

Université de Montréal

**Régulation immunométabolique du macrophage : potentiel
anti-inflammatoire des ligands du CD36 dans le traitement
de la dégénérescence maculaire liée à l'âge**

par Katia Mellal

Faculté de pharmacie

Thèse présentée au Études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en Sciences pharmaceutiques,
option pharmacologie

Mai 2020

© Katia Mellal, 2020

Université de Montréal
Études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :
Régulation immunométabolique du macrophage : potentiel anti-inflammatoire des ligands du
CD36 dans le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge

Présentée par :
Katia Mellal

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Céline Fiset, président-rapporteur

Huy Ong, directeur de recherche

Sylvain Chemtob, co-directeur

Sylvie Marleau, co-directrice

Gaétan Mayer, membre du jury

Francine Behar-Cohen, examinatrice externe

Jean-Sébastien Joyal, représentant des ESP

Résumé

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), une maladie neurodégénérative de la rétine, est considérée comme la principale cause de perte de vision chez les personnes âgées. Le CD36 est un récepteur éboueur (*scavenger*) exprimé à la surface des phagocytes mononucléés et de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), qui agit également comme corécepteur de l'hétérodimère des récepteurs de type Toll-like (TLR) 2/6 dans l'induction de l'inflammation. Dans la DMLA, l'activation du CD36 favorise l'internalisation des lipides oxydés par les cellules de l'EPR, le recrutement et l'accumulation des phagocytes mononucléés (microglie, monocytes/macrophages), ainsi que l'induction de la réponse inflammatoire au niveau sous-rétinien. L'identification du CD36 comme récepteur de peptides synthétiques de la famille des sécrétines de l'hormone de croissance (GHRPs) par notre laboratoire, nous a conduit au développement de ligands plus sélectifs pour ce récepteur, qui ont été étudiés dans le contexte des maladies inflammatoires chroniques liées aux macrophages telle que l'athérosclérose. Étant donné les similitudes observées entre la pathologie de l'athérosclérose et de la DMLA, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle les azapeptides, comme ligands du CD36, auraient des effets protecteurs contre la DMLA en modulant la réponse inflammatoire. Ainsi, l'objectif général de ce projet de doctorat était d'évaluer les effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs des azapeptides, comme ligands du CD36, et d'élucider leurs mécanismes d'action au niveau des macrophages ainsi que dans des modèles murins de DMLA.

Le premier objectif spécifique de cette thèse était de déterminer l'effet de l'azapeptide MPE-001 dans la modulation de la réponse inflammatoire cellulaire médiée par le TLR2 et les voies de signalisation associées. Pour ce faire, des macrophages péritonéaux de souris C57BL/6 ou déficientes en *Cd36* (*Cd36*^{-/-}) ont été stimulés avec des agonistes du TLR2. Le traitement avec le MPE-001 a induit une diminution significative de la production de cytokines pro-inflammatoires, tels que le TNF α , l'IL-6, l'IL-12 et l'IL-1 β et la chimiokine CCL2, de même qu'une inhibition des voies de signalisation *nuclear factor κ B* (NF κ B), *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) et P38. Ce premier objectif nous a permis de mettre en évidence les effets anti-inflammatoires du MPE-001 et son mécanisme d'action, en modulant la réponse inflammatoire médiée par l'hétérodimère TLR2/6.

Afin de déterminer les effets du MPE-001 sur la modulation de la réponse inflammatoire chez un modèle murin de DMLA, les souris C57BL/6, *Cd36^{-/-}*, *Cx3Cr1^{-/-}* et *Cx3Cr1^{-/-}/Cd36^{-/-}* ont été soumises à un stress photo-oxydatif induit par la lumière bleue pendant 5 jours. Une journée après le début de l'illumination, les souris ont reçu une injection *s.c.* de MPE-001 répétée pendant 7 jours. Le modèle murin de *Cx3Cr1^{-/-}* est connue pour exacerber la réponse inflammatoire et induire l'accumulation de phagocytes mononucléés, plus particulièrement les microglies dans la rétine. Les montages à plat des coupes des yeux prélevés ont montré que le traitement au MPE-001 a engendré une diminution importante de 60% de l'accumulation de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien, de même qu'une diminution des marqueurs inflammatoires (iNOS, IL-12), ainsi que la préservation de l'intégrité et de la fonction des photorécepteurs. Ce deuxième objectif nous a permis de démontrer les effets *in vivo* du MPE-001, en entraînant une diminution de l'accumulation de phagocytes mononucléés sous-rétiniens et la préservation des photorécepteurs.

Étant donné les effets inhibiteurs du MPE-001 sur la sécrétion d'IL-1 β , notre troisième objectif était d'investiguer l'effet du MPE-001 sur la régulation de l'inflammasome au niveau des macrophages. Nous avons montré que le MPE-001 entraînait une diminution de la réponse inflammatoire en inhibant la sécrétion d'IL-1 β au niveau des macrophages, tout en diminuant l'expression de *nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin-containing receptor 3* (NLRP3) et de la caspase-1. Ce troisième objectif nous a permis de montrer que le MPE-001 a modulé le profil inflammatoire des macrophages en atténuant l'inflammasome NLRP3.

Étant donné que le phénotype des macrophages est régulé par leur métabolisme, notre 4^e et dernier objectif était de déterminer si les effets anti-inflammatoires du MPE-001 pouvaient influencer la polarisation des macrophages. Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle de *bone marrow-derived macrophages* (BMDM) induits en phénotype pro-inflammatoire M1 ou anti-inflammatoire M2. Bien que le MPE-001 n'ait eu aucune influence sur les marqueurs de surfaces phénotypiques, nous avons montré que ce dernier induisait un changement métabolique des macrophages pro-inflammatoires M1, en inhibant la glycolyse et en favorisant la phosphorylation oxydative, de façon dépendante du récepteur nucléaire *peroxisome proliferator-activated receptor- γ* (PPAR- γ).

En conclusion, les travaux de cette thèse ont montré que l'azapeptide MPE-001 possède de puissants effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs au niveau des macrophages dans un contexte d'inflammation rétinienne, pouvant constituer une nouvelle approche thérapeutique prometteuse pour le traitement de la DMLA.

Mots-clés : CD36, macrophages, dégénérescence maculaire liée à l'âge, inflammation, inflammasome NLRP3, immunométabolisme.

Abstract

Age-related macular degeneration (AMD), a neurodegenerative disease of the retina, is considered to be the main cause of vision loss in the elderly. CD36 is a scavenger receptor expressed on the surface of mononuclear phagocytes and retinal pigment epithelium (RPE), which also acts as a co-receptor for the Toll-like receptor (TLR)-2/6 heterodimer in the induction of inflammation. In AMD, CD36 activation promotes the internalization of oxidized lipids by RPE cells, the recruitment and accumulation of mononuclear phagocytes (microglia, monocytes / macrophages), as well as the induction of the inflammatory response at the subretinal level. The identification of CD36 as a receptor for synthetic peptides of the growth hormone releasing-peptides (GHRP) by our laboratory, led us to the development of more selective ligands for this receptor, which have been studied in the context of chronic inflammatory diseases related to macrophages such as atherosclerosis. Given the similarities observed between the pathology of atherosclerosis and AMD, we hypothesized that azapeptides, as CD36 ligands, protect against AMD by modulating the inflammatory response. Thus, the general objective of this doctoral project was to characterize the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of azapeptides, as CD36 ligands, and to elucidate their mechanisms of action on macrophages as well as in murine models of AMD.

The first specific objective of this thesis was to determine the effect of the azapeptide MPE-001 in the modulation of the cellular TLR2-mediated inflammatory response and the associated signaling pathways. To do so, peritoneal macrophages from C57BL/6 or *Cd36*-deficient (*Cd36*^{-/-}) mice were stimulated with TLR2 agonists. Treatment with MPE-001 induced a significant decrease in the production of pro-inflammatory cytokines, such as TNF α , IL-6, IL-12 and IL-1 β and the chemokine CCL2, as well as inhibition of the nuclear factor κ B (NF κ B), N-terminal c-Jun kinase (JNK) and P38 signaling pathways. This first objective allows us to highlight the anti-inflammatory effects of MPE-001 and its mechanism of action, by modulating the inflammatory response mediated by the TLR2/6 heterodimer.

In order to determine the effects of MPE-001 on the modulation of the inflammatory response in a mouse model of AMD, the murine models C57BL/6, *Cd36*^{-/-}, *Cx3Cr1*^{-/-} and *Cx3xr1*^{-/-}/*Cd36*^{-/-} were subjected to photo-oxidative stress induced by blue light for 5 days. One

day after the start of illumination, the mice received a repeated *s.c.* injection of MPE-001 for 7 days. The mouse model of *Cx3Cr1^{-/-}* is known to exacerbate the inflammatory response and induce the accumulation of mononuclear phagocytes, more specifically microglia, in the retina. Flat mounts from collected eyes showed that MPE-001 treatment caused a significant 60% decrease in the accumulation of mononuclear phagocytes in the subretinal space, as well as a reduction in inflammatory markers (iNOS, IL-12), with the preservation of photoreceptor integrity and function. This second objective allows us to demonstrate the *in vivo* effects of MPE-001, leading to a decrease in the accumulation of sub-retinal mononuclear phagocytes and the preservation of photoreceptors.

Given the inhibitory effects of MPE-001 on IL-1 β secretion, our third objective was to investigate the effect of MPE-001 on inflammasome regulation in macrophages. We have shown that MPE-001 decreases the inflammatory response by inhibiting the secretion of IL-1 β in macrophages, while decreasing the expression of nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin-containing receptor 3 (NLRP3) and caspase-1. This third objective allows us to show that MPE-001 modulates the inflammatory profile of macrophages by attenuating the NLRP3 inflammasome.

Since macrophage phenotypes are regulated by their metabolism, our fourth and final objective was to determine whether the anti-inflammatory effects of MPE-001 could influence the polarization of macrophages. To do so, we used a bone marrow-derived macrophages (BMDM) model induced to pro-inflammatory M1 or anti-inflammatory M2 phenotype. Although MPE-001 had no influence on phenotypic markers, we have shown that the latter induces a metabolic shift of the pro-inflammatory M1 macrophages, by inhibiting glycolysis and promoting oxidative phosphorylation of macrophages, in a peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ)-dependent manner.

In conclusion, the work conducted in this thesis showed that the azapeptide MPE-001 has powerful anti-inflammatory and immunomodulatory effects on macrophages in a context of retinal inflammation, which could constitute a promising new therapeutic approach for the treatment of AMD.

Keywords : CD36, macrophages, age-related macular degeneration, inflammation, inflammasome NLRP3, immunometabolism.

Table des matières

<i>Résumé</i>	<i>i</i>
<i>Abstract</i>	<i>iv</i>
<i>Table des matières</i>	<i>vi</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>ix</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>x</i>
<i>Liste des abréviations</i>	<i>xi</i>
<i>Remerciements</i>	<i>xviii</i>
<i>Chapitre 1. Le récepteur CD36</i>	<i>2</i>
<i>1. Introduction</i>	<i>2</i>
1.1. Structure du récepteur CD36	5
1.2. Expression du récepteur CD36	10
1.2.1. Distribution tissulaire du CD36	10
1.2.2. Distribution cellulaire du CD36	11
1.2.3. Régulation transcriptionnelle du CD36	13
1.3. Déficience en CD36	16
1.4. Ligands du CD36	16
1.4.1. Ligands endogènes	16
1.4.2. Ligands exogènes	17
1.5. Signalisation du récepteur CD36	19
1.5.1. Signalisation du récepteur CD36 seul	20
1.5.2. Signalisation du CD36 comme corécepteur	21
1.5.3. Rôle du CD36 dans la phagocytose	22
1.6. Rôles pathophysiologiques du CD36	24
1.6.1. Rôle du CD36 dans l'angiogenèse	24
1.6.2. Rôle du CD36 dans le métabolisme lipidique	27
1.6.3. Rôle du CD36 dans l'athérosclérose	34
1.6.4. Rôle du CD36 dans l'inflammation et l'immunité innée	36
1.6.4.1. Implication du CD36 dans l'activation de l'inflammasome	40

1.6.5. Rôle du CD36 dans la maladie d'Alzheimer	43
Chapitre 2. La dégénérescence maculaire liée à l'âge	46
2. Introduction	46
2.1. Structure de la rétine	47
2.2. Développement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge	50
2.2.1. Stades précoces de la DMLA	52
2.2.2. Stades avancés de la DMLA.....	56
2.2.2.1. La DMLA de type humide	56
2.2.2.2. La DMLA de type sèche.....	61
2.3. L'inflammation dans la DMLA	64
2.3.1. Rôle des phagocytes mononucléés dans la DMLA	68
2.3.1.1. Les microglies	70
2.3.1.2. Les macrophages	74
2.4. Le métabolisme dans la polarisation des PM	83
2.5. Développement de thérapies contre la DMLA	90
2.5.1. Traitements de la DMLA néovasculaire.....	90
2.5.2. Traitements de la DMLA de type sèche	92
2.5.3. Médicaments ciblant des composants spécifiques du complément dans la DMLA	93
2.5.3.1. Inhibiteurs du composant 3 (C3) du complément	93
2.5.3.2. Inhibiteurs du composant 5 (C5) du complément	94
2.5.3.3. Inhibiteurs du facteur D du complément (CFD).....	95
2.5.3.4. Inhibiteurs du facteur B du complément (CFB).....	96
<i>Chapitre 3. Hypothèse et objectifs.....</i>	<i>97</i>
<i>Chapitre 4. Résultats</i>	<i>99</i>
Publications	99
<i>Immunometabolic modulation of retinal inflammation by CD36 ligand</i>	<i>101</i>
Résumé	102
Abstract.....	103
Introduction	104
Results	106
Discussion.....	116

Materials and Methods	122
Competing interests	131
Author contributions	131
Figures and figure legends.....	134
References	142
Supplemental figures	147
Supplementary tables.....	154
<i>Chapitre 5. Discussion et conclusion</i>	<i>156</i>
5.1. Modulation de la réponse inflammatoire par les ligands du CD36	162
5.2. Effets des ligands du CD36 sur la polarisation des macrophages	173
<i>Chapitre 6. Perspectives générales</i>	<i>179</i>
<i>Conclusion</i>	<i>183</i>
<i>Bibliographie</i>	<i>i</i>

Liste des tableaux

Tableau I.	Agonistes du TLR2 requérant le CD36 comme corécepteur.....	38
Tableau II.	Caractéristiques des phagocytes mononucléés dans des échantillons humains de DMLA	68
Tableau III.	Voies métaboliques majeures impliqués dans les sous-ensembles de macrophages	85

Liste des figures

Figure 1.	Vue d'ensemble de la superfamille des récepteurs scavengers (SR).....	4
Figure 2.	Représentation schématique du gène et de la protéine du CD36 humain.	6
Figure 3.	Structure du récepteur CD36 et modifications post-traductionnelles.....	9
Figure 4.	Représentation schématique de la distribution cellulaire du CD36.....	13
Figure 5.	Structure des sécrétines de l'hormone de croissance et de l'azapeptide MPE-001. 19	
Figure 6.	Voies de signalisation du CD36.	22
Figure 7.	Implication du CD36 dans la phagocytose.	23
Figure 8.	Implication du CD36 dans l'angiogenèse dans les cellules endothéliales microvasculaires.	26
Figure 9.	Modèle tridimensionnel du CD36 montrant la poche de liaison et le tunnel de transport d'acides gras.	29
Figure 10.	Présentation schématique des rôles facilitateur et régulateur du CD36 dans l'absorption des acides gras à longue chaîne (AGLC) par les myocytes cardiaques et squelettiques. 31	
Figure 11.	Rôle du CD36 dans l'induction de la résistance à l'insuline.....	34
Figure 12.	La signalisation médiée par le CD36 favorise l'athérosclérose.	35
Figure 13.	Rôle du CD36 comme co-récepteur des TLR.	40
Figure 14.	Rôle du CD36 dans l'induction de l'inflammasome.	42
Figure 15.	Rôle du CD36 dans la maladie d'Alzheimer.	45
Figure 16.	Structure de la rétine : Représentation schématique des principales couches de la rétine et de ses zones particulières.....	49
Figure 17.	Classification AREDS (Age-Related Eye Disease Study) de la DMLA.....	54
Figure 18.	Anatomie rétinienne durant les stades de développement de la DMLA. Erreur! Signet non défini.	
Figure 19.	Les types cellulaires, les facteurs environnementaux et les voies immunitaires et inflammatoires qui contribuent à la DMLA.	67
Figure 20.	Processus inflammatoires impliqués dans la pathophysiologie de la DMLA. ..	70
Figure 21.	Schéma représentatif des trois différentes phases de l'activation microgliale au niveau de la rétine.....	72
Figure 22.	Sous-types de macrophages activés.....	80
Figure 23.	Voies métaboliques impliquées dans les sous-classes de macrophages M1 et M2a. 86	
Figure 24.	Représentation schématique des principaux mécanismes impliqués dans la modulation immunométabolique de l'inflammation rétinienne par le ligand du CD36, MPE- 001. 178	

Liste des abréviations

4-HNE	4-hydroxynonéal
A2E	N-rétinylidène-N-rétinyléthanolamine
A2R	récepteurs de l'adénosine A2
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
ACC	acétyl-CoA carboxylase
AG	atrophie géographique
AGE	produits de glycation avancés (<i>advanced glycation end-products</i>)
AGLC	acides gras à longues chaînes
AMD	<i>age-related macular degeneration</i>
AMPK	<i>AMP-activated protein kinase</i>
AOPPs	produits protéiques d'oxydation avancés (<i>advanced oxidation protein products</i>)
AP-1	<i>activator protein 1</i>
Apo	apolipoprotéine
AREDS	<i>Age-Related Eye Disease Study</i>
Arg1	arginase 1
ARMS2	<i>age-related maculopathy susceptibility protein 2</i>
AS160	<i>Akt substrate 160</i>
ATP	adénosine triphosphate
A β	protéine β -amyloïde
BCAT1	<i>Branched-chain aminotransferases 1</i>
BMDM	macrophages murins dérivés de la moelle osseuse (<i>bone marrow-derived macrophages</i>)
C/EBP	<i>CCAAT/enhancer binding protein</i>
C1q	composant du complément 1q
CAD	<i>cis-aconitic acid decarboxylase</i>
CCG	couche des cellules ganglionnaires

CCL2	<i>chemokine C ligand 2</i>
CD36	<i>cluster of differentiation 36</i>
CEP	carboxyéthylpyrrole
CFB	facteur B du complément
CFD	facteur D du complément
CFH	<i>complement factor H</i>
CLESH	<i>CD36 LIMP-II Emp sequence homology</i>
CNE	couche nucléaire externe
CNI	couche nucléaire interne
CNTF	<i>Ciliary Neurotrophic Factor</i>
COX2	cyclooxygénase 2
CPE	couches plexiformes externes
CPI	couches plexiformes internes
CREB	<i>cyclic AMP-responsive element-binding protein</i>
CRP	protéine C-réactive
CX3CL1	<i>C-X3-C Motif Chemokine Ligand 1</i>
CX3CR1	récepteur 1 de chimiokine CX3C
CXCL10	ligand CXC-chimiokine 10
DAMP	motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires (<i>damage-associated molecular patterns</i>)
DHA	acide docosahexaénoïque
DHAP	dihydroxyacétone phosphate
DMLA	dégénérescence maculaire liée à l'âge
ECAR	taux d'acidification extracellulaire (<i>extracellular acidification rates</i>)
EPA	acide eicosapentaénoïque
EPR	épithélium pigmentaire rétinien
FABP	<i>fatty acid-binding protein</i>
FABPc	<i>cytoplasmic fatty acid-binding proteins</i>
FABPpm	<i>membrane associated fatty acid binding protein</i>
FAO	oxydation des acides gras (<i>fatty acid oxydation</i>)
FAT	<i>fatty acid translocase</i>

FATP	<i>fatty acid transport protein</i>
fA β	protéine β -amyloïde fibrillaire insoluble
FGF	facteur de croissance des fibroblastes (<i>fibroblast growth factor</i>)
FOXO1	<i>forkhead box protein O1</i>
FRET	transfert d'énergie de fluorescence par résonance (<i>fluorescence resonance energy transfer</i>)
G6P	glucose-6-phosphate
G6PD	glucose-6-phosphate déshydrogénase
GDNF	facteur neurotrophique dérivé des lignées cellulaires gliales (<i>glial cell line-derived neurotrophic factor</i>)
GFAP	<i>glial fibrillary acidic protein</i>
GHRPs	sécrétines de l'hormone de croissance (<i>growth hormone releasing-peptides</i>)
GHS-R1a	récepteur de la ghréline (<i>growth hormone secretagogue receptor</i>)
GLUT4	transporteur de glucose 4
GM-CSF	<i>granulocytes macrophages colony-stimulating factor</i>
GMPc	guanosine monophosphate cyclique
gp88	glycoprotéine 88
gpIV	glycoprotéine IV
HDL	lipoprotéines de haute densité
HIF	<i>hypoxia-inducible factor</i>
HODE	hydroxyoctadécadiénoïque
HTRA1	<i>high-temperature requirement protein A1</i>
IAPP	<i>amyloid-containing amylin-islet amyloid polypeptide</i>
IBA1	<i>Ionized calcium Binding Adaptor molecule 1</i>
IDH	isocitrate déshydrogénase
IFN	interféron
Ig	immunoglobuline
IKK	<i>inhibitor of NF-κB kinase</i>
IL	interleukine
IL-1RA	antagoniste du récepteur de l'IL-1

iNOS	oxyde nitrique synthase induite
IP3	inositol-1,4,5-trisphosphate
IRAK	<i>IL-1R-associated kinases</i>
Irg1	<i>immune-responsive gene 1</i>
IS	segment interne (<i>inner segment</i>)
JNK	<i>c-Jun N-terminal</i>
kDa	kilodaltons
LDL	lipoprotéine de basse densité (<i>low-density lipoprotein</i>)
LDLox	lipoprotéine de basse densité oxydée (<i>oxidized low-density lipoprotein</i>)
LPA	acide lysophosphatidique (<i>lysophosphatidic acid</i>)
LPS	lipopolysaccharides
LTA	acide lipotéichoïque (<i>lipoteichoic acid</i>)
LXR	<i>liver X receptor</i>
M-CSF	<i>monocyte-colony stimulating factor</i>
MALP-2	<i>macrophage-activating lipopeptide 2</i>
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
MCP-1	protéine chimioattractante des monocytes-1 (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)
MDA	malondialdéhyde
MEKK	<i>mitogen-activated protein kinase kinase</i>
MHC-II	complexe d'histocompatibilité majeur de type II
MIP	<i>macrophage inflammatory protein</i>
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
MyD88	<i>myeloid differentiation primary response 88</i>
NADPH	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NFκB	facteur nucléaire kappa B (<i>nuclear factor kappa B</i>)
NLR	<i>nucleotide-binding domain leucin-rich repeat receptor</i>
NLRP3	<i>nucleotide-binding domain leucin-rich repeat and pyrin-containing receptor 3</i>
NO	oxyde nitrique (<i>nitric oxide</i>)
NOD	<i>nucleotide-binding oligomerization domain</i>

NVC	néovascularisation choroïdienne
OCR	taux de consommation d'oxygène (<i>oxygen consumption rates</i>)
OCT	tomographie par cohérence optique
ONL	couche nucléaire externe (<i>outer nuclear layer</i>)
OS	segment externe (<i>outer segment</i>)
OXPPOS	phosphorylation oxydative
oxPOS	segments externes des photorécepteurs oxydés
PAMP	motifs moléculaires associés aux pathogènes (<i>pathogen-associated molecular patterns</i>)
Pax	paxilline
PCA	analyse en composantes principales (<i>principal component analysis</i>)
PGC-1 α	<i>peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha</i>
PI3-K	kinase-3 phosphoinositide
PKB	protéine kinase B
PKC	protéine kinase C
PKD1	protéine kinase D1
PLox	phospholipides oxydés
POS	<i>photoreceptor outer segments</i>
PPAR	<i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>
PPP	voie du pentose phosphate (<i>pentose phosphate pathway</i>)
PRR	récepteur de reconnaissance de formes (<i>pattern-recognition receptor</i>)
PXR	<i>pregnane X receptor</i>
ROS	espèces réactives de l'oxygène (<i>reactive oxygen species</i>)
RPE	<i>retinal pigment epithelium</i>
RXR	récepteur X rétinoïde
SCARB3	<i>scavenger receptor class B member 3</i>
sCD36	CD36 soluble
SDH	succinate déshydrogénase
SDS-PAGE	<i>sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis</i>
SHR	<i>spontaneous hypertensive rats</i>
SNC	système nerveux central

SR-B1	récepteur <i>scavenger</i> B1
SSO	sulfo-N-succinimidyl oléate
STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TAB	<i>TAK1-binding protein</i>
TAK1	<i>TGFβ-activated kinase</i>
TAM	<i>tumor associated macrophages</i>
TCA	cycle de l'acide tricarboxylique
TGF- β	<i>transforming growth factor β</i>
Th1	T <i>helper</i> de type 1
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF	facteur de nécrose tumorale (<i>tumor necrosis factor</i>)
TRAF6	<i>TNF receptor-associated factor 6</i>
TRIF	<i>TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β</i>
TSP	thrombospondine
TSR	<i>thrombospondin type I repeats</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VEGFR	<i>vascular endothelial growth factor receptor</i>
VLDL	lipoprotéines de très faible densité (<i>very low density lipoproteins</i>)
WT	wild type

À mes parents, qui m'ont appris l'amour du travail

À mon mari, ma fille Kenza et toute ma famille

À Sylvie Marie-Ange

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de thèse, le Dr Huy Ong, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et offert l'opportunité de travailler sur un projet aussi excitant et stimulant. Je le remercie pour sa confiance, sa rigueur scientifique et son intégrité.

Je remercie également mes co-directeurs de thèse, le Dr Sylvain Chemtob et la Dre Sylvie Marleau pour leur précieuse aide et leur soutien tout au long de mon parcours. Votre passion a contribué à rendre cette aventure des plus mémorables, et m'a permis d'élever d'autant plus la qualité de cette thèse.

Je tiens à remercier tous les membres du groupe de recherche « Ong, Marleau et Chemtob ». Merci à Samy qui a partagé avec moi tous les hauts et les bas de ce projet. Merci à Dilan pour ton aide inestimable et tes expertises infinies. Merci à Petra et Christian avec qui tout a commencé. Merci à Marie-France d'avoir été là pour le dernier chapitre de ce projet. Merci à Lili pour ton aide et ta patience hors du commun. Merci à David pour ton amitié pendant toutes ces années. Merci à tous mes stagiaires, Karina, Natalia, HP et Marie-France...

Merci à tous les étudiants gradués que j'ai côtoyé à la faculté de pharmacie, et particulièrement les membres du 3^e et les amis du 3^e ...Merci à Xavier, Guillaume, Sara, Jean-Michel, Soudeh, Fatéma, Steven, Florence, Abdullah...votre présence à rendu plus agréable ces longues années universitaires.

Finalement, j'adresse mes sincères remerciements à mes parents et à ma famille pour leurs encouragements et leur soutien indéfectible. Merci à mon mari Wassim pour avoir partagé ce parcours avec moi, pour m'avoir supporté et cru en moi. Merci à ma petite Kenza pour toute la joie que tu mets dans ma vie.

Chapitre 1. Le récepteur CD36

1. Introduction

Le CD36 (*cluster of differentiation 36*) a été isolé pour la première fois en 1977 au niveau des membranes des plaquettes humaines (Clemetson et al., 1977). Le nom de glycoprotéine IV (gpIV ou gpIIIb) lui a été initialement attribué puisque la protéine correspondait à la quatrième bande observée lors de l'électrophorèse sur gel SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*), (Clemetson et al., 1977). Dix ans plus tard, cette même protéine a été identifiée comme étant identique à l'antigène reconnu par l'anticorps monoclonal OKM5, un marqueur des monocytes et macrophages désigné en tant qu'antigène de différenciation leucocytaire, le CD36 (Shaw, 1987). La même année, il a été rapporté que le CD36 était le récepteur de la thrombospondine (TSP) (Asch et al., 1987), suggérant son implication dans l'agrégation des plaquettes ainsi que dans l'adhésion à l'endothélium des érythrocytes infectés par le parasite de la malaria, le *Plasmodium falciparum* (Ockenhouse and Chulay, 1988). Par la suite, le groupe d'Abumrad démontrait son rôle en tant que facilitateur du transport membranaire des acides gras au niveau des adipocytes (Abumrad et al., 1993). Dans la même année, le groupe d'Endemann a découvert que le CD36 est aussi un récepteur des lipoprotéines modifiées au niveau des macrophages, établissant ainsi son rôle de récepteur éboueur (*scavenger*) (Endemann et al., 1993), qui fait partie d'une superfamille de récepteurs *scavengers* de classe B.

Les récepteurs *scavengers* constituent une famille diversifiée de récepteurs de reconnaissance moléculaire qui lient à la fois des ligands endogènes et les dérivés de pathogènes. Ces récepteurs sont exprimés sur des cellules qui patrouillent aux portes d'entrée potentielles d'agents pathogènes, y compris les macrophages, les cellules dendritiques, les microglies et les cellules endothéliales de la microvasculature. Ils sont souvent impliqués dans la pathogenèse d'affections inflammatoires chroniques telles que l'athérosclérose et la maladie d'Alzheimer, ainsi que dans la réponse de l'hôte à certains agents pathogènes bactériens (Coraci et al., 2002, Suzuki et al., 1997, El Khoury et al., 1998, Stuart et al., 2005).

En plus du CD36, la famille des récepteurs *scavengers* de classe B comprend également le récepteur *scavenger* B1 (SR-B1) et la protéine membranaire lysosomale LIMP-2. Ces trois protéines partagent une structure similaire qui comprend deux domaines transmembranaires, un large domaine extracellulaire et les extrémités amino- et carboxyles-terminales cytoplasmiques (Neculai et al., 2013).

Bien que le récepteur CD36 ait été récemment renommé CD36/SR-B2 (Prabhudas et al., 2014), plusieurs autres termes ont été utilisés pour le désigner en fonction de son rôle ou de ses caractéristiques physicochimiques par différents groupes de recherche. Parmi ces termes, on retrouve le nom de gpIV, gpIIIb, glycoprotéine 88 (gp88), *fatty acid translocase* (FAT) et *scavenger receptor class B member 3* (SCARB3). Pour des raisons de concision, nous allons cependant utiliser le terme CD36 pour référer au CD36/SR-B2.

Le récepteur CD36 est présent sur de nombreux types de cellules de mammifères, et plus particulièrement sur les adipocytes, les cellules endothéliales de la microvasculature ainsi que les cellules hématopoïétiques dont les monocytes, macrophages et plaquettes (Febbraio et al.,

2001). Ce modèle d'expression confère au CD36 de nombreuses fonctions, liées principalement à la régulation du métabolisme lipidique et de l'immunité innée (Silverstein and Febbraio, 2009).

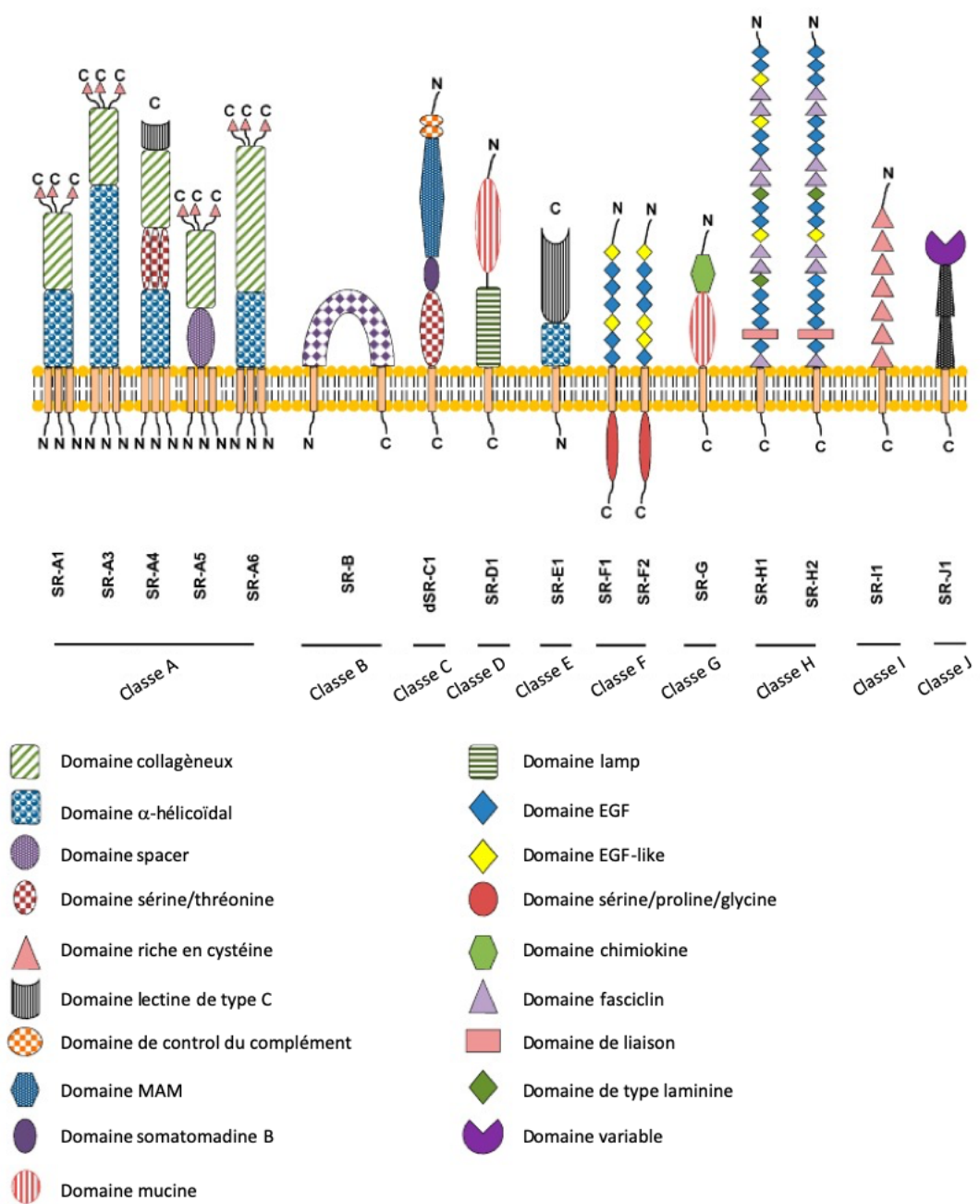


Figure 1. Vue d'ensemble de la superfamille des récepteurs *scavengers* (SR)
 Les différentes classes sont notées de A à J et les domaines spécifiques sont désignés par les codes indiqués. Figure traduite de (Zani et al., 2015)

1.1. Structure du récepteur CD36

Le récepteur CD36 est encodé par le gène *CD36* situé sur le chromosome 7q11.2 chez l'humain et sur le chromosome 5 chez la souris (Collot-Teixeira et al., 2007, Rac et al., 2007). Il est constitué de 15 exons, mais seulement des parties de l'exon 3, 4 à 13 et des parties de l'exon 14 codent pour la protéine CD36 (Armesilla and Vega, 1994). Les autres exons forment les régions 5'-UTR et 3'-UTR non traduites. Les exons 1a, 1b, 1c, 1e et 1f ont été décrits comme des exons alternatifs qui sont régulés de façon différente selon le type cellulaire exprimant le CD36 (Rac et al., 2007). Ainsi, le transcrit contenant l'exon 1a est surtout présent au niveau du tissu adipeux, du muscle cardiaque, du muscle squelettique et des monocytes (Rac et al., 2007). L'exon 1b quant à lui est surtout présent au niveau du tissu adipeux et des monocytes (Rac et al., 2007). Les variations au niveau de l'expression du premier exon du CD36 traduisent ainsi la capacité de chaque type cellulaire à répondre aux besoins physiologiques grâce à l'induction de différents promoteurs. Cela dit, la séquence codante des différents transcrits du CD36 est la même, ce qui finalement mène à la production de la même protéine.

domaines transmembranaires et de deux courtes extrémités cytoplasmiques en N- et C-terminal (Armesilla and Vega, 1994, Vega et al., 1991).

Le large domaine extracellulaire est composé de près de 400 acides aminés. Il possède six cystéines reliées par trois ponts disulfure, en plus de dix sites de N-glycosylation qui sont nécessaires à l'acheminement du récepteur vers la membrane plasmique (Collot-Teixeira et al., 2007). Ceci résulte en une augmentation de la masse molaire de la protéine fonctionnelle pour atteindre 88 kDa (Collot-Teixeira et al., 2007). Le domaine extracellulaire du CD36 contient aussi de nombreux domaines fonctionnels : un domaine hydrophobe situé entre les acides aminés 185 et 204 qui peut interagir avec la membrane plasmique; une région riche en prolines située entre les acides aminés 242 et 333 (Greenwalt et al., 1992); ainsi qu'un domaine situé entre les acides aminés 155 et 183 qui peut lier les lipoprotéines de basse densité oxydées ou *oxidized low-density lipoprotein* (LDLox) (Navazo et al., 1996), les produits de glycation avancés ou *advanced glycation end-products* (AGE) (Ohgami et al., 2001) et les sécrétines de l'hormone de croissance ou *growth hormone releasing-peptides* (GHRPs) tels que l'hexaréline et le EP80317 (Demers et al., 2004). On dénombre aussi d'autres sites de liaison au LDLox au niveau des domaines situés entre les acides aminés 28 à 93 et 120 à 155 (Pearce et al., 1998). Par ailleurs, les domaines situés entre les acides aminés 155 et 183 et celui situé entre les domaines 93 et 120 (aussi nommé domaine *CD36 LIMP-II Emp sequence homology* ou CLESH) sont potentiellement impliqués dans la liaison et l'endocytose des cellules apoptotiques (Savill et al., 1992, Navazo et al., 1996, Dawson et al., 1997). Les autres domaines présents sur le CD36, tels que ceux présents sur les acides aminés 139 à 184, 146 à 164 et 145 à 171 assurent la liaison avec PfEMP-1, une protéine membranaire spécifiquement exprimée par les érythrocytes infectés par le *Plasmodium falciparum* (Handunnetti et al., 1992).

Les domaines cytoplasmiques N- et C-terminal contribuent de façon importante à l'activité du CD36 (Gruarin et al., 2000, Eyre et al., 2007). Ils sont caractérisés par la palmitoylation d'une paire de résidus cystéines en position 3 et 7 sur le domaine N-terminal, et en position 464 et 466 sur le domaine C-terminal (Tao et al., 1996). Ceci permet l'ancrage à la membrane du récepteur CD36 au niveau des cavéoles et des radeaux lipidiques (Tao et al., 1996, Febbraio and Silverstein, 2007). On reconnaît aussi la présence de domaines d'interaction aux kinases ou aux protéines adaptatrices, ainsi que des motifs spécifiques permettant l'interaction du récepteur avec d'autres protéines (Febbraio and Silverstein, 2007). Par ailleurs, la partie C-terminale est aussi caractérisée par son implication dans l'internalisation des acides gras (Eyre et al., 2007), ainsi que la présence d'un domaine fonctionnel situé entre les acides aminés 467 et 472 qui constitue un site de liaison pour les LDLox (Malaud et al., 2002).

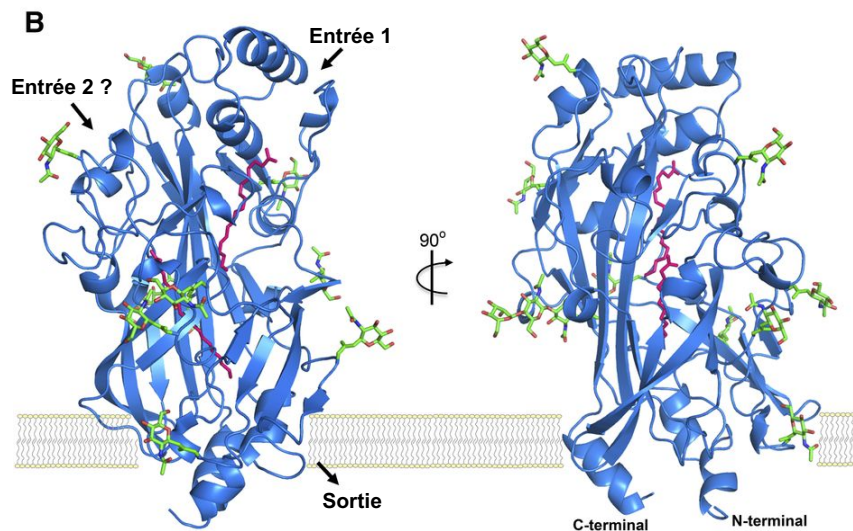
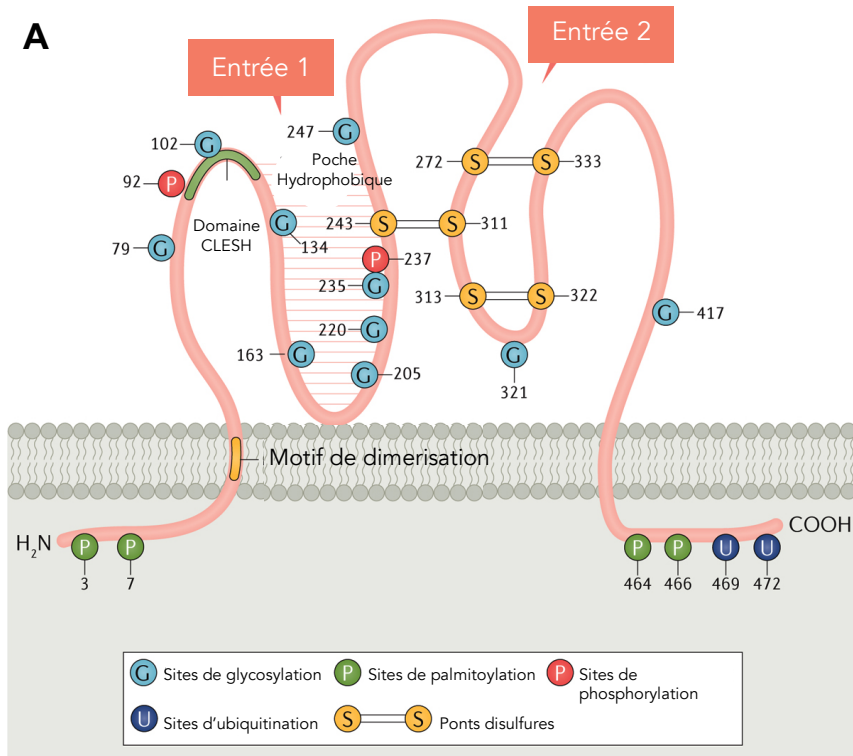


Figure 3. Structure du récepteur CD36 et modifications post-traductionnelles
(A) Structure en deux dimensions. Le CD36 a deux domaines transmembranaires et deux petites queues cytoplasmiques qui contiennent quatre sites de palmitoylation. Le C-terminal contient deux sites d'ubiquitinylation et le domaine transmembranaire N-terminal contient deux motifs responsables de la dimérisation. **(B) Structure en trois dimensions.** Le diagramme en ruban montre la structure du CD36 en bleu avec les neuf sites de glycosylation et les sucres associés en vert. Figure modifiée et traduite de (Yang et al., 2017, Glatz and Luiken, 2018).

Les modifications post-traductionnelles jouent un rôle important dans la régulation de la localisation et de la fonction du CD36. En général, la glycosylation, l'ubiquitinylation et la palmitoylation régulent la stabilité, le repliement et le trafic cellulaire du CD36, tandis que la phosphorylation au niveau des sites extracellulaires affecte le taux d'internalisation de ligands (tels que les acides gras) (Luiken et al., 2016). L'acétylation du CD36 a également été rapportée, mais les effets de cette modification sur l'expression et la fonction de CD36 n'ont pas encore été élucidés (Lundby et al., 2012, Kuda et al., 2013).

Outre le CD36 transmembranaire, il existe une forme circulante de CD36, appelée CD36 soluble (sCD36). Des études ont suggéré que le sCD36 est constitué d'une partie du segment extracellulaire du CD36 (Jimenez-Dalmaroni et al., 2009, Wang et al., 2010a). Une protéase plasmatique est responsable du clivage d'une partie du segment extracellulaire du CD36, entraînant la libération de sCD36 dans la circulation (Wang et al., 2010a). Cependant, une autre étude a montré que le sCD36 est associé à un sous-ensemble spécifique de microparticules circulantes dérivées principalement des plaquettes (Alkhatatbeh et al., 2011). Par conséquent, des études supplémentaires sont nécessaires pour clarifier le mécanisme par lequel le sCD36 est formé.

1.2.Expression du récepteur CD36

1.2.1. Distribution tissulaire du CD36

Le CD36 est exprimé par une grande variété de types cellulaires. Il a été identifié pour la première fois à la surface des plaquettes humaines (Okumura and Jamieson, 1976), avant d'être décrit au niveau des monocytes/macrophages (Talle et al., 1983, Endemann et al., 1993).

De plus, le CD36 est exprimé à la surface de nombreux autres phagocytes spécialisés dont les microglies (Coraci et al., 2002), les cellules dendritiques (Rouabhia et al., 1994) et l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR ou *retinal pigment epithelium*, RPE) (Ryeom et al., 1996). On retrouve aussi le CD36 à la surface de cellules impliquées dans le métabolisme des lipides nécessitant la translocation d'acides gras libres tels que les adipocytes (Abumrad et al., 1993), les myocytes et cardiomyocytes (Bodart et al., 2002, de Oliveira Silva et al., 2008), les cellules endothéliales microvasculaires (Swerlick et al., 1992), les cellules gustatives de la langue (Laugerette et al., 2005), les hépatocytes activés (Maeno et al., 1994), les cellules de Kupffer (Fluiter et al., 1998), les entérocytes du duodénum et du jéjunum (Chen et al., 2001, Nassir et al., 2007) et les pneumocytes (Guthmann et al., 1999). Le récepteur est également exprimé à la surface d'une multitude d'autres types cellulaires tels les kératinocytes (Allen et al., 1991), l'épithélium des glandes mammaires (Cleazardin et al., 1993), l'épithélium des reins et du pancréas (Noushmehr et al., 2005), les érythrocytes et réticulocytes (Febbraio et al., 2001) ainsi que les neurones hypothalamiques des noyaux arqués et ventromédians (Le Foll et al., 2009) où le CD36 exerce des fonctions variées, ce qui explique en partie ses effets pléiotropes.

1.2.2. Distribution cellulaire du CD36

Le CD36 est non seulement présent à la surface de la cellule, mais également dans les endosomes, le réticulum endoplasmique et les mitochondries (Bonen et al., 2000). La protéine peut migrer entre ces différents compartiments via le transport vésiculaire, le long des voies exocytotiques et endocytiques pour contrôler l'homéostasie lipidique et la reprogrammation énergétique (Miquilena-Colina et al., 2011, Chabowski et al., 2004, Luiken et al., 2002a,

Lombardi et al., 2012, Georgiou et al., 2015). La translocation du CD36 vers la membrane plasmique est induite par plusieurs stimuli physiologiques, notamment des taux d'insuline circulants élevés ainsi que la contraction musculaire (Luiken et al., 2002a, Luiken et al., 2003). La translocation du CD36 induite par la contraction musculaire est médiée *l'AMP-activated protein kinase* (AMPK) (Luiken et al., 2002a, Jeppesen et al., 2011), tandis que la translocation induite par l'insuline est médiée par l'activation de l'axe de signalisation de la kinase-3 phosphoinositide (PI3-K) – Akt (Chabowski et al., 2004, Luiken et al., 2002a). Ces deux phénomènes fonctionnent indépendamment pour induire la translocation du CD36, mais convergent au niveau de la protéine *Akt substrate 160* (AS160) qui est un régulateur clé du trafic vésiculaire par l'intermédiaire des petites protéines G Rab GTPase. Dans les myocytes, la protéine AS160 intervient également dans l'effet de l'insuline, de l'AMPK ou de la contraction sur le recrutement en surface du transporteur de glucose GLUT4. Ainsi, AS160 constitue un point de convergence pour la coordination de la régulation physiologique du recrutement membranaire de CD36 et de GLUT4 (Samovski et al., 2012). Par ailleurs, l'inflammation induit aussi une augmentation de la transcription, la traduction et la translocation du récepteur CD36 à la surface cellulaire (Wang et al., 2014). Finalement, les modifications post-traductionnelles pourraient être des facteurs majeurs qui déterminent la localisation cellulaire et la fonction du CD36.

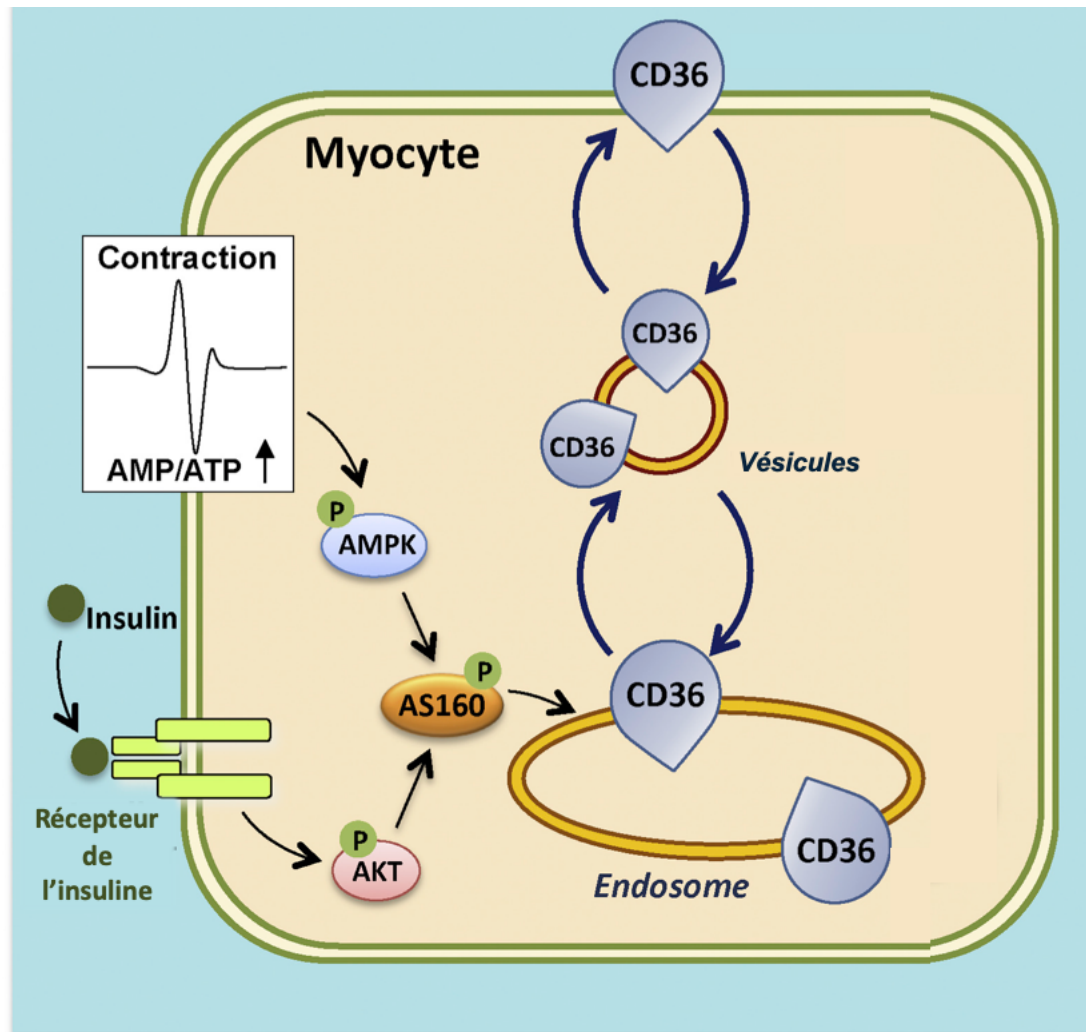


Figure 4. Représentation schématique de la distribution cellulaire du CD36
 La régulation du recyclage intracellulaire réversible (transport vésiculaire) du CD36 d'un compartiment de stockage endosomal au sarcolemme, est déclenché par des changements dans la fréquence de la contraction musculaire induite par l'insuline plasmatique. Ces derniers déclencheurs sont médiés respectivement par les ponts de signalisation activés par l'AMPK et l'insuline, qui convergent au niveau de l'AS160. Figure modifiée et traduite de (Glatz and Luiken, 2017)

1.2.3. Régulation transcriptionnelle du CD36

La régulation de l'expression du CD36 a été caractérisée principalement au niveau des phagocytes mononucléés dont les monocytes/macrophages, et dans une moindre mesure au

niveau des adipocytes, les cellules musculaires et quelques autres types cellulaires. Elle peut se faire aussi bien au niveau transcriptionnel, traductionnel que post-traductionnel (Rac et al., 2007). Cette régulation est complexe et fait intervenir une multitude de médiateurs solubles, des molécules d'adhérence ainsi que des récepteurs nucléaires (Huh et al., 1995, Tontonoz et al., 1998, Yesner et al., 1996). Les récepteurs nucléaires jouent un rôle majeur dans la régulation de la transcription du gène *CD36*. Ainsi, les récepteurs *peroxisome proliferator-activated receptor* α (PPAR- α) et PPAR- γ régulent l'expression du CD36 au niveau des macrophages (Jedidi et al., 2006) et au niveau des cellules endothéliales de la microvasculature cardiaque (Goto et al., 2013). D'autres études ont démontré que le promoteur du CD36 contenait un élément de réponse sensible aux récepteurs nucléaires PPARs, et que la liaison des PPARs sur cet élément induisait l'expression du CD36 (Jedidi et al., 2006, Goto et al., 2013). Des sites de liaison des éléments de réponse pour les récepteurs *pregnane X receptor* (PXR) et *liver X receptor* (LXR) ont également été identifiés sur le promoteur du CD36. L'activation de ces récepteurs nucléaires a entraîné une régulation de l'expression de CD36 à la hausse ainsi que l'induction d'une stéatose hépatique chez la souris (Zhou et al., 2008).

Par ailleurs, les lipides incluant les acides gras et les LDLox peuvent réguler positivement l'expression du gène du *CD36* (Hua et al., 2015, Han et al., 1997). Au niveau des macrophages, le CD36 internalise les LDLox qui sont par la suite métabolisés en acide 9- et 13-hydroxyoctadécadiénoïque (HODE). Ces métabolites sont des agonistes des récepteurs PPAR γ qui activent ce dernier par le biais des voies de signalisation de la protéine kinase C (PKC), de la protéine kinase B (PKB) et de la protéine kinase activée par le mitogène p38 ou *p38 mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Suite à son activation, le PPAR γ s'associe au récepteur X rétinoïde (RXR) et forme un hétérodimère qui se lie au promoteur du CD36 et induit la

transcription de ce dernier (Tontonoz et al., 1998). L'augmentation de l'expression du CD36 entraîne une augmentation de l'internalisation des LDLox par les macrophages et favorise ainsi la formation de cellules spumeuses (Febbraio et al., 2000). Contrairement aux LDLox, les lipoprotéines de haute densité (HDL) inhibent l'expression du CD36 au niveau des macrophages, via des mécanismes dépendants des PPARs (Ren et al., 2010). D'autre part, le promoteur du gène du *CD36* contient des éléments de réponse au *CCAAT/enhancer binding protein* (C/EBP) qui permet à ce dernier de se lier et de réguler à la hausse l'expression du CD36 au niveau des adipocytes (Qiao et al., 2008).

Il a aussi été démontré que l'acide lysophosphatidique (LPA, *lysophosphatidic acid*), un composant central du métabolisme des phospholipides cellulaires et un important régulateur du remodelage vasculaire et de l'inflammation (Zhang et al., 2004), régule à la baisse la transcription du CD36 dans les cellules endothéliales microvasculaires via une voie dépendante de la protéine kinase D1 (PKD1) (Ren et al., 2011).

En plus des lipides, les taux élevés de glucose et d'insuline ont été rapportés pour induire l'expression du CD36 dans les myocytes cardiaques (Chabowski et al., 2004). De plus, le facteur de croissance hématopoïétique de la lignée monocyttaire ou *monocyte-colony stimulating factor* (M-CSF) (Yesner et al., 1996), l'ester de phorbol (Yamamoto et al., 2009), le facteur de nécrose tumorale ou *tumor necrosis factor* (TNF) (Huh et al., 1995), l'interleukine (IL)-4 (Feng et al., 2000) et les thiazolidinediones (Svensson et al., 2003, Hirakata et al., 2004) peuvent également favoriser l'expression du CD36 dans les monocytes et les macrophages. En revanche, les lipopolysaccharides (LPS) (Liu et al., 2016), la dexaméthasone (Yesner et al., 1996), l'interféron (IFN)- γ (Panousis and Zuckerman, 2000), le *transforming growth factor* β (TGF- β) (Han et al., 2000), le tamoxifène (Yu et al., 2016) et les HDL (Carvalho et al., 2010) inhibent l'expression

du CD36 au niveau des macrophages, tandis que les statines réduisent considérablement son expression (Bruni et al., 2005).

1.3. Déficience en CD36

La déficience en CD36 est prédominante chez les populations japonaise, thaïlandaise et africaine avec une prévalence de 2 à 3%, contre moins de 0,3% pour les descendants européens et américains (Yamamoto et al., 1990). Il existe deux types de déficience en CD36 chez l'humain: le type I qui est caractérisé par l'absence du CD36 aussi bien au niveau des plaquettes que des monocytes/macrophages ; et le type II qui est caractérisé par une déficience au niveau des plaquettes seulement (Kashiwagi et al., 1994, Kashiwagi et al., 1995). La déficience de type II est retrouvée principalement chez les populations afro-américaine et asiatique (3 à 4% de chaque population) et est extrêmement rare chez les Caucasiens (Yamamoto et al., 1994). Les mutations au niveau du gène *CD36* entraînent des déséquilibres et anomalies dans les taux plasmatiques d'acides gras et de triglycérides, qui sont des facteurs de risque des maladies métaboliques et cardiovasculaires (Ma et al., 2004).

1.4. Ligands du CD36

1.4.1. Ligands endogènes

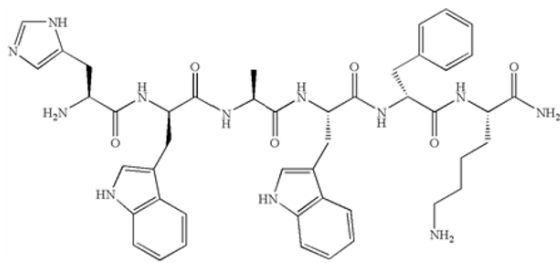
Le récepteur CD36 lie de multiples ligands endogènes qui peuvent être classés dans différentes catégories, tels que les ligands lipidiques, les ligands protéiniques et les ligands cellulaires. Parmi les ligands de type lipidique, on compte les acides gras à longues chaînes (AGLC) (Tanaka et al., 2001), les phospholipides anioniques, les LDL natifs et oxydés (Wintergerst et al., 2000, Endemann et al., 1993), les HDL et les lipoprotéines de très faible

densité ou *very low density lipoproteins* (VLDL) (Calvo et al., 1998). On retrouve également les AGE (Ohgami et al., 2001), les produits protéiques d'oxydation avancés ou *advanced oxidation protein products* (AOPPs) (Iwao et al., 2008), les TSP-1 et 2 (Dawson et al., 1997, Simantov et al., 2005), la famille des protéines S100 (dont S100A8 et S100A9) (Kerkhoff et al., 2001), le collagène de type I et IV (Tandon et al., 1989) ainsi que les protéines amyloïdes (Baranova et al., 2005, Baranova et al., 2010). Finalement, au niveau cellulaire, on compte aussi les cellules apoptotiques (Ren et al., 1995), les érythrocytes infectés avec le *Plasmodium falciparum* (Ockenhouse and Chulay, 1988, Handunnetti et al., 1992) ainsi que les segments externes des photorécepteurs (Ryeom et al., 1996) comme ligands endogènes du CD36.

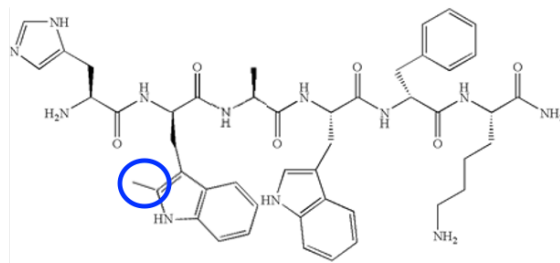
1.4.2. Ligands exogènes

En plus de ses nombreux ligands endogènes, le CD36 reconnaît les ligands exogènes synthétiques qui font partie de la famille des sécrétines de l'hormone de croissance, les GHRPs. Le groupe de Cyril Bowers a synthétisé pour la première fois le GHRP en 1977, après avoir observé que les analogues chimiques dérivés de la méthionine-enképhaline stimulent la libération de l'hormone de croissance de cellules hypophysaires en culture (Bowers et al., 1984). Le GHRP-6 (His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) a été identifié comme étant le premier peptide synthétique qui induit spécifiquement la libération de l'hormone de croissance *in vitro* et *in vivo* (Bowers et al., 1984). Par la suite, un heptapeptide, le GHRP-1 (Ala-His-D-beta-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) et deux autres hexapeptides, le GHRP-2 (D-Ala-D-beta-Nal-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) et l'hexaréline (His-D-2-méthyl-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂), ont été synthétisés en se basant sur la structure du GHRP-6 servant de prototype de départ; ces peptides

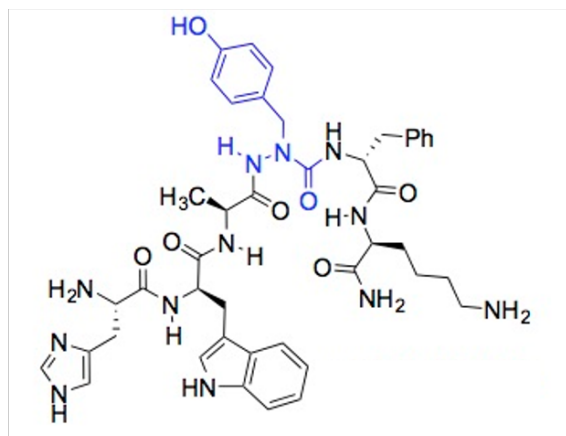
ont été identifiés comme ligands synthétiques du récepteur de la ghréline ou *growth hormone secretagogue receptor* (GHS-R1a) (Camanni et al., 1998, Berlanga-Acosta et al., 2017). En tant que ligand du récepteur GHS-R1a, l'hexaréline fut également identifiée comme ligand synthétique du récepteur CD36 par le professeur Ong et son équipe (Bodart et al., 1999, Bodart et al., 2002). Le site de liaison de l'hexaréline sur le CD36 se superpose avec celui des LDLox (Demers et al., 2004). En se basant sur la structure de l'hexaréline, le EP 80317 (Haic-D-2-methyl-Trp-D-Lys-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) a été synthétisé en tant que ligand sélectif du CD36 ayant une plus faible affinité de liaison avec le GHS-R1a (Demers et al., 2004). Ce peptide a démontré une activité anti-athérosclérotique chez les souris déficientes en apolipoprotéine (apo)-E (Marleau et al., 2005). Par la suite, une étude de relation structure-activité conduite par notre laboratoire en collaboration avec le groupe de chimie du professeur Lubell à l'Université de Montréal, a permis le développement d'une nouvelle classe d'analogues peptidiques du GHRP-6, les azapeptides, qui sont plus sélectifs envers le CD36, et dont la conformation plus stable leur confère une résistance contre la dégradation enzymatique (Sabatino et al., 2009, Sabatino et al., 2011, Proulx et al., 2012). Dans le cadre de cette thèse, nous avons caractérisé les effets anti-inflammatoires et immunométaboliques de l'azapeptide MPE-001 (His-D-Trp-Ala-azaTyr-D-Phe-Lys-NH₂) dans les macrophages murins et humains ainsi que dans des modèles murins de dégénérescence maculaire liée à l'âge (chapitre 4).



GHRP-6
(His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂)



Hexaréline
(His-D-2MeTrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂)



MPE-001
(His-D-Trp-Ala-azaTyr-D-Phe-Lys-NH₂)

Figure 5. Structure des secrétines de l'hormone de croissance et de l'azapeptide MPE-001

Le résidu en bleu ou encerclé dans la structure et dénote la différence avec le peptide parent (GHRP-6). Figure adaptée de (Huynh D. Thèse, 2019) et (Proulx et al., 2020)

1.5. Signalisation du récepteur CD36

Avec ses extrémités cytoplasmiques dépourvues de toute activité intrinsèque, le récepteur CD36 n'en demeure pas moins un récepteur impliqué dans l'activation de nombreuses voies de signalisation. Parce que l'extrémité amino-terminale intracellulaire est courte, on pense que l'extrémité C-terminale est le site principal de la transduction du signal. Un point commun de la signalisation du CD36 dans les cellules endothéliales, les phagocytes mononucléés

(macrophages/monocytes, cellules dendritiques, microglie), les plaquettes et les cellules gustatives reste l'interaction de l'extrémité C-terminale du récepteur avec les protéines tyrosine kinases cytosoliques de la famille des Src, avec comme résultante l'activation des sérine/thréonine kinases de la famille des MAPK (Febbraio and Silverstein, 2007). De plus, d'autres études ont montré que le CD36 pouvait s'associer à d'autres récepteurs membranaires tels que les intégrines et les *Toll-like receptors* (TLRs) (Hoebe et al., 2005, Triantafilou et al., 2006, Abe et al., 2010). Finalement, le CD36 s'associe aux intégrines $\beta 1$ et $\beta 2$ et aux tétraspanines CD9 et CD81, formant un complexe facilitant la signalisation du CD36 et son interaction avec le récepteur FcR γ , favorisant la phagocytose et l'activation des macrophages (Heit et al., 2013). Le CD36 ainsi active différentes voies de signalisation intracellulaires en fonction du ligand, du corécepteur et du type de cellule :

1.5.1. Signalisation du récepteur CD36 seul

Dans les cellules endothéliales, la liaison de la TSP-1 sur le CD36 induit l'apoptose et l'inhibition de l'angiogénèse par l'activation de la kinase Src Fyn, la caspase-3 et les MAP kinases p38 et *c-Jun N-terminal* (JNK)-1 (Jimenez et al., 2000). Au niveau des macrophages, l'interaction du LDLox avec le CD36 active un complexe de signalisation composé de Lyn et de la *mitogen-activated protein kinase kinase 2* (MEKK2), qui phosphoryle la kinase JNK2 et conduit à la formation de cellules spumeuses (Rahaman et al., 2006). L'activation de Vav via Lyn régule également la formation de cellules spumeuses en contrôlant l'internalisation du LDLox (Rahaman et al., 2011). De plus, la kinase Src Lyn et la kinase JNK2 sont des effecteurs critiques des réponses du CD36 au niveau des plaquettes. Au niveau de la microglie, le complexe

de signalisation formé par les kinases Src Fyn et Lyn, la protéine adaptatrice p130Cas, la kinase Pyk2, ainsi que la protéine adaptatrice paxilline (Pax) sont activés après la liaison des β -amyloïdes au récepteur CD36 (Febbraio and Silverstein, 2007).

1.5.2. Signalisation du CD36 comme corécepteur

L'association de CD36 avec les intégrines CD47 et $\alpha 6\beta 1$ forme un complexe multirécepteur pour l'amyloïde- β sur les microglies, qui mène à l'activation des kinases Src (Lyn, Fyn ou Syk) (Moore et al., 2002) et l'induction de la phosphorylation de Vav (Wilkinson et al., 2006). Vav agit comme un facteur d'échange de nucléotide guanine pour Rac-1, un composant essentiel de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase, conduisant à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, *reactive oxygen species*) par la NADPH oxydase et à la promotion de la phagocytose (Wilkinson et al., 2006). Le CD36 peut également former un complexe de signalisation avec des hétérodimères des récepteurs TLR, qui activent le *nuclear factor kappa B* (NF κ B) en réponse à des composants de la paroi bactérienne (TLR2/6) ou à des débris cellulaires (TLR2/1), conduisant à l'expression de molécules inflammatoires (Abe et al., 2010, Hoebe et al., 2005). De plus, l'assemblage du CD36 avec l'hétérodimère TLR4/6, en réponse au LDLox et à l'amyloïde- β , induit une réponse inflammatoire par l'activation de l'inflammasome *nucleotide-binding domain leucin-rich repeat and pyrin-containing receptor 3* (NLRP3) (Sheedy et al., 2013).

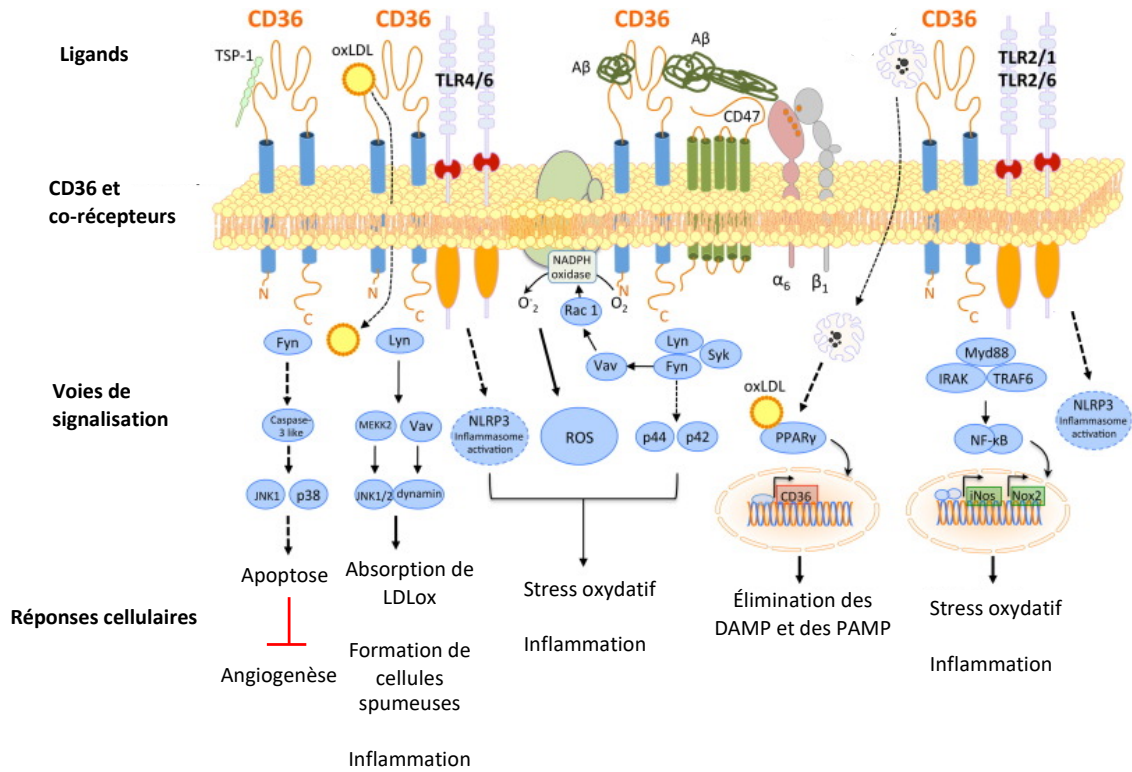


Figure 6. Voies de signalisation du CD36

Le CD36 active différentes voies de signalisation intracellulaires en fonction du ligand, du co-récepteur et du type de cellule. Figure modifiée et traduite de (Garcia-Bonilla et al., 2014)

1.5.3. Rôle du CD36 dans la phagocytose

En tant que récepteur de reconnaissance de formes, le CD36 est impliqué dans l'élimination des débris cellulaires et la phagocytose, une fonction importante pour la réparation des tissus et la résolution de l'inflammation. Le récepteur CD36 induit l'internalisation de ligands, tels que les LDLox, grâce à la formation de complexes hétéromériques formée par les intégrines β_1 et / ou β_2 , et des tétraspanines CD9 et / ou CD81. Ce complexe récepteur sert à relier le CD36 à l'adaptateur FcR γ . En se couplant à FcR γ , le CD36 est capable d'activer les kinases de la famille Src et Syk, ce qui entraîne à son tour l'internalisation du CD36 et de ses

ligands associés (Heit et al., 2013). La capacité endocytotique du CD36 indépendante des TLR a été identifiée comme étant essentielle pour la clairance des corps apoptotiques et des érythrocytes infectés par le *Plasmodium falciparum* (Erdman et al., 2009, Patel et al., 2007). Dans ce contexte, les mutations du gène *CD36* sont associées à la susceptibilité au paludisme (Aitman et al., 2000). Cependant, bien que le CD36 sur les macrophages et les cellules dendritiques se lie activement aux érythrocytes infectés par le *Plasmodium falciparum* par un processus indépendant des TLRs, le CD36 est impliqué également dans la signalisation du TLR2 liée à la réponse inflammatoire induite contre le parasite (Erdman et al., 2009, Kumar et al., 2012).

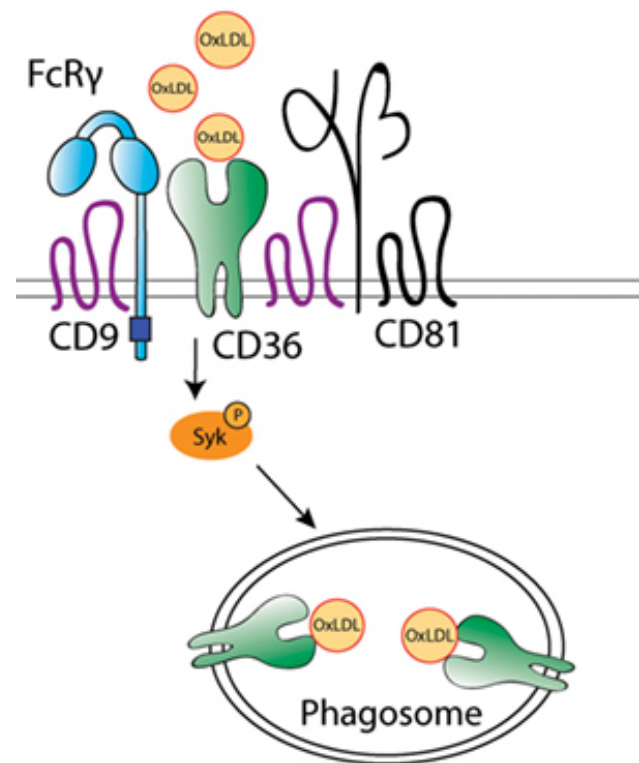


Figure 7. Implication du CD36 dans la phagocytose

Le couplage de CD36 à l'adaptateur FcR γ est médié par le complexe formé entre les intégrines β 1 et / ou β 2 et les tétraspanines CD9 et / ou CD81. L'association du CD36 avec les tétraspanines régule l'activation des kinases Src et Syk, et son internalisation lorsqu'il est lié à des ligands comme les LDLox. Figure modifiée de (Saiz et al., 2018)

Les nombreuses cascades de signalisation dans lesquelles est impliqué le CD36 le relient aux réponses cellulaires impliquant l'immunité innée, l'activation de NFκB, la sécrétion des cytokines et des ROS, l'initiation des mécanismes inflammatoires et apoptotiques, l'inhibition de l'angiogenèse, la migration cellulaire ainsi que la formation de cellules spumeuses. Tous ces rôles ont des conséquences sur le développement de plusieurs pathologies, dont l'athérosclérose, le diabète de type 2, la maladie d'Alzheimer, les maladies inflammatoires et le syndrome métabolique.

1.6. Rôles pathophysiologiques du CD36

1.6.1. Rôle du CD36 dans l'angiogenèse

Le CD36 a été identifié comme un récepteur de la TSP-1 et de plusieurs autres protéines contenant des domaines peptidiques connus sous le nom de *thrombospondin type I repeats* (TSR) (Asch et al., 1987, Silverstein et al., 1992). Le CD36 est ainsi impliqué dans la régulation endogène de l'angiogenèse au niveau des cellules endothéliales microvasculaires, et joue différents rôles dans la croissance tumorale, l'inflammation, la cicatrisation et d'autres processus pathologiques nécessitant une néovascularisation (Silverstein and Febbraio, 2009). Le CD36 remplit ces fonctions en inhibant les signaux proangiogéniques induits par les facteurs de croissance qui interviennent dans la prolifération et la migration des cellules endothéliales, ainsi qu'en produisant des signaux anti-angiogéniques conduisant à l'apoptose (Dawson et al., 1997, Jimenez et al., 2000).

Au niveau des cellules endothéliales microvasculaires, la TSP-1, un puissant inhibiteur de l'angiogenèse, exerce son activité anti-angiogénique en se liant au domaine CLESH-1 de l'ectodomaine du CD36 (Iruela-Arispe et al., 1999). Cette liaison induit l'association du domaine C-terminal intracytoplasmique du CD36 à la kinase de la famille Src, Fyn conduisant à la phosphorylation de la p38 MAPK, de JNK, du ligand Fas et de la caspase-3, avec comme résultante la production de TNF α suivie de l'apoptose des cellules endothéliales et de l'inhibition de l'angiogenèse (Jimenez et al., 2000, Simantov et al., 2005, Rege et al., 2009). De plus, la liaison de TSP-1 au CD36 provoque l'induction du TGF- β latent, qui inhibe à son tour les métalloprotéinases et entraîne la séquestration du *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dans la matrice extracellulaire, résultant en une inhibition de la migration cellulaire tout en induisant l'apoptose des cellules endothéliales (Jimenez et al., 2000, Yehualaeshet et al., 1999). L'interaction du CD36 avec la TSP-1 inhibe également l'expression et les effets du récepteur *vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR)-2, en plus de freiner la migration des cellules endothéliales par le facteur de croissance VEGF-A₁₆₅ par le recrutement de la protéine tyrosine phosphatase SHP-1 et l'inhibition de l'activité de la kinase Akt (Chu et al., 2013, Primo et al., 2005, Sun et al., 2009).

Par ailleurs, d'autres études ont démontré que dans les cellules endothéliales microvasculaires rétinienne, la transcription du CD36 est régulée positivement en réponse à une hypoxie via le facteur de transcription *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1 α (Mwaikambo et al., 2009). La voie anti-angiogénique déclenchée par la signalisation de HIF-1 α neutralise les voies proangiogéniques induites par l'hypoxie, fournissant un frein homéostatique pour prévenir la néovascularisation pathologique (Mwaikambo et al., 2009). Une étude de l'équipe de Silverstein a démontré que le LPA, un facteur angiogénique d'origine phospholipidique,

entraîne la répression transcriptionnelle du CD36 via la kinase PKD1. Cette régulation négative du CD36 induite par LPA/PKD1 dans les cellules endothéliales est médiée par l'accumulation nucléaire d'histone désacétylase, qui interagit avec la protéine *forkhead box protein O1* (FOXO1) pour inhiber la transcription de CD36 (Ren et al., 2016). De plus, la voie de signalisation LPA/PKD1 induit l'activation d'un commutateur de transcription proangiogénique impliquant l'éphrine B2, qui est un médiateur essentiel de l'angiogenèse et de l'artériogenèse (Ren et al., 2016). En plus du LPA, d'autres médiateurs lipidiques, tels que le LDLox et les phospholipides oxydés (PLOx), sont impliqués dans l'activation des voies de signalisation menant à des effets anti-angiogéniques dépendants du CD36 (Mwaikambo et al., 2006, Chen et al., 2008, Imanishi et al., 2003).

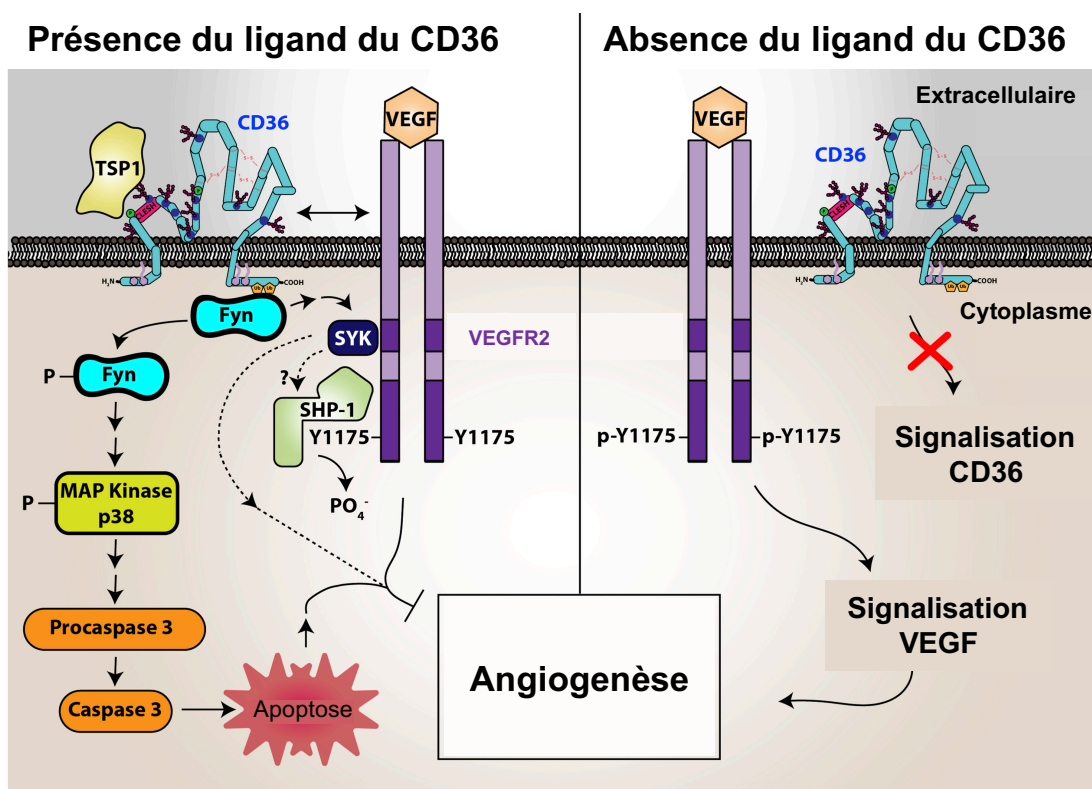


Figure 8. Implication du CD36 dans l'angiogenèse dans les cellules endothéliales microvasculaires

Dans les cellules endothéliales microvasculaires, le récepteur VEGFR2 reconnaît son ligand, le VEGF, et devient phosphorylé. Ceci active les voies de signalisation menant à la migration cellulaire, la prolifération et l'activation de l'angiogenèse. Cependant, la reconnaissance de la TSP-1 par le CD36 favorise l'activation de Fyn, de la MAP kinase p38 et de l'apoptose, ce qui limite globalement la migration des cellules endothéliales et la formation de nouveaux vaisseaux. Le CD36 forme également des complexes fonctionnels avec le VEGFR2, favorisant une phosphorylation dépendante de la tyrosine kinases Syk et de la tyrosine phosphatase SHP-1, qui mènent à la déphosphorylation du VEGFR2 pour limiter l'activité angionénique des cellules endothéliales microvasculaires. Figure traduite de (Yang and Silverstein, 2019).

1.6.2. Rôle du CD36 dans le métabolisme lipidique

Les acides gras à longues chaînes (AGLC) constituent un groupe de composés nutritionnels qui jouent un rôle essentiel dans diverses fonctions biologiques. Les AGLC sont notamment l'un des principaux carburants cellulaires, comme substrat énergétique particulièrement au niveau du foie, des muscles squelettiques et du cœur. De plus, ils font partie des phospholipides qui constituent en grande partie les membranes biologiques, et sont aussi capables de se lier à certaines protéines et de réguler leurs fonctions (Glatz and Luiken, 2017). En raison de leur nature amphipathique, les acides gras se trouvent sous forme estérifiée dans les lipoprotéines ou sont liés à l'albumine dans le plasma sanguin et dans l'interstitium. Au niveau intracellulaire, les acides gras sont liés aux *cytoplasmic fatty acid-binding proteins* (FABPc) (Storch and Corsico, 2008). Quant à leur transport transmembranaire, il peut se faire soit par diffusion passive, ou par des protéines membranaires appelées facilitateurs d'acides gras, tels que les *fatty acid-binding protein* (FABP), les *fatty acid transport protein* (FATP) et le FAT/CD36 (Glatz and Luiken, 2017).

Des études menées par Abumrad et ses collègues sur l'absorption d'acides gras dans des adipocytes de rat ont révélé qu'une incubation préalable des cellules avec certains dérivés

d'AGLC, notamment le sulfo-N-succinimidyl oléate (SSO), menait à une inhibition irréversible du transport des acides gras (Harmon and Abumrad, 1993, Harmon et al., 1991). L'étude a démontré que les inhibiteurs se liaient de manière covalente avec une protéine membranaire d'environ 85 à 88 kDa, suggérant que cette protéine était impliquée dans l'internalisation membranaire des AGLC. Le clonage ultérieur de cette protéine, alors appelée translocase des d'acide gras ou FAT, a révélé qu'il s'agissait de la glycoprotéine transmembranaire CD36 (Abumrad et al., 1993, Harmon and Abumrad, 1993). Cette observation d'Abumrad en 1993 a enclenché une série d'études visant à élucider le rôle du FAT/CD36 dans le métabolisme lipidique, en démontrant notamment que ses niveaux d'expression sont plus élevés dans les tissus soumis à de grands flux d'acides gras avec des besoins métaboliques élevés, tels le tissu adipeux, le cœur et les muscles squelettiques (Van Nieuwenhoven et al., 1995). De plus, l'utilisation de modèles murins déficients en CD36 a permis de mettre en évidence la prédominance du CD36 comme facilitateur dans l'internalisation des acides gras au niveau des adipocytes, des entérocytes, des myocytes et des cardiomyocytes (Coburn et al., 2000, Abumrad and Goldberg, 2016). Le CD36 situé sur les cellules gustatives est impliqué dans la perception sensorielle, entraînant une préférence pour les aliments riches en lipides (Laugerette et al., 2005). Ainsi, la liaison de l'acide linoléique au CD36 induit la phosphorylation des kinases Fyn et Yes (El-Yassimi et al., 2008). Cette activation mène à une augmentation de calcium intracellulaire suivie de la production d'inositol-1,4,5-trisphosphate (IP3), entraînant l'exocytose des neurotransmetteurs tels la sérotonine et la noradrénaline, qui peuvent à leur tour être impliqués dans la signalisation en aval vers les fibres nerveuses afférentes, transmettant ainsi le signal de sortie des papilles gustatives au système nerveux central.

Des études cristallographiques ont mis en évidence la présence de deux entrées pour les acides gras au niveau du domaine extracellulaire du CD36, lui conférant la propriété de lier deux molécules d'AGLC avec une affinité de l'ordre du nanomolaire (Abumrad and Goldberg, 2016, Hsieh et al., 2016). Ces mêmes études ont également identifié la présence d'un tunnel le long de la structure du CD36, permettant aux AGLC de le traverser afin de pénétrer dans la cellule (Hsieh et al., 2016, Pepino et al., 2014).

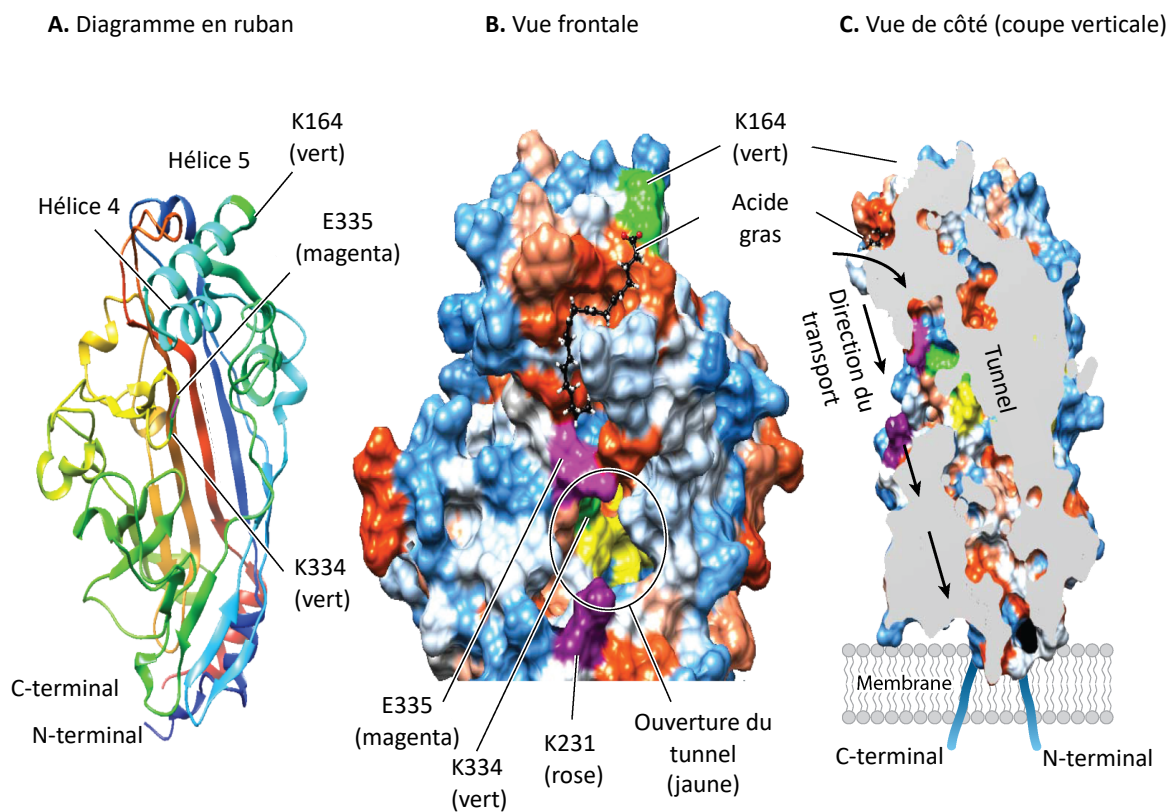


Figure 9. Modèle tridimensionnel du CD36 montrant la poche de liaison et le tunnel de transport d'acides gras

(A) Diagramme en ruban du récepteur CD36. **(B)** Détail de la structure du CD36 montrant le site de reconnaissance des AGLC (acide oléique). **(C)** Coupe verticale à travers la

structure modélisée du CD36 montrant le côté arrière du tunnel. Les flèches indiquent la direction prévue du transport des AGLC. Figure traduite de (Pepino et al., 2014)

En ce qui concerne le mécanisme moléculaire de l'internalisation des AGLC par le CD36, il se fait essentiellement en 3 étapes (Glatz and Luiken, 2017); 1) *l'étape d'adsorption*, durant laquelle le CD36 s'associe au *membrane associated fatty acid binding protein* (FABPm) à la surface membranaire pour faciliter sa liaison aux AGLC. Par la suite, le CD36 induit le passage des acides gras vers le feuillet externe de la membrane plasmique pour favoriser leur adsorption dans les radeaux lipidiques (Pohl et al., 2005); 2) *l'étape de translocation*, durant laquelle les acides gras pénètrent dans la membrane plasmique et traversent la couche externe vers le feuillet interne par diffusion passive, mécanisme souvent nommé *flip-flop* (Hamilton, 2007); 3) *l'étape de désorption*, ce dernier processus se déroule très rapidement sans l'intervention des protéines membranaires. Les acides gras se détachent du site interne de la membrane, pour se retrouver dans le compartiment cytoplasmique en se liant au FABPc. La désorption de la membrane a été suggérée comme l'étape limitante du transport transmembranaire global (Hamilton, 2007). Au niveau du site intracellulaire, le CD36 peut faciliter le transport des acides gras en fournissant un site d'accueil pour le FABPc ou pour des enzymes agissant sur les acides gras tels que l'acyl-CoA synthétase (Glatz and Luiken, 2017).

Outre son rôle de facilitateur du transport transmembranaire des acides gras, la présence du CD36 dans les compartiments intracellulaires comme les endosomes lui confère un rôle important dans la régulation des niveaux d'internalisation d'acides gras par les cellules. Tel que mentionné précédemment, dans les muscles cardiaque et squelettique, une augmentation de la contraction musculaire ou la présence d'insuline stimule très rapidement la translocation du

CD36 du compartiment endosomal vers la membrane plasmique, résultant en une augmentation de plus de deux fois l'internalisation d'acides gras (Bonen et al., 2000, Luiken et al., 2002b, Luiken et al., 2003).

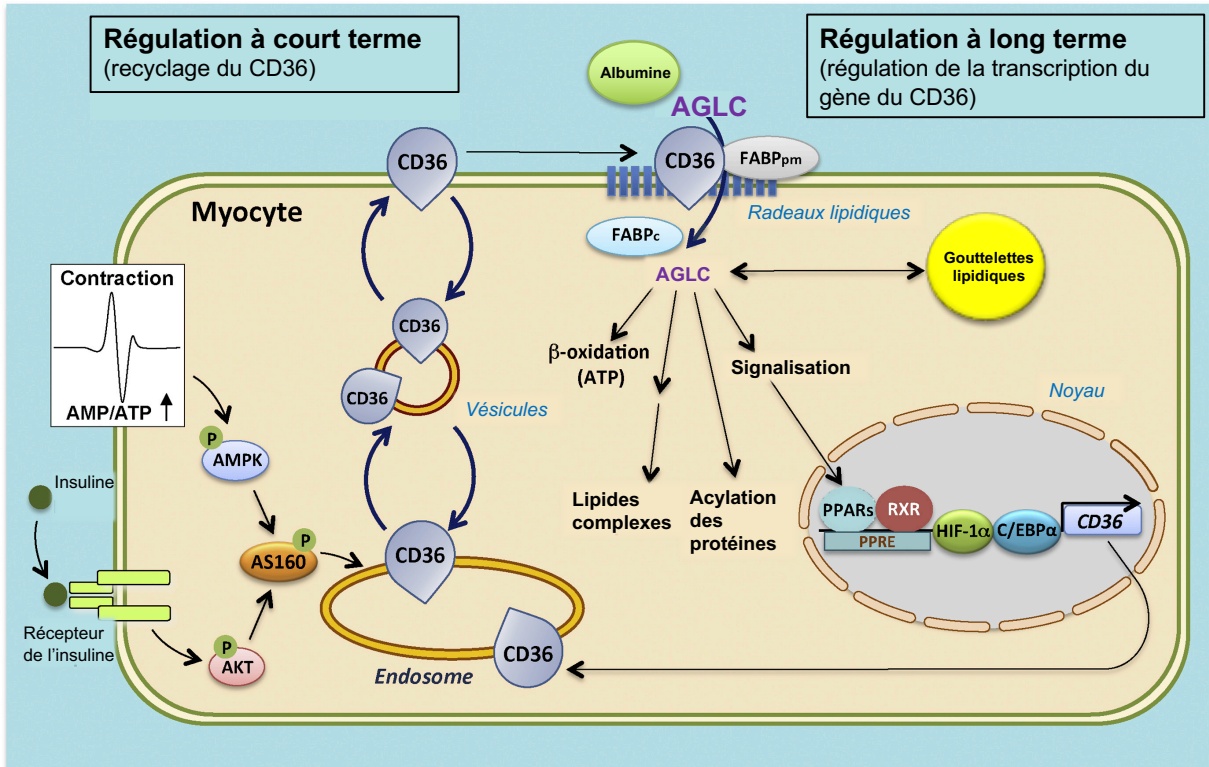


Figure 10. Présentation schématique des rôles facilitateur et régulateur du CD36 dans l'absorption des acides gras à longue chaîne (AGLC) par les myocytes cardiaques et squelettiques

Sur les radeaux lipidiques sarcolemmiques, le CD36 facilite la pénétration des acides gras dans la cellule en interagissant avec la protéine membranaire périphérique FABPpm et intracellulaire FABPc. La régulation à court terme (en minutes) du taux d'absorption d'AGLC se produit par un recyclage intracellulaire réversible (transport vésiculaire) du CD36 d'un compartiment de stockage endosomal au sarcolemme, qui est déclenché par des changements dans la fréquence de la contraction musculaire induite par l'insuline plasmatique. La régulation à long terme de l'absorption d'AGLC se produit via des modifications de la transcription du gène du CD36, médiée entre autres par l'activation des PPAR induite par les acides gras, le HIF-1 α et le C/EBP α . Figure traduite de (Glatz and Luiken, 2017).

En raison de son rôle dans le transport des acides gras ainsi que son expression sur les tissus sensibles à l'insuline, l'implication du récepteur CD36 dans l'étiologie du diabète de type 2 a fait l'objet de plusieurs études (Gautam and Banerjee, 2011, Alkhatatbeh et al., 2011, Banesh and Trivedi, 2019, Le Foll, 2019, Kennedy and Kashyap, 2011, Kennedy et al., 2011). Ainsi, des études effectuées sur des modèles murins ont mis en évidence que l'interaction des acides gras avec le CD36 joue un rôle important aussi bien dans la résistance à l'insuline, mais aussi dans d'autres troubles métaboliques tels que l'obésité et la stéatose hépatique non alcoolique (Kennedy et al., 2011, Goudriaan et al., 2003, Hajri et al., 2002, Koonen et al., 2007). Des études *in vivo* sur des rats *spontaneous hypertensive rats* (SHR), porteurs de plusieurs mutations au niveau du gène *CD36*, ont montré un transport défectueux des AGLC par les adipocytes, ce qui favorisait le développement du diabète de type 2 (Aitman et al., 1999). Des études chez l'humain confirmant le rôle physiologique du CD36 dans la translocation des AGLC, ont également démontré qu'une diminution de l'absorption des AGLC corrélait positivement avec le développement de diabète de type 2 et de cardiomyopathie diabétique (Hwang et al., 1998). De plus, l'expression du CD36 a montré une corrélation positive avec l'augmentation de la concentration musculaire en triglycérides (Bonen et al., 2004b). Par conséquent, l'augmentation de l'expression du CD36 permet alors l'accumulation tissulaire de triglycérides, phénomène associé à une altération de la signalisation de l'insuline dans l'obésité et le diabète de type 2 (Bonen et al., 2004b, Bonen et al., 2004a). Ainsi, l'augmentation du taux de transport des acides gras peut être une étape critique dans le développement de la résistance à l'insuline par le biais des AGLC, et le CD36 peut constituer une autre cible thérapeutique potentielle pour la prévention et le traitement de la résistance à l'insuline.

De plus, il a été mentionné précédemment qu'une augmentation de la glycémie induit la traduction du gène du *Cd36* au niveau des macrophages, suggérant un lien direct entre l'hyperglycémie et l'induction d'une athérosclérose accélérée lors du diabète (Luiken et al., 2002a). De nombreux autres facteurs tels que le $TNF\alpha$ (Hotamisligil et al., 1994), la protéine C-réactive (CRP) (Zwaka et al., 2001), l'adiponectine (Gable et al., 2006), la leptine (Hajri et al., 2007), la résistine (Steppan et al., 2001) ainsi que le PPAR- γ (Barroso et al., 1999) sont d'importants médiateurs de l'homéostasie du glucose en association avec le CD36 pouvant être utilisés comme marqueurs dans le diabète de type 2 et l'athérosclérose, en plus d'être associés avec le métabolisme des lipides et les complications associées au diabète de type 2 (Gautam and Banerjee, 2011).

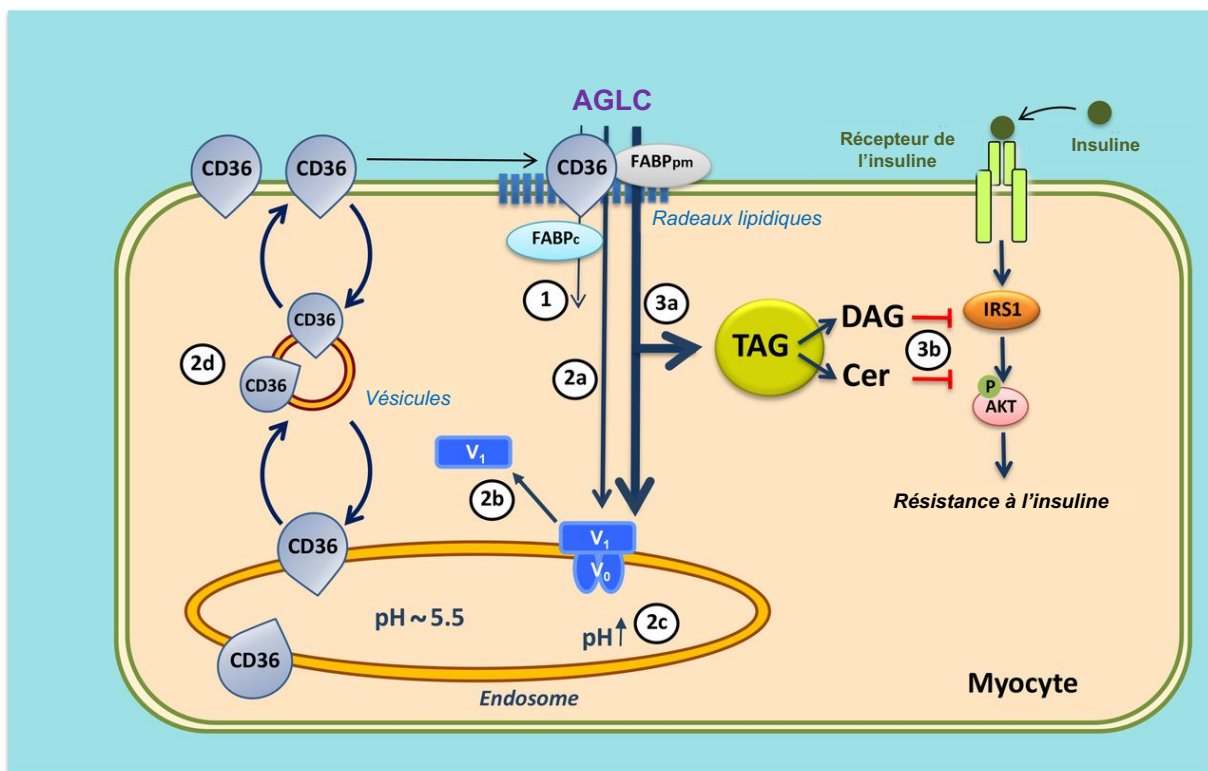


Figure 11. Rôle du CD36 dans l'induction de la résistance à l'insuline

Mécanisme d'inhibition de la *vacuolar-type H⁺-ATPase* (v-ATPase) induite par les lipides et perte de sensibilité à l'insuline dans les myocytes cardiaques en cas de surapprovisionnement en lipides. Figure modifiée et traduite de (Glatz and Luiken, 2018).

1.6.3. Rôle du CD36 dans l'athérosclérose

La formation de cellules spumeuses représente la première étape critique de l'athérosclérose. Le processus athérogène commence par la transmigration des monocytes du sang circulant vers l'intima artériel, où ils se différencient en macrophages (Libby, 2002). Le rôle du CD36 dans la pathogénèse de l'athérosclérose a été décrit pour la première fois par les travaux d'Endemann et al. qui ont identifié le CD36 comme étant un récepteur des LDLox (Endemann et al., 1993). Silverstein et ses collaborateurs ont mis en évidence que la délétion du gène *cd36* chez les souris déficientes en apolipoprotéines (apo)-E soumises à une diète athérogène mène à une réduction significative de la taille des lésions aortiques. Cette réduction est associée à une diminution de 60% de l'internalisation des LDLox par les macrophages (Febbraio et al., 1999, Febbraio et al., 2000). Au niveau des macrophages, l'interaction du CD36 avec les LDLox déclenche une réponse de signalisation pro-inflammatoire et pro-athérogène qui induit l'activation de plusieurs voies de signalisation impliquant les kinases Src, les MAP kinases ainsi que les facteurs d'échange guanine-nucléotides de la famille Vav, qui aboutissent en bout de ligne à l'internalisation du ligand, la formation de cellules spumeuses et l'inhibition de la migration des macrophages (Silverstein and Febbraio, 2009). Ainsi, Rahaman et al. ont montré dans une première étude que le récepteur CD36 était nécessaire à l'activation de la kinase Lyn, de la MEKK2 et finalement de JNK (spécifiquement de JNK2 chez la souris), ce qui entraîne une phagocytose des LDLox pro-athérogènes (Rahaman et al., 2006). L'inhibition

pharmacologique de JNK ou sa délétion au niveau des macrophages réduit l'athérosclérose dans les modèles murins (Rahaman et al., 2006). De plus, le CD36 contribue à l'activation des molécules de transduction Vav-1, -2 et -3 dans les aortes de souris hyperlipidémiques. Ainsi, le LDLox induit l'activation de Vav *in vitro* au niveau des macrophages d'une manière dépendante du CD36 et des kinases Src (Rahaman et al., 2011). Par ailleurs, l'internalisation des LDLox par le CD36 et la formation de cellules spumeuses étaient significativement réduites dans les macrophages de souris Vav-déficientes (Rahaman et al., 2011).

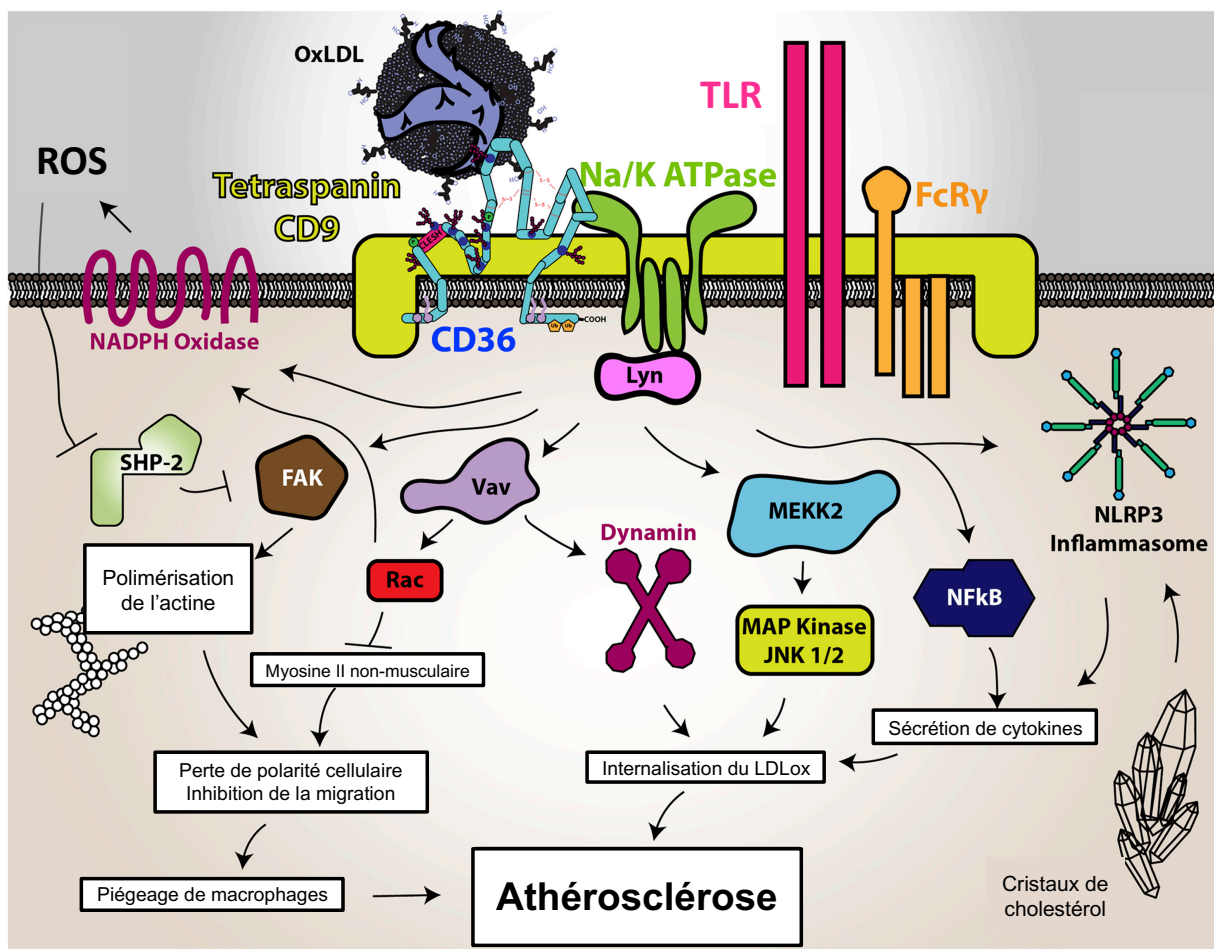


Figure 12. La signalisation médiée par le CD36 favorise l'athérosclérose

Dans les macrophages, il a été démontré que le CD36 forme un complexe avec de multiples protéines membranaires. Suite à sa liaison aux LDLox, le CD36 favorise le recrutement et l'activation des kinases de la famille Src (en particulier Lyn par son association avec la Na-K ATPase) menant à l'activation des voies de signalisation impliquées dans l'athérosclérose. La connexion entre le CD36 et les récepteurs TLR s'est avérée être liée à l'activation des voies pro-inflammatoires, y compris la voie NF- κ B et l'activation de l'inflammasome NLRP3, menant à l'athérosclérose également. La voie de signalisation des récepteurs CD36 et TLR est aussi impliquée dans la formation de dépôts de cristaux de cholestérol et à la formation de cellules spumeuses. Figure traduite de (Yang and Silverstein, 2019).

1.6.4. Rôle du CD36 dans l'inflammation et l'immunité innée

Tel que mentionné précédemment, le CD36 joue un rôle clé dans le métabolisme énergétique en contrôlant le transport et l'internalisation des acides gras (Aitman et al., 1999, Febbraio et al., 1999). Il a été lié à la pathogenèse de l'athérosclérose et de la maladie d'Alzheimer par sa reconnaissance des ligands endogènes modifiés, notamment les LDLox et les protéines β -amyloïdes.

De plus, le CD36 est un récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires impliqué dans de nombreuses réponses inflammatoires, avec sa fonction de corécepteur des TLRs, notamment des hétérodimères TLR2/6 (Triantafilou et al., 2006, Hoebe et al., 2005, Stuart et al., 2005) et TLR4/6 (Stewart et al., 2010). Tout comme le CD36, les TLRs appartiennent à la famille des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires, qui jouent un rôle crucial dans l'immunité innée et les mécanismes inflammatoires, en tant que senseurs des motifs moléculaires associés aux pathogènes (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs), ainsi que des motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs) (Kawai and Akira, 2010). Il a par ailleurs été démontré que l'activation des TLRs,

notamment des TLR2, était dépendante du récepteur CD36. En utilisant des souris CD36^{obl/obl}, contenant une mutation non-sens du CD36 surnommé *oblivious*, il a été démontré que le CD36 contribue à la reconnaissance des diacylglycérides et l'acide lipotéichoïque (LTA, *lipoteichoic acid*) contenus dans la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives, en particulier celle de *Staphylococcus aureus* qui induisent l'activation de l'hétérodimère TLR2/6 (Hoebe et al., 2005). Dans la même étude, le CD36 a été transfecté dans des cellules HEK-293 *in vitro*, en combinaison avec le TLR2 et / ou le TLR6 et un gène rapporteur du NFκB. Il a été montré que le LTA et le *macrophage-activating lipopeptide 2* (MALP-2), issus de la bactérie *Mycoplasma pneumoniae*, ont tous deux provoqué l'activation de NFκB lorsque les cellules ont été transfectées pour exprimer le TLR2, alors que la transfection avec des plasmides codant pour le CD36 ou le TLR6, seuls, n'a pas induit l'activation par l'un ou l'autre des ligands. La réponse au LTA et au MALP-2 était significativement augmentée lorsque le CD36 ou le TLR6 étaient co-exprimés avec le TLR2. La co-expression de TLR2, TLR6 et CD36 a donné les réponses les plus élevées, ce qui indique que le CD36 améliore la réponse au LTA et au MALP-2, bien que ni le TLR6 ni le CD36 ne soient absolument nécessaires pour induire une réponse (Hoebe et al., 2005).

Tableau I. Agonistes du TLR2 requérant le CD36 comme corécepteur
 Tableau inspiré de (Oliveira-Nascimento et al., 2012).

Ligand	Origine	TLR	Co-récepteurs	Référence
Diacyl lipopeptides (MALP-2 / FSL-1)	Mycoplasme	TLR2 / TLR6	CD36 / CD14	Jimenez-Dalmaroni et al. (2009), Blumenthal et al. (2009)
Acide lipotéichoïque (LTA)	Bactéries à Gram positif	TLR2 / TLR6	CD36 / CD14	Jimenez-Dalmaroni et al. (2009), Ip et al. (2008), Tawaratsumida et al. (2009)
<i>P. gingivalis</i> LPS	Bactéries	TLR2 / TLR4	CD36 / MD2	Darveau et al. (2004)
Lipoprotéine	<i>Mycobactérium</i>	TLR2 / ?	CD36 / CD14	Jimenez-Dalmaroni et al. (2009)
Lipomannane	<i>Mycobactérium</i>	TLR2 / TLR1	CD36 / CD14	Jimenez-Dalmaroni et al. (2009), Birch et al. (2010)
Glycosylphosphatidylinositol	<i>Trypanosoma</i> , plasmodium, toxoplasma (protozoaires)	TLR2 / TLR1 - TLR4	CD36 / CD14	Jimenez-Dalmaroni et al. (2009), Debierre-Grockiego et al. (2007), Gowda et al. (2007)

Par la suite, Triantafilou et al. ont suggéré que l'hétérodimère TLR2/6 était déjà préformé sur la membrane plasmique et s'associait avec le CD36 pour former un complexe hétérotrimérique au niveau des radeaux lipidiques en réponse aux ligands de type diacylglycérides (Triantafilou et al., 2006). Ainsi, l'ancrage du complexe TLR2/6-CD36 aux radeaux lipidiques provoque l'activation de la voie de signalisation des protéines adaptatrices *myeloid differentiation primary response 88* (MyD88) et *TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β* (TRIF), qui induisent à leur tour la transduction du signal des voies de NF κ B et des MAPK P38 et JNK, entraînant la production et la sécrétion de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires tels que le TNF α , l'IL-6, l'IL-12, l'IL-1 β et la chimiokine

CCL2 (*chemokine C ligand 2*) (Triantafilou et al., 2006, Jimenez-Dalmaroni et al., 2009). Une autre étude de l'équipe de Moore a montré que la reconnaissance des protéines β -amyloïdes et des LDLox par le CD36 induisait l'activation des kinases Src, lesquelles déclenchent l'assemblage d'un autre complexe hétérotrimérique composé de TLR4, TLR6 et CD36 (Stewart et al., 2010). La signalisation de TLR4/6 est par la suite propagée par MyD88 et TRIF, ce qui conduit à l'induction de médiateurs pro-inflammatoires impliqués dans les effets délétères des LDLox dans l'athérosclérose et des β -amyloïdes avec la neurotoxicité caractéristique de la maladie d'Alzheimer (Stewart et al., 2010).

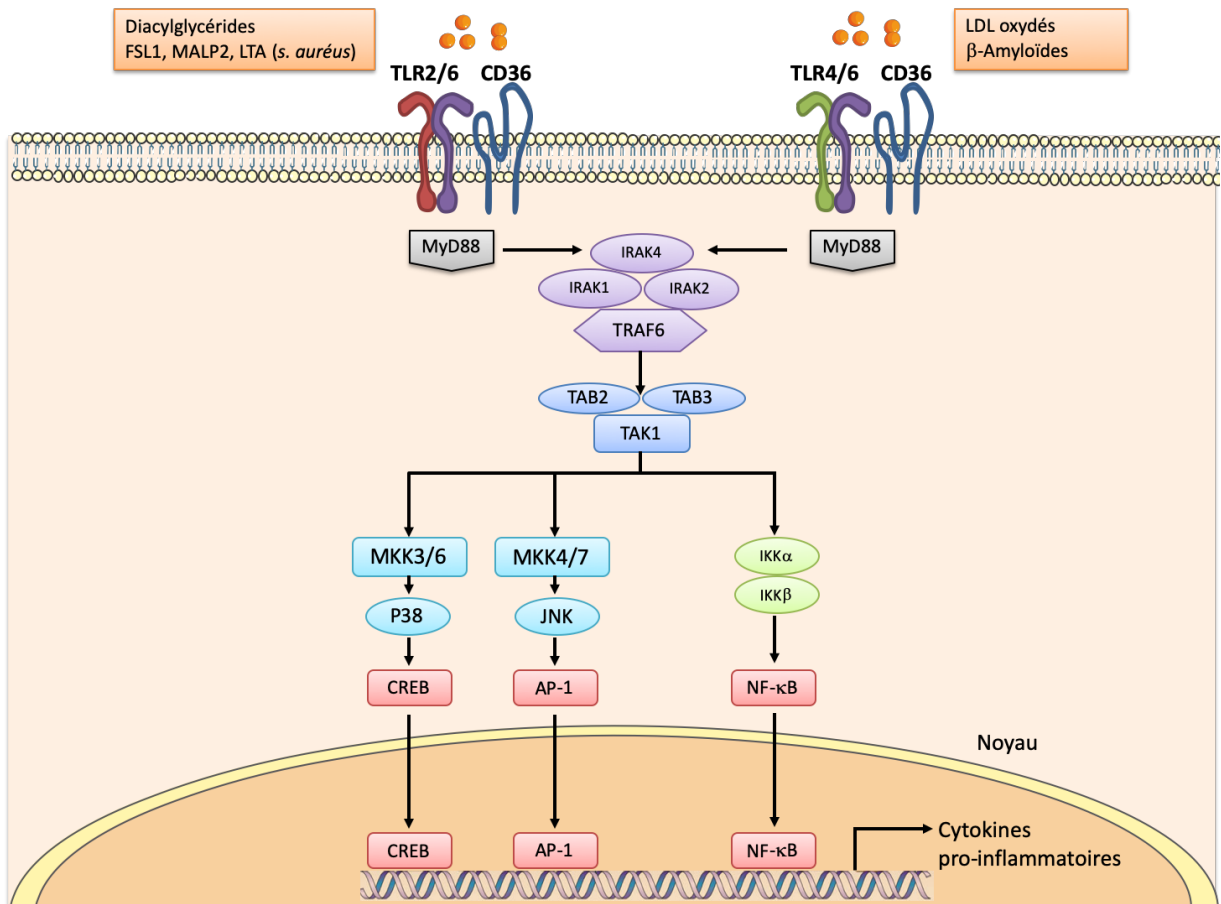


Figure 13. Rôle du CD36 comme corécepteur des TLR

Le CD36 se lie à des composants microbiens tels que le LTA et les lipoprotéines diacylées et présente les ligands au dimère TLR2/6 (gauche). Le CD36 contrôle également l'assemblage de l'hétérodimère TLR4/6 et l'endocytose des LDLox et des protéines β -amyloïdes (droite). Après la reconnaissance des ligands par le CD36 et le réarrangement consécutif des hétérodimères de TLR2, le domaine TIR de TLR2 recrute la protéine adaptatrice MyD88. Les protéines *IL-1R-associated kinases* (IRAK) sont ensuite recrutées et IRAK4 phosphoryle IRAK1 et IRAK2. IRAK1 phosphorylé se dissocie du complexe et active *TNF receptor-associated factor 6* (TRAF6). Étant donné que IRAK1 se dégrade rapidement, IRAK2 active également TRAF6 dans les dernières réponses. TRAF6 activé déclenche la séquence d'activation complexe *TAK1-binding protein* (TAB) - *TGF β -activated kinase* (TAK1) - *inhibitor of NF κ B kinase* (IKK). La phosphorylation du complexe IKK α/β conduit à la libération et la translocation de NF κ B dans le noyau pour la régulation génique. TAK1 active également MKK3/6 et MKK4/7 pour l'activation ultérieure de p38 et de JNK respectivement, conduisant à l'activation du *cyclic AMP-responsive element-binding protein* (CREB) et du *activator protein 1* (AP-1) qui déclenche la transcription génique des cytokines pro-inflammatoires. Figure inspirée de (Lee et al., 2012, O'Neill et al., 2013).

1.6.4.1. Implication du CD36 dans l'activation de l'inflammasome

L'IL-1 β est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies inflammatoires non-infectieuses, notamment l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer et le diabète de type 2. Dans chacune de ces conditions, l'accumulation de matières particulières au niveau des sites d'inflammation est une caractéristique de la maladie : la présence de cristaux de cholestérol dans les espaces sous-endothéliaux des plaques athérosclérotiques (Abela, 2010), celle des fibrilles de β -amyloïde dans les plaques séniles de la maladie d'Alzheimer (Meyer-Luehmann et al., 2008) ou de *amyloid-containing amylin-islet amyloid polypeptide* (IAPP) dans les cellules β -pancréatiques dans le diabète de type 2 (Westermarck et al., 2008). Des études ont identifié ces ligands endogènes particuliers comme des activateurs de l'inflammasome formé par le senseur cytoplasmique NLRP3 (Düwell et al., 2010, Halle et al., 2008, Masters et al., 2010, Rajamaki et al., 2010). Le complexe NLRP3-inflammasome régule l'activation de la

caspase-1, qui catalyse le clivage des précurseurs de cytokines pro-IL-1 β et pro-IL-18 pour induire la formation et la sécrétion de leurs formes actives IL-1 β et IL-18 (Keller et al., 2008). L'activation complète du NLRP3-inflammasome au niveau des macrophages nécessite les deux étapes suivantes: 1) l'amorçage ou *priming* (*signal 1*); et 2) l'activation de l'assemblage du complexe inflammasome (*signal 2*). L'amorçage des macrophages augmente l'expression à la fois de pro-IL-1 β et du NLRP3 et peut être induit *in vitro* par l'activation des récepteurs TLR (Bauernfeind et al., 2011, Bauernfeind et al., 2009, Embry et al., 2011). Le signal 2 est quant à lui déclenché par une perturbation de l'homéostasie cytoplasmique due à une déstabilisation lysosomale (Hornung et al., 2008). Ce processus, est caractérisé par la libération cytosolique du contenu lysosomal, telles que les cathepsines et les ROS, ce qui entraîne l'assemblage du NLRP3-inflammasome et l'activation de la caspase-1 (Zhou et al., 2011, Hornung et al., 2008).

En réponse aux LDLox, le CD36 est capable d'initier les signaux 1 et 2 pour l'activation complète du NLRP3-inflammasome (Sheedy et al., 2013). Ainsi, le CD36 peut agir conjointement avec l'hétérodimère TLR4/6 pour induire l'amorçage du NLRP3-inflammasome (Sheedy et al., 2013). Par la suite, l'internalisation des LDLox par le CD36 entraîne la formation intracellulaire de cristaux de cholestérol provoquant ainsi une déstabilisation lysosomale suivie de l'activation de NLRP3 et la libération subséquente d'IL-1 β mature (Sheedy et al., 2013, Hornung et al., 2008). Ainsi, le CD36 contrôle les étapes cruciales de l'inflammation stérile, en assemblant un module endocytotique non transcriptionnel et en aidant directement l'activité transcriptionnelle du complexe TLR4/6, impliqué dans l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer et le diabète de type 2 (Sheedy et al., 2013, Di Gioia and Zanoni, 2015).

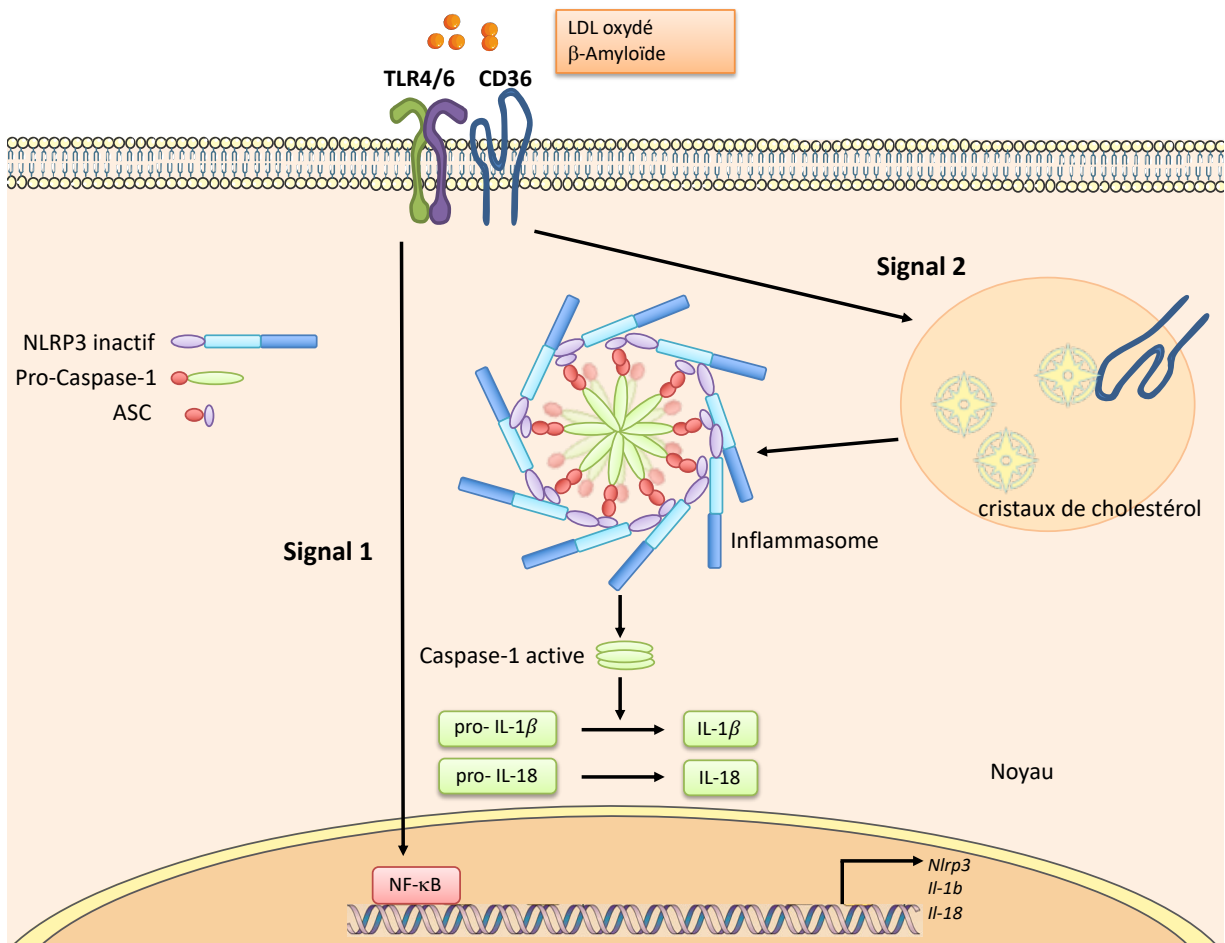


Figure 14. Rôle du CD36 dans l'induction de l'inflammasome

CD36 et l'hétérodimère TLR4/6 lient les LDLox, qui s'accumulent dans les lésions athérosclérotiques, ainsi que les protéines β-amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer. Ces interactions initient une voie de signalisation qui conduit à la régulation positive de la transcription de NLRP3, du pro-IL-1β et du pro-IL-18 (**signal 1**). Le CD36 intervient également dans l'internalisation du LDLox dans le compartiment lysosomal, où les ligands sont convertis en cristaux de cholestérol qui induisent une rupture lysosomale et l'activation de l'inflammasome NLRP3 (**signal 2**). Par la suite, l'inflammasome NLRP3 activé permet la conversion de la pro-caspase-1 en caspase-1 activée. Cette dernière permet ensuite la conversion des pro-IL-1β et pro-IL-18 en IL-1β et du IL-18 matures. Figure inspirée de (Kagan and Horng, 2013, Sheedy et al., 2013, Shao et al., 2015).

1.6.5. Rôle du CD36 dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative incurable du tissu cérébral, qui entraîne la perte progressive et irréversible des facultés cognitives, notamment la mémoire (Yu and Ye, 2015). C'est la cause de démence la plus fréquente chez les personnes âgées. De récentes études ont montré qu'une composante neuro-inflammatoire contribue de façon importante à la pathogenèse de la maladie (Heneka et al., 2015). Elle est caractérisée par l'accumulation extracellulaire de la protéine β -amyloïde fibrillaire insoluble (fA β) au niveau du parenchyme cérébral (Wisniewski et al., 1989).

Les dépôts intraparenchymateux de fA β sont composés de peptides A β d'une longueur de 40 à 42 acides aminés, entourés par des microglies, d'astrocytes et de neurites dystrophiques activés, qui ensemble forment la plaque sénile (Coraci et al., 2002). L'inflammation, initiée par les réactions cellulaires à ces dépôts intra-parenchymateux de fA β , joue un rôle important dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. Les cellules de la microglie, les phagocytes mononucléés du cerveau, seraient principalement responsables de cette inflammation (El Khoury et al., 1998). La liaison des protéines A β au niveau des microglies requiert la formation du complexe hétérotrimérique constitué du récepteur CD36 en association avec l'intégrine $\alpha_6\beta_1$ et le CD47. Ceci conduit à l'assemblage d'un complexe de signalisation qui comprend les kinases Src Fyn et Lyn, la protéine adaptatrice p130Cas, la kinase Pyk2, la protéine adaptatrice Pax et à la polymérisation de l'actine (Stuart et al., 2007). L'activation du complexe de signalisation mentionné ci-haut provoque la phosphorylation en aval de la p44/42 MAP kinases suivie de l'induction de l'expression des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires telles que le TNF α , le CCL2, le *macrophage inflammatory protein* 1 et 2 (MIP1 et MIP2) et l'IL-1 β , ainsi

que de la formation des ROS (Stuart et al., 2007, Moore et al., 2002). Dans la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer, le CD36 est aussi impliqué dans un autre mécanisme d'action en induisant l'inhibition de la voie de signalisation de l'oxyde nitrique (NO, *nitric oxide*) après l'interaction du CD36 avec les protéines A β . Cette interaction inhibe la production de la guanylate cyclase soluble et de la formation de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc), ce qui se traduit par l'abolition de l'effet neuroprotecteur du NO (Miller et al., 2010).

Le CD36, en tant que récepteur de l'A β , présente une double fonction dans la maladie d'Alzheimer : l'un est nocif, en stimulant l'activation de la microglie et la libération de médiateurs inflammatoires lorsqu'il est lié à l'A β ; l'autre est bénéfique, en induisant la phagocytose et la clairance de l'A β (Yu and Ye, 2015). Par conséquent, les agents qui inhibent la réponse inflammatoire induite par A β dans la microglie et renforcent la phagocytose de A β devraient présenter une bonne option thérapeutique pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

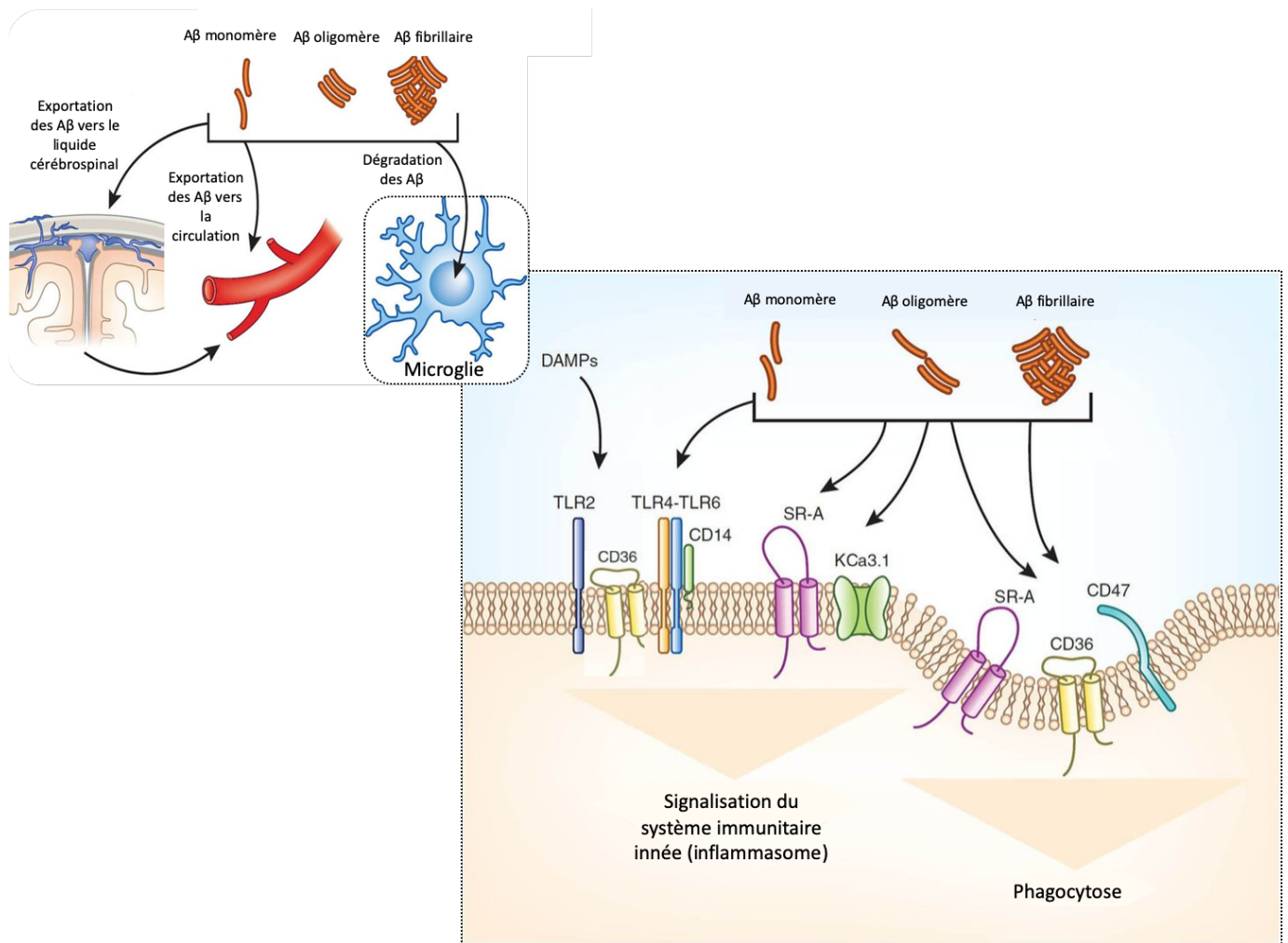


Figure 15. Rôle du CD36 dans la maladie d'Alzheimer

Plusieurs récepteurs sur la microglie contribuent à l'activation cellulaire par les différentes formes d'Aβ. Le TLR2, TLR4, TLR6 et leurs corécepteurs peuvent être déclenchés par un Aβ fibrillaire pour induire une signalisation via le système immunitaire inné (NF-κB et NLRP3 inflammasome). Les récepteur SR-A, CD36 et CD47 favorisent la phagocytose des Aβ. Figure modifiée et traduite de (Heneka et al., 2015).

Chapitre 2. La dégénérescence maculaire liée à l'âge

2. Introduction

La vision fait partie des sens les plus importants permettant d'effectuer les principales activités de la vie quotidienne. La déficience visuelle ou la cécité représente un handicap majeur ayant un impact profond sur la vie de plus de 200 millions de personnes dans le monde (Bourne et al., 2017, Flaxman et al., 2017). La rétine, qui tapisse l'arrière de l'œil, est le tissu neuronal sensible à la lumière comprenant plusieurs couches de types cellulaires distincts. Une vision optimale nécessite une rétine centrale très performante, en particulier la macula dense en photorécepteurs, responsable de la fine acuité visuelle requise pour des tâches telles que la lecture, la reconnaissance faciale et la conduite automobile (Ambati et al., 2013).

La plupart des formes de cécité incurables résultent de la mort des neurones rétiniens. Les maladies rétiniennes causées par la mort de photorécepteurs et / ou des cellules de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), telles que les rétinopathies diabétiques et la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), qui sont une cause croissante de perte de vision incurable. Malgré leurs étiologies très différentes, les diverses maladies dégénératives de la rétine aboutissent au même résultat final, à savoir la perte des photorécepteurs (Gagliardi et al., 2019).

L'œil vieillissant existe à l'état para-inflammatoire pour maintenir les fonctions physiologiques normales des photorécepteurs et des cellules de l'EPR, pour ainsi maintenir l'homéostasie rétinienne (Xu et al., 2009). La perte de l'homéostasie rétinienne dans la macula est permissive pour le développement de la DMLA résultant de la pathologie des photorécepteurs et de l'EPR, ainsi que d'une inflammation chronique subtile ou légère.

L'étiologie de la DMLA implique de nombreux facteurs tels que le vieillissement, la prédisposition génétique, des éléments environnementaux tels que la fumée et l'alimentation, le stress oxydatif et l'inflammation (Coleman et al., 2008).

2.1. Structure de la rétine

La rétine est la partie nerveuse de l'œil responsable de la vision. La rétine comporte cinq types de neurones : les photorécepteurs, les cellules bipolaires, les cellules ganglionnaires, les cellules horizontales et les cellules amacrines (Purves, 2005). Il existe deux types de photorécepteurs dans la rétine : les cônes et les bâtonnets qui possèdent un segment externe et un segment interne. Le segment interne contient le noyau cellulaire et donne naissance aux prolongements synaptiques qui s'articulent avec les cellules bipolaires et horizontales. Le segment externe, adjacent à l'EPR, est composé de disques membraneux chargés de pigments photosensibles (Purves, 2005, Taylor and Smith, 2004). L'EPR est aussi responsable du maintien de l'intégrité de la barrière hémato-rétinienne externe par des jonctions serrées (Purves, 2005, Taylor and Smith, 2004). Du côté postérieur à l'EPR, on retrouve la membrane de Bruch, stratégiquement située entre l'EPR et les capillaires choroïdiens fenestrés de l'œil. La membrane de Bruch régule en partie l'échange réciproque de biomolécules, de nutriments, d'oxygène, de liquides et de déchets métaboliques entre la rétine et la circulation périphérique (Booij et al., 2010). Ensemble, l'EPR et la membrane de Bruch forment la barrière hémato-rétinienne externe, qui empêche l'entrée de macromolécules et de cellules immunitaires de la choroïde sous-jacente dans la couche de photorécepteurs. Située derrière la membrane de Bruch, la choroïde contient un réseau dense de vaisseaux sanguins (choriocapillaires), qui fournit de l'oxygène et des

nutriments à l'EPR, à la rétine externe et au nerf optique. La choroïde contient également des mélanocytes, des fibroblastes, des macrophages, des mastocytes et des cellules dendritiques résidant dans les tissus (Purves, 2005).

La macula est la zone centrale de la rétine, de 6 mm de diamètre, qui contient plus d'une couche de noyaux de cellules ganglionnaires. Les photorécepteurs qui constituent la macula centrale ou fovéa sont essentiellement des cônes, tandis que la parafovéa environnante est dominée par la présence de bâtonnets. Dans la parafovéa vieillissante normale, les cellules de l'EPR sont souvent multinucléées et élargies (Ach et al., 2014).

La rétine contient trois types de cellules gliales distinctes : les cellules de Müller, les astrocytes et la microglie. Les cellules de Müller représentent environ 90% de la population de cellules gliales et couvrent toutes les couches rétinienne. Elles assurent à la fois le fonctionnement et le métabolisme des neurones rétiniens en libérant des facteurs trophiques, en recyclant le glutamate des neurotransmetteurs et en contrôlant l'homéostasie des échanges ioniques (Reichenbach and Bringmann, 2013). Les astrocytes rétiniens, présents au niveau de la couche de fibres nerveuses et de la couche de cellules ganglionnaires, remplissent des fonctions similaires à celles des cellules de Müller, allant du soutien neurotrophique, métabolique et mécanique des neurones au maintien de la barrière hémato-rétinienne (Vecino et al., 2016). La microglie, qui représente les macrophages tissulaires résidents, joue un rôle important dans la défense immunitaire et l'homéostasie rétinienne (Chen and Xu, 2015). Dans la rétine normale, les cellules microgliales sont situées dans les couches plexiformes où elles présentent des ramifications responsables de la surveillance immunitaire de la rétine (Rashid et al., 2019). Différents facteurs tels que le stress oxydatif, l'hypoxie ou les mutations héréditaires

déclenchent la réactivité de la microglie se manifestant par une morphologie amiboïde, une prolifération accrue et la migration vers les sites inflammatoires.

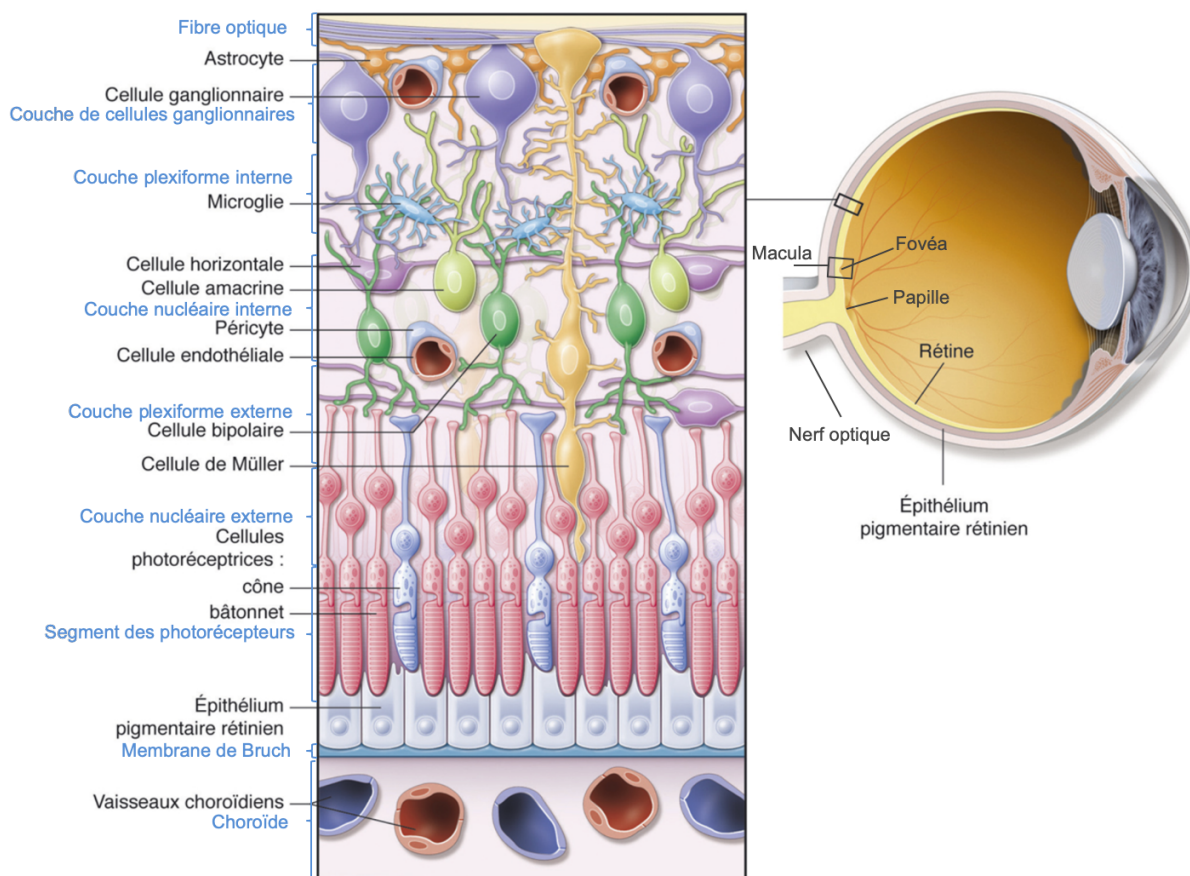


Figure 16. Structure de la rétine : Représentation schématisique des principales couches de la rétine et de ses zones particulières

La couche des cellules ganglionnaires (CCG); la couche nucléaire interne (CNI); la couche nucléaire externe (CNE); les couches plexiformes externes (CPE) et internes (CPI). La **macula** ou tâche jaune, située au fond de l'œil et caractérisée par une concentration maximale de cônes; la **fovéa**, petite dépression située au centre de la macula, entièrement composée de cônes est la zone d'acuité maximale de l'œil; la **papille** ou tâche aveugle correspond à la région d'émergence du nerf optique et est dépourvue de photorécepteurs. Figure modifiée de http://www.em-consulte.com/em/SFO/2016/html/file_100016.html

2.2. Développement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge

La première description de ce que l'on appelait alors la « dégénérescence maculaire sénile » a été faite en 1875 par Hutchison et Tay, qui ont décrit une dizaine de cas de maladie chorio-rétinienne centrale symétrique survenant chez des personnes séniles, caractérisée par des taches blanchâtres (drusen) dans la macula (Hutchison, 1875). Ce n'est que dans les années 1980 que la maladie a été renommée « dégénérescence maculaire liée à l'âge » (Chan and Ardeljan, 2014).

La DMLA est une maladie qui affecte la région maculaire de la rétine et provoque une perte progressive de la vision centrale. Elle constitue la principale cause de déficience visuelle irréversible dans le monde occidental chez les personnes âgées de 65 ans et plus, et représente à elle seule plus de 8,7% de cause de cécité dans le monde. Le nombre total de personnes atteintes de cette maladie devrait atteindre près de 300 millions d'ici 2040, posant ainsi un problème de santé publique majeur ayant des implications socio-économiques considérables (Wong et al., 2014).

L'âge est un facteur de risque prédominant qui contribue au développement de la DMLA, avec une prévalence atteignant près de 30% chez les personnes âgées de plus de 85 ans au sein de la population européenne (Colijn et al., 2017). Certains facteurs environnementaux, tels que le régime alimentaire (apport en matières grasses) et le mode de vie, en particulier le tabagisme, contribuent également au risque de développer la maladie (Chakravarthy et al., 2007, Christen et al., 1996). Plusieurs variantes génétiques sont également associées à une prévalence accrue de DMLA (Fritsche et al., 2016). Les deux plus importants sont les polymorphismes des gènes *CFH* (*complement factor H*) et *ARMS2* (*age-related maculopathy susceptibility protein 2*). Le gène *CFH* code pour le facteur H du complément, une glycoprotéine qui joue un rôle essentiel

dans la régulation de la voie alternative du complément (Hageman et al., 2005). Le gène *ARMS2* (Kanda et al., 2007, Fritsche et al., 2008) code pour la protéine ARMS2, qui aide à initier l'activation du complément à la surface des monocytes et des microglies rétiens en se liant à la surface des cellules apoptotiques et nécrotiques (Micklisch et al., 2017). Plus de 50 variants génétiques sur 34 différents locus ont été associés au développement de la DMLA (Fritsche et al., 2016). Une grande proportion de ces variants génétiques sont situés dans ou à proximité des gènes du système du complément, du métabolisme lipidique et du remodelage extracellulaire (Brown et al., 2018).

Les manifestations cliniques de la DMLA se présente sous deux formes : « sèche » et « humide ». Les stades précoces de la DMLA caractérisés par la présence de drusen (dépôts jaunes sous la rétine constitués de débris de photorécepteur, de lipides et de protéines), ainsi que la DMLA en phase avancée caractérisée par l'atrophie géographique sont toutes deux des formes non-exsudatives, c'est-à-dire des formes sèches de la maladie. La forme avancée de DMLA caractérisée par une néovascularisation choroïdienne correspond à la forme humide de la maladie.

Les premiers stades de développement de la DMLA sont caractérisés par l'apparition de signes cliniques tels que la présence de drusen, l'accumulation de lipofuscine ainsi que les anomalies au niveau de l'EPR. La DMLA en phase avancée ou terminale peut être néovasculaire (humide ou exsudative) ou non-néovasculaire (sèche ou non exsudative). La néovascularisation choroïdienne (NVC) est la forme la plus agressive de DMLA avancée et entraîne une perte rapide de la vision centrale. Elle est caractérisée par la croissance de vaisseaux sanguins choroïdiens immatures à travers l'EPR et la rétine externe avasculaire. La forme sèche quant à elle est caractérisée par l'accumulation de drusen, impliquant une inflammation locale, avec

attraction et rétention de phagocytes mononucléés, et une détérioration de l'EPR, menant à la perte progressive de la vision centrale due à la mort des cellules de l'EPR et des cellules photoréceptrices, conduisant à l'atrophie géographique (AG).

2.2.1. Stades précoces de la DMLA

La DMLA précoce est souvent asymptomatique. Certains patients remarquent une légère distorsion centrale de leur vision, en particulier lors de la lecture, ainsi qu'une capacité de lecture réduite avec une faible luminosité. Les premiers symptômes de la DMLA comprennent une vision déformée lors de la lecture, de la conduite ou en regardant la télévision, ainsi qu'une tâche sombre ou grise (scotome) dans la vision centrale, rendant difficile la reconnaissance des visages. Si un seul œil est affecté, les symptômes peuvent ne pas être apparents tant que le bon œil n'est pas occlus (Mitchell et al., 2018).

Parmi les caractéristiques pathologiques des stades précoces de la DMLA, on retrouve l'accumulation de dépôts basaux dans la membrane de Bruch. Ces dépôts, qui ne peuvent être décelés que sur des échantillons pathologiques et non sur l'évaluation clinique, sont de deux types distincts: 1) **Les dépôts laminaires basaux**, constitués de protéines de la membrane basale et de collagène à grand espacement, sont situés entre l'EPR et la membrane basale; 2) **Les dépôts linéaires basaux**, qui sont plus spécifiques aux formes précoces de DMLA, sont composés principalement de matériel membranaire et sont situés à l'extérieur de la membrane basale de l'EPR, dans la membrane de Bruch. La combinaison de l'accumulation de ces dépôts avec des anomalies de l'EPR entraîne la formation de drusen (Green, 1999, Sarks et al., 2007).

Les premiers changements visibles sur le plan ophtalmoscopique caractéristiques de la DMLA précoce sont des dépôts ronds et bien définis, ou confluent et plus petits, ou plus grands et jaunâtres, appelés drusen. Ces dépôts minuscules de matériaux extracellulaires qui s'accumulent entre la membrane de Bruch et l'EPR, et la présence de quelques petits drusen durs est normale avec l'âge (Silvestri et al., 2012). Cependant, la présence de drusen plus grands et plus nombreux dans la macula est un signe de DMLA précoce. Selon la classification *Age-Related Eye Disease Study* (AREDS) (Age-Related Eye Disease Study Research, 2001, Farazdaghi and Ebrahimi, 2019, Al-Zamil and Yassin, 2017), quelques petits drusen ou aucun drusen est considéré comme appartenant à la catégorie 1 ou à l'absence de DMLA; plusieurs petits drusen ou quelques drusen de taille moyenne dans un œil ou dans les deux yeux sont classés en catégorie 2 ou début de DMLA. La DMLA intermédiaire appartient à la catégorie 3, impliquant la présence de nombreux drusen de taille moyenne ou un ou plusieurs gros drusen dans un œil ou dans les deux yeux (Age-Related Eye Disease Study Research, 2001). La catégorie 4 implique les formes avancées de DMLA.

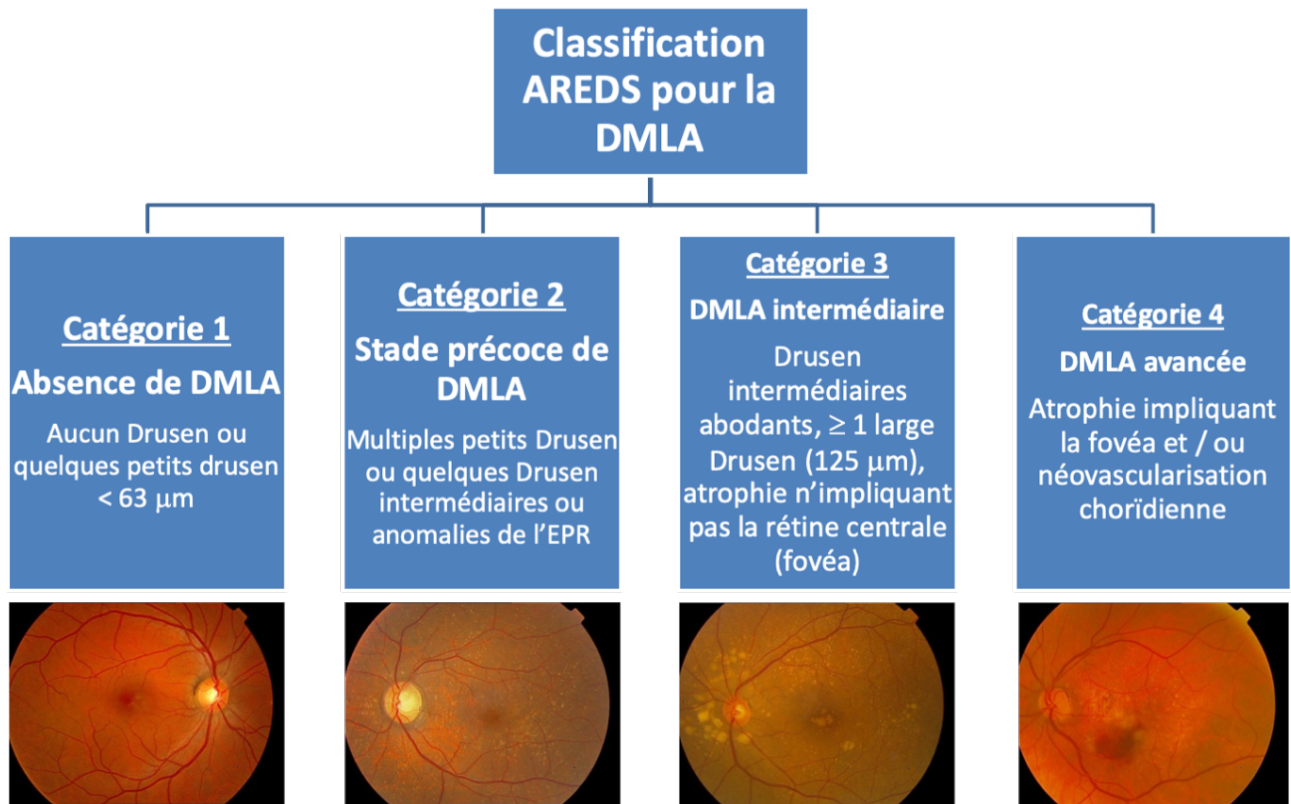


Figure 17. Classification AREDS (Age-Related Eye Disease Study) de la DMLA
Figure inspirée à partir de (Farazdaghi and Ebrahimi, 2019, Al-Zamil and Yassin, 2017).

Différents types de molécules ont été identifiés au niveau des drusen, notamment des glycoconjugués (tels que les protéoglycanes, les peptidoglycanes, les glycoprotéines et les glycolipides), l'albumine, des protéines β -amyloïdes ainsi que divers composants des plaques athérosclérotiques, notamment les apolipoprotéines B et E, l'alpha-cristalline, les éléments du complément, la protéase *high-temperature requirement protein A1* (HTRA1) et des lipides neutres avec du cholestérol estérifié et non estérifié (Mitchell et al., 2018). Les analyses protéomiques, histologiques et biochimiques montrent que les drusen humains comprennent aussi les facteurs du complément et les protéines associées, y compris les composants complémentaires C1q, C3, C5 et C5b-9 et la vitronectine, ainsi que les immunoglobulines (Crabb et al., 2002). Les extraits de drusen peuvent induire l'activation de l'inflammasome et les composants individuels de drusen peuvent induire expérimentalement de multiples effets cellulaires: par exemple, le C1q induit l'activation de l'inflammasome (Doyle et al., 2012) et l'amyloïde- β induit la dégénérescence rétinienne (Bruban et al., 2011). De plus, les AGE et les dérivés de carboxyéthylpyrrole (CEP) (produits par l'oxydation d'acides gras dans les extrémités des photorécepteurs) ont été retrouvés dans des drusen isolés à partir d'échantillons de DMLA. La présence de ces molécules, liées aux dommages oxydatifs (Farboud et al., 1999, Crabb et al., 2002), sous-tend le concept selon lequel le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la pathogenèse et la progression de la DMLA (Beatty et al., 2000). Il est à noter que les AGE peuvent être reconnus par différents récepteurs, pouvant exercer des activités pro-inflammatoires par la signalisation du facteur nucléaire NF κ B (Lin, 2006), impliquant ainsi l'inflammation comme un facteur important dans la pathogène de la DMLA. Toutefois, les drusen étant des dépôts solides et insolubles, il est difficile de déduire l'activité *in situ* de leurs constituants. Ainsi, il y a une corrélation entre la formation de drusen et la DMLA : un nombre

et une taille de drusen élevés correspond à un risque accru de développer une DMLA avancée. De plus, des macrophages ont été détectés au niveau des drusen en régression, ce qui suggère que les macrophages sont recrutés pour éliminer les dépôts accumulés dans la membrane de Bruch (Sarks et al., 1999).

Un autre signe de la DMLA précoce est une pigmentation altérée avec la présence de zones hyper- et / ou hypopigmentées dans la couche de l'EPR. Ce changement visible sur le plan ophtalmoscopique est dû à des dépôts entre la couche interne de la membrane de Bruch et la membrane basale de l'EPR. Les zones hypopigmentées peuvent également résulter de la mort cellulaire de l'EPR, tandis que les zones hyperpigmentées reflètent la prolifération des cellules de l'EPR, ainsi que la présence de cellules de l'EPR contenant des débris pigmentés phagocytés à partir de cellules avoisinantes.

La progression de la DMLA précoce à tardive est associée à une perte de vision sévère et irréversible. L'atrophie des cellules sensibles à la lumière, y compris l'EPR, la rétine externe et les tissus de soutien de la région rétinienne centrale, entraînant une AG ou une NVC ainsi que la formation de vaisseaux sanguins anormaux et fragiles sous l'EPR ou dans l'espace sous rétinien. Ainsi, toutes ces manifestations sont considérées comme des formes avancées de DMLA, et sont classés en catégorie 4 AREDS (Age-Related Eye Disease Study Research, 2001).

2.2.2. Stades avancés de la DMLA

2.2.1.1. La DMLA de type humide

La DMLA de type humide, exsudative ou néovasculaire est la principale cause de cécité chez les personnes âgées dans les pays industrialisés, affectant plus d'un million de personnes

âgées de plus de 40 ans aux États-Unis (Ambati et al., 2013). La DMLA de type humide est identifiée par la NVC, qui est caractérisée par les lésions typiques: présence d'hémorragie rétinienne (pouvant être intrarétinienne, sous-rétinienne ou sous l'EPR), détachement de l'EPR, présence d'exsudat ou de cicatrice fibreuse sous-rétinienne (Jager et al., 2008). L'imagerie multimodale, en particulier avec la tomographie par cohérence optique (OCT), montre clairement ces manifestations et fournit des informations sur la taille, l'emplacement et l'étendue des drusen, ainsi que sur la présence et l'activité de la NVC (Mitchell et al., 2018).

La NVC est caractérisée par la croissance des vaisseaux sanguins à travers la membrane de Bruch sous l'EPR. Les modifications inflammatoires et les altérations des caractéristiques de diffusion de facteurs de croissance dans la membrane de Bruch sont considérées comme les principaux facteurs pathogènes (Mitchell et al., 2018). Les capillaires nouvellement formés sont entourés de tissu conjonctif et provoquent un certain nombre de réactions de la part de l'EPR adjacent. Les cellules de l'EPR peuvent soit proliférer et inhiber la croissance des vaisseaux, ou bien mourir et provoquer la perte de l'intégrité de la couche de l'EPR. Ces événements sont responsables des différentes manifestations cliniques de la néovascularisation choroïdienne avec formation de cicatrices disciformes aux stades plus avancés (Mitchell et al., 2018).

La NVC peut résulter de différents mécanismes. Avec l'âge, une accumulation progressive de dépôt lipidiques oxydés et d'autres substances modifiées par oxydation est observée au niveau sous-rétinien (Spaide et al., 1999). Ces sous-produits du métabolisme des acides gras, tels que les lipides oxydés, sont impliqués dans l'induction directe de la croissance des capillaires sanguins, tel qu'observé chez les modèles animaux présentant des lésions rétinienne induites par un stress photo-oxydatif (Hao et al., 2002). Une autre cause de la croissance et de la pénétration des capillaires sanguins causant la NVC peut être dû à la

perméabilité modifiée de la membrane de Bruch causée par l'accumulation de dépôts lipidiques (Spaide et al., 1999). De plus, cela provoque aussi une modification de la diffusion de facteurs de croissance sécrétés par les cellules de l'EPR (Moore et al., 1995). Ceux-ci sont libérés au pôle basal des cellules de l'EPR et sont nécessaires au maintien d'une architecture choroïdienne normale. Une diminution de la perméabilité de la membrane de Bruch pour ces facteurs de croissance conduit à une régression des capillaires choroïdiens. Ceci conduit au développement d'une hypoxie qui peut entraîner une production accrue de facteurs de croissance tels que le VEGF (Delori et al., 1995). La régulation à la hausse du VEGF entraîne la NVC en stimulant la prolifération des cellules endothéliales vasculaires et en perturbant les jonctions serrées des cellules endothéliales, augmentant ainsi la perméabilité vasculaire (Spilsbury et al., 2000). En combinaison avec la synthèse altérée et la dégradation des molécules de la matrice, cet apport accru de VEGF donne lieu à une migration de capillaires choroïdiens nouvellement formés.

Toutefois, il reste de nombreuses questions en suspens concernant la NVC. Par exemple, on ignore pourquoi la NVC se manifeste préférentiellement au niveau de la région maculaire. Généralement, les néovascularisations choroïdiennes à la périphérie de la rétine sont très rares, et les vaisseaux se développent principalement au niveau du pôle postérieur de l'œil vers la fovéa (Bressler et al., 1988). Des concentrations plus élevées de facteurs de croissance dans la rétine centrale ou une destruction des cellules centrales de l'EPR semblent être à l'origine de ce phénomène (Marshall, 1987). De plus, la densité des cellules photoréceptrices est plus élevée dans le centre de la rétine, entraînant ainsi une charge élevée de déchets métaboliques dans cette région, ainsi qu'une concentration plus élevée de granules de lipofuscine (Delori et al., 1995). Par ailleurs, l'épaississement de la membrane de Bruch sous-jacente à la partie maculaire est plus marqué, en plus d'une augmentation de la calcification des fibres dans la couche élastique

de la membrane de Bruch. En particulier dans la partie maculaire, les fibres calcifiées peuvent se rompre, ce qui peut favoriser la survenue d'une néovascularisation (Spraul et al., 1998). Aussi, les modifications rétiniennes et altérations de l'EPR liées à l'âge sont plus importantes dans la zone de la macula sous-jacente, ce qui contribue à favoriser la survenue de NVC dans cette zone délicate.

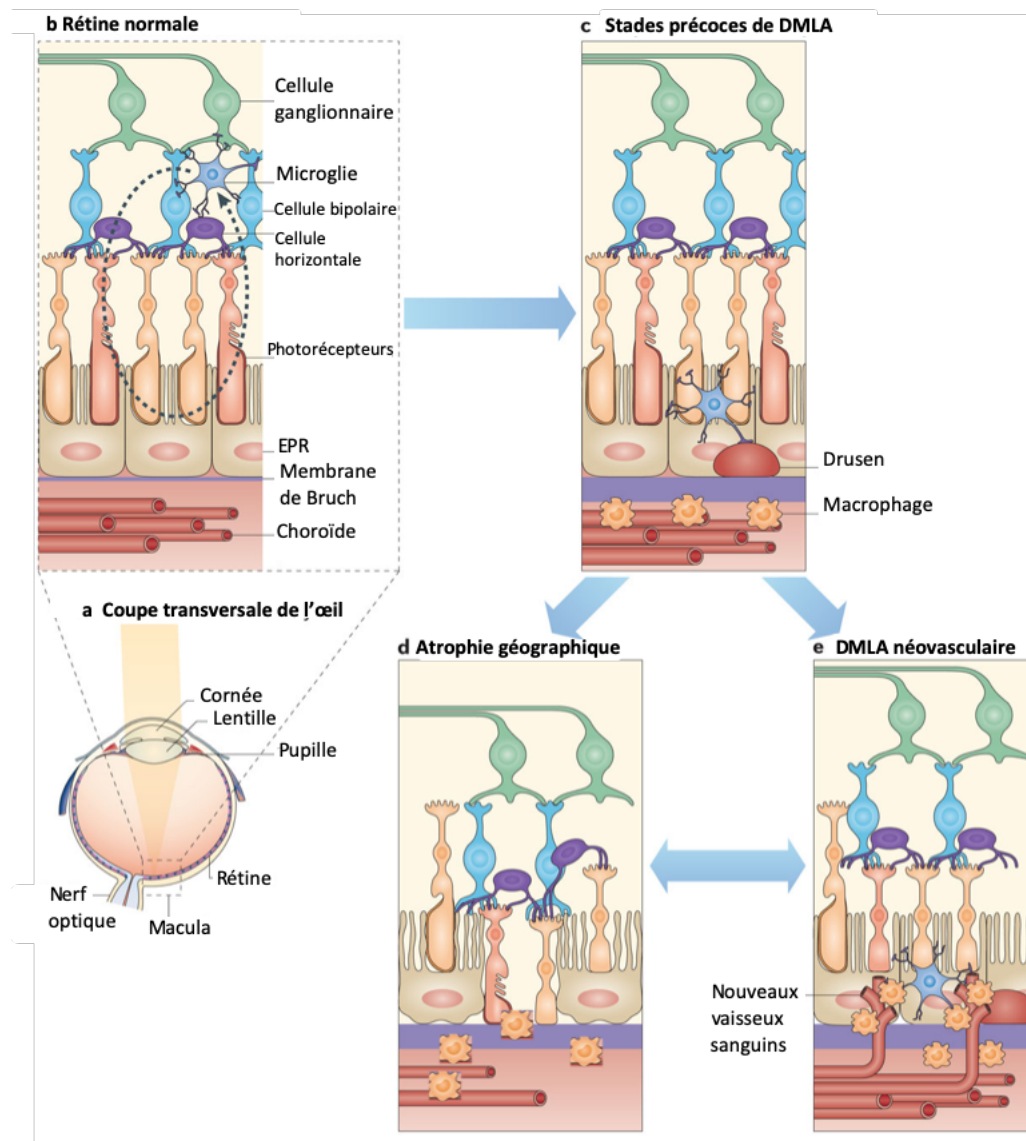


Figure 18. Anatomie rétinienne durant les stades de développement de la DMLA
(a) Une coupe transversale de l'œil humain montre la focalisation de la lumière dans la zone maculaire, qui est une collection dense de photorécepteurs rétiniens. **(b)** L'architecture rétinienne normale comprend (de la couche antérieure à la couche postérieure) une couche de cellules ganglionnaires, une microglie rétinienne résidente, des cellules bipolaires, des cellules horizontales, la couche de photorécepteur, l'EPR, la membrane de Bruch et le réseau vasculaire choroïdien. Les microglies normales migrent dans et hors de l'espace sous-rétinien (comme indiqué par la flèche en pointillé). **(c)** La DMLA précoce ou intermédiaire est associée à l'accumulation de drusen et de microglies sous-rétiniennes, de macrophages choroïdiens et d'une membrane de Bruch épaissie. **(d)** L'atrophie géographique est la forme avancée de DMLA sèche, caractérisée par des régions confluentes d'EPR, une infiltration de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien, une dégénérescence des photorécepteurs ainsi que la constriction des vaisseaux sanguins choroïdiens. **(e)** La DMLA néovasculaire se caractérise par l'invasion

de vaisseaux sanguins choroïdiens anormaux, l'accumulation de macrophages dans l'espace sous-rétinien ainsi que la destruction de la membrane de Bruch, ce qui entraîne une dégénérescence des photorécepteurs. Figure traduite de (Ambati et al., 2013).

La NVC présente une variété de symptômes visuels et de signes pouvant servir d'indices afin de poser un bon diagnostic. L'invasion physique des vaisseaux sanguins et l'infiltrat cellulaire associé déforment les tissus rétiniens. Les fuites associées, les saignements et les cicatrices éventuelles peuvent avoir des effets profonds sur le bon fonctionnement de la macula. La reconnaissance de la présence de NVC est assez facile dans les cas avancés, mais la perte de vision est souvent grave. Bien que l'étiologie fondamentale de la DMLA néovasculaire reste incertaine, les traitements ciblant le VEGF, puissant stimulateur de l'angiogenèse et de la vasoperméabilité, ont permis d'améliorer considérablement la vision centrale chez environ 30% des patients et d'arrêter la perte de vision chez 94% des patients (Rosenfeld et al., 2006, Brown et al., 2006). Par conséquent, un diagnostic précoce, avant que le patient ne souffre d'une perte de vision sévère, constitue le meilleur espoir de maintenir la fonction visuelle chez ces personnes âgées.

2.2.1.2. La DMLA de type sèche

La DMLA sèche est caractérisée par la présence d'altérations au niveau de l'EPR et de la membrane de Bruch, avec accumulation de dépôts focaux de lipofuscine, de débris de photorécepteurs et de composants inflammatoires (drusen) entre la membrane de Bruch et l'EPR (Cicinelli et al., 2018). Dans la DMLA sèche, les cellules de l'EPR dégénèrent et subissent d'importants changements dans leur forme, avec une disposition en multicouches dissociées de la membrane de Bruch. Ces changements suggèrent que le dysfonctionnement de l'EPR joue

rôle central dans le développement de la perte de photorécepteurs dans la DMLA sèche (Handa et al., 2019).

L'atrophie géographique est la forme avancée de la DMLA sèche. L'AG apparaît comme une zone nettement délimitée, avec dépigmentation et visualisation améliorée des vaisseaux choroïdiens profonds. Elle implique l'altération des cellules de l'EPR, mais également les couches anatomiques antérieures et postérieures à l'EPR, c'est-à-dire la couche de capillaires choroïdiens (ou choriocapillaire) et les couches rétinienne neurosensorielles externes, y compris les photorécepteurs (Ambati et al., 2013).

L'événement initiateur du développement de l'AG reste toutefois inconnu. La perte de photorécepteurs semble être secondaire aux modifications de l'EPR et des couches anatomiques postérieures. Ainsi, l'atteinte de la couche de photorécepteurs se produit de façon dépendante des modifications au niveau de l'EPR et que la réduction des photorécepteurs semble entraîner une perte parallèle de l'EPR (McLeod et al., 2002).

Dans la pathogenèse de l'AG, l'atrophie de l'EPR qui survient en premier, joue un rôle important et est généralement plus grave que la dégénérescence de la couche de choriocapillaire qui survient par la suite (McLeod et al., 2009). Cependant, la choriocapillaire résiduelle dans les zones de perte complète d'EPR semble être extrêmement restreinte (McLeod et al., 2002). Ainsi, le fait que les zones d'atrophie de l'EPR puissent parfois correspondre à la taille des lobules choriocapillaires laisse également entrevoir la possibilité d'une contribution choroïdienne dans le processus pathologique (McLeod et al., 2009). De plus, des modifications de la structure de la membrane de Bruch pourraient contribuer à l'évolution de l'AG (Booij et

al., 2010). Par ailleurs, les macrophages sont souvent observés dans les zones d'AG et semblent phagocyter les pigments et autres débris cellulaires.

Dans les cellules post-mitotiques de l'EPR, la lipofuscine s'accumule dans le compartiment lysosomal avec l'âge, ainsi que dans diverses maladies rétiniennes complexes et monogénétiques, notamment la maladie de Best, la maladie de Stargardt et la DMLA (Boulton and Dayhaw-Barker, 2001). Plusieurs études ont démontré que les pigments autofluorescents qui s'accumulent sous forme de lipofuscine dans les cellules de l'EPR pourraient atteindre des niveaux contribuant à un déclin de la fonction cellulaire, du vieillissement de la rétine et à une dégénérescence, principalement sous la forme d'une AG (Sparrow and Boulton, 2005). La lipofuscine dans l'EPR est la source de l'autofluorescence du fond d'œil. Elle est principalement dérivée des résidus chimiquement modifiés de disques des segments externes de photorécepteur incomplètement digérés. Le composé se présente sous forme de particules sphériques de la taille d'un micromètre et se caractérise par son autofluorescence jaune lorsqu'il est exposé à la lumière bleue (Lamb and Simon, 2004). Le composant principal de la lipofuscine est le N-rétinylidène-N-rétinyléthanolamine (A2E), un dérivé d'amine et de rétinoïde quaternaire du cycle visuel (Schutt et al., 2000). La génération de lipofuscine est une cascade pathogène; l'A2E produit interfère avec la fonction des cellules de l'EPR, conduisant à l'apoptose de ce dernier et à une AG ultérieure.

Bien que la NVC soit la cause la plus fréquente de perte visuelle sévère dans les cas de DMLA avancée, environ 20% des cas de perte de vision centrale et de cécité sont attribués à l'AG (Mitchell et al., 2018). Les patients atteints d'AG primaire ont tendance à être plus âgés que ceux présentant des formes néovasculaires de DMLA au moment de la manifestation initiale. Chez les patients âgés de 85 ans et plus, l'AG survient quatre fois plus souvent que la

NVC (Klein et al., 2007). Ainsi, l'AG semble être l'étape finale de l'évolution naturelle de la DMLA. Cependant, il n'existe toujours pas de traitement approuvé pour l'AG, principalement en raison de l'absence de cibles moléculaires appropriées. Contrairement au VEGFA dans la DMLA néovasculaire, aucun facteur crucial n'a été identifié comme favorisant la dégénérescence de l'EPR dans l'AG.

Il est important de noter que ces stades avancés de DMLA ne sont pas mutuellement exclusifs. Ainsi, des lésions néovasculaires sont souvent présentes à la périphérie des yeux présentant une AG (Sunness et al., 1999). De plus, le traitement à long terme de la DMLA néovasculaire par une thérapie ciblant le VEGFA est associé au développement d'une AG (Martin et al., 2012), probablement à la suite d'une atrophie de la choriocapillaire (Marneros et al., 2005), et de la perte de l'activité neurotrophique du VEGFA dans la rétine (Saint-Geniez et al., 2008). Aussi, il a été démontré que les polymorphismes génétiques associés à la DMLA, y compris ceux des gènes codant pour le CFH, ARMS2 et le HTRA1, confèrent un risque statistique similaire de développer les deux formes de DMLA (Sepp et al., 2006, Cameron et al., 2007, Sobrin et al., 2012). Ceci indique qu'il existe de nombreux mécanismes pathologiques sous-jacents communs aux deux formes avancées de DMLA.

2.3. L'inflammation dans la DMLA

L'inflammation est la réponse de défense du corps face à différents stimuli tels que les agents pathogènes ou les cellules endommagées. La réponse inflammatoire dans le système nerveux central est caractérisée par une augmentation de la concentration en cytokines pro-inflammatoires, une perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, une invasion de leucocytes et une activation de la névroglie. Il est maintenant largement admis que

l'inflammation joue un rôle essentiel dans la pathogenèse de la DMLA (Xu et al., 2009). La rétine est un site présumé « immunitaire privilégié », protégé par la barrière hémato-rétinienne, ainsi que par la présence des protéines anti-inflammatoires. De plus, la présence de cellules immunitaires résidentes (microglie) dans la rétine est maintenant bien documenté, les récentes études se penchent sur les cellules immunitaires périphériques qui peuvent envahir la barrière hémato-rétinienne.

En raison du degré de protection immunitaire plus élevé par rapport à d'autres organes, certains antigènes oculaires sont perçus comme du « non-soi » par les cellules immunitaires qui envahissent la rétine, entraînant ainsi la production d'auto-anticorps. En effet, des études ont montré que les sérums de patients atteints de DMLA précoce et humide présentaient des taux significativement plus élevés d'auto-anticorps anti-rétiniens (Patel et al., 2005). Cependant, il n'est pas clair si ces auto-anticorps jouent un rôle causal dans la DMLA ou s'ils sont des produits générés au cours du processus de la maladie. Néanmoins, leur importance dans la pathogenèse de la DMLA est mise en évidence dans des études où des souris immunisées avec l'albumine de sérum de souris additionnée de dérivés de CEP, montrent l'accumulation de drusen et de dépôts de composants du complément C3 dans la membrane de Bruch, ainsi que l'apparition de lésions semblables à la DMLA (Hollyfield et al., 2008).

Au courant de la dernière décennie, on a vu survenir un nouveau concept important impliqué dans les maladies liées à l'âge, qui est la para-inflammation (Xu et al., 2009). Généralement, les tissus sont sujets à subir des états de stress nocifs durant lesquels le système immunitaire inné est alerté pour rétablir l'homéostasie tissulaire. La réponse provoquée, connue sous le nom de para-inflammation, se situe entre l'état basal et inflammatoire et serait bénéfique pour l'hôte. Cependant, si le dysfonctionnement tissulaire persiste sur une longue période de

temps, la para-inflammation peut devenir chronique et délétère, provoquant ainsi un état pathologique. La rétine subit de nombreux changements physiopathologiques avec l'âge, dont la formation de lipides oxydés, une diminution du nombre de cellules neuronales et de l'EPR, une accumulation de lipofuscine, une augmentation de l'épaisseur de la membrane de Bruch et une dégradation de la barrière hémato-rétinienne. Dans la DMLA, l'équilibre entre les dommages induits par le stress oxydatif et la para-inflammation est souvent perturbé en raison de facteurs environnementaux et génétiques, ce qui entraîne un état inflammatoire chronique.

Les premières étapes connues de la pathogenèse de la DMLA reflètent une capacité réduite à gérer les demandes métaboliques de la rétine. La convergence des facteurs génétiques, environnementaux et métaboliques conduit à un état dans lequel l'accumulation d'éléments toxiques, tels que les sous-produits de peroxydation lipidique et la lipofuscine, fait finalement pencher la balance en faveur de l'activation immunitaire. Une fois remplie de déchets indésirables, leur contenu toxique induit une activation inappropriée de diverses voies immunitaires et inflammatoires dans la rétine, y compris des voies classiques et alternatives du complément, de l'inflammasome et de la signalisation des TLR (Ambati et al., 2013). En fin de compte, l'activation soutenue de ces voies pro-inflammatoires et dommageables conduit à une DMLA avancée. Dans le cas de l'AG, des dommages persistants à l'EPR entraînent le développement d'une dégénérescence de ce dernier ainsi que de la choriocapillaire et, finalement, des cellules rétinienne neurales. Dans la DMLA néovasculaire, la rupture de la barrière hémato-rétinienne entraîne un trafic de cellules immunitaires dans la rétine, ce qui entraîne une néovascularisation dépendante du VEGF, entraînant la cécité (Ambati et al., 2013).

Bien qu'il soit évident que des cellules inflammatoires, et plus particulièrement les phagocytes mononucléés, soient présentes dans la DMLA dans les régions de dégradation de la membrane de Bruch, de l'atrophie de l'EPR et des lésions de NVC, il reste beaucoup à débattre à savoir si elles jouent un rôle causal ou protecteur.

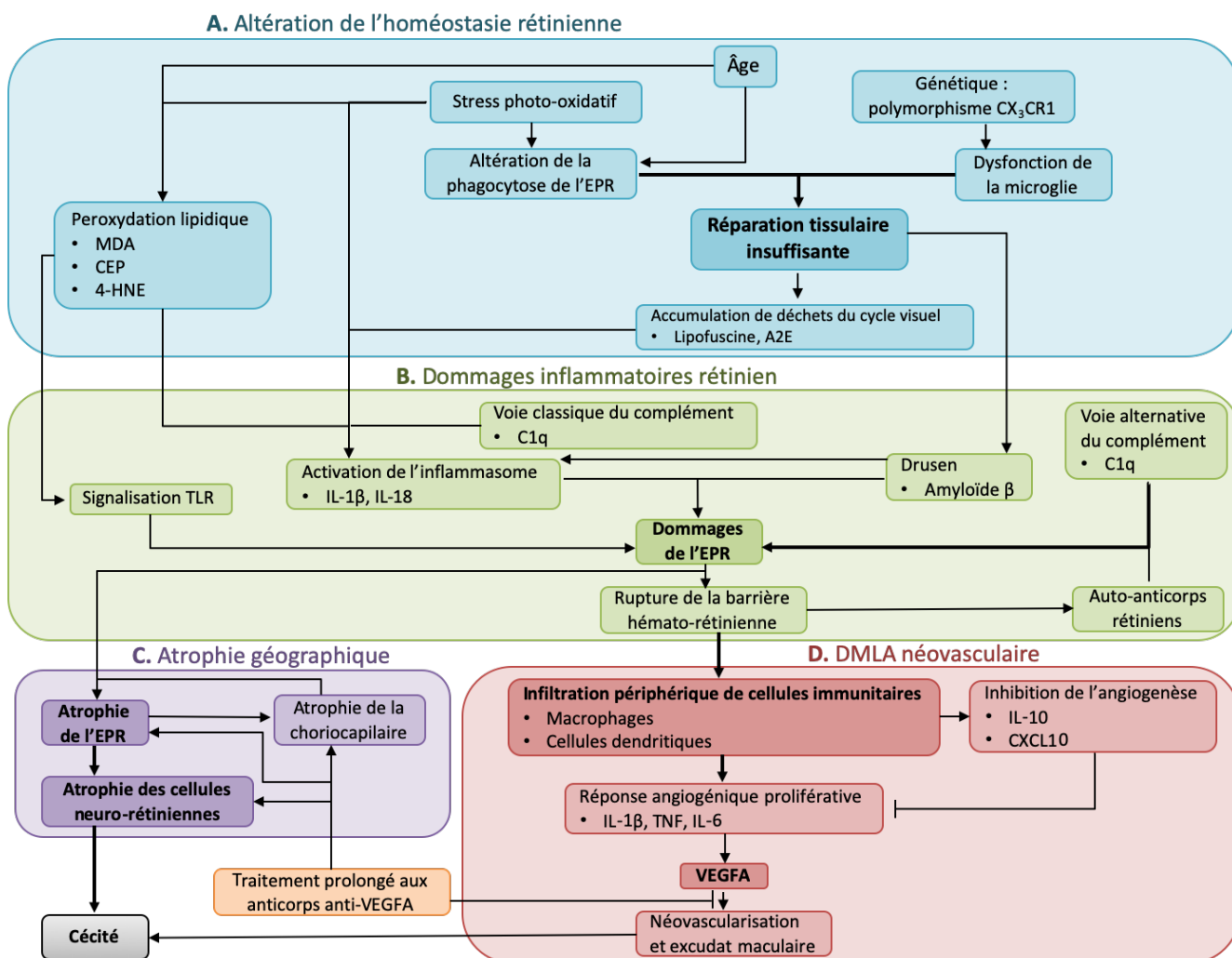


Figure 19. Les types cellulaires, les facteurs environnementaux et les voies immunitaires et inflammatoires qui contribuent à la DMLA

Les voies les plus importantes sont mises en évidence en gras. 4-HNE, 4-hydroxynonéal; A2E, N-rétinyl-N-rétinylidène éthanolamine; C1q, composant du complément 1q; CEP, carboxyéthylpyrrole; CX₃CR1, récepteur 1 de chimiokine CX₃C; CXCL10, ligand CX₃-chimiokine 10; MDA, malondialdéhyde. Figure inspirée et modifiée de (Ambati et al., 2013)

2.3.1. Rôle des phagocytes mononucléés dans la DMLA

Les phagocytes mononucléés sont des cellules inflammatoires clés présentes à tous les stades de la DMLA (Krogh Nielsen et al., 2019). De plus en plus de preuves montrent que la modification du nombre de cellules et de l'expression des récepteurs de surface des phagocytes mononucléés est liée à la DMLA (Behnke et al., 2020).

Tableau II. Caractéristiques des phagocytes mononucléés dans des échantillons humains de DMLA

Tableau inspiré de (Behnke et al., 2020).

Type de DMLA	Tissu analysé	Cellules/molécules	Références
DMLA humide	Sang	CCR1/2 augmenté dans les monocytes	Grunin et al., 2012
DMLA	Membrane de Bruch et choroïde	Augmentation de l'infiltration de macrophages	Cherepanoff et al., 2010
DMLA humide	Sang	Monocytes CD11b ⁺ augmentés	Subhi et al., 2017
DMLA humide	Sang	CD200 augmenté sur monocytes CD11b ⁺	Singh et al., 2013
DMLA sèche	Sang	Le CD200 sur les monocytes est en corrélation avec la progression de l'AG	Krogh Nielsen et al., 2019
DMLA sèche	Humeur aqueuse	CCL2 augmenté	Sennlaub et al., 2013
DMLA sèche	Rétine	Monocytes CCR2+ augmentés	Sennlaub et al., 2013
DMLA	Macula	CCL2 augmenté	Newman et al., 2012
DMLA sèche	Segment oculaire postérieur	APOE augmenté sur les phagocytes mononucléés	Levy et al., 2015
DMLA	Choroïde maculaire	Augmentation des macrophages pro-inflammatoires M1	Cao et al., 2011

Alors que le système du complément semble être particulièrement impliqué dans les processus inflammatoires de la DMLA, les données montrent que les phagocytes mononucléés et en particulier les microglies, les monocytes et les macrophages jouent un rôle important dans le développement de la maladie. L'activation immunitaire modérée au cours des phases d'initiation de la DMLA, est suivie d'une cascade d'événements pro-inflammatoires neurotoxiques durant les phases aiguës du processus dégénératif. Le rôle des cellules immunitaires innées a ainsi été largement étudié dans divers modèles de dégénérescence héréditaire de la rétine chez la souris (Karlstetter et al., 2010, Chow et al., 2011, Chan and Ardeljan, 2014). Dans l'espace sous-rétinien, la présence en excès de lipides oxydés provoque une réponse inflammatoire qui induit le recrutement de la microglie et des monocytes /macrophages systémique. Initialement, les phénomènes de para-inflammation sont activés pour restaurer l'homéostasie rétinienne. Cela comprend l'activation de l'EPR, de la microglie et des macrophages, avec une production accrue de cytokines, une régulation positive de l'autophagie et une régulation immunométabolique pour maintenir la santé mitochondriale de ces cellules. L'accumulation de lipoprotéines et de débris cellulaires déclenche une réponse inflammatoire de l'EPR, qui favorise l'évolution de la para-inflammation en inflammation chronique. Ceci induit l'activation de l'inflammasome et du complément au niveau de la microglie, des monocytes/macrophages et de l'EPR, avec la production d'IL-1 β qui contribue à la formation de dépôts de drusen (Handa et al., 2019, Rashid et al., 2019).

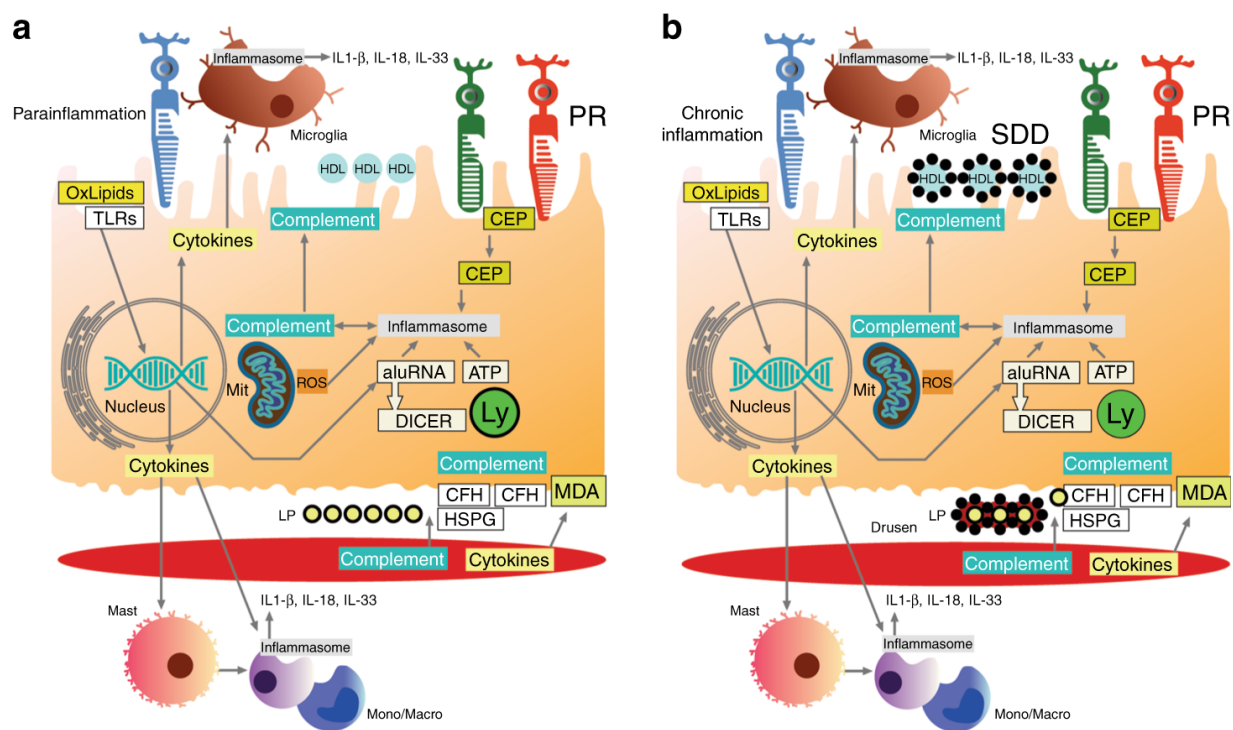


Figure 20. Processus inflammatoires impliqués dans la pathophysiologie de la DMLA

(a) représentant la parainflammation, et (b) représentant l'inflammation chronique. CEP : carboxyéthylpyrrole; CFH : facteur H du complément; HSPG : *heparan sulfate proteoglycan*; Ly : lysosome; MDA : malondialdéhyde; Mit : mitochondrie; mono / macro : monocyte / macrophage; PR : photorécepteur; SDD : *subretinal drusenoidoid deposit*. Figure tirée de (Handa et al., 2019)

2.3.1.1. Les microglies

Parmi les cellules immunitaires pouvant jouer un rôle dans la DMLA, on retrouve les cellules immunitaires résidentes de la rétine, soit les microglies qui jouent un rôle dans l'homéostasie neuronale et la surveillance immunitaire.

Les cellules microgliales peuplent le système nerveux central (SNC) des mammifères avant même la formation de la barrière hémato-encéphalique, et doivent être entretenues par l'entremise de mécanismes d'auto-renouvellement (Ginhoux et al., 2010). Les cellules

microgliales ramifiées sont caractérisées par des corps cellulaires statiques, avec des protrusions radiales très dynamiques. Cette morphologie spécialisée est essentielle au maintien de l'homéostasie tissulaire, puisqu'elle permet à l'ensemble de la population microgliale de couvrir tous les angles de la rétine (Nimmerjahn et al., 2005).

Dans la rétine en bonne santé, l'activation de la microglie est étroitement contrôlée pour maintenir les fonctions de soutien essentielles, tout en évitant l'activation immunitaire chronique (Nimmerjahn et al., 2005). Au cours du vieillissement, l'augmentation de l'accumulation de débris cellulaires nécessite une capacité phagocytaire accrue de la microglie. Cependant, les cellules microgliales elles-mêmes subissent des processus de vieillissement avec des changements morphologiques, un potentiel phagocytaire diminué et une activation immunitaire latente (Karlstetter et al., 2010, Nimmerjahn et al., 2005). Les lésions rétiniennees acquises ou héritées peuvent accélérer ces processus de vieillissement et faire pencher la balance en faveur de la pathologie.

À l'état physiologique, les cellules microgliales sont présentes au niveau des couches plexiformes de la rétine, ayant une forme dendritique qui leur permet de sonder en permanence leur environnement grâce à de multiples prolongements cytoplasmiques (Rashid et al., 2019). Différentes lésions rétiniennees amènent à une dysfonction cellulaire ou une dégénérescence des cellules de l'EPR, des photorécepteurs ou des cellules ganglionnaires rétiniennees qui vont rapidement alerter les cellules microgliales. Dans la DMLA, les microglies, normalement absentes de la rétine externe, s'infiltrant ainsi dans l'espace sous-rétinien et s'activent, essentiellement pour soutenir l'EPR et éliminer les débris liés à l'âge (Madeira et al., 2015). Cependant, elles peuvent également induire un stress oxydatif et favoriser une dégénérescence ultérieure. La microglie rétinienne et des précurseurs dérivés de la moelle osseuse

(monocytes/macrophages) vont migrer vers le site de la lésion. Ces cellules effectrices peuvent être protectrices ou nocives selon leur phénotype immunologique et les cytokines produites localement (Madeira et al., 2015).

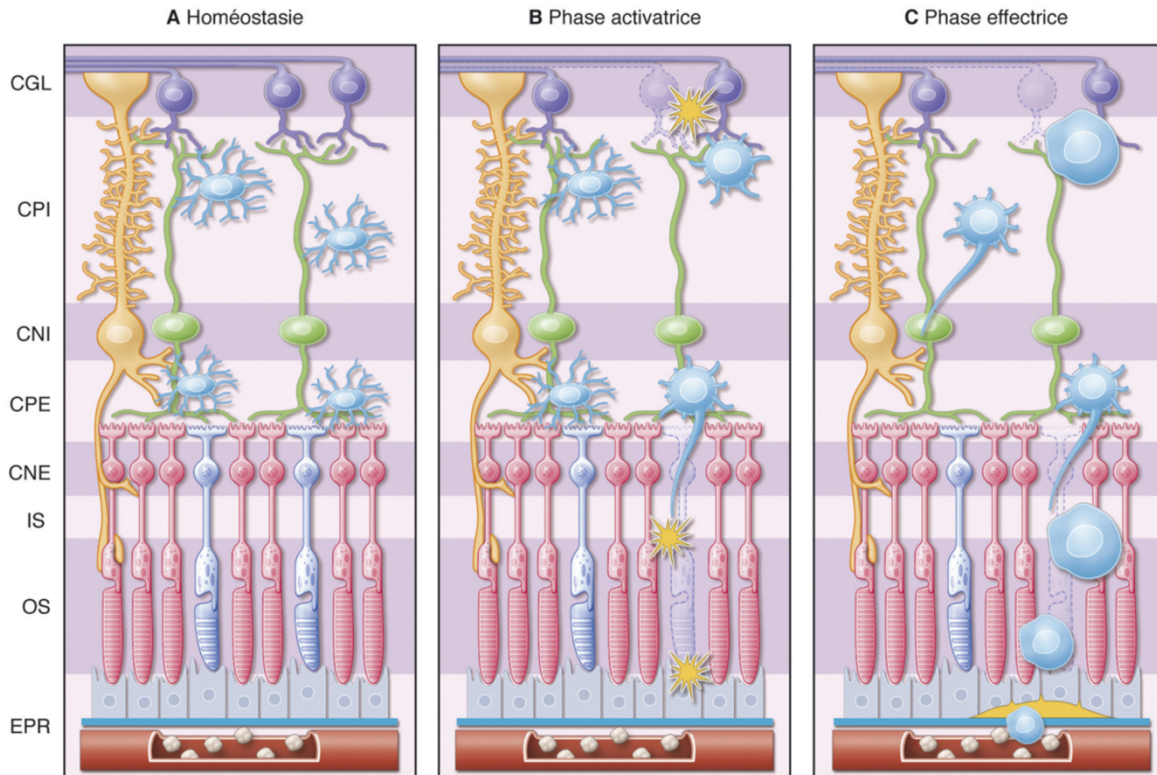


Figure 21. Schéma représentatif des trois différentes phases de l'activation microgliale au niveau de la rétine

CGL : couche des cellules ganglionnaires ; CNE : couche nucléaire externe ; CNI : couche nucléaire interne ; CPE : couche plexiforme externe ; CPI : couche plexiforme interne ; EPR : épithélium pigmentaire rétinien ; IS : inner segment/segment interne ; OS : outer segment/segment externe. Figure tirée de http://www.em-consulte.com/em/SFO/2016/html/file_100016.html.

Deux chimiokines, *C-X3-C Motif Chemokine Ligand 1* (CX3CL1) et CCL2, et leurs récepteurs respectifs, CX3CR1 et CCR2, jouent un rôle important dans le recrutement des macrophages/microglies au niveau des lésions tissulaires rétinienne. En effet, de nombreuses

études ont montré qu'un polymorphisme dans le gène *Cx3Cr1* est associé à une migration cellulaire altérée et à un risque accru de DMLA (Raoul et al., 2010). Il a également été démontré que les concentrations intraoculaires de *CCL2* étaient élevées chez les patients atteints de DMLA, dont les taux étaient en corrélation avec l'épaisseur maculaire (Jonas et al., 2010).

Le rôle de la microglie dans la pathogenèse de la DMLA a également été exploré en utilisant des souris *Cx3Cr1^{-/-}* et *Ccl2^{-/-}/Cx3Cr1^{-/-}*. Il a été démontré que les souris *Cx3Cr1^{-/-}* atteintes de NVC induite par laser, accumulent des microglies ainsi que des dépôts similaires aux drusen dans l'espace sous-rétinien (Combadiere et al., 2007). D'autres études utilisant le modèle murin double déficient *Ccl2^{-/-}/Cx3Cr1^{-/-}* ont montré la présence de lésions typiques de DMLA, tels que l'accumulation de dépôts lipidiques similaires aux drusen, un épaissement de la membrane de Bruch et une atrophie des photorécepteurs (Chan et al., 2008).

La microglie échange également des signaux fonctionnellement significatifs avec les cellules de Müller aussi bien en condition normale que durant le développement de la DMLA. Il a notamment été démontré que les facteurs neurotrophiques dérivés de la microglie interagissent avec les cellules de Müller, et influençaient la libération de facteurs secondaires, tel que le facteur de croissance des fibroblastes ou *fibroblast growth factor* (FGF) et le facteur neurotrophique dérivé des lignées cellulaires gliales ou *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF) (Madeira et al., 2015). Ces derniers sont connus pour agir directement sur les photorécepteurs en induisant la survie ou l'apoptose dans des conditions de stress rétinien (Wang et al., 2011).

Par ailleurs, la microglie subit également l'influence des cellules de l'EPR avoisinantes. En effet, ces dernières participent de façon importante au maintien d'un environnement

intraoculaire immunosupprimé en sécrétant des facteurs inhibiteurs dans l'espace sous-rétinien, tel que le TGF- β , la TSP-1 et la somatostatine (Zamiri et al., 2007, Rashid et al., 2019). De cette façon, les cellules de l'EPR inhibent ainsi l'infiltration indésirable des cellules microgliales et d'autres phagocytes mononucléés dans les couches photoréceptrices et dans l'espace sous-rétinien, rendant ces régions dépourvues de cellules immunitaires dans la rétine saine (Sennlaub et al., 2013, Chen and Xu, 2015). À l'inverse, aussi bien dans les formes humides que sèches de DMLA, on observe une accumulation de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien où ils peuvent contribuer à la pathogenèse de la maladie en produisant des niveaux élevés de facteurs pro-inflammatoires, tels que le TNF- α , l'IL-6, le CCL2 et l'IL-1 β (Sennlaub et al., 2013, Guillonnet et al., 2017). L'activation des mécanismes pro-inflammatoires et de la phagocytose des microglies et des phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien provoque un amincissement sévère de la couche nucléaire externe à la suite de la dégénérescence des photorécepteurs (Scholz et al., 2015)

2.3.1.2. Les macrophages

Les macrophages jouent un rôle central dans le système immunitaire inné, à la fois en contrôlant la phagocytose, la destruction bactérienne et la production de cytokines, ainsi qu'en présentant des antigènes aux lymphocytes T naïfs pour le développement d'une réponse immunitaire adaptative. Les macrophages ont été identifiés pour la première fois par Metchnikoff en 1883, quand il a été observé que les cellules phagocytaires mononucléées étaient capables de tuer des bactéries (Benedetto et al., 2019, Bhattacharya and Aggarwal, 2019, E., 1989). La notion d'activation des macrophages a été introduite par Mackaness au début des

années 1960, en étudiant la réponse de l'hôte à l'infection à la *Listeria* (Mackaness, 1962). Par la suite, l'activation des macrophages a été liée aux cellules T *helper* de type 1 (Th1), pour la première fois par Nathan, montrant que l'exposition des macrophages a un effet antimicrobien, et induisait la production d'IFN- γ avec activation de la réponse Th1 (Nathan et al., 1983).

Bien que plusieurs tentatives aient été faites pour classifier les macrophages, la définition la plus adéquate est celle du système phagocytaire mononucléé, qui englobe ces cellules hautement phagocytaires (phagocytes professionnels) et leurs progéniteurs de la moelle osseuse. Ainsi, les macrophages des tissus adultes sont définis comme des cellules terminales de la lignée phagocytaire mononucléée, dérivées des monocytes en circulation provenant de la moelle osseuse (Wynn et al., 2013).

Actuellement, les macrophages sont définis par leurs fonctions (phagocytose, immunité), leurs marqueurs spécifiques (F4/80, CD64, CD11b, etc.), leur morphologie (e.g. inclusions de phagosomes) et leur localisation dans des tissus spécifiques. De plus, les macrophages sont des cellules dotées d'une plasticité et d'un dynamisme remarquables. Ainsi, lorsqu'ils sont activés, la morphologie des macrophages et leur expression protéique peut changer rapidement afin de leur permettre de migrer vers les sites inflammatoires (Wynn et al., 2013, Frodermann and Nahrendorf, 2018). Par ailleurs, les macrophages dérivés de la moelle osseuse peuvent s'infiltrer dans la plupart des tissus, contribuant ainsi au maintien de la population de macrophages (Pollard, 2009). Les macrophages dérivés de la moelle osseuse peuvent également être affectés par des stimuli microenvironnementaux et des signaux responsables de leur polarisation phénotypique (Wynn et al., 2013).

Les macrophages, associés à l'inflammation chronique, sont les cellules inflammatoires les plus importantes observées dans les yeux atteints de DMLA, dépassant les microglies sous-rétiniennes ainsi que les lymphocytes (Coleman et al., 2008). Ainsi, la présence de macrophages a été bien documentée au niveau sous-rétinien, dans les lésions proches des drusen, aussi bien dans l'AG que dans la NVC (Ding et al., 2009). Chaque macrophage peut sécréter plus de 100 molécules différentes pour différentes activités biologiques, comprenant l'inflammation, l'immunité, la phagocytose, la croissance cellulaire et la mort cellulaire (Nathan, 1987). La sécrétion de ces produits dépend du stimulus, du sous-type de macrophage et de sa localisation. Les macrophages sécrètent ainsi une large gamme de cytokines, de chimiokines, de facteurs du complément et de facteurs de croissance, y compris le VEGF, en réponse à des agents pathogènes et à des dommages tissulaires. La plupart des molécules sécrétés par les macrophages sont bien connues pour être impliqués dans la DMLA. Ainsi, le rôle des macrophages dans la pathogenèse de la DMLA humaine a suscité un intérêt croissant, bien que les rôles protecteurs versus pathogènes des macrophages activés demeurent inconnus.

La diversité et la plasticité sont reconnues depuis longtemps pour les cellules de la lignée monocyte/macrophage. En réponse aux signaux provenant de pathogènes, de tissus endommagés ou de lymphocytes activés, les macrophages se polarisent en phénotypes fonctionnels distincts. Deux principaux phénotypes de macrophages sont classés en fonction de leurs propriétés fonctionnelles, de leurs marqueurs de surface et de leurs profils de cytokines: **les macrophages activés de manière classique (M1)**, microbicides et anti-tumoraux qui entraînent les réponses pro-inflammatoires; et **les macrophages activés de manière alternative (M2)**, qui contrôlent la régulation immunitaire et le remodelage tissulaire (Mantovani et al., 2013, Biswas et al., 2012). Les macrophages M2 peuvent également être sous-classés en M2a,

M2b, M2c et M2d en fonction des modifications transcriptionnelles qui surviennent après l'exposition à différents stimuli (Motwani and Gilroy, 2015). La polarisation dépendante de la stimulation contrôle les fonctions spécifiques et les phénotypes des macrophages:

- i. Exposés aux stimuli M1, les macrophages acquièrent un phénotype pro-inflammatoire, activant et produisant des molécules pro-inflammatoires. Trois principaux stimuli M1 sont reconnus, dont l'IFN γ , des éléments essentiels des agents pathogènes tels que le LPS et autres agonistes des TLR, ainsi que le *granulocytes macrophages colony-stimulating factor* (GM-CSF). Récemment, d'autres stimuli ont été proposés pour induire des propriétés pro-inflammatoires tels que le TNF α , l'IL-1 β et l'IL-6 (Mantovani et al., 2013). Classiquement, les macrophages M1 pro-inflammatoires sécrètent un certain nombre de cytokines, y compris le TNF α , l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-12, l'IL-23 ainsi que des chimiokines, notamment les CCL2, CCL5, CCL8, CXCL12, CXCL4 (Juhás et al., 2015). De plus, les macrophages M1 produisent du NO via une synthèse accrue de l'oxyde nitrique synthase induite (iNOS) (Juhás et al., 2015). Les macrophages M1 peuvent également contribuer à la destruction des tissus et à l'activité tumoricide, en favorisant les réponses immunitaires Th1 (Wynn et al., 2013). De plus, l'activation du transducteur de signal *Signal Transducer and Activator of Transcription-1* (STAT1) favorise la polarisation des macrophages de type M1, entraînant des fonctions cytotoxiques et pro-inflammatoires (Sica and Mantovani, 2012).

Sur ces bases, il a été proposé qu'une suractivation des cellules M1 soit impliquée dans les mécanismes pathogènes de plusieurs maladies inflammatoires, auto-immunes et chroniques, notamment l'athérosclérose, la maladie de Crohn, le diabète de type 2, la sclérose en plaques et l'hépatite auto-immune (Chinetti-Gbaguidi et al., 2015, Parisi et al., 2018, Liu et al., 2014).

- ii. Lorsqu'ils sont exposés à des stimuli M2, les macrophages acquièrent un phénotype anti-inflammatoire, surexprimant le récepteur du mannose, responsables de l'augmentation de la clairance des ligands mannosylés et de la réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires (Liu et al., 2014, Di Benedetto et al., 2019). Bouhleb et al. a démontré l'importance de PPAR- γ dans l'induction des monocytes humains vers un phénotype M2 anti-inflammatoire. En effet, les auteurs ont montré que le PPAR- γ était positivement régulé dans les macrophages M2 et que les agonistes de PPAR- γ induisaient une différenciation *in vivo* et *in vitro* des monocytes vers le phénotype M2 (Bouhleb et al., 2007). De plus, les macrophages M2 sont sous-classés en 4 sous-types, notamment M2a, M2b, M2c et M2d (Di Benedetto et al., 2019). Ces cellules sont en outre identifiées sur la base de marqueurs d'expression: STAT-3, CD200R, CD206, CD163, arginase-1, YM-1 et IL-10.
 - a. La différenciation des macrophages M2a est une réponse à l'IL-4 et à l'IL-13. Leur fonction principale consiste à inhiber les gènes M1 lors de la réparation tissulaire (Gordon and Martinez, 2010).

- b. Les macrophages M2b sont polarisés par des complexes immuns combinés comprenant les agonistes des récepteurs TLR et / ou IL-1 (Guilliams et al., 2014). Ils peuvent jouer une activité immunorégulatrice, bien que la polarisation vers M2b puisse favoriser la persistance des infections (Wang et al., 2019).
- c. Les macrophages M2c, aussi appelés macrophages désactivés, sont induits par les glucocorticoïdes et le TGF- β . Ils libèrent de grandes quantités d'IL-10 et de TGF- β pro-fibrotique, jouant ainsi un rôle important dans la phagocytose des cellules apoptotiques (Zizzo et al., 2012, Shapouri-Moghaddam et al., 2018).
- d. Les macrophages M2d sont activés en réponse à l'IL-6 ainsi qu'à l'agoniste des récepteurs de l'adénosine A2 (A2R) (Wang et al., 2010b, Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Ils se caractérisent par une production élevée d'IL-10, de TGF- β et de VEGF, ainsi que par une faible production d'IL-12, de TNF α et d'IL-1 β (Wang et al., 2010b).

Les macrophages M2 sont également caractérisés par la production de cytokines anti-inflammatoires et régulatrices, telles que l'IL-4, l'IL-33, l'IL-10, l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1RA) et le TGF- β (Mantovani et al., 2013, Locati et al., 2013).

De plus, il a récemment été suggéré de diviser les macrophages M2 en deux groupes en fonction de leur activité angiogénique: soit proangiogéniques et anti-angiogéniques (Dick, 2012). Cependant, des incertitudes subsistent quant aux

profils d'expression distincts des marqueurs de surface qui définissent clairement les sous-types de macrophages, en particulier dans le cas des macrophages humains.

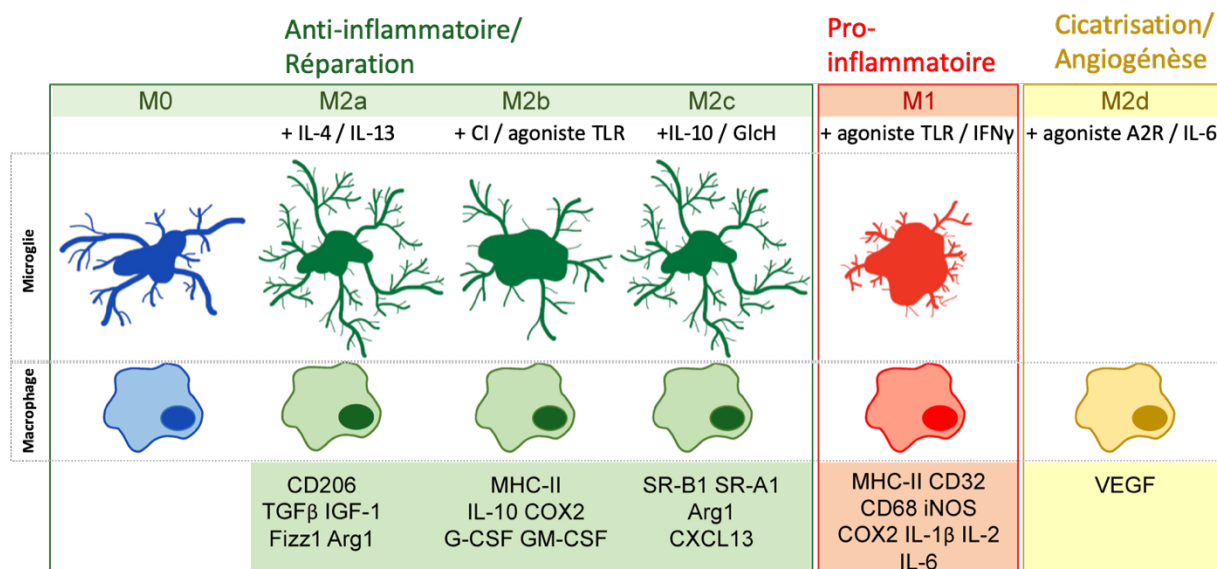


Figure 22. Sous-types de macrophages activés

États activés de la microglie (en haut) et des macrophages (en bas). Les molécules qui induisent les voies d'activation classiques (M1) ou alternatives (M2) sont indiquées pour chacun des phénotypes particuliers en haut. Le phénotype «au repos» (M0) peut être inclus dans le groupe de cellules polarisées M2 (probablement en tant que phénotype protecteur atténué). Les molécules exprimées par les différentes cellules polarisées M1, M2a, M2b, M2c et M2d, sont indiquées dans les cases en couleur (en bas). A2R : récepteur de l'adénosine A2A; Arg1 : arginase 1; COX2 : cyclooxygénase 2; CXCL13 : ligand 13 de chimiokine (motif C-X-C); G-CSF : facteur stimulant les colonies de granulocytes; GlcH : hormones glucocorticoïdes; GM-CSF : facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages; CI : complexes immuns; IFN γ : interféron gamma; IGF-1 : facteur de croissance de l'insuline; iNOS : oxyde nitrique synthase inductible; MHC-II : complexe d'histocompatibilité majeur de type II; SR-A1 : récepteur *scavenger* de classe A1; SR-B1 : récepteur *scavenger* de classe B1; VEGF : facteur de croissance endothélial vasculaire. Figure modifiée et traduite de (Franco and Fernandez-Suarez, 2015).

Sur ces bases, le paradigme des macrophages M1/M2 a été proposé, identifiant deux phénotypes en phase terminale ayant des fonctions opposées. Récemment, ce paradigme a été révisé, soutenant la notion selon laquelle il existe un continuum de phénotypes intermédiaires entre ces deux opposés apparents aux extrémités (Mantovani et al., 2013, Mosser and Edwards, 2008, Funes et al., 2018). De plus, les macrophages conservent souvent leur plasticité, de sorte que les phénotypes d'une population de macrophages peuvent changer au fil du temps (Mosser and Edwards, 2008). Ainsi, les macrophages M1 et M2 peuvent subir une commutation phénotypique vers la prééminence de M2 au cours du processus de vieillissement normal (Cao et al., 2011, Mahbub et al., 2012).

Après la migration de la circulation sanguine vers l'espace sous-endothélial, les monocytes se différencient en macrophages. Leur recrutement dans les tissus enflammés ou endommagés requiert l'intervention des chimiokines libérées par les cellules endommagées ou infectées (Crowther et al., 2001, Nita et al., 2014). La protéine chimioattractante des monocytes (MCP) -1, ou CCL2, produite localement est l'une des chimiokines clés qui régule la migration et l'infiltration monocyttaire. CCL2 interagit avec les récepteurs des chimiokines de types 1 et 2 (CX3CR1 et CCR2, respectivement) (Tuo et al., 2007, Raoul et al., 2010). Ainsi, plusieurs études montrent la présence de macrophages dans l'espace sous-rétinien de patients atteints de DMLA, dans les zones dégradées de la membrane de Bruch et dans les membranes de NVC excisées chirurgicalement (Combadiere et al., 2007, Sene et al., 2013, Tsutsumi et al., 2003, Sennlaub et al., 2013, Ambati et al., 2013, Ambati et al., 2003). Il a par ailleurs été démontré que ces macrophages induisent des réactions inflammatoires granulomateuses dans l'espace

sous-rétinien ainsi que dans la membrane de Bruch (Cherepanoff et al., 2010, Dastgheib and Green, 1994).

Les macrophages, caractérisés par leur polarisation en un large spectre de phénotypes jouent un double rôle dans la pathogenèse de la DMLA. Les macrophages pro-inflammatoires maintiennent l'état de para-inflammation des lésions de DMLA, et favorisent le développement des stades avancés de la maladie en induisant des lésions tissulaires (Skeie and Mullins, 2009). Les macrophages anti-inflammatoires maintiennent l'équilibre dans la membrane de Bruch vieillissante en éliminant les débris cellulaires et les dépôts de drusen. Au début de la DMLA, les macrophages M2 agissent principalement en éliminant les agents pro-inflammatoires tels que les AGE, les complexes du complément, les membranes oxydées, les cellules mortes et les débris de cellules apoptotiques, limitant ainsi l'inflammation en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires (Skeie and Mullins, 2009, Forrester, 2003). L'absence de recrutement de macrophages M2, provoqué par l'inhibition du récepteur CCR2, entraîne une exposition accrue des cellules de l'EPR aux AGE, ce qui peut inciter ces dernières à sécréter des facteurs proangiogéniques, notamment le VEGF (Ma et al., 2007). Dans les stades avancés de la DMLA, les macrophages M2 présentent une activité proangiogénique et facilitent la formation de NVC, notamment en sécrétant des facteurs de croissance (dont le VEGF), ainsi que des ROS qui affectent négativement l'EPR et la choriocapillaire, favorisant ainsi la protéolyse de la membrane de Bruch (Forrester, 2003, Skeie and Mullins, 2009). La dissolution de la membrane de Bruch, composée en grande partie d'élastine et de collagène, repose probablement sur des métalloprotéinases matricielles. Les macrophages jouent un rôle important dans le renouvellement de la matrice extracellulaire et expriment un certain nombre de

métalloprotéinases matricielles pouvant conduire à la rupture de la membrane de Bruch (Skeie and Mullins, 2009).

Des études utilisant des techniques de microdissection et d'immunohistochimie ont mis en évidence un déséquilibre pathologique de la polarisation des macrophages présents dans les lésions de DMLA. Ils ont ainsi mis en évidence une infiltration de macrophages M1 plus élevée dans la DMLA sèche et dans l'AG, ainsi qu'une infiltration de macrophages M2 exacerbée dans la DMLA néovasculaire (Cao et al., 2011). Ces résultats suggèrent que la polarisation et la plasticité des macrophages pourraient contribuer au développement et à la progression de la DMLA.

2.4. Le métabolisme dans la polarisation des PM

Les premières connaissances sur le statut métabolique des macrophages remontent au travail de pionnier réalisé par Hard il y a plus de 40 ans, montrant que les macrophages péritonéaux murins activés présentaient des niveaux de consommation d'oxygène plus faibles que ceux au repos, ainsi que des niveaux plus élevés de glycolyse (Hard, 1970). Cette étude a fourni la première preuve d'un changement métabolique significatif du macrophage résultant de son activation. Des études menées par Newsholme et ses collègues dans les années 1980 ont fourni de nouvelles preuves à ce phénomène, en montrant que les enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose ont une activité plus importante dans les macrophages, ce qui entraîne des taux élevés de consommation de glucose et de glutamine (Newsholme et al., 1986). Peu de temps après, au début des années 90, le rôle de l'IL-4 dans l'activation des macrophages a été

décrit, ainsi que le concept d'activation alternative (Abramson and Gallin, 1990, Stein et al., 1992).

Bien que les études sur le métabolisme des phagocytes mononucléés remontent à quelques décennies, ce n'est que depuis quelques années que le lien étroit qui existe entre le métabolisme et leur fonction est devenu évident (Galvan-Pena and O'Neill, 2014). Des études récentes ont montré que plusieurs divergences dans le métabolisme cellulaire contribuent de manière significative à la diversité des populations M1 et M2 (Galvan-Pena and O'Neill, 2014, Recalcati et al., 2019). Les changements métaboliques, influencés par les signaux du microenvironnement, soutiennent à leur tour les fonctions spécialisées des sous-ensembles de macrophages (O'Neill et al., 2016). De plus, des études récentes ont montré qu'une modification du métabolisme des macrophages peut également modifier leurs fonctions (Mills et al., 2016). Cela pourrait offrir la possibilité d'exploiter les voies métaboliques pour modifier le rôle des macrophages dans diverses conditions pathologiques dans lesquelles les phagocytes mononucléés sont un élément clé, telles que les cancers, l'obésité, l'athérosclérose et la DMLA.

Les voies métaboliques fournissent non seulement de l'énergie, mais régulent également le phénotype et la fonction du macrophage. La modification du métabolisme des acides aminés a été l'une des premières caractéristiques employées pour définir les sous-classes de macrophages.

Tableau III. Voies métaboliques majeures impliquées dans les sous-ensembles de macrophages
Traduit à partir de (Van den Bossche et al., 2017)

Voies métaboliques	Macrophages de type M1	Macrophages de type M2
Métabolisme des acides aminés	L'arginine est convertie en NO par iNOS Le métabolisme de la glutamine régule l'immunité innée	L'arginase-1 métabolise l'arginine
Glycolyse	Fortement induite et soutient les fonctions des macrophages pro-inflammatoires de manière distincte	Induite et cruciale pour l'activation des macrophages polarisés par l'IL-4
OXPHOS	Déprécié par NO and itaconate Les électrons circulent en arrière, entraînant la production de ROS, la stabilisation de HIF1 α et l'expression de l'IL-1 β	Induit et soutient le phénotype des macrophages induits par l'IL-4
PPP	Induite et requise pour la génération de ROS via la NADPH oxydase, la production de NO et la synthèse de nucléotides et de protéines	Non requis / supprimé par la kinase CARKL
FAS	L'accumulation de citrate est nécessaire pour le FAS, elle soutient la signalisation inflammatoire et augmente la production de NO et de TNF	Recommandé pour alimenter la FAO
FAO	Nécessaire pour l'activation de l'inflammasome NLRP3 et la sécrétion d'IL-1 β	CPT1a est nécessaire pour la polarisation M2 CPT2 n'est pas nécessaire

Les macrophages pro-inflammatoires M1 convertissent l'arginine en NO par une activation de iNOS. Inversement, l'arginine est métabolisée par l'arginase-1 dans les macrophages M2 activés alternativement par l'IL-4 (Van den Bossche et al., 2017).

Parallèlement au métabolisme distinct de l'arginine, les macrophages inflammatoires M1 ont un métabolisme glycolytique accru et une phosphorylation oxydative mitochondriale (OXPHOS) altérée (Pearce and Pearce, 2013, O'Neill et al., 2016). Bien que la glycolyse ne produise qu'une faible quantité d'énergie [deux molécules d'adénosine triphosphate (ATP) par glucose], elle peut être activée rapidement (Nagy and Haschemi, 2015). Ceci contraste avec

l'induction de la phosphorylation oxydative par l'IL-4 dans les macrophages M2, qui est plus lente mais produit de plus grandes quantités d'ATP (30 par glucose) (O'Neill et al., 2016).

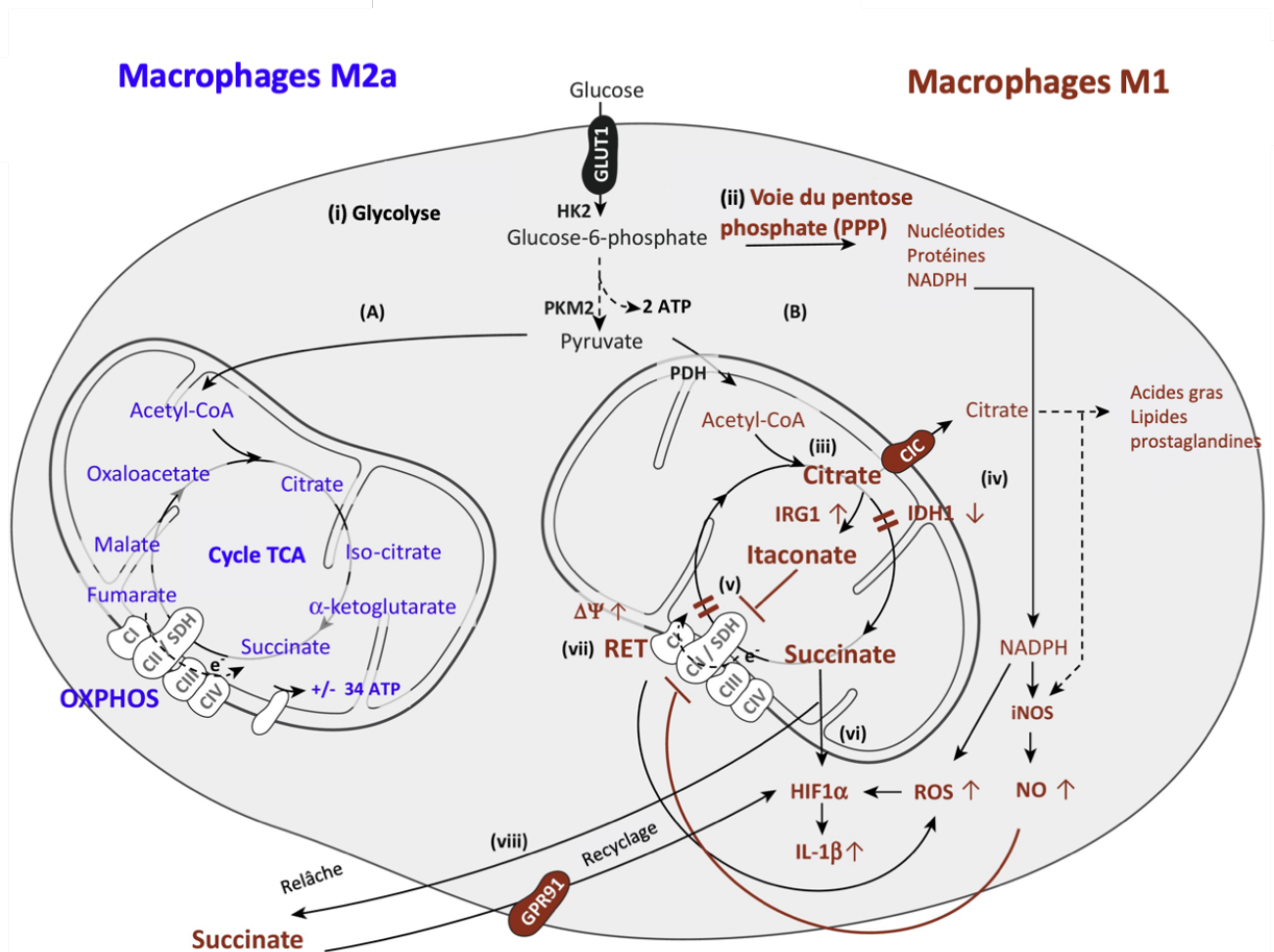


Figure 23. Voies métaboliques impliquées dans les sous-classes de macrophages M1 et M2a

(A) Dans les macrophages M2a (induit par l'IL-4), (i) le glucose reconstitue un cycle d'acide tricarboxylique (TCA) intact conduisant à une production soutenue d'ATP via une phosphorylation oxydative (OXPHOS) augmentée. (B) Les macrophages inflammatoires M1 (induits par le LPS + IFN γ) sont caractérisés par: (i) des taux de glycolyse élevés; (ii) une voie du pentose phosphate augmentée, générant du NADPH pour la production de ROS et de NO; et (iii) un cycle de TCA perturbé. (iv) La première rupture du cycle de TCA au niveau

de l'isocitrate déshydrogénase 1 (IDH1) entraîne l'accumulation de citrate, qui est utilisé pour la synthèse d'acides gras, la biosynthèse des membranes et la production de prostaglandines. Il facilite également la production de NO et génère de l'itaconate via l'Irg1. **(v)** L'itaconate et le NO peuvent tous deux inhiber la succinate déshydrogénase (SDH), induisant ainsi une deuxième rupture du cycle TCA qui provoque l'accumulation de succinate. **(vi)** Le succinate est un signal inflammatoire qui stabilise le facteur HIF1 α , favorisant ainsi l'expression de l'IL-1 β induite par le LPS. Le succinate ne stabilise pas HIF1 α en l'absence de LPS. **(vii)** Le LPS induit une hyperpolarisation mitochondriale ($\Delta Y \uparrow$), une oxydation du succinate induite par SDH et un transport inverse d'électrons (RET), qui, ensemble, contrôlent la production de ROS mitochondriale et l'expression de l'IL-1 β . Ceci est accompagné par la déstabilisation du supercomplexe mitochondrial. **(viii)** Le récepteur du succinate GPR91 détecte le succinate extracellulaire libéré par les macrophages inflammatoires et induit une boucle d'activation de macrophages inflammatoires M1. [Les autres métabolites du TCA ont été éliminés en **(B)** pour plus de clarté]. Figure traduite de (Van den Bossche et al., 2017).

Les macrophages M1 produisent de l'ATP principalement par glycolyse aérobie, ce qui implique une augmentation de l'absorption de glucose qui est métabolisé en glucose-6-phosphate (G6P) puis en pyruvate, ainsi que la conversion du pyruvate en lactate (Galvan-Pena and O'Neill, 2014). La régulation à la hausse du métabolisme glycolytique dans les macrophages M1 sert à la production d'énergie sous forme d'ATP, permettant de maintenir leurs fonctions sécrétoires et phagocytaires élevées. En parallèle, l'activité de la chaîne respiratoire mitochondriale est atténuée, ce qui permet la production de ROS. De plus, l'activation du facteur inductible d'hypoxie 1 α (HIF1 α) par les ROS induit une régulation positive de la glycolyse ainsi que l'induction de l'IL-1 β (Cramer et al., 2003). Cette voie est toutefois moins efficace pour générer l'ATP que la respiration mitochondriale, mais elle permet aux cellules de générer les éléments nécessaires à la synthèse de nucléotides, d'acides aminés et de lipides. En outre, les taux plus élevés de G6P générés par une glycolyse accrue peuvent stimuler la voie du pentose phosphate (PPP). La voie PPP est issue d'une ramification de la voie glycolytique, lorsque l'enzyme limitante glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), décarboxyle le G6P pour

former du ribose-5-phosphate (Nagy and Haschemi, 2015). La voie PPP soutient ainsi les réponses inflammatoires des macrophages en générant des acides aminés pour la synthèse des protéines et du NADPH pour la production de ROS par la NADPH oxydase.

Par conséquent, les macrophages M1 adaptent leur métabolisme énergétique afin de produire suffisamment d'ATP, tout en supportant les fonctions de biosynthèse nécessaires pour soutenir la prolifération et la synthèse des structures cellulaires et des molécules inflammatoires. Parallèlement, l'autre processus métabolique observé dans les macrophages M1 est l'inhibition de la phosphorylation oxydative des mitochondries (Langston et al., 2017). Ceci est obtenu en inhibant le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA) à deux niveaux distincts, avec génération simultanée d'intermédiaires utilisés pour la synthèse des protéines et des lipides. Ainsi, l'inhibition de l'isocitrate déshydrogénase (IDH) entraîne l'accumulation d'acétyl-CoA et de citrate, qui est ensuite exporté de la mitochondrie vers le cytosol, où il peut être converti par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) en malonyl-CoA, utilisé dans la synthèse d'acides gras. La suppression de la succinate déshydrogénase (SDH) est obtenue par une voie récemment découverte basée sur l'induction par le TLR4 de la décarboxylase *cis-aconitic acid decarboxylase/immune-responsive gene 1* (CAD/Irg1). La CAD/Irg1 est une enzyme qui régit la conversion du *cis-aconitate*, l'intermédiaire entre le citrate et l'isocitrate dans le cycle du TCA, en itaconate, un métabolite possédant à la fois des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Luan and Medzhitov, 2016). Une étude récente a montré que l'activité d'une isoforme d'aminotransférases à chaîne ramifiée *Branched-chain aminotransferases* (BCAT1), régulateurs multiniveaux du cycle du TCA et de la phosphorylation oxydative, est nécessaire pour la production d'itaconate et la reprogrammation métabolique des macrophages humains (Papathanassiou et al., 2017). Ceci met en évidence le lien entre le métabolisme et la fonction des

macrophages, souligné par la preuve que les voies métaboliques des macrophages M1 contribuent spécifiquement à leur rôle pro-inflammatoire. De plus, les métabolites peuvent également être utilisés comme immunorégulateurs afin de contrôler l'étendue et la durée de la réponse inflammatoire. Par exemple, le lactate produit par les macrophages M1, activés par la glycolyse, s'accumule et exerce une fonction immunosuppressive. De manière intéressante, le lactate semble être l'un des facteurs produits par les cellules tumorales qui favorisent la formation de macrophages *M2-like tumor associated macrophages* (TAM) (Sica et al., 2017).

D'autre part, les macrophages de type M2 utilisent le métabolisme oxydatif pour alimenter leurs fonctions à long terme, présentant des niveaux élevés de phosphorylation oxydative et d'activité mitochondriale (Galvan-Pena and O'Neill, 2014). Le cycle du TCA est alimenté par la consommation d'acides gras subissant une bêta-oxydation, ainsi que par l'utilisation de la glutamine pour former l' α -cétoglutarate (O'Neill, 2015). Pour soutenir ces réactions, la biogenèse mitochondriale est également induite, en plus de l'activation du régulateur métabolique *mechanistic target of rapamycin* (mTOR), impliqué dans le métabolisme et l'activation des macrophages M2. En fait, les inducteurs de polarisation M2, tels que l'IL-4, signalent par la voie mTOR afin de favoriser l'oxydation des acides gras (FAO) et la phosphorylation oxydative OXPHOS, deux modifications métaboliques essentielles à l'activation alternative des macrophages (Huang et al., 2016). Une étude récente a démontré que la régulation positive de la FAO dans les macrophages de souris hypercholestérolémiques via l'inhibition de miR-33, entraîne la polarisation des macrophages vers un phénotype M2 et réduit l'athérosclérose (Ouimet et al., 2015). Cette étude souligne l'incidence de la reprogrammation métabolique des macrophages sur l'évolution de la maladie.

Dans la DMLA, la couche de cellules photoréceptrices, physiologiquement dépourvue de macrophages, est infiltrée de manière chronique par des macrophages pro-inflammatoires M1 avec leurs exigences particulières en glucose et leur importante production de lactate (Audo et al., 2014, Calippe et al., 2017). À ce jour, on sait peu de choses sur les perturbations métaboliques susceptibles de régner dans la rétine des patients atteints de DMLA et comment elles peuvent influencer la pathogenèse.

Malgré notre compréhension accrue de l'immunométabolisme des macrophages en tant que déterminant important des conditions physiopathologiques dans lesquelles les macrophages sont impliqués, il convient de garder à l'esprit que plusieurs questions doivent encore être explorées et clarifiées. De plus, la distinction des macrophages M1 et M2 entre pro et anti-inflammatoire, respectivement, est une simplification excessive, décrivant également leur métabolisme en tant que glycolytique ou dépendant de la phosphorylation oxydative, ne reflète pas la variété de phénotypes et de profils métaboliques qui peut être obtenue par exposition *in vitro* à différents stimuli ou, plus encore, à des sous-ensembles distincts de macrophages se produisant *in vivo*. Il convient également de noter que la plupart des études sur l'immunométabolisme ont été réalisées sur des modèles murins et que, dans plusieurs cas, le maintien des effets observés chez l'humain reste à être démontré.

2.5. Développement de thérapies contre la DMLA

2.5.1. Traitements de la DMLA néovasculaire

Dans la DMLA néovasculaire, les traitements les plus efficaces à ce jour reposent sur l'inhibition de la protéine angiogénique VEGF produite dans la rétine, connu pour augmenter la

perméabilité vasculaire rétinienne et favorisant la néovascularisation (Shweiki et al., 1992). Le premier médicament anti-VEGF utilisé dans les essais cliniques sur la DMLA néovasculaire était le pegaptanib sodium (Macugen), un aptamère anti-angiogénique qui se lie au VEGF165 ainsi qu'aux autres isoformes plus larges (Gragoudas et al., 2004). Le ranibizumab (Lucentis) est un fragment d'anticorps qui lie également toutes les isoformes du VEGFA, dont l'utilisation est largement répandue pour le traitement de la DMLA néovasculaire (Rosenfeld et al., 2006, Brown et al., 2006). Le bévacizumab (Avastin), est un anticorps monoclonal dirigé contre toutes les isoformes du VEGFA. Il a initialement été approuvé pour le traitement du cancer du côlon métastatique, avant d'être introduit en tant que traitement « *off-label* » pour la DMLA par injection intravitréenne (Rosenfeld et al., 2005). De plus, l'aflibercept (Eylea), une protéine recombinante qui comprend les domaines de liaison aux récepteurs 1 et 2 du VEGF, est capable d'inhiber toutes les isoformes du VEGFA et de VEGFB, avait une efficacité similaire aux effets du ranibizumab chez les patients atteints de DMLA néovasculaire (Waldstein et al., 2016).

Des thérapies géniques impliquant l'expression de protéines anti-angiogéniques par libération de gènes ont été proposées pour la DMLA néovasculaire, afin de réduire la thérapie intravitréenne, avec des essais précliniques réalisés sur des modèles animaux (MacLaren et al., 2016). Les premières données d'études cliniques sur la DMLA néovasculaire chronique suggéraient l'innocuité et l'efficacité de l'injection sous-rétinienne de rAAV.sFLT-1, un vecteur adénovirus recombinant codant pour le récepteur soluble du VEGF 1 (Constable et al., 2017, Rakoczy et al., 2015).

2.5.2. Traitements de la DMLA de type sèche

La DMLA de type sèche ou AG compte pour plus de 90% des cas de DMLA, et est responsable de plus de 20% de cécité légale aux États-Unis (Holz et al., 2014). Actuellement, il n'existe aucun traitement approuvé ou efficace pour prévenir la progression de la maladie et la perte de vision qui en résulte. À ce jour, la seule option préventive contre la DMLA sèche est la formulation AREDS (*Age-Related Eye Disease Study*), qui réduit le risque de progression de la DMLA (Chew et al., 2014). Les études AREDS ont investigué l'effet d'une supplémentation orale avec la formulation d'antioxydants (vitamines C et E, bêta-carotène et zinc) dans la réduction du risque de progression vers la DMLA avancée. Par ailleurs, des données observationnelles suggèrent qu'une augmentation de l'apport alimentaire en lutéine et zéaxanthine (caroténoïdes), ainsi qu'en acides gras polyinsaturés à longue chaîne oméga-3 (acide docosahexaénoïque [DHA] + acide eicosapentaénoïque [EPA]), pourrait réduire davantage ce risque. L'étude a démontré que les suppléments d'antioxydants et micronutriments administrés à des patients atteints de DMLA intermédiaire réduisaient modestement le risque de développer une forme plus avancée de la maladie (Age-Related Eye Disease Study Research, 2001, Age-Related Eye Disease Study 2 Research, 2013).

Différentes stratégies thérapeutiques visant à retarder la progression de la DMLA sèche ont été proposées. On compte notamment les modulateurs du cycle visuel (fenrétinide, ACU-4429 et Emixustat) qui réduisent l'activité métabolique des photorécepteurs et l'accumulation de fluorophores toxiques (A2E) et de lipofuscine; la neuroprotection par différentes molécules dont le *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF), le NT501, le tartrate de brimonidine (agoniste sélectif de la sérotonine 1A), la tandospirone (anticorps anti-amyloïde β); et les traitements

ciblant l'inflammation, plus particulièrement les composants du complément (Zarbin and Rosenfeld, 2010).

À partir des années 2000, de nombreuses études ont révélé la présence des composants du complément dans les drusen, ce qui initia les investigations sur le rôle du complément et de l'inflammation dans la DMLA (Anderson et al., 2002, Hageman et al., 2005, Hageman and Mullins, 1999, Johnson et al., 2001). Plusieurs études d'association pangénomiques ont impliqué la régulation des cascades du complément dans le risque de DMLA. Ces résultats ont permis de mettre en évidence des cibles thérapeutiques potentielles, ce qui a conduit au développement des inhibiteurs de la voie du complément (Nebbio et al., 2019, Wu and Sun, 2019).

2.5.3. Médicaments ciblant des composants spécifiques du complément dans la DMLA

2.5.3.1. Inhibiteurs du composant 3 (C3) du complément

Le C3 est une figure dominante dans la cascade du complément, contrôlant probablement tout le système du complément. Le clivage de C3 par la C3 convertase amorce la convergence des trois voies d'activation vers la phase terminale via une boucle d'amplification, produisant davantage de C3a et de C3b et contribuant à la destruction des cellules (Dobo et al., 2018). Le compstatin est un peptide cyclique de 13 résidus qui se lie sélectivement au C3b et C3c (Mastellos et al., 2015). Un analogue de compstatin, le POT-4 (AL-78898A) de Potentia (maintenant Apellis Pharmaceuticals), a été le premier inhibiteur du complément à être testé dans la DMLA (Leung and Landa, 2013). Après avoir montré une certaine efficacité clinique dans l'essai de phase I, le compstatin se montre moins efficace dans les études de phases II, dû

notamment à l'utilisation d'une dose beaucoup plus réduite dans les essais de phase II que celle de la phase I. Cependant, le compstatin reste toujours utile compte tenu des premiers succès remportés. De nouveaux essais avec une conception et une posologie améliorée devraient être réalisés pour réévaluer son efficacité (Mastellos et al., 2015). APL-2 de Apellis Pharmaceuticals, est un peptide cyclique synthétique conjugué à un polymère de polyéthylène glycol qui se lie spécifiquement à C3 et C3b, bloquant les trois voies d'activation du complément. Dans l'essai clinique de phase II, APL-2 a présenté une réduction impressionnante du taux de croissance des lésions d'AG. Cependant, il a été noté que le groupe de traitement APL-2 présentait un risque plus élevé de développer une DMLA humide. Malgré tout, une étude de phase III a été amorcée et devrait se compléter à la fin de 2022 (Wu and Sun, 2019).

2.5.3.2. Inhibiteurs du composant 5 (C5) du complément

Le C5 est une molécule effectrice qui agit en aval de C3, ce qui en fait une cible plus sûre qui influe moins sur les fonctions d'opsonisation du système du complément (Dolgin, 2017). Une étude préclinique sur un modèle murin a montré le potentiel de blocage du C5a en monothérapie et en association avec des agents anti-VEGF dans la DMLA humide. Cependant, l'inhibition de C5 semble insuffisante pour arrêter la progression de la DMLA sèche précoce ou intermédiaire chez les modèles de souris (Toomey et al., 2018). Eculizumab (Soliris) est le premier anticorps monoclonal humanisé anti-C5 approuvé par la FDA pour le traitement systémique de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne et du syndrome hémolytique et urémique atypique, mis sur le marché en 2007 (Dubois and Cohen, 2009). L'eculizumab bloque

les molécules C5a et C5b, supprimant ainsi les voies en aval qui contribuent à la DMLA. L'eculizumab se lie de manière spécifique à la protéine C5 du complément avec une affinité élevée, inhibant ainsi son clivage en C5a et C5b et empêchant la formation du complexe terminal du complément C5b-9, supprimant ainsi les voies en aval qui contribuent à la DMLA (Yehoshua et al., 2014). Malgré une inhibition marquée de l'activité de C5, aucune amélioration du taux d'élargissement de l'AG n'a été observé dans le groupe de patients recevant l'eculizumab dans l'étude clinique de phase II (Yehoshua et al., 2014). Le LFG316 est un IgG ciblant le C5 et inhibant les voies classique et alternative du complément. Les résultats des premières études indiquaient que le LFG316 pourrait se lier au C5 et empêcher son clivage (Roguska M, 2014). Cependant, aucun résultat n'a été concluant au cours des essais cliniques de phase II.

2.5.3.3. Inhibiteurs du facteur D du complément (CFD)

Le CFD est impliqué dans la voie alternative du système du complément où il clive le facteur B. Il agit comme enzyme limitante, activant la voie alternative et amplifiant la réponse du complément (Katschke et al., 2012). Il est considéré comme une cible de choix pour l'inhibition de la voie alternative, étant donné sa position plutôt en amont de la cascade. Le lampalizumab est le premier anticorps anti-CFD à avoir été développé en tant que traitement potentiel de l'AG secondaire à la DMLA. Après des études de phase I et II prometteuses, où les patients ont eu une réduction de 20% des lésions d'AG, les deux essais cliniques de phase III qui ont suivi ont été interrompus en 2017 en raison de l'incapacité à atteindre l'objectif principal de réduction de lésion d'AG chez les patients traités avec le lampalizumab (Dolgin, 2017).

2.5.3.4. Inhibiteurs du facteur B du complément (CFB)

Le CFB est une sérine protéase active aux premiers stades de la voie alternative du complément. Bien qu'il ne semble pas y avoir d'augmentation significative du CFB dans la DMLA, la variante haplotype H1 de CFB a été identifié comme un facteur de risque de DMLA (Gold et al., 2006). De plus, l'inhibition de CFB influence d'autres facteurs tel que le C3a, qui est une anaphylatoxine puissante qui serait associée à la formation de dépôts basaux sous l'EPR (Fernandez-Godino and Pierce, 2018). ONIS-FB-LRx de Ionis Pharmaceuticals, est un inhibiteur de CFB, développé dans le cadre du traitement de la DMLA. Il affecte la voie alternative en réduisant directement la production de CFB. Durant l'étude clinique de phase I, il a montré une réduction dose-dépendante du taux de CFB allant jusqu'à 50% (Ricklin et al., 2018). L'étude clinique de phase II sera complétée d'ici 2022.

Chapitre 3. Hypothèse et objectifs

Hypothèse de recherche

Les travaux antérieurs dans le laboratoire du Dr Ong et Dre Marleau ont permis de mettre en évidence les effets anti-inflammatoires et anti-athérosclérotiques des ligands du CD36 en favorisant l'efflux de cholestérol des macrophages (Avallone et al., 2006, Bujold et al., 2009, Marleau et al., 2005). De plus, les travaux du Dr Ong et du Dr Chemtob avec le prototype EP80317, ont permis d'observer une réduction significative de l'épaississement de la membrane de Bruch et des dépôts lipidiques dans le modèle de DMLA utilisant les souris déficientes en apolipoprotéine E (apoE^{-/-}), avec une amélioration de la fonction rétinienne suite à un traitement chronique avec ce ligand (Picard et al., 2010). En se basant sur nos études antérieures ainsi que sur les similitudes observées entre la pathologie de l'athérosclérose et de la DMLA (Curcio, 2018, Curcio et al., 2009), nous avons émis l'hypothèse selon laquelle les azapeptides, comme ligands du CD36, auraient des effets protecteurs contre la DMLA en modulant la réponse inflammatoire.

Objectifs

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse ont pour objectif principal d'évaluer le potentiel anti-inflammatoire de l'azapeptide MPE-001, en tant que ligand sélectif du récepteur CD36, et d'élucider son mécanisme d'action en documentant les voies de signalisation impliquées au niveau des phagocytes mononucléés. Pour répondre à cet objectif, les études suivantes ont été effectuées :

1. Étude de l'effet du MPE-001 comme ligand du CD36 dans la modulation de la réponse inflammatoire médiée par l'hétérodimère TLR2/6, avec le CD36 comme corécepteur, et les voies de signalisations impliquées au niveau des macrophages.
2. Étude de l'effet du MPE-001 sur la régulation de l'inflammasome au niveau des macrophages.
3. Étude de l'action du MPE-001 sur le métabolisme et la polarisation des macrophages.

Chapitre 4. Résultats

Publications

Publications à titre de premier ou co-premier auteur

Immunometabolic modulation of retinal inflammation by CD36 ligand. **Mellal K***, Omri S*, Mulumba M, Tahiri H, Fortin C, Dorion MF, Pham H, Garcia Ramos Y, Zhang J, Pundir S, Joyal JS, Bouchard JF, Sennlaub F, Febbraio M, Hardy P, Gravel SP, Marleau S, Lubell WD, Chemtob S, Ong H. *Sci Rep.* 2019 Sep 9;9(1):12903. (inclus dans la thèse)

Azasulfurylpeptide Modulation of CD36-Mediated Inflammation Without Effect on Neovascularization. Turcotte S*, **Mellal K***, Chingle R, Mulumba M, Omri S, Dif-Yaiche L, Chemtob S, Ong H, Lubell WD. *Biomedicines.* 2018 Oct 22;6(4). (non-inclus dans la thèse)

Atheroregressive Potential of the Treatment with a Chimeric Monoclonal Antibody against Sulfated Glycosaminoglycans on Pre-existing Lesions in Apolipoprotein E-Deficient Mice. Brito V*, **Mellal K***, Zoccal KF*, Soto Y, Ménard L, Sarduy R, Faccioli LH, Ong H, Vázquez AM, Marleau S. *Front Pharmacol.* 2017 Nov 1;8:782. (non-inclus dans la thèse)

EP 80317, a CD36 selective ligand, promotes reverse cholesterol transport in apolipoprotein E-deficient mice. Bujold K*, **Mellal K***, Zoccal KF, Rhainds D, Brissette L, Febbraio M, Marleau S, Ong H. *Atherosclerosis.* 2013 Aug;229(2):408-14. (non-inclus dans la thèse)

* Co-premier auteur

Publications à titre de co-auteur

Atheroprotective and atheroregressive potential of azapeptide derivatives of GHRP-6 as selective CD36 ligands in apolipoprotein E-deficient mice. Frégeau G, Sarduy R, Elimama H, Esposito CL, **Mellal K**, Ménard L, Leitão da Graça SD, Proulx C, Zhang J, Febbraio M, Soto Y, Lubell D, Ong H, and Marleau S. *Atherosclerosis*. 2020;307:52-62. (non-inclus dans la thèse)

Potential peptides in atherosclerosis therapy. Marleau S, **Mellal K**, Huynh DN, Ong H. *Front Horm Res*. 2014;43:93-106. (non-inclus dans la thèse)

Induction of anti-anti-idiotypic antibodies against sulfated glycosaminoglycans reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Brito V, **Mellal K**, Portelance SG, Pérez A, Soto Y, deBlois D, Ong H, Marleau S, Vázquez AM. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Dec;32(12):2847-54. (non-inclus dans la thèse)

Immunometabolic modulation of retinal inflammation by CD36 ligand

Article publié dans *Scientific Reports*. 9(1):12903 (2019)

Katia Mellal^{1†}, Samy Omri^{2,3†}, Mukandila Mulumba¹, Houda Tahiri⁵, Carl Fortin¹, Marie-France Dorion¹, Hung Pham¹, Yesica Garcia Ramos⁴, Jinqiang Zhang⁴, Sheetal Pundir⁵, Jean-Sébastien Joyal⁵, Jean-François Bouchard⁶, Florian Sennlaub⁷, Maria Febbraio⁸, Pierre Hardy⁵, Simon-Pierre Gravel¹, Sylvie Marleau¹, William D Lubell⁴, Sylvain Chemtob^{2,5*} and Huy Ong^{1*}

Affiliations:

¹Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, Montreal, Canada; ²Maisonneuve-Rosemont Hospital, Montréal, Canada; ³Mperia Therapeutics, Montréal, Canada; ⁴Department of Chemistry, Université de Montréal, Montreal, Canada; ⁵Departments of Pediatrics, Ophthalmology and Pharmacology, Université de Montréal, Montreal, Canada; ⁶Neuropharmacology Laboratory, School of Optometry, Université de Montréal, Montreal, Canada; ⁷Institut de la Vision, Sorbonne Universités, INSERM, CNRS, Paris, France; ⁸Department of Dentistry, University of Alberta, Edmonton, Canada.

* Corresponding author. Email: sylvain.chemtob@umontreal.ca (S.C.), huy.ong@umontreal.ca (H.O.).

† These authors contributed equally to this work.

Résumé

Dans l'inflammation sous-rétinienne, les phagocytes mononucléés (MP) activés jouent un rôle clé dans la progression des rétinopathies. À l'heure actuelle, peu de choses sont connues sur les mécanismes impliqués dans la perte de photorécepteurs qui conduit à une déficience visuelle. En étudiant les dommages rétiniens induits par le stress photo-oxydant, nous avons observé que le groupe de souris déficientes en CD36 présentait moins d'accumulation de MP sous-rétinienne et une dégénérescence des photorécepteurs atténuée. De plus, le traitement avec un ligand sélectif du CD36, l'azapeptide MPE-001, a réduit l'accumulation de MP activée sous-rétiniens chez les souris de type sauvage (WT), en plus de préserver, de façon dépendante du CD36, l'intégrité et la fonction des photorécepteurs tel qu'évaluée par électrorétinographie. L'azapeptide a modulé le transcriptome des MP activée sous-rétiniens en réduisant les marqueurs pro-inflammatoires. Dans les MP isolés, le MPE-001 a induit la dissociation du complexe oligomère CD36-TLR2, diminuant l'activation du NF- κ B et du NLRP3 inflammasome. De plus, le MPE-001 a provoqué un changement métabolique aérobie des MP activés, impliquant une activation du récepteur PPAR- γ , ce qui a atténué l'inflammation. En conséquence, l'inhibition de PPAR- γ a bloqué l'effet cytoprotecteur du MPE-001 sur l'apoptose des photorécepteurs provoquée par les MP activés. En modifiant le métabolisme des MP activés, le MPE-001 a diminué les réponses immunitaires pour atténuer les lésions neuronales dépendantes de l'inflammation, caractéristiques de divers troubles de la rétine menaçant la vision.

Abstract

In subretinal inflammation, activated mononuclear phagocytes (MP) play a key role in the progression of retinopathies. Little is known about the mechanism involved in the loss of photoreceptors leading to vision impairment. Studying retinal damage induced by photo-oxidative stress, we observed that cluster of differentiation 36 (CD36)-deficient mice featured less subretinal MP accumulation and attenuated photoreceptor degeneration. Moreover, treatment with a CD36-selective azapeptide ligand (MPE-001) reduced subretinal activated MP accumulation in wild type mice and preserved photoreceptor layers and function as assessed by electroretinography in a CD36-dependent manner. The azapeptide modulated the transcriptome of subretinal activated MP by reducing pro-inflammatory markers. In isolated MP, MPE-001 induced dissociation of the CD36-Toll-like receptor 2 (TLR2) oligomeric complex, decreasing nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome activation. In addition, MPE-001 caused an aerobic metabolic shift in activated MP, involving peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) activation, which in turn mitigated inflammation. Accordingly, PPAR- γ inhibition blocked the cytoprotective effect of MPE-001 on photoreceptor apoptosis elicited by activated MP. By altering activated MP metabolism, MPE-001 decreased immune responses to alleviate subsequent inflammation-dependent neuronal injury characteristic of various vision-threatening retinal disorders.

Introduction

Inflammation is a critical component in degenerative retinal diseases independent of underlying pathological mechanism (Xu et al., 2009). Influx, activation and accumulation of mononuclear phagocytes (MP; that comprise monocytes, microglia and macrophages (Chow et al., 2011)) into the subretinal space cause collateral tissue damage (Xu et al., 2009, Guillonneau et al., 2017). The ensuing inflammatory cascade is integral for the ultimate death of photoreceptor cells in progressive vision-threatening maladies, including retinitis pigmentosa, diabetic retinopathy and age-related macular degeneration (Dong et al., 2017, Whitcup et al., 2013). In this context, injured tissues produce damage-associated molecular patterns (DAMPs) that activate Toll-like receptors (TLRs) (Di Gioia and Zanoni, 2015, van Bergenhenegouwen et al., 2013) upregulating and sustaining release of pro-inflammatory cytokines and chemokines, which propagate into chronic inflammation resulting in degeneration of retinal pigment epithelium (RPE) and photoreceptors (Feng et al., 2017).

On the membrane surface of MP, the cluster of differentiation 36 receptor (CD36) is co-expressed with the TLR2/6 heterodimer assembly (Reis et al., 2014). A scavenger of various debris, including oxidized lipids (Huh et al., 1996, Coraci et al., 2002, Feng et al., 2017), CD36 has been shown to sustain TLR2/6 signaling elicited by diacylglycerols (Beutler et al., 2006), and to regulate TLR2-dependent macrophage driven inflammation (Abe et al., 2010). Following the canonical pathway of activation of TLR2/6-CD36 complex, MyD88 recruits the kinase IRAK4 that binds and phosphorylates IRAK1. The ensued formation of IRAK1 - TNF receptor associated factor 6 (TRAF6) complex incorporates transforming growth factor beta activated kinase (TAK1) (Kawai and Akira, 2010). TAK1 in turn activates NF- κ B by IKK complex

phosphorylation, as well as mitogen-activated protein kinases (MAPKs) P38, and c-Jun N-terminal kinase (c-JNK), promoting activation of various transcription factors, including AP-1, and cytokine production (Smolinska et al., 2011, Kawai and Akira, 2010). Notably, azapeptide analogs of growth hormone releasing peptide-6 (GHRP-6, H-His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-OH) designed by us, exhibited *in vitro* low micro-molar CD36 binding affinity, possessed high selectivity, and inhibited nitric oxide produced by MP stimulated with the TLR2-agonist fibroblast-stimulating lipopeptide (R-FSL-1) (Zhang et al., 2017). Towards the development of therapy to mitigate degenerative retinal diseases, the role of CD36 has now been elucidated using pharmacologic and genetic approaches. In a mouse model of subretinal inflammation, the CD36 azapeptide modulator [azaY⁴]-GHRP-6 (MPE-001) has been evaluated and found to be a novel therapeutic prototype having a unique mode of action that curtails photoreceptor damage induced by relevant photo-oxidative stress. MPE-001 reduced markedly MP infiltration and the inflammatory cytokine profile in the subretinal space and preserved photoreceptor structural integrity and function. The effects of MPE-001 were CD36-dependent. In an unprecedented manner, MPE-001 modulated the inflammatory profile of MP by attenuating the inflammasome cascade. Since MP phenotype is regulated by cellular metabolism (Saha et al., 2017), we tested and found that MPE-001 elicited a shift in metabolic pathways of M1-type MP from a glycolytic state to one favoring oxygen consumption, which in turn altered NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) expression. Thus, immune-metabolic modulation by CD36 ligands, such as MPE-001, offers a promising new means for curbing chronic inflammation characteristic of degenerative eye diseases.

Results

MPE-001 represses subretinal inflammation and protects against photoreceptor degeneration *in vivo*

The effect of CD36 azapeptide ligand MPE-001 on subretinal inflammation was investigated by analysis of subretinal MP infiltration using IBA-1 staining of RPE flat mounts from blue light-challenged C57BL/6J wild type (WT, CD36^{+/+}) and CD36^{-/-} mice (n = 6 and 3 mice / group respectively) (Fig. 1A, B). A significant increase in subretinal IBA-1+ cells was observed in the blue light-challenged CD36^{+/+} mice relative to their non-illuminated counterparts (Fig. 1A, C). IBA-1+ cell accumulation in the subretina was significantly decreased by 60% in blue light-challenged CD36^{+/+} mice treated with MPE-001 compared to vehicle-treated CD36^{+/+} mice (Fig. 1A, C). IBA-1+ cell accumulation in MPE-001 treated mice was equal to values observed in CD36^{-/-} mice (Fig. 1A - C). Furthermore, MPE-001 was ineffective in CD36^{-/-} mice, suggesting that subretinal inflammation induced by blue light exposure and mitigated by MPE-001 was CD36-dependent.

The relationship between subretinal inflammation and photoreceptor degeneration is well established (Gupta et al., 2003, Chinnery et al., 2012, Sennlaub et al., 2013, Eandi et al., 2016). The inhibitory effect of MPE-001 on MP infiltration into the subretinal space motivated further study of the capacity of the azapeptide CD36 ligand MPE-001 to preserve photoreceptor integrity in blue light-challenged mice. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) (de Raad et al., 1996, Bringmann and Reichenbach, 2001) is upregulated in response to MP activation, and can be used to index retinal degeneration. GFAP was mainly expressed in inner retinal layers in both

CD36^{+/+} and CD36^{-/-} mice (Fig. 1D, E). Blue light exposure of WT mice caused photoreceptor degeneration evidenced by a thinner outer nuclear layer (ONL), a corresponding decrease in their function substantiated by lower a-wave and dependent b-wave electroretinographic amplitudes, as well as an increase in GFAP expression throughout the retina (Fig. 1D - M). MPE-001 administered to blue light-challenged WT mice preserved photoreceptor ONL thickness, restored a- and b-wave amplitudes, and reduced GFAP expression to values comparable to those seen in non-illuminated CD36^{+/+} mice. Hence, blue light-induced photoreceptor injury involved CD36.

Deficiency in the CX3C chemokine receptor 1 (CX3CR1) has been associated with subretinal MP accumulation with aging and exposure to light (Gupta et al., 2003, Chinnery et al., 2012, Sennlaub et al., 2013, Levy et al., 2015, Combadiere et al., 2007). Employing CX3CR1-deficient mice (CX3CR1^{-/-}) as a model of subretinal inflammation, exposure of CX3CR1^{gfp/gfp}/CD36^{+/+} to blue light increased the abundance of IBA-1+ cells in the subretinal space and reduced ONL thickness relative to CX3CR1^{gfp/gfp}/CD36^{-/-} mice illuminated with blue light (n = 3-4 mice / group), paralleling the effects of blue light on CD36^{+/+} and CD36^{-/-} mice (Fig. S1 A, B). Treatment of blue light-exposed untreated CX3CR1^{gfp/gfp}/CD36^{+/+} mice with MPE-001 reduced significantly (58%) subretinal MP and microglia infiltration, diminished GFAP expression and preserved ONL thickness (Fig. S1A, B). In contrast, the influence of blue light on GFAP expression and ONL degeneration were unaffected by MPE-001 treatment in CX3CR1^{gfp/gfp}/CD36^{-/-} mice (Fig. S1B), illustrating further the role of CD36 in deleterious retinal inflammation and damage, and the pharmacologic efficacy of MPE-001.

MPE-001 downregulates inflammatory markers of activated MPs and reduces photoreceptor degeneration *in vivo*

Laser capture microdissection was used to determine mRNA levels of inflammatory markers in the area between the ONL and the RPE (Fig. 2A, area delineated by green line) in mice treated with MPE-001 compared with vehicle-treated control mice (n = 3-4 mice / group). MPE-001-treated mice exhibited significant reductions in the expression of iNOS, IL-12 and IBA-1 mRNA respectively by 65, 56 and 47%; whereas anti-inflammatory IL-10 mRNA was augmented by MPE-001 (Fig. 2A). Correspondingly, RPE flat mounts from animals treated with MPE-001 showed respectively 62% and 45% decreased numbers of iNOS⁺/F4/80⁺- and IL-12⁺/IBA-1⁺-stained cells compared to those from control mice (Fig. 2B, C, E). In addition, MPE-001 elicited increased expression of CD206, a surface marker of anti-inflammatory (M2-like) MPs (Fig. 2D, E). Consistent with a decrease in pro-inflammatory MPs and ensued preservation of the ONL structure (Fig. 1F) (Cruz-Guilloty et al., 2013, Scholz et al., 2015), MPE-001 prevented against the degeneration of cone photoreceptor segments and the mislocalization of the S-opsin (Fig. 2F, G); it was also reducing apoptosis in the photoreceptors in WT mice exposed to blue light-illumination (Fig. 2H, I).

MPE-001 diminishes TLR2-mediated proinflammatory cytokine and chemokine release *in vitro* and protects against photoreceptor degeneration

Toll-like receptors (TLR) in association with cofactor proteins play crucial roles in innate immunity that trigger inflammatory responses (Motoi et al., 2014). The CD36, as co-receptor of TLR2/6 heterodimer, enhanced the TLR2-signaling pathway in the presence of its agonists, such

as the diacylated lipoproteins LTA and R-FSL1 (Hoebe et al., 2005, Jimenez-Dalmaroni et al., 2009, Triantafilou et al., 2006). Upon stimulation by specific ligands, the TLR2/6-CD36 complex triggers the activation of NF κ B and MAPKs (P38 and JNK) which elicit an inflammatory response in MPs (Hoebe et al., 2005, Abe et al., 2010). On the other hand, TLR2/1 heterodimer can be activated independently of the co-receptor CD36 (Hoebe et al., 2005). The role of CD36 in the mitigating effects of MPE-001 on TLR2-mediated inflammation was investigated in purified systemic MPs (peritoneal) from CD36^{+/+} and CD36^{-/-} mice, which were stimulated with IFN γ to induce a proinflammatory phenotype. The selectivity of MPE-001 to the CD36-TLR2 signaling pathway was demonstrated using a set of selective TLR agonists (Hoebe et al., 2005, Jimenez-Dalmaroni et al., 2009, Triantafilou et al., 2006): R-FSL1 and LTA for TLR2/6 (Okusawa et al., 2004, Schwandner et al., 1999), pgLPS for TLR2/4 (Darveau et al., 2004), PAM3CSK4 for TLR2/1 (Ozinsky et al., 2000), and LPS for TLR4 (Re and Strominger, 2003). Proinflammatory cytokines and chemokines were assayed by ELISA in the supernatant of WT macrophages after 4 h of stimulation by TLR agonists (n = 3-4 / group). Increased secretion of tumor necrosis factor- α (TNF α), interleukin-6 (IL-6), C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) and IL-12 induced by R-FSL1, LTA and pgLPS was attenuated by MPE-001 (Fig. 3A - D, Table S1). MPs from CD36^{-/-} mice were less responsive to TLR2/6 stimulants and unresponsive to MPE-001 (Fig. 3E). MPE-001 was ineffective on inflammatory factor secretion elicited by PAM3CSK4 and LPS (Fig. 3A - D). The efficacy of MPE-001 on R-FSL1 inflammatory cytokine secretion in MPs from WT mice was time and dose-dependent (Fig. 3F - J). Similar effects of MPE-001 on R-FSL-1-induced cytokine secretion were also observed in human monocytes (Fig. S2A - C). Hence, upon its binding to the co-receptor CD36, MPE-001 decreased proinflammatory cytokines and chemokine release elicited by TLR2 specific agonists.

These data showed for the first time that MPE-001 can modulate TLR2-mediated inflammation by acting on its co-receptor CD36.

Inflammation-associated photoreceptor loss is in part due to activated MPs (that co-express TLR2 and CD36) recruitment into the subretinal space (Ng and Streilein, 2001, Zeiss and Johnson, 2004, Zhang et al., 2005, Sennlaub et al., 2013). To test *ex vivo* this mechanism, we induced a proinflammatory phenotype in ‘naïve’ murine bone marrow-derived MPs (BMDM) by stimulation with IFN γ and the TLR2 agonist R-FSL1. R-FSL1-stimulated and unstimulated BMDM were incubated facing the photoreceptor layers of neuroretinal explants (Fig. 3K). The extent of photoreceptor apoptosis was quantified by measuring TUNEL-positive cells per section (n = 3-4 / group). Compared to photoreceptor layers exposed to unstimulated BMDM, photoreceptor layers exposed to R-FSL1-stimulated BMDM exhibited significant apoptosis (Fig. 3L), the latter of which was blocked by pretreatment of neuroretinal explants with MPE-001 (Fig. 3L).

MPE-001 interfered with TLR2-signaling by disrupting TLR2-CD36 interaction

Colocalisation of TLR2-CD36 was observed on subretinal MPs of blue light-exposed WT mice (Fig. 4A, B). Correspondingly, R-FSL1-induced colocalization of TLR2-CD36, and TLR2/TLR6 was also found in lipid rafts in peritoneal MPs in a MyD88-associated manner (Fig. S3D, E). Using FRET, we explored further the effects of MPE-001 on the CD36/TLR2 interaction. In both systemic (peritoneal) (Fig. 4C) and RAW MPs (Fig. S3A), TLR2 and CD36 were labeled respectively with the fluorescence donor Cy3 and acceptor Cy5. The effect of

MPE-001 was studied by measuring energy transfer after photobleaching (n = 3-4 independent experiments). An increase of (fluorescent) energy transfer efficiency indicated a rapid association between CD36 and TLR2 on the membranes of both systemic and RAW MPS after stimulation with R-FSL1 (white arrow). MPE-001 attenuated R-FSL1-induced energy transfer efficiency between Cy3 and Cy5 in both types of MPs (Fig. 4D and Fig. S3B), indicative of disrupted physical interaction between CD36 and TLR2. MPE-001-altered CD36/TLR2 interaction interfered with downstream signaling, as supported by decreased phosphorylation of IRAK4, IKK $\alpha\beta$, P65 NF- κ B, JNK and p38 using Western blot (Fig. 4E and Fig. S3C). The effect of MPE-001 on the key transcription factor P65 NF- κ B has been validated by quantitative ELISA-based assay (Fig. 4F) (n = 3 / group). However, MPE-001 had no effect on downstream signaling of CD36^{-/-} MPs stimulated with R-FSL1 (Fig. 4E, F and Fig. S3C). CD36-dependent phagocytosis was also unaffected by MPE-001 (Fig. S4).

MPE-001 decreases NLRP3 inflammasome

The intracellular nucleation of CD36 ligands has been reported to trigger inflammasome activation (Sheedy et al., 2013). We investigated next the ability of MPE-001 to mitigate CD36-dependent TLR2/6 stimulation of the inflammasome pathway. In IFN γ -primed peritoneal macrophages, induced IL-1 β secretion on stimulation of TLR2/6 with R-FSL1 (n = 3-4 / group) was associated with increased expression of NLRP3, pro-caspase1 and caspase1, all of which were attenuated by MPE-001 (Fig. 5A - F, Table S2), underscoring the critical photoreceptor cytotoxic effects of IL-1 β as reported (Hu et al., 2015). The role of inflammasome-generated IL-1 β in inducing photoreceptor cytotoxicity was again studied on retinal explants incubated

with conditioned media of R-FSL1-stimulated and unstimulated BMDM (n = 3 / group) (Fig. 5G). Conditioned media from these R-FSL1-stimulated MPs induced an increase in apoptotic cell number in the photoreceptor layer, which was attenuated by anti-IL-1 β antibody as well as by MPE-001 (Fig. 5 G, H).

The effect of the CD36 modulator MPE-001 on the NLRP3-inflammasome was further studied *in vivo* on WT mice exposed to blue light (n = 3 / group). MPE-001 suppressed blue light-induced increased expression of NLRP3, cleaved-caspase-1 and pro-IL-1 β (Fig. 5I - M). Confocal microscopic analysis indicated colocalization of sub-retinal F4/80⁺ MPs, caspase-1 and IL-1 β in illuminated tissues (Fig. 5N, Suppl. Fig. S5). MP activation was attenuated by MPE-001 (Fig. 5N), consistent with its other anti-inflammatory effects (Figs. 1-3).

Aerobic metabolic shift by MPE-001 contributes to attenuate pro-inflammatory MP activation

To determine if the anti-inflammatory CD36-dependent mechanism of action of MPE-001 influenced MP polarization, experiments were performed employing undifferentiated and differentiated BMDM (n = 3-5 / group). BMDM were polarized into classically activated pro-inflammatory (M1-differentiated BMDM) and anti-inflammatory M2 phenotype (Mills et al., 2000). MPE-001 did not alter the expression of either the M1 marker CD86 in M0 and M1-differentiated BMDM, nor that of the M2 marker FIZZ1 in the same cell types (Fig. 6A); similar observations were made using peritoneal MPs (Fig. S5A). On the other hand, pro-inflammatory factors, notably iNOS, TNF α , CCL-2, and IL-12, were attenuated by MPE-001 in M1-like differentiated BMDM (Fig. 6A, F), consistent with observations in murine peritoneal macrophages (Fig. 3A - D) and human monocytes (Fig. S2). Considering MPE-001 diminished

expression of pro-inflammatory factors and altered the expression of some MP polarization markers, such as CD206 (Fig. 2D, E), we interrogated whether CD36 could affect MP activity by altering other processes such as metabolism. Notably, CD36 can dampen MP migration (Park et al., 2009, Kannan et al., 2012), and associated inflammatory responses by inducing expression/activation of peroxisome-proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) (Datta et al., 2015, Bassaganya-Riera et al., 2009), which in turn augments β -oxidation (Huss and Kelly, 2004). Treatment with MPE-001 caused M1-differentiated BMDM (but not M0, nor M2-differentiated BMDM) to display an overall increase in *PPAR- γ* , liver X receptor- α (*LxR α*), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α (*PGC-1 α*), signal transducer and activator of transcription-6 (*STAT-6*), CCAAT-enhancer-binding proteins β (*C/EBP β*) and cyclooxygenase-2 (*COX-2*) gene expression (Fig. 6B, gene array presented in Fig. S5D). This induction of PPAR- γ /PGC-1 α , master regulators of mitochondrial biogenesis and function, suggested that MPE-001 could promote oxidative metabolism in MPs. To gain further insights into metabolic changes induced by MPE-001, we studied by GC-MS 29 metabolites extracted from different MP subtypes. Heat map analysis of the metabolites revealed strong differences between M1 and M2 subtypes and a strong shift from M1 to M0-like subtype upon treatment with MPE-001 (Fig. 6C). Indeed, unsupervised PCA analyses using two principal components revealed that, except for control M0 and M0 treated with MPE-001, each MP subtype formed a clearly distinct and non-overlapping group ($n = 3$ / group). Although azapeptide MPE-001 had no effect on M0-subtype MPs metabolism (Fig. 6D), MPE-001 affected profoundly the metabolite profile of M1-subtype MPs, as these cells exhibited a pattern distinct from (untreated) M1-subtype and M2-subtype MPs, suggesting that MPE-001 treatment caused M1-subtype MPs to switch to a M0-like subtype, consistent with the shift in bioenergetic metabolism

as reflected by the changes in mitochondrial respiration (Fig. 6E). Treatment of M1-differentiated BMDM with MPE-001 caused a reduction in glycolysis, indicated by markedly diminished lactate and 0 concentrations (n = 3 / group) (Fig. 6D). This finding was further validated by bioenergetic assay showing that MPE-001 treatment of M1-differentiated BMDM induced a significant increase of OCR/ECAR ratio, an indicator of mitochondrial oxygen consumption rates (OCR) and extracellular acidification rates (ECAR) (Fig. 6E), suggesting a decrease in glycolysis and an increase in mitochondrial oxidative phosphorylation (n = 3-5 / group). Indeed, M1-subtype MPs treated with MPE-001 nearly doubled respiration in support of ATP synthesis compared to untreated M1-subtype MPs which are strongly uncoupled (Fig. 6E). Once again, we confirmed these observations in peritoneal MPs, as MPE-001 increased expression of PPAR- γ , PGC-1 α and oxidative phosphorylation enzymes, indicating its effect on bioenergetic reprogramming in ATP production in M1-differentiated BMDM (Fig. S5B, C). Inhibition of PPAR- γ using the selective inhibitor GW9662 was performed to assess the critical role of MPE-001 modulation of PPAR- γ /PGC-1 α (along with LxR α) on MP bioenergetics (Huss and Kelly, 2004), as well as on the inflammatory profile (Datta et al., 2015, Bassaganya-Riera et al., 2009). PPAR- γ inhibition abrogated MPE-001-induced increase in OCR/ECAR ratio in M1-differentiated BMDM (Fig. 6E) and blocked the corresponding anti-inflammatory actions including suppression of NLRP3 expression by MPE-001 (n = 3-4 / group) (Fig. 6F, G). The combined effects of PPAR- γ inhibition negated the anti-apoptotic activity of MPE-001 on photoreceptors (n = 3 / group) (Fig. 6H). Collectively, the findings illustrate that CD36 modulation by the azapeptide MPE-001 causes both interference of TLR2-mediated inflammation as well as alters MP metabolism which in turn regulates the activity of the common NLRP3 pathway.

Subretinal MPs in inflammatory retinal disease of elderly subjects display similar profiles of CD36 and TLR2 expression to those observed in light-induced inflammation in mice

Human retina from healthy elderly donors and from patients presenting age-related retinal inflammation were stained with IBA-1. Their subretinal myeloid cells were examined in RPE flat mounts (counter staining with rhodamine phalloidin, Fig. S6B, C) and compared to retina from blue light-illuminated mice (Fig. S6A). The immune cell accumulation that was found in retinas of elderly human donors with inflammatory eye disease was comparable to that observed in mice exposed to blue light irradiation (Fig. S6A, C). RPE flat mounts showed expression of CD36 (Fig. S6D) and TLR2 (Fig. S6E) in all subretinal IBA-1⁺ MPs. Atrophy of the RPE correlated with the accumulation of IBA-1⁺ MPs (Fig. S6C magnification) and contrasted with the regular shape of RPE cells from an elderly donor without subretinal inflammation (Fig. S6B magnification).

Discussion

Inflammatory processes play critical roles in the pathogenesis of various retinal diseases (Joly et al., 2009). Although regulation of the complement system has garnered significant contemporary attention for the treatment of degenerative retinal diseases, such as age-related macular degeneration (Anderson et al., 2010), alternative strategies to curb chronic inflammation driven by MPs merit further study to address underlying causes of tissue damage. Neuronal cell death, such as that seen for photoreceptors and retinal ganglion cells, is often the consequence of MP activation through TLR pattern recognition and intracellular signaling to stimulate genes encoding pro-inflammatory cytokines (Reis et al., 2014). TLR2 pro-inflammatory function has been postulated to contribute to RPE apoptosis due to inflammation and oxidant stress (Feng et al., 2017). Considering their important roles in degenerative retinal disease pathology, TLR signaling pathways have emerged as promising targets for mitigating MP-driven inflammation; however, direct TLR inhibition and antagonism have to date had limited success in the clinical setting (Hennessy et al., 2010, Gao et al., 2017). Alternatively, cofactor proteins which associate with TLRs and modulate their activity, represent an unexplored means for disrupting their signaling. Studying modulators of CD36, we have identified the azapeptide ligand MPE-001 that binds this cofactor protein and consequently interferes with TLR2 signaling. Herein, we provide mechanistic insights into the mode of action of MPE-001. After binding to the hydrophobic region of CD36 (Demers et al., 2004, Yang et al., 2017), MPE-001 disrupts the interaction between CD36 and the TLR2/6 heterodimer at the MP cell membrane, and subsequently perturbs downstream signaling by attenuating the relevant photo-oxidative stress-triggered pro-inflammatory cascade. Concomitantly, MPE-001 enhances

the metabolic rate of MPs through PPAR- γ induction which in turn contributes to suppression of inflammation via a common NLRP3 link with the TLR2 pathway; abrogation of inflammation preserves photoreceptor integrity (see schematic diagram in Fig. 7).

The class B scavenger receptor CD36 was first identified as a fatty acid transporter involved in energy metabolism (Chen et al., 2016), and later implicated in TLR-dependent inflammatory response and sterile inflammation featuring inflammasome activation in MPs (Sheedy et al., 2013). The selective azapeptide CD36 ligand MPE-001 has now been shown to modulate activation of the TLR2/6 heterodimer and downstream signaling in MPs, resulting in decreased pro-inflammatory cytokine and chemokine release, and mitigation of the influx, activation and accumulation of MPs into the subretinal space, which is normally devoid of immune cells (Levy et al., 2015). The consequences of MPE-001 treatment include attenuation of inflammation which causes RPE and photoreceptor layer degeneration (Conroy et al., 2008), as demonstrated in blue light-exposed mice *in vivo*. The efficacy of MPE-001 was further substantiated in the CX3CR1-deficient murine model in which the absence of CX3CR1 accelerates tissue damage and retinal degeneration due to increased presence of mononuclear phagocytes in the retina upon exposure to photo-oxidative injury (Sennlaub et al., 2013). By reducing proinflammatory cytokine levels and mononuclear phagocyte recruitment, MPE-001 exhibited cytoprotective effect, prevented photoreceptor loss, and preserved significantly retinal function after exposure to conditions of photo-oxidative stress that mimic chronic inflammation (Suzuki et al., 2012). Moreover, MPE-001 modulated the assembly of cytoplasmic components of the inflammasome and decreased IL-1 β release in subretinal MPs. Although CD36 has been shown to act as non-opsonic phagocytic receptor (Areschoug and Gordon, 2009), and to cooperate with TLR4 in

bacterial endocytosis and phagocytosis by MPs (Cao et al., 2016), MPE-001 interfered selectively with TLR2 stimulation without altering the MP phagocytic function. The manner by which MPE-001 preserved the innate immune response is suggestive of selective biased allosteric modulation of the CD36 interaction with TLR2; these combined observations were consistent in MPs from distinct sources, including in human monocytes.

The role of the CD36-TLR2 interaction in mediating inflammation and ensuing neurotoxicity offers a novel target for therapeutic intervention. The prototype MPE-001 disrupted association between CD36 and TLR2 proteins labeled with fluorescent probes as demonstrated by an observed reduction of the energy transfer caused on binding to the TLR2 agonist R-FSL-1. Consequently, the normal TLR2-signaling pathway was interrupted by MPE-001 as demonstrated by diminished phosphorylation of various downstream signals of TLR2 (Barton and Medzhitov, 2003, Ko et al., 2011).

Cell-specific responses may be mediated by CD36, which interacts with multiple ligands and binding partners: e.g., TLR heterodimers, $\beta 1$ and $\beta 2$ integrins (Yakubenko et al., 2011), and tetraspanins (Huang et al., 2011) to activate NF- κ B, NLRP3, Src/Lyn/Fyn, MAPKs and TGF β signalling pathways. Among multiple CD36 lipid-related ligands, oxidized phospholipids were shown to promote the activation of TLR4/6-dependent innate immune response (Wintergerst et al., 2000, Seimon et al., 2010). Binding of oxidized LDL is associated with the upregulation of inflammatory cytokine expression and inflammasome stimulation to trigger pro IL-1 β and NLRP3 activation (Sheedy et al., 2013). On binding to CD36, MPE-001 decreased IL-1 β release through a modulatory effect on the activation of the TLR2/6-CD36 complex by ligands such as

the diacylpeptide agonist R-FSL1. The modulatory roles of MPE-001 on TLR2-dependent inflammatory processes and sterile inflammation, are both mediated through NLRP3 activation. As a co-receptor of TLR2, CD36 activates AP-1 and triggers gene transcription of proinflammatory cytokines, primarily through activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) and P38 (Cao et al., 2016). Our results indicate that azapeptide MPE-001 decreased AP-1 activation by reducing phosphorylation of JNK and P38 in activated MPs.

MPs in the subretinal space and many other tissues are characterized as resident and invading pathology-triggered inflammatory-types. Analogous to the adaptive immune system in which Th1 and Th2 cells have been characterized, MPs have also been subdivided based on their cytokine production (Mills et al., 2000). MPs activated by DAMPs are pro-inflammatory, anti-angiogenic and potentially neurotoxic. Those stimulated by anti-inflammatory cytokines (e.g. IL-4) display pro-angiogenic properties, promote phagocytosis and are anti-inflammatory. However, the spectrum of MP phenotypes is broader than traditionally specifically-labelled M1 and M2 subtypes (Mantovani et al., 2004, Martinez and Gordon, 2014). The inflammatory profile of MPs is also affected by metabolic rate, such that inhibition of glycolysis or oxidative phosphorylation alters respectively M1 or M2 activation (Vats et al., 2006, Tannahill et al., 2013). CD36 affects metabolic pathways. CD36 modulators enhance influx of oxidized LDL and separately, efflux of cholesterol via ABCA1/G1 transporters through a PPAR- γ -dependent process (Bujold et al., 2009). PPAR- γ repression (antagonism) enhances the glycolytic metabolic pathway (Shu et al., 2016, Guo et al., 2018), stimulates oxidative phosphorylation (Ye et al., 2011), and augments concomitantly anti-inflammatory cytokines to curtail the pro-inflammatory actions of excessive CD36 induction (Reddy, 2008). Our findings *in vitro* and *in*

in vivo concur with these concepts, which reveal that CD36 azapeptide ligands exert anti-inflammatory properties by affecting the TLR2-inflammasome pathway and by shifting metabolic rate to increase oxygen consumption by influencing the PPAR- γ pathway. Accordingly, MPE-001 acts by inhibiting the signaling of CD36 to certain pathways (specifically NF- κ B-inflammasome) and activating others (notably PPAR- γ -PGC1 α), consistent with the biased signaling actions that we have reported for other CD36 ligands (Zhang et al., 2017) (Bujold et al., 2009).

The effects of MPE-001 in decreasing inflammation and IL-1 β release may go beyond MPs (Karlstetter et al., 2015), and extend to other cells expressing CD36 and inflammasome components, such as the RPE and choroidal endothelium (Gao et al., 2015). Notably, in the late stages of human RPE degeneration, NLRP3-inflammasome activation and increased levels of IL-1 β correlate with oxidative stress that leads to lipid peroxidation end products such as 4-hydroxynonenal and carboxyethylpyrrole (Gao et al., 2015). Considering IL-1 β release elicits subretinal accumulation of MPs responsible for cone segment degeneration with loss of high visual acuity (Eandi et al., 2016), the potential for MPE-001 to reduce IL-1 β release may be exploited to prevent cone cell loss in geographic atrophy (Eandi et al., 2016), consistent with observations made herein. In addition, downregulation of expression of pro-inflammatory inducible nitric oxide synthase and IL-12 in subretinal MPs on treatment with MPE-001 *in vivo* was also accompanied by increase in expression of anti-inflammatory IL-10 which may further dampen NLRP3 expression, inflammasome assembly and caspase-8 activation (Gurung et al., 2015).

In summary, we have shown for the first time that MPE-001, a selective azapeptide ligand of CD36, can specifically modulate the CD36-TLR2 interaction and the induction of PPAR- γ /PGC-1 α . Consequently, MPE-001 mitigated inflammation and ensuing neurotoxicity, consequences that are regularly observed in degenerative outer- and sub-retinal disorders. Considering subretinal inflammation with accumulation of activated MPs is prevalent in retina from elderly human patients and mirrored in mice subjected to photo-oxidative stress, modulators such as MPE-001 offer promise as a novel prototype for therapeutic targeting of the CD36 receptor to mitigate chronic MP-driven inflammation in vision-threatening maladies, such as retinitis pigmentosa, diabetic retinopathy and age-related macular degeneration.

Materials and Methods

Antibodies and reagents. Antibodies against phospho-P65 (3033), phospho-JNK (4668), phospho-P38 (9211), phospho-IRAK4 (11927), phospho-IKK α β (2697), total JNK (9252), P38 (9212), total IRAK4 (4363), total IKK β (2678), TLR2 (13744), TLR6 (12717) and MyD88 (4283) were purchased from Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA). Antibodies against total P65 (sc-8008) were from Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX, USA). Antibodies against APC/Cy7 anti-mouse F4/80 (123117) and PerCP/Cy5.5 anti-mouse CD80 (104721) were purchased from Biolegend (San Diego, CA, USA). Antibodies against CD36 (NB400-145) were from Novus Biologicals (Littleton, CO, USA). Antibodies against Flotillin1 (ab41927), IL-1 β (ab9722), CD36 (ab800080), CD36 (ab125116), F4/80 (ab6640), Total OXPHOS Rodent Cocktail (ab110413), PGC-1 α (ab54481) and PPAR- γ (ab209350) were from Abcam (Cambridge, United Kingdom). Antibodies against TLR2 (mab-mtlr2) were from Invivogen (San Diego, CA, USA). Antibodies against TLR2 (orb191498) was from Biorbyt (Cambridge, United Kingdom). Antibodies against IBA-1 (019-19741) were from Wako (Neuss, Germany). Antibodies against PE-IL-12 (C17.8) were from eBiosciences (San Diego, CA). Anti-GFAP (Z0334) was from Dako Agilent (Santa Clara, CA, USA). Rhodamine phalloidin (00027) was from Biotium (Scarborough, Ontario, Canada). Fluorescein peanut agglutinin (PNA) (FL-1071) was from Vector Laboratories (Burlingame, CA, USA). Antibodies against Opsin-blue (AB5047) from Millipore Sigma (Oakville, ON, CA). AlexaFluor 488-, 594-conjugated secondary antibodies were from Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). AlexaFluor 647-conjugated secondary antibodies were from New England Biolabs (Ipswich, CA, USA). 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) and GW9662 (M6191) were from Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, USA). Antibodies against iNOS (PA3-030A) and West Femto Chemiluminescent Substrate (PI-34095) were from Thermo Scientific (Waltham, MA). Horse radish peroxidase (HRP)-conjugated secondary goat anti-rabbit IgG was from Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA). rmIFN γ (575306), rmM-CSF (576406), APC/Cy7 anti-mouse F4/80 (123117), Brilliant Violet 421 anti-mouse I-A/I-E (107631), PE/Cy5 anti-mouse CD86 (105015), PE anti-mouse CD206 (141705) and TruStain fcX (anti-mouse CD16/32) (101319) were from Biolegend (San Diego, CA, USA). Energy donor Cy3 (ab188287) and energy acceptor Cy5 (ab188288) were from Abcam (Cambridge, United Kingdom). Fibroblast-stimulating lipopeptide (R-FSL-1) was from EMC microcollections GmbH (Tübingen, Germany). Lipoteichoic acid (LTA) from *S. aureus*, Pam3CysSerLys4 (Pam3Csk4) and Porphyromonas gingivalis (pgLPS) were from Invivogen. Lipopolysaccharide (LPS) from *E. Coli* (0111:B4) and ATP (FLAAS-1VL) were from Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada). Monocyte Isolation Kit (130-100-629) was from Miltenyi Biotec (Auburn, CA, USA). ELISA kits against TNF α (88-7324), IL-6 (88-7391), CCL2 (88-7391), IL-12 (88-7121) and IL-1 β (88-7013) were from eBiosciences (San Diego, CA, USA). Total/Phospho InstantOne™ ELISA against NF κ B p65/RelA (85-86083) was from eBiosciences (San Diego, CA, USA). Cocktail tablets of protease and phosphatase inhibitors (PI88666, PI88667) and bicinchoninic acid protein assay (PI23223, PI23224) were from Pierce Biotechnology (Waltham, MA, USA). Murine IL-4 (214-14) and IL-13 (210-13) were from Peprotech Inc. (Rocky Hill, NJ, USA).

Human eyes. Eyes from aged humans (77 and 79 years old) were obtained from the Eye Bank of Canada. The human clinical protocol and informed consent forms were approved by the CHU Sainte-Justine ethics committee and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. The eyes were fixed for 4 h with 4% paraformaldehyde (PFA) and dissected in a petri dish containing Hank's Balanced Salt Solution HBSS (Invitrogen). The posterior part of the eye (cornea, lens) were removed and the anterior part was cut in 5 pieces and prepared for flat mounts.

Animals. *Cx3Cr1^{GFP/GFP}* and *CD36^{-/-}Cx3Cr1^{GFP/GFP}* mouse strains on *C57Bl/6J* background were a generous gift of Dr. Florian Sennlaub (Institut de la vision, INSERM, Paris, France) (Combadiere et al., 2003). *CD36^{-/-}* mice and their littermate (*CD36^{+/+}*) controls were generated as previously described (Febbraio et al., 1999). Mice were housed and maintained at local animal facilities under a 12 h:12 h light/dark cycle unless otherwise indicated.

Blue light illumination model. Three to four-month-old mice were exposed to blue LED-light (Yescom USA, Inc.) for 5 days at an illuminance of 6000 lux without previous dark-adaptation. For pupil dilatation, ophthalmic atropine solution 1% (Alcon) was applied to both eyes daily. MPE-001 (289 nmol/kg) was administered *s.c.* at 24 h following blue light exposure for 7 consecutive days. At the end of the blue light exposure period, the mice were maintained on a 12:12 h light: dark cycle for 3 days before being sacrificed.

Isolation and culture of mouse peritoneal macrophages. Unstimulated peritoneal macrophages were harvested by washing the peritoneal cavity of 12-week-old *C57Bl/6J* and *CD36^{-/-}* male mice using 10 mL Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) cell-culture medium. Peritoneal macrophages were purified by depletion of non-target cells using the Monocyte Isolation Kit (Miltenyi, 130-100-629) according to the manufacturer's instructions. Flow cytometry analysis indicated that the cell population contained above 98% F4/80⁺CD80⁺ cells. Purified peritoneal macrophages were plated in DMEM containing 10% Fetal Bovine Serum (FBS) and 20 ng/mL interferon γ (IFN γ) at 37°C in a 5% CO₂-enriched atmosphere. After 48 h, cells were washed twice with PBS to remove IFN γ and FBS. Peritoneal macrophages were then weaned off FBS by incubation for 2 h with DMEM containing 0.2% Bovine Serum Albumin (BSA) prior to stimulation.

Bone marrow-derived MPs (BMDM). BMDM were isolated from femurs and tibias of 8-12-week-old C57BL/6 mice. Bones were cut in half and put into 0.6 mL pierced micro-centrifuge tubes. The tubes were put into 2 mL micro-centrifuge tubes containing 200 μ L DMEM and centrifuged at 6000 g for 2 min. Bone marrows were suspended in DMEM /10% FBS, and cells were cultured for 7 days in the presence of macrophage colony-stimulating factor (mM-CSF; 40 ng/mL) and cultured for 7 days. Flow cytometry analysis indicated that the cell population contained above 98% F4/80⁺CD80⁺ cells. BMDM were then stimulated for 48 h with IL-4 and IL-13 (20 ng/mL) for M2 differentiation, or with R-FSL1 (300 ng/mL) and IFN γ (20 ng/mL) for M1 differentiation. M0 (unstimulated cells), M1 or M2 BMDM were treated or not for 24 h with 10⁻⁷ M MPE-001 and/or with 10⁻⁶ M PPAR- γ inhibitor (GW9662).

Cytokines and intracellular signaling molecules activation assays by ELISA. Peritoneal macrophages (2.5 x 10⁵) purified from WT or CD36^{-/-} mice were seeded on 48-well plates. Peritoneal macrophages were exposed to azapeptide MPE-001 (10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶ M) or vehicle for 0 or 2 h, then stimulated with either 300 ng/mL R-FSL1, 1 μ g/mL LTA (TLR2/6 selective agonists), 100 ng/mL Pam3Csk4 (TLR2/1 selective agonist), 1 μ g/mL pgLPS (TLR2/4 selective agonist) and 100 ng/mL LPS (TLR4/6 selective agonist). Cell supernatants were removed after 2, 4 or 24 h. TNF α , IL-6, CCL2 and IL-12 levels in cell supernatants were assayed with Ready-SET-GO ELISA kits (eBiosciences). All samples were measured in triplicate according to the manufacturer's instructions. Signaling molecule phosphorylation of NF κ B p65/RelA, JNK 1/2 and p38 MAPK were documented on cell lysates after 10, 30 or 360 min of stimulation with R-FSL1, respectively, using InstantOneTM ELISA (eBiosciences). All samples were measured in triplicate according to the manufacturer's instructions.

Western Blotting. For *in-vitro analysis*, proteins were extracted from peritoneal macrophages (3 x 10⁶) seeded in 6-well plates and treated with azapeptide MPE-001 (10⁻⁷ M) or vehicle and stimulated with 300 ng/mL R-FSL1 for 5, 30 or 360 min. For *in-vivo analysis*, proteins were extracted from RPE/choroids from mice exposed or not to blue light and treated with or without MPE-001. Cells and tissues were washed with PBS then lysed for 30 min in ice-cold radioimmunoprecipitation assay (RIPA) buffer (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1% Triton X-100, 0.2% SDS, 50 mM NaF, 2 mM EDTA, pH = 7.4) containing protease and phosphatase inhibitors (Pierce Biotechnology). Cell and tissue lysates were centrifuged at 10,000 g for 30 min at 4°C. The protein concentration of supernatants was determined by the BCA assay (Pierce Biotechnology). Equal amounts (30 μ g) of protein extract were mixed with Laemmli buffer, heated for 5 min at 95°C, separated on 7.5% SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) and transferred electrophoretically to polyvinylidene difluoride (PVDF) membranes (Bio-Rad Laboratories) for immunoblotting. Membranes were incubated for 1 h at room temperature in 150 mM NaCl and 10 mM Tris-HCl, 0.05% Tween 20, pH 7.6 (Tris-buffered saline Tween 20, TBST) containing 5% BSA and washed briefly in TBST followed by overnight incubation at 4°C with primary antibodies (P65, phospho-P65, JNK1/2, phospho-JNK1/2, P38, phospho-

P38, IRAK4, phospho-IRAK4, IKK $\alpha\beta$, phospho-IKK $\alpha\beta$, NLRP3, Caspase-1, IL-1 β or pro-IL-1 β all used at 1:500 vol:vol). Antibodies against P65, JNK1/2, P38 and β -actin were used as internal controls. After the washing steps, blots were incubated for 1 h at room temperature with HRP-conjugated secondary antibodies diluted at 1:5000 vol:vol (Jackson ImmunoResearch). Immunoblotted bands were detected by enhanced chemiluminescence (ECL) with West Femto chemiluminescent substrate (Thermo Scientific) using ChemiDoc MP Imaging System (Bio-Rad Laboratories). Image analysis was performed using ImageLab 5.2 software (Bio-Rad Laboratories).

Colocalization of CD36-TLR2 in lipid rafts. Peritoneal macrophages (10^7) plated in petri dishes (10 mm^2) were stimulated for 5 min with the TLR2 agonist (R-FSL1, 300 ng/ml) or vehicle. Cells were lysed in 1 mL of RIPA buffer (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1% Triton X-100, 50 mM NaF, 2 mM EDTA, pH 7.4) containing protease and phosphatase inhibitors (Pierce Biotechnology) for 1 h on ice. Cell lysates were mixed with an equal volume of 5% sucrose in RIPA and placed at the bottom of a centrifuge tube then subjected to sucrose density gradient. Samples were overlaid with 1 ml of 40%, 1 mL of 30%, 2 mL of 25%, 2 mL of 20%, 2 mL of 15% and 2 mL of 10% sucrose in RIPA, then centrifuged at 100,000 g for 16 h at 4°C. Fractions (1 mL) were gently removed from the top of the gradient and subjected to centrifugal filtration Microcon (Millipore, MRCPRT010) with a membrane Nominal Molecular Weight Limit (NMWL) of 10 kDa for protein concentration and desalting. N-octylglucoside (25 mM) was added to each fraction to solubilize lipid rafts and equivalent portions of each fraction were analyzed by SDS-PAGE and immunoblotted using primary antibodies: anti-CD36 (NB400-145), anti-TLR2, anti-MyD88, anti-Flotillin1 or anti-TLR6, all used at 1:500 vol:vol. After the washing steps, blots were incubated for 1 h at room temperature with HRP-conjugated secondary antibodies (1:5000 vol:vol, Jackson ImmunoResearch). Bands were detected by ECL as described above.

IL-1 β and NLRP3 protein assays. Peritoneal macrophages (1.5×10^6) were seeded in 12-well plates in DMEM/10% FBS overnight. Cells were weaned off FBS for 2 h with DMEM containing 0.2% BSA, then were treated with MPE-001 (10^{-7}M) or vehicle and stimulated with 300 ng/mL R-FSL1 for 4 h. Thirty minutes before the end of stimulation, 10 μM of ATP was added to the cells to stimulate IL-1 β secretion. The supernatants were recovered, and the amount of IL-1 β was measured by ELISA (eBiosciences, 88-7013). NLRP3, pro-Caspase-1, Caspase-1 and pro-IL-1 β protein levels were assessed on cell lysates by western blot analysis.

Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET). Peritoneal macrophages (10^6) or murine RAW 264.7 MPs (4×10^5) were seeded overnight in DMEM containing 10% FBS, on round 15 mm cover glass. Cells were weaned off FBS for 2 h with DMEM containing 0.2% BSA. Cells

were treated with MPE-001 (10^{-7} M) and stimulated with the TLR2 agonist R-FSL1 (300 ng/mL) for 5 min. The TLR2 (Biorbyt, orb191498) and CD36 (Abcam, ab800080) antibodies were respectively coupled to energy donor Cy3 (ab188287) and energy acceptor Cy5 (ab188288) dyes according to manufacturer's instructions, then added to fixed cells in a 1:1 mixture of donor/acceptor labeled antibodies. After the incubation period, cells were washed 3 times with PBS and mounted on microscope slides using antifade reagent (Molecular Probes # P36941). FRET efficiency was assessed using a confocal microscope LSM-700 (Zeiss, Oberkochen, Germany) with the acceptor photobleaching method.

Retinal tissue preparation and immunofluorescence staining. Human and mouse eyes were fixed in 4% PFA and cryoprotected using 30% sucrose. They were embedded in optimal cutting temperature (OCT) compound (Leica, Wetzlar, Germany), frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C . Frozen sections (10 μm thick) were cut in a cryostat (Leica CM 3050S) and mounted on gelatin-coated slides for immunofluorescence analysis. For flat mounts, human and mouse eyes were fixed in 4% PFA for 15 min at room temperature and sectioned at the limbus; the anterior segments were discarded. The posterior eye cups consisting of neuroretina/RPE/choroid/sclera complex were collected and the neuroretina was carefully detached from RPE/choroid/sclera to be prepared separately for experiments.

For immunofluorescence, central retina sections, neuroretina and RPE/choroid flat mounts were treated with PBS solution containing 0.1% Triton x100 and 10% FBS or 5% BSA (blocking buffer) for 45 min. Specimens were incubated overnight at 4°C with primary antibodies diluted in blocking buffer. Immunofluorescence was performed using polyclonal rabbit anti-CD36 (Novus Biologicals, NB400-145), monoclonal mouse anti-CD36 (Abcam, ab125116), monoclonal mouse anti-TLR2 (Invivogen, mab-mtlr2), polyclonal rabbit anti-TLR2 (Biorbyt, orb191498), polyclonal rabbit anti-IBA-1, monoclonal rat anti-F4/80 (Abcam, ab6640), polyclonal rabbit anti-iNOS, rat anti-mouse IL-12 PE, polyclonal rabbit anti-GFAP, polyclonal rabbit anti-Opn antibodies. RPE cells were counter stained with rhodamine phalloidin (Biotium, 00027) and cone photoreceptors were stained with fluorescein peanut agglutinin. The corresponding secondary antibodies: AlexaFluor 488-, 594-conjugated antibodies, and 647-conjugated antibodies were used to reveal the primary antibodies, and sections were counterstained with DAPI. The retinal section analysis was performed exclusively in the central retina and peripheral retina was excluded. Central retina sections and flat mounts were analyzed using confocal microscope (Olympus FluoView 1000, Richmond Hill, ON, Canada). All immunostainings were repeated at least three times and staining that omitted the primary antibody served as negative control.

MP and retinal explant incubation. BMDM were respectively left untreated or co-stimulated with 300 ng/mL R-FSL1 and 20 ng/mL IFN γ for 24 h with or without MPE-001 (10^{-7} M). To study the role of PPAR- γ in the cytoprotective effect of MPE-001 in apoptosis of photoreceptors

induced by activated MPs, PPAR- γ inhibitor (10^{-6} M) (GW9662) was added to BMDM treated with MPE-001 for 24h. Culture media was removed and the BMDM were cultured with fresh DMEM/10% FBS for 24 h, and the supernatant was used as the conditioned media (CM). Neuroretina explants were generated from 12-16-week-old C57BL/6J mice eyes. The neuroretina was carefully detached from RPE/choroid/sclera to be incubated for 18h with the CM or on DMEM with BMDM prepared as mentioned in the previous section. To reveal the role of IL-1 β released in CM-induced photoreceptor apoptosis, the CM was incubated or not with 150 ng/mL of anti-IL-1 β neutralizing antibody (Abcam, 9722) for 15 min at room temperature. After 18 h of stimulation, the explants were carefully removed, and the detection of apoptotic cells was performed using the terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay.

Quantification of activated MPs in the subretinal space. IBA-1-stained RPE cells were counted on flat mounts from control and illuminated mice injected daily with 0.9% NaCl or MPE-001 (289 nmol/kg). Cell numbers were expressed as the mean number of IBA-1-positive cells per mm².

Quantification of photoreceptor layer thickness. At least three central retinal cryosections (with optic nerve) per eye were used to measure the thickness of photoreceptor layers. Twelve measurements per central retinal section were performed at defined distances of the optic nerve. Analysis of layer thickness was performed using Image J software (<http://imagej.nih.gov/>). The area under the curve was integrated using the statistical analysis program (Prism software version 5.01; GraphPad software).

Laser-Capture Microdissection. Eyes were enucleated and immediately embedded in OCT compound and snap frozen in liquid nitrogen. Sagittal sections (20 μ m) were analyzed on MembraneSlide 1.0 PEN nuclease free slides (Zeiss). Central retina sections were laser microdissected with the Zeiss Palm Microbeam laser microscope system Observer Z1 (Zeiss, Oberkochen, Germany). The retinal section analysis was performed exclusively in the central retina and peripheral retina was excluded. Isolated retinal mRNA was transcribed into cDNA for quantitative real-time PCR analysis.

TUNEL assay. Neuro-retinal flat mounts were fixed in 4% PFA for 30 min, washed with PBS, post-fixed in frozen acetic acid for 30 min, and washed with PBS. Neuro-retinal flat mounts and retinal cryosections were permeabilized with 0.1% sodium citrate and 0.1% triton for 2 min on

ice, and washed with PBS. Samples were incubated with the terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) and fluorescein-dUTP using the In-Situ Cell Death Detection Kit (Roche) for 60 min at 37°C in a humid chamber in the dark. The reaction was stopped by washing the slides three times with PBS. Nuclei were counterstained with DAPI. Samples were analyzed using confocal microscopy (Olympus FluoView 1000, Richmond Hill, ON, Canada).

Electroretinography. Electroretinographs (ERGs) were recorded from WT and age-matched CD36^{-/-} mice on an Espion ERG Diagnosys apparatus equipped with a ColorDome Ganzfeld stimulator (Diagnosys LLC, Lowell, MA). Mice were dark adapted overnight and anesthetized intraperitoneally with an aqueous solution containing a mixture of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (20 mg/kg). Pupils were dilated using atropine and phenylephrine. A drop of methylcellulose was placed on the corneal surface to prevent corneal dehydration. Mouse body temperature was maintained at 37°C using a heated water pad.

Flash scotopic ERGs were measured using corneal DTL Plus electrodes (Diagnosys LLC). The electrodes were placed on the surface of the cornea. A needle electrode on the forehead served as the reference electrode. Another needle grounding electrode was inserted into the tail skin. Scotopic responses were simultaneously stimulated from both eyes of the dark-adapted animals at the following increasing light intensities: 0.5, 1.0, 3.0 and 10.0 candela*second/meter² (cd*s/m²). Ten waveform responses were averaged with an inter-stimulus interval (ISI) of 5 seconds (for 0.5 cd*s/m²) or 20 seconds (for 1, 3 and 10 cd*s/m²). All procedures were performed in a dark room under dim red-light illumination. The amplitude and latency of the major ERG components were measured with the Espion software (Diagnosys LLC). ERG results were recorded at the optimal light intensity of 3.0 cd*s/m². The ERG a-wave amplitudes were measured from the baseline to the primary negative peak and the b-wave amplitudes were measured from the trough of the a-wave to the maximum of the fourth positive peak.

Bioenergetics. Polarized M0 or M1-BMDM treated or not with MPE-001, or peritoneal macrophages isolated from MPE-001- or NaCl-treated mice were seeded at 2.5 x 10⁵ in Seahorse plates. MPE-001 was injected directly to the Seahorse plate on M1-BMDM. Real-time analysis of oxygen consumption rate (OCR) and extracellular acidification rate (ECAR) were analyzed with an XF-24 Extracellular Flux Analyzer (Seahorse Bioscience, North Billerica, Billerica, MA, USA). Uncoupled respiration (proton leak) represents fraction of total respiration that is insensitive to oligomycin treatment (1µM). Coupled respiration is calculated by subtracting proton leak reaction from total respiration and represents reaction coupled to ATP synthesis. The contribution of non-mitochondrial respiration is also subtracted in these experiments.

Metabolite quantification by GC-MS. Following treatments, MPs plated in 6-well plates were rinsed 3 times with 9 g/L NaCl solution (4°C), quenched with 1.2 mL dry ice-cooled 80% MeOH, and stored at -80°C. Samples were treated by sonication using the bioruptor (Diagenode, Denville, NJ, USA) for 10 min at the highest setting, with pulses and rests of 30 sec. Samples were cleared by centrifugation, and 800 ng D₂₇-myristic acid in pyridine was added as an internal standard. Supernatants were dried up overnight in a vacuum pump concentrator (Labconco, Kansas City, MO, USA) set at -4°C. Pellets were resuspended in 10 mg/mL methoxyamine hydrochloride/pyridine and subjected to methoximation for 30 min at 70°C and silylation with N-tert-Butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamide (MTBSTFA) + 1% t-BDMCS for 1 h at 70°C. Internal standards and derivatization reagents were from Millipore Sigma (Oakville, ON, CA). Samples (1 µL) were injected in splitless mode in a 5975C GC-MS configured with a DB-5MS+DG (30 m x 259 µm x 0.25 µm) capillary column (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Inlet temperature was set to 280°C and the carrier gas was helium. The flow rate was set to lock the internal standard elution at 17.94 min. The quadrupole was set at 150°C and the GC-MS interface at 285°C. The oven program started at 60°C for 1 min, then temperature was raised by 10°C/min until 320°C. Bake-out was at 320°C (10 min). Data was acquired in scan mode and showed no saturation. All metabolites measured were validated using authentic standards (Sigma Millipore). Data analysis was done using the ChemStation software (Agilent). Relative metabolite concentrations were obtained by correcting the peak areas of quantifying ions with those of D₂₇-myristic acid, and by dividing this ratio with the average protein content associated with paired BMDM plates, thus providing data with arbitrary units. Principal component analyses (PCA) were performed with MetaboAnalyst 4.0 (Chong et al., 2018, Xia et al., 2009) using data obtained from 2 independent experiments, each conducted with 2-3 independent BMDM cultures. Data was uploaded as .csv files in MetaboAnalyst prior to the generation of PCA plots (containing 2 principal components).

Quantitative Real-Time PCR. RNA was run on a 2100 Bioanalyzer using a Nano RNA chip to verify its integrity. Total RNA was treated with DNase and reverse transcribed using the Maxima First Strand cDNA synthesis kit with ds DNase (Thermo Scientific). Gene expression was determined using assays designed with the Universal Probe Library from Roche (www.universalprobelibrary.com), and when no probe was available, a SYBR Green assay was designed. For all qPCR assay, a standard curve was performed to ensure that the efficacy of the assay is between 90% and 110%. For UPL assays, qPCR reactions were performed using Taqman Advanced master mix (Life Technologies), 2 µM of each primer and 1 µM of the corresponding UPL probe. For SYBR green assays, a melt curve was performed to ensure only a single product was amplified, and qPCR reactions were performed using Fast SYBR Green Master Mix (Wisent) and 2 µM of each primer. The Viiia7 qPCR instrument (Life Technologies) was used to detect the amplification level and was programmed with an initial step of 20 sec at 95°C, followed by 40 cycles of 1 sec at 95°C and 20 sec at 60°C. Relative expression ($RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}$) was calculated using the Expression Suite software (Life Technologies), and normalization was done using both glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*Gapdh*) and actin beta (*Actb*).

Flow cytometry. Polarized M1 or M0 BMDM (10^6 /well) were incubated with MPE-001 (10^{-7} M) for 24 h. Cells were then washed twice with cold PBS and incubated for 10 min at 4°C with anti-mouse CD16/32. Cells were then incubated for 30 min at 4°C with anti-mouse APC/Cy7-F4/80 (1:100), BV421-MHCII (1:400) and PE-Cy5-CD86 (1:800) all diluted in FACS buffer. For PE-CD206, intracellular staining was performed using Cytofix/cytoperm buffer for 20 min at 4°C. Cells were washed three times with FACS buffer then fixed in 4% PFA for 15 min on ice and analyzed by flow cytometry using a Canto II flow cytometer (Becton, Dickinson, Franklin Lakes, NJ).

Phagocytosis assay. Phagocytosis was assessed by a modified protocol from that previously described (Babaev et al., 2011). Briefly, microspheres (carboxylate-modified FluoSpheres™, coupled to yellow-green fluorescence, 2 µm, F8827, Invitrogen) were pre-coated with a 1% solution of BSA at pH 9.0 for 30 min at 37°C. Coated albumin microspheres were washed three times with PBS before use in the assay. Polarized M1-BMDM (10^6 /well, in 6-well plates) were incubated with the coated microspheres at a ratio of 50 beads per 1 cell (50/1 ratio) for 90 min at 37°C or at 4°C in a final volume of 2 mL complete media. MPE-001 (10^{-6} M) was added to the cells 30 min before the addition of microspheres. Cells were then washed twice with cold PBS, fixed in 4% PFA for 15 min on ice, and analyzed by flow cytometry using a Canto II flow cytometer (Becton, Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA).

Statistical analysis. Results are expressed as mean ± SEM. Statistical significance was calculated with unpaired Student's *t*-test to compare 2 conditions. Comparisons between groups were performed on normally distributed data using one-way ANOVA and Student-Newman-Keuls (SNK) post-hoc test. Statistical significance was set based on *P value*: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. All experiments were repeated at least 3 times. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 7.0 software.

Study approval. All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Ethics Committee in strict accordance with the Canadian Council on Animal Care guidelines and the guide for the Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health. The human clinical protocol and informed consent forms were approved by the CHU Sainte-Justine ethics committee and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki. A signed informed consent was obtained from all subjects before enrollment in the study.

Acknowledgments

Metabolite measurements were performed at the Rosalind and Morris Goodman Cancer Research Centre Metabolomics Core Facility supported by the Canada Foundation for Innovation, The Dr. John R. and Clara M. Fraser Memorial Trust, the Terry Fox Foundation (TFF Oncometabolism Team Grant 116128), and McGill University. This project was supported by fundings from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (PPP-90157) (H.O. S.C., W.D.L.), the Ministère du Développement Économique, de l'Innovation et de l'Exportation du Gouvernement provincial du Québec (PSVT3-21396) in partnership with Amorchem Holdings Inc. and Mperia Therapeutics Inc (H.O., S.C., W.D.L). K.M. and S.O. was a recipient of a scholarship from the Fond de Recherche du Québec – Santé (FRQ-S).

Competing interests

The author(s) declare no competing interests.

Author contributions

K.M. performed most of the *in vitro* experimental procedures and analyses, contributed to the elaboration of the study and the preparation of the manuscript.

S.O. performed most of the *in vivo* experimental procedures and analyses that include flat mounts studies, ERG recordings, contributed to the elaboration of the *in vivo* studies and the preparation of the manuscript.

M.M. contributed to the development of FRET study.

H.T. contributed to coculture MPs-explants studies.

C.F. performed FACS analysis in the characterization of MPs phenotypes and contributed in phagocytosis study.

M-F.D. was involved in the isolation of monocytes and mRNA extractions.

H.P. was involved in the protocols of western blot and performed ELISA assays.

Y.G.R. was involved in the synthesis of azapeptides analogs that include MPE-001.

J.Z. was involved in the synthesis and development of azapeptides as CD36 ligands.

S.P. performed ERG recordings.

J-S.J. supervised the ERG study.

J-F.B. contributed to the interpretation of ERG records.

F.S. provided transgenic mice (CX3CR1) and their control littermates and critical reading of the manuscript.

M.F. provided transgenic mice (CD36) and critical reading of the manuscript.

P.H. was involved in collecting and processing human retinal tissues.

S-P.G. was involved in the metabolomic study on MPs, contributed to the development of respirometric assays, and provided critical reading of the manuscript.

S.M. was involved in the statistical analysis of the data and critical reading of the manuscript.

W.D.L. was involved in the design of synthetic azapeptide analogs leading to the discovery of MPE-001 as specific ligand of CD36 and contributed to the critical editing of the manuscript.

S.C. was involved in the study design, student supervision and contributed to the writing of the paper.

H.O. was involved in study design, student supervision, supervision of biochemical and molecular biology analysis and contributed to the writing of the paper.

Figures and figure legends

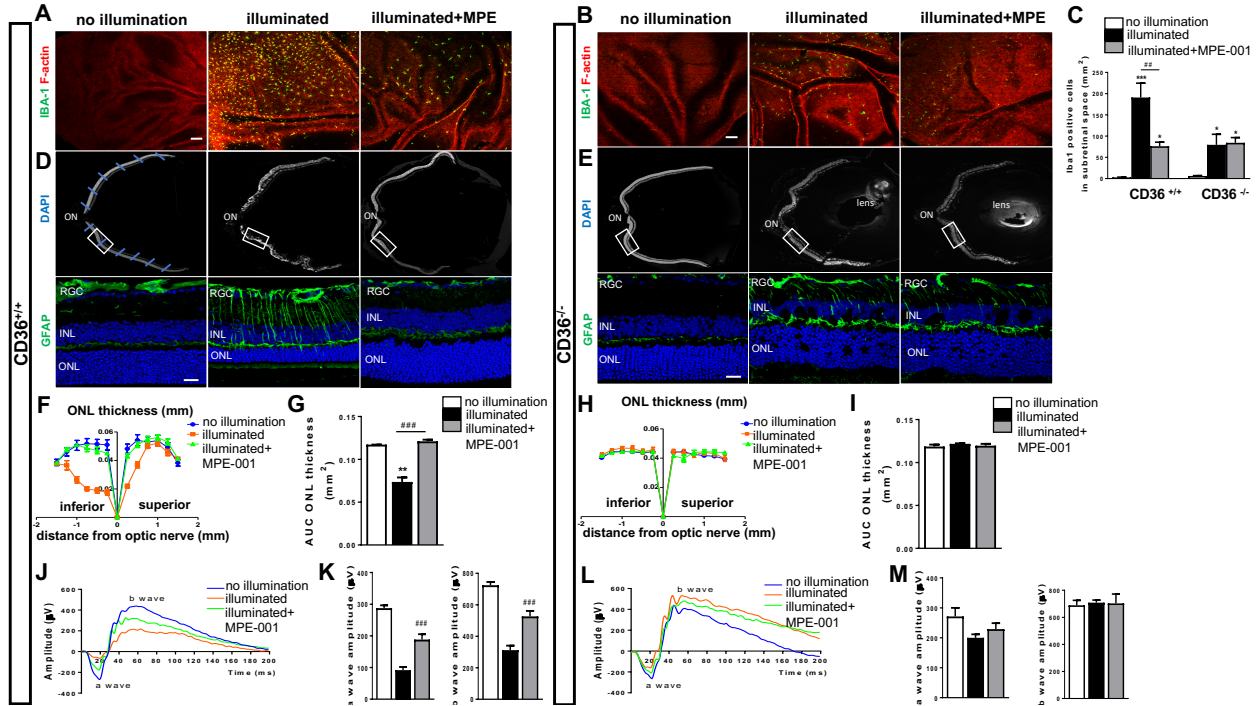


Figure 1. Azapeptide MPE-001 modulates subretinal MP accumulation and protects against photoreceptors degeneration and function. (A-M) CD36^{+/+} (n = 6 mice / group) and CD36^{-/-} mice (n = 3 mice / group) were illuminated for 5 days with 6000 lux blue light and subcutaneously injected with 289 nmol/kg per day of MPE-001, starting at 24 h following blue-light exposure for a total of 7 consecutive days. (A, B) F-actin of RPE cells was counterstained with rhodamine phalloidin (red), showing IBA-1⁺ MPs (green) in the subretinal space of central retina from CD36^{+/+} and CD36^{-/-} mice. Scale bar: 25 μ m. (c) IBA-1⁺ cell quantification in the subretinal space. (D, E) Upper panels show representative cryosections with nuclear staining (DAPI) of central retina with the optic nerve (ON) from CD36^{+/+} or CD36^{-/-} mice. The blue lines indicate the location of measurements of the ONL thickness on each side of the optic nerve (ON). Lower panels show representative images of central retina (12X magnification of white square) stained with GFAP (green). (F, H) Spider graphs of the ONL thickness measured at defined distances of the ON. (G, I) Bar graph showing ONL AUC from CD36^{+/+} (F, G) and CD36^{-/-} mice (H, I). (J-M) Representative scotopic ERG responses from CD36^{+/+} (J) and CD36^{-/-} mice (I). Quantification of a and b wave amplitudes ERG from CD36^{+/+} (K) and CD36^{-/-} mice (M) at a light intensity of 3.0 cd*s/m². In C, G, K, M, one-way ANOVA test with Newman-Keuls post-test for multiple comparison was performed. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ vs no illumination group. ## $P < 0.01$ and ### $P < 0.001$ vs illuminated group. Data are shown as mean \pm S.E.M. ONL: Outer Nuclear Layer, INL: Inner Nuclear Layer, GCL: Ganglion Cell Layer.

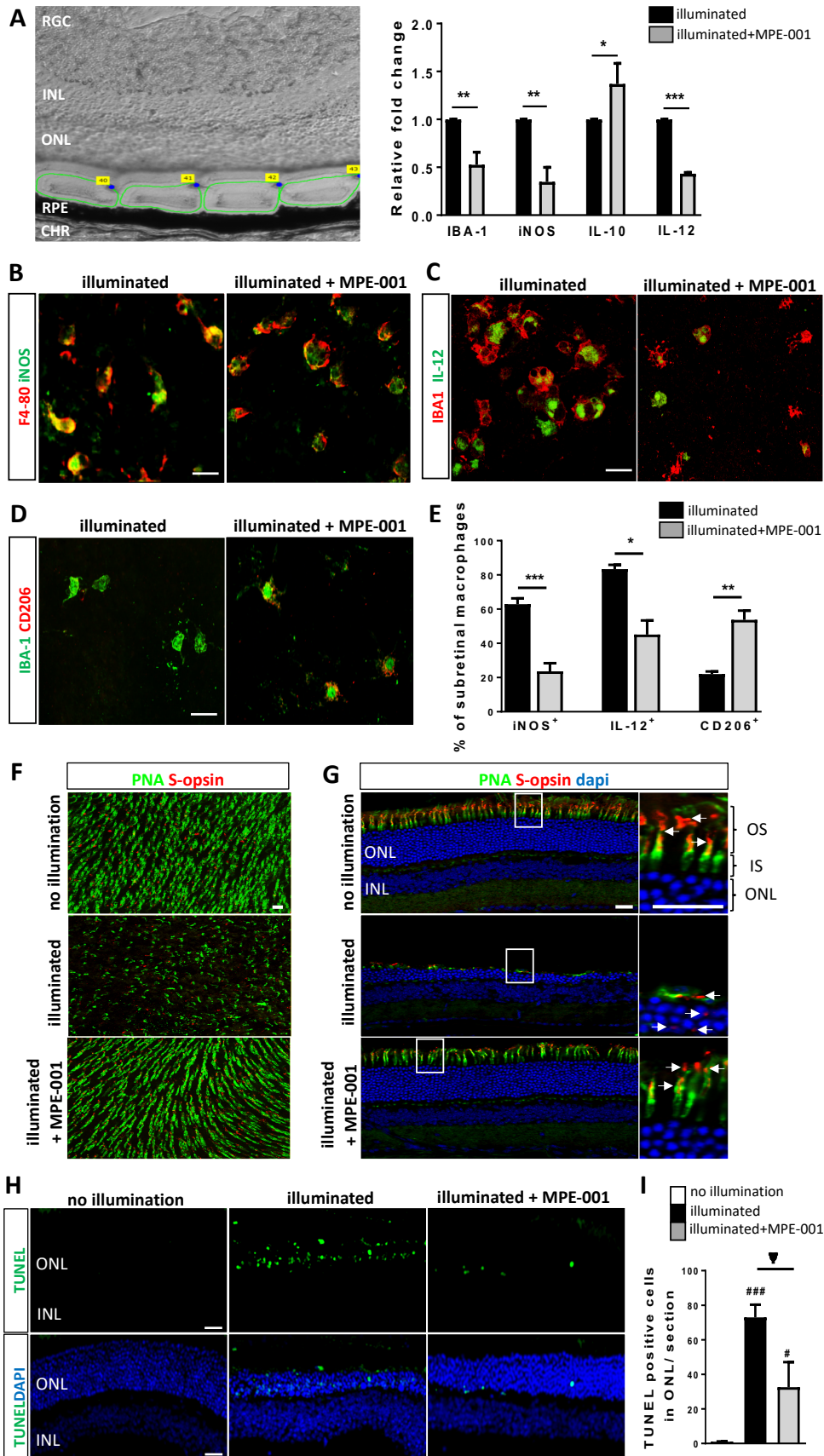


Figure 2. Azapeptide MPE-001 regulates inflammatory profile of subretinal MPs and reduces photoreceptor degeneration. (A-H) CD36^{+/+} mice were illuminated for 5 days with blue light. Subcutaneous injections of 289 nmol/kg MPE-001 were administered after 1 day illumination and pursued daily for 7 consecutive days. **(A)** Upper panel: area of retinal cryosections were microdissected between ONL and RPE and visualized with green circles. Lower panel: bar graphs of IBA-1, iNOS, IL-6, IL-10 and IL-12 mRNA expression levels in microdissected retinal cryosections. Cytokine analysis were normalized to 18s rRNA. **(B)** Subretinal MPs stained for F4/80 (red) and iNOS (green) on RPE flat mounts as assessed by confocal microscopy. **(C)** Subretinal MPs stained with IBA-1 (red) and IL-12 (green) on RPE flat mounts as assessed by confocal microscopy. **(D)** Subretinal MPs stained with anti-IBA-1 (green) and anti-CD206 (red) antibodies on RPE flat mounts as assessed by confocal microscopy. Scale bar: 15 μ m. **(E)** Percentage of subretinal MPs (IBA-1⁺ or F4/80⁺) expressing INOS, IL-12 or CD206. **(F)** Confocal microscopy of neuroretinal flat mounts (photoreceptors side) and **(G)** retina cryosections from illuminated CD36^{+/+} mice treated or not with MPE-001 stained with fluorescein PNA (green) and anti-S-opsin (red) antibody; nuclei were counterstained with dapi (blue). Magnifications of white square show length of cone outer segment with S-opsin distribution. Scale bar: 10 μ m. **(H)** Retinal cryosections stained with TUNEL (green). Nuclear layers were stained with DAPI (blue). Scale bar: 25 μ m. **(I)** Percentage of TUNEL⁺ cells in ONL cryosections of the retina. In **A** and **E** unpaired t-test was performed. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ vs illuminated group (n = 3-4 mice / group). In **I**, one-way ANOVA test with Newman-Keuls for multiple comparison was performed. # $P < 0.05$ and ### $P < 0.001$ vs no illumination group. Ψ $P < 0.05$ vs illuminated group (n = 3-4 mice / group). Data are shown as mean \pm S.E.M. RGC: Retinal Ganglion Cell. INL: Inner Nuclear Layer. ONL: Outer Nuclear Layer. RPE: Retinal Pigment Epithelium. CHR: Choroid.

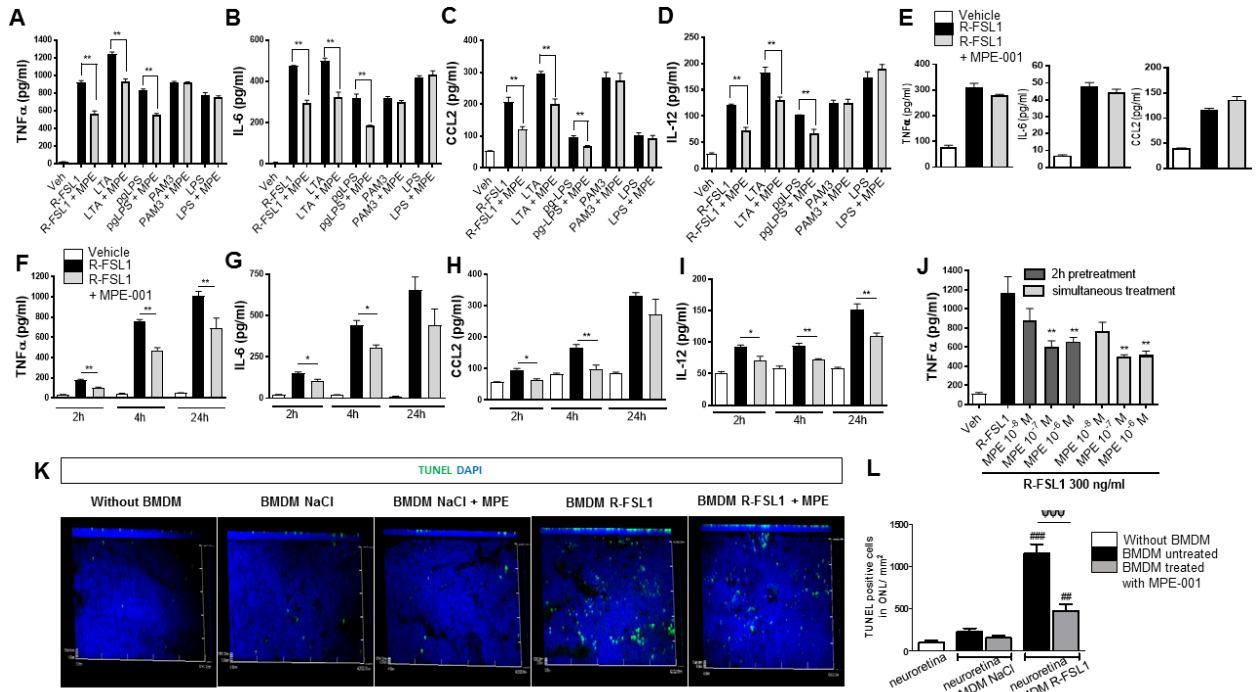


Figure 3. Selective inhibitory effect of CD36 ligand on TLR2-mediated pro-inflammatory cytokine secretion by MPs and ensued mitigation of photoreceptor apoptosis. (A-D) Pro-inflammatory cytokines TNF α , CCL2, IL-6 and IL-12 concentrations in supernatants of WT peritoneal MPs stimulated with selective TLR2/6 heterodimer agonist (300 ng/ml R-FSL1, 1 μ g/ml LTA), TLR2/4 agonist (1 μ g/ml *pg*LPS), TLR2/1 agonist (100 ng/ml PAM3CSK4) and TLR4 agonist (100 ng/ml LPS) for 4 h in the presence of 10^{-7} M MPE-001 or vehicle. (E) TNF α , IL-6 and CCL2 secretion in supernatants of peritoneal MPs from CD36^{-/-} mice treated with 10^{-7} M MPE-001 or vehicle, stimulation with 300 ng/ml R-FSL1 for 4 h. Data in a-e are representative of 5-6 independent experiments (n = 3-4 / group). (F-I) Time-dependent release of TNF α , IL-6, CCL-2 and IL-12 secretion from WT peritoneal MPs treated or not with 10^{-7} M MPE-001 following stimulation with R-FSL1 for 2, 4 and 24 h (n = 4 / group). (J) Dose-dependent inhibition of TNF α secretion in WT peritoneal MPs after 2h pretreatment or simultaneous treatment with MPE-001 (10^{-8} , 10^{-7} and 10^{-6} M) followed by 4h stimulation with 300 ng/ml R-FSL1; (n = 8 / group). (K) Confocal microscopy of flat mounts with z-stack projections of TUNEL (green) stained neuroretinal flat mounts incubated without or with BMDM stimulated with R-FSL1 or vehicle and treated or not with MPE-001. Nuclei are counterstained with DAPI (blue). (L) Numbers of TUNEL positive cells/mm² in the ONL of neuroretinal explants incubated or not with monocytes in the different conditions (n = 3-4 eye / group). In A - I unpaired t-test was performed. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. In J and L one-way ANOVA test with Newman-Keuls for multiple comparison was performed. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. ### $P < 0.01$ and #### $P < 0.001$ vs neuroretina (without BMDM), $\psi\psi\psi$ $P < 0.001$ vs BMDM untreated. Data are shown as mean \pm S.E.M. RPE: Retinal Pigment Epithelium. CHR: Choroid.

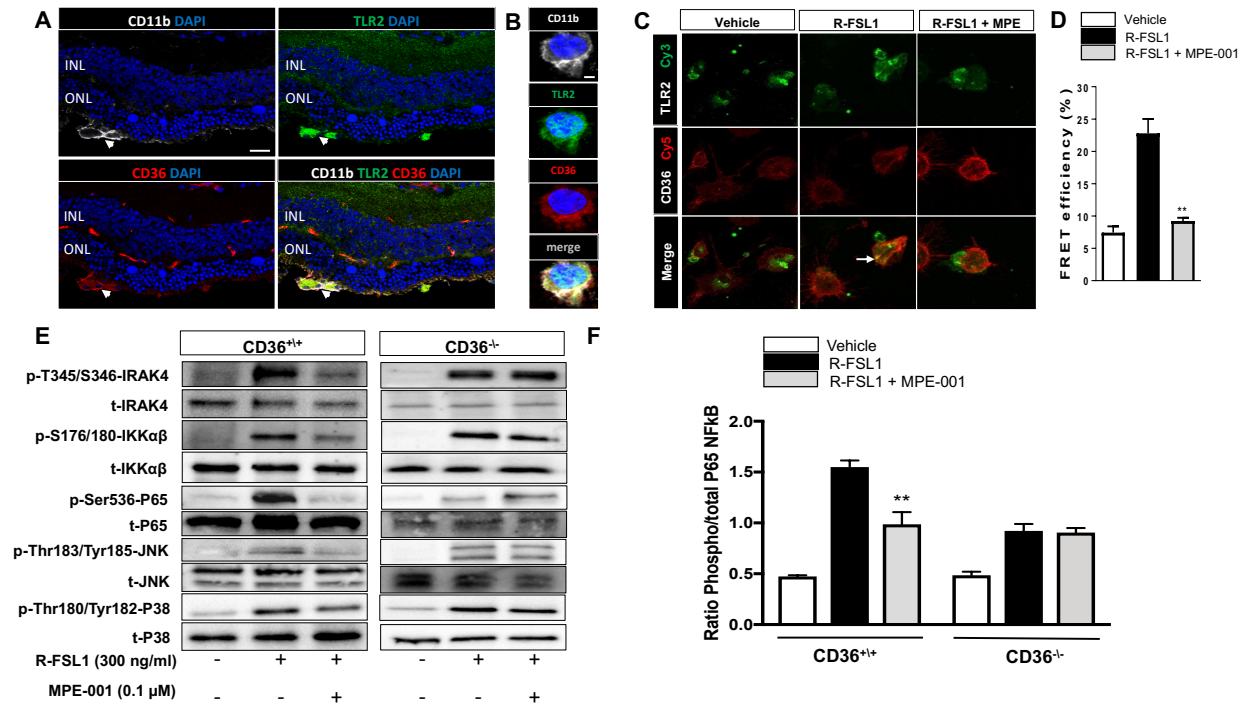


Figure 4. CD36 ligand disrupts TLR2-CD36 interaction modulated TLR2 heterodimer-signaling. (A) Confocal imaging of central retina cryosection stained with CD11b (white), CD36 (red), TLR2 (green), and DAPI (blue) from blue light-challenged WT mice. Scale bar = 25μm. (B) High magnification (3X) shows subretinal CD11b-positive cells (white) with the colocalisation of CD36 (red) and TLR2 (green). Scale bar = 10μm. (C-F) Peritoneal MPs were stimulated with 300 ng/ml R-FSL1 in the presence of 10⁻⁷ M MPE-001 or vehicle. (C) MPE-001 disrupted the interaction between CD36 labeled with Cy5 (red) and TLR2 labeled with Cy3 (green) as assessed by FRET after 5 min stimulation with R-FSL1. (D) Percentage of energy transfer measured using LSM-700 confocal microscope (Zeiss). Data in b-c are representative of 3-4 independent experiments. (E) Phosphorylated and total Western blot density bands of IRAK4, IKKαβ and P65-NFκB, JNK and P38 in peritoneal MPs from CD36^{+/+} and CD36^{-/-} mice stimulated with R-FSL1. (F) Quantification of P65-NFκB following stimulation of CD36^{+/+} and CD36^{-/-} peritoneal MPs with R-FSL1 using ELISA-based assay. Data in C-F are representative of 3 independent experiments (n = 3 / group). In D, F one-way ANOVA test with Newman-Keuls post-test for multiple comparison was performed. * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01 and *** *P* < 0.001 vs R-FSL1. Data are shown as mean ± S.E.M.

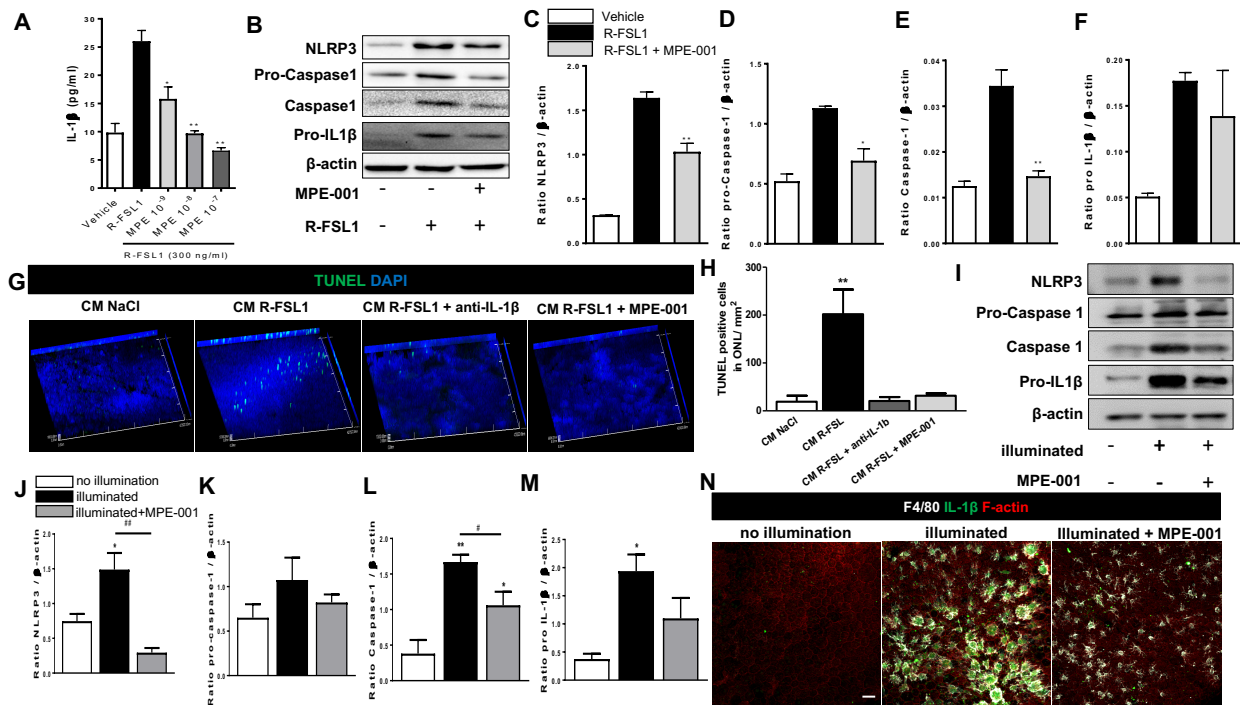


Figure 5. CD36 ligand downregulates inflammasome activation. (A-F) Peritoneal MPs were stimulated for 4 h with 300 ng/ml R-FSL1 and treated simultaneously with 10⁻⁹, 10⁻⁸ and 10⁻⁷ M MPE-001 or vehicle. 10 μM of ATP were added 30 min before the end of stimulation to induce IL-1β secretion. (A) IL-1β levels in supernatants of stimulated and MPE-001-treated peritoneal MPs (n = 4 / group). (B) Western blot band density of inflammasome protein components in stimulated and treated peritoneal MPs. (C-F) Protein expression ratios of NLRP3, pro-Caspase1, Caspase 1 and pro-IL-1β to β-actin. Data are representative of 3 independent experiments (n = 3 / group). (G) Representative neuroretinal flat mounts with z-stack projections of TUNEL (green) of CD36^{+/+} mice (n = 3 mice / group) observed by confocal microscopy. Neuroretina explants were incubated with conditioned media (CM) from BMDM or vehicle. Nuclei were counterstained with DAPI (blue). (H) TUNEL positive cells/mm² in the ONL of neuroretinal explants incubated or not with CM from BMDM. (I-N) CD36^{+/+} mice (n = 3 mice / group) were illuminated for 5 days with blue light and subcutaneously injected with 289 nmol/kg per day of MPE-001 from 24 h after blue light exposure for 7 consecutive days. (I) Western blot band density of inflammasome proteins in retina from WT mice. Image representative of 3 independent experiments. (J-M) Expression ratios of NLRP3, pro-Caspase 1, Caspase 1 and pro-IL-1β/ β-actin in retina from CD36^{+/+} mice. (N) Confocal microscopy of RPE flat mounts from illuminated CD36^{+/+} mice stained with F4/80 (grey) and IL-1β (green); representative image of n = 3-4 / group. F-actin of RPE cells was counterstained with rhodamine phalloidin (red). Scale: 30 μm. In A, C, D, E, F, H, J, K, L, M, one-way ANOVA test with Newman-Keuls for multiple comparison was performed. * *P* < 0.05 and ** *P* < 0.01 vs R-FSL1 or vs CM NaCl. ### *P* < 0.01 and # *P* < 0.05 vs no illumination. Data are shown as mean ± S.E.M.

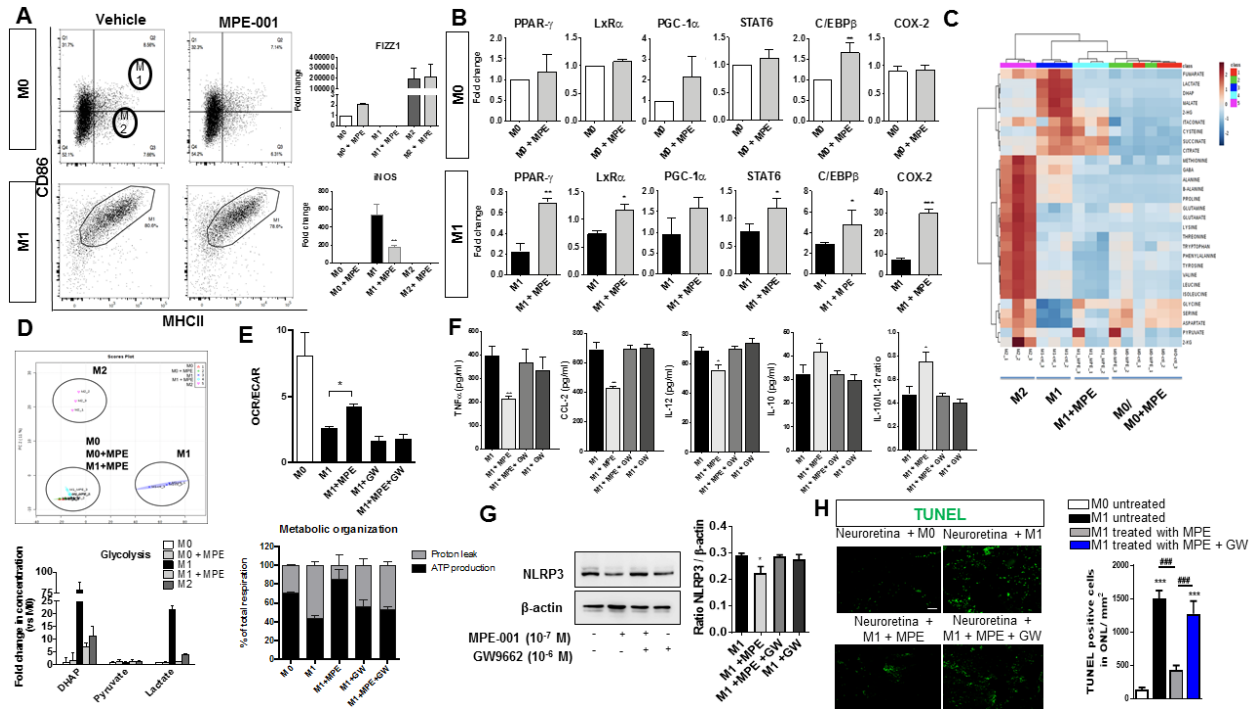


Figure 6. MPE-001 elicits a metabolic shift in M1 MPs. (A-F) BMDM were induced for 48h to M0, M1 or M2 phenotype. BMDM were washed and treated 24 h with 10^{-7} M MPE-001 or vehicle. (A) Phenotypic analysis by flow cytometry of BMDM (M0 and M1) treated or not with MPE-001 using MHCII and CD86 and gene expression quantification of FIZZ1, YM-1 and iNOS. (B) Gene expression in M0 and M1 BMDM treated or not with MPE-001. (C-E) Metabolomic analysis. Heat map (C) and PCA score plot (D) (upper) of 29 metabolites extracted from M0, M1, and M2 BMDM and analyzed by GC-MS. M0 and M1 MPs were either treated with vehicle or MPE-001 (10^{-7} M) for 24 h. In PCA score plot, each point represents an independent MP subtype derived from primary cultures. 95% confidence regions are delimited by colored shapes. Lower: steady state levels of dihydroxyacetone phosphate (DHAP), pyruvate and lactate in M0, M1, and M2 MPs and analyzed by GC-MS. Data are representative of $n = 3$ / group. (E) OCR/ECAR ratio (upper) and % of total respiration of M0 and M1 BMDM treated or not with MPE-001 (10^{-7} M) and PPAR- γ inhibitor GW9662 (10^{-6} M) for 24h. Data are representative of 3 independent experiments ($n = 3-5$ / group). (F) TNF α , CCL2, IL-12 and IL-10 secretion from M1 BMDM treated or not with MPE-001 (10^{-7} M) and PPAR- γ inhibitor GW9662 (10^{-6} M) for 24h; $n = 3-4$ / group. (G) NLRP3 expression in M1 BMDM treated or not with MPE-001 and PPAR- γ inhibitor GW9662 (10^{-6} M) for 24h. Expression ratio of NLRP3/ β -

actin band intensities are presented in histogram ($n = 4 / \text{group}$). **(H)** Confocal microscopy of TUNEL (green) stained neuroretinal flat mounts (photoreceptors side) incubated with BMDM stimulated with R-FSL1 (300 ng/ml) or NaCl and treated or not with MPE-001 (10^{-7} M) and PPAR- γ inhibitor (10^{-6} M) ($n = 3 / \text{group}$). Numbers of TUNEL positive cells/ mm^2 in the ONL of neuroretinal explants incubated or not with macrophages in the different conditions. In **A** unpaired t-test was performed. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. In **B, E, F, G** and **H** one-way ANOVA test with Newman-Keuls for multiple comparison was performed. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. ### $P < 0.001$ vs M1 treated with MPE-001. $n = 4\text{-}6$ eyes / group, data are shown as mean \pm S.E.M. Scale bar: 100 μm .

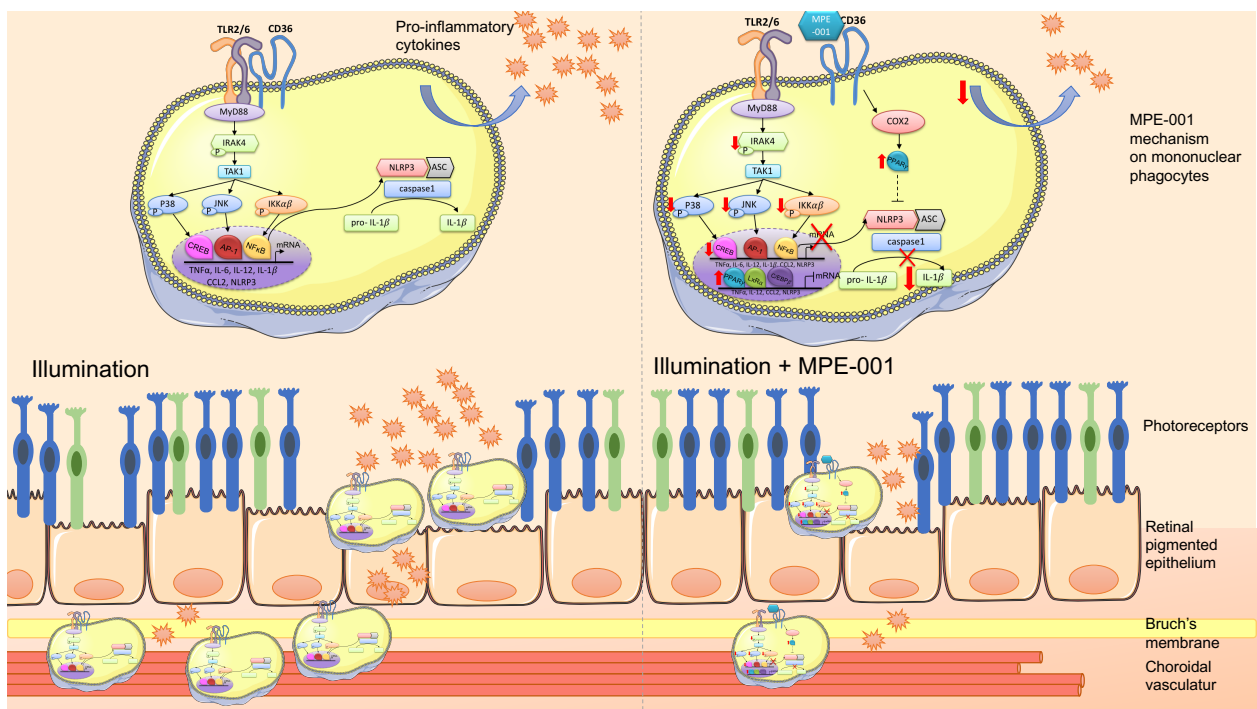


Figure 7. Schematic representation of major mechanisms involved in immuno-metabolic modulation of retinal inflammation by CD36 ligand MPE-001. Retinal inflammation induced by photo-oxidative stress induces subretinal MP accumulation, pro-inflammatory cytokine production and photoreceptor degeneration (left panel). Treatment with MPE-001 diminishes subretinal MP accumulation, reduces pro-inflammatory cytokine production and as a result protects photoreceptors (right panel). MPE-001 exerts these benefits by dissociating the CD36-TLR2/6 complex, attenuating NF- κ B and NLRP3-dependent inflammasome activation, and in addition by increasing COX-2 and PPAR- γ which also mitigates inflammation as it induces an aerobic metabolic shift in MPs (right panel).

References

- 1 Xu, H., Chen, M. & Forrester, J. V. Para-inflammation in the aging retina. *Prog. Retin. Eye Res.* **28**, 348-368, doi:10.1016/j.preteyeres.2009.06.001 (2009).
- 2 Chow, A., Brown, B. D. & Merad, M. Studying the mononuclear phagocyte system in the molecular age. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 788-798, doi:10.1038/nri3087 (2011).
- 3 Guillonneau, X. *et al.* On phagocytes and macular degeneration. *Prog. Retin. Eye Res.* **61**, 98-128, doi:10.1016/j.preteyeres.2017.06.002 (2017).
- 4 Dong, Y. *et al.* Insights from Genetic Model Systems of Retinal Degeneration: Role of Epsins in Retinal Angiogenesis and VEGFR2 Signaling. *J Nat Sci* **3** (2017).
- 5 Whitcup, S. M., Nussenblatt, R. B., Lightman, S. L. & Hollander, D. A. Inflammation in retinal disease. *Int J Inflam* **2013**, 724648, doi:10.1155/2013/724648 (2013).
- 6 Di Gioia, M. & Zanoni, I. Toll-like receptor co-receptors as master regulators of the immune response. *Mol. Immunol.* **63**, 143-152, doi:10.1016/j.molimm.2014.05.008 (2015).
- 7 van Bergenhenegouwen, J. *et al.* TLR2 & Co: a critical analysis of the complex interactions between TLR2 and coreceptors. *J. Leukoc. Biol.* **94**, 885-902, doi:10.1189/jlb.0113003 (2013).
- 8 Feng, L. *et al.* A Proinflammatory Function of Toll-Like Receptor 2 in the Retinal Pigment Epithelium as a Novel Target for Reducing Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration. *Am. J. Pathol.* **187**, 2208-2221, doi:10.1016/j.ajpath.2017.06.015 (2017).
- 9 Reis, A. *et al.* Neuroretinal dysfunction with intact blood-retinal barrier and absent vasculopathy in type 1 diabetes. *Diabetes* **63**, 3926-3937, doi:10.2337/db13-1673 (2014).
- 10 Huh, H. Y., Pearce, S. F., Yesner, L. M., Schindler, J. L. & Silverstein, R. L. Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation: potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood* **87**, 2020-2028 (1996).
- 11 Coraci, I. S. *et al.* CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to beta-amyloid fibrils. *Am. J. Pathol.* **160**, 101-112 (2002).
- 12 Beutler, B. *et al.* Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu. Rev. Immunol.* **24**, 353-389, doi:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090552 (2006).
- 13 Abe, T. *et al.* Key role of CD36 in Toll-like receptor 2 signaling in cerebral ischemia. *Stroke* **41**, 898-904, doi:10.1161/strokeaha.109.572552 (2010).
- 14 Kawai, T. & Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.* **11**, 373-384, doi:10.1038/ni.1863 (2010).
- 15 Smolinska, M. J., Page, T. H., Urbaniak, A. M., Mutch, B. E. & Horwood, N. J. Hck tyrosine kinase regulates TLR4-induced TNF and IL-6 production via AP-1. *J. Immunol.* **187**, 6043-6051, doi:10.4049/jimmunol.1100967 (2011).
- 16 Zhang, J., Mulumba, M., Ong, H. & Lubell, W. D. Diversity-Oriented Synthesis of Cyclic Azapeptides by A(3) -Macrocyclization Provides High-Affinity CD36-Modulating Peptidomimetics. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **56**, 6284-6288, doi:10.1002/anie.201611685 (2017).
- 17 Saha, S., Shalova, I. N. & Biswas, S. K. Metabolic regulation of macrophage phenotype and function. *Immunol. Rev.* **280**, 102-111, doi:10.1111/imr.12603 (2017).

- 18 Gupta, N., Brown, K. E. & Milam, A. H. Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **76**, 463-471 (2003).
- 19 Chinnery, H. R. *et al.* Accumulation of murine subretinal macrophages: effects of age, pigmentation and CX3CR1. *Neurobiol. Aging* **33**, 1769-1776, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.010 (2012).
- 20 Sennlaub, F. *et al.* CCR2(+) monocytes infiltrate atrophic lesions in age-related macular disease and mediate photoreceptor degeneration in experimental subretinal inflammation in Cx3cr1 deficient mice. *EMBO Mol. Med.* **5**, 1775-1793, doi:10.1002/emmm.201302692 (2013).
- 21 Eandi, C. M. *et al.* Subretinal mononuclear phagocytes induce cone segment loss via IL-1beta. *Elife* **5**, doi:10.7554/eLife.16490 (2016).
- 22 de Raad, S., Szczesny, P. J., Munz, K. & Reme, C. E. Light damage in the rat retina: glial fibrillary acidic protein accumulates in Muller cells in correlation with photoreceptor damage. *Ophthalmic Res.* **28**, 99-107 (1996).
- 23 Bringmann, A. & Reichenbach, A. Role of Muller cells in retinal degenerations. *Front. Biosci.* **6**, E72-92 (2001).
- 24 Levy, O. *et al.* Apolipoprotein E promotes subretinal mononuclear phagocyte survival and chronic inflammation in age-related macular degeneration. *EMBO Mol. Med.* **7**, 211-226, doi:10.15252/emmm.201404524 (2015).
- 25 Combadiere, C. *et al.* CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration. *J. Clin. Invest.* **117**, 2920-2928, doi:10.1172/JCI31692 (2007).
- 26 Cruz-Guilloty, F. *et al.* Infiltration of proinflammatory m1 macrophages into the outer retina precedes damage in a mouse model of age-related macular degeneration. *Int J Inflamm* **2013**, 503725, doi:10.1155/2013/503725 (2013).
- 27 Scholz, R. *et al.* Minocycline counter-regulates pro-inflammatory microglia responses in the retina and protects from degeneration. *J. Neuroinflammation* **12**, 209, doi:10.1186/s12974-015-0431-4 (2015).
- 28 Motoi, Y. *et al.* Lipopeptides are signaled by Toll-like receptor 1, 2 and 6 in endolysosomes. *Int. Immunol.* **26**, 563-573, doi:10.1093/intimm/dxu054 (2014).
- 29 Hoebe, K. *et al.* CD36 is a sensor of diacylglycerides. *Nature* **433**, 523-527, doi:10.1038/nature03253 (2005).
- 30 Jimenez-Dalmaroni, M. J. *et al.* Soluble CD36 ectodomain binds negatively charged diacylglycerol ligands and acts as a co-receptor for TLR2. *PLoS One* **4**, e7411, doi:10.1371/journal.pone.0007411 (2009).
- 31 Triantafilou, M. *et al.* Membrane sorting of toll-like receptor (TLR)-2/6 and TLR2/1 heterodimers at the cell surface determines heterotypic associations with CD36 and intracellular targeting. *J. Biol. Chem.* **281**, 31002-31011, doi:10.1074/jbc.M602794200 (2006).
- 32 Okusawa, T. *et al.* Relationship between structures and biological activities of mycoplasmal diacylated lipopeptides and their recognition by toll-like receptors 2 and 6. *Infect. Immun.* **72**, 1657-1665 (2004).
- 33 Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M. & Kirschning, C. J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J. Biol. Chem.* **274**, 17406-17409 (1999).

- 34 Darveau, R. P. *et al.* Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infect. Immun.* **72**, 5041-5051, doi:10.1128/IAI.72.9.5041-5051.2004 (2004).
- 35 Ozinsky, A. *et al.* The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 13766-13771, doi:10.1073/pnas.250476497 (2000).
- 36 Re, F. & Strominger, J. L. Separate functional domains of human MD-2 mediate Toll-like receptor 4-binding and lipopolysaccharide responsiveness. *J. Immunol.* **171**, 5272-5276 (2003).
- 37 Ng, T. F. & Streilein, J. W. Light-induced migration of retinal microglia into the subretinal space. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**, 3301-3310 (2001).
- 38 Zeiss, C. J. & Johnson, E. A. Proliferation of microglia, but not photoreceptors, in the outer nuclear layer of the rd-1 mouse. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **45**, 971-976 (2004).
- 39 Zhang, C. *et al.* Activation of microglia and chemokines in light-induced retinal degeneration. *Mol. Vis.* **11**, 887-895 (2005).
- 40 Sheedy, F. J. *et al.* CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nat. Immunol.* **14**, 812-820, doi:10.1038/ni.2639 (2013).
- 41 Hu, S. J. *et al.* Upregulation of P2RX7 in Cx3cr1-Deficient Mononuclear Phagocytes Leads to Increased Interleukin-1beta Secretion and Photoreceptor Neurodegeneration. *J. Neurosci.* **35**, 6987-6996, doi:10.1523/JNEUROSCI.3955-14.2015 (2015).
- 42 Mills, C. D., Kincaid, K., Alt, J. M., Heilman, M. J. & Hill, A. M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J. Immunol.* **164**, 6166-6173 (2000).
- 43 Park, Y. M., Febbraio, M. & Silverstein, R. L. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. *J. Clin. Invest.* **119**, 136-145, doi:10.1172/JCI35535 (2009).
- 44 Kannan, Y., Sundaram, K., Aluganti Narasimhulu, C., Parthasarathy, S. & Wewers, M. D. Oxidatively modified low density lipoprotein (LDL) inhibits TLR2 and TLR4 cytokine responses in human monocytes but not in macrophages. *J. Biol. Chem.* **287**, 23479-23488, doi:10.1074/jbc.M111.320960 (2012).
- 45 Datta, G. *et al.* Bioenergetic programming of macrophages by the apolipoprotein A-I mimetic peptide 4F. *Biochem. J.* **467**, 517-527, doi:10.1042/BJ20131635 (2015).
- 46 Bassaganya-Riera, J., Misyak, S., Guri, A. J. & Hontecillas, R. PPAR gamma is highly expressed in F4/80(hi) adipose tissue macrophages and dampens adipose-tissue inflammation. *Cell. Immunol.* **258**, 138-146, doi:10.1016/j.cellimm.2009.04.003 (2009).
- 47 Huss, J. M. & Kelly, D. P. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ. Res.* **95**, 568-578, doi:10.1161/01.RES.0000141774.29937.e3 (2004).
- 48 Joly, S. *et al.* Cooperative phagocytes: resident microglia and bone marrow immigrants remove dead photoreceptors in retinal lesions. *Am. J. Pathol.* **174**, 2310-2323, doi:10.2353/ajpath.2009.090023 (2009).
- 49 Anderson, D. H. *et al.* The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog. Retin. Eye Res.* **29**, 95-112, doi:10.1016/j.preteyeres.2009.11.003 (2010).
- 50 Hennessy, E. J., Parker, A. E. & O'Neill, L. A. Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics? *Nat Rev Drug Discov* **9**, 293-307, doi:10.1038/nrd3203 (2010).

- 51 Gao, W., Xiong, Y., Li, Q. & Yang, H. Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Front. Physiol.* **8**, 508, doi:10.3389/fphys.2017.00508 (2017).
- 52 Demers, A. *et al.* Identification of the growth hormone-releasing peptide binding site in CD36: a photoaffinity cross-linking study. *Biochem. J.* **382**, 417-424, doi:10.1042/BJ20040036 (2004).
- 53 Yang, X. *et al.* CD36 in chronic kidney disease: novel insights and therapeutic opportunities. *Nat Rev Nephrol*, doi:10.1038/nrneph.2017.126 (2017).
- 54 Chen, Y. P. *et al.* Palmitic acid interferes with energy metabolism balance by adversely switching the SIRT1-CD36-fatty acid pathway to the PKC zeta-GLUT4-glucose pathway in cardiomyoblasts. *J. Nutr. Biochem.* **31**, 137-149, doi:10.1016/j.jnutbio.2016.01.007 (2016).
- 55 Conroy, H., Marshall, N. A. & Mills, K. H. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene* **27**, 168-180, doi:10.1038/sj.onc.1210910 (2008).
- 56 Suzuki, M. *et al.* Chronic photo-oxidative stress and subsequent MCP-1 activation as causative factors for age-related macular degeneration. *J. Cell Sci.* **125**, 2407-2415, doi:10.1242/jcs.097683 (2012).
- 57 Areschoug, T. & Gordon, S. Scavenger receptors: role in innate immunity and microbial pathogenesis. *Cell. Microbiol.* **11**, 1160-1169, doi:10.1111/j.1462-5822.2009.01326.x (2009).
- 58 Cao, D. *et al.* CD36 regulates lipopolysaccharide-induced signaling pathways and mediates the internalization of Escherichia coli in cooperation with TLR4 in goat mammary gland epithelial cells. *Sci. Rep.* **6**, 23132, doi:10.1038/srep23132 (2016).
- 59 Barton, G. M. & Medzhitov, R. Toll-like receptor signaling pathways. *Science* **300**, 1524-1525, doi:10.1126/science.1085536 (2003).
- 60 Ko, M. K., Saraswathy, S., Parikh, J. G. & Rao, N. A. The role of TLR4 activation in photoreceptor mitochondrial oxidative stress. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 5824-5835, doi:10.1167/iovs.10-6357 (2011).
- 61 Yakubenko, V. P., Bhattacharjee, A., Pluskota, E. & Cathcart, M. K. alphaMbeta(2) integrin activation prevents alternative activation of human and murine macrophages and impedes foam cell formation. *Circ. Res.* **108**, 544-554, doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.231803 (2011).
- 62 Huang, W., Febbraio, M. & Silverstein, R. L. CD9 tetraspanin interacts with CD36 on the surface of macrophages: a possible regulatory influence on uptake of oxidized low density lipoprotein. *PLoS One* **6**, e29092, doi:10.1371/journal.pone.0029092 (2011).
- 63 Wintergerst, E. S., Jelk, J., Rahner, C. & Asmis, R. Apoptosis induced by oxidized low density lipoprotein in human monocyte-derived macrophages involves CD36 and activation of caspase-3. *Eur. J. Biochem.* **267**, 6050-6059 (2000).
- 64 Seimon, T. A. *et al.* Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab.* **12**, 467-482, doi:10.1016/j.cmet.2010.09.010 (2010).
- 65 Mantovani, A. *et al.* The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* **25**, 677-686, doi:10.1016/j.it.2004.09.015 (2004).
- 66 Martinez, F. O. & Gordon, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep* **6**, 13, doi:10.12703/P6-13 (2014).

- 67 Vats, D. *et al.* Oxidative metabolism and PGC-1beta attenuate macrophage-mediated inflammation. *Cell Metab.* **4**, 13-24, doi:10.1016/j.cmet.2006.05.011 (2006).
- 68 Tannahill, G. M. *et al.* Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1beta through HIF-1alpha. *Nature* **496**, 238-242, doi:10.1038/nature11986 (2013).
- 69 Bujold, K. *et al.* CD36-mediated cholesterol efflux is associated with PPARgamma activation via a MAPK-dependent COX-2 pathway in macrophages. *Cardiovasc. Res.* **83**, 457-464, doi:10.1093/cvr/cvp118 (2009).
- 70 Shu, Y. *et al.* Phosphorylation of PPARgamma at Ser84 promotes glycolysis and cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting PFKFB4. *Oncotarget* **7**, 76984-76994, doi:10.18632/oncotarget.12764 (2016).
- 71 Guo, B., Huang, X., Lee, M. R., Lee, S. A. & Broxmeyer, H. E. Antagonism of PPAR-gamma signaling expands human hematopoietic stem and progenitor cells by enhancing glycolysis. *Nat. Med.* **24**, 360-367, doi:10.1038/nm.4477 (2018).
- 72 Ye, F. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) mediates a Ski oncogene-induced shift from glycolysis to oxidative energy metabolism. *J. Biol. Chem.* **286**, 40013-40024, doi:10.1074/jbc.M111.292029 (2011).
- 73 Reddy, R. C. Immunomodulatory role of PPAR-gamma in alveolar macrophages. *J. Investig. Med.* **56**, 522-527, doi:10.2310/JIM.0b013e3181659972 (2008).
- 74 Karlstetter, M. *et al.* Retinal microglia: just bystander or target for therapy? *Prog. Retin. Eye Res.* **45**, 30-57, doi:10.1016/j.preteyeres.2014.11.004 (2015).
- 75 Gao, J. *et al.* NLRP3 inflammasome: activation and regulation in age-related macular degeneration. *Mediators Inflamm.* **2015**, 690243, doi:10.1155/2015/690243 (2015).
- 76 Gurung, P. *et al.* Chronic TLR Stimulation Controls NLRP3 Inflammasome Activation through IL-10 Mediated Regulation of NLRP3 Expression and Caspase-8 Activation. *Sci. Rep.* **5**, 14488, doi:10.1038/srep14488 (2015).
- 77 Combadiere, C. *et al.* Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice. *Circulation* **107**, 1009-1016 (2003).
- 78 Febbraio, M. *et al.* A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J. Biol. Chem.* **274**, 19055-19062 (1999).
- 79 Chong, J. *et al.* MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Res*, doi:10.1093/nar/gky310 (2018).
- 80 Xia, J., Psychogios, N., Young, N. & Wishart, D. S. MetaboAnalyst: a web server for metabolomic data analysis and interpretation. *Nucleic Acids Res* **37**, W652-660, doi:10.1093/nar/gkp356 (2009).
- 81 Babaev, V. R. *et al.* Selective macrophage ascorbate deficiency suppresses early atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* **50**, 27-36, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.10.702 (2011).

Supplemental figures

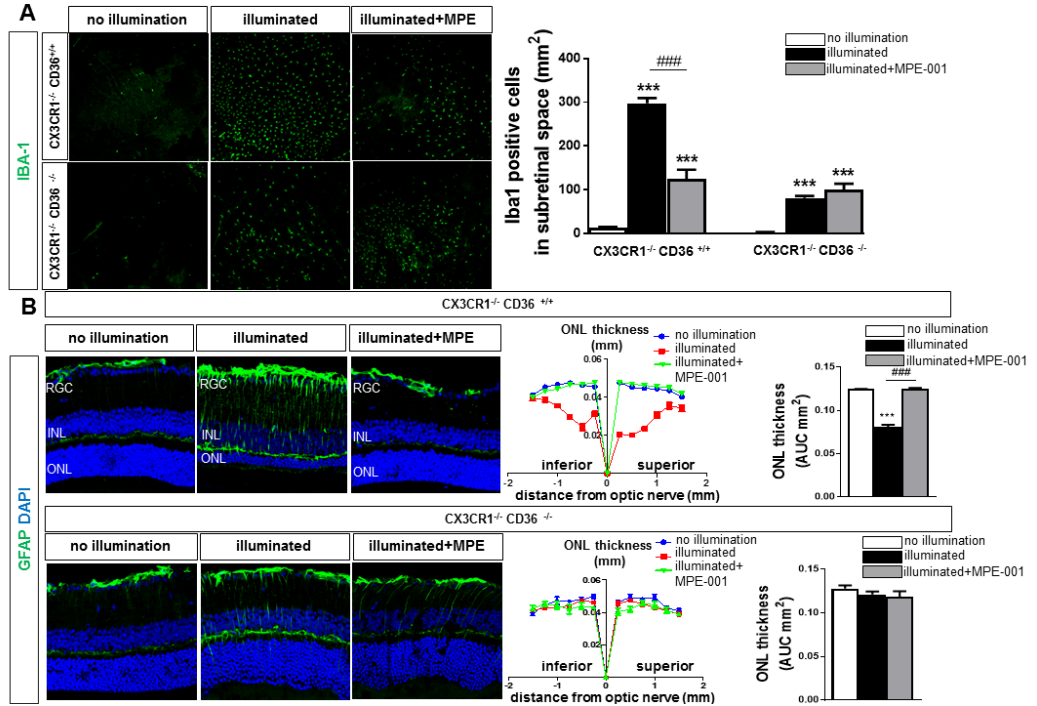


Figure S1. MPE-001 downregulates subretinal inflammation and photoreceptor degeneration in light-exposed CX3CR1^{-/-} and CX3CR1^{-/-}/CD36^{-/-} mice.

(A) Evidence of CD36 involvement in light-induced accumulation of subretinal macrophages. Representative RPE/Chr/Scl flat mounts, illustrating the accumulation of IBA-1+ cells (green) in the subretinal space of CX3CR1^{-/-} or CX3CR1^{-/-}/CD36^{-/-} mice illuminated with blue light for 5 days and treated or not with 289 nmol/kg per day of MPE-001 from day 1 to day 7. Quantification of IBA-1+ cells in the subretinal space of mice unexposed, illuminated with blue light, and treated or not with MPE-001 (n = 3-4 mice per group). (B) Evidence of CD36 involvement in light-induced degeneration of ONL. GFAP staining (green) in retinal cryosections from CX3CR1^{-/-} or CX3CR1^{-/-}/CD36^{-/-} mice exposed or not to blue light and treated or not with MPE-001. ONL thickness measurements and spider graph representations showing both side of the optic nerve from CX3CR1^{-/-}/CD36^{+/+} or CX3CR1^{-/-}/CD36^{-/-} mice unexposed or exposed to blue light for 5 days and treated or not with 289 nmol/kg per day of MPE-001 from day 1 to day 7. Area under the curves from ONL thickness measurement. One-way ANOVA with Newman-Keuls for multiple comparisons was performed. *** $P < 0.001$ vs no illumination, ### $P < 0.001$ vs illuminated group. Data are shown as mean \pm S.E.M. ONL: Outer Nuclear Layer, INL: Inner Nuclear Layer, GCL: Ganglion Cell Layer.

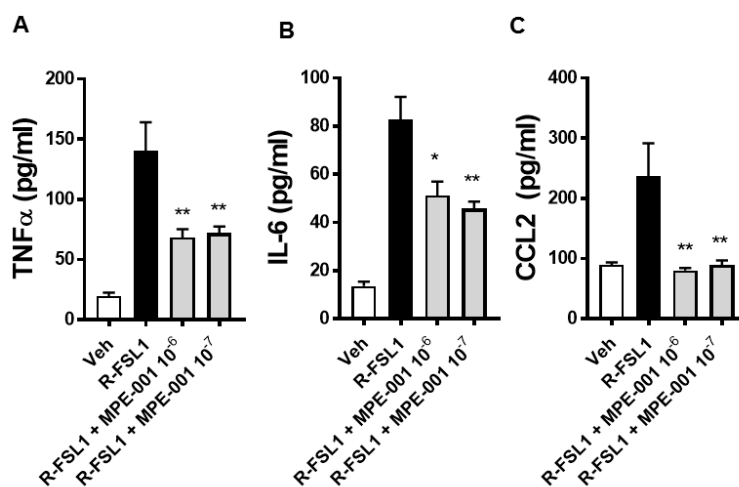


Figure S2. Effect of MPE-001 on R-FSL1-stimulated release of cytokines in human macrophages.

(A - C) TNF α , IL-6 and CCL2 in supernatants of human macrophages after 4 h stimulation with 300 ng/ml R-FSL1 in the presence of MPE-001 or vehicle. One-way ANOVA with Newman-Keuls post-test for multiple comparisons was performed. Data are representative of 2 independent experiments (n = 4 per group). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs R-FSL1. Data are shown as mean \pm S.E.M.

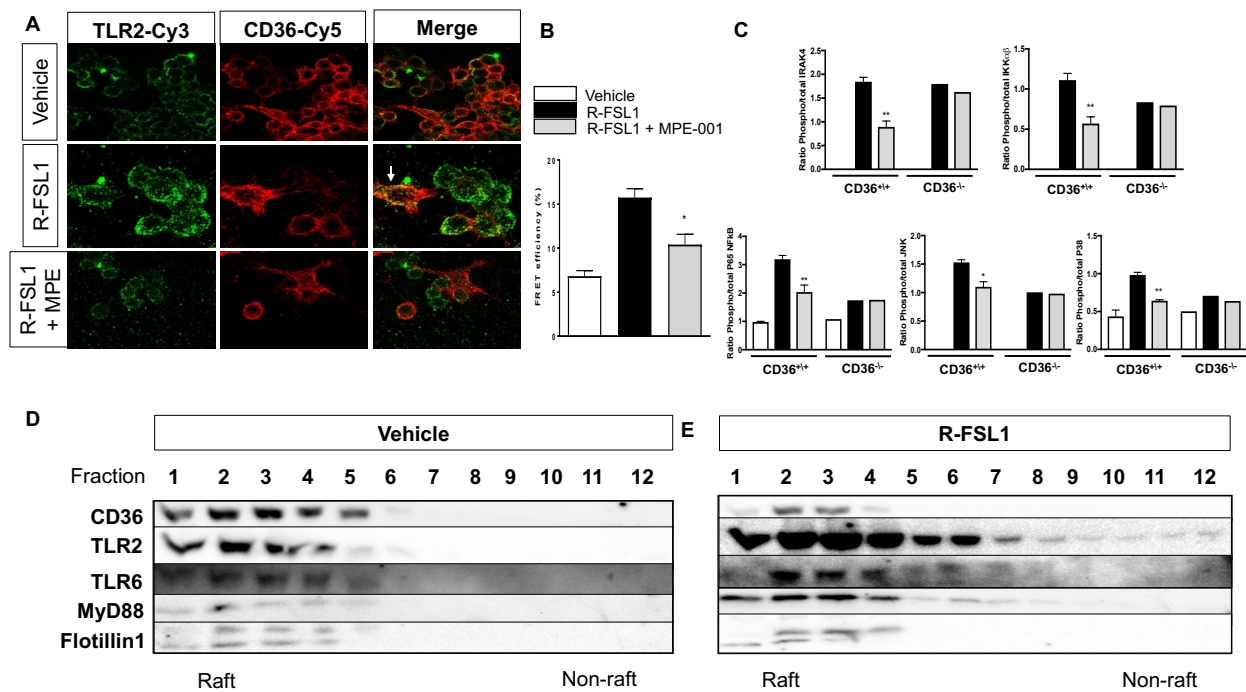


Figure S3. Colocalization of CD36 and TLR2 in lipid rafts and MPE-001 effect on TLR2-signaling.

(A) RAW macrophages were stimulated with 300 ng/ml R-FSL1 and treated with 10^{-7} M MPE-001 for 10 min. Azapeptide MPE-001 disrupted the interaction between CD36 labeled with Cy5 (red), TLR2 labeled with Cy3 (green) and merge shown in yellow as assessed by fluorescence resonance energy transfer (FRET), measured using LSM-700 (Zeiss) confocal microscope. (B) Quantification of FRET efficiency expressed as the percentage of energy transfer. Data are representative of 3 independent experiments ($n = 10-30$ per group). (C) Densitometric analysis data of western blots shown in Fig. 4E. (D, E) CD36 and TLR2 colocalization in lipid rafts after R-FSL1 stimulation. Peritoneal macrophages were treated with vehicle (D) or stimulated with 300 ng/ml R-FSL1 (E) for 5 min and subjected to sucrose density gradient ultracentrifugation. Data are representative of 3 experiments. The relative positions of the raft and non-raft (soluble) fractions are indicated. One-way ANOVA with Newman-Keuls post-test for multiple comparisons was performed. $*P < 0.05$. Data are shown as mean \pm S.E.M.

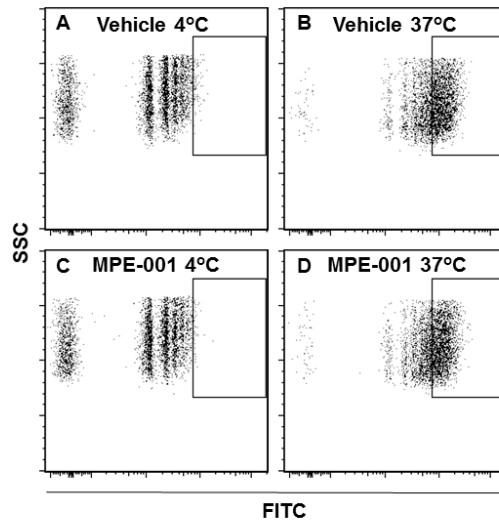


Figure S4. MPE-001 exerts no effect on macrophage phagocytosis.

(A-D) Proinflammatory induced-BMDM were incubated with yellow-green microspheres at 4°C, to determine background values (A, C); or at 37°C, to measure the phagocytosed microspheres (B, D). Phagocytosis is expressed as the relative number of cells that have ingested fluorescent beads in vehicle (A, B), or after MPE-001 treatment (C, D). Data are representative of 2 independent experiments.

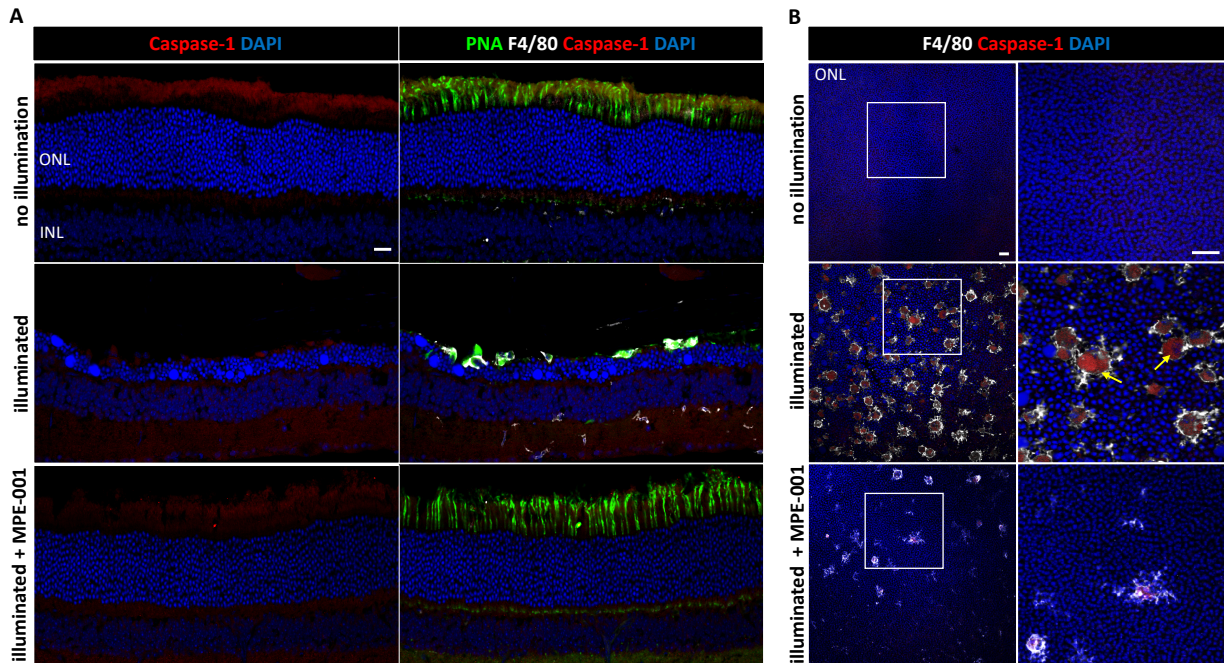


Figure S5. Azapeptide MPE-001 decreases caspase-1 expression in outer retina. Confocal microscopy of retina cryosection (A) and neuroretinal flat mounts (photoreceptors side) (B) from illuminated CD36^{+/+} mice treated or not with MPE-001 stained with caspase-1 (red), PNA (green) and F4/80 (white); nuclei were counterstained with DAPI (blue). Magnifications of white square show caspase-1 distribution in outer retina. Yellow arrows show caspase-1 expression in subretinal F4/80+ cells. Scale: 10 μ m.

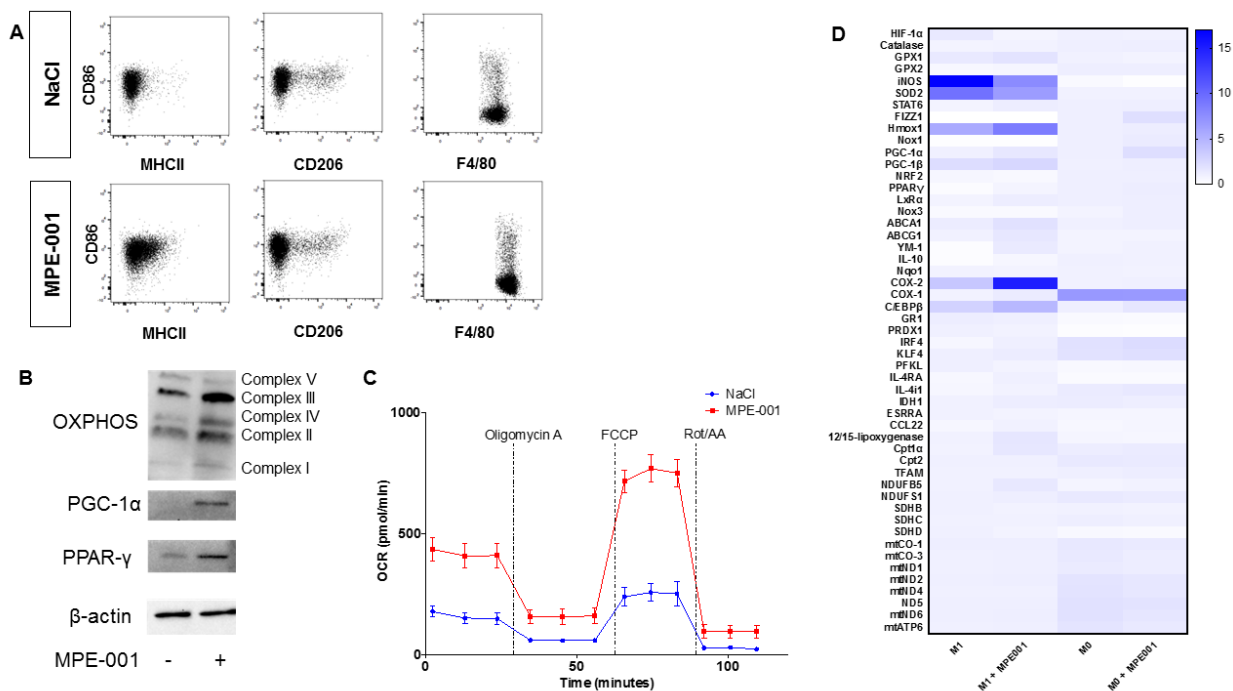


Figure S6. Immuno-metabolic effects of MPE-001 on macrophages.

(A-C) Peritoneal macrophages were isolated from WT mice treated daily *s.c.* injection of MPE-001 (289 nmol/kg) or NaCl for 7 days. (A) Phenotypic analysis of isolated peritoneal macrophages by flow cytometry using MHCII, CD86 and CD206 markers. (B) Protein expression of mitochondrial electron transport chain (mtETC) complex subunits (OXPHOS), PGC-1 α and PPAR- γ . (C) OCR analysis of peritoneal macrophages. Data in A-C are representative of 4 independent experiments. (D) The heat map of 51 genes expression from M1 and M0 BMDM treated with vehicle or MPE-001 (10^{-7} M) for 24 h and analyzed by qPCR (n = 3 per group).

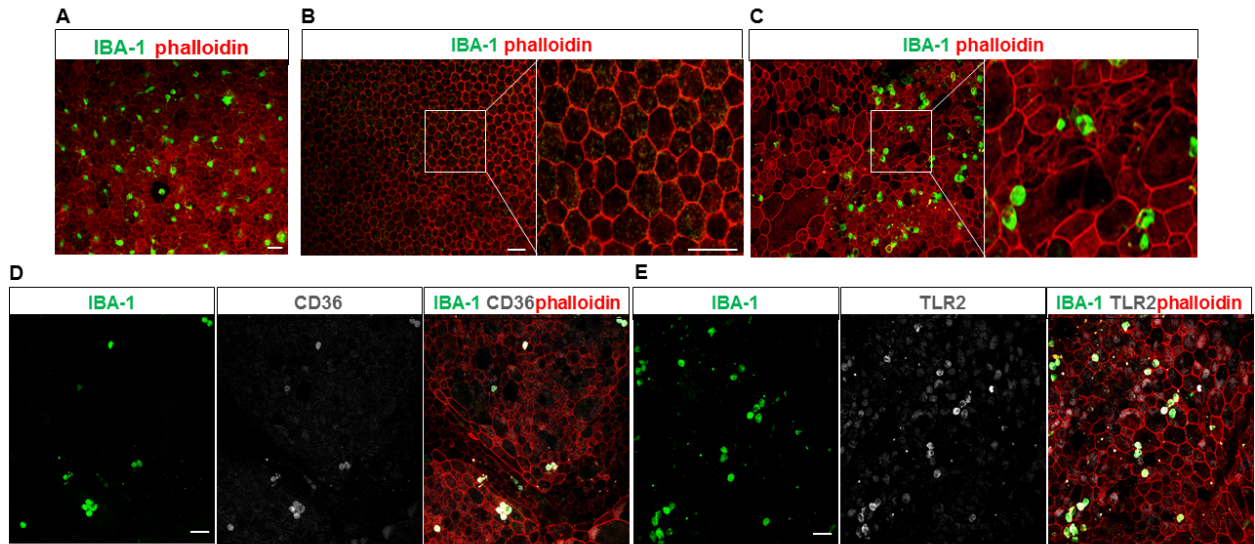


Figure S7 : Subretinal MPs in CD36^{+/+}/TLR2^{+/+} in mice and aging human retina. (A-D) Confocal microscopy of RPE flat mounts obtained from illuminated CD36^{+/+}/TLR2^{+/+} mouse or aging human donors. (A) Double-labeling of subretinal MPs of RPE flat mounts from illuminated mouse showing IBA-1 (green) and phalloidin (for F-actin, red). (B, C) Double-labeling of subretinal MPs of RPE flat mounts from human subjects aged 77 (B) and 79 (C) years old, without and with subretinal inflammation, respectively. Immunofluorescence showing IBA-1 (green) and phalloidin (for F-actin, red). (C) White squares magnification (3-fold) show RPE cell morphology (red). (D) Triple labeling of subretinal MPs with IBA-1 (green), CD36 (white) and phalloidin (for F-actin, red), of RPE flat mount from a 79-year-old subject with eye inflammation. (E) Triple labeling of subretinal MPs with IBA-1 (green), TLR2 (white) and phalloidin (for F-actin, red), of RPE flat mount from a 79-year-old subject with eye inflammation. Scale bar = 100 μ m.

Supplementary tables

Table S1. Percentage of pro-inflammatory cytokine/chemokine reduction in response to MPE-001-treatment in TLR2-stimulated peritoneal macrophages.

	TNF α	IL-6	CCL2	IL-12
R-FSL1	38.4 ($P < 0.01$)	37.6 ($P < 0.01$)	41.5 ($P < 0.01$)	39.2 ($P < 0.01$)
LTA	24.5 ($P < 0.01$)	35.0 ($P < 0.01$)	31.9 ($P < 0.01$)	29.1 ($P < 0.01$)
pgLPS	38.4 ($P < 0.01$)	42.3 ($P < 0.01$)	30.9 ($P < 0.01$)	33.4 ($P < 0.01$)

Table S2. Percentage of IL-1 β reduction in response to MPE-001-treatment on R-FSL1-stimulated peritoneal macrophages.

	IL-1 β
MPE-001 10 ⁻⁹	39.2 ($P < 0.05$)
MPE-001 10 ⁻⁸	62.7 ($P < 0.01$)
MPE-001 10 ⁻⁷	74.4 ($P < 0.01$)

Table S3. Primers ID and sequences used for quantitative RT-PCR.

Chapitre 5. Discussion et conclusion

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est la principale cause de cécité dans le monde chez les personnes âgées (Wong et al., 2014). Une combinaison de facteurs de risque génétiques ainsi que l'âge, le tabagisme et les facteurs environnementaux sont connus pour contribuer au développement de la maladie. Il est prévu que le nombre de personnes souffrant de DMLA dans le monde atteigne 288 millions en 2040 (Wong et al., 2014). Bien que la principale cause de la DMLA soit inconnue, de nombreuses preuves suggèrent que les changements sous-rétiniens liés à la DMLA comprennent principalement l'accumulation de lipides, le stress oxydatif et l'inflammation (Chen et al., 2019, Ambati et al., 2013). La DMLA avancée se manifeste sous deux formes; la forme humide néovasculaire et la forme sèche (Mehta, 2015).

La DMLA humide se caractérise principalement par une production excessive de VEGF par les cellules de l'EPR, provoquant la germination de vaisseaux sanguins de la choroïde à travers la membrane de Bruch, contribuant à la rupture de la barrière hémato-rétinienne et augmentant ainsi la perméabilité vasculaire rétinienne (Kauppinen et al., 2016). Au cours de la dernière décennie, la gestion de la DMLA humide a considérablement progressé en raison de l'arrivée des thérapies anti-VEGF, sous forme de traitements intravitréens efficaces pour ralentir la progression de la pathologie (Waldstein et al., 2016, Rosenfeld et al., 2006, Solomon et al., 2016). Malheureusement, aucune avancée majeure n'a été réalisée dans le traitement de la DMLA sèche, qui représente la majorité (jusqu'à 90%) des cas (Kauppinen et al., 2016).

La DMLA de type sec est caractérisée par une altération et la dégénérescence de l'EPR et de la membrane de Bruch, avec l'accumulation de dépôts de lipofuscine, de débris de photorécepteurs et de composants inflammatoires entre la membrane de Bruch et l'EPR (drusen), ainsi que par la mort des photorécepteurs (Cicinelli et al., 2018). La dégénérescence des cellules de l'EPR est principalement due à la dysfonction immunitaire, le stress oxydatif, les dommages mitochondriaux, l'activation du complément et l'inflammation (Ambati et al., 2013, Akhtar-Schafer et al., 2018, Chen et al., 2019). Les cellules immunitaires impliquées dans l'inflammation sont identifiées comme le facteur majeur dans la pathogenèse de la DMLA menant à la dégénérescence de l'EPR. Les chimiokines sécrétées lors de lésions rétinienne recrutent les microglies résidentes provenant de la couche plexiforme, qui sont normalement absentes de la rétine externe, migrant vers l'espace sous-rétinien (Ambati et al., 2013). Les microglies connus pour assurer l'homéostasie fonctionnelle de la rétine normale sont activés lorsque l'environnement de la neurorétine est compromis. En réponse à une atteinte neuronale, les microglies s'accumulent au niveau du site inflammatoire, sécrètent différents types de médiateurs inflammatoires, notamment les chimiokines telles que CCL2, induisant l'infiltration de phagocytes mononucléés (Ardeljan and Chan, 2013, Sennlaub et al., 2013). La fonction phagocytaire de ces microglies est également activée pour éliminer les débris liés à l'âge (Madeira et al., 2015). Cependant, elles peuvent également induire un stress oxydatif et favoriser une dégénérescence ultérieure. L'accumulation de microglies et de macrophages activés au niveau sous-rétinien est la principale cause de la mort des photorécepteurs, contribuant ainsi au développement et à la progression de la DMLA.

La DMLA sèche constitue un important « *besoin médical non comblé* », car il n'existe aucun traitement approuvé ou efficace pour prévenir la progression de la maladie et la perte de vision qui en résulte. Différentes stratégies thérapeutiques visant à retarder la progression de la DMLA sèche ont été proposées. Les modulateurs du cycle visuel (fenrétinide, ACU-4429 et Emixustat) qui réduisent l'activité métabolique des photorécepteurs et l'accumulation de fluorophores toxiques (A2E) et de lipofuscine; la protection des cellules neuronales de la rétine par différentes molécules dont le *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF), le NT501, le tartrate de brimonidine (agoniste sélectif de la sérotonine 1A), la tandospirone (anticorps anti-amyloïde β). Par ailleurs, étant donné que la composante inflammatoire a été identifiée comme un facteur majeur dans le développement de la DMLA de type sec, plusieurs approches ciblant l'inflammation ont été explorées. Les traitements anti-inflammatoires ciblant notamment l'inflammasome (Gao et al., 2015) et la suppression des cellules T avec le glatiramer acetate (Landa et al., 2008), ainsi que les inhibiteurs du complément APL-2, eculizumab et lampalizumab ont été testés pour le traitement de la forme sèche de DMLA, et plus particulièrement de l'AG (Handa et al., 2019, Wu and Sun, 2019, Boyer et al., 2017). Bien que la plupart des approches de traitement de la forme sèche de DMLA, telles que les inhibiteurs du cycle visuel, les facteurs neurotrophiques et les inhibiteurs du complément qui semblaient être prometteuses *in vitro*, n'ont pas démontré d'efficacité lors des essais cliniques (Taskintuna et al., 2016, Handa et al., 2019). Bien que le complément semble être une cible de choix, l'échec des diverses approches thérapeutiques remet en cause sa contribution réelle dans la pathogenèse de la DMLA. Quelle est la relation entre le complément et les autres mécanismes pathologiques tels que les dommages oxydatifs et le métabolisme lipidique? Dans quel sous-type de DMLA joue-t-il un rôle majeur? Pour le moment, aucune réponse claire n'a été obtenue à ces questions.

De plus, les inhibiteurs du complément ne ciblent qu'une partie de la composante inflammatoire impliquée dans la pathologie, ce qui constitue un handicap dans le traitement d'une maladie multifactorielle comme la DMLA. En raison de son étiologie multifactorielle, la gestion efficace de la DMLA sèche peut nécessiter plusieurs cibles différentes pour la prévention et le traitement de la maladie à un stade précoce, intermédiaire et avancé.

Contrairement aux différentes stratégies thérapeutiques testées pour le traitement de la DMLA sèche qui ne ciblent qu'un seul élément de cette pathologie multifactorielle, le CD36 représente une cible particulièrement intéressante en raison de ses actions pléiotropes en agissant aussi bien au niveau des processus du développement de l'inflammation, du stress oxydatif, du métabolisme lipidique et de l'angiogenèse, soit tous les facteurs clés dans la pathogénèse de la DMLA. En effet, le CD36 exprimé à la surface membranaire des phagocytes mononucléés joue un rôle clé dans le recrutement de ces derniers, dans le développement de l'inflammation, dans l'internalisation de lipides et de lipoprotéines oxydés, ainsi que dans l'induction du stress oxydatif et de l'inflammation (Anderson et al., 2008, Sun et al., 2006, Shaw et al., 2012).

De par son expression sur les phagocytes mononucléés qui incluent les cellules immunes résidentes telles les microglies et les monocytes/macrophages provenant de la circulation systémique, le récepteur CD36 joue un rôle très précoce dans le développement de la pathologie. Les phagocytes mononucléés jouent un rôle déterminant dans le développement de l'inflammation rétinienne. Dans la première phase de développement de la DMLA, les microglies dont le rôle premier est d'assurer l'homéostasie rétinienne par leurs interactions avec les cellules neuronales de la rétine, deviennent activées en infiltrant l'espace sous rétinien pour assurer la clairance des débris des cellules apoptotiques (Rashid et al., 2019). Si l'inflammation

n'est pas résolue, les microglies suractivées deviennent neurotoxiques en phagocytant les cellules neuronales, notamment les photorécepteurs aussi bien apoptotiques que normales, amorçant ainsi la perte de la couche nucléaire externe (ONL). Ils sécrètent également des chimiokines pro-inflammatoires, notamment le MCP-1/CCL2 comme agent attractant des monocytes/macrophages de la circulation choroïdienne. La surproduction de médiateurs pro-inflammatoires par les microglies provoque la dégénérescence des cellules de l'EPR et induit le recrutement de monocytes périphériques, qui se différencient en macrophages. Ces derniers exprimant largement le CD36, participent à l'élimination des débris libérés lors de l'apoptose des cellules de l'EPR (Behnke et al., 2020). Cependant, l'accumulation excessive de macrophages dans l'espace sous-rétinien, associée à une phagocytose élevée en lipides oxydés, participe à l'exacerbation du stress oxydatif par la production de ROS et de médiateurs inflammatoires tels que les cytokines ($\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-1 β), contribuant à la dégénérescence de l'EPR suivie de la mort des photorécepteurs (Behnke et al., 2020). Le CD36 semble également jouer un rôle important dans le maintien de l'homéostasie chorio-rétinale. En effet, le CD36 exprimé à la surface des cellules de l'EPR est impliqué dans la phagocytose des segments externes des photorécepteurs ou *photoreceptor outer segments* (POS), où l'oxydation induite par la lumière active la phagocytose médiée par le CD36, dans un processus essentiel au maintien à long terme de la rétine (Sun et al., 2006, Finnemann and Silverstein, 2001).

Les phagocytes mononucléés (microglies, monocytes, macrophages) et les cellules de l'EPR partagent plusieurs caractéristiques biologiques similaires, telles que la phagocytose et l'internalisation de lipides oxydés (Sun et al., 2006). Ces processus, médiés en partie par le CD36, peuvent conduire à une accumulation intracellulaire de débris, ainsi qu'à l'induction de la sécrétion de cytokines essentielles à l'activation de cascades pro-inflammatoires et à une

angiogénèse anormale (Sun et al., 2006, Boullier et al., 2001). Le CD36, impliqué dans l'internalisation des lipides oxydés, est considéré comme un lien entre le stress oxydatif et les dommages causés par les phagocytes mononucléés au niveau de l'EPR. Ceci peut initier de nombreux évènements cellulaires importants dans la pathogénèse de la DMLA (Gordiyenko et al., 2004, Park, 2014). Ce dysfonctionnement peut entraîner une accumulation de lipofuscine dans les cellules de l'EPR et dans l'espace sous-rétinien, conditionnant ainsi un environnement de stress oxydatif et pro-inflammatoire délétère à l'EPR (Bellezza, 2018).

De plus, les actions du CD36 dans le déclenchement et l'amplification d'une réponse inflammatoire impliquent une interaction en tant que corécepteur de l'hétérodimère TLR2/6 (Di Gioia and Zanoni, 2015). Les études sur le rôle des TLR dans les maladies de la rétine externe sont rares et se limitent principalement aux investigations génétiques, y compris des études d'association entre divers polymorphismes génétiques dans les TLR et le risque de DMLA (Güven et al., 2016, Natoli et al., 2016). Cependant, il a récemment été rapporté que l'inhibition du TLR2 protège contre la mort des cellules neuronales des photorécepteurs et la fragmentation des cellules de l'EPR dans des modèles expérimentaux de dégénérescence rétinienne induite par le stress oxydatif, et présente le TLR2 comme un lien entre les dommages oxydatifs et la pathologie rétinienne médiée par le complément (Mulfaul et al., 2020).

Notre groupe de recherche s'est intéressé au récepteur CD36 comme cible potentielle dans le traitement de la DMLA. La découverte d'un site de liaison pour les sécrétines de l'hormone de croissance (GHRP) sur le récepteur CD36 a conduit au développement de ligands peptidiques, les azapeptides, plus sélectifs pour ce récepteur, qui ont été étudiés dans le contexte des maladies inflammatoires chroniques liées aux macrophages telles que l'athérosclérose et la DMLA (Bodart et al., 2002, Demers et al., 2004, Marleau et al., 2005, Picard et al., 2010). Les

études antérieures ont montré que la modulation de l'activité du récepteur CD36 par les GHRPs et leurs dérivés azapeptides, favorise une diminution de l'internalisation exacerbée de lipides oxydés (Picard et al., 2010), réduit la quantité de médiateurs inflammatoires en atténuant l'expression d'enzymes impliquées dans la production de ROS (Grunin et al., 2014, Harb et al., 2009), et freine l'hyper-prolifération de l'endothélium choroïdien (Houssier et al., 2008). De par la présence du CD36 sur les différents types cellulaires impliqués dans la DMLA ainsi que son rôle dans les différents processus menant à sa pathogenèse, nous avons émis l'hypothèse de recherche selon laquelle les azapeptides, comme ligands sélectifs du CD36, auraient des effets protecteurs contre la DMLA en modulant la réponse inflammatoire.

Dans cette thèse, nous avons utilisé l'azapeptide MPE-001 comme ligand du récepteur CD36 dans la modulation de l'inflammation au niveau des macrophages. Ce composé a été identifié à partir d'un criblage d'une banque d'azapeptides synthétisés par le groupe du professeur William Lubell à l'Université de Montréal. Des études de relation structure-activité ont montré que le MPE-001, de la classe des azapeptides dérivés du GHRP-6, présente une sélectivité de liaison au CD36 et une affinité de l'ordre du micromolaire, avec cependant une affinité de liaison pour le GHS-R1a réduite de dix mille fois par rapport à celle des GHRPs, notamment l'hexaréline, le rendant ainsi plus sélectif (Sabatino et al., 2009, Sabatino et al., 2011, Proulx et al., 2012).

5.1. Modulation de la réponse inflammatoire par les ligands du CD36

Pour étudier les effets des azapeptides dans le traitement de la DMLA, nous avons ciblé le récepteur CD36, décrit comme étant un corécepteur de l'hétérodimère TLR2/6, dans la

modulation de la réponse inflammatoire au niveau des macrophages ainsi que dans des modèles murins de DMLA. Considérant le rôle pathologique du TLR2 dans l'inflammation induite par les phagocytes mononucléés, la recherche d'inhibiteurs ciblant les voies de signalisation des TLR a été entreprise jusqu'à présent avec un succès limité (Hennessy et al., 2010, Gao et al., 2017). Cependant, l'association des TLRs avec des corécepteurs dans leur activation, offre une alternative intéressante afin de moduler leur signalisation en les ciblant de façon indirecte. Notre premier objectif était de montrer qu'un ligand sélectif envers le CD36, l'azapeptide MPE-001, avait des effets anti-inflammatoires en modulant de façon indirecte la réponse induite par le TLR2, et d'identifier les mécanismes moléculaires et les cascades de signalisation impliquées au niveau des macrophages. Pour ce faire, nous avons utilisé comme modèle, les macrophages péritonéaux primaires, purifiés à partir de souris C57BL/6 (WT ou *Cd36^{+/+}*) et *Cd36^{-/-}*, et induits en phénotype pro-inflammatoire sous stimulation avec l'IFN γ . La spécificité de la réponse a été étudiée en utilisant différents agonistes d'hétérodimères TLR2, selon leurs sélectivités respectives envers TLR2/6 (R-FSL1, LTA), TLR2/1 (PAM3CSK4) et TLR2/4 (pgLPS). Ainsi ces agonistes ont été testés en présence et en absence d'un ligand du récepteur CD36 afin de déterminer si la réponse inflammatoire induite par les agonistes TLR2 était modulée. Pour ce faire, les cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (TNF α , CCL2, IL-6 et IL-12) ont été dosées par ELISA dans le milieu de culture des cellules stimulées par les agonistes des différents hétérodimères des TLR2. Nos résultats ont montré que le traitement des macrophages avec l'azapeptide MPE-001 a un effet modulateur sur la sécrétion des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires induite par les différents agonistes TLR2 dont le R-FSL1, LTA, pgLPS, qui stimulent l'hétérodimère TLR2/6, et que cet effet est dépendant du temps de stimulation et de la dose de MPE-001 utilisée. On n'observe cependant pas d'effet sur les cellules WT stimulés

avec le PAM3CSK4, ni avec le LPS. Le MPE-001 n'a pas non plus altéré la réponse inflammatoire induite par TLR2 au niveau des macrophages de souris *Cd36*^{-/-}. Il est toutefois intéressant de noter que les niveaux de cytokines inflammatoires sécrétés par les macrophages de souris *Cd36*^{-/-}, sont plus faibles que chez les souris WT, suggérant le rôle potentialisateur du corécepteur CD36 dans la réponse inflammatoire médiée par TLR2. Ces résultats ont montré, pour la première fois, qu'une modulation indirecte des TLR2, en ciblant son corécepteur CD36 avec l'azapeptide MPE-001, avait des effets anti-inflammatoires, en diminuant significativement la sécrétion de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires au niveau des macrophages.

Afin d'élucider le mécanisme par lequel l'azapeptide MPE-001 modulait la réponse inflammatoire médiée par TLR2, nous avons évalué l'effet du MPE-001 sur l'interaction membranaire entre le TLR2 et son corécepteur CD36, et les voies de signalisation impliquées. Triantafilou et al. ont montré que l'hétérodimère TLR2/6 semble être formé de façon pré-existante au niveau membranaire, tandis que le récepteur CD36 se trouve au niveau des radeaux lipidiques. La signalisation est enclenchée à la surface de la cellule, où le CD36 agit comme un facilitateur en facilitant l'association de l'agoniste à l'hétérodimère TLR2/6. Ceci induit l'assemblage du complexe TLR2/6-CD36 au niveau des radeaux lipidiques, avec le recrutement de la protéine adaptatrice MyD88 près de la surface cellulaire (Triantafilou et al., 2006). Nous avons effectué une étude de transfert d'énergie de fluorescence par résonance ou *fluorescence resonance energy transfer* (FRET) en marquant le TLR2 avec le donneur de fluorescence Cy3 et le CD36 avec l'accepteur de fluorescence Cy5, sur les macrophages péritonéaux. La stimulation des macrophages par le R-FSL1 induit une augmentation de l'efficacité de FRET, ce qui suggère un rapprochement entre le TLR2 et son corécepteur CD36. Le traitement des

macrophages avec le MPE-001 inhibe de manière significative l'efficacité de FRET suite à une stimulation avec le R-FSL1, suggérant une dissociation entre le TLR2 et le CD36 au niveau membranaire. Nous avons ainsi montré pour la première fois que le MPE-001, agissait en interférant dans la colocalisation du TLR2 avec le CD36. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'effet du MPE-001 sur les voies de signalisation en aval de MyD88. Tel qu'anticipé, nous avons montré par Western blot que la perturbation de la colocalisation du TLR2 et de son corécepteur CD36 par le MPE-001, induit une atténuation significative de la cascade de phosphorylation d'IRAK4, IKK $\alpha\beta$, P65 NF κ B, JNK et p38 dans les macrophages péritonéaux provenant de souris WT, et que cet effet n'était pas observé au niveau des macrophages provenant de souris *Cd36*^{-/-}. Par conséquent, le MPE-001, en se liant au CD36, induit la dissociation de ce dernier du complexe TLR2, résultant en une inhibition des voies de signalisation avec une diminution de la sécrétion de cytokines et chimiokines proinflammatoires, induite par les agonistes spécifiques de TLR2. Ce travail nous a permis de définir le mécanisme moléculaire par lequel l'azapeptide MPE-001, comme ligand du CD36, jouerait le rôle de modulateur du TLR2/6 en atténuant l'inflammation au niveau des macrophages.

Par ailleurs, il est bien établi que le CD36 joue un rôle important dans la défense immunitaire innée en agissant en tant que récepteur de reconnaissance de formes (*pattern-recognition receptor*, PRR), en particulier envers les agents pathogènes bactériens (Areschoug and Gordon, 2009). Ainsi, il a été montré que le CD36 participe à la phagocytose non-opsonique d'agents pathogènes, notamment des bactéries à Gram positif (*S. aureus*) (Cao et al., 2016). Cela dit, son rôle dans la reconnaissance des bactéries à Gram négatif est plutôt mitigé (Cao et al., 2016, Stuart et al., 2005). Dans notre étude, le MPE-001 a interféré sélectivement avec la

stimulation du TLR2/6 sans altérer la fonction phagocytaire des macrophages impliqués dans les défenses immunitaires de l'organisme. Cela est dû au fait que le site de liaison de l'azapeptide est loin de la séquence responsable de la phagocytose (Baranova et al., 2008, Patel et al., 2004, Demers et al., 2004). Par ailleurs, la fonction phagocytaire des macrophages induit l'internalisation des ligands à travers un complexe hétéromère composé du récepteur CD36, des intégrines $\beta 1$ et/ou $\beta 2$, et des tétraspanines CD9 et/ou CD81 (Heit et al., 2013). Ce complexe récepteur sert à relier le CD36 à l'adaptateur FcR γ , qui porte un motif d'activation d'immunorécepteur de type tyrosine kinase (Heit et al., 2013). En se couplant à FcR γ , le CD36 active ainsi les kinases de la famille Src et Syk, qui à leur tour entraînent l'internalisation du CD36 et de ses ligands (Heit et al., 2013). Il semble donc que la liaison du MPE-001 sur le CD36 n'altère pas l'interaction de ce dernier avec ses différents partenaires phagocytaires, préservant ainsi la fonction phagocytaire du macrophage.

Afin de documenter les mécanismes anti-inflammatoires de l'azapeptide MPE-001 *in vivo*, nous avons investigué ses effets sur la préservation des photorécepteurs avec comme hypothèse que son effet sur l'inflammation rétinienne serait bénéfique. La perte de photorécepteurs associée à l'inflammation rétinienne dans la DMLA, est en partie due au recrutement de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien (Zhang et al., 2005, Sennlaub et al., 2013). Dans un modèle *in vivo* murin d'exposition à un stress photooxydatif induit par une lumière bleue (Suzuki et al., 2012), l'induction d'une inflammation locale rétinienne est caractérisée par une migration sous-rétinienne de phagocytes mononucléés associée à une dégénérescence des photorécepteurs (Combadiere et al., 2007, Zhang et al., 2012, Zhao et al., 2014). Dans notre étude, nous avons utilisé des souris déficientes en CD36 ou en CX3CR1, ou encore des souris double déficientes en CX3CR1 et CD36. L'avantage d'utiliser

des modèles de souris déficientes en CD36 a été de nous permettre d'étudier le rôle de ce dernier et les effets pharmacologiques des ligands sélectifs du CD36 dans la modulation de la réponse inflammatoire impliquée dans la DMLA. De plus, dans le modèle murin déficient en CX3CR1, l'exposition à un stress photooxydatif est connue pour exacerber la réponse inflammatoire et induire la présence accrue de microglies dans la rétine, ce qui accélère les lésions tissulaires et la dégénérescence rétinienne (Combadiere et al., 2007, Combadiere et al., 2003, Sennlaub et al., 2013, Chen et al., 2007). L'utilisation de ce modèle pourra ainsi nous permettre d'étudier les effets du MPE-001 sur l'accumulation des phagocytes mononucléés, et plus particulièrement les cellules microgliales. Cependant, il est important de noter que les conclusions tirées de ces études *in vivo* sont de nature limitée car les rongeurs n'ont pas de macula anatomique. Néanmoins, ces modèles présentent plusieurs des caractéristiques de la DMLA humaine, notamment des dépôts lipidiques similaires au drusen, l'accumulation des microglies et des macrophages dans l'espace sous-rétinien normalement exempt de cellules immunitaires, ainsi que la dégénérescence des photorécepteurs et des cellules de l'EPR (Fletcher et al., 2014).

Notre deuxième objectif était de déterminer les effets du MPE-001 sur le recrutement de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien et la modulation de la réponse inflammatoire dans un modèle de dégénérescence rétinienne induit par la lumière bleue chez la souris. Dans notre étude, les souris C57BL/6 (WT), *Cd36*^{-/-}, *Cx3Cr1*^{-/-} et *Cx3Cr1*^{-/-}/*Cd36*^{-/-} ont été soumises à un stress photo-oxydatif induit par la lumière bleue pendant 5 jours. Une journée après le début de l'illumination, les souris ont reçu une injection *s.c.* de MPE-001, répétée pendant les 7 jours suivants. Nous avons mesuré l'activation des phagocytes mononucléés en suivant le signal IBA1 (*Ionized calcium Binding Adaptor molecule 1*) comme marqueur des cellules activées (Ohsawa et al., 2004). Nous avons constaté que les souris *Cd36*^{-/-} et *Cx3Cr1*^{-/-}

/Cd36^{-/-} présentaient moins de phagocytes mononucléés sous-rétiniens et de dégénérescence des photorécepteurs que les souris WT et *Cx3Cr1^{-/-}* après exposition à la lumière bleue. Ceci met en lumière le rôle modulateur du récepteur CD36 sur la réponse inflammatoire dans ce modèle de maladie dégénérative de la rétine, conduisant à une atténuation de la perte de photorécepteurs. De façon intéressante, il a récemment été démontré que la déficience en CD36 induit une réduction de l'inflammation et celle de la dégénérescence rétinienne chez les souris *Cx3Cr1^{-/-}*, et protège de manière significative les souris hyper-inflammatoires *Cx3Cr1^{-/-}* contre l'accumulation de phagocytes mononucléés sous-rétiniens et la dégénérescence des photorécepteurs associée (Lavalette et al., 2019).

L'expression de CX3CR1 au niveau des microglies activées par son ligand endogène, la fractalkine (CX3CL1), induit l'interaction des microglies avec les cellules neuronales pour assurer l'homéostasie rétinienne, jouant ainsi un rôle critique dans la neuroprotection de la rétine et dans la préservation des photorécepteurs (Wang et al., 2016, Zieger et al., 2014). Une déficience en CX3CR1 entraîne une perte de cette homéostasie, avec une infiltration plus importante, dans un premier lieu, de microglies suractivées, suivie par l'infiltration de monocytes/macrophages activés, avec phagocytose à la fois des cellules neuronales en apoptose et saines (Zieger et al., 2014, Raoul et al., 2010, Combadiere et al., 2007). Ceci mène à l'AG dans la DMLA avancée, avec la perte importante de la couche de photorécepteurs.

Effectivement, nous avons observé une plus grande infiltration de phagocytes mononucléés dans l'espace sous-rétinien chez les souris déficientes en CX3CR1. La réduction du signal IBA1 au niveau sous-rétinien suite au traitement au MPE 001 chez les souris *Cx3Cr1^{-/-}* suggère un effet potentiel de l'azapeptide dans la régulation de l'accumulation des microglies de façon dépendante du CD36. Les résultats obtenus avec le modèle de souris *Cx3Cr1^{-/-}* portent à croire

que l'azapeptide pourrait être efficace dans le traitement de la phase précoce de la DMLA et dans le maintien de l'intégrité des photorécepteurs.

La protéine *glial fibrillary acidic protein* (GFAP), un marqueur reconnu de stress et de dégénérescence rétinienne, est exprimé dans les astrocytes rétiniens et les cellules de Müller sous l'influence des cytokines inflammatoires lors de la pathologie rétinienne, y compris la DMLA (Wu et al., 2003). Dans la pathologie rétinienne, la surexpression de la GFAP dans la rétine interne est principalement associée aux drusens, tandis que dans la rétine externe, l'expression de la GFAP dans les cellules de Müller est plutôt associée à une perturbation de l'EPR et de la barrière hémato-rétinienne (Wu et al., 2003). Nous avons observé que le MPE-001 induisait une diminution de l'activation de la protéine GFAP, aussi chez les souris WT que *Cx3Cr1^{-/-}*. Ces résultats suggèrent le MPE-001 induit une diminution de l'environnement inflammatoire et une inhibition de la sécrétion de cytokines au niveau sous-rétinien, se traduisant par l'inhibition de la GFAP.

Par ailleurs, l'administration de MPE-001 à des souris WT stimulées par la lumière bleue a préservé l'épaisseur de la couche nucléaire externe (ONL) des photorécepteurs, en plus de restaurer les amplitudes électrorétinographiques des ondes a et b à des valeurs comparables à celles observées chez les souris WT non illuminées. Par conséquent, l'intégrité de la couche de photorécepteurs était protégée par le MPE-001 et la fonction rétinienne améliorée par rapport aux souris non traitées et exposées à la lumière bleue. L'implication du MPE-001 dans la réduction de l'inflammation rétinienne a été documentée par l'analyse qPCR des niveaux d'ARNm provenant de tissus microdisséqués au laser dans la zone située entre l'ONL et l'EPR. Le MPE-001 a inhibé, significativement, l'expression des gènes de marqueurs pro-inflammatoires dont iNOS, IL-12 et IBA-1, tandis qu'il a augmenté l'expression de la cytokine

régulatrice et anti-inflammatoire IL-10. Ces résultats ont été corroborés avec les montages à plats d'EPR provenant d'animaux traités avec le MPE-001 qui présentaient une réduction significative du nombre de cellules exprimant les marqueurs iNOS/F4/80 et IL-12/IBA-1, tout en entraînant une expression accrue de CD206, un marqueur de surface de macrophages alternativement activés, appelés macrophages M2. Ce dernier est impliqué dans les processus de résolution de l'inflammation, et son absence augmente la migration aléatoire des macrophages et une régulation positive de la production de cytokines pro-inflammatoires (Kambara et al., 2015).

Par ailleurs, nous avons aussi montré que le MPE-001 réduit l'apoptose des segments de photorécepteurs et leur dégénérescence chez des souris WT exposées à la lumière bleue. Par ailleurs, étant donné que les phagocytes mononucléés tels que les macrophages et la microglie recrutés dans l'espace sous-rétinien expriment également les récepteurs de reconnaissance de formes tel que le TLR2 (Joly et al., 2009, Feng et al., 2017), nous avons voulu tester l'efficacité du MPE-001 à réduire l'inflammation rétinienne dans un modèle *ex vivo* de co-culture d'explants rétiniens et de macrophages murins dérivés de la moelle osseuse (BMDM) polarisés ou non en phénotype pro-inflammatoire M1 avec l'agoniste TLR2 (R-FSL1), et traités ou non avec le MPE-001. Nous avons montré que le MPE-001 module la toxicité et l'apoptose des photorécepteurs des explants neuro-rétiniens induite par les BMDM activés par l'agoniste TLR2. Pour ce deuxième objectif, nous avons mis en évidence l'efficacité du MPE-001 dans la réduction de l'accumulation des phagocytes mononucléés induite par l'exposition à la lumière bleue au niveau sous-rétinien. Ces effets corrént avec une préservation de la couche de photorécepteurs et de leur fonctionnalité chez les souris traitées avec le MPE-001.

Dans les travaux de cette thèse, nous nous sommes essentiellement concentrés sur l'effet des azapeptides sur la modulation de l'inflammation au niveau des macrophages. Cependant, l'expression du CD36 et du TLR2 au niveau des microglies et des cellules de l'EPR nous porte à croire que les effets anti-inflammatoires observés sur les macrophages, de même que l'activité de cytoprotection des photorécepteurs pourraient également s'appliquer aux autres types cellulaires qui jouent un rôle crucial dans le maintien de la fonction rétinienne, et sont impliqués dans la pathogenèse de la DMLA. Récemment, la fonction pro-inflammatoire du TLR2 a été mise en évidence dans l'EPR dans des états de stress oxydatif élevés (Feng et al., 2017). Le TLR2 est capable de déclencher une réaction inflammatoire, et ce en initiant l'activation des cascades de signalisation intracellulaires qui sont responsables d'activer plusieurs gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires. La réponse inflammatoire ainsi générée conduit à un dysfonctionnement de l'EPR et à la mort des photorécepteurs (Feng et al., 2017). De plus, une récente étude a montré que l'inhibition du TLR2 avec un anticorps neutralisant anti-TLR2 protège la rétine du stress oxydatif, et présente le TLR2 comme un lien possible entre les dommages oxydatifs et l'activation excessive du complément dans les maladies dégénératives rétiniennes (Mulfaul et al., 2020). Ils ont aussi montré que le stress oxydatif active le TLR2 pour déclencher la voie alternative du complément au niveau de l'EPR, tout en induisant la production de la chimiokine pro-inflammatoire CCL2. Ils ont aussi montré que l'inhibition de TLR2 réduit l'activation du complément, empêche l'infiltration des macrophages et des cellules microgliales IBA1-positives dans la rétine externe, préservant ainsi les cellules photoréceptrices en réponse au stress oxydatif aigu (Mulfaul et al., 2020).

Après avoir démontré l'efficacité des ligands du CD36 dans l'atténuation de la réponse inflammatoire médiée par TLR2, le rôle du récepteur CD36 en tant modulateur de l'activation

de l'inflammasome NLRP3, et son implication dans la régulation de l'expression et la libération de l'IL-1 β (Sheedy et al., 2013), nous a poussé à investiguer l'effet de l'azapeptide MPE-001 dans la modulation de la voie de l'inflammasome. L'inflammasome NLRP3 est connu pour son implication dans un large éventail de maladies chroniques, notamment la maladie d'Alzheimer, le diabète de type 2 et plus récemment dans la DMLA (Gao et al., 2015). Notre troisième objectif était d'investiguer l'effet du MPE-001 sur la régulation de l'inflammasome au niveau des macrophages. Pour ce faire, nous avons utilisé les macrophages péritonéaux de souris WT, stimulés pendant 4 heures avec l'agoniste TLR2 et simultanément traités avec le MPE-001. Nos résultats ont montré que le MPE-001 était efficace pour réduire la sécrétion d'IL-1 β au niveau des macrophages péritonéaux stimulés par le R-FSL1, et ce de façon dépendante de la dose. Ces effets étaient associés à une diminution de l'expression protéique de NLRP3, de la pro-caspase-1 et de la caspase-1, montrant pour la première fois l'inhibition de la voie de l'inflammasome NLRP3 par un ligand du CD36.

Par ailleurs, l'internalisation de LDL oxydés par le récepteur CD36 active l'inflammasome NLRP3 et la sécrétion de l'IL-1 β dans les cellules de l'EPR humaines (Gnanaguru et al., 2016). De plus, il a été rapporté dans plusieurs études que l'IL-1 β avait des effets particulièrement délétères au niveau rétinien, et ce en induisant une cytotoxicité qui conduit à l'apoptose et à la perte des photorécepteurs associée à l'inflammation dans la DMLA tardive, y compris l'AG (Hu et al., 2015, Zhao et al., 2015, Eandi et al., 2016). Ceci nous a incités à investiguer les effets inhibiteurs du MPE-001 sur l'inflammasome dans la protection des photorécepteurs contre la cytotoxicité de l'IL-1 β . Pour ce faire, des explants rétiniens ont été incubés avec du milieu de culture conditionné provenant de BMDM stimulés avec le R-FSL1. Les milieux de culture conditionnés ont induit une augmentation du nombre de cellules

apoptotiques dans la couche de photorécepteurs. L'apoptose des photorécepteurs était significativement atténuée en incubant les explants rétiniens avec du milieu de culture conditionné provenant de BMDM stimulés avec le R-FSL1 et traités avec le MPE-001 ou un anticorps anti-IL-1 β . L'effet modulateur du MPE-001 sur l'inflammasome NLRP3 a également été étudié *in vivo* sur des souris WT exposées à la lumière bleue. Nous avons constaté que le MPE-001 réduisait l'expression de caspase-1 et du pro-IL-1 β , en plus d'inhiber l'activation de l'inflammasome NLRP3 et l'IL-1 β dans la rétine endommagée par la lumière bleue. Ces résultats montrent que le MPE-001 semble moduler les récepteurs de type NOD pour assembler les composantes cytoplasmiques de l'inflammasome, résultant en une diminution de la libération de l'IL-1 β par les phagocytes mononucléés au niveau sous-rétinien.

5.2.Effets des ligands du CD36 sur la polarisation des macrophages

Il est bien établi que les phagocytes mononucléés, et plus particulièrement les macrophages, jouent un rôle clé dans l'induction et le maintien de l'inflammation chronique, impliquée dans la pathogenèse de la DMLA. Les phagocytes mononucléés sont subdivisés en fonction des signaux environnementaux et de leur production de cytokines (Italiani and Boraschi, 2014, Martinez and Gordon, 2014, Orihuela et al., 2016). Ainsi, les macrophages activés en présence d'IFN- γ et d'agoniste des TLR deviennent des macrophages M1 proinflammatoires, caractérisés par leur production de cytokines et chimiokines inflammatoires et sont associés à l'induction de lésions tissulaires. D'autre part, les macrophages activés en présence d'IL-4 se différencient en types M2, marqués par la production de la cytokine anti-inflammatoires, sont pro-angiogéniques et impliqués dans le remodelage tissulaire (Italiani and

Boraschi, 2014). Cependant, en raison de leur plasticité, les macrophages avec un phénotype donné peuvent facilement se convertir en un autre phénotype lorsqu'ils sont placés dans un nouveau microenvironnement.

Les stratégies thérapeutiques ciblant les phagocytes mononucléés (microglies et monocytes/macrophages), pourraient constituer une approche prometteuse dans l'inflammation rétinienne. Il a été démontré dans un modèle murin que l'infiltration de macrophages pro-inflammatoires M1 dans l'espace sous-rétinien faisait partie de la phase précoce de la DMLA, qui précède l'apparition de lésions (Cruz-Guilloty et al., 2013). En revanche, ces cellules polarisées en phénotype M2 sont connues pour jouer un rôle protecteur par le remodelage tissulaire dans les phases subaiguës. Elles exercent leur effet par la sécrétion des cytokines protectrices, tels que le TGF- β et l'IL-10, qui peuvent favoriser une activité anti-inflammatoire (Apte et al., 2006). De plus, les macrophages infiltrant constituent les phagocytes prédominants qui éliminent les cellules mortes et les débris tissulaires dans l'espace sous-rétinien (Caicedo et al., 2005). Par conséquent, les thérapies ciblant les phagocytes mononucléés par un conditionnement optimal pourraient constituer une stratégie thérapeutique idéale contre l'inflammation chronique.

Dans ce dernier volet, notre objectif était de déterminer si les effets anti-inflammatoires du MPE-001 pouvaient influencer la polarisation des macrophages. Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle de BMDM sous trois conditions : M0, non polarisé; M1, pro-inflammatoire induit par IFN γ et R-FSL1; et M2, anti-inflammatoire induit par IL-4 et IL-13. Bien que le MPE-001 n'a pas influencé l'expression des marqueurs de surface des différents sous-types de macrophages, on a néanmoins observé une diminution marquée de facteurs pro-inflammatoires, notamment l'expression de iNOS, TNF α , CCL-2 et IL-12, dans les cas de BMDM différenciés

en sous-type M1. Par ailleurs, les signaux inflammatoires du microenvironnement qui soutiennent les fonctions spécialisées des sous-types de macrophages, influencent également le changement de leur métabolisme, de sorte que l'inhibition de la glycolyse ou de la phosphorylation oxydative modifie respectivement l'activation des phénotypes M1 ou M2 (O'Neill et al., 2016, Mills et al., 2016, Tannahill et al., 2013).

Des études antérieures dans notre laboratoire ont montré l'implication du CD36 et de ses ligands synthétiques (hexaréline et EP80317) dans la régulation des voies métaboliques, par l'activation du facteur de transcription PPAR- γ au niveau des macrophages et des adipocytes (Avallone et al., 2006, Bujold et al., 2009, Rodrigue-Way et al., 2007, Demers et al., 2008). Au niveau des macrophages, les ligands du CD36 activent l'efflux du cholestérol en favorisant l'expression des transporteurs *ATP binding cassette (ABC)A1/G1* de façon dépendante de PPAR- γ (Bujold et al., 2009). De plus, les agonistes de PPAR- γ inhibent le phénotype M1 et diminuent l'expression de cytokines inflammatoires (Jiang et al., 1998), tandis que les antagonistes de PPAR- γ stimulent la voie métabolique glycolytique (Guo et al., 2018). En revanche, la différenciation des macrophages M2 entraîne une expression accrue de PPAR- γ , avec une augmentation concomitante des cytokines anti-inflammatoires et la stimulation de la β -oxydation (Ye et al., 2011, Reddy, 2008, Berry et al., 2007).

Dans notre étude, le MPE-001 a induit une augmentation significative de l'expression de PPAR- γ , LxR α , PGC-1 α , STAT6, C/EBP β et COX-2 au niveau des macrophages pro-inflammatoires M1, mais pas des macrophages M0 et M2. Les facteurs de transcription STAT6 et C/EBP β , de même que COX-2, sont connus pour être impliqués dans la polarisation des macrophages vers le phénotype anti-inflammatoires M2 (Kapoor et al., 2015, Ruffell et al.,

2009, Wang et al., 2017, Bujold et al., 2009). De plus, l'induction de l'axe PPAR- γ / PGC-1 α , principaux régulateurs de la biogenèse et de la fonction mitochondriale, suggère que le MPE-001 pourrait interférer dans le métabolisme des macrophages M1 en favorisant l'activation du métabolisme oxydatif (Austin and St-Pierre, 2012). Pour mieux comprendre les changements métaboliques induits par le MPE-001, nous avons utilisé la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) afin d'analyser l'effet du MPE-001 sur 29 métabolites au niveau des différents sous-types BMDM. De façon surprenante, l'analyse métabolomique a révélé que le MPE-001 avait des effets très importants et marqués sur les macrophages M1, et induisait un changement métabolique non pas vers le phénotype M2 (comme nous l'avions anticipé), mais plutôt en ramenant les niveaux des métabolites vers un phénotype similaire aux macrophages non-polarisés de type M0. Par ailleurs, l'analyse en composantes principales ou *principal component analysis* (PCA) des résultats de métabolomique a révélé que les profils des sous-types de macrophages M1, M1 traités avec MPE-001 et M2 ne se chevauchaient pas et formaient chacun un groupe clairement distinct. Par contre, le profil des macrophages M1 traités avec MPE-001 se trouvait dans le même quadrant correspondant au profil des macrophages M0 et M0 traités avec MPE-001. De plus, le traitement des macrophages M1 avec MPE-001 a entraîné une diminution marquée des concentrations de lactate et de dihydroxyacétone phosphate (DHAP), suggérant une réduction de la glycolyse au niveau des macrophages pro-inflammatoires M1. Par ailleurs, l'analyse des profils bioénergétiques des macrophages M1 a montré que le MPE-001 induisait une augmentation significative du rapport du taux de consommation d'oxygène mitochondrial (*oxygen consumption rates*, OCR) sur le taux d'acidification extracellulaire (*extracellular acidification rates*, ECAR) [OCR / ECAR], suggérant une augmentation de la phosphorylation oxydative

mitochondriale et une diminution de la glycolyse. Afin de montrer l'implication de PPAR- γ sur la reprogrammation bioénergétique des macrophages induite par le MPE-001, nous avons utilisé l'inhibiteur sélectif GW9662 (Datta et al., 2015). L'inhibition de PPAR- γ a non seulement annulé l'augmentation du rapport OCR / ECAR induite par MPE-001 dans les macrophages M1, mais a aussi bloqué les actions anti-inflammatoires correspondantes, y compris l'inhibition de la sécrétion des cytokines et chimiokines inflammatoires ainsi que la suppression de l'expression de NLRP3 par le MPE-001. De plus, les effets combinés de l'inhibition de PPAR- γ ont annulé l'activité anti-apoptotique et cytoprotectrice du MPE-001 sur les photorécepteurs en co-culture avec les macrophages de phénotype M1. Ensemble, ces résultats montrent que la modulation du récepteur CD36 par l'azapeptide MPE-001 induit à la fois une inhibition de l'inflammation médiée par TLR2 et un shift du métabolisme des macrophages, qui converge vers une régulation l'activité de la voie NLRP3.

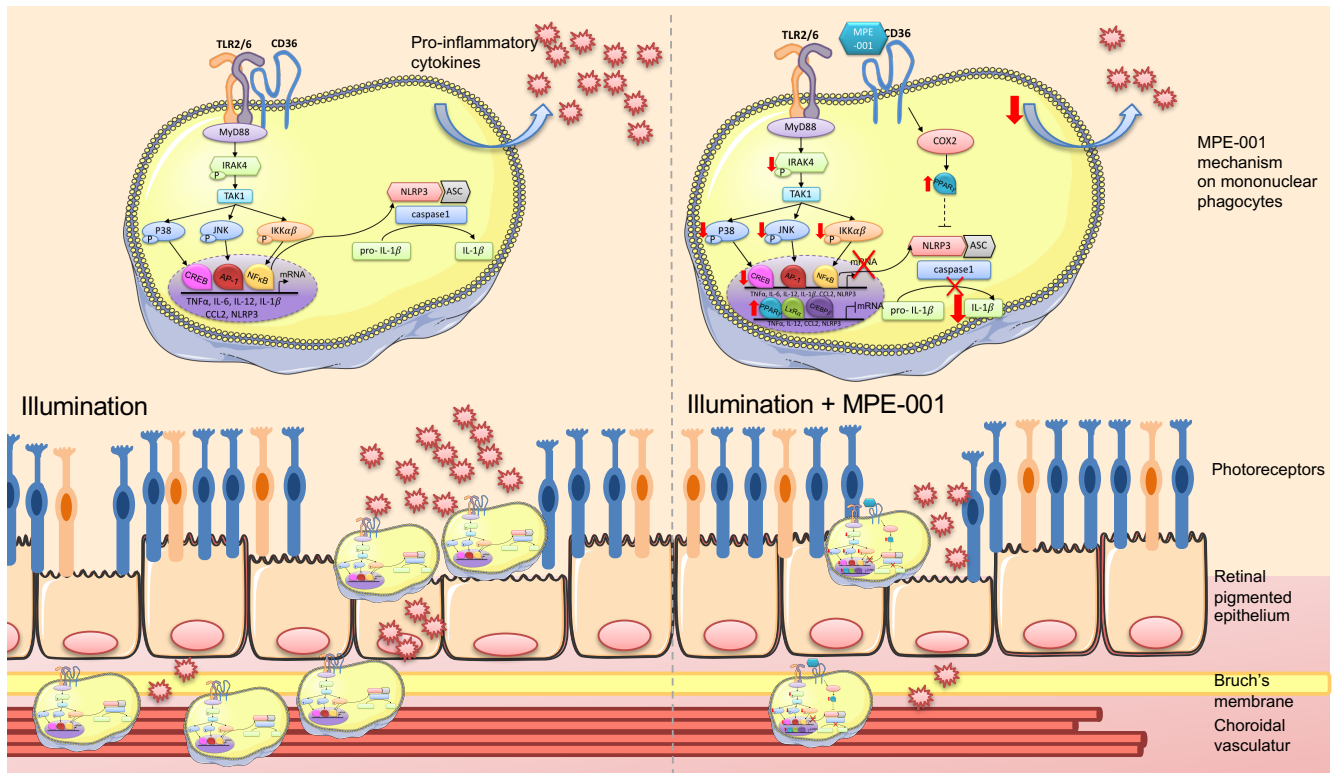


Figure 24. Représentation schématique des principaux mécanismes impliqués dans la modulation immunométabolique de l'inflammation rétinienne par le ligand du CD36, MPE-001

Figure traduite de (Mellal et al., 2019).

Chapitre 6. Perspectives générales

Dans les travaux de cette thèse, nous avons principalement ciblé les macrophages comme phagocytes mononucléés impliqués dans l'inflammation rétinienne. La microglie, comme phagocyte mononucléé impliqué dans les stades précoces de la DMLA, participe à la fois aux fonctions physiologiques et pathophysiologiques de la rétine, en jouant un rôle clé dans la régulation locale du complément ainsi qu'en induisant les processus inflammatoires chroniques au niveau rétinien (Karlstetter et al., 2015). Malgré le fait que les réponses neuroinflammatoires d'une microglie trop réactive jouent un rôle essentiel dans l'apparition et la progression des troubles dégénératifs rétiniens, un blocage complet des fonctions microgliales rétiniennes entraînerait des effets indésirables (Wang et al., 2016). Par conséquent, les approches immunothérapeutiques pour le traitement de la dégénérescence rétinienne devraient être celles qui inhibent les réponses pro-inflammatoires induite par la dérégulation microgliale, tout en améliorant leurs fonctions neuroprotectrices. Étant donné les similitudes qui existent entre les macrophages et les microglies, une étude approfondie des effets immunomodulateurs des ligands du CD36 sur la régulation de l'inflammation rétinienne au niveau microglial serait une approche thérapeutique intéressante pour le traitement de la DMLA. Il serait intéressant de déterminer, à l'aide de dosages ELISA et d'essais d'immunobuvardage, l'effet du MPE-001 sur la modulation de la sécrétion de cytokines (TNF α , CLL2, IL-6, IL-1 β , IL-17, IL-10) et des voies de signalisation inflammatoires (NF κ B, MAPK, NLRP3), chez des lignées cellulaires de microglie primaires immortalisées, tels que les Hu μ glia (humain) ou les Mu μ glia (murin) (Garcia-Mesa et al., 2017), stimulées avec des agonistes TLR2/6 (R-FSL1, LTA). Une étude de co-culture d'explants rétiniens de souris avec des cellules Mu μ glia stimulées avec le R-FSL1

nous permettrait également de déterminer si les ligands du CD36 auraient des effets cytoprotecteurs sur l'apoptose des photorécepteurs. Ces études permettraient de clarifier les effets des ligands du CD36 sur l'inhibition de l'accumulation de microglies dans le modèle de souris déficientes en *Cx3Cr1*.

Par ailleurs, les cellules de l'EPR jouent également un rôle important dans l'homéostasie rétinienne en participant entre autres au maintien de la barrière hémato-rétinienne ainsi qu'en effectuant la phagocytose des segments externes des photorécepteurs (Golestaneh et al., 2017, Strauss, 2005). Au cours du vieillissement, et pendant les premiers stades de la DMLA, la fonction phagocytaire de l'EPR diminue, contribuant aux dommages maculaires en favorisant l'accumulation de dépôts de drusen et de lipofuscine entre l'EPR et la membrane de Bruch, entraînant la mort de l'EPR et le développement de la DMLA (Chen and Xu, 2015). Les cellules de l'EPR expriment divers récepteurs PRR, y compris des TLR et des *nucleotide-binding domain leucine-rich repeat receptor* (NLR) qui peuvent détecter divers stimuli intra ou extracellulaires. De plus, le CD36 est exprimé sur la surface basolatérale des cellules de l'EPR et est principalement impliqué dans l'internalisation et l'élimination des lipides oxydés au niveau sous-rétinien (Picard et al., 2010, Rudolf et al., 2005). L'activation des cellules de l'EPR avec les DAMP liés à l'âge, tels que les AGE, les protéines β -amyloïdes ou les segments externes des photorécepteurs oxydés (oxPOS) induit la régulation à la hausse de gènes pro-inflammatoires tels que $\text{TNF}\alpha$, CCL2, IL-6, et le facteur B du complément (CFB) (Chen and Xu, 2015).

Étant donné l'implication des cellules de l'EPR dans la réponse inflammatoire ainsi que l'expression du récepteur CD36, de futures études sur l'effet du MPE-001 sur les cellules de l'EPR aideront à élucider leur contribution à la modulation de l'inflammation sous-rétinienne, ainsi que sur la fonction phagocytaire de l'EPR. Dans un premier temps, l'effet des ligands du CD36 sur la modulation de la réponse inflammatoire (sécrétion de cytokines et voies de signalisation) au niveau de l'EPR devrait être effectuée en utilisant la lignée hTERT RPE-1 ou une culture de cellules EPR primaires provenant de souris WT ou déficientes en CD36. De plus, l'étude sur la fonction phagocytaire des cellules de l'EPR devrait être effectuée en utilisant des lipoprotéines couplées à un marqueur fluorescent, afin de déterminer si les ligands du CD36 modulent l'internalisation des lipoprotéines marquées par les cellules de l'EPR. Ces études permettraient d'élucider les effets des ligands du CD36 sur un troisième type cellulaire, soit les cellules de l'EPR qui jouent un rôle de premier plan dans de l'AG.

Dans les travaux de cette thèse, nous avons essentiellement utilisé le modèle murin de stress photooxydatif induit par la lumière bleue (Suzuki et al., 2012). Au courant des dernières années, un certain nombre de souris transgéniques qui expriment des mutations génétiques communément associées au développement de la DMLA chez l'homme ont été développées. Cependant, plusieurs limitations dans l'utilisation des rongeurs ont été identifiées. Notamment, les rats et les souris n'ont pas de macula, ni de zone de forte densité de cônes analogue à la fovéa. De plus, les rongeurs ne développent pas de dépôts à la base de l'EPR, qui sont de composition similaire aux drusen chez l'homme, reflétant peut-être une différence dans la manière dont les lipides sont transportés à travers l'EPR chez les rongeurs. Parmi les mammifères avec une fovéa, seuls les primates simiens offrent la possibilité d'étudier le rôle des drusen dans la DMLA (Gouras et al., 2008, Fletcher et al., 2014). De plus, les singes et les

humains ont des polymorphismes génétiques similaires au niveau des gènes *HTRA1* et *ARMS2*, qui sont associés à la formation de drusen, suggérant des facteurs de risque génétiques similaires (Francis et al., 2008). Ainsi, dans l'optique d'amener un jour l'azapeptide vers des études cliniques chez l'humain, il serait hautement pertinent de valider les effets protecteurs des azapeptides dans le développement de la DMLA sur des modèles de primates.

Conclusion

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse nous ont permis de montrer que la modulation du récepteur CD36 par l'azapeptide MPE-001 pourrait s'avérer être une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Les effets anti-inflammatoires et immunométaboliques des ligands synthétiques du récepteur CD36 sont engendrés par la modulation de la réponse inflammatoire médiée par le TLR2 et les voies de signalisations associées, de même que par la régulation de l'inflammasome NLRP3 et de PPAR γ , entraînant une réduction de l'infiltration de phagocytes mononucléés pro-inflammatoires et favorisant la préservation des photorécepteurs des au niveau de la rétine endommagée par le stress photo-oxydatif.

Bibliographie

- ABE, T., SHIMAMURA, M., JACKMAN, K., KURINAMI, H., ANRATHER, J., ZHOU, P. & IADECOLA, C. 2010. Key role of CD36 in Toll-like receptor 2 signaling in cerebral ischemia. *Stroke*, 41, 898-904.
- ABELA, G. S. 2010. Cholesterol crystals piercing the arterial plaque and intima trigger local and systemic inflammation. *J Clin Lipidol*, 4, 156-64.
- ABRAMSON, S. L. & GALLIN, J. I. 1990. IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes. *J Immunol*, 144, 625-30.
- ABUMRAD, N. A., EL-MAGHRABI, M. R., AMRI, E. Z., LOPEZ, E. & GRIMALDI, P. A. 1993. Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36. *J Biol Chem*, 268, 17665-8.
- ABUMRAD, N. A. & GOLDBERG, I. J. 2016. CD36 actions in the heart: Lipids, calcium, inflammation, repair and more? *Biochim Biophys Acta*, 1861, 1442-9.
- ACH, T., HUISINGH, C., MCGWIN, G., JR., MESSINGER, J. D., ZHANG, T., BENTLEY, M. J., GUTIERREZ, D. B., ABLONCZY, Z., SMITH, R. T., SLOAN, K. R. & CURCIO, C. A. 2014. Quantitative autofluorescence and cell density maps of the human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55, 4832-41.
- AGE-RELATED EYE DISEASE STUDY 2 RESEARCH, G. 2013. Lutein + zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA*, 309, 2005-15.
- AGE-RELATED EYE DISEASE STUDY RESEARCH, G. 2001. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol*, 119, 1417-36.
- AITMAN, T. J., COOPER, L. D., NORSWORTHY, P. J., WAHID, F. N., GRAY, J. K., CURTIS, B. R., MCKEIGUE, P. M., KWIATKOWSKI, D., GREENWOOD, B. M., SNOW, R. W., HILL, A. V. & SCOTT, J. 2000. Malaria susceptibility and CD36 mutation. *Nature*, 405, 1015-6.
- AITMAN, T. J., GLAZIER, A. M., WALLACE, C. A., COOPER, L. D., NORSWORTHY, P. J., WAHID, F. N., AL-MAJALI, K. M., TREMBLING, P. M., MANN, C. J., SHOULDERS, C. C., GRAF, D., ST LEZIN, E., KURTZ, T. W., KREN, V., PRAVENEK, M., IBRAHIMI, A., ABUMRAD, N. A., STANTON, L. W. & SCOTT, J. 1999. Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nat Genet*, 21, 76-83.
- AKHTAR-SCHAFFER, I., WANG, L., KROHNE, T. U., XU, H. & LANGMANN, T. 2018. Modulation of three key innate immune pathways for the most common retinal degenerative diseases. *EMBO Mol Med*, 10.
- AL-ZAMIL, W. M. & YASSIN, S. A. 2017. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clin Interv Aging*, 12, 1313-1330.
- ALKHATATBEH, M. J., MHAIDAT, N. M., ENJETI, A. K., LINCZ, L. F. & THORNE, R. F. 2011. The putative diabetic plasma marker, soluble CD36, is non-cleaved, non-soluble and entirely associated with microparticles. *J Thromb Haemost*, 9, 844-51.

- ALLEN, M. H., BARKER, J. N. & MACDONALD, D. M. 1991. Keratinocyte expression of CD36 antigen in benign and malignant epidermal cell-derived tumours. *J Cutan Pathol*, 18, 198-203.
- AMBATI, J., ANAND, A., FERNANDEZ, S., SAKURAI, E., LYNN, B. C., KUZIEL, W. A., ROLLINS, B. J. & AMBATI, B. K. 2003. An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice. *Nat Med*, 9, 1390-7.
- AMBATI, J., ATKINSON, J. P. & GELFAND, B. D. 2013. Immunology of age-related macular degeneration. *Nat Rev Immunol*, 13, 438-51.
- ANDERSON, C. R., HASTINGS, N. E., BLACKMAN, B. R. & PRICE, R. J. 2008. Capillary sprout endothelial cells exhibit a CD36 low phenotype: regulation by shear stress and vascular endothelial growth factor-induced mechanism for attenuating anti-proliferative thrombospondin-1 signaling. *Am J Pathol*, 173, 1220-8.
- ANDERSON, D. H., MULLINS, R. F., HAGEMAN, G. S. & JOHNSON, L. V. 2002. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophthalmol*, 134, 411-31.
- ANDERSON, D. H., RADEKE, M. J., GALLO, N. B., CHAPIN, E. A., JOHNSON, P. T., CURLETTI, C. R., HANCOX, L. S., HU, J., EBRIGHT, J. N., MALEK, G., HAUSER, M. A., RICKMAN, C. B., BOK, D., HAGEMAN, G. S. & JOHNSON, L. V. 2010. The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog Retin Eye Res*, 29, 95-112.
- APTE, R. S., RICHTER, J., HERNDON, J. & FERGUSON, T. A. 2006. Macrophages inhibit neovascularization in a murine model of age-related macular degeneration. *PLoS Med*, 3, e310.
- ARDELJAN, D. & CHAN, C. C. 2013. Aging is not a disease: distinguishing age-related macular degeneration from aging. *Prog Retin Eye Res*, 37, 68-89.
- ARESCOUG, T. & GORDON, S. 2009. Scavenger receptors: role in innate immunity and microbial pathogenesis. *Cell Microbiol*, 11, 1160-9.
- ARMESILLA, A. L. & VEGA, M. A. 1994. Structural organization of the gene for human CD36 glycoprotein. *J Biol Chem*, 269, 18985-91.
- ASCH, A. S., BARNWELL, J., SILVERSTEIN, R. L. & NACHMAN, R. L. 1987. Isolation of the thrombospondin membrane receptor. *J Clin Invest*, 79, 1054-61.
- AUDO, I., BUJAKOWSKA, K., ORHAN, E., EL SHAMIEH, S., SENNLAUB, F., GUILLONNEAU, X., ANTONIO, A., MICHIELS, C., LANCELOT, M. E., LETEXIER, M., SARAIVA, J. P., NGUYEN, H., LUU, T. D., LEVEILLARD, T., POCH, O., DOLLFUS, H., PAQUES, M., GOUREAU, O., MOHAND-SAID, S., BHATTACHARYA, S. S., SAHEL, J. A. & ZEITZ, C. 2014. The familial dementia gene revisited: a missense mutation revealed by whole-exome sequencing identifies ITM2B as a candidate gene underlying a novel autosomal dominant retinal dystrophy in a large family. *Hum Mol Genet*, 23, 491-501.
- AUSTIN, S. & ST-PIERRE, J. 2012. PGC1alpha and mitochondrial metabolism--emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *J Cell Sci*, 125, 4963-71.
- AVALLONE, R., DEMERS, A., RODRIGUE-WAY, A., BUJOLD, K., HARB, D., ANGHEL, S., WAHLI, W., MARLEAU, S., ONG, H. & TREMBLAY, A. 2006. A growth hormone-releasing peptide that binds scavenger receptor CD36 and ghrelin receptor up-regulates sterol transporters and cholesterol efflux in macrophages through

- a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent pathway. *Mol Endocrinol*, 20, 3165-78.
- BABAEV, V. R., WHITESELL, R. R., LI, L., LINTON, M. F., FAZIO, S. & MAY, J. M. 2011. Selective macrophage ascorbate deficiency suppresses early atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*, 50, 27-36.
- BANESH, S. & TRIVEDI, V. 2019. Therapeutic potentials of Scavenger receptor CD36 mediated innate immune responses against infectious and non-infectious diseases. *Curr Drug Discov Technol*.
- BARANOVA, I. N., BOCHAROV, A. V., VISHNYAKOVA, T. G., KURLANDER, R., CHEN, Z., FU, D., ARIAS, I. M., CSAKO, G., PATTERSON, A. P. & EGGERMAN, T. L. 2010. CD36 is a novel serum amyloid A (SAA) receptor mediating SAA binding and SAA-induced signaling in human and rodent cells. *J Biol Chem*, 285, 8492-506.
- BARANOVA, I. N., KURLANDER, R., BOCHAROV, A. V., VISHNYAKOVA, T. G., CHEN, Z., REMALEY, A. T., CSAKO, G., PATTERSON, A. P. & EGGERMAN, T. L. 2008. Role of human CD36 in bacterial recognition, phagocytosis, and pathogen-induced JNK-mediated signaling. *J Immunol*, 181, 7147-56.
- BARANOVA, I. N., VISHNYAKOVA, T. G., BOCHAROV, A. V., KURLANDER, R., CHEN, Z., KIMELMAN, M. L., REMALEY, A. T., CSAKO, G., THOMAS, F., EGGERMAN, T. L. & PATTERSON, A. P. 2005. Serum amyloid A binding to CLA-1 (CD36 and LIMPII analogous-1) mediates serum amyloid A protein-induced activation of ERK1/2 and p38 mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem*, 280, 8031-40.
- BARROSO, I., GURNELL, M., CROWLEY, V. E., AGOSTINI, M., SCHWABE, J. W., SOOS, M. A., MASLEN, G. L., WILLIAMS, T. D., LEWIS, H., SCHAFER, A. J., CHATTERJEE, V. K. & O'RAHILLY, S. 1999. Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature*, 402, 880-3.
- BARTON, G. M. & MEDZHITOV, R. 2003. Toll-like receptor signaling pathways. *Science*, 300, 1524-5.
- BASSAGANYA-RIERA, J., MISYAK, S., GURI, A. J. & HONTECILLAS, R. 2009. PPAR gamma is highly expressed in F4/80(hi) adipose tissue macrophages and dampens adipose-tissue inflammation. *Cell Immunol*, 258, 138-46.
- BAUERNFEIND, F., BARTOK, E., RIEGER, A., FRANCHI, L., NUNEZ, G. & HORNUNG, V. 2011. Cutting edge: reactive oxygen species inhibitors block priming, but not activation, of the NLRP3 inflammasome. *J Immunol*, 187, 613-7.
- BAUERNFEIND, F. G., HORVATH, G., STUTZ, A., ALNEMRI, E. S., MACDONALD, K., SPEERT, D., FERNANDES-ALNEMRI, T., WU, J., MONKS, B. G., FITZGERALD, K. A., HORNUNG, V. & LATZ, E. 2009. Cutting edge: NF-kappaB activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *J Immunol*, 183, 787-91.
- BEATTY, S., KOH, H., PHIL, M., HENSON, D. & BOULTON, M. 2000. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 45, 115-34.
- BEHNKE, V., WOLF, A. & LANGMANN, T. 2020. The role of lymphocytes and phagocytes in age-related macular degeneration (AMD). *Cell Mol Life Sci*, 77, 781-788.
- BELLEZZA, I. 2018. Oxidative Stress in Age-Related Macular Degeneration: Nrf2 as Therapeutic Target. *Front Pharmacol*, 9, 1280.

- BENEDETTO, P. D., RUSCITTI, P., VADASZ, Z., TOUBI, E. & GIACOMELLI, R. 2019. Macrophages with regulatory functions, a possible new therapeutic perspective in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 102369.
- BERLANGA-ACOSTA, J., ABREU-CRUZ, A., HERRERA, D. G. B., MENDOZA-MARI, Y., RODRIGUEZ-ULLOA, A., GARCIA-OJALVO, A., FALCON-CAMA, V., HERNANDEZ-BERNAL, F., BEICHEN, Q. & GUILLEN-NIETO, G. 2017. Synthetic Growth Hormone-Releasing Peptides (GHRPs): A Historical Appraisal of the Evidences Supporting Their Cytoprotective Effects. *Clin Med Insights Cardiol*, 11, 1179546817694558.
- BERRY, A., BALARD, P., COSTE, A., OLAGNIER, D., LAGANE, C., AUTHIER, H., BENOIT-VICAL, F., LEPERT, J. C., SEGUELA, J. P., MAGNAVAL, J. F., CHAMBON, P., METZGER, D., DESVERGNE, B., WAHLI, W., AUWERX, J. & PIPY, B. 2007. IL-13 induces expression of CD36 in human monocytes through PPARgamma activation. *Eur J Immunol*, 37, 1642-52.
- BEUTLER, B., JIANG, Z., GEORGEL, P., CROZAT, K., CROKER, B., RUTSCHMANN, S., DU, X. & HOEBE, K. 2006. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu Rev Immunol*, 24, 353-89.
- BHATTACHARYA, S. & AGGARWAL, A. 2019. M2 macrophages and their role in rheumatic diseases. *Rheumatol Int*, 39, 769-780.
- BISWAS, S. K., CHITTEZHATH, M., SHALOVA, I. N. & LIM, J. Y. 2012. Macrophage polarization and plasticity in health and disease. *Immunol Res*, 53, 11-24.
- BODART, V., BOUCHARD, J. F., MCNICOLL, N., ESCHER, E., CARRIERE, P., GHIGO, E., SEJLITZ, T., SIROIS, M. G., LAMONTAGNE, D. & ONG, H. 1999. Identification and characterization of a new growth hormone-releasing peptide receptor in the heart. *Circ Res*, 85, 796-802.
- BODART, V., FEBBRAIO, M., DEMERS, A., MCNICOLL, N., POHANKOVA, P., PERREAULT, A., SEJLITZ, T., ESCHER, E., SILVERSTEIN, R. L., LAMONTAGNE, D. & ONG, H. 2002. CD36 mediates the cardiovascular action of growth hormone-releasing peptides in the heart. *Circ Res*, 90, 844-9.
- BONEN, A., CAMPBELL, S. E., BENTON, C. R., CHABOWSKI, A., COORT, S. L., HAN, X. X., KOONEN, D. P., GLATZ, J. F. & LUIKEN, J. J. 2004a. Regulation of fatty acid transport by fatty acid translocase/CD36. *Proc Nutr Soc*, 63, 245-9.
- BONEN, A., LUIKEN, J. J., ARUMUGAM, Y., GLATZ, J. F. & TANDON, N. N. 2000. Acute regulation of fatty acid uptake involves the cellular redistribution of fatty acid translocase. *J Biol Chem*, 275, 14501-8.
- BONEN, A., PAROLIN, M. L., STEINBERG, G. R., CALLES-ESCANDON, J., TANDON, N. N., GLATZ, J. F., LUIKEN, J. J., HEIGENHAUSER, G. J. & DYCK, D. J. 2004b. Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. *FASEB J*, 18, 1144-6.
- BOOIJ, J. C., BAAS, D. C., BEISEKEEVA, J., GORGELS, T. G. & BERGEN, A. A. 2010. The dynamic nature of Bruch's membrane. *Prog Retin Eye Res*, 29, 1-18.
- BOUHLEL, M. A., DERUDAS, B., RIGAMONTI, E., DIEVART, R., BROZEK, J., HAULON, S., ZAWADZKI, C., JUDE, B., TORPIER, G., MARX, N., STAELS, B. & CHINETTI-GBAGUIDI, G. 2007. PPARgamma activation primes human monocytes

- into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties. *Cell Metab*, 6, 137-43.
- BOULLIER, A., BIRD, D. A., CHANG, M. K., DENNIS, E. A., FRIEDMAN, P., GILLOTRE-TAYLOR, K., HORKKO, S., PALINSKI, W., QUEHENBERGER, O., SHAW, P., STEINBERG, D., TERPSTRA, V. & WITZTUM, J. L. 2001. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*, 947, 214-22; discussion 222-3.
- BOULTON, M. & DAYHAW-BARKER, P. 2001. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye (Lond)*, 15, 384-9.
- BOURNE, R. R. A., FLAXMAN, S. R., BRAITHWAITE, T., CICINELLI, M. V., DAS, A., JONAS, J. B., KEEFFE, J., KEMPEN, J. H., LEASHER, J., LIMBURG, H., NAIDOO, K., PESUDOV, K., RESNIKOFF, S., SILVESTER, A., STEVENS, G. A., TAHHAN, N., WONG, T. Y., TAYLOR, H. R. & VISION LOSS EXPERT, G. 2017. Magnitude, temporal trends, and projections of the global prevalence of blindness and distance and near vision impairment: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 5, e888-e897.
- BOWERS, C. Y., MOMANY, F. A., REYNOLDS, G. A. & HONG, A. 1984. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology*, 114, 1537-45.
- BOYER, D. S., SCHMIDT-ERFURTH, U., VAN LOOKEREN CAMPAGNE, M., HENRY, E. C. & BRITAIN, C. 2017. The Pathophysiology of Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration and the Complement Pathway as a Therapeutic Target. *Retina*, 37, 819-835.
- BRESSLER, N. M., BRESSLER, S. B., SEDDON, J. M., GRAGOUDAS, E. S. & JACOBSON, L. P. 1988. Drusen characteristics in patients with exudative versus non-exudative age-related macular degeneration. *Retina*, 8, 109-14.
- BRINGMANN, A. & REICHENBACH, A. 2001. Role of Muller cells in retinal degenerations. *Front Biosci*, 6, E72-92.
- BROWN, C. N., GREEN, B. D., THOMPSON, R. B., DEN HOLLANDER, A. I., LENGYEL, I. & CONSORTIUM, E.-R. 2018. Metabolomics and Age-Related Macular Degeneration. *Metabolites*, 9.
- BROWN, D. M., KAISER, P. K., MICHELS, M., SOUBRANE, G., HEIER, J. S., KIM, R. Y., SY, J. P., SCHNEIDER, S. & GROUP, A. S. 2006. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*, 355, 1432-44.
- BRUBAN, J., MAOUI, A., CHALOUR, N., AN, N., JONET, L., FEUMI, C., TRETON, J., SENNLAUB, F., BEHAR-COHEN, F., MASCARELLI, F. & DINET, V. 2011. CCR2/CCL2-mediated inflammation protects photoreceptor cells from amyloid-beta-induced apoptosis. *Neurobiol Dis*, 42, 55-72.
- BRUNI, F., PASQUI, A. L., PASTORELLI, M., BOVA, G., CERCIGNANI, M., PALAZZUOLI, A., SAWAMURA, T., GIOFFRE, W. R., AUTERI, A. & PUC CETTI, L. 2005. Different effect of statins on platelet oxidized-LDL receptor (CD36 and LOX-1) expression in hypercholesterolemic subjects. *Clin Appl Thromb Hemost*, 11, 417-28.
- BUJOLD, K., RHAINDS, D., JOSSART, C., FEBBRAIO, M., MARLEAU, S. & ONG, H. 2009. CD36-mediated cholesterol efflux is associated with PPARgamma activation via a MAPK-dependent COX-2 pathway in macrophages. *Cardiovasc Res*, 83, 457-64.

- CAICEDO, A., ESPINOSA-HEIDMANN, D. G., PINA, Y., HERNANDEZ, E. P. & COUSINS, S. W. 2005. Blood-derived macrophages infiltrate the retina and activate Muller glial cells under experimental choroidal neovascularization. *Exp Eye Res*, 81, 38-47.
- CALIPPE, B., AUGUSTIN, S., BEGUIER, F., CHARLES-MESSANCE, H., POUPEL, L., CONART, J. B., HU, S. J., LAVALETTE, S., FAUVET, A., RAYES, J., LEVY, O., RAOUL, W., FITTING, C., DENEFLÉ, T., PICKERING, M. C., HARRIS, C., JORIEUX, S., SULLIVAN, P. M., SAHEL, J. A., KAROYAN, P., SAPIEHA, P., GUILLONNEAU, X., GAUTIER, E. L. & SENNLAUB, F. 2017. Complement Factor H Inhibits CD47-Mediated Resolution of Inflammation. *Immunity*, 46, 261-272.
- CALVO, D., GOMEZ-CORONADO, D., SUAREZ, Y., LASUNCION, M. A. & VEGA, M. A. 1998. Human CD36 is a high affinity receptor for the native lipoproteins HDL, LDL, and VLDL. *J Lipid Res*, 39, 777-88.
- CAMANNI, F., GHIGO, E. & ARVAT, E. 1998. Growth hormone-releasing peptides and their analogs. *Front Neuroendocrinol*, 19, 47-72.
- CAMERON, D. J., YANG, Z., GIBBS, D., CHEN, H., KAMINOH, Y., JORGENSEN, A., ZENG, J., LUO, L., BRINTON, E., BRINTON, G., BRAND, J. M., BERNSTEIN, P. S., ZABRISKIE, N. A., TANG, S., CONSTANTINE, R., TONG, Z. & ZHANG, K. 2007. HTRA1 variant confers similar risks to geographic atrophy and neovascular age-related macular degeneration. *Cell Cycle*, 6, 1122-5.
- CAO, D., LUO, J., CHEN, D., XU, H., SHI, H., JING, X. & ZANG, W. 2016. CD36 regulates lipopolysaccharide-induced signaling pathways and mediates the internalization of Escherichia coli in cooperation with TLR4 in goat mammary gland epithelial cells. *Sci Rep*, 6, 23132.
- CAO, X., SHEN, D., PATEL, M. M., TUO, J., JOHNSON, T. M., OLSEN, T. W. & CHAN, C. C. 2011. Macrophage polarization in the maculae of age-related macular degeneration: a pilot study. *Pathol Int*, 61, 528-35.
- CARVALHO, M. D., VENDRAME, C. M., KETELHUTH, D. F., YAMASHIRO-KANASHIRO, E. H., GOTO, H. & GIDLUND, M. 2010. High-density lipoprotein inhibits the uptake of modified low-density lipoprotein and the expression of CD36 and FcγRI. *J Atheroscler Thromb*, 17, 844-57.
- CHABOWSKI, A., COORT, S. L., CALLES-ESCANDON, J., TANDON, N. N., GLATZ, J. F., LUIKEN, J. J. & BONEN, A. 2004. Insulin stimulates fatty acid transport by regulating expression of FAT/CD36 but not FABPpm. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287, E781-9.
- CHAKRAVARTHY, U., AUGOOD, C., BENTHAM, G. C., DE JONG, P. T., RAHU, M., SELAND, J., SOUBRANE, G., TOMAZZOLI, L., TOPOUZIS, F., VINGERLING, J. R., VIOQUE, J., YOUNG, I. S. & FLETCHER, A. E. 2007. Cigarette smoking and age-related macular degeneration in the EUREYE Study. *Ophthalmology*, 114, 1157-63.
- CHAN, C. C. & ARDELJAN, D. 2014. Molecular pathology of macrophages and interleukin-17 in age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol*, 801, 193-8.
- CHAN, C. C., ROSS, R. J., SHEN, D., DING, X., MAJUMDAR, Z., BOJANOWSKI, C. M., ZHOU, M., SALEM, N., JR., BONNER, R. & TUO, J. 2008. Ccl2/Cx3cr1-deficient mice: an animal model for age-related macular degeneration. *Ophthalmic Res*, 40, 124-8.

- CHEN, J., CONNOR, K. M. & SMITH, L. E. 2007. Overstaying their welcome: defective CX3CR1 microglia eyed in macular degeneration. *J Clin Invest*, 117, 2758-62.
- CHEN, K., FEBBRAIO, M., LI, W. & SILVERSTEIN, R. L. 2008. A specific CD36-dependent signaling pathway is required for platelet activation by oxidized low-density lipoprotein. *Circ Res*, 102, 1512-9.
- CHEN, M., LUO, C., ZHAO, J., DEVARAJAN, G. & XU, H. 2019. Immune regulation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res*, 69, 159-172.
- CHEN, M. & XU, H. 2015. Parainflammation, chronic inflammation, and age-related macular degeneration. *J Leukoc Biol*, 98, 713-25.
- CHEN, M., YANG, Y., BRAUNSTEIN, E., GEORGESON, K. E. & HARMON, C. M. 2001. Gut expression and regulation of FAT/CD36: possible role in fatty acid transport in rat enterocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281, E916-23.
- CHEN, Y. P., TSAI, C. W., SHEN, C. Y., DAY, C. H., YEH, Y. L., CHEN, R. J., HO, T. J., PADMA, V. V., KUO, W. W. & HUANG, C. Y. 2016. Palmitic acid interferes with energy metabolism balance by adversely switching the SIRT1-CD36-fatty acid pathway to the PKC zeta-GLUT4-glucose pathway in cardiomyoblasts. *J Nutr Biochem*, 31, 137-49.
- CHEREPANOFF, S., MCMENAMIN, P., GILLIES, M. C., KETTLE, E. & SARCS, S. H. 2010. Bruch's membrane and choroidal macrophages in early and advanced age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol*, 94, 918-25.
- CHEW, E. Y., CLEMONS, T. E., AGRON, E., SPERDUTO, R. D., SANGIOVANNI, J. P., DAVIS, M. D., FERRIS, F. L., 3RD & AGE-RELATED EYE DISEASE STUDY RESEARCH, G. 2014. Ten-year follow-up of age-related macular degeneration in the age-related eye disease study: AREDS report no. 36. *JAMA Ophthalmol*, 132, 272-7.
- CHINETTI-GBAGUIDI, G., COLIN, S. & STAELS, B. 2015. Macrophage subsets in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*, 12, 10-7.
- CHINNERY, H. R., MCLENACHAN, S., HUMPHRIES, T., KEZIC, J. M., CHEN, X., RUITENBERG, M. J. & MCMENAMIN, P. G. 2012. Accumulation of murine subretinal macrophages: effects of age, pigmentation and CX3CR1. *Neurobiol Aging*, 33, 1769-76.
- CHONG, J., SOUFAN, O., LI, C., CARAUS, I., LI, S., BOURQUE, G., WISHART, D. S. & XIA, J. 2018. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Res*.
- CHOW, A., BROWN, B. D. & MERAD, M. 2011. Studying the mononuclear phagocyte system in the molecular age. *Nat Rev Immunol*, 11, 788-98.
- CHRISTEN, W. G., GLYNN, R. J., MANSON, J. E., AJANI, U. A. & BURING, J. E. 1996. A prospective study of cigarette smoking and risk of age-related macular degeneration in men. *JAMA*, 276, 1147-51.
- CHU, L. Y., RAMAKRISHNAN, D. P. & SILVERSTEIN, R. L. 2013. Thrombospondin-1 modulates VEGF signaling via CD36 by recruiting SHP-1 to VEGFR2 complex in microvascular endothelial cells. *Blood*, 122, 1822-32.
- CICINELLI, M. V., RABIOLO, A., SACCONI, R., CARNEVALI, A., QUERQUES, L., BANDELLO, F. & QUERQUES, G. 2018. Optical coherence tomography angiography in dry age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 63, 236-244.

- CLEMETSON, K. J., PFUELLER, S. L., LUSCHER, E. F. & JENKINS, C. S. 1977. Isolation of the membrane glycoproteins of human blood platelets by lectin affinity chromatography. *Biochim Biophys Acta*, 464, 493-508.
- CLEZARDIN, P., FRAPPART, L., CLERGET, M., PECHOUX, C. & DELMAS, P. D. 1993. Expression of thrombospondin (TSP1) and its receptors (CD36 and CD51) in normal, hyperplastic, and neoplastic human breast. *Cancer Res*, 53, 1421-30.
- COBURN, C. T., KNAPP, F. F., JR., FEBBRAIO, M., BEETS, A. L., SILVERSTEIN, R. L. & ABUMRAD, N. A. 2000. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem*, 275, 32523-9.
- COLEMAN, H. R., CHAN, C. C., FERRIS, F. L., 3RD & CHEW, E. Y. 2008. Age-related macular degeneration. *Lancet*, 372, 1835-45.
- COLIJN, J. M., BUITENDIJK, G. H. S., PROKOFYEVA, E., ALVES, D., CACHULO, M. L., KHAWAJA, A. P., COUGNARD-GREGOIRE, A., MERLE, B. M. J., KORB, C., ERKE, M. G., BRON, A., ANASTASOPOULOS, E., MEESTER-SMOOR, M. A., SEGATO, T., PIERMAROCCHI, S., DE JONG, P., VINGERLING, J. R., TOPOUZIS, F., CREUZOT-GARCHER, C., BERTELSEN, G., PFEIFFER, N., FLETCHER, A. E., FOSTER, P. J., SILVA, R., KOROBELNIK, J. F., DELCOURT, C., KLAVER, C. C. W., CONSORTIUM, E.-R. & EUROPEAN EYE EPIDEMIOLOGY, C. 2017. Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in Europe: The Past and the Future. *Ophthalmology*, 124, 1753-1763.
- COLLOT-TEIXEIRA, S., MARTIN, J., MCDERMOTT-ROE, C., POSTON, R. & MCGREGOR, J. L. 2007. CD36 and macrophages in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*, 75, 468-77.
- COMBADIÈRE, C., FEUMI, C., RAOUL, W., KELLER, N., RODERO, M., PEZARD, A., LAVALETTE, S., HOUSSEIER, M., JONET, L., PICARD, E., DEBRE, P., SIRINYAN, M., DETERRE, P., FERROUKHI, T., COHEN, S. Y., CHAUVAUD, D., JEANNY, J. C., CHEMTOB, S., BEHAR-COHEN, F. & SENNLAUB, F. 2007. CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration. *J Clin Invest*, 117, 2920-8.
- COMBADIÈRE, C., POTTEAUX, S., GAO, J. L., ESPOSITO, B., CASANOVA, S., LEE, E. J., DEBRE, P., TEDGUI, A., MURPHY, P. M. & MALLAT, Z. 2003. Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice. *Circulation*, 107, 1009-16.
- CONROY, H., MARSHALL, N. A. & MILLS, K. H. 2008. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene*, 27, 168-80.
- CONSTABLE, I. J., LAI, C. M., MAGNO, A. L., FRENCH, M. A., BARONE, S. B., SCHWARTZ, S. D., BLUMENKRANZ, M. S., DEGLI-ESPOSTI, M. A. & RAKOCZY, E. P. 2017. Gene Therapy in Neovascular Age-related Macular Degeneration: Three-Year Follow-up of a Phase 1 Randomized Dose Escalation Trial. *Am J Ophthalmol*, 177, 150-158.
- CORACI, I. S., HUSEMANN, J., BERMAN, J. W., HULETTE, C., DUFOUR, J. H., CAMPANELLA, G. K., LUSTER, A. D., SILVERSTEIN, S. C. & EL-KHOURY, J. B. 2002. CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to beta-amyloid fibrils. *Am J Pathol*, 160, 101-12.

- CRABB, J. W., MIYAGI, M., GU, X., SHADRACH, K., WEST, K. A., SAKAGUCHI, H., KAMEI, M., HASAN, A., YAN, L., RAYBORN, M. E., SALOMON, R. G. & HOLLYFIELD, J. G. 2002. Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 14682-7.
- CRAMER, T., YAMANISHI, Y., CLAUSEN, B. E., FORSTER, I., PAWLINSKI, R., MACKMAN, N., HAASE, V. H., JAENISCH, R., CORR, M., NIZET, V., FIRESTEIN, G. S., GERBER, H. P., FERRARA, N. & JOHNSON, R. S. 2003. HIF-1alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell*, 112, 645-57.
- CROWTHER, M., BROWN, N. J., BISHOP, E. T. & LEWIS, C. E. 2001. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol*, 70, 478-90.
- CRUZ-GUILLOT, F., SAEED, A. M., ECHEGARAY, J. J., DUFFORT, S., BALLMICK, A., TAN, Y., BETANCOURT, M., VITERI, E., RAMKHELLAWAN, G. C., EWALD, E., FEUER, W., HUANG, D., WEN, R., HONG, L., WANG, H., LAIRD, J. M., SENE, A., APTE, R. S., SALOMON, R. G., HOLLYFIELD, J. G. & PEREZ, V. L. 2013. Infiltration of proinflammatory m1 macrophages into the outer retina precedes damage in a mouse model of age-related macular degeneration. *Int J Inflamm*, 2013, 503725.
- CURCIO, C. A. 2018. Soft Drusen in Age-Related Macular Degeneration: Biology and Targeting Via the Oil Spill Strategies. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 59, AMD160-AMD181.
- CURCIO, C. A., JOHNSON, M., HUANG, J. D. & RUDOLF, M. 2009. Aging, age-related macular degeneration, and the response-to-retention of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Prog Retin Eye Res*, 28, 393-422.
- DARVEAU, R. P., PHAM, T. T., LEMLEY, K., REIFE, R. A., BAINBRIDGE, B. W., COATS, S. R., HOWALD, W. N., WAY, S. S. & HAJJAR, A. M. 2004. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infect Immun*, 72, 5041-51.
- DASTGHEIB, K. & GREEN, W. R. 1994. Granulomatous reaction to Bruch's membrane in age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*, 112, 813-8.
- DATTA, G., KRAMER, P. A., JOHNSON, M. S., SAWADA, H., SMYTHIES, L. E., CROSSMAN, D. K., CHACKO, B., BALLINGER, S. W., WESTBROOK, D. G., MAYAKONDA, P., ANANTHARAMAIAH, G. M., DARLEY-USMAR, V. M. & WHITE, C. R. 2015. Bioenergetic programming of macrophages by the apolipoprotein A-I mimetic peptide 4F. *Biochem J*, 467, 517-27.
- DAWSON, D. W., PEARCE, S. F., ZHONG, R., SILVERSTEIN, R. L., FRAZIER, W. A. & BOUCK, N. P. 1997. CD36 mediates the In vitro inhibitory effects of thrombospondin-1 on endothelial cells. *J Cell Biol*, 138, 707-17.
- DE OLIVEIRA SILVA, C., DELBOSC, S., ARAIS, C., MONNIER, L., CRISTOL, J. P. & PARES-HERBUTE, N. 2008. Modulation of CD36 protein expression by AGEs and insulin in aortic VSMCs from diabetic and non-diabetic rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18, 23-30.
- DE RAAD, S., SZCZESNY, P. J., MUNZ, K. & REME, C. E. 1996. Light damage in the rat retina: glial fibrillary acidic protein accumulates in Muller cells in correlation with photoreceptor damage. *Ophthalmic Res*, 28, 99-107.

- DELORI, F. C., DOREY, C. K., STAURENGHI, G., AREND, O., GOGER, D. G. & WEITER, J. J. 1995. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 36, 718-29.
- DEMERS, A., MCNICOLL, N., FEBBRAIO, M., SERVANT, M., MARLEAU, S., SILVERSTEIN, R. & ONG, H. 2004. Identification of the growth hormone-releasing peptide binding site in CD36: a photoaffinity cross-linking study. *Biochem J*, 382, 417-24.
- DEMERS, A., RODRIGUE-WAY, A. & TREMBLAY, A. 2008. Hexarelin Signaling to PPARgamma in Metabolic Diseases. *PPAR Res*, 2008, 364784.
- DI BENEDETTO, P., RUSCITTI, P., VADASZ, Z., TOUBI, E. & GIACOMELLI, R. 2019. Macrophages with regulatory functions, a possible new therapeutic perspective in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 102369.
- DI GIOIA, M. & ZANONI, I. 2015. Toll-like receptor co-receptors as master regulators of the immune response. *Mol Immunol*, 63, 143-52.
- DICK, A. D. 2012. Road to fulfilment: taming the immune response to restore vision. *Ophthalmic Res*, 48, 43-9.
- DING, X., PATEL, M. & CHAN, C. C. 2009. Molecular pathology of age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res*, 28, 1-18.
- DOBO, J., KOCSIS, A. & GAL, P. 2018. Be on Target: Strategies of Targeting Alternative and Lectin Pathway Components in Complement-Mediated Diseases. *Front Immunol*, 9, 1851.
- DOLGIN, E. 2017. Age-related macular degeneration foils drugmakers. *Nat Biotechnol*, 35, 1000-1001.
- DONG, Y., CAI, X., WU, Y., LIU, Y., DENG, L. & CHEN, H. 2017. Insights from Genetic Model Systems of Retinal Degeneration: Role of Epsins in Retinal Angiogenesis and VEGFR2 Signaling. *J Nat Sci*, 3.
- DOYLE, S. L., CAMPBELL, M., OZAKI, E., SALOMON, R. G., MORI, A., KENNA, P. F., FARRAR, G. J., KIANG, A. S., HUMPHRIES, M. M., LAVELLE, E. C., O'NEILL, L. A., HOLLYFIELD, J. G. & HUMPHRIES, P. 2012. NLRP3 has a protective role in age-related macular degeneration through the induction of IL-18 by drusen components. *Nat Med*, 18, 791-8.
- DUBOIS, E. A. & COHEN, A. F. 2009. Eculizumab. *Br J Clin Pharmacol*, 68, 318-9.
- DUEWELL, P., KONO, H., RAYNER, K. J., SIROIS, C. M., VLADIMIR, G., BAUERNFEIND, F. G., ABELA, G. S., FRANCHI, L., NUNEZ, G., SCHNURR, M., ESPEVIK, T., LIEN, E., FITZGERALD, K. A., ROCK, K. L., MOORE, K. J., WRIGHT, S. D., HORNUNG, V. & LATZ, E. 2010. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 464, 1357-61.
- E., M. 1989. On the present state of the question of immunity in infectious diseases. *Scand J Immunol* 4, 387-98.
- EANDI, C. M., CHARLES MESSANCE, H., AUGUSTIN, S., DOMINGUEZ, E., LAVALETTE, S., FORSTER, V., HU, S. J., SIQUIEROS, L., CRAFT, C. M., SAHEL, J. A., TADAYONI, R., PAQUES, M., GUILLONNEAU, X. & SENNLAUB, F. 2016. Subretinal mononuclear phagocytes induce cone segment loss via IL-1beta. *Elife*, 5.

- EL KHOURY, J., HICKMAN, S. E., THOMAS, C. A., LOIKE, J. D. & SILVERSTEIN, S. C. 1998. Microglia, scavenger receptors, and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 19, S81-4.
- EL-YASSIMI, A., HICHAMI, A., BESNARD, P. & KHAN, N. A. 2008. Linoleic acid induces calcium signaling, Src kinase phosphorylation, and neurotransmitter release in mouse CD36-positive gustatory cells. *J Biol Chem*, 283, 12949-59.
- EMBRY, C. A., FRANCHI, L., NUNEZ, G. & MITCHELL, T. C. 2011. Mechanism of impaired NLRP3 inflammasome priming by monophosphoryl lipid A. *Sci Signal*, 4, ra28.
- ENDEMANN, G., STANTON, L. W., MADDEN, K. S., BRYANT, C. M., WHITE, R. T. & PROTTER, A. A. 1993. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 268, 11811-6.
- ERDMAN, L. K., COSIO, G., HELMERS, A. J., GOWDA, D. C., GRINSTEIN, S. & KAIN, K. C. 2009. CD36 and TLR interactions in inflammation and phagocytosis: implications for malaria. *J Immunol*, 183, 6452-9.
- EYRE, N. S., CLELAND, L. G., TANDON, N. N. & MAYRHOFER, G. 2007. Importance of the carboxyl terminus of FAT/CD36 for plasma membrane localization and function in long-chain fatty acid uptake. *J Lipid Res*, 48, 528-42.
- FARAZDAGHI, M. K. & EBRAHIMI, K. B. 2019. Role of the Choroid in Age-related Macular Degeneration: A Current Review. *J Ophthalmic Vis Res*, 14, 78-87.
- FARBOUD, B., AOTAKI-KEEN, A., MIYATA, T., HJELMELAND, L. M. & HANDA, J. T. 1999. Development of a polyclonal antibody with broad epitope specificity for advanced glycation endproducts and localization of these epitopes in Bruch's membrane of the aging eye. *Mol Vis*, 5, 11.
- FEBBRAIO, M., ABUMRAD, N. A., HAJJAR, D. P., SHARMA, K., CHENG, W., PEARCE, S. F. & SILVERSTEIN, R. L. 1999. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J Biol Chem*, 274, 19055-62.
- FEBBRAIO, M., HAJJAR, D. P. & SILVERSTEIN, R. L. 2001. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest*, 108, 785-91.
- FEBBRAIO, M., PODREZ, E. A., SMITH, J. D., HAJJAR, D. P., HAZEN, S. L., HOFF, H. F., SHARMA, K. & SILVERSTEIN, R. L. 2000. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest*, 105, 1049-56.
- FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2007. CD36: implications in cardiovascular disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 2012-30.
- FENG, J., HAN, J., PEARCE, S. F., SILVERSTEIN, R. L., GOTTO, A. M., JR., HAJJAR, D. P. & NICHOLSON, A. C. 2000. Induction of CD36 expression by oxidized LDL and IL-4 by a common signaling pathway dependent on protein kinase C and PPAR-gamma. *J Lipid Res*, 41, 688-96.
- FENG, L., JU, M., LEE, K. Y. V., MACKAY, A., EVANGELISTA, M., IWATA, D., ADAMSON, P., LASHKARI, K., FOXTON, R., SHIMA, D. & NG, Y. S. 2017. A Proinflammatory Function of Toll-Like Receptor 2 in the Retinal Pigment Epithelium as a Novel Target for Reducing Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration. *Am J Pathol*, 187, 2208-2221.

- FERNANDEZ-GODINO, R. & PIERCE, E. A. 2018. C3a triggers formation of sub-retinal pigment epithelium deposits via the ubiquitin proteasome pathway. *Sci Rep*, 8, 9679.
- FINNEMANN, S. C. & SILVERSTEIN, R. L. 2001. Differential roles of CD36 and alphavbeta5 integrin in photoreceptor phagocytosis by the retinal pigment epithelium. *J Exp Med*, 194, 1289-98.
- FLAXMAN, S. R., BOURNE, R. R. A., RESNIKOFF, S., ACKLAND, P., BRAITHWAITE, T., CICINELLI, M. V., DAS, A., JONAS, J. B., KEEFFE, J., KEMPEN, J. H., LEASHER, J., LIMBURG, H., NAIDOO, K., PESUDOV, K., SILVESTER, A., STEVENS, G. A., TAHHAN, N., WONG, T. Y., TAYLOR, H. R. & VISION LOSS EXPERT GROUP OF THE GLOBAL BURDEN OF DISEASE, S. 2017. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 5, e1221-e1234.
- FLETCHER, E. L., JOBLING, A. I., GREFERATH, U., MILLS, S. A., WAUGH, M., HO, T., DE IONGH, R. U., PHIPPS, J. A. & VESSEY, K. A. 2014. Studying age-related macular degeneration using animal models. *Optom Vis Sci*, 91, 878-86.
- FLUITER, K., VAN DER WESTHUIJZEN, D. R. & VAN BERKEL, T. J. 1998. In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells. *J Biol Chem*, 273, 8434-8.
- FORRESTER, J. V. 2003. Macrophages eyed in macular degeneration. *Nat Med*, 9, 1350-1.
- FRANCIS, P. J., APPUKUTTAN, B., SIMMONS, E., LANDAUER, N., STODDARD, J., HAMON, S., OTT, J., FERGUSON, B., KLEIN, M., STOUT, J. T. & NEURINGER, M. 2008. Rhesus monkeys and humans share common susceptibility genes for age-related macular disease. *Hum Mol Genet*, 17, 2673-80.
- FRANCO, R. & FERNANDEZ-SUAREZ, D. 2015. Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system. *Prog Neurobiol*, 131, 65-86.
- FRITSCH, L. G., IGL, W., BAILEY, J. N., GRASSMANN, F., SENGUPTA, S., BRAGG-GRESHAM, J. L., BURDON, K. P., HEBBRING, S. J., WEN, C., GORSKI, M., KIM, I. K., CHO, D., ZACK, D., SOUJED, E., SCHOLL, H. P., BALA, E., LEE, K. E., HUNTER, D. J., SARDELL, R. J., MITCHELL, P., MERRIAM, J. E., CIPRIANI, V., HOFFMAN, J. D., SCHICK, T., LECHANTEUR, Y. T., GUYMER, R. H., JOHNSON, M. P., JIANG, Y., STANTON, C. M., BUITENDIJK, G. H., ZHAN, X., KWONG, A. M., BOLEDA, A., BROOKS, M., GIESER, L., RATNAPRIYA, R., BRANHAM, K. E., FOERSTER, J. R., HECKENLIVELY, J. R., OTHMAN, M. I., VOTE, B. J., LIANG, H. H., SOUZEAU, E., MCALLISTER, I. L., ISAACS, T., HALL, J., LAKE, S., MACKAY, D. A., CONSTABLE, I. J., CRAIG, J. E., KITCHNER, T. E., YANG, Z., SU, Z., LUO, H., CHEN, D., OUYANG, H., FLAGG, K., LIN, D., MAO, G., FERREYRA, H., STARK, K., VON STRACHWITZ, C. N., WOLF, A., BRANDL, C., RUDOLPH, G., OLDEN, M., MORRISON, M. A., MORGAN, D. J., SCHU, M., AHN, J., SILVESTRI, G., TSIRONI, E. E., PARK, K. H., FARRER, L. A., ORLIN, A., BRUCKER, A., LI, M., CURCIO, C. A., MOHANDSAID, S., SAHEL, J. A., AUDO, I., BENCHABOUNE, M., CREE, A. J., RENNIE, C. A., GOVERDHAN, S. V., GRUNIN, M., HAGBI-LEVI, S., CAMPOCHIARO, P., KATSANIS, N., HOLZ, F. G., BLOND, F., BLANCHE, H., DELEUZE, J. F., IGO, R. P., JR., TRUITT, B., PEACHEY, N. S., MEUER, S. M., MYERS, C. E., MOORE, E. L., KLEIN, R., et al. 2016. A large genome-wide association study of age-related

- macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat Genet*, 48, 134-43.
- FRITSCH, L. G., LOENHARDT, T., JANSSEN, A., FISHER, S. A., RIVERA, A., KEILHAUER, C. N. & WEBER, B. H. 2008. Age-related macular degeneration is associated with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. *Nat Genet*, 40, 892-6.
- FRODERMANN, V. & NAHRENDORF, M. 2018. Macrophages and Cardiovascular Health. *Physiol Rev*, 98, 2523-2569.
- FUNES, S. C., RIOS, M., ESCOBAR-VERA, J. & KALERGIS, A. M. 2018. Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology*, 154, 186-195.
- GABLE, D. R., HUREL, S. J. & HUMPHRIES, S. E. 2006. Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 188, 231-44.
- GAGLIARDI, G., BEN M'BAREK, K. & GOUREAU, O. 2019. Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: A pluripotent stem cell-based approach. *Prog Retin Eye Res*.
- GALVAN-PENA, S. & O'NEILL, L. A. 2014. Metabolic reprogramming in macrophage polarization. *Front Immunol*, 5, 420.
- GAO, J., LIU, R. T., CAO, S., CUI, J. Z., WANG, A., TO, E. & MATSUBARA, J. A. 2015. NLRP3 inflammasome: activation and regulation in age-related macular degeneration. *Mediators Inflamm*, 2015, 690243.
- GAO, W., XIONG, Y., LI, Q. & YANG, H. 2017. Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Front Physiol*, 8, 508.
- GARCIA-BONILLA, L., PARK, L. & IADECOLA, C. 2014. Commentary on Myers et al.: growing role of the innate immunity receptor CD36 in central nervous system diseases. *Exp Neurol*, 261, 633-7.
- GARCIA-MESA, Y., JAY, T. R., CHECKLEY, M. A., LUTTGE, B., DOBROWOLSKI, C., VALADKHAN, S., LANDRETH, G. E., KARN, J. & ALVAREZ-CARBONELL, D. 2017. Immortalization of primary microglia: a new platform to study HIV regulation in the central nervous system. *J Neurovirol*, 23, 47-66.
- GAUTAM, S. & BANERJEE, M. 2011. The macrophage Ox-LDL receptor, CD36 and its association with type II diabetes mellitus. *Mol Genet Metab*, 102, 389-98.
- GEORGIU, D. K., DAGNINO-ACOSTA, A., LEE, C. S., GRIFFIN, D. M., WANG, H., LAGOR, W. R., PAUTLER, R. G., DIRKSEN, R. T. & HAMILTON, S. L. 2015. Ca²⁺ Binding/Permeation via Calcium Channel, CaV1.1, Regulates the Intracellular Distribution of the Fatty Acid Transport Protein, CD36, and Fatty Acid Metabolism. *J Biol Chem*, 290, 23751-65.
- GINHOUX, F., GRETER, M., LEBOEUF, M., NANDI, S., SEE, P., GOKHAN, S., MEHLER, M. F., CONWAY, S. J., NG, L. G., STANLEY, E. R., SAMOKHVALOV, I. M. & MERAD, M. 2010. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*, 330, 841-5.
- GLATZ, J. F. & LUIKEN, J. J. 2017. From fat to FAT (CD36/SR-B2): Understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. *Biochimie*, 136, 21-26.
- GLATZ, J. F. C. & LUIKEN, J. 2018. Dynamic role of the transmembrane glycoprotein CD36 (SR-B2) in cellular fatty acid uptake and utilization. *J Lipid Res*, 59, 1084-1093.

- GNANAGURU, G., CHOI, A. R., AMARNANI, D. & D'AMORE, P. A. 2016. Oxidized Lipoprotein Uptake Through the CD36 Receptor Activates the NLRP3 Inflammasome in Human Retinal Pigment Epithelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 57, 4704-12.
- GOLD, B., MERRIAM, J. E., ZERNANT, J., HANCOX, L. S., TAIBER, A. J., GEHRS, K., CRAMER, K., NEEL, J., BERGERON, J., BARILE, G. R., SMITH, R. T., GROUP, A. M. D. G. C. S., HAGEMAN, G. S., DEAN, M. & ALLIKMETS, R. 2006. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet*, 38, 458-62.
- GOLESTANEH, N., CHU, Y., XIAO, Y. Y., STOLERU, G. L. & THEOS, A. C. 2017. Dysfunctional autophagy in RPE, a contributing factor in age-related macular degeneration. *Cell Death Dis*, 8, e2537.
- GORDIYENKO, N., CAMPOS, M., LEE, J. W., FARISS, R. N., SZTEIN, J. & RODRIGUEZ, I. R. 2004. RPE cells internalize low-density lipoprotein (LDL) and oxidized LDL (oxLDL) in large quantities in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45, 2822-9.
- GORDON, S. & MARTINEZ, F. O. 2010. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*, 32, 593-604.
- GOTO, K., ISO, T., HANAOKA, H., YAMAGUCHI, A., SUGA, T., HATTORI, A., IRIE, Y., SHINAGAWA, Y., MATSUI, H., SYAMSUNARNO, M. R., MATSUI, M., HAQUE, A., ARAI, M., KUNIMOTO, F., YOKOYAMA, T., ENDO, K., GONZALEZ, F. J. & KURABAYASHI, M. 2013. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in capillary endothelia promotes fatty acid uptake by heart during long-term fasting. *J Am Heart Assoc*, 2, e004861.
- GOUDRIAAN, J. R., DAHLMANS, V. E., TEUSINK, B., OUWENS, D. M., FEBBRAIO, M., MAASSEN, J. A., ROMIJN, J. A., HAVEKES, L. M. & VOSHOL, P. J. 2003. CD36 deficiency increases insulin sensitivity in muscle, but induces insulin resistance in the liver in mice. *J Lipid Res*, 44, 2270-7.
- GOURAS, P., IVERT, L., LANDAUER, N., MATTISON, J. A., INGRAM, D. K. & NEURINGER, M. 2008. Drusenoid maculopathy in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): effects of age and gender. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 246, 1395-402.
- GRAGOUDAS, E. S., ADAMIS, A. P., CUNNINGHAM, E. T., JR., FEINSOD, M., GUYER, D. R. & GROUP, V. I. S. I. O. N. C. T. 2004. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*, 351, 2805-16.
- GREEN, W. R. 1999. Histopathology of age-related macular degeneration. *Mol Vis*, 5, 27.
- GREENWALT, D. E., LIPSKY, R. H., OCKENHOUSE, C. F., IKEDA, H., TANDON, N. N. & JAMIESON, G. A. 1992. Membrane glycoprotein CD36: a review of its roles in adherence, signal transduction, and transfusion medicine. *Blood*, 80, 1105-15.
- GRUARIN, P., THORNE, R. F., DORAHY, D. J., BURNS, G. F., SITIA, R. & ALESSIO, M. 2000. CD36 is a ditopic glycoprotein with the N-terminal domain implicated in intracellular transport. *Biochem Biophys Res Commun*, 275, 446-54.
- GRUNIN, M., HAGBI-LEVI, S. & CHOWERS, I. 2014. The role of monocytes and macrophages in age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol*, 801, 199-205.
- GUILLIAMS, M., GINHOUX, F., JAKUBZICK, C., NAIK, S. H., ONAI, N., SCHRAML, B. U., SEGURA, E., TUSSIWAND, R. & YONA, S. 2014. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*, 14, 571-8.

- GUILLONEAU, X., EANDI, C. M., PAQUES, M., SAHEL, J. A., SAPIEHA, P. & SENNLAUB, F. 2017. On phagocytes and macular degeneration. *Prog Retin Eye Res*, 61, 98-128.
- GUO, B., HUANG, X., LEE, M. R., LEE, S. A. & BROXMEYER, H. E. 2018. Antagonism of PPAR-gamma signaling expands human hematopoietic stem and progenitor cells by enhancing glycolysis. *Nat Med*, 24, 360-367.
- GUPTA, N., BROWN, K. E. & MILAM, A. H. 2003. Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res*, 76, 463-71.
- GURUNG, P., LI, B., SUBBARAO MALIREDDI, R. K., LAMKANFI, M., GEIGER, T. L. & KANNEGANTI, T. D. 2015. Chronic TLR Stimulation Controls NLRP3 Inflammasome Activation through IL-10 Mediated Regulation of NLRP3 Expression and Caspase-8 Activation. *Sci Rep*, 5, 14488.
- GUTHMANN, F., HAUPT, R., LOOMAN, A. C., SPENER, F. & RUSTOW, B. 1999. Fatty acid translocase/CD36 mediates the uptake of palmitate by type II pneumocytes. *Am J Physiol*, 277, L191-6.
- GUVEN, M., BATAR, B., MUTLU, T., BOSTANCI, M., METE, M., ARAS, C. & UNAL, M. 2016. Toll-Like Receptors 2 and 4 Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration. *Curr Eye Res*, 41, 856-61.
- HAGEMAN, G. S., ANDERSON, D. H., JOHNSON, L. V., HANCOX, L. S., TAIBER, A. J., HARDISTY, L. I., HAGEMAN, J. L., STOCKMAN, H. A., BORCHARDT, J. D., GEHRS, K. M., SMITH, R. J., SILVESTRI, G., RUSSELL, S. R., KLAVER, C. C., BARBAZETTO, I., CHANG, S., YANNUZZI, L. A., BARILE, G. R., MERRIAM, J. C., SMITH, R. T., OLSH, A. K., BERGERON, J., ZERNANT, J., MERRIAM, J. E., GOLD, B., DEAN, M. & ALLIKMETS, R. 2005. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 7227-32.
- HAGEMAN, G. S. & MULLINS, R. F. 1999. Molecular composition of drusen as related to substructural phenotype. *Mol Vis*, 5, 28.
- HAJRI, T., HALL, A. M., JENSEN, D. R., PIETKA, T. A., DROVER, V. A., TAO, H., ECKEL, R. & ABUMRAD, N. A. 2007. CD36-facilitated fatty acid uptake inhibits leptin production and signaling in adipose tissue. *Diabetes*, 56, 1872-80.
- HAJRI, T., HAN, X. X., BONEN, A. & ABUMRAD, N. A. 2002. Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice. *J Clin Invest*, 109, 1381-9.
- HALLE, A., HORNUNG, V., PETZOLD, G. C., STEWART, C. R., MONKS, B. G., REINHECKEL, T., FITZGERALD, K. A., LATZ, E., MOORE, K. J. & GOLENBOCK, D. T. 2008. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol*, 9, 857-65.
- HAMILTON, J. A. 2007. New insights into the roles of proteins and lipids in membrane transport of fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 77, 355-61.
- HAN, J., HAJJAR, D. P., FEBBRAIO, M. & NICHOLSON, A. C. 1997. Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J Biol Chem*, 272, 21654-9.
- HAN, J., HAJJAR, D. P., TAURAS, J. M., FENG, J., GOTTO, A. M., JR. & NICHOLSON, A. C. 2000. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and TGF-beta2 decrease

- expression of CD36, the type B scavenger receptor, through mitogen-activated protein kinase phosphorylation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *J Biol Chem*, 275, 1241-6.
- HANDA, J. T., BOWES RICKMAN, C., DICK, A. D., GORIN, M. B., MILLER, J. W., TOTH, C. A., UEFFING, M., ZARBIN, M. & FARRER, L. A. 2019. A systems biology approach towards understanding and treating non-neovascular age-related macular degeneration. *Nat Commun*, 10, 3347.
- HANDUNNETTI, S. M., VAN SCHRAVENDIJK, M. R., HASLER, T., BARNWELL, J. W., GREENWALT, D. E. & HOWARD, R. J. 1992. Involvement of CD36 on erythrocytes as a rosetting receptor for Plasmodium falciparum-infected erythrocytes. *Blood*, 80, 2097-104.
- HAO, W., WENZEL, A., OBIN, M. S., CHEN, C. K., BRILL, E., KRASNOPEROVA, N. V., EVERSOLE-CIRE, P., KLEYNER, Y., TAYLOR, A., SIMON, M. I., GRIMM, C., REME, C. E. & LEM, J. 2002. Evidence for two apoptotic pathways in light-induced retinal degeneration. *Nat Genet*, 32, 254-60.
- HARB, D., BUJOLD, K., FEBBRAIO, M., SIROIS, M. G., ONG, H. & MARLEAU, S. 2009. The role of the scavenger receptor CD36 in regulating mononuclear phagocyte trafficking to atherosclerotic lesions and vascular inflammation. *Cardiovasc Res*, 83, 42-51.
- HARD, G. C. 1970. Some biochemical aspects of the immune macrophage. *Br J Exp Pathol*, 51, 97-105.
- HARMON, C. M. & ABUMRAD, N. A. 1993. Binding of sulfosuccinimidyl fatty acids to adipocyte membrane proteins: isolation and amino-terminal sequence of an 88-kD protein implicated in transport of long-chain fatty acids. *J Membr Biol*, 133, 43-9.
- HARMON, C. M., LUCE, P., BETH, A. H. & ABUMRAD, N. A. 1991. Labeling of adipocyte membranes by sulfo-N-succinimidyl derivatives of long-chain fatty acids: inhibition of fatty acid transport. *J Membr Biol*, 121, 261-8.
- HEIT, B., KIM, H., COSIO, G., CASTANO, D., COLLINS, R., LOWELL, C. A., KAIN, K. C., TRIMBLE, W. S. & GRINSTEIN, S. 2013. Multimolecular signaling complexes enable Syk-mediated signaling of CD36 internalization. *Dev Cell*, 24, 372-83.
- HENEKA, M. T., GOLENBOCK, D. T. & LATZ, E. 2015. Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nat Immunol*, 16, 229-36.
- HENNESSY, E. J., PARKER, A. E. & O'NEILL, L. A. 2010. Targeting Toll-like receptors: emerging therapeutics? *Nat Rev Drug Discov*, 9, 293-307.
- HIRAKATA, M., TOZAWA, R., IMURA, Y. & SUGIYAMA, Y. 2004. Comparison of the effects of pioglitazone and rosiglitazone on macrophage foam cell formation. *Biochem Biophys Res Commun*, 323, 782-8.
- HOEBE, K., GEORGEL, P., RUTSCHMANN, S., DU, X., MUDD, S., CROZAT, K., SOVATH, S., SHAMEL, L., HARTUNG, T., ZHRINGER, U. & BEUTLER, B. 2005. CD36 is a sensor of diacylglycerides. *Nature*, 433, 523-7.
- HOLLYFIELD, J. G., BONILHA, V. L., RAYBORN, M. E., YANG, X., SHADRACH, K. G., LU, L., UFRET, R. L., SALOMON, R. G. & PEREZ, V. L. 2008. Oxidative damage-induced inflammation initiates age-related macular degeneration. *Nat Med*, 14, 194-8.

- HOLZ, F. G., STRAUSS, E. C., SCHMITZ-VALCKENBERG, S. & VAN LOOKEREN CAMPAGNE, M. 2014. Geographic atrophy: clinical features and potential therapeutic approaches. *Ophthalmology*, 121, 1079-91.
- HORNUNG, V., BAUERNFEIND, F., HALLE, A., SAMSTAD, E. O., KONO, H., ROCK, K. L., FITZGERALD, K. A. & LATZ, E. 2008. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol*, 9, 847-56.
- HOTAMISLIGIL, G. S., MURRAY, D. L., CHOY, L. N. & SPIEGELMAN, B. M. 1994. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, 4854-8.
- HOUSSEIER, M., RAOUL, W., LAVALETTE, S., KELLER, N., GUILLONNEAU, X., BARAGATTI, B., JONET, L., JEANNY, J. C., BEHAR-COHEN, F., COCEANI, F., SCHERMAN, D., LACHAPELLE, P., ONG, H., CHEMTOB, S. & SENNLAUB, F. 2008. CD36 deficiency leads to choroidal involution via COX2 down-regulation in rodents. *PLoS Med*, 5, e39.
- HSIEH, F. L., TURNER, L., BOLLA, J. R., ROBINSON, C. V., LAVSTSEN, T. & HIGGINS, M. K. 2016. The structural basis for CD36 binding by the malaria parasite. *Nat Commun*, 7, 12837.
- HU, S. J., CALIPPE, B., LAVALETTE, S., ROUBEIX, C., MONTASSAR, F., HOUSSET, M., LEVY, O., DELARASSE, C., PAQUES, M., SAHEL, J. A., SENNLAUB, F. & GUILLONNEAU, X. 2015. Upregulation of P2RX7 in Cx3cr1-Deficient Mononuclear Phagocytes Leads to Increased Interleukin-1beta Secretion and Photoreceptor Neurodegeneration. *J Neurosci*, 35, 6987-96.
- HUA, W., HUANG, H. Z., TAN, L. T., WAN, J. M., GUI, H. B., ZHAO, L., RUAN, X. Z., CHEN, X. M. & DU, X. G. 2015. CD36 Mediated Fatty Acid-Induced Podocyte Apoptosis via Oxidative Stress. *PLoS One*, 10, e0127507.
- HUANG, S. C., SMITH, A. M., EVERTS, B., COLONNA, M., PEARCE, E. L., SCHILLING, J. D. & PEARCE, E. J. 2016. Metabolic Reprogramming Mediated by the mTORC2-IRF4 Signaling Axis Is Essential for Macrophage Alternative Activation. *Immunity*, 45, 817-830.
- HUANG, W., FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2011. CD9 tetraspanin interacts with CD36 on the surface of macrophages: a possible regulatory influence on uptake of oxidized low density lipoprotein. *PLoS One*, 6, e29092.
- HUH, H. Y., LO, S. K., YESNER, L. M. & SILVERSTEIN, R. L. 1995. CD36 induction on human monocytes upon adhesion to tumor necrosis factor-activated endothelial cells. *J Biol Chem*, 270, 6267-71.
- HUH, H. Y., PEARCE, S. F., YESNER, L. M., SCHINDLER, J. L. & SILVERSTEIN, R. L. 1996. Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation: potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood*, 87, 2020-8.
- HUSS, J. M. & KELLY, D. P. 2004. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res*, 95, 568-78.
- HUTCHISON, J. T., W. 1875. Symmetrical central choroidoretinal disease occurring in senile persons. *R. London. Ophthal. Hosp. Rep.*, 8:231-244.
- HWANG, E. H., TAKI, J., YASUE, S., FUJIMOTO, M., TANIGUCHI, M., MATSUNARI, I., NAKAJIMA, K., SHIOBARA, S., IKEDA, T. & TONAMI, N. 1998. Absent

- myocardial iodine-123-BMIPP uptake and platelet/monocyte CD36 deficiency. *J Nucl Med*, 39, 1681-4.
- IMANISHI, T., HANO, T., MATSUO, Y. & NISHIO, I. 2003. Oxidized low-density lipoprotein inhibits vascular endothelial growth factor-induced endothelial progenitor cell differentiation. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 30, 665-70.
- IRUELA-ARISPE, M. L., LOMBARDO, M., KRUTZSCH, H. C., LAWLER, J. & ROBERTS, D. D. 1999. Inhibition of angiogenesis by thrombospondin-1 is mediated by 2 independent regions within the type 1 repeats. *Circulation*, 100, 1423-31.
- ITALIANI, P. & BORASCHI, D. 2014. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Front Immunol*, 5, 514.
- IWAO, Y., NAKAJOU, K., NAGAI, R., KITAMURA, K., ANRAKU, M., MARUYAMA, T. & OTAGIRI, M. 2008. CD36 is one of important receptors promoting renal tubular injury by advanced oxidation protein products. *Am J Physiol Renal Physiol*, 295, F1871-80.
- JAGER, R. D., MIELER, W. F. & MILLER, J. W. 2008. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med*, 358, 2606-17.
- JEDIDI, I., COUTURIER, M., THEROND, P., GARDES-ALBERT, M., LEGRAND, A., BAROUKI, R., BONNEFONT-ROUSSELOT, D. & AGGERBECK, M. 2006. Cholesteryl ester hydroperoxides increase macrophage CD36 gene expression via PPARalpha. *Biochem Biophys Res Commun*, 351, 733-8.
- JEPPESEN, J., ALBERS, P. H., ROSE, A. J., BIRK, J. B., SCHJERLING, P., DZAMKO, N., STEINBERG, G. R. & KIENS, B. 2011. Contraction-induced skeletal muscle FAT/CD36 trafficking and FA uptake is AMPK independent. *J Lipid Res*, 52, 699-711.
- JIANG, C., TING, A. T. & SEED, B. 1998. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*, 391, 82-6.
- JIMENEZ, B., VOLPERT, O. V., CRAWFORD, S. E., FEBBRAIO, M., SILVERSTEIN, R. L. & BOUCK, N. 2000. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nat Med*, 6, 41-8.
- JIMENEZ-DALMARONI, M. J., XIAO, N., CORPER, A. L., VERDINO, P., AINGE, G. D., LARSEN, D. S., PAINTER, G. F., RUDD, P. M., DWEK, R. A., HOEBE, K., BEUTLER, B. & WILSON, I. A. 2009. Soluble CD36 ectodomain binds negatively charged diacylglycerol ligands and acts as a co-receptor for TLR2. *PLoS One*, 4, e7411.
- JOHNSON, L. V., LEITNER, W. P., STAPLES, M. K. & ANDERSON, D. H. 2001. Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration. *Exp Eye Res*, 73, 887-96.
- JOLY, S., FRANCKE, M., ULBRICHT, E., BECK, S., SEELIGER, M., HIRRLINGER, P., HIRRLINGER, J., LANG, K. S., ZINKERNAGEL, M., ODERMATT, B., SAMARDZIJA, M., REICHENBACH, A., GRIMM, C. & REME, C. E. 2009. Cooperative phagocytes: resident microglia and bone marrow immigrants remove dead photoreceptors in retinal lesions. *Am J Pathol*, 174, 2310-23.
- JONAS, J. B., TAO, Y., NEUMAIER, M. & FINDEISEN, P. 2010. Monocyte chemoattractant protein 1, intercellular adhesion molecule 1, and vascular cell adhesion molecule 1 in exudative age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*, 128, 1281-6.

- JUHAS, U., RYBA-STANISLAWOWSKA, M., SZARGIEJ, P. & MYSLIWSKA, J. 2015. Different pathways of macrophage activation and polarization. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 69, 496-502.
- KAGAN, J. C. & HORNG, T. 2013. NLRP3 inflammasome activation: CD36 serves double duty. *Nat Immunol*, 14, 772-4.
- KAMBARA, K., OHASHI, W., TOMITA, K., TAKASHINA, M., FUJISAKA, S., HAYASHI, R., MORI, H., TOBE, K. & HATTORI, Y. 2015. In vivo depletion of CD206+ M2 macrophages exaggerates lung injury in endotoxemic mice. *Am J Pathol*, 185, 162-71.
- KANDA, A., CHEN, W., OTHMAN, M., BRANHAM, K. E., BROOKS, M., KHANNA, R., HE, S., LYONS, R., ABECASIS, G. R. & SWAROOP, A. 2007. A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 16227-32.
- KANNAN, Y., SUNDARAM, K., ALUGANTI NARASIMHULU, C., PARTHASARATHY, S. & WEWERS, M. D. 2012. Oxidatively modified low density lipoprotein (LDL) inhibits TLR2 and TLR4 cytokine responses in human monocytes but not in macrophages. *J Biol Chem*, 287, 23479-88.
- KAPOOR, N., NIU, J., SAAD, Y., KUMAR, S., SIRAKOVA, T., BECERRA, E., LI, X. & KOLATTUKUDY, P. E. 2015. Transcription factors STAT6 and KLF4 implement macrophage polarization via the dual catalytic powers of MCPIP. *J Immunol*, 194, 6011-23.
- KARLSTETTER, M., EBERT, S. & LANGMANN, T. 2010. Microglia in the healthy and degenerating retina: insights from novel mouse models. *Immunobiology*, 215, 685-91.
- KARLSTETTER, M., SCHOLZ, R., RUTAR, M., WONG, W. T., PROVIS, J. M. & LANGMANN, T. 2015. Retinal microglia: just bystander or target for therapy? *Prog Retin Eye Res*, 45, 30-57.
- KASHIWAGI, H., TOMIYAMA, Y., KOSUGI, S., SHIRAGA, M., LIPSKY, R. H., KANAYAMA, Y., KURATA, Y. & MATSUZAWA, Y. 1994. Identification of molecular defects in a subject with type I CD36 deficiency. *Blood*, 83, 3545-52.
- KASHIWAGI, H., TOMIYAMA, Y., KOSUGI, S., SHIRAGA, M., LIPSKY, R. H., NAGAO, N., KANAKURA, Y., KURATA, Y. & MATSUZAWA, Y. 1995. Family studies of type II CD36 deficient subjects: linkage of a CD36 allele to a platelet-specific mRNA expression defect(s) causing type II CD36 deficiency. *Thromb Haemost*, 74, 758-63.
- KATSCHKE, K. J., JR., WU, P., GANESAN, R., KELLEY, R. F., MATHIEU, M. A., HASS, P. E., MURRAY, J., KIRCHHOFFER, D., WIESMANN, C. & VAN LOOKEREN CAMPAGNE, M. 2012. Inhibiting alternative pathway complement activation by targeting the factor D exosite. *J Biol Chem*, 287, 12886-92.
- KAUPPINEN, A., PATERNO, J. J., BLASIAK, J., SALMINEN, A. & KAARNIRANTA, K. 2016. Inflammation and its role in age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci*, 73, 1765-86.
- KAWAI, T. & AKIRA, S. 2010. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*, 11, 373-84.
- KELLER, M., RUEGG, A., WERNER, S. & BEER, H. D. 2008. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell*, 132, 818-31.
- KENNEDY, D. J. & KASHYAP, S. R. 2011. Pathogenic role of scavenger receptor CD36 in the metabolic syndrome and diabetes. *Metab Syndr Relat Disord*, 9, 239-45.

- KENNEDY, D. J., KUCHIBHOTLA, S., WESTFALL, K. M., SILVERSTEIN, R. L., MORTON, R. E. & FEBBRAIO, M. 2011. A CD36-dependent pathway enhances macrophage and adipose tissue inflammation and impairs insulin signalling. *Cardiovasc Res*, 89, 604-13.
- KERKHOFF, C., SORG, C., TANDON, N. N. & NACKEN, W. 2001. Interaction of S100A8/S100A9-arachidonic acid complexes with the scavenger receptor CD36 may facilitate fatty acid uptake by endothelial cells. *Biochemistry*, 40, 241-8.
- KLEIN, R., KLEIN, B. E., KNUDTSON, M. D., MEUER, S. M., SWIFT, M. & GANGNON, R. E. 2007. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, 114, 253-62.
- KO, M. K., SARASWATHY, S., PARIKH, J. G. & RAO, N. A. 2011. The role of TLR4 activation in photoreceptor mitochondrial oxidative stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 5824-35.
- KOONEN, D. P., JACOBS, R. L., FEBBRAIO, M., YOUNG, M. E., SOLTYS, C. L., ONG, H., VANCE, D. E. & DYCK, J. R. 2007. Increased hepatic CD36 expression contributes to dyslipidemia associated with diet-induced obesity. *Diabetes*, 56, 2863-71.
- KROGH NIELSEN, M., SUBHI, Y., MOLBECH, C. R., FALK, M. K., SINGH, A., NISSEN, M. H. & SORENSEN, T. L. 2019. Patients with a fast progression profile in geographic atrophy have increased CD200 expression on circulating monocytes. *Clin Exp Ophthalmol*, 47, 69-78.
- KUDA, O., PIETKA, T. A., DEMIANOVA, Z., KUDOVA, E., CVACKA, J., KOPECKY, J. & ABUMRAD, N. A. 2013. Sulfo-N-succinimidyl oleate (SSO) inhibits fatty acid uptake and signaling for intracellular calcium via binding CD36 lysine 164: SSO also inhibits oxidized low density lipoprotein uptake by macrophages. *J Biol Chem*, 288, 15547-55.
- KUMAR, S., GOWDA, N. M., WU, X., GOWDA, R. N. & GOWDA, D. C. 2012. CD36 modulates proinflammatory cytokine responses to Plasmodium falciparum glycosylphosphatidylinositols and merozoites by dendritic cells. *Parasite Immunol*, 34, 372-82.
- LAMB, L. E. & SIMON, J. D. 2004. A2E: a component of ocular lipofuscin. *Photochem Photobiol*, 79, 127-36.
- LANDA, G., BUTOVSKY, O., SHOSHANI, J., SCHWARTZ, M. & POLLACK, A. 2008. Weekly vaccination with Copaxone (glatiramer acetate) as a potential therapy for dry age-related macular degeneration. *Curr Eye Res*, 33, 1011-3.
- LANGSTON, P. K., SHIBATA, M. & HORNG, T. 2017. Metabolism Supports Macrophage Activation. *Front Immunol*, 8, 61.
- LAUGERETTE, F., PASSILLY-DEGRACE, P., PATRIS, B., NIOT, I., FEBBRAIO, M., MONTMAYEUR, J. P. & BESNARD, P. 2005. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J Clin Invest*, 115, 3177-84.
- LAVALETTE, S., CONART, J. B., TOUHAMI, S., ROUBEIX, C., HOUSSIER, M., AUGUSTIN, S., RAOUL, W., COMBADIÈRE, C., FEBBRAIO, M., ONG, H., CHEMTOB, S., SAHEL, J. A., DELARASSE, C., GUILLONNEAU, X. & SENNLAUB, F. 2019. CD36 Deficiency Inhibits Retinal Inflammation and Retinal Degeneration in Cx3cr1 Knockout Mice. *Front Immunol*, 10, 3032.

- LE FOLL, C. 2019. Hypothalamic Fatty Acids and Ketone Bodies Sensing and Role of FAT/CD36 in the Regulation of Food Intake. *Front Physiol*, 10, 1036.
- LE FOLL, C., IRANI, B. G., MAGNAN, C., DUNN-MEYNELL, A. A. & LEVIN, B. E. 2009. Characteristics and mechanisms of hypothalamic neuronal fatty acid sensing. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297, R655-64.
- LEE, C. C., AVALOS, A. M. & PLOEGH, H. L. 2012. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function. *Nat Rev Immunol*, 12, 168-79.
- LEUNG, E. & LANDA, G. 2013. Update on current and future novel therapies for dry age-related macular degeneration. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 6, 565-79.
- LEVY, O., CALIPPE, B., LAVALETTE, S., HU, S. J., RAOUL, W., DOMINGUEZ, E., HOUSSET, M., PAQUES, M., SAHEL, J. A., BEMELMANS, A. P., COMBADIÈRE, C., GUILLONNEAU, X. & SENNLAUB, F. 2015. Apolipoprotein E promotes subretinal mononuclear phagocyte survival and chronic inflammation in age-related macular degeneration. *EMBO Mol Med*, 7, 211-26.
- LIBBY, P. 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420, 868-74.
- LIN, L. 2006. RAGE on the Toll Road? *Cell Mol Immunol*, 3, 351-8.
- LIU, F., WANG, Y., XU, J., LIU, F., HU, R. & DENG, H. 2016. Effects of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide on the expression of key genes involved in cholesterol metabolism in macrophages. *Arch Med Sci*, 12, 959-967.
- LIU, Y. C., ZOU, X. B., CHAI, Y. F. & YAO, Y. M. 2014. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci*, 10, 520-9.
- LOCATI, M., MANTOVANI, A. & SICA, A. 2013. Macrophage activation and polarization as an adaptive component of innate immunity. *Adv Immunol*, 120, 163-84.
- LOMBARDI, A., DE MATTEIS, R., MORENO, M., NAPOLITANO, L., BUSIELLO, R. A., SENESE, R., DE LANGE, P., LANNI, A. & GOGLIA, F. 2012. Responses of skeletal muscle lipid metabolism in rat gastrocnemius to hypothyroidism and iodothyronine administration: a putative role for FAT/CD36. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 303, E1222-33.
- LUAN, H. H. & MEDZHITOV, R. 2016. Food Fight: Role of Itaconate and Other Metabolites in Antimicrobial Defense. *Cell Metab*, 24, 379-387.
- LUIKEN, J. J., CHANDA, D., NABBEN, M., NEUMANN, D. & GLATZ, J. F. 2016. Post-translational modifications of CD36 (SR-B2): Implications for regulation of myocellular fatty acid uptake. *Biochim Biophys Acta*, 1862, 2253-2258.
- LUIKEN, J. J., COORT, S. L., WILLEMS, J., COUMANS, W. A., BONEN, A., VAN DER VUSSE, G. J. & GLATZ, J. F. 2003. Contraction-induced fatty acid translocase/CD36 translocation in rat cardiac myocytes is mediated through AMP-activated protein kinase signaling. *Diabetes*, 52, 1627-34.
- LUIKEN, J. J., DYCK, D. J., HAN, X. X., TANDON, N. N., ARUMUGAM, Y., GLATZ, J. F. & BONEN, A. 2002a. Insulin induces the translocation of the fatty acid transporter FAT/CD36 to the plasma membrane. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282, E491-5.
- LUIKEN, J. J., KOONEN, D. P., WILLEMS, J., ZORZANO, A., BECKER, C., FISCHER, Y., TANDON, N. N., VAN DER VUSSE, G. J., BONEN, A. & GLATZ, J. F. 2002b. Insulin stimulates long-chain fatty acid utilization by rat cardiac myocytes through cellular redistribution of FAT/CD36. *Diabetes*, 51, 3113-9.
- LUNDBY, A., LAGE, K., WEINERT, B. T., BEKKER-JENSEN, D. B., SECHER, A., SKOVGAARD, T., KELSTRUP, C. D., DMYTRIYEV, A., CHOUDHARY, C.,

- LUNDBY, C. & OLSEN, J. V. 2012. Proteomic analysis of lysine acetylation sites in rat tissues reveals organ specificity and subcellular patterns. *Cell Rep*, 2, 419-31.
- MA, W., LEE, S. E., GUO, J., QU, W., HUDSON, B. I., SCHMIDT, A. M. & BARILE, G. R. 2007. RAGE ligand upregulation of VEGF secretion in ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 1355-61.
- MA, X., BACCI, S., MLYNARSKI, W., GOTTARDO, L., SOCCIO, T., MENZAGHI, C., IORI, E., LAGER, R. A., SHROFF, A. R., GERVINO, E. V., NESTO, R. W., JOHNSTONE, M. T., ABUMRAD, N. A., AVOGARO, A., TRISCHITTA, V. & DORIA, A. 2004. A common haplotype at the CD36 locus is associated with high free fatty acid levels and increased cardiovascular risk in Caucasians. *Hum Mol Genet*, 13, 2197-205.
- MACKANESS, G. B. 1962. Cellular resistance to infection. *J Exp Med*, 116, 381-406.
- MACLAREN, R. E., BENNETT, J. & SCHWARTZ, S. D. 2016. Gene Therapy and Stem Cell Transplantation in Retinal Disease: The New Frontier. *Ophthalmology*, 123, S98-S106.
- MADEIRA, M. H., BOIA, R., SANTOS, P. F., AMBROSIO, A. F. & SANTIAGO, A. R. 2015. Contribution of microglia-mediated neuroinflammation to retinal degenerative diseases. *Mediators Inflamm*, 2015, 673090.
- MAENO, Y., FUJIOKA, H., HOLLINGDALE, M. R., OCKENHOUSE, C. F., NAKAZAWA, S. & AIKAWA, M. 1994. Ultrastructural localization of CD36 in human hepatic sinusoidal lining cells, hepatocytes, human hepatoma (HepG2-A16) cells, and C32 amelanotic melanoma cells. *Exp Parasitol*, 79, 383-90.
- MAHBUB, S., DEBURGHGRAEVE, C. R. & KOVACS, E. J. 2012. Advanced age impairs macrophage polarization. *J Interferon Cytokine Res*, 32, 18-26.
- MALAUD, E., HOURTON, D., GIROUX, L. M., NINIO, E., BUCKLAND, R. & MCGREGOR, J. L. 2002. The terminal six amino-acids of the carboxy cytoplasmic tail of CD36 contain a functional domain implicated in the binding and capture of oxidized low-density lipoprotein. *Biochem J*, 364, 507-15.
- MANTOVANI, A., BISWAS, S. K., GALDIERO, M. R., SICA, A. & LOCATI, M. 2013. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol*, 229, 176-85.
- MANTOVANI, A., SICA, A., SOZZANI, S., ALLAVENA, P., VECCHI, A. & LOCATI, M. 2004. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*, 25, 677-86.
- MARLEAU, S., HARB, D., BUJOLD, K., AVALLONE, R., IKEN, K., WANG, Y., DEMERS, A., SIROIS, M. G., FEBBRAIO, M., SILVERSTEIN, R. L., TREMBLAY, A. & ONG, H. 2005. EP 80317, a ligand of the CD36 scavenger receptor, protects apolipoprotein E-deficient mice from developing atherosclerotic lesions. *FASEB J*, 19, 1869-71.
- MARNEROS, A. G., FAN, J., YOKOYAMA, Y., GERBER, H. P., FERRARA, N., CROUCH, R. K. & OLSEN, B. R. 2005. Vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and visual function. *Am J Pathol*, 167, 1451-9.
- MARSHALL, J. 1987. The ageing retina: physiology or pathology. *Eye (Lond)*, 1 (Pt 2), 282-95.
- MARTIN, D. F., MAGUIRE, M. G., FINE, S. L., YING, G. S., JAFFE, G. J., GRUNWALD, J. E., TOTH, C., REDFORD, M. & FERRIS, F. L., 3RD 2012. Ranibizumab and

- bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: two-year results. *Ophthalmology*, 119, 1388-98.
- MARTINEZ, F. O. & GORDON, S. 2014. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep*, 6, 13.
- MASTELLOS, D. C., YANCOPOULOU, D., KOKKINOS, P., HUBER-LANG, M., HAJISHENGALLIS, G., BIGLARNIA, A. R., LUPU, F., NILSSON, B., RISITANO, A. M., RICKLIN, D. & LAMBRIS, J. D. 2015. Compstatin: a C3-targeted complement inhibitor reaching its prime for bedside intervention. *Eur J Clin Invest*, 45, 423-40.
- MASTERS, S. L., DUNNE, A., SUBRAMANIAN, S. L., HULL, R. L., TANNAHILL, G. M., SHARP, F. A., BECKER, C., FRANCHI, L., YOSHIHARA, E., CHEN, Z., MULLOOLY, N., MIELKE, L. A., HARRIS, J., COLL, R. C., MILLS, K. H., MOK, K. H., NEWSHOLME, P., NUNEZ, G., YODOI, J., KAHN, S. E., LAVELLE, E. C. & O'NEILL, L. A. 2010. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes. *Nat Immunol*, 11, 897-904.
- MCLEOD, D. S., GREBE, R., BHUTTO, I., MERGES, C., BABA, T. & LUTTY, G. A. 2009. Relationship between RPE and choriocapillaris in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50, 4982-91.
- MCLEOD, D. S., TAOMOTO, M., OTSUJI, T., GREEN, W. R., SUNNESS, J. S. & LUTTY, G. A. 2002. Quantifying changes in RPE and choroidal vasculature in eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43, 1986-93.
- MEHTA, S. 2015. Age-Related Macular Degeneration. *Prim Care*, 42, 377-91.
- MELLAL, K., OMRI, S., MULUMBA, M., TAHIRI, H., FORTIN, C., DORION, M. F., PHAM, H., GARCIA RAMOS, Y., ZHANG, J., PUNDIR, S., JOYAL, J. S., BOUCHARD, J. F., SENNLAUB, F., FEBBRAIO, M., HARDY, P., GRAVEL, S. P., MARLEAU, S., LUBELL, W. D., CHEMTOB, S. & ONG, H. 2019. Immunometabolic modulation of retinal inflammation by CD36 ligand. *Sci Rep*, 9, 12903.
- MEYER-LUEHMANN, M., SPIRES-JONES, T. L., PRADA, C., GARCIA-ALLOZA, M., DE CALIGNON, A., ROZKALNE, A., KOENIGSKNECHT-TALBOO, J., HOLTZMAN, D. M., BACSKAI, B. J. & HYMAN, B. T. 2008. Rapid appearance and local toxicity of amyloid-beta plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature*, 451, 720-4.
- MICKLISCH, S., LIN, Y., JACOB, S., KARLSTETTER, M., DANNHAUSEN, K., DASARI, P., VON DER HEIDE, M., DAHSE, H. M., SCHMOLZ, L., GRASSMANN, F., ALENE, M., FAUSER, S., NEUMANN, H., LORKOWSKI, S., PAULY, D., WEBER, B. H., JOUSSEN, A. M., LANGMANN, T., ZIPFEL, P. F. & SKERKA, C. 2017. Age-related macular degeneration associated polymorphism rs10490924 in ARMS2 results in deficiency of a complement activator. *J Neuroinflammation*, 14, 4.
- MILLER, T. W., ISENBERG, J. S., SHIH, H. B., WANG, Y. & ROBERTS, D. D. 2010. Amyloid-beta inhibits No-cGMP signaling in a CD36- and CD47-dependent manner. *PLoS One*, 5, e15686.
- MILLS, C. D., KINCAID, K., ALT, J. M., HEILMAN, M. J. & HILL, A. M. 2000. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol*, 164, 6166-73.
- MILLS, E. L., KELLY, B., LOGAN, A., COSTA, A. S. H., VARMA, M., BRYANT, C. E., TOURLMOUSIS, P., DABRITZ, J. H. M., GOTTLIEB, E., LATORRE, I., CORR,

- S. C., MCMANUS, G., RYAN, D., JACOBS, H. T., SZIBOR, M., XAVIER, R. J., BRAUN, T., FREZZA, C., MURPHY, M. P. & O'NEILL, L. A. 2016. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell*, 167, 457-470 e13.
- MIQUILENA-COLINA, M. E., LIMA-CABELLO, E., SANCHEZ-CAMPOS, S., GARCIA-MEDIAVILLA, M. V., FERNANDEZ-BERMEJO, M., LOZANO-RODRIGUEZ, T., VARGAS-CASTRILLON, J., BUQUE, X., OCHOA, B., ASPICHUETA, P., GONZALEZ-GALLEGO, J. & GARCIA-MONZON, C. 2011. Hepatic fatty acid translocase CD36 upregulation is associated with insulin resistance, hyperinsulinaemia and increased steatosis in non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis C. *Gut*, 60, 1394-402.
- MITCHELL, P., LIEW, G., GOPINATH, B. & WONG, T. Y. 2018. Age-related macular degeneration. *Lancet*, 392, 1147-1159.
- MOORE, D. J., HUSSAIN, A. A. & MARSHALL, J. 1995. Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 36, 1290-7.
- MOORE, K. J., EL KHOURY, J., MEDEIROS, L. A., TERADA, K., GEULA, C., LUSTER, A. D. & FREEMAN, M. W. 2002. A CD36-initiated signaling cascade mediates inflammatory effects of beta-amyloid. *J Biol Chem*, 277, 47373-9.
- MOSSER, D. M. & EDWARDS, J. P. 2008. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*, 8, 958-69.
- MOTOL, Y., SHIBATA, T., TAKAHASHI, K., KANNO, A., MURAKAMI, Y., LI, X., KASAHARA, T. & MIYAKE, K. 2014. Lipopeptides are signaled by Toll-like receptor 1, 2 and 6 in endolysosomes. *Int Immunol*, 26, 563-73.
- MOTWANI, M. P. & GILROY, D. W. 2015. Macrophage development and polarization in chronic inflammation. *Semin Immunol*, 27, 257-66.
- MULFAUL, K., OZAKI, E., FERNANDO, N., BRENNAN, K., CHIRCO, K. R., CONNOLLY, E., GREENE, C., MAMINISHKIS, A., SALOMON, R. G., LINETSKY, M., NATOLI, R., MULLINS, R. F., CAMPBELL, M. & DOYLE, S. L. 2020. Toll-like Receptor 2 Facilitates Oxidative Damage-Induced Retinal Degeneration. *Cell Rep*, 30, 2209-2224 e5.
- MWAIKAMBO, B. R., SENNLAUB, F., ONG, H., CHEMTOB, S. & HARDY, P. 2006. Activation of CD36 inhibits and induces regression of inflammatory corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, 4356-64.
- MWAIKAMBO, B. R., YANG, C., CHEMTOB, S. & HARDY, P. 2009. Hypoxia up-regulates CD36 expression and function via hypoxia-inducible factor-1- and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanisms. *J Biol Chem*, 284, 26695-707.
- NAGY, C. & HASCHEMI, A. 2015. Time and Demand are Two Critical Dimensions of Immunometabolism: The Process of Macrophage Activation and the Pentose Phosphate Pathway. *Front Immunol*, 6, 164.
- NASSIR, F., WILSON, B., HAN, X., GROSS, R. W. & ABUMRAD, N. A. 2007. CD36 is important for fatty acid and cholesterol uptake by the proximal but not distal intestine. *J Biol Chem*, 282, 19493-501.
- NATHAN, C. F. 1987. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest*, 79, 319-26.
- NATHAN, C. F., MURRAY, H. W., WIEBE, M. E. & RUBIN, B. Y. 1983. Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med*, 158, 670-89.

- NATOLI, R., JIAO, H., BARNETT, N. L., FERNANDO, N., VALTER, K., PROVVIS, J. M. & RUTAR, M. 2016. A model of progressive photo-oxidative degeneration and inflammation in the pigmented C57BL/6J mouse retina. *Exp Eye Res*, 147, 114-27.
- NAVAZO, M. D., DAVIET, L., SAVILL, J., REN, Y., LEUNG, L. L. & MCGREGOR, J. L. 1996. Identification of a domain (155-183) on CD36 implicated in the phagocytosis of apoptotic neutrophils. *J Biol Chem*, 271, 15381-5.
- NEBBIOSO, M., LAMBIASE, A., CERINI, A., LIMOLI, P. G., LA CAVA, M. & GRECO, A. 2019. Therapeutic Approaches with Intravitreal Injections in Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration: Current Drugs and Potential Molecules. *Int J Mol Sci*, 20.
- NECULAI, D., SCHWAKE, M., RAVICHANDRAN, M., ZUNKE, F., COLLINS, R. F., PETERS, J., NECULAI, M., PLUMB, J., LOPPNAU, P., PIZARRO, J. C., SEITOVA, A., TRIMBLE, W. S., SAFTIG, P., GRINSTEIN, S. & DHE-PAGANON, S. 2013. Structure of LIMP-2 provides functional insights with implications for SR-BI and CD36. *Nature*, 504, 172-6.
- NEWSHOLME, P., CURI, R., GORDON, S. & NEWSHOLME, E. A. 1986. Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem J*, 239, 121-5.
- NG, T. F. & STREILEIN, J. W. 2001. Light-induced migration of retinal microglia into the subretinal space. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42, 3301-10.
- NIMMERJAHN, A., KIRCHHOFF, F. & HELMCHEN, F. 2005. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 308, 1314-8.
- NITA, M., GRZYBOWSKI, A., ASCASO, F. J. & HUERVA, V. 2014. Age-related macular degeneration in the aspect of chronic low-grade inflammation (pathophysiological parainflammation). *Mediators Inflamm*, 2014, 930671.
- NOUSHMEHR, H., D'AMICO, E., FARILLA, L., HUI, H., WAWROWSKY, K. A., MLYNARSKI, W., DORIA, A., ABUMRAD, N. A. & PERFETTI, R. 2005. Fatty acid translocase (FAT/CD36) is localized on insulin-containing granules in human pancreatic beta-cells and mediates fatty acid effects on insulin secretion. *Diabetes*, 54, 472-81.
- O'NEILL, L. A. 2015. A broken krebs cycle in macrophages. *Immunity*, 42, 393-4.
- O'NEILL, L. A., GOLENBOCK, D. & BOWIE, A. G. 2013. The history of Toll-like receptors - redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 13, 453-60.
- O'NEILL, L. A., KISHTON, R. J. & RATHMELL, J. 2016. A guide to immunometabolism for immunologists. *Nat Rev Immunol*, 16, 553-65.
- OCKENHOUSE, C. F. & CHULAY, J. D. 1988. Plasmodium falciparum sequestration: OKM5 antigen (CD36) mediates cytoadherence of parasitized erythrocytes to a myelomonocytic cell line. *J Infect Dis*, 157, 584-8.
- OHGAMI, N., NAGAI, R., IKEMOTO, M., ARAI, H., KUNIYASU, A., HORIUCHI, S. & NAKAYAMA, H. 2001. Cd36, a member of the class b scavenger receptor family, as a receptor for advanced glycation end products. *J Biol Chem*, 276, 3195-202.
- OHSAWA, K., IMAI, Y., SASAKI, Y. & KOHSAKA, S. 2004. Microglia/macrophage-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-bundling activity. *J Neurochem*, 88, 844-56.
- OKUMURA, T. & JAMIESON, G. A. 1976. Platelet glycoprotein. I. Orientation of glycoproteins of the human platelet surface. *J Biol Chem*, 251, 5944-9.

- OKUSAWA, T., FUJITA, M., NAKAMURA, J., INTO, T., YASUDA, M., YOSHIMURA, A., HARA, Y., HASEBE, A., GOLENBOCK, D. T., MORITA, M., KUROKI, Y., OGAWA, T. & SHIBATA, K. 2004. Relationship between structures and biological activities of mycoplasmal diacylated lipopeptides and their recognition by toll-like receptors 2 and 6. *Infect Immun*, 72, 1657-65.
- OLIVEIRA-NASCIMENTO, L., MASSARI, P. & WETZLER, L. M. 2012. The Role of TLR2 in Infection and Immunity. *Front Immunol*, 3, 79.
- ORIHUELA, R., MCPHERSON, C. A. & HARRY, G. J. 2016. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol*, 173, 649-65.
- OUIMET, M., EDIRIWEERA, H. N., GUNDRU, U. M., SHEEDY, F. J., RAMKHELAWON, B., HUTCHISON, S. B., RINEHOLD, K., VAN SOLINGEN, C., FULLERTON, M. D., CECCHINI, K., RAYNER, K. J., STEINBERG, G. R., ZAMORE, P. D., FISHER, E. A., LOKE, P. & MOORE, K. J. 2015. MicroRNA-33-dependent regulation of macrophage metabolism directs immune cell polarization in atherosclerosis. *J Clin Invest*, 125, 4334-48.
- OZINSKY, A., UNDERHILL, D. M., FONTENOT, J. D., HAJJAR, A. M., SMITH, K. D., WILSON, C. B., SCHROEDER, L. & ADEREM, A. 2000. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 13766-71.
- PANOUSIS, C. G. & ZUCKERMAN, S. H. 2000. Regulation of cholesterol distribution in macrophage-derived foam cells by interferon-gamma. *J Lipid Res*, 41, 75-83.
- PAPATHANASSIU, A. E., KO, J. H., IMPRIALOU, M., BAGNATI, M., SRIVASTAVA, P. K., VU, H. A., CUCCHI, D., MCADOO, S. P., ANANIEVA, E. A., MAURO, C. & BEHMOARAS, J. 2017. BCAT1 controls metabolic reprogramming in activated human macrophages and is associated with inflammatory diseases. *Nat Commun*, 8, 16040.
- PARISI, L., GINI, E., BACI, D., TREMOLATI, M., FANULI, M., BASSANI, B., FARRONATO, G., BRUNO, A. & MORTARA, L. 2018. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *J Immunol Res*, 2018, 8917804.
- PARK, Y. M. 2014. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Exp Mol Med*, 46, e99.
- PARK, Y. M., FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2009. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. *J Clin Invest*, 119, 136-45.
- PATEL, N., OHBAYASHI, M., NUGENT, A. K., RAMCHAND, K., TODA, M., CHAU, K. Y., BUNCE, C., WEBSTER, A., BIRD, A. C., ONO, S. J. & CHONG, V. 2005. Circulating anti-retinal antibodies as immune markers in age-related macular degeneration. *Immunology*, 115, 422-30.
- PATEL, S. N., LU, Z., AYI, K., SERGHIDES, L., GOWDA, D. C. & KAIN, K. C. 2007. Disruption of CD36 impairs cytokine response to Plasmodium falciparum glycosylphosphatidylinositol and confers susceptibility to severe and fatal malaria in vivo. *J Immunol*, 178, 3954-61.
- PATEL, S. N., SERGHIDES, L., SMITH, T. G., FEBBRAIO, M., SILVERSTEIN, R. L., KURTZ, T. W., PRAVENEK, M. & KAIN, K. C. 2004. CD36 mediates the phagocytosis of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes by rodent macrophages. *J Infect Dis*, 189, 204-13.

- PEARCE, E. L. & PEARCE, E. J. 2013. Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity*, 38, 633-43.
- PEARCE, S. F., ROY, P., NICHOLSON, A. C., HAJJAR, D. P., FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 1998. Recombinant glutathione S-transferase/CD36 fusion proteins define an oxidized low density lipoprotein-binding domain. *J Biol Chem*, 273, 34875-81.
- PEPINO, M. Y., KUDA, O., SAMOVSKI, D. & ABUMRAD, N. A. 2014. Structure-function of CD36 and importance of fatty acid signal transduction in fat metabolism. *Annu Rev Nutr*, 34, 281-303.
- PICARD, E., HOUSSIER, M., BUJOLD, K., SAPIEHA, P., LUBELL, W., DORFMAN, A., RACINE, J., HARDY, P., FEBBRAIO, M., LACHAPELLE, P., ONG, H., SENNLAUB, F. & CHEMTOB, S. 2010. CD36 plays an important role in the clearance of oxLDL and associated age-dependent sub-retinal deposits. *Aging (Albany NY)*, 2, 981-9.
- POHL, J., RING, A., KORKMAZ, U., EHEHALT, R. & STREMMEL, W. 2005. FAT/CD36-mediated long-chain fatty acid uptake in adipocytes requires plasma membrane rafts. *Mol Biol Cell*, 16, 24-31.
- POLLARD, J. W. 2009. Trophic macrophages in development and disease. *Nat Rev Immunol*, 9, 259-70.
- PRABHUDAS, M., BOWDISH, D., DRICKAMER, K., FEBBRAIO, M., HERZ, J., KOBZIK, L., KRIEGER, M., LOIKE, J., MEANS, T. K., MOESTRUP, S. K., POST, S., SAWAMURA, T., SILVERSTEIN, S., WANG, X. Y. & EL KHOURY, J. 2014. Standardizing scavenger receptor nomenclature. *J Immunol*, 192, 1997-2006.
- PRIMO, L., FERRANDI, C., ROCA, C., MARCHIO, S., DI BLASIO, L., ALESSIO, M. & BUSSOLINO, F. 2005. Identification of CD36 molecular features required for its in vitro angiostatic activity. *FASEB J*, 19, 1713-5.
- PROULX, C., PICARD, E., BOEGLIN, D., POHANKOVA, P., CHEMTOB, S., ONG, H. & LUBELL, W. D. 2012. Azapeptide analogues of the growth hormone releasing peptide 6 as cluster of differentiation 36 receptor ligands with reduced affinity for the growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem*, 55, 6502-11.
- PROULX, C., ZHANG, J., SABATINO, D., CHEMTOB, S., ONG, H. & LUBELL, W. D. 2020. Synthesis and Biomedical Potential of Azapeptide Modulators of the Cluster of Differentiation 36 Receptor (CD36). *Biomedicines*, 8.
- PURVES, D. 2005. *Neurosciences*, Bruxelles, De Boeck Université.
- QIAO, L., ZOU, C., SHAO, P., SCHAACK, J., JOHNSON, P. F. & SHAO, J. 2008. Transcriptional regulation of fatty acid translocase/CD36 expression by CCAAT/enhancer-binding protein alpha. *J Biol Chem*, 283, 8788-95.
- RAC, M. E., SAFRANOW, K. & PONCYLJUSZ, W. 2007. Molecular basis of human CD36 gene mutations. *Mol Med*, 13, 288-96.
- RAHAMAN, S. O., LENNON, D. J., FEBBRAIO, M., PODREZ, E. A., HAZEN, S. L. & SILVERSTEIN, R. L. 2006. A CD36-dependent signaling cascade is necessary for macrophage foam cell formation. *Cell Metab*, 4, 211-21.
- RAHAMAN, S. O., SWAT, W., FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2011. Vav family Rho guanine nucleotide exchange factors regulate CD36-mediated macrophage foam cell formation. *J Biol Chem*, 286, 7010-7.

- RAJAMAKI, K., LAPPALAINEN, J., OORNI, K., VALIMAKI, E., MATIKAINEN, S., KOVANEN, P. T. & EKLUND, K. K. 2010. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and inflammation. *PLoS One*, 5, e11765.
- RAKOCZY, E. P., LAI, C. M., MAGNO, A. L., WIKSTROM, M. E., FRENCH, M. A., PIERCE, C. M., SCHWARTZ, S. D., BLUMENKRANZ, M. S., CHALBERG, T. W., DEGLI-ESPOSTI, M. A. & CONSTABLE, I. J. 2015. Gene therapy with recombinant adeno-associated vectors for neovascular age-related macular degeneration: 1 year follow-up of a phase 1 randomised clinical trial. *Lancet*, 386, 2395-403.
- RAOUL, W., AUVYNET, C., CAMELO, S., GUILLONNEAU, X., FEUMI, C., COMBADIÈRE, C. & SENNLAUB, F. 2010. CCL2/CCR2 and CX3CL1/CX3CR1 chemokine axes and their possible involvement in age-related macular degeneration. *J Neuroinflammation*, 7, 87.
- RASHID, K., AKHTAR-SCHAEFER, I. & LANGMANN, T. 2019. Microglia in Retinal Degeneration. *Front Immunol*, 10, 1975.
- RE, F. & STROMINGER, J. L. 2003. Separate functional domains of human MD-2 mediate Toll-like receptor 4-binding and lipopolysaccharide responsiveness. *J Immunol*, 171, 5272-6.
- RECALCATI, S., GAMMELLA, E. & CAIRO, G. 2019. Ironing out Macrophage Immunometabolism. *Pharmaceuticals (Basel)*, 12.
- REDDY, R. C. 2008. Immunomodulatory role of PPAR-gamma in alveolar macrophages. *J Invest Med*, 56, 522-7.
- REGE, T. A., STEWART, J., JR., DRANKA, B., BENVENISTE, E. N., SILVERSTEIN, R. L. & GLADSON, C. L. 2009. Thrombospondin-1-induced apoptosis of brain microvascular endothelial cells can be mediated by TNF-R1. *J Cell Physiol*, 218, 94-103.
- REICHENBACH, A. & BRINGMANN, A. 2013. New functions of Muller cells. *Glia*, 61, 651-78.
- REIS, A., MATEUS, C., MELO, P., FIGUEIRA, J., CUNHA-VAZ, J. & CASTELO-BRANCO, M. 2014. Neuroretinal dysfunction with intact blood-retinal barrier and absent vasculopathy in type 1 diabetes. *Diabetes*, 63, 3926-37.
- REN, B., BEST, B., RAMAKRISHNAN, D. P., WALCOTT, B. P., STORZ, P. & SILVERSTEIN, R. L. 2016. LPA/PKD-1-FoxO1 Signaling Axis Mediates Endothelial Cell CD36 Transcriptional Repression and Proangiogenic and Proarteriogenic Reprogramming. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 36, 1197-208.
- REN, B., HALE, J., SRIKANTHAN, S. & SILVERSTEIN, R. L. 2011. Lysophosphatidic acid suppresses endothelial cell CD36 expression and promotes angiogenesis via a PKD-1-dependent signaling pathway. *Blood*, 117, 6036-45.
- REN, J., JIN, W. & CHEN, H. 2010. oxHDL decreases the expression of CD36 on human macrophages through PPARgamma and p38 MAP kinase dependent mechanisms. *Mol Cell Biochem*, 342, 171-81.
- REN, Y., SILVERSTEIN, R. L., ALLEN, J. & SAVILL, J. 1995. CD36 gene transfer confers capacity for phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *J Exp Med*, 181, 1857-62.
- RICKLIN, D., MASTELLOS, D. C., REIS, E. S. & LAMBRIS, J. D. 2018. The renaissance of complement therapeutics. *Nat Rev Nephrol*, 14, 26-47.

- RODRIGUE-WAY, A., DEMERS, A., ONG, H. & TREMBLAY, A. 2007. A growth hormone-releasing peptide promotes mitochondrial biogenesis and a fat burning-like phenotype through scavenger receptor CD36 in white adipocytes. *Endocrinology*, 148, 1009-18.
- ROGUSKA M, S. I., DIEFENBACH-STREIBER B, ET AL. 2014. Generation and characterization of LFG316, a fully-human anti-C5 antibody for the treatment of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 2014;55(13):3433.
- ROSENFELD, P. J., BROWN, D. M., HEIER, J. S., BOYER, D. S., KAISER, P. K., CHUNG, C. Y., KIM, R. Y. & GROUP, M. S. 2006. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*, 355, 1419-31.
- ROSENFELD, P. J., MOSHFEGHI, A. A. & PULIAFITO, C. A. 2005. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*, 36, 331-5.
- ROUABHIA, M., JOBIN, N., DOUCET, R., JR., BERGERON, J. & AUGER, F. A. 1994. CD36(+)-dendritic epidermal cells: a putative actor in the cutaneous immune system. *Cell Transplant*, 3, 529-36.
- RUDOLF, M., WINKLER, B., AHERRAHOU, Z., DOEHRING, L. C., KACZMAREK, P. & SCHMIDT-ERFURTH, U. 2005. Increased expression of vascular endothelial growth factor associated with accumulation of lipids in Bruch's membrane of LDL receptor knockout mice. *Br J Ophthalmol*, 89, 1627-30.
- RUFFELL, D., MOURKIOTI, F., GAMBARDELLA, A., KIRSTETTER, P., LOPEZ, R. G., ROSENTHAL, N. & NERLOV, C. 2009. A CREB-C/EBPbeta cascade induces M2 macrophage-specific gene expression and promotes muscle injury repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 17475-80.
- RYEOM, S. W., SPARROW, J. R. & SILVERSTEIN, R. L. 1996. CD36 participates in the phagocytosis of rod outer segments by retinal pigment epithelium. *J Cell Sci*, 109 (Pt 2), 387-95.
- SABATINO, D., PROULX, C., KLOCEK, S., BOURGUET, C. B., BOEGLIN, D., ONG, H. & LUBELL, W. D. 2009. Exploring side-chain diversity by submonomer solid-phase aza-peptide synthesis. *Org Lett*, 11, 3650-3.
- SABATINO, D., PROULX, C., POHANKOVA, P., ONG, H. & LUBELL, W. D. 2011. Structure-activity relationships of GHRP-6 azapeptide ligands of the CD36 scavenger receptor by solid-phase submonomer azapeptide synthesis. *J Am Chem Soc*, 133, 12493-506.
- SAHA, S., SHALOVA, I. N. & BISWAS, S. K. 2017. Metabolic regulation of macrophage phenotype and function. *Immunol Rev*, 280, 102-111.
- SAINT-GENIEZ, M., MAHARAJ, A. S., WALSH, T. E., TUCKER, B. A., SEKIYAMA, E., KURIHARA, T., DARLAND, D. C., YOUNG, M. J. & D'AMORE, P. A. 2008. Endogenous VEGF is required for visual function: evidence for a survival role on muller cells and photoreceptors. *PLoS One*, 3, e3554.
- SAIZ, M. L., ROCHA-PERUGINI, V. & SANCHEZ-MADRID, F. 2018. Tetraspanins as Organizers of Antigen-Presenting Cell Function. *Front Immunol*, 9, 1074.
- SAMOVSKI, D., SU, X., XU, Y., ABUMRAD, N. A. & STAHL, P. D. 2012. Insulin and AMPK regulate FA translocase/CD36 plasma membrane recruitment in cardiomyocytes via Rab GAP AS160 and Rab8a Rab GTPase. *J Lipid Res*, 53, 709-17.

- SARKS, S., CHEREPANOFF, S., KILLINGSWORTH, M. & SARKS, J. 2007. Relationship of Basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 968-77.
- SARKS, S. H., ARNOLD, J. J., KILLINGSWORTH, M. C. & SARKS, J. P. 1999. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age related maculopathy: a clinicopathological study. *Br J Ophthalmol*, 83, 358-68.
- SAVILL, J., HOGG, N., REN, Y. & HASLETT, C. 1992. Thrombospondin cooperates with CD36 and the vitronectin receptor in macrophage recognition of neutrophils undergoing apoptosis. *J Clin Invest*, 90, 1513-22.
- SCHOLZ, R., SOBOTKA, M., CARAMOY, A., STEMPEL, T., MOEHLE, C. & LANGMANN, T. 2015. Minocycline counter-regulates pro-inflammatory microglia responses in the retina and protects from degeneration. *J Neuroinflammation*, 12, 209.
- SCHUTT, F., DAVIES, S., KOPITZ, J., HOLZ, F. G. & BOULTON, M. E. 2000. Photodamage to human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41, 2303-8.
- SCHWANDNER, R., DZIARSKI, R., WESCHE, H., ROTHE, M. & KIRSCHNING, C. J. 1999. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem*, 274, 17406-9.
- SEIMON, T. A., NADOLSKI, M. J., LIAO, X., MAGALLON, J., NGUYEN, M., FERIC, N. T., KOSCHINSKY, M. L., HARKEWICZ, R., WITZTUM, J. L., TSIMIKAS, S., GOLENBOCK, D., MOORE, K. J. & TABAS, I. 2010. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab*, 12, 467-82.
- SENE, A., KHAN, A. A., COX, D., NAKAMURA, R. E., SANTEFORD, A., KIM, B. M., SIDHU, R., ONKEN, M. D., HARBOUR, J. W., HAGBI-LEVI, S., CHOWERS, I., EDWARDS, P. A., BALDAN, A., PARKS, J. S., ORY, D. S. & APTE, R. S. 2013. Impaired cholesterol efflux in senescent macrophages promotes age-related macular degeneration. *Cell Metab*, 17, 549-61.
- SENNLAUB, F., AUVYNET, C., CALIPPE, B., LAVALETTE, S., POUPEL, L., HU, S. J., DOMINGUEZ, E., CAMELO, S., LEVY, O., GUYON, E., SAEDERUP, N., CHARO, I. F., ROOIJEN, N. V., NANDROT, E., BOURGES, J. L., BEHAR-COHEN, F., SAHEL, J. A., GUILLONNEAU, X., RAOUL, W. & COMBADIÈRE, C. 2013. CCR2(+) monocytes infiltrate atrophic lesions in age-related macular disease and mediate photoreceptor degeneration in experimental subretinal inflammation in Cx3cr1 deficient mice. *EMBO Mol Med*, 5, 1775-93.
- SEPP, T., KHAN, J. C., THURLBY, D. A., SHAHID, H., CLAYTON, D. G., MOORE, A. T., BIRD, A. C. & YATES, J. R. 2006. Complement factor H variant Y402H is a major risk determinant for geographic atrophy and choroidal neovascularization in smokers and nonsmokers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, 536-40.
- SHAO, B. Z., XU, Z. Q., HAN, B. Z., SU, D. F. & LIU, C. 2015. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review. *Front Pharmacol*, 6, 262.
- SHAPOURI-MOGHADDAM, A., MOHAMMADIAN, S., VAZINI, H., TAGHADOSI, M., ESMAEILI, S. A., MARDANI, F., SEIFI, B., MOHAMMADI, A., AFSHARI, J. T. & SAHEBKAR, A. 2018. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*, 233, 6425-6440.

- SHAW, P. X., ZHANG, L., ZHANG, M., DU, H., ZHAO, L., LEE, C., GROB, S., LIM, S. L., HUGHES, G., LEE, J., BEDELL, M., NELSON, M. H., LU, F., KRUPA, M., LUO, J., OUYANG, H., TU, Z., SU, Z., ZHU, J., WEI, X., FENG, Z., DUAN, Y., YANG, Z., FERREYRA, H., BARTSCH, D. U., KOZAK, I., ZHANG, L., LIN, F., SUN, H., FENG, H. & ZHANG, K. 2012. Complement factor H genotypes impact risk of age-related macular degeneration by interaction with oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, 13757-62.
- SHAW, S. 1987. Characterization of human leukocyte differentiation antigens. *Immunol Today*, 8, 1-3.
- SHEEDY, F. J., GREBE, A., RAYNER, K. J., KALANTARI, P., RAMKHELAWON, B., CARPENTER, S. B., BECKER, C. E., EDIRIWEERA, H. N., MULLICK, A. E., GOLENBOCK, D. T., STUART, L. M., LATZ, E., FITZGERALD, K. A. & MOORE, K. J. 2013. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nat Immunol*, 14, 812-20.
- SHU, Y., LU, Y., PANG, X., ZHENG, W., HUANG, Y., LI, J., JI, J., ZHANG, C. & SHEN, P. 2016. Phosphorylation of PPARgamma at Ser84 promotes glycolysis and cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting PFKFB4. *Oncotarget*, 7, 76984-76994.
- SHWEIKI, D., ITIN, A., SOFFER, D. & KESHET, E. 1992. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359, 843-5.
- SICA, A. & MANTOVANI, A. 2012. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*, 122, 787-95.
- SICA, A., STRAUSS, L., CONSONNI, F. M., TRAVELLI, C., GENAZZANI, A. & PORTA, C. 2017. Metabolic regulation of suppressive myeloid cells in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*, 35, 27-35.
- SILVERSTEIN, R. L., BAIRD, M., LO, S. K. & YESNER, L. M. 1992. Sense and antisense cDNA transfection of CD36 (glycoprotein IV) in melanoma cells. Role of CD36 as a thrombospondin receptor. *J Biol Chem*, 267, 16607-12.
- SILVERSTEIN, R. L. & FEBBRAIO, M. 2009. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior. *Sci Signal*, 2, re3.
- SILVESTRI, G., WILLIAMS, M. A., MCAULEY, C., OAKES, K., SILLERY, E., HENDERSON, D. C., FERGUSON, S., SILVESTRI, V. & MULDREW, K. A. 2012. Drusen prevalence and pigmentary changes in Caucasians aged 18-54 years. *Eye (Lond)*, 26, 1357-62.
- SIMANTOV, R., FEBBRAIO, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2005. The antiangiogenic effect of thrombospondin-2 is mediated by CD36 and modulated by histidine-rich glycoprotein. *Matrix Biol*, 24, 27-34.
- SKEIE, J. M. & MULLINS, R. F. 2009. Macrophages in neovascular age-related macular degeneration: friends or foes? *Eye (Lond)*, 23, 747-55.
- SMOLINSKA, M. J., PAGE, T. H., URBANIAK, A. M., MUTCH, B. E. & HORWOOD, N. J. 2011. Hck tyrosine kinase regulates TLR4-induced TNF and IL-6 production via AP-1. *J Immunol*, 187, 6043-51.
- SOBRIN, L., RIPKE, S., YU, Y., FAGERNESS, J., BHANGALE, T. R., TAN, P. L., SOUIED, E. H., BUITENDIJK, G. H., MERRIAM, J. E., RICHARDSON, A. J.,

- RAYCHAUDHURI, S., REYNOLDS, R., CHIN, K. A., LEE, A. Y., LEVEZIEL, N., ZACK, D. J., CAMPOCHIARO, P., SMITH, R. T., BARILE, G. R., HOGG, R. E., CHAKRAVARTHY, U., BEHRENS, T. W., UITTERLINDEN, A. G., VAN DUIJN, C. M., VINGERLING, J. R., BRANTLEY, M. A., JR., BAIRD, P. N., KLAVER, C. C., ALLIKMETS, R., KATSANIS, N., GRAHAM, R. R., IOANNIDIS, J. P., DALY, M. J. & SEDDON, J. M. 2012. Heritability and genome-wide association study to assess genetic differences between advanced age-related macular degeneration subtypes. *Ophthalmology*, 119, 1874-85.
- SOLOMON, S. D., LINDSLEY, K. B., KRZYSTOLIK, M. G., VEDULA, S. S. & HAWKINS, B. S. 2016. Intravitreal Bevacizumab Versus Ranibizumab for Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Findings from a Cochrane Systematic Review. *Ophthalmology*, 123, 70-77 e1.
- SPAIDE, R. F., HO-SPAIDE, W. C., BROWNE, R. W. & ARMSTRONG, D. 1999. Characterization of peroxidized lipids in Bruch's membrane. *Retina*, 19, 141-7.
- SPARROW, J. R. & BOULTON, M. 2005. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp Eye Res*, 80, 595-606.
- SPILSBURY, K., GARRETT, K. L., SHEN, W. Y., CONSTABLE, I. J. & RAKOCZY, P. E. 2000. Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. *Am J Pathol*, 157, 135-44.
- SPRAUL, C. W., LANG, G. E., GROSSNIKLAUS, H. E. & LANG, G. K. 1998. [Characteristics of drusen and changes in Bruch's membrane in eyes with age-related macular degeneration. Histological study]. *Ophthalmologie*, 95, 73-9.
- STEIN, M., KESHAV, S., HARRIS, N. & GORDON, S. 1992. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med*, 176, 287-92.
- STEPPAN, C. M., BAILEY, S. T., BHAT, S., BROWN, E. J., BANERJEE, R. R., WRIGHT, C. M., PATEL, H. R., AHIMA, R. S. & LAZAR, M. A. 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409, 307-12.
- STEWART, C. R., STUART, L. M., WILKINSON, K., VAN GILS, J. M., DENG, J., HALLE, A., RAYNER, K. J., BOYER, L., ZHONG, R., FRAZIER, W. A., LACY-HULBERT, A., EL KHOURY, J., GOLENBOCK, D. T. & MOORE, K. J. 2010. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nat Immunol*, 11, 155-61.
- STORCH, J. & CORSICO, B. 2008. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. *Annu Rev Nutr*, 28, 73-95.
- STRAUSS, O. 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev*, 85, 845-81.
- STUART, L. M., BELL, S. A., STEWART, C. R., SILVER, J. M., RICHARD, J., GOSS, J. L., TSENG, A. A., ZHANG, A., EL KHOURY, J. B. & MOORE, K. J. 2007. CD36 signals to the actin cytoskeleton and regulates microglial migration via a p130Cas complex. *J Biol Chem*, 282, 27392-401.
- STUART, L. M., DENG, J., SILVER, J. M., TAKAHASHI, K., TSENG, A. A., HENNESSY, E. J., EZEKOWITZ, R. A. & MOORE, K. J. 2005. Response to *Staphylococcus aureus* requires CD36-mediated phagocytosis triggered by the COOH-terminal cytoplasmic domain. *J Cell Biol*, 170, 477-85.

- SUN, J., HOPKINS, B. D., TSUJIKAWA, K., PERRUZZI, C., ADINI, I., SWERLICK, R., BORNSTEIN, P., LAWLER, J. & BENJAMIN, L. E. 2009. Thrombospondin-1 modulates VEGF-A-mediated Akt signaling and capillary survival in the developing retina. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 296, H1344-51.
- SUN, M., FINNEMANN, S. C., FEBBRAIO, M., SHAN, L., ANNANGUDI, S. P., PODREZ, E. A., HOPPE, G., DARROW, R., ORGANISCIK, D. T., SALOMON, R. G., SILVERSTEIN, R. L. & HAZEN, S. L. 2006. Light-induced oxidation of photoreceptor outer segment phospholipids generates ligands for CD36-mediated phagocytosis by retinal pigment epithelium: a potential mechanism for modulating outer segment phagocytosis under oxidant stress conditions. *J Biol Chem*, 281, 4222-30.
- SUNNESS, J. S., GONZALEZ-BARON, J., APPLGATE, C. A., BRESSLER, N. M., TIAN, Y., HAWKINS, B., BARRON, Y. & BERGMAN, A. 1999. Enlargement of atrophy and visual acuity loss in the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 106, 1768-79.
- SUZUKI, H., KURIHARA, Y., TAKEYA, M., KAMADA, N., KATAOKA, M., JISHAGE, K., UEDA, O., SAKAGUCHI, H., HIGASHI, T., SUZUKI, T., TAKASHIMA, Y., KAWABE, Y., CYNCHI, O., WADA, Y., HONDA, M., KURIHARA, H., ABURATANI, H., DOI, T., MATSUMOTO, A., AZUMA, S., NODA, T., TOYODA, Y., ITAKURA, H., YAZAKI, Y., KODAMA, T. & ET AL. 1997. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature*, 386, 292-6.
- SUZUKI, M., TSUJIKAWA, M., ITABE, H., DU, Z. J., XIE, P., MATSUMURA, N., FU, X., ZHANG, R., SONODA, K. H., EGASHIRA, K., HAZEN, S. L. & KAMEI, M. 2012. Chronic photo-oxidative stress and subsequent MCP-1 activation as causative factors for age-related macular degeneration. *J Cell Sci*, 125, 2407-15.
- SVENSSON, L., CAMEJO, G., CABRE, A., VALLVE, J. C., PEDRENO, J., NOREN, K., WIKLUND, O. & HULTEN, L. M. 2003. Fatty acids modulate the effect of darglitazone on macrophage CD36 expression. *Eur J Clin Invest*, 33, 464-71.
- SWERLICK, R. A., LEE, K. H., WICK, T. M. & LAWLEY, T. J. 1992. Human dermal microvascular endothelial but not human umbilical vein endothelial cells express CD36 in vivo and in vitro. *J Immunol*, 148, 78-83.
- TALLE, M. A., RAO, P. E., WESTBERG, E., ALLEGAR, N., MAKOWSKI, M., MITTLER, R. S. & GOLDSTEIN, G. 1983. Patterns of antigenic expression on human monocytes as defined by monoclonal antibodies. *Cell Immunol*, 78, 83-99.
- TANAKA, T., NAKATA, T., OKA, T., OGAWA, T., OKAMOTO, F., KUSAKA, Y., SOHMIYA, K., SHIMAMOTO, K. & ITAKURA, K. 2001. Defect in human myocardial long-chain fatty acid uptake is caused by FAT/CD36 mutations. *J Lipid Res*, 42, 751-9.
- TANDON, N. N., KRALISZ, U. & JAMIESON, G. A. 1989. Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion. *J Biol Chem*, 264, 7576-83.
- TANNAHILL, G. M., CURTIS, A. M., ADAMIK, J., PALSSON-MCDERMOTT, E. M., MCGETTRICK, A. F., GOEL, G., FREZZA, C., BERNARD, N. J., KELLY, B., FOLEY, N. H., ZHENG, L., GARDET, A., TONG, Z., JANY, S. S., CORR, S. C., HANEKLAUS, M., CAFFREY, B. E., PIERCE, K., WALMSLEY, S., BEASLEY, F.

- C., CUMMINS, E., NIZET, V., WHYTE, M., TAYLOR, C. T., LIN, H., MASTERS, S. L., GOTTLIEB, E., KELLY, V. P., CLISH, C., AURON, P. E., XAVIER, R. J. & O'NEILL, L. A. 2013. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1beta through HIF-1alpha. *Nature*, 496, 238-42.
- TAO, N., WAGNER, S. J. & LUBLIN, D. M. 1996. CD36 is palmitoylated on both N- and C-terminal cytoplasmic tails. *J Biol Chem*, 271, 22315-20.
- TASKINTUNA, I., ELSAYED, M. E. & SCHATZ, P. 2016. Update on Clinical Trials in Dry Age-related Macular Degeneration. *Middle East Afr J Ophthalmol*, 23, 13-26.
- TAYLOR, W. R. & SMITH, R. G. 2004. Transmission of scotopic signals from the rod to rod-bipolar cell in the mammalian retina. *Vision Res*, 44, 3269-76.
- TONTONOZ, P., NAGY, L., ALVAREZ, J. G., THOMAZY, V. A. & EVANS, R. M. 1998. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell*, 93, 241-52.
- TOOMEY, C. B., LANDOWSKI, M., KLINGEBORN, M., KELLY, U., DEANS, J., DONG, H., HARRABI, O., VAN BLARCOM, T., YEUNG, Y. A., GRISHANIN, R., LIN, J. C., SABAN, D. R. & BOWES RICKMAN, C. 2018. Effect of Anti-C5a Therapy in a Murine Model of Early/Intermediate Dry Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 59, 662-673.
- TRIANTAFILOU, M., GAMPER, F. G., HASTON, R. M., MOURATIS, M. A., MORATH, S., HARTUNG, T. & TRIANTAFILOU, K. 2006. Membrane sorting of toll-like receptor (TLR)-2/6 and TLR2/1 heterodimers at the cell surface determines heterotypic associations with CD36 and intracellular targeting. *J Biol Chem*, 281, 31002-11.
- TSUTSUMI, C., SONODA, K. H., EGASHIRA, K., QIAO, H., HISATOMI, T., NAKAO, S., ISHIBASHI, M., CHARO, I. F., SAKAMOTO, T., MURATA, T. & ISHIBASHI, T. 2003. The critical role of ocular-infiltrating macrophages in the development of choroidal neovascularization. *J Leukoc Biol*, 74, 25-32.
- TUO, J., BOJANOWSKI, C. M., ZHOU, M., SHEN, D., ROSS, R. J., ROSENBERG, K. I., CAMERON, D. J., YIN, C., KOWALAK, J. A., ZHUANG, Z., ZHANG, K. & CHAN, C. C. 2007. Murine ccl2/cx3cr1 deficiency results in retinal lesions mimicking human age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 3827-36.
- VAN BERGENHENEGOUWEN, J., PLANTINGA, T. S., JOOSTEN, L. A., NETEA, M. G., FOLKERTS, G., KRANEVELD, A. D., GARSSSEN, J. & VOS, A. P. 2013. TLR2 & Co: a critical analysis of the complex interactions between TLR2 and coreceptors. *J Leukoc Biol*, 94, 885-902.
- VAN DEN BOSSCHE, J., O'NEILL, L. A. & MENON, D. 2017. Macrophage Immunometabolism: Where Are We (Going)? *Trends Immunol*, 38, 395-406.
- VAN NIEUWENHOVEN, F. A., VERSTIJNEN, C. P., ABUMRAD, N. A., WILLEMSSEN, P. H., VAN EYS, G. J., VAN DER VUSSE, G. J. & GLATZ, J. F. 1995. Putative membrane fatty acid translocase and cytoplasmic fatty acid-binding protein are co-expressed in rat heart and skeletal muscles. *Biochem Biophys Res Commun*, 207, 747-52.
- VATS, D., MUKUNDAN, L., ODEGAARD, J. I., ZHANG, L., SMITH, K. L., MOREL, C. R., WAGNER, R. A., GREAVES, D. R., MURRAY, P. J. & CHAWLA, A. 2006. Oxidative metabolism and PGC-1beta attenuate macrophage-mediated inflammation. *Cell Metab*, 4, 13-24.

- VECINO, E., RODRIGUEZ, F. D., RUZAFI, N., PEREIRO, X. & SHARMA, S. C. 2016. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res*, 51, 1-40.
- VEGA, M. A., SEGUI-REAL, B., GARCIA, J. A., CALES, C., RODRIGUEZ, F., VANDERKERCKHOVE, J. & SANDOVAL, I. V. 1991. Cloning, sequencing, and expression of a cDNA encoding rat LIMP II, a novel 74-kDa lysosomal membrane protein related to the surface adhesion protein CD36. *J Biol Chem*, 266, 16818-24.
- WALDSTEIN, S. M., SIMADER, C., STAURENGHI, G., CHONG, N. V., MITCHELL, P., JAFFE, G. J., LU, C., KATZ, T. A. & SCHMIDT-ERFURTH, U. 2016. Morphology and Visual Acuity in Aflibercept and Ranibizumab Therapy for Neovascular Age-Related Macular Degeneration in the VIEW Trials. *Ophthalmology*, 123, 1521-9.
- WANG, C., HU, L., ZHAO, L., YANG, P., MOORHEAD, J. F., VARGHESE, Z., CHEN, Y. & RUAN, X. Z. 2014. Inflammatory stress increases hepatic CD36 translational efficiency via activation of the mTOR signalling pathway. *PLoS One*, 9, e103071.
- WANG, L., BAO, Y., YANG, Y., WU, Y., CHEN, X., SI, S. & HONG, B. 2010a. Discovery of antagonists for human scavenger receptor CD36 via an ELISA-like high-throughput screening assay. *J Biomol Screen*, 15, 239-50.
- WANG, L. X., ZHANG, S. X., WU, H. J., RONG, X. L. & GUO, J. 2019. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *J Leukoc Biol*, 106, 345-358.
- WANG, M., MA, W., ZHAO, L., FARISS, R. N. & WONG, W. T. 2011. Adaptive Muller cell responses to microglial activation mediate neuroprotection and coordinate inflammation in the retina. *J Neuroinflammation*, 8, 173.
- WANG, Q., NI, H., LAN, L., WEI, X., XIANG, R. & WANG, Y. 2010b. Fra-1 protooncogene regulates IL-6 expression in macrophages and promotes the generation of M2d macrophages. *Cell Res*, 20, 701-12.
- WANG, X., YAO, B., WANG, Y., FAN, X., WANG, S., NIU, A., YANG, H., FOGO, A., ZHANG, M. Z. & HARRIS, R. C. 2017. Macrophage Cyclooxygenase-2 Protects Against Development of Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, 66, 494-504.
- WANG, X., ZHAO, L., ZHANG, J., FARISS, R. N., MA, W., KRETSCHMER, F., WANG, M., QIAN, H. H., BADEA, T. C., DIAMOND, J. S., GAN, W. B., ROGER, J. E. & WONG, W. T. 2016. Requirement for Microglia for the Maintenance of Synaptic Function and Integrity in the Mature Retina. *J Neurosci*, 36, 2827-42.
- WESTERMARK, G. T., WESTERMARK, P., BERNE, C., KORSGREN, O. & NORDIC NETWORK FOR CLINICAL ISLET, T. 2008. Widespread amyloid deposition in transplanted human pancreatic islets. *N Engl J Med*, 359, 977-9.
- WHITCUP, S. M., NUSSENBLATT, R. B., LIGHTMAN, S. L. & HOLLANDER, D. A. 2013. Inflammation in retinal disease. *Int J Inflam*, 2013, 724648.
- WILKINSON, B., KOENIGSKNECHT-TALBOO, J., GROMMES, C., LEE, C. Y. & LANDRETH, G. 2006. Fibrillar beta-amyloid-stimulated intracellular signaling cascades require Vav for induction of respiratory burst and phagocytosis in monocytes and microglia. *J Biol Chem*, 281, 20842-50.
- WINTERGERST, E. S., JELK, J., RAHNER, C. & ASMIS, R. 2000. Apoptosis induced by oxidized low density lipoprotein in human monocyte-derived macrophages involves CD36 and activation of caspase-3. *Eur J Biochem*, 267, 6050-9.
- WISNIEWSKI, H. M., ROBE, A., ZIGMAN, W. & SILVERMAN, W. 1989. Neuropathological diagnosis of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 48, 606-9.

- WONG, W. L., SU, X., LI, X., CHEUNG, C. M., KLEIN, R., CHENG, C. Y. & WONG, T. Y. 2014. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2, e106-16.
- WU, J. & SUN, X. 2019. Complement system and age-related macular degeneration: drugs and challenges. *Drug Des Devel Ther*, 13, 2413-2425.
- WU, K. H., MADIGAN, M. C., BILLSON, F. A. & PENFOLD, P. L. 2003. Differential expression of GFAP in early v late AMD: a quantitative analysis. *Br J Ophthalmol*, 87, 1159-66.
- WYNN, T. A., CHAWLA, A. & POLLARD, J. W. 2013. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*, 496, 445-55.
- XIA, J., PSYCHOGIOS, N., YOUNG, N. & WISHART, D. S. 2009. MetaboAnalyst: a web server for metabolomic data analysis and interpretation. *Nucleic Acids Res*, 37, W652-60.
- XU, H., CHEN, M. & FORRESTER, J. V. 2009. Para-inflammation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res*, 28, 348-68.
- YAKUBENKO, V. P., BHATTACHARJEE, A., PLUSKOTA, E. & CATHCART, M. K. 2011. alphaMbeta(2) integrin activation prevents alternative activation of human and murine macrophages and impedes foam cell formation. *Circ Res*, 108, 544-54.
- YAMAMOTO, N., AKAMATSU, N., SAKURABA, H., YAMAZAKI, H. & TANOUE, K. 1994. Platelet glycoprotein IV (CD36) deficiency is associated with the absence (type I) or the presence (type II) of glycoprotein IV on monocytes. *Blood*, 83, 392-7.
- YAMAMOTO, N., IKEDA, H., TANDON, N. N., HERMAN, J., TOMIYAMA, Y., MITANI, T., SEKIGUCHI, S., LIPSKY, R., KRALISZ, U. & JAMIESON, G. A. 1990. A platelet membrane glycoprotein (GP) deficiency in healthy blood donors: Naka-platelets lack detectable GPIV (CD36). *Blood*, 76, 1698-703.
- YAMAMOTO, T., SAKAGUCHI, N., HACHIYA, M., NAKAYAMA, F., YAMAKAWA, M. & AKASHI, M. 2009. Role of catalase in monocytic differentiation of U937 cells by TPA: hydrogen peroxide as a second messenger. *Leukemia*, 23, 761-9.
- YANG, M. & SILVERSTEIN, R. L. 2019. CD36 signaling in vascular redox stress. *Free Radic Biol Med*, 136, 159-171.
- YANG, X., OKAMURA, D. M., LU, X., CHEN, Y., MOORHEAD, J., VARGHESE, Z. & RUAN, X. Z. 2017. CD36 in chronic kidney disease: novel insights and therapeutic opportunities. *Nat Rev Nephrol*.
- YE, F., LEMIEUX, H., HOPPEL, C. L., HANSON, R. W., HAKIMI, P., CRONIGER, C. M., PUCHOWICZ, M., ANDERSON, V. E., FUJIOKA, H. & STAVNEZER, E. 2011. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) mediates a Ski oncogene-induced shift from glycolysis to oxidative energy metabolism. *J Biol Chem*, 286, 40013-24.
- YEHOSHUA, Z., DE AMORIM GARCIA FILHO, C. A., NUNES, R. P., GREGORI, G., PENHA, F. M., MOSHFEGHI, A. A., ZHANG, K., SADDI, S., FEUER, W. & ROSENFELD, P. J. 2014. Systemic complement inhibition with eculizumab for geographic atrophy in age-related macular degeneration: the COMPLETE study. *Ophthalmology*, 121, 693-701.
- YEHUALAESHT, T., O'CONNOR, R., GREEN-JOHNSON, J., MAI, S., SILVERSTEIN, R., MURPHY-ULLRICH, J. E. & KHALIL, N. 1999. Activation of rat alveolar

- macrophage-derived latent transforming growth factor beta-1 by plasmin requires interaction with thrombospondin-1 and its cell surface receptor, CD36. *Am J Pathol*, 155, 841-51.
- YESNER, L. M., HUH, H. Y., PEARCE, S. F. & SILVERSTEIN, R. L. 1996. Regulation of monocyte CD36 and thrombospondin-1 expression by soluble mediators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 16, 1019-25.
- YU, M., JIANG, M., CHEN, Y., ZHANG, S., ZHANG, W., YANG, X., LI, X., LI, Y., DUAN, S., HAN, J. & DUAN, Y. 2016. Inhibition of Macrophage CD36 Expression and Cellular Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL) Accumulation by Tamoxifen: A PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR (PPAR)gamma-DEPENDENT MECHANISM. *J Biol Chem*, 291, 16977-89.
- YU, Y. & YE, R. D. 2015. Microglial Abeta receptors in Alzheimer's disease. *Cell Mol Neurobiol*, 35, 71-83.
- ZAMIRI, P., SUGITA, S. & STREILEIN, J. W. 2007. Immunosuppressive properties of the pigmented epithelial cells and the subretinal space. *Chem Immunol Allergy*, 92, 86-93.
- ZANI, I. A., STEPHEN, S. L., MUGHAL, N. A., RUSSELL, D., HOMER-VANNIASINKAM, S., WHEATCROFT, S. B. & PONNAMBALAM, S. 2015. Scavenger receptor structure and function in health and disease. *Cells*, 4, 178-201.
- ZARBIN, M. A. & ROSENFELD, P. J. 2010. Pathway-based therapies for age-related macular degeneration: an integrated survey of emerging treatment alternatives. *Retina*, 30, 1350-67.
- ZEISS, C. J. & JOHNSON, E. A. 2004. Proliferation of microglia, but not photoreceptors, in the outer nuclear layer of the rd-1 mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45, 971-6.
- ZHANG, C., BAKER, D. L., YASUDA, S., MAKAROVA, N., BALAZS, L., JOHNSON, L. R., MARATHE, G. K., MCINTYRE, T. M., XU, Y., PRESTWICH, G. D., BYUN, H. S., BITTMAN, R. & TIGYI, G. 2004. Lysophosphatidic acid induces neointima formation through PPARgamma activation. *J Exp Med*, 199, 763-74.
- ZHANG, C., SHEN, J. K., LAM, T. T., ZENG, H. Y., CHIANG, S. K., YANG, F. & TSO, M. O. 2005. Activation of microglia and chemokines in light-induced retinal degeneration. *Mol Vis*, 11, 887-95.
- ZHANG, J., MULUMBA, M., ONG, H. & LUBELL, W. D. 2017. Diversity-Oriented Synthesis of Cyclic Azapeptides by A(3) -Macrocyclization Provides High-Affinity CD36-Modulating Peptidomimetics. *Angew Chem Int Ed Engl*, 56, 6284-6288.
- ZHANG, M., XU, G., LIU, W., NI, Y. & ZHOU, W. 2012. Role of fractalkine/CX3CR1 interaction in light-induced photoreceptor degeneration through regulating retinal microglial activation and migration. *PLoS One*, 7, e35446.
- ZHAO, L., WANG, C., SONG, D., LI, Y., SONG, Y., SU, G. & DUNAIEF, J. L. 2014. Systemic administration of the antioxidant/iron chelator alpha-lipoic acid protects against light-induced photoreceptor degeneration in the mouse retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55, 5979-88.
- ZHAO, L., ZABEL, M. K., WANG, X., MA, W., SHAH, P., FARISS, R. N., QIAN, H., PARKHURST, C. N., GAN, W. B. & WONG, W. T. 2015. Microglial phagocytosis of living photoreceptors contributes to inherited retinal degeneration. *EMBO Mol Med*, 7, 1179-97.
- ZHOU, J., FEBBRAIO, M., WADA, T., ZHAI, Y., KURUBA, R., HE, J., LEE, J. H., KHADEM, S., REN, S., LI, S., SILVERSTEIN, R. L. & XIE, W. 2008. Hepatic fatty

- acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis. *Gastroenterology*, 134, 556-67.
- ZHOU, R., YAZDI, A. S., MENU, P. & TSCHOPP, J. 2011. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 469, 221-5.
- ZIEGER, M., AHNELT, P. K. & UHRIN, P. 2014. CX3CL1 (fractalkine) protein expression in normal and degenerating mouse retina: in vivo studies. *PLoS One*, 9, e106562.
- ZIZZO, G., HILLIARD, B. A., MONESTIER, M. & COHEN, P. L. 2012. Efficient clearance of early apoptotic cells by human macrophages requires M2c polarization and MerTK induction. *J Immunol*, 189, 3508-20.
- ZWAKA, T. P., HOMBACH, V. & TORZEWSKI, J. 2001. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*, 103, 1194-7.