



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Heterogeneity of the immunopathology in advanced multiple sclerosis

An autopsy cohort analysis

Fransen, N.L.

Publication date

2021

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Fransen, N. L. (2021). *Heterogeneity of the immunopathology in advanced multiple sclerosis: An autopsy cohort analysis*. [Thesis, externally prepared, Universiteit van Amsterdam].

General rights

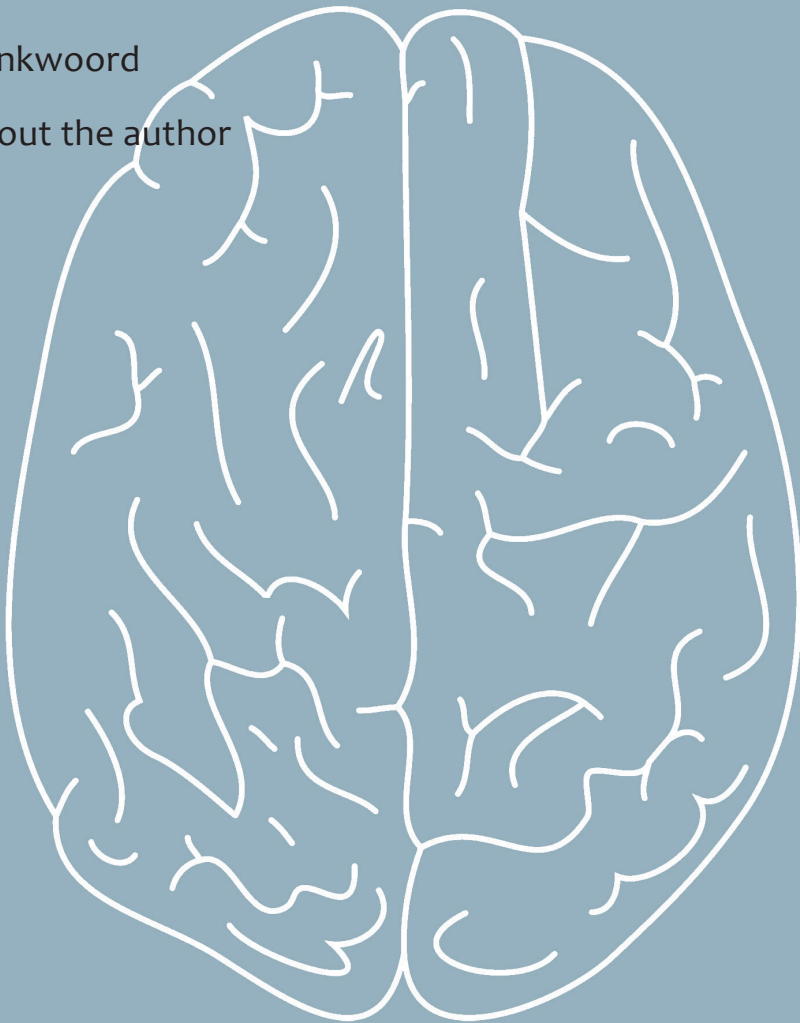
It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

APPENDICES 10

- Summary
- Nederlandse samenvatting
- Author contributions
- List of publications
- PhD Portfolio
- Dankwoord
- About the author



SUMMARY

HETEROGENEITY OF THE IMMUNOPATHOLOGY IN ADVANCED MULTIPLE SCLEROSIS

An autopsy cohort analysis

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system which mostly presents in young adults. The disease often starts with a relapsing-remitting phase where patients show acute onset of neurological symptoms with spontaneous remission. Over time most MS patients accumulate disability and enter a progressive disease phase. The current available immunomodulatory therapies for MS directed at peripheral T or B cells show an effect on the relapse rate in the early disease phase however they do not halt the progression of the disease in advanced stages. This led to the concept that circulating immune cells contribute to the onset and early phase of the disease, while they are not involved in disease progression in advanced MS. Therefore, it is thought that disease progression might arise from neurodegenerative disease processes rather than inflammation. In **Part 1** of this thesis we aimed to characterize the immune cells that are involved in advanced and progressive MS lesion pathology in autopsy tissue. We analyzed immune cells in post-mortem MS brain tissue from the MS autopsy cohort of the Netherlands Brain Bank of 182 MS brain donors with advanced MS. We show that there is substantial inflammatory lesion activity in advanced MS and that brain specific tissue resident memory T cells contribute to the inflammatory lesion activity in advanced MS.

While most MS patients accumulate disability over time, the rate of disability progression is highly variable between MS patients. Furthermore there are sex differences in the clinical disease course of MS. However, the molecular and cellular mechanisms that underly these differences in disability progression remain poorly understood. In **Part 2** of this thesis we aimed to identify pathophysiological mechanisms that contribute to the heterogeneity of the immunopathology in MS. We analyzed MS lesion characteristics in the MS autopsy cohort of the Netherlands Brain Bank in relation with clinical disease course, sex, and genetic factors. We show that the heterogeneity of the immunopathology in an advanced MS autopsy cohort is associated with the variable involvement of B cells and plasma cells, sex differences in neuro-steroid synthesis and genetic factors.

PART 1 SUBSTANTIAL INFLAMMATORY LESION ACTIVITY IN ADVANCED MULTIPLE SCLEROSIS

In **Part 1** we show in advanced and progressive MS lesions increased complement deposition and an increased number of T cells, B cells and plasma cells as compared to neurodegenerative brain diseases. Thus, in the progressive late phase of MS there is substantial inflammatory lesion activity which also correlates with the rate of clinical disability progression. T cells isolated from fresh

brain autopsy tissue from both non-neurological controls and from advanced MS lesions show a tissue resident memory (T_{RM}) profile and they usually reside in the perivascular space. T_{RM} cells in advanced MS lesions are re-activated and they infiltrate the brain parenchyma. In MS lesions of MS brain donors with advanced MS no infiltration of non- T_{RM} cells is detected. This indicates that $CD8^+ T_{RM}$ cells are involved in the ongoing inflammatory and demyelinating lesion activity which is seen in advanced MS.

In **Chapter 2** we show that in progressive MS autopsy cases 74% of the MS lesions in the brainstem are inflammatory active or mixed active/inactive. The mixed active/inactive lesions show an increased number of $CD8^+$ and $CD4^+$ T cells and $CD20^+$ B cells, and increased acute axonal damage, mitochondrial stress, axonal loss and synapse loss compared to the normal appearing MS brainstem. In MS brainstem lesions and in the brainstem of patients with a neurodegenerative disease there is C1q deposited on synapses and C3d on both synapses and axons. Depositions of the terminal complement component, MAC are seen specifically in MS lesions, inside microglia/macrophages and deposited on astrocytes. This suggests that the inflammatory lesion activity contributes to ongoing demyelination and axonal damage in the progressive MS brainstem.

In **Chapter 3** we performed a histological characterization of 182 MS autopsy cases from the Netherlands Brain Bank, from which 3188 sections containing 7562 MS lesions were analyzed. The MS cases had an average disease duration of 28.6 ± 13.3 years and 57% of the MS lesions were active or mixed active/inactive. Furthermore in 78% of the MS cases a mixed active/inactive lesion was present. The percentage of mixed active/inactive lesions and the brainstem lesion load correlated with the rate of disability progression during life. Secondary progressive and primary progressive MS cases showed a higher lesion load and a higher percentage of mixed active/inactive lesions and a lower percentage of remyelinated areas compared to the relapsing remitting cases. Males showed a higher percentage of mixed active/inactive lesions and a higher incidence of cortical grey matter lesions compared to females. This shows that in advanced MS there is substantial inflammatory lesion activity that correlates with the rate of disability progression during live.

In **Chapter 4** we phenotyped viable $CD8^+$ and $CD4^+$ T cells derived from post-mortem brain tissue from non-MS brain donors using flow-cytometry and we assessed the location in the brain using immunofluorescence and confocal imaging. T cells isolated from brain tissue show a phenotypic and transcription factor profile consistent with T_{RM} cells. Brain T_{RM} cells can be subsetted in $CD103^-CD69^+$ and $CD103^+CD69^+$ cells. $CD103$ expression in brain $CD8^+$ T cells correlates with reduced expression of differentiation markers, increased expression of tissue-homing chemokine receptors, intermediate and low expression of the transcription factors T-bet and eomes, increased expression of PD-1 and CTLA-4, and low expression of cytolytic enzymes with preserved polyfunctionality upon activation. Brain $CD4^+$ T cells also display T_{RM} cell associated markers but they have low $CD103$ expression. We conclude that the human brain is surveilled by T_{RM} cells, and argue that these cells provide protection against neurotropic virus reactivation whilst being under tight control of key immune checkpoint molecules.

In **Chapter 5** we analyzed T cells in relation to the inflammatory lesion activity in advanced MS. For this study, we performed histological analysis of T cells and perivascular T cell clustering in the Netherlands Brain Bank MS autopsy cohort. Furthermore we analyzed viable CD8⁺ T-cells, isolated from fresh autopsy tissues from subcortical MS white matter lesions, MS normal-appearing white matter and control white matter, by flow cytometry. In active and mixed active/inactive lesions, the number of T-cells was increased compared to the normal-appearing white matter. Active and mixed active/inactive lesions were enriched for both CD4⁺ and CD8⁺ T-cells, the latter being more abundant in all lesion types. Perivascular clustering of T-cells was found in cases with a progressive disease course and correlated with a higher percentage of mixed active/inactive lesions and a higher brainstem lesion load compared to cases without perivascular clusters. In mixed active/inactive lesions, CD8⁺ T-cells were more frequently encountered in the brain parenchyma compared to the normal appearing white matter. CD8⁺ T-cells from mixed active/inactive lesions showed a tissue-resident memory phenotype with expression of CD69, CD103, CD44, CD49a, and PD-1 and absence of S1P1. They upregulated markers for homing (CXCR6), re-activation (Ki-67), and cytotoxicity (GPR56), yet lacked the cytolytic enzyme granzyme B. We show that in advanced MS cases, inflammatory lesion activity and demyelinated lesion load is associated with an increased number of T-cells clustering in the perivascular space. These are CD8⁺ tissue-resident memory T-cells, which show signs of re-activation and infiltration of the brain parenchyma.

PART 2 HETEROGENEITY OF THE IMMUNOPATHOLOGY IN ADVANCED MULTIPLE SCLEROSIS

In **Part 2** we studied the heterogeneity and sex differences in the immunopathology of MS. We used different approaches analyzing the immunopathology in the MS autopsy cohort aiming to identify pathophysiological mechanisms that are related to differences in clinical disease course in MS patients.

In **Chapter 6** we analyzed the clinical and pathological profile of MS autopsy cases in association with the extent of B cell and plasma cell infiltration. We performed a systematic characterization of the presence of CD20⁺ B cells and CD138⁺ plasma cells in brainstem and white matter lesions from the NBB MS autopsy cohort and in early MS biopsy lesions. B cells were mostly found in the perivascular space and the meninges and enriched in active and mixed active/inactive MS lesions. Interestingly in 34% of active and 71% of mixed active/inactive lesions, B cells were absent. Absence of B cells and plasma cells in brainstem and white matter lesions was associated with a longer disease duration, less frequent a secondary progressive disease course and a lower proportion of mixed active/inactive lesions. We selected the extreme cases from the autopsy cohort and showed that the IgG ratio was lower and CSF OCBs were more often absent in MS cases without B cells and plasma cells. In a clinical MS cohort, the numbers of patients without OCBs in CSF were increased after an average disease duration of 11,3 years. Absence of B cells is associated with a favorable clinical and pathological profile. This finding may reflect extremes of a continuum of genetic or

environmental constitution, but also a regression of WM humoral immunopathology in the natural course of advanced MS.

In **Chapter 7** we aimed to identify pathophysiological mechanisms that are involved in the sex differences observed in the development of cortical MS lesions. In Chapter 2 we describe that in post-mortem autopsy tissue males show a higher incidence of cortical grey matter lesions and previously sex differences in progesterone signaling have been described in white matter MS lesions. Therefore we performed an analysis on the sex differences in progestogen and androgen synthesis and signaling and their potential neuroprotective effects in the cortical grey matter. We selected a standardly dissected cortical region and used frozen tissue from males and females, from both MS and controls for a quantitative PCR analysis. In the standardly dissected superior temporal gyrus males more often showed a leukocortical lesion compared to females. The neurosteroidogenic enzymes STS, AKR1C1, AKR1C2 showed increased expression in female normal appearing cortex while this was not increased in males compared to the non-neurological controls. CD8 and IFNG mRNA expression was increased in male normal appearing cortex while this was not increased in females compared to non-neurological controls. This suggests in female MS normal appearing cortical grey matter allopregnanolone and 3 α DIOL synthesis is induced, but not in males, while CD8 and interferon gamma expression is increased in males compared to females. This may contribute to their increased susceptibility for the development of leukocortical MS lesions.

In **Chapter 8** we aimed to translate genotypes previously associated with the rate of clinical disability progression in MS into disease relevant pathogenic mechanisms involved in MS lesion pathogenesis. We genotyped 179 MS brain donors from the Netherlands Brain Bank MS autopsy cohort for 102 SNPs, selected based on their reported associations with clinical outcome in previous GWAS studies or their associations with MS pathology associated genes. After correction for multiple testing, three SNPs previously linked to disability progression in MS showed a significant association with either the proportion of active lesions (rs2234978/FAS and rs11957313/KCNIP1) or the proportion of mixed active/inactive lesions (rs8056098/CLEC16A). Three SNPs linked to MS pathology-associated genes showed a significant association with either proportion of active lesions (rs3130253/MOG), incidence of cortical grey matter lesions (rs1064395/NCAN) or the proportion of remyelinated lesions (rs5742909/CTLA4). In addition, rs2234978/FAS T-allele carriers showed increased FAS gene expression levels in perivascular T cells and perilesional oligodendrocytes, cell types that have been implicated in MS lesion formation. Here we show that by combining the pathological characterization of an MS autopsy cohort with genetics, we start to translate genotypes linked to disability progression in MS into cellular mechanisms involved in MS lesion pathogenesis that could potentially help explain the differences in clinical disease course.

We conclude that advanced progressive MS is characterized by substantial inflammatory lesion activity which is correlated with the rate of clinical disability progression. This suggests that inflammatory lesion activity is involved in the clinical disease progression in advanced MS. Brain T_{RM} cells, that under non-inflammatory conditions reside in the perivascular space, are reactivated

and invade the brain parenchyma in advanced progressive MS white matter lesions. These observations suggest that resident brain immune cells contribute to the ongoing inflammatory lesion activity in advanced MS. Finally, by analyzing the heterogeneity of the immunopathology of MS in an autopsy cohort in relation with the clinical disease course, sex and genetic factors, we identified pathophysiological mechanisms that potentially contribute to the heterogeneity in the clinical disease course of MS patients.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

HETEROGENITEIT IN DE IMMUNOPATHOLOGIE VAN VERGEVORDERDE MULTIPLE SCLEROSIS

Een autopsie cohortanalyse

Multiple sclerosis is een chronische inflammatoire ziekte van het centrale zenuwstelsel die vooral voorkomt bij jong volwassenen. De ziekte begint vaak met een relapsing-remitting fase, waarbij patiënten aanvallen van neurologische symptomen hebben die spontaan weer verdwijnen. In de loop van de tijd ontstaan er blijvende neurologische symptomen die geleidelijk verergeren, patiënten komen dan in de progressieve fase van de ziekte. De huidige immunomodulerende therapieën voor MS, die gericht zijn op de circulerende T- en B-cellen, laten vooral een effect zien op het aantal aanvallen in de vroege fase van de ziekte maar ze stoppen niet de progressie van de ziekte in het vergevorderde stadium. Dit heeft geleid tot het concept dat circulerende immuuncellen bijdragen aan het ontstaan van de ziekte in de vroege fase, maar dat deze niet betrokken zijn bij de progressie van de ziekte bij vergevorderde MS. Daarom is de heersende gedachte dat progressie van de ziekte vooral gedreven wordt door neurodegeneratieve pathologische processen en niet zozeer door inflammatie.

In **Deel 1** van deze thesis hebben we ons tot doel gesteld om in autopsiehersenweefsel verschillende cellen van het immuunsysteem die betrokken zijn bij vergevorderde en progressieve MS pathologie te karakteriseren. We hebben deze cellen geanalyseerd in het post-mortem verkregen hersenweefsel van het autopsiecohort van de Nederlandse Hersenbank met in totaal 182 MS hersendonoren met vergevorderde MS. We laten zien dat er substantiële inflammatoire activiteit is in de MS laesies van vergevorderde MS en dat hersenspecifieke weefselresidente T-geheugencellen bijdragen aan de voortdurende inflammatoire activiteit in de MS laesies bij vergevorderde MS.

Bij de meeste MS patiënten verergeren de neurologische symptomen geleidelijk over de tijd, maar de snelheid waarmee en mate waarin de symptomen progressief worden varieert zeer tussen patiënten. Daarnaast zijn er duidelijke geslachtsverschillen in het klinische beloop van de ziekte. Echter, de moleculaire en cellulair mechanisme die ten grondslag liggen aan deze verschillen tussen MS patiënten zijn grotendeels onbekend. In **Deel 2** van dit proefschrift hebben we ons tot doel gesteld om pathofysiologische mechanismen te identificeren die bijdragen aan de heterogeniteit in de immunopathologie van MS. We hebben de karakteristieken van MS laesies in het autopsiecohort van de Nederlandse Hersenbank gerelateerd aan het klinische beloop van de ziekte, geslachtsverschillen en genetische factoren. We laten zien dat de heterogeniteit in de immunopathologie van vergevorderde MS in een autopsiecohort is geassocieerd met wisselende betrokkenheid van B- en plasmacellen, geslachtsverschillen in de synthese van neurosteroïden en genetische factoren.

DEEL 1 SUBSTANTIËLE INFLAMMATOIRE LAESIE-ACTIVITEIT IN VERGEVORDERDE MS

In **Deel 1** laten we zien dat in vergevorderde en progressieve MS laesies er meer complement deposities zijn en een verhoogd aantal T-cellen, B-cellen en plasmacellen vergeleken met neurodegeneratieve hersenziekten. In de progressieve late fase van MS is er dus substantiële inflammatoire laesie-activiteit die ook correleert met de mate van klinische verergering van de neurologische symptomen. T-cellen die geïsoleerd zijn uit vers hersenweefsel van zowel niet-neurologische controles als van vergevorderde MS hersendonoren hebben een weefselresident geheugen (T_{RM}) profiel en verblijven voornamelijk in de perivasculaire ruimte. De T_{RM} -cellen in vergevorderde MS laesies zijn gereactiveerd en infiltreren in het hersenparenchym. In MS laesies van hersendonoren met vergevorderde MS is er geen infiltratie van niet- T_{RM} -cellen gedetecteerd. Hiermee laten we zien dat $CD8^+$ T_{RM} -cellen betrokken zijn bij de voortdurende inflammatoire en demyeliniserende laesie-activiteit die gezien wordt in vergevorderde MS.

In **Hoofdstuk 2** laten we zien dat in progressieve MS autopsiecasussen 74% van de MS laesies in de hersenstam inflammatoir actief of gemixt actief/inactief zijn. In de gemixt actieve/inactieve laesies zien we een verhoogd aantal $CD8^+$ en $CD4^+$ T-cellen en $CD20^+$ B-cellen en een verhoogde mate van acute axonale schade, mitochondriale stress en axonaal verlies vergeleken met de normaal uitzijnde MS hersenstam. In de MS hersenstam-laesies en in de hersenstam van donoren met neurodegeneratieve ziekten zijn er deposities van C1q op synapsen en C3d op zowel synapsen als axonen. Specifiek in de MS laesies worden er deposities van het terminale complement component MAC gezien zowel in microglia/macrophagen als op astrocyten. Dit suggereert dat de inflammatoire laesie-activiteit bijdraagt aan de voortdurende demyelinisatie en axonale schade van de hersenstam in progressieve MS.

In **Hoofdstuk 3** hebben we een histologische karakterisatie van 182 MS autopsiecasussen van de Nederlandse Hersenbank uitgevoerd, waarbij er 3188 coupes met in totaal 7562 MS laesies zijn geanalyseerd. De MS casussen hadden een gemiddelde ziekteduur van $28,6 \pm 13,3$ jaar en 57% van de MS laesies waren actief of gemixt actief/inactief. Daarnaast had 78% van de MS-casussen een gemixt actieve/inactieve MS laesie. Het percentage van gemixt actieve/inactieve laesies en het totale aantal laesies in de hersenstam correleerde met de snelheid van progressie van de neurologische symptomen tijdens het leven. Secundair progressieve en primair progressieve MS casussen lieten een hoger aantal laesies en een hoger percentage van gemixt actieve/inactieve laesies zien en een lager percentage geremyeliniseerde gebieden, vergeleken met de relapsing-remitting casussen. Mannen hadden een hoger percentage van gemixt actieve/inactieve laesies en een hogere incidentie van corticale grijze stof laesies vergeleken met vrouwen. Dit laat zien dat in vergevorderde MS er substantiële inflammatoire laesie-activiteit is die correleert met het klinische beloop van de ziekte.

In **Hoofdstuk 4** hebben we de levende CD8⁺ en CD4⁺ T-cellen die verkregen zijn uit post-mortem hersenweefsel van niet-MS hersendonoren gefenotypeerd door middel van flow-cytometrie. We hebben de locatie van deze cellen in het brein geanalyseerd door middel van confocale laserfluorescentie microscopie. T-cellen die geïsoleerd zijn uit het hersenweefsel laten een fenotypisch- en transcriptiefactor-profiel zien dat past bij T_{RM}-cellen. Hersen T_{RM}-cellen kunnen worden onderverdeeld in CD103⁻CD69⁺ en CD103⁺CD69⁺ cellen. CD103 expressie in hersen CD8⁺ T-cellen correleerde met verminderde expressie van differentiatie markers, een verhoogde expressie van tissue-homing chemokine receptoren en een gemiddelde en lage expressie van de transcriptie factoren T-bet en eomes, een verhoogde expressie van PD-1 en CTLA-4 en een lage expressie van cytolytische enzymen met een behouden polyfunctionaliteit na activatie. Hersen CD4⁺ T-cellen laten ook de T_{RM}-cel-geassocieerde markers zien, maar ze hebben een lage expressie van CD103. We concluderen dat het humane brein wordt gesurveilleerd door T_{RM}-cellen en beredeneren dat deze cellen zorgen voor bescherming tegen neurotrope virus re-activatie terwijl ze onder strakke controle staan van de immuun checkpoint-moleculen.

In **Hoofdstuk 5** hebben we T-cellen bestudeerd in relatie met de inflammatoire laesie-activiteit in vergevorderde MS. Voor deze studie hebben we een histologische analyse uitgevoerd van T-cellen en perivasculaire clusters van T-cellen in het autopsiecohort van de Nederlandse Hersenbank. Daarnaast hebben we levende CD8⁺ T-cellen geïsoleerd uit vers autopsieweefsel van subcorticale witte stof MS laesies, normaal uitzijnde witte stof van MS en witte stof van controle hersendonoren. Deze hebben we bekeken door middel van flow-cytometrie. In actieve en gemixt actieve/inactieve laesies was het aantal T-cellen verhoogd vergeleken met de normaal uitzijnde witte stof. Actieve en gemixt actieve/inactieve laesies waren verrijkt met zowel CD4⁺ als CD8⁺ T-cellen, waarbij de laatste het meest aanwezig waren in alle MS laesie-subtypes. Perivasculaire clustering van T-cellen werd gevonden in de casussen met een progressief ziektebeloop en dit correleerde met een hoger percentage gemixt actieve/inactieve laesies en een hoger aantal laesies in de hersenstam vergeleken met casussen zonder perivasculaire clusters. In gemixt actieve/inactieve laesies werden de CD8⁺ T-cellen meer gevonden in het hersenparenchym vergeleken met de normaal uitzijnde witte stof. CD8⁺ T-cellen van gemixt actieve/inactieve laesies lieten een weefselresident geheugen fenotype zien met expressie van CD69, CD103, CD44, CD49a en PD1 en afwezigheid van S1P1. Ze lieten verhoging zien van homing-markers (CXCR6), re-activatie (Ki67), en cytotoxiciteit (GPR56), maar hadden geen granzyme-B. In casussen met vergevorderde MS is de inflammatoire laesie-activiteit en het aantal gedemyeliniseerde laesies geassocieerd met een verhoogd aantal T-cellen die clusteren in de perivasculaire ruimte. Dit zijn CD8⁺ weefselresidente T-geheugencellen, die tekenen van re-activatie laten zien en ook infiltreren in het hersenparenchym.

DEEL 2 HETEROGENITEIT IN DE IMMUNOPATHOLOGIE VAN VERGEVORDERDE MS

In **Deel 2** hebben we de heterogeniteit en geslachtsverschillen in de immunopathologie van MS bestudeerd. We hebben verschillende benaderingen gebruikt om de immunopathologie van MS te analyseren met als doel het identificeren van pathofysiologische mechanismen die een rol spelen bij de verschillen in het klinische beloop tussen MS patiënten.

In **Hoofdstuk 6** hebben we het klinische en pathologische profiel van MS autopsiecasussen gerelateerd aan de mate van B- en plasmacel infiltratie. We hebben een systematische karakterisatie uitgevoerd van de aanwezigheid van CD20⁺ B-cellen en CD138⁺ plasmacellen in de hersenstam en witte stof MS laesies in zowel het MS autopsiecohort van de Nederlandse Hersenbank als in vroege MS laesies die zijn verkregen uit hersenbiopten. B-cellen werden vooral gezien in de perivasculaire ruimte en de meninges en waren verrijkt in de actieve en gemixt actieve/inactieve MS laesies. In 34% van de actieve en in 71% van de gemixt actieve/inactieve MS laesies waren er geen B cellen aanwezig. De afwezigheid van B- en plasmacellen in de hersenstam en witte stof laesies was geassocieerd met een langere ziekte duur, het minder vaak voorkomen van een secundair progressief beloop en een lager percentage van gemixt actieve/inactieve laesies. We hebben in het autopsiecohort extreme casussen geselecteerd en laten daarmee zien dat de IgG ratio lager was en dat de liquor oligoclonale banden vaker afwezig waren in de MS casussen zonder B- en plasmacellen. In een klinisch MS cohort was het aantal MS patiënten zonder oligoclonale banden in de liquor verhoogd na een gemiddelde ziekteduur van 11,3 jaar. De afwezigheid van B-cellen is geassocieerd met een gunstiger klinisch en pathologisch profiel. Deze bevindingen wijzen op extreme uitersten van een continuüm van genetische- en omgevingsfactoren die de immunopathologie beïnvloeden, maar kunnen ook wijzen op regressie van witte stof humorale immunopathologie in het natuurlijk beloop van vergevorderde MS.

In **Hoofdstuk 7** stelden we onszelf tot doel om pathofysiologische mechanismen te identificeren die betrokken zijn bij de geslachtsverschillen in de ontwikkeling van corticale MS laesies. In hoofdstuk 2 beschreven we dat in post-mortem autopsieweefsel mannen een hogere incidentie van corticale grijze stof laesies hebben. Eerder werden er al geslachtsverschillen in progesteronsignalering beschreven in witte stof MS laesies. Daarom hebben we geanalyseerd of geslachtsverschillen in de synthese en signalering van progestagenen en androgenen steroïden een mogelijk neuro-protectief effect hebben in de corticale grijze stof. We hebben een standaard uitgenomen corticale grijze stof regio geselecteerd en hebben vriesweefsel van mannen en vrouwen van zowel MS als controles met kwantitatieve PCR geanalyseerd. In de standaard uitgenomen superieure temporale gyrus hadden mannen vaker een leukocorticale laesie vergeleken met vrouwen. De neuro-steroidogenen enzymen STS, AKR1C1 en AKR1C2 laten een verhoogde expressie zien in de normaal uitzijnde cortex van vrouwen met MS terwijl dit niet verhoogd was in mannen met MS vergeleken met niet-neurologische controles. CD8 en IFNG mRNA expressie was verhoogd in

normaal uitzijende cortex van mannen met MS terwijl dit niet verhoogd was in normaal uitzijende cortex van vrouwen met MS vergeleken met niet neurologische controles. Dit suggereert dat in de normale corticale grijze stof van vrouwen met MS allopregnanolon- en α DIOL-synthese is geïnduceerd maar niet in de normale corticale grijze stof van mannen met MS, terwijl CD8 en interferon gamma expressie verhoogd is in mannen met MS maar niet in vrouwen met MS. Dit kan bijdragen aan de verhoogde gevoeligheid van mannen voor het ontwikkelen van leukocorticale MS laesies.

In **Hoofdstuk 8** stelden we onszelf tot doel om genotypes die eerder geassocieerd zijn met de snelheid van klinische progressie in MS te vertalen naar pathogene mechanismen die betrokken zijn bij de pathogenese van MS laesies. We hebben 179 MS hersendonoren van het MS autopsiecohort van de Nederlandse Hersenbank gegenotypeerd voor 102 SNPs die geselecteerd zijn op basis van hun associatie met klinische uitkomsten in eerdere GWAS studies of hun associatie met MS-pathologie-geassocieerde genen. Na correctie voor multiple-testing zijn er drie SNPs die eerder gelinkt zijn aan de progressie van neurologische uitval in MS significant geassocieerd met het percentage actieve laesies of het percentage van gemixt actieve/inactieve laesies. Drie SNPs die gelinkt zijn aan MS-pathologie-geassocieerde genen lieten een significante associatie zien met het percentage actieve laesies, de incidentie van corticale grijze stof laesies of het percentage geremyeliniseerde gebieden. Daarbij lieten de rs2234978 T-alleldragers verhoogde genexpressie levels van FAS zien in zowel peri-vasculaire T-cellen als peri-lesionale oligodendrocyten, beiden celtypes die betrokken zijn bij de MS laesie formatie. Hier laten we zien dat door de combinatie van de pathologische karakterisatie van het MS autopsiecohort met genetica we een begin kunnen maken met het vertalen van genotypes gelinkt aan de klinische progressie van MS naar cellulaire mechanismen betrokken in MS laesie pathogenese.

We concluderen dat vergevorderde progressieve MS wordt gekarakteriseerd door substantiële inflammatoire laesie-activiteit die correleert met de klinische progressie van de ziekte. Dit suggereert dat inflammatoire laesie-activiteit is betrokken bij de klinische progressie van de ziekte in vergevorderde MS. Hersenspecifieke weefselresidente T-geheugencellen die onder niet-inflammatoire condities verblijven in de perivasculaire ruimte worden in MS witte stof laesies gereactiveerd en infiltreren in het hersenparenchym bij vergevorderde en progressieve MS. Deze observaties suggereren dat residente immuuncellen in het brein, en dus niet zo zeer circulerende immuuncellen, bijdragen aan de voortdurende inflammatoire laesie-activiteit in vergevorderde MS. Tot slot hebben we de heterogeniteit in de immunopathologie van MS in een autopsiecohort geanalyseerd in relatie met het klinische beloop, het geslacht en genetische factoren. Daarmee hebben we pathofysiologische mechanismen geïdentificeerd die potentieel bijdragen aan de heterogeniteit en geslachtsverschillen in het klinische beloop van MS patiënten.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Chapter 2

Name	Location	Contribution
Nina L. Fransen	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Maria C.J. Vincenten	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data
Shanzeh Amed	Department of Immunology, University of Toronto, Toronto, Canada	Acquisition of data
Jennifer L. Gommerman	Department of Immunology, University of Toronto, Toronto, Canada	Revision of the manuscript
Inge Huitinga	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands; Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands	Study concept and design; interpretation of data; revision of the manuscript
Valeria Ramaglia	Department of Immunology, University of Toronto, Toronto, Canada Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript

Chapter 3

Name	Location	Contribution
Sabina Luchetti *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept or design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Nina L. Fransen *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept or design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Corbert G. van Eden	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept or design; acquisition of data; interpretation of data
Valeria Ramaglia	Department of Immunology, University of Toronto, Toronto, Canada Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept or design; acquisition of data; interpretation of data; revision of the manuscript
Matthew Mason #	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Statistical analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Inge Huitinga #	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands; Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; interpretation of data; revision of the manuscript

* or # = equal contributions

Chapter 4

Name	Location	Contribution
Joost Smolders *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Department of Neurology, Canisius Wilhelmina Hospital, Nijmegen, The Netherlands	Study design; conducting experiments; analysis and interpretation of data; writing of the manuscript
Kirstin M. Heutink *	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; conducting experiments; analysis and interpretation of data; writing of the manuscript
Nina L. Fransen *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study design; conducting experiments; analysis and interpretation of data
Ester B.M. Remmerswaal	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands Renal Transplant Unit, Department of Internal Medicine, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Pleun Hombrink	Department of Hematopoiesis, Sanquin Research and Landsteiner Laboratory, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Ineke J.M. ten Berge	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands Renal Transplant Unit, Department of Internal Medicine, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Rene A.Q. van Lier	Department of Hematopoiesis, Sanquin Research and Landsteiner Laboratory, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Inge Huitinga	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Jörg Hamann	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data; writing of the manuscript

* = equal contributions

Chapter 5

Name	Location	Contribution
Nina L. Fransen	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/ revision of the manuscript
Cheng-Chih Hsiao	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Marlijn van der Poel	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data
Hendrik J. Engelenburg	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data; analysis and interpretation of data
Kim Verdaasdonk	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data; analysis and interpretation of data
Maria C.J. Vincenten	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data
Ester B.M. Remmerswaal	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands Renal Transplant Unit, Department of Internal Medicine, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Tanja Kuhlmann	Institute for Neuropathology, University Hospital Münster, Münster, Germany	Acquisition of data; analysis and interpretation of data
Matthew R.J. Mason	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Analysis and interpretation of data
Jörg Hamann *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Joost Smolders *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/ revision of the manuscript
Inge Huitinga *	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript

* = equal contributions

Chapter 6

Name	Location	Contribution
Nina L. Fransen, M.D.	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Brigit A. de Jong, M.D., Ph.D.	Department of Neurology, Amsterdam University Medical Centers, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Katharina Heß, M.D.	Institute for Neuropathology, University Hospital Münster, Münster, Germany	Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Tanja Kuhlmann, M.D., Ph.D.	Institute for Neuropathology, University Hospital Münster, Münster, Germany	Acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Maria C.J. Vincenten, M.Sc.	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data
Jörg Hamann, Ph.D.	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Inge Huitinga, Ph.D.	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Joost Smolders, M.D., Ph.D.	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands ErasMS, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript

Chapter 7

Name	Location	Contribution
Nina L. Fransen	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Sabina Luchetti	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; interpretation of data; revision of the manuscript
Matthew Mason	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Inge Huitinga	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; interpretation of data; revision of the manuscript

Chapter 8

Name	Location	Contribution
Nina L. Fransen	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; drafting/revision of the manuscript
Jakob B.A. Crusius	Laboratory of Immunogenetics, Department of Medical Microbiology and Infection Control, Amsterdam UMC, VU University, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Joost Smolders	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands Department of Neurology, Canisius Wilhelmina Hospital, Nijmegen, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of manuscript
Mark R. Mixee	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript
Corbert G. van Eden	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data
Sabina Luchetti	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Acquisition of data
Ester B.M. Remmerswaal	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands Renal Transplant Unit, Department of Internal Medicine, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands	Study design; acquisition of data
Jörg Hamann	Department of Experimental Immunology, Amsterdam Infection & Immunity Institute, Amsterdam UMC, Amsterdam, The Netherlands Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study design; analysis and interpretation of data
Matthew R.J. MAson	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; statistical analysis; interpretation of data; revision of the manuscript
Inge Huitinga	Department of Neuroimmunology, Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands	Study concept and design; acquisition of data; analysis and interpretation of data; revision of the manuscript

LIST OF PUBLICATIONS

Publications included in this thesis

Progressive multiple sclerosis patients show substantial inflammatory lesion activity that correlates with clinical disease severity and sex: a retrospective autopsy cohort analysis

Acta Neuropathol. 2018 Apr;135(4):511-528

Luchetti S*, **Fransen NL***, van Eden CG, Ramaglia V, Mason M, Huitinga I

Tissue resident memory T cells populate the human brain

Nat Commun. 2018 Nov 2;9(1):4593

Smolders J*, Heutink KM*, **Fransen NL***, Remmerswaal EBM, Hombrink P, Ten Berge IJM, van Lier RAW, Huitinga I, Hamann J

Post-mortem multiple sclerosis lesion pathology is influenced by single nucleotide polymorphisms

Brain Pathol. 2020 Jan;30(1):106-119

Fransen NL, Crusius JBA, Smolders J, Mizze MR, van Eden CG, Luchetti S, Remmerswaal EBM, Hamann J, Mason MRJ, Huitinga I

Tissue resident memory T cells invade the brain parenchyma in multiple sclerosis white matter lesions

Brain. 2020 June; 143(6): Pages 1714–1730

Fransen NL, Hsiao C, van der Poel M, Engelenburg HJ, Verdaasdonk K, Vincenten MCJ, Remmerswaal EBM, Kuhlmann T, Mason MRJ, Hamann J*, Smolders J*, Huitinga I*

Reply: Tissue- resident CD8⁺ memory T cells in multiple sclerosis

Brain. 2021 Jan; 144(1): e8

Smolders J, **Fransen NL**, Huitinga I, Hamann J

Absence of B cells in brainstem and white matter lesions associates with a less severe disease and absence of oligoclonal bands in multiple sclerosis

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm; 2021 Mar; 8 (2): e955

Fransen NL, De Jong B, Vincenten MCJ, Heß K, Kuhlmann T, Hamann J, Huitinga I*, Smolders J*

Perivascular tissue-resident memory T cells as therapeutic target in multiple sclerosis

Expert Review of Neurotherapeutics, 2020, 20:8, 835-848

Smolders J, **Fransen NL**, Hsiao C-C, Hamann J., Huitinga I

Publications not included in this thesis

Neurofilament light chain CSF levels correlate with inflammatory lesion activity and acute axonal damage in multiple sclerosis

Under revision

Van den Bosch AMR*, **Fransen NL***, Mason MRJ, Rozemuller A, Teunissen C, Smolders J, Huitinga I

White matter lesions in multiple sclerosis are enriched for CD20^{dim} CD8⁺ tissue-resident memory T cells

Eur J Immunol. 2020 Sep 19

Hsiao C, **Fransen NL**, Huitinga I, Hamann J, Smolders J

An inflammatory landscape for pre-operative neurologic deficits in glioblastoma

Front Genet. 2019 Jun 4;10:488

Katrib A, Jeong HH, **Fransen NL**, Henzel KS, Miller JA

Temporal dynamics of hippocampal neurogenesis in chronic neurodegeneration

Brain. 2014 Aug;137(Pt 8):2312-28

Gomez-Nicola D, Suzzi S, Vargas-Caballero M, **Fransen NL**, Al-Malki H, Cebrian-Silla A, Garcia-Verdugo JM, Riecken K, Fehse B, Perry VH

Regulation of microglial proliferation in chronic neurodegeneration

J Neurosci 2013 Feb 6;33(6):2481-93

Gomez-Nicola D, **Fransen NL**, Suzzi S, Perry VH

Association of vascular factors with apathy in community dwelling elderly individuals

Arch Gen Psychiatry. 2012 Jun;69(6):636-42

Ligthart SA, Richard E, **Fransen NL**, Eurlings LS, Beem L, Eikelenboom P, van Gool WA, Moll van Charante EP

Erfelijke prionziekten in Nederland: klinisch beeld, incidentie en risicodragers

Tijdschrift voor Neurologie en Neurochirurgie. 2012 Jun; 113(3):115-121

Fransen NL, Jansen C, Rozemuller AJM, van Duijn CM, van Gool WA

PHD PORTFOLIO

1. PhD training	Year	Workload (ECTS)
General courses		
• Introduction course ONWAR	2015	0,9
• Project Management LUMC	2015	1.5
• Grant Writing	2019	1.8
Specific courses		
• Practical Biostatistics Course E-Learning AMC	2016	1.4
• Computing in R	2016	0,4
• Functional neuroanatomy (ONWAR)	2017	1.5
• Summer School Systems Genetics of Neurodegeneration, Frauenchiemsee, Bavaria, Germany	2017	1.9
• Teaching Courses ECTRIMS London and Paris	2016, 2017	0.2
• International Congress of Neuroimmunology/ISNI Jerusalem Teaching course	2016	0.3
• International Congress of Neuropathology Tokyo Educational Course	2018	0,3
Seminars, workshops and master classes		
• Annual ONWAR meetings	2015–2019	3,6
• Swammerdam lectures ONWAR	2015–2019	0,7
Oral presentations		
• ECTRIMS Stockholm: Post-mortem MS lesion pathology is influenced by single nucleotide polymorphisms	2019	0,5
• ECTRIMS Stockholm: T _{RM} cells in advanced MS white matter lesions	2019	0,5
• MS research day's: Post-mortem MS lesion pathology is influenced by single nucleotide polymorphisms	2019	0,5
• MSIF Global Networking Meeting Amsterdam: the Netherlands Brainbank for MS	2018	0,5
Poster presentations		
• ECTRIMS London: Post-mortem MS lesion pathology is influenced by single nucleotide polymorphisms	2016	0,5
• International congress of Neuroimmunology Jerusalem: Post-mortem MS lesion pathology is influenced by single nucleotide polymorphisms	2016	0,5
• ECTRIMS Paris: The analysis of MS lesion pathology in the progressive Netherlands Brain Bank autopsy cohort	2017	0,5
• The Lancet Summit Barcelona: perivascular cuffing of T cells is related to chronic MS lesion activity in progressive MS cases: a retrospective autopsy cohort analysis	2018	0,5
• International congress of Neuropathology Tokyo: The analysis of MS lesion pathology in the progressive Netherlands Brain Bank autopsy cohort	2018	0,5
• ECTRIMS Stockholm: Immunopathology of MS brainstem	2019	0,5
(Inter)national conferences		
• MS Research days	2015–2019	1.0
• ECTRIMS 2016, 2017, 2019	2016–2019	3.0
• International congress of Neuroimmunology, Jeruzalem	2016	1.0
• The Lancet Summit: Inflammation and Immunity in disorders of the brain and mind, Barcelona	2018	1.0
• International congress of Neuropathology, Tokyo	2018	1.0

PhD portfolio (continued)

1. PhD training	Year	Workload (ECTS)
Other		
• Visiting Neuropathology department, University of Göttingen: collaboration with Wolfgang Brück	2016	5
• Visiting Institute for Neuropathology, University of Münster: collaboration with Tanja Kuhlmann	2019	0.6
2. Teaching		
Lecturing		
• Lecture at auto-immunity symposium for honours program pharmaceutical sciences University of Utrecht; Trm cells in MS lesion pathology	2019	0,5
• Lecture Master Neuroscience UvA 'From cell to Behaviour'; The analysis of MS lesion pathology in the progressive Netherlands Brain Bank autopsy cohort	2019	0,5
• Lecture at Kenniscafe: wetenschappers over de 2020's organisation by de Balie, KNAW and de Volkskrant	2019	0,5
Supervising		
• Wendelien Bergmans (master internship)	2015	2
• Chaimae Chomrikh (master thesis)	2015	1
• Myrna Brandt (master thesis)	2016	0.6
• Louise Pierneef (master internship)	2016	2
• Soraya van Eten (bachelor internship)	2017	2
• Berfin Gulave (master thesis)	2017	1
• Jeen Engelenburg (bachelor internship)	2018	2
• Sophie Jacobs (master thesis)	2018	1
• Kim Verdaasdonk (bachelor internship)	2019	2
• Kristina Salontaj (master internship)	2019	2
3. Parameters of Esteem		
• Selected for summer school systems genetics in neurodegeneration – travel and accommodation grant	2017	
• ECTRIMS Paris travel grant	2017	
• Best poster presentation International congress of Neuropathology, Tokyo	2018	
• ECTRIMS Stockholm travel grant	2019	
• Best oral presentation ECTRIMS Stockholm Young Investigator Award	2019	

DANKWOORD

Er zijn veel mensen die ik wil bedanken voor hun bijdrage aan mijn promotietraject en aan de totstandkoming van dit proefschrift.

Allereerst heel veel dank aan Inge, professor Huitinga. Dank voor de mogelijkheid die je me hebt gegeven om onderzoek te doen binnen de neuro-immunologie en om te werken met het bijzondere MS autopsie cohort van de Nederlandse Hersenbank. Jouw enthousiasme voor het humane hersenweefsel en het doen van experimenten werkte erg aanstekelijk tijdens onze wekelijkse meetings. Je zorgde er telkens weer voor dat mijn nieuwsgierigheid op het gebied van MS-pathologie meer en meer werd aangewakkerd en je bood me veel mogelijkheden om met mijn eigen ideeën aan de slag te gaan. Ook heb je me de afgelopen jaren inzicht gegeven in de zakelijke en ondernemende kant van zowel het onderzoek als de Hersenbank en in de ethische kwesties die daarbij komen kijken. Ik heb veel bewondering voor je nieuwsgierige, avontuurlijke en ondernemende instelling en je grote toewijding aan onderzoek. Het was bijzonder om je benoeming als hoogleraar van dichtbij mee te mogen maken en ik ben erg trots dat je mijn promotor bent. Veel dank ook voor je vanzelfsprekende steun en flexibiliteit rondom de geboorte van Kiera en Kalle.

Joost, wat was het fijn om met jou in de onderzoeksgroep te werken. Het tempo ligt bij jou altijd bijzonder hoog en je razendsnelle inhoudelijke reacties op manuscripten en ideeën voor experimenten werkten erg inspirerend. Zonder jou was het in dit proefschrift zeker weten minder over T-cellen gegaan. Ik heb veel bewondering hoe je alles in je leven op een altijd vrolijke en energieke manier weet te combineren en ook nog altijd geïnteresseerd bent in hoe het met mij en mijn gezin thuis gaat. Ik ben heel erg blij dat je mijn copromotor bent geworden.

De leden van de leescommissie, prof. Aronica, prof. Lucassen, prof. Koning wil ik bedanken voor het lezen en beoordelen van mijn proefschrift. Dr. de Jong, Birgit, dank voor de fijne samenwerking en voor het zitting nemen in de commissie. Prof. van Gool, Pim, dankzij jou is mijn fascinatie voor de microglia-cellen ooit begonnen, erg fijn dat je nu bij de afronding van mijn promotie erbij bent door zitting te nemen in de commissie. Prof. Kuhlmann, Tanja, thank you for taking part in the committee and for sharing your knowledge on MS pathology when we met each other at ECTRIMS and when we visited Münster.

De hersendonoren van de Nederlandse Hersenbank en hun families wil ik heel graag bedanken. Zonder hen waren de studies met het waardevolle materiaal van de Nederlandse Hersenbank helemaal niet mogelijk geweest!

Het hele team van de Nederlandse Hersenbank wil ik bedanken voor al hun werk, dag en nacht, dat onderzoek met dit waardevolle materiaal mogelijk maakt. Michiel, Mignon, Minke, Paul, Afra,

Laura, Petra, An, Ling, Isabell, bedankt voor jullie hulp de afgelopen jaren. Annemieke Rozemuller, dank voor het delen van je kennis en je rijke ervaring op het gebied van de diagnostiek en het onderzoek met humaan hersenweefsel, ik hoop dat we elkaar in Utrecht nog vaak tegenkomen.

De neuro-immunologie groep wil ik graag bedanken voor de mooie en intensieve jaren die we samen hebben beleefd.

Jörg Hamann, van het begin tot het eind ben je geïnteresseerd en betrokken geweest bij mijn promotietraject en bij mij als persoon, dank hiervoor. Je altijd hoge streefniveau en toch rustige en realistische instelling werkten erg prettig en stimulerend. Dank ook voor het delen van je uitgebreide immunologische kennis. Je nauwgezetheid is bewonderenswaardig; ook als alle auteurs al meerdere malen grondig naar een manuscript hadden gekeken, wist jij er toch nog wel een foutje uit te halen.

Matthew Mason, thank you for sharing your knowledge and experience with both statistics and laboratory techniques. I always appreciated your strong analytic thinking when discussing my projects. With little words you were able to improve our plans for experiments and our manuscripts.

Sabina Luchetti, thank you for sharing your extraordinarily knowledge on the neurosteroid synthesis and sex differences in the brain even when you were severely ill at home. Your dedication to your research over the past years has impressed me a lot.

Corbert van Eden, heel erg bedankt voor het wegwijs maken in het monnikenwerk van de karakterisatie van de MS-laesies voor de hersenbank. Zonder jou was de karakterisatie zeker niet zo omvangrijk geweest. Ook veel dank voor je geduld met mij, als arts in het lab, bij het wegwijs maken in het labwerk en het delen van je zeer rijke ervaring met histologische en immuunhistochemische kleuringen. Ik heb je na jouw pensionering nog regelmatig gemist.

Valeria Ramaglia, thank you for sharing your knowledge on the complement system and MS pathology. It was always inspiring to work with you and to look at your beautiful stainings and pictures. I look forward to finish the brainstem project with you.

Bart Crusius, bedankt voor je hulp met de databases bij de selectie en analyse van SNPs, je nauwgezetheid en enthousiasme zal ik niet snel vergeten.

Cheng-Chih Hsiao, Andy, thank you for sharing your knowledge and helping me out with the flow-cytometry experiments. You are so fast in handling the lab work, always doing an impressive amount of experiments at the same time, it was nice working together.

Mark Mizze, het was fijn om jou bij de werkbesprekingen te hebben, ik was heel blij met je altijd scherpe input bij het opstarten van de verschillende projecten en het analyseren van de data.

Adelia, it has been nice working in the lab together, your tranquil and precise way of performing lots of experiments was very inspiring. Manon, wat was ik blij toen je bij de groep kwam, heel erg bedankt voor alle technische ondersteuning in de afrondende fase van mijn PhD. Het leek alsof er geen eind kwam aan de kleuringen en kwantificaties die we toch nog wilde toevoegen om artikelen mooier te maken. Dankzij jouw hulp is het toch allemaal gelukt. Aletta, het was heel fijn dat jij als PhD student in de groep kwam en mooi dat je nu de karakterisatie van MS-laesies voortzet, evenals het neurofilament werk. Ik heb er alle vertrouwen in dat dat onder jouw leiding heel mooi gaat worden. Lianne, Rory, Jackelien, Lin, Dan, thank you for your company both inside and outside the lab.

De studenten die ik in het lab heb mogen begeleiden tijdens hun stages, Wendelien, Louise, Soraya, Kim en Kristina; bedankt voor jullie enthousiasme en jullie directe en indirecte bijdragen aan dit proefschrift. Jeen, wat ontzettend fijn dat jij nu het T-cel werk als PhD student kan gaan voortzetten.

Marlijn, ik ben heel blij dat we dit promotietraject grotendeels samen hebben kunnen doorlopen, en dat we de frustraties en euforie die horen bij onderzoek en het labwerk konden delen. We waren beiden enthousiast over onze projecten en dat werkte erg stimulerend. Heel veel dank voor de gezelligheid bij alle congressen die we samen mochten bezoeken en op onze vele vrijdag snackdagen. Fijn dat je er als paranimf bij bent.

Prof. W. Brück, thank you for having me around in Göttingen in the first year of my PhD and showing me the heterogeneity of MS lesion pathogenesis in the MS biopsy collection, this has been inspiring for the rest of my PhD.

Marijke, Paul en de pathologen en AIOS in het UMC Utrecht, bedankt voor de prettige start van de opleiding bij jullie en voor het begrip en de ruimte die ik kreeg en krijg om dit traject in het begin van de opleiding af te kunnen ronden. Ik kijk erg uit naar de komende jaren in Utrecht!

Yvonne, heel erg bedankt voor het samen ontwerpen van dit proefschrift. Je snapte precies wat ik bedoelde en hebt met grote precisie alles afgewerkt. Heel bijzonder om dit samen met jou mooi af te ronden.

Lieve vrienden en familie, wat ben ik blij met jullie! Hoewel jullie misschien niet direct hebben bijgedragen aan het onderzoek, hebben jullie allemaal wel geduldig geluisterd als ik nog maar eens over MS laesies, microglia of T-cellen begon. In deze coronapandemie, heb ik wel veel tijd gehad om dit proefschrift af te kunnen ronden maar miste ik erg alle gezelligheid met jullie. Ik hoop dat we snel weer samen dingen kunnen ondernemen. Vicky en Laura, wat is het fijn dat we elkaar van jongs af aan altijd weer weten te vinden. Chris en Jeff, dank voor de gezelligheid en ik hoop dat we snel weer samen naar orkest kunnen. Virtutes meiden; Liza, Zozan, Sufia, Eveline, Isabelle en Claartje, de studietijd en elke dinsdag samen eten met jullie was een feest. Nu hebben we allemaal

veel ballen in de lucht met kinderen, onderzoek en/of klinisch werk, heel fijn om dat met jullie te delen. Emo, Judith, Sjaan, Annefleur, Jasper, Ties, Ise, dank voor alle spontane bezoekjes, lekkere etentjes en ontspannen weekendjes met ons uitdijende clubje.

Lieve Claar, Floris en Kees, wat is het altijd een feest met jullie en Claar wat ben je zorgzaam, warm en betrokken bij de mensen om je heen, met altijd eindeloos veel lieve kaartjes. Dank voor je vriendschap en heel fijn dat je er als paranimf bij bent.

Lieve Maf, veel dank voor je trouwe en lieve zorgen voor Kiera en nu ook voor Kalle, het is mooi je daar zo van te zien genieten. Ze boffen met zo'n slimme en handige oma. De voltallige familie Frinking; Valentijn, Suus, Noah, Marcella, Raaf en Hélène, dank voor al jullie gezelligheid.

Lieve Rutger en Laura, jullie leven altijd zo lief mee met alles wat ik doe. Heel veel dank voor jullie natuurlijke interesse, steun en vertrouwen. Ik kijk heel erg uit naar de fijne weekendjes met jullie. Hoe ver weg jullie nu ook zijn, we blijven gelukkig intensief bij elkaar betrokken, want ik kan niet zonder jullie!

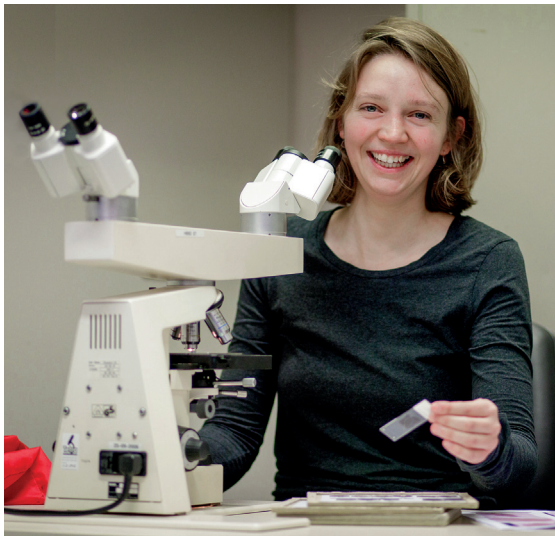
Lieve Papa en Mama, jullie zijn er altijd samen helemaal voor mij geweest. Dank voor jullie onvoorwaardelijke steun, liefde en vertrouwen. Jullie hebben er altijd voor gezorgd dat we alle mogelijkheden hadden om te kunnen doen wat we willen. Ik hoop dat ik Kiera en Kalle diezelfde fijne en veilige thuisbasis kan geven. Ook heel erg veel dank voor jullie enthousiaste en flexibele hulp met oppassen de afgelopen jaren, hierdoor hebben we alles op een prettige manier kunnen combineren.

Lieve Kiera, lieve Kalle, mijn grootste schatten! Dankzij jullie kan ik alles ietsje beter relativeren. Het is heel mooi om jullie zo nieuwsgierig de wereld te zien ontdekken en zo gretig te zien ontwikkelen. Er is nog heel erg veel te onderzoeken voor jullie en daar word ik heel blij van. Lieve Olivier, van het begin tot het eind heb je intensief meegeleefd met de totstandkoming van dit proefschrift, dank voor je onvoorwaardelijke steun, geduld en liefde. Ik geniet heel erg van het leven met jou, Kiera en Kalle. Ik hou van je en ik heb heel veel zin in de toekomst samen!

ABOUT THE AUTHOR

Nina Louise Fransen was born in Amsterdam on September 2nd in 1989. After completing secondary school at the Veluws College in Apeldoorn in 2007, she started studying Medicine at the University of Amsterdam. As part of the University of Amsterdam's honours programme, Nina conducted several research projects on neurodegeneration under supervision of prof. W.A. van Gool. She did a research internship of 6 months in the neuroimmunology group of prof. V.H. Perry, supervised by dr. D. Gomez at the University of Southampton, performing experiments to study microglial cell proliferation. She received her medical degree in 2014 and started working as a ANIOS neurology at the Onze Lieve Vrouwe Gasthuis in Amsterdam under supervision of prof. P. Portegies.

In 2015, she started her PhD project at the Netherlands Institute for Neuroscience in the neuroimmunology group under supervision of prof. I. Huitinga and dr. J. Smolders. She visited the department of neuropathology in the University Medical Center Göttingen in 2016 where she performed experiments to study axonal degeneration in MS and where she examined the MS biopsy lesion collection. In 2017 she was selected to participate in the residential summer school systems genetics in neurodegeneration, at Frauenchiemsee in Germany, where she learned to analyze online available genetic data. In 2018, she won the Best Poster Award at the International



Conference for Neuropathology (ICN) in Tokyo and in 2019 she received the Best Oral Young Investigator Award for her presentation at the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) in Stockholm. Nina is currently a clinical resident in pathology at the University Medical Centre in Utrecht under the supervision of prof. P. van Diest and prof. M. van Dijk.

Nina lives in Amsterdam with Olivier Frinking and their two children, Kiera (2016) and Kalle (2020).

