

SABATO 11 NOVEMBRE 2017

GENOVA AULA MAGNA DELLA CLINICA NEUROLOGICA  
LARGO PAOLO DANEO, 3



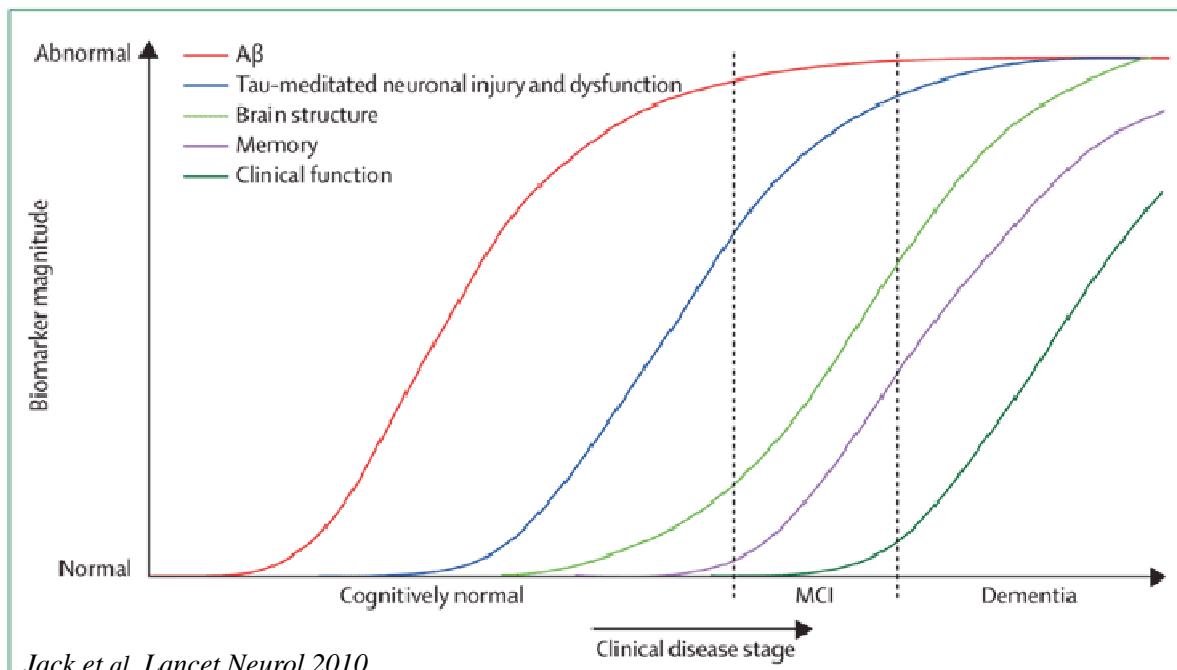
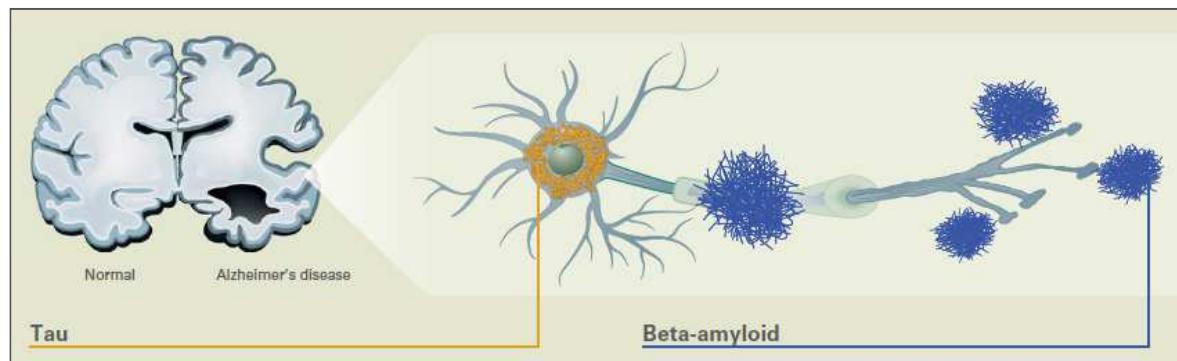
## IL CERVELLO CHE CAMBIA 7

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

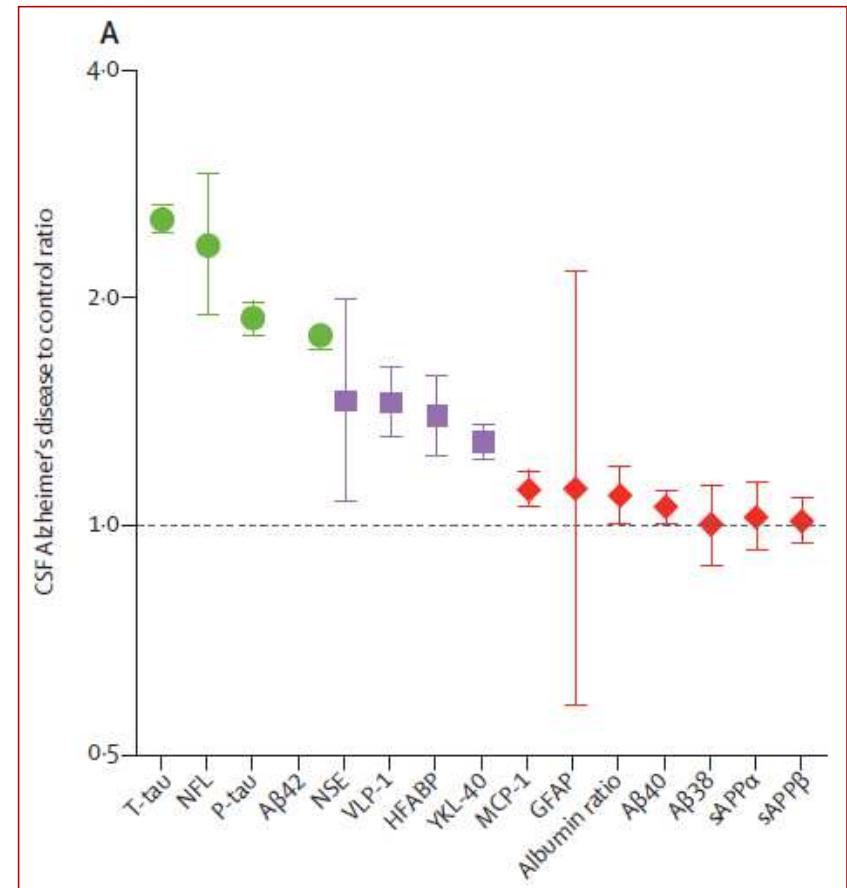
# L'esame del liquor

Dr. Federico Massa





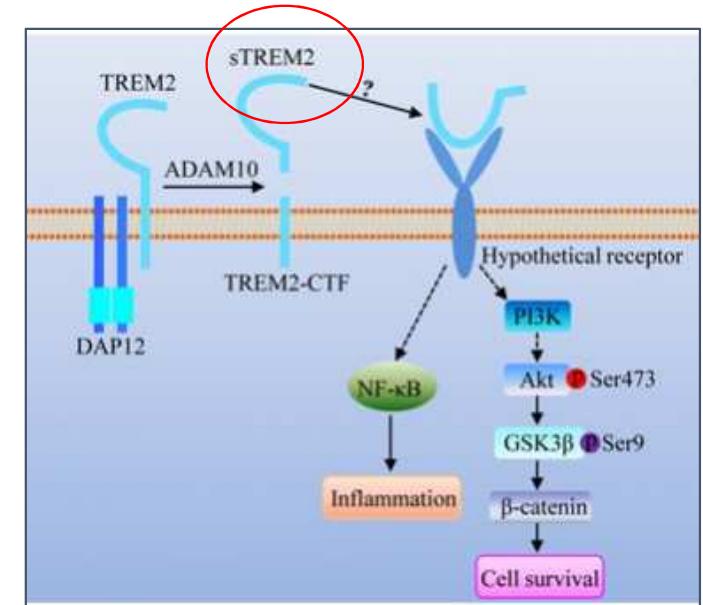
Jack et al. Lancet Neurol 2010



Olsson et al. Lancet Neurol 2016

# sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers

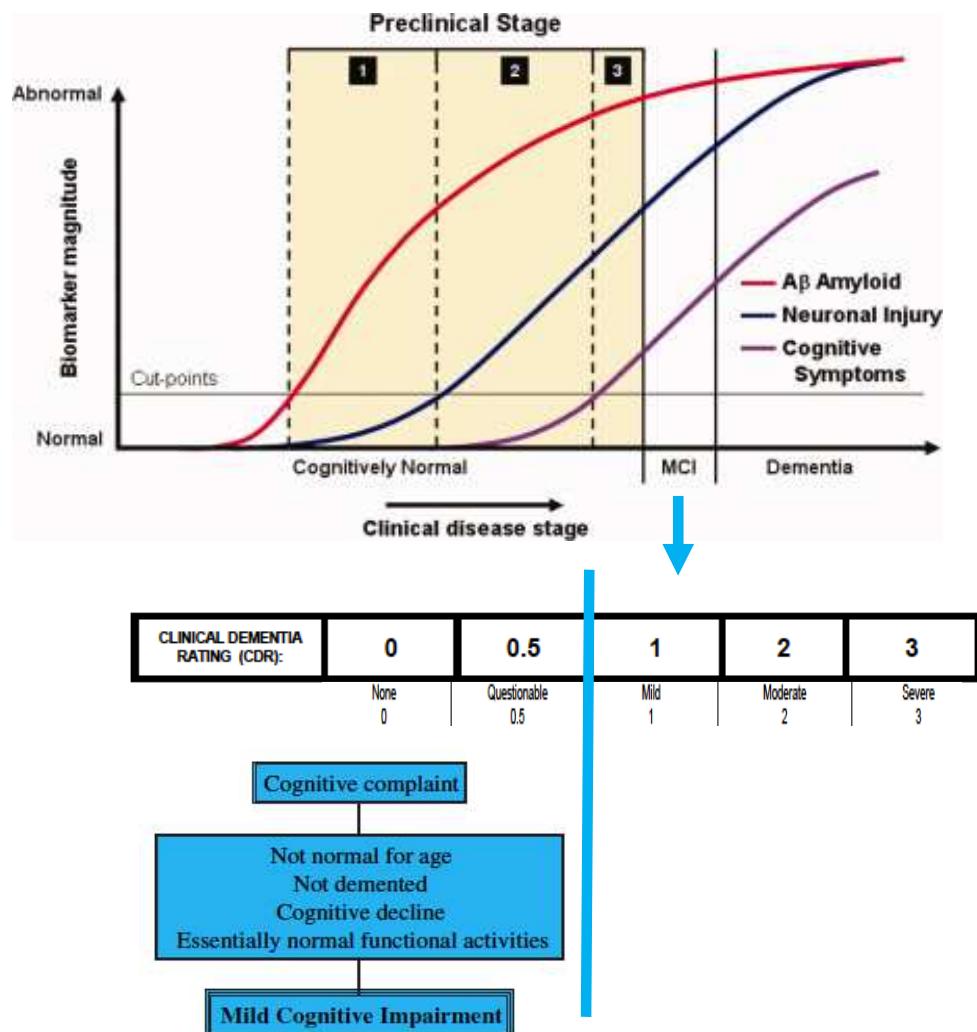
Marc Suárez-Calvet<sup>1,2</sup>, Gernot Kleinberger<sup>1,3</sup>, Miguel Ángel Araque Caballero<sup>4</sup>, Matthias Brendel<sup>5</sup>, Axel Rominger<sup>3,5</sup>, Daniel Alcolea<sup>6,7</sup>, Juan Fortea<sup>6,7</sup>, Alberto Lleó<sup>6,7</sup>, Rafael Blesa<sup>6,7</sup>, Juan Domingo Gispert<sup>8,9</sup>, Raquel Sánchez-Valle<sup>10,11</sup>, Anna Antonell<sup>10,11</sup>, Lorena Rami<sup>10,11</sup>, José L Molinuevo<sup>8,9,10,11</sup>, Frederic Brosseron<sup>12</sup>, Andreas Traschütz<sup>13</sup>, Michael T Heneka<sup>12,13</sup>, Hanne Struyfs<sup>14,15</sup>, Sebastiaan Engelborghs<sup>14,15</sup>, Kristel Sleegers<sup>16,17</sup>, Christine Van Broeckhoven<sup>16,17</sup>, Henrik Zetterberg<sup>18,19</sup>, Bengt Nellgård<sup>20</sup>, Kaj Blennow<sup>18</sup>, Alexander Crispin<sup>21</sup>, Michael Ewers<sup>4,\*†</sup> & Christian Haass<sup>1,2,3,\*\*†</sup>



## **Scopo dello studio**

- I. Variazione dei livelli di sTREM2 nel continuum AD
- II. Associazione tra sTREM2 e markers liquorali di AD
- III. sTREM2 in patologie non AD (SNAP e MCI-noAD)

## Criteri NIA-AA (Jack et al Ann Neur 2012)



Variable	n	Females, %	APOE ε4 carriers, %	Age, years	CSF biomarkers		
<b>Diagnostic group</b>					A $\beta$ <sub>1-42</sub>	T-tau	P-tau <sub>1S1P</sub>
Controls	150	59%	21%	62.4 (11)	796 (159)	218 (81)	43 (12)
<b>AD continuum subjects</b>							
Preclinical AD	63	60%	58%	70.8 (11)	414 (98)	450 (428)	66 (39)
MCI-AD	111	60%	52%	74.3 (9)	426 (107)	737 (410)	95 (32)
AD dementia	200	62%	62%	73.8 (10)	408 (113)	920 (564)	102 (44)
<b>Other groups</b>							
SNAP	39	49%	26%	68.2 (10)	990 (289)	466 (228)	78 (34)
MCI-noAD	103	45%	32%	69.3 (9)	667 (261)	305 (199)	48 (18)

Winblad et al – J Int Med 2004

**Table 1. Demographic and clinical characteristics of the control and AD continuum groups.**

Variable	AD continuum (n = 374)				<i>P</i> -value (group effect)
	Control (n = 150)	Preclinical AD (n = 63)	MCI-AD (n = 111)	AD dementia (n = 200)	
Females, %	59	60	60	62	0.940
APOE ε4 carriers, %	21	58*	52*	62*	<0.0001
Age, years	62.4 (11)	70.8 (11)*	74.3 (9)*	73.8 (10)*	<0.0001
CSF biomarkers					
Aβ <sub>1-42</sub> , pg/ml	796 (159)	414 (98)*	426 (107)*	408 (113)*	<0.0001
T-tau, pg/ml	218 (81)	450 (428)†	737 (410)*‡	920 (564)*§¶	<0.0001
P-tau <sub>181P</sub> , pg/ml	43 (12)	66 (39)*	95 (32)*§	102 (44)*§	<0.0001

\**P* < 0.0001 versus controls.

†*P* = 0.002 versus controls.

‡*P* = 0.0001 versus preclinical AD.

§*P* < 0.0001 versus preclinical AD.

¶*P* = 0.002 versus MCI-AD.



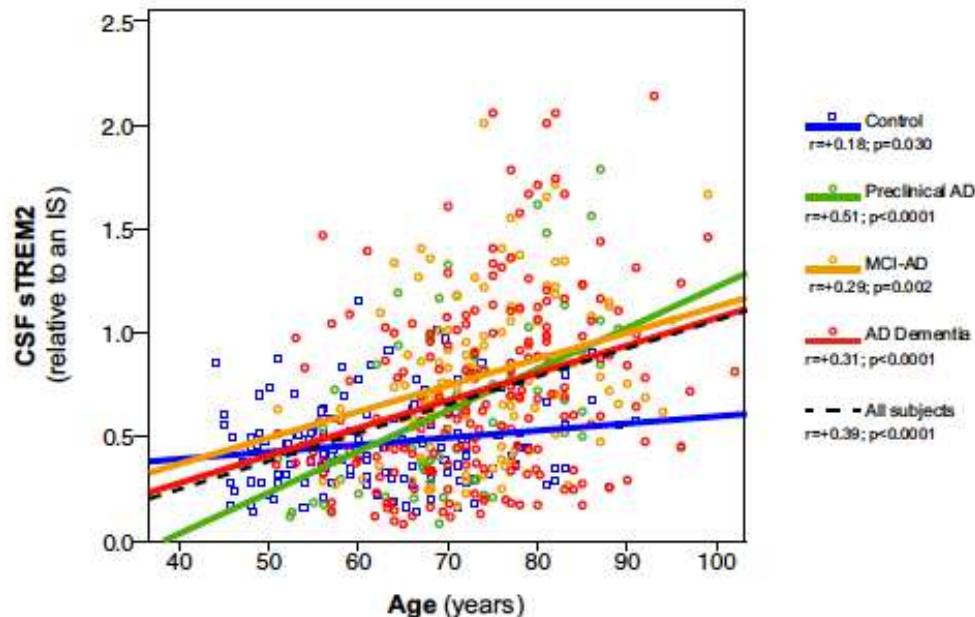
Center	T-tau	P-tau <sub>181P</sub>	Aβ <sub>1-42</sub>
I. Gothenburg, Sweden	400	60/80*	550
II. Bonn, Germany	450	60	¶
III. Antwerp, Belgium	296.5	56.5	638.5
IV. Clinic Barcelona, Spain	†	75	495/550§
V. Sant Pau Barcelona, Spain	350	61	550

All values are in pg/mL.  
\* P-tau<sub>181P</sub> cut-offs depending on age: † T-tau cut-offs depending on age:  
– <60yo: 60 – <50yo: 300  
– ≥60yo: 80 – 51-70yo: 450  
¶ Aβ<sub>1-42</sub>/Aβ<sub>1-40</sub>=0.09 (measured by MSD) – >70yo: 500

*CSF cut-off*

**a)**

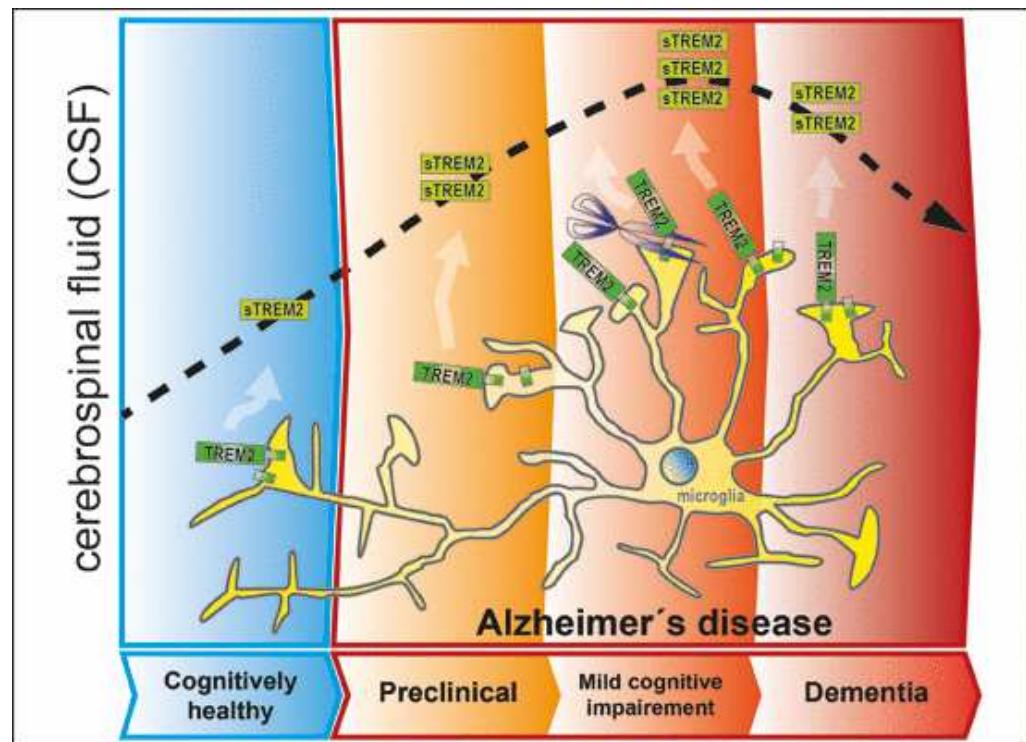
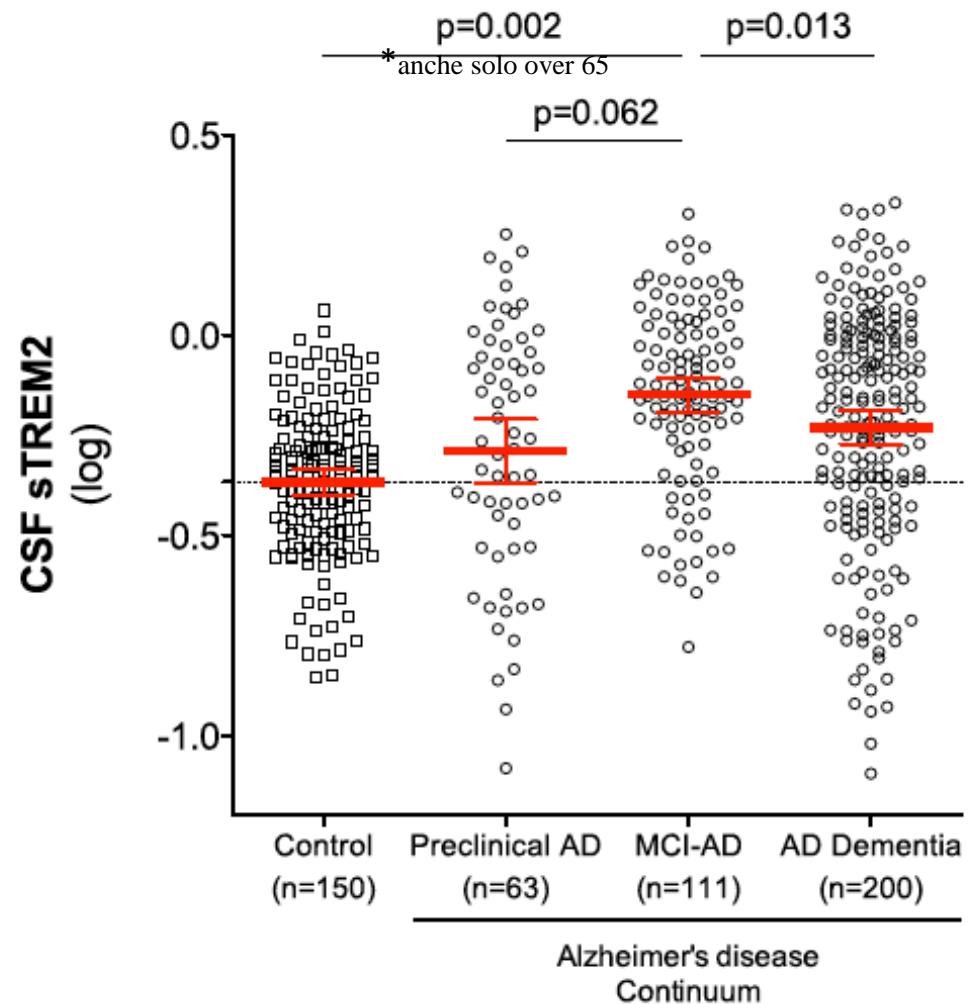
Variable	AD continuum ( <i>n</i> = 374)				<i>P</i> -value (group effect)
	Control ( <i>n</i> = 150)	Preclinical AD ( <i>n</i> = 63)	MCI-AD ( <i>n</i> = 111)	AD dementia ( <i>n</i> = 200)	
Females, %	59	60	60	62	0.940
<i>APOE ε4</i> carriers, %	21	58*	52*	62*	<0.0001
Age, years	62.4 (11)	70.8 (11)*	74.3 (9)*	73.8 (10)*	<0.0001



**Figure 1. CSF sTREM2 is associated with age.**

Scatter plot representing CSF sTREM2 as a function of age in the different diagnostic groups. Solid lines indicate the linear regression for each of the groups; the dashed line indicates the linear regression within the entire sample. *P*-values were assessed by Pearson product-moment correlations..

b)



## Conclusione

- I) **I livelli di sTREM2 variano durante l'evoluzione dell'AD continuum e sono maggiori nel gruppo MCI-AD**

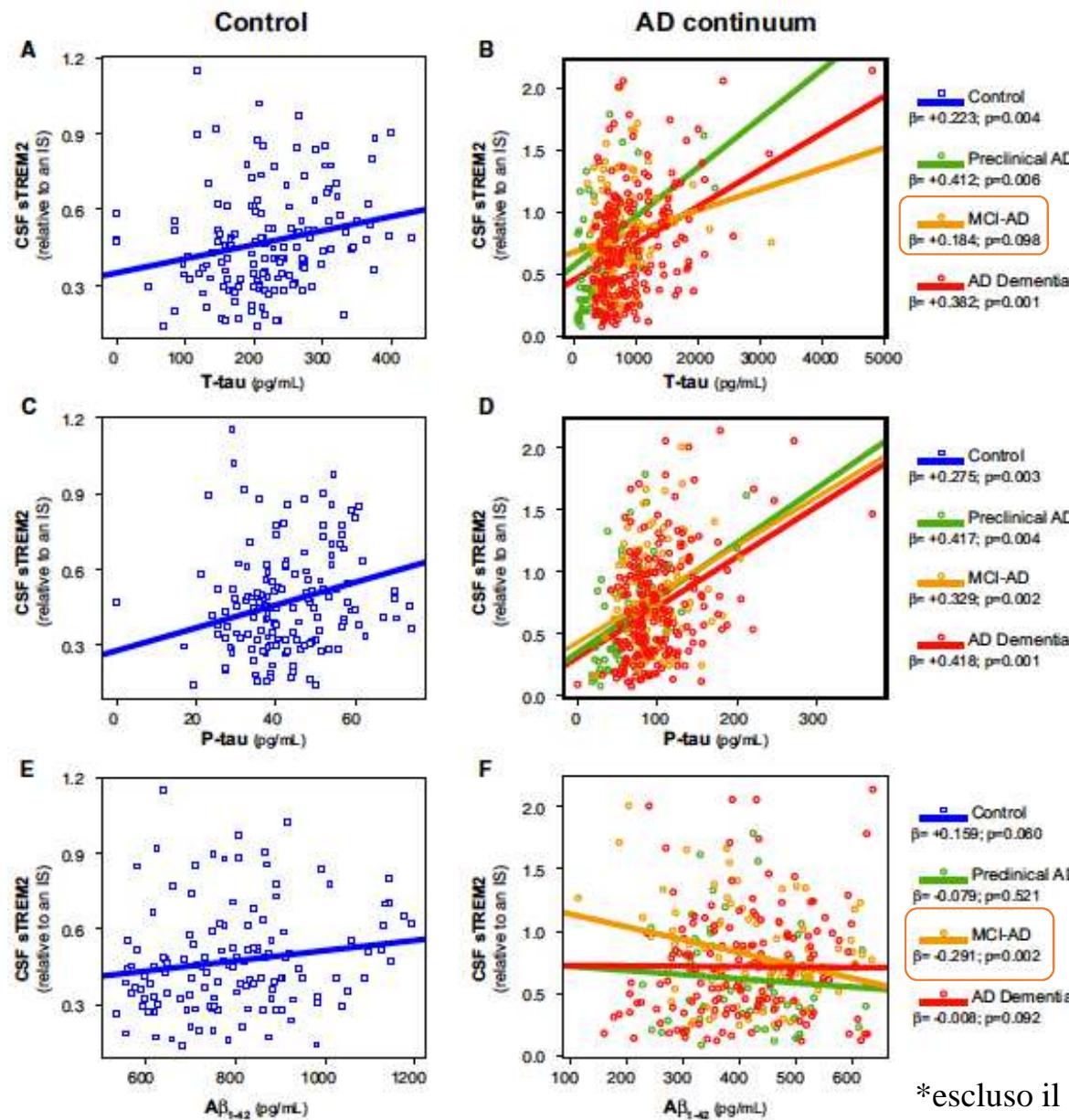
Livelli più alti di sTREM2 si riscontrano nelle fasi precoci della progressione della malattia di Alzheimer, coincidendo con il viraggio alla fase clinica

### Obiezioni

- Gruppo AD preclinico mostra una tendenza a valori più alti di sTREM2 rispetto ai controlli, senza una differenza significativa rispetto agli MCI-AD  
→ non si può stabilire con certezza una correlazione tra valori più alti di sTREM2 e inizio della sintomatologia cognitiva
- Precedenti studi hanno mostrato livelli di sTREM2 nella popolazione AD demenza più alti (Heslergrave 2016, Piccio 2016) o più bassi (Kleinberger 2014) rispetto ai sani; in questo studio controlli e AD dementi hanno valori di sTREM2 non statisticamente differenti  
→ non viene stratificato il livello cognitivo del gruppo AD, per valutare se solo nelle fasi molto avanzate il livello di sTREM2 cala in modo significativo o meno
- Non è specificato un cut-off di MMSE (o di altri punteggi cognitivi, ad eccezione della CDR) per distinguere gruppo MCI-AD da AD demenza  
→ Esiste una correlazione tra i livelli di sTREM2 ed il declino di MMSE tra i due gruppi?

## **Scopo dello studio**

- I. Variazione dei livelli di sTREM2 nel continuum AD
- II. Associazione tra sTREM2 e markers liquorali di AD
- III. sTREM2 in patologie non AD (SNAP e MCI-noAD)



Associazione positiva significativa tra sTREM2 e valori t-Tau, tranne che nel MCI-AD

Associazione positiva significativa tra sTREM2 e valori p-Tau in tutti i gruppi

Associazione negativa significativa tra sTREM2 e valori β-amilode solo per MCI-AD

\*escluso il centro di Bonn (133 soggetti)

Considerando l'insieme dei soggetti (**controlli + AD continuum**) viene descritta un'associazione significativa tra:

- Livelli maggiori di sTREM2 e più alti livelli di t-Tau ( $\beta = +0.336$ ; **p=0.001**) e p-Tau ( $\beta = +0.370$ ; **p=0.001**)
- Livelli maggiori di sTREM2 e minori livelli di A $\beta$  1-42, senza una differenza significativa ( $\beta = +0.184$ ; **p=0.098**)



## Conclusione

**II) Livelli più alti di sTREM2 correlano con valori maggiori dei markers di danno neuronale e patologia Tau (t-Tau, p-Tau)**

Si assiste ad una precoce risposta del recettore TREM2 ai primi processi neurodegenerativi

## Obiezioni

- Le "nuvole" di punti nello scatter plot non riflettono una chiara tendenza associativa tra sTREM2 e markers AD  
→ I valori estremi non esclusi, per quanto limitati da un metodo di reimmissioni, potrebbero avere influito
- L'associazione significativa tra sTREM2 e t-Tau si perde nel gruppo MCI-AD, in cui i valori di sTREM2 sono risultati in assoluto maggiori rispetto agli altri gruppi  
→ Se sTREM2 è un marker di attivazione microgliale in risposta al danno neuronale, perché non si ha una stretta correlazione col viraggio alla fase clinica quando la neurodegenerazione è maggiore rispetto a quella preclinica (vedi maggiori livelli di t-Tau e p-Tau)?

## **Scopo dello studio**

- I. Variazione dei livelli di sTREM2 nel continuum AD
- II. Associazione tra sTREM2 e markers liquorali di AD
- III. sTREM2 in patologie non AD (SNAP e MCI-noAD)

Variable	n	Females, %	APOE ε4 carriers, %	Age, years	CSF biomarkers		
					Aβ <sub>1-42</sub>	T-tau	P- tau <sub>181P</sub>
<b>Diagnostic group</b>							
Controls	150	59%	21%	62.4 (11)	796 (159)	218 (81)	43 (12)
<b>AD continuum subjects</b>							
Preclinical AD	63	60%	58%	70.8 (11)	414 (98)	450 (428)	66 (39)
MCI-AD	111	60%	52%	74.3 (9)	426 (107)	737 (410)	95 (32)
AD dementia	200	62%	62%	73.8 (10)	408 (113)	920 (564)	102 (44)
<b>Other groups</b>							
SNAP	39	49%	26%	68.2 (10)	990 (289)	466 (228)	78 (34)
MCI-noAD	103	45%	32%	69.3 (9)	667 (261)	305 (199)	48 (18)

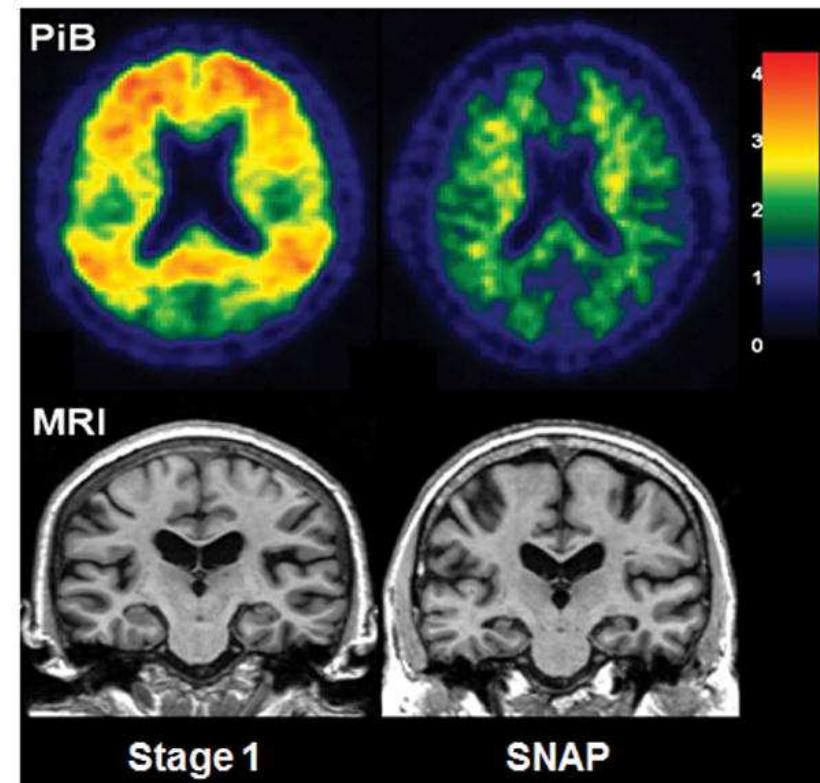
→ Patologie non-Alzheimer

## Suspected non-Alzheimer disease pathophysiology (SNAP)

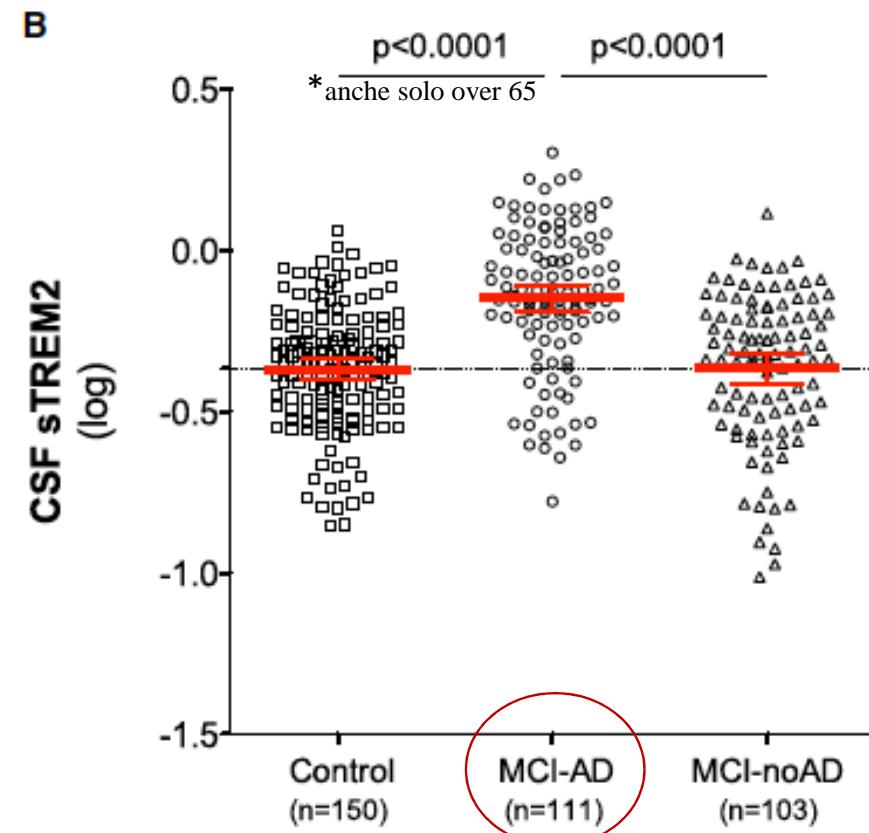
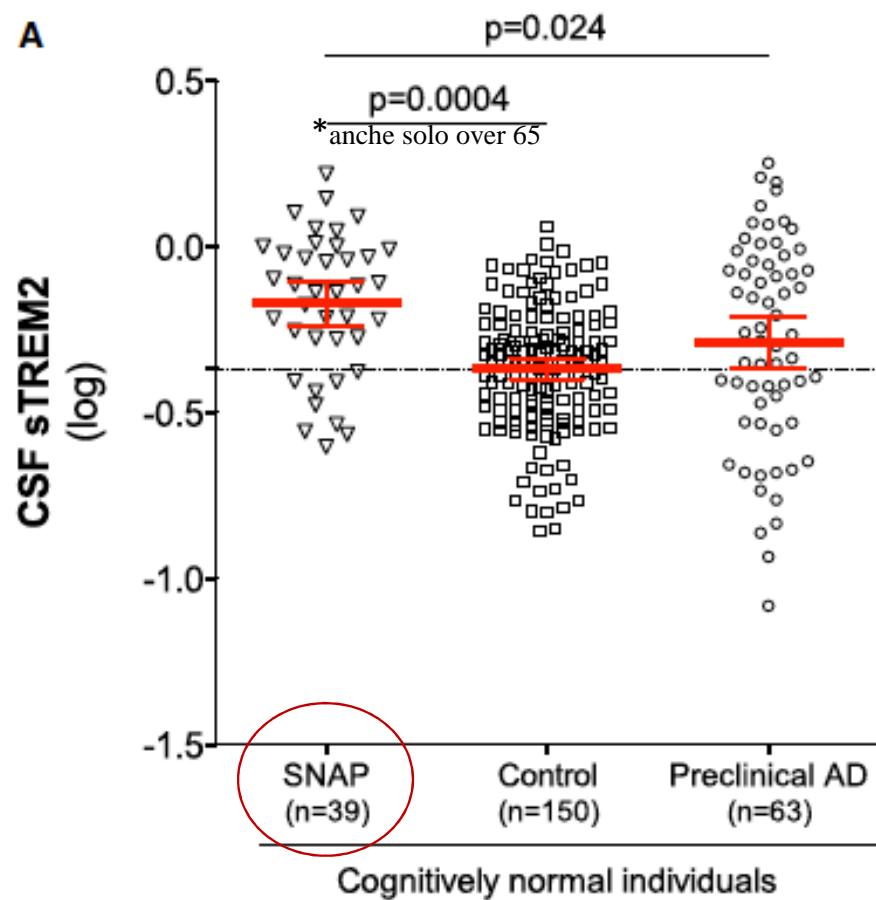
Individui con marker di neurodegenerazione anomali (MRI, FDG-PET, CSF t-Tau) ma senza evidenza di amiloidosi cerebrale (Amy-Pet, CSF A $\beta$ ) a prescindere dallo status clinico (cognitivamente normali o MCI)

A-N-: NIA-AA preclinical stage 0
A+N-: NIA-AA preclinical stage 1
A+N+: NIA-AA preclinical stages 2 and 3
A-N+: SNAP

- **23% sani > 65 anni e 17-35% MCI**
- Non correlato ad ApoE
- Non pattern cognitivo distinto
- Possibile evoluzione ad amiloido+
- Rischio intermedio di evoluzione a demenza
- (A-N- e A+N- < **SNAP** < A+N+)
- Correlazione con livelli di t-Tau (non p-Tau o A $\beta$ )
- **Eziologia non-amiloido (PART,  $\alpha$ -sin, TDP-43, malattia argirofilica, sclerosi ippocampale)**



Jack et al - Ann Neur 2012



I livelli di sTREM2 su liquor correlano con la neurodegenerazione (misurata sulla base dei livelli di Tau) a prescindere dalla sottostante amiloidosi

# sTREM2 come marker ASPECIFICO di infiammazione nelle malattie neurodegenerative

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

## TREM2 Variants in Alzheimer's Disease

Rita Guerreiro, Ph.D., Aleksandra Wojtas, M.S., Jose Bras, Ph.D.,  
Minerva Carrasquillo, Ph.D., Ekaterina Rogava, Ph.D., Elisa Majounie, Ph.D.,  
Carlos Cruchaga, Ph.D., Celeste Sassi, M.D., John S.K. Kauwe, Ph.D.,  
Steven Younkin, M.D., Ph.D., Lilinaz Hazrati, M.D., Ph.D., John Collinge, M.D.,  
Jennifer Pocock, Ph.D., Tammaryn Lashley, Ph.D., Julie Williams, Ph.D.,  
Jean-Charles Lambert, Ph.D., Philippe Amouyel, M.D., Ph.D., Alison Goate, Ph.D.,  
Rosa Rademakers, Ph.D., Kevin Morgan, Ph.D., John Powell, Ph.D.,  
Peter St. George-Hyslop, M.D., Andrew Singleton, Ph.D., and John Hardy, Ph.D.,  
for the Alzheimer Genetic Analysis Group\*

MULTIPLE  
SCLEROSIS | MSJ

Original Research Paper

**Soluble TREM-2 in cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis treated with natalizumab or mitoxantrone**

Annika Öhrfelt, Markus Axelsson, Clas Malmström, Lenka Novakova, Amanda Heslegrave,  
Kaj Blennow, Jan Lycke and Henrik Zetterberg

doi:10.1093/brain/awn217

**Identification of soluble TREM-2 in the cerebrospinal fluid and its association with multiple sclerosis and CNS inflammation**

Laura Piccio,<sup>1</sup> Cecilia Buonsanti,<sup>2</sup> Marina Celli,<sup>3</sup> Ilaria Tassi,<sup>3</sup> Robert E. Schmidt,<sup>3</sup> Chiara Fenoglio,<sup>4</sup> John Rinker II,<sup>1,\*</sup> Robert T. Naismith,<sup>1</sup> Paola Panina-Bordignon,<sup>2</sup> Nadia Passini,<sup>2</sup> Daniela Galimberti,<sup>4</sup> Elio Scarpini,<sup>4</sup> Marco Colonna<sup>3</sup> and Anne H. Cross<sup>1,5</sup>

Contents lists available at ScienceDirect  
**Neurobiology of Aging**  
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/neuaging](http://www.elsevier.com/locate/neuaging)

 ELSEVIER



### Heterozygous TREM2 mutations in frontotemporal dementia

Barbara Borroni<sup>a,\*</sup>, Francesca Ferrari<sup>a</sup>, Daniela Galimberti<sup>b</sup>, Benedetta Nacmias<sup>c</sup>, Cinzia Barone<sup>b</sup>, Silvia Bagnoli<sup>c</sup>, Chiara Fenoglio<sup>b</sup>, Irene Piaceri<sup>c</sup>, Silvana Archetti<sup>d</sup>, Cristian Bonvicini<sup>e</sup>, Massimo Gennarelli<sup>e</sup>, Marinella Turla<sup>f</sup>, Elio Scarpini<sup>b</sup>, Sandro Sorbi<sup>c</sup>, Alessandro Padovani<sup>a</sup>

Rayaprolu et al. Molecular Neurodegeneration 2013, 8:19  
<http://www.molecularneurodegeneration.com/content/8/1/19>



RESEARCH ARTICLE

Open Access

*Am. J. Hum. Genet.* 71:656–662, 2002

**TREM2 in neurodegeneration: evidence for association of the p.R47H variant with frontotemporal dementia and Parkinson's disease**

### Mutations in Two Genes Encoding Different Subunits of a Receptor Signaling Complex Result in an Identical Disease Phenotype

Juha Paloneva,<sup>1</sup> Tuula Manninen,<sup>5</sup> Grant Christman,<sup>5</sup> Karine Hovanes,<sup>5</sup> Jami Mandelin,<sup>2</sup> Rolf Adolfsson,<sup>6</sup> Marino Bianchin,<sup>7</sup> Thomas Bird,<sup>8</sup> Roxana Miranda,<sup>9</sup> Andrea Salmaggi,<sup>10</sup> Lisbeth Tranbjærg,<sup>11</sup> Yrjö Konttinen,<sup>4</sup> and Leena Peltonen<sup>1,3,5</sup>

*Brain* (2008), 131, 3081–3091

*JAMA Neurol.* 2014 April ; 71(4): 449–453. doi:10.1001/jamaneurol.2013.6237.

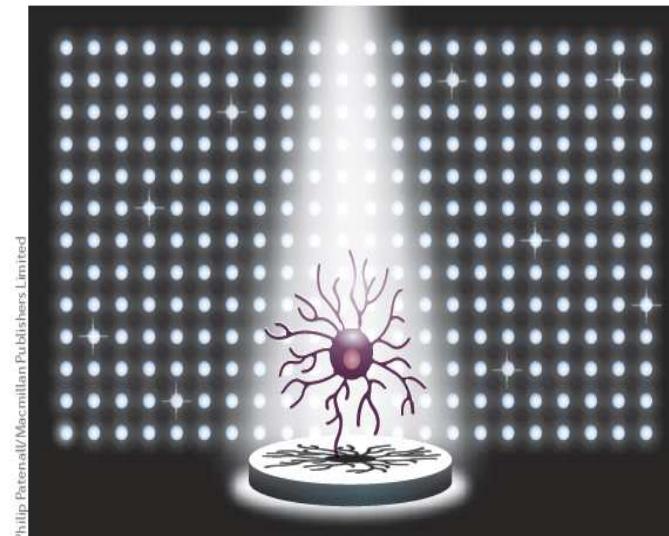
**The TREM2 variant p.R47H is a risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis**

## Conclusioni dello studio

- I. I livelli di sTREM2 - e quindi l'attivazione microgliale - sono maggiori nel gruppo MCI-AD
- II. Correlano con la neurodegenerazione e la patologia Tau a prescindere dall'amiloidosi

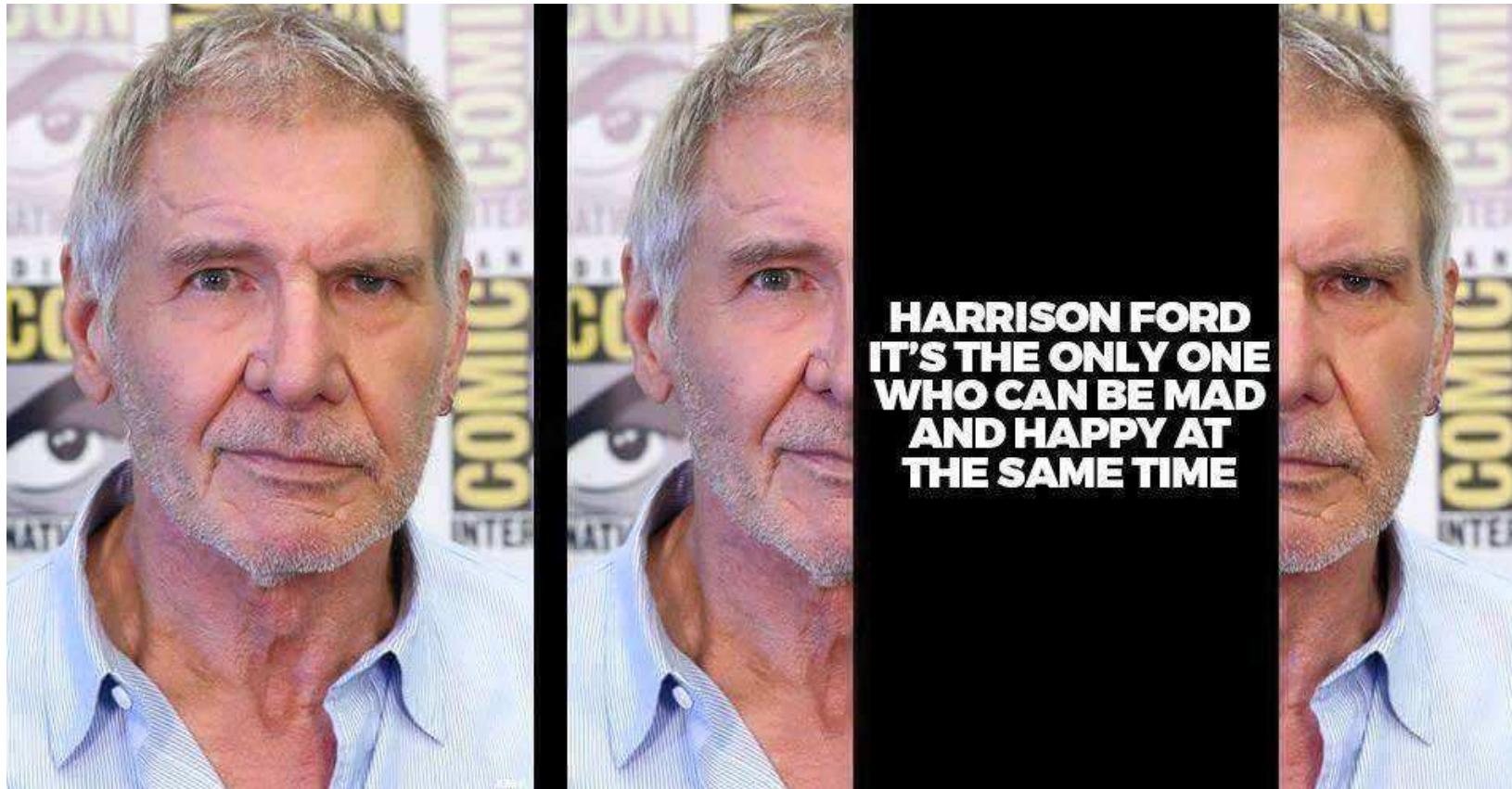
■ ALZHEIMER DISEASE

Soluble TREM2 in CSF sheds light on  
microglial activation in AD



Philip Paton/all/Macmillan Publishers Limited

# L'aumento dei valori liquorali di sTREM2 riflette un'attivazione microgliale PROTETTIVA o DANNOSA sulla neurodegenerazione?



**HARRISON FORD  
IT'S THE ONLY ONE  
WHO CAN BE MAD  
AND HAPPY AT  
THE SAME TIME**

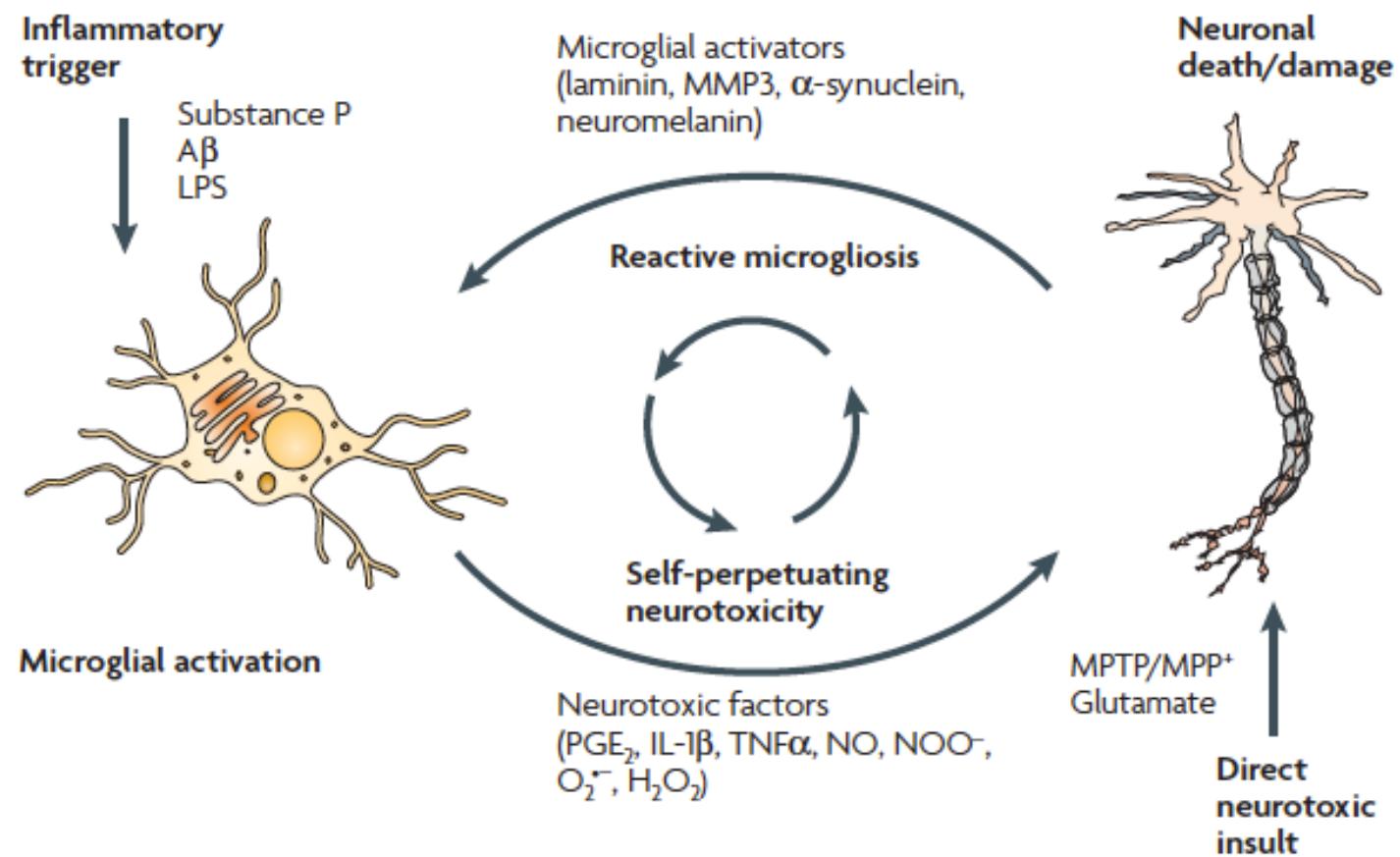


- I livelli di sTREM2 aumentano con l'età anche nei soggetti sani
- Mutazioni missenso in eterozigosi del gene TREM2 si associano a un maggior rischio di sviluppare AD (Guerriero, N Eng J Med 2013)
- Mutazioni in omozigosi con perdita di funzione di TREM2 causano malattie neurodegenerative di tipo frontale (Nasu Hakola disease, FTD-like) ad esordio precoce (Guerriero, Jama 2013; Paloneva Am J Hum Gen 2002)

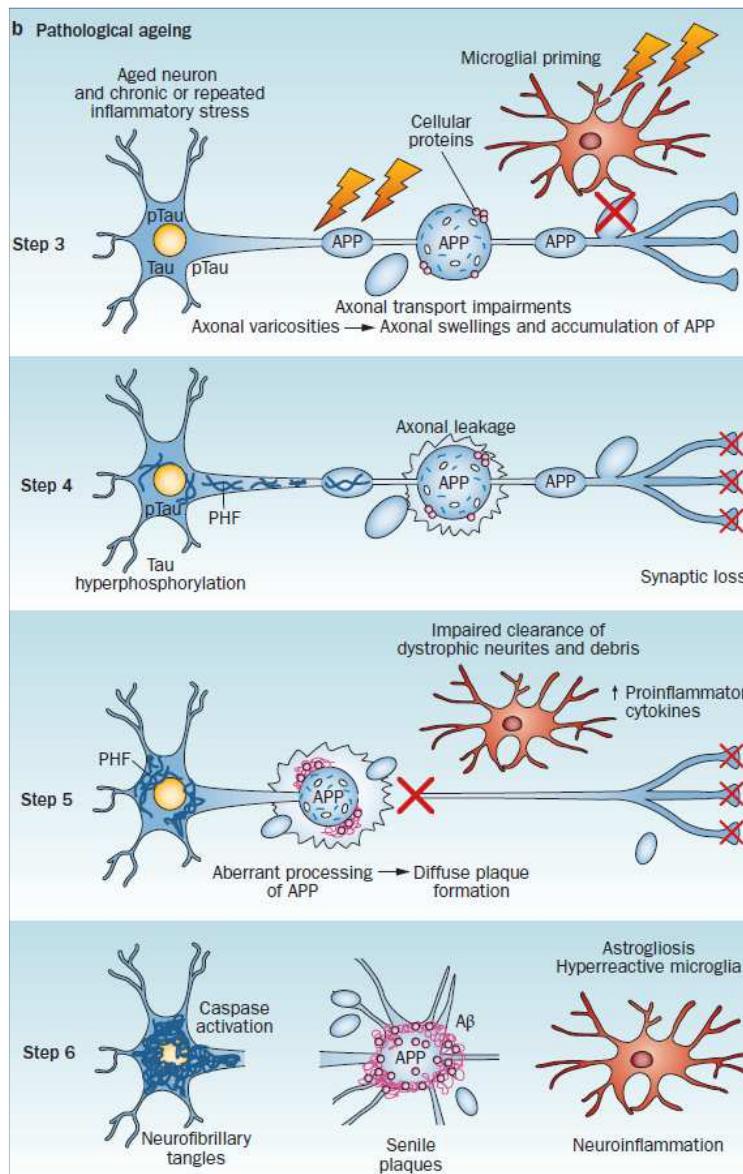
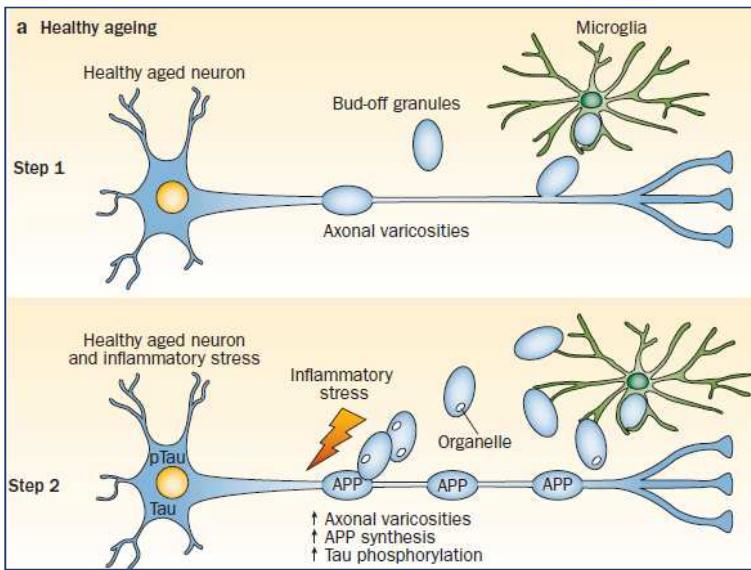
- sTREM2 potrebbe rappresentare un recettore solubile ‘esca’ in competizione con la forma cellulare e riducendone l’attività anti-infiammatoria (Piccio, Brain 2008)
- TREM2 induce la risposta proinfiammatoria stimolando la produzione di citochine e promuovendo la sopravvivenza delle cellule microgliali (Zhong, J. Exp Med 2017)

TREM2 è selettivamente espresso nella microglia ed è implicato nel controllo di fagocitosi, risposta pro-infiammatoria, sopravvivenza microgliale e clearance di neuroni apoptotici

**MA LA NEUROINFIAMMAZIONE VA INIBITA O STIMOLATA?**



## L'ipotesi infiammatoria



Name	Synonyms	FDA Status	Company	Target Type	Therapy Type	Approved For
Celecoxib	Celebrex	Alzheimer's Disease (Discontinued)	Pfizer	Inflammation	Small Molecule	Pain, Arthritis
Gammagard®	Intravenous Immunoglobulin, IVIg	Alzheimer's Disease (Discontinued)	Baxter Healthcare	Amyloid-Related, Inflammation	Immunotherapy (passive)	Immunodeficiency conditions
HF0220		Alzheimer's Disease (Discontinued)	Newron	Inflammation	Small Molecule	
Ibuprofen	Advil™, Nuprin™, Motrin™	Alzheimer's Disease (Discontinued)		Amyloid-Related, Inflammation	Small Molecule	Pain and Fever
Lornoxicam		Alzheimer's Disease (Discontinued), Mild Cognitive Impairment (Discontinued)	JSW Lifesciences	Inflammation	Small Molecule	Pain in US
Naproxen	Aleve™, Anaproxx™, Naprosyn™	Alzheimer's Disease (Discontinued)	Procter & Gamble	Inflammation	Small Molecule	Over-the-counter drug for reduction of pain, fever, inflammation, and stiffness.
Prednisone		Alzheimer's Disease (Discontinued)		Inflammation	Small Molecule	
Rofecoxib	Vioxx™	Alzheimer's Disease (Discontinued)	Merck	Inflammation	Small Molecule	Withdrawn from market

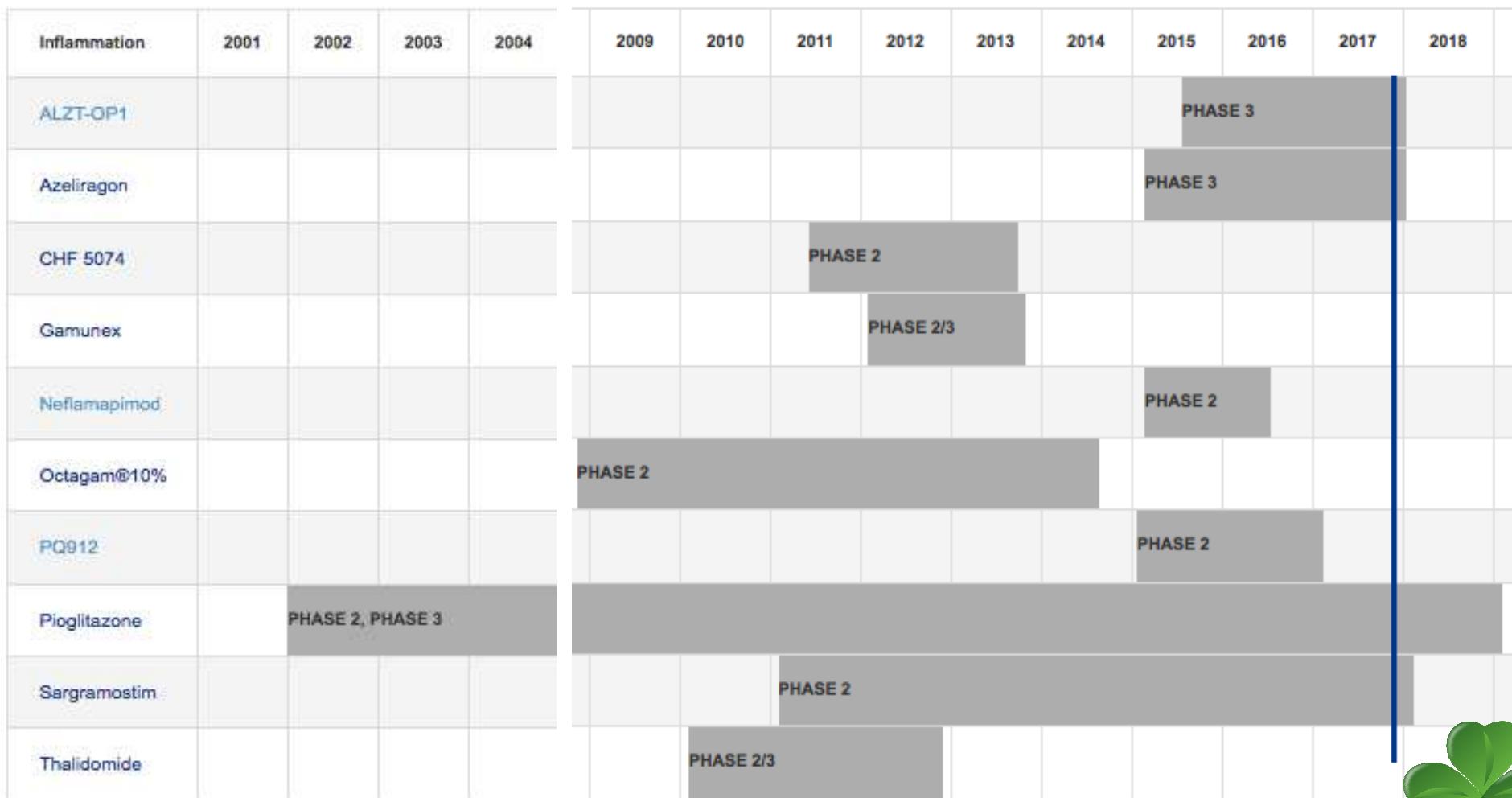
### Etanercept in Alzheimer disease

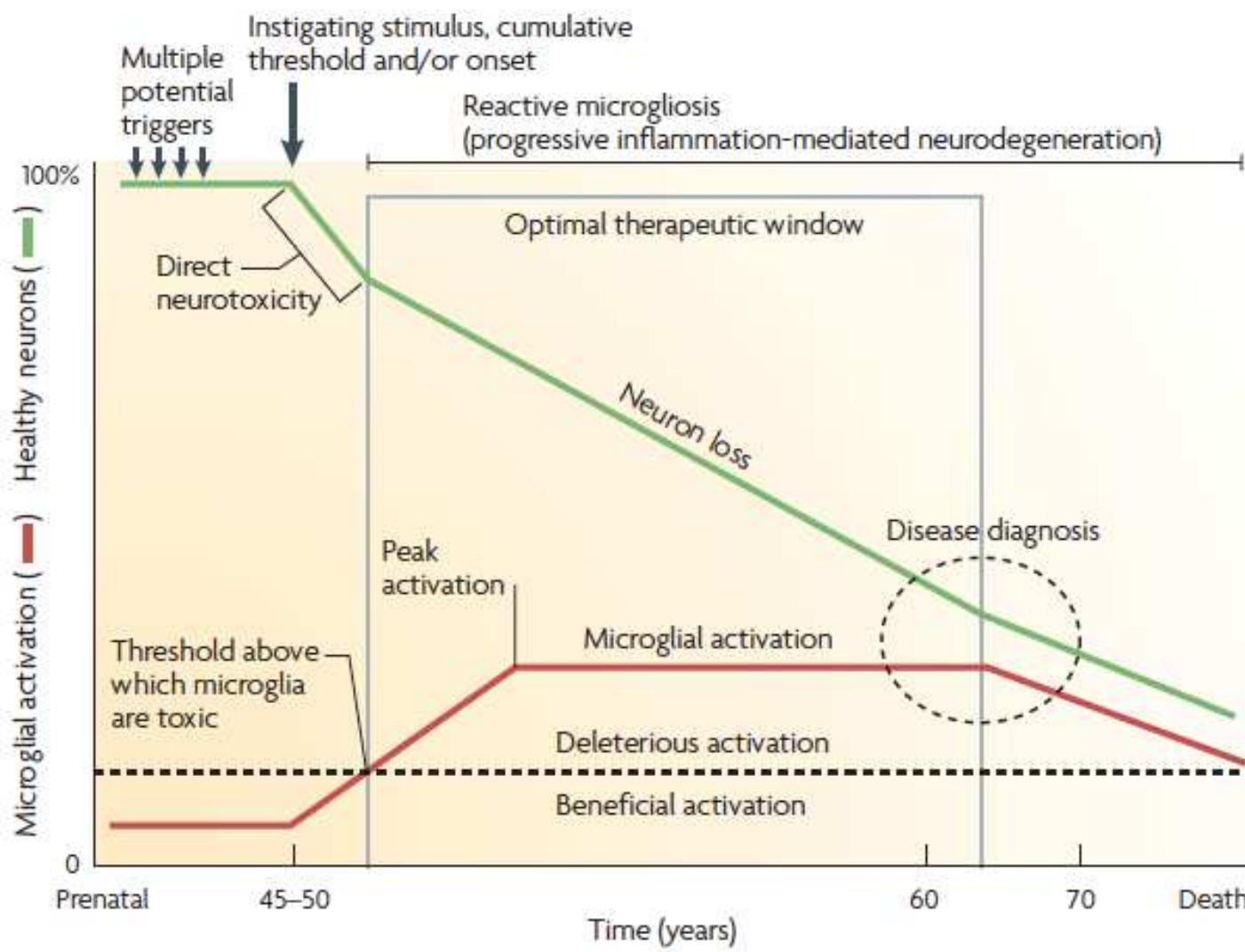
A randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 2 trial

Neurology 2015

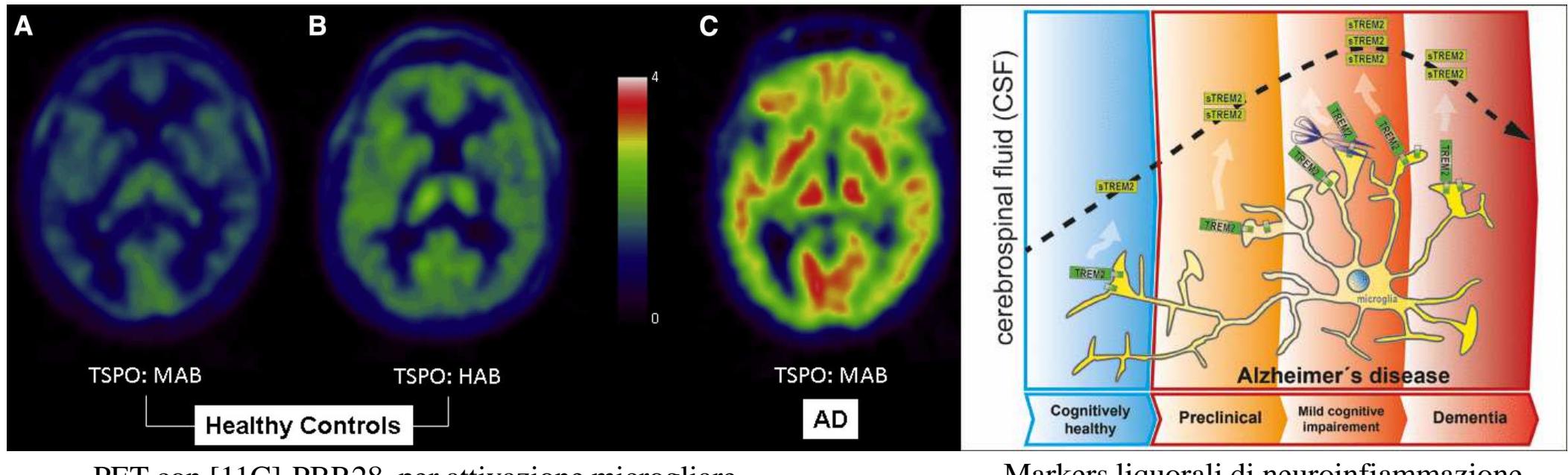


Study completed / Planned end date  
 Planned end date unavailable  
 Study aborted





## IN VIVO ...



# IL CERVELLO CHE CAMBIA<sup>7</sup>

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

*L'esame del liquor permette di monitorare e stimare la neuroinfiammazione*

*Una piena conoscenza dei meccanismi implicati nella iperattivazione e nella disregolazione microgliale è prioritaria per comprendere i meccanismi eziopatogenetici delle malattie neurodegenerative, fondamentale per trovarne il trattamento ed il timing di intervento*



**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**