

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München



***Mikroglia Phänotypen –
Einfluss auf PET-Bildgebung
und metabolische Konnektivität***

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Johannes Sebastian Gnörich

aus

Langenfeld

Jahr

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erster Gutachter: Prof. Dr. med. Matthias Brendel

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Sibylle Ziegler

Dritter Gutachter: Prof. Dr. Robert Perneczky

ggf. weitere Gutachter:

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

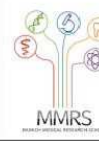
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.10.2023

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| Inhaltsverzeichnis | 3 |
| Affidavit | 4 |
| Abkürzungsverzeichnis | 5 |
| Publikationsliste | 6 |
| 1. Beitrag und Eigenanteil an den Veröffentlichungen | 7 |
| 1.1 Beitrag zu <i>“Loss of TREM2 rescues hyperactivation of microglia, but not lysosomal deficits and neurotoxicity in models of progranulin deficiency” (Paper I)</i> | 7 |
| 1.2 Beitrag zu <i>“Depletion and activation of microglia impact metabolic connectivity of the mouse brain” (Paper II)</i> | 7 |
| 2. Einleitung | 8 |
| 2.1 Mikroglia und Neuroinflammation bei neurodegenerativen Erkrankungen | 9 |
| 2.2 PET-Bildgebung von Mikrogliaaktivierung und Glukosestoffwechsel bei neurodegenerativen Erkrankungen..... | 11 |
| 2.3 Formen von zerebraler Konnektivität..... | 12 |
| 2.3.1 Strukturelle und funktionelle Konnektivität | 12 |
| 2.3.2 Metabolische Konnektivität | 13 |
| 2.4 Fragestellung und Zielsetzung..... | 13 |
| 3. Paper I | 15 |
| 4. Paper II | 16 |
| 5. Zusammenfassung | 17 |
| 6. Abstract | 19 |
| 7. Literaturverzeichnis | 21 |
| Danksagung | 32 |

Affidavit



Gnörich, Johannes Sebastian

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Mikroglia Phänotypen - Einfluss auf PET-Bildgebung und metabolische Konnektivität

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 05.10.2023

Ort, Datum

Johannes Sebastian Gnörich

Unterschrift Doktorand

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------|--|
| AD | Alzheimer Demenz |
| A β | Amyloid Beta Peptid, β -Amyloid |
| DAM | Disease-Associated Microglia (dt. Krankheitsassoziierte Mikroglia) |
| FDA | Food and Drug Administration (dt. US-Behörde für Lebens- und Arzneimittel) |
| FDG | Fluordesoxyglucose |
| FTLD | Frontotemporale Lobärdegeneration |
| GRN | Granulin / Progranulin |
| ICC | Interregionale Korrelationskoeffizienten |
| MCI | Mild cognitive impairment (dt. Leichte kognitive Störung) |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| PET | Positronenemissionstomographie |
| TDP-43 | Transactive response DNA binding protein 43 kDa |
| Trem2 | Triggering receptor expressed on myeloid cells (triggernder Rezeptor auf myeloischen Zellen) |
| TSPO | Translokatorprotein |
| SNR | Signal to noise ratio (dt. Signal-Rausch-Verhältnis) |
| WT | Wildtyp |

Publikationsliste

G. Werner, M. Damme, M. Schludi, **J. Gnörich**, K. Wind, K. Fellerer, B. Wefers, W. Wurst, D. Edbauer, M. Brendel, C. Haass, and A. Capell (2020). "Loss of TMEM106B potentiates lysosomal and FTL-like pathology in progranulin-deficient mice." *EMBO reports* 21(10): e50241. <https://doi.org/10.15252/embr.202050241>.

D. Xia, S. Lianoglou, T. Sandmann, M. Calvert, J. H. Suh, E. Thomsen, J. Dugas, M. E. Pizzo, S. L. DeVos, T. K. Earr, C.-C. Lin, S. Davis, C. Ha, A. W.-S. Leung, H. Nguyen, R. Chau, E. Yulyaningsih, I. Lopez, H. Solanoy, S. T. Masoud, C.-c. Liang, K. Lin, G. Astarita, N. Khoury, J. Y. Zuchero, R. G. Thorne, K. Shen, S. Miller, J. J. Palop, D. Garceau, M. Sasner, J. D. Whitesell, J. A. Harris, S. Hummel, **J. Gnörich**, K. Wind, L. Kunze, A. Zatcepin, M. Brendel, M. Willem, C. Haass, D. Barnett, T. S. Zimmer, A. G. Orr, K. Scearce-Levie, J. W. Lewcock, G. Di Paolo, and P. E. Sanchez (2022). "Novel App knock-in mouse model shows key features of amyloid pathology and reveals profound metabolic dysregulation of microglia." *Molecular Neurodegeneration* 17(1): 41. <https://dx.doi.org/10.1186/s13024-022-00547-7>.

A. Reifschneider, S. Robinson, B. van Lengerich, **J. Gnörich**, T. Logan, S. Heindl, M. A. Vogt, E. Weidinger, L. Riedl, K. Wind, A. Zatcepin, I. Pesamaa, S. Haberl, B. Nuscher, G. Kleinberger, J. Klimmt, J. K. Gotzl, A. Liesz, K. Burger, M. Brendel, J. Levin, J. Diehl-Schmid, J. Suh, G. Di Paolo, J. W. Lewcock, K. M. Monroe, D. Paquet, A. Capell, and C. Haass. "Loss of Trem2 Rescues Hyperactivation of Microglia, but Not Lysosomal Deficits and Neurotoxicity in Models of Progranulin Deficiency." *EMBO J* 41, no. 4 (Feb 15 2022): e109108. <https://dx.doi.org/10.15252/emj.2021109108>.

B. van Lengerich, L. Zhan, D. Xia, D. Chan, D. Joy, J. I. Park, D. Tatarakis, M. Calvert, S. Hummel, S. Lianoglou, M. E. Pizzo, R. Prorok, E. Thomsen, L. M. Bartos, P. Beumers, A. Capell, S. S. Davis, L. de Weerd, J. C. Dugas, J. Duque, T. Earr, K. Gadkar, T. Giese, A. Gill, **J. Gnörich**, C. Ha, M. Kannuswamy, D. J. Kim, S. T. Kunte, L. H. Kunze, D. Lac, K. Lechtenberg, A. W.-S. Leung, C.-C. Liang, I. Lopez, P. McQuade, A. Modi, V. O. Torres, H. N. Nguyen, I. Pesämaa, N. Propson, M. Reich, Y. Robles-Colmenares, K. Schlepckow, L. Slemann, H. Solanoy, J. H. Suh, R. G. Thorne, C. Vieira, K. Wind-Mark, K. Xiong, Y. J. Y. Zuchero, D. Diaz, M. S. Dennis, F. Huang, K. Scearce-Levie, R. J. Watts, C. Haass, J. W. Lewcock, G. Di Paolo, M. Brendel, P. E. Sanchez, and K. M. Monroe (2023). "A TREM2-activating antibody with a blood–brain barrier transport vehicle enhances microglial metabolism in Alzheimer’s disease models." *Nature Neuroscience* 26(3): 416-429. <https://dx.doi.org/10.1038/s41593-022-01240-0>.

J. Gnörich, A. Reifschneider, K. Wind, A. Zatcepin, S. T. Kunte, P. Beumers, L. M. Bartos, T. Wiedemann, M. Grosch, X. Xiang, M. K. Fard, F. Ruch, G. Werner, M. Koehler, L. Slemann, S. Hummel, N. Briel, T. Blume, Y. Shi, G. Biechele, L. Beyer, F. Eckenweber, M. Scheifele, P. Bartenstein, N. L. Albert, J. Herms, S. Tahirovic, C. Haass, A. Capell, S. Ziegler, and M. Brendel. "Depletion and Activation of Microglia Impact Metabolic Connectivity of the Mouse Brain." *J Neuroinflammation* 20, no. 1 (Feb 24 2023): 47. <https://dx.doi.org/10.1186/s12974-023-02735-8>.

1. Beitrag und Eigenanteil an den Veröffentlichungen

1.1 Beitrag zu *“Loss of TREM2 rescues hyperactivation of microglia, but not lysosomal deficits and neurotoxicity in models of progranulin deficiency” (Paper I)*

Mitarbeit bei der Etablierung eines PET/MRT Scanners für die Untersuchung von Kleintiergehirnen mit erstmaliger Publikation von Daten, die mit diesem Gerät akquiriert wurden. Planung, Vorbereitung und Durchführung aller in der Studie inkludierten Kleintier PET/MRT Aufnahmen. Mitwirkung bei der regelmäßigen Kontrolle des körperlichen Zustandes sowie Versorgung der Versuchstiere. Prozessierung, Auswertung und Analyse der erhobenen bildgebenden Daten mit entsprechender Erstellung der Abbildungen für die Veröffentlichung. Verschriftlichung des PET/MRT bildgebenden Methoden- sowie Ergebnisteils der Veröffentlichung.

1.2 Beitrag zu *“Depletion and activation of microglia impact metabolic connectivity of the mouse brain” (Paper II)*

Planung und Erstellung eines Studienkonzeptes in Abstimmung mit dem Betreuer. Erprobung und Evaluierung der für die Studie benötigten Methodik zur Erhebung der metabolischen Konnektivität. Definierung eines standardisierten Prozesses zur Visualisierung der metabolischen Konnektivität. Datenakquisition und Auswahl von partiell bestehenden Kleintier FDG-PET Daten. Zusätzlich eigenständige Durchführung weiterer FDG-PET Aufnahmen im Kleintier PET/MRT Scanner. Prozessierung, Auswertung und Analyse der erhobenen bildgebenden Daten der PET-Untersuchung, des scRadiotracing sowie der Immunhistochemie. Durchführung der statistischen Analyse mit Erstellung der Abbildungen für die Veröffentlichung. Verfassen eines Manuskriptentwurfes mit stetiger Überarbeitung in Zusammenarbeit mit dem Betreuer. Einreichen der Publikation und nachfolgend Berücksichtigung der Revisionsanmerkungen der Gutachter des Journals.

2. Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen sind nach aktuellem Stand unheilbar und es werden weltweit Bemühungen unternommen, therapeutische Möglichkeiten zu explorieren. Erst kürzlich wurden mit Aducanumab am 07.06.2021 und Lecanemab am 06.01.2023 die ersten potenziellen kausalen Therapien durch die Food and Drug Administration (FDA) in den USA zugelassen, um extrazelluläre A β -Proteinablagerungen zu beseitigen, welche einen der Grundpfeiler in der Pathogenese der Alzheimer Erkrankung darstellen (AD) [1, 2]. Neben diesen pathognomonischen A β - und intrazellulären Tau-Proteinablagerungen [3] bei der Alzheimer Erkrankung oder einer Transactive response DNA binding protein 43 kDa (TDP-43) Aggregation bei der amyotrophen Lateralsklerose und frontotemporalen Lobärdegeneration (FTLD) [4] wird die Mikroglie mit konsekutiver Neuroinflammation als weiterer aggravierender Faktor bei neurodegenerativen Erkrankungen beschrieben [5-7]. Allerdings deuten jüngste Erkenntnisse darauf hin, dass mikrogliale Aktivierung und Reaktion auf zerebrale Pathologien nicht zwangsläufig zu Neurodegeneration führen, sondern auch neuroprotektiv wirken können [8, 9]. Um diese Veränderungen im Gehirn in vivo abzubilden, sind diverse nuklearmedizinische Verfahren im Einsatz. Über die letzten Jahre haben sich eine Vielzahl von Radiotracer entwickelt und etabliert, die eine nicht invasive Darstellung des Glukosestoffwechsels (^{18}F -FDG), der Mikrogliaaktivierung (^{18}F -GE-180) [10], Astrozytenaktivität (^{18}F -D2-Deprenyl) [11] und Synapsendichte (^{18}F -UCB-H) [12] ermöglichen. Die sicherlich meistverbreitete Untersuchung ist hierbei das ^{18}F -FDG-PET, das klinisch unter anderem zur Differenzialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen eingesetzt wird [13-15]. Aktuell jedoch zeichnet sich ein Wandel in der klassischen Bildgebung und Forschung des zerebralen Glukosestoffwechsels ab, durch welchen vermehrt die Vernetzung und Beziehungen von Hirnregionen im gesunden und kranken Gehirn in den Fokus rücken. Mittels ^{18}F -FDG-PET lassen sich zerebralen Netzwerke, die hier als metabolische Konnektivität bezeichnet werden, eruieren. Da das PET-Signal eine Zusammensetzung der Traceraufnahme und -speicherung auf zellulärer Ebene darstellt, ist es von fundamentaler Bedeutung, die zugrundeliegenden Quellen des PET-Signals zu kennen. Entgegen früheren Annahmen sind nicht nur Neuronen [16], sondern auch Mikroglia und ihr Aktivitätsstatus für das ^{18}F -FDG-PET-Signal verantwortlich [17]. Bisher konnte jedoch nicht gezeigt werden, wie sich die unterschiedlich zusammengesetzte zelluläre Glukoseaufnahme auf die metabolische Konnektivität auswirkt. In dieser Arbeit wurde die Bildgebung transgener Mausmodelle

mit gegensätzlichen mikroglialen Aktivierungsstadien ($\text{Grn}^{-/-}$ und $\text{Trem2}^{-/-}$) sowie deren Kreuzung ($\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$) mittels ^{18}F -FDG-PET und ^{18}F -GE-180-PET analysiert [18]. Im Folgenden wurde die Auswirkung des zellulären Glukosestoffwechsel in den hier aufgeführten transgenen Mäusen sowie in pharmakologisch Mikroglia depletierten Wildtyptieren (WT) auf metabolische Netzwerke durchleuchtet und im Vergleich zur konventionellen ^{18}F -FDG Bildgebung projiziert [19].

2.1 Mikroglia und Neuroinflammation bei neurodegenerativen Erkrankungen

Mikroglia repräsentieren die im zentralen Nervensystem ansässigen Makrophagen und sind primär für die lokale Aufrechterhaltung der zellulären Immunantwort und Homöostasis im Gehirn verantwortlich [20-22]. Sie gehören zu der Familie der Gliazellen, bilden dort die morphologisch kleinste Zellfraktion ab und stellen 5-10% der Gesamtzellpopulation des Gehirnes dar [23, 24].

Mikroglia sind am Abbau von pathogenen Antigenen, Phagozytose und Antigenpräsentation sowie an der Elimination von apoptotischen zellulären Bestandteilen von Neuronen beteiligt. Zusätzlich entfernen sie fehlgefaltete extrazelluläre Proteinaggregate, die von wesentlicher Bedeutung in der Pathogenese zahlreicher neurodegenerativer Erkrankungen sind [1, 2]. Auf diese Proteinakkumulationen im Gehirn sowie auf neuronalen Schaden reagieren Mikroglia durch erhöhte Migration mit konsekutiver Zytokinfreisetzung und Proliferation [25, 26]. Aufgrund dieser Funktion werden insbesondere Gene und Proteine für die Migration, Phagozytose und den Proteinabbau in Mikroglia hochreguliert und exprimiert, wie beispielsweise Cathepsine, Triggering receptor expressed on myeloid cells (Trem2) [27] und Progranulin [28].

Trem2 ist ein membrangebundener Rezeptor des angeborenen Immunsystems, der von myeloiden Zellen einschließlich dendritischer Zellen [29], gewebespezifischer Makrophagen wie Osteoklasten [30], Kupffer-Zellen [31] und alveolären Makrophagen [32] exprimiert wird. Im Gehirn wird Trem2 ausschließlich von Mikroglia synthetisiert [33] und spielt eine bedeutende Rolle bei der Regulierung von Entzündungsprozessen sowie bei der Phagozytose [27, 34, 35]. Genetische Varianten im Trem2 Gen stellen einen potenziellen Risikofaktor in der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer Erkrankung [36, 37], der Frontotemporale Lobärdegeneration [38] und dem Morbus Parkinson [39] dar.

Progranulin (GRN) ist ein neurotropher Wachstumsfaktor, der unter anderem bei der endogenen Immunantwort, Wundheilung und Regulierung von Entzündungsvorgängen mitwirkt. Zusätzlich ist das Auftreten der frontotemporalen lobären Degeneration mit

Ubiquitin und TDP-43 positiven Aggregaten (FTLD-TDP) bei GRN-Varianten beschrieben. Hier sind insbesondere die „Loss-of-function“ Mutationen im Progranulin-Gen hervorzuheben, die zu einer Entwicklung der familiären, taunegativen FTLD-TDP führen können [40, 41] sowie in lysosomalen Speicherkrankheiten resultieren [42, 43].

Sowohl Trem2 als auch Progranulin werden im Rahmen der Immunantwort bei Inflammation durch Mikroglia vermehrt exprimiert, allerdings hat die Defizienz des jeweiligen Proteins einen entgegengesetzten Einfluss auf den Aktivierungsstatus der Mikroglia [44]. Dies konnte in Mausmodellen gezeigt werden, bei denen Trem2 defiziente Mikroglia einen homöostatischen Zustand eingenommen haben [44-46], während in GRN^{-/-} Tieren eine verstärkte Immunantwort mit Anstieg der entzündungsfördernden Zytokine [47] sowie vermehrte Komplementaktivierung [48] nachgewiesen wurde.

Erst kürzlich wurde eine Subpopulation von Mikroglia entdeckt, die mit neurodegenerativen Erkrankungen assoziiert ist und durch eine charakteristische Expression von Genen eine einzigartige Signatur aufweist [46]. Diese sogenannten krankheitsassoziierten Mikroglia (DAM) exprimieren u.a. den Rezeptor Trem2, der für die Aktivierung der DAM unerlässlich ist [49]. In AD-Modellen mit A β -Plaques konnte zudem nachgewiesen werden, dass DAM mit vermehrter GRN und Trem2 Expression auf Amyloid-Pathologie reagieren, indem sie sich um die Plaques aggregieren und durch eine Barrierefunktion potenziell protektiv wirken können [50, 51]. Diese mikrogliale Aggregation führt zu einer Verdichtung der Plaques und Phagozytose der A β Fibrillen [52, 53]. Allerdings verlieren Trem2-defiziente Mikroglia teilweise ihre Fähigkeit der Migration zu den Amyloid Plaques [54, 55].

Somit ist es evident, dass sowohl eine übermäßige Aktivierung als auch eine reduzierte mikrogliale Aktivität zu neurodegenerativen Erkrankungen führen kann [56]. Von besonderem Interesse ist daher die Identifizierung potenzieller Zielstrukturen, wie Trem2, um die mikrogliale Aktivität pharmakologisch zu steuern und somit den Krankheitsverlauf neurodegenerativer Erkrankungen modifizieren zu können. Eine Reihe agonistischer Trem2-Antikörper wurde dazu entwickelt, protektive mikrogliale Funktionen hervorzuheben. In diesen präklinischen Studien konnte erfolgreich eine gesteigerte mikrogliale Trem2 Expression mit Übergang hin zu einem krankheitsassoziierten Status sowie eine reduzierte Amyloidogenese nachgewiesen werden [57-59]. Konträr dazu könnten antagonistisch wirkende Trem2-Antikörper bei neurodegenerativen Erkrankungen mit überaktivierter und dysfunktionaler Mikroglia [60] durch therapeutische Dämpfung der Mikroglia einen Nutzen erbringen.

2.2 PET-Bildgebung von Mikrogliaaktivierung und Glukosestoffwechsel bei neurodegenerativen Erkrankungen

Eine Vielzahl humaner sowie präklinischer Daten zeigen, dass neurodegenerative Erkrankungen zu signifikanten Alterationen im Hirnstoffwechsel führen können. Die Bildgebung mittels PET ermöglicht ein weiterführendes Verständnis über die Pathophysiologie und Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen und erlaubt zudem, den zunehmenden klinischen Bedarf an Früherkennung sowie Therapiemonitoring bei diversen neurodegenerativen Erkrankungen zu überwachen [61]. Es existieren dutzende molekulare Zielstrukturen im Gehirn, die als Target für moderne Tracer dienen können [62].

Als Proteinzielstruktur von PET-Tracern für Neuroinflammation wird vor allem das 18-kDa-Translokatorprotein (TSPO) verwendet, das auf der äußeren Mitochondrienmembran aktivierter Mikroglia exprimiert wird [63, 64]. Tracer der ersten Generation beinhalteten radioaktiven Kohlenstoff-11 (^{11}C), der jedoch aufgrund der kurzen Halbwertszeit und einer geringen signal to noise ratio (SNR) bei hoher nichtspezifischer Tracerbindung der entsprechenden Radiotracer an Bedeutung verloren hat [65, 66]. Im Verlauf wurden Tracer neuerer Generationen etabliert mit optimierter SNR, mitunter ^{18}F -GE-180 [67, 68]. Mehrere Studien berichteten von einer erhöhten TSPO-Expression unter neuroinflammatorischen Bedingungen, ausgelöst von aktivierten Mikroglia in Rahmen einer Hochregulierung von TSPO als Reaktion auf Entzündungen oder Hirnverletzungen [18, 69]. Ruhende Mikroglia präsentierten eine verringerte TSPO-Expression [44, 70, 71]. Konkret konnten Beweise für eine zerebrale Entzündungsreaktion mittels TSPO-PET bei der Alzheimer Erkrankung in humanen [10] und präklinischen Studien [72-74], bei der Parkinson Erkrankung [75] oder der Frontotemporalen Demenz [44, 76] nachgewiesen werden.

Die Darstellung des zerebralen Glukosestoffwechsels mit dem radioaktiv markierten Glukoseanalogon ^{18}F -FDG hat sich über die letzten Jahrzehnte als Standardverfahren zur Detektion von metabolischen Defiziten im Gehirn durchgesetzt [77, 78]. Dieses stellt einen sensitiven Biomarker für neurodegenerative Erkrankungen dar, bei denen häufig ein Glukosehypometabolismus charakteristisch ist [79-81], und wird unter anderem zur Unterscheidung zwischen der Alzheimer Demenz und anderen Demenzformen eingesetzt [14]. Besonders relevant ist die frühzeitige Unterscheidung zwischen der leichten kognitiven Beeinträchtigung (MCI) und der Alzheimer Erkrankung, da hier Patienten bei früher therapeutischer Intervention den größten Nutzen erzielen [82, 83]. Dies könnte nach der klinischen Prüfung krankheitsmodifizierender Therapeutika einen noch größeren Einfluss auf deren Effektivität haben. Charakteristische Manifestationen des Glukosehypometabolismus in der Alzheimer Krankheit sind neben der

temporoparietalen Affektion insbesondere der posteriore cinguläre Cortex und Precuneus, die bei vergleichbaren neurodegenerativen Erkrankungen wie der Frontotemporalen Demenz, vaskulären Demenz oder Lewy-Body Demenz ausgespart bleiben [14]. Die Erfassung des zerebralen Glukosestoffwechsels findet zudem Verwendung im Therapiemonitoring als Biomarker [84] sowie in präklinischen Studien mit Mausmodellen des neurodegenerativen Formenkreises [44, 71, 85].

2.3 Formen von zerebraler Konnektivität

In der aktuellen Neurowissenschaft und klinischen Forschung neurodegenerativer Erkrankungen zeichnet sich ein Paradigmenwechsel ab, bei der die Erhebung von Beziehungen interregional verbundener Hirnregionen stärker in den Fokus rückt als die alleinige Darstellung der lokalen neuronalen Funktion [86, 87]. Es gibt verschiedene Formen der zerebralen Konnektivität, die mithilfe von radiologischen und nuklearmedizinischen bildgebenden Verfahren untersucht werden können. Dazu gehören die strukturelle, funktionelle und metabolische Konnektivität [86, 88, 89]. Jede Form der zerebralen Konnektivität bietet grundsätzlich einen facettenreichen Einblick in die Organisation und Funktion des Gehirns und kann bei der Untersuchung von Störungen und Erkrankungen des Gehirns als zusätzlicher Biomarker von Bedeutung sein [90].

2.3.1 Strukturelle und funktionelle Konnektivität

Die strukturelle Konnektivität bezieht sich auf die physischen Verbindungen zwischen verschiedenen Hirnregionen, die durch Fasern des Nervensystems, wie Axone, Dendriten und Synapsen, gebildet werden [91]. Strukturelle Konnektivität kann mit bildgebenden Verfahren wie der Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) untersucht werden [92]. Diese Technik nutzt die Bewegung von Wasser in den Fasern des Nervensystems, um die Richtung und Stärke der Verbindungen zwischen verschiedenen Hirnregionen zu kartieren [93]. Die strukturelle Konnektivität spielt eine wichtige Rolle bei der Organisation und Funktion des Gehirns [94]. Sie ermöglicht die Übertragung von Informationen zwischen verschiedenen Hirnregionen sowie die Koordination von kognitiven und motorischen Funktionen [95] und stellt somit die Voraussetzung für die funktionelle Konnektivität dar [96]. Störungen der strukturellen Konnektivität können zu kognitiven Beeinträchtigungen führen und bei neurologischen Erkrankungen wie der Schizophrenie [97], Autismus oder Alzheimer-Krankheit [98, 99] detektiert werden.

Die funktionelle Konnektivität ist eine weitere Form der zerebralen Konnektivität, die sich auf die synchronisierte Aktivität zwischen verschiedenen Hirnregionen während der Ausführung von Aufgaben oder in Ruhezuständen bezieht [100]. Sie ist ein statistisches

Maß für die Korrelation oder Kovariation zwischen funktionellen MRI-Signalen verschiedener verbundener Hirnregionen (fMRT) [101].

2.3.2 Metabolische Konnektivität

Die metabolische Konnektivität, erfasst durch ^{18}F -FDG-PET, stellt ein neuartiges Konzept und potenziellen Biomarker in der Erfassung neuronaler Netzwerke dar. Im Gegensatz zur strukturellen und funktionellen Konnektivität berechnet sich die metabolische Konnektivität des Gehirns hauptsächlich durch Analysen auf Gruppenebene, bei denen interregionale Korrelationen zwischen Hirnregionen verschiedener Individuen als Maß für die Konnektivität verwendet werden [86, 102]. Dabei kommt eine Vielzahl unterschiedlicher methodischer Ansätze zum Einsatz unter der Annahme, dass Regionen, deren Stoffwechsel untereinander korreliert, funktionell miteinander verbunden sind [88, 103]. Beispielsweise leiteten einige Studien metabolische Konnektivität unter Verwendung der „sparse inverse covariance estimation“ (SICE) [104] oder der „independent component analysis“ (ICA) ab [105], während in der vorliegenden Arbeit sowie in anderen Arbeiten Pearson Korrelationen eingesetzt wurden, um metabolische Konnektivität auf Gruppenebene zu erhalten [106, 107]. Wiederum andere Arbeiten untersuchten metabolische Netzwerke durch voxelweise Ansätze, in denen die Korrelation der ^{18}F -FDG Speicherung zwischen einem ausgewählten Seed, in der Regel ein Volume of interest (VOI) oder Voxel, und allen restlichen Voxel im Gehirn berechnet wird [108]. Insgesamt konnten vergleichbare Ergebnisse dieser Ansätze zu Netzwerkanalysen der resting state fMRI gezeigt werden [105, 109]. Eine häufig auftretende Problematik in der ^{18}F -FDG-PET Bildgebung zur Differenzierung neurodegenerativer Erkrankungen ist die mangelnde Spezifität. An dieser Stelle könnten Konnektivitätsanalysen eingreifen und durch den Nachweis krankheitsspezifischer Muster wichtige diagnostische Zusatzinformationen generieren. Dies konnte beispielsweise bereits für die Differenzierung dementieller Syndrome [106, 110], bei Prodromalstadien der Lewy-Body Demenz [111], bei FTD-Varianten [112] sowie bei der Parkinson Erkrankung [113] aufgezeigt werden.

2.4 Fragestellung und Zielsetzung

Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit bestand in der longitudinalen in vivo Beobachtung der Aktivität von Mikroglia-Zellen in transgenen Mausmodellen der FTD und AD mittels Kleintier Positronen-Emissions-Tomographie (μPET). Da unsere Forschungsgruppe kürzlich zeigen konnte, dass primär die mikrogliale Glukoseaufnahme das FDG-PET Signal beeinflusst [17] und dass sich bei gegensätzlicher Mikrogliaaktivierung in $\text{Grn}^{-/-}$ und $\text{Trem2}^{-/-}$ Tieren ein vergleichbarer Glukosehypometabolismus verglichen zum WT abgrenzen ließ [44], wurde mit dem Ziel, funktionelle Unterschiede in der FDG-PET aufzuzeigen, mit der metabolischen Konnektivität ein neuer Ansatz als Biomarker

exploriert. Zu diesem Zweck wurde zusätzlich zu den bereits publizierten Grn^{-/-} und Trem2^{-/-} Mausmodellen [44] eine Kreuzung beider Mauslinien Grn^{-/-}/Trem2^{-/-} etabliert [18] und die Auswirkung auf mikrogliale Aktivität und Glukosemetabolismus mittels PET-Bildgebung untersucht. Um den Glukosemetabolismus auf zellulärer Ebene abzubilden und die Auswirkungen auf metabolische Konnektivität auflösen zu können, erfolgte eine zelluläre Entzifferung des FDG-PET Signals mittels Cell Sorting nach in vivo Tacer Injektion (scRadiotracing) [114]. Zuletzt sollte der mikrogliale Einfluss auf metabolische Netzwerke mittels pharmakologischer Depletion von Mikroglia in WT-Mäusen aufgezeigt werden [17].

3. Paper I

Reifschneider, A., S. Robinson, B. van Lengerich, **J. Gnörich**, T. Logan, S. Heindl, M. A. Vogt, E. Weidinger, L. Riedl, K. Wind, A. Zatcepin, I. Pesamaa, S. Haberl, B. Nusscher, G. Kleinberger, J. Klimmt, J. K. Gotzl, A. Liesz, K. Burger, M. Brendel, J. Levin, J. Diehl-Schmid, J. Suh, G. Di Paolo, J. W. Lewcock, K. M. Monroe, D. Paquet, A. Capell, and C. Haass. "Loss of Trem2 Rescues Hyperactivation of Microglia, but Not Lysosomal Deficits and Neurotoxicity in Models of Progranulin Deficiency." *EMBO J* 41, no. 4 (Feb 15 2022): e109108. <https://dx.doi.org/10.15252/emj.2021109108>.

4. Paper II

Gnorich, J., A. Reifschneider, K. Wind, A. Zatcepin, S. T. Kunte, P. Beumers, L. M. Bartos, T. Wiedemann, M. Grosch, X. Xiang, M. K. Fard, F. Ruch, G. Werner, M. Koehler, L. Slemann, S. Hummel, N. Briel, T. Blume, Y. Shi, G. Biechele, L. Beyer, F. Eckenweber, M. Scheifele, P. Bartenstein, N. L. Albert, J. Herms, S. Tahirovic, C. Haass, A. Capell, S. Ziegler, and M. Brendel. "Depletion and Activation of Microglia Impact Metabolic Connectivity of the Mouse Brain." *J Neuroinflammation* 20, no. 1 (Feb 24 2023): 47. <https://dx.doi.org/10.1186/s12974-023-02735-8>.

5. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war der Vergleich von Mikrogliaaktivierung, Glukoseaufnahme und metabolischer Konnektivität in Mausmodellen mit unterschiedlichen Mikroglia-Phänotypen einschließlich WT-Mäusen mit depletierter Mikroglia.

Zunächst wurde ein doppeltes Knockout-Mausmodell ($\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$) mittels Kreuzung von $\text{Grn}^{-/-}$ Mäusen mit $\text{Trem2}^{-/-}$ Mäusen etabliert, um zu untersuchen, ob eine Reduktion der Trem2-Funktion die mikrogliale Hyperaktivierung in $\text{Grn}^{-/-}$ Mäusen abmildern kann. In Übereinstimmung mit früheren Daten unserer Forschungsgruppe bestätigte sich eine stark erhöhte TSPO-Expression im Gehirn von $\text{Grn}^{-/-}$ Mäusen und eine verringerte Mikrogliaaktivierung im Gehirn von $\text{Trem2}^{-/-}$ Mäusen im Vergleich zu WT-Mäusen. Die Untersuchung von $\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$ Mäusen ergab eine ausgeglichene TSPO-Expression im Vergleich zu WT und eine verringerte GE180-Aufnahme im Vergleich zu $\text{Grn}^{-/-}$ Mäusen. Dieser Befund deutet darauf hin, dass ein zusätzlicher Trem2-Mangel die Hyperaktivierung der Mikroglia in $\text{Grn}^{-/-}$ Mäusen erfolgreich dämpft.

Die Daten bestätigten auch frühere Ergebnisse, die auf eine verringerte FDG-Aufnahme bei Vorhandensein hyperaktiver Mikroglia ($\text{Grn}^{-/-}$) und in einem homöostatischen Zustand befindlicher Mikroglia ($\text{Trem2}^{-/-}$) hinwiesen. Daraus resultierte die Frage, ob das gleichzeitige Defizit von Grn und Trem2 im gekreuztem Mausmodell die Glukoseaufnahme in vivo beeinflusst. Erstaunlicherweise zeigten $\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$ Mäuse ebenfalls eine verringerte Glukoseaufnahme, wobei die Reduktion dem Level in $\text{Grn}^{-/-}$ und $\text{Trem2}^{-/-}$ Tieren entsprach.

Im nächsten Schritt wurden die interregionalen Korrelationskoeffizienten (ICC) mittels FDG-PET in jeder der oben beschriebenen Mauslinien bestimmt, um die Auswirkungen der Mikroglia auf die metabolische Konnektivität zu untersuchen. Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass die metabolische Konnektivität erheblich in der $\text{Grn}^{-/-}$ Kohorte zunahm, während sie bei $\text{Trem2}^{-/-}$ im Vergleich zu WT-Mäusen unverändert blieb. Der simultane Funktionsverlust von Grn und Trem2 führte zu einer Annäherung der metabolischen Netzwerke zum WT im Gegensatz zu Mäusen mit alleiniger $\text{Grn}^{-/-}$ Mutation.

Da die absolute FDG-Aufnahme eine Zusammensetzung der Glukosespeicherung aller einzelnen Gehirnzellen einschließlich Neuronen, Astrozyten und Mikroglia ist, wurde Cell Sorting nach in vivo Tracerinjektion (scRadiotracing) eingesetzt, um die bisher unbekannt zellulären Quellen der metabolischen Konnektivität zu eruieren. Dieser Versuchsaufbau zeigte einen wesentlichen Abfall der neuronalen FDG-Aufnahme, aber eine konstante mikrogliale und astrogliale FDG-Aufnahme bei $\text{Grn}^{-/-}$ im Vergleich zu WT-Mäusen. Darüber hinaus wurde mittels Immunoblot eine 1,5-fache Proliferation von Mikroglia in Grn-defizienten Mäusen durch eine signifikante Erhöhung der CD11b-Expression nachgewiesen. Die Anzahl der Astrozyten hingegen blieb im Vergleich zu

WT-Mäusen durch den Nachweis des indifferenten Astrozytenmarkers Glutamin-Synthetase unverändert. Somit zeigte sich eine hohe metabolische Konnektivität, wenn die zelluläre Quelle der FDG-Aufnahme durch Mikroglia dominiert war.

Um den Einfluss der Mikroglia auf die metabolische Konnektivität zu beweisen, wurde schließlich eine pharmakologische Depletion der Mikroglia durch Verabreichung des CSF1R-Inhibitors PLX5622 bei WT-Mäusen durchgeführt. 96 % der Mikroglia im Kortex wurden erfolgreich entfernt, was durch Immunfärbung bestätigt wurde. Entsprechend der Hypothese führte eine annähernde Auslöschung der Mikroglia zu einer starken Verringerung der metabolischen Konnektivität in zwei unabhängigen untersuchten Kohorten im Vergleich zu den nicht behandelten WT-Kontrollen.

Zusammenfassend liefern diese Ergebnisse den ersten Nachweis, dass primär Mikroglia und ihr Aktivierungszustand für Alterationen der metabolischen Netzwerke im Gehirn von Mäusen verantwortlich sind. Ergänzende Analysen der metabolischen Konnektivität zusätzlich zur herkömmlichen regionalen Auswertung der FDG-PET können somit wertvolle Informationen zu gestörten Verhältnissen der zellulären FDG-Aufnahme liefern.

6. Abstract

In this work, microglial activation, glucose uptake, and metabolic connectivity in mouse models with distinct microglia phenotypes, as well as in microglial depleted WT mice were examined.

Initially, a double knockout mouse model ($\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$) was established by crossing $\text{Grn}^{-/-}$ mice with $\text{Trem2}^{-/-}$ mice to evaluate whether reduction of Trem2 function can ameliorate microglial hyperactivation in $\text{Grn}^{-/-}$ mice. In line with previous data from our research group, a severe elevation of TSPO expression in the brain of $\text{Grn}^{-/-}$ mice and reduced microglial activation in the brain of $\text{Trem2}^{-/-}$ mice when compared to WT mice were confirmed. Investigation of $\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$ mice revealed balanced TSPO expression compared to WT and decreased ^{18}F -GE-180-uptake when compared to $\text{Grn}^{-/-}$ mice. This finding suggests that additional Trem2 deficiency successfully dampens hyperactivation of microglia in $\text{Grn}^{-/-}$ mice.

These data also confirmed our previous findings indicating reduced FDG-uptake in presence of hyperactive microglia ($\text{Grn}^{-/-}$) and microglia that are locked in a homeostatic state ($\text{Trem2}^{-/-}$). We further questioned if the simultaneous deficit of Grn and Trem2 affects glucose uptake in vivo. Astonishingly, $\text{Grn}^{-/-}/\text{Trem2}^{-/-}$ mice depicted an indistinguishable diminished glucose uptake as observed in $\text{Grn}^{-/-}$ and $\text{Trem2}^{-/-}$ mice.

Next, assessment of interregional correlation coefficients (ICC) via FDG-PET was performed in each of the above-described mouse lines to test for microglial impact on metabolic connectivity. Indeed, metabolic connectivity was strongly altered in $\text{Grn}^{-/-}$ but unchanged in $\text{Trem2}^{-/-}$ compared to WT mice. The simultaneous loss of function in Grn and Trem2 deficient mice showed ameliorated metabolic network changes compared to solely $\text{Grn}^{-/-}$ mice.

Since total FDG uptake is a composite of all brain cells including neurons, astrocytes, and microglia we applied cell sorting after in vivo tracer injection (scRadiotracing) to evaluate the hitherto unknown cellular sources of metabolic connectivity. Cell sorting and consecutive measures of radioactivity per single cell revealed a striking reduction of neuronal FDG uptake but similar microglial and astroglial FDG uptake in $\text{Grn}^{-/-}$ when compared to WT mice. Furthermore, a 1,5-fold higher cellular abundance of microglia in Grn deficient mice was depicted via immunoblot by significant elevation of CD11b expression. In contrast, the number of astrocytes remained unchanged compared to WT mice as detected by the indifferent astrocyte marker glutamine synthetase.

Finally, to show the influence of microglia on metabolic connectivity, pharmacological depletion of microglia by administration of the CSF1R Inhibitor PLX5622 was applied in WT mice. 96% of microglia in the cortex were successfully depleted, which was confirmed by immunostaining. As hypothesized, sufficient eradication of microglia led to

a severe reduction of metabolic connectivity in both cohorts examined when compared to vehicle-treated WT mice.

Taken together, these findings provide first evidence in rodents that mainly microglia and their activation state are responsible for alterations of metabolic networks in the mouse brain. Complementary analysis of metabolic connectivity, in addition to conventional regional evaluation of FDG PET, can thus provide valuable information on disturbed conditions of cellular FDG uptake.

7. Literaturverzeichnis

1. Hardy, J.A., and G.A. Higgins, *Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis*. Science, 1992. **256**(5054): p. 184-5.
2. Selkoe, D.J., and J. Hardy, *The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years*. EMBO Mol Med, 2016. **8**(6): p. 595-608.
3. Braak, H., and E. Braak, *Demonstration of amyloid deposits and neurofibrillary changes in whole brain sections*. Brain Pathol, 1991. **1**(3): p. 213-6.
4. Gotzl, J.K., C.M. Lang, C. Haass, and A. Capell, *Impaired protein degradation in FTLD and related disorders*. Ageing Res Rev, 2016. **32**: p. 122-139.
5. Ransohoff, R.M., *How neuroinflammation contributes to neurodegeneration*. Science, 2016. **353**(6301): p. 777-83.
6. Hong, S., L. Dissing-Olesen, and B. Stevens, *New insights on the role of microglia in synaptic pruning in health and disease*. Curr Opin Neurobiol, 2016. **36**: p. 128-34.
7. Heneka, M.T., M.J. Carson, J. El Khoury, G.E. Landreth, F. Brosseron, D.L. Feinstein, A.H. Jacobs, T. Wyss-Coray, J. Vitorica, R.M. Ransohoff, K. Herrup, S.A. Frautschy, B. Finsen, G.C. Brown, A. Verkhratsky, K. Yamanaka, J. Koistinaho, E. Latz, A. Halle, G.C. Petzold, T. Town, D. Morgan, M.L. Shinohara, V.H. Perry, C. Holmes, N.G. Bazan, D.J. Brooks, S. Hunot, B. Joseph, N. Deigendesch, O. Garaschuk, E. Boddeke, C.A. Dinarello, J.C. Breitner, G.M. Cole, D.T. Golenbock, and M.P. Kummer, *Neuroinflammation in Alzheimer's disease*. Lancet Neurol, 2015. **14**(4): p. 388-405.
8. Deczkowska, A., A. Weiner, and I. Amit, *The Physiology, Pathology, and Potential Therapeutic Applications of the TREM2 Signaling Pathway*. Cell, 2020. **181**(6): p. 1207-1217.
9. Lewcock, J.W., K. Schlepckow, G. Di Paolo, S. Tahirovic, K.M. Monroe, and C. Haass, *Emerging Microglia Biology Defines Novel Therapeutic Approaches for Alzheimer's Disease*. Neuron, 2020. **108**(5): p. 801-821.
10. Stefaniak, J., and J. O'Brien, *Imaging of neuroinflammation in dementia: a review*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2016. **87**(1): p. 21-8.
11. Ballweg, A., C. Klaus, L. Vogler, S. Katzdobler, K. Wind, A. Zatcepin, S.I. Ziegler, B. Secgin, F. Eckenweber, B. Bohr, A. Bernhardt, U. Fietzek, B.-S. Rauchmann, S. Stoecklein, S. Quach, L. Beyer, M. Scheifele, M. Simmet, E. Joseph, S. Lindner, I. Berg, N. Koglin, A. Mueller, A.W. Stephens, P. Bartenstein, J.C. Tonn, N.L. Albert, T. Kümpfel, M. Kerschensteiner, R. Perneczky, J. Levin, L. Paeger, J. Herms, and M. Brendel, *[¹⁸F]F-DED PET imaging of reactive astrogliosis in neurodegenerative diseases: preclinical proof of concept and first-in-human data*. Journal of Neuroinflammation, 2023. **20**(1): p. 68.
12. Warnock, G.I., J. Aerts, M.A. Bahri, F. Bretin, C. Lemaire, F. Giacomelli, F. Mievis, N. Mestdagh, T. Buchanan, A. Valade, J. Mercier, M. Wood, M. Gillard, A. Seret, A. Luxen, E. Salmon, and A. Plenevaux, *Evaluation of ¹⁸F-UCB-H as a Novel PET Tracer for Synaptic Vesicle Protein 2A in the Brain*. Journal of Nuclear Medicine, 2014. **55**(8): p. 1336-1341.

-
13. Bohnen, N.I., D.S.W. Djang, K. Herholz, Y. Anzai, and S. Minoshima, *Effectiveness and Safety of ¹⁸F-FDG PET in the Evaluation of Dementia: A Review of the Recent Literature*. Journal of Nuclear Medicine, 2012. **53**(1): p. 59-71.
 14. Tripathi, M., M. Tripathi, N. Damle, S. Kushwaha, A. Jaimini, M.M. D'Souza, R. Sharma, S. Saw, and A. Mondal, *Differential diagnosis of neurodegenerative dementias using metabolic phenotypes on F-18 FDG PET/CT*. Neuroradiol J, 2014. **27**(1): p. 13-21.
 15. Foster, N.L., J.L. Heidebrink, C.M. Clark, W.J. Jagust, S.E. Arnold, N.R. Barbas, C.S. DeCarli, R. Scott Turner, R.A. Koeppe, R. Higdon, and S. Minoshima, *FDG-PET improves accuracy in distinguishing frontotemporal dementia and Alzheimer's disease*. Brain, 2007. **130**(10): p. 2616-2635.
 16. Rocher, A.B., F. Chapon, X. Blaizot, J.-C. Baron, and C. Chavoix, *Resting-state brain glucose utilization as measured by PET is directly related to regional synaptophysin levels: a study in baboons*. NeuroImage, 2003. **20**(3): p. 1894-1898.
 17. Xiang, X., K. Wind, T. Wiedemann, T. Blume, Y. Shi, N. Briel, L. Beyer, G. Biechele, F. Eckenweber, A. Zatcepin, S. Lammich, S. Ribicic, S. Tahirovic, M. Willem, M. Deussing, C. Palleis, B.S. Rauchmann, F.J. Gildehaus, S. Lindner, C. Spitz, N. Franzmeier, K. Baumann, A. Rominger, P. Bartenstein, S. Ziegler, A. Drzezga, G. Respondek, K. Buerger, R. Perneczky, J. Levin, G.U. Hoglinger, J. Herms, C. Haass, and M. Brendel, *Microglial activation states drive glucose uptake and FDG-PET alterations in neurodegenerative diseases*. Sci Transl Med, 2021. **13**(615): p. eabe5640.
 18. Reifschneider, A., S. Robinson, B. van Lengerich, J. Gnorich, T. Logan, S. Heindl, M.A. Vogt, E. Weidinger, L. Riedl, K. Wind, A. Zatcepin, I. Pesamaa, S. Haberl, B. Nuscher, G. Kleinberger, J. Klimmt, J.K. Gotzl, A. Liesz, K. Burger, M. Brendel, J. Levin, J. Diehl-Schmid, J. Suh, G. Di Paolo, J.W. Lewcock, K.M. Monroe, D. Paquet, A. Capell, and C. Haass, *Loss of TREM2 rescues hyperactivation of microglia, but not lysosomal deficits and neurotoxicity in models of progranulin deficiency*. EMBO J, 2022. **41**(4): p. e109108.
 19. Gnorich, J., A. Reifschneider, K. Wind, A. Zatcepin, S.T. Kunte, P. Beumers, L.M. Bartos, T. Wiedemann, M. Grosch, X. Xiang, M.K. Fard, F. Ruch, G. Werner, M. Koehler, L. Slemann, S. Hummel, N. Briel, T. Blume, Y. Shi, G. Biechele, L. Beyer, F. Eckenweber, M. Scheifele, P. Bartenstein, N.L. Albert, J. Herms, S. Tahirovic, C. Haass, A. Capell, S. Ziegler, and M. Brendel, *Depletion and activation of microglia impact metabolic connectivity of the mouse brain*. J Neuroinflammation, 2023. **20**(1): p. 47.
 20. Li, Q., and B.A. Barres, *Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease*. Nat Rev Immunol, 2018. **18**(4): p. 225-242.
 21. Wolf, S.A., H.W. Boddeke, and H. Kettenmann, *Microglia in Physiology and Disease*. Annu Rev Physiol, 2017. **79**: p. 619-643.
 22. Nayak, D., T.L. Roth, and D.B. McGavern, *Microglia Development and Function*. Annual Review of Immunology, 2014. **32**(1): p. 367-402.
 23. Aguzzi, A., B.A. Barres, and M.L. Bennett, *Microglia: scapegoat, saboteur, or something else?* Science, 2013. **339**(6116): p. 156-61.

-
24. Ginhoux, F., S. Lim, G. Hoeffel, D. Low, and T. Huber, *Origin and differentiation of microglia*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2013. **7**.
 25. Kreutzberg, G.W., *Microglia: a sensor for pathological events in the CNS*. *Trends Neurosci*, 1996. **19**(8): p. 312-8.
 26. Ransohoff, R.M., and V.H. Perry, *Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses*. *Annu Rev Immunol*, 2009. **27**: p. 119-45.
 27. Hickman, S.E., and J. El Khoury, *TREM2 and the neuroimmunology of Alzheimer's disease*. *Biochem Pharmacol*, 2014. **88**(4): p. 495-8.
 28. He, Z., and A. Bateman, *Progranulin (granulin-epithelin precursor, PC-cell-derived growth factor, acrogranin) mediates tissue repair and tumorigenesis*. *Journal of Molecular Medicine*, 2003. **81**(10): p. 600-612.
 29. Bouchon, A., C. Hernández-Munain, M. Cella, and M. Colonna, *A Dap12-Mediated Pathway Regulates Expression of Cc Chemokine Receptor 7 and Maturation of Human Dendritic Cells*. *Journal of Experimental Medicine*, 2001. **194**(8): p. 1111-1122.
 30. Humphrey, M.B., M.R. Daws, S.C. Spusta, E.C. Niemi, J.A. Torchia, L.L. Lanier, W.E. Seaman, and M.C. Nakamura, *TREM2, a DAP12-associated receptor, regulates osteoclast differentiation and function*. *J Bone Miner Res*, 2006. **21**(2): p. 237-45.
 31. Gonçalves, L.A., L. Rodrigues-Duarte, J. Rodo, L. Vieira de Moraes, I. Marques, and C. Penha-Gonçalves, *TREM2 governs Kupffer cell activation and explains belr1 genetic resistance to malaria liver stage infection*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013. **110**(48): p. 19531-6.
 32. Wu, K., D.E. Byers, X. Jin, E. Agapov, J. Alexander-Brett, A.C. Patel, M. Cella, S. Gilfilan, M. Colonna, D.L. Kober, T.J. Brett, and M.J. Holtzman, *TREM-2 promotes macrophage survival and lung disease after respiratory viral infection*. *J Exp Med*, 2015. **212**(5): p. 681-97.
 33. Forabosco, P., A. Ramasamy, D. Trabzuni, R. Walker, C. Smith, J. Bras, A.P. Levine, J. Hardy, J.M. Pockock, R. Guerreiro, M.E. Weale, and M. Ryten, *Insights into TREM2 biology by network analysis of human brain gene expression data*. *Neurobiology of Aging*, 2013. **34**(12): p. 2699-2714.
 34. Neumann, H., and K. Takahashi, *Essential role of the microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM2) for central nervous tissue immune homeostasis*. *Journal of Neuroimmunology*, 2007. **184**(1): p. 92-99.
 35. Kleinberger, G., Y. Yamanishi, M. Suárez-Calvet, E. Czirr, E. Lohmann, E. Cuyvers, H. Struyfs, N. Pettkus, A. Wenninger-Weinzierl, F. Mazaheri, S. Tahirovic, A. Lleó, D. Alcolea, J. Fortea, M. Willem, S. Lammich, J.L. Molinuevo, R. Sánchez-Valle, A. Antonell, A. Ramirez, M.T. Heneka, K. Sleegers, J. van der Zee, J.J. Martin, S. Engelborghs, A. Demirtas-Tatlidede, H. Zetterberg, C. Van Broeckhoven, H. Gurvit, T. Wyss-Coray, J. Hardy, M. Colonna, and C. Haass, *TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis*. *Sci Transl Med*, 2014. **6**(243): p. 243ra86.
 36. Cuyvers, E., K. Bettens, S. Philtjens, T. Van Langenhove, I. Gijssels, J. van der Zee, S. Engelborghs, M. Vandenbulcke, J. Van Dongen, N. Geerts, G. Maes, M. Mattheijssens, K. Peeters, P. Cras, R. Vandenberghe, P.P. De Deyn, C. Van Broeckhoven, M. Cruts, and K. Sleegers, *Investigating the role of rare*

-
- heterozygous TREM2 variants in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia*. *Neurobiol Aging*, 2014. **35**(3): p. 726.e11-9.
37. Guerreiro, R., A. Wojtas, J. Bras, M. Carrasquillo, E. Rogaeva, E. Majounie, C. Cruchaga, C. Sassi, J.S. Kauwe, S. Younkin, L. Hazrati, J. Collinge, J. Pocock, T. Lashley, J. Williams, J.C. Lambert, P. Amouyel, A. Goate, R. Rademakers, K. Morgan, J. Powell, P. St George-Hyslop, A. Singleton, and J. Hardy, *TREM2 variants in Alzheimer's disease*. *N Engl J Med*, 2013. **368**(2): p. 117-27.
 38. Borroni, B., F. Ferrari, D. Galimberti, B. Nacmias, C. Barone, S. Bagnoli, C. Fenoglio, I. Piaceri, S. Archetti, C. Bonvicini, M. Gennarelli, M. Turla, E. Scarpini, S. Sorbi, and A. Padovani, *Heterozygous TREM2 mutations in frontotemporal dementia*. *Neurobiol Aging*, 2014. **35**(4): p. 934.e7-10.
 39. Rayaprolu, S., B. Mullen, M. Baker, T. Lynch, E. Finger, W.W. Seeley, K.J. Hatanpaa, C. Lomen-Hoerth, A. Kertesz, E.H. Bigio, C. Lippa, K.A. Josephs, D.S. Knopman, C.L. White, 3rd, R. Caselli, I.R. Mackenzie, B.L. Miller, M. Boczarska-Jedynak, G. Opala, A. Krygowska-Wajs, M. Barcikowska, S.G. Younkin, R.C. Petersen, N. Ertekin-Taner, R.J. Uitti, J.F. Meschia, K.B. Boylan, B.F. Boeve, N.R. Graff-Radford, Z.K. Wszolek, D.W. Dickson, R. Rademakers, and O.A. Ross, *TREM2 in neurodegeneration: evidence for association of the p.R47H variant with frontotemporal dementia and Parkinson's disease*. *Mol Neurodegener*, 2013. **8**: p. 19.
 40. Baker, M., I.R. Mackenzie, S.M. Pickering-Brown, J. Gass, R. Rademakers, C. Lindholm, J. Snowden, J. Adamson, A.D. Sadovnick, S. Rollinson, A. Cannon, E. Dwoish, D. Neary, S. Melquist, A. Richardson, D. Dickson, Z. Berger, J. Eriksen, T. Robinson, C. Zehr, C.A. Dickey, R. Crook, E. McGowan, D. Mann, B. Boeve, H. Feldman, and M. Hutton, *Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17*. *Nature*, 2006. **442**(7105): p. 916-9.
 41. Cruts, M., I. Gijselink, J. van der Zee, S. Engelborghs, H. Wils, D. Pirici, R. Rademakers, R. Vandenberghe, B. Dermaut, J.J. Martin, C. van Duijn, K. Peeters, R. Sciot, P. Santens, T. De Pooter, M. Mattheijssens, M. Van den Broeck, I. Cuijt, K. Vennekens, P.P. De Deyn, S. Kumar-Singh, and C. Van Broeckhoven, *Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21*. *Nature*, 2006. **442**(7105): p. 920-4.
 42. Smith, K.R., J. Damiano, S. Franceschetti, S. Carpenter, L. Canafoglia, M. Morbin, G. Rossi, D. Pareyson, S.E. Mole, J.F. Staropoli, K.B. Sims, J. Lewis, W.L. Lin, D.W. Dickson, H.H. Dahl, M. Bahlo, and S.F. Berkovic, *Strikingly different clinicopathological phenotypes determined by progranulin-mutation dosage*. *Am J Hum Genet*, 2012. **90**(6): p. 1102-7.
 43. Almeida, S., F. Gao, G. Coppola, and F.B. Gao, *Suberoylanilide hydroxamic acid increases progranulin production in iPSC-derived cortical neurons of frontotemporal dementia patients*. *Neurobiol Aging*, 2016. **42**: p. 35-40.
 44. Gotz, J.K., M. Brendel, G. Werner, S. Parhizkar, L. Sebastian Monasor, G. Kleinberger, A.V. Colombo, M. Deussing, M. Wagner, J. Winkelmann, J. Diehl-Schmid, J. Levin, K. Fellerer, A. Reifschneider, S. Bultmann, P. Bartenstein, A. Rominger, S. Tahirovic, S.T. Smith, C. Madore, O. Butovsky, A. Capell, and C. Haass, *Opposite microglial activation stages upon loss of PGRN or TREM2 result in reduced cerebral glucose metabolism*. *EMBO Mol Med*, 2019. **11**(6).

-
45. Mazaheri, F., N. Snaidero, G. Kleinberger, C. Madore, A. Daria, G. Werner, S. Krasemann, A. Capell, D. Trümbach, W. Wurst, B. Brunner, S. Bultmann, S. Tahirovic, M. Kerschensteiner, T. Misgeld, O. Butovsky, and C. Haass, *TREM2 deficiency impairs chemotaxis and microglial responses to neuronal injury*. *EMBO Rep*, 2017. **18**(7): p. 1186-1198.
46. Keren-Shaul, H., 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*, 2017. **169**(7): p. 1276-1290.e17.
47. Martens, L.H., J. Zhang, S.J. Barmada, P. Zhou, S. Kamiya, B. Sun, S.W. Min, L. Gan, S. Finkbeiner, E.J. Huang, and R.V. Farese, Jr., *Progranulin deficiency promotes neuroinflammation and neuron loss following toxin-induced injury*. *J Clin Invest*, 2012. **122**(11): p. 3955-9.
48. Lui, H., J. Zhang, S.R. Makinson, M.K. Cahill, K.W. Kelley, H.Y. Huang, Y. Shang, M.C. Oldham, L.H. Martens, F. Gao, G. Coppola, S.A. Sloan, C.L. Hsieh, C.C. Kim, E.H. Bigio, S. Weintraub, M.M. Mesulam, R. Rademakers, I.R. Mackenzie, W.W. Seeley, A. Karydas, B.L. Miller, B. Borroni, R. Ghidoni, R.V. Farese, Jr., J.T. Paz, B.A. Barres, and E.J. Huang, *Progranulin Deficiency Promotes Circuit-Specific Synaptic Pruning by Microglia via Complement Activation*. *Cell*, 2016. **165**(4): p. 921-35.
49. Lambert, J.C., C.A. Ibrahim-Verbaas, D. Harold, A.C. Naj, R. Sims, C. Bellenguez, A.L. DeStafano, J.C. Bis, G.W. Beecham, B. Grenier-Boley, G. Russo, T.A. Thornton-Wells, N. Jones, A.V. Smith, V. Chouraki, C. Thomas, M.A. Ikram, D. Zelenika, B.N. Vardarajan, Y. Kamatani, C.F. Lin, A. Gerrish, H. Schmidt, B. Kunkle, M.L. Dunstan, A. Ruiz, M.T. Bihoreau, S.H. Choi, C. Reitz, F. Pasquier, C. Cruchaga, D. Craig, N. Amin, C. Berr, O.L. Lopez, P.L. De Jager, V. Deramecourt, J.A. Johnston, D. Evans, S. Lovestone, L. Letenneur, F.J. Morón, D.C. Rubinsztein, G. Eiriksdottir, K. Sleegers, A.M. Goate, N. Févet, M.W. Huentelman, M. Gill, K. Brown, M.I. Kamboh, L. Keller, P. Barberger-Gateau, B. McGuinness, E.B. Larson, R. Green, A.J. Myers, C. Dufouil, S. Todd, D. Wallon, S. Love, E. Rogaeva, J. Gallacher, P. St George-Hyslop, J. Clarimon, A. Lleo, A. Bayer, D.W. Tsuang, L. Yu, M. Tsolaki, P. Bossù, G. Spalletta, P. Proitsi, J. Collinge, S. Sorbi, F. Sanchez-Garcia, N.C. Fox, J. Hardy, M.C. Deniz Naranjo, P. Bosco, R. Clarke, C. Brayne, D. Galimberti, M. Mancuso, F. Matthews, S. Moebus, P. Mecocci, M. Del Zompo, W. Maier, H. Hampel, A. Pilotto, M. Bullido, F. Panza, P. Caffarra, B. Nacmias, J.R. Gilbert, M. Mayhaus, L. Lannefelt, H. Hakonarson, S. Pichler, M.M. Carrasquillo, M. Ingelsson, D. Beekly, V. Alvarez, F. Zou, O. Valladares, S.G. Younkin, E. Coto, K.L. Hamilton-Nelson, W. Gu, C. Razquin, P. Pastor, I. Mateo, M.J. Owen, K.M. Faber, P.V. Jonsson, O. Combarros, M.C. O'Donovan, L.B. Cantwell, H. Soininen, D. Blacker, S. Mead, T.H. Mosley, Jr., D.A. Bennett, T.B. Harris, L. Fratiglioni, C. Holmes, R.F. de Bruijn, P. Passmore, T.J. Montine, K. Bettens, J.I. Rotter, A. Brice, K. Morgan, T.M. Foroud, W.A. Kukull, D. Hannequin, J.F. Powell, M.A. Nalls, K. Ritchie, K.L. Lunetta, J.S. Kauwe, E. Boerwinkle, M. Riemenschneider, M. Boada, M. Hiltunen, E.R. Martin, R. Schmidt, D. Rujescu, L.S. Wang, J.F. Dartigues, R. Mayeux, C. Tzourio, A. Hofman, M.M. Nöthen, C. Graff, B.M. Psaty, L. Jones, J.L. Haines, P.A. Holmans, M. Lathrop, M.A. Pericak-Vance, L.J. Launer, L.A. Farrer, C.M. van Duijn, C. Van Broeckhoven, V. Moskvina, S. Seshadri, J. Williams, G.D.

-
- Schellenberg, and P. Amouyel, *Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease*. Nat Genet, 2013. **45**(12): p. 1452-8.
50. Frank, S., G.J. Burbach, M. Bonin, M. Walter, W. Streit, I. Bechmann, and T. Deller, *TREM2 is upregulated in amyloid plaque-associated microglia in aged APP23 transgenic mice*. Glia, 2008. **56**(13): p. 1438-47.
51. Pereson, S., H. Wils, G. Kleinberger, E. McGowan, M. Vandewoestyne, B. Van Broeck, G. Joris, I. Cuijt, D. Deforce, M. Hutton, C. Van Broeckhoven, and S. Kumar-Singh, *Progranulin expression correlates with dense-core amyloid plaque burden in Alzheimer disease mouse models*. J Pathol, 2009. **219**(2): p. 173-81.
52. Meilandt, W.J., H. Ngu, A. Gogineni, G. Lalehzadeh, S.H. Lee, K. Srinivasan, J. Imperio, T. Wu, M. Weber, A.J. Kruse, K.L. Stark, P. Chan, M. Kwong, Z. Modrusan, B.A. Friedman, J. Elstrott, O. Foreman, A. Easton, M. Sheng, and D.V. Hansen, *Trem2 Deletion Reduces Late-Stage Amyloid Plaque Accumulation, Elevates the A β 42:A β 40 Ratio, and Exacerbates Axonal Dystrophy and Dendritic Spine Loss in the PS2APP Alzheimer's Mouse Model*. J Neurosci, 2020. **40**(9): p. 1956-1974.
53. Parhizkar, S., T. Arzberger, M. Brendel, G. Kleinberger, M. Deussing, C. Focke, B. Nuscher, M. Xiong, A. Ghasemigharagoz, N. Katzmarski, S. Krasemann, S.F. Lichtenthaler, S.A. Müller, A. Colombo, L.S. Monasor, S. Tahirovic, J. Herms, M. Willem, N. Pettkus, O. Butovsky, P. Bartenstein, D. Edbauer, A. Rominger, A. Ertürk, S.A. Grathwohl, J.J. Neher, D.M. Holtzman, M. Meyer-Luehmann, and C. Haass, *Loss of TREM2 function increases amyloid seeding but reduces plaque-associated ApoE*. Nat Neurosci, 2019. **22**(2): p. 191-204.
54. Jay, T.R., C.M. Miller, P.J. Cheng, L.C. Graham, S. Bemiller, M.L. Broihier, G. Xu, D. Margevicius, J.C. Karlo, G.L. Sousa, A.C. Cotleur, O. Butovsky, L. Bekris, S.M. Staugaitis, J.B. Leverenz, S.W. Pimplikar, G.E. Landreth, G.R. Howell, R.M. Ransohoff, and B.T. Lamb, *TREM2 deficiency eliminates TREM2+ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models*. J Exp Med, 2015. **212**(3): p. 287-95.
55. Wang, Y., M. Cella, K. Mallinson, J.D. Ulrich, K.L. Young, M.L. Robinette, S. Gilfillan, G.M. Krishnan, S. Sudhakar, B.H. Zinselmeyer, D.M. Holtzman, J.R. Cirrito, and M. Colonna, *TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model*. Cell, 2015. **160**(6): p. 1061-71.
56. Butovsky, O., and H.L. Weiner, *Microglial signatures and their role in health and disease*. Nat Rev Neurosci, 2018. **19**(10): p. 622-635.
57. Schlepckow, K., K.M. Monroe, G. Kleinberger, L. Cantuti-Castelvetri, S. Parhizkar, D. Xia, M. Willem, G. Werner, N. Pettkus, B. Brunner, A. Sülzen, B. Nuscher, H. Hampel, X. Xiang, R. Feederle, S. Tahirovic, J.I. Park, R. Prorok, C. Mahon, C.C. Liang, J. Shi, D.J. Kim, H. Sabelström, F. Huang, G. Di Paolo, M. Simons, J.W. Lewcock, and C. Haass, *Enhancing protective microglial activities with a dual function TREM2 antibody to the stalk region*. EMBO Mol Med, 2020. **12**(4): p. e11227.
58. Fassler, M., M.S. Rappaport, C.B. Cuño, and J. George, *Engagement of TREM2 by a novel monoclonal antibody induces activation of microglia and improves cognitive function in Alzheimer's disease models*. J Neuroinflammation, 2021. **18**(1): p. 19.

-
59. van Lengerich, B., L. Zhan, D. Xia, D. Chan, D. Joy, J.I. Park, D. Tatarakis, M. Calvert, S. Hummel, S. Lianoglou, M.E. Pizzo, R. Prorok, E. Thomsen, L.M. Bartos, P. Beumers, A. Capell, S.S. Davis, L. de Weerd, J.C. Dugas, J. Duque, T. Earr, K. Gadkar, T. Giese, A. Gill, J. Gnörich, C. Ha, M. Kannuswamy, D.J. Kim, S.T. Kunte, L.H. Kunze, D. Lac, K. Lechtenberg, A.W.-S. Leung, C.-C. Liang, I. Lopez, P. McQuade, A. Modi, V.O. Torres, H.N. Nguyen, I. Pesämaa, N. Propson, M. Reich, Y. Robles-Colmenares, K. Schlepckow, L. Slemann, H. Solanoy, J.H. Suh, R.G. Thorne, C. Vieira, K. Wind-Mark, K. Xiong, Y.J.Y. Zuchero, D. Diaz, M.S. Dennis, F. Huang, K. Searce-Levie, R.J. Watts, C. Haass, J.W. Lewcock, G. Di Paolo, M. Brendel, P.E. Sanchez, and K.M. Monroe, *A TREM2-activating antibody with a blood–brain barrier transport vehicle enhances microglial metabolism in Alzheimer’s disease models*. *Nature Neuroscience*, 2023. **26**(3): p. 416-429.
60. Heneka, M.T., M.P. Kummer, A. Stutz, A. Delekate, S. Schwartz, A. Vieira-Saecker, A. Griep, D. Axt, A. Remus, T.C. Tzeng, E. Gelpi, A. Halle, M. Korte, E. Latz, and D.T. Golenbock, *NLRP3 is activated in Alzheimer’s disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice*. *Nature*, 2013. **493**(7434): p. 674-8.
61. Bao, W., F. Xie, C. Zuo, Y. Guan, and Y.H. Huang, *PET Neuroimaging of Alzheimer’s Disease: Radiotracers and Their Utility in Clinical Research*. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2021. **13**.
62. Hooker, J.M., and R.E. Carson, *Human Positron Emission Tomography Neuroimaging*. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2019. **21**(1): p. 551-581.
63. Werry, E.L., F.M. Bright, O. Pigué, L.M. Ittner, G.M. Halliday, J.R. Hodges, M.C. Kiernan, C.T. Loy, J.J. Kril, and M. Kassiou, *Recent Developments in TSPO PET Imaging as A Biomarker of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders*. *Int J Mol Sci*, 2019. **20**(13).
64. Liu, G.-J., R.J. Middleton, C.R. Hatty, W.W.-Y. Kam, R. Chan, T. Pham, M. Harrison-Brown, E. Dodson, K. Veale, and R.B. Banati, *The 18 kDa Translocator Protein, Microglia and Neuroinflammation*. *Brain Pathology*, 2014. **24**(6): p. 631-653.
65. Zhang, L., K. Hu, T. Shao, L. Hou, S. Zhang, W. Ye, L. Josephson, J.H. Meyer, M.-R. Zhang, N. Vasdev, J. Wang, H. Xu, L. Wang, and S.H. Liang, *Recent developments on PET radiotracers for TSPO and their applications in neuroimaging*. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021. **11**(2): p. 373-393.
66. Ching, A.S., B. Kuhnast, A. Damont, D. Roeda, B. Tavitian, and F. Dollé, *Current paradigm of the 18-kDa translocator protein (TSPO) as a molecular target for PET imaging in neuroinflammation and neurodegenerative diseases*. *Insights Imaging*, 2012. **3**(1): p. 111-9.
67. Dickens, A.M., S. Vainio, P. Marjamäki, J. Johansson, P. Lehtiniemi, J. Rokka, J. Rinne, O. Solin, M. Haaparanta-Solin, P.A. Jones, W. Trigg, D.C. Anthony, and L. Airas, *Detection of microglial activation in an acute model of neuroinflammation using PET and radiotracers 11C-(R)-PK11195 and 18F-GE-180*. *J Nucl Med*, 2014. **55**(3): p. 466-72.
68. Wickstrøm, T., A. Clarke, I. Gausemel, E. Horn, K. Jørgensen, I. Khan, D. Mantzilas, T. Rajanayagam, D.J. in ’t Veld, and W. Trigg, *The development of an automated and GMP compliant FASTlab™ Synthesis of [(18) F]GE-180; a*

-
- radiotracer for imaging translocator protein (TSPO)*. J Labelled Comp Radiopharm, 2014. **57**(1): p. 42-8.
69. Chen, M.-K., and T.R. Guilarte, *Translocator protein 18 kDa (TSPO): Molecular sensor of brain injury and repair*. Pharmacology & Therapeutics, 2008. **118**(1): p. 1-17.
70. Cosenza-Nashat, M., M.-L. Zhao, H.-S. Suh, J. Morgan, R. Natividad, S. Morgello, and S.C. Lee, *Expression of the translocator protein of 18 kDa by microglia, macrophages and astrocytes based on immunohistochemical localization in abnormal human brain*. Neuropathology and Applied Neurobiology, 2009. **35**(3): p. 306-328.
71. Kleinberger, G., M. Brendel, E. Mrcsko, B. Wefers, L. Groeneweg, X. Xiang, C. Focke, M. Deussing, M. Suarez-Calvet, F. Mazaheri, S. Parhizkar, N. Pettkus, W. Wurst, R. Feederle, P. Bartenstein, T. Mueggler, T. Arzberger, I. Knuesel, A. Rominger, and C. Haass, *The FTD-like syndrome causing TREM2 T66M mutation impairs microglia function, brain perfusion, and glucose metabolism*. EMBO J, 2017. **36**(13): p. 1837-1853.
72. Brendel, M., G. Kleinberger, F. Probst, A. Jaworska, F. Overhoff, T. Blume, N.L. Albert, J. Carlsen, S. Lindner, F.J. Gildehaus, L. Ozmen, M. Suarez-Calvet, P. Bartenstein, K. Baumann, M. Ewers, J. Herms, C. Haass, and A. Rominger, *Increase of TREM2 during Aging of an Alzheimer's Disease Mouse Model Is Paralleled by Microglial Activation and Amyloidosis*. Front Aging Neurosci, 2017. **9**: p. 8.
73. Brendel, M., F. Probst, A. Jaworska, F. Overhoff, V. Korzhova, N.L. Albert, R. Beck, S. Lindner, F.J. Gildehaus, K. Baumann, P. Bartenstein, G. Kleinberger, C. Haass, J. Herms, and A. Rominger, *Glial Activation and Glucose Metabolism in a Transgenic Amyloid Mouse Model: A Triple-Tracer PET Study*. J Nucl Med, 2016. **57**(6): p. 954-60.
74. Eckenweber, F., J. Medina-Luque, T. Blume, C. Sacher, G. Biechele, K. Wind, M. Deussing, N. Briel, S. Lindner, G. Boening, B. von Ungern-Sternberg, M. Unterrainer, N.L. Albert, A. Zwergal, J. Levin, P. Bartenstein, P. Cumming, A. Rominger, G.U. Hoglinger, J. Herms, and M. Brendel, *Longitudinal TSPO expression in tau transgenic P301S mice predicts increased tau accumulation and deteriorated spatial learning*. J Neuroinflammation, 2020. **17**(1): p. 208.
75. Gerhard, A., *TSPO imaging in parkinsonian disorders*. Clin Transl Imaging, 2016. **4**: p. 183-190.
76. Zhang, J., *Mapping neuroinflammation in frontotemporal dementia with molecular PET imaging*. J Neuroinflammation, 2015. **12**: p. 108.
77. Phelps, M.E., S.C. Huang, E.J. Hoffman, C. Selin, L. Sokoloff, and D.E. Kuhl, *Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: Validation of method*. Annals of Neurology, 1979. **6**(5): p. 371-388.
78. Minoshima, S., K.A. Frey, R.A. Koeppe, N.L. Foster, and D.E. Kuhl, *A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of fluorine-18-FDG PET*. J Nucl Med, 1995. **36**(7): p. 1238-48.

-
79. Bohnen, N.I., D.S. Djang, K. Herholz, Y. Anzai, and S. Minoshima, *Effectiveness and safety of 18F-FDG PET in the evaluation of dementia: a review of the recent literature*. J Nucl Med, 2012. **53**(1): p. 59-71.
 80. Herholz, K., S.F. Carter, and M. Jones, *Positron emission tomography imaging in dementia*. Br J Radiol, 2007. **80 Spec No 2**: p. S160-7.
 81. Silverman, D.H., G.W. Small, C.Y. Chang, C.S. Lu, M.A. Kung De Aburto, W. Chen, J. Czernin, S.I. Rapoport, P. Pietrini, G.E. Alexander, M.B. Schapiro, W.J. Jagust, J.M. Hoffman, K.A. Welsh-Bohmer, A. Alavi, C.M. Clark, E. Salmon, M.J. de Leon, R. Mielke, J.L. Cummings, A.P. Kowell, S.S. Gambhir, C.K. Hoh, and M.E. Phelps, *Positron emission tomography in evaluation of dementia: Regional brain metabolism and long-term outcome*. JAMA, 2001. **286**(17): p. 2120-7.
 82. van Dyck, C.H., C.J. Swanson, P. Aisen, R.J. Bateman, C. Chen, M. Gee, M. Kanekiyo, D. Li, L. Reyderman, S. Cohen, L. Froelich, S. Katayama, M. Sabbagh, B. Vellas, D. Watson, S. Dhadda, M. Irizarry, L.D. Kramer, and T. Iwatsubo, *Lecanemab in Early Alzheimer's Disease*. N Engl J Med, 2023. **388**(1): p. 9-21.
 83. Molinuevo, J.L., M.L. Berthier, and L. Rami, *Donepezil provides greater benefits in mild compared to moderate Alzheimer's disease: Implications for early diagnosis and treatment*. Archives of Gerontology and Geriatrics, 2011. **52**(1): p. 18-22.
 84. Herholz, K., *Use of FDG PET as an imaging biomarker in clinical trials of Alzheimer's disease*. Biomarkers in Medicine, 2012. **6**(4): p. 431-439.
 85. Poisnel, G., A.S. Herard, N. El Tannir El Tayara, E. Bourrin, A. Volk, F. Kober, B. Delatour, T. Delzescaux, T. Debeir, T. Rooney, J. Benavides, P. Hantraye, and M. Dhenain, *Increased regional cerebral glucose uptake in an APP/PS1 model of Alzheimer's disease*. Neurobiol Aging, 2012. **33**(9): p. 1995-2005.
 86. Sala, A., and D. Perani, *Brain Molecular Connectivity in Neurodegenerative Diseases: Recent Advances and New Perspectives Using Positron Emission Tomography*. Frontiers in Neuroscience, 2019. **13**.
 87. Fornito, A., and E.T. Bullmore, *Connectomics: A new paradigm for understanding brain disease*. European Neuropsychopharmacology, 2015. **25**(5): p. 733-748.
 88. Yakushev, I., A. Drzezga, and C. Habeck, *Metabolic connectivity: methods and applications*. Current Opinion in Neurology, 2017. **30**(6): p. 677-685.
 89. Alexander-Bloch, A., J.N. Giedd, and E. Bullmore, *Imaging structural covariance between human brain regions*. Nature Reviews Neuroscience, 2013. **14**(5): p. 322-336.
 90. Niethammer, M., and D. Eidelberg, *Metabolic brain networks in translational neurology: Concepts and applications*. Annals of Neurology, 2012. **72**(5): p. 635-647.
 91. Sporns, O., *Structure and function of complex brain networks*. Dialogues Clin Neurosci, 2013. **15**(3): p. 247-62.
 92. Bennett, I.J., and B. Rypma, *Advances in functional neuroanatomy: A review of combined DTI and fMRI studies in healthy younger and older adults*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2013. **37**(7): p. 1201-1210.

-
93. Behrens, T.E., H. Johansen-Berg, M.W. Woolrich, S.M. Smith, C.A. Wheeler-Kingshott, P.A. Boulby, G.J. Barker, E.L. Sillery, K. Sheehan, O. Ciccarelli, A.J. Thompson, J.M. Brady, and P.M. Matthews, *Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging*. *Nat Neurosci*, 2003. **6**(7): p. 750-7.
 94. Biechele, G., N. Franzmeier, T. Blume, M. Ewers, J.M. Luque, F. Eckenweber, C. Sacher, L. Beyer, F. Ruch-Rubinstein, S. Lindner, F.J. Gildehaus, B. von Ungern-Sternberg, P. Cumming, P. Bartenstein, A. Rominger, G.U. Hoglinger, J. Herms, and M. Brendel, *Glial activation is moderated by sex in response to amyloidosis but not to tau pathology in mouse models of neurodegenerative diseases*. *J Neuroinflammation*, 2020. **17**(1): p. 374.
 95. Litwińczuk, M.C., N. Muhlert, L. Cloutman, N. Trujillo-Barreto, and A. Woollams, *Combination of structural and functional connectivity explains unique variation in specific domains of cognitive function*. *NeuroImage*, 2022. **262**: p. 119531.
 96. Yeh, C.-H., D.K. Jones, X. Liang, M. Descoteaux, and A. Connelly, *Mapping Structural Connectivity Using Diffusion MRI: Challenges and Opportunities*. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2021. **53**(6): p. 1666-1682.
 97. Wheeler, A.L., and A.N. Voineskos, *A review of structural neuroimaging in schizophrenia: from connectivity to connectomics*. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2014. **8**.
 98. Tucholka, A., O. Grau-Rivera, C. Falcon, L. Rami, R. Sánchez-Valle, A. Lladó, J.D. Gispert, and J.L. Molinuevo, *Structural Connectivity Alterations Along the Alzheimer's Disease Continuum: Reproducibility Across Two Independent Samples and Correlation with Cerebrospinal Fluid Amyloid- β and Tau*. *J Alzheimers Dis*, 2018. **61**(4): p. 1575-1587.
 99. Shao, J., N. Myers, Q. Yang, J. Feng, C. Plant, C. Böhm, H. Förstl, A. Kurz, C. Zimmer, C. Meng, V. Riedl, A. Wohlschläger, and C. Sorg, *Prediction of Alzheimer's disease using individual structural connectivity networks*. *Neurobiol Aging*, 2012. **33**(12): p. 2756-65.
 100. Greicius, M.D., B. Krasnow, A.L. Reiss, and V. Menon, *Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003. **100**(1): p. 253-258.
 101. Smith, S.M., *The future of fMRI connectivity*. *Neuroimage*, 2012. **62**(2): p. 1257-66.
 102. Mertens, N., S. Sunaert, K. Van Laere, and M. Koole, *The Effect of Aging on Brain Glucose Metabolic Connectivity Revealed by [(18)F]FDG PET-MR and Individual Brain Networks*. *Front Aging Neurosci*, 2021. **13**: p. 798410.
 103. Horwitz, B., R. Duara, and S.I. Rapoport, *Intercorrelations of Glucose Metabolic Rates between Brain Regions: Application to Healthy Males in a State of Reduced Sensory Input*. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1984. **4**(4): p. 484-499.
 104. Huang, S., J. Li, L. Sun, J. Ye, A. Fleisher, T. Wu, K. Chen, and E. Reiman, *Learning brain connectivity of Alzheimer's disease by sparse inverse covariance estimation*. *Neuroimage*, 2010. **50**(3): p. 935-49.
 105. Di, X., Biswal, and B.B. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, *Metabolic Brain Covariant Networks as Revealed by FDG-PET with Reference to Resting-State fMRI Networks*. *Brain Connectivity*, 2012. **2**(5): p. 275-283.

-
106. Titov, D., J. Diehl-Schmid, K. Shi, R. Perneczky, N. Zou, T. Grimmer, J. Li, A. Drzezga, and I. Yakushev, *Metabolic connectivity for differential diagnosis of dementing disorders*. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017. **37**(1): p. 252-262.
 107. Duan, H., J. Jiang, J. Xu, H. Zhou, Z. Huang, Z. Yu, and Z. Yan, *Differences in A β brain networks in Alzheimer's disease and healthy controls*. *Brain Res*, 2017. **1655**: p. 77-89.
 108. Lee, D.S., H. Kang, H. Kim, H. Park, J.S. Oh, J.S. Lee, and M.C. Lee, *Metabolic connectivity by interregional correlation analysis using statistical parametric mapping (SPM) and FDG brain PET; methodological development and patterns of metabolic connectivity in adults*. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2008. **35**(9): p. 1681-1691.
 109. Passow, S., K. Specht, T.C. Adamsen, M. Biermann, N. Brekke, A.R. Craven, L. Erslund, R. Grüner, N. Kleven-Madsen, O.-H. Kvernenes, T. Schwarzlmüller, R.A. Olesen, and K. Hugdahl, *Default-mode network functional connectivity is closely related to metabolic activity*. *Human Brain Mapping*, 2015. **36**(6): p. 2027-2038.
 110. Sanabria-Diaz, G., E. Martinez-Montes, L. Melie-Garcia, and I. Alzheimer's Disease Neuroimaging, *Glucose metabolism during resting state reveals abnormal brain networks organization in the Alzheimer's disease and mild cognitive impairment*. *PLoS One*, 2013. **8**(7): p. e68860.
 111. Huber, M., L. Beyer, C. Prix, S. Schönecker, C. Palleis, B.-S. Rauchmann, S. Morbelli, A. Chincarini, R. Bruffaerts, R. Vandenberghe, K. Van Laere, M.G. Kramberger, M. Trost, M. Grmek, V. Garibotto, N. Nicastro, G.B. Frisoni, A.W. Lemstra, J. van der Zande, A. Pilotto, A. Padovani, S. Garcia-Ptacek, I. Savitcheva, M.A. Ochoa-Figueroa, A. Davidsson, V. Camacho, E. Peira, D. Arnaldi, M. Bauckneht, M. Pardini, G. Sambuceti, J. Vöglein, J. Schnabel, M. Unterrainer, R. Perneczky, O. Pogarell, K. Buerger, C. Catak, P. Bartenstein, P. Cumming, M. Ewers, A. Danek, J. Levin, D. Aarsland, F. Nobili, A. Rominger, and M. Brendel, *Metabolic Correlates of Dopaminergic Loss in Dementia with Lewy Bodies*. *Movement Disorders*, 2020. **35**(4): p. 595-605.
 112. Malpetti, M., G. Carli, A. Sala, C. Cerami, A. Marcone, S. Iannaccone, G. Magnani, and D. Perani, *Variant-specific vulnerability in metabolic connectivity and resting-state networks in behavioural variant of frontotemporal dementia*. *Cortex*, 2019. **120**: p. 483-497.
 113. Sala, A., S.P. Caminiti, L. Presotto, E. Premi, A. Pilotto, R. Turrone, M. Cosseddu, A. Alberici, B. Paghera, B. Borroni, A. Padovani, and D. Perani, *Altered brain metabolic connectivity at multiscale level in early Parkinson's disease*. *Scientific Reports*, 2017. **7**(1): p. 4256.
 114. Bartos, L.M., S.T. Kunte, P. Beumers, X. Xiang, K. Wind, S. Ziegler, P. Bartenstein, H. Choi, D.S. Lee, C. Haass, L.V. Baumgarten, S. Tahirovic, N.L. Albert, S. Lindner, and M. Brendel, *Single-Cell Radiotracer Allocation via Immunomagnetic Sorting to Disentangle PET Signals at Cellular Resolution*. *J Nucl Med*, 2022. **63**(10): p. 1459-1462.

Danksagung

Zunächst bedanke ich mich bei meinem Doktorvater und Betreuer Herr Prof. Dr. Matthias Brendel. Er stellte mir dieses interessante Promotionsthema zur Verfügung, unterstützte mich durchgehend bei offenen Fragen und motivierte mich für weitere spannende Forschungsprojekte. Nicht zuletzt begeisterte er mich für das Fach der Nuklearmedizin und ermutigte mich, auch nach dem Studium diesem treu zu bleiben.

Auch Herrn Prof. Dr. Peter Bartenstein danke ich für die Ermöglichung dieser Forschungsarbeit und für das angenehme Arbeitsumfeld in seiner Klinik.

Ganz herzlich bedanke ich mich zudem bei Karin Bormann-Giglmaier und Giovanna Palumbo, die mich bei einer Vielzahl von Versuchstagen im Labor eingelernt und unterstützt haben.

Bei allen Mitdoktoranden bedanke ich mich für die wertvolle Zusammenarbeit. Durch die viele gemeinsame verbrachte Zeit, die gegenseitige Unterstützung sowie Motivation sind auch über die Forschungsprojekte hinaus enge Freundschaften entstanden.

Zuletzt gilt ein besonderer Dank meinen Eltern und meinem Bruder, die mir stets zur Seite gestanden, mich seit Beginn gefördert und somit wesentlich zu meinem Werdegang beigetragen haben.