule de la pathologie Tau largement appuyée par les études anatomopathologiques et d'imagerie menée dans le cadre de la MA, mettent en évidence une propagation de la protéine Tau entre des régions synaptiquement liées dont les mécanismes sont présentés précédemment. Cependant, ce principe de propagation synaptique correspond de manière imparfaite avec la progression de la pathologie dans le cadre de la PSP (Cope et al., 2018) ni avec la mise en évidence d'agrégats de Tau dans les cellules gliales dans la PSP ou encore dans la CBD. Les Tauopathies sont un groupe de pathologies hétérogènes et il est donc possible que différents mécanismes soient impliqués dans la progression en fonction de la pathologie considérée. Une des possibilités évoquées est une vulnérabilité sélective des neurones ou des régions affectées par l'agrégation de la protéine Tau. Cette vulnérabilité pourrait-être liée à plusieurs facteurs tels que des différences locales de neuroinflammation ou encore des facteurs intrinsèques comme des différences d'expression génétique au niveau cellulaire (Allen et al., 2018) ou encore les types de neurones considérés. Par exemple, il a été mis en évidence que les neurones excitateurs sont plus vulnérables à l'accumulation de la protéine Tau que les neurones inhibiteurs dans le cas de la MA (Freer et al., 2016; Fu et al., 2019). De plus, il est possible que les cellules gliales et la neuroinflammation jouent un rôle clef dans la propagation de la protéine Tau. Le champ de recherche pour comprendre la propagation de la protéine dans les différentes Tauopathies est encore en plein essor et des données issues d'imagerie *in vivo* aideront à mieux comprendre les différents mécanismes mis en jeu

4 La neuroinflammation

4.1 La neuroinflammation au cœur de la pathologie Alzheimer

De plus en plus de données montrent que la pathogenèse de la MA n'est pas restreinte à la population neuronale mais implique également les acteurs de l'immunologie cérébrale. Déjà, lors de sa caractérisation des lésions dans le cerveau d'Auguste Deter, Aloïs Alzheimer décrivait des cellules gliales anormales autour des lésions fibrillaires (les plaques amyloïdes).

Depuis, l'importance des interactions entre les neurones et les cellules gliales telles que la microglie, les astrocytes et même des cellules immunitaires périphériques a été mis en évidence dans les mécanismes pathologiques de la MA. Une élévation des marqueurs pro-inflammatoires par exemple, est l'une des caractéristiques des Tauopathies dans de nombreux modèles animaux mais également dans les tissus de patients (Hopperton et al., 2018). Cette élévation est d'ailleurs aujourd'hui proposée comme un potentiel biomarqueur (Ausó et al., 2020; Tarawneh, 2020).

Bien que longtemps considéré comme un évènement secondaire à la neurodégénérescence, le rôle de la neuroinflammation est reconsidéré depuis la publication de plusieurs études génétiques d'association pan-génomique (GWAS). La première de ces études menée sur 74 046 individus a permis

l'identification de 19 loci de susceptibilité pour la MA (Lambert et al., 2013). Plus récemment, trois nouvelles études ont été réalisées sur de plus grande cohortes et ont identifié de nouveaux loci de susceptibilité pour la MA, amenant leur nombre à 40 (Jansen et al., 2019; Kunkle et al., 2019; Lambert et al., 2021; Marioni et al., 2018). Parmi ces variants on retrouve plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme lipidique (APOE, ABCA7, SORL1) ou encore dans l'endocytose (PICALM) et une majorité de gènes impliqués dans l'immunité (CR1, CD33, TREM2...), (figure 14). A ce jour des études cherchent à mieux comprendre les liens mécanistiques entre ces différents variants et les mécanismes pathologiques de la MA (Tan et al., 2021).

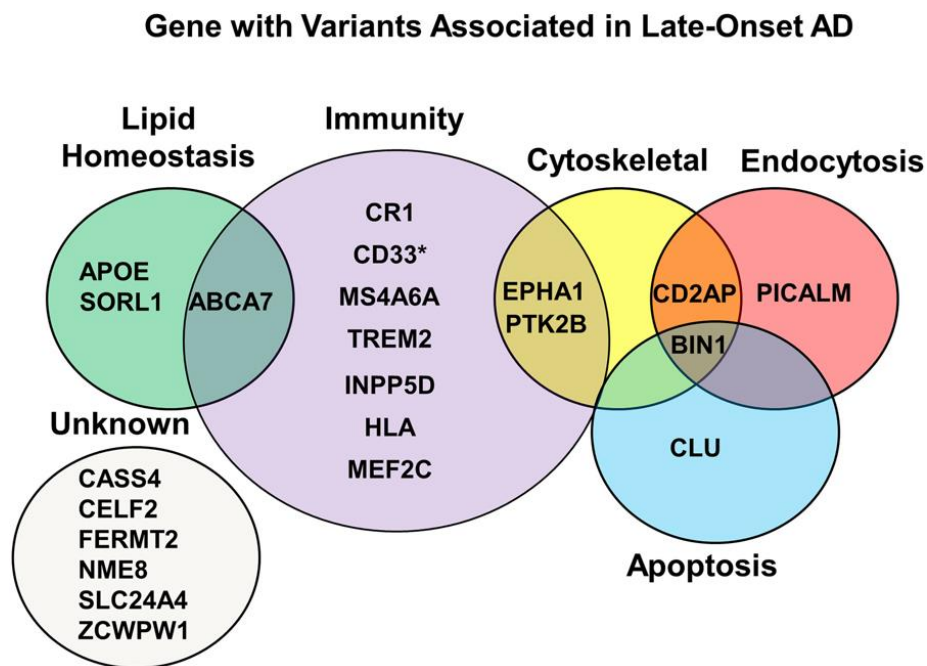


Figure 14 : Variants génétiques associés aux formes tardives de la MA

Regroupement par familles de fonctions des variants génétiques associés aux formes tardives de la MA. La majorité de ces variants sont impliqués dans l'immunité, d'autres dans l'endocytose ou encore l'homéostasie lipidique. D'après (Eid et al., 2019)

4.2 Les acteurs de la neuroinflammation autres que la microglie

4.2.1 Les astrocytes

Les astrocytes sont les cellules gliales les plus abondantes dans le système nerveux central (SNC). Ces cellules souvent décrites comme une cellule support pour les neurones, sont essentielles pour le maintien de l'homéostasie cérébrale et constituent un système de défense du SNC. Les astrocytes participent notamment au maintien de l'homéostasie ionique et hydrique, à la cytoarchitecture de la matière grise, à la synaptogenèse, à l'angiogenèse, à la neurotransmission et à la régulation du métabolisme énergétique (Verkhratsky and Nedergaard, 2018).

Étant donné leurs nombreux rôles dans le maintien de l'homéostasie, les astrocytes sont capables de réagir à différents stimuli aigus ou chroniques entraînant une rupture de l'homéostasie. Suite à des stimuli pathologiques, tels que l'accumulation de protéines mal-conformées, les astrocytes vont devenir réactifs et acquérir de nouvelles caractéristiques à la fois morphologiques, moléculaires et fonctionnelles. Une des caractéristiques les plus connues de ces astrocytes réactifs est une augmentation de l'expression de filaments intermédiaires tels que la GFAP (*Glial Fibrillary Acidic Protein*) ou la vimentine. Ce changement dans la production de filaments intermédiaires va conférer aux astrocytes une morphologie hypertrophique (figure 15) (Wilhelmsson et al., 2006).

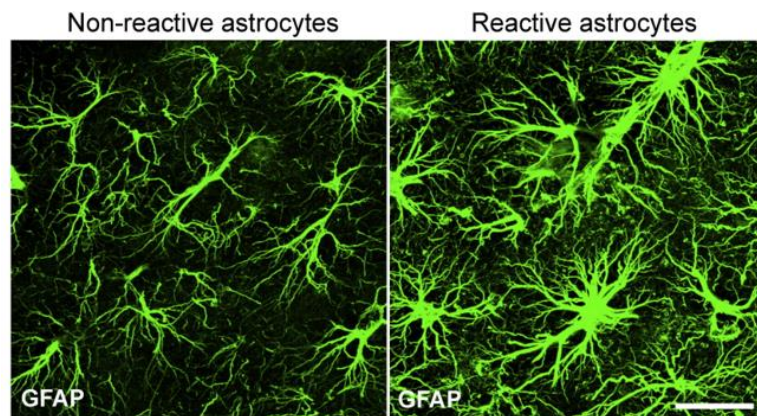


Figure 15 : Hypertrophie des astrocytes réactifs mise en évidence par une surexpression de la GFAP
Expression de la GFAP dans un hippocampe de souris sauvages (gauche) et dans un hippocampe de souris après lésion du cortex entorhinal conduisant à une réactivité astrocytaire (droite). D'après (Pekny and Pekna, 2016).

Ces astrocytes réactifs forment une population hétérogène tout d'abord définie, en population A1 et A2 (Liddelow and Barres, 2017) à l'instar des macrophages (Murray et al., 2014). Selon la définition donnée par Shane Liddelow, les astrocytes A1 surexprimant des molécules de la cascade du complément seraient délétères et les astrocytes A2 exprimant des facteurs neurotrophiques seraient protecteurs. Les résultats obtenus dans l'étude de Liddelow et coll. suggèrent que les astrocytes réactifs A1 sont induits par la sécrétion de molécules telles que l'interleukine-1 α (IL-1 α), le TNF ou encore C1q par la microglie (figure 16). Cependant cette classification de la réactivité astrocytaire reste simpliste et pourrait être bien plus complexe et dépendre de nombreux paramètres tels que la nature exacte du stimulus ou encore le temps d'exposition à ce stimulus (Escartin et al., 2019, 2021; Liddelow and Barres, 2017).

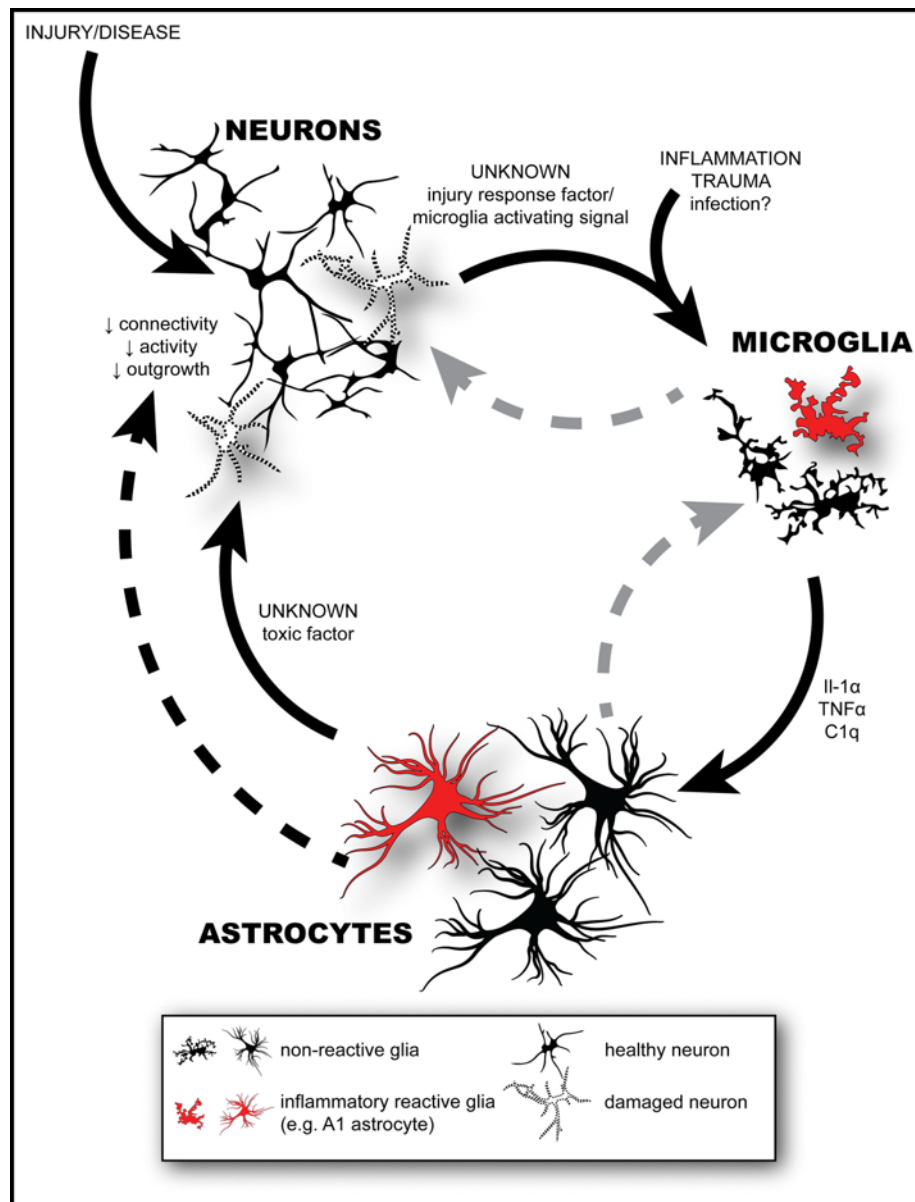


Figure 16 : Hypothèse de la réactivité astrocytaire induite par la microglie

L'activation microgliale peut se produire en réponse à certains facteurs libérés par les neurones à la suite d'une lésion. Cette microglie activée va à son tour sécréter certaines molécules (C1q, TNF α , IL-1 α) qui vont induire une activation des astrocytes. Ces astrocytes vont alors adopter un phénotype inflammatoire et produire des neurotoxines (Liddelow and Barres, 2017)

4.2.2 La réponse immunitaire adaptative périphérique

Le système immunitaire adaptatif désigne la réponse immunitaire impliquant les lymphocytes B et T. Les lymphocytes B sont impliqués dans l'immunité humorale (immunité par sécrétion d'anticorps) alors que les lymphocytes T sont responsables de la réponse cellulaire.

Le cerveau a longtemps été considéré comme un organe immuno-privilegié, dans lequel les cellules immunitaires périphériques n'intervenaient pas. Plusieurs études récentes, ont mis en

évidence par des analyses en cytométrie, que bien qu'étant les plus abondantes, les astrocytes et la microglie ne sont pas les seules cellules de l'inflammation dans le SNC même en conditions physiologiques (Laurent et al., 2017; Mrdjen et al., 2018). En effet, cette approche a permis de révéler la présence de quelques granulocytes neutrophiles, de monocytes mais également de lymphocytes B et T.

Au cours de la MA, la barrière hémato-encéphalique (BHE) ne remplit plus parfaitement son rôle (Montagne et al., 2015; van de Haar et al., 2016) et cette rupture de la BHE révélée par des techniques d'IRM semble corrélée aux symptômes cognitifs des patients (Nation et al., 2019). Cette "porosité" de la BHE permet une infiltration des cellules immunitaires périphériques telles que les macrophages périphériques et les lymphocytes B et T dans le cerveau de patients atteints de MA ou chez des souris AAP/PS1 (Gate et al., 2020; Mrdjen et al., 2018; Togo et al., 2002). Bien que le rôle des lymphocytes T soit principalement étudié dans un contexte amyloïde (Manocha et al., 2018; Pietronigro et al., 2019), une corrélation a été montrée entre l'infiltration des lymphocytes T CD3+ et la pathologie Tau dans les cerveaux de patients atteints de MA (Merlini et al., 2018). Une étude menée dans un modèle murin de Tauopathie, les souris THY-Tau22, a révélé que l'infiltration de ces cellules T dans le SNC, entraîne des déficits cognitifs (Laurent et al., 2017). Ces données obtenues dans un contexte de Tauopathie pure corrélerent avec les données obtenues dans un contexte amyloïde indiquant qu'une meilleure connaissance des mécanismes de l'immunité périphérique dans le contexte des maladies neurodégénératives et de ses conséquences sur la cognition, pourrait permettre d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

4.3 La microglie

Le terme microglie a été introduit par Pio del Rio Hortega en 1919. Il a décrit ce troisième type de cellules identifiées à l'aide d'un marquage au carbone d'argent dans une série de publications retranscrites récemment (Sierra et al., 2016).

4.3.1 Origine et maintien de la microglie

La microglie, à l'inverse des autres cellules gliales, ne provient pas du neurectoderme mais dérive de cellules myéloïdes primitives provenant du sac vitellin (Alliot et al., 1999). Chez la souris, la microglie colonise le cerveau dès le jour 8,5 de développement embryonnaire et se poursuit jusqu'à la fermeture de la BHE au jour embryonnaire 14,5 chez la souris (Ginhoux et al., 2010; Gomez Perdiguero et al., 2015; Stremmel et al., 2018) (figure 17). Grâce à des études post-mortem, il a été mis en évidence chez l'homme que la microglie envahit le parenchyme cérébral entre la 4^{ème} et la 24^{ème} semaine de gestation avant le pic de neurogénèse et d'astrogliongénèse. (Menassa and Gomez-Nicola, 2018).

Les cellules microgliales représentent entre 5 à 15% des cellules cérébrales et leur population est maintenue au cours de l'existence. Les premières données obtenues chez la souris à l'état basal basées sur incorporation de thymidine tritiée ou encore de BrdU (un analogue de la thymidine), ont mis en évidence un auto-renouvellement de la microglie basé sur des cycles de prolifération et d'apoptose (Askew et al., 2017; Lawson et al., 1992). Ces travaux ont mis en évidence un taux de renouvellement de la microglie oscillant entre 0,074% et 1,04% par jour chez la souris correspondant à un renouvellement de l'ensemble de la population microgliale tous les 96 jours. Chez l'Homme, une étude menée sur deux cortex provenant de patients ayant reçu de l'IdU (5-Iodo-2'-deoxyuridine) dans le cadre de traitement de cancers et 12 cortex provenant de sujets exposés au carbone 14 suggère que le taux de renouvellement de ces cellules serait de 28% par an (Réu et al., 2017). Les données acquises dans cette étude suggèrent que les cellules microgliales humaines auraient un âge moyen de 4,2 ans. Ainsi, les cellules microgliales sont capables de se renouveler chez la souris mais également chez l'Homme.

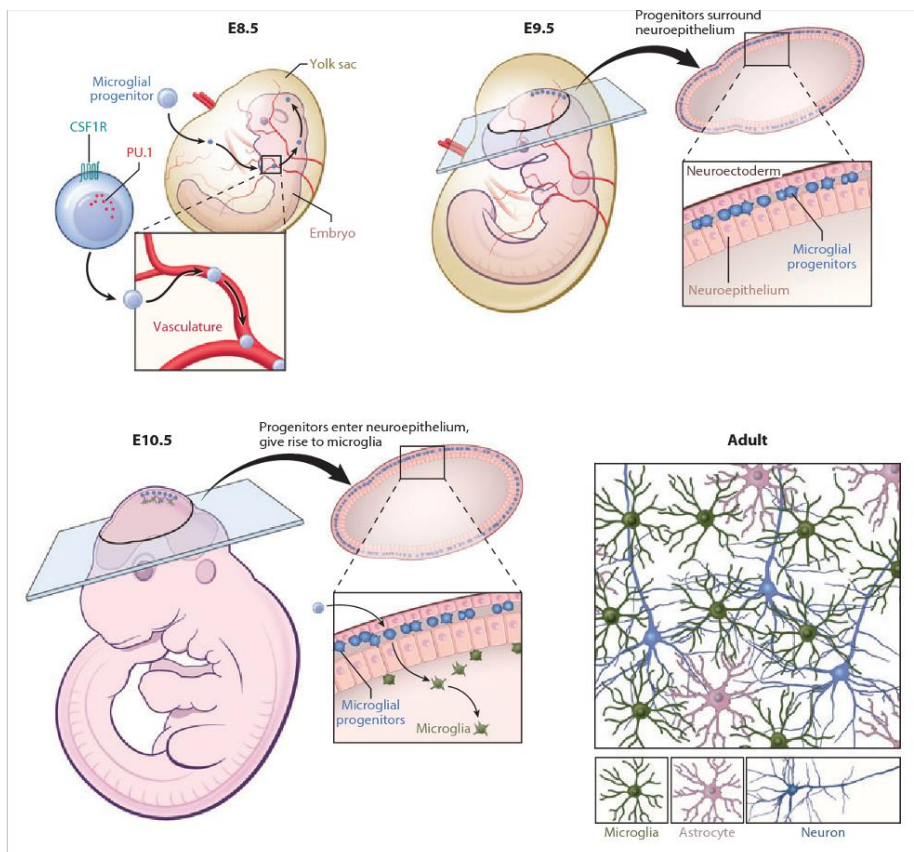


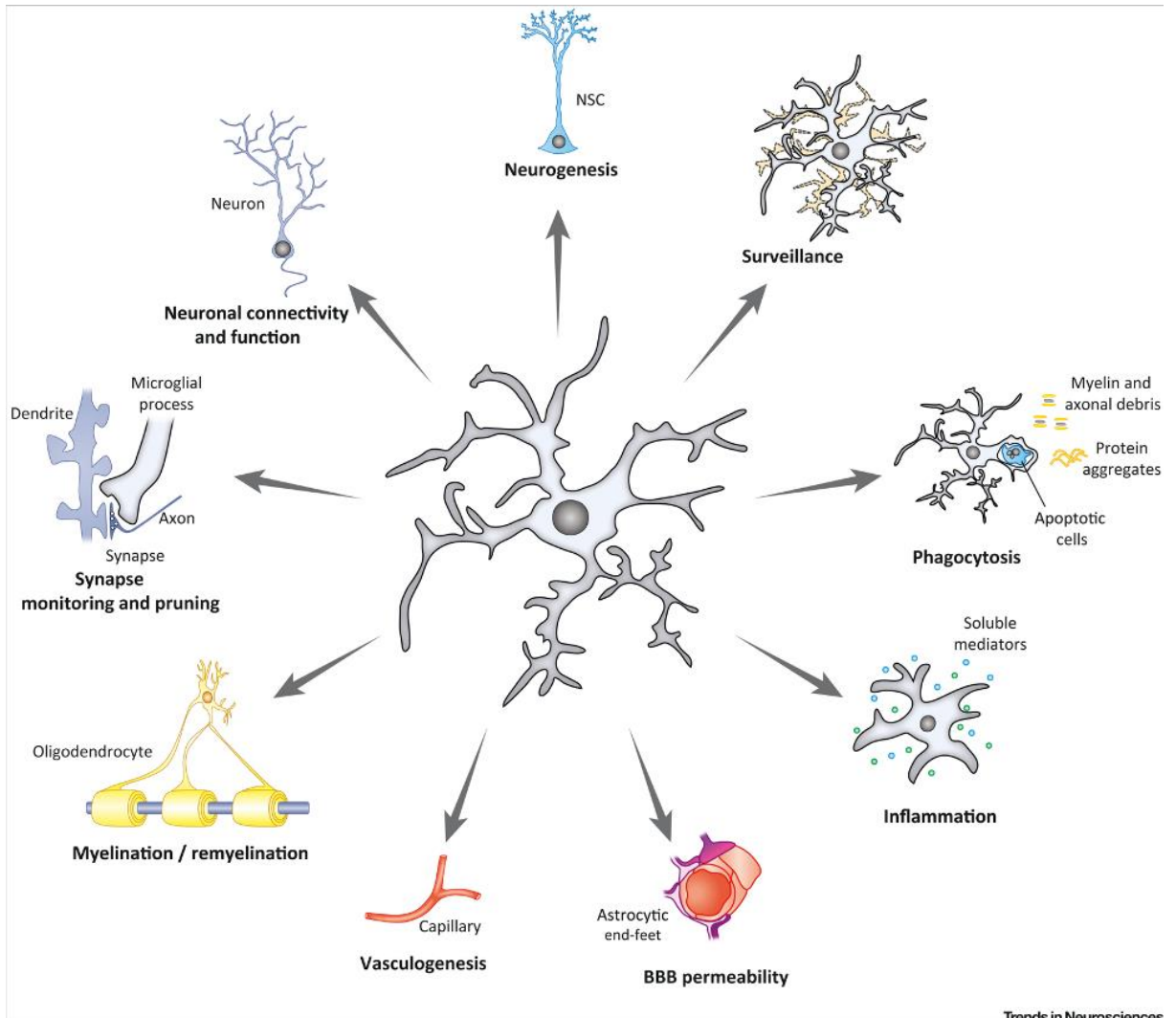
Figure 17 : Ontologie de la microglie chez la souris.

La microglie dérive des macrophages primitifs provenant du sac vitellin embryonnaire durant le développement (avant le jour 8-8,5) et entre dans l'ébauche du cerveau via la circulation. Ces progéniteurs entourent le neuroépithélium puis y entrent au jour 9,5 pour coloniser le parenchyme cérébral. Pendant tout le stade embryonnaire la microglie va conserver un phénotype activé avec une morphologie amoeboïde. La microglie adoptera sa morphologie ramifiée vers le 28^{ème} jour de développement post-natal. D'après (Nayak et al., 2014)

4.3.2 Fonctions de la microglie en conditions physiologiques

Les cellules microgliales sont décrites comme des macrophages résidents du cerveau et représentent la première ligne de défense du SNC en cas de lésion ou d'invasion de pathogènes.

Cependant la microglie a d'autres rôles essentiels au maintien du bon fonctionnement du SNC que ce soit au cours du développement ou durant la vie adulte (Wright-Jin and Gutmann, 2019) (figure 18). Certaines de ces fonctions vont être abordées en détail dans la partie suivante et une liste non exhaustive de ces fonctions est schématisée dans la figure 18.



Trends in Neurosciences

Figure 18 : La microglie exerce de nombreuses fonctions dans le cerveau adulte et en développement

La microglie à l'aide de ces ramifications très mobiles exerce une surveillance constante de son environnement. En tant que cellule immunitaire elle est capable de libérer des médiateurs de l'inflammation solubles telles que les interleukines et peut phagocytter les débris présents dans son environnement (cellules apoptotiques, débris de myéline...). En plus de ces rôles propres à l'immunité, la microglie intervient dans la maturation du SNC et le maintien de la plasticité neuronale par la phagocytose des synapses. Cette cellule est également capable d'interagir avec les autres cellules du cerveau et d'impacter leurs fonctions : cellules souches neuronales (élimination des neurones surnuméraires et sécrétion de facteurs indispensables à leur survie), oligodendrocytes (myélination, différenciation des oligodendrocytes au cours du développement), cellules endothéliales, astrocytes et perméabilité de la BHE. D'après (Sierra et al., 2019)

Au cours du développement la microglie va avoir de nombreuses fonctions cruciales dans la mise en place du SNC (Frost and Schafer, 2016; Thion et al., 2018). Elle intervient dans la régulation du nombre de cellules neuronales par une phagocytose active des progéniteurs et en promouvant l'apoptose des cellules déjà différenciées via la sécrétion de facteurs pro-apoptotiques. La microglie peut également réguler le nombre de neurones en sécrétant des facteurs trophiques tels qu'IGF-1 qui va permettre la survie des neurones corticaux de la couche V du cortex somato-sensoriel (Ueno et al., 2013). Elle va également intervenir dans d'autres nombreuses fonctions pendant le développement cérébral comme la phagocytose des synapses (Schafer et al., 2012, 2013; Tremblay et al., 2010), la migration des interneurons corticaux (Squarzoni et al., 2014) ou encore la croissance et la fasciculation des axones dopaminergique et glutamatergiques (Pont-Lezica et al., 2014; Squarzoni et al., 2014), qui sont décrites dans la revue de Thion et coll, 2018.

La microglie dans le cerveau adulte a longtemps été considérée comme à l'état de repos ("resting microglia" en anglais). Grâce à la lignée de souris transgéniques CX3CR1^{GFP}, qui expriment la GFP dans les cellules microgliales (Jung et al., 2000) et l'utilisation de l'imagerie deux-photons *in vivo*, deux études ont démontré *in vivo* que les cellules microgliales sont des cellules très dynamiques qui surveillent constamment leur environnement à l'aide de leurs ramifications (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005). Ces études suggèrent bien que leur soma soit statique en conditions physiologiques, ces cellules peuvent surveiller un domaine de 10 fois leur taille et interagir avec les cellules voisines.

Une fois les réseaux neuronaux mis en place, la microglie joue un rôle crucial dans le maintien du bon nombre de connections synaptiques et la plasticité neuronale. En 2009, l'équipe de Wake et coll. a pu mettre en évidence une interaction activité-dépendante entre les boutons synaptiques et la microglie dans le système visuel (Wake et al., 2009). Plus récemment, grâce à l'imagerie calcique, une étude a montré que ces contacts entre les ramifications microgliales et les synapses peuvent induire une augmentation de l'activité de la synapse (Akiyoshi et al., 2018). Ce contact entre la microglie et les synapses peut également être à l'origine d'une phagocytose des éléments présynaptiques et un remodelage des éléments post-synaptiques (Ji et al., 2013; Weinhard et al., 2018) Des données récentes montrent cependant que l'inhibition de la phagocytose par la microglie ou encore la déplétion de la microglie permet d'améliorer la mémoire contextuelle (Wang et al., 2020). Cette étude suggère ainsi que la microglie participe à l'oubli et le rappel mnésique.

Son rôle dans le maintien de la plasticité synaptique ne se limite pas aux synapses. La microglie peut, en effet, induire la mort programmée de neurones surnuméraires produits lors de la neurogenèse adulte via la sécrétion de molécules comme des ions superoxydes (Marín-Teva et al., 2004) ou encore le TNF-alpha (tumor necrosis factor alpha) (Sedel et al., 2004). Afin de maintenir une bonne plasticité synaptique, la microglie sécrète certains facteurs trophiques, comme le BDNF (brain-

derived neurotrophic factor), jouant dans les processus d'apprentissage et de mémorisation (Parkhurst et al., 2013).

L'influence de la microglie sur la plasticité synaptique peut également être indirecte. Deux études récentes ont mis en évidence que la microglie est capable de remodeler la matrice extracellulaire et ainsi moduler l'activité (Liu et al., 2021) et la plasticité synaptique (Nguyen et al., 2020).

Un des rôles majeurs de la microglie est la phagocytose. Ce processus permet la dégradation des débris cellulaires mais également l'élimination des neurones en surplus produits au cours de la neurogenèse adulte. Ce processus de programmation de la mort des neurones par la microglie est dépendant de l'expression des récepteurs kinases AXL et Mer ainsi que de leurs ligands (Fourgeaud et al., 2016).

Lorsque l'homéostasie cérébrale est rompue, la microglie s'active. Elle va alors changer de morphologie et adopter une morphologie amoéboïde caractérisée par une hypertrophie du corps cellulaire, une rétraction et une diminution du nombre de ses ramifications. Cet état d'activation a été dans un premier temps décrit comme un état unique découlant d'un processus linéaire avec plusieurs phases entre l'état « homéostatique, ramifié » et l'état « activé, amoéboïde ». Plus tard, certaines études ont essayé de rapprocher les états d'activation des macrophages M1 et M2 à l'activation microgliale (Ransohoff, 2016). Cependant, plus récemment, grâce aux technologies menées à l'échelle de la cellule unique, la microglie commence à révéler une hétérogénéité complexe et subtile tant dans des contextes homéostatiques que pathologiques.

4.3.3 Hétérogénéité de la microglie

La notion de diversité microgliale a été introduite, dès 1919, par Pio del Rio Hortega qui distinguait un sous type de microglie « satellite » à proximité des neurones. Cette notion de diversité a ensuite été explorée par différentes techniques.

Les premières études « modernes » décrivant une hétérogénéité microgliale dans le cerveau murin adulte se sont basées sur des caractéristiques histologiques telles que la densité et la morphologie des cellules (Lawson et al., 1990). Il a ensuite fallu attendre plus de 20 ans pour que les techniques permettent l'analyse du protéome de ces cellules par spectrométrie de masse et la découverte d'une hétérogénéité régionale de la microglie (Sharma et al., 2015). Cette diversité de la microglie selon les régions a été confirmée un peu plus tard par des analyses de séquençage ARN à l'échelle de population cellulaires triées de cerveau de souris âgées (Grabert et al., 2016). Finalement l'explosion de l'utilisation de techniques de séquençage à haut débit à l'échelle de la cellule unique permet aujourd'hui d'identifier des groupes de cellules définis par leur signature transcriptomique

dans les modèles animaux mais également sur des analyses post-mortem de tissus humains. Ces techniques appliquées dans de nombreuses études ont permis de mettre en avant une grande diversité au sein des cellules microgliales durant toutes les phases du développement (figure 19) (Masuda et al., 2020; Provenzano et al., 2021).

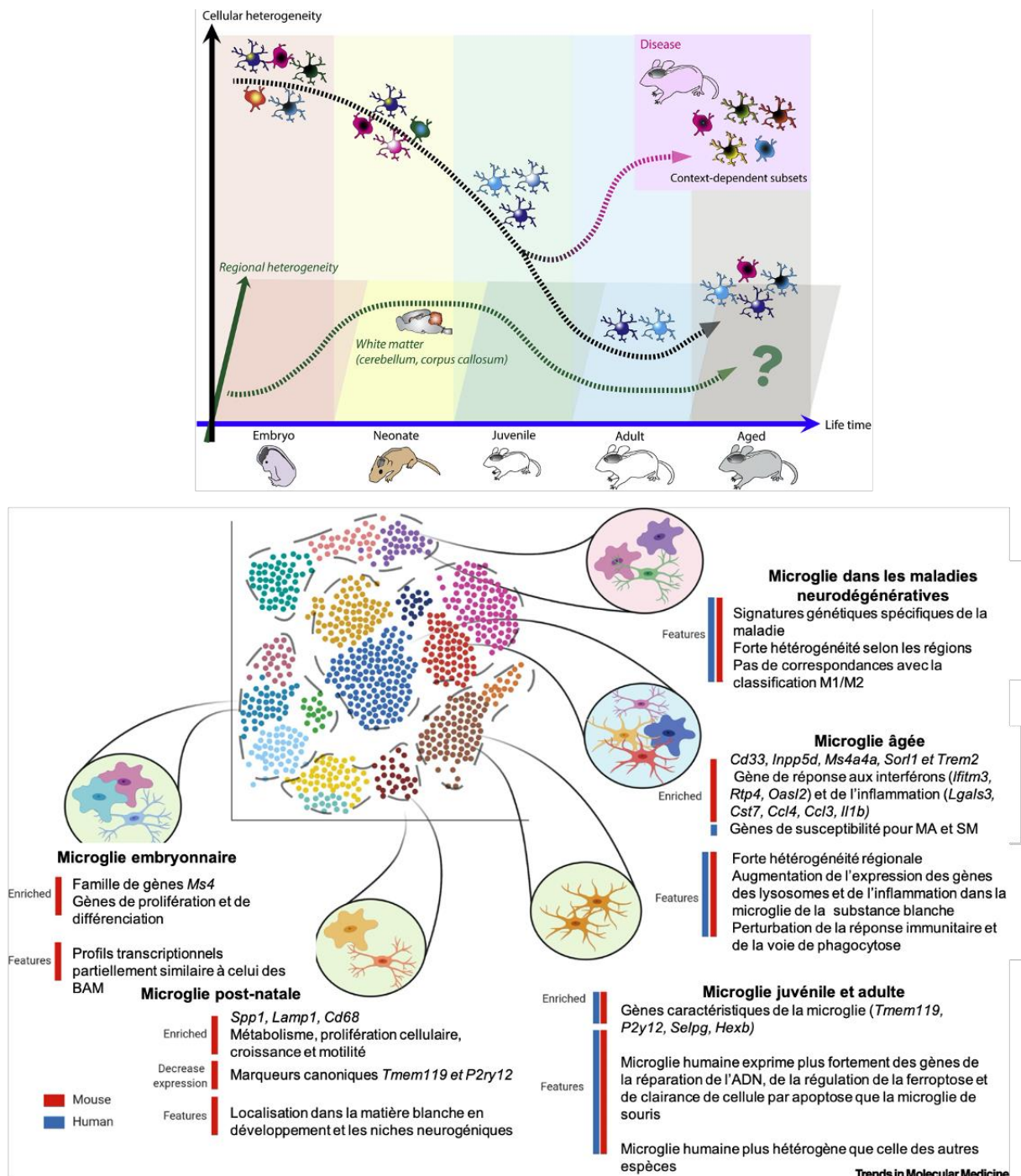


Figure 19 : La microglie, une population de cellules très hétérogène

Les techniques d'analyses transcriptomiques ont mis en évidence différents groupes de cellules microgliales. Ces différences sont âge- et région- dépendantes. La diversité des cellules microgliales est la plus forte durant le stade embryonnaire et diminue jusqu'à l'âge adulte (partie haute). De nouvelles catégories apparaissent au cours du vieillissement. Ces microglies « âgées » présentent un enrichissement des gènes de susceptibilité associés à

la MA et la maladie de Parkinson. BAM (Brain-border macrophages). Adapté de (Provenzano et al., 2021) et de (Masuda et al., 2020)

L'étude d'Hammond et coll. a permis de caractériser la microglie à différents stades du développement. (Hammond et al., 2019). Cette étude suggère que la plus forte hétérogénéité des cellules microgliales est retrouvée lors du stade embryonnaire. A ce stade les cellules expriment de nombreux gènes spécifiques des monocytes et des macrophages. (Hammond et al., 2019; Matcovitch-Natan et al., 2016). Ce sous-type microglial présente un enrichissement des gènes de la famille de *Ms4a* également associé à une susceptibilité de développer la MA (Hollingworth et al., 2011).

L'étude menée par Hammond et coll. suggère aussi que l'hétérogénéité de la microglie va diminuer à partir de la période néonatale jusqu'à l'âge adulte.

Durant la période néonatale, la microglie exprime des gènes impliqués dans la prolifération, le métabolisme énergétique et la motilité cellulaire. Cependant un petit groupe distinct est retrouvé dans des zones présentant une prolifération neuronale ou axonale (niches neurogéniques et matière blanche). Ces cellules ont été identifiées comme des PAMs (microglie associée aux régions prolifératives) et sont caractérisée par une morphologie amoeboïde et une forte activité métabolique et de phagocytose des nouveaux oligodendrocytes (Li et al., 2019).

L'hétérogénéité des cellules microgliales est moins importante au cours de la vie adulte avec des différences régionales limitées (Hammond et al., 2019; Keren-Shaul et al., 2017; Li et al., 2019; Masuda et al., 2019). Par la suite, au cours du vieillissement, l'homéostasie cérébrale est modifiée et la microglie adopte une morphologie dystrophique (Streit et al., 2004). La fonction de phagocytose est également altérée chez les souris âgées (Pluvinage et al., 2019). Ainsi, il n'est pas surprenant qu'on assiste à une nouvelle augmentation de l'hétérogénéité au cours du vieillissement et que des sous-catégories microgliales soient associées au vieillissement (Galatro et al., 2017; Hammond et al., 2019; Li et al., 2019; Matcovitch-Natan et al., 2016; Pan et al., 2020). L'analyse de ces cellules révèle une augmentation de l'expression de gènes inflammatoires tels que *Ccl3* ou *Il1b* et un enrichissement de l'expression de gènes de susceptibilités associés à la MA et la Maladie de Parkinson.

Un autre facteur semblant influencer l'hétérogénéité de la microglie dans un contexte physiologique est le sexe (mâle/femelle). Cette influence du sexe sur les profils d'expression génique et les fonctions de la microglie a été rapportée au cours du développement et du vieillissement (Gunevkaya et al., 2018) et sur la réponse inflammatoire (Hanamsagar et al., 2017). Cependant l'analyse en cellule unique menée par Hammond et coll. ne démontre que des différences subtiles du transcriptome. Ces données sont encore récentes et nécessitent de nouvelles analyses pour mieux comprendre les différences entre les cellules microgliales mâles et femelles. Une des hypothèses,

pouvant expliquer ces différences, est liée au sexe chromosomique de la cellule, le chromosome X contient de nombreux gènes liés à l'immunité chez l'Homme (Fish, 2008) et certains de ces gènes tel que Tlr7 (Toll-like receptor 7) (Souyris et al., 2018) échappent à l'inactivation des gènes liés au chromosome X chez la femelle entraînant ainsi une expression biallélique de ces gènes.

La diversité de la population microgliale déjà prouvée en conditions physiologiques a également été décrite dans diverses maladie neurologiques. Notamment certains types de microglie, appelé DAM (Disease-Associated Microglia) ont été décrit comme associé à la MA (Keren-Shaul et al., 2017). Cette population microgliale est retrouvée dans des régions où il y a une forte pathologie amyloïde. Ces cellules sont caractérisées par une forte activité de phagocytose ainsi que par une augmentation de l'expression des gènes du métabolisme lipidique. Les rôles bénéfiques ou délétères de ces cellules sont encore débattus. D'autres sous-types cellulaires ont été associés avec d'autres maladies neurologiques telles que la sclérose amyotrophique latérale (Maniatis et al., 2019) ou encore l'autisme (Velmeshev et al., 2019). Ces différentes catégories de cellules microgliales sont décrits dans la revue de (Provenzano et al., 2021).

Ainsi les analyses menées sur la microglie au cours des dernières années ont démontré sa très grande hétérogénéité en condition physiologique et pathologique. Cependant il est maintenant nécessaire de réaliser des études fonctionnelles permettant de mieux comprendre les rôles joués par ces différents sous-types de microglie et leurs interactions avec leurs environnements. De telles connaissances permettraient de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques dans de nombreuses pathologies.

4.4 Implication de la microglie dans les Tauopathies

4.4.1 Généralités

Bien que la présence de cellules microgliales concentrées autour des plaques soit connue depuis la description anatomopathologique de la maladie par Aloïs Alzheimer, la recherche menée sur le rôle de la microglie dans la MA a été majoritairement réalisée sur la composante amyloïde de la pathologie prêtant peu d'attention à l'association entre microglie et Tauopathie.

Différentes études montrent que l'inflammation est partie prenante dans le développement de la pathologie Tau. Le traitement de certains modèles murins de tauopathie (P301S et hTau) par des anti-inflammatoire entraine en effet une diminution de la pathologie Tau (Garwood et al., 2010; Yoshiyama et al., 2007). A l'inverse l'activation de l'inflammation par une injection systémique de LPS entraine augmentation de la pathologie Tau chez des souris 3xTg présentant des lésions Tau et A β

(Kitazawa et al., 2005). Pour aller plus loin dans la caractérisation du rôle de la microglie dans la pathologie Tau certaines équipes ont déplété la microglie à l'aide du traitement Plexxikon (PLX)5622 bloquant le récepteur CSF1R (*Colony stimulating Factor 1 receptor*) nécessaire à la survie de la microglie. Ces études ont pu démontrer que la délétion de la microglie entraîne une diminution de l'accumulation de la protéine Tau hyperphosphorylée dans un modèle de tauopathie pure (Asai et al., 2015).

Plus récemment, un lien entre l'inflammasome NLRP3 et la tauopathie a été mis en lumière (Ising et al., 2019; Stancu et al., 2019). L'équipe de M.T. Heneka a tout d'abord mis en évidence une activation de l'inflammasome NLRP3 dans des tissus humains provenant de patients souffrant de DFT mais également dans un modèle murin de Tauopathie, le modèle THY-Tau22 (Ising et al., 2019). Ainsi il semble que la microglie pourrait faciliter la progression de la pathologie Tau en intensifiant l'hyperphosphorylation de la protéine Tau via un mécanisme dépendant du récepteur IL-1. De plus, une déficience de l'inflammasome NLRP3 est corrélée avec une diminution de GSK3- β et de CamKII- α qui sont toutes les deux des kinases impliquées dans la phosphorylation de Tau. Ces données suggèrent donc que l'inflammasome NLRP3 pourrait réguler la phosphorylation de Tau et ainsi constituer une bonne cible thérapeutique (Zhang et al., 2020).

Ces études ont donc mis en évidence que l'activation microgliale peut induire et potentialiser la pathologie Tau.

D'un autre côté, la pathologie Tau peut également induire l'activation microgliale (van Olst et al., 2020) et entraîner l'expression de plusieurs cytokines pro-inflammatoires (Kovac et al., 2011) qui peuvent à leur tour potentialiser la pathologie Tau suggérant un potentiel cercle vicieux entre la neuroinflammation et la pathologie Tau.

De plus il semblerait que dans un contexte de Tauopathie, la réponse microgliale ne soit pas un processus binaire mais plutôt un phénomène dynamique impliquant plusieurs sous-populations émergent à différents stades de la pathologie (Rexach et al., 2020). Les auteurs de cet article, ont ainsi identifié sept modules (ou groupes de gènes co-exprimés) microgliaux associés à différentes formes ou niveau d'activation microgliale. D'après les auteurs de cette étude, ces modules seraient exprimés au cours de trois phases de la pathologie : précoce, intermédiaire et tardive. Au cours de la phase précoce ces modules confèreraient un état prolifératif à la microglie et permettrait l'expression de récepteurs permettant une réponse rapide aux peptides présents dans l'environnement proche. La réponse à ces peptides au cours de la phase intermédiaire entraîne une expression de gènes impliqués dans la phagocytose et la dégradation de molécule via le système UPS. Pour finir en phase tardive les modules exprimés sont impliqués normalement dans les réponses chroniques aux virus impliquant une surexpression d'interferon 2 causant l'apoptose des cellules.

Bien que la définition de l'activation microgliale comme cause ou conséquence de la pathologie Tau reste encore une question centrale, l'ensemble de ces données mettent en évidence une collaboration entre la microglie et la pathologie Tau via une inflammation chronique.

La microglie pourrait également jouer un rôle dans la potentialisation de la pathologie Tau en participant à la propagation de la protéine Tau. Cette question sera abordée un peu plus tard.

Ainsi, bien que peu de données soient disponibles, les études récentes confirment bien un rôle actif de la microglie dans la pathologie Tau. Il est donc intéressant de mieux étudier les mécanismes liant ces phénomènes.

4.4.2 Cas particulier du récepteur TREM2

Une des pistes intéressantes pouvant expliquer la liaison entre pathologie Tau et microglie est le récepteur TREM2.

Initialement les variants du récepteur TREM2 (Triggering Receptor Expressed on myeloïd cells-2) étaient connus pour leur implication dans la maladie de Nasu-Hakola aussi connue sous le nom de PLOSL (polycystic lipomembranous osteodysplasia with sclerosing leukoencephalopathy)(Hakola, 1972). Cette pathologie est une leucodystrophie autosomale récessive caractérisée par une démence présénile progressive (apparaissant avant 40 ans) associée à des fractures osseuses récurrentes, dues à des lésions polykystiques (Kaneko et al., 2010). Ce phénotype pathologique est causé chez les patients par des mutations des gènes *TREM2* ou *TYROBP* codant des sous-unités différentes d'un complexe de récepteurs (Paloneva et al., 2002) résultant en des pertes de fonctions des protéines TREM2 et DAP12. Du point de vue neurologique, les patients atteints de la pathologie de Nasu-Hakola présentent une astrogliose, et une dégénérescence axonale massive au niveau des lobes frontaux et temporaux ainsi que des ganglions de la base (Satoh et al., 2011).

L'intérêt autour de TREM2 s'est intensifié à la suite des études GWAS qui ont identifié TREM2 comme un facteur de risque de la MA. Deux études publiées en 2013 ont notamment identifié certains variants de TREM2, tel que le polymorphisme R47H comme associé à la MA (Guerreiro et al., 2013; Jonsson et al., 2013). Ce variant R47H, bien que faiblement représenté dans les populations analysées (<1%) confère un risque similaire à celui induit par l'allèle $\epsilon 4$ du gène APOE (risque 4 fois supérieur chez les porteurs du variant R47H) (Guerreiro et al., 2013; Slattery et al., 2014). La caractérisation de ce polymorphisme a mis évidence que la substitution de l'arginine par une histidine confère un phénotype de perte de fonction du récepteur (Cheng-Hathaway et al., 2018; Xiang et al., 2018). Depuis, de nombreux nouveaux variants de TREM2 ont été découverts et associés avec la MA (pour revue :

Qin et al., 2021). Ces variants ont différents impacts sur les fonctions de TREM2 et semblent affecter la phagocytose, la maturation et l'affinité des ligands avec TREM2 (Kober et al., 2016; Yeh et al., 2016). De façon intéressante, certains polymorphismes de *TREM2* sont associés avec d'autres pathologies comme certaines DFT (Borroni et al., 2014; Thelen et al., 2014), la SLA (sclérose latérale amyotrophique) (Cady et al., 2014) ou encore la maladie de Parkinson (Rayaprolu et al., 2013).

4.4.2.1 Expression et structure de TREM2

Le gène *TREM2* est localisé sur le chromosome 6q21.1 chez l'Homme (Allcock et al., 2003) et 17 chez la souris (Bouchon et al., 2000). Ce gène est majoritairement exprimé par les cellules de la lignée myéloïde comme les cellules dendritiques (Bouchon et al., 2000) et les macrophages spécifiques de certains tissus comme les ostéoclastes (Cella et al., 2003; Humphrey et al., 2006) ou les cellules de Küppfer (Gonçalves et al., 2013). Au niveau cérébral, *TREM2* est exprimé essentiellement par les cellules microgliales (Forabosco et al., 2013; Kiiialainen et al., 2005). Des différences de niveau d'expression ont été constatées entre les régions avec une plus forte expression de *TREM2* dans l'hippocampe, la moelle épinière et la substance blanche (Forabosco et al., 2013). De façon intéressante ces régions sont celles où la densité microgliale est très forte. L'expression de *TREM2* peut également être modulée dans des certaines conditions, elle est notamment augmentée avec l'âge, aussi bien chez l'Homme que chez la souris (Bhattacharjee et al., 2016). En outre, une augmentation de la quantité protéique de TREM2 a été observé chez les patients atteints de MA (Lue et al., 2015).

4.4.2.2 Signalisation et fonctions

TREM2 est un récepteur transmembranaire de la famille des immunoglobulines qui agit principalement via son adaptateur cellulaire DAP12 (DNAX-activation protein12 - aussi connu sous le nom de TYROBP) via sa partie cytoplasmique (Bouchon et al., 2001). Plusieurs ligands ont été proposés comme étant reconnus par la partie extracellulaire de TREM2. Parmi ces ligands potentiels se trouvent : les lipopolysaccharides exprimés à la surface des bactéries, les acides lipoteichoïques (constituant les parois des bactéries à Gram positif), les lipoprotéines, ou encore certains phospholipides spécifiques de la phase interne de la membrane plasmique comme la phosphatidylsérine ainsi que plusieurs apolipoprotéines dont APOE (Bailey et al., 2015; Yeh et al., 2016). Plus récemment A β a également été identifié comme un ligand potentiel de TREM2 capable de le lier directement et d'activer la signalisation TREM2 (Zhao et al., 2018). En revanche, aucune donnée ne permet à ce jour de considérer la protéine Tau comme un ligand de ce récepteur.

La liaison de TREM2 avec un de ces ligands va induire la phosphorylation des tyrosines de DAP12 au sein des motifs ITAMS (Immunoreceptor tyrosine-based activation motifs) par les kinases de la famille Syk. Cette signalisation va être à l'origine d'une cascade de signalisation de la réponse inflammatoire

incluant en conséquence une mobilisation calcique, la signalisation mTor (Ulland et al., 2017) ou la signalisation PI3K/Akt (Sun et al., 2013) ou encore la signalisation des MAPK (figure 20)

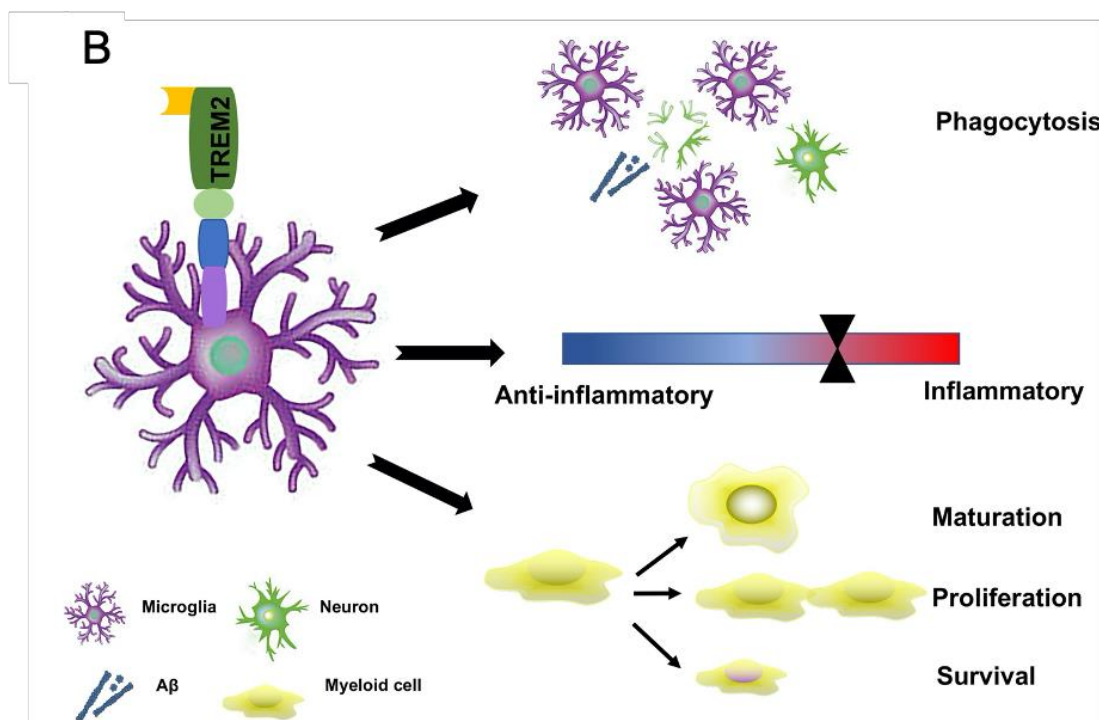
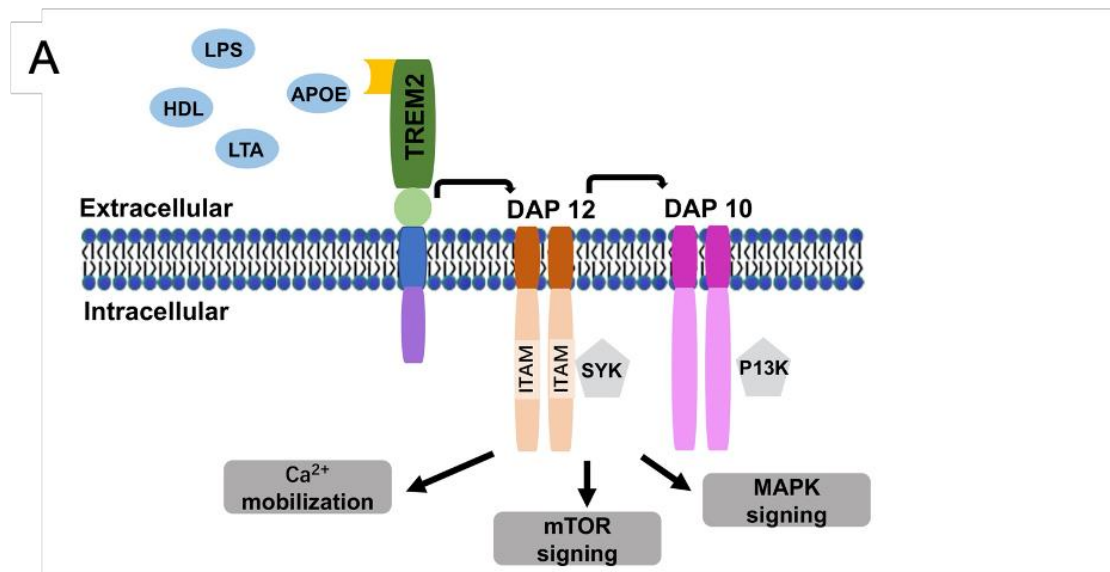


Figure 20 : Signalisation et fonction du récepteur TREM2

(A) Les ligands se lient à TREM2 déclenche une interaction entre TREM2 et DAP12 ou 10, entraînant une mobilisation calcique, une activation des intégrines, un réarrangement du cytosquelette, les cascades de signalisation mTOR et MAPK ainsi que l'activation du métabolisme énergétique. (B) Le récepteur TREM2 peut être impliqué dans plusieurs fonctions telles que la modulation de la réponse inflammatoire, la maturation, la prolifération et la survie ainsi que la phagocytose. D'après (Qin et al., 2021)

Le récepteur TREM2 est impliqué dans de nombreuses fonctions essentielles pour la microglie comme la phagocytose. Le taux d'expression de cette protéine est en effet corrélé à l'activité de

phagocytose des neurones apoptotiques par la microglie (Hsieh et al., 2009). De plus la perte de TREM2 entraîne une diminution de l'activation microgliale ainsi que de l'activité de phagocytose chez la souris (Kawabori et al., 2015) mais également dans des cellules microgliales humaines dérivées de cellules iPSC (Claes et al., 2019)

TREM2 est impliqué dans la survie et prolifération des cellules myéloïdes (Bouchon et al., 2001; Song et al., 2017). Ainsi une diminution de l'expression de TREM2 est associée à une plus faible prolifération microgliale (Wang et al., 2016; Zheng et al., 2017) et une diminution du taux de survie de ces cellules (Wu et al., 2015).

TREM2 joue également un rôle dans la modulation de la réponse inflammatoire bien que les données de la littérature soient contradictoires. Certaines études suggèrent que TREM2 aurait des propriétés anti-inflammatoires via la régulation des récepteurs TLR (Gao et al., 2013; Piccio et al., 2007). Cependant, dans une étude menée chez des souris modèles de la MA (APP/PS1), le récepteur TREM2 déclenche la signalisation APOE et conduit à l'acquisition d'un phénotype pro-inflammatoire (Krasemann et al., 2017). Cette étude fait écho à la description des DAM rapportée par Keren-Shaul (Keren-Shaul et al., 2017). Cette dernière étude implique la signalisation TREM2 dans le processus de transformation de la microglie en DAM et plus particulièrement dans le passage en DAM de stade 2 qui seraient plutôt protecteur avec une augmentation de la phagocytose. Il semble donc que la microglie joue un rôle complexe dans la modulation de l'inflammation et cette modulation pourrait être contexte-dépendante en fonction d'une situation aiguë ou chronique.

Dans le cadre d'une inflammation aiguë causée par une infection par exemple, l'activation de la microglie va permettre la libération de cytokines pro-inflammatoire et la phagocytose de l'élément causal. Une fois la cause éliminée la microglie va sécréter des molécules anti-inflammatoire permettant la réparation des tissus avant de retrouver un état homéostatique. Dans le cadre des maladies neurodégénératives, la cause ne peut pas être éliminée, il y a une augmentation de la mort neuronale et la microglie sécrète continuellement des cytokines pro-inflammatoires provoquant ainsi un état d'activation chronique de la microglie délétère dans la progression de la neurodégénérescence.

Ainsi TREM2 a de nombreux rôles et la dérégulation de son expression ou de ses fonctions pourraient être impliqués dans les mécanismes en jeu dans les maladies neurodégénératives

4.4.2.3 *TREM2 et Tauopathie*

Depuis l'identification de polymorphismes *TREM2* comme facteurs de risque dans la MA, de nombreuses études se sont intéressées à l'impact de TREM2 dans la pathologie. Une grande partie de

cette littérature étudie TREM2 dans un contexte d'amyloïdose et s'accorde à dire qu'une déficience de TREM2 augmente la pathologie amyloïde. Cependant en fonction du stade de la pathologie analysé les études présentent des conclusions contradictoires sur le rôle bénéfique ou délétère de TREM2 (Jay et al., 2017, 2015; Jiang et al., 2016, 2015; Kleinberger et al., 2014; Song et al., 2018; Wang et al., 2016, 2015; Yuan et al., 2016). Cette partie de la littérature ne sera pas abordée dans ce manuscrit.

En plus des preuves génétiques apportées par les études de GWAS associant des polymorphismes de TREM2 avec la MA mais également des DFT, des preuves biologiques ont renforcé le lien TREM2 / Tauopathie. Il existe, en effet une corrélation positive entre la présence du variant R47H et la quantité de protéine Tau phosphorylée dans le LCR des patients atteint de MA (Cruchaga et al., 2013; Lill et al., 2015). En outre une corrélation positive entre la charge de Tau et TREM2 a été mise en évidence sur des tissus de patients par histologie et par quantification de l'ARNm (Celarain et al., 2016). Cette augmentation de l'expression de TREM2 a été également observée dans des modèles transgéniques de Tauopathie (Jiang et al., 2015).

A l'image des études menées sur les modèles amyloïdes, les études modulant l'expression de Tau dans les modèles de Tauopathie aboutissent à des résultats contradictoires.

Les premières études, rapportent que l'absence de TREM2 est associée à une augmentation de la pathologie Tau dans deux modèles différents, les modèles P301S (expression de la protéine Tau 1N4R humaine portant la mutation P310S) et htau (expression des 6 isoformes de la protéine Tau humaine) (Bemiller et al., 2017; Jiang et al., 2015). Cependant une étude plus récente montre que la déficience de TREM2 est associée à perte neuronale et une neuroinflammation moindres (Leyns et al., 2017). Le bénéfice de la diminution de la réactivité microgliale liée au polymorphisme R47H a également été établi très récemment chez les souris PS19 (Gratuze et al., 2020). Les auteurs de cette étude ont mis en évidence que les souris exprimant le variant R47H présentent une diminution de l'activité de phagocytose des éléments post-synaptiques et de l'atrophie cérébrale. Cette observation va à l'encontre des premières données suggérant que le variant R47H serait délétère dans la MA. Cependant cette étude a été menée dans un contexte de tauopathie pure et ne prend donc pas en compte l'effet lié à la pathologie amyloïde présente dans la MA. En outre, une étude récente menée sur des souris pR5-183 (qui exprime la protéine Tau humaine portant la mutation P301L) et des souris TauPS2APP (croisement des souris pR5-183 avec des souris PS2APP exprimant des formes mutées des protéines APP et PSEN2) montre par un séquençage de l'ARN sur cellule unique une activation d'un profil DAM dépendant de la pathologie amyloïde et indépendant de TREM2 (Lee et al., 2021). De plus cette étude met en évidence que la délétion de TREM2 entraîne une augmentation de l'accumulation et de la propagation de la pathologie Tau ainsi qu'une atrophie cérébrale seulement si la pathologie amyloïde est présente.

Certaines des contradictions entre les résultats de ces études peuvent être expliquées par les différents modèles utilisés.

Une des hypothèses proposées aujourd’hui est un rôle distinct de TREM2 et de la microglie dans la MA (figure 21) selon le stade de la pathologie. Ainsi une diminution partielle ou totale de TREM2 à des stades précoces serait délétère et entrainerait une augmentation de la pathologie Tau. Aux stades tardifs à l’inverse, la perte de TREM2 serait associée à une diminution de la réactivité microgliale et donc à une diminution de la phagocytose des synapses (Qu and Li, 2020).

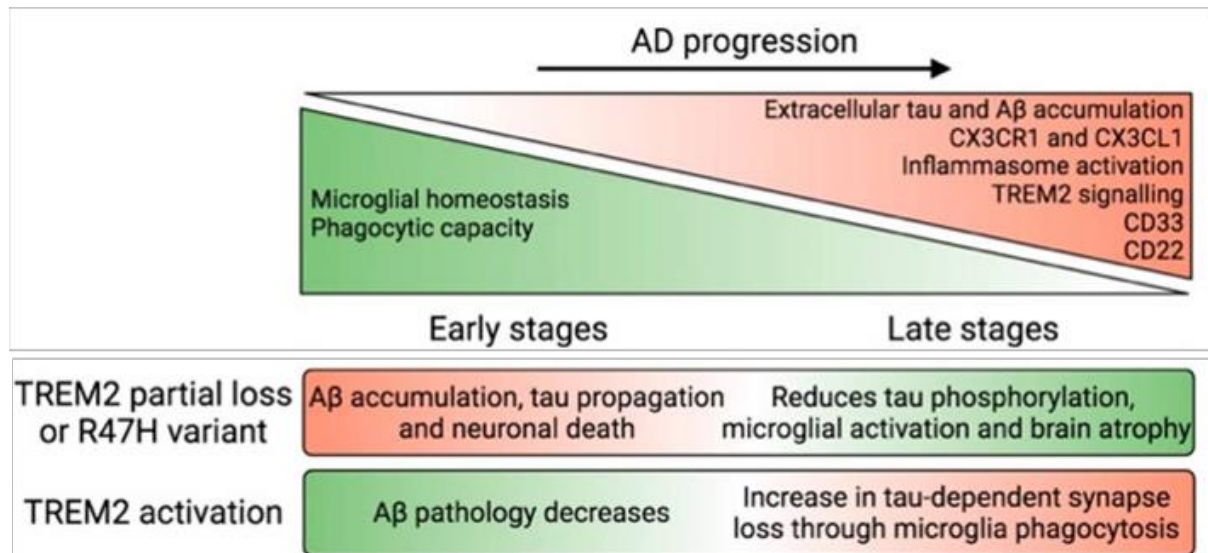


Figure 21 : : Influence de TREM2 en fonction du stade de la pathologie

Aux stades précoces de la pathologie, l’absence de TREM2 est associée à une pathologie Tau exacerbée alors que durant les stades tardifs l’absence de TREM2 maintient la microglie en état homéostatique voit son activité de phagocytose diminuée ce qui entraîne une atrophie cérébrale amoindrie. D’après (Perea et al., 2020).

4.4.3 Rôle de la microglie dans la propagation de la pathologie Tau

L’étude de la propagation de la protéine Tau est l’objet de nombreux articles. Cependant la majorité de ces études se sont concentrées sur les mécanismes purement neuronaux et très peu sur l’implication tierce de la microglie.

Pourtant il a été montré que la microglie est capable de phagocyter la protéine Tau sous sa forme soluble ou agrégée (Asai et al., 2015; Bolós et al., 2016, 2017; Brelstaff et al., 2018; de Calignon et al., 2012; Funk et al., 2015; Luo et al., 2015; Majerova et al., 2014; Morales et al., 2013; Hopp et al., 2018). De plus la microglie est également impliquée dans la phagocytose des synapses ou de neurones entiers pouvant contenir des formes toxiques de la protéine Tau (Brelstaff et al., 2018; Dejanovic et al., 2018). Une fois internalisée la protéine Tau peut être soit dégradée (Luo et al., 2015) soit de nouveau libérée dans le milieu extracellulaire dans des vésicules (Hopp et al., 2018) qui pourront être internalisées par les neurones avoisinants. L’étude de Hopp et coll. suggère que la microglie est capable d’internaliser

la protéine Tau mais n'est pas capable de neutraliser ses propriétés pathologiques et sa capacité à jouer un rôle dans la propagation.

Ce rôle de la microglie a été questionné dans un modèle de propagation de la protéine Tau mis en place par la technique de transfert de gène médiée par les rAAVs. L'injection d'AAV dans le cortex entorhinal entraîne une surexpression de la protéine Tau au niveau du site d'injection et sa propagation via la voie perforante au gyrus denté (Asai et al., 2015). La déplétion de la microglie dans ce modèle ainsi que l'inhibition de la synthèse d'exosome par ces cellules entraîne une diminution de la propagation de la pathologie *in vivo* et *in vitro*. Cette étude met donc en évidence le rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau qui passerait par la synthèse d'exosomes. Ces données sont corroborées par les résultats de l'étude de Wang et coll. définissant les exosomes comme un des vecteurs potentiels de propagation de la protéine Tau (Wang et al., 2016). De plus une étude s'intéressant au rôle de BIN1 dans la propagation de Tau, a mis en évidence que l'absence de *Bin1* au niveau de la microglie entraîne une diminution de la sécrétion de Tau dans des exosomes *in vitro* et de la propagation de la protéine chez les souris PS19 (Crotti et al., 2019).

Ainsi la microglie jouerait un rôle actif dans la propagation de la protéine Tau.

Cette hypothèse est en accord avec les données déjà présentes dans la littérature montrant qu'une greffe de microglie provenant de souris modèles de Tauopathie (hTau) est suffisante pour induire une pathologie Tau dans le cerveau de souris saines (Maphis et al., 2015). De façon intéressante cette étude met également en évidence la propagation de la protéine Tau à la suite de la greffe de microglie est plus importante chez des souris double transgéniques hTauCx3cr1^{-/-}, présentant une réactivité microgliale exacerbée, que chez des souris hTau. Cette étude suggère donc que la microglie est suffisante pour induire la propagation de la protéine Tau et que l'activation de la microglie pourrait potentialiser ce phénomène.

Ainsi les données de la littérature suggèrent que la microglie joue un rôle important dans la propagation de la protéine Tau mais n'explique pas la nature des relations entre les acteurs en jeu. Une des hypothèses proposées actuellement est que la microglie capte la protéine Tau hyperphosphorylée, oligomérique ou agrégée dans le milieu extracellulaire ou par la phagocytose de synapses ou de neurones. La protéine Tau est ensuite dégradée par la microglie mais de façon insuffisante ce qui permettrait sa libération dans le milieu extracellulaire via la sécrétion d'exosomes qui pourraient ensuite être captée par les cellules avoisinantes. Ce phénomène est peut-être ensuite potentialisé dans un cercle vicieux où la progression de la pathologie Tau entraîne une activation chronique de la microglie.

5 Objectifs et stratégies

Afin d'étudier l'implication de la microglie dans la propagation de la protéine Tau, nous avons dans un premier temps travaillé à la mise en place d'un modèle de propagation pertinent et facilement adaptable. Nous nous sommes tournés vers les stratégies de transfert de gènes à l'aide de vecteurs rAAV (recombinant adeno-associated virus). Au début de ma thèse, l'équipe venait de montrer qu'il était possible avec cette stratégie de reproduire chez la souris et le rat l'hyperphosphorylation et l'agrégation de la protéine Tau observée dans le cerveau des patients suite à l'injection dans l'hippocampe de vecteurs rAAV codant la protéine Tau (d'Orange et al., 2018). Cependant, dans ce modèle, l'injection stéréotaxique du vecteur se fait dans la région CA1 et l'étude de la propagation de la protéine dans les régions efférentes proches est très difficile. En effet, il est impossible de discriminer une pathologie due à la diffusion du virus au moment de l'injection d'une pathologie résultant d'un phénomène de propagation de la pathologie entre les cellules. Ainsi lors du développement de nos modèles nous avons choisi de cibler des circuits neuronaux dans lesquels les neurones afférents et efférents sont anatomiquement bien séparés : les voies visuelles et les projections contra-latérales du gyrus denté.

Pour le premier modèle basé sur les voies visuelles, nous avons ciblé les cellules ganglionnaires de la rétine (RGCs) dont les axones forment le nerf optique et projettent au niveau des premiers relais des voies visuelles dans le cerveau (les corps genouillés latéraux et les colliculi supérieurs). Pour ce modèle nous avons dû créer de nouveaux vecteurs permettant l'expression de la protéine Tau humaine portant une étiquette V5 (désigné Tag V5 dans la suite du manuscrit) afin de faciliter sa détection. La protéine est exprimée spécifiquement dans les RGCs à l'aide du promoteur du gène de la gamma-synucléine (SNCG), spécifique de ces cellules dans la rétine (Chaffiol et al., 2017).

Pour le second modèle, nous avons ciblé la couche polymorphique du gyrus denté où se trouvent les cellules granulaires dont les axones projettent dans le gyrus denté contralatéral. Pour ce modèle, nous avons conçu un nouveau transgène bicistronique permettant l'expression de la GFP et de la protéine Tau humaine tagguée sous contrôle du promoteur neuronal spécifique SYN2. Pour caractériser ces modèles nous avons choisi de réaliser des analyses immunohistochimiques permettant d'analyser l'expression de la protéine Tau, son hyperphosphorylation, la neurodégénérescence et l'inflammation. Ces différents critères ont été analysés au niveau du site d'injection mais également dans les zones de projections des neurones ciblés par nos AAVs.

Une fois ces modèles mis en place, nous avons pu les appliquer dans d'autres modèles murins dans lesquels le fonctionnement de la microglie est perturbé. Nous avons ainsi choisi d'utiliser des souris déficientes pour le récepteur TREM2, dont les cellules microgliales restent bloquées à l'état

homéostatique. Les études récentes de transcriptomique ont également mis en évidence une altération des capacités de phagocytose dans la microglie de souris âgées. La phagocytose étant l'un des mécanismes par lesquels la microglie pourrait influencer sur la propagation nous avons également décidé d'appliquer nos modèles de propagation chez des souris âgées.

Ainsi dans la partie suivante je présenterai les résultats obtenus dans le modèle mis en place dans les voies visuelles. Ce modèle permet le développement d'une tauopathie au niveau de la rétine qui se diffuse le long des axones des cellules ganglionnaires jusqu'au colliculus supérieur. Je présenterai ensuite les premiers résultats obtenus avec le modèle mis en place dans le Gyrus denté. Pour finir, j'aborderai ma participation à l'étude longitudinale de l'influence de la déficience en TREM2 dans un modèle progressif de tauopathie, les souris transgéniques THY-Tau22.

Résultats

Résultats

Dans cette partie du manuscrit nous aborderons les résultats obtenus au cours de ma thèse sous deux formes :

- Sous forme d'articles pour les deux études ayant été complétées et qui sont actuellement soumises pour publication.
- Sous forme descriptive des résultats préliminaires nécessitant encore plusieurs analyses et expériences complémentaires avant de pouvoir faire l'objet d'une publication scientifique. Pour cette partie seules les méthodes non décrites dans les articles déjà préparés seront abordées afin de permettre une meilleure compréhension des techniques utilisées.

1 Un nouveau modèle de tauopathie focale dans la rétine permettant l'étude du rôle de la microglie

1.1 Contexte, objectifs et synthèse

La Tauopathie, une caractéristique majeure de la MA, est due à l'hyperphosphorylation et l'agrégation intraneuronale de la protéine Tau. Au cours de la MA, ce phénomène suit une progression spatiotemporelle précise (Braak and Braak, 1991), définie par les stades de Braak, qui corrélient avec la sévérité des symptômes (Blennow et al., 2006). Cette diffusion de la tauopathie entre régions synaptiquement connectées suggère une propagation de type «prion» de la protéine Tau pathologique. De nombreuses hypothèses de libération et de recapture de la protéine Tau par les neurones ont donc été avancées (Gibbons et al., 2019). Or la plupart ne prennent pas en compte la microglie, macrophage résident du système nerveux central, alors que la neuroinflammation joue un rôle majeur dans la MA. Il a pourtant été montré que la microglie est capable de phagocyter la protéine Tau pathologique présente dans le milieu extracellulaire (Asai et al., 2015; Bolós et al., 2016). Elle peut également la sécréter dans des exosomes qui peuvent ensuite être internalisés par les neurones avoisinants (Hopp et al., 2018). La microglie pourrait ainsi participer activement au processus de propagation de la pathologie (Asai et al., 2015; Hopp et al., 2018). Il a de plus été montré que la greffe de microglie provenant de cerveau de souris modèle de tauopathie était suffisante pour induire une pathologie Tau chez des souris saines (Maphis et al., 2015). Ces données mettent en évidence un lien entre la microglie, l'activation microgliale, et la tauopathie, mais n'expliquent pas la nature des relations entre ces différents mécanismes..

Ainsi dans l'objectif de mieux comprendre le rôle joué par les cellules microgliales dans la progression de la pathologie Tau, nous avons pour but au début de ce projet de mettre en place un nouveau modèle de propagation de la protéine Tau. Notre équipe a développé des vecteurs viraux permettant l'expression spécifique de la protéine Tau humaine au site d'injection (d'Orange et al., 2018). Afin de nous affranchir de la complexité des circuits neuronaux présents dans l'hippocampe nous avons choisi une voie neuronale simple, le système visuel. Dans cette étude, les cellules ganglionnaires de la rétine (RGCs, figure 22) sont ciblées par transfert de gène. Ces cellules projettent vers des zones spécifiques dans le cerveau via le nerf optique (NO). L'expression de la protéine Tau humaine spécifiquement dans ces cellules a été rendue possible grâce à la combinaison d'une capsid (Capside 2 mutée) et d'un promoteur spécifique (SNCG) (figure 23).

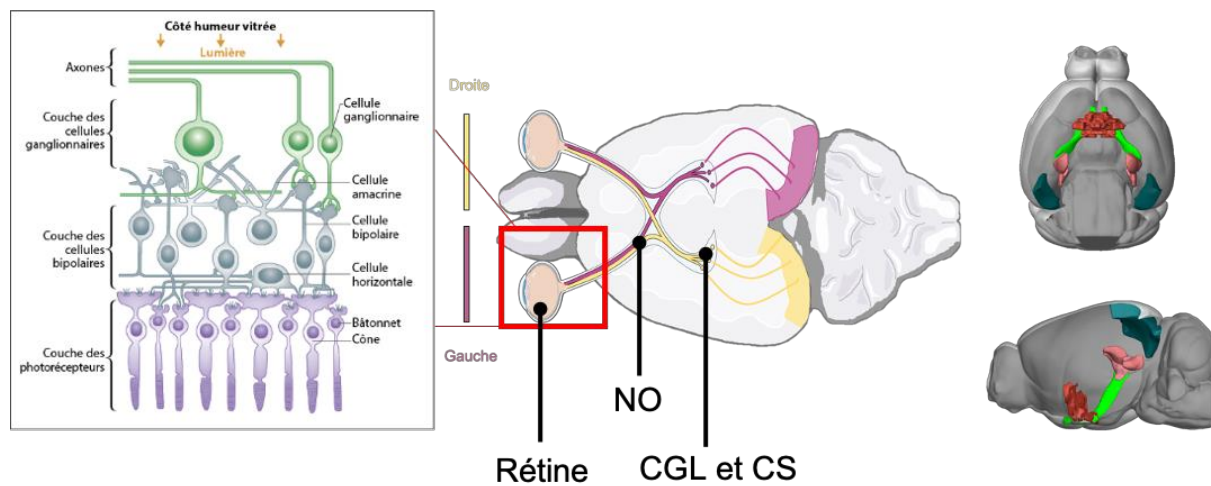


Figure 22 : Schéma de projection des cellules ganglionnaires de la rétine

Les cellules ganglionnaires de la rétine sont présentes dans la couche ganglionnaire (gauche). Leurs axones formant le nerf optique (en vert dans le schéma en 2D) projettent dans des régions cérébrales spécifiques que sont les corps genouillés latéraux et les colliculi supérieurs (en rose dans le schéma en 3D). NO : Nerf optique, CGL : corps genouillé latéral, CS : colliculus supérieur. D'après Anabac et Brain Explorer 2 (Allen Atlas)

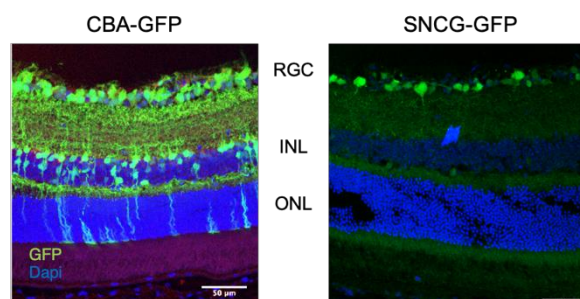


Figure 23 : Expression spécifique des transgènes

Le promoteur SNCG permet une expression du transgène GFP restreinte aux cellules ganglionnaires de la rétine. Barre d'échelle : 50µm.

Dans cette étude, nous avons mis en évidence que l'injection intravitreuse de l'AAV-Tau permet d'induire une tauopathie focale dans les RGCs. Cette tauopathie est caractérisée par la présence de la protéine Tau humaine hyperphosphorylée sur la sérine 422 (épitope pSer422) dans le soma des RGCs mais également dans leurs axones (nerfs optiques et colliculi supérieurs). La surexpression de la protéine Tau dans la rétine est également associée à une toxicité entraînant la mort des RGCs ainsi que d'une réactivité microgliale et astrocytaire présente dans la rétine mais également le nerf optique. Cependant nous n'avons pas pu mettre en évidence de propagation de la protéine Tau entre les RGCs et leurs neurones cibles situés dans les colliculi supérieurs (interneurones ou encore axones des neurones projetant vers le cortex visuel primaire).

Nous avons ensuite appliqué notre modèle à des souris déficientes en TREM2 présentant un blocage de l'activation microgliale en condition de neurodégénérescence (Deczkowska et al., 2018; Keren-Shaul et al., 2017). Nous avons pu confirmer ce défaut d'activation microgliale suite à l'injection de l'AAV-Tau. Dans notre modèle nous avons également mis en évidence que ce défaut d'activation microgliale était associée à une diminution de la neurodégénérescence des RGCs.

Enfin, le vieillissement impacte également les cellules microgliales, entraînant notamment un état de primo-activation (Niraula et al., 2017; Perry and Holmes, 2014) et un défaut de phagocytose (Pluinage et al., 2019). Ainsi, nous avons appliqué notre modèle à des souris âgées de 15mois et nous avons pu mettre en évidence une aggravation de la pathologie Tau chez ces souris âgées associée à un défaut d'activation astrocytaire.

1.2 Article

Title

Development of an AAV-based model of tauopathy targeting retinal ganglion cells and the mouse visual pathway to study the role of microglia in Tau pathology

Running title

New Tauopathy model in the visual pathway

Authors

Charlotte Duwat^{1,2*}, Pauline Léal, Gwennaëlle Auregan, Charlène Joséphine, Marie-Claude Gaillard, Anne-Sophie Hérard, Caroline Jan, Pauline Gipchtein, Julien Mitja, Stéphane Fouquet, Marie-Laure

Niepon, Philippe Hantraye, Emmanuel Brouillet, Gilles Bonvento, Karine Cambon, Alexis-Pierre Bemelmans^{1,2}

Affiliations

¹CEA, DRF, Institute of Biology François Jacob, Molecular Imaging Research Center (MIRCent), 92265, Fontenay-aux-Roses, France.

²CNRS, CEA, Paris-Sud Univ., Paris-Saclay Univ., Neurodegenerative Diseases Laboratory (UMR9199), 92265, Fontenay-aux-Roses, France.

Corresponding author: Alexis-Pierre Bemelmans, MIRCent / CEA, 18 route du Panorama, F-92265 Fontenay-aux-Roses, France. Email: alexis.bemelmans@cea.fr

Abstract

Tauopathy is a typical feature of Alzheimer's disease that is of major importance because it is strongly correlated with the severity of cognitive deficits experienced by patients. During the pathology, it follows a characteristic spatiotemporal course which has its origin in the transentorhinal cortex, and then gradually invades the entire forebrain. To study the mechanisms of tauopathy, and test new therapeutic strategies, it is necessary to have relevant and versatile in vivo models allowing to recapitulate tauopathy. With this in mind, we have developed a model of tauopathy by overexpression of the Tau protein in the ganglion cells of the mouse retina (RGCs). This overexpression led to the presence of hyperphosphorylated forms of the protein in the cells as well as their progressive degeneration. The application of this model to mice deficient in TREM2 as well as to old mice showed that microglia actively participate in the degeneration of RGCs. Although we were able to detect the transgenic Tau protein even in the terminal arborization of RGCs at the level of the superior colliculi, we could not detect passage in the efferent neurons, which suggests that there are mechanisms allowing this passage that are not present in RGCs.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) presents two types of histological lesions, amyloid plaques composed of extracellular deposits of β -amyloid peptide resulting from cleavage of the APP protein by endopeptidases of the amyloidogenic pathway, and neurofibrillary tangles (NFTs) which result from intraneuronal aggregation of hyperphosphorylated Tau protein [1]. These two lesions typical of AD are always accompanied by a neuroinflammatory component which is characterized by astrocytic activation and microgliosis [2]. All these lesions do not appear concomitantly and the hypothesis which currently prevails to explain the etiology of the disease implies an initial appearance of amyloid plaques which subsequently induce neuroinflammation and promote the appearance of neurofibrillary degenerations, without the mechanism(s) linking these two phenomena being clearly established. For this reason, one of the most explored therapeutic avenues currently aims to reduce plaques in the patients' brain, in particular using monoclonal antibodies specific for aggregated A β peptide. This strategy has yielded very encouraging results in animal models of the disease. However, despite some encouraging recent advances, the conclusions of the numerous clinical trials conducted in the field remain globally disappointing. On the other hand, it is now shown that the cognitive symptoms of the disease are strongly correlated with tauopathy, but also that there are people with a significant cerebral amyloid load in the absence of any cognitive symptoms [3; 4; 5; 6]. Countering the formation of NFTs therefore also appears to be a major therapeutic strategy for AD. Braak *et al.* demonstrated that in AD tauopathy follows a typical spatiotemporal course which results in the onset of the pathology in the trans-entorhinal cortex in the early stages, before spreading first to the limbic regions, and then to invade the entire neocortex in the terminal stages of the disease [7; 8]. These histological studies carried out post-mortem were more recently confirmed by *in vivo* imaging thanks to the emergence of PET radioligands specific for aggregated forms of Tau. All these data have made it possible to establish the correlation between the severity of the symptoms and the extent of the tauopathy [9], and also to reveal the Prion-like character of this type of lesion which involves a spread of the toxic Tau species between interconnected neurons - or cerebral regions [10]. Thus, stopping, or even only slowing down, the spread of tauopathy in the brains of patients should make it possible to very significantly reduce the progression of cognitive deficits.

To test this type of therapeutic strategy, but also to study the cellular and molecular players involved in the inter-neuronal propagation of pathological forms of the Tau protein, it is necessary to set-up relevant *in vivo* models. There are many mice transgenic lines that model tauopathy (reviewed in [11]), but their use to study propagation phenomena faces various obstacles. In particular, the fact that the expression of the transgene is diffuse does not make it possible to easily distinguish the initial event leading to intrinsic neuronal tauopathy from a secondary event due to the propagation of Tau seeds in an anatomically connected area of the brain. For this reason, several groups, including ours, have

developed models of focal tauopathy obtained by targeted gene transfer in the central nervous system [12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19]. Most of these models rely on the use of recombinant adeno-associated virus (rAAV), a very versatile vector for gene transfer in the central nervous system [20]. This type of model has enabled us in particular to demonstrate that soluble oligomeric forms of Tau are more toxic to pyramidal neurons of the CA1 layer of the hippocampus than the highly aggregated forms [12]. More recently, using vectors capable of specifically targeting neurons or astrocytes, we have shown that astrocytes are capable of internalizing pathological forms of Tau and that certain subpopulations of these cells are very sensitive to tauopathy which could actively contribute to the severity of cognitive symptoms (Maté de Gérando et al., *in press*). These models of focal tauopathy obtained by rAAV injection seem at first glance ideal for studying propagation, but nevertheless have a major drawback: the very efficient diffusion of viral particles in the cerebral parenchyma [21; 22; 23]. Because of this, it is often difficult to accurately determine whether a neuron is affected in an area of the brain connected to the injected region as a result of the spread of tauopathy or of the diffusion of viral particles during the injection. To overcome this drawback, we have chosen to transduce neural networks whose connections are well characterized and for which the anatomical organization prevents the possibility of transduction of the efferent regions from the target neurons. For this, the retinal ganglion cells (RGCs) appear as an ideal model. Their cerebral projections are well characterized [24], and rAAV make it possible to transduce them with great efficiency in mice [25; 26]. In addition, it is now established that the retina is one of the areas of the central nervous system that is affected in AD [27], and in particular that RGCs naturally express the different isoforms of the Tau protein [28] and can be affected by tauopathy [29; 30; 31; 32].

In the present study, we report the development of a model of overexpression of the 1N4R isoform of wild-type human Tau protein in mouse RGCs. For this, we have used an rAAV construct making it possible to specifically target these cells without transducing the afferent and efferent neurons thanks to a specific promoter / serotype combination [33]. Our results show that this overexpression causes progressive degeneration of RGCs which is accompanied by microglial activation characterized by an increase in the specific marker Iba-1. The transgenic Tau protein is found all along the axons of RGCs to the primary visual brain areas such as the superior colliculi. However, in these areas, we could not demonstrate the passage of the Tau protein in the efferent neurons of RGCs, which suggests that all neuronal circuits do not have all the characteristics required to cause the propagation of pathological Tau species from the afferent neuron to the efferent neuron. To determine the influence of microglial activation on the progression of tauopathy, we applied our model to TREM2-deficient as well as aged mice. These experiments showed that microglial activation is deleterious for tauopathic neurons and that the sensitivity of RGCs to tauopathy increases with age.

Material and Methods

Animals

Animal procedures were performed in accordance with the French regulation (EU directive 86/609 – French Act Rural Code R214-87 to 131). The animal facility was approved by veterinarian inspections (authorization n°B92-032-02) and complied with Standards for Humane Care and Use of Laboratory Animals of the Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW – n°A5826-01). All procedures received approval from the local ethical committee (Comité d’Ethique en Expérimentation Animale CEA) and the French Ministry of Research (APAFIS#612-2015050514376362 v3). Adult male C57Bl/6J mice (3 months old, JANVIER laboratories) were used to for AAV transduction. Female *Trem2^{+/+}*, *Trem2^{+/-}* and *Trem2^{-/-}* mice (Turnbull et al., 2006) were used to assessed the role of TREM2 in tauopathy. Aged female C57Bl/6J mice (15 months old) were used to study the impact of age in tauopathy.

Viral vectors

To drive specific transgene expression in RGCs, we place the different transgene in a rAAV shuttle plasmid under the transcriptional control of the SNCG promoter[33], and we generated rAAV particles with AAV2 capsids bearing a tyrosine to phenylalanine in position 444 (AAV2-Y444F) [25; 34]. Recombinant viral particle were the generated by transient co-transfection of HEK 293T cells with a three plasmid system as previously described [35]. Briefly, 3 days following transfection, viral particles were extracted from cell supernatant and cell lysate, concentrated by PEG precipitation, purified by ultracentrifugation on an Iodixaniol step-gradient, and desalted by tangential ultrafiltration. The resulting rAAV vector batches were stored at 4°C until further use. rAAV concentration was estimated by QPCR using a plasmid of known concentration for the standard curve [36], and expressed as genome content by ml (GC / ml).

Intravitreal injections of rAAV vectors

For intravitreal delivery of rAAV, mice were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine (90mg/kg, Imalgène 1000, Merial, Lyon, France) and xylazine (5mg/kg, Rompun® 2%, Bayer SAS, La-Garenne-Colombes, France). Pupil dilation was achieved by topical administration of a mixture of neosynephrine and mydriaticum on the cornea, followed by local analgesia with oxybuprocaine. rAAV vectors were administered in the vitreous chamber through a small incision made in the sclera at the limit of the limbus using a 10µL Hamilton syringe adapted with a 33 gauge microneedle (total volume: 1,2µL delivered at 120 nl.sec⁻¹). The needle was then left in place for 10sec and slowly removed to

avoid reflux of the viral solution. Ophthalmic ointment was then applied to the cornea and the animals were monitored until complete recovery from the anesthesia.

Immunohistology

One, three or six months after injection, mice were deeply anaesthetized with a lethal dose of pentobarbital. Tissues were fixed by intra-cardiac perfusion with 15mL of 0.9% NaCl followed by 100mL of PBS containing 4% paraformaldehyde.

After enucleation, eyes and optic nerves were then post-fixated for one hour in the same fixative. The posterior chamber was then separated from the rest of the eye, and the tissues were incubated overnight in PBS containing 30% sucrose before being embedded in a gelatin (7%) sucrose (30%) medium, frozen in -40°C isopentane, and sectioned with a cryostat in 14µm (retina) or 10µm (optic nerve) thick sections that were collected onto superfrost® plus slides (Thermo Fisher Scientific, Les Ulis, France) and conserved at -20°C until use.

Brains were extracted following perfusion and post-fixed for 24 hours in PBS containing 4% paraformaldehyde before being transferred in PBS containing 30% sucrose for cryoprotection and stored at 4°C until sectioning. Brains were cut coronally into 10 series of 30-µm thick sections on a freezing sliding microtome (SM1020R; Leica™) and stored in cryoprotectant solution at -20°C until use.

For immunostaining of retinae or in optic nerves, slides were maintained at room temperature during 5min before being rehydrated in PBS. After rehydration, slides were incubated 1h with a blocking solution containing 10% normal goat serum in PBS with 0,2% of Triton X-100 and then incubated with solution containing primary antibody overnight at +4°C. After rinsing, slides were incubated with the appropriated secondary antibody diluted to 1/1000e into PBS containing 1% NGS for 1h at room temperature. Slides were then mounted with Mowiol.

For free-floating immunofluorescence, brain sections were incubated directly in blocking solution before transfer into primary antibody solutions for incubation overnight at + 4°C. After rinsing with 0.01 M PBS, sections were incubated for 1 hour at RT into blocking solution containing 1/1000 Alexa-coupled secondary antibodies (Thermo Fisher). Sections were then mounted on slides with Mowiol. Dilutions and providers of all the primary antibodies are indicated in Supplementary table 1.

Image analysis

Images of immunostaining of retina and optic nerve sections were acquired at 20X using an epifluorescent microscope (DM600, Leica, Germany). Images of superior colliculi were acquired at 20X using a slide scanner (Nanozoomer 2.0HT associated to the NDPView nanozoomer software, Hamamatsu Photonics, Japan). NDPI files were open with Image J plugin Bioformat.

For survival analysis of RGCs, Brn3a positives nuclei were manually counted with Cell counter plugin (ImageJ) and the length of the RGCs layer displayed on the transversal section was estimated to deduce the RGCs cell density expressed in cell number. μm^{-1} . Colliculi were manually segmented using ImageJ and then a thresholding was applied on each fluorescent channel before analysis of V5 and ESRRB signaling.

For Iba1, GFAP, V5, AT8, HT7 and pSer422, three transversal section of retina and four transversal section of optic nerve were acquired. In retina, 4 area of ganglion cell layer was defined along length of the retina and thresholding was applied for each immunostaining. In optic nerve, 4 sections were acquired and then a thresholding was also applied for each immunostaining. Integrated density of each labelling was then used to performed analysis.

Statistical analysis

Results are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Statistical analysis was carried out using GraphPad Prism version 9.1 (GraphPad[®] software, San Diego, CA, USA). Data were assessed for normality and homogeneity of variance by Bartlett's test prior to analysis. According to results of these test, comparison between more than 2 groups wer performed by one-way ANOVA or Kruskal-Wallis followed by Sidak's post-hoc test to compare Injected groups vs non injected groups or Dunn post-hoc test for multiple comparisons between groups. For comparison between two groups, Mann-Whitney test were used.

Results

Generation of a new model of focal tauopathy targeting retinal ganglion cells

We used rAAV mediated gene transfer to overexpress Tau in the mouse retina. To restrict expression to RGCs we combined AAV2-Y444F capsids with the SNCG promoter. To generate the AAV-Tau, we used a Tau transgene derived from the 1N4R human cDNA in which a V5 tag was inserted between exons 3 and 4 [13; 37]. In the AAV-GFP control vector, the Tau-V5 cDNA was replaced by EGFP. These rAAV vectors were injected bilaterally in the vitreous of 3-month-old C57Bl6J male mice (figure 1A). One month after injection, GFP and V5 immunofluorescence labelling demonstrated high levels of transgene expression specifically in RGCs (figure 1B). To quantify Tau expression in RGCs, we performed immunofluorescence labeling using the human specific anti-total Tau antibody HT7 and measured the fluorescence intensity across the whole ganglion cell layer (GCL) of a transversal section of the retina (figure 1C). The HT7 burden was the same for the two time-points (Mann Whitney test, $P = 0.3095$). Quantification of Tau expression based on V5 immunofluorescence gave the same results (figure Supp1A). The ability of our construct to induce Tau hyperphosphorylation was then assessed

by pSer422 antibody (figure 1D). We observed a significant accumulation of hyperphosphorylated Tau at three months post-injection compared to the one-month post-injection time-point, characterized by an increased pSer422 quantity (Mann-Whitney test, $P < 0.01$). This suggests that pathological phosphorylation of Tau can occur in RGCs.

We next assessed the toxicity of hTau overexpression in RGCs, using Brn3a labelling as a surrogate marker of RGCs survival (figure 1E and F). Brn3a is a transcription factor specifically expressed in RGCs nuclei and whose expression indeed declines when RGCs enters in apoptosis [38]. Counting Brn3a positive cells in the AAV-GFP control group showed that rAAV injection in itself or EGFP expression induced a slight toxicity (Figure 1E, Kruskal-Wallis test, $P < 0.01$ Dunn's test vs non-injected retinae). However, in the AAV-Tau injected group, no toxicity was observed at 1 month post-injection (Kruskal-Wallis test, $P > 0.9999$ Dunn's test vs non-injected), but this was followed by an important degeneration of RGCs at the three-months time-point, characterized by a 20% decrease of Brn3a positive cells (Kruskal-Wallis test, $P < 0.001$ Dunn's test vs non-injected). This strongly suggests that RGCs are sensitive to tauopathy.

To assess whether RGCs degeneration was associated with neuroinflammation, we analyzed astrocytes and microglia reactivity in the retina. We first quantified GFAP immunofluorescence labeling in the GCL (Figure 1G), which indicated a strong and equivalent astrocytic reactivity at one-month post-injection in the AAV-GFP (Kruskal-Wallis test, $P < 0.01$ Dunn's test vs non-injected) and AAV-Tau (Kruskal-Wallis test, $P < 0.001$ Dunn's test vs non-injected) groups. At three months post-injection, GFAP reactivity was resolved in all groups, suggesting that this transient astrocyte reactivity was mainly due to the injection procedure. To assess microglial response, we used Iba1 immunolabelling in the GCL as an indicator of activation state (Figure 1H). There was an activation of microglia only in GFP group at 1-month post-injection (Kruskal-Wallis test, $P < 0.01$ Dunn's test vs non-injected) which was still present, but significantly attenuated, at three-months post injection. The situation was more complex in the AAV-Tau group for which a significant microgliosis was observed only after one-month post-injection. However, this effect could partly be due to outliers resulting from traumatic injection.

Altogether, our results indicated that AAV-Tau injection in the vitreous of adult C57Bl6J mice resulted in overexpression hyperphosphorylated Tau in RGCs which led to a progressive degeneration of these cells.

Tauopathy follows RGCs axonal tracts up to the superior colliculi

RGCs' axons form the optic nerve and these cells project directly into the brain. The superior colliculus is the main relay for these cells in the brain. Therefore, we assessed the diffusion pattern of EGFP and Tau-V5 further in visual pathway.

First, we analyzed expression of Tau-V5 and EGFP in the optic nerve (Figures 2A and Supp1C). Following the same methodology than for the GCL, we assessed total Tau expression using HT7 immunofluorescence labelling. The Tau burden in optic nerve increased with time (Figure 2B, Mann-Whitney, $P < 0.05$). However, this increase in total Tau was not correlated with an increase in hyperphosphorylated Tau, evidenced by the pSer422 marker (Figure 2C, Mann-Whitney, $P = 0.1320$). We next assessed astrocytes and microglia reactivity. GFAP immunofluorescent signal quantification revealed a global astrocytic activation at both time-points (Figure 2D). There was no significant difference between groups, but we observed a decrease in astrocytes reactivity at three-months post-injection compared to one-month. Concerning microgliosis, quantification of Iba1 labelling showed a global microglia activation at one-month post-injection, which tended to resolve at the three-months time-point only in the AAV-Tau injected group (Figure 3E).

Finally, we characterized the tauopathy in the superior colliculi, one of the main projection areas of RGCs in the brain. Representative immunofluorescence labeling of V5 and EGFP in this nucleus are shown in Figure 3A. Quantification of the fluorescence signal showed that Tau-V5 significantly accumulated between the one-month and the three-months time-points (Figure 3C, Mann-Whitney, $P < 0.05$). Although not significant, the same tendency was observed in the AAV-GFP group (Figure 3B). As shown in high magnification views of Figure 3A, transgene expression displayed the typical appearance of fiber staining in both groups. Moreover, despite a precise screening of the sections across the whole superior colliculi, we were not able to detect any cell soma positively stained for V5 nor HT7, strongly suggesting that in our system the Tau was not able to propagate from RGCs to their target neurons of the superior colliculi. To determine whether transduction of RGCs by AAV-Tau could lead to a toxic effect in the superior colliculi we used immunolabelling of Estrogen-Related Receptor- β (ESRR β), a valuable tool for labelling the full retinofugal projections [39]. A typical staining of ESRR β is shown on Figure 3D. In the AAV-GFP control group ESRR β signal remained constant between one- and three-months post-injection. However, at one-month post-injection, ESRR β was significantly higher in the AAV-Tau group suggesting that an acute toxicity occurred in the AAV-GFP group following vector delivery (Figure 3E). Interestingly, we detected a 40% decrease of ESRR β quantity between one- and three-months post-injection in the AAV-Tau group (Figure 3E, One-way ANOVA, $P < 0.05$ Sidak's test), mirroring the neurotoxic pattern observed in the retina using Brn3a.

Taken together, these results demonstrate that injection of AAV-Tau in the retina induced a focal tauopathy which diffuses all along the axonal tract to join a distal region in the brain. As we were not able to detect any Tau propagation in RGCs efference, this also suggests that not all the neuronal circuits are subjected to this phenomenon.

Reduction of microglial activation by TREM2 deletion protects RGC from hTau toxicity

To challenge the role of microglia in tauopathy progression and assess whether it could have a role in propagation of Tau in our model we applied our experimental paradigm into *Trem2*^{-/-} mice [40]. These mice present a default in the activation of microglia which remain in an homeostatic state in neurodegenerative conditions [41; 42]. We thus assessed the effect of TREM2 deletion on RGCs neurodegeneration induced by AAV-Tau intravitreal injection in *Trem2* knockout, heterozygous and wild-type littermate mice at one-, three- and six-months post injection (Figure 4A-C). Counting of Brn3a positive cells revealed a toxicity due to Tau-V5 overexpression in all groups at one-month post injection (Figure 4A). However, at three- and six-months post-injection, RGCs survival in *Trem2*^{-/-} mice was not significantly different from non-injected animals (one-way ANOVA, $P = 0.6372$ Dunnett's comparison test vs non-injected), whereas RGCs survival in *Trem2* knockout and heterozygous mice remained significantly different from non-injected animals at three- and six-months (Figure B and C). Moreover, at three-months, only *Trem2* knockout were significantly different from wild-type, whereas at six-months both *Trem2* knockout and heterozygous were significantly different from wild-type. This shows that microglial activation through its TREM2 receptor is involved in the Tau-induced death of RGCs, and strongly suggests that *Trem2* gene dose has an effect. Surprisingly these differences at 3- and 6-months post injection between groups in term of toxicity of Tau protein was not present in the superior colliculi (Fig S2A and B, Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparison).

Next, we analyzed Iba1 immunofluorescent signal to check whether better RGCs survival in TREM2-deficient animals was associated to a decrease in microglia inflammation (Figure 4D-F). As expected, microglia activation was markedly reduced at one-month post-injection in *Trem2*^{-/-} and *Trem2*^{+/-} mice (Figure 4D, no difference with non-injected animals Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparison). Analysis at three months post injection showed a diminution of microglia activation in *Trem2*^{-/-} animals (Figure 4E). Six months after the AAV exposure, there was a resolution of inflammation in retina of all groups (figure 4F).

Recent evidences suggest that activated microglia can regulate astrocytic reactivity [43]. Hence, we tested the hypothesis that reduced microglial activation in TREM2 deficient mice could impact astrogliosis. We quantified the expression level of GFAP on GCL (Figure S2C-E). AAV-Tau injection induced a strong astrogliosis in all groups at one-month post-injection (Figure Supp2C) with no effect of TREM2 deficiency. Nonetheless, at three-months post-injection astrogliosis resolved in *Trem2*^{-/-} and *Trem2*^{+/-} animals but not in wild-type (Figure Supp2D, Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparison, $P = 0.0660$). This suggest that, following the acute phase of injection-induced neuroinflammation, there is a temporal window during which astrogliosis could be driven by microglia subsequently to its activation by neuronal tauopathy through its TREM2 receptor. Finally, similarly to

what we observed for microgliosis, there astrogliosis was abolished at six-months post-injection (Figure Supp2E).

These results suggest that TREM2 deficiency delays microglia activation in our model of AAV-Tau-induced RGCs tauopathy and that this reduction of microgliosis diminishes astrogliosis and protects RGCs from hTau toxicity.

Aging exacerbates Tau pathology in our model.

Aging having a significant impact on microglia activation state [44], we explored the effect of age in our model. To do this, we performed intravitreal injection of AAV-Tau in 15 month-old wild-type mice and analyzed RGCs survival and neuroinflammation one-month post-injection. First, we compared tauopathy induced by AAV-Tau into young and old mice by analyzing total human Tau protein with HT7 labelling (Figure 5A) and hyperphosphorylated Tau with pSer422 epitope (Figure 5B). We did not detect any difference in HT7 or pSer422 burden between young and aged animals (Mann-Whitney test, $P = 0.1823$ for HT7 and $P = 0.9682$ for pSer422). These analyses were consistent with quantification of V5 signal (figure S3A). Then, we quantified RGCs neurodegeneration induced by Tau-V5 expression in the retina (Figure 5C) and in the superior colliculi (Figure 5D). Comparison of RGCs density revealed that neurotoxicity was significantly exacerbated in aged animals (Figure 5C, Mann-Whitney test $P < 0.001$) with 40% more RGCs loss compared to non-injected animals (Figure Supp3B). We found the same difference in the superior colliculi based on quantification of ESRR β immunofluorescence (Figure 5D).

Finally, we compared the neuroinflammatory state of young and old animals with GFAP and Iba1 labelling of the GCL. Surprisingly, quantification of GFAP burden revealed that aged animals did not show any astrocytic reactivity (Figures 5E and S3C). In the same way, we did not detect microglia activation with Iba1 quantification (Figures 5F and S3D).

These results show that aging aggravates toxicity of Tau-V5 protein in our model. In addition, it suggests that astrocytic activation in young mice would be protective against tau pathology. However, gene expression are highly modified in aging astrocytes and microglial cells [45] and the use of specific alternatives to GFP and Iba1 would be necessary to precisely characterize their activation status.

Discussion

During Alzheimer's disease tauopathy follows a precise spatio-temporal progression, defined by the Braak stages [7]. Today, understanding the underlying mechanisms of the spreading of pathological Tau through the patients' brain could permit to find new therapies avenue. Here, we developed a new model of tauopathy by AAV-mediated overexpression of Tau in RGCs of the mouse

retina. With this model, we showed that TREM2 signaling in retinal microglia is involved in Tau-induced death of RGCs and that this neurotoxicity is exacerbated in old animals. However, we were not able to evidence any spreading of Tau in RGCs efferent neurons, suggesting that cellular and molecular mechanisms at play in this phenomenon are not ubiquitously present in all neurons.

Many studies focused on the mechanisms of Tau spreading in different models (for review see [46]). These models took place in regions presenting complex anterograde and retrograde connections and so presented some limitations and potential bias in interpretation of the trans-synaptic spreading of Tau. To avoid these difficulties and prevent ambiguities about passive transfer of toxic protein following injections of brain homogenates or recombinant fibrils, we chose to develop an *in vivo* model based on AAV gene transfer and targeting the visual pathway. This pathway presents a unique route of connections from the RGCs to the superior colliculi via their axons which form the optic nerve. Overexpression of wild-type Tau protein led to Tau hyperphosphorylation and neurodegeneration of RGCs. However, even if Tau protein was found all along RGCs axons up to their terminal arborization in the superior colliculi, we did not detect Tau spreading to their target neurons.

Previous results obtained by our team showed that AAV-mediated Tau expression in the rat brain led to the induction of an early stage of tauopathy in the CA1 layer of the hippocampus [12; 47]. We took advantage of the versatility of AAV gene transfer to apply it to the visual system. Our results showed that injection of AAVs encoding human Tau protein in vitreous chamber, led to an expression of Tau protein in retinal ganglion cells (figures 1A-C). This expression of AAV vectors is followed by a strong gliosis in retina (figures 1G-H) and in optic nerve (figures 2D-E) restored three months after injection. Tau overexpression in the retina led to an accumulation of hyperphosphorylated form of the protein in retina (figure 1C) causing a neurodegeneration of retinal ganglion cells (figure 1E). Tauopathy provoked by AAV injection was not restrained in ganglion cells layer but propagates through retinal projection to superior colliculi (figures 3 A-C) which received 85 to 90% of RGCs axons [48]. Like in retina Tau protein accumulates in superior colliculi and causes a RGC's terminal degeneration (figure 3D-E). Surprisingly, we did not detect any trans-synaptic spread of tau protein in RGCs targeted regions. Further investigations are needed to understand this absence of propagation.

A selective vulnerability of some neurons to tau pathology was described at network level in Alzheimer's disease [7; 49; 50]. This selective vulnerability could be due to intrinsic neuronal properties [51; 52] or to the neuronal microenvironment. In this regard, extracellular matrix (ECM) component including heparan sulfate proteoglycans (HSPGs), hyaluronic acid and chondroitin sulfate proteoglycans, have been shown to be critical mediator in Tau binding and uptake [53; 54; 55; 56]. Intriguingly, neurons association with aggregates of ECM around neurons, also called perineuronal nets (PNN), seems to be protected against Tau pathology [57; 58; 59]. It is possible that these ECM compounds are able to trap Tau protein in the mouse superior colliculi and prevent its neuron-to-

neuron propagation. PNN typically assemble around parvalbumin positive neurons [60] and a recent study showed that a large percentage of neurons in superior colliculi are parvalbumin positive [61]. It is therefore plausible that accumulation of PNN around neurons in the superior colliculi could block Tau spreading. Further investigations will be needed to describe PNN in this region and assess the role of the ECM in Tau spreading from RGCs to their neuronal target.

Although our initial goal of establishing Tau spreading in the visual pathway was not reached, we could use our model to challenge the role of TREM2 receptor in this pathological context. To that aim we used *Trem2*^{-/-} mice in which microglia are blocked in a homeostatic state. As previously described in other pathological context, in our model TREM2 deficiency led to a decrease in microglial activity (figure 4). This was associated with a neuroprotection of RGCs from Tau-induced degeneration. This result is in accordance with studies taking place in PS19 mice showing a decrease of neuronal loss when TREM2 is deleted. This protective effect can be linked to a decrease in phagocytic activity [62]. The effect of TREM2 deficiency on Tauopathy has indeed already been assessed in several transgenic models and led to contradictory results reporting deleterious or on the contrary protective effect [62; 63; 64]. Our own experiment on THY-Tau22 mice showed that TREM2 deficiency led to higher tangles accumulation in the CA1 layer of the hippocampus only at late stage of the disease (Vautheny et al., in preparation). The results shown here reinforce the hypothesis that tauopathy drives a neuroinflammatory status of microglia which is deleterious for neuronal cells.

Microglial phagocytic activity could also be disrupted by aging [44]. Thus, we challenged the effect of aging in our model. Surprisingly our results show that aging increase Tau pathology characterized by an increase hyperphosphorylated Tau burden in RGCs, which was associated with an important degeneration of these cells (figure 5). These results are in accordance with data reported recently in a comparable experimental paradigm, in which aged mice received an intrahippocampal injection of AAV-Tau [17]. We hypothesized that even if aged microglia are less capable to phagocytose tauopathic neurons, they can release high quantity of proinflammatory cytokines inducing neurodegeneration of neurons bearing tau pathology. Notably this “primed” phenotype is described and characterized by an exaggerated and uncontrolled inflammatory response to an inflammatory stimulus [65; 66].

To conclude, we described here a new model of focal tauopathy obtained by targeted gene transfer in RGCs. This model proved to be valuable to study the role of microglia Tauopathy. Further work will be needed to explore the mechanism preventing Tau spreading from RGCs to their neuronal targets.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Fondation Vaincre Alzheimer (grant LECMA-Vaincre Alzheimer #FR-15055), and by ‘NeurATRIS ANR-11-INBS-0011’, of the French Investissements d’Avenir

Program run by the Agence Nationale pour la Recherche. CD is the recipient of a doctoral fellowship from the “IDI 2017” project funded by the IDEX Paris-Saclay, ANR-11-IDEX-0003-02 and PL received a doctoral fellowship from Université Paris-Saclay (Doctorate school 568 BIOSIGNE).

References

- [1] M.A. DeTure, and D.W. Dickson, The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 14 (2019) 32.
- [2] F.L. Heppner, R.M. Ransohoff, and B. Becher, Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci* 16 (2015) 358-72.
- [3] H.J. Aizenstein, R.D. Nebes, J.A. Saxton, J.C. Price, C.A. Mathis, N.D. Tsopoulos, S.K. Ziolkowski, J.A. James, B.E. Snitz, P.R. Houck, W. Bi, A.D. Cohen, B.J. Lopresti, S.T. DeKosky, E.M. Halligan, and W.E. Klunk, Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch Neurol* 65 (2008) 1509-17.
- [4] P. Delaere, C. Duyckaerts, C. Masters, K. Beyreuther, F. Piette, and J.J. Hauw, Large amounts of neocortical beta A4 deposits without neuritic plaques nor tangles in a psychometrically assessed, non-demented person. *Neurosci Lett* 116 (1990) 87-93.
- [5] R. Katzman, R. Terry, R. DeTeresa, T. Brown, P. Davies, P. Fuld, X. Renbing, and A. Peck, Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 23 (1988) 138-44.
- [6] V.L. Villemagne, K.E. Pike, G. Chetelat, K.A. Ellis, R.S. Mulligan, P. Bourgeat, U. Ackermann, G. Jones, C. Szoek, O. Salvado, R. Martins, G. O'Keefe, C.A. Mathis, W.E. Klunk, D. Ames, C.L. Masters, and C.C. Rowe, Longitudinal assessment of Abeta and cognition in aging and Alzheimer disease. *Ann Neurol* 69 (2011) 181-92.
- [7] H. Braak, and E. Braak, Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82 (1991) 239-59.
- [8] H. Braak, I. Alafuzoff, T. Arzberger, H. Kretschmar, and K. Del Tredici, Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol* 112 (2006) 389-404.
- [9] A. Bejanin, D.R. Schonhaut, R. La Joie, J.H. Kramer, S.L. Baker, N. Sosa, N. Ayakta, A. Cantwell, M. Janabi, M. Lauriola, J.P. O'Neil, M.L. Gorno-Tempini, Z.A. Miller, H.J. Rosen, B.L. Miller, W.J. Jagust, and G.D. Rabinovici, Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Brain* 140 (2017) 3286-3300.
- [10] S. Dujardin, and B.T. Hyman, Tau Prion-Like Propagation: State of the Art and Current Challenges. *Adv Exp Med Biol* 1184 (2019) 305-325.

- [11] S. Dujardin, M. Colin, and L. Buee, Invited review: Animal models of tauopathies and their implications for research/translation into the clinic. *Neuropathol Appl Neurobiol* 41 (2015) 59-80.
- [12] M. d'Orange, G. Auregan, D. Cheramy, M. Gaudin-Guerif, S. Lieger, M. Guillermier, L. Stimmer, C. Josephine, A.S. Herard, M.C. Gaillard, F. Petit, M.C. Kiessling, C. Schmitz, M. Colin, L. Buee, F. Panayi, E. Diguët, E. Brouillet, P. Hantraye, A.P. Bemelmans, and K. Cambon, Potentiating tangle formation reduces acute toxicity of soluble tau species in the rat. *Brain* 141 (2018) 535-549.
- [13] S. Dujardin, K. Lecolle, R. Caillierez, S. Begard, N. Zommer, C. Lachaud, S. Carrier, N. Dufour, G. Auregan, J. Winderickx, P. Hantraye, N. Deglon, M. Colin, and L. Buee, Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: relevance to sporadic tauopathies. *Acta Neuropathol Commun* 2 (2014) 14.
- [14] H. Asai, S. Ikezu, S. Tsunoda, M. Medalla, J. Luebke, T. Haydar, B. Wolozin, O. Butovsky, S. Kugler, and T. Ikezu, Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci* 18 (2015) 1584-93.
- [15] S. Dujardin, S. Begard, R. Caillierez, C. Lachaud, S. Carrier, S. Lieger, J.A. Gonzalez, V. Deramecourt, N. Deglon, C.A. Maurage, M.P. Frosch, B.T. Hyman, M. Colin, and L. Buee, Different tau species lead to heterogeneous tau pathology propagation and misfolding. *Acta Neuropathol Commun* 6 (2018) 132.
- [16] M.K. Schultz, Jr., R. Gentzel, M. Usenovic, C. Gretzula, C. Ware, S. Parmentier-Batteur, J.B. Schachter, and H.A. Zariwala, Pharmacogenetic neuronal stimulation increases human tau pathology and trans-synaptic spread of tau to distal brain regions in mice. *Neurobiol Dis* 118 (2018) 161-176.
- [17] S. Wegmann, R.E. Bennett, L. Delorme, A.B. Robbins, M. Hu, D. McKenzie, M.J. Kirk, J. Schiantarelli, N. Tunio, A.C. Amaral, Z. Fan, S. Nicholls, E. Hudry, and B.T. Hyman, Experimental evidence for the age dependence of tau protein spread in the brain. *Sci Adv* 5 (2019) eaaw6404.
- [18] R.L. Klein, R.D. Dayton, C.G. Diaczynsky, and D.B. Wang, Pronounced microgliosis and neurodegeneration in aged rats after tau gene transfer. *Neurobiol Aging* 31 (2010) 2091-102.
- [19] R.L. Klein, R.D. Dayton, J.B. Tatom, C.G. Diaczynsky, and M.F. Salvatore, Tau expression levels from various adeno-associated virus vector serotypes produce graded neurodegenerative disease states. *Eur J Neurosci* 27 (2008) 1615-25.
- [20] D.L. Haggerty, G.G. Grecco, K.C. Reeves, and B. Atwood, Adeno-Associated Viral Vectors in Neuroscience Research. *Mol Ther Methods Clin Dev* 17 (2020) 69-82.
- [21] C. Burger, O.S. Gorbatyuk, M.J. Velardo, C.S. Peden, P. Williams, S. Zolotukhin, P.J. Reier, R.J. Mandel, and N. Muzyczka, Recombinant AAV viral vectors pseudotyped with viral capsids from serotypes 1, 2, and 5 display differential efficiency and cell tropism after delivery to different regions of the central nervous system. *Mol Ther* 10 (2004) 302-17.
- [22] C.N. Cearley, L.H. Vandenberghe, M.K. Parente, E.R. Carnish, J.M. Wilson, and J.H. Wolfe, Expanded repertoire of AAV vector serotypes mediate unique patterns of transduction in mouse brain. *Mol Ther* 16 (2008) 1710-8.

- [23] R.L. Klein, R.D. Dayton, J.B. Tatom, K.M. Henderson, and P.P. Henning, AAV8, 9, Rh10, Rh43 vector gene transfer in the rat brain: effects of serotype, promoter and purification method. *Mol Ther* 16 (2008) 89-96.
- [24] E.M. Martersteck, K.E. Hirokawa, M. Evarts, A. Bernard, X. Duan, Y. Li, L. Ng, S.W. Oh, B. Ouellette, J.J. Royall, M. Stoecklin, Q. Wang, H. Zeng, J.R. Sanes, and J.A. Harris, Diverse Central Projection Patterns of Retinal Ganglion Cells. *Cell Rep* 18 (2017) 2058-2072.
- [25] H. Petrs-Silva, A. Dinculescu, Q. Li, S.H. Min, V. Chiodo, J.J. Pang, L. Zhong, S. Zolotukhin, A. Srivastava, A.S. Lewin, and W.W. Hauswirth, High-efficiency transduction of the mouse retina by tyrosine-mutant AAV serotype vectors. *Mol Ther* 17 (2009) 463-71.
- [26] K.R. Martin, H.A. Quigley, D.J. Zack, H. Levkovitch-Verbin, J. Kielczewski, D. Valenta, L. Baumrind, M.E. Pease, R.L. Klein, and W.W. Hauswirth, Gene therapy with brain-derived neurotrophic factor as a protection: retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 (2003) 4357-65.
- [27] A. Ashok, N. Singh, S. Chaudhary, V. Bellamkonda, A.E. Kritikos, A.S. Wise, N. Rana, D. McDonald, and R. Ayyagari, Retinal Degeneration and Alzheimer's Disease: An Evolving Link. *Int J Mol Sci* 21 (2020).
- [28] J. den Haan, T.H.J. Morrema, F.D. Verbraak, J.F. de Boer, P. Scheltens, A.J. Rozemuller, A.A.B. Bergen, F.H. Bouwman, and J.J. Hoozemans, Amyloid-beta and phosphorylated tau in post-mortem Alzheimer's disease retinas. *Acta Neuropathol Commun* 6 (2018) 147.
- [29] M. Chiasseu, L. Alarcon-Martinez, N. Belforte, H. Quintero, F. Dotigny, L. Destroismaisons, C. Vande Velde, F. Panayi, C. Louis, and A. Di Polo, Tau accumulation in the retina promotes early neuronal dysfunction and precedes brain pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 12 (2017) 58.
- [30] M. Chiasseu, J.L. Cueva Vargas, L. Destroismaisons, C. Vande Velde, N. Leclerc, and A. Di Polo, Tau Accumulation, Altered Phosphorylation, and Missorting Promote Neurodegeneration in Glaucoma. *J Neurosci* 36 (2016) 5785-98.
- [31] N. Mazzaro, E. Barini, M.G. Spillantini, M. Goedert, P. Medini, and L. Gasparini, Tau-Driven Neuronal and Neurotrophic Dysfunction in a Mouse Model of Early Tauopathy. *J Neurosci* 36 (2016) 2086-100.
- [32] H. Oku, T. Kida, T. Horie, K. Taki, M. Mimura, S. Kojima, and T. Ikeda, Tau Is Involved in Death of Retinal Ganglion Cells of Rats From Optic Nerve Crush. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 60 (2019) 2380-2387.
- [33] A. Chaffiol, R. Caplette, C. Jaillard, E. Brazhnikova, M. Desrosiers, E. Dubus, L. Duhamel, E. Mace, O. Marre, P. Benoit, P. Hantraye, A.P. Bemelmans, E. Bamberg, J. Duebel, J.A. Sahel, S. Picaud, and D. Dalkara, A New Promoter Allows Optogenetic Vision Restoration with Enhanced Sensitivity in Macaque Retina. *Mol Ther* 25 (2017) 2546-2560.

- [34] L. Zhong, B. Li, C.S. Mah, L. Govindasamy, M. Agbandje-McKenna, M. Cooper, R.W. Herzog, I. Zolotukhin, K.H. Warrington, Jr., K.A. Weigel-Van Aken, J.A. Hobbs, S. Zolotukhin, N. Muzyczka, and A. Srivastava, Next generation of adeno-associated virus 2 vectors: point mutations in tyrosines lead to high-efficiency transduction at lower doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105 (2008) 7827-32.
- [35] A. Berger, S. Lorain, C. Josephine, M. Desrosiers, C. Peccate, T. Voit, L. Garcia, J.A. Sahel, and A.P. Bemelmans, Repair of rhodopsin mRNA by spliceosome-mediated RNA trans-splicing: a new approach for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Ther* 23 (2015) 918-930.
- [36] C. Aurnhammer, M. Haase, N. Muether, M. Hausl, C. Rauschhuber, I. Huber, H. Nitschko, U. Busch, A. Sing, A. Ehrhardt, and A. Baiker, Universal real-time PCR for the detection and quantification of adeno-associated virus serotype 2-derived inverted terminal repeat sequences. *Hum Gene Ther Methods* 23 (2012) 18-28.
- [37] S. Dujardin, S. Begard, R. Caillierez, C. Lachaud, L. Delattre, S. Carrier, A. Loyens, M.C. Galas, L. Bousset, R. Melki, G. Auregan, P. Hantraye, E. Brouillet, L. Buee, and M. Colin, Ectosomes: a new mechanism for non-exosomal secretion of tau protein. *PLoS One* 9 (2014) e100760.
- [38] C. Galindo-Romero, M. Aviles-Trigueros, M. Jimenez-Lopez, F.J. Valiente-Soriano, M. Salinas-Navarro, F. Nadal-Nicolas, M.P. Villegas-Perez, M. Vidal-Sanz, and M. Agudo-Barriuso, Axotomy-induced retinal ganglion cell death in adult mice: quantitative and topographic time course analyses. *Exp Eye Res* 92 (2011) 377-87.
- [39] M.A. Real, R. Heredia, J.C. Davila, and S. Guirado, Efferent retinal projections visualized by immunohistochemical detection of the estrogen-related receptor beta in the postnatal and adult mouse brain. *Neurosci Lett* 438 (2008) 48-53.
- [40] I.R. Turnbull, S. Gilfillan, M. Cella, T. Aoshi, M. Miller, L. Piccio, M. Hernandez, and M. Colonna, Cutting edge: TREM-2 attenuates macrophage activation. *J Immunol* 177 (2006) 3520-4.
- [41] A. Deczkowska, H. Keren-Shaul, A. Weiner, M. Colonna, M. Schwartz, and I. Amit, Disease-Associated Microglia: A Universal Immune Sensor of Neurodegeneration. *Cell* 173 (2018) 1073-1081.
- [42] H. Keren-Shaul, A. Spinrad, A. Weiner, O. Matcovitch-Natan, R. Dvir-Szternfeld, T.K. Ulland, E. David, K. Baruch, D. Lara-Astaiso, B. Toth, S. Itzkovitz, M. Colonna, M. Schwartz, and I. Amit, A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell* 169 (2017) 1276-1290 e17.
- [43] S.A. Liddelow, K.A. Guttenplan, L.E. Clarke, F.C. Bennett, C.J. Bohlen, L. Schirmer, M.L. Bennett, A.E. Munch, W.S. Chung, T.C. Peterson, D.K. Wilton, A. Frouin, B.A. Napier, N. Panicker, M. Kumar, M.S. Buckwalter, D.H. Rowitch, V.L. Dawson, T.M. Dawson, B. Stevens, and B.A. Barres, Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541 (2017) 481-487.
- [44] J.V. Pluvinae, M.S. Haney, B.A.H. Smith, J. Sun, T. Iram, L. Bonanno, L. Li, D.P. Lee, D.W. Morgens, A.C. Yang, S.R. Shuken, D. Gate, M. Scott, P. Khatri, J. Luo, C.R. Bertozzi, M.C. Bassik, and T. Wyss-Coray, CD22 blockade restores homeostatic microglial phagocytosis in ageing brains. *Nature* 568 (2019) 187-192.

- [45] J. Pan, N. Ma, B. Yu, W. Zhang, and J. Wan, Transcriptomic profiling of microglia and astrocytes throughout aging. *J Neuroinflammation* 17 (2020) 97.
- [46] M. Colin, S. Dujardin, S. Schraen-Maschke, G. Meno-Tetang, C. Duyckaerts, J.P. Courade, and L. Buee, From the prion-like propagation hypothesis to therapeutic strategies of anti-tau immunotherapy. *Acta Neuropathol* 139 (2020) 3-25.
- [47] R. Caillierez, S. Begard, K. Lecolle, V. Deramecourt, N. Zommer, S. Dujardin, A. Loyens, N. Dufour, G. Auregan, J. Winderickx, P. Hantraye, N. Deglon, L. Buee, and M. Colin, Lentiviral delivery of the human wild-type tau protein mediates a slow and progressive neurodegenerative tau pathology in the rat brain. *Mol Ther* 21 (2013) 1358-68.
- [48] E.M. Ellis, G. Gauvain, B. Sivyer, and G.J. Murphy, Shared and distinct retinal input to the mouse superior colliculus and dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 116 (2016) 602-10.
- [49] M. Scholl, S.N. Lockhart, D.R. Schonhaut, J.P. O'Neil, M. Janabi, R. Ossenkoppele, S.L. Baker, J.W. Vogel, J. Faria, H.D. Schwimmer, G.D. Rabinovici, and W.J. Jagust, PET Imaging of Tau Deposition in the Aging Human Brain. *Neuron* 89 (2016) 971-982.
- [50] W.W. Seeley, R.K. Crawford, J. Zhou, B.L. Miller, and M.D. Greicius, Neurodegenerative diseases target large-scale human brain networks. *Neuron* 62 (2009) 42-52.
- [51] K. Leng, E. Li, R. Eser, A. Piergies, R. Sit, M. Tan, N. Neff, S.H. Li, R.D. Rodriguez, C.K. Suemoto, R.E.P. Leite, A.J. Ehrenberg, C.A. Pasqualucci, W.W. Seeley, S. Spina, H. Heinsen, L.T. Grinberg, and M. Kampmann, Molecular characterization of selectively vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 24 (2021) 276-287.
- [52] O.J. Olajide, I.T. Gbadamosi, E.O. Yawson, T. Arogundade, F.S. Lewu, K.Y. Ogunrinola, O.O. Adigun, O. Bamisi, E. Lambe, L.O. Arietahire, O.O. Oluyomi, O.K. Idowu, R. Kareem, N.T. Asogwa, and P.A. Adeniyi, Hippocampal Degeneration and Behavioral Impairment During Alzheimer-Like Pathogenesis Involves Glutamate Excitotoxicity. *J Mol Neurosci* (2021).
- [53] B.B. Holmes, S.L. DeVos, N. Kfoury, M. Li, R. Jacks, K. Yanamandra, M.O. Ouidja, F.M. Brodsky, J. Marasa, D.P. Bagchi, P.T. Kotzbauer, T.M. Miller, D. Papy-Garcia, and M.I. Diamond, Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110 (2013) E3138-47.
- [54] T. Katsinelos, M. Zeitler, E. Dimou, A. Karakatsani, H.M. Muller, E. Nachman, J.P. Steringer, C. Ruiz de Almodovar, W. Nickel, and T.R. Jahn, Unconventional Secretion Mediates the Trans-cellular Spreading of Tau. *Cell Rep* 23 (2018) 2039-2055.
- [55] M. Merezko, C.A. Brunello, X. Yan, H. Vihinen, E. Jokitalo, R.L. Uronen, and H.J. Huttunen, Secretion of Tau via an Unconventional Non-vesicular Mechanism. *Cell Rep* 25 (2018) 2027-2035 e4.
- [56] N. Puangmalai, N. Bhatt, M. Montalbano, U. Sengupta, S. Gaikwad, F. Ventura, S. McAllen, A. Ellsworth, S. Garcia, and R. Kaye, Internalization mechanisms of brain-derived tau oligomers from patients with Alzheimer's disease, progressive supranuclear palsy and dementia with Lewy bodies. *Cell Death Dis* 11 (2020) 314.

- [57] D. Lendvai, M. Morawski, L. Negyessy, G. Gati, C. Jager, G. Baksa, T. Glasz, J. Attems, H. Tanila, T. Arendt, T. Harkany, and A. Alpar, Neurochemical mapping of the human hippocampus reveals perisynaptic matrix around functional synapses in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 125 (2013) 215-29.
- [58] M. Morawski, G. Bruckner, C. Jager, G. Seeger, and T. Arendt, Neurons associated with aggrecan-based perineuronal nets are protected against tau pathology in subcortical regions in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 169 (2010) 1347-63.
- [59] A. Suttkus, M. Holzer, M. Morawski, and T. Arendt, The neuronal extracellular matrix restricts distribution and internalization of aggregated Tau-protein. *Neuroscience* 313 (2016) 225-35.
- [60] D. Testa, A. Prochiantz, and A.A. Di Nardo, Perineuronal nets in brain physiology and disease. *Semin Cell Dev Biol* 89 (2019) 125-135.
- [61] C.A. Villalobos, Q. Wu, P.H. Lee, P.J. May, and M.A. Basso, Parvalbumin and GABA Microcircuits in the Mouse Superior Colliculus. *Front Neural Circuits* 12 (2018) 35.
- [62] M. Gratuze, C.E. Leyns, A.D. Sauerbeck, M.K. St-Pierre, M. Xiong, N. Kim, J.R. Serrano, M.E. Tremblay, T.T. Kummer, M. Colonna, J.D. Ulrich, and D.M. Holtzman, Impact of TREM2R47H variant on tau pathology-induced gliosis and neurodegeneration. *J Clin Invest* 130 (2020) 4954-4968.
- [63] S.M. Bemiller, T.J. McCray, K. Allan, S.V. Formica, G. Xu, G. Wilson, O.N. Kokiko-Cochran, S.D. Crish, C.A. Lasagna-Reeves, R.M. Ransohoff, G.E. Landreth, and B.T. Lamb, TREM2 deficiency exacerbates tau pathology through dysregulated kinase signaling in a mouse model of tauopathy. *Mol Neurodegener* 12 (2017) 74.
- [64] C.E.G. Leyns, J.D. Ulrich, M.B. Finn, F.R. Stewart, L.J. Koscal, J. Remolina Serrano, G.O. Robinson, E. Anderson, M. Colonna, and D.M. Holtzman, TREM2 deficiency attenuates neuroinflammation and protects against neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114 (2017) 11524-11529.
- [65] A. Niraula, J.F. Sheridan, and J.P. Godbout, Microglia Priming with Aging and Stress. *Neuropsychopharmacology* 42 (2017) 318-333.
- [66] V.H. Perry, and C. Holmes, Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 10 (2014) 217-24.

Figures and Legends

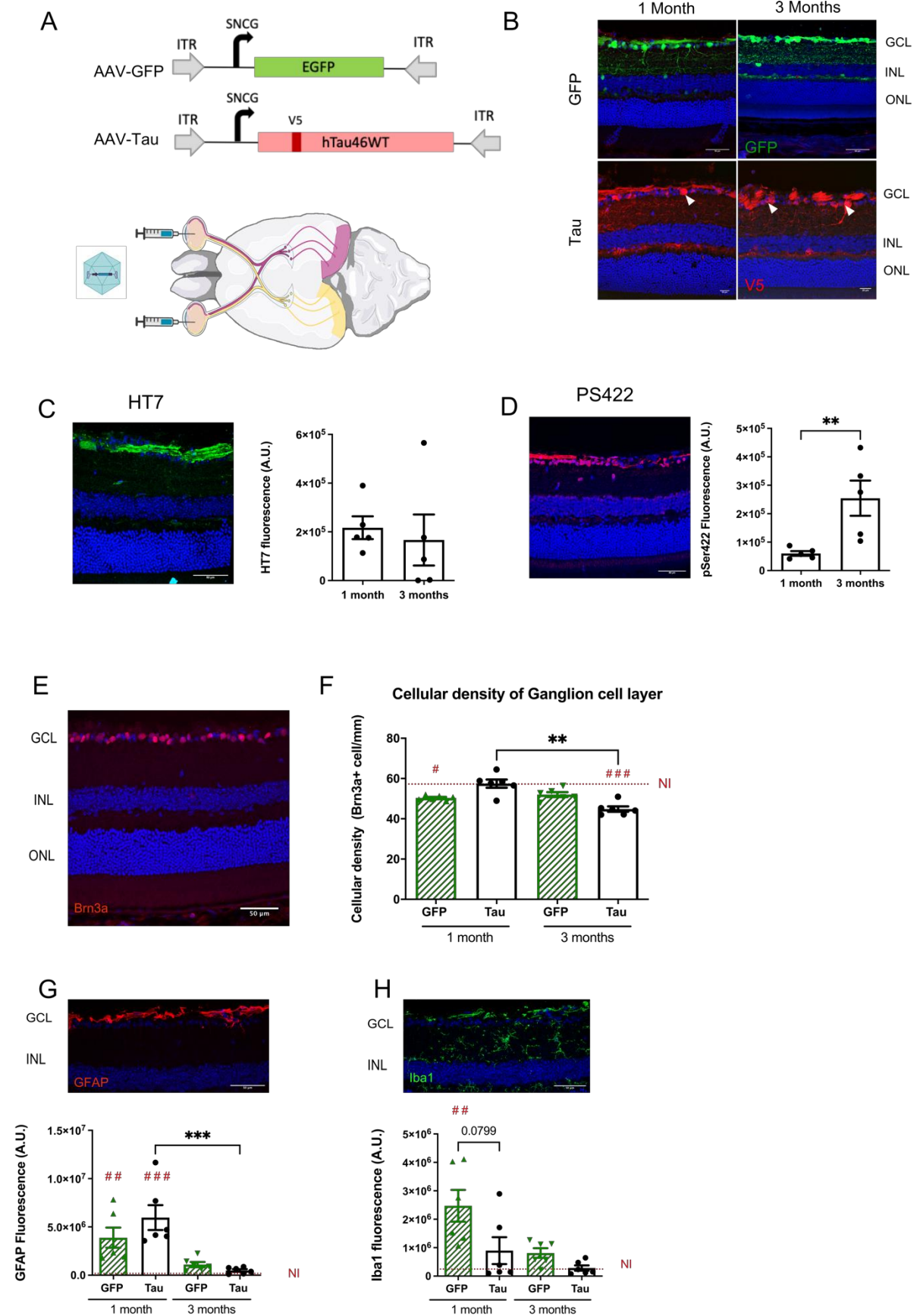


Figure 1 : Tauopathy can be induced in RGCs following intravitreal administration of AAV-Tau. (A) Schematic representation of the experimental paradigm. rAAV vectors encoding V5-tagged wild-type 1N4R isoform of human Tau (AAV-Tau) or EGFP (AAV-GFP) under the transcriptional control of the SNCG promoter were delivered bilaterally by intravitreal injection in three month-old mice. (B) Representative images of Tau and GFP expression one- and three-months post-injection using EGFP direct fluorescence and V5 immunolabeling. Arrowheads point to RGCs cell bodies. Immunofluorescence labeling of the GCL using HT7 (C) and the human phospho-Tau specific epitope pSer422 (D) shows an accumulation of pSer422 labeling at three-months post-injection with no concomitant increase of HT7 labeling. (E) Representative micrograph of Brn3a labeling used for assessing RGCs survival. (F) Density of Brn3a-positive cells in AAV-GFP and AAV-Tau injected animals at one- and three-months post-injection. (G) Representative micrograph of GFAP labeling in GCL and quantification of the fluorescent signal in the different groups. (H) Representative micrograph of Iba1 labeling in GCL and quantification of Iba1 fluorescent signal in the different group. NI: Non-injected, GCL: ganglion cell layer, INL: Inner Nuclear Layer, ONL: Outer Nuclear Layer. Data represents Mean \pm SEM. Scale Bar : 50 μ m. Asterisks above each bar represents results of t-test between groups for C and D, results of post-hoc comparisons between groups for F, G and H *P < 0.05 **P < 0.01 and ***P < 0.001 . # above each bar represents results of post-hoc comparison vs. non-injected animals.

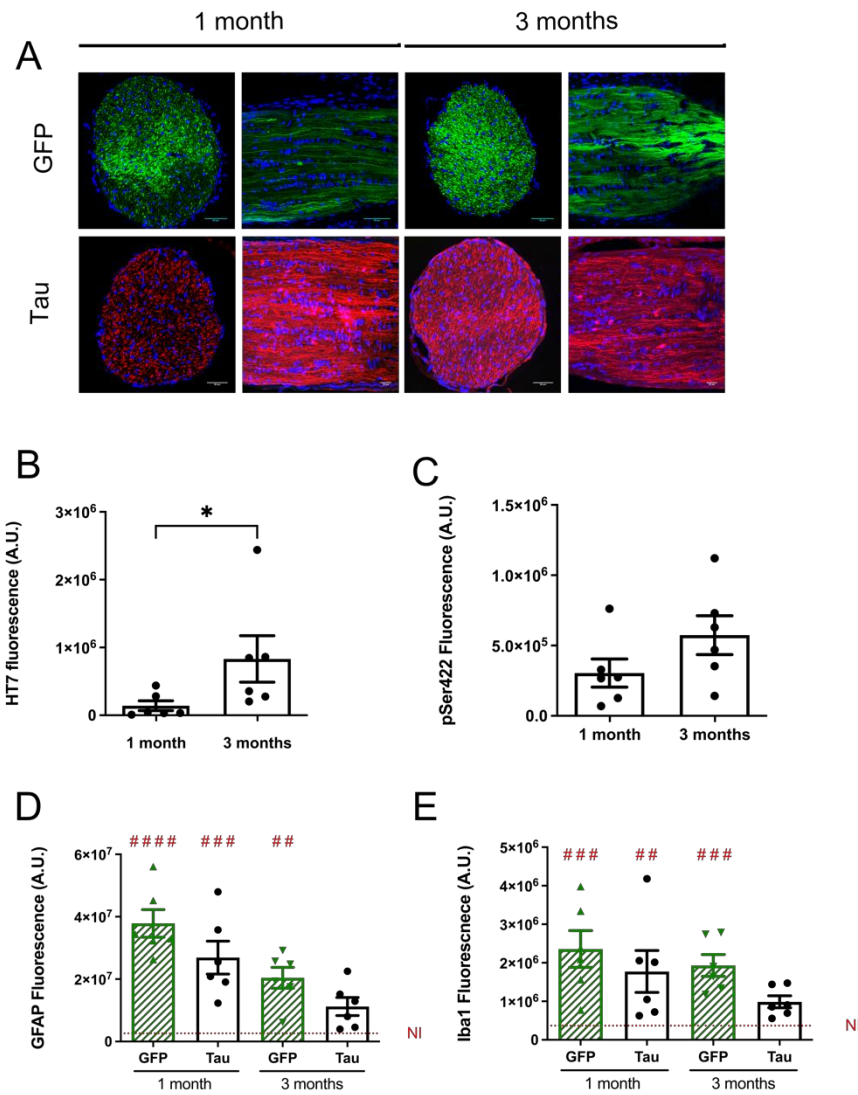


Figure 2 : Characterization of AAV-Tau induced tauopathy in the optic nerve.

(A) Representative images of transgene expression in optic nerves at one- and three-month post-injection. (B-C) Quantification of immunofluorescence signals of total human Tau using HT7 antibody (B) and Tau phospho-epitope pSer422 (C) in optic nerves at one- and three-month post-injection. (D) Quantification of GFAP labeling of transverse sections of the optic nerve in the different conditions. (E) Quantification of Iba1 immunofluorescence of transverse sections of the optic nerve in the different conditions. Data represents Mean \pm SEM. Scale Bar: 50 μ m. Asterisk in B represents result of t-test between groups (post-hoc comparison, *P < 0.05). # above each bar represents results of post-hoc comparison vs. non-injected animals (#P < 0.05 ##P < 0.01 and ###P < 0.001).

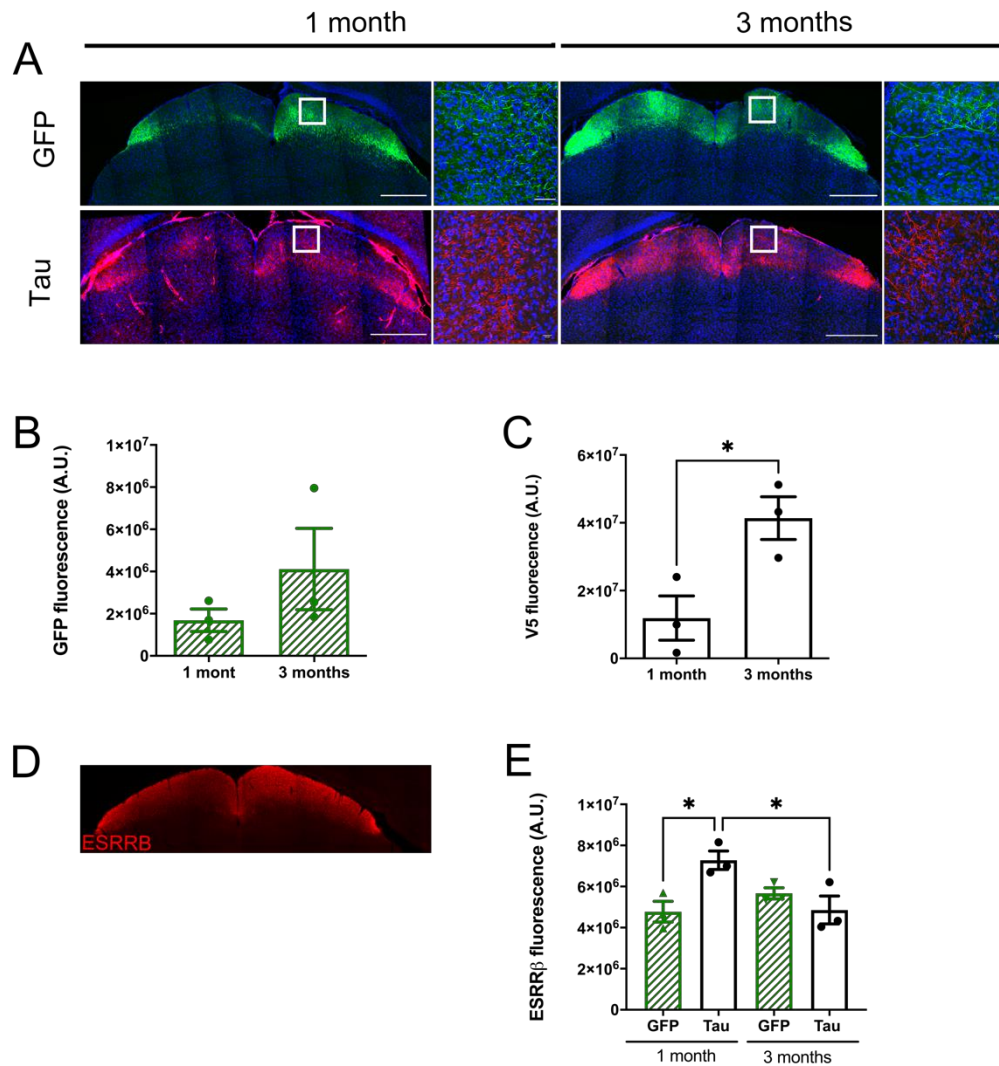


Figure 3: Characterization of AAV-Tau induced tauopathy in the superior colliculi.

(A) Representative micrographs of transgenes expression in the superior colliculi. (B) Quantification of EGFP direct fluorescence. (C) Quantification of Tau-V5 expression based on V5 immunolabeling signal. (D) Micrograph showing representative ESRRB labeling in the superior colliculi. (E) Quantification of ESRRB fluorescent signal as a surrogate marker of toxicity on RGCs terminal arborization in the superior colliculi. Data represents Mean \pm SEM. Scale Bar: 500 μ m (large views in A) and 20 μ m (high magnification views in A). Asterisks above each bar represents results of t-test between time-points for C and between AAV-GFP and AAV-Tau injected groups in E, results of post-hoc comparisons between groups *P < 0.05.

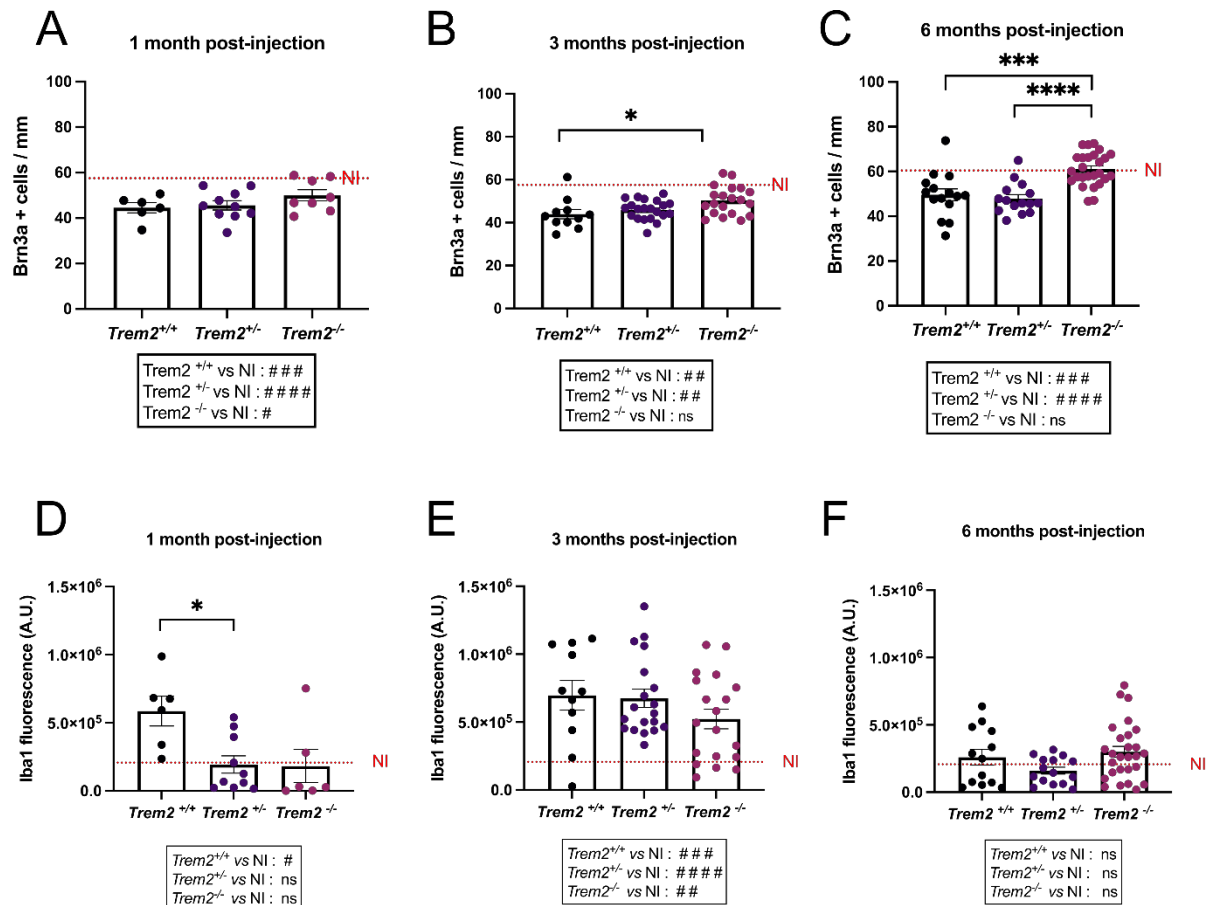


Figure 4: TREM2 deletion protects RGCs from Tau toxicity and reduces microglial reactivity. (A-C) Quantification of Tau-V5 toxicity in the retina based on Brn3a-positive cell counting at 1- (A), 3- (B) and 6-months (C) post-injection in *Trem2*^{-/-}, *Trem2*^{+/-} and wild-type littermates. (D-F) Quantification of Iba1 immunofluorescence in GCL at 1- (D), 3- (E) and 6-months (F) post-injection in *Trem2*^{-/-}, *Trem2*^{+/-} and wild-type littermates. Data represents Mean \pm SEM. Asterisks above each bar represents results of one-Way ANOVA between genotypes for B and C, results of post-hoc comparisons between groups E * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$. # in boxes represents results of post-hoc comparison for each genotype vs. non-injected animals, ns not significant, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, and #### $P < 0.001$.

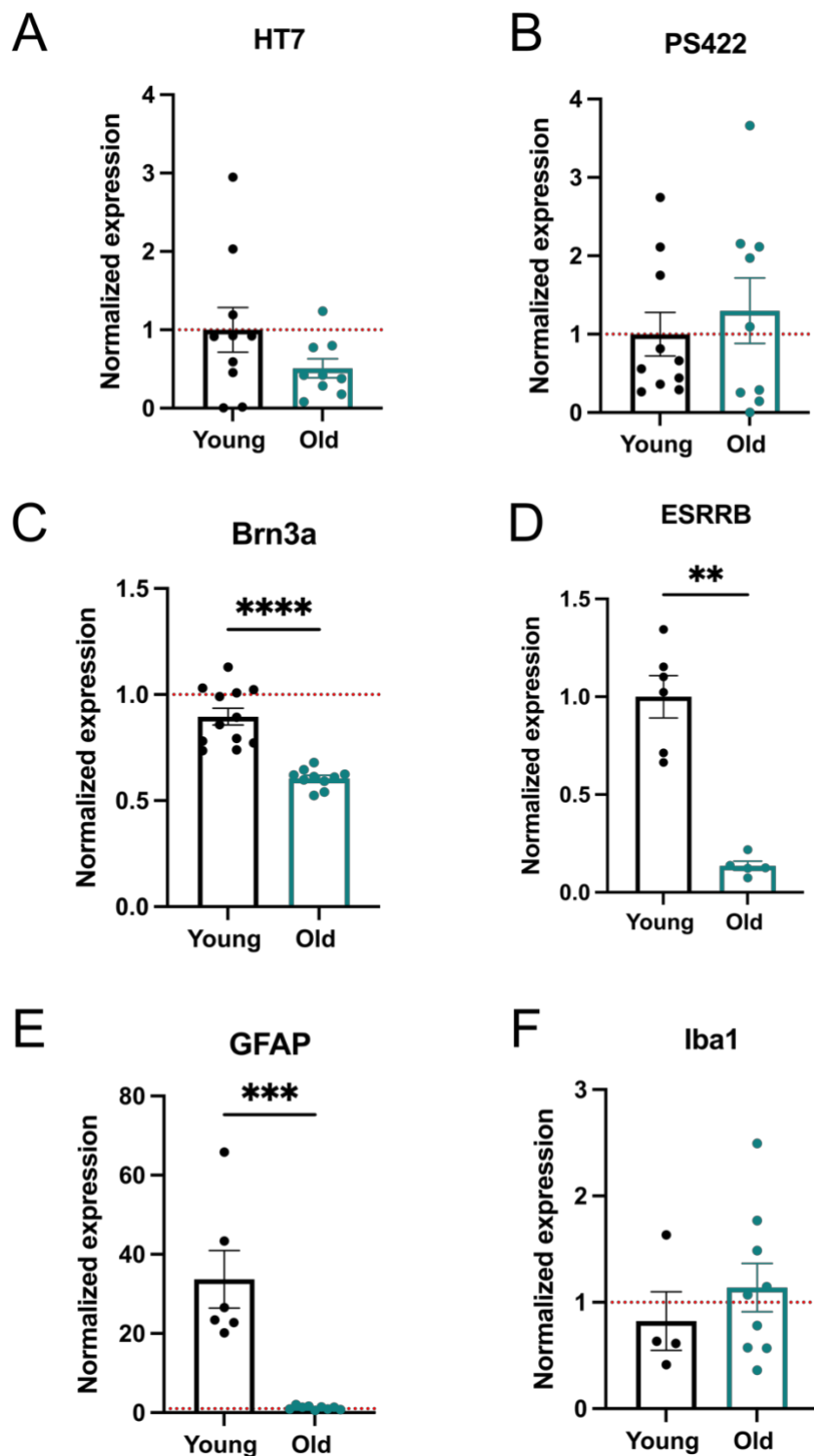


Figure 5 : Aging increased susceptibility of RGCs to Tau-V5 neurotoxicity.

(A-B) Quantification of HT7 (A) and pSer422 (B) immunofluorescence one month following injection of three-months old (Young) or 15-months-old (Old) animals. (C) Brn3a-positive cell counting in the retina of young and old animals. (D) Quantification of ESRRB immunofluorescence in the superior colliculi of young and old animals. (E-F) Quantification of GFAP (E) and Iba1 (F) immunofluorescence in the retinal of young and old animals. Data represents Mean \pm SEM, normalized against young-animals group for A, B and D and against non-injected animals in C, E and F. Asterisks above each bar represents results of Mann-Whitney test $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

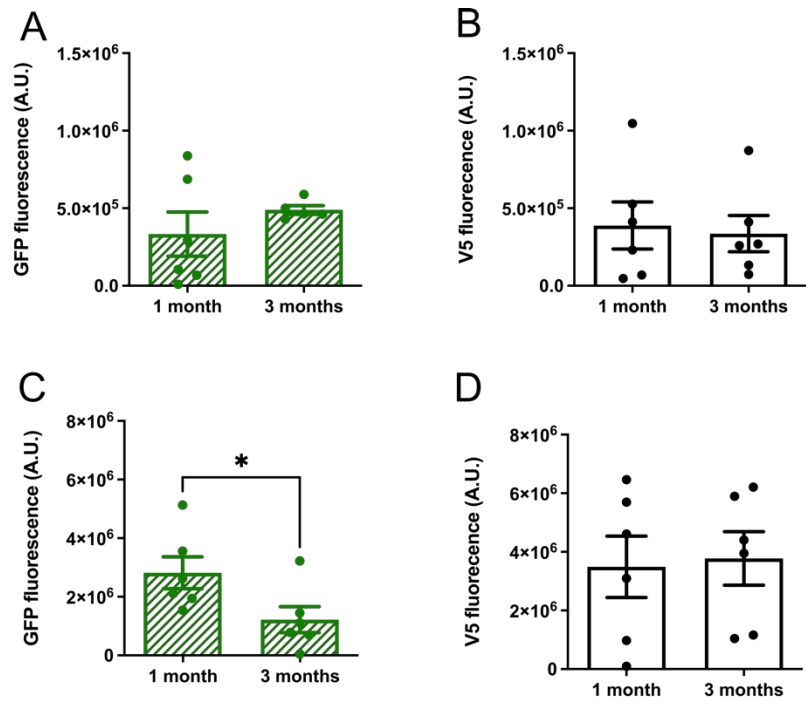


Figure S1: EGFP and Tau-V5 expression in the retina and optic nerve. (A, C) Quantification of EGFP direct fluorescence in GCL at one- and three-months post-injection in the retina (A) and the optic nerve (C). (B, D) Quantification of V5 immunofluorescence at one- and three-months post-injection in the retina (B) and the optic nerve (D). Data represents Mean \pm SEM. *P < 0.05, Mann-Whitney test.

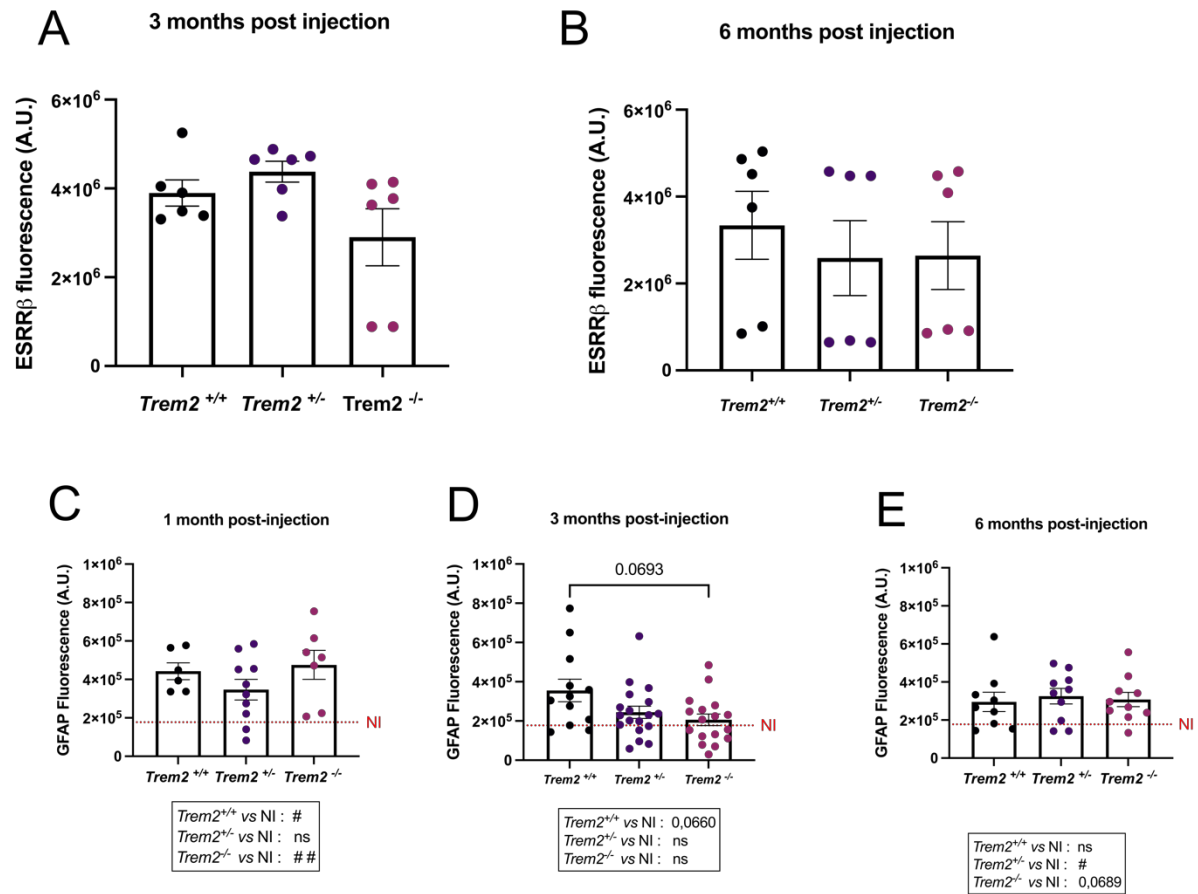


Figure S2 : Influence of TREM2 deletion on AAV-Tau induced RGCs tauopathy (A, B) Quantification of ESRR β immunofluorescence as a surrogate marker of toxicity on RGCs terminal arborization in the superior colliculi at three- and six-months post-injection. (C,D,E) Quantification of GFAP immunofluorescence on retina at one-, three-, and six-months post-injection. Asterisks above each bar represents results of one-Way ANOVA between genotypes for B and C, results of post-hoc comparisons between groups E *P < 0.05 **P < 0.01 and ***P < 0.001. # in boxes represents results of post-hoc comparison for each genotype vs. non-injected animals, ns not significant, #P < 0.05, ##P < 0.01, and ###P < 0.001.

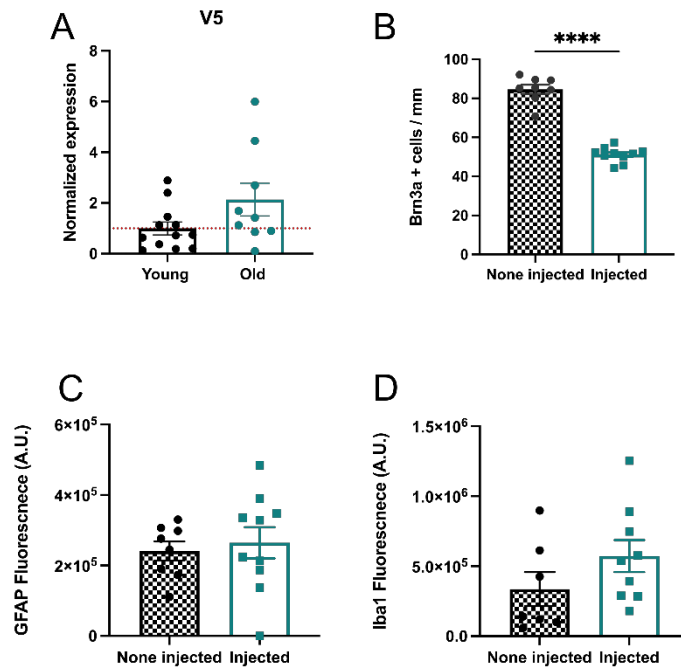


Figure S3: Influence of aging on AAV-Tau induced RGCs tauopathy

(A) Quantification of V5 immunofluorescence in the retina one month following injection of three-months old (Young) or 15-months-old (Old) animals. (B) Brn3a-positive cell counting in the retina of old animals compared to non-injected ones. (C-D) Quantification of GFAP (C) and Iba1 (D) immunofluorescence in the retina of old animals. Data represents Mean \pm SEM, normalized against young-animals group for A and against non-injected animals in D-D. Asterisks above each bar represents results of Mann-Whitney test ****P < 0.0001

Supplementary material

Antibody	Reactivity	Species	Supplier	Reference	Dilution
Brn3a	Brn3a	Mouse	Santa Cruz	SC-8429 AF594	1/500
ESRRβ	ESRR β	Rabbit	Sigma	E0156	1/500
GFAP-CY3	GFAP	Mouse	Sigma	C9205	1/10000
HT7	Human Tau	Mouse	Innogenetics	90204	1/1000
Iba1	Iba1	Rabbit	Wako	W1W011-27991	1/500
PSer422	Human Tau pSer422	Rabbit	Abcam	Ab79415	1/1000
V5	V5 tag	Mouse	Invitrogen	R960-25	1/1000

Supplementary Table 1 : Summary table of antibodies used in this study and the concentration used for different applications

1.3 Conclusion

Dans cette étude, nous avons créé un nouveau modèle de tauopathie focale affectant les RGCs dans la rétine de souris. L'application de ce modèle chez des souris déficientes en TREM2 ou encore des

souris âgées permet l'obtention de résultats similaires à ceux observés par les différentes études menées dans l'hippocampe. Ce nouveau modèle versatile permet donc une nouvelle approche pour étudier les réactions des cellules gliales et neuronales à la protéine Tau au niveau du site d'injection mais également les réactions causées par cette injection dans les régions ciblées par les synapses des cellules ganglionnaires de la rétine n'étant pas directement impactées par l'injection. Ce modèle peut également permettre de comprendre certains mécanismes empêchant la propagation de la protéine Tau. Une des pistes envisagées pour expliquer l'absence de propagation dans les colliculi supérieurs est le microenvironnement et notamment la matrice extracellulaire autour des neurones recevant les afférences provenant des RGCs.

2 Modèle de propagation de la protéine Tau dans le gyrus denté

2.1 Avant-propos

L'objectif de ma thèse est l'étude de la propagation de la protéine Tau et du rôle de la microglie dans ce phénomène. Dans le premier modèle que nous avons mis en place, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence une propagation de la protéine Tau entre neurones connectés et nous avons donc souhaité développer un nouveau modèle dans le gyrus denté en nous inspirant des travaux de l'équipe de Schultz *et coll.* qui mettent en évidence une propagation de la protéine Tau d'un gyrus à l'autre en 8 semaines après injection unilatérale d'un vecteur AAV-Tau (Schultz et al., 2018).

2.2 Stratégies expérimentales

2.2.1 Vecteurs viraux et injection stéréotaxique

Pour réaliser ce modèle, nous avons modifié nos vecteurs viraux afin de pouvoir discriminer les neurones transduits des neurones dans lesquels la protéine Tau se serait propagée. Pour cela notre construction entraîne l'expression dans les cellules transduites de la GFP (Green Fluorescent Protein) et de la protéine Tau humaine (1N4R) portant le Tag V5 (figure 24) sous contrôle d'un promoteur synapsine (SYN2) permettant une expression neurone spécifique (DeGennaro et al., 1983). Les séquences des gènes GFP et Tau sont séparées par un peptide P2A qui est clivé lors de la traduction du polypeptide, permettant ainsi une co-expression stœchiométrique des deux transgènes (Kim et al., 2011).

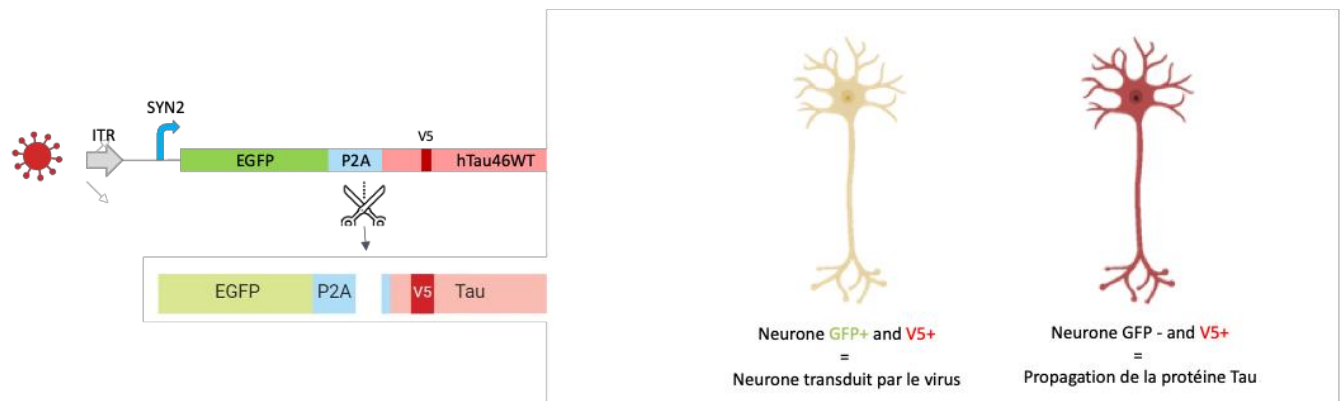


Figure 24 : Constructions AAVs utilisées

Les constructions virales utilisées expriment les protéines GFP et Tau 1N4R séparées par un peptide P2A. Les neurones transduits par la GFP exprimeront les deux protéines alors que les neurones affectés secondairement par une propagation de la protéine Tau ne contiendront que la protéine Tau taguée par V5 (ici représenté en rouge).

Ces virus sont injectés dans la couche polymorphique du gyrus denté à des coordonnées définies par rapport au Bregma à l'aide du mouse Brain Atlas de Paxinos et Franklin (AP : -3,5mm ; L : +2,6mm ; V : -3,1mm) (figure 25). Cette injection va permettre une transduction des cellules moussues dans la couche polymorphique qui projettent une partie de leurs axones vers la couche polymorphique contralatérale.

Avant l'injection les souris sont anesthésiées par une injection intrapéritonéale d'un mélange de kétamine (90mg/kg, Imalgène 1000) et de xylazine (5mg/kg). Une solution de lidocaïne (5mg/kg) est injectée en sous-cutanée avant de réaliser le scalp. Les vecteurs rAAVs ont été injectés à l'aide d'une seringue Hamilton de 10µL (Hamilton, Reno, NV) reliée par un cathéter en polyéthylène à une aiguille à bout arrondi de 34 gauge. 2µL de virus à une dose de 5×10^{10} Vg diluée dans une solution de PBS 0,1M contenant 0,001% d'acide pluronique sont délivrés dans la couche polymorphique à une vitesse de 0,2µL/min à l'aide d'une pompe de microdialyse (Stoelting Co., Wood Dale, USA). A la fin de l'injection, l'aiguille est laissée en place pendant 5 minutes avant d'être retirée pour éviter tout reflux de la solution contenant le vecteur au cours de la remontée de la canule. A la fin de la procédure, la peau est agrafée et désinfectée. Les agrafes sont laissées en place pendant 1 semaine avant d'être retirées.

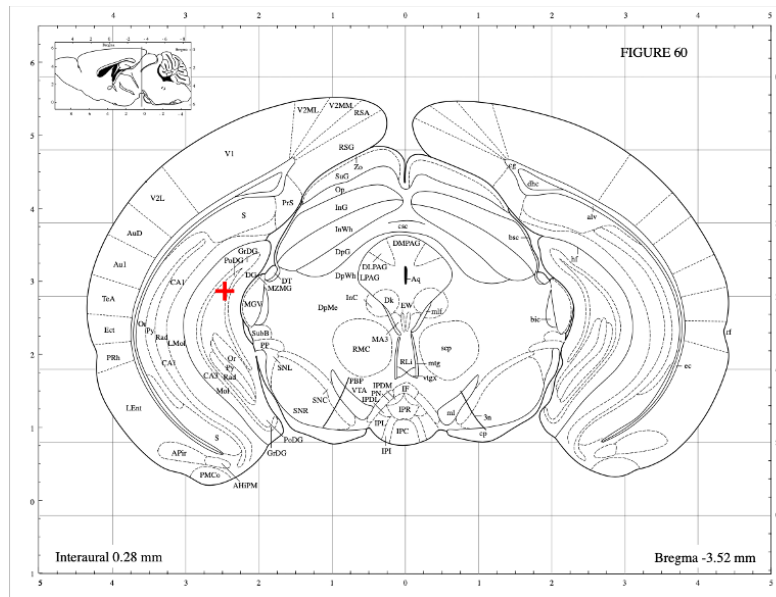


Figure 25 : Coordonnées d’injection stéréotaxique d’après l’Allen Brain Atlas

Plusieurs groupes de souris ont été utilisés pour cette étude (tableau 2). Pour la mise au point du modèle, des souris mâles C57Bl/6J ont été injectées à l’âge de 12 semaines et les analyses ont été réalisées 1 mois après l’injection. Deux doses ont été testées (5×10^{10} et 1×10^{11} Vg) avec des effectifs de $n = 3$. Ce modèle a ensuite été appliqué à 60 souris mâles et femelles déficientes en TREM2 et les analyses ont été réalisées à 3 et 6 mois post-injections. Pour finir, l’effet du vieillissement sur la propagation de la protéine Tau a été étudiée chez 10 souris injectées à l’âge de 15 mois et les analyses ont été menées à 1 et 3 mois post-injections.

Tableau 2 : Effectifs de souris pour l’étude dans le gyrus denté

Étude	Génotype	Age d’injection	Temps post injection	Effectif
Mise en place du modèle	WT (C57Bl/6J)	12 semaines	1 mois post-injection	Dose 1 $n = 3$
				Dose 2 $n = 3$
Souris déficiente en TREM2	<i>Trem2</i> ^{-/-}	12 semaines	3 et 6 mois post-injection	5 mâles et 5 femelles par groupes ($n = 60$)
Souris âgées	WT (C57Bl/6J)	15 mois	1 et 3 mois	1 mois : $n = 4$
				3 mois $n = 5$

2.2.2 Analyse de la propagation

Pour analyser la propagation dans le gyrus contralatéral, des comptages stéréologiques ont été réalisés manuellement à l’aveugle sur des coupes ayant été immunomarquées par un anticorps anti-V5. Les

cellules comptées sont les cellules V5 positives et GFP négatives dans les régions CA1, CA2 et CA3 de la corne de Ammon et dans le gyrus denté sur un ensemble de 12 coupes représentatives de l'ensemble de l'axe antéro-postérieur de l'hippocampe.

2.2.3 Remarque

La mise en place du modèle dans le gyrus denté a été réalisée au cours du dernier trimestre de l'année 2019 et son application aux différents paradigmes expérimentaux a été réalisée au cours du dernier semestre de l'année 2020. Les données présentées dans ce manuscrit devront donc être complétées et plusieurs analyses sont actuellement en cours sur les tissus prélevés au cours de cette étude.

2.3 Validation du modèle de propagation dans le gyrus denté

L'utilisation du gène rapporteur codant la GFP a permis la localisation des cellules transduites par les vecteurs rAAVs. A l'aide d'un immunomarquage dirigé contre l'étiquette V5 présente sur la protéine Tau, nous avons pu également localiser l'expression de la protéine Tau transgénique avec une grande sensibilité. L'analyse des deux marquages confirme une co-expression de nos deux protéines dans les neurones de la couche polymorphique du gyrus denté mais également dans ceux de la couche granulaire de ce dernier (figure 26).

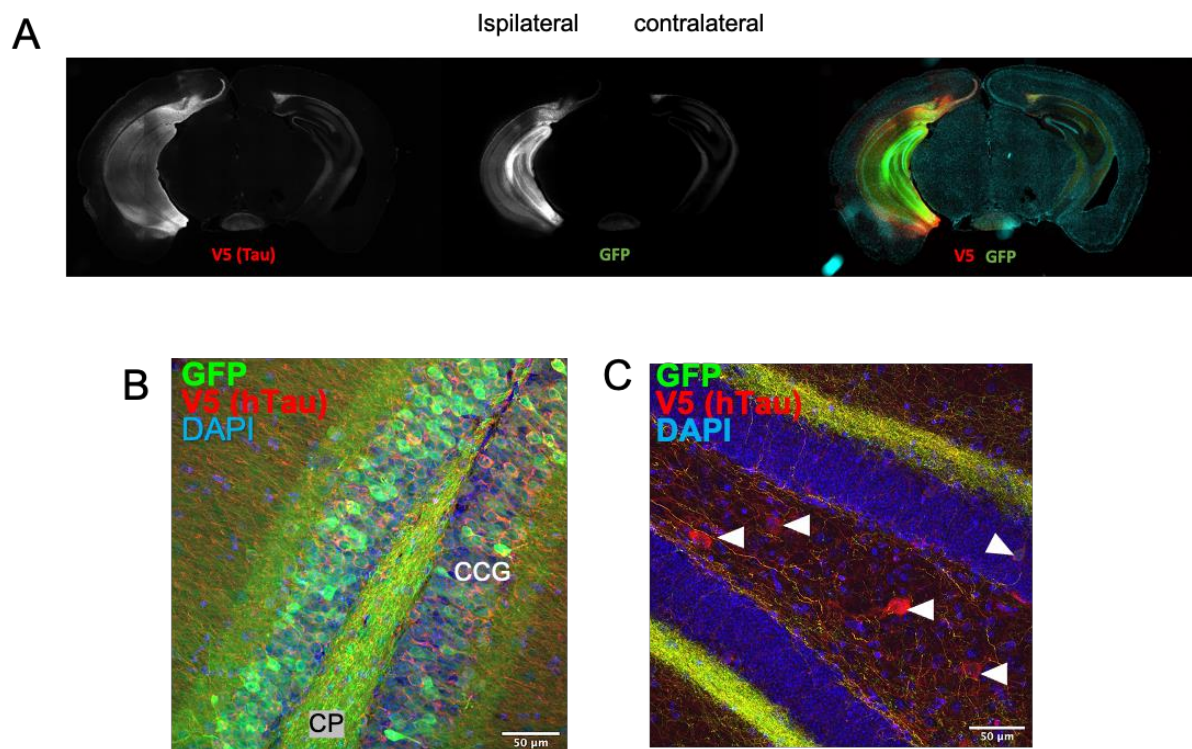


Figure 26 : Propagation à un mois post-injection de la protéine Tau humaine après transduction du gyrus denté. (A-C) Marquage par immunofluorescence de la protéine Tau humaine (anticorps V5 rouge) et de la GFP (vert) dans le gyrus denté injecté (B) et dans la région contralatérale (C). (A) Représentation à faible grossissement de

la zone transduite par nos vecteurs rAAV pour la dose la plus faible de vecteur. Dans le GD injecté (B), les neurones transduits sont marqués à la fois par GFP et V5 et dans la région contralatérale (C) les neurones affectés secondairement par la propagation de la protéine Tau [V5+/GFP-] sont détectés dans les couches polymorphique (CP) et des cellules granulaires (CCG) (flèches blanches).

L'analyse de la localisation des transgènes GFP et Tau du côté injecté révèle une localisation subcellulaire différente de ces deux protéines. La protéine GFP emplit l'ensemble du soma et des projections axonales jusque dans le côté contralatéral alors que la protéine Tau se situe dans la périphérie nucléaire et dans les axones. Ces données indiquent d'une part que le peptide P2A a bien permis le clivage en deux parties des protéines Tau et eGFP. D'autre part, il est important de noter que la localisation subcellulaire des transgènes est cohérente avec leurs fonctions. La eGFP en effet n'a pas de fonction définie dans les neurones et n'a donc pas de localisation précise. La protéine Tau a une localisation axonale ce qui est cohérent avec ses fonctions (cf introduction §2.1.5) et cet adressage n'est pas affecté par la combinaison de la protéine Tau et de la séquence P2A. De plus certaines cellules au niveau du site d'injection semblent être seulement positive pour le Tag V5 et pas pour la protéine GFP. Ces données suggèrent que la protéine Tau se propage de proche en proche au niveau du site d'injection. Une technique d'analyse est en train d'être mise au point au laboratoire pour tenter de quantifier la propagation de proche en proche de la protéine Tau.

L'analyse des tissus du côté contralatéral par des techniques d'immunofluorescence met en évidence la présence de cellules V5+ et GFP – dans les couches polymorphiques et granulaires du gyrus denté. La localisation de la protéine GFP est quant à elle restreinte aux projections axonales provenant du côté injecté (figure 26C).

Pour la mise en place de ce modèle nous avons testé deux doses de vecteurs dans l'objectif d'induire le maximum de propagation. Afin de mesurer la propagation au niveau contralatéral les cellules ont été comptées manuellement au microscope à épifluorescence dans le gyrus denté mais également dans les zones CA1, CA2 et CA3 (figure 27).

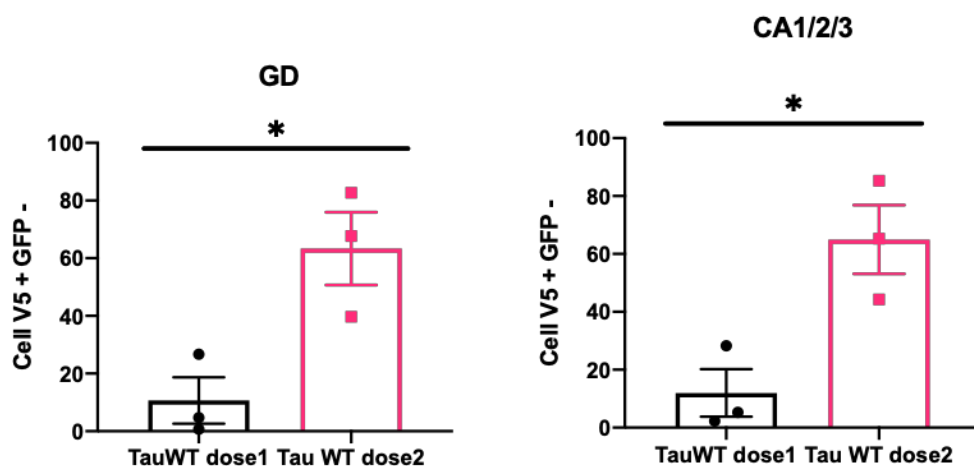


Figure 27 : Mesure de la propagation dans l'hippocampe contralatéral en fonction de la dose de virus injectée. Les cellules V5 positives GFP négatives sont comptées manuellement dans les régions CA1/C2 et CA3 et le gyrus denté (GD) sur un ensemble de 12 coupes représentatives de l'axe antéro-postérieur (1coupe sur 10). Dose 1 : 5×10^{10} Vg, Dose 2 : 1×10^{11} Vg. Les données représentent la moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$. T test.

La quantification des cellules affectées secondairement par la tauopathie met en évidence un effet-dose entre le nombre de cellules V5 positives et la dose de virus injecté (t test, $p < 0,05$). Bien que les données suggèrent que l'injection de la plus forte dose de virus entraîne une plus grande propagation de la protéine Tau V5 du côté contralatéral, nous avons choisi pour la suite des expériences la dose la plus faible afin de ne pas induire une trop grande toxicité au site d'injection.

En conclusion, ces données mettent en évidence que l'injection de nos vecteurs AAV-GFP-P2A-Tau dans le gyrus denté permet d'induire une co-expression des transgènes EGFP et Tau-V5 au niveau du site d'injection ainsi qu'une propagation de la protéine Tau dans l'hippocampe contralatéral.

2.4 Influence de l'activation microgliale dans la propagation de la protéine Tau

Afin d'étudier le rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau nous avons une fois encore appliqué le modèle d'injection du vecteur AAV-Tau dans le gyrus denté à des souris déficientes en TREM2.

Pour cette étude nous avons choisi d'inclure des mâles et des femelles afin d'augmenter le nombre d'animaux dans notre étude. Le nombre de souris transgéniques est limité car l'élevage est réalisé par nos soins. Cependant un équilibre entre le nombre de mâles et de femelles utilisés a été respecté permettant de mettre en évidence un éventuel effet sexe (Villa et al., 2018). Dans un premier temps nous avons évalué l'impact de la déficience en TREM2 sur la propagation de la protéine Tau du côté contralatéral. Pour ce faire nous avons analysé la zone transduite au niveau du site d'injection (figure 28).

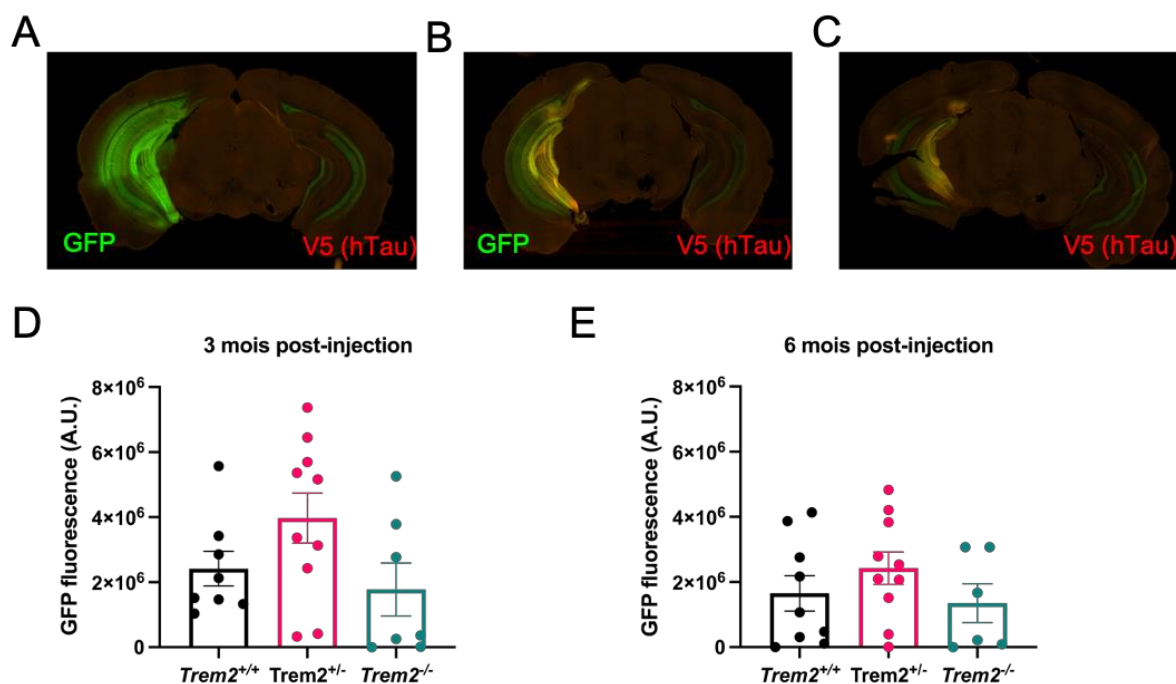


Figure 28 : Expression du gène rapporteur GFP dans l'hippocampe ipsilatéral à 3 et 6 mois post-injection (A-C) Image représentative de l'expression des transgènes chez 3 animaux au niveau du site d'injection illustrant la variabilité de la transduction entre les animaux. (D-E) Analyse de l'intensité de la fluorescence GFP au niveau du site d'injection. Les données représentent la moyenne \pm SEM.

Pour quantifier la transduction des cellules au niveau du site d'injection, nous avons analysé l'intensité de fluorescence de la GFP à l'aide d'image J et utilisé la mesure de la densité intégrée correspondant au produit de l'intensité de gris moyen et de l'aire de la zone analysée. Les mesures de densité intégrée ne révèlent aucune différence entre les groupes (Kruskall-Wallis, comparaison multiple de Dunn's, $p > 0,999$) mais révèle une forte variabilité de la transduction chez nos animaux.

Pour analyser la propagation de la protéine Tau dans notre modèle nous avons donc réalisé deux types de mesures :

- Dans notre modèle nous avons pu mettre en évidence du côté ipsilatéral la présence de cellules V5 positives /GFP négatives. Les cellules ne pouvant pas être manuellement comptées à cause de l'intensité du signal GFP, nous avons donc mesuré l'aire occupée par les signaux V5 et GFP après seuillage sur le gyrus denté. Nous avons ensuite rapporté l'aire V5 positive sur l'aire GFP positive afin d'obtenir des rapports en pourcentage d'aire occupée par chacun de nos transgènes nous donnant un indice de propagation pour le côté injecté (ipsilatéral).
- Au niveau contralatéral, nous avons compté manuellement les cellules positives seulement à l'immunomarquage V5. Afin de ne pas induire de biais, lié aux différences de transduction, dans l'analyse de la propagation au niveau contralatéral nous avons donc

appliqué une correction à nos résultats de comptage de cellules V5 positives suivant la

$$\text{formule suivante : } \text{Index de propagation} = \frac{\text{Nombre de cellules V5 positives}}{\text{Mesure de densité intégrée (1 pour } 10^6 \text{ unités)}}$$

Nous avons dans un premier temps évalué l'impact du sexe de nos souris dans la propagation (figure 29). L'analyse de la propagation du côté ipsi- et contralatéral indique que le sexe des animaux n'influence pas la propagation de la protéine Tau quel que soit le génotype *Trem2*. Pour la suite des analyses, les résultats obtenus chez les mâles et les femelles ont donc été regroupés pour augmenter la puissance des tests statistiques.

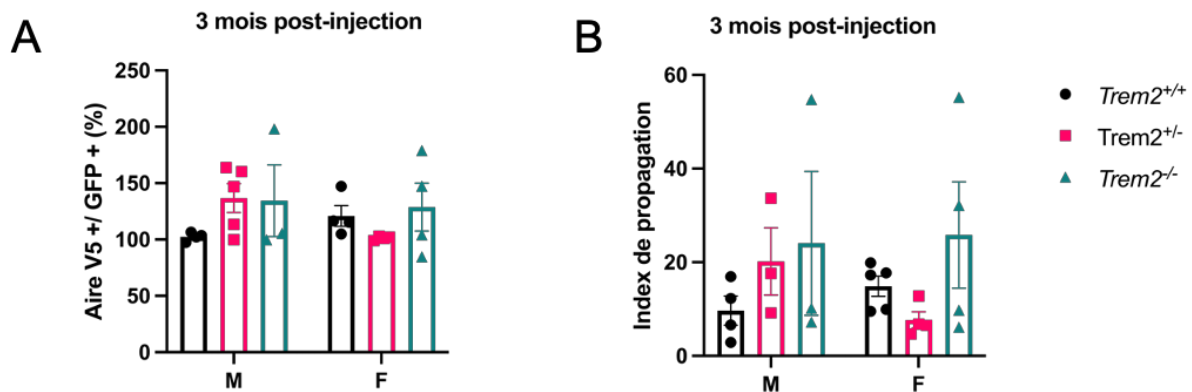


Figure 29 : Impact du sexe sur la propagation de la protéine Tau

(A) Mesure de l'indice de propagation de la protéine Tau dans le gyrus injecté à trois mois post-injection. Cet indice est un rapport entre l'aire occupée par le signal V5 et celle occupée par le signal GFP. (B) Analyse de la propagation de la protéine Tau dans le gyrus contralatéral à 3 mois post-injection. Le nombre de cellules V5 positives est corrigée en fonction de l'intensité de transduction du côté ipsilatéral. Les données représentent la moyenne \pm SEM.

L'analyse de la propagation de la protéine Tau du côté ipsilatéral ne révèle aucune différence associée à la délétion partielle ou totale de TREM2 (figures 30A et 30B, ANOVA a deux facteurs, comparaison multiple de Tukey). En revanche, l'analyse de l'index de propagation du côté contralatéral montre une différence dans le nombre de cellules V5 positives sur l'ensemble des zones CA1/2/3 et du gyrus denté (figure 30C, ANOVA a deux facteurs, comparaison multiple de Tukey, $p < 0,01$ *Trem2^{+/+} vs Trem2^{-/-}*, et $p = 0,0715$ *Trem2^{+/-} vs Trem2^{-/-}*). Cette différence suggère une plus grande propagation de la protéine Tau chez les animaux déficients en TREM2 à 3 mois post-injection. Cette différence n'est plus présente à 6 mois post-injection. Il est possible que la déficience d'activation de la microglie chez les animaux déficients en TREM2 ait causé un défaut de phagocytose de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire ainsi que des neurones affectés par la tauopathie entraînant ainsi une plus grande propagation au temps d'analyse 3 mois. Il est possible qu'au temps 6 mois post-injection les astrocytes aient pris le relai et aient ainsi éliminé une partie des neurones affectés par la protéine Tau dans le gyrus denté contralatéral compensant ainsi une diminution de l'activité de phagocytose chez les animaux déficients en TREM2.

Ces premiers résultats obtenus chez ces souris suggèrent qu'une diminution de l'activation microgliale peut favoriser la propagation de la protéine Tau.

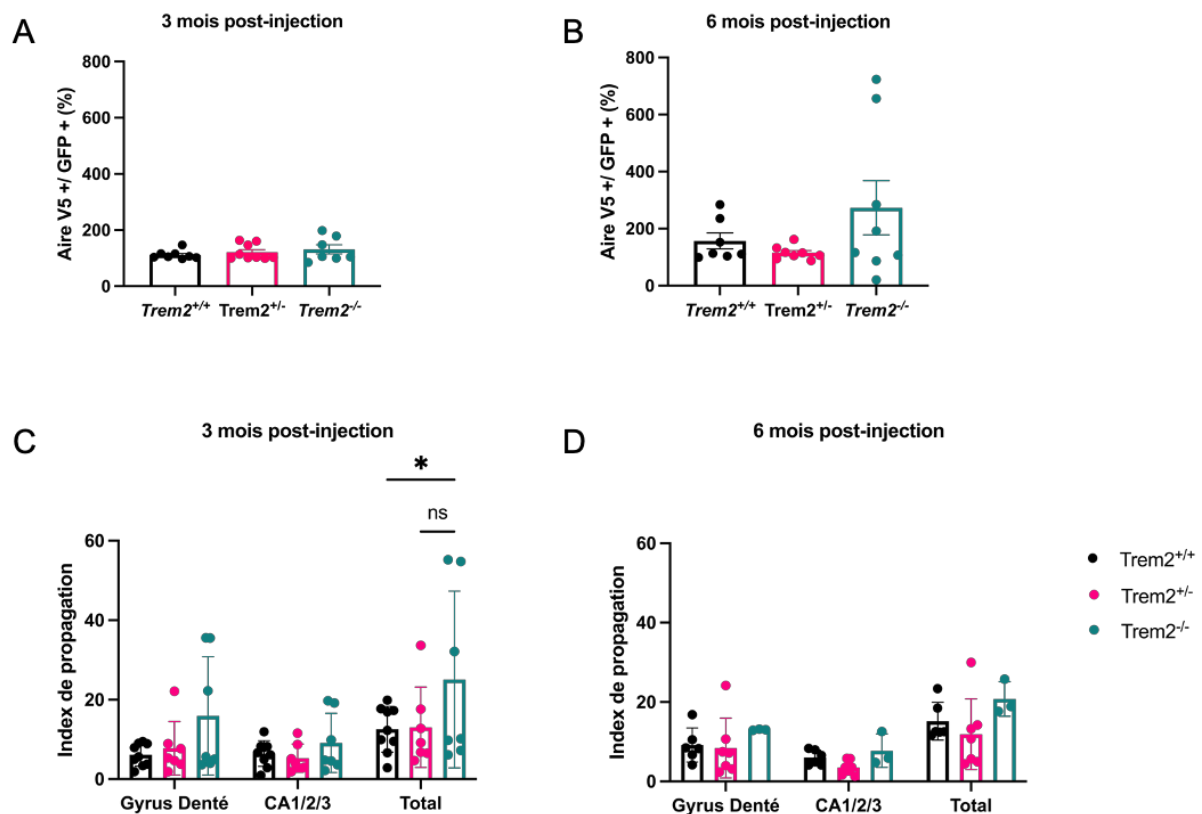


Figure 30 : Impact de la déficience en TREM2 sur la propagation de la protéine Tau dans le modèle mis en place dans le gyrus denté

(A-B) Mesure de l'indice de propagation de la protéine Tau dans le gyrus denté injecté à 3 (A) et 6 mois post-injection(B). Cet indice est un rapport entre l'aire occupée par le signal V5 et celle occupée par le signal GFP. (C-D) Analyse de la propagation de la protéine Tau dans le gyrus contralatéral à 3 (C) et 6 mois post-injection (D). Le nombre de cellules V5 positives est corrigé en fonction de l'intensité de transduction du côté ipsilatéral. Les données représentent la moyenne \pm SEM. ANOVA à deux facteurs, comparaison multiple de Tukey's, ns $p > 0,1$, * $p < 0,05$

2.5 Influence de l'âge des souris sur la propagation de la protéine Tau

Le vieillissement est le premier facteur de risque de nombreuses pathologies neurodégénératives caractérisées par la propagation de protéines comme la MA ou encore la Maladie de Parkinson. Il est possible que le vieillissement soit à l'origine de modification dans l'environnement des cellules permettant une meilleure propagation des protéines pathologiques. Afin de tester cette hypothèse nous avons injecté unilatéralement 10 souris C57Bl6/J souris âgées de 15 mois dans la couche polymorphique du gyrus denté et nous avons analysé la propagation de la protéine Tau du côté contralatéral à 1 (n=5) et 3 mois post-injection (n=5).

A ce jour, les seuls résultats obtenus dans ce paradigme expérimental sont issus du comptage manuel des cellules V5 positives du côté contralatéral. Durant la période suivant l'injection des vecteurs, deux souris sont mortes avant le temps d'analyse diminuant le n à 4 souris à chaque temps d'analyse. De

plus nous avons également éliminé un animal au temps un mois post-injection de l'analyse après une analyse de Grubb's permettant d'identifier les outliers. Ces premiers résultats montrent un nombre de cellules V5 positives, GFP négatives plus important chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes (figure 31). Ces premiers résultats suggèrent que le vieillissement accélère la propagation de la protéine Tau.

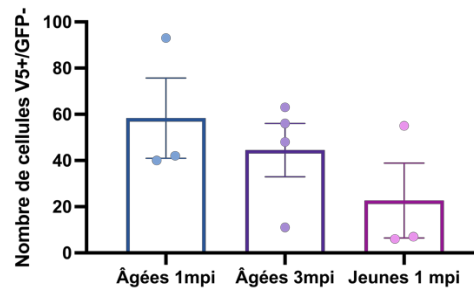


Figure 31 : Impact du vieillissement sur la propagation de la protéine Tau dans le gyrus denté contralatéral après injection d'AAV-GFP-P2A-Tau dans la couche polymorphique du gyrus denté.

Analyse de la propagation de la protéine Tau dans le gyrus contralatéral à 1 et 3 mois post-injection chez les animaux âgés comparés aux résultats obtenus chez les souris jeunes. Les données représentent la moyenne \pm SEM.

3 Participation à l'étude de l'impact de la déficience en TREM2 chez des souris THY-Tau22

3.1 Contexte, objectifs et synthèse

Plusieurs variants du gène TREM2 sont décrits comme des facteurs de risque dans le cadre de la MA et de certaines tauopathie (cf. introduction §IV.D.2). Le variant majoritaire R47H est décrit comme une mutation perte de fonction (Cheng-Hathaway et al., 2018). Ainsi, plusieurs équipes ont étudié l'influence de la déficience en TREM2 dans des modèles murins de tauopathie, et cela a abouti à des résultats en partie contradictoires (Bemiller et al., 2017; Leyns et al., 2017). Ainsi dans l'objectif d'apporter de nouveaux éléments, notre équipe a réalisé une étude longitudinale sur l'impact de la déficience en TREM2 dans un modèle progressif de Tauopathie, la lignée de souris transgéniques THY-Tau22 (Schindowski et al., 2006a). Pour ce faire, nous avons créé une lignée double transgénique *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}*. Des cohortes d'animaux ont été étudiées à trois âges (3, 6 et 12 mois), analysant à la fois la tauopathie, la neuroinflammation et les déficits mnésiques par des études histologiques, comportementales et de biologie moléculaire (RT-qPCR).

Cette étude suggère que la déficience en TREM2 entraîne un défaut d'activation microgliale chez des souris âgées de 12mois caractérisé par des analyses morphologiques et de qPCR. Cette déficience est associée à une augmentation de la quantité de protéine Tau hyperphosphorylée et agrégée au même âge. Cependant cette augmentation de la pathologie à un temps tardif n'est pas corrélée avec une augmentation de la neurodégénérescence mesurée dans la région CA1 de l'hippocampe ni à une

aggravation des déficits mnésiques chez ces souris. L'ensemble de ces résultats suggèrent que la déficience en TREM2 entraîne une aggravation de la pathologie Tau seulement à des stades tardifs de la pathologie.

Cet article est en cours de révision positive pour une publication dans la revue *Neurobiology of Disease*.

Cette étude a été initiée au laboratoire par Audrey Vautheny qui finissait sa thèse au moment où je débutais la mienne. Les techniques classiques d'analyses de la neuroinflammation (mesure de la fluorescence des marqueurs Iba1 et GFAP) ne permettaient pas de mettre en évidence de différence pourtant visibles à l'œil nu entre les groupes. Nous avons donc décidé de réaliser des analyses morphologiques plus poussées par la technique de Sholl (Sholl, 1953) en utilisant FIJI et le module *Sholl analysis plugin* (Ferreira et al., 2014) des cellules microgliales et astrocytaires dans l'ensemble de nos conditions (3 âges et 3 génotypes -figures 2, 4, S3 et S6). Nous avons défini les critères morphologiques pour l'analyse de la microglie et j'ai acquis l'ensemble des images nécessaires au microscope confocal puis analysé pour chaque animal 32 cellules réparties sur 4 zones à deux niveaux antéro-postérieur (Bregma -2,3 et -2,8) à l'aide du plugin "Sholl Analysis" du logiciel Image J. Ces analyses ont permis de mettre en évidence un défaut d'activation microgliale chez les souris déficientes en TREM2 à 12 mois dans le contexte d'une tauopathie pure (pas de différence observée sans stimulus pathologique). Au cours de la rédaction de l'article, j'ai également participé à l'élaboration des analyses statistiques et de l'ensemble des figures.

3.2 Article

Title

THY-Tau22 mouse model of Alzheimer's disease accumulates more tauopathy at late stage of the disease in response to microglia deactivation through TREM2 deficiency

Running title

Tauopathy aggravation in TREM2-deficient mice

Authors

Audrey Vautheny^{1*}, Charlotte Duwat^{1*}, Gwennaëlle Auregan¹, Charlène Joséphine¹, Anne-Sophie Hérard¹, Caroline Jan¹, Julien Mitja¹, Pauline Gipchtein¹, Marie-Claude Gaillard¹, Luc Buée^{2,3}, David Blum^{2,3}, Philippe Hantraye¹, Gilles Bonvento¹, Karine Cambon¹, Alexis-Pierre Bemelmans¹

Affiliations

¹Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRCen, Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay-aux-Roses, France.

²University of Lille, Inserm, CHU Lille, U1172 LilNCog - Lille Neuroscience & Cognition, Lille, France.

³Alzheimer and Tauopathies, LabEx DISTALZ, France.

*: AV and CD contributed equally to this work.

Corresponding author: Alexis-Pierre Bemelmans, MIRCen / CEA, 18 route du Panorama, F-92265 Fontenay-aux-Roses, France. Email: alexis.bemelmans@cea.fr

Keywords

Tauopathy; Microglia; Trem2; Animal model.

Abstract

The role played by microglia has taken the center of the stage in the etiology of Alzheimer's disease (AD). Several genome-wide association studies carried out on large cohorts of patients have indeed revealed a large number of genetic susceptibility factors corresponding to genes involved in neuroinflammation and expressed specifically by microglia in the brain. Among these genes *TREM2*, a cell surface receptor expressed by microglia, arouses strong interest because its R47H variant confers a risk of developing AD comparable to the $\epsilon 4$ allele of the *APOE* gene. Since this discovery, a growing number of studies have therefore examined the role played by *TREM2* in the evolution of amyloid plaques and neurofibrillary tangles, the two brain lesions characteristic of AD. Many have reported conflicting results, reflecting the complex nature of microglial activation in AD. Here, we investigated the impact of *TREM2* deficiency in the THY-Tau22 transgenic line, a well-characterized model of tauopathy. Our study reports an increase in the severity of tauopathy lesions in mice deficient in *TREM2* occurring at an advanced stage of the pathology. This exacerbation of pathology was associated with a reduction in microglial activation indicated by typical morphological features and altered expression of specific markers. However, it was not accompanied by any further changes in memory performance. Our longitudinal study confirms that a defect in microglial *TREM2* signaling leads to an increase in neuronal tauopathy occurring only at late stages of the disease.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease and the most common cause of dementia worldwide with more than 35 million people affected (World Health Organization, Global action plan on the public health response to dementia 2017 – 2025), and about 6 million people in the USA only (Hebert et al., 2013). It is characterized by two pathological lesions that are always associated in the patients' brains: extracellular accumulation of senile plaques made of β -amyloid peptide deposits, and neurofibrillary tangles (NFTs) formed by the intraneuronal aggregation of hyperphosphorylated Tau proteins (Serrano-Pozo et al., 2011). These lesions are associated with neuroinflammatory processes involving astrocytic and microglial activation (Webers et al., 2019). Several genetic studies conducted in recent years on large cohorts of patients have identified numerous risk factors related to genes specifically expressed in microglia, the resident immune cells of the central nervous system. The *TREM2* gene has focused particular attention because some of its polymorphisms, although rarely present in the general population, confer a risk of developing AD comparable to $\epsilon 4$ allele of the *APOE* gene (Guerreiro et al., 2013; Jonsson et al., 2013). *TREM2* is specifically expressed by the myeloid lineage, which is represented by microglial cells in the brain. In the case of AD, concentration and activation of microglia around amyloid plaques have been consistently observed, as originally demonstrated by Alois Alzheimer (Cipriani et al., 2011). Consequently, pan-genomic studies demonstrating the involvement of *TREM2* were rapidly followed by experimental studies aimed at elucidating its role in amyloid models of the disease. The first published studies, on different models, reported conflicting results. Indeed, Wang et al. demonstrated that the invalidation of *Trem2* caused an increased amyloid load in pathologically advanced 5xFAD mice (Wang et al., 2015), while Jay et al. reported that *Trem2* deficiency mitigated amyloid load in APPPS1-21 mice at the beginning of the pathology (Jay et al., 2015). A second study of this model at a later stage however demonstrated an increased amyloid load (Jay et al., 2017), suggesting a versatile role of *TREM2* depending on the stage of the pathology. More recently, single-cell RNAseq characterization of microglia in different AD models has shown the existence of a subpopulation of microglial cells associated to the pathology and whose activation is dependent on *TREM2* (Keren-Shaul et al., 2017; Krasemann et al., 2017). This subpopulation, called DAM (disease-associated microglia) or MGnD (microglial neurodegenerative phenotype), may have a beneficial role by stimulating the phagocytic activity to phagocyte and contain the senile plaque in formation.

Number of studies now report a tight link between microglia and Tau pathology development (Ising et al., 2019; Laurent et al., 2018; Laurent et al., 2017), including Tau pathology seeding and spreading (Asai et al., 2015; Hopp et al., 2018; Maphis et al., 2015; Stancu et al., 2019). This prime role of microglia in Tau pathology development logically raised questions on the potential role that *TREM2* receptor might play in the development of tauopathy. In a similar manner to amyloid models, several mouse models of tauopathy were crossed with *TREM2* deficient mice. Using the PS19 model, which express the human 1N4R Tau form bearing the P301S mutation, Leyns et al. reported that *TREM2*

deficiency moderates microglial activation and neurodegeneration in these animals while the extent of tauopathy remained unchanged (Leyns et al., 2017). Similar results were reported in the same mice expressing the R47H variant of TREM2 (Gratuze et al., 2020). Puzzingly, the magnitude of TREM2 loss-of-function could promote differential outcomes (Sayed et al., 2018). In sharp contrast, using another transgenic model expressing the wild-type human Tau on a murine Tau knockout background, Bemiller et al. showed that *Trem2* deficiency leads on the contrary to an aggravation of tauopathy (Bemiller et al., 2017). Overall, data published to date on the role of TREM2 in tauopathy remain conflicting and need to be further investigated. In order to study the role of TREM2 at different stages of Tau pathology, we took advantage of the progressive THY-Tau22 model (Schindowski et al., 2006). This transgenic line over-expresses the human 1N4R Tau carrying the G272V and P301S mutations under the control of the Thy1.2 neuronal promoter, resulting in the development of hippocampal Tau pathology associated with synaptic, neuroinflammatory and cognitive alterations that progressively evolve from 3 to 10-12 months of age (Chatterjee et al., 2018; Laurent et al., 2017; Van der Jeugd et al., 2011; Van der Jeugd et al., 2013a). In the present study, to appreciate the potential impact of Trem2 deficiency over the course of tau pathology development, we deleted *Trem2* from THY-Tau22 and investigate outcome in a longitudinal study from an early stage (3 months), where pathology initiates, to a late stage (12 months), where pathology is fully developed. Overall, our data indicated that TREM2 deficiency dampened microglial activation and hippocampal atrophy while increasing tauopathy at late stages, suggestive of a complex role of TREM2 in tauopathy.

Material and Methods

Animals

Animal procedures were performed in accordance with the French regulation (EU directive 86/609 – French Act Rural Code R214-87 to 131). The animal facility was approved by veterinarian inspections (authorization n° B92-032-02) and complied with Standards for Humane Care and Use of Laboratory Animals of the Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW – n°#A5826-01). All procedures received approval from the local ethical committee (Comité d’Ethique en Expérimentation Animale CEA) and the French Ministry of Research (APAFIS#612-2015050514376362 v3). THY-Tau22 heterozygous mice (Schindowski et al., 2006b) expressing the 412 amino acids isoform of human Tau with 4-repeat domains (1N4R) and bearing the G272V and P301S point-mutations, were crossed with *Trem2*^{-/-} or *Trem2*^{+/+} littermate mice (Turnbull et al., 2006) to generate *Trem2*^{+/+};*Tau22* and *Trem2*^{-/-};*Tau22* mice. Both males and females were used for analysis in this study. All mice were backcrossed on a C57BL/6J genetic background.

Immunohistology

Mice were anesthetized by intraperitoneal injection of a lethal dose of pentobarbital. Tissues were fixed by cardiac perfusion with 15mL of 0.9% NaCl followed by 100mL of 4% paraformaldehyde. Brains

were then post-fixed for 24 hours in the same fixative before being transferred in PBS containing 30% sucrose and stored at 4°C until sectioning. Brains were cut coronally into 12 series of 30- μ m thick sections on a freezing sliding microtome (SM1020R; Leica™) and stored in cryoprotectant solution at -20°C until use.

For AT100, free-floating sections were incubated for 30 min with 0.3% H₂O₂ in PBS. After rinsing with 0.01 M PBS, 0.2% TritonX-100 (Sigma), sections were incubated 1 hour in blocking solution containing 4% normal goat serum (NGS) in PBS and transferred into primary antibody solution for incubation overnight at 4°C. After rinsing, sections were incubated with a goat anti-mouse IgG secondary antibody (1/1000 dilution into blocking solution) for 1 h at room temperature and revealed using Vectastain ABC Kit and a DAB substrate (Vector Laboratories) according to manufacturer's instructions. Sections were then mounted on slides and dehydrated in increasing ethanol concentrations and xylene before mounting using Eukitt (Dutscher, France).

For free-floating immunofluorescence, sections were incubated directly in blocking solution before transfer into primary antibody solutions for incubation overnight at + 4°C. After rinsing with 0.01 M PBS, sections were incubated for 1 hour at RT into blocking solution containing 1/1000 Alexa-coupled secondary antibodies (Thermo Fisher). AT8 immunostaining was amplified using CY3-coupled streptavidin diluted to 1/1000 in blocking solution (Sigma-Aldrich). Sections were then mounted on slides with Mowiol. For primary antibody dilutions, see supplementary table 1.

For Gallyas silver impregnation sections were washed 3 times in sterile 0.1 M PBS, mounted on slides and left for drying overnight. Sections were then permeabilized by incubation into toluene followed by decreasing ethanol concentrations (100%, 90% and 70%). Slides were then transferred into a 0.25% potassium permanganate for 15 min, incubated 2 min in 2% oxalic acid followed by a 60 min incubation into a solution containing 0.4g lanthanum nitrate, 2g sodium acetate and 30% hydrogen peroxide in a volume of 100mL. Slides were then rinsed 3 times with distilled water before incubation for 2 min in a solution containing 0.035% AgNO₃, 0.04g/ml of NaOH and 0.1g/ml KI. Reaction was then stopped by rinsing with 0.5% acetic acid and development performed by incubation for 20min in a solution containing 2g/L NH₄NO₃, 2g/L AgNO₃, 10g/L tungstosilicic acid, 0.28% formaldehyde and 50g/L Na₂CO₃. Sections were then washed again in 0.5% acetic acid, incubated 5 min in 1% gold chloride before rinsing in distilled water. Fixation of the staining was then performed by washing sections 3 times in 1% sodium thiosulfate, after which sections were dehydrated in increasing ethanol concentrations and xylene before mounting using Eukitt (Dutscher, France).

Image analysis

Images of AT8/Iba1/DAPI, pSer422/GFAP immunostainings and Gallyas were acquired at 20X using the slide scanner Axio ScanZ.1 (Carl Zeiss, Jena, Germany). Files acquired were then converted into TIFF format and reduced to 50% of full resolution size. Manual segmentation of the CA1 region was performed on 3 sections of the hippocampus at 1.7, 2.3 and 2.9 mm posterior from bregma. For AT8,

Iba1, pSer422 and GFAP, the fluorescence levels were quantified with ImageJ, and Gallyas positive neurons were counted on those 3 sections. As a surrogate index of neuronal degeneration, the thickness of the pyramidal neuronal CA1 layer was assessed on the DAPI staining on three different areas and pooled for each section. The analysis of the AT100 labelling was performed with Mercator (ExploraNova™) by counting the number of AT100 positive neurons on 3 sections of the hippocampus at 1.7, 2.3, 2.9 mm posterior from bregma. All quantifications were performed blindly.

Real-time quantitative PCR

After euthanasia with a lethal dose of pentobarbital, animals were perfused by 30 mL sterile PBS to wash the brain from blood, then the hippocampus were dissected on ice and frozen in liquid nitrogen before storage at -80°C. Frozen hippocampus structures were lysed in 1 ml of TRIzol using Precellys homogenizer (Ozyme™). 200 µL of chloroform (Merck) were added in each tube before centrifugation at 12 000 g for 15 min at 6°C. Aqueous phase was separated and total RNA was precipitated by adding 250 µL isopropanol (VWR) and washed two times with 500µL 75% ethanol (VWR). Then, RNA was resuspended in 20 µL of RNase-free H₂O (Gibco) and RNA concentration was measured on a Nanodrop (Spectrophotometer ND-100, Labtech). The samples were stored at -80°C before transcriptomic analysis. *Ppia* and *Gapdh* were used as reference genes pair for quantification. Primers sequence are described in supplementary table 2.

Behavioral studies

Circadian activity: mice were monitored for 23 hours using a video camera and automatic tracking of the Ethovision™ software in Phenotyper™ chambers (Noldus Information Technology Inc). Food and drinking water were available ad libitum. Moving distance was quantified for each hour of the recording session in order to evaluate motor behavior and circadian rhythm.

Elevated Plus Maze: the maze was set at a height of 50 cm and consisted of four Plexiglas arms. Two of the arms have 15 cm high walls (closed arms), while the others two are open. Individual mice were placed in the middle section of the apparatus facing an open arm, and left to explore the maze for 6 minutes. Time spent in open and closed arms was measured by a video camera connected to a computer and analysed with Ethovision™ video-tracking system and frequency of head-dipping into open arms was analyzed by manual tracking.

Novel Object Recognition (NOR) test: memory was first evaluated using an object recognition test in a V-maze (Puighermanal et al., 2009). For this, a discrimination index, between -1 and 1, is calculated in order to evaluate an exploration preference for a new object (index 1) with respect to an already known object (index -1). The test is performed in a V-shaped chamber to reduce the variability associated with the experimenter. The device consists of two black Plexiglas arms and is illuminated at 50 lux at the end of each arm. For each phase, the distance traveled was measured by video-camera and analyzed with the EthoVision™ video-tracking system and the time spent exploring each object was measured

manually. During the first habituation phase, each mouse was placed at the angle of the V, and left in the maze without object for a 9 min training session. The next day, two identical objects (cylinders) were placed at the end of each arm in the same place, and the time spent by the mouse exploring each object was recorded for a session lasting 9 min. The third day one of the cylinder was replaced by a new object (i.e. a Lego™) and the test phase was recorded for 6 min. The discrimination index was calculated with the following formula: (time spent exploring new object - time to explore old object) / total time of exploration.

Morris Water Maze (MWM) test: the maze consisted in a large circular tank filled with an opaque mix of water and white painting kept between 20°C and 22°C. An escape platform was submerged 0.5 cm under the water level. Visual clues were provided by different geometrical forms placed on the four surrounding walls. On day first mice were trained to find the platform on 4 trials at 20–30 minutes interval, location of the platform and starting point of the mice being changed for each trial. Escape latency was defined as the time required for the mouse to reach the platform and to stay there for at least 3 s. During the subsequent learning phase, location of the platform remained the same and mice performed 3 trials every day for 5 days. Starting point was changed for each trial. If a mouse did not find the platform after 1 min the experimenter guides it to the platform and let it rest there for 30 s. Escape latency was recorded for each trial. Probe test was performed 72 h after the last training day in order to assess long term memory. During this phase, platform was removed and mice were let freely swimming in the pool for 1 min. The pool was divided in four virtual quadrants: the target quadrant (TQ) in which the platform was located, the quadrant opposite to the TQ (OQ), and the two quadrants adjacent to the TQ (AQ). Time spent in virtual quadrants and total distance to the platform previous location were measured.

Statistical analysis

Results are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Statistical analysis were carried out using Statistica 13 software (Statsoft, Tulsa, OK, USA), except for Sholl analysis and pSer422 and GFAP immunolabeling quantification which were processed with Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Data were assessed for normality and homogeneity of variance by the Levene test prior to analysis. Unless otherwise mentioned, data fulfilling the criteria were analyzed by two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc tests for pairwise comparisons. A non-parametric equivalent was used if normality and homogeneity of variance was not reached. Annotations used to indicate level of significance were as follows: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. To determine frequency distribution of the Ramification Index after Sholl analysis of microglia or astrocytes, a number of bins to classify the cells was established following the log₂ of sample size at the three studied ages, and the smallest value among the three time-points was selected for subsequent analysis. Statistical significance of distribution into bins was then assessed by χ^2 test. Results of the Phenotyper™ were analyzed by ANOVA repeated-measures, after confirmation of normality and homogeneity of variance by the

Levene test as well as sphericity by the Mauchly test. Results of the Elevated Plus Maze test were analyzed by Student's *t*-test after assessment of normality and homogeneity of variance by the Levene test. NOR test was analyzed by Student's *t*-test comparing the discrimination index to a value of 0. Learning phase of the MWM test was analyzed by ANOVA repeated-measures, after assessment of normality and homogeneity of variance by the Levene test as well as the sphericity by the Mauchly test. Results of the probe test were analyzed by Student's *t*-test comparing the percentage of time spent in each quadrant to a value of 25%.

Results

Trem2 deficiency leads to an increase of hyperphosphorylation and aggregation of Tau at 12 months in the THY-Tau22 mouse model.

To investigate the role of TREM2 signalling on the progression of tauopathy, we crossed *Trem2*^{-/-} mice (Turnbull et al., 2006) and wild-type littermates with THY-Tau22 heterozygous transgenic mice (Schindowski et al., 2006) to generate four different genotypes: THY-Tau22^{Tg/-}:*Trem2*^{+/+}, THY-Tau22^{Tg/-}:*Trem2*^{-/-}, THY-Tau22^{-/-}:*Trem2*^{+/+}, THY-Tau22^{-/-}:*Trem2*^{-/-}, referred below as Tau22, Tau22:*Trem2*^{-/-}, wild-type and *Trem2*^{-/-} respectively. We first evaluated in CA1 layer of the hippocampus Tau hyperphosphorylation by immunofluorescence using antibodies raised against pSer202/pThr205 (AT8), pSer422, and Tau mis-conformation by immunohistochemistry using AT100 (recognizing misconformed Tau at pThr212/pSer214). Quantification of fluorescence levels for markers of hyperphosphorylation or AT100+ cells counting did not reveal any significant difference between Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} at 3 months (Mann-Whitney test, p=0.91 for AT8, Figure S1A-B; Student's *t*-test, p=0.30 for pSer422, Figure S1C-D; Student's *t*-test, p=0.44 for AT100, Figure S1E-F) and 6 months of age (Student's *t*-test, p=0.19 for AT8, Figure S1A-B; p=0.74 for pSer422, Figure S1C-D; p=0.70 for AT100, Figure S1E-F). Interestingly, TREM2 deficiency led to a significant increase of tauopathy at a later pathological stage. At 12 months, Tau22:*Trem2*^{-/-} mice indeed showed more AT8 labelling (multifactorial ANOVA, F=4.5, p=0.045, Figure 1A-B), as well as higher number of AT100-positive (multifactorial ANOVA, F=24.43, p<0.001, Figure 1E-F) and Gallyas-positive neurons (multifactorial ANOVA, F=5.841, p=0.025, Figure 1G-H) as compared to littermate Tau22 mice. Such worsening of tauopathy due to TREM2 deficiency was similar in males and females (Figure S2). To exclude the possibility that exacerbated tauopathy in a TREM2-deficient context resulted from an increase in transgene expression, we used RT-QPCR to quantify human MAPT expression. No difference was observed between Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} animals at any studied age (Figures 1I and S1G-H).

Tauopathy worsening in Trem2-deficient Tau22 mice is associated with microglial sub-activation.

Given the previous data obtained in THY-Tau22 model and associating microglial activation to Tau pathology development (Ising et al., 2019; Laurent et al., 2017), we next examined whether TREM2 deficiency led to a change in the neuroinflammatory response generated by tauopathy. To assess the microglia response, we quantified the intensity of Iba1 immunolabeling as an index of activation state, and we counted the number of microglial cells using the nuclear marker PU.1, a monocyte-specific transcription factor expressed in myeloid cells and lymphoid B cells (Mak et al., 2011). There was no difference in the overall level of Iba1 immunofluorescence in the CA1 layer between the 4 genotypes at 3 months (multifactorial ANOVA, $F=2.41$, $p=0.13$ for the *Trem2* genotype, $F=0.019$, $p=0.89$ for Tau22, Figure S3A-B), 6 months (multifactorial ANOVA $F=1.42$, $p=0.24$ for *Trem2* genotype and $F=0.53$, $p=0.47$ for Tau22, Figure S3C-D) or 12 months (Kruskal-Wallis ANOVA, $p=0.13$, Figure 2A-B). Moreover, all genotypes exhibited the same number of PU.1 positive nuclei at 6 or 12 months (Figures S3F-G and 2C-D). To further characterize the microglial activation state, we also performed a Sholl analysis (Figure 2E-J). Analysis of the microglial ramification index in Tau22 animals indicated that the cells adopted a more amoeboid morphology with age, a phenomenon which was significantly attenuated in TREM2-deficient animals (Figure 2G). The classification of cells according to the ramification index particularly revealed a significantly smaller ramification index in Tau22 mice compared to Tau22:*Trem2*^{-/-} at 12 months of age (Figure 2H-J). We also observed an increase in the ramification index with age in wild-type and *Trem2*^{-/-} animals, but no effect of TREM2 deficiency in this context (Figure S3I-L). Overall, these data suggest a close association between the reduced microgliosis observed in TREM2-deficient Tau22 animals and the worsening of tauopathy observed in aged animals. Finally, we also used RT-QPCR to evaluate the expression of a set of genes involved in neuroinflammatory processes (Figures 3, S4 and S5). Regardless of their *Trem2* genotype, 3 months-old Tau22 mice expressed higher levels of *Gfap* (multifactorial ANOVA, $F=21.35$, $p < 0.001$) and *Serpina3n* (multifactorial ANOVA, $F=18.13$, $p < 0.001$) compared to WT, two markers of reactive astrocytes, as well as *Tmem119* (multifactorial ANOVA, $F=6.31$, $p=0.017$) and *Aif1* (Kruskal-Wallis ANOVA by multiple comparison, $p=0.046$), two microglial markers. At this age, only *Dap12* (multifactorial ANOVA, $F=11.71$, $p=0.0018$) and the pro-inflammatory cytokine *Tnfa* (multifactorial ANOVA, $F=5.75$, $p=0.041$) were significantly down-regulated on the Tau22:*Trem2*^{-/-} animals compared to Tau22 (Figure S4). At 6 months (Figure S5), only *Gfap* (multifactorial ANOVA, $F=7.08$, $p=0.016$) and *Tnfa* (multifactorial ANOVA, $F=4.751$, $p=0.0421$) were significantly upregulated in Tau22 mice, whether they express *Trem2* or not. Consistent with our histological results, most of the microglial markers were up-regulated in 12 month-old Tau22 animals compared to wild-type (Figure 3). Interestingly, the markers of microglial activation towards a less homeostatic state (*CD68*, *Dap12*, *Aif1*, *Il-1b*, *Tgfb*, *Tmem119*) were significantly down-regulated in Tau22:*Trem2*^{-/-} animals compared to Tau22. Of note at that age, a sex-dependent effect was observed for some genes, whose differential expression was more accentuated in males: *Cd68* (multifactorial ANOVA, $F=9.16$, Bonferroni post-hoc test, $p=0.0006$), *Aif1* (Kruskal-Wallis ANOVA by multiple comparison, $p=0.027$), *Tgf-β* (multifactorial

ANOVA, $F=6.56$; Bonferroni hoc, $p=0.0047$) and *Gfap* (Kruskal-Wallis ANOVA by multiple comparison, $p=0.0034$) were significantly up-regulated only in Tau22 males compared to wild-type. Recent evidences suggest that activated microglia can regulate astrocytes reactivity (Liddel et al., 2017). Hence, we tested the hypothesis that reduced microglial activation in TREM2 deficient mice could impact astrogliosis. We quantified the expression level of GFAP on immunostained sections (Figures 4 and S6). In agreement with the literature (Laurent et al., 2016; Laurent et al., 2017; Schindowski et al., 2006), expression of the Tau transgene induced a strong astrogliosis throughout the hippocampus and in particular in the CA1 layer (multifactorial ANOVA, $F=21.075$, $p < 0.001$). However, TREM2 deficiency did not influence astroglial activation (Figure 4A-B). To catch potential subtle changes in astrocyte morphology indicative of astrocyte reactivity, we also performed a Sholl analysis of these cells and did not uncover change in complexity in Tau22:*Trem2*^{-/-} animals at any time-points tested (Figure 4C-G).

TREM2-deficiency has a limited impact on hippocampal morphology in THY-Tau22 mice.

We next assessed whether TREM2 deficiency was associated with a faster degeneration of CA1 pyramidal neurons which strongly develop Tau pathology in this mouse model. To that aim, we quantified the area of CA1 and the thickness of the pyramidal neurons nuclei layer as surrogate markers of hippocampal atrophy. Already at three months, we observed a thinner CA1 pyramidal nuclei layer in Tau22 animals independently of *Trem2* genotype (multifactorial ANOVA, $F=14.36$, $p < 0.001$, Figure 5A-B), reaching 17% decrease at 12 months of age (Mann Whitney, $p < 0.001$, Figure 5E-F). The six months' time-point showed the same tendency, although not significantly due to small sample size and greater heterogeneity (Kruskal-Wallis ANOVA by multiple comparison, $p=0.19$, Figure 5C-D). This result was corroborated by quantification of the whole CA1 layer area, that was significantly reduced in Tau22 mice compared to wild-type at six (multifactorial ANOVA, $F=8.07$, $p=0.0086$, Figure 5H) and twelve months (multifactorial ANOVA, $F=7.85$, $p=0.0075$, Figure 5I) regardless of *Trem2* genotype. Interestingly, this quantification revealed a slightly higher CA1 area in Tau22:*Trem2*^{-/-} animals compared to Tau22 at 6- (13% increase) and 12 (10% increase) months of age (Figure 5H-I). These results show that TREM2 deficiency mitigates CA1 atrophy induced by Tau pathology.

The poor performance of Tau22 mice in cognitive tests is not restored by Trem2 deficiency.

To investigate whether differences in tauopathy, neuroinflammation and neurodegeneration observed in Tau22:*Trem2*^{-/-} mice compared to Tau22 led to behavioural changes, we carried out a battery of cognitive tests on these animals at the age of 10 months, as well as on wild-type and *Trem2*^{-/-} littermate controls. These two control groups performed equally well in all the tests, therefore showing that TREM2 deficiency in itself had no effect on mice performance (Figure S7). Conversely, and as expected, THY-Tau22 mice exhibited important behavioural dysfunction (Figure 6). The PhenotyperTM did not reveal any significant difference in the basal activity between Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} mice

(ANOVA repeated-measures, $F=1.29$, $p=0.27$, Figure 6A), indicating that TREM2 deficiency does not seem to impact the overall mice activity. However, it should be noted that TREM2 deficient mice showed a trend toward increased activity at the beginning of the dark phase (i.e. between 11h and 17h) and of the light phase (i.e. between 22h and 23h), and conversely a trend toward decreased activity at the end of the dark phase (i.e. between 18h and 21h), without these differences reaching statistical threshold. In the elevated plus maze, Tau22:*Trem2*^{-/-} mice showed a tendency to spend more time in the open arms (Student's t-test, $p=0.063$; Figure 6C). In addition, Tau22:*Trem2*^{-/-} mice spent significantly more time leaning at the edges of the maze (Student's t-test, $p=0.0061$; Figure 6D). It should also be noted that all mice have spent ~ 50% of the time in the open arms, thereby demonstrating a low level of general anxiety of Tau22 mice compared to wild-type mice (Figures 6C-D and S7C-D). In the NOR test, we did not detect any difference between Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} mice (Student's t-test, $p=0.81$; Figure 6B). In addition, none of the groups explored the novel object significantly more than the familiar one (Student's t-test with respect to 0, $p=0.12$ for Tau22 mice, $p=0.26$ for Tau22:*Trem2*^{-/-}). Tau22 mice therefore presented a memory defect at 10 months related to object recognition, which was not rescued by TREM2 deficiency. In the MWM test, the latency to find the platform significantly decreased over days for both groups (ANOVA repeated-measures, $p < 0.001$; Figure 6E). Furthermore, no difference in learning was observed between Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} mice, showing that TREM2 deficiency has no further effect on the learning ability in 10-month-old Tau22 mice (ANOVA repeated-measures, $p=0.65$; Figure 6E). We next assessed long-term memory using a retention test performed 72 hours after the last training day. None of the group showed a preference for the target quadrant (Student's t-test relative to 25%, $p=0.11$ for Tau22 mice, $p=0.26\%$ for Tau22:*Trem2*^{-/-} mice; Figure 6F), showing an overall long-term memory deficit for Tau22 mice, which was not impacted by TREM2 expression. overall, this behavioural study showed that THY-Tau22 mice had important memory deficits at 10 months, which were neither worsened nor rescued by TREM2 deficiency.

Discussion

Deciphering the role of microglia in the progression of tauopathy is an important issue for understanding the etiology of Alzheimer's disease and the search for new therapeutic avenues for this pathology. In this context, the TREM2 microglial receptor is of particular importance because some of its polymorphisms increase the risk of developing the disease (Guerreiro et al., 2013; Jonsson et al., 2013), and TREM2 signaling has been shown to lead to the appearance of a subpopulation of microglial cells characteristic of neurodegenerative diseases (Keren-Shaul et al., 2017). Several studies have reported the potential of TREM2 in mouse models of tauopathy, with partially contradictory results. Here, we investigated the effect of invalidation of *Trem2* on THY-Tau22 mice, a well-characterized model of Tauopathy. We observed an increased Tau hyperphosphorylation and a greater number of neurons

containing aggregated forms, only in the advanced stages of the pathology. This increase in tauopathy lesions was associated to a slight but significant decrease in microglial activation.

Based on the hypothesis that less neuroinflammation in *Trem2*^{-/-} mice would allow a better functioning of remaining neurons that are not affected by tauopathy, we carried out a behavioral study on 10 month-old animals. TREM2 deficiency having a slightly neuroprotective effect resulting in a preservation of the volume of the CA1 layer at this age (Figure 5I), we expected to observe better cognitive performances in *Tau22:Trem2*^{-/-} mice. The NOR and the MWM tests however showed that *Trem2* invalidation had no effect on THY-Tau22 mice memory deficits at this age (Figure 6). This suggests that in the THY-Tau22 model, reducing microgliosis does not lead to improve function of neurons that remain functional at 10 months of age and could be impaired by microglia-mediated neuroinflammation. Importantly, we carried out these experiments at an age at which the deficits of the mice are maximum (Schindowski et al., 2006; Van der Jeugd et al., 2013b). Therefore, it remains possible that the increase Tau pathology seen in *Trem2*-deleted *Tau22* mice, which is fairly correlated to memory deficits in this model (Van der Jeugd et al., 2013b), cannot translate at late stage with further detrimental effects on memory abilities. This would require additional behavioral analysis at an earlier time, i.e. when the deficits of THY-Tau22 mice are still subtle. Importantly, we show here that *Trem2*^{-/-} mice are not different from wild-type mice in all the behavioral tests we have studied (Figure S7), thus ensuring that invalidation of this gene in itself does not induce any bias that would complicate the interpretation of these experiments.

The effect of TREM2 deficiency has already been studied in several transgenic models of pure tauopathy. The first studies published by Jiang et al. suggest that activation of the TREM2 signaling pathway in the PS19 transgenic line reduces neurodegeneration and hyperphosphorylation of Tau (Jiang et al., 2014; Jiang et al., 2015). However, it is difficult to compare these results with our study, because in the case of the work of Jiang et al., the modulation of TREM2 signaling pathway was based on lentiviral gene transfer to overexpress or silence *Trem2* expression *in vivo*. In addition, these studies did not provide definitive proof of efficient microglial targeting by gene transfer. Other studies used a methodology similar to ours, based on crossing tauopathic mice with *Trem2* knockout mice, but with different models of tauopathy. Leyns et al. showed that TREM2 deficiency leads to a decrease in neurodegeneration and neuroinflammation in PS19 mice (Leyns et al., 2017). This is in line with our results showing that TREM2 is involved in the microglial activation in response to tauopathy, this effect is however less marked in our study most certainly because the microglial activation is stronger in the PS19 model than in the THY-Tau22 model, and occurs even before the appearance of lesions characteristic of tauopathy (Yoshiyama et al., 2007). In sharp contrast, Leyns et al. did not observe changes in the course of tauopathy, while our data report a significant enhancement. A second study also based on the PS19 line reports similar results on the course of tauopathy in animals deficient in TREM2 (*Trem2*^{-/-}), but surprisingly an increase in tauopathy in haplo-insufficient animals (*Trem2*^{+/-}) (Sayed et al., 2018). Bemiller et al. used the hTau mouse line which expresses all the wild-type human

isoforms of Tau in a knockout context for the mouse *Mapt* gene (Andorfer et al., 2003). In this model, TREM2 deficiency also led to a reduction in microgliosis, but also to an increase in hyperphosphorylation and aggregation of Tau in the cortex (Bemiller et al., 2017), contrarily to what was observed in the PS19 transgenic line. This is in line with our own results and strongly suggests that a decrease in microglial activation induces an increase in tauopathy lesions which can be explained in several ways. The absence of microglial activation may lead to an acceleration of tauopathy in neurons by a modification of the crosstalk between these two cell types, which is known to take place by multiple signaling pathways such as neurotransmitters, cytokines, or purinergic receptors (De Schepper et al., 2020). Alternatively, it is possible that the decrease in microglial activation slows the clearance of damaged and dysfunctional Tau-bearing neurons. The fact that we observe a slight increase in the surface area of CA1 in the present study (Figure 5G-I) and a decrease in the expression of markers of microglial activation (Figure 3) is rather in favor of this last hypothesis which is further reinforced by the fact that the microglia are able to phagocytose pathological species of the Tau protein (Hopp et al., 2018). A strong astrogliosis occurs in THY-Tau22 mice, as we have shown here (Figures 4 and S6) and previously (Laurent et al., 2017; Schindowski et al., 2006). This astrogliosis was unchanged in Tau22:*Trem2*^{-/-} mice suggesting that microglial homeostatic state has no effect on astrocyte activation in THY-Tau22 mice, excluding a role of the TREM2 signalling pathway in this context.

Initially, the role of TREM2 in AD was studied in animal models of amyloidosis (Jay et al., 2017; Jay et al., 2015; Parhizkar et al., 2019; Wang et al., 2015; Wang et al., 2016; Yuan et al., 2016), because it has long been known that reactive microglia are found in the immediate vicinity of senile plaques. Although the first published studies initially seemed to report conflicting results, there now seems to be a consensus that TREM2 engagement contributes to the maintenance of microglial metabolism in an active state that allows these cells to contain the progression of the amyloid load by compacting senile plaques (Ulland et al., 2017; Wang et al., 2016). Very interestingly, a recent publication reports the effect of TREM2 deficiency in a model exhibiting both β -amyloid accumulation and lesions characteristic of tauopathy obtained by injection of patients' brain extracts into APPPS1-21 mice (Leyns et al., 2019). This study suggests that microglia could be a major player in the link between amyloid load and the progression of tauopathy. TREM2, by allowing the activation of microglia leading to the compaction of plaques (McQuade et al., 2020; Wang et al., 2016), would slow down this phenomenon. In this hypothesis, it appears rational to develop TREM2 agonists in order to explore new therapeutic avenues for AD (Cignarella et al., 2020; Price et al., 2020; Wang et al., 2020). On the other hand, the effects of TREM2 deficiency that we describe here, or those described by others (Leyns et al., 2017), in a context of pure tauopathy suggest that activating TREM2 could lead to a deleterious increase in microglial activation subsequent to tauopathy. To validate a therapeutic strategy targeting microglia and its TREM2 receptor, it therefore appears crucial to study its effects in pure models of either amyloid β accumulation or tauopathy but also in mixed models presenting these two types of lesions.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Fondation Vaincre Alzheimer (grant LECMA-Vaincre Alzheimer #FR-15055), and by ‘NeurATRIS ANR-11-INBS-0011’, of the French Investissements d’Avenir Program run by the Agence Nationale pour la Recherche. DB and LB are supported by programs d’investissements d’avenir LabEx (excellence laboratory) DISTALZ (Development of Innovative Strategies for a Transdisciplinary approach to ALZheimer’s disease) and ANR (ADORASTraU ANR-18-CE16-0008 and CoEN 5008). AV received a doctoral fellowship from Université Paris-Saclay (Doctorate school 568 BIOSIGNE) and CD is the recipient of a doctoral fellowship from the “IDI 2017” project funded by the IDEX Paris-Saclay, ANR-11-IDEX-0003-02.

References

- Andorfer, C., et al., 2003. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J Neurochem.* 86, 582-90.
- Asai, H., et al., 2015. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci.* 18, 1584-93.
- Bemiller, S. M., et al., 2017. TREM2 deficiency exacerbates tau pathology through dysregulated kinase signaling in a mouse model of tauopathy. *Mol Neurodegener.* 12, 74.
- Chatterjee, S., et al., 2018. Reinstating plasticity and memory in a tauopathy mouse model with an acetyltransferase activator. *EMBO Mol Med.* 10.
- Cignarella, F., et al., 2020. TREM2 activation on microglia promotes myelin debris clearance and remyelination in a model of multiple sclerosis. *Acta Neuropathol.* 140, 513-534.
- Cipriani, G., et al., 2011. Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurol Sci.* 32, 275-9.
- De Schepper, S., et al., 2020. Understanding microglial diversity and implications for neuronal function in health and disease. *Dev Neurobiol.*
- Gratuze, M., et al., 2020. Impact of TREM2R47H variant on tau pathology-induced gliosis and neurodegeneration. *J Clin Invest.* 130, 4954-4968.
- Guerreiro, R., et al., 2013. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 368, 117-27.
- Hebert, L. E., et al., 2013. Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. *Neurology.* 80, 1778-83.
- Hopp, S. C., et al., 2018. The role of microglia in processing and spreading of bioactive tau seeds in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 15, 269.
- Ising, C., et al., 2019. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology. *Nature.*

- Jay, T. R., et al., 2017. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 37, 637-647.
- Jay, T. R., et al., 2015. TREM2 deficiency eliminates TREM2⁺ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models. *J Exp Med.* 212, 287-95.
- Jiang, T., et al., 2014. Upregulation of TREM2 ameliorates neuropathology and rescues spatial cognitive impairment in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology.* 39, 2949-62.
- Jiang, T., et al., 2015. Silencing of TREM2 exacerbates tau pathology, neurodegenerative changes, and spatial learning deficits in P301S tau transgenic mice. *Neurobiol Aging.* 36, 3176-86.
- Jonsson, T., et al., 2013. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 368, 107-16.
- Keren-Shaul, H., et al., 2017. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell.* 169, 1276-1290 e17.
- Krasemann, S., et al., 2017. The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Immunity.* 47, 566-581 e9.
- Laurent, C., et al., 2018. Tau and neuroinflammation: What impact for Alzheimer's Disease and Tauopathies? *Biomed J.* 41, 21-33.
- Laurent, C., et al., 2016. A2A adenosine receptor deletion is protective in a mouse model of Tauopathy. *Mol Psychiatry.* 21, 97-107.
- Laurent, C., et al., 2017. Hippocampal T cell infiltration promotes neuroinflammation and cognitive decline in a mouse model of tauopathy. *Brain.* 140, 184-200.
- Leyns, C. E. G., et al., 2019. TREM2 function impedes tau seeding in neuritic plaques. *Nat Neurosci.* 22, 1217-1222.
- Leyns, C. E. G., et al., 2017. TREM2 deficiency attenuates neuroinflammation and protects against neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114, 11524-11529.
- Liddel, S. A., et al., 2017. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 541, 481-487.
- Mak, K. S., et al., 2011. PU.1 and Haematopoietic Cell Fate: Dosage Matters. *Int J Cell Biol.* 2011, 808524.
- Maphis, N., et al., 2015. Reactive microglia drive tau pathology and contribute to the spreading of pathological tau in the brain. *Brain.*
- McQuade, A., et al., 2020. Gene expression and functional deficits underlie TREM2-knockout microglia responses in human models of Alzheimer's disease. *Nat Commun.* 11, 5370.
- Parhizkar, S., et al., 2019. Loss of TREM2 function increases amyloid seeding but reduces plaque-associated ApoE. *Nat Neurosci.* 22, 191-204.
- Price, B. R., et al., 2020. Therapeutic Trem2 activation ameliorates amyloid-beta deposition and improves cognition in the 5XFAD model of amyloid deposition. *J Neuroinflammation.* 17, 238.

- Puighermanal, E., et al., 2009. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci.* 12, 1152-8.
- Sayed, F. A., et al., 2018. Differential effects of partial and complete loss of TREM2 on microglial injury response and tauopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 115, 10172-10177.
- Schindowski, K., et al., 2006. Alzheimer's disease-like tau neuropathology leads to memory deficits and loss of functional synapses in a novel mutated tau transgenic mouse without any motor deficits. *Am J Pathol.* 169, 599-616.
- Serrano-Pozo, A., et al., 2011. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1, a006189.
- Stancu, I. C., et al., 2019. Aggregated Tau activates NLRP3-ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo. *Acta Neuropathol.* 137, 599-617.
- Turnbull, I. R., et al., 2006. Cutting edge: TREM-2 attenuates macrophage activation. *J Immunol.* 177, 3520-4.
- Ulland, T. K., et al., 2017. TREM2 Maintains Microglial Metabolic Fitness in Alzheimer's Disease. *Cell.* 170, 649-663 e13.
- Van der Jeugd, A., et al., 2011. Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission. *Neurobiol Learn Mem.* 95, 296-304.
- Van der Jeugd, A., et al., 2013a. Observations in THY-Tau22 mice that resemble behavioral and psychological signs and symptoms of dementia. *Behav Brain Res.* 242, 34-9.
- Van der Jeugd, A., et al., 2013b. Progressive age-related cognitive decline in tau mice. *J Alzheimers Dis.* 37, 777-88.
- Wang, S., et al., 2020. Anti-human TREM2 induces microglia proliferation and reduces pathology in an Alzheimer's disease model. *J Exp Med.* 217.
- Wang, Y., et al., 2015. TREM2 Lipid Sensing Sustains the Microglial Response in an Alzheimer's Disease Model. *Cell.* 160, 1061-71.
- Wang, Y., et al., 2016. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *J Exp Med.* 213, 667-75.
- Webers, A., et al., 2019. The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease. *Immunol Cell Biol.*
- Yoshiyama, Y., et al., 2007. Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model. *Neuron.* 53, 337-51.
- Yuan, P., et al., 2016. TREM2 Haplodeficiency in Mice and Humans Impairs the Microglia Barrier Function Leading to Decreased Amyloid Compaction and Severe Axonal Dystrophy. *Neuron.* 92, 252-264.

Figure and legends

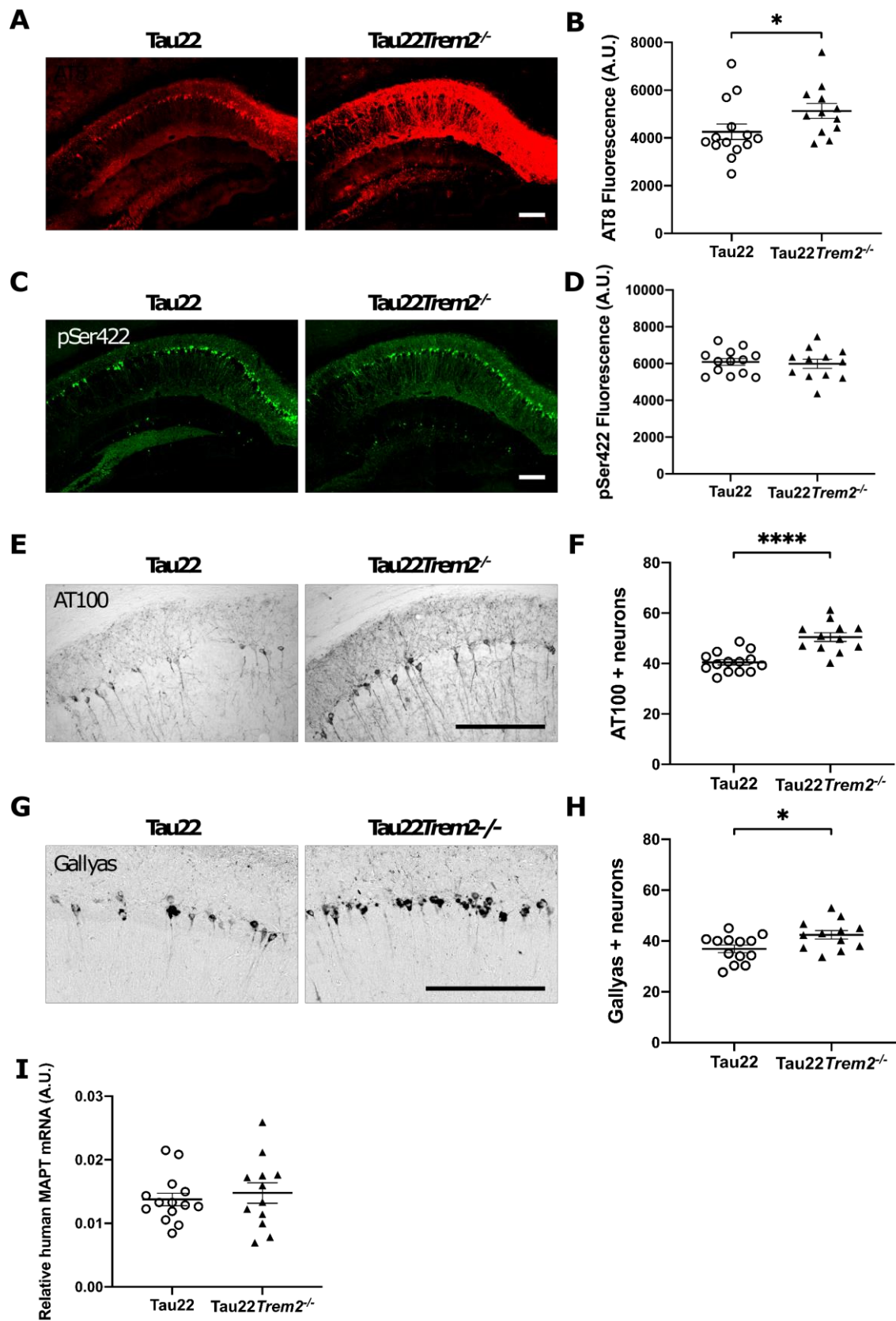


Figure 1: TREM2 deficiency led to an increase in Tau phosphorylation and aggregation at 12 months in Tau22 mice. Immunofluorescence labelling of the CA1 layer of the hippocampus using the human

phospho-Tau specific epitopes AT8 (A) and pSer422 (C). Fluorescent signal intensity of the whole CA1 layer was quantified using ImageJ (B, D). Tau misconformation was revealed by AT100 immunohistochemical staining (E) and positive neurons were manually counted in each group (F). Mature aggregates were detected using Gallyas staining (G) and manually counted in each group (H). Consistency of THY-Tau22 transgene expression among groups was assessed by RT-QPCR on the human MAPT gene on hippocampal samples, and showed that *Trem2* genotype did not modify transgene expression (I). Results were normalised by expression of the housekeeping genes *Gapdh* and *Ppia*. Data represents mean \pm SEM. Scale bar: 200 μ m.

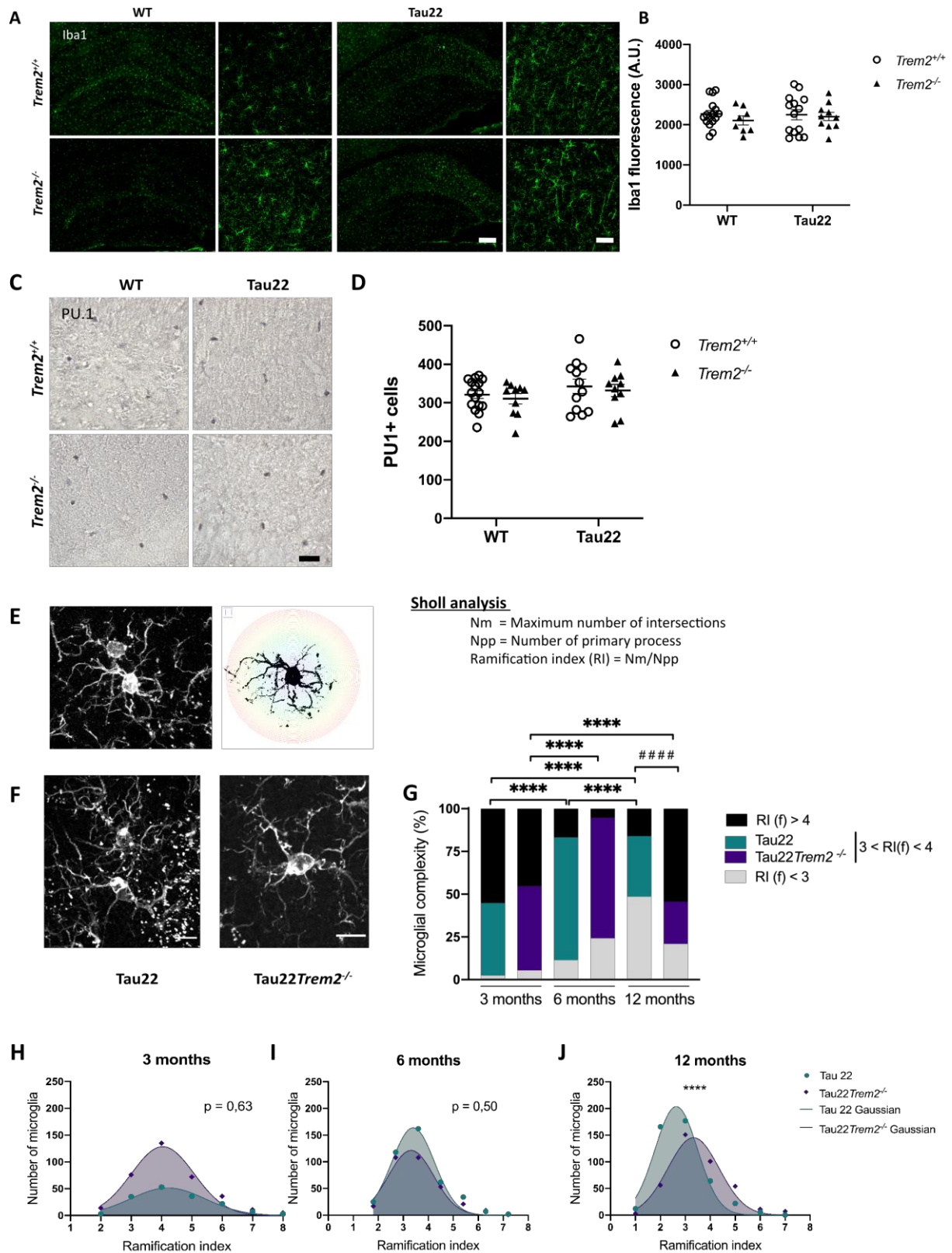


Figure 2: Morphological characterization of microglia in 12 month-old mice showed a reduced microglial activation in $Tau22:Trem2^{-/-}$ animals. (A) Representative micrographs of Iba1 immunofluorescence and (B) quantification of the signal of wild-type, $Trem2^{-/-}$, $Tau22$ and $Tau22:Trem2^{-/-}$ animals. (C) Representative micrographs of PU.1 immunohistochemical staining and (D) PU.1 positive nuclei counts in wild-type, $Trem2^{-/-}$, $Tau22$ and $Tau22:Trem2^{-/-}$ animals. (E)

Representative confocal image of an Iba1 stained microglia (left) and corresponding binarization (right) for Sholl analysis. The formula for calculating the ramification index is summarized on the right. (F) Representative confocal images of Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} microglia. Data in B and D represents mean ± SEM. (G-J) Sholl analysis of microglial morphology in the CA1 layer based on Iba1 staining for Tau22 and Tau:*Trem2*^{-/-} animals at 3-, 6- and 12 months of age. A significant decrease in the morphology of microglial complexity is observed with age in both groups although to a lesser extent in Tau22:*Trem2*^{-/-} animals. Consequently microglia have a significantly less amoeboid phenotype in Tau22:*Trem2*^{-/-} mice compared to Tau22 at 12 months of age. Scale bars: 200µm in A (left), 50µm in A (right) and C, 10µm in E and F.

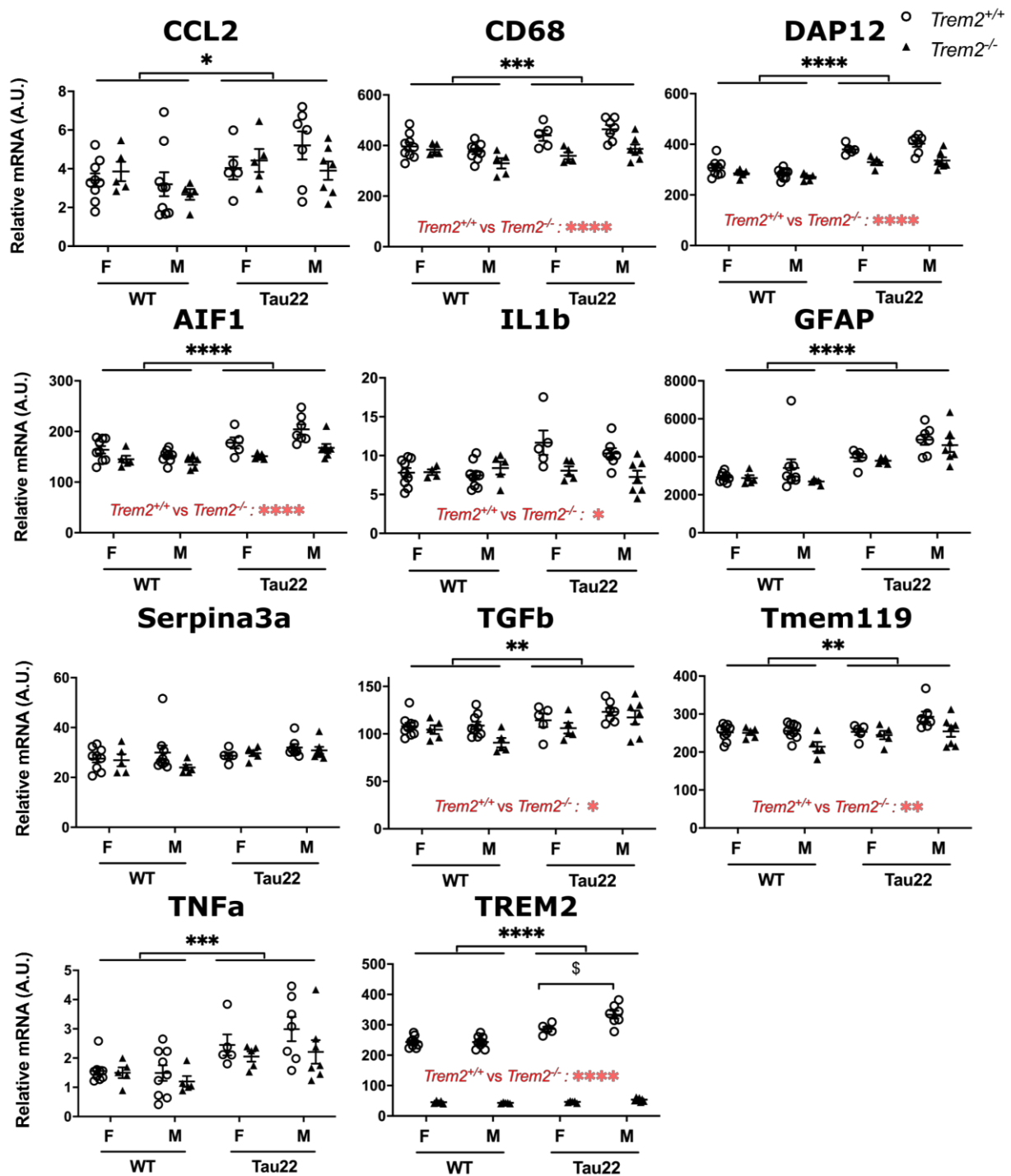


Figure 3: Level of expression of neuroinflammatory genes quantified by RT-QPCR at twelve months of age. mRNA were extracted from total hippocampus. Results were normalized using *Gapdh* and *Ppia* housekeeping genes expression. Statistical data reported in black refers to the effect of THY-Tau22 transgene expression, and in red refers to differences between *Trem2*^{+/+} and *Trem2*^{-/-} mice, independently of the THY-Tau22 genotype. Data are presented as mean ± SEM. §: $p=0.0011$

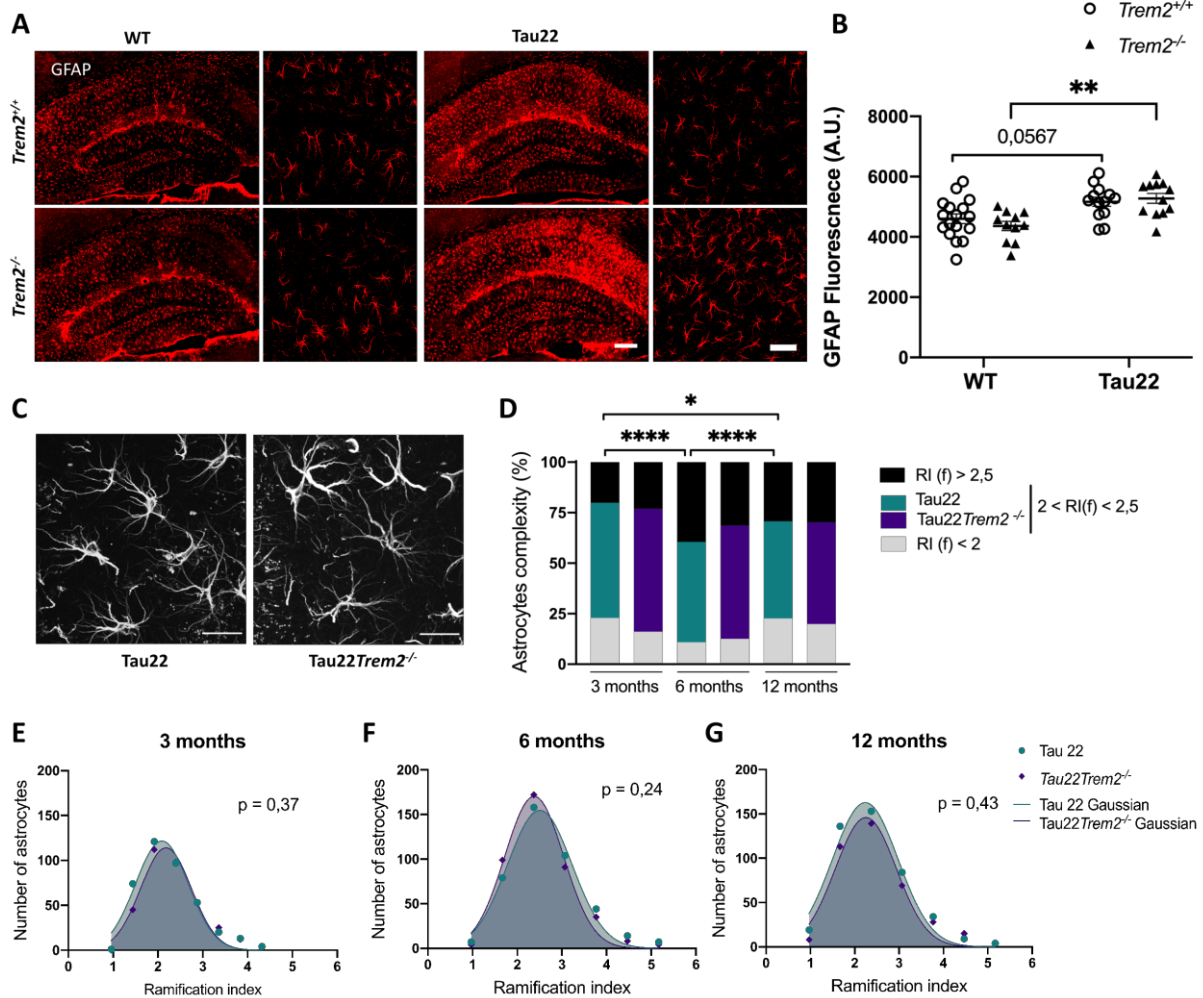


Figure 4: The strong astrogliosis occurring in Tau22 mice was not affected by TREM2 deficiency. (A) GFAP immunofluorescence showing the strong astrogliosis induced by expression of the THY-Tau22 transgene in the CA1 layer of 12 months-old animals. (B) Quantification of GFAP immunofluorescence in CA1 layer. (C) Representative confocal images of GFAP immunofluorescence used for Sholl analysis of astrocytes morphology. (D-G) Sholl analysis of astrocytic morphology in the CA1 layer based on GFAP staining for Tau22 and Tau22:Trem2^{-/-} animals at 3-, 6- and 12 months of age. Repartition of the ramification (RI) is similar in the two groups at 3-, 6- and 12 months of age (E-G), indicating that astrogliosis is similar between Tau22 and Tau22:Trem2^{-/-} animals. Scale bar : 200µm in A (left), 50µm in A (right), 20µm in C.

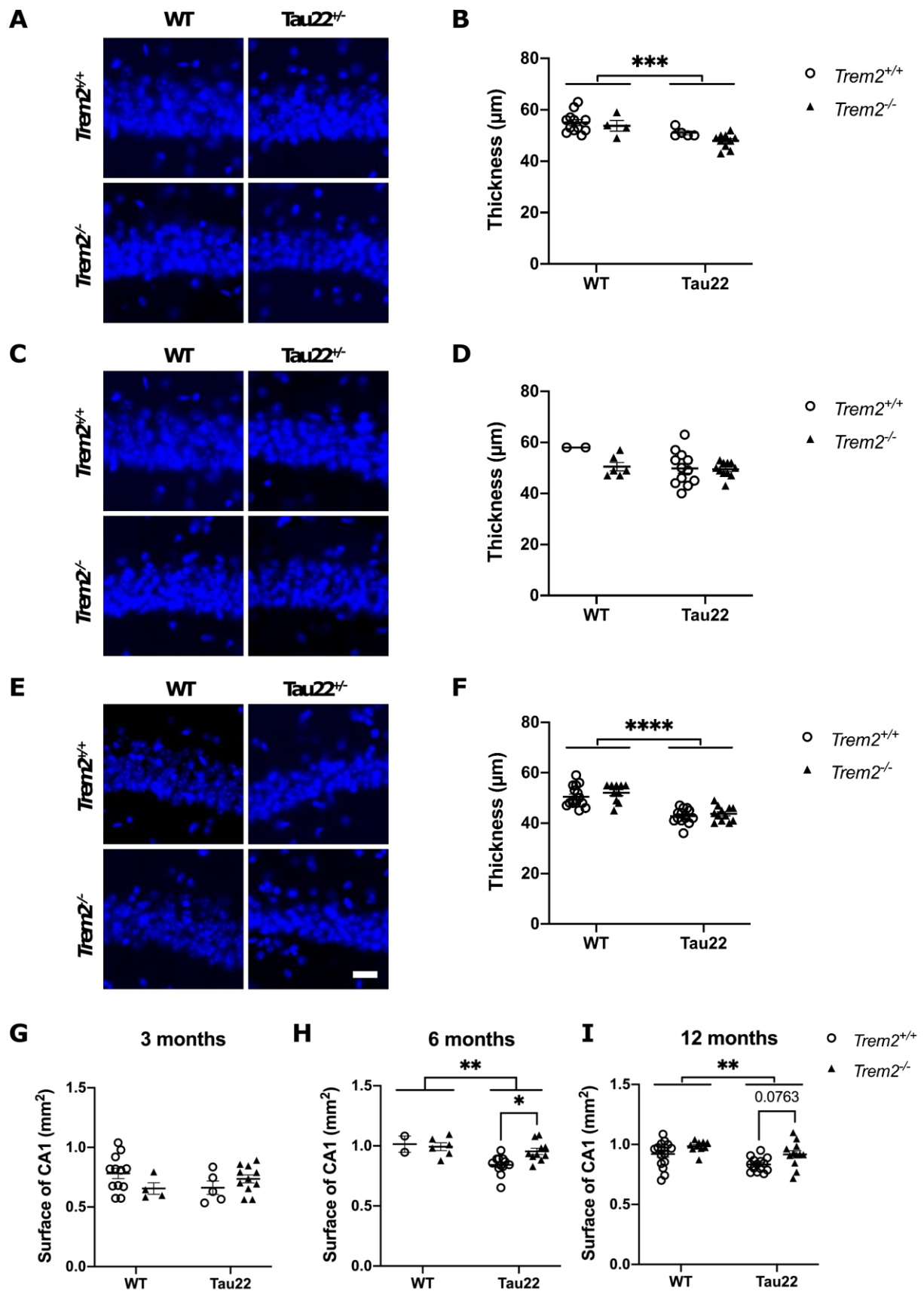


Figure 5: Assessment of neuronal degeneration in the CA1 layer of the hippocampus at 3, 6 and 12 months. Representative epifluorescence micrographs showing DAPI-stained nuclei in wild-type, $Trem2^{-/-}$, $Tau22$ and $Tau22:Trem2^{-/-}$ animals at 3- (A), 6- (C) and 12 months. (E). Quantification of pyramidal

nuclei layer thickness at 3- (B), 6- (D) and 12 months (F) showed a significant cell loss in THY-Tau22 expressing mice and no effect of TREM2 deficiency. Atrophy was estimated by quantification of CA1 area on coronal sections (G-I). In accordance with measurement of pyramidal neuronal nuclei layer thickness, a significant atrophy was detected in Tau22 mice at 6- (H) and 12 months (I). At both time-points, CA1 area was partially protected from shrinkage in TREM2 deficient mice (H-I, $p=0.0763$ at 12 months). Data represents mean \pm SEM. Scale bar: 20 μ m.

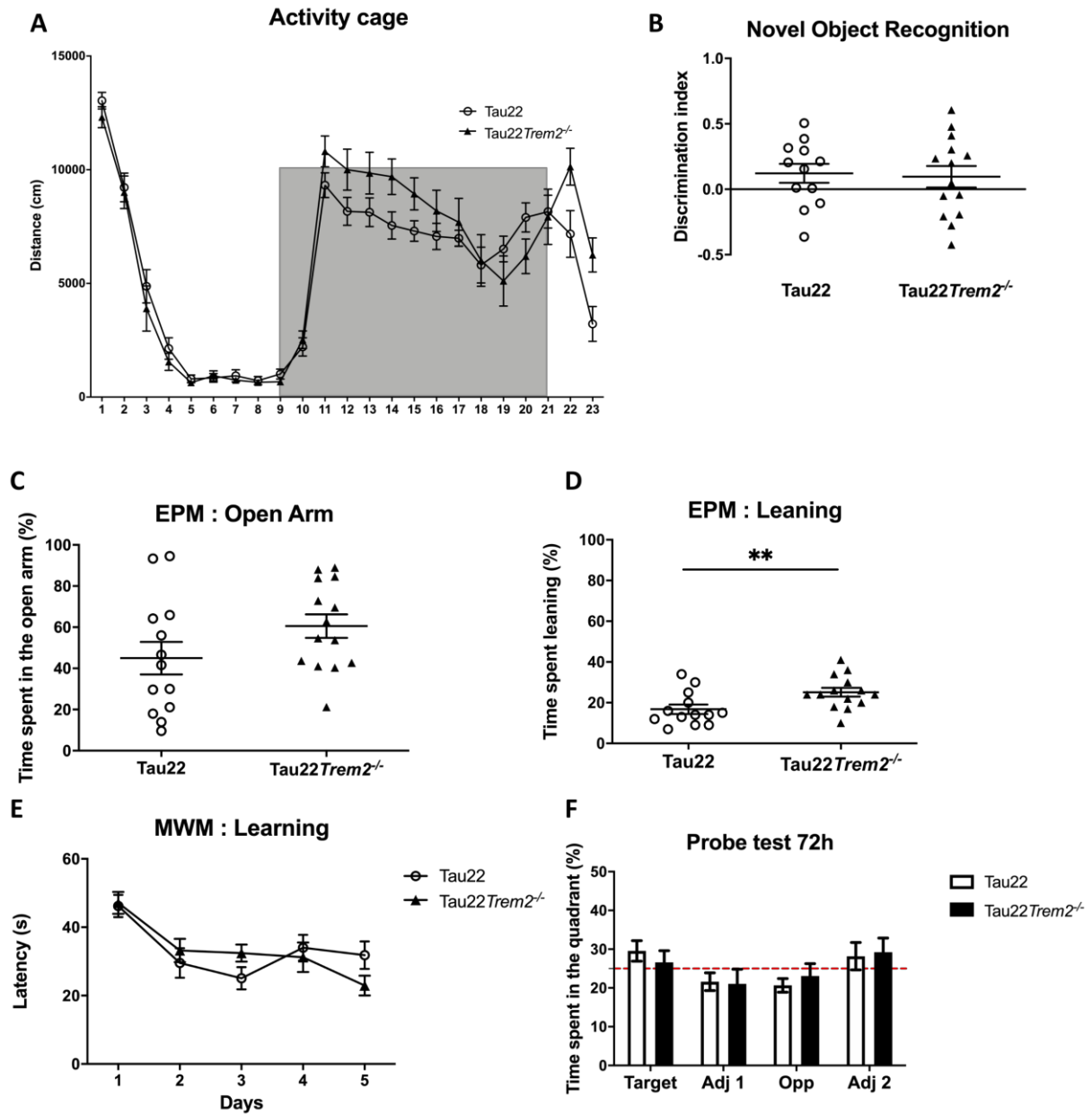


Figure 6: *TREM2* deficiency did not induce any major behavioral alteration in *Tau22* mice. (A) Distance travelled in the activity cage, hour by hour, during 23 h; MANOVA; $F=1,67$ $p=0,18$ for the day; $F=0,74$ $p=0,69$ for the night (grey area). (B) Discrimination index in the NOR test. (C) Fraction of time spent in the open arms of the elevated plus maze (EPM), Student t test, $p=0,06$. (D) Time spent leaning over the edge of open arms in the EPM, Student t test, $p=0,06$. (E) Escape latency for each day of the training phase of the the Morris water maze test (MWM) showing a significant effect of days but not of genotype (ANOVA repeated-mesures, $F=10,16$ $p<0,001$ between days and $F=0,0010$ $p=0,097$ between groups). (F) Percentage of time spent in each quadrant during the probe-test of the MWM performed 72h after the last day of the training phase. Data are presented as mean \pm SEM.

Supplementary information

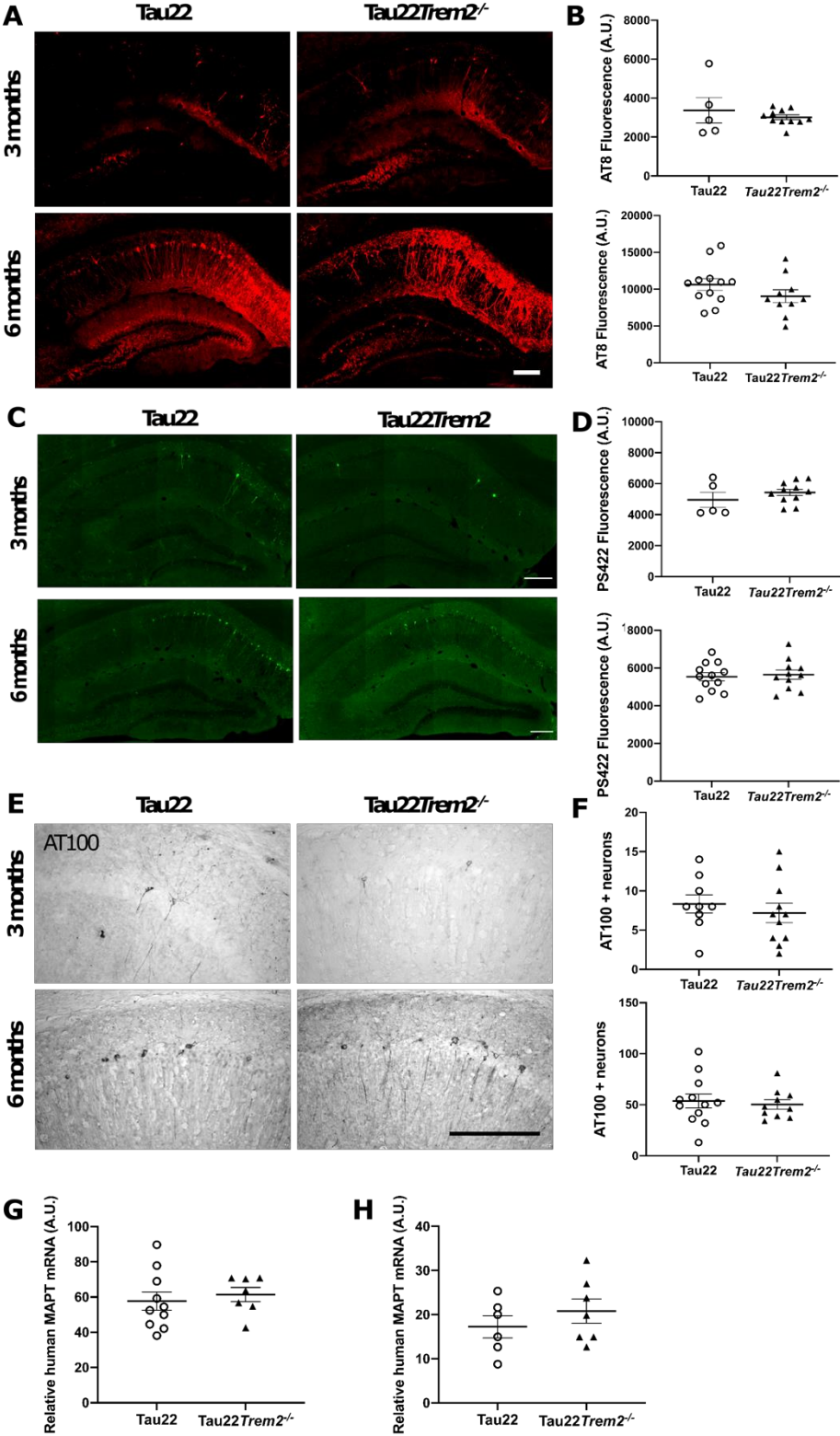


Figure S1: TREM2 deficiency did not induce any difference in the phosphorylation or aggregation of Tau in Tau22 mice at 3 and 6 months of age. (A, C, E) Immunolabeling of AT8 (A), pSer422 (C) and AT100 (E) in the CA1 layer of the hippocampus of Tau22 (left panels) and Tau22:Trem2^{-/-} animals

(right panels) at 3 and 6 months. (B, D, F) Quantification of AT8 (B), pSer422 (D) and AT100 (F) immunolabeling. Expression of the human MAPT gene at 3 (G) and 6 months (H), quantified by RT-QPCR in the hippocampus of Tau22 and Tau22:*Trem2*^{-/-} animals. Data were normalised using *Gapdh* and *Ppia* housekeeping genes expression. Data are presented as mean \pm SEM. Scale bars: 200 μ m.

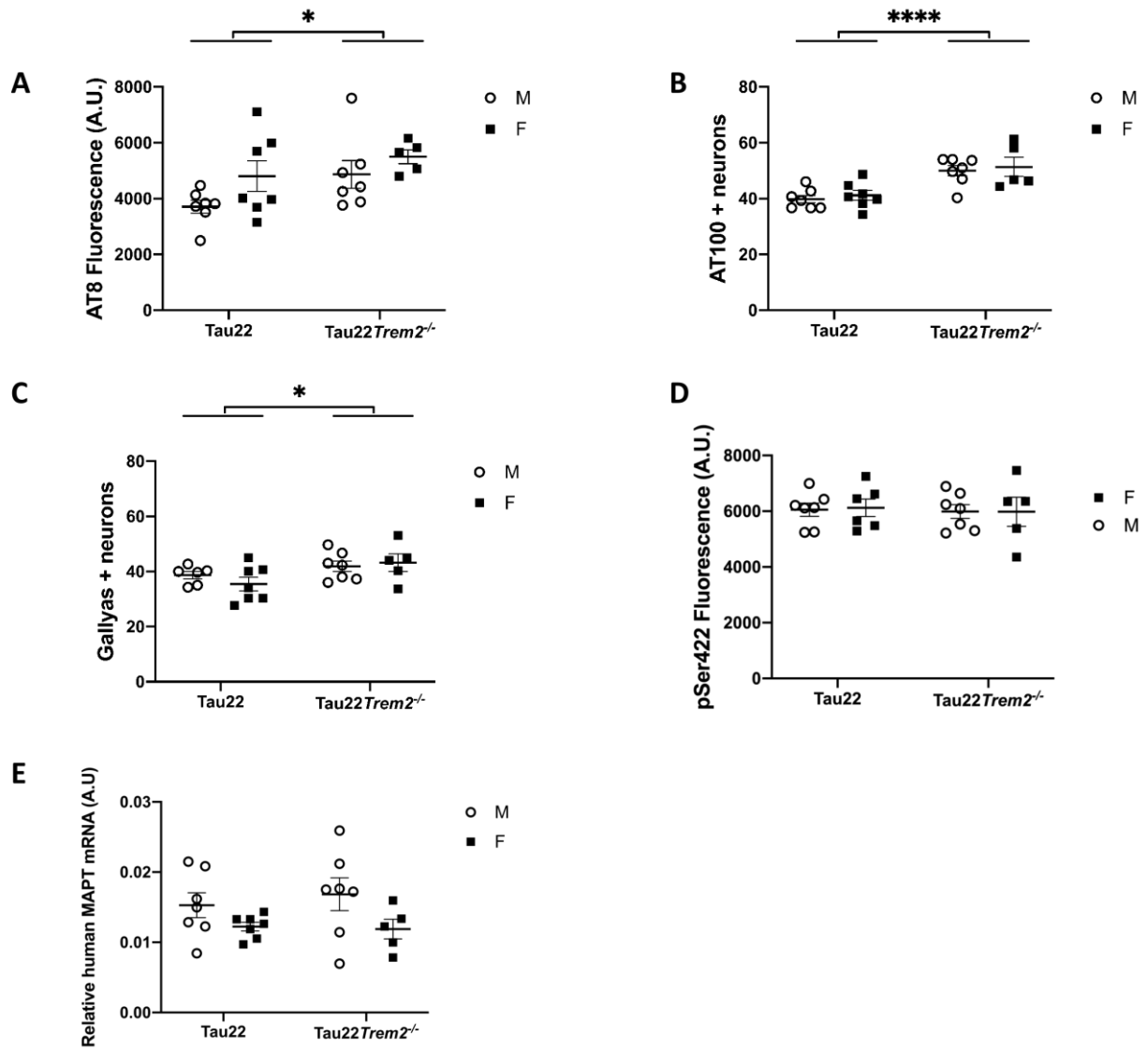


Figure S2: Quantification of tauopathy markers in the CA1 layer of the hippocampus of *Tau22* and *Tau22:Trem2^{-/-}* animals at 12 months of age. These data are the same as those presented in figure 1, here making a stratification of the different groups by sex (F: females; M: males). Data are presented as mean \pm SEM.

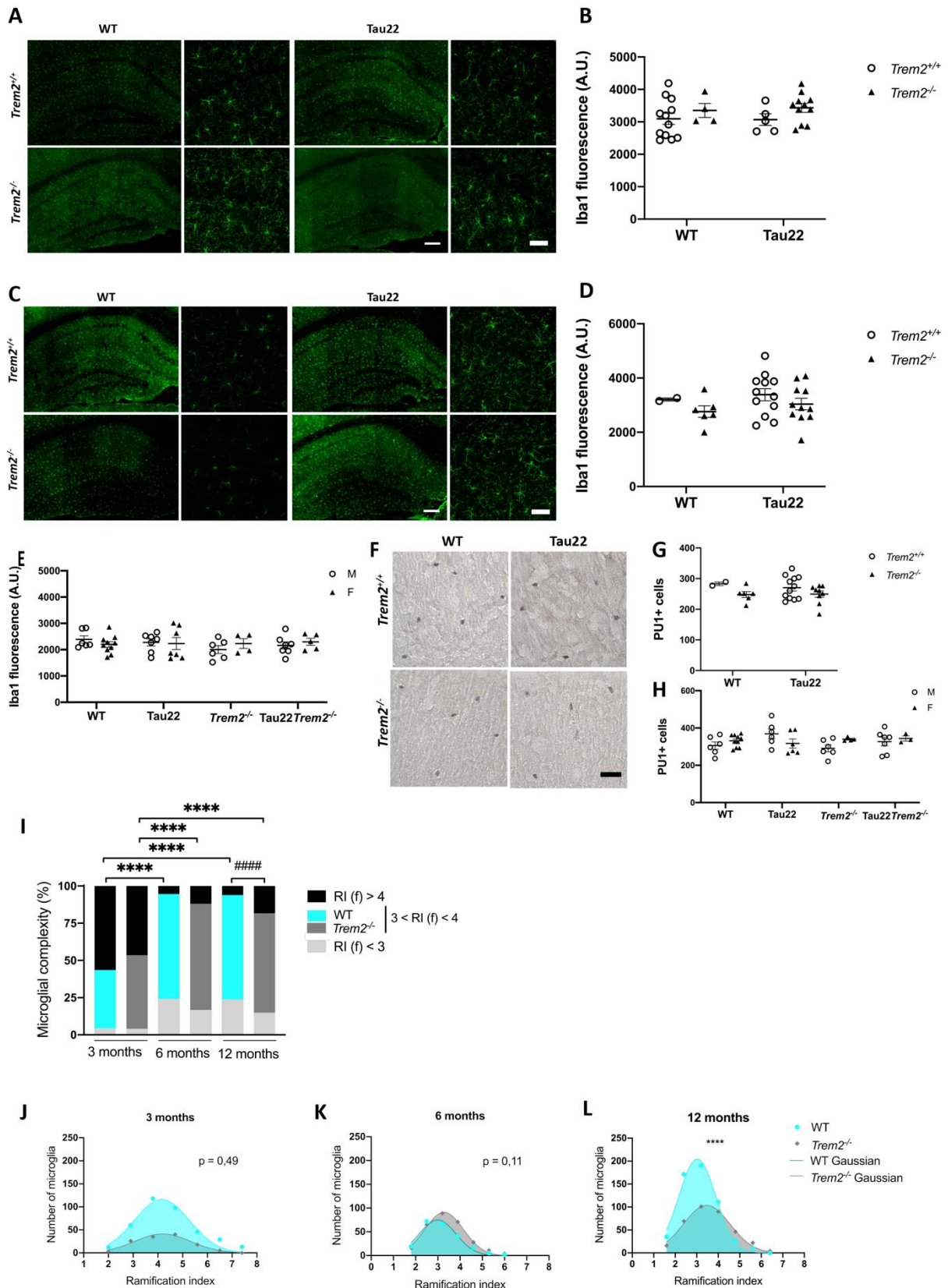


Figure S3: Quantification of microgliosis in *Tau22* and *Tau22:Trem2^{-/-}* mice at 3 and 6 months of age and Sholl analysis of the wild-type and *Trem2^{-/-}* control groups. (A-D) Representative images of Iba1 immunolabeling at 3- (A) and 6 months of age (B) and respective quantification of the immunofluorescence signal (B, D). (E) Quantification of Iba1 immunofluorescence in the CA1 layer of

the hippocampus at 12 months of age for the four different genotypes. These data are the same as those presented in figure 2B, here making a stratification of the different groups by sex (F: females; M: males). (F) Immunohistochemical staining of PU.1 positive nuclei of microglia in the CA1 layer of 6 month-old mice. (G) Nuclei counts of PU.1 positive nuclei of microglia in the CA1 layer of 6 month-old mice. (H) Nuclei counts of PU.1 positive nuclei of microglia in the CA1 layer of 12 month-old mice. These data are the same as those presented in figure 2D, here making a stratification of the different groups by sex. (I-L) Sholl analysis of microglial morphology in the CA1 layer based on Iba1 staining for wild-type and *Trem2*^{-/-} animals at 3-, 6- and 12 months of age. A significant decrease with age in the morphology of microglial complexity is observed in both control groups, although to a lesser extent in *Trem2*^{-/-} animals. Consequently microglia have a significantly less amoeboid phenotype in *Trem2*^{-/-} mice compared to wild-type at 12 months of age (I, L). Data in B, D, E and G are presented as mean \pm SEM. RI: ramification index. Scale bars: 200 μ m in A and C (left), 50 μ m in A, C (right) and in F.

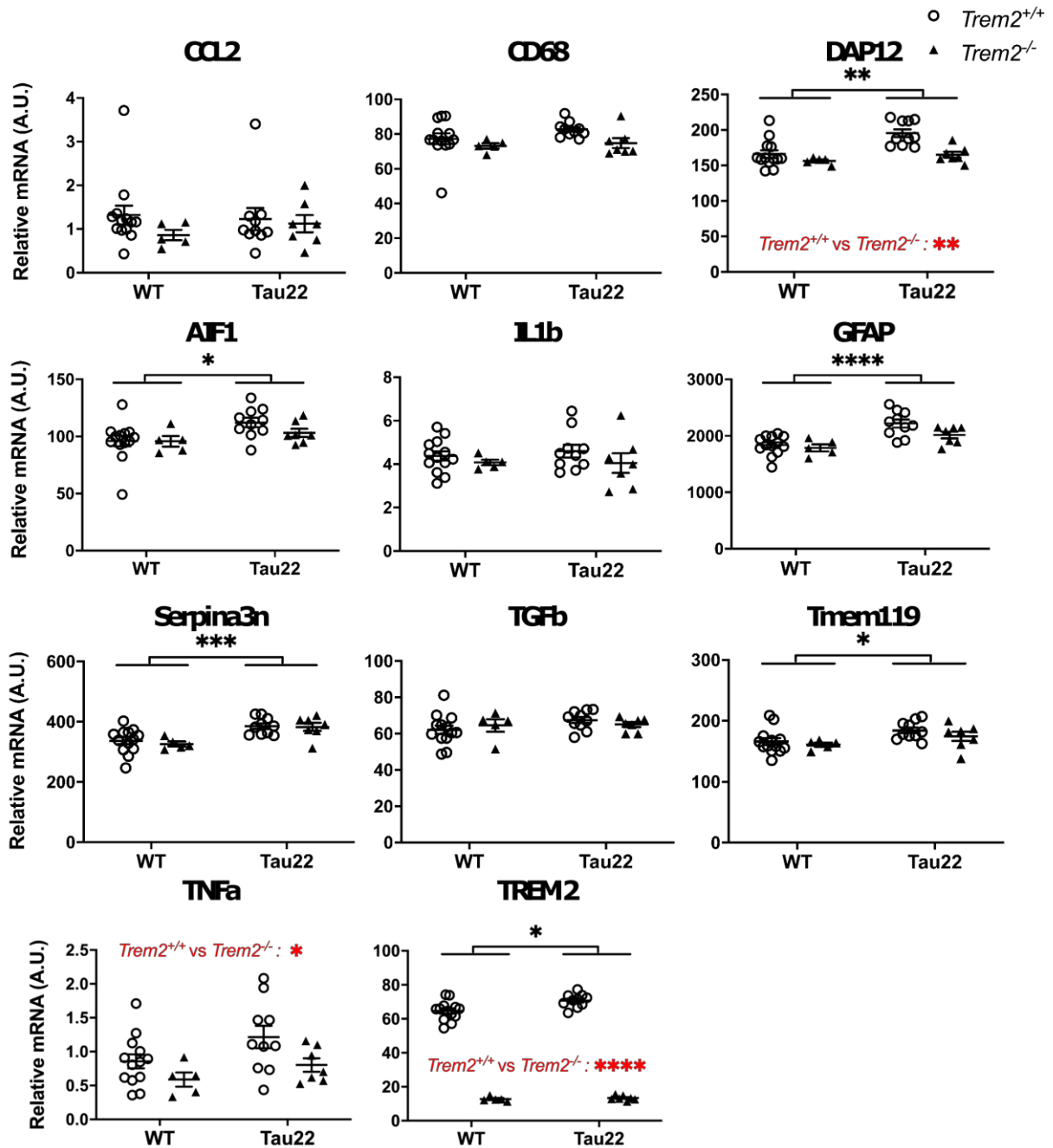


Figure S4: Level of expression of neuroinflammatory genes quantified by RT-QPCR at 3 months of age. mRNA were extracted from total hippocampus. Results were normalized using *Gapdh* and *Ppia* housekeeping genes expression. Statistical data reported in black refers to the effect of THY-Tau22 transgene expression, and in red to differences between Trem2^{+/+} and Trem2^{-/-} mice, independently of the THY-Tau22 genotype. Data are presented as mean ± SEM.

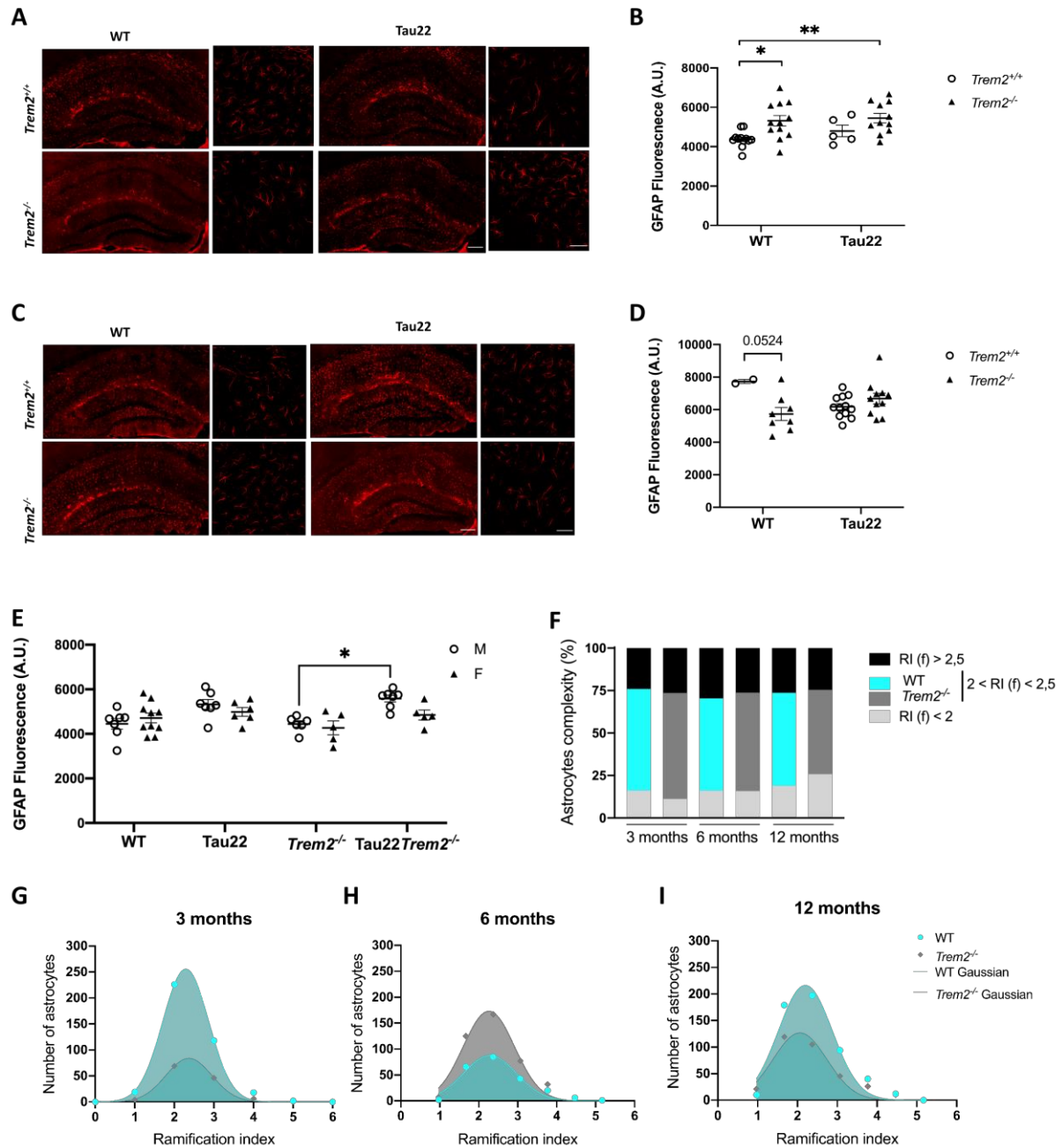


Figure S6: Quantification of astrogliosis in Tau22 and Tau22:Trem2^{-/-} mice at 3 and 6 months of age and Sholl analysis of wild-type and Trem2^{-/-} control groups. (A-D) Representative images of GFAP immunolabeling at 3- (A) and 6-months (B) of age and respective quantification of the immunofluorescence signal (B, D). (E) Quantification of GFAP immunofluorescence in the CA1 layer of the hippocampus at 12 months of age for the four different genotypes. These data are the same as those presented in figure 3B, here making a stratification of the different groups by sex (F: females; M: males). (F-I) Sholl analysis of astroglial morphology in the CA1 layer based on GFAP staining for wild-type and Trem2^{-/-} animals at 3-, 6- and 12 months of age. This analysis did not reveal any significant alteration of astrocytes' morphology due to TREM2 deficiency. RI: ramification index. Scale bars : 200 μ m in A and C (right), 50 μ m in A and C (left).

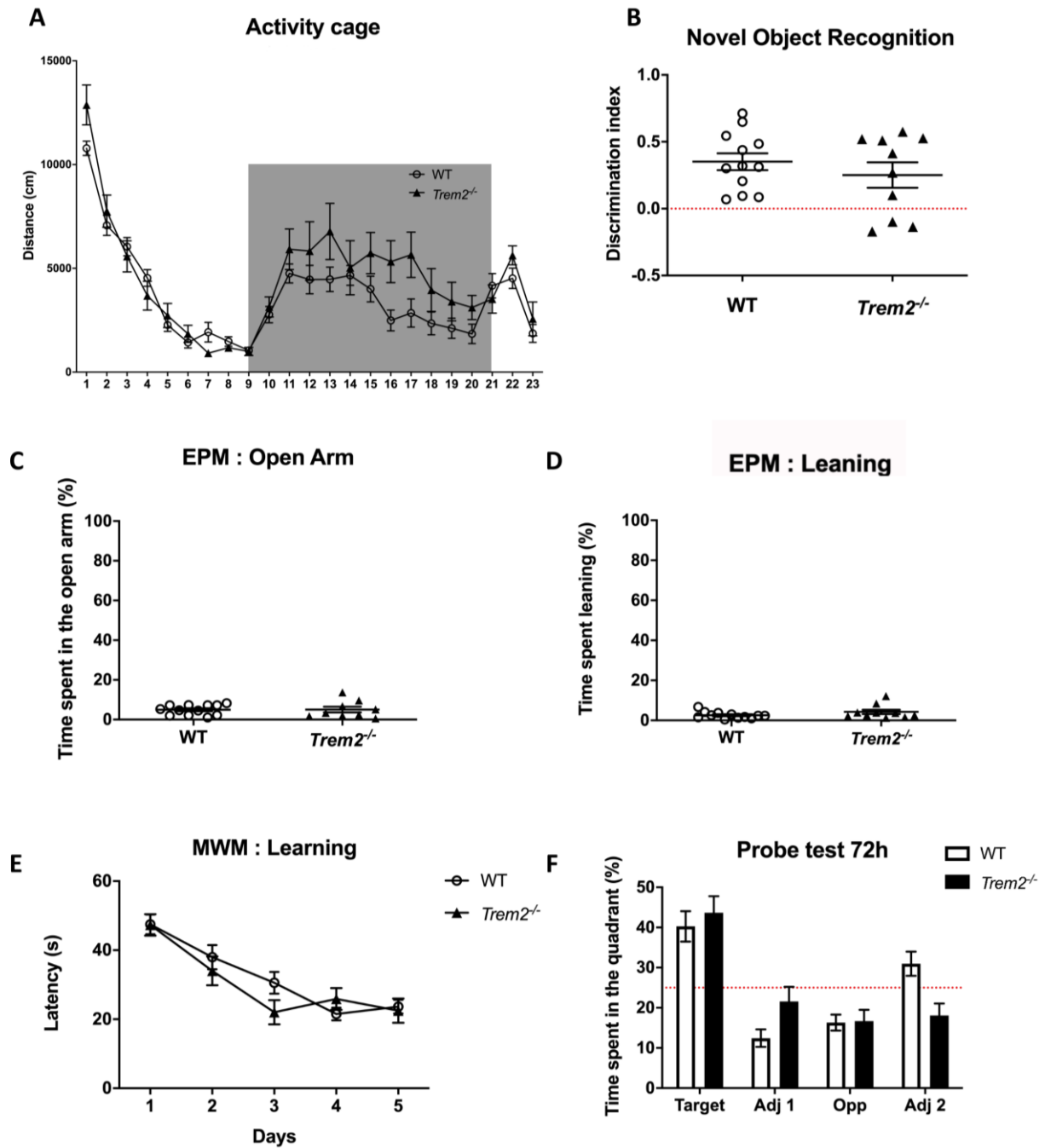


Figure S7: Control groups wild-type and *Trem2*^{-/-} show normal and equivalent performance in behavioral tests. (A) Spontaneous activity during the circadian cycle using an activity cage (Phenotyper) showed no difference in basal activity during the day (ANOVA by repeated measurement; $F=0.67$, $p=0.42$; A, white area of the graph), but wild-type mice presented less activity at night (ANOVA repeated-measures, $F=4.90$, $p=0.039$; A, grey area of the graph). (C, D) Anxiety was assessed with the Elevated Plus Maze test (EPM). TREM2 deficiency had no effect on the time spent in the open arms (Student t-test, $p=0.96$, C), as well as on the time spent leaning above the edge of the open arms (Student's t-test, $p=0.29$; D). Memory was evaluated using a novel object recognition (NOR) test in a V-maze set-up (Puighermanal et al., 2009). Both groups showed normal performance resulting in

significantly more exploration of the new object resulting in a discrimination above 0 (Student's t-test against 0, $p < 0.001$ for WT mice, $p = 0.027$ for *Trem2*^{-/-} mice) which was not different between wild-type and *Trem2*^{-/-} mice (Student's t-test, $p = 0.38$; B). (E, F) Long-term spatial memory was evaluated with the Morris Water Maze (MWM). During the learning phase, the time to find the platform was significantly reduced over days for all mice (ANOVA by repeated measurements, $F = 22.29$, $p < 0.001$; E), which confirms that the mice were able to recall equally the platform position (ANOVA repeated measures, $p = 0.65$ wild-type vs *Trem2*^{-/-}; E). A retention test was performed 72 hours after the last training day to evaluate long-term memory (F). Both wild-type and *Trem2*^{-/-} mice spent significantly more time in the target quadrant (Student's t-test versus 25%, $p = 0.002$ for wild-type mice and $p = 0.0015$ for *Trem2*^{-/-} mice, thus showing no long-term memory deficit at 10 months of age.

Discussion

Discussion

1 Implication de la microglie et de son récepteur TREM2 la tauopathie

La protéine Tau hyperphosphorylée et agrégée est une caractéristique majeure de plusieurs pathologies communément nommées tauopathies. Ces tauopathies incluent notamment la MA et d'autres pathologies telles que la DCB, la DFT ou encore la PSP. Aujourd'hui encore les mécanismes sous-jacents de cette pathologie sont mal compris mais de plus en plus de données indiquent que la neuroinflammation pourrait jouer un rôle critique dans la physiopathologie de la pathologie Tau. Plusieurs polymorphismes dans des gènes impliqués dans la réponse immunitaire ont notamment été décrits comme des facteurs de risques dans la MA (Jansen et al., 2019; Kunkle et al., 2019; Lambert et al., 2013; Marioni et al., 2018). Parmi ces polymorphismes, plusieurs variants du gène TREM2 ont été fortement associés avec la MA (Guerreiro et al., 2013; Jonsson et al., 2013) mais également avec d'autres Tauopathies comme la DFT (Borroni et al., 2014; Thelen et al., 2014). Ces polymorphismes du gène TREM2 peuvent entraîner une perte de fonction partielle de ce récepteur (Song et al., 2018; Wang et al., 2015). Il est donc intéressant d'étudier l'impact de l'inactivation du gène *Trem2* dans le cadre de la Tauopathie.

Cette question a été abordée par notre équipe au cours d'une étude menée dans un modèle de tauopathie progressif, le modèle THY-Tau22 (Schindowski et al., 2006a) dans lequel le récepteur TREM2 a été délété par la création de lignée double transgénique *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}*. La création de cette lignée a permis d'étudier l'impact de la déficience en TREM2 à des stades précoces de la pathologie Tau (3 mois) jusqu'à des stades plus tardifs (6 et 12 mois) auxquels apparaissent les premiers défauts de mémoire non-spatiale et la neurodégénérescence. Une étude morphologique associée à l'évaluation par qPCR de marqueurs microgliaux nous a permis de mettre en évidence que la déficience en TREM2 entraîne un défaut d'activation microgliale. Ce défaut d'activation microgliale est associé à une augmentation de la pathologie Tau et une légère augmentation de la surface CA1. Ces résultats corroborent les résultats obtenus par l'équipe de Bemiller et coll. chez des souris hTau déficientes en TREM2 exprimant les 6 isoformes de la protéine Tau humaine dans un contexte de délétion du gène murin *Mapt* (Andorfer et al., 2003). Dans cette étude, les auteurs rapportent que la déficience en TREM2, dans leur modèle, entraîne une accélération et une augmentation de l'hyperphosphorylation de la protéine Tau. Ces données suggèrent que la déficience en TREM2 entraîne une diminution de l'activation microgliale qui induit par la suite une augmentation de la pathologie Tau.

Ce phénomène peut-être expliqué par une modification de la communication entre les neurones et la microglie qui pourrait impliquer la signalisation purinergique, des cytokines, des neurotransmetteurs ou encore des neuropeptides (De Schepper et al., 2020). Cette altération de la communication pourrait conduire à une modification du métabolisme neuronal et notamment un déséquilibre entre les kinases et les phosphatases impliquées dans la modification de Tau induisant une hyperphosphorylation de la protéine. Ce phénomène a été observé par l'équipe de Bemiller et coll. chez des souris hTau âgées de 6 mois chez qui la déficience en TREM2 entraîne une augmentation des voies de signalisation JNK, ERK et GSK-3 β (Bemiller et al., 2017) impliquées dans la phosphorylation de Tau (pour revue : Martin et al., 2011). Il serait intéressant de confirmer ces résultats dans notre modèle en étudiant l'activité de ces voies de signalisation par western blot sur les souris *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}*.

Cette augmentation de la pathologie Tau pourrait également refléter une diminution de l'élimination des neurones affectés par la tauopathie. La cause de la mort des neurones dans les tauopathies n'est pas encore clairement définie. Une étude *in vitro* récente a pu mettre en évidence que les neurones affectés par des oligomères provenant de cerveaux de souris P301S (exprimant la protéine Tau humaine portant la mutation P301S) peuvent rester en vie (Brelstaff et al., 2018). Ces neurones vont en revanche produire de grande quantité de ROS qui vont induire l'exposition extra-cellulaire d'une grande quantité de phosphatidylsérines, cette exposition est considérée par la microglie comme un signal « *eat-me* » par la microglie (Brown and Neher, 2014). De façon intéressante, ces phosphatidylsérines sont reconnues par le récepteur TREM2 (cf. introduction §3.4.2.2) et la déficience de ce récepteur dans le modèle *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}* pourrait expliquer une diminution d'élimination par la phagocytose des neurones atteints par la pathologie Tau. La phagocytose des neurones peut être étudiée *in vitro* à l'aide de co-culture de neurones et de lignées microgliales (B2V) ou encore des cellules microgliales provenant de cultures primaires comme dans l'étude de Brelstaff et coll. (Brelstaff et al., 2018). Récemment, McQuade et Coll. (McQuade et al., 2018) ont développé un protocole simplifié qui permet l'obtention d'un modèle d'étude sur cellules humaines que nous pourrions mettre en place au laboratoire pour étudier la phagocytose microgliale. L'équipe de Blurton-Jones a également mis en place un protocole dans ce modèle permettant la délétion *in cellulo* de TREM2 à l'aide de la technologie CRISPR (McQuade et al., 2020). L'utilisation de ces techniques nous permettrait d'étudier la phagocytose de neurones porteurs de la pathologie Tau en fonction de l'expression de TREM2.

L'amélioration constante des techniques d'imagerie comme l'imagerie 3-photons pourrait également permettre l'analyse de la phagocytose des neurones Tau positifs par la microglie *in vivo* en fonction de l'expression de TREM2. Pour cela il faudrait mettre en place une étude chez des souris *Cx3cr1-GFP*, qui expriment la GFP dans les cellules microgliales au niveau cérébral, croisées avec des souris déficientes

en TREM2. Afin de pouvoir visualiser les neurones Tau positifs, la tauopathie pourrait être induite par une injection de vecteurs rAAV codant pour la protéine Tau taguée avec un fluorophore tel qu'une protéine fluorescente rouge sous contrôle d'un promoteur neuronal. La tauopathie pourrait également être induite par l'injection de fibrilles de Tau purifiée marquées avec un fluorophore sensible au pH (pHrodo, Thermofisher Scientific). Ce senseur de pH utilisé couramment pour étudier la phagocytose *in vitro* n'émet pas de fluorescence en condition de pH neutre et émet une forte fluorescence en milieu acide comme dans les autophagolysosomes formés au cours du processus d'autophagie.

Ainsi notre étude des souris THY-Tau22:*Trem2*^{-/-} a mis en évidence qu'une diminution de l'activation microgliale pouvait impacter la progression de la tauopathie. Cette augmentation de la pathologie peut être corrélée avec une augmentation de la propagation de la pathologie. Dans le modèle THY-Tau22 l'expression neuronale de la protéine Tau humaine est présente dans l'ensemble des régions cérébrales et rend l'étude de la propagation compliquée, c'est pourquoi nous avons par la suite souhaité mettre au point des modèles murins permettant l'étude de la propagation des formes pathologiques de la protéine Tau.

2 Développement de nouveaux modèles de tauopathie

2.1 Mise en place d'un modèle de tauopathie pure dans la rétine

De nombreuses équipes cherchent aujourd'hui à comprendre les mécanismes impliqués dans la propagation de la Tauopathie entraînant ainsi la mise en place de nombreux modèles de propagation (cf. introduction §3.4). Cependant, comme il a été décrit précédemment chacun de ces modèles présente ses avantages et ses inconvénients, et nous avons décidé de créer un nouveau modèle de propagation de la protéine Tau par transfert de gène médié par les rAAVs. Afin de nous affranchir de difficultés d'interprétation liées à la complexité des connexions entre les neurones, nous avons choisi de mettre en place ce nouveau modèle dans les voies visuelles. Le premier relai de cette voie est composé d'une voie de connexion démarrant dans les RGCs jusqu'au colliculus supérieur.

L'injection de rAAV codant pour la protéine Tau dans la chambre vitrénne permet l'expression de la protéine Tau humaine dans les RGCs mais également dans leurs axones qui forment le nerf optique et dans les colliculi supérieurs qui reçoivent 90 à 95% des axones provenant des RGCs (Ellis et al., 2016). L'expression de transgène est accompagnée d'une forte gliose à un mois post-injection, résolue à 3 mois post-injection. Cette inflammation n'est pas directement liée à l'expression de la protéine Tau car elle est également retrouvée dans le groupe injecté avec les vecteurs contrôles qui codent la GFP. Cette inflammation peut également être liée au geste chirurgical et une étude de

l'inflammation sur des souris injectées avec du PBS nous permettrait de mesurer l'inflammation liée à chacun des transgènes.

A trois mois post-injection, une accumulation de la forme phosphorylée de la protéine Tau est retrouvée au niveau des soma des RGCs. Cette accumulation entraîne une neurodégénérescence des RGCs visible dans la rétine par comptage des noyaux Brn3a+ mais également dans les colliculi supérieurs par quantification de l'immunoréactivité ESRR β . Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence de propagation de la protéine Tau dans les cellules cibles des RGCs présentes dans les colliculi supérieurs.

Il est possible que la propagation de la protéine Tau soit un phénomène discret que les méthodes d'analyses utilisées ne permettent pas de quantifier. Pour évaluer la propagation, nous observons la présence de neurones V5 positifs au niveau des colliculi supérieurs, des corps genouillés latéraux et du cortex visuel primaire. Cependant le Tag V5 est situé dans la partie N-terminale de la séquence de la protéine Tau et nous ne pouvons pas exclure que la protéine Tau soit tronquée pour se propager d'un neurone à l'autre ou encore que les PTMs modifient le repliement de la protéine Tau et bloquent ainsi l'accès à la séquence V5 reconnue par l'anticorps. Il serait intéressant d'évaluer les formes de Tau présentes dans la rétine mais aussi dans les corps genouillés latéraux et les colliculi supérieurs et même le cortex visuel primaire par des analyses biochimique. Une première analyse simple pourrait être réalisée par des technique de western blot afin de détecter la protéine Tau à l'aide de son Tag V5 mais aussi de marqueurs spécifiques de la protéine Tau humaine comme l'anticorps TauC qui détecte une séquence placée en c-terminale de la protéine Tau (Ueno et al., 2007) dans des extraits protéiques provenant des différentes régions citées ci-dessus. Une caractérisation plus complète des formes de Tau présentes et de leurs modifications post-traductionnelles pourrait être apportée à l'aide du protocole FLEXITau (*full-length expressed stable isotope labeled Tau*) développé par l'équipe de Judith A. Steen (Mair et al., 2016). Cette technique quantitative utilisant la spectrométrie de Masse à haut débit fournit une information quantitative non biaisée des PTM présentes sur la protéine Tau dans des extraits provenant de patients (Wesseling et al., 2020). Cependant cette méthode n'est actuellement maîtrisée que par une seule équipe et n'a pas encore été testée sur des tissus murins.

2.2 Nouveau modèle de propagation dans le gyrus denté

L'objectif de ce projet étant d'étudier la propagation de la protéine Tau entre neurones connectés, et que le modèle développé dans les voies visuelles ne permet pas d'induire ce phénomène de propagation, nous avons développé un nouveau modèle dans le gyrus denté. Ce modèle basé sur les travaux de Schultz et coll. permet d'induire un phénomène de propagation de la protéine Tau entre le gyrus denté injecté et le gyrus denté contralatéral en 8 semaines (Schultz et al., 2018).

Avec ce modèle nous avons développé un nouvel outil, le vecteur AAV-GFP-P2A-TauV5 qui permet l'identification des neurones transduits par les vecteurs viraux mais aussi la localisation de la protéine Tau qui se propage de neurone en neurone. L'injection de ces vecteurs rAAV-GFP-P2A-TauV5 dans le gyrus denté permet d'induire une co-expression des transgènes eGFP et Tau-V5 dans les neurones de la couche polymorphique et de la couche granulaire du gyrus injecté (figure 25B). Une propagation est également mise en évidence dans le gyrus denté contralatéral mais également dans les régions CA1 /CA2/ CA3 de l'hippocampe (figure 25C).

L'observation de cellules V5 positives-GFP négatives au niveau du site d'injection suggère une propagation de la protéine Tau de proche en proche. Une quantification de ces cellules pourrait nous permettre d'évaluer cette propagation. Cette quantification pourrait être réalisée en comptant les neurones V5 positifs-GFP négatifs et en normalisant le résultat par le nombre de neurones V5 positifs-GFP positifs dans une région d'intérêt. Cette technique a été appliquée dans l'étude de Wegmann et coll. dans un nouveau modèle de propagation de la protéine Tau utilisant également un vecteur rAAV-GFP-P2A-Tau (Wegmann et al., 2019). Cependant, du fait de l'intensité du signal GFP, il est parfois difficile de différencier deux neurones notamment dans la couche granulaire du gyrus denté. Pour pallier à ce problème technique il serait également possible d'étudier cette propagation de proche en proche avec une technique de cytométrie en flux après dissociation des cellules et marquage du Tag V5. L'utilisation de cette technique nécessite la perméabilisation des cellules isolées afin de marquer l'étiquette V5 présente sur la protéine Tau. De plus, il est nécessaire de vérifier que la présence de la protéine Tau du côté contralatéral est bien due à une propagation de la protéine Tau entre les neurones et pas à une transduction des neurones. Pour vérifier cela, une analyse des tissus par hybridation *in situ* est en cours de réalisation afin de confirmer que les neurones qui sont uniquement V5 positifs ne sont pas transduits.

Au cours du développement de ce modèle, plusieurs doses ont été testées et bien qu'une plus grande quantité de virus injecté induise une propagation plus importante de la protéine Tau-V5, la plus faible dose a été retenue pour la suite des expériences. Ce choix a été fait au vu des résultats obtenus dans le laboratoire au moment de la mise en place du modèle. Certaines expériences de caractérisations de ces constructions ont en effet révélé une forte toxicité des vecteurs exprimant la protéine Tau sous contrôle d'un promoteur SYN2. Ainsi, nous avons fait le choix d'utiliser la dose la plus faible de vecteur dans le but d'observer un phénomène de propagation sans induire une toxicité trop importante.

Les premiers résultats obtenus avec ce modèle doivent encore être complétés afin de répondre à plusieurs questions restées en suspens. Une caractérisation par immunofluorescence de la protéine Tau qui s'est propagée dans l'hémisphère contralatérale est en cours. Cependant, il est possible que la sensibilité de cette méthode soit trop faible pour caractériser une propagation limitée de la protéine

Tau. Ainsi il serait intéressant d'utiliser d'autres méthodes biochimiques plus sensibles telles que le western Blot avec différents marqueurs de la protéine Tau. Une caractérisation de la neuroinflammation est également en cours avec des immunomarquages dirigés contre les marqueurs GFAP et Iba1. Pour finir, cette étude sera complétée par l'analyse de la toxicité des vecteurs à l'aide du marqueur NeuN.

En conclusion, l'injection de vecteurs rAAV-GFP-P2A-Tau dans la couche polymorphique du gyrus denté permet l'expression de la protéine Tau et de l'eGFP dans les cellules du gyrus denté et induit la propagation de la protéine Tau du côté contralatéral.

2.3 Mise en parallèle des deux modèles

Dans ces deux modèles, la technique de transfert de gènes à l'aide de vecteurs rAAV est utilisée. Dans les voies visuelles, un vecteur rAAV codant la protéine Tau humaine 1N4R taguée par le peptide V5 sous contrôle du promoteur SNCG est injecté dans la chambre vitrénne de l'œil pour transduire les cellules ganglionnaires de la rétine. Dans le modèle mis en place dans le gyrus denté, un vecteur rAAV permettant l'expression de la protéine eGFP et de la protéine Tau V5 sous contrôle d'un promoteur SYN2 est utilisé. Bien que ces deux modèles soient développés de façon similaire et entraîne une pathologie Tau similaire au niveau du site d'injection, une propagation de la protéine Tau est observée dans le modèle mis en place dans le gyrus denté mais pas dans le modèle de tauopathie focale induit dans les voies visuelles.

Ce résultat pourrait être lié à la vulnérabilité sélective des neurones ou des régions affectés par la pathologie Tau. Cette vulnérabilité peut être liée à des facteurs intrinsèques tels que des différences d'expression génétique au niveau cellulaire (Allen et al., 2018; Leng et al., 2021). Il serait intéressant de comparer les transcriptomes des cellules présentes dans les colliculi supérieurs et des cellules moussues et granulaires du gyrus denté recevant les afférences des cellules transduites par les vecteurs rAAVs. Les gènes différenciellement exprimés entre ces populations neuronales pourraient aider à mettre en évidence certains gènes impliqués dans la vulnérabilité des populations neuronales déjà décrits dans la littérature comme potentiellement impliqués dans les tauopathies et ainsi mieux comprendre les différences observées entre les deux modèles. Cette analyse peut également permettre l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la vulnérabilité des régions. Cette analyse pourrait *in fine* permettre de mieux comprendre les facteurs intrinsèques responsables de la vulnérabilité sélective des populations et proposer de nouvelles pistes thérapeutiques permettant de bloquer la propagation de la protéine Tau.

La vulnérabilité sélective des neurones à la tauopathie peut également être liée au microenvironnement. Certaines études ont, en effet, mis en évidence une implication de certains

composants de la matrice extracellulaire (MEC) dans la modulation de la propagation de la protéine Tau. Dans le cerveau adulte la MEC est spécifiquement composée de HSPG, d'acide hyaluronique et de protéoglycane de sulfate de chondroïtine (CSPG). Les CSPG forment des agrégats de MEC autour des neurones appelés réseaux périneuronaux (*perineuronal nets* PNN). Ces réseaux périneuronaux sont impliqués dans plusieurs fonctions telles que la régulation de la plasticité synaptique, la stabilisation des synapses, ou encore la protection des neurones vis-à-vis du stress oxydatif et des neurotoxines (Reichert et al., 2019). Certaines études ont mis en évidence que les neurones entourés de ces PNN semblent protéger de la pathologie Tau et contenir la pathologie dans les neurones affectés (Lendvai et al., 2013; Morawski et al., 2010; Suttkus et al., 2016). Il est possible que ces réseaux soient capables de piéger la protéine Tau dans les colliculi supérieurs dans le modèle mis en place dans les voies visuelles et ainsi empêcher sa propagation de cellule à cellule. Cette hypothèse est confortée par l'observation de la perte de la MEC chez les patients atteints de MA (Baig et al., 2005; Lendvai et al., 2013). Une caractérisation de ces réseaux périneuronaux au niveau des synapses des neurones transduits dans les deux modèles développés permettrait peut-être de comprendre l'absence de propagation de Tau dans le modèle de tauopathie mis en place dans les voies visuelles. Cette caractérisation peut être faite par des techniques d'immunohistochimie à l'aide de marqueurs spécifiques tels que la WFA (*Wisteria floribunda agglutinin*) et les anticorps Cat-315 et AB1031 dirigés contre l'aggrécane (composant majoritaire des PNN).

3 Influence de la microglie dans les modèles développés

Les résultats obtenus lors des études GWAS suggèrent que la microglie pourrait jouer un rôle important dans le développement de la MA. La microglie pourrait notamment jouer un rôle dans la propagation de la pathologie Tau (cf. introduction §4.4.3). Afin de comprendre ce rôle nous avons appliqué les modèles d'injection de vecteurs rAVV dans les voies visuelles et le gyrus denté à des souris dans lesquels le fonctionnement de la microglie est perturbé.

3.1 Influence de la déficience en TREM2

Pour commencer, les modèles créés au cours de ce projet ont été appliqués à des animaux déficients en TREM2.

Chez les animaux ayant reçu une injection intravitreuse de vecteurs rAAVs, les premières analyses révèlent un délai d'activation microgliale chez les animaux ayant 1 seule ou aucune copie de *Trem2*. Ces analyses ont été réalisées par quantification de la densité intégrée de fluorescence du marquage Iba1 sur la couche ganglionnaire de la rétine et pourrait être complétée par une quantification des cytokines sécrétées par la microglie lorsqu'elle est activée comme l'IL-1 β ou encore le TNF α afin de mieux caractériser son état d'activation.

La quantification de la neurodégénérescence par le comptage des cellules ganglionnaires révèle une diminution de la neurotoxicité liée à la protéine Tau chez les souris déficientes en TREM2. Ces résultats sont en accord avec les observations réalisées précédemment dans le modèle *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}* et renforcent l'hypothèse que la tauopathie entraîne un état d'activation chronique de la microglie délétère pour les neurones. Cette hypothèse a déjà été testée dans la rétine et les résultats de l'étude rapportent que l'inhibition de la microglie à l'aide de traitement pharmaceutique (minocycline) ou son ablation par PLX5622 permet de diminuer la dégénérescence des RGCs dans différents contextes d'occlusion veineuse ou d'excitotoxicité (Jovanovic et al., 2020; Takeda et al., 2018; Todd et al., 2019). Plusieurs études suggèrent que la microglie activée peut réguler l'activation astrocytaire notamment par la sécrétion des cytokines 1L-1 α , TNF et C1q (Liddelow et al., 2017). Nous avons donc analysé l'impact de la déficience en TREM2 sur l'activation astrocytaire. Les résultats de cette quantification ont révélé une forte activation astrocytaire dans tous les groupes à un mois post-injection, ce qui suggère que la déficience en TREM2 n'a pas d'effet sur l'activation astrocytaire. Cependant à trois mois post-injection l'astrogliose n'est observée que pour le groupe *Trem2^{+/+}*. Il semble ainsi que à la suite de l'inflammation aigüe induite par l'injection de vecteurs viraux, il existe une fenêtre temporelle durant laquelle l'astrogliose peut être maintenue par la microglie via son récepteur TREM2 à la suite de son activation par la pathologie Tau. Cependant, dans cette étude l'évaluation de l'activation astrocytaire est basée sur le seul marqueur GFAP qui seul ne permet pas de qualifier les astrocytes de réactifs (Escartin et al., 2021) et il faudrait associer cette évaluation avec d'autres marqueurs moléculaires comme par exemple la vimentine.

Ainsi les données acquises dans le modèle d'injection intravitreuse suggèrent que la déficience en TREM2 retarde l'activation microgliale. Cette diminution de l'activation microgliale entraîne une diminution de l'astrogliose et protège les cellules ganglionnaires de la rétine de la toxicité induite par la tauopathie.

L'effet de la déficience en TREM2 sur la propagation de la protéine Tau a été étudiée par l'application du modèle de tauopathie mis en place dans le gyrus denté à des souris *Trem2^{-/-}*. Les premiers résultats obtenus avec ce modèle suggèrent que la déficience en TREM2 peut favoriser la propagation distale de la protéine Tau à trois mois post-injection. A six mois post-injection, il n'y a plus de différence dans l'indice de propagation mesuré en contralatéral, cependant du côté ipsilatéral, la propagation proximale de la protéine Tau semble légèrement augmentée chez les souris déficientes en TREM2. Il est possible que les résultats observés à 3- et 6- mois post injections révèlent différents mécanismes mis en place en réponse à la présence de la protéine Tau. Il est alors possible d'envisager que du côté ipsilatéral, les cellules microgliales déficientes en TREM2 présentent un défaut de phagocytose des cellules mortes à la suite de la tauopathie et d'élimination des neurones affectés mais vivants, ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la propagation proximale de la protéine Tau à 6

mois post-injection. Au niveau contralatéral, très peu de cellules sont V5 positives et il est possible que les astrocytes aient pris le relais de la microglie afin d'éliminer les cellules V5 positives en souffrance. Le délai d'activation des astrocytes peut être expliqué par les résultats obtenus dans le modèle d'injection intravitréenne. Ces résultats montrent que le défaut d'activation microgliale peut entraîner une diminution de l'astroglie. Cette hypothèse est appuyée par une étude récente révélant que la phagocytose des cellules mortes est réalisée par la microglie et les astrocytes de façon synchronisée et orchestrée (Damisah et al., 2020). Cette étude suggère que chaque cellule joue un rôle précis : la microglie phagocyte le soma et les dendrites apicales alors que les astrocytes phagocytent les synapses distales et les débris neuritiques.

Cependant ces hypothèses doivent être vérifiées par une caractérisation de l'état d'activation des cellules microgliales et des astrocytes. Une première analyse par immunofluorescence est en cours au laboratoire.

Pour conclure, les résultats obtenus dans ces deux modèles permettent de reproduire et compléter les résultats obtenus dans le modèle *THY-Tau22 : Trem2^{-/-}*. Dans les modèles de tauopathie développés par transfert de gène, la déficience en TREM2 entraîne une diminution de l'activation microgliale associée à une diminution de l'astroglie. La diminution de la neuroinflammation est accompagnée par une diminution de la neurodégénérescence liée à la tauopathie ainsi qu'une augmentation de la propagation de la protéine Tau.

3.2 Influence du vieillissement

Un des principaux facteurs de risque dans le développement de la MA est l'augmentation de l'âge. Ce vieillissement est caractérisé par la senescence des cellules définie entre autres par un arrêt du cycle cellulaire, une résistance à l'apoptose, des altérations mitochondriales, etc... Pour les cellules microgliales, cette senescence est associée à un phénotype « pré-activé » (*priming state*) caractérisé par une morphologie dystrophique, une élévation des marqueurs inflammatoires et une diminution des marqueurs neuroprotecteurs et une réponse inflammatoire incontrôlée à un stimulus inflammatoire (Angelova and Brown, 2019; Niraula et al., 2017; Perry and Holmes, 2014; Zöllner et al., 2018). De plus récemment une étude a mis en évidence un déclin de la phagocytose microgliale avec l'âge (Pluvinage et al., 2019). Ces modifications de la microglie peuvent avoir un impact sur la pathologie Tau et nous avons donc appliqué les modèles développés à des souris âgées de 15 mois.

Dans le modèle intravitréen, l'analyse des résultats montre une augmentation de la quantité de protéine Tau phosphorylée dans les RGCs associée à une forte neurodégénérescence de ces cellules. Il est possible que bien que la microglie présente un défaut de phagocytose à cet âge, la microglie sécrète plus de cytokines pro-inflammatoires du fait de son état « pré-activé » entraînant une

augmentation de la neurodégénérescence chez les souris âgées. La caractérisation de la propagation de la protéine Tau dans le modèle mis en place dans le gyrus denté complète ces données en suggérant une propagation distale plus importante chez les souris âgées (15-18 mois) que chez les souris jeunes (4mois ; figure 31). Ces résultats sont cohérents avec les résultats obtenus dans un modèle similaire obtenus par injection intra hippocampique d'AAV chez des souris âgées (Wegmann et al., 2019). Les premiers résultats obtenus avec ces modèles de transfert de gènes suggèrent que l'âge a un effet sur la progression et la propagation de la pathologie. Cependant, une caractérisation plus profonde des effets de l'âge est nécessaire pour comprendre les raisons entraînant une plus grande propagation de la protéine Tau avec l'âge.

4 Perspectives

4.1 Application de ces modèles pour mieux comprendre la propagation de la protéine Tau.

Les modèles mis en place au cours de ce projet ont été réalisés dans un premier temps avec un vecteur rAVV codant la protéine Tau sauvage dont la surexpression conduit à une hyperphosphorylation de la protéine Tau dans les neurones transduits (d'Orange et al., 2018). Le choix de ce vecteur est basé sur l'hypothèse que l'agrégation de la protéine Tau pourrait protéger les neurones de la progression de la protéine Tau en empêchant la propagation de la protéine de neurone en neurone. Cependant nous disposons de vecteurs rAVV-Tau qui permettent une induction de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau dans les cellules transduites (d'Orange et al., 2018). L'utilisation de ces constructions dans les modèles mis en place pendant mon projet de thèse permettrait de mieux comprendre l'effet bénéfique ou délétère de l'agrégation de la protéine Tau dans la propagation de la protéine.

4.2 Caractérisation de la microglie au site d'injection et au site de propagation

Les résultats obtenus au cours de cette étude suggèrent une implication de la microglie dans la propagation de la protéine Tau mais ne permettent pas de définir les processus microgliaux mis en jeu dans ce phénomène de propagation. Une étude récente a mis en évidence que la pathologie Tau entraîne l'activation de différents groupes de gènes en fonction du stade de la pathologie (Rexach et al., 2020). Différents stades de la pathologie Tau sont présents dans les modèles mis en place au cours de ce projet et il serait intéressant de caractériser par des techniques de RNAseq sur cellules uniques les populations microgliales présentes au niveau des sites d'induction de la pathologie (rétine ou couche polymorphique du gyrus denté) et au niveau des sites recevant les projections axonales des

cellules transduites (colliculi supérieurs et région hippocampique contralatérale). De plus cette analyse pourra également être réalisée sur des souris déficientes en TREM2 au niveau des mêmes régions pour comprendre l'impact de la déficience en TREM2 sur les fonctions microgliales impliquées dans la propagation de la protéine Tau.

L'impact de la l'agrégation de la protéine Tau et la caractérisation de la microglie dans les modèles développés font l'objet d'une thèse en cours au laboratoire.

4.3 Autres acteurs potentiels impliqués dans la relation microglie-propagation de la protéine Tau

4.3.1 Interaction de la microglie et des réseaux périneuronaux

Les réseaux périneuronaux pourraient être impliqués dans la propagation de la protéine Tau. Il a en effet été mis en évidence que ces réseaux périneuronaux empêchent la libération et la recapture de la protéine Tau (Lendvai et al., 2013; Morawski et al., 2010; Suttkus et al., 2016). De plus la microglie est capable de remodeler la MEC dans des conditions d'inflammation aiguës comme lors d'accidents vasculaires cérébraux (AVC). La microglie sécrète alors des metalloprotéinases matricielles (MMP) et plus particulièrement par la MMP9 qui vont dégrader la MEC (Pirbhoy et al., 2020). De plus une perte de ces PNN est décrite dans des conditions de neurodégénérescence comme la maladie de Huntington (Joshua D Crapser et al., 2020), certaines maladies à Prions (Franklin et al., 2008) ou la MA (Baig et al., 2005; Cattaud et al., 2018). Une étude récente menée dans un modèle amyloïde murin, les souris 5XFAD (Jawhar et al., 2012), portant 3 mutations sur le gène APP (KM670/671NL (Swedish) ; I716V(Florida) et V717I (London)) et 2 mutations sur le gène PSEN1 (M146L et L286V) par PLX5622 suggère que la microglie est impliquée dans la dégradation des PNN soit directement par la sécrétion d'enzymes dégradant la MEC et la phagocytose des fragments générés ou en interagissant directement avec les neurones pour éliminer les PNN (Joshua D. Crapser et al., 2020). Cette étude montre que l'inhibition de la microglie par administration de PLX562 prévient la perte des PNN.

Le rôle de ces réseaux neuronaux pourrait être abordé dans les modèles mis en place au cours de cette thèse après avoir caractérisé les PNN présents dans les colliculi supérieurs et le gyrus denté. Certaines molécules telles que la chondroïtinase ABC permettent digérer la MEC et l'injection de telles molécules au niveau des sites de projections des cellules transduites par les AAV pourraient moduler la propagation interneuronale de la protéine Tau. Il serait également intéressant de caractériser la MEC chez les souris déficientes en TREM2 et les souris âgées pour mettre en évidence des différences qui expliqueraient l'augmentation de la pathologie Tau et de sa propagation observées dans cette étude.

4.3.2 Interaction des astrocytes et de la microglie

Une étude récente menée au laboratoire sur un modèle de tauopathie développé par transfert de gènes, a mis en évidence un transfert de Tau *in vivo* entre les astrocytes et les neurones (Mate de Gerando et al, *in press*). Cette étude suggère que les astrocytes seraient des vecteurs de la propagation de Tau et qu'ils sont capables, à l'instar de la microglie, de capturer la protéine Tau dans le milieu extracellulaire et de la sécréter bien que les mécanismes de cette sécrétion restent encore à définir.

Un des mécanismes qui pourrait intervenir dans l'internalisation de la protéine Tau dans les astrocytes est la phagocytose de la protéine Tau dans le milieu extracellulaire ou encore de synapses de neurones affectés par la pathologie Tau. Il a été mis en évidence qu'au cours du développement la phagocytose des synapses médiée par les astrocytes est contrôlée par la microglie et notamment par son récepteur TREM2 (Jay et al., 2019). De plus la microglie et les astrocytes phagocytent les cellules mortes de manière synchronisée via une communication dépendante du récepteur MERTK (*Myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase*). Liddelw et coll. ont également mis en évidence que la microglie induit la transition des astrocytes vers un phénotype neurotoxique nommé A1 (Liddelw et al., 2017). Ainsi ces études et d'autres données de la littérature suggèrent que les interactions microglie-astrocyte représentent un équilibre fragile affectant les fonctions neuronales en conditions physiologiques et pathologiques. Un déséquilibre de cette interaction pourrait être un des mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la MA et des tauopathies.

Les résultats obtenus au cours de cette étude suggèrent que la déficience en TREM2 entraîne une diminution de l'astrogliose dans le modèle mis en place dans les voies visuelles, ces données sont en accord avec les données obtenues par l'équipe de Ben Barres (Liddelw et al., 2017). Les données obtenues par l'équipe de Ben Barres suggèrent que l'induction du phénotype A1 par la microglie est médiée par la sécrétion IL-1 α , TNF et C1q. La libération de ces cytokines par la microglie est augmentée lorsque la microglie est activée, et ces données pourraient expliquer la diminution de l'astrogliose observée chez les souris déficientes en TREM2 dont la microglie présente un défaut d'activation. Les astrocytes A1 sont caractérisés par la perte de plusieurs fonctions telles que leur capacité à promouvoir la survie neuronale ou encore leur capacité de phagocytose. Ainsi chez les animaux déficients en TREM2, il serait intéressant de caractériser les astrocytes. Il est possible que ces animaux aient une quantité d'astrocytes A1 plus faible que les animaux ayant une ou deux copies du gène *Trem2* et soient ainsi capables de mieux phagocyter les synapses et ainsi de plus propager la protéine Tau de neurones en neurones.

4.3.3 Apport de la composante amyloïde

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence des dégénérescences neurofibrillaires mais également des plaques amyloïdes. Une étude récente suggère que la microglie serait le lien entre ces deux acteurs de la pathologie. Cette étude a été menée dans un modèle de souris APP humanisées (APP^{NL-G-F}) injectées avec des AAV-Tau permettant l'expression de la protéine tau humaine portant la mutation P301L qui favorise son agrégation. L'injection de l'AAV-Tau^{P301L} chez des souris APP induit une propagation de la protéine Tau plus importante que chez des souris sauvages. L'inhibition de la microglie chez ces souris réduit drastiquement la propagation de la protéine (Clayton et al., 2021). Cette étude suggère donc que la pathologie amyloïde potentialise la pathologie Tau via des mécanismes dépendant de la microglie.

Certaines études suggèrent que ces mécanismes pourraient impliquer le récepteur TREM2. Leyns et coll. ont mis en évidence que la déficience en TREM2 dans un modèle présentant à la fois des lésions amyloïdes (modèle APPS1-21) et des lésions Tau (injection d'homogénats de patients) entraîne une réduction de la microgliose autour des plaques et facilite la propagation de la protéine Tau (Leyns et al., 2019). Ainsi la pathologie amyloïde semble jouer un rôle dans la propagation de la pathologie Tau via des mécanismes dépendant de TREM2 et de l'activation microgliale. C'est pourquoi nous avons injecté des souris APP-PS1 de 15 mois avec des AVV-GFP-P2A-Tau et que nous sommes actuellement en train de les caractériser. La mise en place de ce modèle présentant à la fois la pathologie Tau et la pathologie amyloïde permettra de tester des stratégies thérapeutiques visant à moduler l'activité de la microglie.

5 Conclusion

L'objectif de ce projet était de mieux comprendre le rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau. Pour atteindre ce but, deux nouveaux modèles de tauopathie focale ont été développés par transfert de gène médié par des vecteur AAV. Le premier modèle qui cible les voies visuelles permet l'induction d'une tauopathie focale au niveau de la rétine qui se diffuse jusqu'aux colliculi supérieurs mais ne se propage pas. Un second modèle mis en place dans le gyrus denté permet d'induire une tauopathie focale dans les couches granulaire et polymorphique du gyrus denté et la caractérisation de ce modèle met en évidence une propagation de la protéine Tau un mois après l'injection des vecteurs.

L'application de ces modèles à des conditions où le fonctionnement de la microglie est perturbé met en évidence un rôle important de cette population de cellules que ce soit dans la progression de la pathologie Tau mais également dans sa propagation. Cependant, bien que ces études suggèrent un lien entre une altération des fonctions microgliales et la propagation de la microglie, elle ne permet pas de comprendre les mécanismes sous-jacents à ce lien. Il est possible que ce lien ne soit pas direct

et fasse intervenir d'autres acteurs tels que les réseaux périneuronaux, les astrocytes ou encore la composante amyloïde. La compréhension de ces mécanismes permettrait de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour bloquer la propagation de la pathologie Tau.

Références

- Afreen, S., Riherd Methner, D.N., Ferreira, A., 2017. Tau45-230 association with the cytoskeleton and membrane-bound organelles: Functional implications in neurodegeneration. *Neuroscience* 362, 104–117. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.08.026>
- Ahmed, Z., Cooper, J., Murray, T.K., Garn, K., McNaughton, E., Clarke, H., Parhizkar, S., Ward, M.A., Cavallini, A., Jackson, S., Bose, S., Clavaguera, F., Tolnay, M., Lavenir, I., Goedert, M., Hutton, M.L., O'Neill, M.J., 2014. A novel in vivo model of tau propagation with rapid and progressive neurofibrillary tangle pathology: the pattern of spread is determined by connectivity, not proximity. *Acta Neuropathol* 127, 667–683. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1254-6>
- Aizenstein, H.J., Nebes, R.D., Saxton, J.A., Price, J.C., Mathis, C.A., Tsopelas, N.D., Ziolkowski, S.K., James, J.A., Snitz, B.E., Houck, P.R., Bi, W., Cohen, A.D., Lopresti, B.J., DeKosky, S.T., Halligan, E.M., Klunk, W.E., 2008. Frequent Amyloid Deposition Without Significant Cognitive Impairment Among the Elderly. *Arch Neurol* 65, 1509–1517. <https://doi.org/10.1001/archneur.65.11.1509>
- Akiyoshi, R., Wake, H., Kato, D., Horiuchi, H., Ono, R., Ikegami, A., Haruwaka, K., Omori, T., Tachibana, Y., Moorhouse, A.J., Nabekura, J., 2018. Microglia Enhance Synapse Activity to Promote Local Network Synchronization. *eNeuro* 5. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0088-18.2018>
- Albert, M., Mairet-Coello, G., Danis, C., Lieger, S., Caillierez, R., Carrier, S., Skrobala, E., Landrieu, I., Michel, A., Schmitt, M., Citron, M., Downey, P., Courade, J.-P., Buée, L., Colin, M., 2019. Prevention of tau seeding and propagation by immunotherapy with a central tau epitope antibody. *Brain* 142, 1736–1750. <https://doi.org/10.1093/brain/awz100>
- Allcock, R.J.N., Barrow, A.D., Forbes, S., Beck, S., Trowsdale, J., 2003. The human TREM gene cluster at 6p21.1 encodes both activating and inhibitory single IgV domain receptors and includes NKp44. *European Journal of Immunology* 33, 567–577. <https://doi.org/10.1002/immu.200310033>
- Allen, B., Ingram, E., Takao, M., Smith, M.J., Jakes, R., Virdee, K., Yoshida, H., Holzer, M., Craxton, M., Emson, P.C., Atzori, C., Migheli, A., Crowther, R.A., Ghetti, B., Spillantini, M.G., Goedert, M., 2002. Abundant Tau Filaments and Nonapoptotic Neurodegeneration in Transgenic Mice Expressing Human P301S Tau Protein. *J Neurosci* 22, 9340–9351. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-21-09340.2002>
- Allen, M., Wang, X., Serie, D.J., Strickland, S.L., Burgess, J.D., Koga, S., Younkin, C.S., Nguyen, T.T., Malphrus, K.G., Lincoln, S.J., Alamprese, M., Zhu, K., Chang, R., Carrasquillo, M.M., Kouri, N., Murray, M.E., Reddy, J.S., Funk, C., Price, N.D., Golde, T.E., Younkin, S.G., Asmann, Y.W., Crook, J.E., Dickson, D.W., Ertekin-Taner, N., 2018. Divergent brain gene expression patterns associate with distinct cell-specific tau neuropathology traits in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol* 136, 709–727. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1900-5>
- Alliot, F., Godin, I., Pessac, B., 1999. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Brain Res Dev Brain Res* 117, 145–152. [https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(99\)00113-3](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(99)00113-3)
- Alzforum, 2021. In Phase 2, Donanemab Curbs Cognitive Decline in Early Alzheimer's | ALZFORUM [WWW Document]. Alzforum. URL <https://www.alzforum.org/news/research-news/phase-2-donanemab-curbs-cognitive-decline-early-alzheimers#comment-39046>
- Alzforum, 2020. Aducanumab | ALZFORUM [WWW Document]. URL <https://www.alzforum.org/therapeutics/aducanumab> (accessed 2.24.21).
- Alzheimer, A., Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., Murtagh, F.R., 1995. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde." *Clin Anat* 8, 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>
- Alzheimer Association, 2020. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia* 16, 391–460. <https://doi.org/10.1002/alz.12068>

- Andorfer, C., Kress, Y., Espinoza, M., de Silva, R., Tucker, K.L., Barde, Y.-A., Duff, K., Davies, P., 2003. Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J Neurochem* 86, 582–590. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01879.x>
- Angelova, D.M., Brown, D.R., 2019. Microglia and the aging brain: are senescent microglia the key to neurodegeneration? *Journal of Neurochemistry* 151, 676–688. <https://doi.org/10.1111/jnc.14860>
- Aronov, S., Aranda, G., Behar, L., Ginzburg, I., 2001. Axonal Tau mRNA Localization Coincides with Tau Protein in Living Neuronal Cells and Depends on Axonal Targeting Signal. *J. Neurosci.* 21, 6577–6587. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-17-06577.2001>
- Asai, H., Ikezu, S., Tsunoda, S., Medalla, M., Luebke, J., Haydar, T., Wolozin, B., Butovsky, O., Kügler, S., Ikezu, T., 2015. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci* 18, 1584–1593. <https://doi.org/10.1038/nn.4132>
- Askew, K., Li, K., Olmos-Alonso, A., Garcia-Moreno, F., Liang, Y., Richardson, P., Tipton, T., Chapman, M.A., Riecken, K., Beccari, S., Sierra, A., Molnár, Z., Cragg, M.S., Garaschuk, O., Perry, V.H., Gomez-Nicola, D., 2017. Coupled Proliferation and Apoptosis Maintain the Rapid Turnover of Microglia in the Adult Brain. *Cell Reports* 18, 391–405. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.041>
- Ausó, E., Gómez-Vicente, V., Esquivá, G., 2020. Biomarkers for Alzheimer’s Disease Early Diagnosis. *J Pers Med* 10. <https://doi.org/10.3390/jpm10030114>
- Baas, P.W., Qiang, L., 2019. Tau: It’s Not What You Think. *Trends in Cell Biology* 29, 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.02.007>
- Baig, S., Wilcock, G.K., Love, S., 2005. Loss of perineuronal net N-acetylgalactosamine in Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathol* 110, 393–401. <https://doi.org/10.1007/s00401-005-1060-2>
- Bailey, C.C., DeVaux, L.B., Farzan, M., 2015. The Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 Binds Apolipoprotein E*. *Journal of Biological Chemistry* 290, 26033–26042. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.677286>
- Barghorn, S., Zheng-Fischhöfer, Q., Ackmann, M., Biernat, J., von Bergen, M., Mandelkow, E.M., Mandelkow, E., 2000. Structure, microtubule interactions, and paired helical filament aggregation by tau mutants of frontotemporal dementias. *Biochemistry* 39, 11714–11721. <https://doi.org/10.1021/bi000850r>
- Barten, D.M., Cadelina, G.W., Hoque, N., DeCarr, L.B., Guss, V.L., Yang, L., Sankaranarayanan, S., Wes, P.D., Flynn, M.E., Meredith, J.E., Ahlijanian, M.K., Albright, C.F., 2011. Tau Transgenic Mice as Models for Cerebrospinal Fluid Tau Biomarkers. *Journal of Alzheimer’s Disease* 24, 127–141. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110161>
- Bednarski, E., Lynch, G., 1996. Cytosolic Proteolysis of τ by Cathepsin D in Hippocampus Following Suppression of Cathepsins B and L. *Journal of Neurochemistry* 67, 1846–1855. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.67051846.x>
- Bejanin, A., Schonhaut, D.R., La Joie, R., Kramer, J.H., Baker, S.L., Sosa, N., Ayakta, N., Cantwell, A., Janabi, M., Lauriola, M., O’Neil, J.P., Gorno-Tempini, M.L., Miller, Z.A., Rosen, H.J., Miller, B.L., Jagust, W.J., Rabinovici, G.D., 2017. Tau pathology and neurodegeneration contribute to cognitive impairment in Alzheimer’s disease. *Brain* 140, 3286–3300. <https://doi.org/10.1093/brain/awx243>
- Bemiller, S.M., McCray, T.J., Allan, K., Formica, S.V., Xu, G., Wilson, G., Kokiko-Cochran, O.N., Crish, S.D., Lasagna-Reeves, C.A., Ransohoff, R.M., Landreth, G.E., Lamb, B.T., 2017. TREM2 deficiency exacerbates tau pathology through dysregulated kinase signaling in a mouse model of tauopathy. *Mol Neurodegeneration* 12, 74. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0216-6>
- Bendiske, J., Bahr, B.A., 2003. Lysosomal Activation Is a Compensatory Response Against Protein Accumulation and Associated Synaptopathogenesis—An Approach for Slowing Alzheimer Disease? *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 62, 451–463. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.5.451>
- Benhelli-Mokrani, H., Mansuroglu, Z., Chauderlier, A., Albaud, B., Gentien, D., Sommer, S., Schirmer, C., Laqueuvre, L., Josse, T., Buée, L., Lefebvre, B., Galas, M.-C., Souès, S., Bonnefoy, E., 2018.

- Genome-wide identification of genic and intergenic neuronal DNA regions bound by Tau protein under physiological and stress conditions. *Nucleic Acids Research* 46, 11405–11422. <https://doi.org/10.1093/nar/gky929>
- Bhattacharjee, S., Zhao, Y., Dua, P., Rogaev, E.I., Lukiw, W.J., 2016. microRNA-34a-Mediated Down-Regulation of the Microglial-Enriched Triggering Receptor and Phagocytosis-Sensor TREM2 in Age-Related Macular Degeneration. *PLOS ONE* 11, e0150211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150211>
- Binder, L.I., Frankfurter, A., Rebhun, L.I., 1985. The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *The Journal of Cell Biology* 101, 1371–1378. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1371>
- Blennow, K., de Leon, M.J., Zetterberg, H., 2006. Alzheimer's disease. *Lancet* 368, 387–403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69113-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7)
- Bobinski, M., de Leon, M.J., Wegiel, J., DeSanti, S., Convit, A., Saint Louis, L.A., Rusinek, H., Wisniewski H.M., 1999. The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 95, 721–725. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(99\)00476-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(99)00476-5)
- Bolmont, T., Clavaguera, F., Meyer-Luehmann, M., Herzog, M.C., Radde, R., Staufenbiel, M., Lewis, J., Hutton, M., Tolnay, M., Jucker, M., 2007. Induction of tau pathology by intracerebral infusion of amyloid-beta -containing brain extract and by amyloid-beta deposition in APP x Tau transgenic mice. *Am J Pathol* 171, 2012–2020. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.070403>
- Bolós, M., Llorens-Martín, M., Jurado-Arjona, J., Hernández, F., Rábano, A., Avila, J., 2016. Direct Evidence of Internalization of Tau by Microglia In Vitro and In Vivo. *J Alzheimers Dis* 50, 77–87. <https://doi.org/10.3233/JAD-150704>
- Bolós, M., Llorens-Martín, M., Perea, J.R., Jurado-Arjona, J., Rábano, A., Hernández, F., Avila, J., 2017. Absence of CX3CR1 impairs the internalization of Tau by microglia. *Mol Neurodegeneration* 12, 59. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0200-1>
- Boluda, S., Iba, M., Zhang, B., Raible, K.M., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., 2015. Differential induction and spread of tau pathology in young PS19 tau transgenic mice following intracerebral injections of pathological tau from Alzheimer's disease or corticobasal degeneration brains. *Acta Neuropathol* 129, 221–237. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1373-0>
- Borroni, B., Ferrari, F., Galimberti, D., Nacmias, B., Barone, C., Bagnoli, S., Fenoglio, C., Piaceri, I., Archetti, S., Bonvicini, C., Gennarelli, M., Turla, M., Scarpini, E., Sorbi, S., Padovani, A., 2014. Heterozygous TREM2 mutations in frontotemporal dementia. *Neurobiology of Aging* 35, 934.e7-934.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.017>
- Bouchon, A., Dietrich, J., Colonna, M., 2000. Cutting Edge: Inflammatory Responses Can Be Triggered by TREM-1, a Novel Receptor Expressed on Neutrophils and Monocytes. *The Journal of Immunology* 164, 4991–4995. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.10.4991>
- Bouchon, A., Hernández-Munain, C., Cella, M., Colonna, M., 2001. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J Exp Med* 194, 1111–1122. <https://doi.org/10.1084/jem.194.8.1111>
- Boutajangout, A., Boom, A., Leroy, K., Brion, J.P., 2004. Expression of tau mRNA and soluble tau isoforms in affected and non-affected brain areas in Alzheimer's disease. *FEBS Letters* 576, 183–189. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.09.011>
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82, 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Braak, H., Thal, D.R., Ghebremedhin, E., Del Tredici, K., 2011. Stages of the Pathologic Process in Alzheimer Disease: Age Categories From 1 to 100 Years. *J Neuropathol Exp Neurol* 70, 960–969. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318232a379>
- Brandt, R., Trushina, N.I., Bakota, L., 2020. Much More Than a Cytoskeletal Protein: Physiological and Pathological Functions of the Non-microtubule Binding Region of Tau. *Front. Neurol.* 11, 590059. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.590059>

- Breijyeh, Z., Karaman, R., 2020. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Brelstaff, J., Tolkovsky, A.M., Ghetti, B., Goedert, M., Spillantini, M.G., 2018. Living Neurons with Tau Filaments Aberrantly Expose Phosphatidylserine and Are Phagocytosed by Microglia. *Cell Rep* 24, 1939–1948.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.072>
- Brendel, M., Barthel, H., van Eimeren, T., Marek, K., Beyer, L., Song, M., Palleis, C., Gehmeyr, M., Fietzek, U., Respondek, G., Sauerbeck, J., Nitschmann, A., Zach, C., Hammes, J., Barbe, M.T., Onur, O., Jessen, F., Saur, D., Schroeter, M.L., Rumpf, J.-J., Rullmann, M., Schildan, A., Patt, M., Neumaier, B., Barret, O., Madonia, J., Russell, D.S., Stephens, A., Roeber, S., Herms, J., Bötzel, K., Classen, J., Bartenstein, P., Villemagne, V., Levin, J., Höglinger, G.U., Drzezga, A., Seibyl, J., Sabri, O., 2020. Assessment of 18F-PI-2620 as a Biomarker in Progressive Supranuclear Palsy. *JAMA Neurol* 77, 1408–1419. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.2526>
- Brown, G.C., Neher, J.J., 2014. Microglial phagocytosis of live neurons. *Nat Rev Neurosci* 15, 209–216. <https://doi.org/10.1038/nrn3710>
- Busche, M.A., Hyman, B.T., 2020. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience* 23, 1183–1193. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0687-6>
- Butner, K.A., Kirschner, M.W., 1991. Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *Journal of Cell Biology* 115, 717–730. <https://doi.org/10.1083/jcb.115.3.717>
- Cady, J., Koval, E.D., Benitez, B.A., Zaidman, C., Jockel-Balsarotti, J., Allred, P., Baloh, R.H., Ravits, J., Simpson, E., Appel, S.H., Pestronk, A., Goate, A.M., Miller, T.M., Cruchaga, C., Harms, M.B., 2014. TREM2 variant p.R47H as a risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol* 71, 449–453. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6237>
- Calafate, S., Buist, A., Miskiewicz, K., Vijayan, V., Daneels, G., de Strooper, B., de Wit, J., Verstreken, P., Moechars, D., 2015. Synaptic Contacts Enhance Cell-to-Cell Tau Pathology Propagation. *Cell Reports* 11, 1176–1183. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.04.043>
- Calafate, S., Flavin, W., Verstreken, P., Moechars, D., 2016. Loss of Bin1 Promotes the Propagation of Tau Pathology. *Cell Reports* 17, 931–940. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.063>
- Cali, I., Cohen, M.L., Haik, S., Parchi, P., Giaccone, G., Collins, S.J., Kofskey, D., Wang, H., McLean, C.A., Brandel, J.-P., Privat, N., Sazdovitch, V., Duyckaerts, C., Kitamoto, T., Belay, E.D., Maddox, R.A., Tagliavini, F., Pocchiarri, M., Leschek, E., Appleby, B.S., Safar, J.G., Schonberger, L.B., Gambetti, P., 2018. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease with Amyloid- β pathology: an international study. *Acta Neuropathol Commun* 6, 5. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0503-z>
- Camero, S., Benítez, M.J., Cuadros, R., Hernández, F., Ávila, J., Jiménez, J.S., 2014. Thermodynamics of the Interaction between Alzheimer's Disease Related Tau Protein and DNA. *PLoS ONE* 9, e104690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104690>
- Cattaud, V., Bezzina, C., Rey, C.C., Lejards, C., Dahan, L., Verret, L., 2018. Early disruption of parvalbumin expression and perineuronal nets in the hippocampus of the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease can be rescued by enriched environment. *Neurobiol Aging* 72, 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.08.024>
- Celarain, N., Sánchez-Ruiz de Gordo, J., Zelaya, M.V., Roldán, M., Larumbe, R., Pulido, L., Echavarri, C., Mendioroz, M., 2016. TREM2 upregulation correlates with 5-hydroxymethylcytosine enrichment in Alzheimer's disease hippocampus. *Clin Epigenet* 8, 37. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0202-9>
- Cella, M., Buonsanti, C., Strader, C., Kondo, T., Salmaggi, A., Colonna, M., 2003. Impaired differentiation of osteoclasts in TREM-2-deficient individuals. *J Exp Med* 198, 645–651. <https://doi.org/10.1084/jem.20022220>
- Chai, X., Dage, J.L., Citron, M., 2012. Constitutive secretion of tau protein by an unconventional mechanism. *Neurobiol Dis* 48, 356–366. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.05.021>
- Chastagner, P., Loria, F., Vargas, J.Y., Tois, J., I Diamond, M., Okafo, G., Brou, C., Zurzolo, C., 2020. Fate and propagation of endogenously formed Tau aggregates in neuronal cells. *EMBO Mol Med* 12, e12025. <https://doi.org/10.15252/emmm.202012025>

- Chen, J., Kanai, Y., Cowan, N.J., Hirokawa, N., 1992. Projection domains of MAP2 and tau determine spacings between microtubules in dendrites and axons. *Nature* 360, 674–677. <https://doi.org/10.1038/360674a0>
- Chen, Q., Zhou, Z., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, Y., Zhong, M., Xu, S., Chen, C., Li, L., Yu, Z., 2012. Tau protein is involved in morphological plasticity in hippocampal neurons in response to BDNF. *Neurochem Int* 60, 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.12.013>
- Cheng-Hathaway, P.J., Reed-Geaghan, E.G., Jay, T.R., Casali, B.T., Bemiller, S.M., Puntambekar, S.S., von Saucken, V.E., Williams, R.Y., Karlo, J.C., Moutinho, M., Xu, G., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Landreth, G.E., 2018. The Trem2 R47H variant confers loss-of-function-like phenotypes in Alzheimer’s disease. *Mol Neurodegener* 13, 29. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0262-8>
- Claes, C., Van Den Daele, J., Boon, R., Schouteden, S., Colombo, A., Monasor, L.S., Fiers, M., Ordoñas, L., Nami, F., Bohrmann, B., Tahirovic, S., De Strooper, B., Verfaillie, C.M., 2019. Human stem cell-derived monocytes and microglia-like cells reveal impaired amyloid plaque clearance upon heterozygous or homozygous loss of TREM2. *Alzheimer’s & Dementia* 15, 453–464. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.09.006>
- Clavaguera, F., Akatsu, H., Fraser, G., Crowther, R.A., Frank, S., Hench, J., Probst, A., Winkler, D.T., Reichwald, J., Staufenbiel, M., Ghetti, B., Goedert, M., Tolnay, M., 2013. Brain homogenates from human tauopathies induce tau inclusions in mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 9535–9540. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301175110>
- Clavaguera, F., Bolmont, T., Crowther, R.A., Abramowski, D., Frank, S., Probst, A., Fraser, G., Stalder, A.K., Beibel, M., Staufenbiel, M., Jucker, M., Goedert, M., Tolnay, M., 2009. Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nat Cell Biol* 11, 909–913. <https://doi.org/10.1038/ncb1901>
- Clavaguera, F., Hench, J., Lavenir, I., Schweighauser, G., Frank, S., Goedert, M., Tolnay, M., 2014. Peripheral administration of tau aggregates triggers intracerebral tauopathy in transgenic mice. *Acta Neuropathol* 127, 299–301. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1231-5>
- Clayton, K., Delpech, J.C., Herron, S., Iwahara, N., Ericsson, M., Saito, T., Saido, T.C., Ikezu, S., Ikezu, T., 2021. Plaque associated microglia hyper-secrete extracellular vesicles and accelerate tau propagation in a humanized APP mouse model. *Mol Neurodegener* 16, 18. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00440-9>
- Combs, B., Mueller, R.L., Morfini, G., Brady, S.T., Kanaan, N.M., 2019. Tau and Axonal Transport Misregulation in Tauopathies. *Adv Exp Med Biol* 1184, 81–95. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8_7
- Cope, T.E., Rittman, T., Borchert, R.J., Jones, P.S., Vatansever, D., Allinson, K., Passamonti, L., Vazquez Rodriguez, P., Bevan-Jones, W.R., O’Brien, J.T., Rowe, J.B., 2018. Tau burden and the functional connectome in Alzheimer’s disease and progressive supranuclear palsy. *Brain* 141, 550–567. <https://doi.org/10.1093/brain/awx347>
- Crapser, Joshua D, Ochaba, J., Soni, N., Reidling, J.C., Thompson, L.M., Green, K.N., 2020. Microglial depletion prevents extracellular matrix changes and striatal volume reduction in a model of Huntington’s disease. *Brain* 143, 266–288. <https://doi.org/10.1093/brain/awz363>
- Crapser, Joshua D., Spangenberg, E.E., Barahona, R.A., Arreola, M.A., Hohsfield, L.A., Green, K.N., 2020. Microglia facilitate loss of perineuronal nets in the Alzheimer’s disease brain. *EBioMedicine* 58, 102919. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102919>
- Cross, D.C., Muñoz, J.P., Hernández, P., Maccioni, R.B., 2000. Nuclear and cytoplasmic tau proteins from human nonneuronal cells share common structural and functional features with brain tau. *J Cell Biochem* 78, 305–317.
- Crotti, A., Sait, H.R., McAvoy, K.M., Estrada, K., Ergun, A., Szak, S., Marsh, G., Jandreski, L., Peterson, M., Reynolds, T.L., Dalkilic-Liddle, I., Cameron, A., Cahir-McFarland, E., Ransohoff, R.M., 2019. BIN1 favors the spreading of Tau via extracellular vesicles. *Sci Rep* 9, 9477. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45676-0>
- Cruchaga, C., Kauwe, J.S.K., Harari, O., Jin, S.C., Cai, Y., Karch, C.M., Benitez, B.A., Jeng, A.T., Skorupa, T., Carrell, D., Bertelsen, S., Bailey, M., McKean, D., Shulman, J.M., De Jager, P.L., Chibnik, L.,

- Bennett, D.A., Arnold, S.E., Harold, D., Sims, R., Gerrish, A., Williams, J., Van Deerlin, V.M., Lee, V.M.-Y., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Haines, J.L., Mayeux, R., Pericak-Vance, M.A., Farrer, L.A., Schellenberg, G.D., Peskind, E.R., Galasko, D., Fagan, A.M., Holtzman, D.M., Morris, J.C., Goate, A.M., 2013. GWAS of Cerebrospinal Fluid Tau Levels Identifies Risk Variants for Alzheimer's Disease. *Neuron* 78, 256–268. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.026>
- d'Orange, M., Aurégan, G., Cheramy, D., Gaudin-Guérif, M., Lieger, S., Guillemier, M., Stimmer, L., Joséphine, C., Hérard, A.-S., Gaillard, M.-C., Petit, F., Kiessling, M.C., Schmitz, C., Colin, M., Buée, L., Panayi, F., Diguët, E., Brouillet, E., Hantraye, P., Bemelmans, A.-P., Cambon, K., 2018. Potentiating tangle formation reduces acute toxicity of soluble tau species in the rat. *Brain* 141, 535–549. <https://doi.org/10.1093/brain/awx342>
- Damisah, E.C., Hill, R.A., Rai, A., Chen, F., Rothlin, C.V., Ghosh, S., Grutzendler, J., 2020. Astrocytes and microglia play orchestrated roles and respect phagocytic territories during neuronal corpse removal in vivo. *Sci Adv* 6, eaba3239. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba3239>
- Davalos, D., Grutzendler, J., Yang, G., Kim, J.V., Zuo, Y., Jung, S., Littman, D.R., Dustin, M.L., Gan, W.-B., 2005. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nature Neuroscience* 8, 752–758. <https://doi.org/10.1038/nn1472>
- David, D.C., Hauptmann, S., Scherping, I., Schuessel, K., Keil, U., Rizzu, P., Ravid, R., Dröse, S., Brandt, U., Müller, W.E., Eckert, A., Götz, J., 2005. Proteomic and Functional Analyses Reveal a Mitochondrial Dysfunction in P301L Tau Transgenic Mice. *J. Biol. Chem.* 280, 23802–23814. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500356200>
- David, D.C., Layfield, R., Serpell, L., Narain, Y., Goedert, M., Spillantini, M.G., 2002. Proteasomal degradation of tau protein. *Journal of Neurochemistry* 83, 176–185. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01137.x>
- De Schepper, S., Crowley, G., Hong, S., 2020. Understanding microglial diversity and implications for neuronal function in health and disease. *Dev Neurobiol.* <https://doi.org/10.1002/dneu.22777>
- de Calignon, A., Polydoro, M., Suárez-Calvet, M., William, C., Adamowicz, D.H., Kopeikina, K.J., Pitstick, R., Sahara, N., Ashe, K.H., Carlson, G.A., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2012. Propagation of Tau Pathology in a Model of Early Alzheimer's Disease. *Neuron* 73, 685–697. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.033>
- Decker, J.M., Krüger, L., Sydow, A., Zhao, S., Frotscher, M., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2015. Pro-aggregant Tau impairs mossy fiber plasticity due to structural changes and Ca⁺⁺ dysregulation. *acta neuropathol commun* 3, 23. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0193-3>
- Deczkowska, A., Keren-Shaul, H., Weiner, A., Colonna, M., Schwartz, M., Amit, I., 2018. Disease-Associated Microglia: A Universal Immune Sensor of Neurodegeneration. *Cell* 173, 1073–1081. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.003>
- DeGennaro, L.J., Kanazir, S.D., Wallace, W.C., Lewis, R.M., Greengard, P., 1983. Neuron-specific Phosphoproteins as Models for Neuronal Gene Expression. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 48, 337–345. <https://doi.org/10.1101/SQB.1983.048.01.037>
- Dejanovic, B., Huntley, M.A., De Mazière, A., Meilandt, W.J., Wu, T., Srinivasan, K., Jiang, Z., Gandham, V., Friedman, B.A., Ngu, H., Foreman, O., Carano, R.A.D., Chih, B., Klumperman, J., Bakalarski, C., Hanson, J.E., Sheng, M., 2018. Changes in the Synaptic Proteome in Tauopathy and Rescue of Tau-Induced Synapse Loss by C1q Antibodies. *Neuron* 100, 1322–1336.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.014>
- Delacourte, A., David, J.P., Sergeant, N., Buée, L., Wattez, A., Vermersch, P., Ghazali, F., Fallet-Bianco, C., Pasquier, F., Lebert, F., Petit, H., Menza, C.D., 1999. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52, 1158–1158. <https://doi.org/10.1212/WNL.52.6.1158>
- Delaère, P., Duyckaerts, C., Masters, C., Beyreuther, K., Piette, F., Hauw, J.J., 1990. Large amounts of neocortical beta A4 deposits without neuritic plaques nor tangles in a psychometrically assessed, non-demented person. *Neurosci Lett* 116, 87–93. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(90\)90391-l](https://doi.org/10.1016/0304-3940(90)90391-l)

- Delobel, P., Leroy, O., Hamdane, M., Sambo, A.V., Delacourte, A., Buée, L., 2005. Proteasome inhibition and Tau proteolysis: an unexpected regulation. *FEBS Letters* 579, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.11.018>
- DeVos, S.L., Corjuc, B.T., Oakley, D.H., Nobuhara, C.K., Bannon, R.N., Chase, A., Commins, C., Gonzalez, J.A., Dooley, P.M., Frosch, M.P., Hyman, B.T., 2018. Synaptic Tau Seeding Precedes Tau Pathology in Human Alzheimer's Disease Brain. *Front. Neurosci.* 12, 267. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00267>
- Dixit, R., Ross, J.L., Goldman, Y.E., Holzbaur, E.L.F., 2008. Differential Regulation of Dynein and Kinesin Motor Proteins by Tau. *Science* 319, 1086–1089. <https://doi.org/10.1126/science.1152993>
- Dotti, C.G., Banker, G.A., Binder, L.I., 1987. The expression and distribution of the microtubule-associated proteins tau and microtubule-associated protein 2 in hippocampal neurons in the rat in situ and in cell culture. *Neuroscience* 23, 121–130. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90276-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90276-4)
- Dubey, M., Chaudhury, P., Kabiru, H., Shea, T.B., 2008. Tau inhibits anterograde axonal transport and perturbs stability in growing axonal neurites in part by displacing kinesin cargo: Neurofilaments attenuate tau-mediated neurite instability. *Cell Motility* 65, 89–99. <https://doi.org/10.1002/cm.20243>
- Dujardin, S., Bégard, S., Caillierez, R., Lachaud, C., Carrier, S., Lieger, S., Gonzalez, J.A., Deramecourt, V., Déglon, N., Maurage, C.-A., Frosch, M.P., Hyman, B.T., Colin, M., Buée, L., 2018. Different tau species lead to heterogeneous tau pathology propagation and misfolding. *Acta Neuropathol Commun* 6. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0637-7>
- Dujardin, S., Bégard, S., Caillierez, R., Lachaud, C., Delattre, L., Carrier, S., Loyens, A., Galas, M.-C., Bousset, L., Melki, R., Aurégan, G., Hantraye, P., Brouillet, E., Buée, L., Colin, M., 2014a. Ectosomes: a new mechanism for non-exosomal secretion of tau protein. *PLoS One* 9, e100760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100760>
- Dujardin, S., Colin, M., Buée, L., 2015. Invited review: Animal models of tauopathies and their implications for research/translation into the clinic. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 41, 59–80. <https://doi.org/10.1111/nan.12200>
- Dujardin, S., Lécolle, K., Caillierez, R., Bégard, S., Zommer, N., Lachaud, C., Carrier, S., Dufour, N., Aurégan, G., Winderickx, J., Hantraye, P., Déglon, N., Colin, M., Buée, L., 2014b. Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: relevance to sporadic tauopathies. *acta neuropathol commun* 2, 14. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-14>
- Duyckaerts, C., Sazdovitch, V., Ando, K., Seilhean, D., Privat, N., Yilmaz, Z., Peckeu, L., Amar, E., Comoy, E., Maceski, A., Lehmann, S., Brion, J.-P., Brandel, J.-P., Haïk, S., 2018. Neuropathology of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease and immunoassay of French cadaver-sourced growth hormone batches suggest possible transmission of tauopathy and long incubation periods for the transmission of Abeta pathology. *Acta Neuropathol* 135, 201–212. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1791-x>
- Ebneth, A., Godemann, R., Stamer, K., Illenberger, S., Trinczek, B., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., 1998. Overexpression of Tau Protein Inhibits Kinesin-dependent Trafficking of Vesicles, Mitochondria, and Endoplasmic Reticulum: Implications for Alzheimer's Disease. *J Cell Biol* 143, 777–794.
- Eckermann, K., Mocanu, M.-M., Khlistunova, I., Biernat, J., Nissen, A., Hofmann, A., Schönig, K., Bujard, H., Haemisch, A., Mandelkow, E., Zhou, L., Rune, G., Mandelkow, E.-M., 2007. The β -Propensity of Tau Determines Aggregation and Synaptic Loss in Inducible Mouse Models of Tauopathy*. *Journal of Biological Chemistry* 282, 31755–31765. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705282200>
- Eftekhazadeh, B., Daigle, J.G., Kapinos, L.E., Coyne, A., Schiantarelli, J., Carlomagno, Y., Cook, C., Miller, S.J., Dujardin, S., Amaral, A.S., Grima, J.C., Bennett, R.E., Tepper, K., DeTure, M., Vanderburg, C.R., Corjuc, B.T., DeVos, S.L., Gonzalez, J.A., Chew, J., Vidensky, S., Gage, F.H., Mertens, J., Troncoso, J., Mandelkow, E., Salvatella, X., Lim, R.Y.H., Petrucelli, L., Wegmann, S., Rothstein,

- J.D., Hyman, B.T., 2018. Tau Protein Disrupts Nucleocytoplasmic Transport in Alzheimer's Disease. *Neuron* 99, 925-940.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.039>
- Eid, A., Mhatre, I., Richardson, J.R., 2019. Gene-environment interactions in Alzheimer's disease: A potential path to precision medicine. *Pharmacology & Therapeutics* 199, 173–187. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.03.005>
- Ellis, E.M., Gauvain, G., Sivyer, B., Murphy, G.J., 2016. Shared and distinct retinal input to the mouse superior colliculus and dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 116, 602–610. <https://doi.org/10.1152/jn.00227.2016>
- Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O'Callaghan, J.P., Petzold, G.C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N.J., Araque, A., Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D.E., Bonvento, G., Butt, A.M., Chen, W.-T., Cohen-Salmon, M., Cunningham, C., Deneen, B., De Strooper, B., Díaz-Castro, B., Farina, C., Freeman, M., Gallo, V., Goldman, J.E., Goldman, S.A., Götz, M., Gutiérrez, A., Haydon, P.G., Heiland, D.H., Hol, E.M., Holt, M.G., Iino, M., Kastanenka, K.V., Kettenmann, H., Khakh, B.S., Koizumi, S., Lee, C.J., Liddelow, S.A., MacVicar, B.A., Magistretti, P., Messing, A., Mishra, A., Molofsky, A.V., Murai, K.K., Norris, C.M., Okada, S., Oliet, S.H.R., Oliveira, J.F., Panatier, A., Parpura, V., Pekna, M., Pekny, M., Pellerin, L., Perea, G., Pérez-Nievas, B.G., Pfrieger, F.W., Poskanzer, K.E., Quintana, F.J., Ransohoff, R.M., Riquelme-Perez, M., Robel, S., Rose, C.R., Rothstein, J.D., Rouach, N., Rowitch, D.H., Semyanov, A., Sirko, S., Sontheimer, H., Swanson, R.A., Vitorica, J., Wanner, I.-B., Wood, L.B., Wu, J., Zheng, B., Zimmer, E.R., Zorec, R., Sofroniew, M.V., Verkhratsky, A., 2021. Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nature Neuroscience* 24, 312–325. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
- Escartin, C., Guillemaud, O., Sauvage, M.-A.C., 2019. Questions and (some) answers on reactive astrocytes. *Glia* 67, 2221–2247. <https://doi.org/10.1002/glia.23687>
- Evans, L.D., Wassmer, T., Fraser, G., Smith, J., Perkinson, M., Billinton, A., Livesey, F.J., 2018. Extracellular Monomeric and Aggregated Tau Efficiently Enter Human Neurons through Overlapping but Distinct Pathways. *Cell Reports* 22, 3612–3624. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.021>
- Fá, M., Puzzo, D., Piacentini, R., Staniszewski, A., Zhang, H., Baltrons, M.A., Li Puma, D.D., Chatterjee, I., Li, J., Saeed, F., Berman, H.L., Ripoli, C., Gulisano, W., Gonzalez, J., Tian, H., Costa, J.A., Lopez, P., Davidowitz, E., Yu, W.H., Haroutunian, V., Brown, L.M., Palmeri, A., Sigurdsson, E.M., Duff, K.E., Teich, A.F., Honig, L.S., Sierks, M., Moe, J.G., D'Adamio, L., Grassi, C., Kanaan, N.M., Fraser, P.E., Arancio, O., 2016. Extracellular Tau Oligomers Produce An Immediate Impairment of LTP and Memory. *Sci Rep* 6. <https://doi.org/10.1038/srep19393>
- Falcon, B., Noad, J., McMahon, H., Randow, F., Goedert, M., 2018. Galectin-8–mediated selective autophagy protects against seeded tau aggregation. *The Journal of Biological Chemistry* 293, 2438. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.809293>
- Ferrari, A., Hoerndli, F., Baechi, T., Nitsch, R.M., Götz, J., 2003. β -Amyloid Induces Paired Helical Filament-like Tau Filaments in Tissue Culture*. *Journal of Biological Chemistry* 278, 40162–40168. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308243200>
- Ferreira, T.A., Blackman, A.V., Oyrer, J., Jayabal, S., Chung, A.J., Watt, A.J., Sjöström, P.J., van Meyel, D.J., 2014. Neuronal morphometry directly from bitmap images. *Nat Methods* 11, 982–984. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3125>
- Fiandaca, M.S., Kapogiannis, D., Mapstone, M., Boxer, A., Eitan, E., Schwartz, J.B., Abner, E.L., Petersen, R.C., Federoff, H.J., Miller, B.L., Goetzl, E.J., 2015. Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: A case-control study. *Alzheimers Dement* 11, 600-607.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.06.008>
- Fichou, Y., Vigers, M., Goring, A.K., Eschmann, N.A., Han, S., 2018. Heparin-induced tau filaments are structurally heterogeneous and differ from Alzheimer's disease filaments. *Chem Commun (Camb)* 54, 4573–4576. <https://doi.org/10.1039/c8cc01355a>
- Fish, E.N., 2008. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat Rev Immunol* 8, 737–744. <https://doi.org/10.1038/nri2394>

- Fondation Alzheimer, 2019. Maladie d'Alzheimer : les chiffres clés [WWW Document]. Fondation Alzheimer. URL <https://www.fondation-alzheimer.org/maladie-dalzheimer-les-chiffres-cles/>
- Forabosco, P., Ramasamy, A., Trabzuni, D., Walker, R., Smith, C., Bras, J., Levine, A.P., Hardy, J., Pocock, J.M., Guerreiro, R., Weale, M.E., Ryten, M., 2013. Insights into TREM2 biology by network analysis of human brain gene expression data. *Neurobiol Aging* 34, 2699–2714. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.001>
- Fourgeaud, L., Través, P.G., Tufail, Y., Leal-Bailey, H., Lew, E.D., Burrola, P.G., Callaway, P., Zagórska, A., Rothlin, C.V., Nimmerjahn, A., Lemke, G., 2016. TAM receptors regulate multiple features of microglial physiology. *Nature* 532, 240–244. <https://doi.org/10.1038/nature17630>
- Franklin, S.L., Love, S., Greene, J.R.T., Betmouni, S., 2008. Loss of Perineuronal Net in ME7 Prion Disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 67, 189–199. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181654386>
- Franzmeier, N., Neitzel, J., Rubinski, A., Smith, R., Strandberg, O., Ossenkopppele, R., Hansson, O., Ewers, M., 2020. Functional brain architecture is associated with the rate of tau accumulation in Alzheimer's disease. *Nat Commun* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14159-1>
- Franzmeier, N., Rubinski, A., Neitzel, J., Kim, Y., Damm, A., Na, D.L., Kim, H.J., Lyoo, C.H., Cho, H., Finsterwalder, S., Duering, M., Seo, S.W., Ewers, M., for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, 2019. Functional connectivity associated with tau levels in ageing, Alzheimer's, and small vessel disease. *Brain* 142, 1093–1107. <https://doi.org/10.1093/brain/awz026>
- Freer, R., Sormanni, P., Vecchi, G., Ciryam, P., Dobson, C.M., Vendruscolo, M., 2016. A protein homeostasis signature in healthy brains recapitulates tissue vulnerability to Alzheimer's disease. *Science Advances* 2, e1600947. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600947>
- Frost, B., Jacks, R.L., Diamond, M.I., 2009. Propagation of Tau Misfolding from the Outside to the Inside of a Cell*. *Journal of Biological Chemistry* 284, 12845–12852. <https://doi.org/10.1074/jbc.M808759200>
- Frost, J.L., Schafer, D.P., 2016. Microglia: Architects of the Developing Nervous System. *Trends in Cell Biology* 26, 587–597. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.02.006>
- Fu, H., Possenti, A., Freer, R., Nakano, Y., Hernandez Villegas, N.C., Tang, M., Cauhy, P.V.M., Lassus, B.A., Chen, S., Fowler, S.L., Figueroa, H.Y., Huey, E.D., Johnson, G.V.W., Vendruscolo, M., Duff, K.E., 2019. A tau homeostasis signature is linked with the cellular and regional vulnerability of excitatory neurons to tau pathology. *Nature Neuroscience* 22, 47–56. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0298-7>
- Funk, K.E., Mirbaha, H., Jiang, H., Holtzman, D.M., Diamond, M.I., 2015. Distinct Therapeutic Mechanisms of Tau Antibodies: Promoting Microglial Clearance Versus Blocking Neuronal Uptake. *J Biol Chem* 290, 21652–21662. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.657924>
- Galatro, T.F., Holtman, I.R., Lerario, A.M., Vainchtein, I.D., Brouwer, N., Sola, P.R., Veras, M.M., Pereira, T.F., Leite, R.E.P., Möller, T., Wes, P.D., Sogayar, M.C., Laman, J.D., den Dunnen, W., Pasqualucci, C.A., Oba-Shinjo, S.M., Boddeke, E.W.G.M., Marie, S.K.N., Eggen, B.J.L., 2017. Transcriptomic analysis of purified human cortical microglia reveals age-associated changes. *Nat Neurosci* 20, 1162–1171. <https://doi.org/10.1038/nn.4597>
- Gamache, J., Benzow, K., Forster, C., Kemper, L., Hlynialuk, C., Furrow, E., Ashe, K.H., Koob, M.D., 2019. Factors other than hTau overexpression that contribute to tauopathy-like phenotype in rTg4510 mice. *Nat Commun* 10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10428-1>
- Gao, X., Dong, Y., Liu, Z., Niu, B., 2013. Silencing of triggering receptor expressed on myeloid cells-2 enhances the inflammatory responses of alveolar macrophages to lipopolysaccharide. *Molecular Medicine Reports* 7, 921–926. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1268>
- Garwood, C.J., Cooper, J.D., Hanger, D.P., Noble, W., 2010. Anti-inflammatory impact of minocycline in a mouse model of tauopathy. *Front Psychiatry* 1, 136. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2010.00136>
- Gary, C., Lam, S., Hérard, A.-S., Koch, J.E., Petit, F., Gipchtein, P., Sawiak, S.J., Caillierez, R., Eddarkaoui, S., Colin, M., Aujard, F., Deslys, J.-P., French Neuropathology Network, Brouillet, E., Buée, L., Comoy, E.E., Pifferi, F., Picq, J.-L., Dhenain, M., 2019. Encephalopathy induced by Alzheimer

- brain inoculation in a non-human primate. *Acta Neuropathol Commun* 7, 126. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0771-x>
- Gate, D., Saligrama, N., Leventhal, O., Yang, A.C., Unger, M.S., Middeldorp, J., Chen, K., Lehallier, B., Channappa, D., De Los Santos, M.B., McBride, A., Pluinage, J., Elahi, F., Tam, G.K.-Y., Kim, Y., Greicius, M., Wagner, A.D., Aigner, L., Galasko, D.R., Davis, M.M., Wyss-Coray, T., 2020. Clonally expanded CD8 T cells patrol the cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Nature* 577, 399–404. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1895-7>
- Ghetti, B., Oblak, A.L., Boeve, B.F., Johnson, K.A., Dickerson, B.C., Goedert, M., 2015. Invited review: Frontotemporal dementia caused by microtubule-associated protein tau gene (MAPT) mutations: a chameleon for neuropathology and neuroimaging. *Neuropathol Appl Neurobiol* 41, 24–46. <https://doi.org/10.1111/nan.12213>
- Gibbons, G.S., Banks, R.A., Kim, B., Xu, H., Changolkar, L., Leight, S.N., Riddle, D.M., Li, C., Gathagan, R.J., Brown, H.J., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2017. GFP-Mutant Human Tau Transgenic Mice Develop Tauopathy Following CNS Injections of Alzheimer's Brain-Derived Pathological Tau or Synthetic Mutant Human Tau Fibrils. *J Neurosci* 37, 11485–11494. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2393-17.2017>
- Gibbons, G.S., Lee, V.M.Y., Trojanowski, J.Q., 2019. Mechanisms of Cell-to-Cell Transmission of Pathological Tau: A Review. *JAMA Neurol* 76, 101. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.2505>
- Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., Mehler, M.F., Conway, S.J., Ng, L.G., Stanley, E.R., Samokhvalov, I.M., Merad, M., 2010. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 330, 841–845. <https://doi.org/10.1126/science.1194637>
- Goedert, M., Jakes, R., 1990. Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *EMBO J* 9, 4225–4230.
- Goedert, M., Spillantini, M.G., Potier, M.C., Ulrich, J., Crowther, R.A., 1989. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J* 8, 393–399.
- Gomez Perdiguero, E., Klapproth, K., Schulz, C., Busch, K., Azzoni, E., Crozet, L., Garner, H., Trouillet, C., de Bruijn, M.F., Geissmann, F., Rodewald, H.-R., 2015. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature* 518, 547–551. <https://doi.org/10.1038/nature13989>
- Gómez-Ramos, A., Díaz-Hernández, M., Rubio, A., Miras-Portugal, M.T., Avila, J., 2008. Extracellular tau promotes intracellular calcium increase through M1 and M3 muscarinic receptors in neuronal cells. *Molecular and Cellular Neuroscience* 37, 673–681. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.12.010>
- Gonçalves, L.A., Rodrigues-Duarte, L., Rodo, J., Vieira de Moraes, L., Marques, I., Penha-Gonçalves, C., 2013. TREM2 governs Kupffer cell activation and explains belr1 genetic resistance to malaria liver stage infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 19531–19536. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306873110>
- Goode, B.L., Chau, M., Denis, P.E., Feinstein, S.C., 2000. Structural and Functional Differences between 3-Repeat and 4-Repeat Tau Isoforms: IMPLICATIONS FOR NORMAL TAU FUNCTION AND THE ONSET OF NEURODEGENERATIVE DISEASE. *J. Biol. Chem.* 275, 38182–38189. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007489200>
- Götz, J., Chen, F., Dorpe, J. van, Nitsch, R.M., 2001. Formation of Neurofibrillary Tangles in P301L Tau Transgenic Mice Induced by A β 42 Fibrils. *Science* 293, 1491–1495. <https://doi.org/10.1126/science.1062097>
- Götz, J., Probst, A., Spillantini, M.G., Schäfer, T., Jakes, R., Bürki, K., Goedert, M., 1995. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *EMBO J* 14, 1304–1313.

- Grabert, K., Michoel, T., Karavolos, M.H., Clohisey, S., Baillie, J.K., Stevens, M.P., Freeman, T.C., Summers, K.M., McColl, B.W., 2016. Microglial brain region-dependent diversity and selective regional sensitivities to aging. *Nat Neurosci* 19, 504–516. <https://doi.org/10.1038/nn.4222>
- Gratuze, M., Leyns, C.E., Sauerbeck, A.D., St-Pierre, M.-K., Xiong, M., Kim, N., Serrano, J.R., Tremblay, M.-È., Kummer, T.T., Colonna, M., Ulrich, J.D., Holtzman, D.M., 2020. Impact of TREM2R47H variant on tau pathology-induced gliosis and neurodegeneration. *J Clin Invest* 130, 4954–4968. <https://doi.org/10.1172/JCI138179>
- Gu, J., Xu, W., Jin, N., Li, L., Zhou, Y., Chu, D., Gong, C.-X., Iqbal, K., Liu, F., 2020. Truncation of Tau selectively facilitates its pathological activities. *Journal of Biological Chemistry* 295, 13812–13828. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.012587>
- Guerreiro, R., Wojtas, A., Bras, J., Carrasquillo, M., Rogaeve, E., Majounie, E., Cruchaga, C., Sassi, C., Kauwe, J.S.K., Younkin, S., Hazrati, L., Collinge, J., Pocock, J., Lashley, T., Williams, J., Lambert, J.-C., Amouyel, P., Goate, A., Rademakers, R., Morgan, K., Powell, J., St. George-Hyslop, P., Singleton, A., Hardy, J., 2013. *TREM2* Variants in Alzheimer’s Disease. *N Engl J Med* 368, 117–127. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211851>
- Guneykaya, D., Ivanov, A., Hernandez, D.P., Haage, V., Wojtas, B., Meyer, N., Maricos, M., Jordan, P., Buonfiglioli, A., Gielniewski, B., Ochocka, N., Cömert, C., Friedrich, C., Artiles, L.S., Kaminska, B., Mertins, P., Beule, D., Kettenmann, H., Wolf, S.A., 2018. Transcriptional and Translational Differences of Microglia from Male and Female Brains. *Cell Reports* 24, 2773–2783.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.08.001>
- Guo, J.L., Narasimhan, S., Changolkar, L., He, Z., Stieber, A., Zhang, B., Gathagan, R.J., Iba, M., McBride, J.D., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., 2016. Unique pathological tau conformers from Alzheimer’s brains transmit tau pathology in nontransgenic mice. *Journal of Experimental Medicine* 213, 2635–2654. <https://doi.org/10.1084/jem.20160833>
- Guo, T., Noble, W., Hanger, D.P., 2017. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol* 133, 665–704. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1707-9>
- Gustke, N., Trinczek, B., Biernat, J., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., 1994. Domains of tau Protein and Interactions with Microtubules. *Biochemistry* 33, 9511–9522. <https://doi.org/10.1021/bi00198a017>
- Hakola, H.P., 1972. Neuropsychiatric and genetic aspects of a new hereditary disease characterized by progressive dementia and lipomembranous polycystic osteodysplasia. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 232, 1–173.
- Hammond, T.R., Dufort, C., Dissing-Olesen, L., Giera, S., Young, A., Wysoker, A., Walker, A.J., Gergits, F., Segel, M., Nemes, J., Marsh, S.E., Saunders, A., Macosko, E., Ginhoux, F., Chen, J., Franklin, R.J.M., Piao, X., McCarroll, S.A., Stevens, B., 2019. Single-Cell RNA Sequencing of Microglia throughout the Mouse Lifespan and in the Injured Brain Reveals Complex Cell-State Changes. *Immunity* 50, 253–271.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.11.004>
- Hanamsagar, R., Alter, M.D., Block, C.S., Sullivan, H., Bolton, J.L., Bilbo, S.D., 2017. Generation of a microglial developmental index in mice and in humans reveals a sex difference in maturation and immune reactivity. *Glia* 65, 1504–1520. <https://doi.org/10.1002/glia.23176>
- Hanger, D.P., Anderton, B.H., Noble, W., 2009. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends in Molecular Medicine* 15, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2009.01.003>
- Hardy, J.A., Higgins, G.A., 1992. Alzheimer’s disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256, 184–185. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>
- He, H.J., Wang, X.S., Pan, R., Wang, D.L., Liu, M.N., He, R.Q., 2009. The proline-rich domain of tau plays a role in interactions with actin. *BMC Cell Biol.* 10, 81. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-10-81>
- He, Z., Guo, J.L., McBride, J.D., Narasimhan, S., Kim, H., Changolkar, L., Zhang, B., Gathagan, R.J., Yue, C., Dengler, C., Stieber, A., Nitla, M., Coulter, D.A., Abel, T., Brunden, K.R., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2018. Amyloid- β plaques enhance Alzheimer’s brain tau-seeded pathologies by

- facilitating neuritic plaque tau aggregation. *Nat Med* 24, 29–38. <https://doi.org/10.1038/nm.4443>
- He, Z., McBride, J.D., Xu, H., Changolkar, L., Kim, S.-J., Zhang, B., Narasimhan, S., Gibbons, G.S., Guo, J.L., Kozak, M., Schellenberg, G.D., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2020. Transmission of tauopathy strains is independent of their isoform composition. *Nat Commun* 11, 7. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13787-x>
- Hill, E., Karikari, T.K., Moffat, K.G., Richardson, M.J.E., Wall, M.J., 2019. Introduction of Tau Oligomers into Cortical Neurons Alters Action Potential Dynamics and Disrupts Synaptic Transmission and Plasticity. *eNeuro* 6. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0166-19.2019>
- Hirokawa, N., Shiomura, Y., Okabe, S., 1988. Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules. *J Cell Biol* 107, 1449–1459.
- Hoffmann, N.A., Dorostkar, M.M., Blumenstock, S., Goedert, M., Herms, J., 2013. Impaired plasticity of cortical dendritic spines in P301S tau transgenic mice. *Acta Neuropathol Commun* 1, 82. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-82>
- Hollingworth, P., Harold, D., Sims, R., Gerrish, A., Lambert, J.-C., Carrasquillo, M.M., Abraham, R., Hamshere, M.L., Pahwa, J.S., Moskvina, V., Dowzell, K., Jones, N., Stretton, A., Thomas, C., Richards, A., Ivanov, D., Widdowson, C., Chapman, J., Lovestone, S., Powell, J., Proitsi, P., Lupton, M.K., Brayne, C., Rubinsztein, D.C., Gill, M., Lawlor, B., Lynch, A., Brown, K.S., Passmore, P.A., Craig, D., McGuinness, B., Todd, S., Holmes, C., Mann, D., Smith, A.D., Beaumont, H., Warden, D., Wilcock, G., Love, S., Kehoe, P.G., Hooper, N.M., Vardy, E.R.L.C., Hardy, J., Mead, S., Fox, N.C., Rossor, M., Collinge, J., Maier, W., Jessen, F., Rütger, E., Schürmann, B., Heun, R., Kölsch, H., van den Bussche, H., Heuser, I., Kornhuber, J., Wiltfang, J., Dichgans, M., Frölich, L., Hampel, H., Gallacher, J., Hüll, M., Rujescu, D., Giegling, I., Goate, A.M., Kauwe, J.S.K., Cruchaga, C., Nowotny, P., Morris, J.C., Mayo, K., Sleegers, K., Bettens, K., Engelborghs, S., De Deyn, P.P., Van Broeckhoven, C., Livingston, G., Bass, N.J., Gurling, H., McQuillin, A., Gwilliam, R., Deloukas, P., Al-Chalabi, A., Shaw, C.E., Tsolaki, M., Singleton, A.B., Guerreiro, R., Mühleisen, T.W., Nöthen, M.M., Moebus, S., Jöckel, K.-H., Klopp, N., Wichmann, H.-E., Pankratz, V.S., Sando, S.B., Aasly, J.O., Barcikowska, M., Wszolek, Z.K., Dickson, D.W., Graff-Radford, N.R., Petersen, R.C., Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative, van Duijn, C.M., Breteler, M.M.B., Ikram, M.A., DeStefano, A.L., Fitzpatrick, A.L., Lopez, O., Launer, L.J., Seshadri, S., CHARGE consortium, Berr, C., Champion, D., Epelbaum, J., Dartigues, J.-F., Tzourio, C., Alperovitch, A., Lathrop, M., EADI1 consortium, Feulner, T.M., Friedrich, P., Riehle, C., Krawczak, M., Schreiber, S., Mayhaus, M., Nicolhaus, S., Wagenpfeil, S., Steinberg, S., Stefansson, H., Stefansson, K., Snaedal, J., Björnsson, S., Jonsson, P.V., Chouraki, V., Genier-Boley, B., Hiltunen, M., Soininen, H., Combarros, O., Zelenika, D., Delepine, M., Bullido, M.J., Pasquier, F., Mateo, I., Frank-Garcia, A., Porcellini, E., Hanon, O., Coto, E., Alvarez, V., Bosco, P., Siciliano, G., Mancuso, M., Panza, F., Solfrizzi, V., Nacmias, B., Sorbi, S., Bossù, P., Piccardi, P., Arosio, B., Annoni, G., Seripa, D., Pilotto, A., Scarpini, E., Galimberti, D., Brice, A., Hannequin, D., Licastro, F., Jones, L., Holmans, P.A., Jonsson, T., Riemenschneider, M., Morgan, K., Younkin, S.G., Owen, M.J., O’Donovan, M., Amouyel, P., Williams, J., 2011. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer’s disease. *Nat Genet* 43, 429–435. <https://doi.org/10.1038/ng.803>
- Holmes, B.B., DeVos, S.L., Kfoury, N., Li, M., Jacks, R., Yanamandra, K., Ouidja, M.O., Brodsky, F.M., Marasa, J., Bagchi, D.P., Kotzbauer, P.T., Miller, T.M., Papy-Garcia, D., Diamond, M.I., 2013. Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E3138-3147. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301440110>
- Hong, M., Zhukareva, V., Vogelsberg-Ragaglia, V., Wszolek, Z., Reed, L., Miller, B.I., Geschwind, D.H., Bird, T.D., McKeel, D., Goate, A., Morris, J.C., Wilhelmsen, K.C., Schellenberg, G.D., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 1998. Mutation-Specific Functional Impairments in Distinct Tau Isoforms of Hereditary FTDP-17. *Science* 282, 1914–1917. <https://doi.org/10.1126/science.282.5395.1914>

- Hoover, B.R., Reed, M.N., Su, J., Penrod, R.D., Kotilinek, L.A., Grant, M.K., Pitstick, R., Carlson, G.A., Lanier, L.M., Yuan, L.-L., Ashe, K.H., Liao, D., 2010. Tau mislocalization to dendritic spines mediates synaptic dysfunction independently of neurodegeneration. *Neuron* 68, 1067–1081. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.030>
- Hopp, S.C., Lin, Y., Oakley, D., Roe, A.D., DeVos, S.L., Hanlon, D., Hyman, B.T., 2018. The role of microglia in processing and spreading of bioactive tau seeds in Alzheimer’s disease. *J Neuroinflammation* 15, 269. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1309-z>
- Hopperton, K.E., Mohammad, D., Trépanier, M.O., Giuliano, V., Bazinet, R.P., 2018. Markers of microglia in post-mortem brain samples from patients with Alzheimer’s disease: a systematic review. *Mol Psychiatry* 23, 177–198. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.246>
- Hsieh, C.L., Koike, M., Spusta, S.C., Niemi, E.C., Yenari, M., Nakamura, M.C., Seaman, W.E., 2009. A role for TREM2 ligands in the phagocytosis of apoptotic neuronal cells by microglia. *Journal of Neurochemistry* 109, 1144–1156. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06042.x>
- Hua, Q., He, R., 2003. Tau could protect DNA double helix structure. *Biochim. Biophys. Acta* 205–211.
- Humphrey, M.B., Daws, M.R., Spusta, S.C., Niemi, E.C., Torchia, J.A., Lanier, L.L., Seaman, W.E., Nakamura, M.C., 2006. TREM2, a DAP12-associated receptor, regulates osteoclast differentiation and function. *J Bone Miner Res* 21, 237–245. <https://doi.org/10.1359/JBMR.051016>
- Iba, M., Guo, J.L., McBride, J.D., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2013. Synthetic tau fibrils mediate transmission of neurofibrillary tangles in a transgenic mouse model of Alzheimer’s-like tauopathy. *J Neurosci* 33, 1024–1037. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2642-12.2013>
- Iba, M., McBride, J.D., Guo, J.L., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2015. Tau pathology spread in PS19 tau transgenic mice following locus coeruleus (LC) injections of synthetic tau fibrils is determined by the LC’s afferent and efferent connections. *Acta Neuropathol* 130, 349–362. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1458-4>
- Irwin, D.J., Brettschneider, J., McMillan, C.T., Cooper, F., Olm, C., Arnold, S.E., Deerlin, V.M.V., Seeley, W.W., Miller, B.L., Lee, E.B., Lee, V.M.-Y., Grossman, M., Trojanowski, J.Q., 2016. Deep clinical and neuropathological phenotyping of Pick disease. *Annals of Neurology* 79, 272–287. <https://doi.org/10.1002/ana.24559>
- Ishihara, T., Hong, M., Zhang, B., Nakagawa, Y., Lee, M.K., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 1999. Age-Dependent Emergence and Progression of a Tauopathy in Transgenic Mice Overexpressing the Shortest Human Tau Isoform. *Neuron* 24, 751–762. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81127-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81127-7)
- Ising, C., Venegas, C., Zhang, S., Scheiblich, H., Schmidt, S.V., Vieira-Saecker, A., Schwartz, S., Albasset, S., McManus, R.M., Tejera, D., Griep, A., Santarelli, F., Brosseron, F., Opitz, S., Stunden, J., Merten, M., Kaye, R., Golenbock, D.T., Blum, D., Latz, E., Buée, L., Heneka, M.T., 2019. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology. *Nature* 575, 669–673. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1769-z>
- Ittner, L.M., Ke, Y.D., Delerue, F., Bi, M., Gladbach, A., van Eersel, J., Wölfing, H., Chieng, B.C., Christie, M.J., Napier, I.A., Eckert, A., Staufenbiel, M., Hardeman, E., Götz, J., 2010. Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer’s disease mouse models. *Cell* 142, 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.036>
- J. Bonda, D., J. Castellani, R., Zhu, X., Nunomura, A., Lee, H. -g., Perry, G., A. Smith, M., 2011. A Novel Perspective on Tau in Alzheimers Disease. *CAR* 8, 639–642. <https://doi.org/10.2174/156720511796717131>
- Jackson, R.J., Rudinskiy, N., Herrmann, A.G., Croft, S., Kim, J.M., Petrova, V., Ramos-Rodriguez, J.J., Pitstick, R., Wegmann, S., Garcia-Alloza, M., Carlson, G.A., Hyman, B.T., Spires-Jones, T.L., 2016. Human tau increases amyloid β plaque size but not amyloid β -mediated synapse loss in a novel mouse model of Alzheimer’s disease. *Eur J Neurosci* 44, 3056–3066. <https://doi.org/10.1111/ejn.13442>
- Jackson, S.J., Kerridge, C., Cooper, J., Cavallini, A., Falcon, B., Cella, C.V., Landi, A., Szekeres, P.G., Murray, T.K., Ahmed, Z., Goedert, M., Hutton, M., O’Neill, M.J., Bose, S., 2016. Short Fibrils

- Constitute the Major Species of Seed-Competent Tau in the Brains of Mice Transgenic for Human P301S Tau. *J Neurosci* 36, 762–772. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3542-15.2016>
- Janning, D., Igaev, M., Sündermann, F., Brühmann, J., Beutel, O., Heinisch, J.J., Bakota, L., Piehler, J., Junge, W., Brandt, R., 2014. Single-molecule tracking of tau reveals fast kiss-and-hop interaction with microtubules in living neurons. *Mol Biol Cell* 25, 3541–3551. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-06-1099>
- Jansen, I.E., Savage, J.E., Watanabe, K., Bryois, J., Williams, D.M., Steinberg, S., Sealock, J., Karlsson, I.K., Hägg, S., Athanasiu, L., Voyle, N., Proitsi, P., Witoelar, A., Stringer, S., Aarsland, D., Almdahl, I.S., Andersen, F., Bergh, S., Bettella, F., Bjornsson, S., Brækhus, A., Bråthen, G., de Leeuw, C., Desikan, R.S., Djurovic, S., Dumitrescu, L., Fladby, T., Hohman, T.J., Jonsson, P.V., Kiddle, S.J., Rongve, A., Saltvedt, I., Sando, S.B., Selbæk, G., Shoai, M., Skene, N.G., Snaedal, J., Stordal, E., Ulstein, I.D., Wang, Y., White, L.R., Hardy, J., Hjerling-Leffler, J., Sullivan, P.F., van der Flier, W.M., Dobson, R., Davis, L.K., Stefansson, H., Stefansson, K., Pedersen, N.L., Ripke, S., Andreassen, O.A., Posthuma, D., 2019. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk. *Nature Genetics* 51, 404–413. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0311-9>
- Jaunmuktane, Z., Mead, S., Ellis, M., Wadsworth, J.D.F., Nicoll, A.J., Kenny, J., Launchbury, F., Linehan, J., Richard-Loendt, A., Walker, A.S., Rudge, P., Collinge, J., Brandner, S., 2015. Evidence for human transmission of amyloid- β pathology and cerebral amyloid angiopathy. *Nature* 525, 247–250. <https://doi.org/10.1038/nature15369>
- Jawhar, S., Trawicka, A., Jenneckens, C., Bayer, T.A., Wirths, O., 2012. Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal A β aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 33, 196.e29–40. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.05.027>
- Jaworski, T., Lechat, B., Demedts, D., Gielis, L., Devijver, H., Borghgraef, P., Duimel, H., Verheyen, F., Kügler, S., Van Leuven, F., 2011. Dendritic Degeneration, Neurovascular Defects, and Inflammation Precede Neuronal Loss in a Mouse Model for Tau-Mediated Neurodegeneration. *Am J Pathol* 179, 2001–2015. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.06.025>
- Jay, T.R., Hirsch, A.M., Broihier, M.L., Miller, C.M., Neilson, L.E., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Landreth, G.E., 2017. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J. Neurosci.* 37, 637–647. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2110-16.2016>
- Jay, T.R., Miller, C.M., Cheng, P.J., Graham, L.C., Bemiller, S., Broihier, M.L., Xu, G., Margevicius, D., Karlo, J.C., Sousa, G.L., Cotleur, A.C., Butovsky, O., Bekris, L., Staugaitis, S.M., Leverenz, J.B., Pimplikar, S.W., Landreth, G.E., Howell, G.R., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., 2015. TREM2 deficiency eliminates TREM2+ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models. *Journal of Experimental Medicine* 212, 287–295. <https://doi.org/10.1084/jem.20142322>
- Jay, T.R., Saucken, V.E., Muñoz, B., Codocedo, J.F., Atwood, B.K., Lamb, B.T., Landreth, G.E., 2019. TREM2 is required for microglial instruction of astrocytic synaptic engulfment in neurodevelopment. *Glia* 81, 2366–2380. <https://doi.org/10.1002/glia.23664>
- Jeganathan, S., von Bergen, M., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., 2008. The Natively Unfolded Character of Tau and Its Aggregation to Alzheimer-like Paired Helical Filaments. *Biochemistry* 47, 10526–10539. <https://doi.org/10.1021/bi800783d>
- Ji, K., Akgul, G., Wollmuth, L.P., Tsirka, S.E., 2013. Microglia actively regulate the number of functional synapses. *PLoS One* 8, e56293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056293>
- Jiang, S., Bhaskar, K., 2020. Degradation and Transmission of Tau by Autophagic-Endolysosomal Networks and Potential Therapeutic Targets for Tauopathy. *Front Mol Neurosci* 13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.586731>
- Jiang, T., Tan, L., Zhu, X.-C., Zhou, J.-S., Cao, L., Tan, M.-S., Wang, H.-F., Chen, Q., Zhang, Y.-D., Yu, J.-T., 2015. Silencing of TREM2 exacerbates tau pathology, neurodegenerative changes, and spatial

- learning deficits in P301S tau transgenic mice. *Neurobiol Aging* 36, 3176–3186. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.019>
- Jiang, T., Zhang, Y.-D., Chen, Q., Gao, Q., Zhu, X.-C., Zhou, J.-S., Shi, J.-Q., Lu, H., Tan, L., Yu, J.-T., 2016. TREM2 modifies microglial phenotype and provides neuroprotection in P301S tau transgenic mice. *Neuropharmacology* 105, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.01.028>
- Jonsson, T., Stefansson, H., Steinberg, S., Jonsdottir, I., Jonsson, P.V., Snaedal, J., Bjornsson, S., Huttenlocher, J., Levey, A.I., Lah, J.J., Rujescu, D., Hampel, H., Giegling, I., Andreassen, O.A., Engedal, K., Ulstein, I., Djurovic, S., Ibrahim-Verbaas, C., Hofman, A., Ikram, M.A., van Duijn, C.M., Thorsteinsdottir, U., Kong, A., Stefansson, K., 2013. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 368, 107–116. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211103>
- Jovanovic, J., Liu, X., Kokona, D., Zinkernagel, M.S., Ebnetter, A., 2020. Inhibition of inflammatory cells delays retinal degeneration in experimental retinal vein occlusion in mice. *Glia* 68, 574–588. <https://doi.org/10.1002/glia.23739>
- Jucker, M., Walker, L.C., 2013. Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature* 501, 45–51. <https://doi.org/10.1038/nature12481>
- Jung, S., Aliberti, J., Graemmel, P., Sunshine, M.J., Kreutzberg, G.W., Sher, A., Littman, D.R., 2000. Analysis of fractalkine receptor CX(3)CR1 function by targeted deletion and green fluorescent protein reporter gene insertion. *Mol Cell Biol* 20, 4106–4114. <https://doi.org/10.1128/mcb.20.11.4106-4114.2000>
- Kadavath, H., Hofele, R.V., Biernat, J., Kumar, S., Tepper, K., Urlaub, H., Mandelkow, E., Zweckstetter, M., 2015. Tau stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA* 112, 7501–7506. <https://doi.org/10.1073/pnas.1504081112>
- Kanai, Y., Chen, J., Hirokawa, N., 1992. Microtubule bundling by tau proteins in vivo: analysis of functional domains. *The EMBO Journal* 11, 3953–3961. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05489.x>
- Kaneko, M., Sano, K., Nakayama, J., Amano, N., 2010. Nasu-Hakola disease: The first case reported by Nasu and review: The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology. *Neuropathology* 30, 463–470. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2010.01127.x>
- Kang, S., Son, S.M., Baik, S.H., Yang, J., Mook-Jung, I., 2019. Autophagy-Mediated Secretory Pathway is Responsible for Both Normal and Pathological Tau in Neurons. *J Alzheimers Dis* 70, 667–680. <https://doi.org/10.3233/JAD-190180>
- Katsinelos, T., Zeitler, M., Dimou, E., Karakatsani, A., Müller, H.-M., Nachman, E., Steringer, J.P., Ruiz de Almodovar, C., Nickel, W., Jahn, T.R., 2018. Unconventional Secretion Mediates the Trans-cellular Spreading of Tau. *Cell Reports* 23, 2039–2055. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.056>
- Katzman, R., Terry, R., DeTeresa, R., Brown, T., Davies, P., Fuld, P., Renbing, X., Peck, A., 1988. Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 23, 138–144. <https://doi.org/10.1002/ana.410230206>
- Kaufman, S.K., Sanders, D.W., Thomas, T.L., Ruchinskas, A.J., Vaquer-Alicea, J., Sharma, A.M., Miller, T.M., Diamond, M.I., 2016. Tau Prion Strains Dictate Patterns of Cell Pathology, Progression Rate, and Regional Vulnerability In Vivo. *Neuron* 92, 796–812. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.09.055>
- Kawabori, M., Kacimi, R., Kauppinen, T., Calosing, C., Kim, J.Y., Hsieh, C.L., Nakamura, M.C., Yenari, M.A., 2015. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 (TREM2) Deficiency Attenuates Phagocytic Activities of Microglia and Exacerbates Ischemic Damage in Experimental Stroke. *J. Neurosci.* 35, 3384–3396. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2620-14.2015>
- Keren-Shaul, H., Spinrad, A., Weiner, A., Matcovitch-Natan, O., Dvir-Szternfeld, R., Ulland, T.K., David, E., Baruch, K., Lara-Astaiso, D., Toth, B., Itzkovitz, S., Colonna, M., Schwartz, M., Amit, I., 2017.

- A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell* 169, 1276-1290.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.018>
- Kfoury, N., Holmes, B.B., Jiang, H., Holtzman, D.M., Diamond, M.I., 2012. Trans-cellular Propagation of Tau Aggregation by Fibrillar Species*. *Journal of Biological Chemistry* 287, 19440–19451. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.346072>
- Kiialainen, A., Hovanec, K., Paloneva, J., Kopra, O., Peltonen, L., 2005. Dap12 and Trem2, molecules involved in innate immunity and neurodegeneration, are co-expressed in the CNS. *Neurobiol Dis* 18, 314–322. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2004.09.007>
- Kim, J.H., Lee, S.-R., Li, L.-H., Park, H.-J., Park, J.-H., Lee, K.Y., Kim, M.-K., Shin, B.A., Choi, S.-Y., 2011. High cleavage efficiency of a 2A peptide derived from porcine teschovirus-1 in human cell lines, zebrafish and mice. *PLoS One* 6, e18556. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018556>
- Kim, S.H., Vlkolinsky, R., Cairns, N., Fountoulakis, M., Lubec, G., 2001. The reduction of NADH ubiquinone oxidoreductase 24- and 75-kDa subunits in brains of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *Life Sci* 68, 2741–2750. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01074-8](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01074-8)
- Kim, W., Lee, S., Jung, C., Ahmed, A., Lee, G., Hall, G.F., 2010. Interneuronal Transfer of Human Tau Between Lamprey Central Neurons in situ. *Journal of Alzheimer's Disease* 19, 647–664. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1273>
- Kimura, T., Whitcomb, D.J., Jo, J., Regan, P., Piers, T., Heo, S., Brown, C., Hashikawa, T., Murayama, M., Seok, H., Sotiropoulos, I., Kim, E., Collingridge, G.L., Takashima, A., Cho, K., 2014. Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0144>
- Kitazawa, M., Oddo, S., Yamasaki, T.R., Green, K.N., LaFerla, F.M., 2005. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 25, 8843–8853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2868-05.2005>
- Kleinberger, G., Yamanishi, Y., Suarez-Calvet, M., Czirr, E., Lohmann, E., Cuyvers, E., Struyfs, H., Pettkus, N., Wenninger-Weinzierl, A., Mazaheri, F., Tahirovic, S., Lleo, A., Alcolea, D., Fortea, J., Willem, M., Lammich, S., Molinuevo, J.L., Sanchez-Valle, R., Antonell, A., Ramirez, A., Heneka, M.T., Sleegers, K., van der Zee, J., Martin, J.-J., Engelborghs, S., Demirtas-Tatlidede, A., Zetterberg, H., Van Broeckhoven, C., Gurvit, H., Wyss-Coray, T., Hardy, J., Colonna, M., Haass, C., 2014. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Science Translational Medicine* 6, 243ra86-243ra86. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009093>
- Kober, D.L., Alexander-Brett, J.M., Karch, C.M., Cruchaga, C., Colonna, M., Holtzman, M.J., Brett, T.J., 2016. Neurodegenerative disease mutations in TREM2 reveal a functional surface and distinct loss-of-function mechanisms. *eLife* 5, e20391. <https://doi.org/10.7554/eLife.20391>
- Kosik, K.S., Crandall, J.E., Mufson, E.J., Neve, R.L., 1989. Tau in situ hybridization in normal and Alzheimer brain: localization in the somatodendritic compartment. *Ann. Neurol.* 26, 352–361. <https://doi.org/10.1002/ana.410260308>
- Kovac, A., Zilka, N., Kazmerova, Z., Cente, M., Zilkova, M., Novak, M., 2011. Misfolded truncated protein τ induces innate immune response via MAPK pathway. *J Immunol* 187, 2732–2739. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100216>
- Kovacs, G.G., 2018. Tauopathies, in: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 355–368. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00025-0>
- Krasemann, S., Madore, C., Cialic, R., Baufeld, C., Calcagno, N., El Fatimy, R., Beckers, L., O'Loughlin, E., Xu, Y., Fanek, Z., Greco, D.J., Smith, S.T., Tweet, G., Humulock, Z., Zrzavy, T., Conde-Sanroman, P., Gacias, M., Weng, Z., Chen, H., Tjon, E., Mazaheri, F., Hartmann, K., Madi, A., Ulrich, J.D., Glatzel, M., Worthmann, A., Heeren, J., Budnik, B., Lemere, C., Ikezu, T., Heppner, F.L., Litvak, V., Holtzman, D.M., Lassmann, H., Weiner, H.L., Ochando, J., Haass, C., Butovsky, O., 2017. The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in

- Krishnadas, N., Villemagne, V.L., Doré, V., Rowe, C.C., 2021. Advances in Brain Amyloid Imaging. *Seminars in Nuclear Medicine*. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2020.12.005>
- Kunkle, B.W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J.C., Damotte, V., Naj, A.C., Boland, A., Vronskaya, M., van der Lee, S.J., Amlie-Wolf, A., Bellenguez, C., Frizatti, A., Chouraki, V., Martin, E.R., Sleegers, K., Badarinarayan, N., Jakobsdottir, J., Hamilton-Nelson, K.L., Moreno-Grau, S., Olaso, R., Raybould, R., Chen, Y., Kuzma, A.B., Hiltunen, M., Morgan, T., Ahmad, S., Vardarajan, B.N., Epelbaum, J., Hoffmann, P., Boada, M., Beecham, G.W., Garnier, J.-G., Harold, D., Fitzpatrick, A.L., Valladares, O., Moutet, M.-L., Gerrish, A., Smith, A.V., Qu, L., Bacq, D., Denning, N., Jian, X., Zhao, Y., Del Zompo, M., Fox, N.C., Choi, S.-H., Mateo, I., Hughes, J.T., Adams, H.H., Malamon, J., Sanchez-Garcia, F., Patel, Y., Brody, J.A., Dombroski, B.A., Naranjo, M.C.D., Daniilidou, M., Eiriksdottir, G., Mukherjee, S., Wallon, D., Uphill, J., Aspelund, T., Cantwell, L.B., Garzia, F., Galimberti, D., Hofer, E., Butkiewicz, M., Fin, B., Scarpini, E., Sarnowski, C., Bush, W.S., Meslage, S., Kornhuber, J., White, C.C., Song, Y., Barber, R.C., Engelborghs, S., Sordon, S., Voijnovic, D., Adams, P.M., Vandenberghe, R., Mayhaus, M., Cupples, L.A., Albert, M.S., De Deyn, P.P., Gu, W., Himali, J.J., Beekly, D., Squassina, A., Hartmann, A.M., Orellana, A., Blacker, D., Rodriguez-Rodriguez, E., Lovestone, S., Garcia, M.E., Doody, R.S., Munoz-Fernandez, C., Sussams, R., Lin, H., Fairchild, T.J., Benito, Y.A., Holmes, C., Karamujic-Comic, H., Frosch, M.P., Thonberg, H., Maier, W., Roshchupkin, G., Ghetti, B., Giedraitis, V., Kawalia, A., Li, S., Huebinger, R.M., Kilander, L., Moebus, S., Hernández, I., Kamboh, M.I., Brundin, R., Turton, J., Yang, Q., Katz, M.J., Concari, L., Lord, J., Beiser, A.S., Keene, C.D., Helisalmi, S., Kloszewska, I., Kukull, W.A., Koivisto, A.M., Lynch, A., Tarraga, L., Larson, E.B., Haapasalo, A., Lawlor, B., Mosley, T.H., Lipton, R.B., Solfrizzi, V., Gill, M., Longstreth, W.T., Montine, T.J., Frisardi, V., Diez-Fairen, M., Rivadeneira, F., Petersen, R.C., Deramecourt, V., Alvarez, I., Salani, F., Ciaramella, A., Boerwinkle, E., Reiman, E.M., Fievet, N., Rotter, J.I., Reisch, J.S., Hanon, O., Cupidi, C., Andre Uitterlinden, A.G., Royall, D.R., Dufouil, C., Maletta, R.G., de Rojas, I., Sano, M., Brice, A., Cecchetti, R., George-Hyslop, P.S., Ritchie, K., Tzolaki, M., Tsuang, D.W., Dubois, B., Craig, D., Wu, C.-K., Soininen, H., Avramidou, D., Albin, R.L., Fratiglioni, L., Germanou, A., Apostolova, L.G., Keller, L., Koutroumani, M., Arnold, S.E., Panza, F., Gkatzima, O., Asthana, S., Hannequin, D., Whitehead, P., Atwood, C.S., Caffarra, P., Hampel, H., Quintela, I., Carracedo, Á., Lannfelt, L., Rubinsztein, D.C., Barnes, L.L., Pasquier, F., Frölich, L., Barral, S., McGuinness, B., Beach, T.G., Johnston, J.A., Becker, J.T., Passmore, P., Bigio, E.H., Schott, J.M., Bird, T.D., Warren, J.D., Boeve, B.F., Lupton, M.K., Bowen, J.D., Proitsi, P., Boxer, A., Powell, J.F., Burke, J.R., Kauwe, J.S.K., Burns, J.M., Mancuso, M., Buxbaum, J.D., Bonuccelli, U., Cairns, N.J., McQuillin, A., Cao, C., Livingston, G., Carlson, C.S., Bass, N.J., Carlsson, C.M., Hardy, J., Carney, R.M., Bras, J., Carrasquillo, M.M., Guerreiro, R., Allen, M., Chui, H.C., Fisher, E., Masullo, C., Crocco, E.A., DeCarli, C., Bisceglia, G., Dick, M., Ma, L., Duara, R., Graff-Radford, N.R., Evans, D.A., Hodges, A., Faber, K.M., Scherer, M., Fallon, K.B., Riemenschneider, M., Fardo, D.W., Heun, R., Farlow, M.R., Kölsch, H., Ferris, S., Leber, M., Foroud, T.M., Heuser, I., Galasko, D.R., Giegling, I., Gearing, M., Hüll, M., Geschwind, D.H., Gilbert, J.R., Morris, J., Green, R.C., Mayo, K., Growdon, J.H., Feulner, T., Hamilton, R.L., Harrell, L.E., Drichel, D., Honig, L.S., Cushion, T.D., Huentelman, M.J., Hollingworth, P., Hulette, C.M., Hyman, B.T., Marshall, R., Jarvik, G.P., Meggy, A., Abner, E., Menzies, G.E., Jin, L.-W., Leonenko, G., Real, L.M., Jun, G.R., Baldwin, C.T., Grozeva, D., Karydas, A., Russo, G., Kaye, J.A., Kim, R., Jessen, F., Kowall, N.W., Vellas, B., Kramer, J.H., Vardy, E., LaFerla, F.M., Jöckel, K.-H., Lah, J.J., Dichgans, M., Leverenz, J.B., Mann, D., Levey, A.I., Pickering-Brown, S., Lieberman, A.P., Klopp, N., Lunetta, K.L., Wichmann, H.-E., Lyketsos, C.G., Morgan, K., Marson, D.C., Brown, K., Martiniuk, F., Medway, C., Mash, D.C., Nöthen, M.M., Masliah, E., Hooper, N.M., McCormick, W.C., Daniele, A., McCurry, S.M., Bayer, A., McDavid, A.N., Gallacher, J., McKee, A.C., Bussche, H. van den, Mesulam, M., Brayne, C., Miller, B.L., Riedel-Heller, S., Miller, C.A., Miller, J.W., Al-Chalabi, A., Morris, J.C., Shaw, C.E., Myers, A.J., Wiltfang, J., O'Bryant, S., Olichney, J.M., Alvarez, V., Parisi, J.E., Singleton, A.B., Paulson,

- H.L., Collinge, J., Perry, W.R., Mead, S., Peskind, E., Cribbs, D.H., Rossor, M., Pierce, A., Ryan, N.S., Poon, W.W., Nacmias, B., Potter, H., Sorbi, S., Quinn, J.F., Sacchinelli, E., Raj, A., Spalletta, G., Raskind, M., Caltagirone, C., Bossù, P., Orfei, M.D., Reisberg, B., Clarke, R., Reitz, C., Smith, A.D., Ringman, J.M., Warden, D., Roberson, E.D., Wilcock, G., Rogaeva, E., Bruni, A.C., Rosen, H.J., Gallo, M., Rosenberg, R.N., Ben-Shlomo, Y., Sager, M.A., Mecocci, P., Saykin, A.J., Pastor, P., Cuccaro, M.L., Vance, J.M., Schneider, J.A., Schneider, L.S., Slifer, S., Seeley, W.W., Smith, A.G., Sonnen, J.A., Spina, S., Stern, R.A., Swerdlow, R.H., Tang, M., Tanzi, R.E., Trojanowski, J.Q., Troncoso, J.C., Deerlin, V.M.V., Eldik, L.J.V., Vinters, H.V., Vonsattel, J.P., Weintraub, S., Welsh-Bohmer, K.A., Wilhelmsen, K.C., Williamson, J., Wingo, T.S., Woltjer, R.L., Wright, C.B., Yu, C.-E., Yu, L., Saba, Y., Pilotto, A., Bullido, M.J., Peters, O., Crane, P.K., Bennett, D., Bosco, P., Coto, E., Boccardi, V., Jager, P.L.D., Lleo, A., Warner, N., Lopez, O.L., Ingelsson, M., Deloukas, P., Cruchaga, C., Graff, C., Gwilliam, R., Fornage, M., Goate, A.M., Sanchez-Juan, P., Kehoe, P.G., Amin, N., Ertekin-Taner, N., Berr, C., Debette, S., Love, S., Launer, L.J., Younkin, S.G., Dartigues, J.-F., Corcoran, C., Ikram, M.A., Dickson, D.W., Nicolas, G., Champion, D., Tschanz, J., Schmidt, H., Hakonarson, H., Clarimon, J., Munger, R., Schmidt, R., Farrer, L.A., Broeckhoven, C.V., O'Donovan, M.C., DeStefano, A.L., Jones, L., Haines, J.L., Deleuze, J.-F., Owen, M.J., Gudnason, V., Mayeux, R., Escott-Price, V., Psaty, B.M., Ramirez, A., Wang, L.-S., Ruiz, A., Duijn, C.M. van, Holmans, P.A., Seshadri, S., Williams, J., Amouyel, P., Schellenberg, G.D., Lambert, J.-C., Pericak-Vance, M.A., 2019. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nature Genetics* 51, 414–430. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>
- Lambert, E., Saha, O., Landeira, B.S., Farias, A.R.M. de, Hermant, X., Carrier, A., Pelletier, A., Davoine, L., Dupont, C., Amouyel, P., Lafont, F., Adelfettah, F., Verstreken, P., Chapuis, J., Barois, N., Delahaye, F., Dermaut, B., Lambert, J.-C., Costa, M.R., Dourlen, P., 2021. The Alzheimer's disease genetic risk factor BIN1 induces isoform-dependent neurotoxicity through early endosome defects. *bioRxiv* 2021.04.02.438184. <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438184>
- Lambert, J.-C., Ibrahim-Verbaas, C.A., Harold, D., Naj, A.C., Sims, R., Bellenguez, C., Jun, G., DeStefano, A.L., Bis, J.C., Beecham, G.W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thornton-Wells, T.A., Jones, N., Smith, A.V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M.A., Zelenika, D., Vardarajan, B.N., Kamatani, Y., Lin, C.-F., Gerrish, A., Schmidt, H., Kunkle, B., Dunstan, M.L., Ruiz, A., Bihoreau, M.-T., Choi, S.-H., Reitz, C., Pasquier, F., Hollingworth, P., Ramirez, A., Hanon, O., Fitzpatrick, A.L., Buxbaum, J.D., Champion, D., Crane, P.K., Baldwin, C., Becker, T., Gudnason, V., Cruchaga, C., Craig, D., Amin, N., Berr, C., Lopez, O.L., De Jager, P.L., Deramecourt, V., Johnston, J.A., Evans, D., Lovestone, S., Letenneur, L., Morón, F.J., Rubinsztein, D.C., Eiriksdottir, G., Sleegers, K., Goate, A.M., Fiévet, N., Huentelman, M.J., Gill, M., Brown, K., Kamboh, M.I., Keller, L., Barberger-Gateau, P., McGuinness, B., Larson, E.B., Green, R., Myers, A.J., Dufouil, C., Todd, S., Wallon, D., Love, S., Rogaeva, E., Gallacher, J., St George-Hyslop, P., Clarimon, J., Lleo, A., Bayer, A., Tsuang, D.W., Yu, L., Tsolaki, M., Bossù, P., Spalletta, G., Proitsi, P., Collinge, J., Sorbi, S., Sanchez-Garcia, F., Fox, N.C., Hardy, J., Deniz Naranjo, M.C., Bosco, P., Clarke, R., Brayne, C., Galimberti, D., Mancuso, M., Matthews, F., Moebus, S., Mecocci, P., Zompo, M.D., Maier, W., Hampel, H., Pilotto, A., Bullido, M., Panza, F., Caffarra, P., Nacmias, B., Gilbert, J.R., Mayhaus, M., Lannfelt, L., Hakonarson, H., Pichler, S., Carrasquillo, M.M., Ingelsson, M., Beekly, D., Alvarez, V., Zou, F., Valladares, O., Younkin, S.G., Coto, E., Hamilton-Nelson, K.L., Gu, W., Razquin, C., Pastor, P., Mateo, I., Owen, M.J., Faber, K.M., Jonsson, P.V., Combarros, O., O'Donovan, M.C., Cantwell, L.B., Soininen, H., Blacker, D., Mead, S., Mosley, T.H., Bennett, D.A., Harris, T.B., Fratiglioni, L., Holmes, C., de Bruijn, R.F.A.G., Passmore, P., Montine, T.J., Bettens, K., Rotter, J.I., Brice, A., Morgan, K., Foroud, T.M., Kukull, W.A., Hannequin, D., Powell, J.F., Nalls, M.A., Ritchie, K., Lunetta, K.L., Kauwe, J.S.K., Boerwinkle, E., Riemenschneider, M., Boada, M., Hiltunen, M., Martin, E.R., Schmidt, R., Rujescu, D., Wang, L., Dartigues, J.-F., Mayeux, R., Tzourio, C., Hofman, A., Nöthen, M.M., Graff, C., Psaty, B.M., Jones, L., Haines, J.L., Holmans, P.A., Lathrop, M., Pericak-Vance, M.A., Launer, L.J., Farrer, L.A., van Duijn, C.M., Van Broeckhoven, C., Moskvina, V., Seshadri, S., Williams, J., Schellenberg, G.D., Amouyel, P., 2013.

- Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet* 45, 1452–1458. <https://doi.org/10.1038/ng.2802>
- La-Rocque, S.D., Moretto, E., Butnaru, I., Schiavo, G., 2021. Knockin' on heaven's door: Molecular mechanisms of neuronal tau uptake. *Journal of Neurochemistry* 156, 563–588. <https://doi.org/10.1111/jnc.15144>
- Lasagna-Reeves, C.A., Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Clos, A.L., Jackson, G.R., Kaye, R., 2011. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Molecular Neurodegeneration* 6, 39. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-39>
- Lasagna-Reeves, C.A., Castillo-Carranza, D.L., Sengupta, U., Guerrero-Munoz, M.J., Kiritoshi, T., Neugebauer, V., Jackson, G.R., Kaye, R., 2012. Alzheimer brain-derived tau oligomers propagate pathology from endogenous tau. *Sci Rep* 2, 700. <https://doi.org/10.1038/srep00700>
- Laurent, C., Dorothée, G., Hunot, S., Martin, E., Monnet, Y., Duchamp, M., Dong, Y., Légeron, F.-P., Leboucher, A., Burnouf, S., Faivre, E., Carvalho, K., Caillierez, R., Zommer, N., Demeyer, D., Jouy, N., Sazdovitch, V., Schraen-Maschke, S., Delarasse, C., Buée, L., Blum, D., 2017. Hippocampal T cell infiltration promotes neuroinflammation and cognitive decline in a mouse model of tauopathy. *Brain* 140, 184–200. <https://doi.org/10.1093/brain/aww270>
- Lawson, L.J., Perry, V.H., Dri, P., Gordon, S., 1990. Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 39, 151–170. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90229-w](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90229-w)
- Lawson, L.J., Perry, V.H., Gordon, S., 1992. Turnover of resident microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 48, 405–415. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90500-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90500-2)
- Lee, S., Mankhong, S., Kang, J.-H., 2019. Extracellular Vesicle as a Source of Alzheimer's Biomarkers: Opportunities and Challenges. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1728. <https://doi.org/10.3390/ijms20071728>
- Lee, S.-H., Meilandt, W.J., Xie, L., Gandham, V.D., Ngu, H., Barck, K.H., Rezzonico, M.G., Imperio, J., Lalehzadeh, G., Huntley, M.A., Stark, K.L., Foreman, O., Carano, R.A.D., Friedman, B.A., Sheng, M., Easton, A., Bohlen, C.J., Hansen, D.V., 2021. Trem2 restrains the enhancement of tau accumulation and neurodegeneration by β -amyloid pathology. *Neuron*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.02.010>
- Lendvai, D., Morawski, M., Négyessy, L., Gáti, G., Jäger, C., Baksa, G., Glasz, T., Attems, J., Tanila, H., Arendt, T., Harkany, T., Alpár, A., 2013. Neurochemical mapping of the human hippocampus reveals perisynaptic matrix around functional synapses in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 125, 215–229. <https://doi.org/10.1007/s00401-012-1042-0>
- Leng, K., Li, E., Eser, R., Piergies, A., Sit, R., Tan, M., Neff, N., Li, S.H., Rodriguez, R.D., Suemoto, C.K., Leite, R.E.P., Ehrenberg, A.J., Pasqualucci, C.A., Seeley, W.W., Spina, S., Heinsen, H., Grinberg, L.T., Kampmann, M., 2021. Molecular characterization of selectively vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 24, 276–287. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00764-7>
- Leroy, K., Bretteville, A., Schindowski, K., Gilissen, E., Authélet, M., De Decker, R., Yilmaz, Z., Buée, L., Brion, J.-P., 2007. Early axonopathy preceding neurofibrillary tangles in mutant tau transgenic mice. *Am J Pathol* 171, 976–992. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.070345>
- Leuzy, A., Smith, R., Ossenkoppele, R., Santillo, A., Borroni, E., Klein, G., Ohlsson, T., Jögi, J., Palmqvist, S., Mattsson-Carlsson, N., Strandberg, O., Stomrud, E., Hansson, O., 2020. Diagnostic Performance of RO948 F 18 Tau Positron Emission Tomography in the Differentiation of Alzheimer Disease From Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA Neurol* 77, 955–965. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.0989>
- Leyns, C.E.G., Gratuze, M., Narasimhan, S., Jain, N., Koscal, L.J., Jiang, H., Manis, M., Colonna, M., Lee, V.M.Y., Ulrich, J.D., Holtzman, D.M., 2019. TREM2 function impedes tau seeding in neuritic plaques. *Nat Neurosci* 22, 1217–1222. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0433-0>
- Leyns, C.E.G., Ulrich, J.D., Finn, M.B., Stewart, F.R., Koscal, L.J., Remolina Serrano, J., Robinson, G.O., Anderson, E., Colonna, M., Holtzman, D.M., 2017. TREM2 deficiency attenuates neuroinflammation and protects against neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 114, 11524–11529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1710311114>

- Li, Q., Cheng, Z., Zhou, L., Darmanis, S., Neff, N.F., Okamoto, J., Gulati, G., Bennett, M.L., Sun, L.O., Clarke, L.E., Marschallinger, J., Yu, G., Quake, S.R., Wyss-Coray, T., Barres, B.A., 2019. Developmental Heterogeneity of Microglia and Brain Myeloid Cells Revealed by Deep Single-Cell RNA Sequencing. *Neuron* 101, 207-223.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.12.006>
- Li, X., Kumar, Y., Zempel, H., Mandelkow, E.-M., Biernat, J., Mandelkow, E., 2011. Novel diffusion barrier for axonal retention of Tau in neurons and its failure in neurodegeneration. *EMBO J* 30, 4825-4837. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.376>
- Liddelow, S.A., Barres, B.A., 2017. Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity* 46, 957-967. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>
- Liddelow, S.A., Guttenplan, K.A., Clarke, L.E., Bennett, F.C., Bohlen, C.J., Schirmer, L., Bennett, M.L., Münch, A.E., Chung, W.-S., Peterson, T.C., Wilton, D.K., Frouin, A., Napier, B.A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M.S., Rowitch, D.H., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Stevens, B., Barres, B.A., 2017. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541, 481-487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Lill, C.M., Rengmark, A., Pihlstrøm, L., Fogh, I., Shatunov, A., Sleiman, P.M., Wang, L.-S., Liu, T., Lassen, C.F., Meissner, E., Alexopoulos, P., Calvo, A., Chio, A., Dizdar, N., Faltraco, F., Forsgren, L., Kirchheiner, J., Kurz, A., Larsen, J.P., Liebsch, M., Linder, J., Morrison, K.E., Nissbrandt, H., Otto, M., Pahnke, J., Partch, A., Restagno, G., Rujescu, D., Schnack, C., Shaw, C.E., Shaw, P.J., Tuman, H., Tysnes, O.-B., Valladares, O., Silani, V., van den Berg, L.H., van Rheenen, W., Veldink, J.H., Lindenberger, U., Steinhagen-Thiessen, E., SLAGEN Consortium, Teipel, S., Pernecky, R., Hakonarson, H., Hampel, H., von Arnim, C.A.F., Olsen, J.H., Van Deerlin, V.M., Al-Chalabi, A., Toft, M., Ritz, B., Bertram, L., 2015. The role of TREM2 R47H as a risk factor for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, amyotrophic lateral sclerosis, and Parkinson's disease. *Alzheimers Dement* 11, 1407-1416. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.12.009>
- Lippa, C.F., Zhukareva, V., Kawarai, T., Uryu, K., Shafiq, M., Nee, L.E., Grafman, J., Liang, Y., St George-Hyslop, P.H., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M., 2000. Frontotemporal dementia with novel tau pathology and a Glu342Val tau mutation. *Ann Neurol* 48, 850-858.
- Liu, C., Götz, J., 2013. Profiling Murine Tau with 0N, 1N and 2N Isoform-Specific Antibodies in Brain and Peripheral Organs Reveals Distinct Subcellular Localization, with the 1N Isoform Being Enriched in the Nucleus. *PLOS ONE* 8, e84849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084849>
- Liu, C., Song, X., Nisbet, R., Götz, J., 2016. Co-immunoprecipitation with Tau Isoform-specific Antibodies Reveals Distinct Protein Interactions and Highlights a Putative Role for 2N Tau in Disease. *J Biol Chem* 291, 8173-8188. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.641902>
- Liu, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Gong, C.-X., 2005. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *European Journal of Neuroscience* 22, 1942-1950. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04391.x>
- Liu, L., Drouet, V., Wu, J.W., Witter, M.P., Small, S.A., Clelland, C., Duff, K., 2012. Trans-Synaptic Spread of Tau Pathology In Vivo. *PLoS ONE* 7, e31302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031302>
- Liu, Y.-J., Spangenberg, E.E., Tang, B., Holmes, T.C., Green, K.N., Xu, X., 2021. Microglia Elimination Increases Neural Circuit Connectivity and Activity in Adult Mouse Cortex. *J. Neurosci.* 41, 1274-1287. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2140-20.2020>
- Loomis, P.A., Howard, T.H., Castleberry, R.P., Binder, L.I., 1990. Identification of nuclear tau isoforms in human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 8422-8426.
- LoPresti, P., Szuchet, S., Papasozomenos, S.C., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., 1995. Functional implications for the microtubule-associated protein tau: localization in oligodendrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 10369-10373.
- Lourida, I., Hannon, E., Littlejohns, T.J., Langa, K.M., Hyppönen, E., Kuźma, E., Llewellyn, D.J., 2019. Association of Lifestyle and Genetic Risk With Incidence of Dementia. *JAMA* 322, 430-437. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.9879>

- Lu, Y., He, H.-J., Zhou, J., Miao, J.-Y., Lu, J., He, Y.-G., Pan, R., Wei, Y., Liu, Y., He, R.-Q., 2013. Hyperphosphorylation Results in Tau Dysfunction in DNA Folding and Protection. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 37, 551–63. <https://doi.org/10.3233/JAD-130602>
- Lue, L.-F., Schmitz, C.T., Serrano, G., Sue, L.I., Beach, T.G., Walker, D.G., 2015. TREM2 Protein Expression Changes Correlate with Alzheimer's Disease Neurodegenerative Pathologies in Post-Mortem Temporal Cortices. *Brain Pathology* 25, 469–480. <https://doi.org/10.1111/bpa.12190>
- Luo, W., Liu, W., Hu, X., Hanna, M., Caravaca, A., Paul, S.M., 2015. Microglial internalization and degradation of pathological tau is enhanced by an anti-tau monoclonal antibody. *Sci Rep* 5, 11161. <https://doi.org/10.1038/srep11161>
- Mair, W., Muntel, J., Tepper, K., Tang, S., Biernat, J., Seeley, W.W., Kosik, K.S., Mandelkow, E., Steen, H., Steen, J.A., 2016. FLEXITau: Quantifying Post-translational Modifications of Tau Protein in Vitro and in Human Disease. *Anal Chem* 88, 3704–3714. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04509>
- Majerova, P., Zilkova, M., Kazmerova, Z., Kovac, A., Paholikova, K., Kovacech, B., Zilka, N., Novak, M., 2014. Microglia display modest phagocytic capacity for extracellular tau oligomers. *J Neuroinflammation* 11, 161. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0161-z>
- Maniatis, S., Äijö, T., Vickovic, S., Braine, C., Kang, K., Mollbrink, A., Fagegaltier, D., Andrusivová, Ž., Saarenpää, S., Saiz-Castro, G., Cuevas, M., Watters, A., Lundeborg, J., Bonneau, R., Phatnani, H., 2019. Spatiotemporal dynamics of molecular pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 364, 89–93. <https://doi.org/10.1126/science.aav9776>
- Manocha, G., Ghatak, A., Puig, K., Combs, C., 2018. Anti- $\alpha 4\beta 1$ Integrin Antibodies Attenuated Brain Inflammatory Changes in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res* 15, 1123–1135. <https://doi.org/10.2174/1567205015666180801111033>
- Maphis, N., Xu, G., Kokiko-Cochran, O.N., Jiang, S., Cardona, A., Ransohoff, R.M., Lamb, B.T., Bhaskar, K., 2015. Reactive microglia drive tau pathology and contribute to the spreading of pathological tau in the brain. *Brain* 138, 1738–1755. <https://doi.org/10.1093/brain/awv081>
- Marín-Teva, J.L., Dusart, I., Colin, C., Gervais, A., van Rooijen, N., Mallat, M., 2004. Microglia promote the death of developing Purkinje cells. *Neuron* 41, 535–547. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(04\)00069-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(04)00069-8)
- Marioni, R.E., Harris, S.E., Zhang, Q., McRae, A.F., Hagenaars, S.P., Hill, W.D., Davies, G., Ritchie, C.W., Gale, C.R., Starr, J.M., Goate, A.M., Porteous, D.J., Yang, J., Evans, K.L., Deary, I.J., Wray, N.R., Visscher, P.M., 2018. GWAS on family history of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry* 8, 99. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0150-6>
- Martin, L., Latypova, X., Terro, F., 2011. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease. *Neurochemistry International* 58, 458–471. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.023>
- Masuda, T., Sankowski, R., Staszewski, O., Böttcher, C., Amann, L., Sagar, null, Scheiwe, C., Nessler, S., Kunz, P., van Loo, G., Coenen, V.A., Reinacher, P.C., Michel, A., Sure, U., Gold, R., Grün, D., Priller, J., Stadelmann, C., Prinz, M., 2019. Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution. *Nature* 566, 388–392. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0924-x>
- Masuda, T., Sankowski, R., Staszewski, O., Prinz, M., 2020. Microglia Heterogeneity in the Single-Cell Era. *Cell Reports* 30, 1271–1281. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.010>
- Matcovitch-Natan, O., Winter, D.R., Giladi, A., Vargas Aguilar, S., Spinrad, A., Sarrazin, S., Ben-Yehuda, H., David, E., Zelada González, F., Perrin, P., Keren-Shaul, H., Gury, M., Lara-Astaiso, D., Thaiss, C.A., Cohen, M., Bahar Halpern, K., Baruch, K., Deczkowska, A., Lorenzo-Vivas, E., Itzkovitz, S., Elinav, E., Sieweke, M.H., Schwartz, M., Amit, I., 2016. Microglia development follows a stepwise program to regulate brain homeostasis. *Science* 353, aad8670. <https://doi.org/10.1126/science.aad8670>
- Matsuda, H., Shigemoto, Y., Sato, N., 2019. Neuroimaging of Alzheimer's disease: focus on amyloid and tau PET. *Jpn J Radiol* 37, 735–749. <https://doi.org/10.1007/s11604-019-00867-7>

- McMillan, P., Korvatska, E., Poorkaj, P., Evstafjeva, Z., Robinson, L., Greenup, L., Leverenz, J., Schellenberg, G.D., D'Souza, I., 2008. Tau isoform regulation is region- and cell-specific in mouse brain. *Journal of Comparative Neurology* 511, 788–803. <https://doi.org/10.1002/cne.21867>
- McQuade, A., Coburn, M., Tu, C.H., Hasselmann, J., Davtayan, H., Blurton-Jones, M., 2018. Development and validation of a simplified method to generate human microglia from pluripotent stem cells. *Mol Neurodegener* 13, 67. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0297-x>
- McQuade, A., Kang, Y.J., Hasselmann, J., Jairaman, A., Sotelo, A., Coburn, M., Shabestari, S.K., Chadarevian, J.P., Fote, G., Tu, C.H., Danhash, E., Silva, J., Martinez, E., Cotman, C., Prieto, G.A., Thompson, L.M., Steffan, J.S., Smith, I., Davtayan, H., Cahalan, M., Cho, H., Blurton-Jones, M., 2020. Gene expression and functional deficits underlie TREM2-knockout microglia responses in human models of Alzheimer's disease. *Nat Commun* 11, 5370. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19227-5>
- Menassa, D.A., Gomez-Nicola, D., 2018. Microglial Dynamics During Human Brain Development. *Front Immunol* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01014>
- Merezhko, M., Brunello, C.A., Yan, X., Vihinen, H., Jokitalo, E., Uronen, R.-L., Huttunen, H.J., 2018. Secretion of Tau via an Unconventional Non-vesicular Mechanism. *Cell Reports* 25, 2027–2035.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.10.078>
- Merlini, M., Kirabali, T., Kulic, L., Nitsch, R.M., Ferretti, M.T., 2018. Extravascular CD3+ T Cells in Brains of Alzheimer Disease Patients Correlate with Tau but Not with Amyloid Pathology: An Immunohistochemical Study. *Neurodegener Dis* 18, 49–56. <https://doi.org/10.1159/000486200>
- Montagne, A., Barnes, S.R., Sweeney, M.D., Halliday, M.R., Sagare, A.P., Zhao, Z., Toga, A.W., Jacobs, R.E., Liu, C.Y., Amezcuca, L., Harrington, M.G., Chui, H.C., Law, M., Zlokovic, B.V., 2015. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron* 85, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.032>
- Morales, I., Jiménez, J.M., Mancilla, M., Maccioni, R.B., 2013. Tau oligomers and fibrils induce activation of microglial cells. *J Alzheimers Dis* 37, 849–856. <https://doi.org/10.3233/JAD-131843>
- Morawski, M., Brückner, G., Jäger, C., Seeger, G., Arendt, T., 2010. Neurons associated with aggregan-based perineuronal nets are protected against tau pathology in subcortical regions in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 169, 1347–1363. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.05.022>
- Morfini, G., Pigino, G., Mizuno, N., Kikkawa, M., Brady, S.T., 2007. Tau binding to microtubules does not directly affect microtubule-based vesicle motility. *J Neurosci Res* 85, 2620–2630. <https://doi.org/10.1002/jnr.21154>
- Morozova, V., Cohen, L.S., Makki, A.E.-H., Shur, A., Pilar, G., El Idrissi, A., Alonso, A.D., 2019. Normal and Pathological Tau Uptake Mediated by M1/M3 Muscarinic Receptors Promotes Opposite Neuronal Changes. *Front Cell Neurosci* 13, 403. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00403>
- Morris, M., Knudsen, G.M., Maeda, S., Trinidad, J.C., Ioanoviciu, A., Burlingame, A.L., Mucke, L., 2015. Tau post-translational modifications in wild-type and human amyloid precursor protein transgenic mice. *Nature Neuroscience* 18, 1183–1189. <https://doi.org/10.1038/nn.4067>
- Morris, M., Maeda, S., Vossel, K., Mucke, L., 2011. The Many Faces of Tau. *Neuron* 70, 410–426. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.04.009>
- Mosconi, L., Sorbi, S., Leon, M.J. de, Li, Y., Nacmias, B., Myoung, P.S., Tsui, W., Ginestroni, A., Bessi, V., Fayyazz, M., Caffarra, P., Pupi, A., 2006. Hypometabolism Exceeds Atrophy in Presymptomatic Early-Onset Familial Alzheimer's Disease. *Journal of Nuclear Medicine* 47, 1778–1786.
- Mrdjen, D., Pavlovic, A., Hartmann, F.J., Schreiner, B., Utz, S.G., Leung, B.P., Lelios, I., Heppner, F.L., Kipnis, J., Merkler, D., Greter, M., Becher, B., 2018. High-Dimensional Single-Cell Mapping of Central Nervous System Immune Cells Reveals Distinct Myeloid Subsets in Health, Aging, and Disease. *Immunity* 48, 380–395.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.011>

- Mufson, E.J., Ward, S., Binder, L., 2014. Prefibrillar Tau Oligomers in MCI and Alzheimer Disease. *Neurodegener Dis* 13, 151–153. <https://doi.org/10.1159/000353687>
- Mukrasch, M.D., Bibow, S., Korukottu, J., Jeganathan, S., Biernat, J., Griesinger, C., Mandelkow, E., Zweckstetter, M., 2009. Structural polymorphism of 441-residue tau at single residue resolution. *PLoS Biol.* 7, e34. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000034>
- Murray, P.J., Allen, J.E., Biswas, S.K., Fisher, E.A., Gilroy, D.W., Goerdt, S., Gordon, S., Hamilton, J.A., Ivashkiv, L.B., Lawrence, T., Locati, M., Mantovani, A., Martinez, F.O., Mege, J.-L., Mosser, D.M., Natoli, G., Saeij, J.P., Schultze, J.L., Shirey, K.A., Sica, A., Suttles, J., Udalova, I., van Genderachter, J.A., Vogel, S.N., Wynn, T.A., 2014. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* 41, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>
- Narasimhan, S., Guo, J.L., Changolkar, L., Stieber, A., McBride, J.D., Silva, L.V., He, Z., Zhang, B., Gathagan, R.J., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., 2017. Pathological Tau Strains from Human Brains Recapitulate the Diversity of Tauopathies in Nontransgenic Mouse Brain. *J Neurosci* 37, 11406–11423. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1230-17.2017>
- Nation, D.A., Sweeney, M.D., Montagne, A., Sagare, A.P., D’Orazio, L.M., Pachicano, M., Sepeshband, F., Nelson, A.R., Buennagel, D.P., Harrington, M.G., Benzinger, T.L.S., Fagan, A.M., Ringman, J.M., Schneider, L.S., Morris, J.C., Chui, H.C., Law, M., Toga, A.W., Zlokovic, B.V., 2019. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. *Nat Med* 25, 270–276. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0297-y>
- Nayak, D., Roth, T.L., McGavern, D., 2014. Microglia development and function. *Annual review of immunology.* <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240>
- Neve, R.L., Harris, P., Kosik, K.S., Kurnit, D.M., Donlon, T.A., 1986. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Molecular Brain Research* 1, 271–280. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(86\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0169-328X(86)90033-1)
- Nguyen, P.T., Dorman, L.C., Pan, S., Vainchtein, I.D., Han, R.T., Nakao-Inoue, H., Taloma, S.E., Barron, J.J., Molofsky, A.B., Kheirbek, M.A., Molofsky, A.V., 2020. Microglial Remodeling of the Extracellular Matrix Promotes Synapse Plasticity. *Cell* 182, 388-403.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.050>
- Niewiadomska, G., Niewiadomski, W., Steczkowska, M., Gasiorowska, A., 2021. Tau Oligomers Neurotoxicity. *Life* 11, 28. <https://doi.org/10.3390/life11010028>
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., Helmchen, F., 2005. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 308, 1314–1318. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
- Niraula, A., Sheridan, J.F., Godbout, J.P., 2017. Microglia Priming with Aging and Stress. *Neuropsychopharmacology* 42, 318–333. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.185>
- Novak, B.K. and M., 2010. Tau Truncation is a Productive Posttranslational Modification of Neurofibrillary Degeneration in Alzheimer’s Disease [WWW Document]. *Current Alzheimer Research*. URL <https://www.eurekaselect.com/87095/article> (accessed 2.21.21).
- Ondrejcek, T., Klyubin, I., Corbett, G.T., Fraser, G., Hong, W., Mably, A.J., Gardener, M., Hammersley, J., Perikinton, M.S., Billinton, A., Walsh, D.M., Rowan, M.J., 2018. Cellular Prion Protein Mediates the Disruption of Hippocampal Synaptic Plasticity by Soluble Tau In Vivo. *J Neurosci* 38, 10595–10606. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1700-18.2018>
- Paloneva, J., Manninen, T., Christman, G., Hovanes, K., Mandelin, J., Adolfsson, R., Bianchin, M., Bird, T., Miranda, R., Salmaggi, A., Tranebjærg, L., Konttinen, Y., Peltonen, L., 2002. Mutations in Two Genes Encoding Different Subunits of a Receptor Signaling Complex Result in an Identical Disease Phenotype. *The American Journal of Human Genetics* 71, 656–662. <https://doi.org/10.1086/342259>
- Pan, J., Ma, N., Yu, B., Zhang, W., Wan, J., 2020. Transcriptomic profiling of microglia and astrocytes throughout aging. *J Neuroinflammation* 17, 97. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01774-9>

- Papasozomenos, S.C., Binder, L.I., 1987. Phosphorylation determines two distinct species of Tau in the central nervous system. *Cell Motil. Cytoskeleton* 8, 210–226. <https://doi.org/10.1002/cm.970080303>
- Parkhurst, C.N., Yang, G., Ninan, I., Savas, J.N., Yates, J.R., Lafaille, J.J., Hempstead, B.L., Littman, D.R., Gan, W.-B., 2013. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell* 155, 1596–1609. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.030>
- Pascoal, T.A., Mathotaarachchi, S., Mohades, S., Benedet, A.L., Chung, C.-O., Shin, M., Wang, S., Beaudry, T., Kang, M.S., Soucy, J.-P., Labbe, A., Gauthier, S., Rosa-Neto, P., 2017. Amyloid- β and hyperphosphorylated tau synergy drives metabolic decline in preclinical Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 22, 306–311. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.37>
- Peck, A., Sargin, M.E., LaPointe, N.E., Rose, K., Manjunath, B.S., Feinstein, S.C., Wilson, L., 2011. Tau isoform-specific modulation of kinesin-driven microtubule gliding rates and trajectories as determined with tau-stabilized microtubules. *Cytoskeleton* 68, 44–55. <https://doi.org/10.1002/cm.20494>
- Peeraer, E., Bittelbergs, A., Van Kolen, K., Stancu, I.-C., Vasconcelos, B., Mahieu, M., Duytschaever, H., Ver Donck, L., Torremans, A., Sluydts, E., Van Acker, N., Kemp, J.A., Mercken, M., Brunden, K.R., Trojanowski, J.Q., Dewachter, I., Lee, V.M.Y., Moechars, D., 2015. Intracerebral injection of preformed synthetic tau fibrils initiates widespread tauopathy and neuronal loss in the brains of tau transgenic mice. *Neurobiol Dis* 73, 83–95. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.032>
- Perea, J.R., Bolós, M., Avila, J., 2020. Microglia in Alzheimer's Disease in the Context of Tau Pathology. *Biomolecules* 10. <https://doi.org/10.3390/biom10101439>
- Pérez, M., Cuadros, R., Hernández, F., Avila, J., 2016. Secretion of full-length tau or tau fragments in a cell culture model. *Neuroscience Letters* 634, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.09.026>
- Pérez, M., Medina, M., Hernández, F., Avila, J., 2018. Secretion of full-length Tau or Tau fragments in cell culture models. Propagation of Tau in vivo and in vitro. *Biomolecular Concepts* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1515/bmc-2018-0001>
- Perry, V.H., Holmes, C., 2014. Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 10, 217–224. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.38>
- Piccio, L., Buonsanti, C., Mariani, M., Cella, M., Gilfillan, S., Cross, A.H., Colonna, M., Panina-Bordignon, P., 2007. Blockade of TREM-2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *European Journal of Immunology* 37, 1290–1301. <https://doi.org/10.1002/eji.200636837>
- Pickett, E.K., Herrmann, A.G., McQueen, J., Abt, K., Dando, O., Tulloch, J., Jain, P., Dunnett, S., Sohrabi, S., Fjeldstad, M.P., Calkin, W., Murison, L., Jackson, R.J., Tzioras, M., Stevenson, A., d'Orange, M., Hooley, M., Davies, C., Colom-Cadena, M., Anton-Fernandez, A., King, D., Oren, I., Rose, J., McKenzie, C.-A., Allison, E., Smith, C., Hardt, O., Henstridge, C.M., Hardingham, G.E., Spiers-Jones, T.L., 2019. Amyloid Beta and Tau Cooperate to Cause Reversible Behavioral and Transcriptional Deficits in a Model of Alzheimer's Disease. *Cell Reports* 29, 3592–3604.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.044>
- Pietronigro, E., Zenaro, E., Bianca, V.D., Dusi, S., Terrabuio, E., Iannoto, G., Slanzi, A., Ghasemi, S., Nagarajan, R., Piacentino, G., Tosadori, G., Rossi, B., Constantin, G., 2019. Blockade of $\alpha 4$ integrins reduces leukocyte-endothelial interactions in cerebral vessels and improves memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Sci Rep* 9, 12055. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48538-x>
- Pirbhoy, P.S., Rais, M., Lovelace, J.W., Woodard, W., Razak, K.A., Binder, D.K., Ethell, I.M., 2020. Acute pharmacological inhibition of matrix metalloproteinase-9 activity during development restores perineuronal net formation and normalizes auditory processing in Fmr1 KO mice. *Journal of Neurochemistry* 155, 538–558. <https://doi.org/10.1111/jnc.15037>
- Pluvinage, J.V., Haney, M.S., Smith, B.A.H., Sun, J., Iram, T., Bonanno, L., Li, L., Lee, D.P., Morgens, D.W., Yang, A.C., Shuken, S.R., Gate, D., Scott, M., Khatri, P., Luo, J., Bertozzi, C.R., Bassik, M.C., Wyss-

- Coray, T., 2019. CD22 blockade restores homeostatic microglial phagocytosis in ageing brains. *Nature* 568, 187–192. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1088-4>
- Polanco, J.C., Hand, G.R., Briner, A., Li, C., Götz, J., 2021. Exosomes induce endolysosomal permeabilization as a gateway by which exosomal tau seeds escape into the cytosol. *Acta Neuropathol* 141, 235–256. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02254-3>
- Polanco, J.C., Li, C., Durisic, N., Sullivan, R., Götz, J., 2018. Exosomes taken up by neurons hijack the endosomal pathway to spread to interconnected neurons. *Acta Neuropathol Commun* 6, 10. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0514-4>
- Polanco, J.C., Scicluna, B.J., Hill, A.F., Götz, J., 2016. Extracellular Vesicles Isolated from the Brains of rTg4510 Mice Seed Tau Protein Aggregation in a Threshold-dependent Manner. *J Biol Chem* 291, 12445–12466. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.709485>
- Pont-Lezica, L., Beumer, W., Colasse, S., Drexhage, H., Versnel, M., Bessis, A., 2014. Microglia shape corpus callosum axon tract fasciculation: functional impact of prenatal inflammation. *Eur J Neurosci* 39, 1551–1557. <https://doi.org/10.1111/ejn.12508>
- Pooler, A.M., Phillips, E.C., Lau, D.H.W., Noble, W., Hanger, D.P., 2013. Physiological release of endogenous tau is stimulated by neuronal activity. *EMBO Rep* 14, 389–394. <https://doi.org/10.1038/embor.2013.15>
- Pooler, A.M., Polydoro, M., Maury, E.A., Nicholls, S.B., Reddy, S.M., Wegmann, S., William, C., Saqran, L., Cagsal-Getkin, O., Pitstick, R., Beier, D.R., Carlson, G.A., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2015. Amyloid accelerates tau propagation and toxicity in a model of early Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathologica Communications* 3, 14. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0199-x>
- Pooler, A.M., Usardi, A., Evans, C.J., Philpott, K.L., Noble, W., Hanger, D.P., 2012. Dynamic association of tau with neuronal membranes is regulated by phosphorylation. *Neurobiology of Aging* 33, 431.e27-431.e38. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.01.005>
- Probst, A., Ulrich, J., Heitz, Ph.U., 1982. Senile dementia of Alzheimer type: Astroglial reaction to extracellular neurofibrillary tangles in the hippocampus. *Acta Neuropathol* 57, 75–79. <https://doi.org/10.1007/BF00688880>
- Provenzano, F., Pérez, M.J., Deleidi, M., 2021. Redefining Microglial Identity in Health and Disease at Single-Cell Resolution. *Trends in Molecular Medicine* 27, 47–59. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.09.001>
- Prusiner, S.B., 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216, 136–144. <https://doi.org/10.1126/science.6801762>
- Puangmalai, N., Bhatt, N., Montalbano, M., Sengupta, U., Gaikwad, S., Ventura, F., McAllen, S., Ellsworth, A., Garcia, S., Kaye, R., 2020. Internalization mechanisms of brain-derived tau oligomers from patients with Alzheimer’s disease, progressive supranuclear palsy and dementia with Lewy bodies. *Cell Death Dis* 11, 314. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2503-3>
- Qi, H., Cantrelle, F.-X., Benhelli-Mokrani, H., Smet-Nocca, C., Buée, L., Lippens, G., Bonnefoy, E., Galas, M.-C., Landrieu, I., 2015. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Characterization of Interaction of Tau with DNA and Its Regulation by Phosphorylation. *Biochemistry* 54, 1525–1533. <https://doi.org/10.1021/bi5014613>
- Qiang, L., Sun, X., Austin, T.O., Muralidharan, H., Jean, D.C., Liu, M., Yu, W., Baas, P.W., 2018. Tau Does Not Stabilize Axonal Microtubules but Rather Enables Them to Have Long Labile Domains. *Current Biology* 28, 2181-2189.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.045>
- Qin, Q., Teng, Z., Liu, C., Li, Q., Yin, Y., Tang, Y., 2021. TREM2, microglia, and Alzheimer’s disease. *Mechanisms of Ageing and Development* 195, 111438. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111438>
- Qu, W., Li, L., 2020. Loss of TREM2 Confers Resilience to Synaptic and Cognitive Impairment in Aged Mice. *J Neurosci* 40, 9552–9563. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2193-20.2020>
- Rabouille, C., Malhotra, V., Nickel, W., 2012. Diversity in unconventional protein secretion. *J Cell Sci* 125, 5251–5255. <https://doi.org/10.1242/jcs.103630>

- Rady, R.M., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., 1995. Presence of tau in isolated nuclei from human brain. *Neurobiology of Aging, The Schmitt Symposium: The Cytoskeleton and Alzheimer's Disease* 16, 479–486. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(95\)00023-8](https://doi.org/10.1016/0197-4580(95)00023-8)
- Ransohoff, R.M., 2016. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? *Nat Neurosci* 19, 987–991. <https://doi.org/10.1038/nn.4338>
- Rauch, J.N., Luna, G., Guzman, E., Audouard, M., Challis, C., Sibih, Y.E., Leshuk, C., Hernandez, I., Wegmann, S., Hyman, B.T., Gradinaru, V., Kampmann, M., Kosik, K.S., 2020. LRP1 is a master regulator of tau uptake and spread. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2156-5>
- Rayaprolu, S., Mullen, B., Baker, M., Lynch, T., Finger, E., Seeley, W.W., Hatanpaa, K.J., Lomen-Hoerth, C., Kertesz, A., Bigio, E.H., Lippa, C., Josephs, K.A., Knopman, D.S., White, C.L., Caselli, R., Mackenzie, I.R., Miller, B.L., Boczarska-Jedynak, M., Opala, G., Krygowska-Wajs, A., Barcikowska, M., Younkin, S.G., Petersen, R.C., Ertekin-Taner, N., Uitti, R.J., Meschia, J.F., Boylan, K.B., Boeve, B.F., Graff-Radford, N.R., Wszolek, Z.K., Dickson, D.W., Rademakers, R., Ross, O.A., 2013. TREM2 in neurodegeneration: Evidence for association of the p.R47H variant with frontotemporal dementia and Parkinson's disease. *Molecular Neurodegeneration* 8. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-19>
- Reichelt, A.C., Hare, D.J., Bussey, T.J., Saksida, L.M., 2019. Perineuronal Nets: Plasticity, Protection, and Therapeutic Potential. *Trends in Neurosciences* 42, 458–470. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.04.003>
- Ren, G., Vajjhala, P., Lee, J.S., Winsor, B., Munn, A.L., 2006. The BAR domain proteins: molding membranes in fission, fusion, and phagy. *Microbiol Mol Biol Rev* 70, 37–120. <https://doi.org/10.1128/MMBR.70.1.37-120.2006>
- Réu, P., Khosravi, A., Bernard, S., Mold, J.E., Salehpour, M., Alkass, K., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H., Frisén, J., 2017. The Lifespan and Turnover of Microglia in the Human Brain. *Cell Reports* 20, 779–784. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.004>
- Rexach, J.E., Polioudakis, D., Yin, A., Swarup, V., Chang, T.S., Nguyen, T., Sarkar, A., Chen, L., Huang, J., Lin, L.-C., Seeley, W., Trojanowski, J.Q., Malhotra, D., Geschwind, D.H., 2020. Tau Pathology Drives Dementia Risk-Associated Gene Networks toward Chronic Inflammatory States and Immunosuppression. *Cell Rep* 33, 108398. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108398>
- Ribé, E.M., Pérez, M., Puig, B., Gich, I., Lim, F., Cuadrado, M., Sesma, T., Catena, S., Sánchez, B., Nieto, M., Gómez-Ramos, P., Morán, M.A., Cabodevilla, F., Samaranch, L., Ortiz, L., Pérez, A., Ferrer, I., Avila, J., Gómez-Isla, T., 2005. Accelerated amyloid deposition, neurofibrillary degeneration and neuronal loss in double mutant APP/tau transgenic mice. *Neurobiol Dis* 20, 814–822. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.05.027>
- Ricciarelli, R., Fedele, E., 2017. The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: It's Time to Change Our Mind. *Curr Neuropharmacol* 15, 926–935. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170116143743>
- Richter, N., Bischof, G.N., Dronse, J., Nellessen, N., Neumaier, B., Langen, K.-J., Drzezga, A., Fink, G.R., van Eimeren, T., Kukolja, J., Onur, O.A., 2020. Entorhinal Tau Predicts Hippocampal Activation and Memory Deficits in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 78, 1601–1614. <https://doi.org/10.3233/JAD-200835>
- Ritchie, D.L., Adlard, P., Peden, A.H., Lowrie, S., Le Grice, M., Burns, K., Jackson, R.J., Yull, H., Keogh, M.J., Wei, W., Chinnery, P.F., Head, M.W., Ironside, J.W., 2017. Amyloid- β accumulation in the CNS in human growth hormone recipients in the UK. *Acta Neuropathol* 134, 221–240. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1703-0>
- Riudavets, null, Mena, H., Bouffard, J.P., Sandberg, G., Rushing, E.J., 2005. Relationship between radiation injury and Alzheimer-related neurodegenerative changes. *Clin Neuropathol* 24, 236–238.
- Saito, T., Mihira, N., Matsuba, Y., Sasaguri, H., Hashimoto, S., Narasimhan, S., Zhang, B., Murayama, S., Higuchi, M., Lee, V.M.Y., Trojanowski, J.Q., Saido, T.C., 2019. Humanization of the entire murine Mapt gene provides a murine model of pathological human tau propagation. *J Biol Chem* 294, 12754–12765. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009487>

- Saito, Y., Ruberu, N.N., Sawabe, M., Arai, T., Tanaka, N., Kakuta, Y., Yamanouchi, H., Murayama, S., 2004. Staging of Argyrophilic Grains: An Age-Associated Tauopathy. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 63, 911–918. <https://doi.org/10.1093/jnen/63.9.911>
- Saman, Sudad, Kim, W., Raya, M., Visnick, Y., Miro, S., Saman, Sarmad, Jackson, B., McKee, A.C., Alvarez, V.E., Lee, N.C.Y., Hall, G.F., 2012. Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. *J Biol Chem* 287, 3842–3849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.277061>
- Sanders, D.W., Kaufman, S.K., DeVos, S.L., Sharma, A.M., Mirbaha, H., Li, A., Barker, S.J., Foley, A.C., Thorpe, J.R., Serpell, L.C., Miller, T.M., Grinberg, L.T., Seeley, W.W., Diamond, M.I., 2014. Distinct Tau Prion Strains Propagate in Cells and Mice and Define Different Tauopathies. *Neuron* 82, 1271–1288. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.047>
- Sato, C., Barthélemy, N.R., Mawuenyega, K.G., Patterson, B.W., Gordon, B.A., Jockel-Balsarotti, J., Sullivan, M., Crisp, M.J., Kasten, T., Kirmess, K.M., Kanaan, N.M., Yarasheski, K.E., Baker-Nigh, A., Benzinger, T.L.S., Miller, T.M., Karch, C.M., Bateman, R.J., 2018. Tau Kinetics in Neurons and the Human Central Nervous System. *Neuron* 97, 1284-1298.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.02.015>
- Satoh, J.-I., Tabunoki, H., Ishida, T., Yagishita, S., Jinnai, K., Futamura, N., Kobayashi, M., Toyoshima, I., Yoshioka, T., Enomoto, K., Arai, N., Arima, K., 2011. Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathology* 31, 363–375. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2010.01174.x>
- Schafer, D.P., Lehrman, E.K., Kautzman, A.G., Koyama, R., Mardinly, A.R., Yamasaki, R., Ransohoff, R.M., Greenberg, M.E., Barres, B.A., Stevens, B., 2012. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* 74, 691–705. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.026>
- Schafer, D.P., Lehrman, E.K., Stevens, B., 2013. The “quad-partite” synapse: microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS. *Glia* 61, 24–36. <https://doi.org/10.1002/glia.22389>
- Scheres, S.H., Zhang, W., Falcon, B., Goedert, M., 2020. Cryo-EM structures of tau filaments. *Current Opinion in Structural Biology, Biophysical and Computational Methods • Cryo EM* 64, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.05.011>
- Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Bégard, S., Brion, J.-P., Hamdane, M., Buée, L., 2006a. Alzheimer’s Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *The American Journal of Pathology* 169, 599–616. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060002>
- Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Verine, S., Gard, B., Brion, J.-P., Hamdane, M., Bué, L., 2006b. Alzheimer’s Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *The American Journal of Pathology* 169, 599–616. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060002>
- Schultz, M.K., Gentzel, R., Usenovic, M., Gretzula, C., Ware, C., Parmentier-Batteur, S., Schachter, J.B., Zariwala, H.A., 2018. Pharmacogenetic neuronal stimulation increases human tau pathology and trans-synaptic spread of tau to distal brain regions in mice. *Neurobiology of Disease* 118, 161–176. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.07.003>
- Sedel, F., Béchade, C., Vyas, S., Triller, A., 2004. Macrophage-derived tumor necrosis factor alpha, an early developmental signal for motoneuron death. *J Neurosci* 24, 2236–2246. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4464-03.2004>
- Sharma, K., Schmitt, S., Bergner, C.G., Tyanova, S., Kannaiyan, N., Manrique-Hoyos, N., Kongi, K., Cantuti, L., Hanisch, U.-K., Philips, M.-A., Rossner, M.J., Mann, M., Simons, M., 2015. Cell type- and brain region-resolved mouse brain proteome. *Nat Neurosci* 18, 1819–1831. <https://doi.org/10.1038/nn.4160>
- Shin, R.W., Iwaki, T., Kitamoto, T., Tateishi, J., 1991. Hydrated autoclave pretreatment enhances tau immunoreactivity in formalin-fixed normal and Alzheimer’s disease brain tissues. *Lab. Invest.* 64, 693–702.

- Sholl, D.A., 1953. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *J Anat* 87, 387–406.
- Sierra, A., de Castro, F., Del Río-Hortega, J., Rafael Iglesias-Rozas, J., Garrosa, M., Kettenmann, H., 2016. The “Big-Bang” for modern glial biology: Translation and comments on Pío del Río-Hortega 1919 series of papers on microglia. *Glia* 64, 1801–1840. <https://doi.org/10.1002/glia.23046>
- Sierra, A., Paolicelli, R.C., Kettenmann, H., 2019. Cien Años de Microglía: Milestones in a Century of Microglial Research. *Trends in Neurosciences* 42, 778–792. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.09.004>
- Slattery, C.F., Beck, J.A., Harper, L., Adamson, G., Abdi, Z., Uphill, J., Campbell, T., Druyeh, R., Mahoney, C.J., Rohrer, J.D., Kenny, J., Lowe, J., Leung, K.K., Barnes, J., Clegg, S.L., Blair, M., Nicholas, J.M., Guerreiro, R.J., Rowe, J.B., Ponto, C., Zerr, I., Kretschmar, H., Gambetti, P., Crutch, S.J., Warren, J.D., Rossor, M.N., Fox, N.C., Collinge, J., Schott, J.M., Mead, S., 2014. R47H TREM2 variant increases risk of typical early-onset Alzheimer’s disease but not of prion or frontotemporal dementia. *Alzheimer’s & Dementia* 10, 602–608.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.05.1751>
- Smolek, T., Jadhav, S., Brezovakova, V., Cubinkova, V., Valachova, B., Novak, P., Zilka, N., 2019. First-in-Rat Study of Human Alzheimer’s Disease Tau Propagation. *Mol Neurobiol* 56, 621–631. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1102-0>
- Song, W., Hooli, B., Mullin, K., Jin, S.C., Cella, M., Ulland, T.K., Wang, Y., Tanzi, R.E., Colonna, M., 2017. Alzheimer’s disease-associated TREM2 variants exhibit either decreased or increased ligand-dependent activation. *Alzheimer’s & Dementia* 13, 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.07.004>
- Song, W.M., Joshita, S., Zhou, Y., Ulland, T.K., Gilfillan, S., Colonna, M., 2018. Humanized TREM2 mice reveal microglia-intrinsic and -extrinsic effects of R47H polymorphism. *J Exp Med* 215, 745–760. <https://doi.org/10.1084/jem.20171529>
- Souyris, M., Cenac, C., Azar, P., Daviaud, D., Canivet, A., Grunenwald, S., Pienkowski, C., Chaumeil, J., Mejía, J.E., Guéry, J.-C., 2018. TLR7 escapes X chromosome inactivation in immune cells. *Sci Immunol* 3. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aap8855>
- Sperling, R.A., Mormino, E.C., Schultz, A.P., Betensky, R.A., Papp, K.V., Amariglio, R.E., Hanseeuw, B.J., Buckley, R., Chhatwal, J., Hedden, T., Marshall, G.A., Quiroz, Y.T., Donovan, N.J., Jackson, J., Gatchel, J.R., Rabin, J.S., Jacobs, H., Yang, H.-S., Properzi, M., Kirn, D.R., Rentz, D.M., Johnson, K.A., 2019. The impact of A β and tau on prospective cognitive decline in older individuals. *Ann Neurol* 85, 181–193. <https://doi.org/10.1002/ana.25395>
- Squarzoni, P., Oller, G., Hoeffel, G., Pont-Lezica, L., Rostaing, P., Low, D., Bessis, A., Ginhoux, F., Garel, S., 2014. Microglia modulate wiring of the embryonic forebrain. *Cell Rep* 8, 1271–1279. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.042>
- Stancu, I.-C., Cremers, N., Vanrusselt, H., Couturier, J., Vanoosthuyse, A., Kessels, S., Lodder, C., Brône, B., Huaux, F., Octave, J.-N., Terwel, D., Dewachter, I., 2019. Aggregated Tau activates NLRP3-ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo. *Acta Neuropathol* 137, 599–617. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01957-y>
- Stancu, I.-C., Vasconcelos, B., Ris, L., Wang, P., Villers, A., Peeraer, E., Buist, A., Terwel, D., Baatsen, P., Oyelami, T., Pierrot, N., Casteels, C., Bormans, G., Kienlen-Campard, P., Octave, J.-N., Moechars, D., Dewachter, I., 2015. Templated misfolding of Tau by prion-like seeding along neuronal connections impairs neuronal network function and associated behavioral outcomes in Tau transgenic mice. *Acta Neuropathol* 129, 875–894. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1413-4>
- Strang, K.H., Golde, T.E., Giasson, B.I., 2019. MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab Invest* 99, 912–928. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0197-x>
- Streit, W.J., Sammons, N.W., Kuhns, A.J., Sparks, D.L., 2004. Dystrophic microglia in the aging human brain. *Glia* 45, 208–212. <https://doi.org/10.1002/glia.10319>

- Stremmel, C., Schuchert, R., Wagner, F., Thaler, R., Weinberger, T., Pick, R., Mass, E., Ishikawa-Ankerhold, H.C., Margraf, A., Hutter, S., Vagnozzi, R., Klapproth, S., Frampton, J., Yona, S., Scheiermann, C., Molkentin, J.D., Jeschke, U., Moser, M., Sperandio, M., Massberg, S., Geissmann, F., Schulz, C., 2018. Yolk sac macrophage progenitors traffic to the embryo during defined stages of development. *Nature Communications* 9, 75. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02492-2>
- Sultan, A., Nessler, F., Violet, M., Bégard, S., Loyens, A., Talahari, S., Mansuroglu, Z., Marzin, D., Sergeant, N., Humez, S., Colin, M., Bonnefoy, E., Buée, L., Galas, M.-C., 2011. Nuclear Tau, a Key Player in Neuronal DNA Protection. *J. Biol. Chem.* 286, 4566–4575. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.199976>
- Sun, M., Zhu, M., Chen, K., Nie, X., Deng, Q., Hazlett, L.D., Wu, Y., Li, M., Wu, M., Huang, X., 2013. TREM-2 promotes host resistance against *Pseudomonas aeruginosa* infection by suppressing corneal inflammation via a PI3K/Akt signaling pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54, 3451–3462. <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10938>
- Sun, W., Qureshi, H.Y., Cafferty, P.W., Sobue, K., Agarwal-Mawal, A., Neufeld, K.D., Paudel, H.K., 2002. Glycogen Synthase Kinase-3 β Is Complexed with Tau Protein in Brain Microtubules. *J. Biol. Chem.* 277, 11933–11940. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107182200>
- Suttks, A., Holzer, M., Morawski, M., Arendt, T., 2016. The neuronal extracellular matrix restricts distribution and internalization of aggregated Tau-protein. *Neuroscience* 313, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.040>
- Swanson, E., Breckenridge, L., McMahon, L., Som, S., McConnell, I., Bloom, G.S., 2017. Extracellular Tau Oligomers Induce Invasion of Endogenous Tau into the Somatodendritic Compartment and Axonal Transport Dysfunction. *J Alzheimers Dis* 58, 803–820. <https://doi.org/10.3233/JAD-170168>
- Tai, H.-C., Serrano-Pozo, A., Hashimoto, T., Frosch, M.P., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2012. The synaptic accumulation of hyperphosphorylated tau oligomers in Alzheimer disease is associated with dysfunction of the ubiquitin-proteasome system. *Am J Pathol* 181, 1426–1435. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.06.033>
- Tai, H.-C., Wang, B.Y., Serrano-Pozo, A., Frosch, M.P., Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T., 2014. Frequent and symmetric deposition of misfolded tau oligomers within presynaptic and postsynaptic terminals in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2, 146. <https://doi.org/10.1186/s40478-014-0146-2>
- Takeda, A., Shinzaki, Y., Kashiwagi, K., Ohno, N., Eto, K., Wake, H., Nabekura, J., Koizumi, S., 2018. Microglia mediate non-cell-autonomous cell death of retinal ganglion cells. *Glia* 66, 2366–2384. <https://doi.org/10.1002/glia.23475>
- Takeda, S., Wegmann, S., Cho, H., DeVos, S.L., Commins, C., Roe, A.D., Nicholls, S.B., Carlson, G.A., Pitstick, R., Nobuhara, C.K., Costantino, I., Frosch, M.P., Müller, D.J., Irimia, D., Hyman, B.T., 2015. Neuronal uptake and propagation of a rare phosphorylated high-molecular-weight tau derived from Alzheimer's disease brain. *Nat Commun* 6, 8490. <https://doi.org/10.1038/ncomms9490>
- Tan, M.-S., Yang, Y.-X., Xu, W., Wang, H.-F., Tan, Lin, Zuo, C.-T., Dong, Q., Tan, Lan, Suckling, J., Yu, J.-T., 2021. Associations of Alzheimer's disease risk variants with gene expression, amyloidosis, tauopathy, and neurodegeneration. *Alzheimers Res Ther* 13. <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00755-7>
- Tang, M., Harrison, J., Deaton, C.A., Johnson, G.V.W., 2019. Tau Clearance Mechanisms, in: Takashima, A., Wolozin, B., Buee, L. (Eds.), *Tau Biology*. Springer Singapore, Singapore, pp. 57–68. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8_5
- Tapia-Rojas, C., Cabezas-Opazo, F., Deaton, C.A., Vergara, E.H., Johnson, G.V.W., Quintanilla, R.A., 2019. It's all about tau. *Progress in Neurobiology* 175, 54–76. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.12.005>
- Tarawneh, R., 2020. Biomarkers: Our Path Towards a Cure for Alzheimer Disease. *Biomark Insights* 15. <https://doi.org/10.1177/1177271920976367>

- Tardivel, M., Bégard, S., Bousset, L., Dujardin, S., Coens, A., Melki, R., Buée, L., Colin, M., 2016. Tunneling nanotube (TNT)-mediated neuron-to neuron transfer of pathological Tau protein assemblies. *Acta Neuropathol Commun* 4, 117. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0386-4>
- Tashiro, K., Hasegawa, M., Ihara, Y., Iwatsubo, T., 1997. Somatodendritic localization of phosphorylated tau in neonatal and adult rat cerebral cortex. *Neuroreport* 8, 2797–2801. <https://doi.org/10.1097/00001756-199708180-00029>
- Taylor, A.M., Rhee, S.W., Tu, C.H., Cribbs, D.H., Cotman, C.W., Jeon, N.L., 2003. Microfluidic Multicompartment Device for Neuroscience Research. *Langmuir* 19, 1551–1556. <https://doi.org/10.1021/la026417v>
- Terwel, D., Lasrado, R., Snauwaert, J., Vandeweert, E., Van Haesendonck, C., Borghgraef, P., Van Leuven, F., 2005. Changed Conformation of Mutant Tau-P301L Underlies the Moribund Tauopathy, Absent in Progressive, Nonlethal Axonopathy of Tau-4R/2N Transgenic Mice*. *Journal of Biological Chemistry* 280, 3963–3973. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409876200>
- Thal, D.R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791–1800. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.12.1791>
- Thelen, M., Razquin, C., Hernández, I., Gorostidi, A., Sánchez-Valle, R., Ortega-Cubero, S., Wolfgruber, S., Drichel, D., Fliessbach, K., Duenkel, T., Damian, M., Heilmann, S., Slotosch, A., Lennarz, M., Seijo-Martínez, M., Rene, R., Kornhuber, J., Peters, O., Luckhaus, C., Jahn, H., Hüll, M., Rütter, E., Wiltfang, J., Lorenzo, E., Gascon, J., Lleó, A., Lladó, A., Campdelacreu, J., Moreno, F., Ahmadzadehfar, H., Fortea, J., Indakoetxea, B., Heneka, M.T., Wetter, A., Pastor, M.A., Riverol, M., Becker, T., Frölich, L., Tárraga, L., Boada, M., Wagner, M., Jessen, F., Maier, W., Clarimón, J., López de Munain, A., Ruiz, A., Pastor, P., Ramirez, A., 2014. Investigation of the role of rare TREM2 variants in frontotemporal dementia subtypes. *Neurobiology of Aging* 35, 2657.e13-2657.e19. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.06.018>
- Thion, M.S., Ginhoux, F., Garel, S., 2018. Microglia and early brain development: An intimate journey. *Science* 362, 185–189. <https://doi.org/10.1126/science.aat0474>
- Thurston, V.C., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., 1996. Tau as a nucleolar protein in human nonneural cells in vitro and in vivo. *Chromosoma* 105, 20–30. <https://doi.org/10.1007/BF02510035>
- Timmers, M., Tesseur, I., Bogert, J., Zetterberg, H., Blennow, K., Börjesson-Hanson, A., Baquero, M., Boada, M., Randolph, C., Tritsmans, L., Van Nueten, L., Engelborghs, S., Streffer, J.R., 2019. Relevance of the interplay between amyloid and tau for cognitive impairment in early Alzheimer’s disease. *Neurobiology of Aging* 79, 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.03.016>
- Todd, L., Palazzo, I., Suarez, L., Liu, X., Volkov, L., Hoang, T.V., Campbell, W.A., Blackshaw, S., Quan, N., Fischer, A.J., 2019. Reactive microglia and IL1 β /IL-1R1-signaling mediate neuroprotection in excitotoxin-damaged mouse retina. *J Neuroinflammation* 16. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1505-5>
- Togo, T., Akiyama, H., Iseki, E., Kondo, H., Ikeda, K., Kato, M., Oda, T., Tsuchiya, K., Kosaka, K., 2002. Occurrence of T cells in the brain of Alzheimer’s disease and other neurological diseases. *J Neuroimmunol* 124, 83–92. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(01\)00496-9](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(01)00496-9)
- Tremblay, M.-È., Lowery, R.L., Majewska, A.K., 2010. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol* 8, e1000527. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000527>
- Ueno, H., Murayama, O., Maeda, S., Sahara, N., Park, J.-M., Murayama, M., Sanda, A., Iwahashi, K., Matsuda, M., Takashima, A., 2007. Novel conformation-sensitive antibodies specific to three- and four-repeat tau. *Biochem Biophys Res Commun* 358, 602–607. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.04.176>
- Ueno, M., Fujita, Y., Tanaka, T., Nakamura, Y., Kikuta, J., Ishii, M., Yamashita, T., 2013. Layer V cortical neurons require microglial support for survival during postnatal development. *Nat Neurosci* 16, 543–551. <https://doi.org/10.1038/nn.3358>

- Ulland, T.K., Song, W.M., Huang, S.C.-C., Ulrich, J.D., Sergushichev, A., Beatty, W.L., Loboda, A.A., Zhou, Y., Cairns, N.J., Kambal, A., Loginicheva, E., Gilfillan, S., Cella, M., Virgin, H.W., Unanue, E.R., Wang, Y., Artyomov, M.N., Holtzman, D.M., Colonna, M., 2017. TREM2 Maintains Microglial Metabolic Fitness in Alzheimer's Disease. *Cell* 170, 649-663.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.023>
- van de Haar, H.J., Burgmans, S., Jansen, J.F.A., van Osch, M.J.P., van Buchem, M.A., Muller, M., Hofman, P.A.M., Verhey, F.R.J., Backes, W.H., 2016. Blood-Brain Barrier Leakage in Patients with Early Alzheimer Disease. *Radiology* 281, 527-535. <https://doi.org/10.1148/radiol.2016152244>
- van Olst, L., Verhaege, D., Franssen, M., Kamermans, A., Roucourt, B., Carmans, S., Ytebrouck, E., van der Pol, S.M.A., Wever, D., Popovic, M., Vandenbroucke, R.E., Sobrino, T., Schouten, M., de Vries, H.E., 2020. Microglial activation arises after aggregation of phosphorylated-tau in a neuron-specific P301S tauopathy mouse model. *Neurobiology of Aging* S0197458020300038. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.01.003>
- Velmeshev, D., Schirmer, L., Jung, D., Haeussler, M., Perez, Y., Mayer, S., Bhaduri, A., Goyal, N., Rowitch, D.H., Kriegstein, A.R., 2019. Single-cell genomics identifies cell type-specific molecular changes in autism. *Science* 364, 685-689. <https://doi.org/10.1126/science.aav8130>
- Vergara, C., Houben, S., Suain, V., Yilmaz, Z., De Decker, R., Vanden Dries, V., Boom, A., Mansour, S., Leroy, K., Ando, K., Brion, J.-P., 2019. Amyloid- β pathology enhances pathological fibrillary tau seeding induced by Alzheimer PHF in vivo. *Acta Neuropathol* 137, 397-412. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1953-5>
- Verkhatsky, A., Nedergaard, M., 2018. Physiology of Astroglia. *Physiol Rev* 98, 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- Verny, M., Duyckaerts, C., Agid, Y., Hauw, J.-J., 1996. The significance of cortical pathology in progressive supranuclear palsy: Clinico-pathological data in 10 cases. *Brain* 119, 1123-1136. <https://doi.org/10.1093/brain/119.4.1123>
- Villa, A., Gelosa, P., Castiglioni, L., Cimino, M., Rizzi, N., Pepe, G., Lolli, F., Marcello, E., Sironi, L., Vegeto, E., Maggi, A., 2018. Sex-Specific Features of Microglia from Adult Mice. *Cell Reports* 23, 3501-3511. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.048>
- Villemagne, V.L., Doré, V., Bourgeat, P., Burnham, S.C., Laws, S., Salvado, O., Masters, C.L., Rowe, C.C., 2017. A β -amyloid and Tau Imaging in Dementia. *Seminars in Nuclear Medicine, Updates in Molecular Brain Imaging* 47, 75-88. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2016.09.006>
- Villemagne, V.L., Pike, K.E., Chételat, G., Ellis, K.A., Mulligan, R.S., Bourgeat, P., Ackermann, U., Jones, G., Szoëke, C., Salvado, O., Martins, R., O'Keefe, G., Mathis, C.A., Klunk, W.E., Ames, D., Masters, C.L., Rowe, C.C., 2011. Longitudinal assessment of A β and cognition in aging and Alzheimer disease. *Ann Neurol* 69, 181-192. <https://doi.org/10.1002/ana.22248>
- Violet, M., Delattre, L., Tardivel, M., Sultan, A., Chauderlier, A., Caillierez, R., Talahari, S., Nesslany, F., Lefebvre, B., Bonnefoy, E., Buée, L., Galas, M.-C., 2014. A major role for Tau in neuronal DNA and RNA protection in vivo under physiological and hyperthermic conditions. *Front Cell Neurosci* 8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00084>
- Vogel, J.W., Iturria-Medina, Y., Strandberg, O.T., Smith, R., Levitis, E., Evans, A.C., Hansson, O., 2020. Spread of pathological tau proteins through communicating neurons in human Alzheimer's disease. *Nat Commun* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15701-2>
- Wake, H., Moorhouse, A.J., Jinno, S., Kohsaka, S., Nabekura, J., 2009. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci* 29, 3974-3980. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009>
- Wang, C., Yue, H., Hu, Z., Shen, Y., Ma, J., Li, J., Wang, X.-D., Wang, Liang, Sun, B., Shi, P., Wang, Lang, Gu, Y., 2020. Microglia mediate forgetting via complement-dependent synaptic elimination. *Science* 367, 688-694. <https://doi.org/10.1126/science.aaz2288>
- Wang, Y., Balaji, V., Kaniyappan, S., Krüger, L., Irsen, S., Tepper, K., Chandupatla, R., Maetzler, W., Schneider, A., Mandelkow, E., Mandelkow, E.-M., 2017. The release and trans-synaptic transmission of Tau via exosomes. *Mol Neurodegeneration* 12, 5. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0143-y>

- Wang, Y., Cella, M., Mallinson, K., Ulrich, J.D., Young, K.L., Robinette, M.L., Gilfillan, S., Krishnan, G.M., Sudhakar, S., Zinselmeyer, B.H., Holtzman, D.M., Cirrito, J.R., Colonna, M., 2015. TREM2 Lipid Sensing Sustains the Microglial Response in an Alzheimer's Disease Model. *Cell* 160, 1061–1071. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.049>
- Wang, Y., Loomis, P.A., Zinkowski, R.P., Binder, L.I., 1993. A novel tau transcript in cultured human neuroblastoma cells expressing nuclear tau. *J Cell Biol* 121, 257–267. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.2.257>
- Wang, Y., Ulland, T.K., Ulrich, J.D., Song, W., Tzaferis, J.A., Hole, J.T., Yuan, P., Mahan, T.E., Shi, Y., Gilfillan, S., Cella, M., Grutzendler, J., DeMattos, R.B., Cirrito, J.R., Holtzman, D.M., Colonna, M., 2016. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *Journal of Experimental Medicine* 213, 667–675. <https://doi.org/10.1084/jem.20151948>
- Wegmann, S., Bennett, R.E., Delorme, L., Robbins, A.B., Hu, M., McKenzie, D., Kirk, M.J., Schiantarelli, J., Tunio, N., Amaral, A.C., Fan, Z., Nicholls, S., Hudry, E., Hyman, B.T., 2019. Experimental evidence for the age dependence of tau protein spread in the brain. *Sci. Adv.* 5, eaaw6404. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw6404>
- Wegmann, S., Maury, E.A., Kirk, M.J., Saqran, L., Roe, A., DeVos, S.L., Nicholls, S., Fan, Z., Takeda, S., Cagsal-Getkin, O., William, C.M., Spires-Jones, T.L., Pitstick, R., Carlson, G.A., Pooler, A.M., Hyman, B.T., 2015. Removing endogenous tau does not prevent tau propagation yet reduces its neurotoxicity. *EMBO J* 34, 3028–3041. <https://doi.org/10.15252/embj.201592748>
- Weingarten, M.D., Lockwood, A.H., Hwo, S.Y., Kirschner, M.W., 1975. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72, 1858–1862.
- Weinhard, L., di Bartolomei, G., Bolasco, G., Machado, P., Schieber, N.L., Neniskyte, U., Exiga, M., Vadasiute, A., Raggioli, A., Schertel, A., Schwab, Y., Gross, C.T., 2018. Microglia remodel synapses by presynaptic trogocytosis and spine head filopodia induction. *Nat Commun* 9, 1228. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03566-5>
- Wesseling, H., Mair, W., Kumar, M., Schlaffner, C.N., Tang, S., Beerepoot, P., Fatou, B., Guise, A.J., Cheng, L., Takeda, S., Muntel, J., Rotunno, M.S., Dujardin, S., Davies, P., Kosik, K.S., Miller, B.L., Berretta, S., Hedreen, J.C., Grinberg, L.T., Seeley, W.W., Hyman, B.T., Steen, H., Steen, J.A., 2020. Tau PTM Profiles Identify Patient Heterogeneity and Stages of Alzheimer's Disease. *Cell* 183, 1699–1713.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.029>
- Whitwell, J.L., Dickson, D.W., Murray, M.E., Weigand, S.D., Tosakulwong, N., Senjem, M.L., Knopman, D.S., Boeve, B.F., Parisi, J.E., Petersen, R.C., Jack, C.R., Josephs, K.A., 2012. Neuroimaging correlates of pathologically defined subtypes of Alzheimer's disease: a case-control study. *The Lancet Neurology* 11, 868–877. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70200-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70200-4)
- Wilcock, G.K., Esiri, M.M., 1982. Plaques, tangles and dementia. A quantitative study. *J Neurol Sci* 56, 343–356. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(82\)90155-1](https://doi.org/10.1016/0022-510x(82)90155-1)
- Wilhelmsson, U., Bushong, E.A., Price, D.L., Smarr, B.L., Phung, V., Terada, M., Ellisman, M.H., Pekny, M., 2006. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 17513–17518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602841103>
- Williams, D.R., Holton, J.L., Strand, C., Pittman, A., de Silva, R., Lees, A.J., Revesz, T., 2007. Pathological tau burden and distribution distinguishes progressive supranuclear palsy-parkinsonism from Richardson's syndrome. *Brain* 130, 1566–1576. <https://doi.org/10.1093/brain/awm104>
- Winston, C.N., Aulston, B., Rockenstein, E.M., Adame, A., Prikhodko, O., Dave, K.N., Mishra, P., Rissman, R.A., Yuan, S.H., 2019. Neuronal Exosome-Derived Human Tau is Toxic to Recipient Mouse Neurons in vivo. *J Alzheimers Dis* 67, 541–553. <https://doi.org/10.3233/JAD-180776>
- Witman, G.B., Cleveland, D.W., Weingarten, M.D., Kirschner, M.W., 1976. Tubulin requires tau for growth onto microtubule initiating sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 73, 4070–4074.
- Wright-Jin, E.C., Gutmann, D.H., 2019. Microglia as Dynamic Cellular Mediators of Brain Function. *Trends Mol Med* 25, 967–979. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.08.013>

- Wu, J.W., Herman, M., Liu, L., Simoes, S., Acker, C.M., Figueroa, H., Steinberg, J.I., Margittai, M., Kaye, R., Zurzolo, C., Di Paolo, G., Duff, K.E., 2013. Small misfolded Tau species are internalized via bulk endocytosis and anterogradely and retrogradely transported in neurons. *J Biol Chem* 288, 1856–1870. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.394528>
- Wu, J.W., Hussaini, S.A., Bastille, I.M., Rodriguez, G.A., Mrejeru, A., Rilett, K., Sanders, D.W., Cook, C., Fu, H., Boonen, R.A.C.M., Herman, M., Nahmani, E., Emrani, S., Figueroa, Y.H., Diamond, M.I., Clelland, C.L., Wray, S., Duff, K.E., 2016. Neuronal activity enhances tau propagation and tau pathology in vivo. *Nat Neurosci* 19, 1085–1092. <https://doi.org/10.1038/nn.4328>
- Wu, K., Byers, D.E., Jin, X., Agapov, E., Alexander-Brett, J., Patel, A.C., Cella, M., Gilfilan, S., Colonna, M., Kober, D.L., Brett, T.J., Holtzman, M.J., 2015. TREM-2 promotes macrophage survival and lung disease after respiratory viral infection. *Journal of Experimental Medicine* 212, 681–697. <https://doi.org/10.1084/jem.20141732>
- Xia, C., Makaretz, S.J., Caso, C., McGinnis, S., Gomperts, S.N., Sepulcre, J., Gomez-Isla, T., Hyman, B.T., Schultz, A., Vasdev, N., Johnson, K.A., Dickerson, B.C., 2017. Association of In Vivo [18F]AV-1451 Tau PET Imaging Results With Cortical Atrophy and Symptoms in Typical and Atypical Alzheimer Disease. *JAMA Neurology* 74, 427–436. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.5755>
- Xiang, X., Piers, T.M., Wefers, B., Zhu, K., Mallach, A., Brunner, B., Kleinberger, G., Song, W., Colonna, M., Herms, J., Wurst, W., Pocock, J.M., Haass, C., 2018. The Trem2 R47H Alzheimer's risk variant impairs splicing and reduces Trem2 mRNA and protein in mice but not in humans. *Mol Neurodegener* 13, 49. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0280-6>
- Yamada, K., Cirrito, J.R., Stewart, F.R., Jiang, H., Finn, M.B., Holmes, B.B., Binder, L.I., Mandelkow, E.-M., Diamond, M.I., Lee, V.M.-Y., Holtzman, D.M., 2011. In Vivo Microdialysis Reveals Age-Dependent Decrease of Brain Interstitial Fluid Tau Levels in P301S Human Tau Transgenic Mice. *J Neurosci* 31, 13110–13117. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2569-11.2011>
- Yamada, K., Holth, J.K., Liao, F., Stewart, F.R., Mahan, T.E., Jiang, H., Cirrito, J.R., Patel, T.K., Hochgräfe, K., Mandelkow, E.-M., Holtzman, D.M., 2014. Neuronal activity regulates extracellular tau in vivo. *J Exp Med* 211, 387–393. <https://doi.org/10.1084/jem.20131685>
- Yamada, K., Patel, T.K., Hochgräfe, K., Mahan, T.E., Jiang, H., Stewart, F.R., Mandelkow, E.-M., Holtzman, D.M., 2015. Analysis of in vivo turnover of tau in a mouse model of tauopathy. *Mol Neurodegener* 10. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0052-5>
- Yeh, F.L., Wang, Y., Tom, I., Gonzalez, L.C., Sheng, M., 2016. TREM2 Binds to Apolipoproteins, Including APOE and CLU/APOJ, and Thereby Facilitates Uptake of Amyloid-Beta by Microglia. *Neuron* 91, 328–340. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.015>
- Yoshiyama, Y., Higuchi, M., Zhang, B., Huang, S.-M., Iwata, N., Saido, T.C., Maeda, J., Suhara, T., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2007. Synapse Loss and Microglial Activation Precede Tangles in a P301S Tauopathy Mouse Model. *Neuron* 53, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.010>
- Yuan, A., Kumar, A., Peterhoff, C., Duff, K., Nixon, R.A., 2008. Axonal transport rates in vivo are unaffected by tau deletion or overexpression in mice. *J Neurosci* 28, 1682–1687. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5242-07.2008>
- Yuan, P., Condello, C., Keene, C.D., Wang, Y., Bird, T.D., Paul, S.M., Luo, W., Colonna, M., Baddeley, D., Grutzendler, J., 2016. TREM2 Haplodeficiency in Mice and Humans Impairs the Microglia Barrier Function Leading to Decreased Amyloid Compaction and Severe Axonal Dystrophy. *Neuron* 90, 724–739. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.003>
- Yuxia Li, Wang, X., Li, Y., Sheng, C., Li, H., Li, X., Yu, Y., Chen, G., Hu, X., Jing, B., Wang, D., Li, K., Jessen, F., Xia, M., Han, Y., 2015. Abnormal Resting-State Functional Connectivity Strength in Mild Cognitive Impairment and Its Conversion to Alzheimer's Disease. *Neural Plast* 2016, 4680972–4680972. <https://doi.org/10.1155/2016/4680972>
- Zempel, H., Dennissen, F.J.A., Kumar, Y., Luedtke, J., Biernat, J., Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., 2017. Axodendritic sorting and pathological missorting of Tau are isoform-specific and

- determined by axon initial segment architecture. *J Biol Chem* 292, 12192–12207. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.784702>
- Zhang, Y., Chen, K., Sloan, S.A., Bennett, M.L., Scholze, A.R., O’Keeffe, S., Phatnani, H.P., Guarnieri, P., Caneda, C., Ruderisch, N., Deng, S., Liddelow, S.A., Zhang, C., Daneman, R., Maniatis, T., Barres, B.A., Wu, J.Q., 2014. An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex. *J. Neurosci.* 34, 11929–11947. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014>
- Zhang, Y., Dong, Z., Song, W., 2020. NLRP3 inflammasome as a novel therapeutic target for Alzheimer’s disease. *Signal Transduct Target Ther* 5, 37. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0145-7>
- Zhang, Y., Sloan, S.A., Clarke, L.E., Caneda, C., Plaza, C.A., Blumenthal, P.D., Vogel, H., Steinberg, G.K., Edwards, M.S.B., Li, G., Duncan, J.A., Cheshier, S.H., Shuer, L.M., Chang, E.F., Grant, G.A., Gephart, M.G.H., Barres, B.A., 2016. Purification and Characterization of Progenitor and Mature Human Astrocytes Reveals Transcriptional and Functional Differences with Mouse. *Neuron* 89, 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.013>
- Zhao, J., Wu, H., Tang, X., 2021. Tau internalization: A complex step in tau propagation. *Ageing Research Reviews* 67, 101272. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101272>
- Zhao, Y., Wu, X., Li, X., Jiang, L.-L., Gui, X., Liu, Y., Sun, Y., Zhu, B., Piña-Crespo, J.C., Zhang, M., Zhang, N., Chen, X., Bu, G., An, Z., Huang, T.Y., Xu, H., 2018. TREM2 Is a Receptor for β -Amyloid that Mediates Microglial Function. *Neuron* 97, 1023-1031.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.031>
- Zheng, H., Jia, L., Liu, C.-C., Rong, Z., Zhong, L., Yang, L., Chen, X.-F., Fryer, J.D., Wang, X., Zhang, Y.-W., Xu, H., Bu, G., 2017. TREM2 promotes microglial survival by activating wnt/ β -catenin pathway. *Journal of Neuroscience* 37, 1772–1784. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2459-16.2017>
- Zöller, T., Attaai, A., Potru, P.S., Ruß, T., Spittau, B., 2018. Aged Mouse Cortical Microglia Display an Activation Profile Suggesting Immunotolerogenic Functions. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19030706>

Annexes

ANNEXE 1 : MODELE MURRIN TRANSGENIQUES DE TAUOPATHIE CITES DANS LE MANUSCRIT..... 194

Lignée	Fond génétique	Promoteur	Isoformes de Tau exprimée	Mutations	Ration Endogène/exogène	Distribution	Spécificité cellulaire	Histologie			Déficits cognitifs	Références
								HyperP°	DNF	Mort neuronale		
6hTau	C57BL6	ND	6 isoformes Humain (KOMAPT)	-	2	H, Cx, ME, C	ND	-	-	-	ND	(He et al., 2020)
Alz17	C57BL/6 x DBA/2	Thy-1	hTau 2N4R	-	1,5-10	ME, H, S, Cx, NOA, NS, TC	N	+	-	ND	ND	(Probst et al., 2000)
hTau	C57BL/6	Tau	6 isoformes Humain (KO MAPT)	-	ND	Cx, H, S, C, ME	N	+	+	+	+	(Andorfer et al., 2003)
hTau40ΔK280	ND	CamKIIα	2N4R	ΔK280	1 - 3	H, Cx, S, BO	N	+	+	-	+	(Eckermann et al., 2007)
MAPT knock-in	C57BL/6J	PrP	remplacement mapt par MAPT	-	ND	ND	ND	-	-	-	-	(Saito et al., 2019)
P301S	CBAxC57BL/6	Thy-1	hTau 0N4R	P301S	ND	Cx, H, TC, ME	N	+	+	+	+	(Allen et al., 2002)
PS19	C57BL/6 x C3H	Mo-PrP	hTau 1N4R	P301S	5	Cx, H, TC, A, ME	N	+	+	+	+	(Yoshiyama et al., 2007)
rTg(P301L)4510	129S6 x FVB	CamKIIα	hTau 2N4R	P301L	13	Cx, H, S, BO	N	+	+	+	+	(Gamache et al., 2019)
rTgTauEC	C57BL/6J	neurospine-tTA	hTau0N4R	P301L	ND	CE, S, GD	N	+	+	+	+ (léger)	(de Calignon et al., 2012)
T44	C57BL/6 x DBA/2	?	hTau 0N3R	-	5 -15	H, Cx, C, TC, ME	N	+	+	+	ND	(Ishihara et al., 1999)
Tau P301L	FVB/N	Thy-1	hTau 2N4R	P301L	1,5 - 6	ME, H, S, Cx, NOA, NS, TC	N	+	+	ND	+	(Terwel et al., 2005)
Tg30	C57BL/6	Thy-1	hTau1N4R	G272V et P301S	ND	Cx, H, ME,	N	+	+	+	ND	(Leroy et al., 2007; Schindowski et al., 2006a)
THY-Tau22	C57BL/6	Thy-1	hTau1N4R	G272V et P301S	ND	CX, S, H, BO, A	N	+	+	+	+	(Schindowski et al., 2006a)
Tm44TKO	C57BL/6J	ND	hTau 0N3R (KOMAPT)	-	ND	H, Cx, Me, C	ND	-	-	-	ND	(He et al., 2020)

Annexe 1 : Modèle Murrin transgéniques de tauopathie cités dans le manuscrit

Cx : cortex ; H : hippocampe ; S : striatum ; C : cervelet ; T : thalamus ; ME : moelle épinière ; NOA : noyaux olfactifs antérieurs ; NS : Noyaux septaux ; cortex entorhinal ; GD : gyrus denté ; N : neurone ; HyperP° : hyperphosphorylation, TC : tronc cérébral ; A : amygdale ; BO : bulbes olfactifs ; CE : Cortex Entorhinal; ND : non déterminé ; DNF : dégénérescences neurofibrillaires
Adapté de (Dujardin et al., 2015)

Titre : Étude du rôle de la microglie dans la propagation de la protéine Tau : mise en place de nouveaux modèles

Mots clés : Tau, Tauopathie, Propagation ; Transfert de gènes, AAV, Microglie

Résumé : La tauopathie, une caractéristique majeure de la maladie d'Alzheimer (MA), est due à l'hyperphosphorylation et l'agrégation intra-neuronale de la protéine Tau. Au cours de la MA, ce phénomène suit une progression spatio-temporelle précise, définie par les stades de Braak, qui corréle avec la sévérité des symptômes. Les données actuelles suggèrent que cette progression est due à la propagation des formes pathologiques de la protéine Tau entre neurones connectés et dans laquelle la microglie et la neuroinflammation pourraient jouer un rôle. Il est donc nécessaire de développer des modèles pertinents permettant d'étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires de cette propagation, ce qui pourrait aboutir à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques capables de la ralentir ou même de la stopper.

Nous avons développé dans ce but des vecteurs AAV induisant une surexpression de la protéine Tau que nous utilisons pour transduire les neurones du gyrus denté de l'hippocampe ou les cellules ganglionnaires.

de la rétine, dont les neurones efférents sont bien caractérisés. Afin de déterminer le rôle joué par la microglie dans la propagation des espèces pathologique de la protéine Tau, ces modèles sont ensuite appliqués à des paradigmes expérimentaux dans lesquels l'homéostasie microgliale est perturbée, comme les souris Trem2 KO. Les premières analyses montrent la présence de la protéine Tau hyperphosphorylée dans les cellules transduites par les vecteurs mais aussi une propagation de la protéine Tau des cellules transduites vers les cellules avoisinantes et synaptiquement connectées dans notre modèle gyrus denté mais pas dans le modèle ciblant les neurones de la rétine, au temps étudié. Les résultats préliminaires obtenus chez les souris Trem2 KO indiquent que l'absence d'activation de la microglie semble protéger les neurones transduits de la toxicité liée à présence de la protéine Tau. Cette absence d'activation microgliale semble également favoriser le passage intra-neuronale de la protéine Tau

Title : Study of the role of microglia in Tau protein propagation : Development of new models

Keywords : Tau, Tauopathie, Propagation ; Gene Transfer, AAV, Microglia

Abstract : During AD, tauopathy follows a precise spatio-temporal progression, in correlation with symptoms severity. This progression may be due to the spread of pathological forms of Tau between connected neurons and in which microglia and neuroinflammation could play a role. Our main objective is therefore to develop relevant in vivo models to study the molecular and cellular determinants of Tau propagation which could lead to the identification of new therapeutic targets capable of slowing or even stopping it. We have developed AAV vectors inducing an overexpression of the human Tau protein, which we use to transduce neurons of dentate gyrus of hippocampus and ganglion cells of the retina (RGCs), whose efferent neurons are well characterized. In order to determine the role played by microglia in propagation of pathological species of the Tau protein, we are currently applying this experimental paradigm in Trem2 KO

or aged mice in which microglial homeostasis is disturbed. The first analyzes show the presence of hyperphosphorylated Tau protein in the cells transduced by our vectors but also a spreading of Tau protein from the transduced cells towards the neighboring and synaptically connected cells, in the dentate gyrus model only but not in the model within we target ganglion cell in the retina. Preliminary results obtained in Trem2 KO mice indicate that absence of microglia activation seems to protect cells from toxicity induced by the presence of the Tau protein. This deficiency in microglial activation seems to favor intra-neuronal spreading of Tau protein.