



Katia Mellal

Faculté de pharmacie

Université 
de Montréal

SOUTENANCE DE THÈSE

**Mercredi 30 septembre 2020
à 9h30**

Diffusion : à venir

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

JURY DE THÈSE

Présidente-rapporteuse : Céline Fiset

Directeur : Huy Ong

Codirecteurs: Sylvie Marleau, Sylvain Chemtob

Membre du jury : Gaétan Mayer

Examinatrice externe : Francine Behar-Cohen

Représentant de la vice-rectrice adjointe des

ESP : À venir

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, entraînant une diminution de l'accumulation de phagocytes mononucléés sous-rétiens 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 leucin-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.

Publications durant le doctorat 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.

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).

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.

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.

* Co-premier auteur

Publications durant le doctorat à titre de premier ou co-premier auteur

Pharmacological Targeting of the Hyper-Inflammatory Response to Coronavirus-Induced Pneumonia. Gauvin J, **Mellal K**, Tugores R, Dabula C, Lammali M, Esposito C, Ong H, Marleau S. *Frontiers in Pharmacology*. 2020 (article en préparation).

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 Aug;307:52-62.

Potential peptides in atherosclerosis therapy. Marleau S, **Mellal K**, Huynh DN, Ong H. *Front Horm Res*. 2014;43:93-106.

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*. 2013 Dec;32(12):2847-54.