

SABATO 11 NOVEMBRE 2017



IL **CERVELLO** CHE **CAMBIA** 7

QUEST'ANNO HO LETTO
UN ARTICOLO CHE MI HA
APERTO GLI OCCHI SU...

La genetica



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7
Sabato 11 novembre 2017
Genova, Aula Magna Clinica Neurologica



Series: Current Trends in Aging and Age-Related Diseases

Review

Common Molecular Pathways in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia

Jochen H. Weishaupt,^{1,*} Tony Hyman,^{2,*} and Ivan Dikic^{3,4,*}

- La neuropatologia e la genetica medica hanno portato alla (ri)scoperta che ALS e FTD sono patologie collegate
- Entrambe queste patologie possono essere causate da mutazioni nello stesso gene che possono portare a quadri clinici diversi, anche nella stessa famiglia (ALS, ALS/FTD, FTD) → definizione di «ALS/FTD familiare»
- «ALS/FTD familiare» → associata a mutazioni in un discreto numero di geni



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7
Sabato 11 novembre 2017
Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

REPORTS

Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis

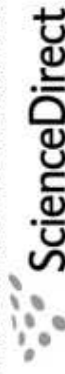
Manuela Neumann,^{1,11,*} Deepak M. Sampathu,^{1,*} Linda K. Kwong,^{1,*} Adam C. Truax,¹ Matthew C. Micsenyi,¹ Thomas T. Chou,² Jennifer Bruce,¹ Theresa Schuck,¹ Murray Grossman,^{3,4} Christopher M. Clark,^{3,4} Leo F. McCluskey,³ Bruce L. Miller,⁶ Eliezer Masliah,⁷ Ian R. Mackenzie,⁸ Howard Feldman,⁹ Wolfgang Feiden,¹⁰ Hans A. Kretzschmar,¹¹ John Q. Trojanowski,^{1,4,5} Virginia M.-Y. Lee^{1,4,5,†}

Ubiquitin-positive, tau- and α -synuclein-negative inclusions are hallmarks of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions and amyotrophic lateral sclerosis. Although the identity of the ubiquitinated protein specific to either disorder was unknown, we showed that TDP-43 is the major disease protein in both disorders. Pathologic TDP-43 was hyperphosphorylated, ubiquitinated, and cleaved to generate C-terminal fragments and was recovered only from affected central nervous system regions, including hippocampus, neocortex, and spinal cord. TDP-43 represents the common pathologic substrate linking these neurodegenerative disorders.



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com



BBRC

Biochemical and Biophysical Research Communications 351 (2006) 602–611

www.elsevier.com/locate/ybbrc

TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis

Tetsuaki Arai^{a,1,*}, Masato Hasegawa^{b,1,*}, Haruhiko Akiyama^a, Kenji Ikeda^c, Takashi Nonaka^b, Hiroshi Mori^d, David Mann^e, Kuniaki Tsuchiya^f, Mari Yoshida^g, Yoshio Hashizume^g, Tatsuro Oda^h



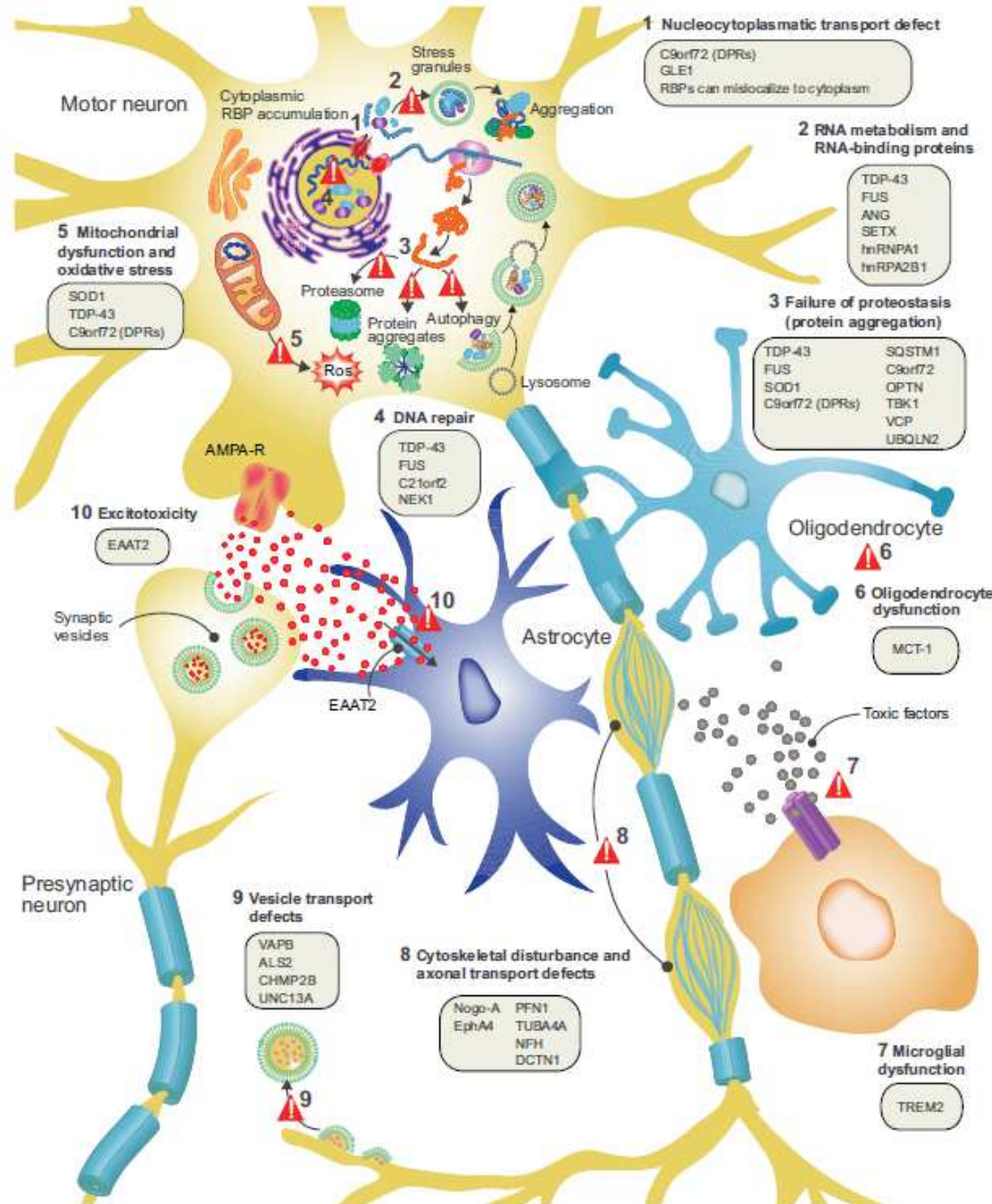


IL CERJ
Sabato
Genova

REVIEW

Disease Models & Mechanisms (2017) 10, 537-549 doi:10.1242/dmm.029051

CellPress



Diseases

ways

poral

Dikic^{3,4,*}

a di
ismi cellulari

Le protei
ALS/FTD
principali

1. Cont
2. Dinal
3. Ome
4. Rispc



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Denominatori comuni e link funzionali nella patogenesi di ALS/FTD



Published in final edited form as:
Neuron. 2011 October 20; 72(2): 257–268. doi:10.1016/j.neuron.2011.09.010.

A hexanucleotide repeat expansion in *C9ORF72* is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD

Alan E. Renton¹, Elisa Majounie², Adrian Waite³, Ji J. Raphael Gibbs^{7,8}, Jennifer C. Schymick¹, Hannu Liisa Myllykangas¹⁰, Hannu Kalimo¹⁰, Anders Paet Remes¹¹, Alice Kaganovich¹², Sonja W. Scholz^{2,13}, Daniel W. Harmer¹⁵, Dena G. Hernandez^{2,8}, Janel C Danyah Trabzun⁸, Rita J. Guerreiro⁸, Richard W. C Justin Pearson³, Iris E. Jansen⁴, David Sondervan Young⁶, Nicola Halliwell⁶, Janis Callister⁶, Greg To Gerhard¹⁹, Julie Snowden¹⁹, David Mann¹⁹, David Peuralinna⁹, Lijia Jansson⁹, Veli-Matti Isoviita⁹, An Vuori²⁰, Elina Ikonen²⁰, Raimo Suikava²¹, Michael Chio²⁴, Gabriella Restagno²⁵, Giuseppe Borghero^{2 Consortium}²⁸, David Heckerman²⁹, Ekaterina Rogo Rothstein¹⁴, Michael Sendtner³², Carsten Drepper^{3 Abdullaev}³⁴, Svetlana D. Pack³⁴, Amalia Dutra³⁵, E Singleton², Nigel M. Williams³, Peter Heutink⁴, Stu Morris^{3,36,37}, Pentti J. Tienari⁹, and Bryan J. Trayn

Published in final edited form as:

Neuron. 2011 October 20; 72(2): 245–256. doi:10.1016/j.neuron.2011.09.011.

Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in non-coding region of *C9ORF72* causes chromosome 9p-linked frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis

Mariely DeJesus-Hernandez^{1,10}, Ian R. Mackenzie^{2,10,*}, Bradley F. Boeve³, Adam L. Boxer⁴, Matt Baker¹, Nicola J. Rutherford¹, Alexandra M. Nicholson¹, NiCole A. Finch¹, Heather Flynn Gilmer⁵, Jennifer Adamson¹, Naomi Kouri¹, Aleksandra Wojtas¹, Pheth Sengdy⁶, Ging-Yuek R. Hsiung⁶, Anna Karydas⁴, William W. Seeley⁴, Keith A. Josephs³, Giovanni Coppola⁷, Daniel H. Geschwind⁷, Zbigniew K. Wszolek⁸, Howard Feldman^{6,9}, David Knopman³, Ronald Petersen³, Bruce L. Miller⁴, Dennis Dickson¹, Kevin Boylan⁸, Neill Graff-Radford⁸, and Rosa Rademakers¹.

Non-coding repeat expansion in *C9ORF72* causes FTD and ALS linked to chromosome 9p.

C9ORF72 repeat expansion forms nuclear RNA foci in brain and spinal cord.

Repeat expansion results in loss of one alternatively spliced *C9ORF72* transcript.

Repeat expansion in *C9ORF72* is a major cause of both FTD and ALS.

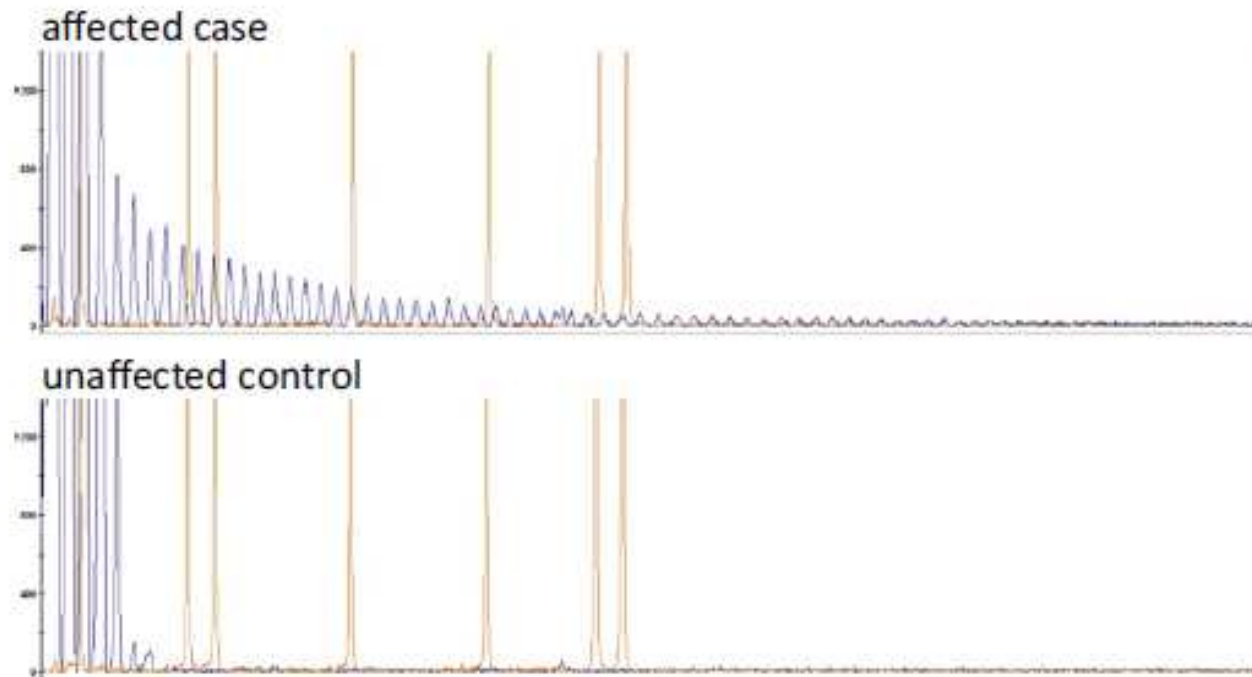
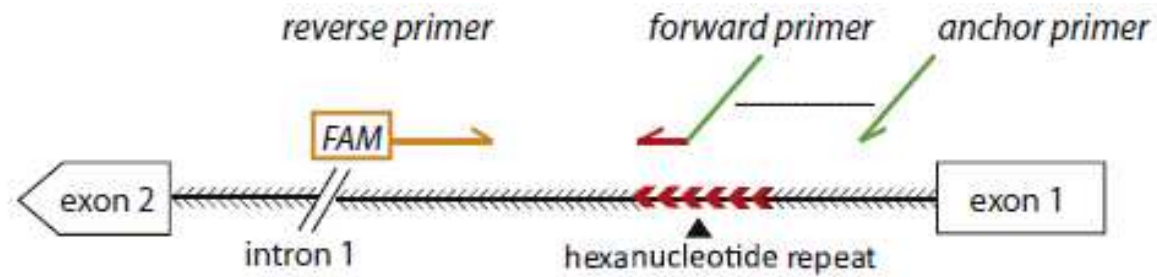




IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica



Renton et al., 2011



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

L'espansione (GGGGCC)_n nel gene *C9orf72* è la principale causa genetica in entrambe le patologie

SLA	8% SALS	40% FALS
FTD	6% casi sporadici	25% casi familiari
SLA/FTD	14% casi sporadici	57% casi familiari



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

C9orf72

Ruolo in alterata omeostasi dell'RNA, autofagia ed aggregazione proteica

Neurodegenerazione mediata da *C9orf72* legata a meccanismi di perdita e di guadagno di funzione mediati da:

- 1) aploinsufficienza
- 2) trascrizione di HRE-RNA senso ed antisenso
- 3) traduzione non convenzionale (non ATG) di RNA in proteine dipeptidiche (con espressione differente ai transcription start sites - TSS)



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Outstanding questions

- Which factors determine the neuropathological phenotype of ALS and FTD?
- Is the neuropathology directly linked to mechanisms dictating whether a patient presents ALS or FTD?
- What triggers the clinical onset after decades of health?
- Is there an age-dependent accumulation of damage or gradual decrease in compensating mechanisms?
- What is the common denominator(s) connecting the recently identified functional ALS/FTD gene pathways?
- What are the specific biological downstream defects and biochemical processes mediating neurodegeneration in neurons, and stemming from recently identified ALS/FTD disease genes?
- Which factors determine cell-type specificity and the development of an ALS versus an FTD phenotype?
- What are the protective factors preventing disease outbreak in carriers of dominant mutations?
- Can the recent identification of novel ALS/FTD genes lead to new animal models and improved predictive values for preclinical testing of therapeutic compounds?



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Outstanding questions

- Which factors determine the neuropathological phenotype of ALS and FTD?
 - Is the neuropathology directly linked to mechanisms dictating whether a patient presents ALS or FTD?
 - What triggers the clinical onset after decades of health?
 - Is there an age-dependent accumulation of damage or gradual decrease in compensating mechanisms?
 - What is the common denominator(s) connecting the recently identified functional ALS/FTD gene pathways?
 - What are the specific biological downstream defects and biochemical processes mediating neurodegeneration in neurons, and stemming from recently identified ALS/FTD disease genes?
- Which factors determine cell-type specificity and the development of an ALS versus an FTD phenotype?
 - What are the protective factors preventing disease outbreak in carriers of dominant mutations?
- Can the recent identification of novel ALS/FTD genes lead to new animal models and improved predictive values for preclinical testing of therapeutic compounds?



RESEARCH

Open Access



C9orf72 is differentially expressed in the central nervous system and myeloid cells and consistently reduced in *C9orf72*, *MAPT* and *GRN* mutation carriers

Patrizia Rizzu^{1†}, Cornelis Blauwendraat^{1†}, Sasja Heetveld^{1†}, Emily M. Lynes¹, Melissa Castillo-Lizardo¹, Ashutosh Dhingra¹, Elwira Pyz¹, Markus Hobert^{1,2}, Matthis Synofzik^{1,2}, Javier Simón-Sánchez^{1,2}, Margherita Francescatto¹ and Peter Heutink^{1,2}

Abstract

A non-coding hexanucleotide repeat expansion (HRE) in *C9orf72* is a common cause of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD) acting through a loss of function mechanism due to haploinsufficiency of *C9orf72* or a gain of function mediated by aggregates of bidirectionally transcribed HRE-RNAs translated into dipeptide repeat (DPR) proteins. To fully understand regulation of *C9orf72* expression we surveyed the *C9orf72* locus using Cap Analysis of Gene Expression sequence data (CAGEseq). We observed *C9orf72* was generally lowly expressed with the exception of a subset of myeloid cells, particularly CD14⁺ monocytes that showed up to seven fold higher expression as compared to central nervous system (CNS) and other tissues. The expression profile at the *C9orf72* locus showed a complex architecture with differential expression of the transcription start sites (TSSs) for the annotated *C9orf72* transcripts between myeloid and CNS tissues suggesting cell and/or tissue specific functions. We further detected novel TSSs in both the sense and antisense strand at the *C9orf72* locus and confirmed their existence in brain tissues and CD14⁺ monocytes. Interestingly, our experiments showed a consistent decrease of *C9orf72* coding transcripts not only in brain tissue and monocytes from *C9orf72*-HRE patients, but also in brains from *MAPT* and *GRN* mutation carriers together with an increase in antisense transcripts suggesting these could play a role in regulation of *C9orf72*. We found that the non-HRE related expression changes cannot be explained by promoter methylation but by the presence of the *C9orf72*-HRE risk haplotype and unknown functional interactions between *C9orf72*, *MAPT* and *GRN*.

Keywords: Neurodegeneration, *C9orf72* risk haplotype, Hexanucleotide repeat expansion, Frontotemporal dementia



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Obiettivo del lavoro → caratterizzazione del panorama trascrizionale di *C9orf72* in:

- FTD e *C9orf72*-HRE
- FTD e mutazione MAPT
- FTD e mutazione GRN
- controlli sani

Metodologia → analisi dei trascritti in cellule mieloidi e in SNC

- Numero e dimensione dei trascritti
- Strand trascritto (senso/antisenso)
- Siti di inizio della traduzione nei diversi trascritti



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

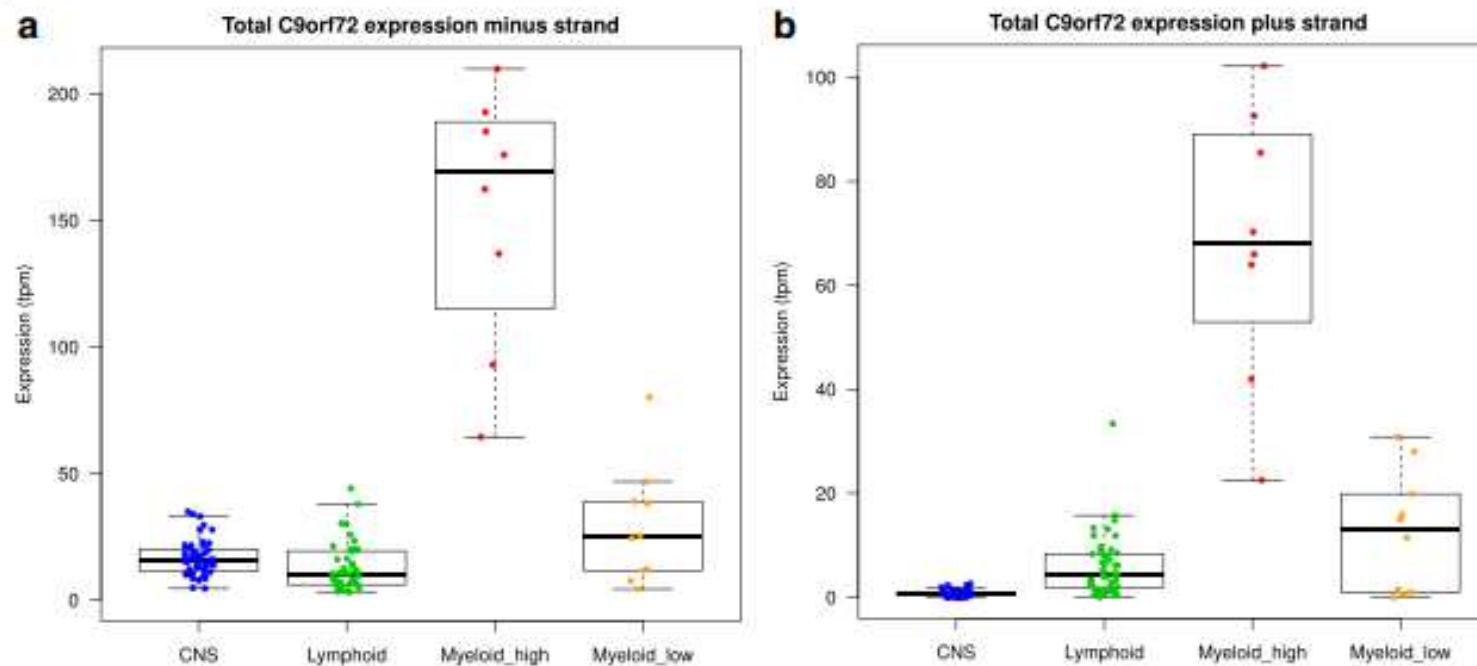
Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Obiettivo del lavoro → caratterizzazione del panorama trascrizionale di *C9orf72* in:

- FTD e *C9orf72*-HRE
- FTD e mutazione MAPT
- FTD e mutazione GRN
- controlli sani

Il locus *C9orf72* dimostra una complessa architettura trascrizionale nel CNS e nelle cellule di origine mieloide





IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

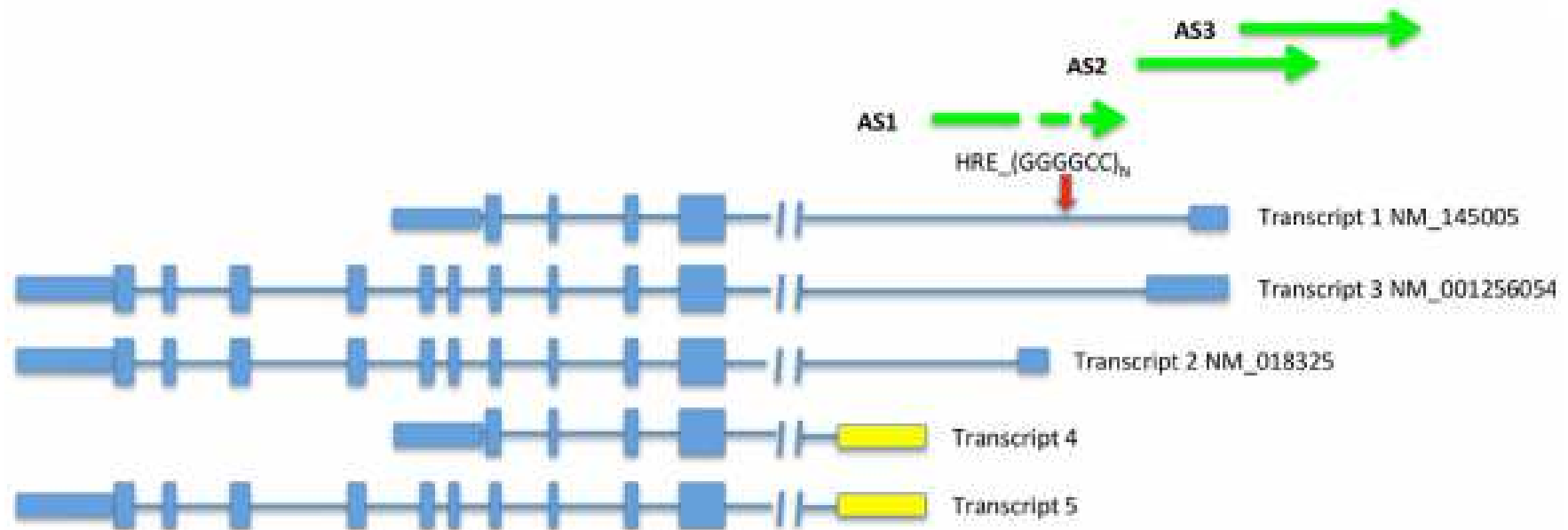
Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Obiettivo del lavoro → caratterizzazione del panorama trascrizionale di *C9orf72* in:

- FTD e *C9orf72*-HRE
- FTD e mutazione MAPT
- FTD e mutazione GRN
- controlli sani

Il locus *C9orf72* dimostra una complessa architettura trascrizionale nel CNS e nelle cellule di origine mieloide





IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Obiettivo del lavoro → caratterizzazione del panorama trascrizionale di *C9orf72* in:

- FTD e *C9orf72*-HRE
- FTD e mutazione MAPT
- FTD e mutazione GRN
- controlli sani

Analisi dei trascritti in SNC e in cellule mieloidi

- Numero e dimensione dei trascritti: 5 + 3
- Strand trascritto (senso/antisenso): 5 senso + 3 antisenso
- Siti di inizio della traduzione nei diversi trascritti:
 - I trascritti senso 1 e 3 hanno due TSS, il trascritto 2 ha 3 TSS più un quarto a valle degli esoni 1° e 1B
 - I trascritti antisenso hanno tre TSS
 - **I TSS hanno una tessuto-specificità (SNC vs tessuto mieloide)**

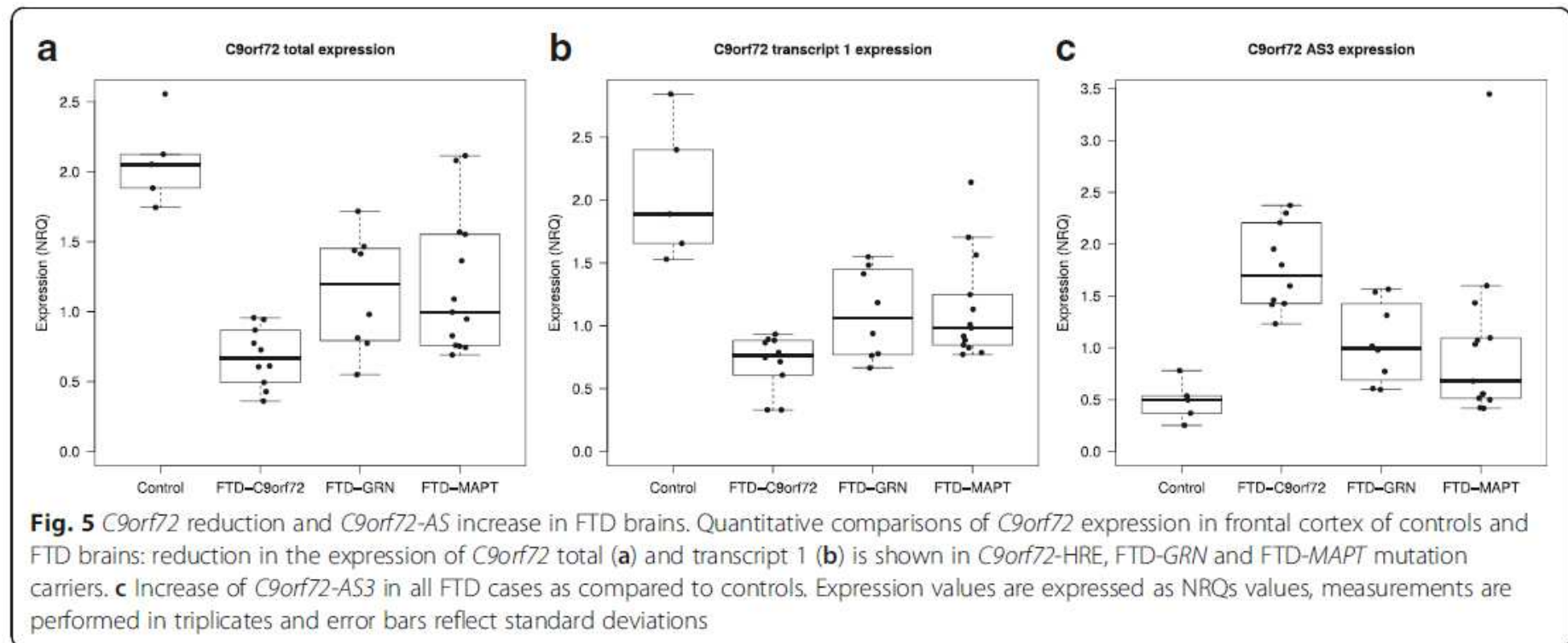


IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

- I livelli d'espressione del trascritto 1 di *C9orf72* sono ridotti nel SNC di FTD
- I livelli d'espressione del trascritto AS3 di *C9orf72* sono aumentati nel SNC di FTD





IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

- FTD e *C9orf72*-HRE
- FTD e mutazione MAPT
- FTD e mutazione GRN
- controlli sani

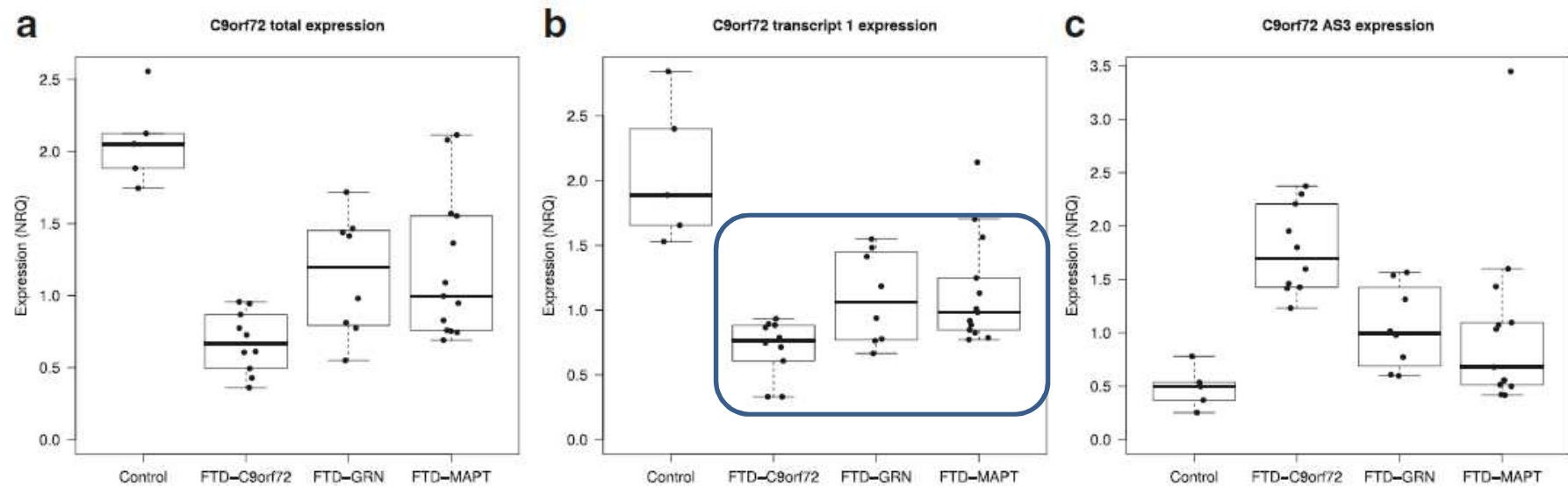


Fig. 5 *C9orf72* reduction and *C9orf72-AS* increase in FTD brains. Quantitative comparisons of *C9orf72* expression in frontal cortex of controls and FTD brains: reduction in the expression of *C9orf72* total (a) and transcript 1 (b) is shown in *C9orf72*-HRE, FTD-GRN and FTD-MAPT mutation carriers. c Increase of *C9orf72-AS3* in all FTD cases as compared to controls. Expression values are expressed as NRQs values, measurements are performed in triplicates and error bars reflect standard deviations



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

I livelli di espressione di *C9orf72*, in CNS, non si modificano durante lo sviluppo embrionale e l'invecchiamento

Processi aspecifici di neurodegenerazione non spiegano la riduzione di espressione di *C9orf72* in FTD

- L'analisi dell'RNA cerebrale di pazienti con differenti malattie neurodegenerative (FTD sporadiche, AD, ALS, PSP, PD, HD and MS) non dimostra riduzione nell'espressione di *C9orf72* rispetto ai controlli normali



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Dimostrazione di interazione tra i pathways molecolari di *C9orf72*, *MAPT* and *GRN*

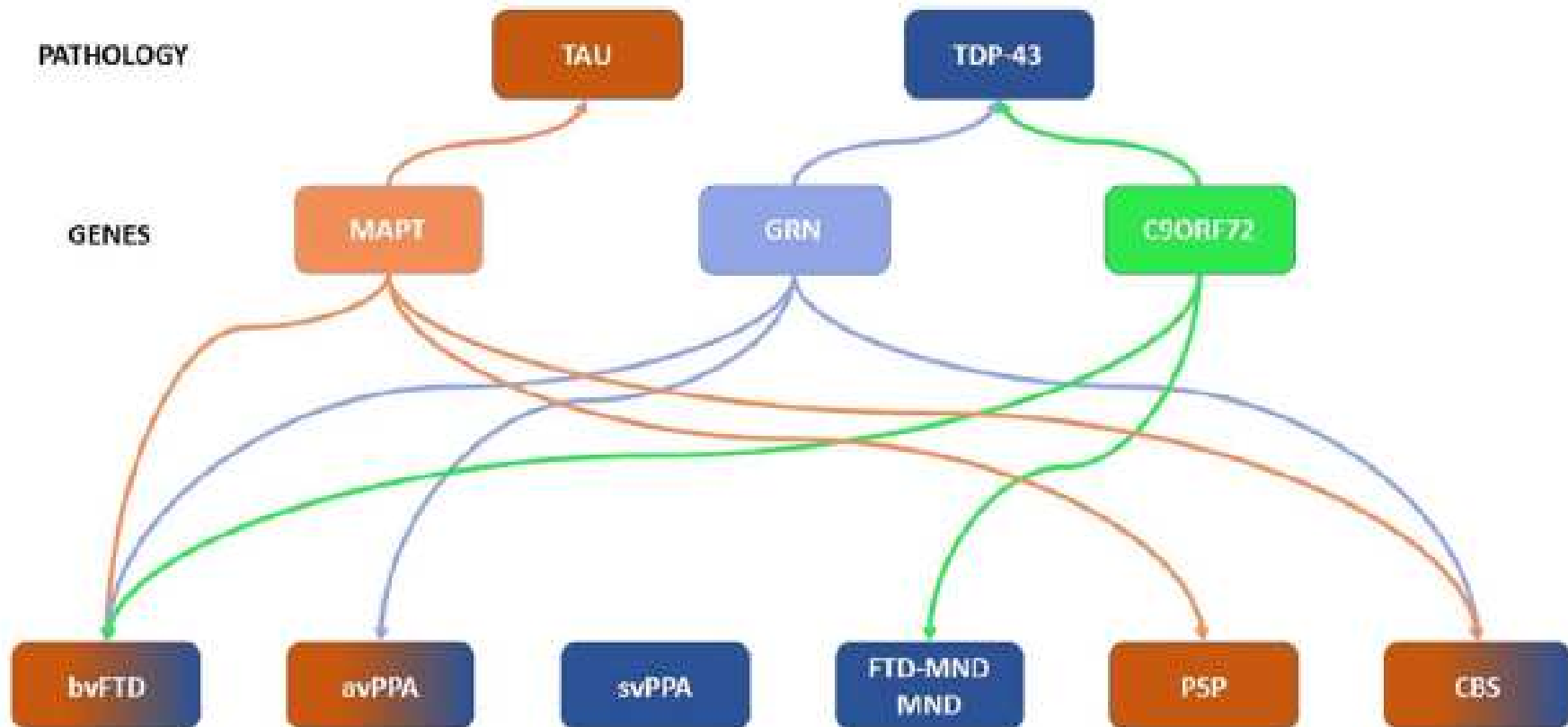
- nel knock down di *MAPT* riduzione dell'espressione di *C9orf72*
- nel knock down di *GRN* aumento di espressione di *C9orf72*
- nel knock down di *C9orf72* diminuzione di espressione di *MAPT* e aumento di espressione di *GRN*



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica



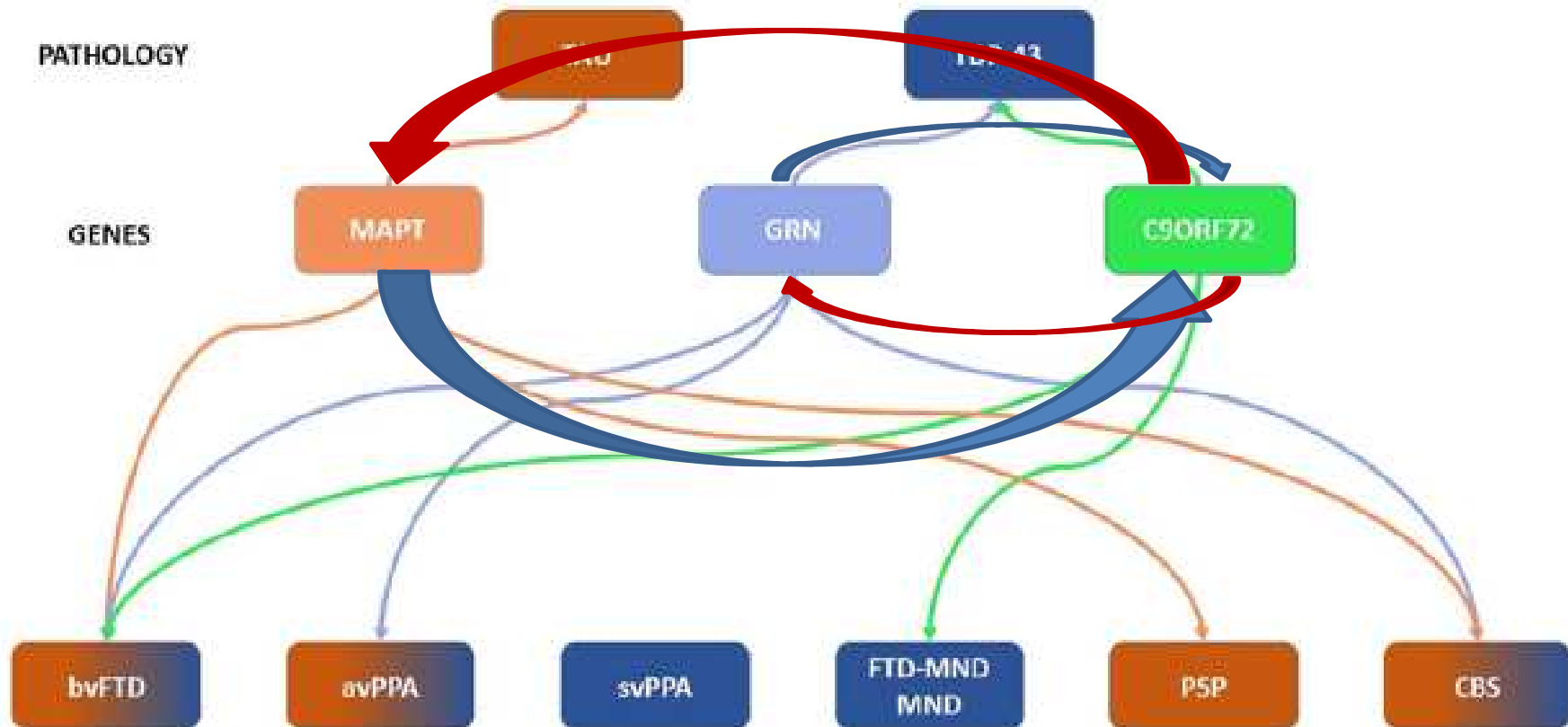
Gazzina et al, 2017



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica



Gazzina et al, 2017



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Rizzu et al. *Acta Neuropathologica Communications* (2016) 4:37
DOI 10.1186/s40478-016-0306-7

Acta Neuropathologica
Communications

RESEARCH

Open Access



C9orf72 is differentially expressed in the central nervous system and myeloid cells and consistently reduced in *C9orf72*, *MAPT* and *GRN* mutation carriers

Conclusioni

- Lo studio identifica nuovi siti di inizio di trascrizione di *C9orf72* dimostrando la presenza di nuovi trascritti senso e antisenso espressi in maniera differenziale nella linea mieloide e nel SNC → funzione tessuto/cellula specifica
- Lo studio dimostra **una consistente diminuzione dell'espressione di *C9orf72* in pazienti FTD (con HRE-*C9orf72*, con mutazione *MAPT* e con mutazione *GRN*) → quindi la diminuzione di *C9orf72* è un fenomeno comune nella patogenesi dell'FTD**
- L'espressione di *C9orf72* è **regolata da numerosi meccanismi indipendenti, ma confluenti in uno stesso pathway cellulare** → la modulazione di questa espressione è un fenomeno diffuso e rilevante nella patogenesi dell'FTD.

Questo dati devono essere tenuti in considerazione quando si progettino trials terapeutici atti a diminuire l'espressione globale di *C9orf72* per migliorare l'omeostasi dell'RNA e la formazione di aggregati → terapie con RNA antisenso



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejphar



Full length article

Clinical and biological phenotypes of frontotemporal dementia: Perspectives for disease modifying therapies

S. Gazzina, M.A. Manes, A. Padovani, B. Borroni*

Centre for Ageing Brain and Neurodegenerative Disorders, Neurology Unit, University of Brescia, Spedali Civili, Italy

I dati di espressione devono essere tenuti in considerazione quando si progettino trials terapeutici atti a diminuire l'espressione globale di *C9orf72* per migliorare l'omeostasi dell'RNA e la formazione di aggregati → terapie con RNA antisenso (fase I AS SOD1)

Mol Neurobiol (2016) 53:6091–6105

DOI 10.1007/s12035-015-9507-5

Frontotemporal Lobar Degeneration: Mechanisms and Therapeutic Strategies

Ya-Qing Li¹ • Meng-Shan Tan¹ • Jin-Tai Yu^{1,2} • Lan Tan¹



IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

Sabato 11 novembre 2017

Genova, Aula Magna Clinica Neurologica

Grazie!