



Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité innée cérébrale : modulation par l'inflammation et la nutrition

Charlotte Madore

► To cite this version:

Charlotte Madore. Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité innée cérébrale : modulation par l'inflammation et la nutrition. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bordeaux Ségalen (Bordeaux 2), 2013. Français. NNT: . tel-02806907

HAL Id: tel-02806907

<https://hal.inrae.fr/tel-02806907>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Bordeaux Segalen

Année 2013

Thèse n°2059

THESE

Pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BORDEAUX 2

Ecole doctorale Sciences de la Vie et de la Santé

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Spécialité : Neurosciences

Présentée et soutenue publiquement

Le 18 décembre 2013

Par Charlotte MADORE

Née le 5 Février 1986 à Limoges

**Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité
innée cérébrale : modulation par l'inflammation et la
nutrition**

Membres du jury

Giovanni Marsicano Directeur de Recherche (Inserm, Université Bordeaux Segalen) Président

Pierre Gressens Directeur de recherche (Inserm, Université Paris 7) Rapporteur

Giamal Luheshi Professeur (Université McGill, Canada) Rapporteur

Stéphane Hunot Chargé de Recherche (CNRS, Université Pierre et Marie Curie) Examineur

Rosa Paolicelli PhD (Université de Zurich, Suisse) Examineur

Corinne Joffre Chargée de Recherche (INRA, Université Bordeaux Segalen) Co-Directeur de Thèse

Sophie Layé Directeur de Recherche (INRA, Université Bordeaux Segalen) Co-Directeur de Thèse

Je tiens à remercier le Dr Giovanni Marsicano qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Mes remerciements s'adressent également au Pr Giamal Luheshi et au Dr Pierre Gressens d'avoir accepté la lourde tâche d'être rapporteurs ainsi qu'aux Dr Rosa Paolicelli et Dr Stéphane Hunot pour leurs rôles d'examineurs.

Je leur exprime ici toute ma gratitude pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail.

Je remercie également le Dr Corinne Joffre et le Dr Sophie Layé de m'avoir accueillie au sein du laboratoire, guidée et soutenue tout au long de ces trois enrichissantes années. Je remercie très chaleureusement tous les membres du laboratoire NutriNeuro, et en particulier le Dr Agnès Nadjar de son soutien et de ces précieux conseils.

“Microglia are the best cells ever. Microglia are like soldiers, policemen, chameleons, spiders, housekeepers, gardeners, electricians and garbage collectors. Microglia can be active or resting, branched or blobby, harmful or protective, and they are everywhere and always moving. Are you in love yet?”

Virginia Hughes

SOMMAIRE

SOMMAIRE	1
INTRODUCTION	5
I. Le système de l'immunité innée cérébrale	8
1. L'immunité innée cérébrale	8
2. La Neuroinflammation	8
3. Activation microgliale : définition	10
4. Facteurs protéiques clés de la neuroinflammation : les cytokines cérébrales	12
4.1 Les cytokines pro-inflammatoires	13
<i>L'interleukine-1 beta (IL-1β)</i>	13
<i>Le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α)</i>	14
<i>L'interleukine-6 (IL-6)</i>	15
4.2 Les cytokines anti-inflammatoires	15
<i>L'interleukine-10 (IL-10)</i>	15
<i>L'interleukine-4 (IL-4)</i>	16
<i>Le facteur de croissance transformant (TGF-β)</i>	16
II. Les cellules microgliales : acteurs clés de l'immunité innée cérébrale	17
1. Origine des cellules microgliales	19
1.1 Origine mésodermique	19
1.2 Origine monocyttaire	20
1.3 Renouvellement des cellules microgliales ou prolifération in situ ?	21
1.4 Renouvellement des cellules microgliales lors d'une neuroinflammation	23
2. Plasticité morphologique microgliale	24
2.1 Distribution microgliale	24
2.2 Morphologie microgliale	25
2.3 Identification microgliale	26
<i>Microglie adulte vs macrophage/monocyte périphérique</i>	26
<i>Microglie fœtale</i>	27
2.4 Hétérogénéité phénotypique après activation immune	28
<i>Phénotypes des macrophages en périphérie</i>	29
<i>Phénotypes microgliaux</i>	30
2.5 Régulation de l'activation microgliale par des médiateurs neuro-immuns : rôles dans la communication neurone-microglie	33
<i>Régulation par des facteurs immuns solubles</i>	34
CX3CL1, signal Off d'activation microgliale	34
<i>Modulation immune directe par un contact cellule/cellule</i>	36
CD200 et CD47 : signaux membranaires de type Off	37
CD200	37
CD47	38
3. Propriétés de la microglie en situation physiologique et pathologique	39
3.1 Motilité des processus microgliaux	40
3.2 Migration des cellules microgliales vers un site lésé	41
<i>CCL2 : chémoattractant microglial</i>	42
3.3 Présentation d'antigènes	42
3.4 Microglie et Plasticité synaptique	43
3.4.1 Plasticité synaptique	43
3.4.2 Un nouveau concept : la synapse quadri-partite	45
III. La phagocytose microgliale	48
1. La phagocytose	48
1.1 Définition de la phagocytose	48
1.2 Mécanismes de phagocytose	49

<i>Find-me</i>	49
<i>Eat-me</i>	49
<i>Digest-me</i>	50
<i>Les différents signaux find-me, eat-me et digest-me</i>	52
1.3 Phagocytose de particules opsonisées	52
1.4 Phagocytose dépendante des récepteurs scavengers	53
<i>Les récepteurs scavengers (SR)</i>	53
<i>Les récepteurs Scavenger de classe A ou SCARA</i>	54
<i>Les récepteurs Scavenger de classe B ou SCARB</i>	54
<i>CD36</i>	54
<i>CD36 et phagocytose de l'Aβ</i>	55
1.5 Phagocytose des cellules en apoptose	55
<i>Phagocytose dépendante des phosphatidylsérines (PS)</i>	55
<i>Phagocytose des nouveaux neurones</i>	57
<i>Phagocytose au cours du développement</i>	57
1.6 Phagocytose primaire sans apoptose mais dépendante des PS	58
2. Phagocytose et Elagage synaptique	59
2.1 Définition d'une épine dendritique	59
2.2 Elimination des synapses à l'âge adulte	61
<i>Dégénérescence synaptique et pathologie d'Alzheimer</i>	61
<i>Nouveau concept : Elimination synaptique physiologique</i>	62
2.3 Elimination synaptique au cours du développement	63
<i>Molécules du complément et élagage synaptique : tags moléculaires</i>	64
3. Synaptogenèse	66
4. Microglie et Maturation synaptique	67
IV. Nutrition: Modulateur du système de l'immunité innée cérébrale	67
1. Les Acides Gras PolyInsaturés	68
1.1 Nomenclature, métabolisme	68
1.2 Recommandations	72
1.3 Rôle Structural	72
1.4 Précurseurs de médiateurs lipidiques bioactifs	73
2. AGPI et SNC	75
2.1 AGPI et développement du SNC	75
<i>Apports des AGPI au cours de la période périnatale</i>	75
2.2 Rôles des AGPI sur les fonctions cérébrales	77
<i>Neurotransmission</i>	77
<i>Plasticité synaptique</i>	77
<i>AGPI et Troubles cognitifs</i>	78
<i>Etudes chez l'Homme</i>	78
<i>Etudes chez l'animal</i>	79
3. Propriétés immunomodulatrices des AGPI	81
3.1 Effets anti-inflammatoires des AGPI	81
<i>Etudes chez l'Homme</i>	81
<i>Etudes chez l'animal</i>	82
<i>Etudes in vitro</i>	82
<i>Effets sur la phagocytose</i>	83
3.2 Mécanismes directs d'immunomodulation des AGPI : régulation génique	83
<i>Via l'activation de PPAR</i>	83
<i>Via leur fixation sur les GPR</i>	84
3.3 Effets immunomodulateurs des médiateurs lipidiques synthétisés à partir des AGPI	84
<i>Effets immunomodulateurs des eicosanoïdes</i>	85

<i>Dérivés de l'AA</i>	85
<i>Dérivés de l'EPA</i>	86
<i>Effets immunomodulateurs impliqués dans la résolution de l'inflammation</i>	86
<i>Effets immunomodulateurs des endocannabinoïdes</i>	87
OBJECTIFS	89
OBJECTIVES	93
RESULTATS	96
CHAPITRE 1 : Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide	97
CHAPITRE 2 : Dietary n-3 PUFA deficiency alters microglia phagocytic activity and spine density during brain development	106
DISCUSSION	154
I. Modèles animaux utilisés pour étudier la plasticité morphofonctionnelle des cellules microgliales	155
I.1 Le lipopolysaccharide (LPS), un modèle d'inflammation périphérique et cérébrale aigue	155
I.2 La déficience en AGPI n-3, un modèle nutritionnel immunomodulateur	157
II. Modulation de la plasticité morphofonctionnelle de la microglie	159
II.1 Modulation de la plasticité morphofonctionnelle de la microglie par un challenge immun <i>in vivo</i>	159
II.2 Modulation du système de l'immunité innée cérébrale par une approche nutritionnelle	162
II.3. Modulation de la phagocytose microgliale	165
III. Influence des AGPI n-3 au cours de la période périnatale sur le développement hippocampique et sa maturation	168
Conclusions	171
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	173
LISTE DES FIGURES	223
ABBREVIATIONS	224
ANNEXES	227
LISTE DES PUBLICATIONS	228
LISTE DES COMMUNICATIONS	229

INTRODUCTION

Le système immunitaire (SI) est un système biologique complexe qui a pour rôle de défendre l'organisme contre les agressions tels que les pathogènes et leurs toxines. Le SI peut être vu de façon simplifiée comme stratifié sur 3 niveaux de défense : les barrières anatomiques et physiologiques, l'immunité innée et l'immunité acquise.

Les barrières anatomiques et physiologiques sont les premières lignes de défense de l'organisme contre les agents pathogènes. Ces barrières incluent la peau, le mucus et ses mécanismes de clairance, le pH stomacal et les lysozymes bactériolytiques des larmes, la salive et autres sécrétions ou encore la barrière hémato-encéphalique (BHE).

L'immunité innée augmente la protection offerte par les barrières anatomo-physiologiques. Le système de l'immunité innée (SII) a été identifié en 1908 par les travaux du prix Nobel Ilya Mechnikov mais a progressivement laissé place à la découverte du système de l'immunité acquise. La mise en évidence des systèmes de reconnaissance des motifs moléculaires des agents pathogènes (virus, bactéries, parasites), les récepteurs de type Toll (Toll-Like Receptor ou TLR), qui a valu au Dr Jules Hoffman le prix Nobel de physiologie médecine en 2011, a relancé les recherches sur le SII. Les capacités protectrices du SII sont à considérer sachant que seuls les Vertébrés présentent un système de l'immunité acquise et que la plupart des organismes vivants survivent grâce au SII. La détection des agents pathogènes par les cellules de l'immunité innée, principalement les cellules phagocytaires mononucléaires (macrophage et monocyte) ou polynucléaires (neutrophile), se fait *via* un répertoire limité de récepteurs, les TLR. Ces récepteurs de surface reconnaissent les motifs moléculaires PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) des agents pathogènes (Medzhitov, 2001). Le nombre limité de récepteurs PRR (pattern-recognition receptors) est compensé par le fait que les motifs microbiens sont très conservés et sont partagés par un grand nombre de classes de pathogènes. La vitesse d'action est une caractéristique du SII – quelques minutes d'exposition à un pathogène suffisent à provoquer une réponse inflammatoire.

Les immunités innée et acquise sont connues pour agir de concert dans la protection de l'hôte contre des attaques infectieuses. Le SII joue un rôle central dans l'activation de la réponse immunitaire acquise. Les lymphocytes T et B sont les acteurs cellulaires de la réponse du système de l'immunité acquise ainsi appelée ainsi car cette dernière est conditionnée par l'exposition à des antigènes et se fait de façon active (après infection ou vaccination) ou passive (par exemple, chez le nouveau-né par la transmission d'anticorps d'origine maternelle). De par son rôle dans la coordination de la réponse inflammatoire, le SII joue un rôle critique dans les pathologies à composante inflammatoire, comme l'asthme, l'atopie (prédispositions génétiques au développement de certaines allergies) ainsi que dans

diverses pathologies auto-immunes incluant le diabète de type I, le syndrome du colon irritable, le lupus érythémateux systémique ou encore l'arthrite rhumatoïde.

La réponse immune innée initiée par le corps face à une lésion est inhérente, préprogrammée et dépend de cellules spécifiques pour chaque tissu. Les macrophages reconnaissent les pathogènes *via* les récepteurs PRRs qui comprennent les TLRs, les récepteurs de type NOD (Nucleotide oligomerization domain receptor) et les récepteurs non-TLR de type C-lectin. Ces récepteurs membranaires ou cytosoliques interagissent avec des motifs présents sur les pathogènes tels que les PAMPs ou des DAMPs (damage-associated molecular patterns) situés dans le micro-environnement moléculaire. La reconnaissance de ces motifs par les macrophages initie les mécanismes de défense cellulaire (Serhan et al., 2003; Han et al., 2005; Sterka et al., 2006; Rubartelli et al., 2007). L'activation des voies de signalisation en aval des récepteurs PRRs induit l'expression subséquente de gènes associés à la phase pro-inflammatoire d'activation (dite classique) par les macrophages en particulier l'expression de facteurs inflammatoires, cytokines et chemokines, et de protéases afin de défendre le tissu. Le rôle primordial de cette réponse inflammatoire est d'éliminer les substances étrangères par phagocytose et de présenter ces antigènes aux cellules du système de l'immunité acquise, les lymphocytes. La résolution de l'inflammation et la réparation tissulaire sont une deuxième étape de la réponse immune innée. Pour résoudre une infection ou réparer une lésion, la réponse immune innée requiert le remplacement des cellules perdues ou endommagées et la restructuration de la matrice extracellulaire (ECM).

Le système nerveux central (SNC) a longtemps été considéré comme un organe immun privilégié c'est-à-dire à l'abri d'une réponse immunitaire qui pourrait être délétère pour son fonctionnement. Ce concept résulte de la présence de la BHE, barrière anatomo-physiologique, et ses jonctions serrées, imperméable aux anticorps et cellules immunitaires périphériques non activées par exemple. Les recherches en psychoneuroimmunologie dans les années 1980 et 1990 ont révélé une plus grande complexité des relations entre SI et SNC. En effet, un épisode infectieux s'accompagne de modifications physiologiques (activation de l'axe corticotrope) et comportementales telles que la fièvre, la fatigue, la diminution de la prise alimentaire et le repli sur soi, regroupés sous le terme d'état de maladie (Dantzer, 2001; Dantzer et al., 2008). L'ensemble de ces symptômes non spécifiques touche des fonctions contrôlées par le SNC qui participe ainsi à la résolution de l'infection et au retour de l'organisme à un état d'équilibre. La mise en évidence d'un système de l'immunité innée au sein du SNC a permis de mieux comprendre les interactions entre SI et SNC et le rôle de ces interactions dans la réponse de l'hôte à l'infection et dans les modifications comportementales associées.

I. Le système de l'immunité innée cérébrale

Comme le SNC est dépourvu de système lymphatique, sa défense immunitaire se fait essentiellement par le SII avec cependant des réponses immunes adaptatives dans certaines conditions (Rivest, 2009).

1. L'immunité innée cérébrale

La présence d'agents pathogènes circulants conduit à l'activation de l'immunité innée cérébrale. Ainsi, la réaction immunitaire innée cérébrale s'amorce au niveau des cellules endothéliales, des macrophages périvasculaires et des organes circumventriculaires (OCV), où les vaisseaux sanguins ne présentent pas de jonctions serrées semblables à celles qui caractérisent la BHE. Ces cellules expriment des PRR tels que les TLR ou des récepteurs aux cytokines inflammatoires (Vallières et al., 1997; Lacroix et al., 1998; Nadeau et al., 1999; Laflamme et al., 2001). La reconnaissance de ces facteurs par des cellules à la limite du SNC conduit à la production de facteurs inflammatoires, les cytokines, les prostaglandines (PG) et les radicaux libres oxygénés, qui propagent ensuite le signal aux cellules de l'immunité innée cérébrale, les cellules microgliales, macrophages résidents du SNC et les astrocytes, qui à leur tour produisent ces mêmes facteurs (Quan et al., 1998; Brochu et al., 1999; Nadeau et al., 2000; Aloisi, 2001; Dong et al., 2001; Nadeau et al., 2001; Thibeault et al., 2001).

L'activation organisée, coordonnée et finement régulée des cellules de l'immunité innée cérébrale est déterminante pour la protection neuronale au cours d'une infection. La dérégulation du système participe à la vulnérabilité du SNC face aux effets des cytokines et aux effets des cellules activées de l'immunité innée. En effet, une surproduction de cytokines chez des patients atteints de neuropathologies liées à l'inflammation du SNC entraîne une mort neuronale (Benveniste, 1992; Woodroffe et al., 1993; Woodroffe, 1995; Blais et al., 2003).

2. La Neuroinflammation

Historiquement, il y a environ 2000 ans, inflammation vient de *inflammare* en latin signifiant « mettre le feu ». Roman Celsus est le premier à avoir défini l'inflammation et ses quatre points cardinaux : *rubor et tumor cum calore et dolore* (rougeur et œdème avec chaleur et douleur). Le cinquième point a été ajouté par Virchow en 1871 et consiste en la perte de fonction (*functio laesa*). Les points cardinaux sont des symptômes qui sous-tendent

des événements cellulaires (vasodilatation, infiltration leucocytaire) qui eux-mêmes sont initiés et organisés dans le temps par des cascades d'activation moléculaires (Scott et al., 2004). Une des caractéristiques de l'inflammation est l'accumulation de cellules immunes périphériques issues de l'immunité innée ou acquise dans le tissu et recrutées via la circulation sanguine (Jenkins et al., 2005). Le terme inflammation est utilisé dans le cas d'une réaction après une infection mais également définit la réaction qui accompagne ou suit la réparation tissulaire et la régénérescence (Spielmeyer, 1922).

Bien que le SNC soit un site de privilège immun (Carson et al., 2006a), des réactions inflammatoires ont été mises en évidence dans le SNC (Bechmann, 2005). Le concept de réaction inflammatoire connue à la périphérie a été étendu au SNC. En effet, la microglie et les astrocytes sont à la fois sources et cibles des facteurs inflammatoires. Le terme de gliose réactionnelle au niveau du site lésionnel est donné lors de l'activation de la microglie et des astrocytes (Kreutzberg, 1996; Norenberg et al., 2005; O'Callaghan et al., 2005; O'Callaghan et al., 2008). La microglie et les astrocytes sont la source des facteurs inflammatoires et des espèces réactives oxygénées (ROS) (Miller, 2005). L'inflammation est associée dans le SNC à de nombreuses pathologies neurodégénératives (sclérose en plaque, maladie d'Alzheimer, sclérose amyotrophique latérale et la maladie de Parkinson (Mrak et al., 2001; McGeer et al., 2004; Block et al., 2005; Phillis et al., 2006; Ubogu et al., 2006; Sriram et al., 2007; Tansey et al., 2007).

Le terme neuroinflammation a commencé à être utilisé dans les années 1990 et ceci afin de décrire le processus inflammatoire et son rôle dans la physiopathologie de la plupart des maladies neurodégénératives. La neuroinflammation est aujourd'hui fréquemment vue comme délétère pour les fonctions neurologiques et commune à un grand nombre de situations, depuis le vieillissement normal jusqu'aux maladies neurologiques telles que les pathologies chroniques neurodégénératives (maladie de Parkinson ou d'Alzheimer), les maladies auto-immunes ou encore l'épilepsie, les accidents vasculaires, etc (Hanisch et al., 2007).

La neuroinflammation n'est cependant pas un terme facile à définir et est sujet à controverse. Certains scientifiques pensent que le terme neuroinflammation doit se restreindre aux réponses immunitaires dans lesquelles interviennent des cellules immunes issues de la périphérie (Graeber et al., 2011). D'autres utilisent une définition plus large qui inclut des réponses d'activation et de prolifération des cellules microgliales *in situ* (Glass et al., 2010). Graeber exclut donc de la définition de neuroinflammation les réponses immunes des cellules microgliales observées lors des pathologies d'Alzheimer et de Parkinson, puisque ces pathologies ne présentent pas d'infiltration de cellules périphériques. Il suggère

que ces réponses soient regroupées sous le terme d'activation microgliale ou encore de pseudo-inflammation du SNC (Graeber, et al., 2011). Graeber argumente en disant que cette distinction est nécessaire puisque le rôle bénéfique ou délétère de l'activation microgliale dans les pathologies d'Alzheimer et de Parkinson n'est pas encore connu. La définition de Graeber permet de séparer de façon simple, réaction inflammatoire locale ou issue de la périphérie. Cependant, la microglie et les macrophages ont des réponses cellulaires et moléculaires proches lors de stimulations immunes.

La neuroinflammation peut se définir comme la réaction inflammatoire qui se développe dans le SNC en réponse à un traumatisme, des infections et/ou des pathologies neurodégénératives. Les acteurs cellulaires et moléculaires de la neuroinflammation sont ceux du système de l'immunité innée périphérique et cérébrale, les cellules microgliales, les macrophages périvasculaires, les cytokines, la cascade du complément et les PRRs par exemple. Les facteurs inflammatoires sont produits localement ou recrutés depuis la périphérie et conduisent à l'activation de la microglie dans le SNC.

3. Activation microgliale : définition

Le concept d'activation microgliale est connu depuis la découverte de la microglie comme source de facteurs inflammatoires qui ne sont normalement pas exprimés dans le SNC (Graeber et al., 1988a; Graeber et al., 1988b; Graeber et al., 1990). Ce terme est également employé lors d'une microgliose réactive au niveau du site lésionnel (Kreutzberg, 1996). L'activation de la microglie survient dans de nombreuses pathologies neurologiques allant de l'épilepsie aux pathologies neurodégénératives. Elle est une des caractéristiques de la neuroinflammation. En effet, en réponse à une lésion du SNC, la microglie s'active rapidement modifiant sa morphologie et ses réponses moléculaires souvent associées à une neurotoxicité. Ces changements sont présents dans des échantillons de cerveaux humains en post-mortem et dans des modèles animaux de différentes pathologies neurodégénératives. A la suite d'une lésion du SNC, les cellules microgliales mettent en place très rapidement une réponse immune afin de lutter contre l'infection ou le traumatisme engendré et afin de permettre un retour rapide à l'homéostasie du SNC. Dans le cas d'une neuroinflammation, la libération de facteurs inflammatoires et de neurotoxines active la microglie (van Rossum et al., 2004) et la recrute sur le site lésionnel. En retour, la microglie activée sécrète des cytokines ou de l'oxyde nitrique (NO, nitrite oxide) (Hanisch, 2002). Lors d'une neurodégénérescence, la microglie devient phagocytaire (Streit, 2002). La microglie participe également à la résolution de l'inflammation en sécrétant des facteurs anti-inflammatoires. Les différents états d'activation de la microglie illustre sa plasticité morphofonctionnelle (Streit et al., 1988).

Cependant, le terme d'activation microgliale associé à la neuroinflammation ne reflète pas la diversité des réponses physiologiques bénéfiques que la microglie peut engendrer dans un cerveau sain (Hanisch and Kettenmann, 2007; Kettenmann et al., 2011; Hanisch, 2013). Récemment, les rôles physiologiques de la microglie dans un cerveau sain ont été découverts (Stevens et al., 2007; Tremblay et al., 2010; Paolicelli et al., 2011; Schafer et al., 2012; Eggen et al., 2013; Hanisch, 2013). En effet, la microglie est mobile ou du moins ses ramifications, même en l'absence de stimulus inflammatoire (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005). La microglie joue un rôle physiologique prépondérant dans la surveillance du SNC, et dès lors le terme activation microgliale qui était associé à une neuroinflammation, perd son sens.

Dans cette thèse, le terme activation microgliale sera utilisé afin de présenter l'activité de la microglie en situation pathologique et physiologique.

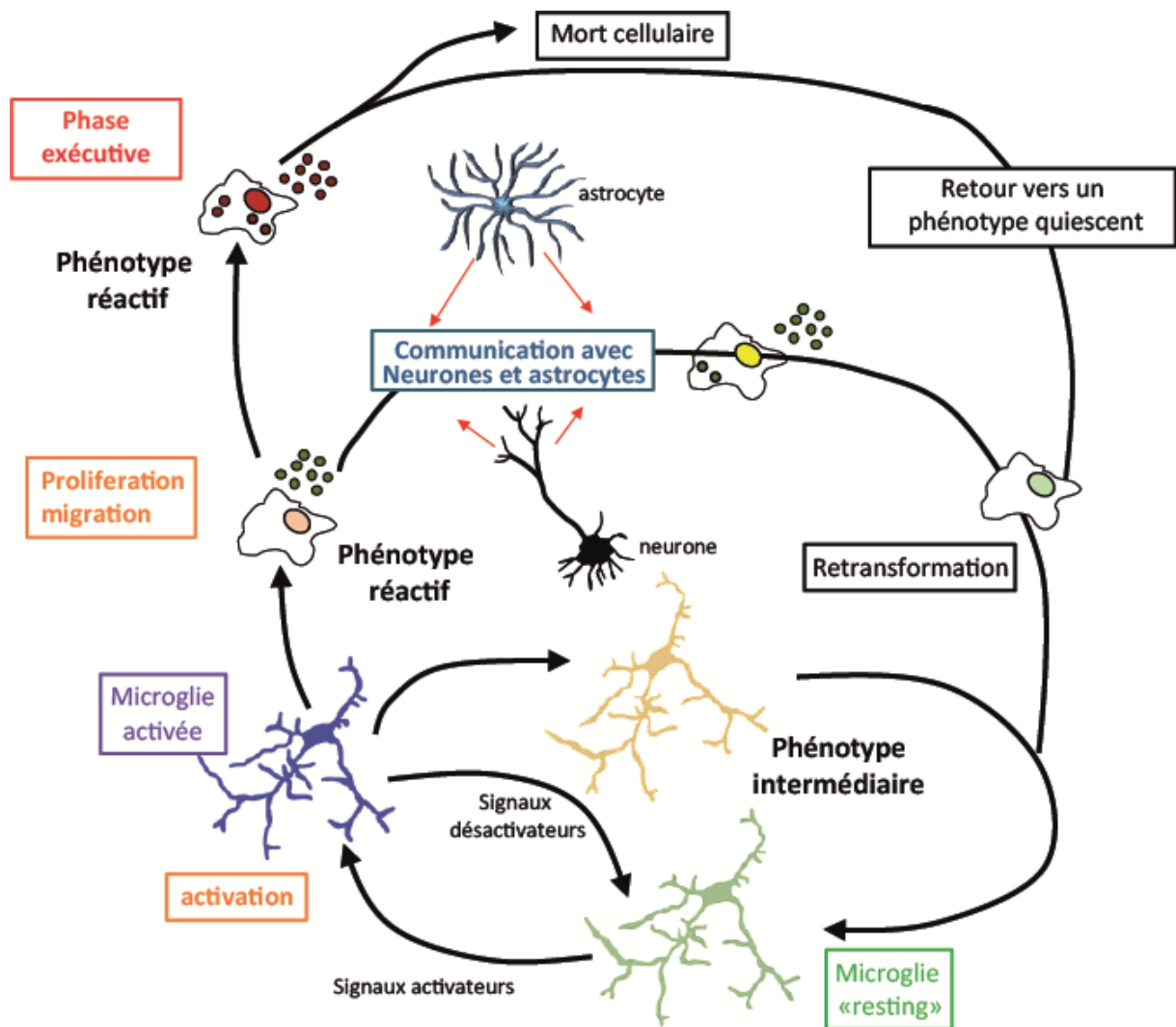


Figure 1 : Activation microgliale (adapté de Kettenmann en 2011).

4. Facteurs protéiques clés de la neuroinflammation : les cytokines cérébrales

Les cytokines sont des polypeptides de masse moléculaire en général inférieure à 60 kDa, produites par différents types cellulaires. Ce sont des médiateurs ayant une fonction autocrine (sur la cellule productrice) ou paracrine (sur les cellules voisines) ou agissant plus rarement à distance, comme de véritables hormones (fonction endocrine). Leur activité biologique se manifeste à très faible concentration, par liaison à des récepteurs membranaires spécifiques de haute affinité. Elles forment un réseau interdépendant de médiateurs qui influencent mutuellement leur synthèse par des boucles de rétroaction positives et négatives (Cavaillon et al., 1993). Elles ont pour but d'induire, de contrôler ou d'inhiber l'intensité et la durée de la réponse immunitaire.

Il existe deux grandes catégories de cytokines, les cytokines pro- et anti-inflammatoires.

4.1 Les cytokines pro-inflammatoires

Les grandes familles de cytokines (du grec cyto, cellule et kinos, mouvement) sont les interférons, les interleukines (IL), les chémokines et la famille du facteur de nécrose tumorale (TNF). On dénombre aujourd'hui plus de 35 cytokines, dont un grand nombre appartient à la famille de l'IL-1 (près de 11 membres dont l'IL-18 et l'IL-33). Seuls l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α jouent vraisemblablement un rôle majeur dans la neuroinflammation et seront décrits brièvement dans ce chapitre.

L'interleukine-1 beta (IL-1 β)

Découverte dans les années 1940 en tant que facteur soluble libéré par les granulocytes puis qualifiée de « pyrogène endogène » par les physiologistes (Atkins, 1960), l'IL-1 est dénommée ainsi en 1979 au cours du deuxième congrès international sur les lymphokines. Jusqu'à son clonage en 1984, l'IL-1 se verra attribuer différentes dénominations inspirées des nombreuses activités biologiques qui lui sont associées (facteur d'activation des lymphocytes, hématopoïétine-1, facteur cellulaire mononucléaire, cataboline, etc).

Les cytokines de la famille de l'IL-1 sont au nombre de trois principalement, deux agonistes, l'IL-1 α et l'IL-1 β et un antagoniste naturel, l'IL-1ra (Dinarello, 1996). Ces protéines n'ont que peu d'homologie entre elles bien qu'issues d'un même cluster de gènes sur le chromosome 2. Elles ont cependant, une structure quaternaire très proche qui leur permet de se fixer sur les mêmes récepteurs (O'Neill et al., 1998). L'IL-1 β est synthétisée sous la forme d'un précurseur inactif de 31 kDa (Mosley et al., 1987). Celui-ci doit être clivé par une enzyme spécifique de type cystéine protéase (Dinarello, 1998), l'enzyme de conversion de l'IL-1 β (ICE), pour donner la cytokine biologiquement active de 17,5 kDa (Thornberry et al., 1992). Dans le SNC, l'IL-1 β est majoritairement produite par les cellules microgliales (Van Dam et al., 2000; Chauvet et al., 2001), les macrophages périvasculaires (Konsman et al., 1999) et les astrocytes (Dong and Benveniste, 2001).

Il existe deux récepteurs membranaires de l'IL-1 β : l'IL-1RI et l'IL-1RII (Martin et al., 1997; Dunne et al., 2003). L'activité biologique de l'IL-1 β est sous-tendue par l'IL-1RI, capable d'effectuer la transduction d'un signal intracellulaire et d'activer les voies de

signalisation grâce à la présence du domaine intracellulaire Toll/IL-1 Receptor (TIR). Par contre, sa liaison sur l'IL-1RII ne génère aucun signal intracellulaire en raison de l'absence de ce domaine TIR. La fixation de l'IL-1 β sur son récepteur fonctionnel va induire l'activation des voies de signalisation NF κ B (Nuclear Factor-KappaB) et MAPK (MAPkinases), qui vont conduire à la transcription de gènes codant pour la plupart des protéines de l'immunité innée, telles que les cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6 et le TNF- α), les chemokines (CCL2, IL-8, etc), et les enzymes productrices des prostaglandines, la cyclooxygénase-2 (COX-2) et celle productrice NO, la NO synthase inducible (iNOS) (Glezer et al., 2007a).

L'IL-1 β est considérée comme le chef d'orchestre de la synthèse des cytokines périphériques et cérébrales. En effet, l'IL-1 β est capable de reproduire les effets physiologiques et comportementaux induits par le lipopolysaccharide, des fragments de la paroi de bactéries Gram négatives (LPS) (Dantzer et al., 1989; Bluthé et al., 1992; Turnbull et al., 1999). De plus, l'injection centrale de l'IL-1Ra, un antagoniste du récepteur de l'IL-1 β bloque la synthèse des autres cytokines inflammatoires (Laye et al., 2000).

Le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α)

Le TNF- α est une cytokine participant à la réponse immunitaire, capable d'effets apoptotiques, nécrotiques, pro-inflammatoires, prolifératifs, et hématopoïétiques. Il est synthétisé sous la forme d'un précurseur inactif, une protéine transmembranaire (tmTNF) de 26 kDa, insérée dans les membranes sous forme d'homotrimère. Il peut alors être clivé par la métalloprotéase TACE (matric metalloprotease TNF alpha converting enzyme) pour donner un trimère circulant (solTNF) du peptide actif de 17 kDa. Son expression est constitutive dans le SNC (Perry et al., 2002). Les deux formes sont biologiquement actives et peuvent être synthétisées dans le SNC par la microglie, les astrocytes et les neurones (McCoy et al., 2008). L'expression de la protéine et de l'ARNm du TNF- α a ainsi été mise en évidence dans des neurones du cortex, striatum, thalamus, hypothalamus, hippocampe, cervelet et du tronc cérébral (Vitkovic et al., 2000).

Il existe deux récepteurs membranaires au TNF- α : le récepteur de type 1 (TNFR1 ou p55), qui promeut notamment l'apoptose, et le récepteur de type 2 (TNFR2 ou p75) (Vitkovic, et al., 2000). Les récepteurs du TNF- α jouent un rôle primordial dans la défense de l'hôte contre les pathogènes et l'apoptose (Dempsey et al., 2003). Dans le SNC, les deux types de récepteurs sont retrouvés dans les mêmes régions. Le TNFR1 est exprimé dans la majorité des types cellulaires et lie les deux formes du TNF- α (sol-TNF et tm-TNF). Le récepteur TNFR2 a une expression prédominante dans les cellules microgliales, ainsi que dans les

cellules endothéliales. Il lie préférentiellement la forme tm-TNF du TNF- α (Perry, et al., 2002; McCoy and Tansey, 2008). Il existe également une forme soluble de récepteur du TNF- α , qui agit comme un inhibiteur de l'action de cette cytokine puisqu'il l'empêche de se fixer sur des récepteurs fonctionnels membranaires. La fixation du TNF- α sur son récepteur (TNFR), est comme pour l'IL-1 β , à l'origine de l'activation des voies NF κ B et MAPK. La fixation à son récepteur peut également conduire au recrutement des caspases impliquées dans l'apoptose (Dempsey, et al., 2003). Les voies de signalisation activées participent alors à des réponses inflammatoires, de prolifération, de migration cellulaire, d'apoptose et de nécrose (McCoy and Tansey, 2008).

L'interleukine-6 (IL-6)

L'IL-6 a été initialement identifiée comme un facteur de différenciation des lymphocytes B en cellules productrices d'anticorps. Elle a été clonée pour la première fois en 1986 par Hirano (Hirano et al., 1986; Hirano, 1998) et les différentes appellations qui lui avaient été données (interféron- β 2, BSF-2, hepatocyte-stimulating factor) ont été remplacées par IL-6 en 1990. L'IL-6 est synthétisée sous forme d'un précurseur, puis clivée et libérée par des protéases encore inconnues (Scheller et al., 2006). La production d'IL-6 n'est pas constitutive. Elle est induite de façon transitoire en réponse à une stimulation du système immunitaire, notamment par les cellules de l'immunité innée cérébrale. Il existe un récepteur de l'IL-6, l'IL-6R, ainsi qu'une protéine accessoire : la gp130, une glycoprotéine transmembranaire. L'IL-6 se lie à son récepteur qui forme un complexe avec la gp130. La principale voie d'activation est la voie JAK-STAT (Janus Kinase-Signal transducer and activator of transcription) (Duhe et al., 1998). L'ARNm de l'IL-6R est exprimé dans l'hippocampe, l'hypothalamus et certaines zones du cortex (Schobitz et al., 1992; Schobitz et al., 1993; Vallieres and Rivest, 1997). L'ARNm de la gp130 a également été détecté dans les neurones et les cellules gliales de l'hippocampe, du cortex, du thalamus, des OCVs et de l'hypothalamus (Vallieres and Rivest, 1997).

4.2 Les cytokines anti-inflammatoires

L'interleukine-10 (IL-10)

Initialement appelé CSIF (cytokine synthesis inhibitory factor), l'interleukine-10 (IL-10) a été découverte et clonée pour la première fois à partir de cellules T murines en 1989 (Fiorentino et al., 1989). Une fois sécrétée, cette cytokine va former un homodimère non-covalent de 35kDa. Ce dimère est considéré comme étant la forme active de l'IL-10 (Syto et

al., 1998). Cependant, il a été montré par ailleurs qu'une construction monomérique de l'IL-10 initiait également une réponse biologique (Josephson et al., 2000). Il existe un récepteur de l'IL-10 : l'IL-10R. Il s'agit d'un complexe composé de deux chaînes : la chaîne « ligand » ou IL-10RI et la chaîne « accessoire » ou IL-10RII. La réponse cellulaire de l'IL-10 nécessite la formation d'un complexe hétérodimérique avec un assemblage séquentiel de l'IL-10RI puis de l'IL-10RII en induisant la voie de signalisation JAK-STAT. L'IL-10 exerce également son action en interagissant avec d'autres voies de signalisation, en inhibant notamment la voie des MAPKs ou du NFκB utilisées par de nombreuses cytokines inflammatoires (Geng et al., 1994; Wang et al., 1995; Niir et al., 1998). Ainsi, le principal effet immunosupresseur de l'IL-10 est de bloquer la synthèse des cytokines pro-inflammatoires dans les lymphocytes T, les macrophages et les cellules microgliales (Bogdan et al., 1991; Del Prete et al., 1993; Sawada et al., 1999; Haddad et al., 2003). Par ailleurs, l'IL-10 induit la synthèse de l'antagoniste endogène de l'IL-1β (l'IL-1Ra), ainsi que celle de la forme soluble du récepteur au TNF-α afin de limiter par un autre moyen l'action de ces cytokines pro-inflammatoires (Cassatella et al., 1994; Joyce et al., 1994). L'IL-10 inhibe également la libération de NO et de prostaglandine E2 (PGE2) par la régulation de l'activité de leur enzyme de synthèse iNOS et COX-2 (Bogdan et al., 1993; Lodge et al., 1996; Minghetti et al., 1998). Enfin, l'IL-10 peut induire l'inhibition de la prolifération microgliale et la réduction de l'astrogliose réactive *in vivo* (Balasingam et al., 1996; Kloss et al., 1997).

L'interleukine-4 (IL-4)

Pour exercer son action biologique, l'IL-4 se fixe sur son récepteur : l'IL-4R. Il est constitué d'une chaîne α sur laquelle se fixe l'IL-4 et d'une chaîne γ, ce qui forme un hétérodimère fonctionnel. Ce récepteur est présent dans le SNC au niveau des cellules gliales et neuronales de l'hippocampe (Brodie et al., 1998; Ledebor et al., 2000; Szczepanik et al., 2001; Nolan et al., 2005). La voie de signalisation induite par la fixation de l'IL-4 à son récepteur est la voie JAK-STAT (O'Shea et al., 1997). Les effets de l'IL-4 ont été difficiles à mettre en évidence et sont encore peu connus. Concernant la réponse inflammatoire, elle est capable de limiter l'action de l'IL-1β en inhibant sa synthèse, ainsi qu'en induisant la synthèse de l'IL-1Ra (Vannier et al., 1992; Wong et al., 1993).

Le facteur de croissance transformant (TGF-β)

Le facteur de croissance transformant (TGF-β) tire son nom de son action biologique première décrite comme étant une protéine capable de stimuler la formation de colonies cellulaires dans des reins de rat (Roberts et al., 1981). La superfamille du TGF-β comporte

environ 25 membres capables de réguler des fonctions telles que la croissance et la différenciation cellulaire, l'angiogenèse, les fonctions immunes, la production de matrice extracellulaire, la chemoattraction, l'apoptose et l'hématopoïèse (Massague et al., 1994). La forme active des TGF- β est un homodimère de deux chaînes de 112 acides aminés reliées par un pont disulfure. L'expression de TGF- β 2 et - β 3 est vaste dans le cerveau de souris en développement (Flanders et al., 1991; Jakowlew et al., 1994). L'expression de TGF- β 2 et - β 3 persiste dans le SNC adulte chez le rongeur (Unsicker et al., 1991). Leurs ARNm sont présents dans des zones telles que le cortex, l'hippocampe, le cervelet et la moelle épinière. Au niveau cellulaire, ils sont présents dans la microglie, les astrocytes et les neurones pyramidaux de l'hippocampe par exemple.

TGF- β 1 est exprimé par la microglie et les astrocytes dans des modèles animaux de neuroinflammation (Lindholm et al., 1992; Logan et al., 1994; Lehrmann et al., 1995). Les astrocytes produisent le TGF- β 1 mais y répondent également créant ainsi une boucle de régulation autocrine. Dans le SNC, le TGF- β 1 est un régulateur négatif de l'inflammation. Par exemple, l'inactivation du gène *tgf- β 1* est létale chez la souris peu de temps après l'apparition de pathologies inflammatoires multisystémiques (Shull et al., 1992; Kulkarni et al., 1993). TGF- β 1 régule à la baisse de nombreux gènes codant des cytokines inflammatoires par exemple dans des cultures primaires d'astrocytes (Shrikant et al., 1996; Dong and Benveniste, 2001) et induit l'expression de molécules de la matrice extracellulaire et de composants du cytosquelette (Gagelin et al., 1995; Smith et al., 1997).

TGF- β , protéine chemoattractante, attire la microglie sur le site lésionnel (Yao et al., 1990). Concernant la réponse inflammatoire, le TGF- β est une molécule désactivant la microglie *in vitro* (Merrill et al., 1991) et son expression *in vivo* limite l'inflammation. Le TGF- β induit la survie neuronale en inhibant l'apoptose. En effet, l'expression d'oncoprotéines Bcl-2 et Bcl-XL qui sont connues pour inhiber l'apoptose, est augmentée dans des cultures de neurones hippocampiques après application de TGF- β . Le TGF- β n'a aucun effet sur l'expression de Bax, une protéine connue pour inhiber l'action protectrice de Bcl-2 (Prehn et al., 1996).

II. Les cellules microgliales : acteurs clés de l'immunité innée cérébrale

Décrites par Rudolf Virchow en 1858 dans « Die Cellularpathologie », les cellules gliales se résumaient au terme de « kind of glue » ou neuroglie ou encore « substance connectant les neurones et dans laquelle les éléments nerveux étaient implantés ». Les

premiers dessins de Virchow ne ressemblent pas à l'image moderne d'un astrocyte mais plutôt à celle d'une microglie activée. Pio del Rio-Hortega est le premier à avoir introduit le concept de microglie comme un élément cellulaire défini du SNC entre 1919 et 1927. Il postulait ce qui suit : la microglie entre dans le cerveau pendant le développement précoce ; ces cellules ont une morphologie amoeboïde et sont d'origine mésodermique ; elles adoptent un phénotype ramifié dans un cerveau mature ; elles occupent un territoire défini ; lors d'un événement pathologique elles acquièrent une morphologie amoeboïde similaire à celle adoptée au cours du développement et ces cellules ont la capacité de migrer, proliférer et phagocyter. Ces affirmations sont encore valides aujourd'hui. Les cellules microgliales d'origine myéloïde sont les macrophages résidents du SNC et représentent environ 10 % des cellules gliales (Lüllmann-Rauch, 2008). Elles ont une plasticité phénotypique variée non seulement dans le cerveau de sujets atteints de neuropathologies mais également sains (Hanisch and Kettenmann, 2007; Fitzner et al., 2011; Kettenmann, et al., 2011; Olah et al., 2011). Il est maintenant clairement établi que la microglie joue un rôle important dans la maintenance de l'homéostasie des tissus, dans leur soutien et dans leur protection.

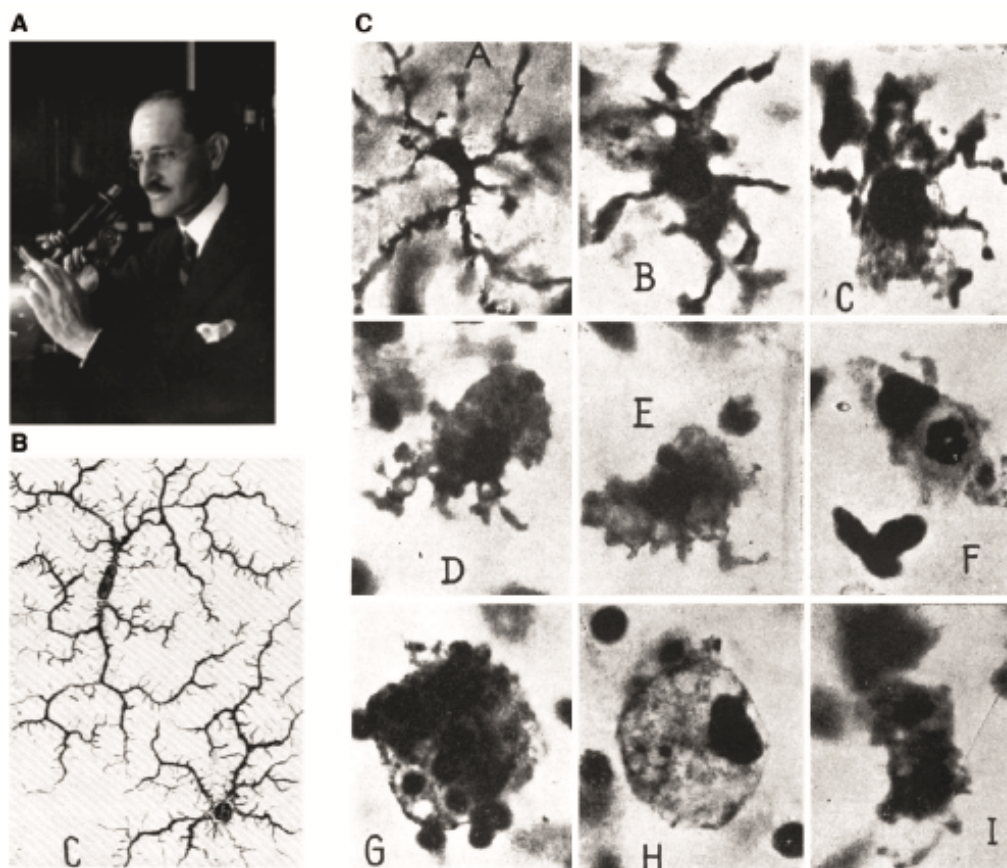


Figure 2 : La microglie découverte par Pio del Rio-Hortega. A : Pio del Rio-Hortega (1882-1945). B : images de cellules microgliales ramifiées dessinées par Hortega. C : evolution de la microglia pendant son activité phagocytaire. A : cellule avec de fins prolongements ; B : cellules avec de courts prolongements et un corps amoeboïde ; C : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; D : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; E : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; F : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; G : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; H : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts ; I : cellule avec un corps amoeboïde et des prolongements courts.

élargi ; C : cellule hypertrophiée avec des pseudopodes ; D et E : formes amoeboïde et pseudopodique ; F : cellule phagocytant un leucocyte ; G : cellule phagocytant de nombreux érythrocytes ; H : cellule avec des granulosités lipidiques ; I : cellule en mitose (adapté de Kettenmann et al., 2011).

1. Origine des cellules microgliales

Del Rio-Hortega considérait en 1932, que les cellules microgliales dérivait du mésoderme (Del Rio-Hortega, 2012). Plus tard, le postulat que la microglie prend son origine dans le neuroectoderme a été émis par Fedoroff (Fedoroff et al., 1997). Ceci a conduit à la mise en évidence que pendant la période embryonnaire et postnatale le cerveau est colonisé par des précurseurs hématopoïétiques, facilement identifiables de par leur morphologie en immunohistochimie, qui sont à l'origine des cellules microgliales parenchymateuses (Brockhaus et al., 1993). Récemment, il est établi que les cellules microgliales sont issues de la colonisation du cerveau embryonnaire par des cellules précurseurs de la lignée myéloïde et qui se différencient en cellules microgliales matures dans le cerveau postnatal. Ces cellules vont alors former une population autonome stable qui ne sera pas renouvelée par l'apport des monocytes périphériques dans un cerveau sans un stimulus immun (Gomez Perdiguero et al., 2013; Kierdorf et al., 2013b; Neumann et al., 2013).

1.1 Origine mésodermique

Les cellules microgliales proviennent des macrophages produits par le sac vitellin extra-embryonnaire (Alliot et al., 1999; Herbomel et al., 2001; Ginhoux et al., 2010a), tissu formé de mésoderme et d'endoderme. Le sac vitellin est considéré comme le premier site d'hématopoïèse (Moore et al., 1970; Dieterlen-Lievre, 1975; Herbomel et al., 1999). Chez l'homme, l'hématopoïèse commence dans le sac vitellin autour du dix-neuvième jour d'âge gestationnel puis les cellules souches s'engagent dans le développement de la lignée myéloïde (Ginhoux et al., 2013). Chez la souris, l'hématopoïèse primaire débute dans le sac vitellin autour du stade embryonnaire E7, peu après la gastrulation, pour se différencier en érythrocytes et macrophages (Moore and Metcalf, 1970; Palis et al., 1999; Bertrand et al., 2005). Les macrophages primitifs dérivés du sac vitellin se dispersent dans l'embryon via la circulation sanguine après la mise en place du système circulatoire, entre E8.5 et E10 (McGrath et al., 2003). Lorsqu'ils ont colonisé les tissus, ils se différencient en une population macrophagique fœtale bien avant la mise en place de la production des monocytes par le foie fœtal (Naito et al., 1990).

Le cerveau est le premier organe à être colonisé avant même le foie et les poumons (Sorokin et al., 1992; Cuadros et al., 1993; Herbomel, et al., 2001). Chez l'homme, après 4,5 semaines de gestation, les cellules microgliales amoeboïdes colonisent le cerveau depuis la lumière ventriculaire et les leptoméniges (Rezaie et al., 2005; Monier et al., 2007). Chez la souris, les précurseurs microgliaux sont retrouvés dans le cerveau dès le stade embryonnaire E8 (Alliot, et al., 1999) et chez le rat dès E11 au niveau du mésenchyme infiltrant 24h après le neuroépithélium puis le ventricule (Sorokin, et al., 1992) jusqu'à deux semaines après la naissance (Alliot, et al., 1999).

La migration des cellules microgliales depuis le sac vitellin semble conservée au travers des espèces (Cuadros et al., 1998; Herbomel, et al., 2001). Cependant la souris nécessite une circulation sanguine fonctionnelle pour la dissémination des macrophages dérivés du sac vitellin. Par exemple, des embryons de E9,5-E10,5 *Ncx-1*^{-/-} ($\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ exchanger, Ncx) qui ne possèdent pas de pulsation cardiaque et par conséquent de circulation sanguine fonctionnelle (Koushik et al., 2001) ne présentent pas de précurseurs microgliaux (Ginhoux, et al., 2010a). Les cellules microgliales pénètrent aussi dans des régions cérébrales dénuées de vascularisation (Hurley et al., 1995) *via* les ventricules ou un transport para-méningé comme entrée alternative dans le cerveau. Au cours du temps, la microglie prolifère et infiltre plus profondément le parenchyme en développement, commence à se différencier, à devenir plus ramifiée (Sorokin, et al., 1992; Herbomel, et al., 2001).

La définition et la distinction entre microglie et macrophages a souvent été fondée sur leur localisation tissulaire (Ginhoux, et al., 2010a; Ransohoff et al., 2010; Prinz et al., 2011). Ainsi, la microglie peut être définie comme les macrophages qui sont entrés dans le parenchyme cérébral. A un niveau moléculaire, les deux populations ont cependant été distinguées sur la base du niveau d'expression d'antigènes de surface tels que le cluster de différenciation (CD) CD45 (Zhang et al., 2002) bien que cette distinction soit limitée à des analyses *ex vivo* utilisant des techniques de tri cellulaire.

1.2 Origine monocytaire

Peu après la naissance chez le rongeur, la population microgliale s'accroît de façon spectaculaire (Alliot, et al., 1999; Tambuyzer et al., 2009) suggérant que la prolifération microgliale embryonnaire seule n'est pas suffisante pour expliquer cet accroissement massif en nombre et qu'il devrait exister un nouvel influx de cellules provenant d'un autre compartiment. Il a donc longtemps été suggéré qu'une deuxième vague de progéniteurs microgliaux provenait de cellules monocytaires dérivés de la moelle osseuse et colonisait le

SNC pendant la période post-natale précoce (P0-P15) chez le rongeur et avant la naissance chez l'Homme (Cuadros and Navascues, 1998; Rezaie et al., 1999; Kaur et al., 2001).

Comme initialement suggéré par del Rio-Hortega, les monocytes sanguins envahissent le SNC pendant la période périnatale et se différencient en microglie remplaçant ainsi la microglie embryonnaire. De nombreuses études sont en faveur de cette idée : l'étude de Ling en 1976 montre la présence de cellules rondes, amoeboïdes et phagocytaires, caractéristiques des macrophages ou des monocytes dans le corps calleux de rat durant les premiers jours de vie qui disparaissent ensuite pour laisser place à des microglies ramifiées. Les auteurs de cette étude concluent que les monocytes circulants entrent dans le cerveau en développement sous la forme de microglies amoeboïdes et évoluent en microglies ramifiées (Ling, 1976). Une autre étude de Imamoto et Leblond en 1978 utilise la thymidine tritiée administrée en intra-péritonéal à des rats nouveau-nés pour révéler les cellules sanguines par autoradiographie. Des cellules immatures amoeboïdes sont détectées dans le corps calleux quelques heures après l'administration alors que la majorité des nouvelles cellules microgliales ramifiées ne sont marquées qu'une semaine plus tard. Ceci implique alors que la microglie marquée provient de la transformation de cellules amoeboïdes immatures qui avaient intégré le marqueur (Imamoto et al., 1978). Bien que ces études suggèrent que des monocytes circulants entrent dans le SNC juste après la naissance, il est important de noter que ces études sont qualitatives et n'adressent pas clairement la contribution exacte des monocytes post-nataux *versus* celle des précurseurs microgliaux embryonnaires à la genèse de cellules microgliales adultes. De plus, ces auteurs ont reconnu que l'invasion monocytaire pour renouveler le pool de cellules microgliales était un évènement rare en postnatal (Ling et al., 1980).

Récemment, l'utilisation de souris dont le gène PU.1 a été invalidé, entraînant la perte de la microglie d'origine embryonnaire, a révélé que les cellules dérivées de la moelle osseuse contribuent à la formation du pool microglial dans le cerveau post-natal. Ainsi, les souris PU.1 knock-out nouveau-nés ont un nombre accru de cellules microgliales générées *de novo* après une greffe de moelle osseuse issues de souris sauvages 24h après la naissance (Beers et al., 2006). Dans des circonstances particulières, lorsque la microglie embryonnaire est complètement absente par exemple, des cellules monocytaires ont alors la capacité d'infiltrer le SNC et de jouer le rôle de microglie (Ginhoux, et al., 2013).

1.3 Renouvellement des cellules microgliales ou prolifération *in situ* ?

La question d'une origine embryonnaire de la population microgliale adulte reste posée. De Groot a proposé que la microglie embryonnaire soit la seule à contribuer à la

population microgliale adulte. Ainsi, la transplantation de cellules précurseurs de moelle osseuse à des rongeurs nouveau-nés révèlent que ces dernières ne contribuent pas à la population microgliale adulte suggérant que la population microgliale adulte ne dérive pas de la colonisation du cerveau par les précurseurs monocytaires circulants après la naissance (de Groot et al., 1992). Récemment, en 2010, Ginhoux a montré dans un modèle de transplantation de moelle osseuse, que la population leucocytaire circulante provient du donneur alors que la majorité de la population microgliale garde son origine (hôte) pendant plus de trois mois après la transplantation confirmant ainsi que les précurseurs hématopoïétiques post-nataux incluant les monocytes ne contribuent pas à la population microgliale adulte (Ginhoux, et al., 2010a). Il a ensuite suivi par traçage la destinée des progéniteurs provenant du sac vitellin. Cette technique utilise un modèle de souris qui exprime de façon conditionnelle une protéine fluorescente jaune (eYFP, enhanced yellow fluorescent protein) uniquement dans les cellules progénitrices du sac vitellin exprimant le gène *Runx1* dont les macrophages du sac vitellin (Samokhvalov et al., 2007). Le nombre de cellules microgliales exprimant la protéine YFP est plus élevé que celui des monocytes sanguins ou autres leucocytes circulants (Ginhoux, et al., 2010a). Kierdorf en 2013 a affiné la caractérisation des précurseurs microgliaux du sac vitellin et a montré que ces précurseurs expriment d'abord $c\text{-kit}^+$ puis $CD45^+ c\text{-kit}^{\text{low}} CX3CR1^-$ après maturation pour enfin migrer dans le cerveau en développement en exprimant $CD45^+ c\text{-kit}^- CX3CR1^-$ (Kierdorf et al., 2013a) contrairement aux monocytes circulants qui sont $Ly6C^{\text{hi}} Gr-1^+ CCR2^+ CX3CR1^-$ (Mildner et al., 2007). Ces études corroborent des études utilisant la thymidine tritiée montrant que la microglie adulte prolifère sur place sans faire appel aux monocytes circulants pour coloniser le cerveau (Lawson et al., 1990).

L'ensemble de ces études montrent que les macrophages primitifs proviennent d'une source embryonnaire unique indépendante des progéniteurs dérivés de la moelle osseuse (Gomez Perdiguero, et al., 2013) et sont à l'origine de la population microgliale adulte. Ces études indiquent donc que la microglie a une fonction spécialisée dans le SNC avec pour origine unique les précurseurs du sac vitellin qui prolifèrent *in situ* au cours de la vie adulte. Le cas de la microglie est unique car les autres populations macrophagiques fœtales sont presque toutes remplacées par des monocytes dérivés du foie fœtal, qui vont par la suite coloniser les tissus et se différencier en macrophages (Hoeffel et al., 2012). Le fait que les monocytes dérivés du foie fœtal ne se différencient pas en précurseurs microgliaux pourrait s'expliquer par leur incapacité à se différencier ou à accéder au cerveau en développement. En faveur de cette dernière hypothèse, la BHE se met en place vers E13,5 et ceci en parallèle de la libération des monocytes du foie fœtal dans la circulation sanguine chez le rongeur (Ginhoux et al., 2010b).

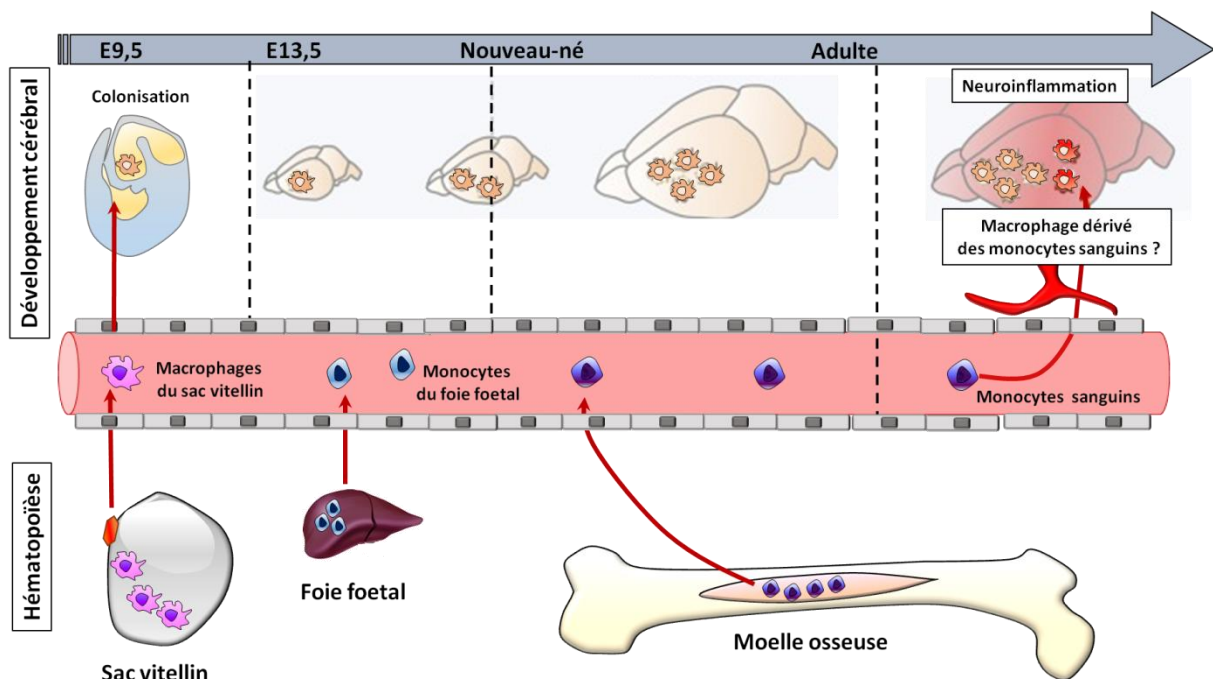


Figure 3 : Origine et renouvellement des cellules microgliales (adapté de Ginhoux et al., 2013).

1.4 Renouvellement des cellules microgliales lors d'une neuroinflammation

En condition inflammatoire, les lésions de la BHE facilitent l'entrée de monocytes circulants dans le SNC dont un petit nombre se différencie en microglie (Vallieres et al., 2003; Ladeby et al., 2005; Mildner, et al., 2007). L'inflammation cérébrale s'accompagne de l'augmentation du nombre des cellules microgliales ou microgliose, phénomène également observé dans certaines pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et de Parkinson (Cardenas et al., 2003; Block and Hong, 2005; Croisier et al., 2006). La microgliose dépend de la prolifération des cellules microgliales *in situ* et/ou d'un recrutement de monocytes circulants. Ainsi, l'irradiation qui provoque la destruction des cellules hématopoïétiques précurseurs de la moelle osseuse avant une greffe de moelle osseuse est associée au recrutement de monocytes qui se différencient en cellules microgliales dans le cerveau de souris (Ajami et al., 2007; Mildner, et al., 2007). Mildner montre que des souris receveuses de greffe, chez lesquelles le SNC était protégé de l'irradiation et donc de l'inflammation qu'elle induit, ne présentaient pas d'invasion significative de monocytes dans

le cerveau contrairement aux souris dont le SNC n'était pas protégé de l'irradiation (Mildner, et al., 2007). De plus, l'élimination locale de microglies augmente le nombre de monocytes greffés qui adoptent un phénotype microglial (Varvel et al., 2012). Dans un modèle de souris chimériques parabiotiques, dont les systèmes de circulation sanguine ont été physiquement reliés, Ajami en 2007 montre que la microglie chez des souris adultes est maintenue dans le SNC indépendamment d'un recrutement de monocytes périphériques en physiologie et pathologie (Ajami, et al., 2007). Dans un premier temps, la circulation sanguine d'une souris transgénique exprimant une protéine fluorescente verte (GFP, green fluorescent protein) dans toutes les cellules hématopoïétiques est reliée à la circulation sanguine d'une souris non transgénique. L'analyse en immunohistochimie montre qu'aucune cellule GFP positive n'est retrouvée dans le SNC après la parabiose. Quand la parabiose est réalisée entre une souris GFP dans les cellules hématopoïétiques et une souris transgénique qui surexprime la superoxyde dismutase 1 (SOD), modèle de sclérose amyotrophique latérale (ALS, amyotrophic lateral sclerosis) entraînant une importante activation et prolifération microgliale, Ajami ne constate aucun recrutement de cellules monocytaires GFP positives malgré la microgliose présente chez les souris SOD. L'ensemble de ces données a conduit à proposer que l'augmentation du nombre des cellules microgliales au site d'inflammation dans le cerveau est due à la prolifération de ces cellules *in situ* plutôt qu'au recrutement de précurseurs hématopoïétiques (Ladeby, et al., 2005).

2. Plasticité morphologique microgliale

Les cellules microgliales sont présentes dans tout le cerveau avec toutefois quelques caractéristiques régionales (nombre, morphologie et phénotype) (Barron, 1995; Kettenmann, et al., 2011; Olah, et al., 2011).

2.1 Distribution microgliale

La microglie représente 15 à 20% des cellules totales du cerveau (Carson et al., 2006b). Dans un cerveau sain, la densité de ces cellules est de 5%, pourcentage de distribution des cellules microgliales chez la souris dans le cortex et le corps calleux allant jusqu'à 12% dans le locus niger (Lawson, et al., 1990), avec un plus grand nombre de cellules microgliales dans la substance grise comparée à la substance blanche. Chez l'Homme, la densité microgliale est de 10% dans le cortex moteur (Browson, 1956) et supérieure à 13% dans la substance blanche (Hayes et al., 1987). Ainsi, la densité microgliale décroît du télencéphale, suivi du diencéphale, du mésencéphale et du

rhombencéphale (Lawson, et al., 1990; Mittelbronn et al., 2001). Ces différences de densité pourrait influencer la mort neuronale en situation inflammatoire (Kim et al., 2000; Ji et al., 2008).

2.2 Morphologie microgliale

La plupart des cellules microgliales adopte une morphologie ramifiée avec des prolongements fins et arborisés partant d'un petit corps cellulaire. Cette apparence ramifiée est associée au phénotype quiescent de ces cellules (Streit et al., 1999). Pourtant ce terme est inadéquat car ces cellules sont loin d'être inactives comme démontré par des analyses d'enregistrement d'activité au cours du temps (time-lapse) (Stence et al., 2001) ou par microscopie bi-photonique (Davalos, et al., 2005; Nimmerjahn, et al., 2005). Ainsi, les technologies d'imagerie en temps réel montrent très clairement que si le corps cellulaire des cellules microgliales est statique, il n'en est pas de même pour ses processus qui sont en perpétuels mouvements, ce qui leur permet d'analyser en permanence leur environnement. Cette fonction d'immunosurveillance du parenchyme nerveux suppose qu'elles soient rapidement activées à la moindre perturbation de ce dernier. L'activation de la microglie est caractérisée par des changements morphologiques : la complexité des processus diminue et ils se résorbent le long du corps cellulaire.

La microglie *in vitro* ne présente généralement pas de morphologie ramifiée, structure typique observée dans le SNC sain. Les cellules microgliales en culture présentent diverses formes, allant d'une forme fusiforme ou en bâtonnet à une forme amoeboïde et ronde et de petits processus s'étendant comme des lamellipodes autour des cellules. Cependant, une réorganisation morphologique est induite par des traitements avec des agents activateurs tel que le LPS (abd-el-Basset et al., 1995). Ces formes hétérogènes interchangeables apparaissent généralement en une séquence donnée allant d'une forme ramifiée à une forme amoeboïde (Stence, et al., 2001).

Ces remarquables transformations rapides et drastiques de la forme cellulaire indiquent que les cellules microgliales opèrent ces changements lors d'ajustements fonctionnels. Par exemple, lors des processus de migration et de motilité, des protrusions filipodieuses apparaissent. Les microglies à l'apparence « foamy » ou mousseuse présentent une activité phagocytaire et des organelles chargés en lipides ou en myéline dans des coupes de cerveau après lésion de la myéline (Boven et al., 2006). Pourtant les modifications d'activité de la microglie ne s'accompagnent pas toujours de modifications morphologiques (Eskes et al., 2003). Ainsi, la vision binaire de la microglie en état de repos/ramifiée et activée/amoeboïde n'est pas aussi simple (Markovic et al., 2009). Grâce à

de récentes études fondées sur l'observation des phénotypes macrophagiques à la périphérie et à la découverte de la motilité des processus microgliaux, le concept binaire de morphofonctionnalité microgliale ne s'applique plus.

2.3 Identification microgliale

L'identification microgliale de base est difficile à observer. En effet, la microglie est vulnérable à tout stimulus externe du fait de son rôle de surveillance et donc d'activation rapide pour répondre à un stimulus inflammatoire par exemple.

Microglie adulte vs macrophage/monocyte périphérique

Il est difficile de différencier la microglie des monocytes/macrophages de la périphérie (Jung et al., 2012). Bien qu'ils aient une origine développementale différente, ces deux populations sont très similaires en termes de phénotype basal.

L'utilisation de la cytométrie de flux a eu un impact remarquable sur la caractérisation plus précise des microglies permettant de les discriminer des macrophages. En effet, ces deux populations sont connues pour exprimer l'intégrine CD11b/CD18 ($\alpha M\beta 2$ integrin, CR3, MAC1) et la protéine tyrosine phosphatase CD45 (leukocyte common antigen, LCA). Cependant, la microglie a été identifiée comme exprimant plus faiblement CD45 (CD45^{low}) comparé aux macrophages CD45^{high} (Carson et al., 1998; de Haas et al., 2007; Remington et al., 2007; de Haas et al., 2008) permettant de discriminer tout particulièrement la microglie des macrophages périvasculaires et périphériques en cytométrie de flux. La microglie peut également être différenciée des monocytes/macrophages sur la base de l'expression de la protéine Ly6C (lymphocyte antigen 6C), qui est plus exprimée par les monocytes/macrophages (Butovsky et al., 2012).

La microglie et les monocytes présentent des traits communs d'expression des PRRs incluant les TLR, des récepteurs à des domaines d'oligomérisation sur lesquels se fixent des nucléotides (NOD-like receptors) encore appelés NLR, des récepteurs de facteurs du complément, le CD64 ou récepteur au Fc ainsi que des récepteurs Mer Tyrosine Kinase (MerTK) impliqués dans la phagocytose de cellules apoptotiques et des ARNm codant les TLR4, TLR7, TLR8 et TLR13 (Hanisch, 2002; Kettenmann, et al., 2011; Gautier et al., 2012; Jung and Schwartz, 2012). Ces deux populations partagent également l'expression de certains marqueurs Iba1, CD16/CD32/CD64 (Fragment C Receptor ; FcRIII/III/I), CD68 (macrosialine), CD115 (colony stimulating factor 1 receptor ; CSF1R), CD163 (scavenger

receptor, ED2), CD169 (sialoadhesin, siglec 1), CD204 (Macrophage Scavenger Receptor ; MSR), CD206 (mannose receptor), dectin-1 (β -glucan receptor) et le F4/80 (Kettenmann et al., 2011 ; Hanisch, 2013). Ces marqueurs aident à la détection de la microglie en fonction de leurs niveaux d'expression. Cependant, leurs niveaux d'expression varient et pour la plupart augmentent en fonction ou même dépendent du stimulus d'activation de la microglie. Ceci peut alors introduire des biais dans l'observation spécifique de la microglie et de ses activités et non d'une population monocyttaire (Kettenmann et al., 2011).

Une étude récente très complète chez la souris a analysé l'expression de plusieurs centaines de transcripts de gènes dont certains n'étaient exprimés uniquement que par la microglie (Gautier et al., 2012). La microglie présente, par exemple, une expression unique du récepteur aux chemokines CX3CR1 et de la lectine Siglec-H (sialic acid binding immunoglobulin-like lectin H) (Gautier et al., 2012). Cette étude rapporte également qu'une centaine de transcripts de gènes exprimés dans des populations de macrophages périphériques présentaient une expression plus faible dans la microglie.

Certains gènes de la famille P2Y, GPR34, GPR12, galectin 3, le récepteur 1 au facteur de croissance transformant (TGF β , transforming growth factor) (Bedard et al., 2007) et TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells) (Schmid et al., 2002; Cella et al., 2003) sont hautement exprimés par la microglie en comparaison des niveaux d'expression dans les monocytes ou macrophages spléniques.

D'autres études définissent un profil d'expression de marqueurs de surface microgliaux CD68⁺, CD45^{low}, CD11b⁺, CD11c^{high}, MHC class II⁺, Iba1⁺ and F4/80⁺ (Guillemin et al., 2004; Napoli et al., 2009a). La microglie exprime également de faibles niveaux de molécules co-stimulatrices tels que CD86 et CD40 (Aloisi et al., 2000). Yokoyama en 2004 a également montré que la microglie partage des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles avec les cellules souches neurales et notamment l'expression de nestin (Yokoyama et al., 2004). Cette dernière caractéristique n'est pas retrouvée dans d'autres populations de macrophages.

Microglie fœtale

La microglie fœtale présente au cours du développement embryonnaire se caractérise par une morphologie amoeboïde qui n'est pas conservée après la maturation du SNC. Cependant, cette morphologie est présente chez l'adulte dans certaines conditions pathologiques comme lors d'une lésion ou d'une infection du SNC. Les cellules microgliales fœtales se caractérisent par un large corps cellulaire, une grande quantité de cytoplasme et

une expression de marqueurs spécifiques. Elles expriment les récepteurs aux LDL (low density protein) (Giulian et al., 1986) et les récepteurs de type scavenger (Husemann et al., 2002). Les cellules microgliales fœtales expriment également Iba1, CX3CR1 et CD45 aux alentours de E12-15 (Harry, 2013).

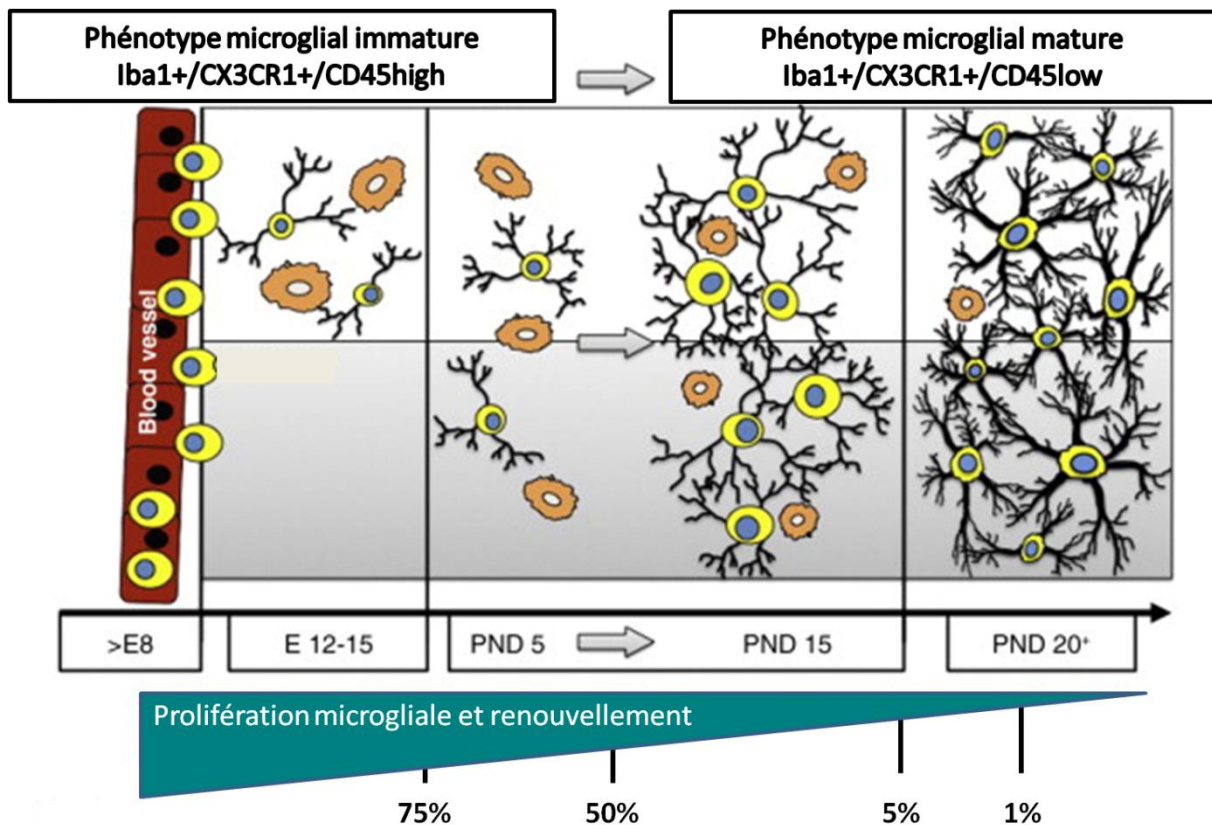


Figure 4 : Phénotype microglial au cours du développement (adapté de Harry en 2013).

2.4 Hétérogénéité phénotypique après activation immunitaire

L'idée que la microglie soit plastique et adopte un phénotype particulier pour effectuer une fonction particulière n'est pas nouvelle. La plasticité microgliale correspond en fait aux différents phénotypes et fonctions que la microglie peut adopter et réaliser. Ceci est déjà connu dans le cadre d'une neuroinflammation et donc d'une activation microgliale. En effet, il est connu que lors d'une neuroinflammation, la microglie va devenir amoéboïde et sécréter des facteurs inflammatoires. Cependant, la plasticité microgliale est un phénomène complexe que certains ont observé en conditions inflammatoires en se fondant sur le

concept de morphoplasticité macrophagique déjà bien détaillé à la périphérie *in vitro* (Mantovani et al., 2005). Il est cependant plus complexe à observer en conditions physiologiques, en fonction des techniques d'études qui peuvent introduire des biais d'observation.

Des cellules microgliales isolées de différentes régions cérébrales vont présenter des différences d'expression de marqueurs immunorégulateurs ainsi que de marqueurs inflammatoires (Lawson, et al., 1990; Xie et al., 2003; de Haas, et al., 2008). De plus, lorsque la microglie est stimulée par un challenge immun via les TLR, cela provoque l'expression sélective de certaines protéines dans des sous-populations microgliales plutôt que d'obtenir une réponse uniforme de la population microgliale dans son intégralité (Scheffel et al., 2012).

Pour comprendre les phénotypes microgliaux, il faut se baser sur la littérature des phénotypes macrophagiques en périphérie.

Phénotypes des macrophages en périphérie

La nomenclature des phénotypes microgliaux repose sur celles décrites pour les macrophages périphériques (Mosser et al., 2008). En 2007, Mantovani propose que les phénotypes macrophagiques qui sont reconnaissables par l'expression de marqueurs spécifiques à la surface de ces cellules, ne sont pas figés mais dynamiques en suivant un continuum d'activation temporelle au cours de la réaction inflammatoire. Les phénotypes des macrophages M1 et M2, ont été proposés sur la base des morphotypes décrits précédemment pour les lymphocytes T (Th1 et Th2).

Le phénotype M1 est induit sous l'effet de l'interféron- γ , (IFN- γ) et du LPS. Ce phénotype est caractéristique de l'orientation des macrophages vers une fonction de défense de l'hôte et caractérisé par la synthèse et la libération de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs cytotoxiques (Mackaness, 1964; Gordon, 2007).

L'orientation des macrophages vers un phénotype M2 est activée par les cytokines anti-inflammatoires IL-4 et/ou IL-13. Les M2 jouent un rôle clé dans la résolution de l'inflammation. Ils sont impliqués dans la phagocytose de parasites intrusifs et dans la réparation tissulaire (Gordon, 2003; Mosser and Edwards, 2008).

Phénotypes microgliaux

In vitro, la microglie peut être orientée vers un phénotype M1 ou M2 par l'incubation avec des facteurs pro- ou anti-inflammatoires. Ces profils induits ne sont pas représentatifs de ceux existant *in vivo* (Hanisch, 2013). Il existe effectivement des phénotypes intermédiaires qui s'avèrent être plus complexes et difficiles à mettre en évidence par les approches utilisées telles que la cytométrie de flux (Hanisch, 2013). Cependant, l'ensemble des données *in vitro* et *in vivo* montrent l'existence de deux phénotypes majeurs

- M1, activation classique (défense tissulaire et action pro-inflammatoire)
- M2, activation alternative (réparation tissulaire, action anti-inflammatoire, fibrose, reconstruction de la matrice extracellulaire)

Comme pour les macrophages, le phénotype M1 serait induit par l'IFN- γ et le LPS alors que le phénotype M2 serait induit par des cytokines anti-inflammatoires. L'existence d'une dynamique de passage d'une orientation à une autre est peu documentée. Cependant, l'existence d'un phénotype resting ou « désactivation acquise » ou M2c vers lequel les microglies M1 ou M2 pourraient être réorientées a été décrit dans la littérature (Hanisch and Kettenmann, 2007; Eggen, et al., 2013). Ce phénotype microglial se distingue de celui de l'état basal de surveillance de par ses fonctions

Le **phénotype M1** correspond aux microglies activées **classiquement**, qui ont un rôle de défense du cerveau lésé ou infecté et synthétisent des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α (Colton, 2009). Elles expriment le marqueur de surface CD86 (Remington et al., 2007) ou iNOS (Hirai et al., 2013). Cependant, un état d'activation M1 prolongé est délétère pour le cerveau (Hagberg et al., 2012).

L'orientation des microglies vers le phénotype M1 par des stimuli immuns tels que l'IFN- γ ou le LPS a été clairement mise en évidence *in vitro* (Colton, 2009; Olah, et al., 2011; Chhor et al., 2013) et *in vivo* après injection périphérique de LPS, axotomie du nerf facial, encéphalomyélite expérimentale autoimmune (EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis) induisant une démyélinisation ainsi que dans d'autres modèles de maladies neurodégénératives tels que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose amyotrophique latérale (Turrin et al., 2006).

Le **phénotype M2** ou phénotype activé de manière **alternative**, correspond à un état de neuroprotection et de réparation tissulaire dans lequel la microglie synthétise des cytokines anti-inflammatoires (Kitamura et al., 2000; Ledebroer, et al., 2000; Lee et al., 2002b; Colton et al., 2006; Lyons et al., 2007; Ponomarev et al., 2007; Colton, 2009), telles

que l'IL-4, l'IL-10, l'IL-13 ou le TGF β (Finch et al., 1993; Morgan et al., 1993; Brodie, et al., 1998; Ledeboer, et al., 2000; Szczepanik, et al., 2001; Shin et al., 2004; Glezer et al., 2007b; Grommes et al., 2008). Elles sont caractérisées par l'expression du CD206 (Hirai et al., 2013). Ce phénotype participe également à l'élimination des débris cellulaires et moléculaires par phagocytose (Colton, 2009).

A l'heure actuelle, il n'existe pas de méthodes d'identification simple M1/M2. De plus, l'existence d'autres phénotypes a été proposée. Le troisième phénotype correspond au phénotype des macrophages régulateurs impliqués dans la tolérance immune. Ce phénotype est induit par des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 et le TGF β et par l'efferocytose ou phagocytose de corps apoptotiques qui joue un rôle immunosuppresseur. Cet état fonctionnel résulterait de l'activation d'une voie de signalisation PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor ; activée par les lipides). Cependant, l'existence de ce phénotype chez la microglie reste à démontrer *in vitro* et *in vivo*.

Sous l'effet du LPS, les cellules microgliales en culture primaire synthétisent et libèrent des cytokines pro-inflammatoires dont l'expression est modulée par les cytokines anti-inflammatoires, IL-4 et IL-13 exogènes (Colton et al., 2006 ; Kitamura et al., 2000 ; Ledeboer et al., 2000 ; Lee et al., 2002 ; Lyons et al., 2007 ; Ponomarev et al., 2007 ; Chhor et al., 2013). D'autres études ont montré qu'une stimulation de cellules microgliales en culture par l'IL-4 augmente l'expression de protéines du complexe majeur d'histocompatibilité 2 (MHC II, major histocompatibility complex II) et de CD11c, protéine transmembranaire exprimée par la lignée myéloïde. Ces études suggèrent que la microglie présente un phénotype neuroprotecteur similaire à celui d'une cellule dendritique (Butovsky et al., 2007). Au contraire, une injection intra-cérébrale d'IL-4 chez des souris dont la protéine CD11c est couplée à une protéine fluorescente YFP n'induit pas l'expression de CMHII et de CD11c *in vivo* (Gottfried-Blackmore et al., 2009). Colton en 2009 rapporte qu'une stimulation par l'IL-4 et l'IL-10 induit l'expression des ARNm de l'arginase 1 (Arg1), du récepteur au mannose (MR) et de la protéine chitinase-like3 (Ym1), marqueurs exprimés par des macrophages alternativement activés M2. La microglie présente un phénotype d'activation alternative induit par les cytokines comme celui décrit pour les macrophages périphériques. Le TGF β est connu pour activer la microglie en M2 *via* l'IL-4 et l'augmentation de l'expression d'Arg1 et Ym1. Le TGF β augmente également l'expression du récepteur α à l'IL-4 (Zhou et al., 2012). Après stimulation de la microglie par l'IL-4, la microglie peut s'orienter vers un phénotype M2 anti-inflammatoire qui se caractérise par une sécrétion de cytokine anti-inflammatoire telle que l'IL-10 et l'expression d'Ym1 (Perego et al., 2011; Chhor, et al., 2013). CD36, un autre marqueur associé au phénotype M2 est induit par l'IL-4 (Feng et al., 2000; Kawahara et al., 2012; Bhattacharjee et al., 2013). Globalement, les

cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-4 et le TGF β induisent l'expression de marqueurs de surface de type M2 conférant à la microglie un phénotype M2 caractérisé également par la sécrétion de facteurs anti-inflammatoires. Cependant, ceci reste encore à démontrer sur la microglie *in vivo*.

Face à une invasion de pathogènes, la microglie s'orienterait d'abord vers un phénotype M1 qui correspond à une activation classique, puis vers un phénotype M2 plus phagocytaire qui permettrait la clairance des pathogènes. La résolution de l'infection ou de la lésion permet de restaurer l'homéostasie tissulaire. La réponse innée requiert le remplacement des cellules endommagées ou mortes et la restructuration de la matrice extracellulaire endommagée dans le SNC (Colton, 2009). Un défaut d'activation classique ou une absence d'activation alternative pourrait altérer la clairance des pathogènes et débris menant ainsi à un statut d'inflammation chronique du SNC (Colton, 2009 ; Colton et al., 2006) dans les pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer.

L'orientation de la microglie vers un phénotype est plus complexe *in vivo*. Dans le cas d'un accident vasculaire cérébral (AVC), la microglie et les macrophages recrutés sur site présentent un phénotype M2 lors de la phase précoce de l'AVC et progressivement changent vers un phénotype M1 (Hu et al., 2012). Il a également été montré qu'un phénotype microglial M1 entraîne une neurodégénérescence induite par privation d'oxygène et de glucose alors qu'un phénotype microglial M2 protège les neurones de la privation (Hu et al., 2012). Dans le modèle d'EAE, modèle expérimental de sclérose en plaques, la microglie et les macrophages infiltrants sont Ym1⁺ (marqueur d'une activation alternative, M2) dont l'expression dépend de l'IL-4 (Ponomarev et al., 2007). Cependant, par exemple dans le cas de la cryptococcose neuro-méningée (infection mycosique), les macrophages infiltrants sont les seuls à être polarisés M2 alors que la microglie *in situ* ne l'est pas (Stenzel et al., 2009).

La microglie est extrêmement plastique de par ses différents phénotypes et fonctions. Cependant, la diversité des réponses microgliales physiologiques et après un challenge immun et de ces phénotypes reste encore inconnue. La multiplication des approches techniques devrait fournir un aperçu plus fin des phénotypes microgliaux.

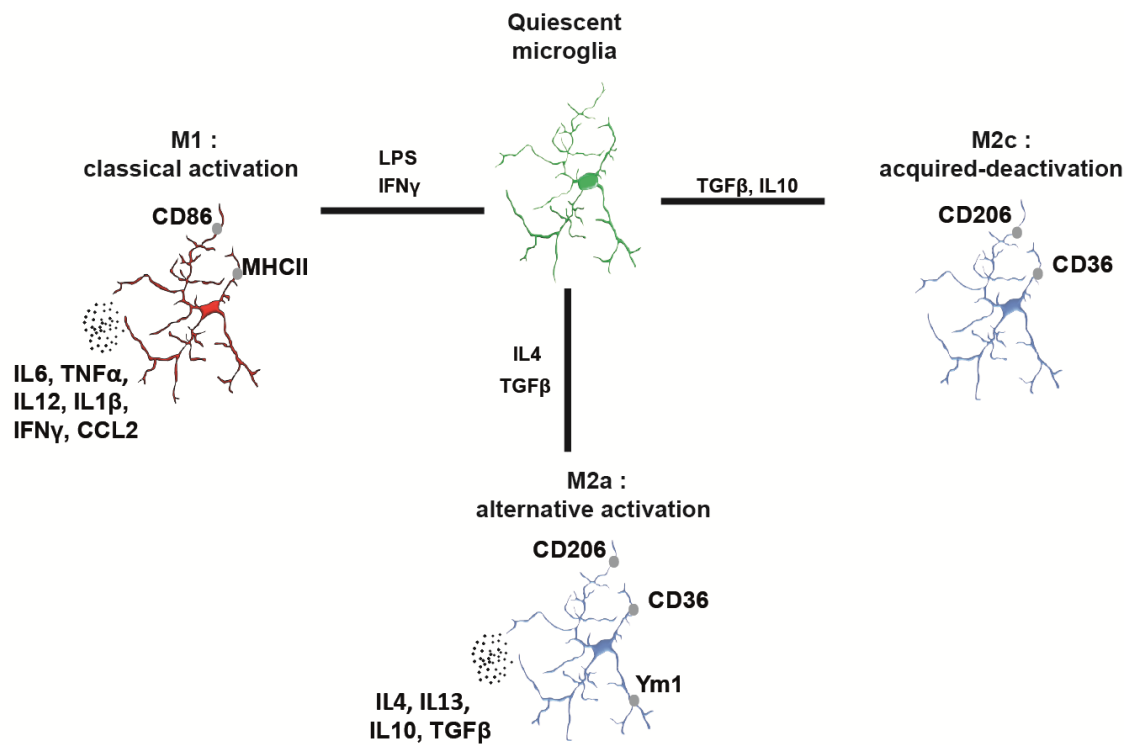


Figure 5 : Hétérogénéité phénotypique microgliale après activation.

2.5 Régulation de l'activation microgliale par des médiateurs neuro-immuns : rôles dans la communication neurone-microglie

Une multitude de signaux environnementaux agit sur la microglie afin de maintenir son état de surveillance et d'organiser ses transformations morphofonctionnelles (Hanisch and Kettenmann, 2007 ; Kettenmann et al., 2011). Les neurones peuvent émettre ces signaux. Ils utilisent un système dit On/Off de signaux qui informent la microglie de leur état (Biber et al., 2007).

Les signaux Off sont constitutivement exprimés par les neurones et ont un effet sur l'activation microgliale. Quant aux signaux On, ils sont produits à la demande (Biber et al., 2007). Pour le contrôle des cellules microgliales, les neurones utilisent différentes classes de molécules de signalisation comme les purines, les neurotransmetteurs ou encore des protéines solubles tels que des facteurs immuns, cytokines et chemokines ou des protéines liées à la membrane (Biber, et al., 2007; Hanisch and Kettenmann, 2007; Pocock et al., 2007).

Le système de signaux On/Off fonctionne selon deux modes d'action paracrine : un mode de contact direct cellule à cellule et un mode de contact indirect via l'action de facteurs solubles tels que des facteurs immuns.

- ***Régulation par des facteurs immuns solubles***

Les cytokines comme précédemment décrites appartiennent à une classe majeure de protéines signalisantes de faible poids moléculaire. Les cytokines permettent aux cellules du cerveau de communiquer entre elles (Watkins et al., 1995) et constituent un moyen de communication entre le SNC et la périphérie (Perry et al., 2010a). Les cytokines sont produites à la demande. Une fois libérées, ces petites molécules régulent la croissance cellulaire, la survie, la différenciation et l'activité microgliale. Un équilibre physiologique des niveaux des multiples cytokines pro- et anti-inflammatoires est important pour le fonctionnement cérébral en physiologie.

Les chemokines ou cytokines chemotactiques sont des petites protéines de 8 à 12kDa exprimées dans le SNC et en périphérie et sont des signaux On/Off d'activation de la microglie. Elles jouent un rôle important dans la migration cellulaire et dans la communication intercellulaire (Adler et al., 2005). Par exemple, la microglie migre vers les plaques d'A β et zones d'ischémie en réponse à la chemokine CCL2/MCP1 (Mildner et al., 2007) qui appartient donc à la famille de signaux On. La plupart des chemokines agit sur plusieurs récepteurs différents. Cependant, quelques unes dont CXCL12 et CX3CL1, signal Off, agissent spécifiquement sur un récepteur (Bajetto et al., 2001; Ambrosini et al., 2004). Les chemokines et leur récepteurs couplés aux protéines G sont localisés sur la microglie, les astrocytes et les neurones dans la plupart des régions du cerveau (Horuk et al., 1997; van der Meer et al., 2000). Parmi les chemokines qui sont exprimées sélectivement sur la microglie et les neurones, on peut retrouver CCL2/MCP-1, CX3CL1/fractalkine, CXCL10/IP10.

CX3CL1, signal Off d'activation microgliale

La protéine CX3CL1/fractalkine est le seul membre connu de la famille des chemokines CX3C et contient 373 acides aminés. Elle est synthétisée sous la forme d'une protéine ancrée à la membrane plasmique. Elle peut être convertie en glycoprotéine soluble par clivage de la protéine membranaire sous l'action de métalloprotéases (Hundhausen et al., 2003) de la cathepsine S, protéase qui est exprimée et libérée par la microglie dans la moelle épinière par exemple (Meucci et al., 2000; Ransohoff, 2002; Clark et al., 2007). La

protéine CX3CL1 agit comme une chemokine conventionnelle, soit localement par contact direct sous sa forme ancrée à la membrane soit à distance sous sa forme soluble (Bazan et al., 1997). En effet, elle augmente le recrutement et l'activation des populations cellulaires exprimant le récepteur CX3CR1, la plupart étant des monocytes. La protéine CX3CL1 membranaire agit quant à elle comme molécule d'adhésion, participant à la capture et l'infiltration leucocytaire (Ransohoff, 2009). Cependant, il est établi que les deux formes de CX3CL1 se lient au CX3CR1 avec la même affinité (Harrison et al., 2001).

CX3CL1 est une des quelques chemokines qui est constitutivement exprimée à des niveaux élevés dans le SNC et agit uniquement sur son récepteur CX3CR1. Elle a notamment été clonée à partir de cellules endothéliales activées et de neurones (Bazan et al., 1997). CX3CL1 et son récepteur ont été décrits comme ayant un rôle dans la communication neurone-microglie et ceci de par leur expression respective sur certains types cellulaires. En effet, CX3CL1 est exprimé par les neurones (Harrison et al., 1998; Nishiyori et al., 1998; Schwaebler et al., 1998; Hughes et al., 2002) et CX3CR1 est uniquement exprimé par les cellules de la lignée myéloïde dont les cellules microgliales (Harrison, et al., 1998; Nishiyori, et al., 1998; Hughes, et al., 2002; Mizuno et al., 2003; Verge et al., 2004; Lindia et al., 2005). Cependant, CX3CL1 a été montré comme étant exprimée par les astrocytes (Mizuno et al., 2003) et quelques études montrent l'expression neuronale de CX3CR1 sur les neurones (Meucci et al., 2000).

La voie de signalisation CX3CL1/CX3CR1 joue un rôle physiologique important dans la communication neurone-microglie et dans la neuroprotection en conditions inflammatoires ou de lésions (Harrison, et al., 1998; Boehme et al., 2000; Zujovic et al., 2000; Hughes, et al., 2002; Mizuno, et al., 2003; Limatola et al., 2005; Cardona et al., 2006). En effet, des expériences *in vitro* et *in vivo* ont montré que l'interaction de CX3CL1 et de son récepteur contribue à l'atténuation de l'activation microgliale et de la neurotoxicité en conditions inflammatoires. *In vitro*, CX3CL1 soluble agit comme un facteur anti-inflammatoire via l'inhibition de la production induite par du LPS, de l'IL-1 β , l'IL-6, du TNF α , du NO et de l'enzyme iNOS dans des cultures de cellules microgliales et des cultures mixtes (Zujovic, et al., 2000; Mizuno, et al., 2003). En 2009, Lyons a montré que les deux formes de CX3CL1 diminuent l'augmentation de l'expression d'IL-1 β et du CMHII dans des cultures primaires neurones-microglie (Lyons et al., 2009). *In vivo*, le blocage de CX3CL1 endogène en utilisant un anticorps anti-CX3CL1 potentialise l'augmentation induite par du LPS, de l'expression hippocampique de TNF α et de l'isoprostane-8 (marqueur de stress oxydatif), suggérant que l'expression de CX3CL1 est nécessaire au contrôle de l'activation microgliale (Zujovic et al., 2001). L'utilisation de souris dont l'expression du récepteur CX3CR1 a été génétiquement invalidée montre que l'absence de signalisation CX3CL1/CX3CR1 exacerbe les réponses

microgliales en conditions inflammatoires. En effet, des souris déficientes pour CX3CR1 présentent une activation microgliale intense et généralisée ainsi qu'une augmentation de la production d'IL-1 β dans l'hippocampe en réponse à une injection périphérique de LPS (Cardona, et al., 2006). De plus, dans des modèles de pathologies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson ou la sclérose latérale amyotrophique (SLA), l'absence de CX3CR1 induit une activation plus prononcée de la microglie et une perte neuronale importante comparée aux souris contrôles sauvages (Cardona et al., 2006). Lors d'une inflammation aigue ou dans le cadre de pathologies neurodégénératives chroniques, la signalisation CX3CL1/CX3CR1 régule l'activation microgliale. C'est également le cas dans diverses conditions physiopathologiques dans lesquelles le niveau d'expression de CX3CL1 est modulé (Hughes, et al., 2002; Kastenbauer et al., 2003; Sunnemark et al., 2005; Huang et al., 2006). Le niveau d'expression de CX3CL1 est diminué dans le SNC et l'hippocampe de rats âgés (Lyons, et al., 2009; Wynne et al., 2010; Bachstetter et al., 2011) et contribue à l'inflammation chronique à bas bruit caractéristique du vieillissement. La diminution de CX3CL1 est reliée à l'augmentation de marqueurs d'activation microgliale tels que le CMHII et le CD40 ainsi qu'à une augmentation de l'expression microgliale d'IL-1 β (Wynne et al., 2010). L'administration dans le SNC de CX3CL1 diminue l'activation microgliale et restaure les déficits de plasticité synaptique liés au vieillissement (Lyons et al., 2009).

Concernant le récepteur CX3CR1, Boddeke en 1999 montre que le LPS réduit *in vitro* l'expression de CX3CR1 (Boddeke et al., 1999). Récemment, il a été montré *in vivo* qu'une injection périphérique de LPS réduit également les ARNm et l'expression de surface de CX3CR1 sur la microglie chez l'adulte et la souris âgée (Wynne et al., 2010). L'expression de CX3CR1 est diminuée 4h après LPS mais est restaurée 24h après l'injection chez la souris adulte alors que chez la souris âgée l'expression reste diminuée. Cette réduction de l'expression de CX3CR1 chez la souris âgée correspond à l'expression prolongée d'IL-1 β (Wynne et al., 2010). La signalisation CX3CL1/CX3CR1 régule donc l'activation microgliale et ses conséquences sur le SNC.

- ***Modulation immune directe par un contact cellule/cellule***

Dans ce mode de régulation de l'activation microgliale, les autres cellules du SNC peuvent moduler la régulation de la microglie en exprimant à leurs surfaces des protéines transmembranaires qui seront reconnues par la microglie et qui sont liées à des voies de signalisation particulières dans la microglie.

CD200 et CD47 : signaux membranaires de type Off

Récemment il a été montré que certains membres de la superfamille des immunoglobulines sont des régulateurs de la fonction des cellules myéloïdes. Les protéines les plus caractérisées dans le SNC sont le CD200 (connu chez le rat comme OX-2) et le CD47. Ces deux protéines sont constitutivement exprimées par les neurones à leur surface (Hoek et al., 2000; Wright et al., 2001).

CD200

La protéine CD200 est une glycoprotéine de surface de 41 à 47 kDa et un membre de la superfamille des immunoglobulines (Barclay et al., 1986). CD200 est exprimée sur une large variété de types cellulaires comprenant les neurones et les cellules endothéliales dans le SNC alors que l'expression de son récepteur CD200R est restreinte aux cellules d'origine myéloïde comprenant les macrophages et la microglie (Hoek, et al., 2000; Barclay et al., 2002; Wright et al., 2003). L'interaction entre CD200 neuronal et son récepteur microglial maintient la microglie dans un état non activé (Hoek, et al., 2000; Neumann, 2001). En effet, des souris transgéniques dont le gène CD200 est invalidé, présentent une microglie beaucoup plus réactive comprenant un phénotype macrophagique et amoéboïde avec une rétraction des processus et une augmentation de l'expression de surface de CD11b et de CD45, caractéristique des macrophages (Hoek et al., 2000). D'autres études ont montré qu'une modification de l'interaction CD200/CD200R entraîne une prolongation et une exagération de l'activation microgliale ainsi qu'une augmentation de la production de facteurs inflammatoires après un challenge immunitaire (Hoek, et al., 2000; Wright, et al., 2003; Deckert et al., 2006; Meuth et al., 2008).

De plus, la protéine CD200 joue un rôle dans les pathologies neurodégénératives chroniques. Dans un modèle d'EAE, Chitnis en 2007 et Liu en 2010 ont montré que l'administration d'agoniste du CD200R ou l'augmentation de l'expression neuronale de CD200 réduit l'expression de cytokines pro-inflammatoires et maintient l'intégrité neuronale (Chitnis et al., 2007; Liu et al., 2010). Au cours du vieillissement, l'augmentation de l'expression microgliale du CMHII est associée à une diminution de l'expression de CD200 dans l'hippocampe de souris âgées suggérant que l'inhibition neuronale de l'activation microgliale est altérée avec l'âge (Frank et al., 2007; Lyons, et al., 2007).

Des études récentes ont montré que l'expression neuronale de CD200 est régulée par l'IL-4, cytokine anti-inflammatoire qui module l'activation microgliale (Lyons, et al., 2009; Downer et al., 2010). Comme l'expression de l'IL-4 et de CD200 est diminuée dans

l'hippocampe de souris âgées, la réactivité microgliale est augmentée (Nolan, et al., 2005; Lynch, 2009). La voie de signalisation CD200/CD200R contribue à la régulation de l'activation microgliale.

CD47

CD47 est exprimé de façon constitutive par les neurones, les astrocytes, les cellules endothéliales et les macrophages (Reinhold et al., 1995; de Vries et al., 2002). CD47 possède cinq domaines transmembranaires et existe sous différentes isoformes. L'isoforme 4 par exemple est largement exprimée dans le cerveau (Reinhold et al., 1995). La protéine CD47 est un ligand de la partie extracellulaire N-terminale du récepteur SIRPα (Jiang et al., 1999) ou encore appelé CD172a.

SIRPα est une protéine transmembranaire contenant trois domaines immunoglobulines Ig-like dans sa partie extracellulaire et des sites tyrosine de phosphorylation putatifs dans sa partie cytoplasmique (Fujioka et al., 1996; Kharitononkov et al., 1997). SIRPα est exprimé par les cellules myéloïdes, la microglie et les neurones. SIRPα est abondamment retrouvé dans le SNC et spécifiquement dans des zones riches en synapses telles que la stratum lucidum de la corne d'Ammon 3 (CA3) dans l'hippocampe, la couche moléculaire et le glomérule synaptique du cervelet et les couches plexiformes de la rétine (Jiang, et al., 1999; Ohnishi et al., 2005). CD47 est aussi exprimé dans tout le SNC et les régions dans lesquelles le récepteur SIRPα est présent (Ohnishi, et al., 2005). De plus, l'expression de SIRPα et CD47 augmente de façon significative au cours du développement post-natal (Ohnishi et al., 2005).

L'interaction entre CD47 et SIRPα recrute des tyrosine-phosphatases SHP-1 et SHP-2 et engendre une inhibition de la phagocytose chez les macrophages, l'activation du complément et la synthèse de cytokines telle que le TGF-β (Vernon-Wilson et al., 2000; Brown et al., 2001; Oldenborg et al., 2001; Seiffert et al., 2001) contribuant ainsi à une réduction de la réponse inflammatoire. L'interaction entre CD47 et SIRPα diminue la migration des neutrophiles au travers de l'endothélium et le blocage de CD47 réduit l'expression de cytokines inflammatoires induites par du LPS. De plus, CD47 est capable d'induire l'apoptose de cellules T et les cellules déficientes pour CD47 sont rapidement éliminées de la circulation périphérique par la rate. L'activité protectrice de CD47 est impliquée dans le développement neural et la phagocytose des amas fibrillaires de peptide Aβ (Bamberger et al., 2003; Murata et al., 2006).

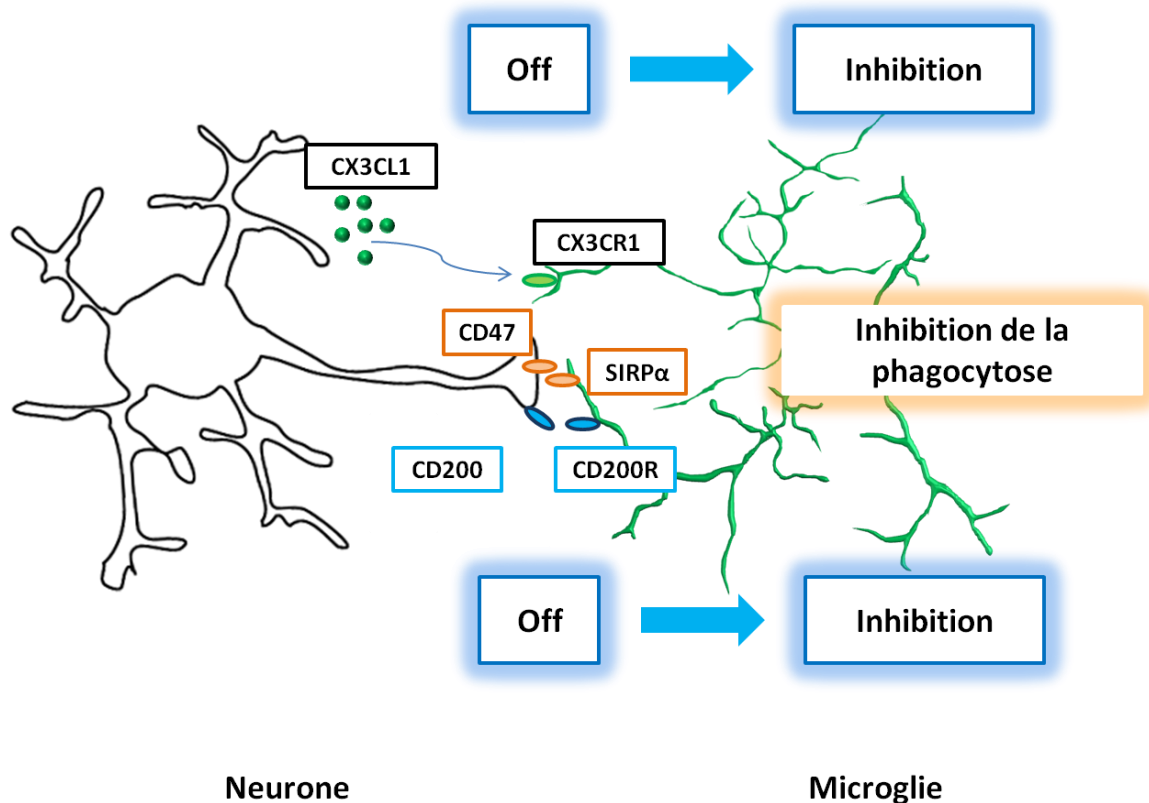


Figure 6 : Communication neurone-microglie : régulation de l'activation microgliale.

3. Propriétés de la microglie en situations physiologique et pathologique

Les propriétés fonctionnelles microgliales ont été définies à partir des fonctions que réalisent les microglies activées lors d'une neuroinflammation dans des modèles animaux ou en culture, communément assignées aux macrophages en situation inflammatoire. La microglie est donc capable de phagocyter, de sécréter des cytokines, de migrer vers le site lésé et de présenter des antigènes. Le rôle de la microglie le plus connu dans les pathologies infectieuses du SNC est son rôle de phagocytose des débris et de sécrétion de facteurs inflammatoires participant à la réaction inflammatoire. Des études récentes ont montré que le rôle de la microglie s'étend à la régulation de l'homéostasie dans un cerveau sain allant de la régulation de la mort cellulaire, à l'élimination synaptique, la neurogénèse et

la surveillance neuronale. La découverte de la motilité microgliale dans un cerveau sain par deux équipes, Davalos et Nimmerjahn en 2005 a permis d'accentuer les recherches sur les propriétés fonctionnelles de la microglie en physiologie. Le rôle de surveillance du SNC par la microglie est possible dès lors que la microglie n'est plus considérée comme statique mais dont les prolongements peuvent se protracter et se rétracter, scannant ainsi l'environnement moléculaire et cellulaire autour de chaque microglie. Ces « nouvelles » fonctions physiologiques participent à la maturation et à la plasticité des circuits neuronaux.

Les cellules microgliales ont comme fonction première de défendre l'hôte contre des pathogènes. Une fonction intrinsèque microgliale reste la production et la sécrétion de cytokines que nous avons déjà énoncée. Nous allons donc définir ci-dessous d'autres propriétés microgliales telles que la motilité des processus microgliaux, la migration des cellules microgliales vers un site lésé ou la présentation d'antigènes ou encore leurs rôles dans la régulation de l'activité neuronale. Le rôle phagocytaire de la microglie sera traité dans le chapitre suivant.

3.1 Motilité des processus microgliaux

La microglie présente en conditions physiologiques une motilité constante de ses ramifications dans le cortex cérébral et sur tranches de cerveau chez la souris (Stence, et al., 2001; Davalos, et al., 2005; Nimmerjahn, et al., 2005). Des observations similaires ont été faites concernant la microglie chez le poisson-zèbre (Peri et al., 2008) et la sangsue (McGlade-McCulloh et al., 1989). *In vivo*, il a été montré que le nucléotide adénosine triphosphate (ATP) ainsi que les protéines de jonctions communicantes ou connexine (gap junctions) sont impliqués dans les mouvements de la microglie en l'état de surveillance (Davalos et al., 2005). Plus récemment, il a été montré que le récepteur à la fractalkine CX3CR1 régule également la dynamique microgliale dans la rétine. En effet, la motilité microgliale basale est diminuée dans des explants rétiniens d'animaux pour lesquels CX3CR1 est invalidé (Liang et al., 2009). *Ex vivo* sur tranches, la motilité des processus microgliaux n'est pas dépendante de l'activité neuronale et n'altère pas la potentialisation à long term (PLT ; long-term potentiation : LTP) hippocampique (Wu et al., 2008). Cependant, en 2011, Fontainhas a montré que la motilité microgliale est régulée par la neurotransmission ionotropique glutamatergique et diminuée par la neurotransmission ionotropique GABAergique (Fontainhas et al., 2011) confirmant la régulation de la microglie par les neurones.

Les processus microgliaux ont une capacité d'extension vers un site lésé du SNC qui est très rapide ($\sim 1.25 \mu\text{m}/\text{min}$) (Davalos et al., 2005 ; Nimmerjahn et al., 2005). Cette

extension rapide est dépendante de l'ATP extracellulaire qui est détecté par la microglie via les récepteurs P2Y₁₂ (Davalos, et al., 2005; Haynes et al., 2006) et qui est associé à un courant sortant de potassium dans la microglie (Wu et al., 2007). Le courant sortant potassique pourrait contribuer à la régulation du volume de la microglie pendant la chémoattraction (Eder, 2005). L'activation de l'intégrine- β -1 (Ohsawa et al., 2010), la phosphorylation d'Akt (Irino et al., 2008) et l'activation de la voie de signalisation en aval de PI3 kinase (Frank et al., 2009) sont impliquées dans la chémoattraction de la microglie via P2Y₁₂. L'activation de la voie de signalisation PI3K pourrait contribuer à la réorganisation du cytosquelette d'actine. De même, le courant sortant potassique serait impliqué dans le changement de volume. Ces deux voies pourraient donc faciliter la motilité des processus microgliaux.

De récents travaux sur la moelle épinière ont montré que le NO est également une molécule impliquée dans le guidage des mouvements microgliaux (Dibaj et al., 2010). Le glutamate peut également attirer la microglie via un mécanisme indépendant de l'ATP sur des tranches de moelle épinière de souris (Liu et al., 2009). Dans un modèle de lésion rétinienne, le récepteur CX3CR1 a été impliqué dans la réponse rapide des cellules microgliales face à la lésion sachant que les souris CX3CR1 knock-out (KO) présentent des vitesses de migration réduites (Liang et al., 2009).

De manière intéressante, la microglie activée par le LPS présente une rétraction de ses processus en réponse à l'ATP détecté via la présence du récepteur à l'adénosine 2A (Orr et al., 2009). L'activation de ce récepteur pourrait expliquer le changement d'état morphologique de la microglie ramifiée vers amoéboïde activée. De nombreux facteurs extrinsèques et intrinsèques sont impliqués dans le processus d'extension des microglies face à une lésion. La microglie est considérée comme un agent protecteur des tissus sains car ses processus migrent et convergent rapidement vers le site lésé. En effet, une étude montre la convergence des processus microgliaux vers une lésion induite par l'application d'un faisceau laser sur des tranches de cerveau. La réaction rapide de la microglie limite la propagation de la lésion aux tissus neuronaux voisins (Hines et al., 2009).

3.2 Migration des cellules microgliales vers un site lésé

La microglie a la capacité de se déplacer vers les sites lésés ou perturbés où elle peut éliminer les débris et participer à la réparation tissulaire. La migration des microglies vers le site lésé dépend des gradients de chemokines, de l'expression des récepteurs à la surface des cellules microgliales et de la localisation de la microglie par rapport au site lésé (Flynn et al., 2003; Dijkstra et al., 2004; Wang et al., 2008). Dans la sclérose en plaques par exemple,

la sécrétion des chemokines CCL2/MCP1 et CXCL10/IP10 et l'expression de leurs récepteurs est augmentée et est associée aux cellules microgliales activées (Simpson et al., 2000; Tanuma et al., 2006).

CCL2 : chémoattractant microglial

La protéine CCL2/MCP-1 appartient à la famille des chemokines CC. CCL2/MCP-1 contient quatre résidus cystéine hautement conservés caractéristiques de la famille des chemokines CC. Chez la souris, CCL2 est une protéine contenant 125 acides aminés.

Très peu d'études révèlent que la protéine CCL2/MCP-1 est exprimée constitutivement par les neurones du SNC, plus spécifiquement en conditions inflammatoires (Reaux-Le Goazigo et al., 2013). CCL2/MCP-1 est aussi produite par les cellules gliales (Barna et al., 1994; Berman et al., 1996; Glabinski et al., 1996; Hanisch, 2002). Les astrocytes périvasculaires sont la principale source de CCL2 dans le SNC et ceci dans le cadre de nombreuses situations neuroinflammatoires. Les cellules microgliales expriment le récepteur de CCL2, CCR2 (Conductier et al., 2010).

CCL2 a été décrite pour sa plus forte capacité d'attraction des monocytes vers les sites inflammatoires. Son expression dans le SNC est augmentée dans de nombreuses pathologies à composante neuroinflammatoire et notamment dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. De nombreuses études ont montré que le niveau de CCL2 est augmenté au niveau des plaques amyloïdes agrégées associées à une microgliose (Ishizuka et al., 1997) mais aussi au niveau des neurones et astrocytes (Sokolova et al., 2009).

3.3 Présentation d'antigènes

A la périphérie, le processus de présentation d'antigènes est réalisé par des cellules particulières qui ont pour mission de présenter des antigènes exogènes aux lymphocytes T. Il constitue ainsi la branche cellulaire de l'immunité acquise. Les cellules professionnelles présentatrices d'antigènes tels que les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes, phagocytent leurs cibles localement. Elles se dirigent ensuite vers les nœuds lymphatiques dans lesquels les protéines (antigènes) exogènes digérées sont exprimées à la surface des cellules professionnelles attachées à des récepteurs spécifiques tels que la protéine de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH-II). Elles présentent ainsi les antigènes exogènes aux cellules T naïves.

Dans le SNC, la présentation d'antigènes par la microglie est l'objet de débats ces dernières années. En conditions physiologiques, la microglie n'exprime pas le CMH-II. Seule une sous-population de cellules qui s'apparenteraient à des cellules dendritiques, exprime des molécules co-stimulatrices telles que CD11c (Bulloch et al., 2008). Ford en 1995 montre que la microglie présente une activité de présentation d'antigènes peu importante *in vivo* (Ford et al., 1995). Cependant, après un challenge immunitaire localisé avec de l'IFN- γ , la microglie exprime de plus forts niveaux de CMH-II et de CD11c *in vivo* et présente des antigènes à sa surface *in vitro* (Gottfried-Blackmore, et al., 2009). Une des raisons pour lesquelles la microglie ne serait pas capable *in vivo* de présenter des antigènes est que la microglie devrait sortir du parenchyme cérébral pour migrer vers les nœuds lymphatiques. En fait, la présentation d'antigènes par la microglie dans le SNC n'aurait pas lieu dans le parenchyme mais plutôt dans les méninges et les plexus choroïdes. Ces structures contiennent des cellules présentatrices d'antigènes périvasculaires. La présentation d'antigènes pourrait être réalisée après un drainage direct des antigènes du SNC dans le liquide cébrospinal *via* l'espace subarachnoïdien allant vers des canaux au niveau de la plaque cribiforme de l'os éthmoïde pour finalement rejoindre les nœuds lymphatiques dans la cervicale profonde au niveau du cou (Galea et al., 2007; Ransohoff et al., 2012). Des antigènes du soi, comprenant des antigènes du SNC, ne provoquent pas de réponse car les cellules T auto-réactives sont éliminées par délétion clonale dans le thymus. Dans le cadre des maladies auto-immunes telles que la sclérose en plaque, les cellules T réactives contre la myéline échappent à ce mécanisme de tolérance immunitaire et entrent dans le SNC sous certaines conditions menant ainsi au processus de démyélinisation (Goverman, 2011). La microglie semble jouer un rôle négatif dans la progression de l'EAE, modèle animal de la sclérose en plaque, car lorsque l'activité microgliale est supprimée, la sévérité de la pathologie est réduite (Heppner et al., 2005). Cependant, ce rôle délétère de la microglie pourrait être lié à la phagocytose ou à la présentation d'antigènes (Ransohoff and Engelhardt, 2012).

3.4 Microglie et Plasticité synaptique

3.4.1 Plasticité synaptique

Le terme plasticité synaptique est utilisé pour décrire la capacité des synapses à changer la force de leurs connexions. La « force » d'une synapse correspond à la réponse qui est générée dans la densité post-synaptique après activation de la partie pré-synaptique (Atwood et al., 2002). Des changements de l'expression de molécules synaptiques dans les deux compartiments pré- et post-synaptiques et des changements structuraux des synapses

peuvent augmenter ou diminuer la réponse produite dans la cellule cible après stimulation de la partie pré-synaptique (Atwood and Karunanithi, 2002). La plasticité synaptique se fait sur de courtes périodes de temps impliquant une variété de mécanismes moléculaires pour modifier la force synaptique, enlever, modifier ou ajouter de nouvelles connexions synaptiques (Bliss et al., 1993; Katz et al., 1996; Bear, 1999; Holtmaat et al., 2005; Luscher et al., 2012). Les synapses affinent leur connectivité *via* le « synaptic scaling », une forme d'homéostasie qui implique des ajustements uniformes de la force synaptique de toutes les synapses d'une cellule. Ceci résulte en des changements à long-terme de l'activité électrique d'une cellule en augmentant ou diminuant la décharge des synapses et ceci afin de stabiliser les connexions neuronales (Turrigiano, 2008). La plasticité synaptique est donc un phénomène important qui permet de modifier les réseaux neuronaux et a longtemps été considérée comme représentant les fondements de l'apprentissage et de la mémoire (Mayford et al., 2012), déjà suggéré en 1894 par Cajal (Cajal, 1894).

Le psychologue Donald Hebb est à l'origine de la compréhension actuelle de la plasticité synaptique. La loi de Hebb peut être résumée par « les cellules qui déchargent ensemble, se développent ensemble » et requiert que les activités pré- et post-synaptiques soient simultanées. En effet, lorsque le neurone pré-synaptique est actif et qu'au même moment le neurone post-synaptique est lui-même fortement activé sous l'influence d'autres afférences nerveuses, alors la synapse formée par le neurone pré-synaptique est renforcée. Au contraire, lorsque le neurone pré-synaptique est actif et qu'au même moment le neurone post-synaptique n'est que faiblement activé par les autres afférences, la synapse formée par le neurone pré-synaptique s'affaiblit et est éliminée.

La LTP répond à la loi de Hebb (Bliss et al., 1973). La LTP est induite par une brève série de trains de stimulations à haute fréquence appelée tétanus appliquée aux synapses excitatrices et augmente de manière soutenue de la transmission (Bliss and Collingridge, 1993; Cooke et al., 2006). Ce phénomène augmente le recrutement des récepteurs ionotropiques au glutamate comprenant les récepteurs au N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et à l'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA), à la membrane post-synaptique et dépend du flux d'ions calciques Ca^{2+} passant au travers des récepteurs NMDA (Matsuzaki et al., 2004; Luscher and Malenka, 2012). Les neurones expriment différentes formes de LTP (Johnston et al., 1992; Mayford, et al., 2012). Le phénomène de dépression à long terme (DLT, ou LTD, long term depression) a été découvert par la suite (Lynch et al., 1977). Alors que la LTP augmente la force synaptique d'une synapse, la LTD résulte en l'internalisation des récepteurs AMPA (Man et al., 2000), à l'activation des récepteurs NMDA pérисynaptiques et en la diminution des taux intracellulaires d'ions Ca^{2+} , inhibant ainsi l'activité synaptique. La LTD peut également être dépendante de l'activation des récepteurs

métabotropiques au glutamate (mGluR) (Xiao et al., 2001; Snyder et al., 2005). La LTP et la LTD sont des modèles de plasticité synaptique qui montrent que les changements moléculaires au niveau des synapses sont à l'origine de la plasticité des synapses existantes. La plasticité synaptique joue un rôle dans la plasticité structurale des synapses. La LTP peut conduire au renforcement de certaines synapses en leur faisant adopter une morphologie moins fine (Matsuzaki, et al., 2004; Kopec et al., 2006) et participer à la création de nouvelles épines (Engert et al., 1999). La LTD au contraire facilite la rétraction des épines (Mulkey et al., 1992; Linden et al., 1995; Luscher et al., 1999; Lee et al., 2002a; Chen et al., 2004; Nagerl et al., 2004; Zhou et al., 2004; Massey et al., 2007). Ces modifications rapides morphologiques et fonctionnelles participent aux processus cognitifs (Holtmaat et al., 2009). L'apprentissage notamment induit la formation et l'élimination des épines dendritiques lors d'une nouvelle expérience. Ce rapide changement et renouvellement d'épines est corrélé avec l'amélioration des capacités comportementales après apprentissage (Yang et al., 2009).

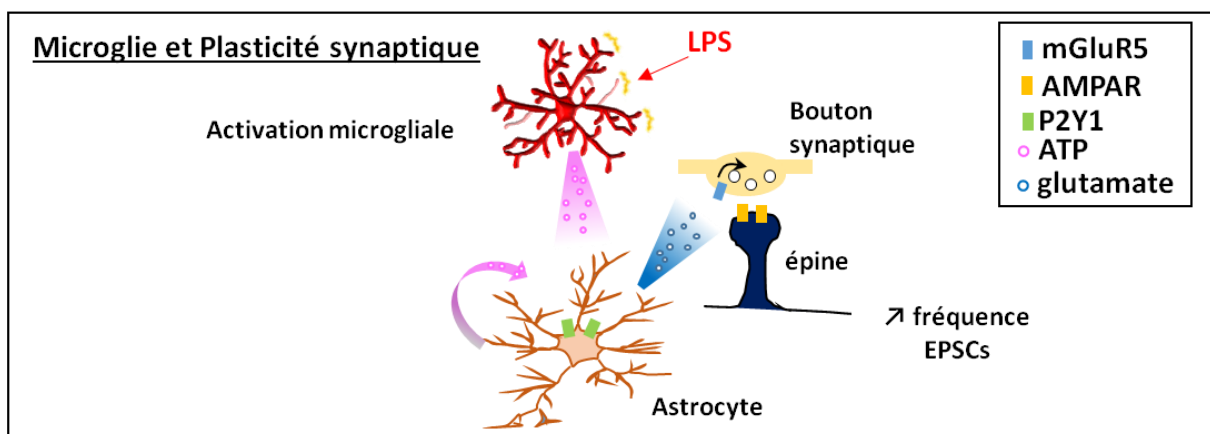


Figure 7 : Microglie et plasticité synaptique après activation immunitaire.

3.4.2 Un nouveau concept : la synapse quadri-partite

La fine régulation de l'activité neuronale a longtemps été considérée comme fondée uniquement sur les interactions neuronales. Cependant, les astrocytes sont sensibles au glutamate synaptique et libèrent des gliotransmetteurs qui modulent la transmission synaptique (Halassa et al., 2010; Perea et al., 2010). A partir de ces observations, le concept de synapse tripartite a été défini. Cette notion évolue puisqu'un nouveau concept a été proposé par Schafer et Stevens en 2012, Tremblay et Majewska en 2011 et également Bennett en 2007. La microglie serait le quatrième partenaire de la synapse tripartite. En effet,

présentant toutes les caractéristiques d'un partenaire synaptique, la microglie pourrait réguler la transmission synaptique de base glutamatergique et GABAergique (Tsuda et al., 2003; Coull et al., 2005; Pascual et al., 2012) en tant qu'acteur de la synapse quadri-partite (Schafer et al., 2013). En conditions physiologiques, la microglie est présente dans toutes les régions du cerveau (Lawson et al., 1990) et est étroitement associée aux neurones et astrocytes (Nimmerjahn, et al., 2005; Wake et al., 2009; Tremblay, et al., 2010). Les récepteurs exprimés par la microglie jouent un rôle dans l'activité neuronale et/ou leur communication avec les astrocytes (Pocock and Kettenmann, 2007). *In vitro*, l'ajout de microglie en culture ou de milieu de culture conditionné issu de cultures microgliales sur des cultures de coupes corticales augmente l'amplitude de courants excitateurs post-synaptiques (excitatory postsynaptic currents ; EPSCs) dépendants des récepteurs NMDA ainsi que leur durée (Moriguchi et al., 2003a). De même que l'ajout de milieu de culture conditionné issu de cultures microgliales sur des cultures de neurones hippocampiques augmente la LTP (Hayashi et al., 2006).

L'application de LPS sur des tranches d'hippocampe de souris induit une activation de la microglie et augmente la fréquence des EPSCs spontanés en quelques minutes. Or, si l'on bloque la transmission AMPA avec du 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline-2,3-dione (NBQX), la microglie activée n'a plus d'effet sur la transmission synaptique. Ces effets ne sont pas retrouvés lors de l'application d'antagonistes des récepteurs NMDA ou GABA_A (Pascual et al., 2012). La microglie activée entraîne l'augmentation de l'activité des synapses et module l'activité neuronale.

Rogers en 2011 montre que l'induction de LTP diminue chez des souris knock-out (KO) CX3CR1 adulte (coupes organotypiques d'hippocampe) dont la microglie est activée par rapport aux souris sauvages (Rogers et al., 2011). Ces déficits mesurés *ex vivo* coïncident avec les déficits d'apprentissage et de mémoire testés en piscine de Morris et dans la tâche de conditionnement de peur indicée et contextuelle, dépendante de l'hippocampe. Contrairement à l'hippocampe en post-natal, l'hippocampe adulte chez les KO CX3CR1 ne présente pas de déficits de densité microgliale (Rogers et al., 2011).

Les cytokines sont les molécules les plus à mêmes d'être à l'interface entre la microglie activée et son effet sur la plasticité synaptique (Mallat et al., 1994; Hanisch, 2002; Streit et al., 2012). Les cytokines jouent un rôle central dans la plasticité synaptique et les processus cognitifs dans le cerveau sain (Aloe et al., 1999; Albeni et al., 2000; Beattie et al., 2002; Yirmiya et al., 2011). L'IL-1 β dont la source principale est la microglie (Williamson et al., 2011) est induite dans les processus d'apprentissage et importante pour la consolidation de la mémoire (Goshen et al., 2007). Le TNF- α , l'IL-6, les prostaglandines, des

protéines de la cascade du complément (C1q et C3) et des membres de la famille du CMH I sont également impliqués dans les processus d'apprentissage (Boulanger, 2009; Yirmiya and Goshen, 2011; Blank et al., 2013). L'expression des cytokines jouerait également un rôle dans la régulation de la dynamique des épines dendritiques (Bitzer-Quintero et al., 2012).

La modulation de l'activité neuronale par la microglie se fait *via* l'ATP et le récepteur P2Y1. Cette modulation est absente lors de l'application d'antagonistes purinergiques, spécifiques du récepteur P2Y1 (Pascual et al., 2012). Dans l'hippocampe, les récepteurs P2Y1 sont seulement exprimés par les interneurons et les astrocytes. Lorsque la fonction astrocytaire est bloquée avec du fluoroacetate (FAC), composé qui va bloquer le cycle de la glutamine astrocytaire (Panatier et al., 2006; Henneberger et al., 2010), la fréquence des EPSCs induite après application de LPS augmente sans pour autant changer l'activité neuronale de base. En stimulant les astrocytes avec un agoniste spécifique du récepteur P2Y1, la fréquence des EPSCs augmente et mime l'effet d'une activation microgliale, même sur des tranches de cerveau de souris pour lesquelles le gène Pu1 (qui régule le développement des cellules myéloïdes) a été génétiquement invalidé et donc ne possèdent pas de microglie (Pascual et al., 2012). Ces résultats suggèrent que la signalisation purinergique astrocytaire agit dans un second temps après l'activation de la microglie pour réguler les EPSCs. L'activation de P2Y1 astrocytaire est connue pour activer la libération de glutamate (Domercq et al., 2006; Zheng et al., 2008) qui va se lier aux récepteurs neuronaux tels que les récepteurs métabotropiques au glutamate, mGluR ce qui module la transmission AMPAergique (Fiacco et al., 2004; Perea et al., 2007). En bloquant le récepteur mGluR5, avec un antagoniste 2-méthyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), Pascual en 2012 montre que l'augmentation de la fréquence des EPSCs induite par le LPS et l'activation de P2Y1 astrocytaire est bloquée (Pascual et al., 2012). Les mGluR agissent donc en aval des récepteurs P2Y1 qui influencent la neurotransmission.

L'ATP libéré par les cellules microgliales activées provoque le recrutement d'astrocytes qui, en retour produisent de l'ATP et du glutamate. Le glutamate astrocytaire entraîne une augmentation de la fréquence des EPSCs au travers des récepteurs mGluR5 neuronaux. La microglie régule la neurotransmission glutamatergique en tant que partenaire privilégié des astrocytes.

La microglie a également la capacité de moduler la neurotransmission GABAergique. Cet effet a seulement été montré dans un contexte de lésion neuronale (Tsuda, et al., 2003; Coull, et al., 2005). En effet, après une lésion, de l'ATP est libéré. L'ATP active la microglie qui va sécréter en retour des facteurs neurotrophiques tels que le BDNF, brain-derived neurotrophic factor. Le BDNF sécrété par la microglie induit une inversion des courants

GABA. La transmission excitatrice par le GABA résulte en hyperactivité et en une augmentation de l'allodynie.

La microglie est donc un partenaire privilégié de la synapse tri-partite et module la neurotransmission *via* les facteurs inflammatoires tels que l'ATP et les cytokines.

III. La phagocytose microgliale

1. La phagocytose

L'endocytose se définit par l'internalisation de matériel extracellulaire dans des vésicules qui sont transférées dans le cytosol (Napoli et al., 2009b). Elle comprend trois mécanismes différents. Les cellules microgliales sont capables de lier des particules extracellulaires par des récepteurs spécifiques qui conduisent à l'englobement des particules. Ce processus est appelé endocytose médiée par les récepteurs, impliquant des invaginations de la membrane responsable de la formation de la vésicule (Goldstein et al., 1979). Un deuxième processus est connu pour englober des fluides extracellulaires contenant des protéines seules ou des petites molécules et s'appelle la pinocytose (Glenn et al., 1991). La macropinocytose a été montrée comme étant impliquée dans l'internalisation de protéines A β solubles dans un modèle de maladie d'Alzheimer (Mandrekar et al., 2009). La phagocytose est le troisième mécanisme pour l'internalisation de particules solides (Kinchen et al., 2008).

1.1 Définition de la phagocytose

Le mot phagocytose provient du grec ancien signifiant « glouton », phagein signifiant « manger » et kutos signifiant «cavité, cellule ». La phagocytose de pathogènes a été découverte par l'embryologiste russe Ilya Metchnikoff dans les années 1880, montrant alors que les globules blancs sanguins pouvaient phagocyter des bactéries. Metchnikoff soutenait que le mécanisme de phagocytose permettait la défense de l'hôte, qu'elle était bénéfique pour l'homéostasie tissulaire de l'hôte et reliée à l'inflammation chez l'homme (Metchnikoff, 1905). Au siècle dernier, de nombreuses idées de Metchnikoff ont été reprises et validées.

Chez les mammifères, les phagocytes professionnels dérivent d'une lignée commune, la lignée myéloïde.

La phagocytose est une des principales fonctions des cellules microgliales – internalisation actine-dépendante des particules étrangères et des débris (Aderem et al., 1999). La clairance des cellules apoptotiques, des accumulations protéiques et des pathogènes exogènes par la microglie sont des actions importantes pour maintenir l'homéostasie du SNC (Chan et al., 2001). La clairance des débris cellulaires à la suite de la mort cellulaire programmée (apoptose) est nécessaire pour limiter les dommages faits aux cellules voisines saines. En effet, les débris vont inhiber la croissance et la réparation des tissus donc la phagocytose est essentielle pendant le développement et pendant la réparation tissulaire après une lésion.

Cependant, en cas d'activation soutenue, la microglie sécrète certains facteurs neurotoxiques tels que le TNF- α et le NO. Si la phagocytose microgliale n'est pas contrôlée, l'effet neuroprotecteur de la microglie peut s'inverser conduisant à une neuroinflammation (Aderem and Underhill, 1999; Neumann et al., 2009).

1.2 Mécanismes de phagocytose

La phagocytose par la microglie suit un modèle en trois étapes proposé par Savill en 2002 (Savill et al., 2002).

- ***Find-me***

Etape de chémoattraction dans laquelle le phagocyte doit trouver sa cible au hasard ou en suivant des signaux moléculaires libérés par la cible. Une fois que le phagocyte a rejoint sa cible, il établit un contact direct membranaire *via* des interactions ligand-récepteur qui déclenche la phagocytose. Les cellules en apoptose vont libérer des nucléotides extracellulaires, ATP ou UTP (Elliott et al., 2009). La dégradation de l'UTP en UDP agit sur les récepteurs P2Y6 ce qui facilite la phagocytose (Koizumi et al., 2007). CX3CL1 ou fractalkine est un autre signal libéré par les cellules en apoptose (Truman et al., 2008; Noda et al., 2011). La microglie qui exprime le récepteur à la fractalkine reconnaît CX3CL1 et phagocyte les cellules en apoptose (Noda, et al., 2011).

- ***Eat-me***

Les phagocytes expriment une variété de récepteurs complémentaires aux signaux find-me qui leur permettent de reconnaître leur cible et de la différencier du reste du parenchyme et donc des autres cellules vivantes (Savill, et al., 2002; Ravichandran, 2010). Certains récepteurs servent d'attaches pour maintenir le phagocyte et la cible ensemble ;

d'autres permettent l'internalisation de la cible (Underhill et al., 2012). Ces récepteurs sont classés en deux grandes classes selon les cibles. La détection des PAMPs sur des pathogènes se fait *via* les récepteurs scavengers et les TLR ou encore des récepteurs appartenant à la famille des immunoglobulines (lectines de type c par exemple). La détection des cellules en apoptose se fait *via* les récepteurs scavengers par et *via* des molécules « pont » entre les phosphatidylserines (PS) exposées à la membrane des cellules en apoptose et les récepteurs sur le phagocyte, tels que le facteur de croissance MFG-E8 (milk fat globule-epidermal growth factor).

Les récepteurs Eat-me et leurs cibles interagissent ensemble dans un espace appelé « synapse phagocytaire » ou « synapse d'internalisation » (Ravichandran, 2010; Dustin, 2012; Underhill and Goodridge, 2012). Les synapses phagocytiques sont similaires en taille (0,5µm de diamètre) et de par l'interaction de récepteur à récepteur, à d'autres synapses connues immunologiques et neuronales. Ce sont des régions spécialisées de la membrane au niveau desquelles les cellules en apoptose et les phagocytes interagissent au travers de « microclusters » de récepteurs. Comme les synapses immunologiques formées par l'interaction d'une cellule présentatrice d'antigènes et d'un lymphocyte T et contrairement aux synapses neuronales, les synapses phagocytiques ont une durée de vie courte qui ne dure que quelques minutes (Dustin, 2012). L'activation de voies intracellulaires telles que Syk kinase ou PI3k et de petites GTPases va progressivement remodeler le cytosquelette du phagocyte *via* la polymérisation de l'actine et sa structure membranaire et mener à la formation d'un pseudopode en forme de coupe afin d'englober la cible (Lee et al., 2007). Ce processus complexe est connu pour les macrophages mais reste encore à démontrer pour la microglie.

- ***Digest-me***

Cette phase consiste à éliminer la cible dans le phagocyte. La coupe phagocytaire se referme autour de la cible et forme le phagosome. Pour dégrader la cible, le phagosome doit suivre des étapes de maturation qui vont de l'endosome précoce à l'endosome tardif en passant par le lysosome pour former le phagolysosome (Desjardins et al., 1994). Ces phagolysosomes possèdent diverses enzymes telles que des hydrolases pour digérer la cible et des pompes ATPases afin d'acidifier le milieu intralysosomal (Garin et al., 2001). Le pH des phagolysosomes est acide, inférieur à 5 et est essentiel à la dégradation permettant l'efficacité des hydrolases. De la même manière que pour l'étape eat-me, ce processus dans la microglie n'a été que très peu étudié. De même que comme la microglie « resting » peut également phagocyter (Peri and Nusslein-Volhard, 2008; Sierra et al., 2010), la localisation

de la dégradation du matériel endocyté dans les processus microgliaux n'est pas connue. Des expériences d'imagerie en temps réel ont montré que des structures ressemblant à des coupes phagocytiques sont transportées de façon rétrograde vers le soma dans le néocortex de souris (Nimmerjhan et al., 2005). Sierra en 2010 montre que du matériel punctiforme de cellules apoptotiques était détectable dans des processus de microglie ramifiée sur des coupes d'hippocampe adulte fixées suggérant leur transport à ce niveau (Sierra et al., 2010).

La phagocytose est un mécanisme hautement contrôlé par différents facteurs tels que les signaux find-me et eat-me, les récepteurs de surface et les cytokines/facteurs de croissance extracellulaire (Koenigsknecht-Talboo et al., 2005). Par exemple, la phagocytose de l'A β implique un complexe de récepteurs de surface incluant les récepteurs scavengers, les intégrines et les protéines associées aux intégrines (Bamberger, et al., 2003; Koenigsknecht-Talboo and Landreth, 2005). La phagocytose des corps apoptotiques implique les récepteurs à la phosphatidylsérine et la phagocytose de pathogènes implique les récepteurs Toll-like (Ravichandran, 2003) alors que la famille des récepteurs Fc est importante pour la phagocytose de particules opsonisées par des anticorps (Aderem and Underhill, 1999).

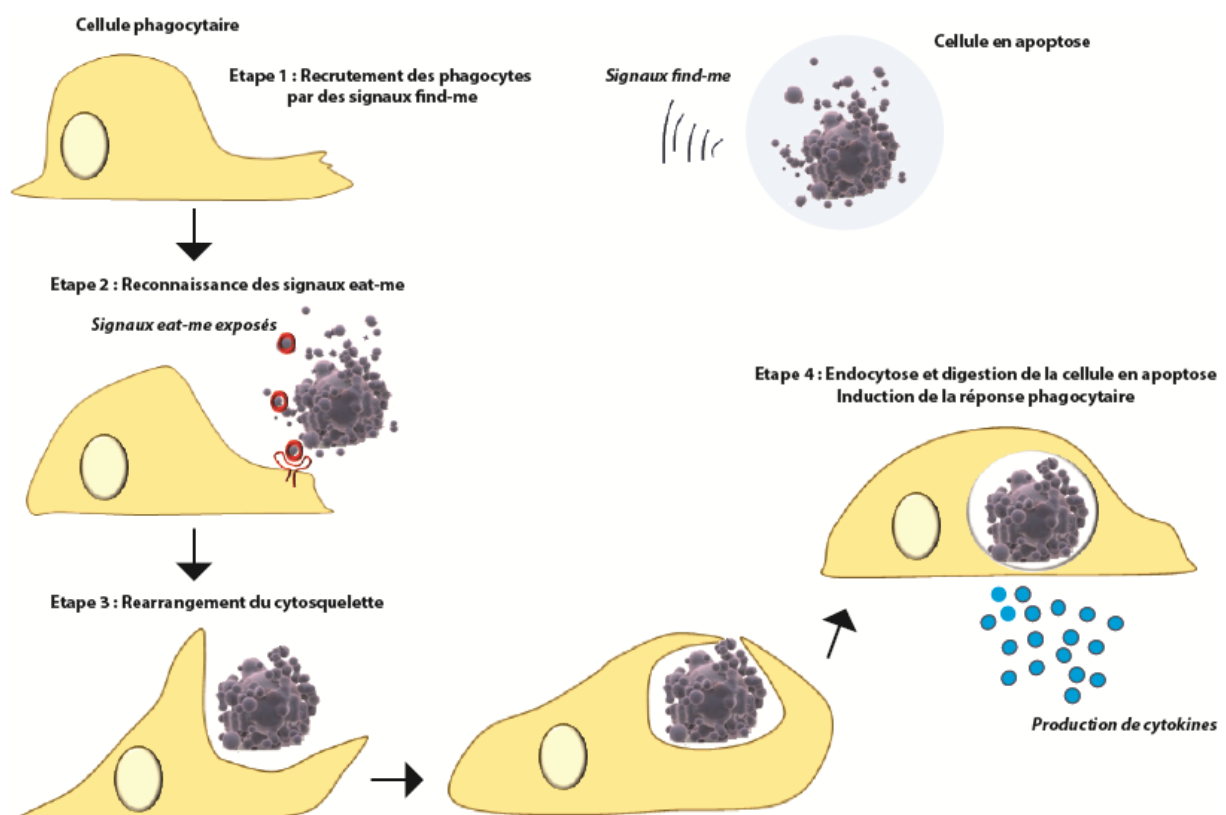


Figure 7 : Principe de phagocytose de cellules en apoptose. Dans un premier temps, les signaux find-me relargués par les cellules en apoptose sont reconnus via

des récepteurs présents à la surface des phagocytes. Dans un deuxième temps, le phagocyte va reconnaître les signaux eat-me à la surface des cellules en apoptose via leurs récepteurs de surface et ceci enclenche une cascade moléculaire menant à la réorganisation du cytosquelette. Finalement, le phagocyte va endocyter la cellule en apoptose, la dégrader et produire des cytokines anti-inflammatoires (adapté de Hochreiter-Hufford and Ravichandran, 2013).

- **Les différents signaux find-me, eat-me et don't eat-me**

Les signaux find-me correspondent aux signaux d'activation microgliale libérés par les neurones. Ils participent au recrutement des cellules microgliales *in situ*. Par exemple, les cellules en apoptose libèrent les facteurs tels que CX3CL1 qui aide au recrutement des phagocytes à proximité ou depuis la circulation. Pour faciliter le recrutement des cellules microgliales, les neurones en apoptose produisent et libèrent des signaux find-me tels que CX3CL1 ou encore de l'ATP et l'UTP. La microglie augmente l'expression des récepteurs P2Y6 métabotropiques après une lésion (Koizumi et al., 2007). Le signal eat-me le plus connu est la phosphatidylsérine (Ravichandran, 2003; Ravichandran et al., 2007).

CD47 est une protéine don't eat-me synthétisée de façon constitutive par les neurones, les astrocytes, la microglie, les cellules endothéliales et les macrophages (Reinhold, et al., 1995; de Vries, et al., 2002; Noda et al., 2012). CD47 protège les cellules qui l'expriment de la phagocytose. En effet, les cellules en apoptose n'expriment plus CD47 à leur surface (Hochreiter-Hufford et al., 2013). Ceci a pour conséquence de lever l'inhibition de la phagocytose induite par SIRP α , un ligand de CD47. Ainsi, la perte ou l'inactivation de CD47 sur une cellule active la phagocytose de cette cellule par les phagocytes (Gardai et al., 2005).

1.3 Phagocytose de particules opsonisées

La cascade du complément joue un rôle important dans la phagocytose de particules opsonisées. Le récepteur du complément 3 (ou Mac-1 ou CD11b/CD18) est un récepteur hétérodimérique formé de la protéine CD11b (intégrine α_M) et de CD18 (intégrine β_2). Ce récepteur appartient à la famille des récepteurs leucocytaire β -2 intégrine qui possède des propriétés d'adhésion intercellulaire. Mac-1 est exprimé par les macrophages à la périphérie et les cellules microgliales dans le SNC. Les protéines de la cascade du complément « opsonisent » les pathogènes et participent à leur phagocytose par les macrophages via le récepteur CR3 (Aderem and Underhill, 1999). L'opsonisation consiste à recouvrir le pathogène à éliminer de petites molécules protéiques telles que C3b ou C4b (Brown et al.,

1991) pour faciliter son internalisation par le phagocyte. Le composant 1 du complément (C1) est la première molécule de la cascade classique du complément et est composée des sous-unités C1r, C1s et C1q. Après la liaison de C1q sur le pathogène qui initie la cascade, C2 et C4 sont activés par clivage menant à la production du composant C3b. Ce fragment C3b « opsonise » la surface de la cible et est finalement reconnu par le récepteur CR3 sur le phagocyte (Fraser et al., 2008). La microglie utilise et produit les molécules de la cascade du complément (Depboylu et al., 2011; Linnartz et al., 2012). En effet, Linnartz en 2012 montre que la microglie phagocyte des neurones dépourvus d'acide sialique. L'acide sialique est présent à l'extérieur des membranes et fait partie intégrante du glycocalyx. Le glycocalyx est un « manteau » externe des cellules eucaryotes qui est composé de glycoprotéines et de glycolipides qui sont N-glycosylées et O-glycosylées, qui protège les cellules et aide à la reconnaissance intercellulaire. C1q vient se fixer sur les neurones dont le glycocalyx est altéré du fait de l'absence d'acide sialique. La microglie les reconnaît et les élimine (Linnartz et al., 2012). La cascade du complément serait également impliquée dans la phagocytose des synapses neuronales au cours du développement et dans le SNC en dégénérescence via la phagocytose de l'A β par la microglie (Stevens, et al., 2007; Fu et al., 2012).

1.4 Phagocytose dépendante des récepteurs scavengers

Dans le cerveau âgé, la prise en charge et l'élimination des peptides β -amyloïde (A β) sont réalisées par la microglie à l'aide des récepteurs scavengers. Les dépôts anormaux et hautement insolubles de peptide A β agrégé stimulent la phagocytose (Streit, 2004). En effet, la microglie au niveau du cortex contient de l'A β sous forme fibrillaire intracytoplasmique au cours de la maladie d'Alzheimer. De plus, *in vitro*, la microglie humaine adulte est capable de phagocyter l'A β (Gibbons et al., 2011). La phagocytose de l'A β chez le rongeur a également été démontrée *in vitro* et *in vivo* (Simard et al., 2006).

- **Les récepteurs scavengers (SR)**

La famille des récepteurs scavengers représente une classe majeure des PRR (pattern recognition receptors). Les SR ont été décrits pour la première fois en 1979 par Brown et Goldstein comme des récepteurs macrophagiques permettant l'endocytose des lipoprotéines à faible densité ou LDL (low-density lipoprotein) conduisant à la formation de cellules foam ou « chargées » jouant également un rôle dans la pathogenèse de l'athérosclérose (Goldstein, et al., 1979; Ashraf et al., 2011). Depuis la définition des SR a évolué. Les SR sont considérés comme une famille de récepteurs capable de lier des ligands polyanioniques (chargés négativement) avec une forte affinité et une large spécificité

pouvant alors détecter des pathogènes mais également des molécules du soi. Il existe 6 classes de SR. Seulement, deux classes seront présentées ici.

Les récepteurs Scavenger de classe A ou SCARA

Ces récepteurs sont requis pour la défense de l'hôte contre des pathogènes bactériens ou viraux : SCARA-1 illustre la famille de récepteurs multiligands. En plus de lier des lipoprotéines modifiées, du LPS (Hampton et al., 1991) et de l'acide lipotéichoïque (LTA) (Greenberg et al., 1996; Thomas et al., 2000), SCARA-1 et 2 peuvent aussi se lier à de l'A β fibrillaire et à des produits de glycosylation (AGEs pour advanced glycosylation end products) (el Khoury et al., 1994; El Khoury et al., 1996).

Les récepteurs Scavenger de classe B ou SCARB

Ces récepteurs sont également importants dans la réponse innée de l'hôte face aux pathogènes bactériens et fongiques. CD36 (SCARB-2), le premier SCARB classé a été initialement identifié comme récepteur à la thrombospondine (Asch et al., 1987). Par la suite, Endemann a identifié CD36 comme un deuxième récepteur aux lipoprotéines modifiées (Endemann et al., 1993), le premier étant SCARA-1 et 2.

• CD36

CD36 ou Fatty acid transporter (FAT) est une glycoprotéine avec une topologie en épingle à cheveux composée de domaines transmembranaires avec les termini cytoplasmiques (Tandon et al., 1989; Greenwalt et al., 1992). CD36 est localisé dans les rafts, des microdomaines membranaires riches en cholestérol et en sphingolipides (Zeng et al., 2003; Pohl et al., 2005), plateformes de transduction du signal vers la cellule.

CD36 a une capacité de prise en charge de molécules lipidiques spécifiques tels que les acides gras (AG) et les LDL oxydées et fait adhérer des ligands macromoléculaires polyanioniques telles que les phosphatidylsérines (PS) qui entraînent la transduction de signaux intracellulaires liés à l'inflammation, la phagocytose et l'endocytose (Febbraio et al., 2001; Husemann, et al., 2002). CD36 se lie aux AG à longue chaîne avec une forte affinité (Baillie et al., 1996) et facilite le transport des AG dans le muscle et le tissu adipeux (Coburn et al., 2000) où il contribue alors à la régulation du métabolisme lipidique (Abumrad et al., 1993; Harmon et al., 1993; Acton et al., 1996) et à la sensibilité à l'insuline (Aitman et al., 1999; Hajri et al., 2002). CD36 est exprimé par les macrophages (Febbraio et al., 2001) et

également impliqué dans l'adhésion cellulaire, certains de ses ligands étant la thrombospondine-1 (TSP-1) ou le collagène (type I et IV) participant à l'agrégation plaquettaire et au recrutement monocytaire dans les tissus lésés. CD36 joue un rôle dans la phagocytose des cellules en apoptose par les macrophages et les cellules dendritiques (Urban et al., 2001).

Dans le cerveau, la distribution de CD36 n'a pas été examinée de façon exhaustive mais son expression dans la microglie et les cellules endothéliales a clairement été démontrée (Husemann et al., 2002). Une étude montre son expression dans les neurones (Ricciarelli et al., 2004) mais reste à confirmer. L'expression de CD36 dans le cerveau reste quand même en lien avec ses deux fonctions premières, la prise en charge de lipides et la phagocytose.

CD36 et phagocytose de l'A β

CD36 est au centre des interactions entre microglie et peptide A β fibrillaire (Coraci et al., 2002). CD36 microglial jouerait un rôle dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. CD36 est impliqué dans la réponse inflammatoire locale et la dégénérescence neuronale lors de la présence de dépôts de peptide A β . En se liant au complexe protéique formé en partie de CD36 l'A β active la production de ROS et de cytokines (El Khoury et al., 2003). Pourtant, le lien entre l'expression de CD36 et la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer n'est pas clairement établi (Ricciarelli et al., 2004). En effet, l'accumulation d'A β induit l'expression de CD36 par la microglie et permet d'éliminer le dépôt d'A β , ce qui serait bénéfique. Cependant, la surexpression de CD36, avec en conséquence la production de ROS et de cytokines par la microglie, participerait à la neurodégénérescence (Ricciarelli, et al., 2004).

1.5 Phagocytose des cellules en apoptose

- ***Phagocytose dépendante des phosphatidylsérines***

L'apoptose est un mode de mort cellulaire programmée qui est essentiel pour la régulation de la croissance tissulaire et le maintien de l'homéostasie (Hengartner, 1999). Ce programme contre-balance la surproduction significative des cellules qui apparaissent par mitose au cours du développement et de la vie adulte. En pathologie, l'apoptose protège contre la prolifération de pathogènes et la tumorigénèse (Brown et al., 2012).

Les cellules apoptotiques présentent à leur surface, la phosphatidylsérine qui est normalement située dans le feuillet interne de la bicouche lipidique de la membrane plasmique et qui change de position vers le feuillet externe. Ces changements structuraux à la surface des cellules en apoptose servent de signal de reconnaissance pour les phagocytes. Le récepteur spécifique de la phosphatidylsérine a été détecté et cloné en 2000 par Fadok (Fadok et al., 2000). D'autres mécanismes de reconnaissance des PS se font également *via* l'intégrine $\alpha 5 \beta 3$ (vitronectin receptor), les récepteurs scavengers de classe A, CD36 récepteur scavenger de classe B, le CD14 et les récepteurs aux collectines (Savill, 1996; Fadok et al., 2001a).

La phagocytose des neurones en apoptose par la microglie est rapide et efficace. Par le biais des signaux phagocytiques, find-me et eat-me, les neurones en apoptose informent de leur présence la microglie qui va alors les phagocyter. Le signal eat-me commun reste l'exposition des PS à la surface des neurones en apoptose. La chemoattraction des cellules microgliales se fait au travers de la sécrétion par les neurones de la chemokine CX3CL1 ou fractalkine comme signal find-me (Truman et al., 2008). En réponse à l'augmentation de CX3CL1, la microglie augmente l'expression de la protéine milk fat globule-EGF-factor 8 (MFG-E8) (Fuller et al., 2008). Le facteur MFG-E8 est une protéine soluble qui va former un pont protéique entre la cellule en apoptose et le récepteur à la vitronectine, intégrines $\alpha_v \beta_3 / \alpha_v \beta_5$ (récepteur de MFG-E8) sur le phagocyte. Sa fixation change la conformation du récepteur qui va recruter des voies de signalisation en aval et activer la ré-organisation du cytosquelette du phagocyte (Akakura et al., 2004). Hanayama en 2002 et 2004 a montré que MFG-E8 est sécrété par les macrophages activés, va se fixer spécifiquement sur les PS externalisées au niveau des cellules en apoptose et promouvoir l'internalisation de la cellule par le phagocyte. En effet, en présence de cellules en apoptose les macrophages en culture augmentent l'expression de MFG-E8 (Mukundan et al., 2009). De plus, Hanayama a montré que des souris dont le gène MFG-E8 est invalidé génétiquement développent des maladies autoimmunes et n'ont pas de prise en charge des cellules apoptotiques dans les centres germinaux de la rate et des nœuds lymphatiques (Hanayama et al., 2002; Hanayama et al., 2004). L'expression de MFG-E8 n'est pas modifiée dans le SNC de patients atteints de pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et de Parkinson (Boddaert et al., 2007; Kinugawa et al., 2013) suggérant qu'il y ait d'autres mécanismes mis en place pour la prise en charge des neurones apoptotiques dans ces pathologies.

Le gène d'arrêt de croissance, Gas6 (growth arrest specific gene 6) active également la phagocytose microgliale en créant un pont entre les PS, la famille de tyrosine kinases Axl/Mer (Grommes, et al., 2008) et le récepteur d'activation exprimé par les cellules myéloïdes 2 (TREM 2, triggering receptor expressed on myeloid cells 2). L'absence de

TREM2 sur la microglie, invalidé génétiquement, inhibe leur capacité de phagocytose (Neumann et al., 2007; Takahashi et al., 2007).

La phagocytose des corps apoptotiques est réalisée avant la lyse des cellules en apoptose (Fadok et al., 2001b) empêchant ainsi la libération de facteurs pro-inflammatoires et des contenus intracellulaires (Savill, 2000) potentiellement inflammatoires. Les phagocytes deviennent anti-inflammatoires et libèrent des médiateurs anti-inflammatoires tels que le TGF β , l'IL-10 ou encore la PGE2 et inhibent la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires tels que le TNF α (Fadok et al., 1998; Huynh et al., 2002).

- ***Phagocytose des nouveaux neurones***

La phagocytose dans un cerveau mature est réalisée par la microglie (Neumann et al., 2009). Dans un hippocampe adulte, des cellules souches et des progéniteurs persistent dans une aire appelée zone sous-granulaire (SGZ, subgranular zone). Ces cellules vont donner naissance à de nouveaux neurones granulaires qui vont devenir matures et intégrer le circuit hippocampique (Kempermann et al., 2004). Alors que certaines de ces nouvelles cellules vont participer à des phénomènes d'apprentissage et de mémoire, de régulation de l'humeur et au conditionnement de peur (Kempermann et al., 2004; Ming et al., 2011), la majorité va être éliminée précocement pendant leur développement et entrer dans un programme de mort cellulaire par apoptose dans les premiers jours de vie de la cellule. Dans ces conditions basales physiologiques, la microglie non activée et ramifiée va réaliser la phagocytose des nouveaux neurones au moyen de leurs ramifications terminales ou de branches dites « en-passant » formant ainsi des structures appelées « chaines et boulets » (Sierra et al., 2010), contrairement à la phagocytose réalisée par la microglie amoéboïde au moyen de son corps cellulaire, ce qui est observé pendant la neurodégénérescence par exemple (Kettenmann, 2007).

- ***Phagocytose au cours du développement***

La microglie régule le développement des circuits neuronaux. La mort cellulaire programmée ou apoptose est une étape importante de la bonne mise en place et de la maturation du SNC (de la Rosa and de Pablo, 2000). La phagocytose microgliale de cellules apoptotiques pendant le développement est hautement active (Dalmau et al., 2003). En chiffres, la microglie phagocyte 97% des cellules en apoptose à E18 dans le fimbriae et 88% et 100% dans la région de la corne d'Ammon (CA) de l'hippocampe respectivement à E16 et P0 (Sierra et al., 2010).

Une microglie présentant une morphologie amoeboïde est connue pour être associée à la phagocytose des neurones en apoptose au cours du développement cérébral (Ashwell, 1990; Marin-Teva et al., 1999; Rakic et al., 2000) mais le rôle de la microglie était jusqu'alors connu pour seulement nettoyer les débris. Dans la moelle épinière en développement, l'hippocampe et le cervelet, la microglie joue un rôle plus actif dans la mise en place même de la mort cellulaire programmée (Marin-Teva et al., 2004; Bessis et al., 2007; Marin-Teva et al., 2011).

Différentes voies de signalisation sont impliquées : la microglie va répondre aux signaux spécifiques provenant des neurones (eat-me signals), la microglie va conditionner les neurones et les détourner vers un programme de mort cellulaire et activer directement leur mort en relarguant des facteurs neurotoxiques (Marin-Teva et al., 2011). Par exemple, la majorité des cellules de Purkinje du cervelet suivent une apoptose développementale et sont phagocytées par la microglie amoeboïde qui va relarguer des ions superoxide afin de déclencher le programme (Marin-Teva et al., 2004).

Dans le cervelet et l'hippocampe, la microglie va éliminer spécifiquement des neurones en développement par un processus de contact direct entre la microglie et le neurone impliquant la cascade du complément. Cette phagocytose est inhibée lors du blocage du récepteur CR3 ou encore CD11b (Marin-Teva, et al., 2004; Wakselman et al., 2008).

1.6 Phagocytose primaire sans apoptose mais dépendante des PS

La phagocytose accompagne normalement la mort cellulaire programmée et intervient donc après l'apoptose (Bratton et al., 2011; Ravichandran, 2011). Cependant, il est maintenant clair que la phagocytose peut entraîner la mort de cellules vivantes (de l'hôte), ce qui fait référence selon Brown à la phagocytose primaire (Brown et al., 2012). Brown propose que cette forme de phagocytose soit appelée phagoptose. Ce terme a été créé en combinant phago- dérivé du Grec ancien « phagein » ou manger et -ptosis signifiant tomber dans le sens mourir. La phagoptose pourrait donc se définir par la mort des cellules de l'hôte provoquée par la phagocytose (Brown et al., 2012).

Du fait de la faible régénération des neurones, la phagoptose des neurones est délétère pour les fonctions cérébrales. Des études d'imagerie faite sur des cultures mixtes de cellules gliales et de neurones montrent que la microglie devient hautement phagocytaire et libère le facteur MFG-E8 et des ROS qui induisent l'exposition des PS à la surface des neurones et conduisent à la mort neuronale (Neher et al., 2011; Neniskyte et al., 2011;

Fricker et al., 2012). Des neurones lésés mais viables exposent de façon réversible les PS à leur surface ce qui résulte en leur phagocytose seulement si la microglie est activée à ce moment là (Neher et al., 2011).

Un challenge inflammatoire appliqué à des cultures mixtes de neurones et microglies issus de souris KO MFG-E8 n'induit pas de mort neuronale. L'ajout de MFG-E8 dans ces cultures entraîne une perte neuronale (Fricker et al., 2012). Une injection intracérébrale de LPS *in vivo* induit une inflammation et une perte neuronale. La perte neuronale est diminuée chez les souris KO MFG-E8 ou lors de la co-injection d'un inhibiteur du récepteur à la protéine MFG-E8, le récepteur à la vitronectine (Fricker et al., 2012).

La microglie phagocyte les neurones en apoptose lors d'une inflammation par exemple, afin de réduire la présence de débris qui pourraient, à leur tour, contribuer à une inflammation prolongée. Cependant, la microglie activée par un challenge immun serait également capable de phagocyter des neurones qui ne sont pas entrés en apoptose. Ceci ouvre la voie vers l'étude des effets de la microglie dans un cerveau en physiologie sans nécessiter la présence de mort cellulaire programmée telle que l'élimination synaptique physiologique.

2. Phagocytose et Elagage synaptique

Les circuits neuronaux sont définis par les axones, les dendrites et leurs connections. Dans le cerveau adulte, les changements de connectivité liés à une plasticité structurale comme la formation et l'élimination de synapses jouent un rôle dans la formation de la mémoire à long-terme (Bailey et al., 1993).

2.1 Définition d'une épine dendritique

Ramon Cajal a été le premier à décrire les épines dendritiques en 1888 pourtant longtemps considérées comme des artefacts de la coloration de Golgi (Cajal, 1888). Il a par la suite proposé que les épines dendritiques soient responsables des contacts entre axones et dendrites, pour lier les neurones entre eux (Cajal, 1891). Sir Charles Scott Sherrington en 1897 a donné à ces points de contact entre neurones le nom de synapses (Pearce, 2004) mais c'est en 1959 que Gray, en utilisant la microscopie électronique, a finalement confirmé que les épines dendritiques sont des sites de connexion entre les neurones (Gray, 1959). La complexité des connexions neuronales dans le cerveau est grande, un neurone pouvant

contenir entre 5000 et 10 000 synapses (Tang et al., 2001) et le cerveau humain contient plus de 10^{13} épines dendritiques (Alvarez et al., 2007).

Les épines dendritiques se trouvent sur les dendrites de nombreux types de neurones (Rochefort et al., 2012). Ce sont des petites protrusions qui sont connectées sur la dendrite par un cou très fin (Kasai et al., 2010). Les densités post-synaptiques des épines dendritiques vont créer des synapses quand un compartiment pré-synaptique va lui être opposé. Les densités pré- et post-synaptiques sont séparées par une région nommée la fente synaptique au travers de laquelle passent les neurotransmetteurs. Les épines dendritiques sont majoritairement des densités post-synaptiques essentielles à la transmission synaptique excitatrice. Par exemple, la majorité des épines dans le cortex forment des synapses excitatrices asymétriques (Colonnier, 1968) et utilisent le glutamate comme neurotransmetteur (Klemann et al., 2011). Les synapses peuvent aussi être inhibitrices et sont dites symétriques et contactent le plus souvent l'arbre dendritique en lui-même que précisément sur une épine dendritique (Yuste et al., 2001; Tashiro et al., 2003).

L'utilisation de l'imagerie biphotonique *in vivo* a permis de mettre en évidence des interactions directes entre la microglie et les neurones dans le cortex de souris en conditions physiologiques et pathologiques (Tremblay et al., 2010 ; Wake et al., 2009). Ainsi, les processus microgliaux se rapprochent physiquement des contacts synaptiques à proximité de leur territoire moléculaire de surveillance et ce constamment et rapidement (environ 4 à 5 min de durée de contact) (Wake et al., 2009).

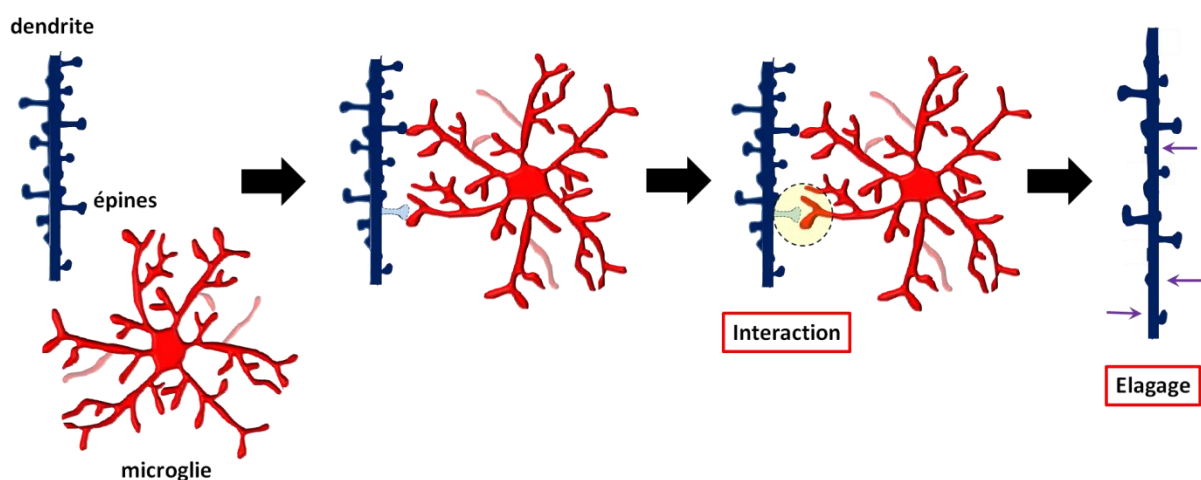


Figure 9 : Microglie et élimination synaptique.

2.2 Elimination des synapses à l'âge adulte

Blinzinger et Kreutzberg en 1968 ont été les premiers à proposer que la microglie jouait un rôle dans l'élimination des synapses endommagées. Après lésion axonale des motoneurones du nerf facial, les cellules microgliales activées migrent près des dendrites et s'interposent entre les éléments pré- et post-synaptiques (Moran et al., 2004). Cette étape est nommée «synaptic stripping», élagage synaptique ou encore élimination synaptique. Dans ce contexte, l'élagage synaptique réduit l'activité synaptique et favorise la réorganisation des synapses (Schiefer et al., 1999; Moran and Graeber, 2004; Trapp et al., 2007; Kettenmann et al., 2013). L'inhibition de la libération pré-synaptique du glutamate précède l'association de la microglie avec la synapse (Yamada et al., 2008). En condition pathologique (ischémie), les contacts microglies/synapses durent plus longtemps (plus d'une heure) et s'accompagnent de la disparition des synapses contactées (Wake et al., 2009). Le phénotype microglial et les facteurs responsables de l'élimination synaptique restent encore à être identifier.

- ***Dégénérescence synaptique et pathologie d'Alzheimer***

L'élimination et la dégénérescence synaptique sont des caractéristiques précoces de multiples maladies neurodégénératives et précède la perte des corps cellulaires neuronaux (Selkoe, 2002; Conforti et al., 2007; Saxena et al., 2007; Mallucci, 2009; Perry et al., 2010b). Dans la maladie d'Alzheimer et au cours du vieillissement, la perte synaptique est corrélée au degré d'altération cognitive (Scheff et al., 2006). Les épines dendritiques qui forment les éléments post-synaptiques dans la plupart des synapses excitatrices dans le cortex et l'hippocampe sont importantes pour les processus d'apprentissage et de mémoire (Harris, 1999). La diminution d'épines dendritiques est aussi observée dans le cerveau de modèles animaux de maladie d'Alzheimer (Lanz et al., 2003; Thies et al., 2007; Knafo et al., 2009; Koffie et al., 2009; Rocher et al., 2010). Cette perte synaptique s'accompagne de l'activation de la microglie (Yoshiyama et al., 2007). *In vitro*, l'activation de la microglie entraîne l'augmentation de la phosphorylation de la protéine Tau (caractéristique de la pathologie d'Alzheimer) et diminue l'expression de la synaptophysine, une protéine post-synaptique via la libération de l'IL-1 β (Li et al., 2003). La perte des protéines synaptiques telle que la synaptophysine est corrélée à l'altération des fonctions cognitives dans le modèle de la maladie d'Alzheimer (Coleman et al., 2003; Li et al., 2003). L'activation microgliale et la libération de l'IL-1 β contribue aux conséquences neurodégénératives de la maladie d'Alzheimer en provoquant l'élimination des épines dendritiques.

- ***Nouveau concept : Elimination synaptique physiologique***

La compréhension de la modulation synaptique, de la formation et de l'élimination des synapses est importante pour appréhender les processus cognitifs (Holtmaat and Svoboda, 2009). Le processus d'apprentissage induit une dynamique de formation et d'élimination des épines dendritiques en réponse à une expérience. Le renouvellement des épines est corrélé à une amélioration comportementale après apprentissage (Yang, et al., 2009). Une petite sous-population d'épines est maintenue de manière stable après apprentissage et tout au long de la vie d'un animal, procurant ainsi les bases physiques de la rétention à long terme de la mémoire. Une étude montre que pendant un conditionnement de peur dépendant du contexte, l'élimination synaptique ne se fait que dans les neurones hippocampiques activés par l'expérience (Sanders et al., 2012). La formation et l'élimination d'épines dendritiques sur un même arbre dendritique est corrélée aux performances d'apprentissage mesurées dans le test du conditionnement de peur (Lai et al., 2012). La formation et l'élimination de synapses semblent particulièrement jouer un rôle critique dans l'encodage et le stockage des traces mnésiques.

Les facteurs contrôlant la formation d'épines, leur maturation et leur élimination sont encore peu compris. Les neurones sont capables de répondre à des stimuli externes et donc peuvent modifier leur cytosquelette afin de promouvoir la formation d'épines ou encore leur élimination. Cependant, d'autres types cellulaires tels que la microglie semblent également jouer un rôle crucial dans ces fonctions et joueraient un rôle actif dans la modulation des réseaux neuronaux qui sous-tendent l'apprentissage et la mémoire.

Tremblay en 2010 suggère que la microglie participerait également à l'élimination des synapses et le remodelage des circuits de manière dépendante de l'expérience dans le cerveau sain et mature (Tremblay et al., 2010). Son travail montre que la majorité des processus microgliaux (environ 94%) dans le cortex visuel de souris juvéniles sont juxtaposés à des éléments synaptiques excitateurs neuronaux et astrocytaires comprenant la fente synaptique. Ces interactions se font généralement « en-passant ». Néanmoins, une reconstruction en trois dimensions des processus microgliaux a montré que la microglie présentait des protrusions ressemblant à des doigts qui entouraient une épine dendritique contactée par un terminal axonal (Tremblay et al., 2010). La microscopie biphotonique *in vivo* a montré que la microglie contacte préférentiellement des épines dendritiques de petite taille et les élimine (Tremblay et al., 2010). Récemment, l'activité phagocytaire des microglies vis à vis des synapses s'avère dépendre des types de tâches comportementales utilisées (Morris et al., 2013).

Les interactions physiques entre les neurones et les processus microgliaux permettent la sélection de la synapse à éliminer. Ce processus de reconnaissance et d'élimination de synapses repose sur des interactions moléculaires ligand/récepteurs entre la microglie et les neurones. La microglie exprime à sa surface la plupart des classes et sous-unités de récepteurs aux neurotransmetteurs ainsi que des canaux ioniques, classiquement retrouvés au niveau des synapses neuronales (Kettenmann, 2011 ; Pocock et al., 2007). De nombreuses études ont montré le rôle des récepteurs et des canaux ioniques exprimés par la microglie en situation inflammatoire (Pocock et al., 2007). Par exemple, le blocage des récepteurs NMDA diminue la production de facteurs inflammatoires par la microglie stimulée par du LPS (Glezer et al., 2003) alors que leur activation favorise le stress oxydatif, l'expression de cytokines et de chemokines (Kaindl et al., 2008; Kaindl et al., 2012). Les récepteurs aux neurotransmetteurs et canaux ioniques exprimés par la microglie régulent les réponses microgliales lors d'un challenge immun. Par contre, le rôle de ces récepteurs en situation non inflammatoire reste peu connu (Morris et al., 2013).

2.3 Elimination synaptique au cours du développement

Les deux premières semaines de développement post-natal chez le rongeur correspondent à une période pendant laquelle le cerveau est extrêmement plastique avec la formation de nouvelles synapses dépendant de l'expérience et leur élimination si celles-ci ne sont pas fonctionnelles. Les neurones forment de nombreuses connections synaptiques transitoires pendant cette période de développement. De nombreuses synapses non fonctionnelles sont éliminées par un processus appelé élagage synaptique qui est dépendant de l'activité neuronale alors que les synapses restantes sont maintenues et renforcées (Katz and Shatz, 1996; Hua et al., 2004; Huberman et al., 2008). Chez le rongeur, l'élagage a lieu pendant les premières semaines de la vie post-natale, chevauchant la période de synaptogenèse. Le pic de remodelage synaptique survient autour de P8 et ce de façon concomitante à l'augmentation de densité synaptique qui commence dès la première semaine post-natale et s'étend jusqu'à la troisième (Cruz-Martin et al., 2010).

Des mécanismes moléculaires intrinsèques aux épines dendritiques et aux axones tels que la rétraction ont été proposés pour expliquer leur disparition au cours du développement (Luo et al., 2005). Le rôle de la microglie dans l'élimination de synapses au cours du développement a été proposé sur la base des connaissances collectées initialement en situations pathologiques. Paolicelli en 2011 a montré par microscopie STED (stimulated-emission depletion ou déplétion par émission stimulée), microscopie de fluorescence à balayage et par microscopie électronique que la microglie phagocytait des

synapses dans l'hippocampe de souris de 15 jours (Paolicelli, et al., 2011). La détection immunogold de la protéine pré-synaptique SNAP25 (synaptosomal-associated protein 25) et post-synaptique PSD95 (postsynaptic density 95) dans les cellules microgliales a confirmé le rôle des microglies dans l'élagage synaptique au cours du développement (Paolicelli et al., 2011). Paolicelli a également montré que le récepteur à la fractalkine (CX3CR1), exprimé par la microglie dans le cerveau en développement (Harrison et al., 1998), participait au développement de l'hippocampe. En effet, une invalidation totale du gène CX3CR1 entraîne une augmentation de la densité des épines dendritiques ainsi qu'une augmentation de l'expression de PSD95 visualisée en immunohistochimie (Paolicelli et al., 2011).

De façon intéressante, dans les années 2000, il a été montré que certaines molécules du SI traditionnellement associées à une fonction immune étaient également des modulateurs de l'élagage synaptique au cours du développement, telles que les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMHI), des molécules de la cascade du complément et les pentraxines neuronales (Corriveau et al., 1998; Huh et al., 2000; Bjartmar et al., 2006; Syken et al., 2006; Goddard et al., 2007; Stevens, et al., 2007; Boulanger, 2009; Datwani et al., 2009; Schafer et al., 2010).

Le groupe de Stevens s'est focalisé sur l'étude du rôle de la microglie dans l'élagage synaptique dépendant de l'activité neuronale et a montré que cette interaction microglie-synapse était réalisée *via* la cascade classique du complément que nous allons détailler ci-dessous (Stephan et al., 2012 ; Schafer et al., 2010 ; Stevens et al., 2007).

Molécules du complément et élagage synaptique : tags moléculaires

Les facteurs du complément C1q et C3 sont localisés au niveau des synapses et participent à l'élagage synaptique au cours du développement du système rétinogéniculé (Stevens et al., 2007). C1q et C3 dans le SII vont se lier à des débris cellulaires, opsoniser les particules à éliminer et déclencher des processus de phagocytose (Lambris et al., 1986; Gasque, 2004). Les molécules du complément pourraient se lier aux synapses comme à des débris et activer leur élimination par la microglie. Le groupe de Stevens a montré *in vivo* que la molécule C3 très exprimée au niveau des synapses et son récepteur CR3, présent sur la microglie, permettent, par un système de reconnaissance clé-serrure, la phagocytose par la microglie d'éléments pré-synaptiques au cours du développement du système rétinogéniculé et ceci pendant la période de remodelage synaptique à P5 (Schafer, et al., 2012). Le groupe de Neumann en 2012 a également montré qu'*in vitro* l'acide sialique permettait dans certains cas la fixation des molécules C1q et C3 au niveau des neurites et permettait ainsi leur élimination par la microglie (Linnartz, et al., 2012). Les protéines du complément sont

désormais présentées comme des étiquettes moléculaires (ou tags) pour déterminer les structures à éliminer par la microglie. Dans un modèle de souris dont le gène *cr3* a été invalidé (CR3 KO), la phagocytose des synapses dans le système rétinogéniculé n'est pas totale et seulement 50% des synapses sont phagocytées (Schafer et al., 2012). D'autres voies de phagocytose et de tags synaptiques existeraient. Des protéines *find-me*, *eat-me* ou encore *digest-me*, qui sont traditionnellement associées à la voie de phagocytose de cellules apoptotiques, pourraient être impliquées. Pour le moment, quelques études ont montré que des protéines impliquées dans des voies de phagocytose de cellules en apoptose étaient également associées à de l'élagage synaptique chez la drosophile telles que Draper (MEGF10 chez les mammifères) ou CED-6 (GULP chez les mammifères). Ces protéines sont impliquées dans la phagocytose des débris axonaux pendant l'élagage axonal au cours du développement ou encore après une lésion de l'axone (Awasaki et al., 2006; MacDonald et al., 2006; Ziegenfuss et al., 2008; Fuentes-Medel et al., 2009; Logan et al., 2012).

L'élagage synaptique est régulé par une combinaison de différents mécanismes impliquant le contrôle de la force synaptique et de leur maturation et ceci de façon dépendante de l'activité neuronale, une altération du glycocalyx neuronal et un tag des synapses à éliminer par différentes molécules (par ex, celles du complément), suivi de la phagocytose microgliale des éléments pré- et/ou post-synaptiques. A la différence de l'élagage synaptique par simple rétraction des épines ou axones, l'élagage fait par la microglie semble nécessiter plus de temps et d'énergie peut-être dans le but d'ajouter des niveaux de contrôle supplémentaires à un phénomène développemental essentiel à la maturation de la connectivité cérébrale.

On peut imaginer que les deux mécanismes d'élagage co-existent (élagage par rétraction intrinsèque et par la microglie). En effet, chez la Drosophile par exemple, l'élagage développemental se fait par rétraction et fragmentation localisée des dendrites mais également *via* la phagocytose de dendrites taguées par la protéine caspase, réalisée par des phagocytes sanguins (Williams et al., 2005; Williams et al., 2006).

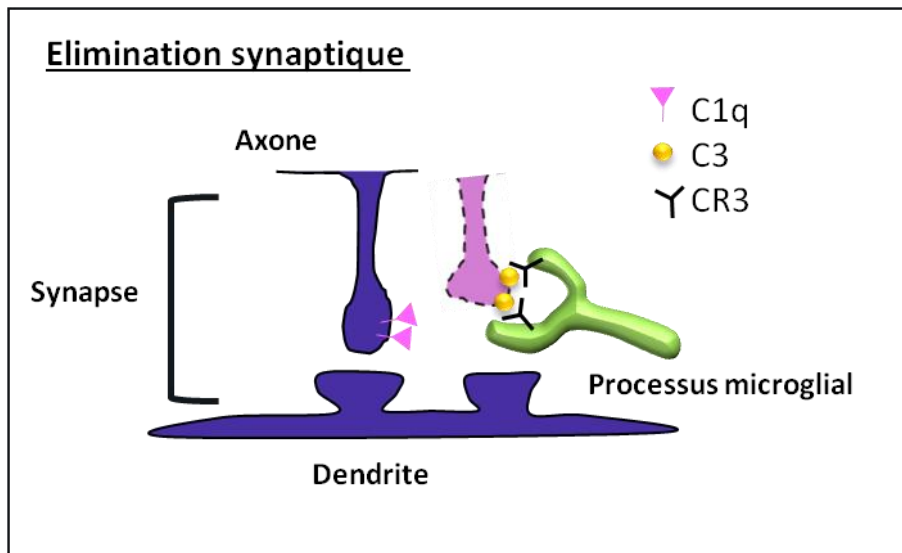


Figure 10 : Elimination synaptique *via* la cascade du complément.

3. Synaptogenèse

La microglie est impliquée dans le processus de création de nouvelles synapses : la synaptogenèse. Dans le cerveau en développement, plusieurs études ont montré que la microglie participe à la régulation de la synaptogenèse. Les cellules microgliales peuvent stimuler la synaptogenèse en sécrétant des thrombospondines (TSPs) par exemple (Chamak et al., 1995; Moller et al., 1996), protéines de la matrice extracellulaire jouant un rôle dans la formation synaptique (Christopherson et al., 2005). L'absence de ces protéines induit une réduction drastique du nombre de synapses formées pendant la période post-natale (Christopherson et al., 2005). TSP1 va interagir avec une protéine associée aux intégrines, CD47 connu pour lier également une protéine régulatrice du signal (SIRP α , signal regulatory protein), protéine transmembranaire exprimée par les neurones et par les macrophages (Matozaki et al., 2009).

En effet, SIRP α et CD47 sont colocalisés au niveau de sites synaptiques dans la rétine (Mi et al., 2000). Une ablation génétique de CD47 résulte en une perte de la localisation de SIRP α suggérant que CD47 est nécessaire au recrutement et à la localisation de SIRP α . Dans des cultures de neurones hippocampaux, SIRP α est localisé au niveau des axones et des dendrites alors que CD47 est restreint aux dendrites (Ohnishi et al., 2005). CD47 active la formation de neurites et l'arborisation des neurones en culture (Murata et al., 2006). La liaison entre SIRP α et CD47 promeut également la formation de filopodium et d'épines (Miyashita et al., 2004).

4. Microglie et Maturation synaptique

L'activité neuronale régule l'élagage et la maturation synaptique (Katz and Shatz, 1996; Sanes et al., 1999; Hua and Smith, 2004; O'Leary et al., 2005; Torborg et al., 2005; Huberman, et al., 2008). La transmission synaptique excitatrice vers les neurones de la corne d'Ammon 1 (CA1) présente un phénotype immature chez les KO CX3CR1 avec une augmentation de la LTD et une diminution de la durée et de la latence de crises épileptiques induites par le pentylentetrazol (PTZ), modèle expérimental d'épilepsie. Ces caractéristiques phénotypiques du KO CX3CR1 suggèrent que les synapses ne sont pas matures et que ces caractéristiques sont associées à un défaut d'élagage synaptique (Paolicelli et al., 2011). Paolicelli montre également que les KO CX3CR1 ne possèdent que peu de microglies dans l'hippocampe post-natal comparé aux souris sauvages du même âge. Dans un contexte pathologique, le récepteur CX3CR1 a la capacité de moduler la microglie en terme de nombre, d'activation et de recrutement sur des sites lésés, en détectant le ligand CX3CL1 exprimé par les neurones lésés (Jung et al., 2000; Cardona, et al., 2006). Dans le cerveau en développement sans inflammation, la fractalkine régulerait donc le nombre de cellules microgliales, son activation et son recrutement vers les synapses.

Des études moins récentes et réalisées *ex vivo* avaient déjà montré le rôle de la microglie dans la maturation des synapses hippocampiques. En effet, sur des tranches d'hippocampe de souris dont le gène KARAP/DAP12 est muté (récepteur transmembranaire exprimé par la microglie et connu pour activer le SII) (Hamerman et al., 2005), la maturation synaptique est altérée (Roumier et al., 2004; Roumier et al., 2008). Les tranches d'hippocampe à PND22 présentaient une augmentation de l'expression de la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA et une diminution de Glur2, sous-unité des récepteurs AMPA, caractéristiques de synapses non matures (Roumier et al., 2004).

IV. Nutrition: Modulateur du système de l'immunité innée cérébrale

La nutrition est un facteur environnemental auquel l'individu est exposé tout au long de sa vie. Certains micronutriments indispensables au fonctionnement de l'organisme font que leur absence ou leur présence en trop faibles quantités dans l'alimentation entraîne des dérégulations sévères pouvant conduire au développement de pathologies. La nutrition lipidique et les acides gras en particulier s'avèrent capital pour des fonctions physiologiques normales d'un individu.

1. Les Acides Gras Polyinsaturés

1.1 Nomenclature, métabolisme

Un acide gras est composé d'une longue chaîne hydrocarbonée terminée par un groupe carboxylique. Les acides gras sont présents en grande quantité dans les systèmes biologiques mais rarement à l'état libre. D'une façon générale, ils sont estérifiés à du glycérol. La très grande majorité des acides gras naturels ont un nombre pair d'atomes de carbone (le plus souvent de 16 à 26) (Ruxton et al., 2007). Il existe trois grandes familles d'acides gras classées selon leur degré d'insaturation (nombre de doubles liaisons éthyléniques) :

- les acides gras saturés, AGS : toutes les liaisons carbone-carbone sont des liaisons covalentes simples)
- les acides monoinsaturés, AGMI : présentant une double liaison.
- Les acides gras polyinsaturés, AGPI : présentant au moins deux doubles liaisons

Les doubles liaisons sont toutes distantes les unes des autres de 3 atomes de carbone et de configuration *cis*.

Le représentant majeur des AGMI est l'acide oléique. Les AGMI peuvent être synthétisés par les mammifères (Simopoulos, 1991). Par opposition, les AGPI présentent plusieurs doubles liaisons.

Les AGPI sont définis par une nomenclature particulière. La nomenclature la plus utilisée est celle des physiologistes. Elle renseigne le nombre d'atomes de carbone, suivi du nombre d'insaturations et enfin la position de la première insaturation à partir de l'extrémité méthyl-terminale (numérotation de type n-X ou ω X) où X correspond au numéro de l'atome de carbone portant la première double liaison. Les AGPI se répartissent en 2 familles :

- Les AGPI n-3, dont la première double liaison est située sur le troisième atome de carbone à partir de l'extrémité méthyle.
- Les AGPI n-6 dont la première double liaison est située sur le sixième atome de carbone à partir de l'extrémité méthyle.

L'acide linoléique (18:2n-6, LA) et l'acide α -linolénique (18:3n-3, ALA) sont les précurseurs des AGPI à longue chaîne des séries respectivement n-6 et n-3. Ce sont des acides gras dits « indispensables » pour les organismes animaux car ces derniers, n'étant pas dotés des enzymes nécessaires à leur biosynthèse, sont dans l'incapacité de les

synthétiser de novo (Holman, 1998; Spector, 1999). En revanche, les organismes animaux peuvent ajouter aux acides gras indispensables des doubles liaisons supplémentaires vers l'extrémité carboxyle (réactions de désaturation) et allonger la chaîne carbonée à cette même extrémité (réactions d'élongation).

Les désaturases vont ajouter des doubles liaisons spécifiquement au niveau du 5^{ème} (delta5-desaturase) et du 6^{ème} (delta6-desaturase) carbone de la chaîne aliphatique depuis le groupement carboxyle, augmentant ainsi le degré d'insaturation. Cette spécificité de sites d'actions des désaturases implique qu'il n'y a pas d'interconversion possible entre les acides gras des séries n-3 et n-6. Les élongases ajoutent deux atomes de carbone du côté du groupement carboxyle augmentant ainsi la longueur de la chaîne. Les étapes de désaturation sont les étapes limitantes de la biosynthèse des acides gras et participent au faible taux de conversion des précurseurs en AGPI à longue chaîne. Comme le LA et l'ALA partagent les mêmes voies enzymatiques pour générer les AGPI à longue chaîne, une compétition existe entre les séries n-3 et n-6 notamment pour la delta6-desaturase qui intervient à deux reprises dans la biosynthèse (Sprecher et al., 1995; Sprecher, 2002; Portolesi et al., 2007). Le foie est le siège principal de ces conversions. C'est l'ensemble des dérivés obtenus, ajoutés aux deux acides gras indispensables, qui constituent les familles n-6 et n-3.

Les principaux dérivés sont l'acide arachidonique (20:4n-6, AA) et l'acide docosapentaénoïque (22 :5 n-6, DPA) pour la famille des n-6, et l'acide eicosapentaénoïque (20:5n-3, EPA) et l'acide docosahexaénoïque (22:6n-3, DHA) pour la famille des n-3 (de Gomez Dumm and Brenner, 1975). Les AGPI sont principalement incorporés dans les membranes cellulaires dont la composition est influencée par l'apport alimentaire. En cas de régime déficient en n-3, la production de DPA augmente afin de compenser (sur le plan structural) la diminution d'incorporation de DHA, le DPA devenant ainsi le marqueur biochimique spécifique d'une déficience en AGPI n-3.

ex: Docosahexaenoic acid (DHA)

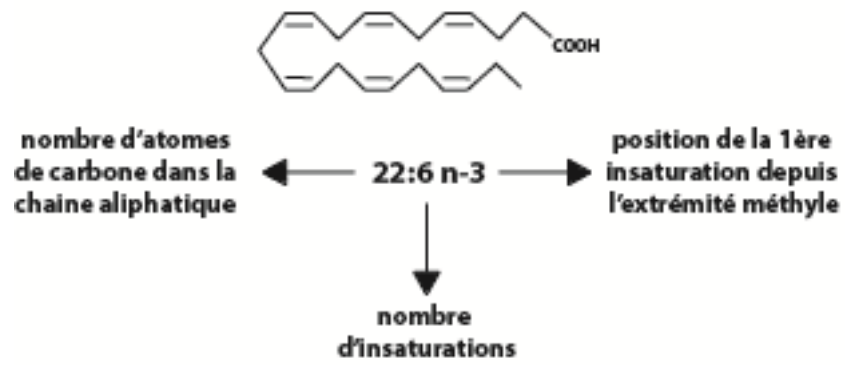


Figure 11 : Nomenclature « oméga », exemple du DHA.

1.2 Recommandations

Par définition, le caractère « indispensable » des deux précurseurs fait que seule l'alimentation est capable d'assurer leur apport. Bien que les AGPI à longue chaîne puissent être synthétisés par l'organisme, le taux de conversion des acides gras indispensables est plus ou moins efficace en fonction de l'état endocrino-métabolique et de la nature du régime alimentaire. C'est pourquoi les apports nutritionnels conseillés préconisent un apport en AGPI n-3 à longue chaîne. Or, dans l'alimentation classique des pays occidentaux industrialisés, on observe un déséquilibre entre AGPI des séries n-6 et n-3 aux dépens des AGPI de la série n-3 dont la consommation est estimée de 12 à 20 fois inférieure à la consommation en AGPI de la série n-6 (Simopoulos, 2002a). Ceci se caractérise en particulier par un apport important en LA, abondant dans de nombreuses huiles (huile de tournesol par exemple), et des apports faibles en ALA, présent dans certains légumes verts, le soja et les noix, et en EPA et DHA, dont la source alimentaire principale est le poisson gras (saumon, maquereau, thon) (James et al., 2000). Un apport élevé en LA associé à un apport faible en ALA se traduit par une accumulation en AGPI de la série n-6, et notamment de l'AA, d'autant plus importante que la compétition entre les deux voies de conversion induit une diminution de la conversion de l'ALA en dérivés supérieurs (EPA et DHA) (Guesnet et al., 1986). Les recommandations alimentaires préconisent ainsi d'une part un ratio LA / ALA proche de 4 et d'autre part un apport en EPA et DHA de 250 mg chacun afin de satisfaire la totalité des besoins de l'organisme en DHA (Burdge, 2004).

1.3 Rôle Structural

Les AGPI sont importants pour le fonctionnement d'un organisme car ils s'incorporent au niveau des phospholipides des membranes cellulaires et ont donc un effet sur leur structure et leurs propriétés physiques (Spector, 1999). De plus, ils modulent au sein des membranes cellulaires l'activité d'un grand nombre d'enzymes, de transporteurs, de récepteurs et de canaux ioniques impliqués dans la signalisation inter- et intracellulaire.

Les AGPI interviennent directement en constituant un microenvironnement peu ordonné et flexible, facilitant ainsi les changements de conformation nécessaire à l'activité de protéines transmembranaires ou indirectement en induisant la ségrégation de microdomaines membranaires plus ordonnés (les rafts), en cholestérol, en sphingolipides et en acides gras saturés (Wassall et al., 2004; Shaikh, 2012). Les rafts sont des radeaux lipidiques auxquels sont associés des complexes protéiques actifs. L'environnement lipidique

des rafts est sensible à tout changement du taux des AGPI dans les membranes (Shaikh, 2012).

L'incorporation des AGPI dans les phospholipides membranaires va conférer à la membrane de nombreuses propriétés. Ils peuvent :

- Moduler la fonction et la structure des rafts ou encore des membranes neuronales, en provoquant des changements de fluidité des membranes (Applegate et al., 1991), modifiant ainsi les fonctions des protéines transmembranaires comme les canaux ioniques, les récepteurs ou encore leurs voies de signalisation (Hyman et al., 1982; Yorek et al., 1983; Yorek et al., 1984; Poling et al., 1995). En effet, plus un acide gras est insaturé, plus il va augmenter la fluidité de la membrane dans laquelle il est incorporé.
- Agir comme ligands directs sur des facteurs de transcription qui vont moduler toute une variété de processus tels que le métabolisme des acides gras, la neurogénèse, la synaptogenèse, la différenciation cellulaire, l'inflammation ou encore le stress oxydatif (Calder, 2012).
- Agir en tant que précurseurs de la biosynthèse de médiateurs lipidiques impliqués dans la régulation de nombreuses réponses cellulaires et tissulaires et en particulier l'inflammation (Calder, 2012).

L'apport alimentaire en AGPI et le ratio n-6/n-3 peuvent donc moduler les mécanismes d'action des AGPI sur les fonctions cellulaires (Calder, 2012).

1.4 Précurseurs de médiateurs lipidiques bioactifs

Sous le contrôle de certains stimuli, les AGPI sont relargués des phospholipides membranaires par l'action de différentes phospholipases telles que la phospholipase A2 cytosolique calcium-dépendante (cPLA2) ou encore la phospholipase A2 sécrétée (sPLA2) (Serhan et al., 1996; Strokina et al., 2003). Par la suite, ils sont métabolisés par les enzymes COX et LOX en de nombreux dérivés lipidiques : les eicosanoïdes, les lipoxines et les docosatriènes. Les eicosanoïdes regroupent les prostaglandines, les thromboxanes synthétisés à partir des AGPI n-6 et n-3 par des COX et les leucotriènes synthétisés à partir des AGPI n-6 et n-3 par les LOX. Les lipoxines sont synthétisées à partir de l'AA par les LOX. Les docosatriènes regroupent les neuroprotectines et les résolvines synthétisées à partir des AGPI n-3 par des LOX.

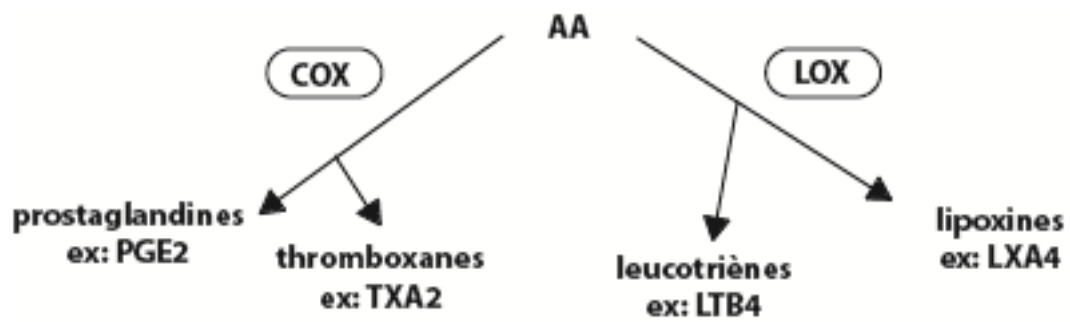


Figure 13 : Médiateurs lipidiques dérivés de l'AA.

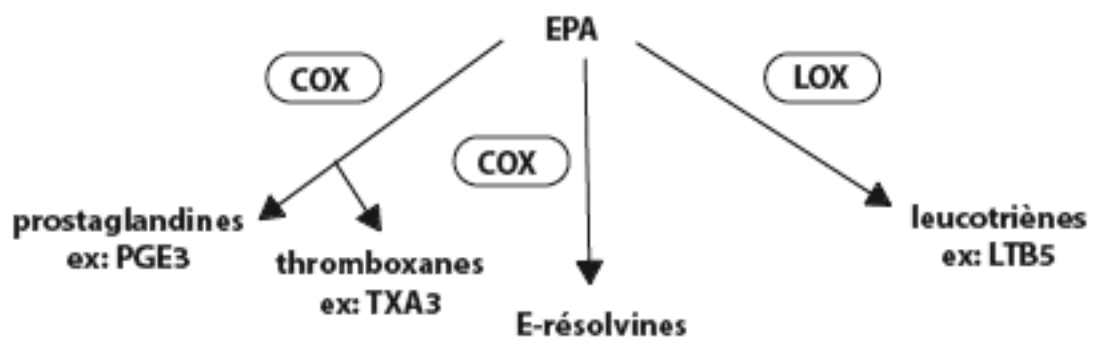


Figure 14 : Médiateurs lipidiques dérivés de l'EPA.

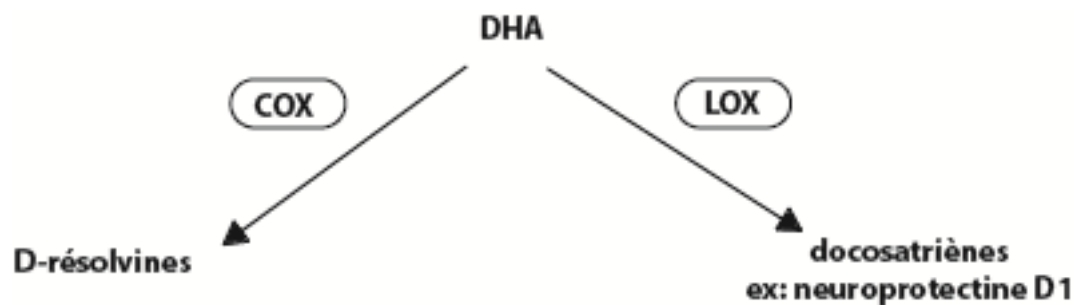


Figure 15 : Médiateurs lipidiques dérivés du DHA.

2. AGPI et SNC

Après le tissu adipeux, le SNC est le deuxième organe le plus riche en lipides. 50 à 60% du poids sec d'un cerveau adulte est constitué de lipides et environ 35% de ces lipides sont des AGPI (Sastry, 1985; Lauritzen et al., 2001). L'AA et le DHA sont les AGPI majoritaires dans les membranes cellulaires du SNC (Carrie et al., 2000; Xiao et al., 2005). Le DHA est préférentiellement incorporé dans les phosphatidyléthanolamines et les phosphatidylsérines (Yorek, et al., 1984; Dudley et al., 1986).

2.1 AGPI et développement du SNC

Apports des AGPI au cerveau au cours de la période périnatale

L'accumulation des AGPI dans les membranes des cellules du SNC est maximale durant la période périnatale (Clandinin et al., 1980; Clandinin, 1999; Green et al., 1999). Des taux suffisants d'AGPI n-3 (EPA et DHA) et n-6 (AA) sont nécessaires pendant la période embryonnaire et la phase juste après la naissance (Wainwright, 2002; Koletzko et al., 2008). Chez l'Homme, l'accumulation de DHA se produit au cours du dernier trimestre de grossesse, période active de neurogenèse et de maturation cellulaire, et également pendant les 2 premières années de vie (Martinez, 1992). Le taux d'incorporation du DHA est estimé à 3mg/j pendant le dernier trimestre de grossesse et à 5 mg/j pendant la période d'allaitement (Cunnane et al., 2000). Les taux d'AGPI du fœtus dépendent de la teneur en AGPI de l'alimentation de la mère. Ainsi une supplémentation en DHA de l'alimentation maternelle au cours de la grossesse entraine des taux de DHA plasmatique plus élevés chez le nouveau-né (Decsi et al., 2005; Krauss-Etschmann et al., 2007). Après la naissance et pendant les 6 premiers mois, les taux d'AGPI du nouveau-né dépendent de la teneur en AGPI du lait (maternel ou artificiel).

L'accumulation de DHA est maximale juste avant le pic de synaptogenèse chez le rat (Green et al., 1999) entre E14 et la naissance pour représenter 10 à 12% des acides gras totaux. Après la naissance, les taux de DHA continuent d'augmenter jusqu'à atteindre un plateau à P21 (sevrage) chez la souris (Green et al., 1996; Green, et al., 1999; Schiefermeier et al., 2002). Cette augmentation périnatale des concentrations corticales de DHA coïncide avec la période dite de « brain growth spurt » ou croissance cérébrale, qui comprend les phases de neurogénèse, de migration et de différenciation de neuroblastes, de synaptogenèse et de myélinisation des axones (Green and Yavin, 1996; Jumpsen et al., 1997; Martinez et al., 1998; Green, et al., 1999).

Une diminution du DHA pendant ces périodes de croissance cérébrale pourrait interférer avec la neurogenèse et la synaptogenèse (Coti Bertrand et al., 2006). En effet, de nombreuses études ont montré *in vitro* et *in vivo* qu'une déficience en DHA altérerait la neurogenèse (Kawakita et al., 2006), le développement et la fonction synaptique (Calderon et al., 2004; Cao et al., 2009; Robson et al., 2010). Cao en particulier a montré qu'une déficience gestationnelle en DHA inhibe la croissance des neurites et la synaptogenèse dans des cultures de neurones hippocampiques (Cao et al., 2009). Au contraire, une supplémentation en DHA restaure la croissance des neurites et la synaptogenèse (Cao et al., 2009). L'arborisation des neurones hippocampiques est diminuée chez des animaux déficients en DHA au sevrage (Ahmad et al., 2002). Une autre étude a montré que le DHA augmente la densité des épines dendritiques dans l'hippocampe (Sakamoto et al., 2007).

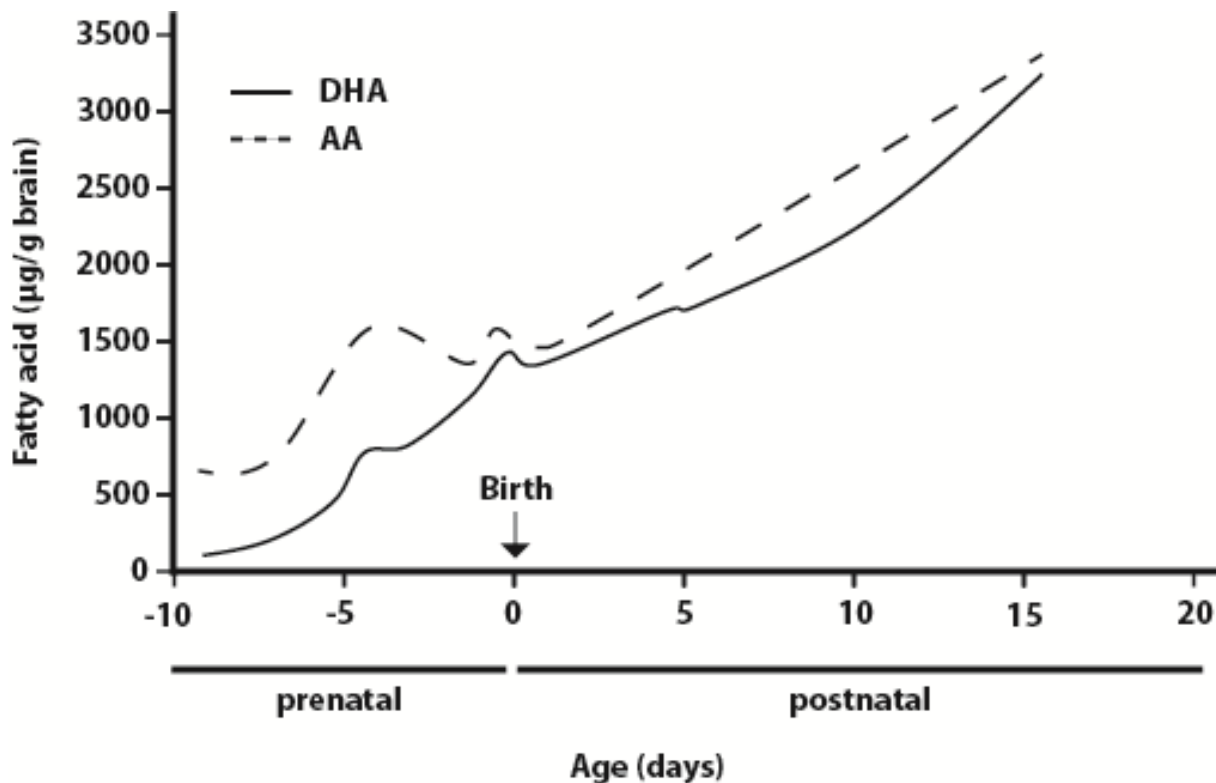


Figure 16 : Accumulation cérébral de DHA et AA au cours du développement cérébral (adapté de Green et al., 1999).

2.2 Rôles des AGPI sur les fonctions cérébrales

Les AGPI à longue chaîne jouent un rôle central dans la physiologie du SNC (Bourre et al., 1991; Crawford, 1993; Tsukada et al., 2000; Uauy et al., 2001). Ils sont biochimiquement impliqués dans le développement cérébral et les structures neuronales et ont des effets variés directs ou indirects sur le SNC.

- ***Neurotransmission***

Les AGPI sont capables de moduler la neurotransmission dépendante des monoamines (dopamine et sérotonine) et de l'acétylcholine (ACh). Ces modulations se font au niveau du transport et du stockage des vésicules des neurotransmetteurs. En effet, une déficience chronique (sur plusieurs générations) en AGPI n-3 chez le rat altère le stockage de la dopamine néosynthétisée (Zimmer et al., 1999) et induit une diminution globale du stock vésiculaire de dopamine (Zimmer et al., 2000). Au contraire, des rats adultes soumis à une supplémentation nutritionnelle en huile de poisson (saumon), dès le premier jour de gestation, présentent une augmentation de 40% du taux de dopamine dans le cortex frontal (Chalon et al., 1998). La neurotransmission sérotoninergique est modulée également puisqu'une déficience en AGPI n-3 induit une augmentation du taux basal de libération de sérotonine mais aussi une diminution de la quantité de sérotonine libérée après stimulation chimique (Kodas et al., 2004; Chalon, 2006). La répartition des récepteurs à la sérotonine est également perturbée par la déficience en AGPI n-3 avec l'augmentation des récepteurs 5-HT₂ dans le cortex frontal (Delion et al., 1994; Chalon, 2006). Concernant la libération d'ACh, elle est plus élevée en situation basale dans l'hippocampe chez des animaux déficients en AGPI n-3 alors qu'elle est plus faible en situation d'induction (Aid et al., 2003). La déficience en AGPI n-3 provoque une diminution de l'expression des récepteurs muscariniques, sans que l'activité de l'acétylcholine estérase et la quantité de transporteurs vésiculaires de l'ACh ne soient modifiées (Aid et al., 2003). Cependant, une supplémentation en DHA rétablit les perturbations de la transmission cholinergique induite par la déficience (Aid et al., 2005).

- ***Plasticité synaptique***

Les AGPI modulent également directement la plasticité synaptique. En effet, l'AA joue un rôle dans la LTP hippocampique (Williams et al., 1989; Bliss et al., 1990). La présence d'inhibiteurs de PLA₂ bloque l'induction de LTP (Lynch et al., 1989). *In vivo*, chez des animaux âgés présentant une diminution du taux d'AA membranaire dans l'hippocampe, la

LTP est atténuée (Lynch et al., 1994) mais est rétablie lors de l'administration d'un régime contenant de l'AA (McGahon et al., 1999).

Le DHA agit également sur l'induction de LTP. En effet, lorsque la PLA2 est bloquée et que du DHA est appliqué sur des tranches de cerveau, la LTP est rétablie (Fujita et al., 2001). Cependant, l'application de DHA seul sans inhibiteur de PLA2, ne modifie pas la neurotransmission basale, ni la LTP ni la LTD (Fujita et al., 2001). *In vivo*, Cao en 2009 a montré que chez des souris issues de mères déficientes en AGPI n-3 pendant la gestation et la lactation, la LTP était altérée (Cao et al., 2009). Cette altération est concomitante à une diminution de l'expression de protéines synaptiques impliquées dans le mécanisme de LTP telles que les sous-unités des récepteurs NMDA au glutamate et certaines synapsines telle que la synapsine 1 impliquée dans le relargage du glutamate (Cao et al., 2009).

L'EPA atténue également une inhibition de la LTP induite après application de LPS sur des tranches de cerveau de rats adultes (Kavanagh et al., 2004). Cependant, cela ne semble pas être un effet direct de l'EPA sur la LTP mais plutôt un effet indirect *via* l'augmentation de cytokines anti-inflammatoires ou de résolvines E qui vont contrer les effets du LPS et donc restaurer la LTP.

Les AGPI peuvent moduler la plasticité synaptique directement mais également indirectement *via* les effets de leurs dérivés lipidiques bioactifs.

- ***AGPI et Troubles cognitifs***

Dans de nombreuses études, une déficience alimentaire en AGPI n-3 a été reliée à certains troubles neurologiques et mentaux chez l'homme (Zhang et al., 2011) mais le rôle de ces lipides reste encore méconnu. La cognition est une fonction cérébrale qui a été étudiée et mise en relation avec les AGPI n-3. Certaines études cliniques restent encore complexes à interpréter dans le sens où certaines études montrent un effet bénéfique des AGPI n-3 et d'autres ne montrent aucun effet sur la cognition. Le statut de base en AGPI est à considérer dans ces études. En effet, il a été montré qu'une déficience en AGPI n-3 avait des effets délétères sur le développement cognitif du cerveau alors qu'une supplémentation alimentaire en AGPI n-3 pouvait être bénéfique (Karr et al., 2011).

Etudes chez l'Homme

Chez l'Homme, l'association entre les performances cognitives et le statut en AGPI a été étudiée en se basant sur des mesures cognitives et soit des analyses d'acides gras

plasmatiques, soit des questionnaires alimentaires. Des études ont montré des effets positifs des AGPI n-3 chez des enfants âgés de 6 à 16 ans (Lassek et al., 2011) alors que d'autres ont rapporté une courbe d'apprentissage plus faible chez l'adulte même si les performances cognitives mesurées après 22 semaines étaient plus élevées (de Groot et al., 2007). Ces différences sont probablement dues au niveau social démographique ou à des différences dans l'évaluation des taux en DHA. Elles révèlent la complexité de ce genre d'études.

Dans la plupart des études interventionnelles chez l'adulte, le DHA est donné sous forme de gélules. Les études menées ont rapporté des résultats mitigés montrant soit un effet positif du DHA sur les performances cognitives (Fontani et al., 2005; McNamara, 2010; Jackson et al., 2012; Stonehouse et al., 2013), soit pas d'effet (Kennedy et al., 2009; Karr et al., 2012; Stough et al., 2012). Ces différences sont attribuées à la dose journalière utilisée, la durée de l'intervention, la source d'AGPI n-3 (principalement EPA ou principalement DHA), l'historique de l'alimentation en AGPI n-3 de la population étudiée et les fonctions cognitives testées.

Etudes chez l'animal

Chez l'animal beaucoup d'études ont été réalisées en commençant la déficience en AGPI n-3 au cours de la période périnatale. Peu d'études se sont consacrées à la déficience en AGPI n-3 chez l'adulte. Les tests cognitifs chez le rongeur ont été réalisés dans le labyrinthe aquatique de Morris (piscine de Morris), dans le labyrinthe circulaire de Barnes mais aussi dans le labyrinthe radiaire, le test de discrimination olfactive et la tâche d'apprentissage d'évitement passif ou actif (Fedorova et al., 2006). Le test de la piscine de Morris est la tâche la plus utilisée pour tester l'apprentissage et la mémoire spatiale chez les rongeurs (Sharma et al., 2010). Dans ce test, l'animal doit trouver une plateforme immergée dans une piscine d'eau et pour cela doit se souvenir de l'endroit de la plateforme grâce à des indices visuels placés à l'extérieur de la piscine. Une différence de performance dans cette tâche indique des altérations des capacités sensorielles, moteurs et/ou motivationnelles de l'animal (Wainwright et al., 1999).

Cependant, les résultats obtenus avec ce test sont contradictoires. L'étude menée par Frances en 1996 montre que des souris déficientes en AGPI n-3 depuis le sevrage sont capables de réaliser un apprentissage spatial, bien que leur performance en fin d'apprentissage soit inférieure à celle des témoins (Frances et al., 1996). Les études menées par Wainwright sur des rats déficients sur trois générations n'ont pas mis en évidence de déficit d'apprentissage dans ce test (Wainwright et al., 1994). Aucune différence non plus n'est retrouvée même si les rats sont nourris avec des taux différents d'AA et de

DHA (Wainwright et al., 1999). Cependant, Moriguchi en 2000 montre qu'une diminution du taux cérébral de DHA s'accompagne d'une diminution des performances d'apprentissage chez des rats déficients en AGPI n-3 sur trois générations (Moriguchi et al., 2000). En 2003, Moriguchi et Salem montrent que lorsqu'ils soumettent des rats déficients depuis trois générations à un régime contenant des quantités adéquates d'ALA et de DHA dès la naissance ou le sevrage ou à l'âge de 7 semaines, cela restaure les performances d'apprentissage spatial de manière équivalente aux témoins sauf pour les rats âgés de 7 semaines (Moriguchi et al., 2003b).

Une déplétion nutritionnelle en AGPI n-3 si elle est compensée par la présence d'AGPI n-6 n'affecte pas le développement et la croissance de l'animal en général. Elle entraîne une diminution des taux cérébraux de DHA et ceci de manière spécifique (le cortex frontal et l'hippocampe étant des structures plus vulnérables) et une augmentation des taux d'acide docosapentaénoïque (22:5, n-6, DPA) dans les membranes cellulaires du SNC pour compenser la perte de DHA (Delion et al., 1997; Chalon, 2006; Fedorova and Salem, 2006; Levant et al., 2007; Chung et al., 2008). Cependant, le DPA ne peut pas remplacer le DHA dans son rôle de mise en place des performances cognitives bien que ces acides gras ne diffèrent seulement que par une seule double liaison (Lim et al., 2005a; Fedorova and Salem, 2006). En effet, Lim en 2005, dans deux études, montre qu'un déficit d'apprentissage spatial chez des rats déficients en AGPI n-3 dès la naissance est associé à une diminution du DHA et à une augmentation du DPA n-6 dans le cerveau (Lim, et al., 2005a; Lim et al., 2005b). Ceci souligne l'importance de l'apport en AGPI n-3 durant la période périnatale dans l'incorporation du DHA cérébral et son impact sur les performances cognitives.

Carrié en 2000 a montré qu'une supplémentation en AGPI n-3 pendant la gestation et la lactation chez les mères n'affectait pas les performances d'apprentissage spatial chez les descendants mais améliorait leur mémoire spatiale mesurée à l'aide de la piscine de Morris (Carrié et al., 2000). Un des désavantages de la piscine de Morris est que le stress provoqué par l'eau peut interférer avec les performances mnésiques. Les AGPI n-3 ajoutés au régime alimentaire pourraient donc diminuer le stress et améliorer indirectement les capacités cognitives. D'autres équipes ont montré que la supplémentation en AGPI n-3 n'avait pas d'effet sur la cognition (Wainwright, et al., 1999; Carrie, et al., 2000; Coluccia et al., 2009). Les effets d'une supplémentation sont visibles lorsque les animaux sont déficients en AGPI n-3 à la base.

Les différences d'efficacité d'une supplémentation en DHA sur les déficits cognitifs s'expliqueraient en partie par les taux de DHA du cerveau avant la supplémentation, l'âge à

partir duquel la supplémentation est mise en place, la durée de la supplémentation, l'âge de l'animal au moment du test cognitif.

L'effet d'un régime enrichi en EPA ou en DHA (sous forme d'éthyl-EPA ou éthyl-DHA) a été comparé à l'effet d'un régime déficient en AGPI n-3 sur la mémoire. L'administration chronique d'éthyl-EPA n'améliorait pas la mémoire chez le rat (Song et al., 2004; Song et al., 2009; Taepavarapruk et al., 2010). Cependant elle atténuait les effets d'une injection cérébrale d'IL-1 β sur la mémoire spatiale en diminuant l'inflammation et réduisant la libération d'Ach. Luchtman et al (2012) ont montré chez la souris que l'éthyl-EPA augmentait seulement les taux d'EPA et de DPA des tissus mais pas du DHA alors que Kelly et al (2011) ont montré chez le rat que l'administration d'éthyl-EPA augmentait les taux corticaux de DPA et de DHA (Kelly et al., 2011; Luchtman et al., 2012). Il n'est donc pas clair si l'EPA joue un rôle en agissant sur l'incorporation du DHA dans le cerveau ou si l'EPA diminue l'inflammation par l'intermédiaire des médiateurs lipidiques synthétisés à partir de l'EPA.

3. Propriétés immunomodulatrices des AGPI

3.1 Effets anti-inflammatoires des AGPI

Etudes chez l'Homme

Les premières données suggérant des propriétés immunomodulatrices pour les AGPI proviennent d'observations épidémiologiques rapportant une faible incidence de maladies inflammatoires telles que le psoriasis et l'asthme ainsi que l'absence de scléroses en plaque au sein d'une population d'esquimaux du Groenland, qui ont un apport alimentaire en AGPI n-3 élevé de par leur consommation de poisson (Dyerberg et al., 1979; Kromann et al., 1980). De nombreuses études cliniques ont depuis rapporté un effet bénéfique de la supplémentation nutritionnelle en AGPI n-3 dans plusieurs pathologies inflammatoires chroniques et autoimmunes (Simopoulos, 2002b; Yaqoob et al., 2003). La supplémentation nutritionnelle avec de l'huile de poisson riche en EPA et DHA entraîne une amélioration des symptômes chez les patients atteints d'arthrite rhumatoïde associée à la diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires tel que l'IL-1 β par les monocytes sanguins (Kremer et al., 1990; James et al., 1997; Kremer, 2000) ainsi que chez des patients atteints de maladies chroniques inflammatoires intestinales (Belluzzi et al., 1996; Nieto et al., 2002) et les patients atteints de sclérose en plaque (Stewart et al., 2005; Weinstock-Guttman et al., 2005).

Une étude réalisée chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer a montré qu'une supplémentation nutritionnelle en AGPI n-3 réduisait les perturbations cognitives engendrées par la maladie mais n'affectait pas leurs taux de cytokines pro-inflammatoires dans le liquide cérébro-spinal (Freund-Levi et al., 2006). Cependant, dans cette étude, la production de cytokines pro-inflammatoires par des monocytes sanguins périphériques était diminuée chez les patients recevant les AGPI n-3 (Vedin et al., 2008). Sur des cellules dendritiques, le DHA et l'EPA réduisent les niveaux d'expression de marqueurs inflammatoires tel que le CD40, CD86 ou encore CMHII qui sont associés à un phénotype de microglie activée (Draper et al., 2011).

Etudes chez l'animal

Des études interventionnelles visant à évaluer l'impact des propriétés immunomodulatrices des AGPI ont été menées chez l'animal. Ebert montre qu'une microglie activée est associée à une diminution des taux de DHA dans la rétine dans un modèle murin de dégénérescence rétinienne (Ebert et al., 2009). Une intervention nutritionnelle avec un régime enrichi en DHA permet une diminution de l'activation microgliale et une diminution de l'expression de facteurs inflammatoires. Dans un modèle murin d'ischémie, un pré-traitement avec du DHA diminue les dommages neuronaux, l'activation microgliale et les taux d'IL-1 β (Lalancette-Hebert et al., 2011). Les concentrations circulantes d'IL-1 β , de TNF- α et d'IL6 suite à l'injection de LPS sont plus faibles chez des rats et souris soumis à un régime enrichi en huile de poisson et ceci par rapport à ceux consommant un régime enrichi en AGPI n-6 (Vreden et al., 1995; Sadeghi et al., 1999).

Etudes in vitro

La majorité des études montrent que l'EPA et le DHA ont un effet inhibiteur sur la sécrétion de cytokines. L'incubation de macrophages en culture avec de l'EPA ou une émulsion lipidique riche en AGPI n-3 diminue la production de TNF- α et inhibe l'activation de la voie NF κ B induite par le LPS (Lo et al., 1999; Lo et al., 2000; Babcock et al., 2002; Novak et al., 2003). *In vitro*, sur des cultures de lignées de cellules microgliales embryonnaires humaines, Freund-Levi a montré que le DHA a un effet inhibiteur sur la sécrétion d'IL-1 β , d'IL-8, d'IL-12 et d'IL-13 en diminuant donc les cytokines pro- et anti-inflammatoires (Freund-Levi et al., 2009). Cependant, la sécrétion d'IL-6 après stimulation des cultures avec de l'IL-1 β n'est pas affectée par le DHA. Au contraire, une étude sur une lignée de cellules microgliales murines, les BV2, montre que le DHA diminue la sécrétion d'IL-6, de TNF- α et d'IL-1 β induite par du LPS (De Smedt-Peyrusse et al., 2008; Lu et al., 2010). Une autre étude sur les BV2 a montré que l'EPA réduit la sécrétion d'IL-6 et d'autres cytokines pro-

inflammatoires après LPS (Moon et al., 2007). Sur une culture de lignée d'astrocytes de rat, l'EPA réduit également la sécrétion d'IL-6 stimulée par de l'IL-1 β (Kawashima et al., 2008). Un traitement avec du DHA et de l'EPA de cellules dendritiques, qui partagent des caractéristiques communes avec la microglie, entraîne la suppression de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telle que l'IL-12 après stimulation avec du LPS alors que l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 est augmentée (Draper et al., 2011). D'autres paramètres sont affectés par une supplémentation en AGPI n-3. Sur des cellules microgliales BV2 en culture, après stimulation au LPS, le DHA et l'EPA diminuent les taux de l'enzyme inductible de synthèse du NO et de COX2 qui sont des enzymes associées à une augmentation du stress oxydatif (Wang et al., 2010).

Effets sur la phagocytose

Le processus de phagocytose est également modulé par les AGPI n-3. En effet, certaines études ont montré chez l'Homme qu'une supplémentation avec de l'huile de poisson augmentait la phagocytose au niveau des monocytes sanguins isolés *ex vivo* (Gorjao et al., 2006). Cependant, certaines études montrent également qu'il n'y a pas d'effets (Halvorsen et al., 1997). Récemment, il a été montré sur des cultures de lignée de cellules microgliales humaines, que l'ajout d'EPA et de DHA stimulait la phagocytose microgliale du peptide A β tout en réduisant les taux de TNF- α et des marqueurs inflammatoires CD40 et CD86 et en augmentant l'expression de marqueurs de type M2 tel que le CD206 (Hjorth et al., 2013). Chez l'animal, un effet positif des AGPI n-3 a été montré sur la phagocytose. Par exemple, des souris nourries avec un régime enrichi en DHA présentaient une augmentation de la phagocytose par les monocytes et les neutrophiles (Kew et al., 2003).

3.2 Mécanismes directs d'immunomodulation des AGPI : régulation génique.

Les actions de modulation de l'inflammation observées avec les AGPI peuvent être médiées par des facteurs de transcription, activés par les AGPI eux-mêmes ou par les médiateurs lipidiques synthétisés à partir de ceux-ci ou par les récepteurs des AGPI.

- ***Via l'activation de PPAR***

Les AGPI et certains de leurs métabolites peuvent réguler l'expression génique en se fixant à des membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. En particulier, les PPAR (peroxisome proliferator activated receptor), les LXR (liver X receptor) et les RXR (retinoid X

receptor) sont des facteurs de transcription impliqués principalement dans la régulation du métabolisme lipidique et l'inflammation (Desvergne et al., 1999; Jump, 2002). Les PPAR se fixent à l'ADN après avoir formé un hétérodimère avec RXR (Desvergne and Wahli, 1999). Plusieurs ligands de PPAR α et PPAR γ inhibent la transcription de gènes de l'IL-1 β , du TNF- α , de l'IL-6 et de COX-2 en diminuant notamment l'activation de la voie NF κ B (Jiang et al., 1998; Poynter et al., 1998; Ricote et al., 1998; Draper, et al., 2011). De plus, des souris déficientes pour le gène PPAR α présentent une réponse inflammatoire prolongée, suggérant un effet anti-inflammatoire de PPAR α (Devchand et al., 1996). Le DHA compte parmi les ligands de PPAR α (Lin et al., 1999). L'EPA peut se fixer à tous les membres de la famille PPAR (Xu et al., 1999; Jump, 2002). Les effets anti-inflammatoires et de régulation du métabolisme lipidique des AGPI n-3 pourraient donc impliquer leur fixation sur ces récepteurs nucléaires.

- ***Via leur fixation sur les GPR***

Les AGPI peuvent également se lier à leur famille de récepteurs : les GPCR. En effet, GPR40 reconnaît le LA (Briscoe et al., 2003). GPR120 reconnaît quant à lui l'EPA et le DHA (Hirasawa et al., 2005; Oh et al., 2010; Oh et al., 2011). GPR120 est présent dans de nombreuses cellules de l'organisme et notamment dans les macrophages, les cellules dendritiques et les adipocytes (Miyauchi et al., 2009). En utilisant une souris déficiente pour le gène GPR120, Oh a cherché à comprendre le mécanisme d'action anti-inflammatoire des AGPI n-3 (Oh et al., 2010). Il suggère que l'activation de GPR120 par le DHA se fait *via* TAB1 qui inhiberait TAK1 appartenant à la voie du TLR4 induite par le LPS, ce qui aurait pour but d'inhiber la voie de transduction en aval soit NF κ B et JNK dans les macrophages et les cellules dendritiques.

3.3 Effets immunomodulateurs des médiateurs lipidiques synthétisés à parti des AGPI

L'AA est le substrat principal pour la synthèse des eicosanoïdes produit par les enzymes, cyclooxygénase (COX), lipoxygénase (LOX) et la voie du cytochrome P450 (Smith et al., 1991). Comme l'AA, l'EPA est un substrat pour la synthèse des eicosanoïdes (Yerram et al., 1989) et il est en compétition avec l'AA pour les mêmes enzymes (Yerram, et al., 1989; Williard et al., 1998). Le DHA et l'EPA sont connus pour être métabolisés en dérivés lipidiques telles que les neuroprotectines et les résolvines (Serhan et al., 2004).

Ces dérivés lipidiques de l'AA, EPA et DHA sont bioactifs dans les cellules.

- **Effets immunomodulateurs des eicosanoïdes**

Les eicosanoides sont reconnus comme étant des médiateurs clés et des régulateurs de l'inflammation (Lewis, 1990; Kroetz et al., 2002). Ce sont des composés oxygénés de 20 atomes de carbone et comprennent les prostaglandines (PG), les thromboxanes, leucotriènes et une variété d'acides gras hydroxy ou hydroperoxydés (Wainwright et al., 1997). Bien que l'AA soit l'acide gras majeur précurseur des eicosanoides, ceux-ci peuvent également dérivés de l'acide dihomog- γ -linolénique (20:3n-6) et de l'EPA et seront mentionnés respectivement comme eicosanoides de séries 1 (20:3 n-6), séries 2 (AA) et séries 3 (EPA).

Les eicosanoïdes diffèrent dans leurs propriétés fonctionnelles. Leur production peut être directement modulée par des changements qualitatifs et quantitatifs des apports alimentaires en AGPI n-6 et n-3 (Kinsella et al., 1990). Les eicosanoides sont également impliqués comme molécules clés dans les réponses physiologiques de l'organisme et notamment la réaction inflammatoire et dans la régulation génique.

Dérivés de l'AA

Il existe 2 formes de COX : COX1 est exprimée de façon constitutive dans l'organisme (Farooqui et al., 2006; Phillis, et al., 2006) alors que COX2 est une enzyme inductible en conditions stressantes telle qu'une situation inflammatoire (Farooqui et al., 2006 ; Phillis et al., 2006). COX2 induite en situation inflammatoire va générer à partir de l'AA des prostaglandines de la série 2 parmi lesquelles la prostaglandine E2 (PGE2) (Smith et al., 1996; Dubois et al., 1998). La PGE2 possède de nombreux effets pro-inflammatoires tels que l'induction de fièvre, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la vasodilatation ainsi que l'augmentation de la douleur et des oedèmes (Tilley et al., 2001; Rocca et al., 2002). Elle induit également la production d'IL-6 par les macrophages (Hinson et al., 1996; Williams et al., 1997). En regard de ces propriétés pro-inflammatoires, la PGE2 inhibe la production d'IL-1, d'IFN- γ , IL-2 et IL-12 (Knudsen et al., 1986; Santoli et al., 1989; Santoli et al., 1990; Bagga et al., 2003).

Un régime supplémenté en AA pendant 7 semaines chez des patients sains résulte en une augmentation de la production de PGE2 et de leucotriène B4 par des monocytes sanguins après stimulation avec un challenge immun (Kelley et al., 1998). Cependant, la production de TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6 n'est pas modifiée (Kelley et al., 1998).

Les propriétés anti-inflammatoires d'un autre médiateur lipidique dérivé de l'AA ont été mises en évidence : il s'agit de la lipoxine A4. Les lipoxines sont les premiers médiateurs connus à avoir des effets anti-inflammatoires et sont impliquées dans la résolution de

l'inflammation (Levy et al., 2001; Serhan, 2001; Serhan and Levy, 2003). Les lipoxines sont biosynthétisées par l'action de lipoxygénases.

Dérivés de l'EPA

Les eicosanoïdes issus de l'EPA partagent les mêmes récepteurs que ceux issus de l'AA, ils agissent donc en compétition. Or les eicosanoïdes issus de l'EPA, en particulier les PG et TX de la série 3 et les leucotriènes de la série 5 sont biologiquement moins actifs que ceux issus de l'AA (Calder, 2012). Par exemple la PGE3 est beaucoup moins efficace que la PGE2 pour induire la synthèse d'IL-6 et de COX-2 dans les macrophages (Bagga et al, 2003). Ainsi les eicosanoïdes issus de l'EPA antagonisent ceux synthétisés à partir de l'AA. De plus, l'EPA possède la propriété d'inhiber la production d'eicosanoïdes issus de l'AA, en tant qu'inhibiteur compétitif pour les enzymes impliquées (Calder, 2012).

- ***Effets immunomodulateurs impliqués dans la résolution de l'inflammation***

Les médiateurs lipidiques synthétisés à partir des AGPI n-3 tels que la résolvine D1 (RvD1), la neuroprotectine D1 et la résolvine E1 (RvE1) et à partir des AGPI n-6 tel que la lipoxine A4 (LxA4) sont impliqués dans la résolution de l'inflammation. La synthèse des résolvines, de la série E à partir de l'EPA et de la série D à partir du DHA, et de la neuroprotectine D1 à partir du DHA impliquent également les COX et les LOX (Serhan et al., 2000; Serhan et al., 2002; Serhan, 2008). Il a été montré chez les rongeurs que la synthèse des résolvines est augmentée par la consommation de régimes riches en huile de poisson (Hong et al., 2003).

Ces dérivés sont impliqués dans la résolution de l'inflammation, phase cruciale permettant d'aboutir à la phase de production de cytokines anti-inflammatoires et à la diminution de cytokines pro-inflammatoires (Maderna et al., 2009). Quelques études ont montré les effets anti-inflammatoires de ces molécules lors d'inflammation périphérique dans des modèles d'asthme allergique chez la souris, de péritonite ou d'ischémie rénale (Maderna and Godson, 2009; Ji et al., 2011). Ces médiateurs lipidiques inhibent la migration transendothéliale des neutrophiles, prévenant ainsi l'infiltration des neutrophiles vers les sites d'inflammation, mais recrutent aussi des macrophages, permettant d'éliminer les cellules apoptotiques et les débris inflammatoires. A des concentrations nanomolaires, la RvE1 inhibe la libération des cytokines pro-inflammatoires (Ishida et al., 2010). La résolvine

D1 inhibe également la production d'IL-1 β et la neuroprotectine D1 inhibe la production d'IL-1 β et de TNF- α (Serhan, et al., 2000; Serhan, et al., 2002; Serhan, 2008). Les résolvines réduisent l'inflammation et protègent de l'inflammation dans les modèles animaux d'arthrite (Lima-Garcia et al., 2011), de colite (Arita et al., 2005) et d'asthme (Aoki et al., 2008; Haworth et al., 2008). Les résolvines exercent leurs effets en bloquant l'activation de NF- κ B. La neuroprotectine D1 inhibe quand à elle la production d'IL-1 β par les cellules gliales stimulées et l'infiltration leucocytaire dans le tissu cérébral (Hong, et al., 2003; Marcheselli et al., 2003). Ces molécules sont considérées comme des agents thérapeutiques de choix dans le traitement de pathologies inflammatoires (Ishida et al, 2010 ; Wang et al, 2011). Elles participent à l'homéostasie du système de l'immunité innée cérébrale.

- ***Effets immunomodulateurs des endocannabinoïdes***

Les endocannabinoïdes (eCB) forment un groupe de médiateurs lipidiques connus pour leurs effets biologiques. Les deux principaux eCB caractérisés sont dérivés de l'AA: l'arachidonylethanolamide (anandamide, AEA) et le 2-arachidonylglycerol (2-AG) (Devane et al., 1992; Mechoulam et al., 1995). De nombreuses études soulignent le rôle important des eCB dans la modulation de l'inflammation. En effet, la stimulation des cellules immunes par du LPS augmente les teneurs en eCB et en enzymes de dégradation de ces composés. De plus, des agonistes aux eCB modifient la fonction immune *in vitro* et *in vivo*. Les effets anti-inflammatoires des eCB sont complexes et impliquent la modulation de cytokines (TNF- α , IL-12, IL-1, IL-6 et IL-10) et la production de chemokines (CCL2, CCL5, CXCL8 and CXCL10), l'expression de molécules d'adhésion (ICAM-1) et la migration, la prolifération et l'apoptose des cellules inflammatoires *via* l'activation des récepteurs CB2 (Pacher et al., 2006; Sugiura et al., 2006). Facchinetti et al (2003) ont montré que les eCB (AEA et 2-AG) diminuent l'expression du TNF- α dans des cultures de cellules microgliales de souris activées par du LPS (Facchinetti et al., 2003).

La concentration cérébrale en eCB est dépendante de l'apport alimentaire en AGPI. Ainsi, la consommation d'AGPI n-3 à longue chaîne sous la forme d'huile de poisson modifie la balance n-6/n-3 et a donc une répercussion sur la synthèse des eCB au niveau cérébral. En effet, un régime riche en AA pendant une semaine conduit à une augmentation significative des teneurs en eCB dans le cerveau de rat adulte (Artmann et al., 2008). L'équipe de Berger a mené une étude chez les animaux nouveaux-nés (Berger et al., 2001). Une formule en lait maternisé déficiente en AA et DHA induit une diminution des teneurs d'AEA et de 2-AG dans le cerveau chez le porcelet alors qu'un régime riche en AA induit une

augmentation des teneurs d'AEA dans le cerveau chez la souris en cours de développement (Berger et al., 2001). Parallèlement, Watanabe et al (2003) ont montré qu'un régime riche en DHA administré pendant 6 semaines chez la souris au cours du développement induit une diminution des teneurs en 2-AG dans le cerveau. Le DHA aurait un effet inhibiteur sur la synthèse de 2-AG dans le cerveau (Watanabe et al., 2003).

OBJECTIFS

La microglie est la composante cellulaire principale du système de l'immunité innée du cerveau. Au delà de son rôle clé dans les réponses immunitaires au sein du SNC, la microglie contrôle aussi les fonctions neuronales à l'état quiescent et est neuroprotectrice. Des données récentes ont révélé son implication dans la maturation des réseaux neuronaux au cours du développement post-natal. En situation pathologique, la microglie s'active : ce processus implique des modifications de propriétés pharmacologiques, de motilité, des modifications des interactions avec les neurones et de l'activation de l'activité de phagocytose. Il n'existe pas un seul état d'activation en situation pathologique, la microglie pouvant adopter différents phénotypes en fonction de la nature et de la durée du stimulus avec des propriétés bénéfiques ou, au contraire, délétère pour les neurones. Les phénotypes adoptés par les cellules microgliales et leurs conséquences sur la physiologie neuronale en situation physiopathologique restent peu étudiés.

L'objectif général de cette thèse a été d'étudier les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales *in vivo* dans deux situations physiopathologiques, une inflammation induite par l'administration périphérique de lipopolysaccharide (LPS) et une déficience en AGPI n-3. La première étude nous a permis en outre 1) de développer des outils nécessaires à l'étude de la plasticité morphofonctionnelle de la microglie et 2) d'apporter de nouveaux éléments de compréhension de l'impact d'une inflammation périphérique sur l'activité de ces cellules *in vivo*. Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons montré pour la première fois que le statut alimentaire maternel en AGPI n-3 influence les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales au cours du développement post-natal ainsi que la formation des réseaux neuronaux.

De façon générale, nos résultats apportent des éléments de compréhension des relations entre plasticité morphologique et fonctionnelle des cellules microgliales *in vivo*.

Objectif 1 : Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide

La physiologie de la microglie est complexe. Ainsi, dans le cerveau sain, la microglie au repos est hautement dynamique et surveille continuellement son environnement moléculaire (pour revue, Wake et al., 2013). De plus des données *in vitro* montrent que la microglie peut acquérir, comme les macrophages, différents phénotypes qui s'accompagnent de fonctions spécifiques comme la production de cytokines, la phagocytose ou la présentation d'antigènes (Garden and Moller, 2006). Dans ce travail, nous avons évalué

l'impact d'une stimulation immunitaire périphérique sur les caractéristiques morphofonctionnelles (motilité et phénotype) des cellules

L'administration périphérique de LPS, l'endotoxine des bactéries gram négatif, est un modèle d'inflammation périphérique dont l'impact sur la production de cytokines inflammatoires par les cellules microgliales est bien décrit (VanDam et al., 1992). Cependant, l'impact de ce stimulus immunitaire sur les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales est peu connu. L'objectif de ce travail a été d'étudier les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales *in vivo* en utilisant des approches multiples d'imagerie biphotonique pour mesurer la motilité et de FACS pour étudier les phénotypes.

Des souris C57bl/6J ont reçu par voie d'administration intrapéritonéale (IP) une solution de NaCl ou de LPS (125µg/kg) connue pour provoquer la synthèse de cytokines inflammatoires à la périphérie et dans le cerveau (Layé et al., 1994). Deux heures après l'injection, 1) l'expression des cytokines (IL-6, IL-1β, TNF-α, IL-10 et IFNγ) a été mesurée dans l'hippocampe par multiplex, 2) le phénotype microglial a été mesuré en cytométrie de flux, 3) la motilité et la morphologie des cellules microgliales dans l'hippocampe a été évaluée par microscopie biphotonique et confocale respectivement.

Objectif 2 : Dietary n-3 PUFA deficiency alters microglia phagocytic activity and spine density during brain development

La consommation de régimes alimentaires déséquilibrés en AGPI n-3 représente un facteur de risque pour le développement de troubles cognitifs. Cependant les mécanismes d'action impliqués sont peu connus. Le cerveau semble particulièrement vulnérable à un déficit en AGPI n-3 lors de son développement. En effet, l'accumulation du principal AGPI n-3, l'acide docosahexaénoïque (DHA) dans le tissu cérébral commence au cours du dernier trimestre de grossesse et se poursuit pendant les 2 premières années de vie chez l'Homme (Martinez, 1992). Le statut nutritionnel maternel en AGPI n-3 au cours la grossesse et l'allaitement conditionne l'incorporation du DHA dans le cerveau du fœtus et du nouveau-né qui ne synthétise pas les AGPI n-3. De plus, les taux de DHA dans le sang et le lait maternel dépendent de la consommation en AGPI n-3, le DHA étant transféré principalement du sang maternel au fœtus et du lait maternel au nouveau-né de façon dose dépendante (pour revue McNamara et Carlson, 2006). Les AGPI sont de puissants régulateurs de la neuroinflammation et des activités microgliales (De Smedt-Peyrusse et al., 2008 ; Mingam et al., 2008 ; Labrousse et al., 2012 ; McNamara et al., 2010). Des travaux réalisés au laboratoire montrent que la consommation de diètes pauvres en AGPI n-3 depuis le premier

jour de gestation diminuent de moitié les taux de DHA cérébraux chez la souris et s'accompagne d'altération de la mémoire spatiale (Mingam et al, 2008 ; Moranis et al., 2012 ; Lafourcade et al., 2011). L'ensemble de ces données nous a conduit à proposer que la diminution de DHA dans le cerveau en développement modifie la plasticité morphofonctionnelle des cellules microgliales et, en conséquence, la plasticité synaptique et la cognition

Pour tester cette hypothèse des souris CD1 ont été nourries, dès le 1^{er} jour de gestation, soit avec un régime alimentaire équilibré (ratio n-6/n-3 proche de 4) soit avec un régime alimentaire déficient en AGPI n-3. Nous avons évalué les effets des différents régimes sur la composante neuronale et microgliale chez la descendance au sevrage (PND21) et à l'âge adulte.

OBJECTIVES

Microglial cells are the main cellular component of the brain innate immune system. In addition to their key role in immune responses within the CNS, microglia in the quiescent state are neuroprotective and control neuronal functions. Recent data revealed that they are also involved in the maturation of neural networks during post-natal development. Microglia are activated in pathological conditions: this process involves changes in pharmacological properties, in motility and in interactions with neurons, as well as an activation of the phagocytic activity. There are different states of activation in pathological conditions. Indeed microglia can adopt different phenotypes depending on the nature and the duration of the stimulus and their activation can either be beneficial or harmful to neurons. However, different phenotypes of activated microglia and their effects on neuronal physiology and in pathophysiological conditions remain poorly understood.

The main goal of this thesis was to study the morphofunctional properties of microglial cells *in vivo* in two pathophysiological states: a peripheral inflammation induced by a peripheral injection of lipopolysaccharide (LPS) and in an n-3 PUFAs deficient nutritional state. In the first study, we 1) developed tools to investigate microglial morphofunctional plasticity and 2) gained a better understanding of the impact of peripheral inflammation on the activity of these cells *in vivo*. In the second part of this thesis, we showed for the first time that maternal nutritional status in n-3 PUFAs affect the morphofunctional properties of microglial cells and the establishment of neural circuits during the postnatal development of the pups.

Overall, our results provide new insights in the relationship between morphological and functional plasticity of microglial cells *in vivo*.

Objective 1: Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide

Physiology of microglia is complex. In the healthy brain, microglia at “resting” state is highly dynamic and continuously monitors its molecular environment (for review, Wake et al., 2013). *In vitro* data showed that, as macrophages, microglia can acquire different phenotypes that are associated with specific functions such as cytokine production, phagocytosis and antigen presentation (Garden and Moller , 2006). Here, we assessed the consequences of a peripheral immune stimulation on the morphofunctional characteristics (motility and phenotype) of the microglial cells.

Microglial production of inflammatory cytokines in response to peripheral inflammation induced by administration of gram-negative endotoxins, LPS, has been well described (VanDam et al., 1992). However, the impact of this immune stimulus on the morphofunctional

properties of microglial cells is still unknown. The aim of this work was to study the morphofunctional properties of microglial cells *in vivo* using multiple approaches such as two-photon imaging to measure cellular motility or FACS to study phenotypes.

C57BL/6J mice were injected intraperitoneally (ip) with NaCl, as a control, or with LPS (125µg/kg), known to induce synthesis of inflammatory cytokines both at the periphery and in the brain (Layé et al., 1994). Two hours after injection, we investigated 1) the level of expression of different cytokines (IL- 6, IL- 1 β , TNF- α , IL-10 and IFN γ) in the hippocampus by multiplex , 2) microglia phenotype by flow cytometry and 3) motility and morphology of microglial cells in the hippocampus by two-photon and confocal microscopy , respectively.

Objective 2 : Perinatal DHA deficiency impairs microglial morphofunctionality with long term brain consequences.

Consumption of unbalanced diets in n-3 PUFAs is a risk factor for development of cognitive impairments, but mechanisms involved are poorly understood. The brain is particularly vulnerable to deficit in n-3 PUFAs during brain development. Indeed, the accumulation of docosahexaenoic acid (DHA), the main n-3 PUFAs, in brain tissue begins during the last trimester of pregnancy and continues through the first 2 years of life in humans (Martinez, 1992). The nutritional status in n-3 PUFAs during pregnancy and lactation affects the incorporation of DHA in the foetal brain that does not synthesize n-3 PUFAs. In addition, DHA levels in the blood and breast milk depends on the consumption of n-3 PUFAs and DHA is transferred primarily from maternal blood to the fetus and from breast milk to the newborn in a dose-dependent manner (for review McNamara and Carlson, 2006). PUFAs are potent regulators of neuroinflammation and microglial activities (De Smedt-Peyrusse et al., 2008; Mingam et al., 2008; Labrousse et al., 2012; McNamara et al., 2010). Data from our laboratory showed that the consumption of n-3 PUFAs deficient diet from the first day of gestation halved brain DHA levels and is associated with impaired spatial memory in offsprings (Mingam et al., 2008; Moranis et al. , 2012; Lafourcade et al. , 2011). Based on these data, we hypothesized that a decrease in DHA in the brain during development alters the morphofunctional plasticity of microglial cells and, that this therefore affects synaptic plasticity and cognition.

To test this hypothesis, CD1 mice were fed either with an adequate diet (n-6/n-3 ratio close to 4) or with a n-3 PUFAs deficient diet from the first day of gestation. We evaluated the effects of these different diets on neuronal and microglial components in the offspring at weaning (PND21) and adulthood.

RESULTATS

CHAPITRE 1

Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide



Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide



C. Madore^{a,b}, C. Joffre^{a,b}, J.C. Delpech^{a,b}, V. De Smedt-Peyrusse^{a,b}, A. Aubert^{a,b}, L. Coste^c, S. Layé^{a,b,*,1}, A. Nadjar^{a,b,*,1}

^a INRA, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, F-33000 Bordeaux, France

^b Univ. Bordeaux, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, F-33000 Bordeaux, France

^c Univ. Bordeaux, CNRS, Ecology and Biogeochemistry of Coastal Systems, UMR 5805, F-33120 Arcachon, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 May 2013

Received in revised form 19 August 2013

Accepted 20 August 2013

Available online 29 August 2013

Keywords:

Inflammation

Microglia

M1/M2 phenotype

Two-photon imaging

Flow cytometry

Multiplex assay

ABSTRACT

Within the central nervous system (CNS) the traditional role of microglia has been in brain infection and disease, phagocytosing debris and secreting factors to modify disease progression. This led to the concept of “resting” versus “activated” microglia. However, this is misleading because multiple phenotypic and morphological stages of microglia can influence neuronal structure and function in any condition and recent evidence extends their role to healthy brain homeostasis. The present work was thus aimed at reappraising the concept of morphofunctional activity of microglia in a context of peripheral acute immune challenge, where microglial activity is known to be modified, using the new state-of-the-art techniques available. To do so, mice were injected peripherally with lipopolysaccharide, a potent inducer of cerebral inflammation, and we assessed early cytokines production, phenotype, motility and morphology of microglial cells. Our results showed that LPS induced a widespread inflammatory response both peripherally and centrally, as revealed by the quantification of cytokines levels. We also found an alteration of microglial motility that was confirmed by *in vivo* studies showing an overall reduction of microglial processes length in the hippocampus of LPS-treated animals. Finally, analysis of various surface receptors expression revealed that LPS did not significantly impact microglial phenotype 2 h after the injection but rather induced an increase of CD11b⁺/CD45^{high} cells. These latter may be at the vasculature, at the CNS vicinity, or may have invaded the CNS.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Within the central nervous system (CNS) microglia are responsible for the induction of an innate immune response by receiving and propagating inflammatory signals (Nguyen et al., 2002). Until very recently, many studies have focused on microglia and their roles in different brain pathologies (Perry et al., 2010; Prinz et al., 2011), focusing on marked transformation of microglia that takes place from a ramified to an amoeboid morphology. The observed phenotypic changes have led to a concept of dormant ramified or ‘resting’ microglia in the healthy adult brain, and that only amoeboid or ‘activated’ microglia influence brain function in pathology.

However, recent studies indicate that the physiology of microglia is much more complex. Indeed, microglia, in contrast to their name “resting”, in the healthy brain are highly dynamic,

continuously surveying their extracellular environment and influencing neuronal structure and function (Nimmerjahn et al., 2005; Schafer et al., 2012; Wake et al., 2013). Taking advantage of the transgenic mouse CX3CR1-EGFP that enables visualization of microglia by EGFP (Jung et al., 2000), two-photon time-lapse imaging revealed that microglia rapidly extend and retract their processes on the order of minutes while their cell bodies remain stationary. In fact within a few hours, microglia processes have the capacity to sample the entire brain parenchyma and physically interact with other cells including neurons (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005; Schafer et al., 2012; Wake et al., 2013).

In addition to this remarkable morphological plasticity, once stimulated by an immune challenge, microglia are capable of acquiring diverse and complex phenotypes as well as perform several macrophage-like functions including phagocytosis, inflammatory and anti-inflammatory cytokine production, and antigen presentation (Garden and Moller, 2006). Microglia phenotypes can be characterized into four main states: classically activated M1 with cytotoxic properties; M2a with an alternate activation and involved in repair and regeneration; M2b with an immunoregulatory phenotype; or M2c with an acquired-deactivating

* Corresponding authors at: Univ. Bordeaux, Nutrition and Integrative Neurobiology, UMR 1286, F-33000 Bordeaux, France. Tel.: +33 557571232.

E-mail addresses: sophie.laye@bordeaux.inra.fr (S. Layé), agnes.nadjar@u-bordeaux2.fr (A. Nadjar).

¹ These authors contributed equally to this work.

phenotype (Mosser and Edwards, 2008; Martinez et al., 2009; Ransohoff and Perry, 2009; Perry et al., 2010; Weinstein et al., 2010).

Consequently, the concept of “resting” and “activated” microglia is misleading because multiple phenotypic and morphological stages of microglia can influence neuronal structure and function. The present work was thus aimed at reappraising the concept of morphofunctional activity of microglia in a context of peripheral acute immune challenge, where microglial activity is known to be modified, using the new state-of-the-art techniques available. To do so, mice were injected peripherally with lipopolysaccharide (LPS), a potent inducer of cerebral inflammation, and we assessed early cytokines production, microglial phenotype, motility and morphology two hours later, i.e. during the first wave of pro-inflammatory processes in the brain.

2. Materials and methods

2.1. Animals and treatment

Animal experiments were carried out according to the Quality Reference System of INRA, the framework of the European Directives and the French Rules on Animal Experimentation. Every effort was made to minimize the number of animals used. Thirty-six 8-weeks old C57BL/6J males mice were purchased from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France). For two-photon experiments, eight adult heterozygotes (CX3CR1+/-) from our in-house specific pathogen-free colony were used. These CX3CR1 transgenic mice were created in the background strain of C57BL/6J (Jung et al., 2000). An EGFP cassette was inserted in place of the first 390 bp of the second exon of the gene for CX3CR1 that disrupts the CX3CR1 gene and labels all cells that would normally express CX3CR1 with a green fluorescent protein.

To induce an inflammatory reaction, a dose of 125 µg/kg of LPS (*Escherichia coli*, 0127: B8; Sigma-Aldrich, Lyon, France) diluted in saline (NaCl 0.9%) was intraperitoneally (i.p) injected (Laye et al., 1994; Mingam et al., 2008). Control mice received an injection of saline solution (0.9%). Mice were quickly anesthetized by isoflurane inhalation and euthanized by decapitation 2 h after the LPS injection. Blood was collected on ice in 10 U/ml endotoxin-free EDTA and centrifuged at 1000 g for 10 min. Plasma were stored at -80 °C until analyses. Brains were rapidly dissected out and carefully placed on a glass plate over dry ice to collect hippocampi that were immediately frozen and stored at -80 °C until use (Andre et al., 2008; Moranis et al., 2012).

2.2. Plasma cytokine assay

Plasma were diluted 1:4 in the sample diluent (Bio-Plex Diluent kit # 171-305-008, Bio-Rad, Hercules, CA) and were assayed for cytokine levels (IL-1β, IL-6, IL-10, IFN-γ, and TNF-α) using a mouse Cytokine Multiplex Immuno Assay (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France). Cytokine assays were performed as described by the manufacturer's protocol.

2.3. Cytokine quantification in brain tissue

We used the same mice as for plasma assays. Brain tissues were crushed in Bioplex cell lysis buffer containing anti-protease (Sigma-Aldrich) and anti-phosphatase cocktail (Bio-Rad) and centrifuged 15 min at 3000g. Protein concentrations of supernatants determined by BCA (Uptima, Montluçon, France) were adjusted to 500 µg/ml. Multiplex assays were performed according to manufacturer instructions (Bio-Rad) on tissue extracts to quantify central levels of IL-1β, IL-6, IL-10, IFN-γ, and TNF-α (Bio-Plex

Cytokine Assay, Biorad). Data were obtained by Bio-Plex-200 system and analyzed using the Bio-Plex manager software.

2.4. Ionized calcium binding adapter molecule-1 (Iba-1) immunohistochemistry

For immunohistochemistry, C57BL/6J were deeply anesthetized with pentobarbital 2 h after LPS injection and transcardially perfused with PBS followed by 4% paraformaldehyde (PFA). Brain was removed, postfixed in PFA overnight at 4 °C and cryoprotected in 30% sucrose at 4 °C. Immunohistochemistry experiments were performed on an average of 5 cryostat-cut serial longitudinal slices. Samples were incubated in a blocking solution containing 3% goat serum and 0.3% Triton X-100 in phosphate saline buffer for 45 min at room temperature, and immunostained with primary anti-Iba1 antibody (1:1000; Wako, Neuss, Germany; overnight at 4 °C) and secondary AlexaFluor 594-conjugated antibody (1:1000; Invitrogen, Saint Aubin, France; 2 h at room temperature). Images from whole hippocampus sections were visualized with Leica confocal microscope (Leica TCS SP2, Wetzlar, Germany). Cellular imaging and analysis of 3D reconstructions of high magnification confocal images were analyzed with Imaris 7.6 (Bitplane AG, Zurich, Switzerland).

2.5. Image analysis

Semi-automated assessment of the microglial processes length was performed using the 3D reconstruction software Imaris (Bitplane AG). Briefly, a series of consecutive 2D sectional images with an interval of 0.5 µm in the z-axis was collected with a confocal microscope using a 63× oil objective lens and 3D reconstruction was performed using Imaris Bitplane software. Each microglia was then isolated using the crop 3D function, and image processing, i.e. filtering of the images (Gaussian filter), including the removal of background noise and thresholding, was carried out. Morphometric measurements were performed using the “filament tracer program” (Matlab algorithm) allowing us to isolate each process of a microglia. The Process Level number that appears on Fig. 2C was assessed according to the diameter calculations of the individual process segments. The initial Process Level at the beginning point (or cell body) is 1. At each branching point, the segment with smaller mean diameter sequentially increases Process Level, while the segment with a greater diameter maintains the same Process Level. In the case of two segments with the same diameter, the segment with a smaller Branching Angle keeps the Process Level, while the segment with a greater Branching Angle sequentially raises its Process Level.

2.6. Acute brain slices preparation

For two-photon imaging, brain slices were obtained from heterozygotes CX3CR1-EGFP mice (Jung et al., 2000) aged 21–35 days postnatal. It has been reported previously that microglia cells from these transgenic animals show similar properties to those from wildtype mice (Davalos et al., 2005; Jung et al., 2000; Nimmerjahn et al., 2005). Two hours after saline or LPS injection, animals were quickly anesthetized with isoflurane and 300 µm-thick coronal slices were made using a Vibratome (VT1000S, Leica, Nanterre, France). Slices were then stored at room temperature (20–23 °C) for one hour before imaging in an oxygenated artificial cerebrospinal fluid (aCSF) containing (in mM) 126 NaCl, 2.0 CaCl₂, 2.0 MgCl₂, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 26 NaHCO₃, 10 D-glucose, 1 ascorbic acid, 4 sodium pyruvate, and saturated with 95% O₂ and 5% CO₂ (310 ± 5 mOsm). Slices were transferred to a recording chamber and perfused with oxygenated aCSF at a rate of 1–3 ml/min and maintained at 25 °C with an inline heater.

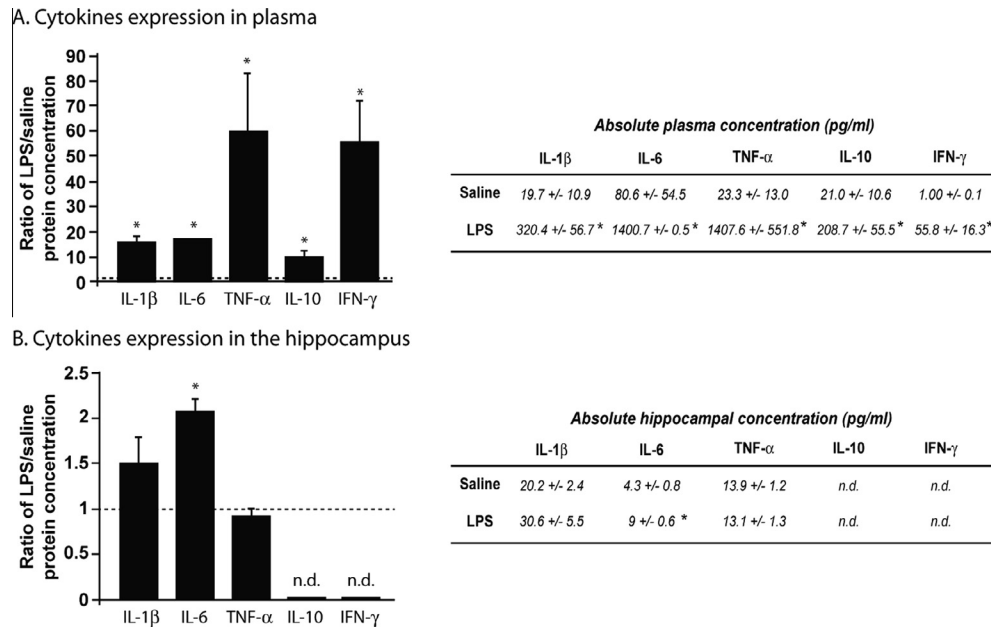


Fig. 1. Cytokines production is increased in plasma and hippocampus two hours following LPS injection. (A) Cytokines protein levels in plasma were measured by Bioplex. Bar graph represents the ratio of LPS/saline while the table represents raw data on which statistics were applied using a non-parametric Mann–Whitney test (IL-1 β : * p = 0.0286; IL-6: * p = 0.0265; TNF- α : * p = 0.0286; IL-10: * p = 0.0286; IFN- γ : * p = 0.0286; not detected = n.d.) (n = 4 per group). (B) Cytokines protein levels in the hippocampus were measured by Bioplex. Bar graph represents the ratio of LPS/saline while the table represents raw data on which statistics were applied using a non-parametric Mann–Whitney test (IL-1 β : p = 0.1465; IL-6: * p = 0.0286; TNF- α : p = 0.6612; IL-10 and IFN- γ : not detected, n.d.) (n = 4 per group).

2.7. Two-photon imaging on acute brain slices

Two-photon imaging was performed with a laser-scanning microscope Leica DMLFSA TCS SP2 on an upright stand (Leica Microsystems, Mannheim, Germany) coupled to a femtosecond pulsed Ti:Sapphire laser (Mira 900, Coherent Laser Group, Santa Clara, CA, USA). The laser was tuned to the excitation wavelength for GFP (900 nm) at 9 W and there was no photobleaching nor was there any evidence of cellular damage during extensive scanning to obtain time lapse images. The laser intensity was carefully monitored in all instances and kept comparable between all experiments. A HCX IR Apo L 25 $\times$ NA 0.95 (Olympus) water-immersion objective lens was used. Imaging was done at depths in brain slices >50 μ m and up to 100 μ m. The mean depth for imaging lesions was 75 μ m. Voxel size was adjusted to 0.1 $\times$ 0.1 μ m and z-stacks were taken in 1 μ m steps. The mean scan time for z-stack was approximately 45 s. 3D reconstruction of microglia, and automated assessment of the number of branches was performed the “filament tracer program” (Matlab algorithm) of Imaris 7.6 (Bitplane AG). This allowed us to isolate each process of a microglia and to follow its length modification all along the recording period.

We first examined the dynamic nature of microglia in acutely prepared brain slices to ensure that the responses of microglia in brain slices were the same as reported *in vivo* (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005). The morphology of EGFP expressing had the appearance of normal resting microglia cells with ramified processes. Only cells at the surface of the acute slice appeared to be affected by the slicing process, and in the depths at which we imaged microglia did not appear activated. In addition, we observed extensive processes extension and retraction, indicating that active surveillance or sensing by microglia processes of the surrounding tissue occurs in brain slices as shown *in vivo* (Nimmerjahn et al., 2005). On average, as in Nimmerjahn et al., we found that extensions and retractions had similar velocities. Data ranged from 0.4 up to 4.1 μ m/min for Nimmerjahn et al. while it ranges from 2.4 to 7.2 μ m/min in our conditions. This increased

velocity is likely to be due to the slicing process. However, we know from previous reports that microglia in slices are still able to respond to stimuli (Krabbe et al., 2013).

2.8. Isolation of microglia

Microglia were isolated from whole brain homogenates as described previously (Henry et al., 2008, 2009; Wynne et al., 2010; Wohleb et al., 2012). Briefly, brains were rinsed in PBS and meninges were removed. Brains were the homogenized in Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS), pH 7.4 passing through a 70 μ m nylon cell strainer. Homogenates were centrifuged at 600g for 6 min. Supernatants were removed and cell pellets were re-suspended in 70% isotonic Percoll (GE-Healthcare, Aulnay sous Bois, France). A discontinuous Percoll density gradient was set up as follows: 70%, 50%, 35% and 0% isotonic Percoll. Gradients were centrifuged at 2000g for 20 min. Microglia cells were collected at the interphase between the 70% and 50% Percoll layers (Frank et al., 2006; Nair et al., 2007). Cells were washed and counted with a hemacytometer. For each brain extraction approximately 3×10^5 cells were isolated. Purity of microglial preparations was of 85% on average. Microglial cells were re-suspended in Phosphate Buffer Saline solution (PBS)/0.1% Bovine Serum Albumin (BSA) to perform flow cytometry analysis.

2.9. Flow cytometry

Microglial preparations were incubated with anti-CD16/CD32 antibody (eBiosciences, Paris, France) to block Fc receptors for 10 min on ice. Cells were washed and then incubated for 45 min with the appropriate conjugated antibodies: anti-CD11b-APC, anti-CD45-PerCP Cy5.5, anti-MHC-II-FITC, anti-CD86-FITC (eBiosciences) and anti-CD36-PE, anti-CD206-FITC (Biolegend, Saint Quentin Yvelines, France) antibodies. Cells were washed and then suspended in PBS/BSA 0.1% for analysis. Non-specific binding was

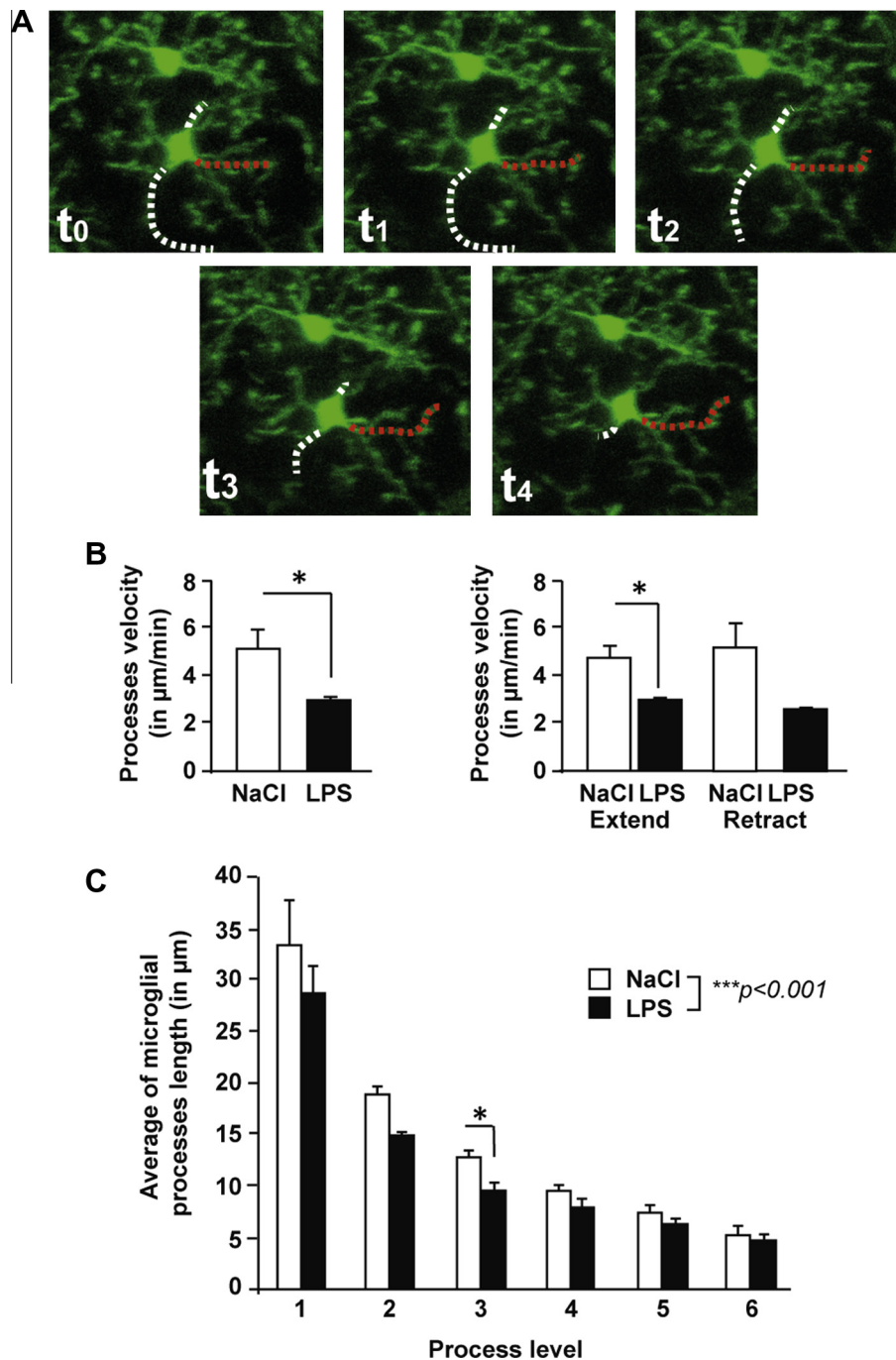


Fig. 2. Morphological plasticity of microglia is altered 2 h after LPS injection. (A) Maximum-intensity projections of microglial cells over the time course of a time-lapse recording. In this example, stacks of images were taken every 50 s. The red dotted line highlights an extending process while white dotted lines highlight retracting processes. (B) Mean motility values in $\mu\text{m}/\text{min}$ of microglial processes (left) (non-parametric Mann–Whitney test, $p = 0.0357$). Mean motility values in $\mu\text{m}/\text{min}$ for extensions (t -test, $^*p = 0.0149$) and retractions (non-parametric Mann–Whitney test, $p = 0.057$) (right) ($n = 3$ animal for saline and 5 animals for LPS, for a total of 12 and 14 cells respectively). (C) Process length reduction occurred at every branch level in the hippocampus (non parametric Kruskal–Wallis test, treatment effect, $***p < 0.001$; for branch level 3, post hoc Dunn's test: $^*p < 0.05$) ($n = 5$). Bars represent the mean $\pm$ SEM. Means with * are significantly different ($p < 0.05$) from saline controls. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

assessed by using non-specific, isotype-matched antibodies. Antigen expression was determined using a Becton–Dickinson LSRFortessa™ multicolor cytometer. Ten thousand events were recorded for each sample and isotype matched-conjugate. Data were analyzed using FlowJo software and gating for each antibody was determined based on non-specific binding of appropriate negative isotype stained controls.

2.10. Statistics

For most of the measures, experimental groups were compared using Student t -test or non-parametric Mann–Whitney test (when equality of variance or normality failed). For microglial process length analysis, non-parametric Kruskal–Wallis was applied and pairwise comparisons were made using Dunn's test. All data are

expressed as treatment means $\pm$ standard error of the mean (SEM). A $p < 0.05$ was considered as statistically significant.

3. Results

3.1. Intraperitoneal LPS injection induces the production of cytokines in the plasma and in the hippocampus

Our first objective was to quantify the levels of cytokines protein in the plasma and in the hippocampus following LPS injection. To this end, mice received an i.p. injection of LPS (125 $\mu\text{g/kg}$) or saline. Cytokines production was evaluated 2 h later in plasma of mice (Fig. 1). Our results show a dramatic increase of IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 and IFN γ proteins in plasma of LPS-challenged mice compared to controls (Non-parametric Mann–Whitney test; LPS effect, $p < 0.05$) (Fig. 1A).

To make sure that inflammatory processes developing peripherally after LPS injection induced a central immune response, we also measured cytokine expression in the hippocampus of the same animals. We found that the concentration of IL-6 protein was significantly increased 2 h after LPS injection (Non-parametric Mann–Whitney test; LPS effect, $p < 0.05$). IL-1 β concentration was increased as well in LPS-treated animals compared to controls, though not significantly. Concentration of TNF- α protein was similar between groups while IL-10 and IFN- γ were not detectable in this structure (Fig. 1B).

3.2. The morphological plasticity of microglia is altered in the hippocampus of LPS-treated animals

Next, we sought to determine the effects of LPS on microglial motility. We first studied single microglia baseline motility in acute hippocampal slices from CX3CR1-EGFP mice. As *in vivo*, microglial cells in slices showed highly ramified processes, numerous processes distributed on each main branch and some of the processes having bulbous endings (Fig. 2A). In control animals, time-lapse imaging experiments showed that microglial cell bodies were morphologically stable during the entire period of observation (Davalos et al., 2005; Nimmerjahn et al., 2005), while processes underwent rapid extension and retraction over intervals of seconds to minutes, as described previously (Fig. 2A). To quantify motility, we measured the velocity of length changes of individual processes. The overall velocity of extension and extraction of motile branches of microglia was around 5.2 $\mu\text{m/min}$ in acute brain slices (Fig. 2B). We then evaluated the motility of microglia 2 h after i.p. injection of LPS. While microglial cell bodies were still stable, processes velocity was significantly reduced to 2.8 $\mu\text{m/min}$ in these conditions (non-parametric Mann–Whitney test, $p = 0.0357$). This reduction in speed was evenly distributed between both extending and retracting processes (extensions data analysis: t -test, $*p = 0.0149$; and retractions data analysis: non-parametric Mann–Whitney test, $p = 0.057$) (Fig. 2B). The neuroinflammatory processes developing in the CNS following an acute peripheral immune challenge thus modify the morphological plasticity of microglia.

In order to confirm two-photon observations in slices, we completed these results with a systematic quantification of microglial branch length *in vivo*. To do so, we developed an image analysis process on 3D reconstructions obtained from immunohistochemically Iba-1-stained microglia. Our results corroborated time-lapse experiments since we showed that overall, processes length was reduced in the hippocampus 2 h after LPS injection (non parametric Kruskal–Wallis test, LPS effect, $***p < 0.001$; for branch level 3, post hoc Dunn's test: $*p < 0.05$) (Fig. 2C). When analyzing sub-structures of the hippocampus, we observed that this LPS effect was more

obvious in the CA3 region rather than in CA1 or DG (data not shown).

3.3. The phenotype of microglia is stable in the hippocampus following LPS injection

To assess the phenotype of microglia, we determined surface expression of various receptors on cells isolated from saline- and LPS-treated mice. To isolate a highly enriched microglial population from the brain we used a Percoll density gradient protocol. Several groups have reported that this microglia isolation procedure yields a highly enriched population of microglia (Cardona et al., 2006; Frank et al., 2006; Henry et al., 2009). Microglia were stained with antibodies for CD11b, CD45 and MHC II, and then analyzed by flow cytometry. The representative bivariate dot plots show that the majority of the viable cells were CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ in saline- and LPS-treated mice (Fig. 3A). The percentage of CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ cells isolated from saline- and LPS-treated mice was not significantly different (77.41% of CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ cells in control mice and 73.43% in LPS-treated mice on average) (Fig. 3B and C left).

It has been previously reported that i.p. LPS increased the percentage of macrophage-like cells (CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{high}}$) in the brain 4 h after the injection (Wohleb et al., 2012). Thus, we next determined the extent to which peripheral LPS injection altered the proportion of CNS macrophages in our conditions. Enriched brain CD11b $^+$ cells were collected 2 h after injection and CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ or CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{high}}$ cells were differentiated using flow cytometry based on CD45 expression (Nair and Bonneau, 2006; Wohleb et al., 2011; Wohleb et al., 2012). Fig. 3B shows representative bivariate dot plots of CD11b and CD45 staining for each treatment group 2 h after injection. The percentage of CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{high}}$ cells increased 2 h after LPS injection (two-tailed t -test, $p = 0.021$) (Fig. 3C). These results indicate that the number of macrophage-like cells was increased in the brain vasculature and/or parenchyma as early as 2 h post-LPS injection in our experiments.

Fig. 3D shows representative histograms of mean fluorescent intensity (MFI) for CD86, CD206, MHCII and CD36 in the CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ population. Only CD36 was expressed in saline and LPS-treated animals but no difference was found between both groups (two-tailed t -test, $p = 0.7038$) (Fig. 3E). CD86, CD206 and MHCII were not detected at the surface of the CD11b $^+$ /CD45 $^{\text{low}}$ cells (not different from the isotype control) (Fig. 3D).

4. Discussion

Taken together, our results show that LPS induced a widespread inflammatory response both peripherally and centrally, as revealed by the quantification of cytokines levels. We also observed that LPS treatment altered microglial motility by reducing both extension and retraction velocity of processes in hippocampal slices. This was confirmed by *in vivo* studies showing an overall reduction of microglial processes length in the hippocampus of LPS-treated animals. Finally, analysis of various receptors expression on cell-sorted microglia revealed that LPS did not significantly impact microglial phenotype 2 h after the injection but rather induced an increase of macrophage-like cells in the brain vasculature and/or parenchyma.

As expected, peripheral administration of LPS induced the expression of cytokines in the plasma and in the hippocampus. This has been extensively demonstrated previously (van Dam et al., 1992; Gatti and Bartfai, 1993; Breder et al., 1994; Laye et al., 1994; Quan et al., 1994; Lynch et al., 2004; Andre et al., 2008; Dantzer et al., 2008; Mingam et al., 2008; Skelly et al., 2013) and we here confirmed that LPS activates the peripheral innate immune system

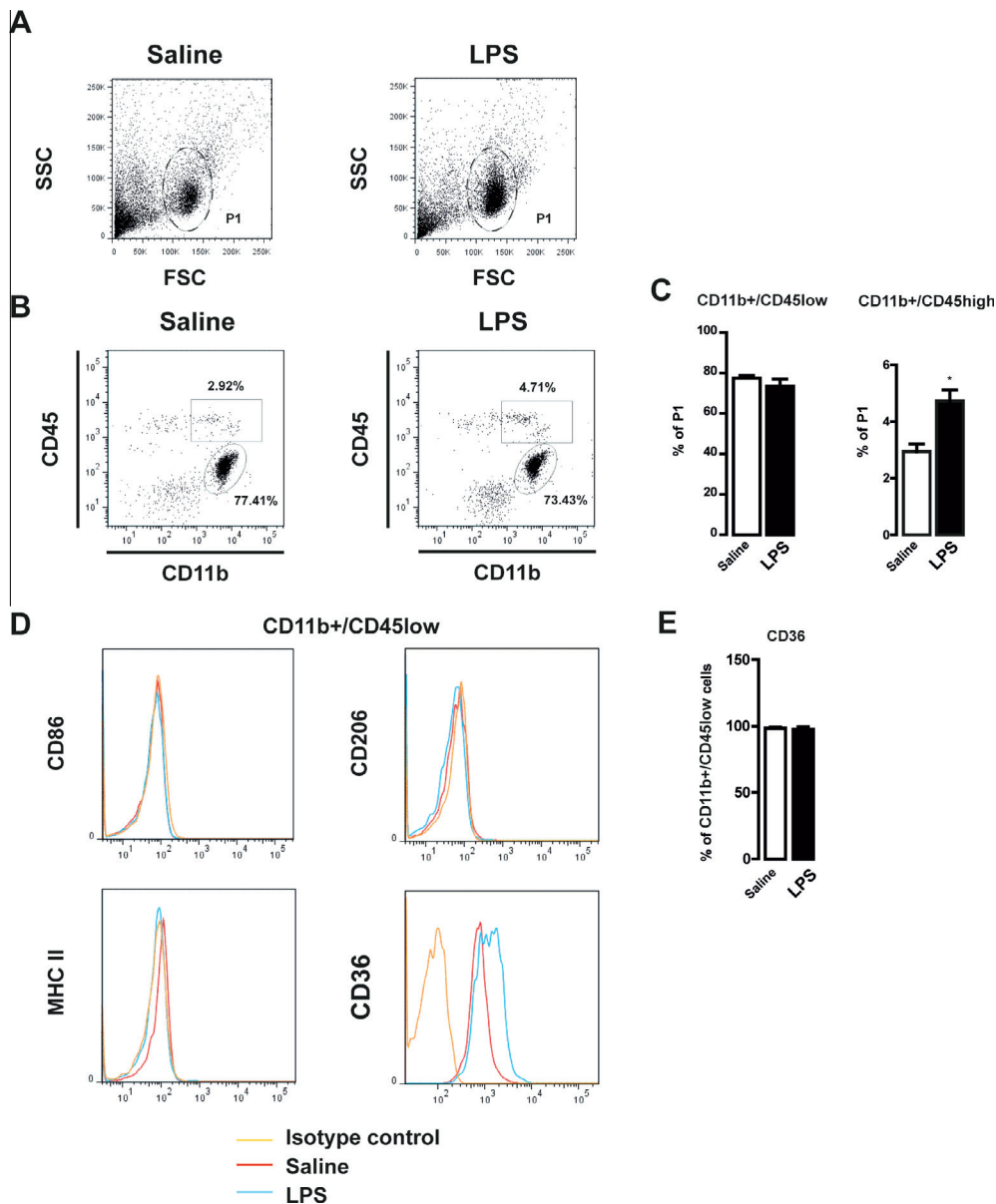


Fig. 3. The phenotype of microglia is not altered 2 h after LPS injection. (A) Flow cytometric analysis of the cell suspensions. A first population (P1) was selected based on granularity and size of the cells (SSC for side scatter: granularity; FSC for forward scatter: size). (B) Representative bivariate dot plots of Percoll isolated cells (P1 population) gated on CD11b⁺/CD45^{low} expression for microglia in saline or LPS conditions. All analyses were completed using the CD11b⁺/CD45^{low} microglia. (C) Average percentage of events that were CD11b⁺/CD45^{low} or CD11b⁺/CD45^{high}. (D) Representative histograms of mean fluorescent intensity (MFI) for CD86, CD206, MHCII and CD36. (E) Average percentage of microglia that were CD36-positive. Bars represent the mean $\pm$ SEM ($N = 3$ independent experiments; $n = 6$ brains/experiment). Means with * are significantly different ($p < 0.05$) from saline controls.

by increasing circulating cytokine levels. In the hippocampus however, only IL-6 protein levels were significantly increased 2 h after LPS injection while the other cytokines tested were undetectable by our multiplex quantitative technique. This confirmed previous results showing a significant increase of IL-6 in the hippocampus 4 h after LPS injection, using multiplex assay (Datta and Opp, 2008).

Overall, the morphological changes we observed in microglia are in the sense of shorter ramifications and decreased motility of processes following LPS treatment. This is the first time the short-term effects of a peripheral LPS injection on microglial motility are assessed. Our data corroborate a previous work by Kondo et al. (2011) who addressed the question of long-term effect of LPS on microglia (Kondo et al., 2011). They showed that LPS enhanced shrinkage of microglial processes two days after LPS treatment. This observation confirms that a single peripheral

injection of LPS is sufficient to trigger stimulation of microglia. They also observed that microglia recovered from the initial shrinkage of their processes at time points later than seven days. Using *in vivo* two-photon microscopy, they compared microglial motility 2 days and 28 days after LPS treatment and showed no difference among groups. However, LPS-induced alteration of microglial motility had already been observed previously *in vivo* using time-lapse imaging, though in conditions of local cortical application of the endotoxin (Nimmerjahn et al., 2005). In this study, a brief intracortical application of LPS through a micropipette evoked immediate and targeted outgrowth of microglial processes toward the application site confirming our data showing that LPS is able to alter the basal motility of microglia.

These observations combined to ours indicate that alteration of microglial motility is likely to be transient after LPS treatment and

may translate cytokines production by microglia at this early time point. Indeed, it is known that the release of cytokines and other signaling factors into the surrounding tissue is enhanced when microglia acquire amoeboid morphology (Hanisch and Kettenmann, 2007).

While we could expect microglia to express a M1 phenotype two hours after LPS injection, we could not find any modifications of the classical phenotypic markers at this time point. One study previously assessed the effects of peripheral LPS on the phenotypic profile of microglia. They showed that 4 h after LPS, the levels of all M1 genes and some M2c genes were increased in microglia. Thus, markers of both classical activation and classic deactivation were simultaneously increased (Fenn et al., 2012). The same group also demonstrated in a separate study that LPS induced a significant increase of macrophage-like cells invasion 4 h post-injection (Wohleb et al., 2012). Thus, together with our results, this shows that phenotypic modifications of microglia might occur later than 2 h post-immunization. On the contrary, increase in the number of CD11b⁺/CD45^{high} cells is an early event in the central effects of LPS and this is relevant since these cells have a significant role in propagating neuroinflammatory responses (Serrats et al., 2010; Moon et al., 2011). Since our microglia isolation technique does not include perfusion of brains with PBS, we cannot rule out a plasma origin of the CD11b⁺/CD45^{high} cells in our conditions. However, recent data from Skelly et al. (2013) showed a clear acute CNS induction of the chemokine transcripts CXCL1 and CCL2 2 h after LPS injection. The up-regulation of these chemokines is notable. Indeed, they are key in the recruitment of immune cells to the brain: CCL2 mainly attracts monocytes cells, and CCL2 injection into the hippocampus induces monocytic cells accumulation with greater potency than other monocyte chemokines. There are also indications that some chemokines, and especially CCL2, contribute to weakening the blood brain barrier, allowing macromolecules that are normally sequestered, such as cytokines, and cells such as leukocytes to more freely cross into the brain. Another possibility would be that the CD11b⁺/CD45^{high} cells are microglia overexpression the CD45 marker after activation by LPS, as it has been hypothesized previously in a model of EAE (Ponomarev et al., 2011). Even though this has never been reported in this inflammatory model, we cannot rule it out. Thus, even though we have no proof of the localization and cellular identity of CD11b⁺/CD45^{high} cells in our experimental design, we hypothesize that they are likely to be CNS infiltrating cells.

Overall, the results raise the question of the release of cytokines in the brain after an acute immune challenge. Indeed, either cytokines are centrally released by microglia that do not show a M1 profile contrary to what has been theorized, or invading macrophages are responsible for most of this cytokines release. Moreover, we clearly demonstrated a dichotomy between modifications of microglial motility and phenotypic plasticity.

Overall, our work confirmed that the concept of “resting” and “activated” microglia is misleading since multiple phenotypic and morphological stages of microglia might be represented *in vivo*. The high plasticity of microglial activity has been hypothesized before (Perry et al., 2007) and with the help of technological developments, the demonstration is now done, opening new avenues in the field.

5. Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The microscopy was done in the Bordeaux Imaging Center of the University of Bordeaux Segalen. The help of Philippe Legros, Christel

Poujol and Sébastien Marais is acknowledged as well as the technical support from V. Pitard and S. Gonzalez from the cytometry platform at the Structure Federative de Recherche TransBioMed at the University of Bordeaux Segalen. The authors thank P. Birac, C. Tridon, and M. Cadet for taking care of the mice. This research was financially supported by INRA, ANR and Fondation pour la Recherche Medicale (FRM). JCD is the recipient of a postdoctoral fellowship from the Région Aquitaine.

References

- Andre, C., O'Connor, J.C., Kelley, K.W., Lestage, J., Dantzer, R., Castanon, N., 2008. Spatio-temporal differences in the profile of murine brain expression of proinflammatory cytokines and indoleamine 2,3-dioxygenase in response to peripheral lipopolysaccharide administration. *J. Neuroimmunol.* 200, 90–99.
- Breder, C.D., Hazuka, C., Ghayur, T., Klug, C., Huginin, M., Yasuda, K., Teng, M., Saper, C.B., 1994. Regional induction of tumor necrosis factor alpha expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 11393–11397.
- Cardona, A.E., Pioro, E.P., Sasse, M.E., Kostenko, V., Cardona, S.M., Dijkstra, I.M., Huang, D., Kidd, G., Dombrowski, S., Dutta, R., Lee, J.C., Cook, D.N., Jung, S., Lira, S.A., Littman, D.R., Ransohoff, R.M., 2006. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat. Neurosci.* 9, 917–924.
- Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund, G.G., Johnson, R.W., Kelley, K.W., 2008. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 46–56.
- Datta, S.C., Opp, M.R., 2008. Lipopolysaccharide-induced increases in cytokines in discrete mouse brain regions are detectable using Luminex xMAP technology. *J. Neurosci. Methods* 175, 119–124.
- Davalos, D., Grutzendler, J., Yang, G., Kim, J.V., Zuo, Y., Jung, S., Littman, D.R., Dustin, M.L., Gan, W.B., 2005. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury *in vivo*. *Nat. Neurosci.* 8, 752–758.
- Fenn, A.M., Henry, C.J., Huang, Y., Dugan, A., Godbout, J.P., 2012. Lipopolysaccharide-induced interleukin (IL)-4 receptor- α expression and corresponding sensitivity to the M2 promoting effects of IL-4 are impaired in microglia of aged mice. *Brain Behav. Immun.* 26, 766–777.
- Frank, M.G., Wieseler-Frank, J.L., Watkins, L.R., Maier, S.F., 2006. Rapid isolation of highly enriched and quiescent microglia from adult rat hippocampus: immunophenotypic and functional characteristics. *J. Neurosci. Methods* 151, 121–130.
- Garden, G.A., Moller, T., 2006. Microglia biology in health and disease. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 1, 127–137.
- Gatti, S., Bartfai, T., 1993. Induction of tumor necrosis factor- α mRNA in the brain after peripheral endotoxin treatment: comparison with interleukin-1 family and interleukin-6. *Brain Res.* 624, 291–294.
- Hanisch, U.K., Kettenmann, H., 2007. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat. Neurosci.* 10, 1387–1394.
- Henry, C.J., Huang, Y., Wynne, A.M., Godbout, J.P., 2009. Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 β and anti-inflammatory IL-10 cytokines. *Brain Behav. Immun.* 23, 309–317.
- Henry, C.J., Huang, Y., Wynne, A., Hanke, M., Himler, J., Bailey, M.T., Sheridan, J.F., Godbout, J.P., 2008. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J. Neuroinflamm.* 5, 15.
- Jung, S., Aliberti, J., Graemmel, P., Sunshine, M.J., Kreutzberg, G.W., Sher, A., Littman, D.R., 2000. Analysis of fractalkine receptor CX3CR1 function by targeted deletion and green fluorescent protein reporter gene insertion. *Mol. Cell. Biol.* 20, 4106–4114.
- Kondo, S., Kohsaka, S., Okabe, S., 2011. Long-term changes of spine dynamics and microglia after transient peripheral immune response triggered by LPS *in vivo*. *Mol. Brain* 4, 27.
- Krabbe, G., Halle, A., Matyash, V., Rinnenthal, J.L., Eom, G.D., Bernhardt, U., Miller, K.R., Prokop, S., Kettenmann, H., Heppner, F.L., 2013. Functional impairment of microglia coincides with Beta-amyloid deposition in mice with Alzheimer-like pathology. *PLoS One* 8, e60921.
- Laye, S., Parnet, P., Goujon, E., Dantzer, R., 1994. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 27, 157–162.
- Lynch, A.M., Walsh, C., Delaney, C., Nolan, Y., Campbell, V.A., Lynch, M.A., 2004. Lipopolysaccharide-induced increase in signalling in hippocampus is abrogated by IL-10—a role for IL-1 β ? *J. Neurochem.* 88, 635–646.
- Martinez, F.O., Helming, L., Gordon, S., 2009. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 451–483.
- Mingam, R., Moranis, A., Bluth, R.M., De Smedt-Peyrusse, V., Kelley, K.W., Guesnet, P., Lavalie, M., Dantzer, R., Laye, S., 2008. Uncoupling of interleukin-6 from its signalling pathway by dietary n-3-polyunsaturated fatty acid deprivation alters sickness behaviour in mice. *Eur. J. Neurosci.* 28, 1877–1886.
- Moon, M.L., McNeil, L.K., Freund, G.G., 2011. Macrophages make me sick: how macrophage activation states influence sickness behavior. *Psychoneuroendocrinology* 36, 1431–1440.
- Moranis, A., Delpech, J.C., De Smedt-Peyrusse, V., Aubert, A., Guesnet, P., Lavalie, M., Joffre, C., Laye, S., 2012. Long term adequate n-3 polyunsaturated fatty acid diet

- protects from depressive-like behavior but not from working memory disruption and brain cytokine expression in aged mice. *Brain Behav. Immun.* 26, 721–731.
- Mosser, D.M., Edwards, J.P., 2008. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat. Rev. Immunol.* 8, 958–969.
- Nair, A., Bonneau, R.H., 2006. Stress-induced elevation of glucocorticoids increases microglia proliferation through NMDA receptor activation. *J. Neuroimmunol.* 171, 72–85.
- Nair, A., Hunzeker, J., Bonneau, R.H., 2007. Modulation of microglia and CD8(+) T cell activation during the development of stress-induced herpes simplex virus type-1 encephalitis. *Brain Behav. Immun.* 21, 791–806.
- Nguyen, M.D., Julien, J.P., Rivest, S., 2002. Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 216–227.
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., Helmchen, F., 2005. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 308, 1314–1318.
- Perry, V.H., Cunningham, C., Holmes, C., 2007. Systemic infections and inflammation affect chronic neurodegeneration. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 161–167.
- Perry, V.H., Nicoll, J.A., Holmes, C., 2010. Microglia in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurol.* 6, 193–201.
- Ponomarev, E.D., Veremeyko, T., Barteneva, N., Krichevsky, A.M., Weiner, H.L., 2011. MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- α -PU.1 pathway. *Nat. Med.* 17, 64–70.
- Prinz, M., Priller, J., Sisodia, S.S., Ransohoff, R.M., 2011. Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. *Nat. Neurosci.* 14, 1227–1235.
- Quan, N., Sundar, S.K., Weiss, J.M., 1994. Induction of interleukin-1 in various brain regions after peripheral and central injections of lipopolysaccharide. *J. Neuroimmunol.* 49, 125–134.
- Ransohoff, R.M., Perry, V.H., 2009. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 119–145.
- Schafer, D.P., Lehrman, E.K., Stevens, B., 2012. The “quad-partite” synapse: microglia–synapse interactions in the developing and mature CNS. *Glia* 61, 24–36.
- Serrats, J., Schiltz, J.C., Garcia-Bueno, B., van Rooijen, N., Reyes, T.M., Sawchenko, P.E., 2010. Dual roles for perivascular macrophages in immune-to-brain signaling. *Neuron* 65, 94–106.
- Skelly, D.T., Hennessy, E., Dansereau, M.A., Cunningham, C., 2013. A systematic analysis of the peripheral and CNS effects of systemic LPS, IL-1 β , TNF- α and IL-6 challenges in C57BL/6 mice. *PLoS One* 8, e69123.
- van Dam, A.M., Brouns, M., Louisse, S., Berkenbosch, F., 1992. Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? *Brain Res.* 588, 291–296.
- Wake, H., Moorhouse, A.J., Miyamoto, A., Nabekura, J., 2013. Microglia: actively surveying and shaping neuronal circuit structure and function. *Trends Neurosci.* 36, 209–217.
- Weinstein, J.R., Koerner, I.P., Moller, T., 2010. Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol.* 5, 227–246.
- Wohleb, E.S., Fenn, A.M., Pacenta, A.M., Powell, N.D., Sheridan, J.F., Godbout, J.P., 2012. Peripheral innate immune challenge exaggerated microglia activation, increased the number of inflammatory CNS macrophages, and prolonged social withdrawal in socially defeated mice. *Psychoneuroendocrinology* 37, 1491–1505.
- Wohleb, E.S., Hanke, M.L., Corona, A.W., Powell, N.D., Stiner, L.M., Bailey, M.T., Nelson, R.J., Godbout, J.P., Sheridan, J.F., 2011. Beta-Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *J. Neurosci.* 31, 6277–6288.
- Wynne, A.M., Henry, C.J., Huang, Y., Cleland, A., Godbout, J.P., 2010. Protracted downregulation of CX3CR1 on microglia of aged mice after lipopolysaccharide challenge. *Brain Behav. Immun.* 24, 1190–1201.

CHAPITRE 2

Dietary n-3 PUFA deficiency alters microglia phagocytic activity and spine density during brain development

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- abd-el-Basset, E. & Fedoroff, S.** Effect of bacterial wall lipopolysaccharide (LPS) on morphology, motility, and cytoskeletal organization of microglia in cultures. *J Neurosci Res* **41**, 222-237, doi:10.1002/jnr.490410210 (1995).
- Abumrad, N. A., el-Maghrabi, M. R., Amri, E. Z., Lopez, E. & Grimaldi, P. A.** 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**, 17665-17668 (1993).
- Acton, S. et al.** Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* **271**, 518-520 (1996).
- Aderem, A. & Underhill, D. M.** Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* **17**, 593-623, doi:10.1146/annurev.immunol.17.1.593 (1999).
- Adler, M. W., Geller, E. B., Chen, X. & Rogers, T. J.** Viewing chemokines as a third major system of communication in the brain. *AAPS J* **7**, E865-870, doi:10.1208/aapsj070484 (2005).
- Aguliar-Valles, A., Kim, J., Jung, S., Woodside, B. & Luheshi, G. N.** Role of brain transmigrating neutrophils in depression-like behavior during systemic infection. *Mol Psychiatry*, doi:mp2013137 [pii] 10.1038/mp.2013.137 (2013).
- Ahmad, A., Murthy, M., Greiner, R. S., Moriguchi, T. & Salem, N., Jr.** A decrease in cell size accompanies a loss of docosahexaenoate in the rat hippocampus. *Nutr Neurosci* **5**, 103-113 (2002).
- Aid, S., Vancassel, S., Linard, A., Lavialle, M. & Guesnet, P.** Dietary docosahexaenoic acid [22: 6(n-3)] as a phospholipid or a triglyceride enhances the potassium chloride-evoked release of acetylcholine in rat hippocampus. *J Nutr* **135**, 1008-1013, doi:135/5/1008 [pii] (2005).
- Aid, S. et al.** Effect of a diet-induced n-3 PUFA depletion on cholinergic parameters in the rat hippocampus. *J Lipid Res* **44**, 1545-1551, doi:10.1194/jlr.M300079-JLR200 M300079-JLR200 [pii] (2003).
- Aitman, T. J. et al.** Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nat Genet* **21**, 76-83, doi:10.1038/5013 (1999).
- Ajami, B., Bennett, J. L., Krieger, C., Tetzlaff, W. & Rossi, F. M.** Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat Neurosci* **10**, 1538-1543, doi:nn2014 [pii] 10.1038/nn2014 (2007).
- Akakura, S. et al.** The opsonin MFG-E8 is a ligand for the α v β 5 integrin and triggers DOCK180-dependent Rac1 activation for the phagocytosis of apoptotic cells. *Exp Cell Res* **292**, 403-416, doi:S0014482703004877 [pii] (2004).
- Albensi, B. C. & Mattson, M. P.** Evidence for the involvement of TNF and NF-kappaB in hippocampal synaptic plasticity. *Synapse* **35**, 151-159, doi:10.1002/(SICI)1098-2396(200002)35:2<151::AID-SYN8>3.0.CO;2-P [pii] 10.1002/(SICI)1098-2396(200002)35:2<151::AID-SYN8>3.0.CO;2-P (2000).
- Alliot, F., Godin, I. & Pessac, B.** Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Brain Res Dev Brain Res* **117**, 145-152, doi:S0165380699001133 [pii] (1999).
- Aloe, L. et al.** Learning abilities, NGF and BDNF brain levels in two lines of TNF-alpha transgenic mice, one characterized by neurological disorders, the other phenotypically normal. *Brain Res* **840**, 125-137, doi:S0006-8993(99)01748-5 [pii] (1999).
- Aloisi, F.** Immune function of microglia. *Glia* **36**, 165-179, doi:10.1002/glia.1106 [pii] (2001).

- Aloisi, F., De Simone, R., Columba-Cabezas, S., Penna, G. & Adorini, L.** Functional maturation of adult mouse resting microglia into an APC is promoted by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interaction with Th1 cells. *J Immunol* **164**, 1705-1712, doi:10.1016/j.jim.2000.06.011 [pii] (2000).
- Alvarez, V. A. & Sabatini, B. L.** Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines. *Annu Rev Neurosci* **30**, 79-97, doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094222 (2007).
- Ambrosini, E. & Aloisi, F.** Chemokines and glial cells: a complex network in the central nervous system. *Neurochem Res* **29**, 1017-1038 (2004).
- Andre, C. et al.** Spatio-temporal differences in the profile of murine brain expression of proinflammatory cytokines and indoleamine 2,3-dioxygenase in response to peripheral lipopolysaccharide administration. *J Neuroimmunol* **200**, 90-99, doi:10.1016/j.jneuroim.2008.06.011 [pii] (2008).
- Aoki, H. et al.** Resolvin E1 dampens airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Biochem Biophys Res Commun* **367**, 509-515, doi:10.1016/j.bbrc.2008.01.012 [pii] (2008).
- Applegate, K. R. & Glomset, J. A.** Effect of acyl chain unsaturation on the packing of model diacylglycerols in simulated monolayers. *J Lipid Res* **32**, 1645-1655 (1991).
- Arita, M. et al.** Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 7671-7676, doi:10.1073/pnas.0409271102 [pii] (2005).
- Artmann, A. et al.** Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acylethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine. *Biochim Biophys Acta* **1781**, 200-212, doi:10.1016/j.bbalip.2008.01.006 [pii] (2008).
- Asch, A. S., Barnwell, J., Silverstein, R. L. & Nachman, R. L.** Isolation of the thrombospondin membrane receptor. *J Clin Invest* **79**, 1054-1061, doi:10.1172/JCI112918 (1987).
- Ashraf, M. Z. & Gupta, N.** Scavenger receptors: Implications in atherothrombotic disorders. *Int J Biochem Cell Biol* **43**, 697-700, doi:10.1016/j.biocel.2011.01.019 [pii] (2011).
- Ashwell, K.** Microglia and cell death in the developing mouse cerebellum. *Brain Res Dev Brain Res* **55**, 219-230 (1990).
- Astorg, P. et al.** Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* **39**, 527-535 (2004).
- Atkins, E.** Pathogenesis of fever. *Physiol Rev* **40**, 580-646 (1960).
- Atwood, H. L. & Karunanithi, S.** Diversification of synaptic strength: presynaptic elements. *Nat Rev Neurosci* **3**, 497-516, doi:10.1038/nrn876 [pii] (2002).
- Auestad, N. & Innis, S. M.** Dietary n-3 fatty acid restriction during gestation in rats: neuronal cell body and growth-cone fatty acids. *Am J Clin Nutr* **71**, 312S-314S (2000).
- Awasaki, T. et al.** Essential role of the apoptotic cell engulfment genes draper and ced-6 in programmed axon pruning during Drosophila metamorphosis. *Neuron* **50**, 855-867, doi:10.1016/j.neuron.2006.04.027 [pii] (2006).
- Aziz, M., Jacob, A., Matsuda, A. & Wang, P.** Review: milk fat globule-EGF factor 8 expression, function and plausible signal transduction in resolving inflammation. *Apoptosis* **16**, 1077-1086, doi:10.1007/s10495-011-0630-0 (2011).

B

- Babcock, T. A., Helton, W. S., Hong, D. & Espat, N. J.** Omega-3 fatty acid lipid emulsion reduces LPS-stimulated macrophage TNF-alpha production. *Surg Infect (Larchmt)* **3**, 145-149, doi:10.1089/109629602760105817 (2002).
- Bachstetter, A. D. et al.** Fractalkine and CX 3 CR1 regulate hippocampal neurogenesis in adult and aged rats. *Neurobiol Aging* **32**, 2030-2044, doi:S0197-4580(09)00392-3 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2009.11.022 (2011).
- Bagga, D., Wang, L., Farias-Eisner, R., Glaspy, J. A. & Reddy, S. T.** Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 1751-1756, doi:10.1073/pnas.0334211100 0334211100 [pii] (2003).
- Bailey, C. H. & Kandel, E. R.** Structural changes accompanying memory storage. *Annu Rev Physiol* **55**, 397-426, doi:10.1146/annurev.ph.55.030193.002145 (1993).
- Baillie, A. G., Coburn, C. T. & Abumrad, N. A.** Reversible binding of long-chain fatty acids to purified FAT, the adipose CD36 homolog. *J Membr Biol* **153**, 75-81 (1996).
- Bajetto, A., Bonavia, R., Barbero, S., Florio, T. & Schettini, G.** Chemokines and their receptors in the central nervous system. *Front Neuroendocrinol* **22**, 147-184, doi:10.1006/frne.2001.0214 S0091-3022(01)90214-6 [pii] (2001).
- Balasingam, V. & Yong, V. W.** Attenuation of astroglial reactivity by interleukin-10. *J Neurosci* **16**, 2945-2955 (1996).
- Bamberger, M. E., Harris, M. E., McDonald, D. R., Husemann, J. & Landreth, G. E.** A cell surface receptor complex for fibrillar beta-amyloid mediates microglial activation. *J Neurosci* **23**, 2665-2674, doi:23/7/2665 [pii] (2003).
- Barclay, A. N., Clark, M. J. & McCaughan, G. W.** Neuronal/lymphoid membrane glycoprotein MRC OX-2 is a member of the immunoglobulin superfamily with a light-chain-like structure. *Biochem Soc Symp* **51**, 149-157 (1986).
- Barclay, A. N., Wright, G. J., Brooke, G. & Brown, M. H.** CD200 and membrane protein interactions in the control of myeloid cells. *Trends Immunol* **23**, 285-290, doi:S1471490602022238 [pii] (2002).
- Barna, B. P. et al.** Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in adult human non-neoplastic astrocytes is sensitive to tumor necrosis factor (TNF) or antibody to the 55-kDa TNF receptor. *J Neuroimmunol* **50**, 101-107 (1994).
- Barron, K. D.** The microglial cell. A historical review. *J Neurol Sci* **134 Suppl**, 57-68, doi:0022510X9500209K [pii] (1995).
- Bazan, J. F. et al.** A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* **385**, 640-644, doi:10.1038/385640a0 (1997).
- Bear, M. F.** Homosynaptic long-term depression: a mechanism for memory? *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 9457-9458 (1999).
- Beattie, E. C. et al.** Control of synaptic strength by glial TNFalpha. *Science* **295**, 2282-2285, doi:10.1126/science.1067859 295/5563/2282 [pii] (2002).
- Bechmann, I.** Failed central nervous system regeneration: a downside of immune privilege? *Neuromolecular Med* **7**, 217-228, doi:NMM:7:3:217 [pii] 10.1385/NMM:7:3:217 (2005).
- Bedard, A., Tremblay, P., Chernomoretz, A. & Vallieres, L.** Identification of genes preferentially expressed by microglia and upregulated during cuprizone-induced inflammation. *Glia* **55**, 777-789, doi:10.1002/glia.20477 (2007).
- Beers, D. R. et al.** Wild-type microglia extend survival in PU.1 knockout mice with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 16021-16026, doi:0607423103 [pii] 10.1073/pnas.0607423103 (2006).

- Belluzzi, A. et al.** Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease. *N Engl J Med* **334**, 1557-1560, doi:10.1056/NEJM199606133342401 (1996).
- Ben-Ari, Y.** Neuro-archaeology: pre-symptomatic architecture and signature of neurological disorders. *Trends Neurosci* **31**, 626-636, doi:S0166-2236(08)00211-7 [pii] 10.1016/j.tins.2008.09.002 (2008).
- Benveniste, E. N.** Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am J Physiol* **263**, C1-16 (1992).
- Berger, A. et al.** Anandamide and diet: inclusion of dietary arachidonate and docosahexaenoate leads to increased brain levels of the corresponding N-acylethanolamines in piglets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 6402-6406 (2001).
- Berman, J. W., Guida, M. P., Warren, J., Amat, J. & Brosnan, C. F.** Localization of monocyte chemoattractant peptide-1 expression in the central nervous system in experimental autoimmune encephalomyelitis and trauma in the rat. *J Immunol* **156**, 3017-3023 (1996).
- Bertrand, J. Y. et al.** Three pathways to mature macrophages in the early mouse yolk sac. *Blood* **106**, 3004-3011, doi:2005-02-0461 [pii] 10.1182/blood-2005-02-0461 (2005).
- Bessis, A., Bechade, C., Bernard, D. & Roumier, A.** Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia* **55**, 233-238, doi:10.1002/glia.20459 (2007).
- Bhattacharjee, A. et al.** IL-4 and IL-13 employ discrete signaling pathways for target gene expression in alternatively activated monocytes/macrophages. *Free Radic Biol Med* **54**, 1-16, doi:S0891-5849(12)01795-9 [pii] 10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.553 (2013).
- Biber, K., Neumann, H., Inoue, K. & Boddeke, H. W.** Neuronal 'On' and 'Off' signals control microglia. *Trends Neurosci* **30**, 596-602, doi:S0166-2236(07)00248-2 [pii] 10.1016/j.tins.2007.08.007 (2007).
- Biber, K., Vinet, J. & Boddeke, H. W.** Neuron-microglia signaling: chemokines as versatile messengers. *J Neuroimmunol* **198**, 69-74, doi:S0165-5728(08)00116-1 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2008.04.012 (2008).
- Bitzer-Quintero, O. K. & Gonzalez-Burgos, I.** Immune system in the brain: a modulatory role on dendritic spine morphophysiology? *Neural Plast* **2012**, 348642, doi:10.1155/2012/348642 (2012).
- Bjartmar, L. et al.** Neuronal pentraxins mediate synaptic refinement in the developing visual system. *J Neurosci* **26**, 6269-6281, doi:26/23/6269 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.4212-05.2006 (2006).
- Blais, V. & Rivest, S.** [Role of the innate immune response in the brain]. *Med Sci (Paris)* **19**, 981-987, doi:007171ar [pii] 10.1051/medsci/20031910981 (2003).
- Blank, T. & Prinz, M.** Microglia as modulators of cognition and neuropsychiatric disorders. *Glia* **61**, 62-70, doi:10.1002/glia.22372 (2013).
- Bliss, T. V. & Collingridge, G. L.** A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **361**, 31-39, doi:10.1038/361031a0 (1993).
- Bliss, T. V., Errington, M. L., Lynch, M. A. & Williams, J. H.** Presynaptic mechanisms in hippocampal long-term potentiation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **55**, 119-129 (1990).
- Bliss, T. V. & Lomo, T.** Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* **232**, 331-356 (1973).
- Block, M. L. & Hong, J. S.** Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* **76**, 77-98, doi:S0301-0082(05)00067-5 [pii] 10.1016/j.pneurobio.2005.06.004 (2005).

- Bluthe, R. M., Dantzer, R. & Kelley, K. W.** Effects of interleukin-1 receptor antagonist on the behavioral effects of lipopolysaccharide in rat. *Brain Res* **573**, 318-320, doi:0006-8993(92)90779-9 [pii] (1992).
- Boddaert, J. et al.** Evidence of a role for lactadherin in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* **170**, 921-929, doi:S0002-9440(10)60913-3 [pii] 10.2353/ajpath.2007.060664 (2007).
- Boddeke, E. W. et al.** Functional expression of the fractalkine (CX3C) receptor and its regulation by lipopolysaccharide in rat microglia. *Eur J Pharmacol* **374**, 309-313, doi:S0014-2999(99)00307-6 [pii] (1999).
- Boehme, S. A., Lio, F. M., Maciejewski-Lenoir, D., Bacon, K. B. & Conlon, P. J.** The chemokine fractalkine inhibits Fas-mediated cell death of brain microglia. *J Immunol* **165**, 397-403, doi:ji_v165n1p397 [pii] (2000).
- Bogdan, C. & Nathan, C.** Modulation of macrophage function by transforming growth factor beta, interleukin-4, and interleukin-10. *Ann N Y Acad Sci* **685**, 713-739 (1993).
- Bogdan, C., Vodovotz, Y. & Nathan, C.** Macrophage deactivation by interleukin 10. *J Exp Med* **174**, 1549-1555 (1991).
- Boulanger, L. M.** Immune proteins in brain development and synaptic plasticity. *Neuron* **64**, 93-109, doi:S0896-6273(09)00678-3 [pii] 10.1016/j.neuron.2009.09.001 (2009).
- Bourre, J. M. et al.** Essentiality of omega 3 fatty acids for brain structure and function. *World Rev Nutr Diet* **66**, 103-117 (1991).
- Boven, L. A. et al.** Myelin-laden macrophages are anti-inflammatory, consistent with foam cells in multiple sclerosis. *Brain* **129**, 517-526, doi:awh707 [pii] 10.1093/brain/awh707 (2006).
- Bratton, D. L. & Henson, P. M.** Neutrophil clearance: when the party is over, clean-up begins. *Trends Immunol* **32**, 350-357, doi:S1471-4906(11)00077-9 [pii] 10.1016/j.it.2011.04.009 (2011).
- Breckenridge, W. C., Gombos, G. & Morgan, I. G.** The lipid composition of adult rat brain synaptosomal plasma membranes. *Biochim Biophys Acta* **266**, 695-707, doi:0006-3002(72)90012-1 [pii] (1972).
- Breder, C. D. et al.** Regional induction of tumor necrosis factor alpha expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 11393-11397 (1994).
- Brochu, S., Olivier, M. & Rivest, S.** Neuronal activity and transcription of proinflammatory cytokines, IkappaBalpha, and iNOS in the mouse brain during acute endotoxemia and chronic infection with *Trypanosoma brucei brucei*. *J Neurosci Res* **57**, 801-816, doi:10.1002/(SICI)1097-4547(19990915)57:6<801::AID-JNR5>3.0.CO;2-B [pii] (1999).
- Brockhaus, J., Ilschner, S., Banati, R. B. & Kettenmann, H.** Membrane properties of ameboid microglial cells in the corpus callosum slice from early postnatal mice. *J Neurosci* **13**, 4412-4421 (1993).
- Brodie, C., Goldreich, N., Haiman, T. & Kazimirsky, G.** Functional IL-4 receptors on mouse astrocytes: IL-4 inhibits astrocyte activation and induces NGF secretion. *J Neuroimmunol* **81**, 20-30, doi:S0165-5728(97)00154-9 [pii] (1998).
- Brown, E. J. & Frazier, W. A.** Integrin-associated protein (CD47) and its ligands. *Trends Cell Biol* **11**, 130-135, doi:S0962-8924(00)01906-1 [pii] (2001).
- Brown, G. C. & Neher, J. J.** Eaten alive! Cell death by primary phagocytosis: 'phagoptosis'. *Trends Biochem Sci* **37**, 325-332, doi:S0968-0004(12)00070-9 [pii] 10.1016/j.tibs.2012.05.002 (2012).
- Brown, G. E., Reed, E. B. & Lanser, M. E.** Neutrophil CR3 expression and specific granule exocytosis are controlled by different signal transduction pathways. *J Immunol* **147**, 965-971 (1991).
- Bulloch, K. et al.** CD11c/EYFP transgene illuminates a discrete network of dendritic cells within the embryonic, neonatal, adult, and injured mouse brain. *J Comp Neurol* **508**, 687-710, doi:10.1002/cne.21668 (2008).

- Burdge, G.** Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **7**, 137-144, doi:00075197-200403000-00006 [pii] (2004).
- Butovsky, O., Bukshpan, S., Kunis, G., Jung, S. & Schwartz, M.** Microglia can be induced by IFN-gamma or IL-4 to express neural or dendritic-like markers. *Mol Cell Neurosci* **35**, 490-500, doi:S1044-7431(07)00105-4 [pii] 10.1016/j.mcn.2007.04.009 (2007).
- Butovsky, O. et al.** Modulating inflammatory monocytes with a unique microRNA gene signature ameliorates murine ALS. *J Clin Invest* **122**, 3063-3087, doi:62636 [pii] 10.1172/JCI62636 (2012).
- Buttini, M., Limonta, S. & Boddeke, H. W.** Peripheral administration of lipopolysaccharide induces activation of microglial cells in rat brain. *Neurochem Int* **29**, 25-35, doi:0197018695001417 [pii] (1996).

C

- Calder, P. C.** Long-chain fatty acids and inflammation. *Proc Nutr Soc* **71**, 284-289, doi:S0029665112000067 [pii] 10.1017/S0029665112000067 (2012).
- Calder, P. C.** The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **79**, 101-108, doi:S0952-3278(08)00136-1 [pii] 10.1016/j.plefa.2008.09.016 (2008).
- Calderon, F. & Kim, H. Y.** Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J Neurochem* **90**, 979-988, doi:10.1111/j.1471-4159.2004.02520.x JNC2520 [pii] (2004).
- Cao, D. et al.** Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function. *J Neurochem* **111**, 510-521, doi:JNC6335 [pii] 10.1111/j.1471-4159.2009.06335.x (2009).
- Cardenas, H. & Bolin, L. M.** Compromised reactive microgliosis in MPTP-lesioned IL-6 KO mice. *Brain Res* **985**, 89-97, doi:S000689930303172X [pii] (2003).
- Cardona, A. E. et al.** Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat Neurosci* **9**, 917-924, doi:nn1715 [pii] 10.1038/nn1715 (2006).
- Carrie, I., Clement, M., de Javel, D., Frances, H. & Bourre, J. M.** Specific phospholipid fatty acid composition of brain regions in mice. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and phospholipid supplementation. *J Lipid Res* **41**, 465-472 (2000).
- Carson, M. J., Doose, J. M., Melchior, B., Schmid, C. D. & Ploix, C. C.** CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunol Rev* **213**, 48-65, doi:IMR441 [pii] 10.1111/j.1600-065X.2006.00441.x (2006a).
- Carson, M. J., Reilly, C. R., Sutcliffe, J. G. & Lo, D.** Mature microglia resemble immature antigen-presenting cells. *Glia* **22**, 72-85, doi:10.1002/(SICI)1098-1136(199801)22:1<72::AID-GLIA7>3.0.CO;2-A [pii] (1998).
- Carson, M. J., Thrash, J. C. & Walter, B.** The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. *Clin Neurosci Res* **6**, 237-245, doi:10.1016/j.cnr.2006.09.004 (2006b).
- Cassatella, M. A., Meda, L., Gasperini, S., Calzetti, F. & Bonora, S.** Interleukin 10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharide-stimulated human polymorphonuclear leukocytes by delaying mRNA degradation. *J Exp Med* **179**, 1695-1699 (1994).

- Cavaillon, J. M. & Haeflner-Cavaillon, N.** [Cytokines and inflammation]. *Rev Prat* **43**, 547-552 (1993).
- Cella, M. et al.** Impaired differentiation of osteoclasts in TREM-2-deficient individuals. *J Exp Med* **198**, 645-651, doi:10.1084/jem.20022220 [pii] (2003).
- Chalon, S.** Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **75**, 259-269, doi:S0952-3278(06)00119-0 [pii] 10.1016/j.plefa.2006.07.005 (2006).
- Chalon, S. et al.** Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behavior in rats. *J Nutr* **128**, 2512-2519 (1998).
- Chamak, B., Dobbertin, A. & Mallat, M.** Immunohistochemical detection of thrombospondin in microglia in the developing rat brain. *Neuroscience* **69**, 177-187, doi:030645229500236C [pii] (1995).
- Champeil-Potokar, G. et al.** Astrocytes in culture require docosahexaenoic acid to restore the n-3/n-6 polyunsaturated fatty acid balance in their membrane phospholipids. *J Neurosci Res* **75**, 96-106, doi:10.1002/jnr.10817 (2004).
- Chan, A., Magnus, T. & Gold, R.** Phagocytosis of apoptotic inflammatory cells by microglia and modulation by different cytokines: mechanism for removal of apoptotic cells in the inflamed nervous system. *Glia* **33**, 87-95, doi:10.1002/1098-1136(20010101)33:1<87::AID-GLIA1008>3.0.CO;2-S [pii] (2001).
- Chauvet, N. et al.** Rat microglial cells secrete predominantly the precursor of interleukin-1beta in response to lipopolysaccharide. *Eur J Neurosci* **14**, 609-617, doi:ejn1686 [pii] (2001).
- Chen, Y., Bourne, J., Pieribone, V. A. & Fitzsimonds, R. M.** The role of actin in the regulation of dendritic spine morphology and bidirectional synaptic plasticity. *Neuroreport* **15**, 829-832, doi:00001756-200404090-00018 [pii] (2004).
- Chen, Y. et al.** Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in the brain exacerbates ischemic brain injury and is associated with recruitment of inflammatory cells. *J Cereb Blood Flow Metab* **23**, 748-755, doi:10.1097/01.WCB.0000071885.63724.20 (2003).
- Chen, Z. et al.** Lipopolysaccharide-induced microglial activation and neuroprotection against experimental brain injury is independent of hematogenous TLR4. *J Neurosci* **32**, 11706-11715, doi:32/34/11706 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.0730-12.2012 (2012).
- Chhor, V. et al.** Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia in vitro. *Brain Behav Immun* **32**, 70-85, doi:S0889-1591(13)00127-X [pii] 10.1016/j.bbi.2013.02.005 (2013).
- Chitnis, T. et al.** Elevated neuronal expression of CD200 protects Wlds mice from inflammation-mediated neurodegeneration. *Am J Pathol* **170**, 1695-1712, doi:S0002-9440(10)61382-X [pii] 10.2353/ajpath.2007.060677 (2007).
- Christopherson, K. S. et al.** Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell* **120**, 421-433, doi:S0092-8674(04)01245-0 [pii] 10.1016/j.cell.2004.12.020 (2005).
- Chung, W. L., Chen, J. J. & Su, H. M.** Fish oil supplementation of control and (n-3) fatty acid-deficient male rats enhances reference and working memory performance and increases brain regional docosahexaenoic acid levels. *J Nutr* **138**, 1165-1171, doi:138/6/1165 [pii] (2008).
- Clandinin, M. T.** Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid. *Lipids* **34**, 131-137 (1999).
- Clandinin, M. T. et al.** Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev* **4**, 131-138, doi:0378-3782(80)90016-X [pii] (1980).

- Clark, A. K. et al.** Inhibition of spinal microglial cathepsin S for the reversal of neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 10655-10660, doi:0610811104 [pii] 10.1073/pnas.0610811104 (2007).
- Coburn, C. T. et al.** Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem* **275**, 32523-32529, doi:10.1074/jbc.M003826200 M003826200 [pii] (2000).
- Coleman, P. D. & Yao, P. J.** Synaptic slaughter in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **24**, 1023-1027, doi:S0197458003002021 [pii] (2003).
- Collins, C. T. et al.** Pre- and post-term growth in pre-term infants supplemented with higher-dose DHA: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* **105**, 1635-1643, doi:S000711451000509X [pii] 10.1017/S000711451000509X (2011).
- Colonnier, M.** Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res* **9**, 268-287 (1968).
- Colton, C. A.** Heterogeneity of microglial activation in the innate immune response in the brain. *J Neuroimmune Pharmacol* **4**, 399-418, doi:10.1007/s11481-009-9164-4 (2009).
- Colton, C. A. et al.** Expression profiles for macrophage alternative activation genes in AD and in mouse models of AD. *J Neuroinflammation* **3**, 27, doi:1742-2094-3-27 [pii] 10.1186/1742-2094-3-27 (2006).
- Coluccia, A. et al.** Developmental omega-3 supplementation improves motor skills in juvenile-adult rats. *Int J Dev Neurosci* **27**, 599-605, doi:S0736-5748(09)00078-1 [pii] 10.1016/j.ijdevneu.2009.05.011 (2009).
- Conductier, G., Blondeau, N., Guyon, A., Nahon, J. L. & Rovere, C.** The role of monocyte chemoattractant protein MCP1/CCL2 in neuroinflammatory diseases. *J Neuroimmunol* **224**, 93-100, doi:S0165-5728(10)00194-3 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2010.05.010 (2010).
- Conforti, F., Statti, G. A., Tundis, R., Loizzo, M. R. & Menichini, F.** In vitro activities of *Citrus medica* L. cv. Diamante (Diamante citron) relevant to treatment of diabetes and Alzheimer's disease. *Phytother Res* **21**, 427-433, doi:10.1002/ptr.2077 (2007).
- Cooke, S. F. et al.** Autophosphorylation of alphaCaMKII is not a general requirement for NMDA receptor-dependent LTP in the adult mouse. *J Physiol* **574**, 805-818, doi:jphysiol.2006.111559 [pii] 10.1113/jphysiol.2006.111559 (2006).
- 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, doi:S0002-9440(10)64354-4 [pii] (2002).
- Corona, A. W. et al.** Indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition attenuates lipopolysaccharide induced persistent microglial activation and depressive-like complications in fractalkine receptor (CX(3)CR1)-deficient mice. *Brain Behav Immun* **31**, 134-142, doi:S0889-1591(12)00395-9 [pii] 10.1016/j.bbi.2012.08.008 (2013).
- Corriveau, R. A., Huh, G. S. & Shatz, C. J.** Regulation of class I MHC gene expression in the developing and mature CNS by neural activity. *Neuron* **21**, 505-520, doi:S0896-6273(00)80562-0 [pii] (1998).
- Coti Bertrand, P., O'Kusky, J. R. & Innis, S. M.** Maternal dietary (n-3) fatty acid deficiency alters neurogenesis in the embryonic rat brain. *J Nutr* **136**, 1570-1575, doi:136/6/1570 [pii] (2006).
- Coull, J. A. et al.** BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* **438**, 1017-1021, doi:nature04223 [pii] 10.1038/nature04223 (2005).
- Crawford, M. A.** The role of essential fatty acids in neural development: implications for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* **57**, 703S-709S; discussion 709S-710S (1993).

- Croisier, E. & Graeber, M. B.** Glial degeneration and reactive gliosis in alpha-synucleinopathies: the emerging concept of primary gliodegeneration. *Acta Neuropathol* **112**, 517-530, doi:10.1007/s00401-006-0119-z (2006).
- Cruz-Martin, A., Crespo, M. & Portera-Cailliau, C.** Delayed stabilization of dendritic spines in fragile X mice. *J Neurosci* **30**, 7793-7803, doi:10.1523/JNEUROSCI.0577-10.2010 [pii] (2010).
- Cuadros, M. A., Martin, C., Coltey, P., Almendros, A. & Navascues, J.** First appearance, distribution, and origin of macrophages in the early development of the avian central nervous system. *J Comp Neurol* **330**, 113-129, doi:10.1002/cne.903300110 (1993).
- Cuadros, M. A. & Navascues, J.** The origin and differentiation of microglial cells during development. *Prog Neurobiol* **56**, 173-189, doi:S0301-0082(98)00035-5 [pii] (1998).
- Cunnane, S. C., Francescutti, V., Brenna, J. T. & Crawford, M. A.** Breast-fed infants achieve a higher rate of brain and whole body docosahexaenoate accumulation than formula-fed infants not consuming dietary docosahexaenoate. *Lipids* **35**, 105-111 (2000).

D

- Dalmau, I., Vela, J. M., Gonzalez, B., Finsen, B. & Castellano, B.** Dynamics of microglia in the developing rat brain. *J Comp Neurol* **458**, 144-157, doi:10.1002/cne.10572 (2003).
- Dantzer, R.** Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann N Y Acad Sci* **933**, 222-234 (2001).
- Dantzer, R. & Kelley, K. W.** Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. *Life Sci* **44**, 1995-2008 (1989).
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W. & Kelley, K. W.** From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* **9**, 46-56, doi:nrn2297 [pii] 10.1038/nrn2297 (2008).
- Datwani, A. et al.** Classical MHCI molecules regulate retinogeniculate refinement and limit ocular dominance plasticity. *Neuron* **64**, 463-470, doi:S0896-6273(09)00844-7 [pii] 10.1016/j.neuron.2009.10.015 (2009).
- Davalos, D. et al.** ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci* **8**, 752-758, doi:nn1472 [pii] 10.1038/nn1472 (2005).
- de Groot, C. J., Hupples, W., Sminia, T., Kraal, G. & Dijkstra, C. D.** Determination of the origin and nature of brain macrophages and microglial cells in mouse central nervous system, using non-radioactive in situ hybridization and immunoperoxidase techniques. *Glia* **6**, 301-309, doi:10.1002/glia.440060408 (1992).
- de Groot, R. H., Hornstra, G. & Jolles, J.** Exploratory study into the relation between plasma phospholipid fatty acid status and cognitive performance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **76**, 165-172, doi:S0952-3278(07)00003-8 [pii] 10.1016/j.plefa.2007.01.001 (2007).
- de Haas, A. H., Boddeke, H. W. & Biber, K.** Region-specific expression of immunoregulatory proteins on microglia in the healthy CNS. *Glia* **56**, 888-894, doi:10.1002/glia.20663 (2008).
- de Haas, A. H., Boddeke, H. W., Brouwer, N. & Biber, K.** Optimized isolation enables ex vivo analysis of microglia from various central nervous system regions. *Glia* **55**, 1374-1384, doi:10.1002/glia.20554 (2007).

- De Smedt-Peyrusse, V. et al.** Docosahexaenoic acid prevents lipopolysaccharide-induced cytokine production in microglial cells by inhibiting lipopolysaccharide receptor presentation but not its membrane subdomain localization. *J Neurochem* **105**, 296-307, doi:JNC5129 [pii] 10.1111/j.1471-4159.2007.05129.x (2008).
- de Vries, H. E. et al.** Signal-regulatory protein alpha-CD47 interactions are required for the transmigration of monocytes across cerebral endothelium. *J Immunol* **168**, 5832-5839 (2002).
- Deckert, M., Sedgwick, J. D., Fischer, E. & Schluter, D.** Regulation of microglial cell responses in murine Toxoplasma encephalitis by CD200/CD200 receptor interaction. *Acta Neuropathol* **111**, 548-558, doi:10.1007/s00401-006-0062-z (2006).
- Decsi, T., Campoy, C. & Koletzko, B.** Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol* **569**, 109-113, doi:10.1007/1-4020-3535-7_15 (2005).
- Dehorter, N., Vinay, L., Hammond, C. & Ben-Ari, Y.** Timing of developmental sequences in different brain structures: physiological and pathological implications. *Eur J Neurosci* **35**, 1846-1856, doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08152.x (2012).
- Del Prete, G. et al.** Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol* **150**, 353-360 (1993).
- Del Rio-Hortega, P.** Are the glia with very few processes homologous with Schwann cells? by Pio del Rio-Hortega. 1922. *Clin Neuropathol* **31**, 460-462, doi:10062 [pii] (2012).
- Delion, S. et al.** Age-related changes in phospholipid fatty acid composition and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus of rats fed a balanced or an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet. *J Lipid Res* **38**, 680-689 (1997).
- Delion, S. et al.** Chronic dietary alpha-linolenic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmission in rats. *J Nutr* **124**, 2466-2476 (1994).
- Dempsey, P. W., Doyle, S. E., He, J. Q. & Cheng, G.** The signaling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev* **14**, 193-209, doi:S1359610103000212 [pii] (2003).
- Depboylu, C. et al.** Upregulation of microglial C1q expression has no effects on nigrostriatal dopaminergic injury in the MPTP mouse model of Parkinson disease. *J Neuroimmunol* **236**, 39-46, doi:S0165-5728(11)00135-4 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2011.05.006 (2011).
- Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S. & Sawaya, B. E.** Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res* **29**, 313-326, doi:10.1089/jir.2008.0027 (2009).
- Desjardins, M. et al.** Molecular characterization of phagosomes. *J Biol Chem* **269**, 32194-32200 (1994).
- Desvergne, B. & Wahli, W.** Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* **20**, 649-688 (1999).
- Devane, W. A. et al.** Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* **258**, 1946-1949 (1992).
- Devchand, P. R. et al.** The PPARalpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control. *Nature* **384**, 39-43, doi:10.1038/384039a0 (1996).
- Dibaj, P. et al.** NO mediates microglial response to acute spinal cord injury under ATP control in vivo. *Glia* **58**, 1133-1144, doi:10.1002/glia.20993 (2010).
- Dieterlen-Lievre, F.** On the origin of haemopoietic stem cells in the avian embryo: an experimental approach. *J Embryol Exp Morphol* **33**, 607-619 (1975).
- Dijkstra, I. M., Hulshof, S., van der Valk, P., Boddeke, H. W. & Biber, K.** Cutting edge: activity of human adult microglia in response to CC chemokine ligand 21. *J Immunol* **172**, 2744-2747 (2004).
- Dinarello, C. A.** Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* **87**, 2095-2147 (1996).
- Dinarello, C. A.** Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme. *Ann N Y Acad Sci* **856**, 1-11 (1998).

- Domercq, M. et al.** P2Y1 receptor-evoked glutamate exocytosis from astrocytes: control by tumor necrosis factor-alpha and prostaglandins. *J Biol Chem* **281**, 30684-30696, doi:M606429200 [pii] 10.1074/jbc.M606429200 (2006).
- Dong, Y. & Benveniste, E. N.** Immune function of astrocytes. *Glia* **36**, 180-190, doi:10.1002/glia.1107 [pii] (2001).
- Downer, E. J. et al.** A novel anti-inflammatory role of NCAM-derived mimetic peptide, FGL. *Neurobiol Aging* **31**, 118-128, doi:S0197-4580(08)00101-2 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.017 (2010).
- Draper, E. et al.** Omega-3 fatty acids attenuate dendritic cell function via NF-kappaB independent of PPARgamma. *J Nutr Biochem* **22**, 784-790, doi:S0955-2863(10)00167-1 [pii] 10.1016/j.jnutbio.2010.06.009 (2011).
- Dubois, R. N. et al.** Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* **12**, 1063-1073 (1998).
- Dudley, D. T. & Spector, A. A.** Inositol phospholipid arachidonic acid metabolism in GH3 pituitary cells. *Biochem J* **236**, 235-242 (1986).
- Duhe, R. J. & Farrar, W. L.** Structural and mechanistic aspects of Janus kinases: how the two-faced god wields a double-edged sword. *J Interferon Cytokine Res* **18**, 1-15 (1998).
- Dunne, A. & O'Neill, L. A.** The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: signal transduction during inflammation and host defense. *Sci STKE* **2003**, re3, doi:10.1126/stke.2003.171.re3 2003/171/re3 [pii] (2003).
- Dustin, M. L.** Signaling at neuro/immune synapses. *J Clin Invest* **122**, 1149-1155, doi:58705 [pii] 10.1172/JCI58705 (2012).
- Dyerberg, J. & Bang, H. O.** Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* **2**, 433-435, doi:S0140-6736(79)91490-9 [pii] (1979).

E

- Ebert, S. et al.** Docosahexaenoic acid attenuates microglial activation and delays early retinal degeneration. *J Neurochem* **110**, 1863-1875, doi:JNC6286 [pii] 10.1111/j.1471-4159.2009.06286.x (2009).
- Eder, C.** Regulation of microglial behavior by ion channel activity. *J Neurosci Res* **81**, 314-321, doi:10.1002/jnr.20476 (2005).
- Eggen, B. J., Raj, D., Hanisch, U. K. & Boddeke, H. W.** Microglial phenotype and adaptation. *J Neuroimmune Pharmacol* **8**, 807-823, doi:10.1007/s11481-013-9490-4 (2013).
- El Khoury, J. et al.** Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to beta-amyloid fibrils. *Nature* **382**, 716-719, doi:10.1038/382716a0 (1996).
- el Khoury, J. et al.** Macrophages adhere to glucose-modified basement membrane collagen IV via their scavenger receptors. *J Biol Chem* **269**, 10197-10200 (1994).
- El Khoury, J. B. et al.** CD36 mediates the innate host response to beta-amyloid. *J Exp Med* **197**, 1657-1666, doi:10.1084/jem.20021546 jem.20021546 [pii] (2003).
- Elliott, M. R. et al.** Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance. *Nature* **461**, 282-286, doi:nature08296 [pii] 10.1038/nature08296 (2009).

- Endemann, G. et al.** CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* **268**, 11811-11816 (1993).
- Engert, F. & Bonhoeffer, T.** Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* **399**, 66-70, doi:10.1038/19978 (1999).
- Eskes, C., Juillerat-Jeanneret, L., Leuba, G., Honegger, P. & Monnet-Tschudi, F.** Involvement of microglia-neuron interactions in the tumor necrosis factor-alpha release, microglial activation, and neurodegeneration induced by trimethyltin. *J Neurosci Res* **71**, 583-590, doi:10.1002/jnr.10508 (2003).

E

- Facchinetti, F., Del Giudice, E., Furegato, S., Passarotto, M. & Leon, A.** Cannabinoids ablate release of TNFalpha in rat microglial cells stimulated with lypopolysaccharide. *Glia* **41**, 161-168 (2003).
- Fadok, V. A., Bratton, D. L. & Henson, P. M.** Phagocyte receptors for apoptotic cells: recognition, uptake, and consequences. *J Clin Invest* **108**, 957-962, doi:10.1172/JCI14122 (2001a).
- Fadok, V. A. et al.** Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* **101**, 890-898, doi:10.1172/JCI1112 (1998).
- Fadok, V. A. et al.** A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* **405**, 85-90, doi:10.1038/35011084 (2000).
- Fadok, V. A. & Chimini, G.** The phagocytosis of apoptotic cells. *Semin Immunol* **13**, 365-372, doi:10.1006/smim.2001.0333 S1044-5323(01)90333-1 [pii] (2001b).
- Farooqui, A. A. & Horrocks, L. A.** Phospholipase A2-generated lipid mediators in the brain: the good, the bad, and the ugly. *Neuroscientist* **12**, 245-260, doi:10.1177/1073858405285923 (2006).
- Febbraio, M., Hajjar, D. P. & Silverstein, R. L.** CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest* **108**, 785-791, doi:10.1172/JCI14006 (2001).
- Fedoroff, S., Zhai, R. & Novak, J. P.** Microglia and astroglia have a common progenitor cell. *J Neurosci Res* **50**, 477-486, doi:10.1002/(SICI)1097-4547(19971101)50:3<477::AID-JNR14>3.0.CO;2-3 [pii] (1997).
- Fedorova, I. & Salem, N., Jr.** Omega-3 fatty acids and rodent behavior. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **75**, 271-289, doi:S0952-3278(06)00120-7 [pii] 10.1016/j.plefa.2006.07.006 (2006).
- Feinberg, I.** Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence? *J Psychiatr Res* **17**, 319-334 (1982).
- Feng, J. et al.** 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**, 688-696 (2000).
- Fenn, A. M., Henry, C. J., Huang, Y., Dugan, A. & Godbout, J. P.** Lipopolysaccharide-induced interleukin (IL)-4 receptor-alpha expression and corresponding sensitivity to the M2 promoting effects of IL-4 are impaired in microglia of aged mice. *Brain Behav Immun* **26**, 766-777, doi:S0889-1591(11)00563-0 [pii] 10.1016/j.bbi.2011.10.003 (2012).

- Fenn, A. M. et al.** Increased micro-RNA 29b in the aged brain correlates with the reduction of insulin-like growth factor-1 and fractalkine ligand. *Neurobiol Aging* **34**, 2748-2758, doi:S0197-4580(13)00262-5 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.007 (2013).
- Ferreira, R. et al.** Neuropeptide Y inhibits interleukin-1 beta-induced microglia motility. *J Neurochem* **120**, 93-105, doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07541.x (2012).
- Fiacco, T. A. & McCarthy, K. D.** Intracellular astrocyte calcium waves in situ increase the frequency of spontaneous AMPA receptor currents in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* **24**, 722-732, doi:10.1523/JNEUROSCI.2859-03.2004 24/3/722 [pii] (2004).
- Fiala, J. C., Allwardt, B. & Harris, K. M.** Dendritic spines do not split during hippocampal LTP or maturation. *Nat Neurosci* **5**, 297-298, doi:10.1038/nn830 nn830 [pii] (2002).
- Finch, C. E., Laping, N. J., Morgan, T. E., Nichols, N. R. & Pasinetti, G. M.** TGF-beta 1 is an organizer of responses to neurodegeneration. *J Cell Biochem* **53**, 314-322, doi:10.1002/jcb.240530408 (1993).
- Fiorentino, D. F., Bond, M. W. & Mosmann, T. R.** Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* **170**, 2081-2095 (1989).
- Fitzner, D. et al.** Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *J Cell Sci* **124**, 447-458, doi:124/3/447 [pii] 10.1242/jcs.074088 (2011).
- Flanders, K. C. et al.** Localization and actions of transforming growth factor-beta s in the embryonic nervous system. *Development* **113**, 183-191 (1991).
- Flynn, G., Maru, S., Loughlin, J., Romero, I. A. & Male, D.** Regulation of chemokine receptor expression in human microglia and astrocytes. *J Neuroimmunol* **136**, 84-93, doi:S0165572803000092 [pii] (2003).
- Fontainhas, A. M. et al.** Microglial morphology and dynamic behavior is regulated by ionotropic glutamatergic and GABAergic neurotransmission. *PLoS One* **6**, e15973, doi:10.1371/journal.pone.0015973 (2011).
- Fontani, G. et al.** Blood profiles, body fat and mood state in healthy subjects on different diets supplemented with Omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Eur J Clin Invest* **35**, 499-507, doi:ECI1540 [pii] 10.1111/j.1365-2362.2005.01540.x (2005).
- Ford, A. L., Goodsall, A. L., Hickey, W. F. & Sedgwick, J. D.** Normal adult ramified microglia separated from other central nervous system macrophages by flow cytometric sorting. Phenotypic differences defined and direct ex vivo antigen presentation to myelin basic protein-reactive CD4+ T cells compared. *J Immunol* **154**, 4309-4321 (1995).
- Frances, H. et al.** Influence of a dietary alpha-linolenic acid deficiency on learning in the Morris water maze and on the effects of morphine. *Eur J Pharmacol* **298**, 217-225, doi:001429999500825X [pii] (1996).
- Frank, M. G., Baratta, M. V., Sprunger, D. B., Watkins, L. R. & Maier, S. F.** Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. *Brain Behav Immun* **21**, 47-59, doi:S0889-1591(06)00041-9 [pii] 10.1016/j.bbi.2006.03.005 (2007).
- Fraser, D. A. & Tenner, A. J.** Directing an appropriate immune response: the role of defense collagens and other soluble pattern recognition molecules. *Curr Drug Targets* **9**, 113-122 (2008).
- Freund-Levi, Y. et al.** Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegAD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol* **63**, 1402-1408, doi:63/10/1402 [pii] 10.1001/archneur.63.10.1402 (2006).

- Freund-Levi, Y. et al.** Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory markers in cerebrospinal fluid and plasma in Alzheimer's disease: the OmegAD study. *Dement Geriatr Cogn Disord* **27**, 481-490, doi:000218081 [pii] 10.1159/000218081 (2009).
- Fricker, M. et al.** MFG-E8 mediates primary phagocytosis of viable neurons during neuroinflammation. *J Neurosci* **32**, 2657-2666, doi:32/8/2657 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.4837-11.2012 (2012).
- Fu, H. et al.** Complement component C3 and complement receptor type 3 contribute to the phagocytosis and clearance of fibrillar Abeta by microglia. *Glia* **60**, 993-1003, doi:10.1002/glia.22331 (2012).
- Fuentes-Medel, Y. et al.** Glia and muscle sculpt neuromuscular arbors by engulfing destabilized synaptic boutons and shed presynaptic debris. *PLoS Biol* **7**, e1000184, doi:10.1371/journal.pbio.1000184 (2009).
- Fujioka, Y. et al.** A novel membrane glycoprotein, SHPS-1, that binds the SH2-domain-containing protein tyrosine phosphatase SHP-2 in response to mitogens and cell adhesion. *Mol Cell Biol* **16**, 6887-6899 (1996).
- Fujita, S., Ikegaya, Y., Nishikawa, M., Nishiyama, N. & Matsuki, N.** Docosahexaenoic acid improves long-term potentiation attenuated by phospholipase A(2) inhibitor in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol* **132**, 1417-1422, doi:10.1038/sj.bjp.0703970 (2001).
- Fuller, A. D. & Van Eldik, L. J.** MFG-E8 regulates microglial phagocytosis of apoptotic neurons. *J Neuroimmune Pharmacol* **3**, 246-256, doi:10.1007/s11481-008-9118-2 (2008).

G

- Gagelin, C., Pierre, M., Gavaret, J. M. & Toru-Delbaffe, D.** Rapid TGF beta 1 effects on actin cytoskeleton of astrocytes: comparison with other factors and implications for cell motility. *Glia* **13**, 283-293, doi:10.1002/glia.440130405 (1995).
- Galea, I. et al.** An antigen-specific pathway for CD8 T cells across the blood-brain barrier. *J Exp Med* **204**, 2023-2030, doi:jem.20070064 [pii] 10.1084/jem.20070064 (2007).
- Gardai, S. J. et al.** Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell* **123**, 321-334, doi:S0092-8674(05)00869-X [pii] 10.1016/j.cell.2005.08.032 (2005).
- Garin, J. et al.** The phagosome proteome: insight into phagosome functions. *J Cell Biol* **152**, 165-180 (2001).
- Gasque, P.** Complement: a unique innate immune sensor for danger signals. *Mol Immunol* **41**, 1089-1098, doi:S0161-5890(04)00218-4 [pii] 10.1016/j.molimm.2004.06.011 (2004).
- Gatti, S. & Bartfai, T.** Induction of tumor necrosis factor-alpha mRNA in the brain after peripheral endotoxin treatment: comparison with interleukin-1 family and interleukin-6. *Brain Res* **624**, 291-294, doi:0006-8993(93)90090-A [pii] (1993).
- Gautier, E. L. et al.** Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nat Immunol* **13**, 1118-1128, doi:ni.2419 [pii] 10.1038/ni.2419 (2012).

- Geng, Y., Gulbins, E., Altman, A. & Lotz, M.** Monocyte deactivation by interleukin 10 via inhibition of tyrosine kinase activity and the Ras signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 8602-8606 (1994).
- Gibbons, H. M. et al.** Valproic acid induces microglial dysfunction, not apoptosis, in human glial cultures. *Neurobiol Dis* **41**, 96-103, doi:S0969-9961(10)00296-2 [pii] 10.1016/j.nbd.2010.08.024 (2011).
- Ginhoux, F. et al.** Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* **330**, 841-845, doi:science.1194637 [pii] 10.1126/science.1194637 (2010a).
- Ginhoux, F., Lim, S., Hoeffel, G., Low, D. & Huber, T.** Origin and differentiation of microglia. *Front Cell Neurosci* **7**, 45, doi:10.3389/fncel.2013.00045 (2013).
- Ginhoux, F. & Merad, M.** Ontogeny and homeostasis of Langerhans cells. *Immunol Cell Biol* **88**, 387-392, doi:icb201038 [pii] 10.1038/icb.2010.38 (2010b).
- Gitik, M., Liraz-Zaltsman, S., Oldenburg, P. A., Reichert, F. & Rotshenker, S.** Myelin down-regulates myelin phagocytosis by microglia and macrophages through interactions between CD47 on myelin and SIRPalpha (signal regulatory protein-alpha) on phagocytes. *J Neuroinflammation* **8**, 24, doi:1742-2094-8-24 [pii] 10.1186/1742-2094-8-24 (2011).
- Giulian, D. & Baker, T. J.** Characterization of ameboid microglia isolated from developing mammalian brain. *J Neurosci* **6**, 2163-2178 (1986).
- Glabinski, A. R. et al.** Chemokine monocyte chemoattractant protein-1 is expressed by astrocytes after mechanical injury to the brain. *J Immunol* **156**, 4363-4368 (1996).
- Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C. & Gage, F. H.** Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* **140**, 918-934, doi:S0092-8674(10)00168-6 [pii] 10.1016/j.cell.2010.02.016 (2010).
- Glenn, J. A., Booth, P. L. & Thomas, W. E.** Pinocytotic activity in ramified microglia. *Neurosci Lett* **123**, 27-31, doi:0304-3940(91)90150-R [pii] (1991).
- Glezer, I., Chernomoretz, A., David, S., Plante, M. M. & Rivest, S.** Genes involved in the balance between neuronal survival and death during inflammation. *PLoS One* **2**, e310, doi:10.1371/journal.pone.0000310 (2007a).
- Glezer, I., Simard, A. R. & Rivest, S.** Neuroprotective role of the innate immune system by microglia. *Neuroscience* **147**, 867-883, doi:S0306-4522(07)00258-8 [pii] 10.1016/j.neuroscience.2007.02.055 (2007b).
- Glezer, I., Zekki, H., Scavone, C. & Rivest, S.** Modulation of the innate immune response by NMDA receptors has neuropathological consequences. *J Neurosci* **23**, 11094-11103, doi:23/35/11094 [pii] (2003).
- Glomset, J. A.** Role of docosahexaenoic acid in neuronal plasma membranes. *Sci STKE* **2006**, pe6, doi:stke.3212006pe6 [pii] 10.1126/stke.3212006pe6 (2006).
- Goddard, C. A., Butts, D. A. & Shatz, C. J.** Regulation of CNS synapses by neuronal MHC class I. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 6828-6833, doi:0702023104 [pii] 10.1073/pnas.0702023104 (2007).
- Goldstein, J. L., Anderson, R. G. & Brown, M. S.** Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis. *Nature* **279**, 679-685 (1979).
- Gomez Perdiguerro, E., Schulz, C. & Geissmann, F.** Development and homeostasis of "resident" myeloid cells: the case of the microglia. *Glia* **61**, 112-120, doi:10.1002/glia.22393 (2013).
- Gordon, S.** Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* **3**, 23-35, doi:10.1038/nri978 nri978 [pii] (2003).
- Gordon, S.** Macrophage heterogeneity and tissue lipids. *J Clin Invest* **117**, 89-93, doi:10.1172/JCI30992 (2007).

- Gorjao, R. et al.** Effect of docosahexaenoic acid-rich fish oil supplementation on human leukocyte function. *Clin Nutr* **25**, 923-938, doi:S0261-5614(06)00075-6 [pii] 10.1016/j.clnu.2006.03.004 (2006).
- Goshen, I. et al.** A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology* **32**, 1106-1115, doi:S0306-4530(07)00212-0 [pii] 10.1016/j.psyneuen.2007.09.004 (2007).
- Gottfried-Blackmore, A. et al.** Acute in vivo exposure to interferon-gamma enables resident brain dendritic cells to become effective antigen presenting cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 20918-20923, doi:0911509106 [pii] 10.1073/pnas.0911509106 (2009).
- Goverman, J. M.** Immune tolerance in multiple sclerosis. *Immunol Rev* **241**, 228-240, doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01016.x (2011).
- Graeber, M. B. & Kreutzberg, G. W.** Delayed astrocyte reaction following facial nerve axotomy. *J Neurocytol* **17**, 209-220 (1988a).
- Graeber, M. B., Li, W. & Rodriguez, M. L.** Role of microglia in CNS inflammation. *FEBS Lett* **585**, 3798-3805, doi:S0014-5793(11)00635-1 [pii] 10.1016/j.febslet.2011.08.033 (2011).
- Graeber, M. B. & Streit, W. J.** Microglia: immune network in the CNS. *Brain Pathol* **1**, 2-5 (1990).
- Graeber, M. B., Tetzlaff, W., Streit, W. J. & Kreutzberg, G. W.** Microglial cells but not astrocytes undergo mitosis following rat facial nerve axotomy. *Neurosci Lett* **85**, 317-321 (1988b).
- Gray, E. G.** Electron microscopy of synaptic contacts on dendrite spines of the cerebral cortex. *Nature* **183**, 1592-1593 (1959).
- Green, P., Glozman, S., Kamensky, B. & Yavin, E.** Developmental changes in rat brain membrane lipids and fatty acids. The preferential prenatal accumulation of docosahexaenoic acid. *J Lipid Res* **40**, 960-966 (1999).
- Green, P. & Yavin, E.** Fatty acid composition of late embryonic and early postnatal rat brain. *Lipids* **31**, 859-865 (1996a).
- Green, P. & Yavin, E.** Natural and accelerated docosahexaenoic acid accumulation in the prenatal rat brain. *Lipids* **31 Suppl**, S235-238 (1996b).
- Greenberg, J. W., Fischer, W. & Joiner, K. A.** Influence of lipoteichoic acid structure on recognition by the macrophage scavenger receptor. *Infect Immun* **64**, 3318-3325 (1996).
- Greenwalt, D. E. et al.** Membrane glycoprotein CD36: a review of its roles in adherence, signal transduction, and transfusion medicine. *Blood* **80**, 1105-1115 (1992).
- Groeger, A. L. et al.** Cyclooxygenase-2 generates anti-inflammatory mediators from omega-3 fatty acids. *Nat Chem Biol* **6**, 433-441, doi:nchembio.367 [pii] 10.1038/nchembio.367 (2010).
- Grommes, C. et al.** Regulation of microglial phagocytosis and inflammatory gene expression by Gas6 acting on the Axl/Mer family of tyrosine kinases. *J Neuroimmune Pharmacol* **3**, 130-140, doi:10.1007/s11481-007-9090-2 (2008).
- Guesnet, P., Pascal, G. & Durand, G.** Dietary alpha-linolenic acid deficiency in the rat. I. Effects on reproduction and postnatal growth. *Reprod Nutr Dev* **26**, 969-985 (1986).
- Guillemin, G. J. & Brew, B. J.** Microglia, macrophages, perivascular macrophages, and pericytes: a review of function and identification. *J Leukoc Biol* **75**, 388-397, doi:10.1189/jlb.0303114 jlb.0303114 [pii] (2004).

- Haddad, J. J., Saade, N. E. & Safieh-Garabedian, B.** Interleukin-10 and the regulation of mitogen-activated protein kinases: are these signalling modules targets for the anti-inflammatory action of this cytokine? *Cell Signal* **15**, 255-267, doi:S089865680200075X [pii] (2003).
- Hagberg, H., Gressens, P. & Mallard, C.** Inflammation during fetal and neonatal life: implications for neurologic and neuropsychiatric disease in children and adults. *Ann Neurol* **71**, 444-457, doi:10.1002/ana.22620 (2012).
- Hajri, T. & Abumrad, N. A.** Fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology. *Annu Rev Nutr* **22**, 383-415, doi:10.1146/annurev.nutr.22.020402.130846 020402.130846 [pii] (2002).
- Halassa, M. M. & Haydon, P. G.** Integrated brain circuits: astrocytic networks modulate neuronal activity and behavior. *Annu Rev Physiol* **72**, 335-355, doi:10.1146/annurev-physiol-021909-135843 (2010).
- Halvorsen, D. S. et al.** The effect of highly purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on monocyte phagocytosis in man. *Lipids* **32**, 935-942 (1997).
- Hamerman, J. A., Tchao, N. K., Lowell, C. A. & Lanier, L. L.** Enhanced Toll-like receptor responses in the absence of signaling adaptor DAP12. *Nat Immunol* **6**, 579-586, doi:ni1204 [pii] 10.1038/ni1204 (2005).
- Hampton, R. Y., Golenbock, D. T., Penman, M., Krieger, M. & Raetz, C. R.** Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature* **352**, 342-344, doi:10.1038/352342a0 (1991).
- Han, J. & Ulevitch, R. J.** Limiting inflammatory responses during activation of innate immunity. *Nat Immunol* **6**, 1198-1205, doi:ni1274 [pii] 10.1038/ni1274 (2005).
- Hanayama, R., Tanaka, M., Miwa, K. & Nagata, S.** Expression of developmental endothelial locus-1 in a subset of macrophages for engulfment of apoptotic cells. *J Immunol* **172**, 3876-3882 (2004).
- Hanayama, R. et al.** Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature* **417**, 182-187, doi:10.1038/417182a 417182a [pii] (2002).
- Hanisch, U. K.** Functional diversity of microglia - how heterogeneous are they to begin with? *Front Cell Neurosci* **7**, 65, doi:10.3389/fncel.2013.00065 (2013).
- Hanisch, U. K.** Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* **40**, 140-155, doi:10.1002/glia.10161 (2002).
- Hanisch, U. K. & Kettenmann, H.** Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* **10**, 1387-1394, doi:nn1997 [pii] 10.1038/nn1997 (2007).
- Harmon, C. M. & Abumrad, N. A.** 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**, 43-49 (1993).
- Harrison, J. K. et al.** Mutational analysis of the fractalkine chemokine domain. Basic amino acid residues differentially contribute to CX3CR1 binding, signaling, and cell adhesion. *J Biol Chem* **276**, 21632-21641, doi:10.1074/jbc.M010261200 M010261200 [pii] (2001).
- Harrison, J. K. et al.** Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 10896-10901 (1998).
- Harrison, P. J.** The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* **122 (Pt 4)**, 593-624 (1999).
- Harry, G. J.** Microglia during development and aging. *Pharmacol Ther* **139**, 313-326, doi:S0163-7258(13)00103-4 [pii] 10.1016/j.pharmthera.2013.04.013 (2013).

- Haworth, O., Cernadas, M., Yang, R., Serhan, C. N. & Levy, B. D.** Resolvin E1 regulates interleukin 23, interferon-gamma and lipoxin A4 to promote the resolution of allergic airway inflammation. *Nat Immunol* **9**, 873-879, doi:ni.1627 [pii] 10.1038/ni.1627 (2008).
- Hayashi, Y., Ishibashi, H., Hashimoto, K. & Nakanishi, H.** Potentiation of the NMDA receptor-mediated responses through the activation of the glycine site by microglia secreting soluble factors. *Glia* **53**, 660-668, doi:10.1002/glia.20322 (2006).
- Hayes, G. M., Woodroffe, M. N. & Cuzner, M. L.** Microglia are the major cell type expressing MHC class II in human white matter. *J Neurol Sci* **80**, 25-37 (1987).
- Haynes, S. E. et al.** The P2Y₁₂ receptor regulates microglial activation by extracellular nucleotides. *Nat Neurosci* **9**, 1512-1519, doi:nn1805 [pii] 10.1038/nn1805 (2006).
- Hengartner, M. O.** Programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Recent Prog Horm Res* **54**, 213-222; discussion 222-214 (1999).
- Henneberger, C., Papouin, T., Oliet, S. H. & Rusakov, D. A.** Long-term potentiation depends on release of D-serine from astrocytes. *Nature* **463**, 232-236, doi:nature08673 [pii] 10.1038/nature08673 (2010).
- Henry, C. J., Huang, Y., Wynne, A. M. & Godbout, J. P.** Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 β and anti-inflammatory IL-10 cytokines. *Brain Behav Immun* **23**, 309-317, doi:S0889-1591(08)00348-6 [pii] 10.1016/j.bbi.2008.09.002 (2009).
- Heppner, F. L. et al.** Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. *Nat Med* **11**, 146-152, doi:nm1177 [pii] 10.1038/nm1177 (2005).
- Herbomel, P., Thisse, B. & Thisse, C.** Ontogeny and behaviour of early macrophages in the zebrafish embryo. *Development* **126**, 3735-3745 (1999).
- Herbomel, P., Thisse, B. & Thisse, C.** Zebrafish early macrophages colonize cephalic mesenchyme and developing brain, retina, and epidermis through a M-CSF receptor-dependent invasive process. *Dev Biol* **238**, 274-288, doi:10.1006/dbio.2001.0393 S0012-1606(01)90393-8 [pii] (2001).
- Hines, D. J., Hines, R. M., Mulligan, S. J. & Macvicar, B. A.** Microglia processes block the spread of damage in the brain and require functional chloride channels. *Glia* **57**, 1610-1618, doi:10.1002/glia.20874 (2009).
- Hinson, R. M., Williams, J. A. & Shacter, E.** Elevated interleukin 6 is induced by prostaglandin E2 in a murine model of inflammation: possible role of cyclooxygenase-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 4885-4890 (1996).
- Hirai, T. et al.** The prevalence and phenotype of activated microglia/macrophages within the spinal cord of the hyperostotic mouse (*twy/twy*) changes in response to chronic progressive spinal cord compression: implications for human cervical compressive myelopathy. *PLoS One* **8**, e64528, doi:10.1371/journal.pone.0064528 PONE-D-13-02138 [pii] (2013).
- Hirano, T.** Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol* **16**, 249-284, doi:10.3109/08830189809042997 (1998).
- Hirano, T. et al.** Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* **324**, 73-76, doi:10.1038/324073a0 (1986).
- Hirasawa, A. et al.** Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nat Med* **11**, 90-94, doi:nm1168 [pii] 10.1038/nm1168 (2005).
- Hjorth, E. et al.** Omega-3 fatty acids enhance phagocytosis of Alzheimer's disease-related amyloid-beta₄₂ by human microglia and decrease inflammatory markers. *J Alzheimers Dis* **35**, 697-713, doi:M220U885373222X3 [pii] 10.3233/JAD-130131 (2013).

- Hoarau, J. J. et al.** Activation and control of CNS innate immune responses in health and diseases: a balancing act finely tuned by neuroimmune regulators (NIReg). *CNS Neurol Disord Drug Targets* **10**, 25-43, doi:BSP/CDTCNSND/E-Pub/00089 [pii] (2011).
- Hochreiter-Hufford, A. & Ravichandran, K. S.** Clearing the dead: apoptotic cell sensing, recognition, engulfment, and digestion. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **5**, a008748, doi:5/1/a008748 [pii] 10.1101/cshperspect.a008748 (2013).
- Hoeffel, G. et al.** Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolk sac-derived macrophages. *J Exp Med* **209**, 1167-1181, doi:jem.20120340 [pii] 10.1084/jem.20120340 (2012).
- Hoek, R. M. et al.** Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200). *Science* **290**, 1768-1771, doi:9024 [pii] (2000).
- Holman, R. T.** The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *J Nutr* **128**, 427S-433S (1998).
- Holtmaat, A. & Svoboda, K.** Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat Rev Neurosci* **10**, 647-658, doi:nrn2699 [pii] 10.1038/nrn2699 (2009).
- Holtmaat, A. J. et al.** Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron* **45**, 279-291, doi:S0896627305000048 [pii] 10.1016/j.neuron.2005.01.003 (2005).
- Hong, D. D., Takahashi, Y., Kushiro, M. & Ide, T.** Divergent effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid ethyl esters, and fish oil on hepatic fatty acid oxidation in the rat. *Biochim Biophys Acta* **1635**, 29-36, doi:S1388198103001641 [pii] (2003).
- Horuk, R. et al.** Expression of chemokine receptors by subsets of neurons in the central nervous system. *J Immunol* **158**, 2882-2890 (1997).
- Hu, X. et al.** Microglia/macrophage polarization dynamics reveal novel mechanism of injury expansion after focal cerebral ischemia. *Stroke* **43**, 3063-3070, doi:STROKEAHA.112.659656 [pii] 10.1161/STROKEAHA.112.659656 (2012).
- Hua, J. Y. & Smith, S. J.** Neural activity and the dynamics of central nervous system development. *Nat Neurosci* **7**, 327-332, doi:10.1038/nn1218 nn1218 [pii] (2004).
- Huang, D. et al.** The neuronal chemokine CX3CL1/fractalkine selectively recruits NK cells that modify experimental autoimmune encephalomyelitis within the central nervous system. *FASEB J* **20**, 896-905, doi:20/7/896 [pii] 10.1096/fj.05-5465com (2006).
- Huberman, A. D., Feller, M. B. & Chapman, B.** Mechanisms underlying development of visual maps and receptive fields. *Annu Rev Neurosci* **31**, 479-509, doi:10.1146/annurev.neuro.31.060407.125533 (2008).
- Hughes, P. M., Botham, M. S., Frentzel, S., Mir, A. & Perry, V. H.** Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, during acute and chronic inflammation in the rodent CNS. *Glia* **37**, 314-327, doi:10.1002/glia.10037 [pii] (2002).
- Huh, G. S. et al.** Functional requirement for class I MHC in CNS development and plasticity. *Science* **290**, 2155-2159, doi:9062 [pii] (2000).
- Hundhausen, C. et al.** The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion. *Blood* **102**, 1186-1195, doi:10.1182/blood-2002-12-3775 2002-12-3775 [pii] (2003).
- Hurley, S. D. & Streit, W. J.** Griffonia simplicifolia II lectin labels a population of radial glial cells in the embryonic rat brain. *Dev Neurosci* **17**, 324-334 (1995).
- Husemann, J., Loike, J. D., Anankov, R., Febbraio, M. & Silverstein, S. C.** Scavenger receptors in neurobiology and neuropathology: their role on microglia and other cells of the nervous system. *Glia* **40**, 195-205, doi:10.1002/glia.10148 (2002).

- Huynh, M. L., Fadok, V. A. & Henson, P. M.** Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* **109**, 41-50, doi:10.1172/JCI11638 (2002).
- Hyman, B. T. & Spector, A. A.** Choline uptake in cultured human Y79 retinoblastoma cells: effect of polyunsaturated fatty acid compositional modifications. *J Neurochem* **38**, 650-656 (1982).

I

- Ikemoto, A. et al.** Dietary n-3 fatty acid deficiency decreases nerve growth factor content in rat hippocampus. *Neurosci Lett* **285**, 99-102, doi:S0304-3940(00)01035-1 [pii] (2000).
- Imamoto, K. & Leblond, C. P.** Radioautographic investigation of gliogenesis in the corpus callosum of young rats. II. Origin of microglial cells. *J Comp Neurol* **180**, 139-163, doi:10.1002/cne.901800109 (1978).
- Irino, Y., Nakamura, Y., Inoue, K., Kohsaka, S. & Ohsawa, K.** Akt activation is involved in P2Y12 receptor-mediated chemotaxis of microglia. *J Neurosci Res* **86**, 1511-1519, doi:10.1002/jnr.21610 (2008).
- Ishida, T. et al.** Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* **16**, 87-95, doi:10.1002/ibd.21029 (2010).
- Ishizuka, K. et al.** Identification of monocyte chemoattractant protein-1 in senile plaques and reactive microglia of Alzheimer's disease. *Psychiatry Clin Neurosci* **51**, 135-138 (1997).
- Itokazu, N., Ikegaya, Y., Nishikawa, M. & Matsuki, N.** Bidirectional actions of docosahexaenoic acid on hippocampal neurotransmissions in vivo. *Brain Res* **862**, 211-216, doi:S0006-8993(00)02129-6 [pii] (2000).

J

- Jackson, P. A., Reay, J. L., Scholey, A. B. & Kennedy, D. O.** DHA-rich oil modulates the cerebral haemodynamic response to cognitive tasks in healthy young adults: a near IR spectroscopy pilot study. *Br J Nutr* **107**, 1093-1098, doi:S0007114511004041 [pii] 10.1017/S0007114511004041 (2012).
- Jakowlew, S. B., Ciment, G., Tuan, R. S., Sporn, M. B. & Roberts, A. B.** Expression of transforming growth factor-beta 2 and beta 3 mRNAs and proteins in the developing chicken embryo. *Differentiation* **55**, 105-118 (1994).
- James, M. J. & Cleland, L. G.** Dietary n-3 fatty acids and therapy for rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* **27**, 85-97, doi:S0049-0172(97)80009-1 [pii] (1997).
- James, M. J., Gibson, R. A. & Cleland, L. G.** Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr* **71**, 343S-348S (2000).
- Jenkins, C. R., Thompson, P. J., Gibson, P. G. & Wood-Baker, R.** Distinguishing asthma and chronic obstructive pulmonary disease: why, why not and how? *Med J Aust* **183**, S35-37, doi:jen10098_fm [pii] (2005).
- Jeruc, J., Vizjak, A., Rozman, B. & Ferluga, D.** Immunohistochemical expression of activated caspase-3 as a marker of apoptosis in glomeruli of human lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* **48**, 410-418, doi:S0272-6386(06)00952-8 [pii] (2006).

10.1053/j.ajkd.2006.05.019 (2006).

Ji, K. A. et al. Differential neutrophil infiltration contributes to regional differences in brain inflammation in the substantia nigra pars compacta and cortex. *Glia* **56**, 1039-1047, doi:10.1002/glia.20677 (2008).

Ji, R. R., Xu, Z. Z., Strichartz, G. & Serhan, C. N. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. *Trends Neurosci* **34**, 599-609, doi:S0166-2236(11)00139-1 [pii]

10.1016/j.tins.2011.08.005 (2011).

Jiang, C., Ting, A. T. & Seed, B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* **391**, 82-86, doi:10.1038/34184 (1998).

Jiang, P., Lagenaur, C. F. & Narayanan, V. Integrin-associated protein is a ligand for the P84 neural adhesion molecule. *J Biol Chem* **274**, 559-562 (1999).

Johnston, D., Williams, S., Jaffe, D. & Gray, R. NMDA-receptor-independent long-term potentiation. *Annu Rev Physiol* **54**, 489-505, doi:10.1146/annurev.ph.54.030192.002421 (1992).

Josephson, K. et al. Design and analysis of an engineered human interleukin-10 monomer. *J Biol Chem* **275**, 25054, doi:275/32/25054/a [pii] (2000).

Joyce, D. A. et al. Two inhibitors of pro-inflammatory cytokine release, interleukin-10 and interleukin-4, have contrasting effects on release of soluble p75 tumor necrosis factor receptor by cultured monocytes. *Eur J Immunol* **24**, 2699-2705, doi:10.1002/eji.1830241119 (1994).

Jump, D. B. Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. *Curr Opin Lipidol* **13**, 155-164 (2002).

Jumpsen, J., Lien, E. L., Goh, Y. K. & Clandinin, M. T. Small changes of dietary (n-6) and (n-3)/fatty acid content ration alter phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine fatty acid composition during development of neuronal and glial cells in rats. *J Nutr* **127**, 724-731 (1997).

Jung, S. et al. Analysis of fractalkine receptor CX(3)CR1 function by targeted deletion and green fluorescent protein reporter gene insertion. *Mol Cell Biol* **20**, 4106-4114 (2000).

Jung, S. & Schwartz, M. Non-identical twins - microglia and monocyte-derived macrophages in acute injury and autoimmune inflammation. *Front Immunol* **3**, 89, doi:10.3389/fimmu.2012.00089 (2012).

K

Kaindl, A. M. et al. Activation of microglial N-methyl-D-aspartate receptors triggers inflammation and neuronal cell death in the developing and mature brain. *Ann Neurol* **72**, 536-549, doi:10.1002/ana.23626 (2012).

Kaindl, A. M. et al. Erythropoietin protects the developing brain from hyperoxia-induced cell death and proteome changes. *Ann Neurol* **64**, 523-534, doi:10.1002/ana.21471 (2008).

Kalinski, P., Vieira, P. L., Schuitemaker, J. H., de Jong, E. C. & Kapsenberg, M. L. Prostaglandin E(2) is a selective inducer of interleukin-12 p40 (IL-12p40) production and an inhibitor of bioactive IL-12p70 heterodimer. *Blood* **97**, 3466-3469 (2001).

Karr, J. E., Alexander, J. E. & Winningham, R. G. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cognition throughout the lifespan: a review. *Nutr Neurosci* **14**, 216-225, doi:10.1179/1476830511Y.0000000012 (2011).

Karr, J. E., Grindstaff, T. R. & Alexander, J. E. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cognition in a college-aged population. *Exp Clin Psychopharmacol* **20**, 236-242, doi:2012-00881-001 [pii]

10.1037/a0026945 (2012).

Kasai, H., Fukuda, M., Watanabe, S., Hayashi-Takagi, A. & Noguchi, J. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci* **33**, 121-129, doi:S0166-2236(10)00002-0 [pii]

10.1016/j.tins.2010.01.001 (2010).

Kastenbauer, S. et al. CSF and serum levels of soluble fractalkine (CX3CL1) in inflammatory diseases of the nervous system. *J Neuroimmunol* **137**, 210-217, doi:S0165572803000857 [pii] (2003).

Katz, L. C. & Shatz, C. J. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* **274**, 1133-1138 (1996).

Kaur, C., Hao, A. J., Wu, C. H. & Ling, E. A. Origin of microglia. *Microsc Res Tech* **54**, 2-9, doi:10.1002/jemt.1114 [pii]

10.1002/jemt.1114 (2001).

Kavanagh, T., Lonergan, P. E. & Lynch, M. A. Eicosapentaenoic acid and gamma-linolenic acid increase hippocampal concentrations of IL-4 and IL-10 and abrogate lipopolysaccharide-induced inhibition of long-term potentiation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **70**, 391-397, doi:10.1016/j.plefa.2003.12.014

S0952327804000110 [pii] (2004).

Kawahara, K. et al. Intracerebral microinjection of interleukin-4/interleukin-13 reduces beta-amyloid accumulation in the ipsilateral side and improves cognitive deficits in young amyloid precursor protein 23 mice. *Neuroscience* **207**, 243-260, doi:S0306-4522(12)00102-9 [pii]

10.1016/j.neuroscience.2012.01.049 (2012).

Kawakita, E., Hashimoto, M. & Shido, O. Docosahexaenoic acid promotes neurogenesis in vitro and in vivo. *Neuroscience* **139**, 991-997, doi:S0306-4522(06)00050-9 [pii]

10.1016/j.neuroscience.2006.01.021 (2006).

Kawashima, A., Harada, T., Imada, K., Yano, T. & Mizuguchi, K. Eicosapentaenoic acid inhibits interleukin-6 production in interleukin-1beta-stimulated C6 glioma cells through peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **79**, 59-65, doi:S0952-3278(08)00099-9 [pii]

10.1016/j.plefa.2008.07.002 (2008).

Kelley, D. S., Taylor, P. C., Nelson, G. J. & Mackey, B. E. Arachidonic acid supplementation enhances synthesis of eicosanoids without suppressing immune functions in young healthy men. *Lipids* **33**, 125-130 (1998).

Kelly, L. et al. The polyunsaturated fatty acids, EPA and DPA exert a protective effect in the hippocampus of the aged rat. *Neurobiol Aging* **32**, 2318 e2311-2315, doi:S0197-4580(10)00158-2 [pii]

10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.001 (2011).

Kempermann, G., Wiskott, L. & Gage, F. H. Functional significance of adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* **14**, 186-191, doi:10.1016/j.conb.2004.03.001

S0959438804000339 [pii] (2004).

Kennedy, D. O. et al. Cognitive and mood effects of 8 weeks' supplementation with 400 mg or 1000 mg of the omega-3 essential fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) in healthy children aged 10-12 years. *Nutr Neurosci* **12**, 48-56, doi:10.1179/147683009X388887 (2009).

Keshavan, M. S., Anderson, S. & Pettegrew, J. W. Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited. *J Psychiatr Res* **28**, 239-265 (1994).

Kettenmann, H. Neuroscience: the brain's garbage men. *Nature* **446**, 987-989, doi:nature05713 [pii]

10.1038/nature05713 (2007).

Kettenmann, H., Hanisch, U. K., Noda, M. & Verkhratsky, A. Physiology of microglia. *Physiol Rev* **91**, 461-553, doi:91/2/461 [pii]

10.1152/physrev.00011.2010 (2011).

- Kettenmann, H., Kirchhoff, F. & Verkhratsky, A.** Microglia: new roles for the synaptic stripper. *Neuron* **77**, 10-18, doi:S0896-6273(12)01162-2 [pii] 10.1016/j.neuron.2012.12.023 (2013).
- Kew, S. et al.** The effect of feeding structured triacylglycerols enriched in eicosapentaenoic or docosahexaenoic acids on murine splenocyte fatty acid composition and leucocyte phagocytosis. *Br J Nutr* **90**, 1071-1080, doi:S0007114503002265 [pii] (2003).
- Khalfoun, B., Thibault, F., Watier, H., Bardos, P. & Lebranchu, Y.** Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv Exp Med Biol* **400B**, 589-597 (1997).
- Kharitonov, A. et al.** A family of proteins that inhibit signalling through tyrosine kinase receptors. *Nature* **386**, 181-186, doi:10.1038/386181a0 (1997).
- Kierdorf, K. et al.** Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways. *Nat Neurosci* **16**, 273-280, doi:nn.3318 [pii] 10.1038/nn.3318 (2013a).
- Kierdorf, K., Katzmarski, N., Haas, C. A. & Prinz, M.** Bone marrow cell recruitment to the brain in the absence of irradiation or parabiosis bias. *PLoS One* **8**, e58544, doi:10.1371/journal.pone.0058544 PONE-D-12-30824 [pii] (2013b).
- Kim, W. G. et al.** Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. *J Neurosci* **20**, 6309-6316, doi:20/16/6309 [pii] (2000).
- Kinchen, J. M. & Ravichandran, K. S.** Phagocytic signaling: you can touch, but you can't eat. *Curr Biol* **18**, R521-524, doi:S0960-9822(08)00580-0 [pii] 10.1016/j.cub.2008.04.058 (2008).
- Kinsella, J. E., Broughton, K. S. & Whelan, J. W.** Dietary unsaturated fatty acids: interactions and possible needs in relation to eicosanoid synthesis. *J Nutr Biochem* **1**, 123-141, doi:0955-2863(90)90011-9 [pii] (1990).
- Kinugawa, K. et al.** MFGE8 does not orchestrate clearance of apoptotic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* **51**, 192-201, doi:S0969-9961(12)00373-7 [pii] 10.1016/j.nbd.2012.11.010 (2013).
- Kitamura, Y., Taniguchi, T., Kimura, H., Nomura, Y. & Gebicke-Haerter, P. J.** Interleukin-4-inhibited mRNA expression in mixed rat glial and in isolated microglial cultures. *J Neuroimmunol* **106**, 95-104, doi:S0165572800002393 [pii] (2000).
- Klemann, C. J. & Roubos, E. W.** The gray area between synapse structure and function-Gray's synapse types I and II revisited. *Synapse* **65**, 1222-1230, doi:10.1002/syn.20962 (2011).
- Kloss, C. U., Kreutzberg, G. W. & Raivich, G.** Proliferation of ramified microglia on an astrocyte monolayer: characterization of stimulatory and inhibitory cytokines. *J Neurosci Res* **49**, 248-254, doi:10.1002/(SICI)1097-4547(19970715)49:2<248::AID-JNR13>3.0.CO;2-X [pii] (1997).
- Knafo, S. et al.** Morphological alterations to neurons of the amygdala and impaired fear conditioning in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Pathol* **219**, 41-51, doi:10.1002/path.2565 (2009).
- Knudsen, P. J., Dinarello, C. A. & Strom, T. B.** Prostaglandins posttranscriptionally inhibit monocyte expression of interleukin 1 activity by increasing intracellular cyclic adenosine monophosphate. *J Immunol* **137**, 3189-3194 (1986).
- Kodas, E. et al.** Serotonergic neurotransmission is affected by n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat. *J Neurochem* **89**, 695-702, doi:10.1111/j.1471-4159.2004.02401.x JNC2401 [pii] (2004).
- Koenigsknecht-Talboo, J. & Landreth, G. E.** Microglial phagocytosis induced by fibrillar beta-amyloid and IgGs are differentially regulated by proinflammatory cytokines. *J Neurosci* **25**, 8240-8249, doi:25/36/8240 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.1808-05.2005 (2005).

- Koenigsknecht, J. & Landreth, G.** Microglial phagocytosis of fibrillar beta-amyloid through a beta1 integrin-dependent mechanism. *J Neurosci* **24**, 9838-9846, doi:24/44/9838 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.2557-04.2004 (2004).
- Koffie, R. M. et al.** Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 4012-4017, doi:0811698106 [pii] 10.1073/pnas.0811698106 (2009).
- Koizumi, S. et al.** UDP acting at P2Y6 receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature* **446**, 1091-1095, doi:nature05704 [pii] 10.1038/nature05704 (2007).
- Koletzko, B. et al.** The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med* **36**, 5-14, doi:10.1515/JPM.2008.001 (2008).
- Kondo, S., Kohsaka, S. & Okabe, S.** Long-term changes of spine dynamics and microglia after transient peripheral immune response triggered by LPS in vivo. *Mol Brain* **4**, 27, doi:1756-6606-4-27 [pii] 10.1186/1756-6606-4-27 (2011).
- Konsman, J. P., Kelley, K. & Dantzer, R.** Temporal and spatial relationships between lipopolysaccharide-induced expression of Fos, interleukin-1beta and inducible nitric oxide synthase in rat brain. *Neuroscience* **89**, 535-548, doi:S0306-4522(98)00368-6 [pii] (1999).
- Konstantinidou, A. E. et al.** Caspase-3 immunohistochemical expression is a marker of apoptosis, increased grade and early recurrence in intracranial meningiomas. *Apoptosis* **12**, 695-705, doi:10.1007/s10495-006-0001-4 (2007).
- Kopec, C. D., Li, B., Wei, W., Boehm, J. & Malinow, R.** Glutamate receptor exocytosis and spine enlargement during chemically induced long-term potentiation. *J Neurosci* **26**, 2000-2009, doi:26/7/2000 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.3918-05.2006 (2006).
- Koushik, S. V. et al.** Targeted inactivation of the sodium-calcium exchanger (Ncx1) results in the lack of a heartbeat and abnormal myofibrillar organization. *FASEB J* **15**, 1209-1211 (2001).
- Krauss-Etschmann, S. et al.** Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. *Am J Clin Nutr* **85**, 1392-1400, doi:85/5/1392 [pii] (2007).
- Kremer, J. M.** n-3 fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *Am J Clin Nutr* **71**, 349S-351S (2000).
- Kremer, J. M. et al.** Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum* **33**, 810-820 (1990).
- Kreutzberg, G. W.** Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* **19**, 312-318, doi:0166-2236(96)10049-7 [pii] (1996).
- Kroetz, D. L. & Zeldin, D. C.** Cytochrome P450 pathways of arachidonic acid metabolism. *Curr Opin Lipidol* **13**, 273-283 (2002).
- Kromann, N. & Green, A.** Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* **208**, 401-406 (1980).
- Kulkarni, A. B. et al.** Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 770-774 (1993).

L

- Lacroix, S., Feinstein, D. & Rivest, S.** The bacterial endotoxin lipopolysaccharide has the ability to target the brain in upregulating its membrane CD14 receptor within specific cellular populations. *Brain Pathol* **8**, 625-640 (1998).
- Ladeby, R. et al.** Microglial cell population dynamics in the injured adult central nervous system. *Brain Res Brain Res Rev* **48**, 196-206, doi:S0165-0173(04)00186-9 [pii] 10.1016/j.brainresrev.2004.12.009 (2005).
- Laflamme, N. & Rivest, S.** Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components. *FASEB J* **15**, 155-163, doi:10.1096/fj.00-0339com 15/1/155 [pii] (2001).
- Lafourcade, M. et al.** Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nat Neurosci* **14**, 345-350, doi:nn.2736 [pii] 10.1038/nn.2736 (2011).
- Lai, C. S., Franke, T. F. & Gan, W. B.** Opposite effects of fear conditioning and extinction on dendritic spine remodelling. *Nature* **483**, 87-91, doi:nature10792 [pii] 10.1038/nature10792 (2012).
- Lalancette-Hebert, M. et al.** Accumulation of dietary docosahexaenoic acid in the brain attenuates acute immune response and development of postischemic neuronal damage. *Stroke* **42**, 2903-2909, doi:STROKEAHA.111.620856 [pii] 10.1161/STROKEAHA.111.620856 (2011).
- Lambris, J. D. & Tsokos, G. C.** The biology and pathophysiology of complement receptors. *Anticancer Res* **6**, 515-523 (1986).
- Lanz, T. A., Carter, D. B. & Merchant, K. M.** Dendritic spine loss in the hippocampus of young PDAPP and Tg2576 mice and its prevention by the ApoE2 genotype. *Neurobiol Dis* **13**, 246-253, doi:S0969996103000792 [pii] (2003).
- Larrieu, T., Madore, C., Joffre, C. & Laye, S.** Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency alters cannabinoid receptor signaling pathway in the brain and associated anxiety-like behavior in mice. *J Physiol Biochem* **68**, 671-681, doi:10.1007/s13105-012-0179-6 (2012).
- Lassek, W. D. & Gaulin, S. J.** Sex differences in the relationship of dietary Fatty acids to cognitive measures in american children. *Front Evol Neurosci* **3**, 5, doi:10.3389/fnevo.2011.00005 (2011).
- Lauritzen, L., Hansen, H. S., Jorgensen, M. H. & Michaelsen, K. F.** The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res* **40**, 1-94, doi:S0163-7827(00)00017-5 [pii] (2001).
- Lawson, L. J., Perry, V. H., Dri, P. & Gordon, S.** Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* **39**, 151-170, doi:0306-4522(90)90229-W [pii] (1990).
- Laye, S. et al.** Endogenous brain IL-1 mediates LPS-induced anorexia and hypothalamic cytokine expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **279**, R93-98 (2000).
- Laye, S., Parnet, P., Goujon, E. & Dantzer, R.** Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. *Brain Res Mol Brain Res* **27**, 157-162 (1994).
- Ledeboer, A., Breve, J. J., Poole, S., Tilders, F. J. & Van Dam, A. M.** Interleukin-10, interleukin-4, and transforming growth factor-beta differentially regulate lipopolysaccharide-induced production of pro-inflammatory cytokines and nitric oxide in co-cultures of rat astroglial and microglial cells. *Glia* **30**, 134-142, doi:10.1002/(SICI)1098-1136(200004)30:2<134::AID-GLIA3>3.0.CO;2-3 [pii] (2000).
- Lee, S. H., Liu, L., Wang, Y. T. & Sheng, M.** Clathrin adaptor AP2 and NSF interact with overlapping sites of GluR2 and play distinct roles in AMPA receptor trafficking and hippocampal LTD. *Neuron* **36**, 661-674, doi:S0896627302010243 [pii] (2002a).

- Lee, W. L., Cosio, G., Ireton, K. & Grinstein, S.** Role of CrkII in Fcγ receptor-mediated phagocytosis. *J Biol Chem* **282**, 11135-11143, doi:M700823200 [pii] 10.1074/jbc.M700823200 (2007).
- Lee, Y. B., Nagai, A. & Kim, S. U.** Cytokines, chemokines, and cytokine receptors in human microglia. *J Neurosci Res* **69**, 94-103, doi:10.1002/jnr.10253 (2002b).
- Lehrmann, E. et al.** Cytokines in cerebral ischemia: expression of transforming growth factor beta-1 (TGF-beta 1) mRNA in the postischemic adult rat hippocampus. *Exp Neurol* **131**, 114-123 (1995).
- Levant, B., Ozias, M. K. & Carlson, S. E.** Specific brain regions of female rats are differentially depleted of docosahexaenoic acid by reproductive activity and an (n-3) fatty acid-deficient diet. *J Nutr* **137**, 130-134, doi:137/1/130 [pii] (2007).
- Levy, B. D., Clish, C. B., Schmidt, B., Gronert, K. & Serhan, C. N.** Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. *Nat Immunol* **2**, 612-619, doi:10.1038/89759 89759 [pii] (2001).
- Lewis, R. A.** Interactions of eicosanoids and cytokines in immune regulation. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* **20**, 170-178 (1990).
- Li, Y., Liu, L., Barger, S. W. & Griffin, W. S.** Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J Neurosci* **23**, 1605-1611, doi:23/5/1605 [pii] (2003).
- Liang, K. J. et al.** Regulation of dynamic behavior of retinal microglia by CX3CR1 signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **50**, 4444-4451, doi:iovs.08-3357 [pii] 10.1167/iovs.08-3357 (2009).
- Lim, S. Y., Hoshiba, J., Moriguchi, T. & Salem, N., Jr.** N-3 fatty acid deficiency induced by a modified artificial rearing method leads to poorer performance in spatial learning tasks. *Pediatr Res* **58**, 741-748, doi:58/4/741 [pii] 10.1203/01.PDR.0000180547.46725.CC (2005a).
- Lim, S. Y., Loewke, J., Doherty, J. D. & Salem, N., Jr.** Preferential effect of lead exposure during lactation on non-essential fatty acids in maternal organs. *Lipids* **40**, 685-693 (2005b).
- Lima-Garcia, J. F. et al.** The precursor of resolvin D series and aspirin-triggered resolvin D1 display anti-hyperalgesic properties in adjuvant-induced arthritis in rats. *Br J Pharmacol* **164**, 278-293, doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01345.x (2011).
- Limatola, C. et al.** Chemokine CX3CL1 protects rat hippocampal neurons against glutamate-mediated excitotoxicity. *J Neuroimmunol* **166**, 19-28, doi:S0165-5728(05)00209-2 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2005.03.023 (2005).
- Lin, Q., Ruuska, S. E., Shaw, N. S., Dong, D. & Noy, N.** Ligand selectivity of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Biochemistry* **38**, 185-190, doi:10.1021/bi9816094 bi9816094 [pii] (1999).
- Linden, D. J. & Connor, J. A.** Long-term synaptic depression. *Annu Rev Neurosci* **18**, 319-357, doi:10.1146/annurev.ne.18.030195.001535 (1995).
- Lindholm, D., Castren, E., Kiefer, R., Zafra, F. & Thoenen, H.** Transforming growth factor-beta 1 in the rat brain: increase after injury and inhibition of astrocyte proliferation. *J Cell Biol* **117**, 395-400 (1992).
- Lindia, J. A., McGowan, E., Jochnowitz, N. & Abbadie, C.** Induction of CX3CL1 expression in astrocytes and CX3CR1 in microglia in the spinal cord of a rat model of neuropathic pain. *J Pain* **6**, 434-438, doi:S1526-5900(05)00418-9 [pii] 10.1016/j.jpain.2005.02.001 (2005).
- Ling, E. A.** Some aspects of amoeboid microglia in the corpus callosum and neighbouring regions of neonatal rats. *J Anat* **121**, 29-45 (1976).
- Ling, E. A., Penney, D. & Leblond, C. P.** Use of carbon labeling to demonstrate the role of blood monocytes as precursors of the 'ameboid cells' present in the corpus callosum of postnatal rats. *J Comp Neurol* **193**, 631-657, doi:10.1002/cne.901930304 (1980).

- Linnartz, B., Kopatz, J., Tenner, A. J. & Neumann, H.** Sialic acid on the neuronal glycolyx prevents complement C1 binding and complement receptor-3-mediated removal by microglia. *J Neurosci* **32**, 946-952, doi:32/3/946 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.3830-11.2012 (2012).
- Liu, G. J., Nagarajah, R., Banati, R. B. & Bennett, M. R.** Glutamate induces directed chemotaxis of microglia. *Eur J Neurosci* **29**, 1108-1118, doi:EJN6659 [pii] 10.1111/j.1460-9568.2009.06659.x (2009).
- Liu, J. Q. et al.** Targeting activation-induced cytidine deaminase overcomes tumor evasion of immunotherapy by CTLs. *J Immunol* **184**, 5435-5443, doi:jimmunol.0903322 [pii] 10.4049/jimmunol.0903322 (2010).
- Lo, C. J., Chiu, K. C., Fu, M., Chu, A. & Helton, S.** Fish oil modulates macrophage P44/P42 mitogen-activated protein kinase activity induced by lipopolysaccharide. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* **24**, 159-163 (2000).
- Lo, C. J., Chiu, K. C., Fu, M., Lo, R. & Helton, S.** Fish oil decreases macrophage tumor necrosis factor gene transcription by altering the NF kappa B activity. *J Surg Res* **82**, 216-221, doi:10.1006/jsre.1998.5524 S0022-4804(98)95524-X [pii] (1999).
- Lodge, P. A. & Sriram, S.** Regulation of microglial activation by TGF-beta, IL-10, and CSF-1. *J Leukoc Biol* **60**, 502-508 (1996).
- Logan, A. et al.** Effects of transforming growth factor beta 1 on scar production in the injured central nervous system of the rat. *Eur J Neurosci* **6**, 355-363 (1994a).
- Logan, A. et al.** Enhanced expression of transforming growth factor-beta 1 during thyroid hyperplasia in rats. *J Endocrinol* **141**, 45-57 (1994b).
- Logan, M. A. et al.** Negative regulation of glial engulfment activity by Draper terminates glial responses to axon injury. *Nat Neurosci* **15**, 722-730, doi:nn.3066 [pii] 10.1038/nn.3066 (2012).
- Lu, D. Y., Tsao, Y. Y., Leung, Y. M. & Su, K. P.** Docosahexaenoic acid suppresses neuroinflammatory responses and induces heme oxygenase-1 expression in BV-2 microglia: implications of antidepressant effects for omega-3 fatty acids. *Neuropsychopharmacology* **35**, 2238-2248, doi:npp201098 [pii] 10.1038/npp.2010.98 (2010).
- Luchtman, D. W., Meng, Q. & Song, C.** Ethyl-eicosapentaenoate (E-EPA) attenuates motor impairments and inflammation in the MPTP-probenecid mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res* **226**, 386-396, doi:S0166-4328(11)00706-6 [pii] 10.1016/j.bbr.2011.09.033 (2012).
- Luo, C. L. et al.** Lipoxin A4 attenuates brain damage and downregulates the production of pro-inflammatory cytokines and phosphorylated mitogen-activated protein kinases in a mouse model of traumatic brain injury. *Brain Res* **1502**, 1-10, doi:S0006-8993(13)00133-9 [pii] 10.1016/j.brainres.2013.01.037 (2013).
- Luo, L. & O'Leary, D. D.** Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci* **28**, 127-156, doi:10.1146/annurev.neuro.28.061604.135632 (2005).
- Luscher, C. & Malenka, R. C.** NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol* **4**, doi:cshperspect.a005710 [pii] 10.1101/cshperspect.a005710 (2012).
- Luscher, C. et al.** Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. *Neuron* **24**, 649-658, doi:S0896-6273(00)81119-8 [pii] (1999).
- Lynch, A. M. et al.** Lipopolysaccharide-induced increase in signalling in hippocampus is abrogated by IL-10--a role for IL-1 beta? *J Neurochem* **88**, 635-646, doi:2157 [pii] (2004).
- Lynch, G. S., Dunwiddie, T. & Gribkoff, V.** Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* **266**, 737-739 (1977).

- Lynch, M. A.** The multifaceted profile of activated microglia. *Mol Neurobiol* **40**, 139-156, doi:10.1007/s12035-009-8077-9 (2009).
- Lynch, M. A., Errington, M. L. & Bliss, T. V.** Nordihydroguaiaretic acid blocks the synaptic component of long-term potentiation and the associated increases in release of glutamate and arachidonate: an in vivo study in the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience* **30**, 693-701 (1989).
- Lynch, M. A. & Voss, K. L.** Membrane arachidonic acid concentration correlates with age and induction of long-term potentiation in the dentate gyrus in the rat. *Eur J Neurosci* **6**, 1008-1014 (1994).
- Lyons, A. et al.** CD200 ligand receptor interaction modulates microglial activation in vivo and in vitro: a role for IL-4. *J Neurosci* **27**, 8309-8313, doi:27/31/8309 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.1781-07.2007 (2007).
- Lyons, A. et al.** Fractalkine-induced activation of the phosphatidylinositol-3 kinase pathway attenuates microglial activation in vivo and in vitro. *J Neurochem* **110**, 1547-1556, doi:JNC6253 [pii] 10.1111/j.1471-4159.2009.06253.x (2009).

M

- MacDonald, J. M. et al.** The Drosophila cell corpse engulfment receptor Draper mediates glial clearance of severed axons. *Neuron* **50**, 869-881, doi:S0896-6273(06)00319-9 [pii] 10.1016/j.neuron.2006.04.028 (2006).
- Mackaness, G. B.** The Immunological Basis of Acquired Cellular Resistance. *J Exp Med* **120**, 105-120 (1964).
- Maderna, P. & Godson, C.** Lipoxins: resolutionary road. *Br J Pharmacol* **158**, 947-959, doi:BPH386 [pii] 10.1111/j.1476-5381.2009.00386.x (2009).
- Madore, C. et al.** Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun*, doi:S0889-1591(13)00419-4 [pii] 10.1016/j.bbi.2013.08.008 (2013).
- Mallat, M. & Chamak, B.** Brain macrophages: neurotoxic or neurotrophic effector cells? *J Leukoc Biol* **56**, 416-422 (1994).
- Mallucci, G. R.** Prion neurodegeneration: starts and stops at the synapse. *Prion* **3**, 195-201, doi:9981 [pii] (2009).
- Man, H. Y., Ju, W., Ahmadian, G. & Wang, Y. T.** Intracellular trafficking of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Cell Mol Life Sci* **57**, 1526-1534 (2000).
- Mandrekar, S. et al.** Microglia mediate the clearance of soluble Abeta through fluid phase macropinocytosis. *J Neurosci* **29**, 4252-4262, doi:29/13/4252 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.5572-08.2009 (2009).
- Mantovani, A., Sica, A. & Locati, M.** Macrophage polarization comes of age. *Immunity* **23**, 344-346, doi:S1074-7613(05)00313-4 [pii] 10.1016/j.immuni.2005.10.001 (2005).
- Marcheselli, V. L. et al.** Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J Biol Chem* **278**, 43807-43817, doi:10.1074/jbc.M305841200 M305841200 [pii] (2003).
- Marin-Teva, J. L., Cuadros, M. A., Calvente, R., Almendros, A. & Navascues, J.** Naturally occurring cell death and migration of microglial precursors in the quail retina during

- normal development. *J Comp Neurol* **412**, 255-275, doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19990920)412:2<255::AID-CNE6>3.0.CO;2-H [pii] (1999).
- Marin-Teva, J. L., Cuadros, M. A., Martin-Oliva, D. & Navascues, J.** Microglia and neuronal cell death. *Neuron Glia Biol* **7**, 25-40, doi:S1740925X12000014 [pii] 10.1017/S1740925X12000014 (2011).
- Marin-Teva, J. L. et al.** Microglia promote the death of developing Purkinje cells. *Neuron* **41**, 535-547, doi:S0896627304000698 [pii] (2004).
- Markovic, D. S. et al.** Gliomas induce and exploit microglial MT1-MMP expression for tumor expansion. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 12530-12535, doi:0804273106 [pii] 10.1073/pnas.0804273106 (2009).
- Martin, M. U. & Falk, W.** The interleukin-1 receptor complex and interleukin-1 signal transduction. *Eur Cytokine Netw* **8**, 5-17 (1997).
- Martinez, M.** Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* **120**, S129-138 (1992).
- Martinez, M. & Mougan, I.** Fatty acid composition of human brain phospholipids during normal development. *J Neurochem* **71**, 2528-2533 (1998).
- Massague, J., Attisano, L. & Wrana, J. L.** The TGF-beta family and its composite receptors. *Trends Cell Biol* **4**, 172-178, doi:096289249490202X [pii] (1994).
- Massey, P. V. & Bashir, Z. I.** Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci* **30**, 176-184, doi:S0166-2236(07)00043-4 [pii] 10.1016/j.tins.2007.02.005 (2007).
- Matozaki, T., Murata, Y., Okazawa, H. & Ohnishi, H.** Functions and molecular mechanisms of the CD47-SIRPalpha signalling pathway. *Trends Cell Biol* **19**, 72-80, doi:S0962-8924(08)00286-9 [pii] 10.1016/j.tcb.2008.12.001 (2009).
- Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G. C. & Kasai, H.** Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* **429**, 761-766, doi:10.1038/nature02617 nature02617 [pii] (2004).
- Mayford, M., Siegelbaum, S. A. & Kandel, E. R.** Synapses and memory storage. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **4**, doi:cshperspect.a005751 [pii] 10.1101/cshperspect.a005751 (2012).
- McAllister, A. K.** Cellular and molecular mechanisms of dendrite growth. *Cereb Cortex* **10**, 963-973 (2000).
- McCoy, M. K. & Tansey, M. G.** TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation* **5**, 45, doi:1742-2094-5-45 [pii] 10.1186/1742-2094-5-45 (2008).
- McEwen, B. S., Magarinos, A. M. & Reagan, L. P.** Structural plasticity and tianeptine: cellular and molecular targets. *Eur Psychiatry* **17 Suppl 3**, 318-330, doi:S0924933802006508 [pii] (2002).
- McGahon, B. M., Martin, D. S., Horrobin, D. F. & Lynch, M. A.** Age-related changes in synaptic function: analysis of the effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids. *Neuroscience* **94**, 305-314, doi:S0306-4522(99)00219-5 [pii] (1999).
- McGeer, P. L. & McGeer, E. G.** Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* **10 Suppl 1**, S3-7, doi:10.1016/j.parkreldis.2004.01.005 S1353802004000112 [pii] (2004).
- McGlade-McCulloh, E., Morrissey, A. M., Norona, F. & Muller, K. J.** Individual microglia move rapidly and directly to nerve lesions in the leech central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 1093-1097 (1989).
- McGrath, K. E., Koniski, A. D., Malik, J. & Palis, J.** Circulation is established in a stepwise pattern in the mammalian embryo. *Blood* **101**, 1669-1676, doi:10.1182/blood-2002-08-2531 2002-08-2531 [pii] (2003).
- McNamara, R. K.** DHA deficiency and prefrontal cortex neuropathology in recurrent affective disorders. *J Nutr* **140**, 864-868, doi:jn.109.113233 [pii]

10.3945/jn.109.113233 (2010).

McNamara, R. K. & Carlson, S. E. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **75**, 329-349, doi:S0952-3278(06)00125-6 [pii]

10.1016/j.plefa.2006.07.010 (2006).

Mechoulam, R. et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* **50**, 83-90, doi:000629529500109D [pii] (1995).

Medzhitov, R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* **1**, 135-145, doi:10.1038/35100529 (2001).

Merrill, J. E. & Zimmerman, R. P. Natural and induced cytotoxicity of oligodendrocytes by microglia is inhibitable by TGF beta. *Glia* **4**, 327-331, doi:10.1002/glia.440040311 (1991).

Meucci, O., Fatatis, A., Simen, A. A. & Miller, R. J. Expression of CX3CR1 chemokine receptors on neurons and their role in neuronal survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 8075-8080, doi:10.1073/pnas.090017497

090017497 [pii] (2000).

Meuth, S. G. et al. CNS inflammation and neuronal degeneration is aggravated by impaired CD200-CD200R-mediated macrophage silencing. *J Neuroimmunol* **194**, 62-69, doi:S0165-5728(07)00428-6 [pii]

10.1016/j.jneuroim.2007.11.013 (2008).

Mildner, A. et al. Microglia in the adult brain arise from Ly-6ChiCCR2+ monocytes only under defined host conditions. *Nat Neurosci* **10**, 1544-1553, doi:nn2015 [pii]

10.1038/nn2015 (2007).

Miller, B. H. et al. MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 3125-3130, doi:1113793109 [pii]

10.1073/pnas.1113793109 (2012).

Miller, G. Neuroscience. The dark side of glia. *Science* **308**, 778-781, doi:308/5723/778 [pii]

10.1126/science.308.5723.778 (2005).

Minami, M. [Cytokines and chemokines: mediators for intercellular communication in the brain]. *Yakugaku Zasshi* **121**, 875-885 (2001).

Ming, G. L. & Song, H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* **70**, 687-702, doi:S0896-6273(11)00348-5 [pii]

10.1016/j.neuron.2011.05.001 (2011).

Mingam, R. et al. Uncoupling of interleukin-6 from its signalling pathway by dietary n-3-polyunsaturated fatty acid deprivation alters sickness behaviour in mice. *Eur J Neurosci* **28**, 1877-1886, doi:EJN6470 [pii]

10.1111/j.1460-9568.2008.06470.x (2008).

Minghetti, L., Polazzi, E., Nicolini, A. & Levi, G. Opposite regulation of prostaglandin E2 synthesis by transforming growth factor-beta1 and interleukin 10 in activated microglial cultures. *J Neuroimmunol* **82**, 31-39, doi:S0165-5728(97)00185-9 [pii] (1998).

Mittelbronn, M., Dietz, K., Schluesener, H. J. & Meyermann, R. Local distribution of microglia in the normal adult human central nervous system differs by up to one order of magnitude. *Acta Neuropathol* **101**, 249-255 (2001).

Miyashita, M. et al. Promotion of neurite and filopodium formation by CD47: roles of integrins, Rac, and Cdc42. *Mol Biol Cell* **15**, 3950-3963, doi:10.1091/mbc.E04-01-0019

E04-01-0019 [pii] (2004).

Miyauchi, S. et al. Distribution and regulation of protein expression of the free fatty acid receptor GPR120. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **379**, 427-434, doi:10.1007/s00210-008-0390-8 (2009).

- Mizuno, T., Kawanokuchi, J., Numata, K. & Suzumura, A.** Production and neuroprotective functions of fractalkine in the central nervous system. *Brain Res* **979**, 65-70, doi:S0006899303028671 [pii] (2003).
- Moller, J. C. et al.** Regulation of thrombospondin in the regenerating mouse facial motor nucleus. *Glia* **17**, 121-132, doi:10.1002/(SICI)1098-1136(199606)17:2<121::AID-GLIA4>3.0.CO;2-5 [pii] 10.1002/(SICI)1098-1136(199606)17:2<121::AID-GLIA4>3.0.CO;2-5 (1996).
- Monier, A. et al.** Entry and distribution of microglial cells in human embryonic and fetal cerebral cortex. *J Neuropathol Exp Neurol* **66**, 372-382, doi:10.1097/nen.0b013e3180517b46 00005072-200705000-00006 [pii] (2007).
- Moon, D. O. et al.** Inhibitory effects of eicosapentaenoic acid on lipopolysaccharide-induced activation in BV2 microglia. *Int Immunopharmacol* **7**, 222-229, doi:S1567-5769(06)00306-7 [pii] 10.1016/j.intimp.2006.10.001 (2007).
- Moore, M. A. & Metcalf, D.** Ontogeny of the haemopoietic system: yolk sac origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo. *Br J Haematol* **18**, 279-296 (1970).
- Moran, L. B. & Graeber, M. B.** The facial nerve axotomy model. *Brain Res Brain Res Rev* **44**, 154-178, doi:10.1016/j.brainresrev.2003.11.004 S0165017303002595 [pii] (2004).
- Morgan, T. E., Nichols, N. R., Pasinetti, G. M. & Finch, C. E.** TGF-beta 1 mRNA increases in macrophage/microglial cells of the hippocampus in response to deafferentation and kainic acid-induced neurodegeneration. *Exp Neurol* **120**, 291-301, doi:S0014-4886(83)71063-0 [pii] 10.1006/exnr.1993.1063 (1993).
- Moriguchi, S. et al.** Potentiation of NMDA receptor-mediated synaptic responses by microglia. *Brain Res Mol Brain Res* **119**, 160-169, doi:S0169328X0300408X [pii] (2003a).
- Moriguchi, T., Greiner, R. S. & Salem, N., Jr.** Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem* **75**, 2563-2573 (2000).
- Moriguchi, T. & Salem, N., Jr.** Recovery of brain docosahexaenoate leads to recovery of spatial task performance. *J Neurochem* **87**, 297-309, doi:1966 [pii] (2003b).
- Morris, G. P., Clark, I. A., Zinn, R. & Vissel, B.** Microglia: a new frontier for synaptic plasticity, learning and memory, and neurodegenerative disease research. *Neurobiol Learn Mem* **105**, 40-53, doi:S1074-7427(13)00115-9 [pii] 10.1016/j.nlm.2013.07.002 (2013).
- Mosley, B. et al.** The interleukin-1 receptor binds the human interleukin-1 alpha precursor but not the interleukin-1 beta precursor. *J Biol Chem* **262**, 2941-2944 (1987).
- Mosser, D. M. & Edwards, J. P.** Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* **8**, 958-969, doi:nri2448 [pii] 10.1038/nri2448 (2008).
- Mrak, R. E. & Griffin, W. S.** Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **22**, 903-908, doi:S0197458001002871 [pii] (2001).
- Mukundan, L. et al.** PPAR-delta senses and orchestrates clearance of apoptotic cells to promote tolerance. *Nat Med* **15**, 1266-1272, doi:nm.2048 [pii] 10.1038/nm.2048 (2009).
- Mulkey, R. M. & Malenka, R. C.** Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* **9**, 967-975, doi:0896-6273(92)90248-C [pii] (1992).
- Murata, T. et al.** CD47 promotes neuronal development through Src- and FRG/Vav2-mediated activation of Rac and Cdc42. *J Neurosci* **26**, 12397-12407, doi:26/48/12397 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.3981-06.2006 (2006).

N

- Nadeau, S. & Rivest, S.** The complement system is an integrated part of the natural innate immune response in the brain. *FASEB J* **15**, 1410-1412 (2001).
- Nadeau, S. & Rivest, S.** Effects of circulating tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor receptors (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier. *Neuroscience* **93**, 1449-1464, doi:S0306-4522(99)00225-0 [pii] (1999).
- Nadeau, S. & Rivest, S.** Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. *J Neurosci* **20**, 3456-3468 (2000).
- Nagerl, U. V., Eberhorn, N., Cambridge, S. B. & Bonhoeffer, T.** Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* **44**, 759-767, doi:S0896627304007299 [pii] 10.1016/j.neuron.2004.11.016 (2004).
- Naito, M., Takahashi, K. & Nishikawa, S.** Development, differentiation, and maturation of macrophages in the fetal mouse liver. *J Leukoc Biol* **48**, 27-37 (1990).
- Nakamura, Y., Si, Q. S. & Kataoka, K.** Lipopolysaccharide-induced microglial activation in culture: temporal profiles of morphological change and release of cytokines and nitric oxide. *Neurosci Res* **35**, 95-100, doi:S0168-0102(99)00071-1 [pii] (1999).
- Napoli, I., Kierdorf, K. & Neumann, H.** Microglial precursors derived from mouse embryonic stem cells. *Glia* **57**, 1660-1671, doi:10.1002/glia.20878 (2009a).
- Napoli, I. & Neumann, H.** Microglial clearance function in health and disease. *Neuroscience* **158**, 1030-1038, doi:S0306-4522(08)00972-X [pii] 10.1016/j.neuroscience.2008.06.046 (2009b).
- Neher, J. J. et al.** Inhibition of microglial phagocytosis is sufficient to prevent inflammatory neuronal death. *J Immunol* **186**, 4973-4983, doi:jimmunol.1003600 [pii] 10.4049/jimmunol.1003600 (2011).
- Neniskyte, U., Neher, J. J. & Brown, G. C.** Neuronal death induced by nanomolar amyloid beta is mediated by primary phagocytosis of neurons by microglia. *J Biol Chem* **286**, 39904-39913, doi:M111.267583 [pii] 10.1074/jbc.M111.267583 (2011).
- Neumann, H.** Control of glial immune function by neurons. *Glia* **36**, 191-199, doi:10.1002/glia.1108 [pii] (2001).
- Neumann, H., Kotter, M. R. & Franklin, R. J.** Debris clearance by microglia: an essential link between degeneration and regeneration. *Brain* **132**, 288-295, doi:awn109 [pii] 10.1093/brain/awn109 (2009).
- Neumann, H. & Takahashi, K.** Essential role of the microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM2) for central nervous tissue immune homeostasis. *J Neuroimmunol* **184**, 92-99, doi:S0165-5728(06)00471-1 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2006.11.032 (2007).
- Neumann, H. & Wekerle, H.** Brain microglia: watchdogs with pedigree. *Nat Neurosci* **16**, 253-255, doi:nn.3338 [pii] 10.1038/nn.3338 (2013).
- Nieto, N., Torres, M. I., Rios, A. & Gil, A.** Dietary polyunsaturated fatty acids improve histological and biochemical alterations in rats with experimental ulcerative colitis. *J Nutr* **132**, 11-19 (2002).

- Niiron, H. et al.** MAP kinase pathways as a route for regulatory mechanisms of IL-10 and IL-4 which inhibit COX-2 expression in human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* **250**, 200-205, doi:S0006-291X(98)99287-7 [pii] 10.1006/bbrc.1998.9287 (1998).
- Nikodemova, M. & Watters, J. J.** Efficient isolation of live microglia with preserved phenotypes from adult mouse brain. *J Neuroinflammation* **9**, 147, doi:1742-2094-9-147 [pii] 10.1186/1742-2094-9-147 (2012).
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F. & Helmchen, F.** Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* **308**, 1314-1318, doi:1110647 [pii] 10.1126/science.1110647 (2005).
- Nishikawa, M., Kimura, S. & Akaike, N.** Facilitatory effect of docosahexaenoic acid on N-methyl-D-aspartate response in pyramidal neurones of rat cerebral cortex. *J Physiol* **475**, 83-93 (1994).
- Nishiyori, A. et al.** Localization of fractalkine and CX3CR1 mRNAs in rat brain: does fractalkine play a role in signaling from neuron to microglia? *FEBS Lett* **429**, 167-172, doi:S0014-5793(98)00583-3 [pii] (1998).
- Noda, M. et al.** Fractalkine attenuates excitotoxicity via microglial clearance of damaged neurons and antioxidant enzyme heme oxygenase-1 expression. *J Biol Chem* **286**, 2308-2319, doi:M110.169839 [pii] 10.1074/jbc.M110.169839 (2011).
- Noda, M. & Suzumura, A.** Sweepers in the CNS: Microglial Migration and Phagocytosis in the Alzheimer Disease Pathogenesis. *Int J Alzheimers Dis* **2012**, 891087, doi:10.1155/2012/891087 (2012).
- Nolan, Y. et al.** Role of interleukin-4 in regulation of age-related inflammatory changes in the hippocampus. *J Biol Chem* **280**, 9354-9362, doi:M412170200 [pii] 10.1074/jbc.M412170200 (2005).
- Norenberg, M. D., Rao, K. V. & Jayakumar, A. R.** Mechanisms of ammonia-induced astrocyte swelling. *Metab Brain Dis* **20**, 303-318, doi:10.1007/s11011-005-7911-7 (2005).
- Novak, T. E., Babcock, T. A., Jho, D. H., Helton, W. S. & Espat, N. J.** NF-kappa B inhibition by omega -3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **284**, L84-89, doi:10.1152/ajplung.00077.2002 00077.2002 [pii] (2003).

O

- O'Callaghan, J. P. & Sriram, K.** Glial fibrillary acidic protein and related glial proteins as biomarkers of neurotoxicity. *Expert Opin Drug Saf* **4**, 433-442, doi:10.1517/14740338.4.3.433 (2005).
- O'Callaghan, J. P., Sriram, K. & Miller, D. B.** Defining "neuroinflammation". *Ann N Y Acad Sci* **1139**, 318-330, doi:NYAS1139032 [pii] 10.1196/annals.1432.032 (2008).
- O'Leary, D. D. & McLaughlin, T.** Mechanisms of retinotopic map development: Ephs, ephrins, and spontaneous correlated retinal activity. *Prog Brain Res* **147**, 43-65, doi:S0079612304470058 [pii] 10.1016/S0079-6123(04)47005-8 (2005).

- O'Neill, L. A. & Greene, C.** Signal transduction pathways activated by the IL-1 receptor family: ancient signaling machinery in mammals, insects, and plants. *J Leukoc Biol* **63**, 650-657 (1998).
- O'Shea, J. J., Notarangelo, L. D., Johnston, J. A. & Candotti, F.** Advances in the understanding of cytokine signal transduction: the role of Jaks and STATs in immunoregulation and the pathogenesis of immunodeficiency. *J Clin Immunol* **17**, 431-447 (1997).
- Oh, D. Y. & Lagakos, W. S.** The role of G-protein-coupled receptors in mediating the effect of fatty acids on inflammation and insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **14**, 322-327, doi:10.1097/MCO.0b013e3283479230 (2011).
- Oh, D. Y. et al.** GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell* **142**, 687-698, doi:S0092-8674(10)00888-3 [pii] 10.1016/j.cell.2010.07.041 (2010).
- Ohnishi, H. et al.** Differential localization of Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate-1 and CD47 and its molecular mechanisms in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci* **25**, 2702-2711, doi:25/10/2702 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.5173-04.2005 (2005).
- Ohsawa, K. et al.** P2Y12 receptor-mediated integrin-beta1 activation regulates microglial process extension induced by ATP. *Glia* **58**, 790-801, doi:10.1002/glia.20963 (2010).
- Olah, M., Biber, K., Vinet, J. & Boddeke, H. W.** Microglia phenotype diversity. *CNS Neurol Disord Drug Targets* **10**, 108-118, doi:BSP/CDTCNSND/E-Pub/00092 [pii] (2011).
- Oldenborg, P. A., Gresham, H. D. & Lindberg, F. P.** CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPalpha) regulates Fcgamma and complement receptor-mediated phagocytosis. *J Exp Med* **193**, 855-862 (2001).
- Orr, A. G., Orr, A. L., Li, X. J., Gross, R. E. & Traynelis, S. F.** Adenosine A(2A) receptor mediates microglial process retraction. *Nat Neurosci* **12**, 872-878, doi:nn.2341 [pii] 10.1038/nn.2341 (2009).

P

- Pacher, P., Batkai, S. & Kunos, G.** The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacological reviews* **58**, 389-462 (2006).
- Palis, J., Robertson, S., Kennedy, M., Wall, C. & Keller, G.** Development of erythroid and myeloid progenitors in the yolk sac and embryo proper of the mouse. *Development* **126**, 5073-5084 (1999).
- Panatier, A. & Oliet, S. H.** Neuron-glia interactions in the hypothalamus. *Neuron Glia Biol* **2**, 51-58, doi:S1740925X06000019 [pii] 10.1017/S1740925X06000019 (2006).
- Pandey, R., Mousawy, K., Nagarkatti, M. & Nagarkatti, P.** Endocannabinoids and immune regulation. *Pharmacol Res* **60**, 85-92, doi:S1043-6618(09)00108-X [pii] 10.1016/j.phrs.2009.03.019 (2009).
- Paolicelli, R. C. et al.** Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science* **333**, 1456-1458, doi:science.1202529 [pii] 10.1126/science.1202529 (2011).
- Pascual, O., Ben Achour, S., Rostaing, P., Triller, A. & Bessis, A.** Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, E197-205, doi:1111098109 [pii] 10.1073/pnas.1111098109 (2012).

- Pearce, J. M.** Sir Charles Scott Sherrington (1857-1952) and the synapse. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **75**, 544 (2004).
- Perea, G. & Araque, A.** Astrocytes potentiate transmitter release at single hippocampal synapses. *Science* **317**, 1083-1086, doi:317/5841/1083 [pii] 10.1126/science.1144640 (2007).
- Perea, G. & Araque, A.** GLIA modulates synaptic transmission. *Brain Res Rev* **63**, 93-102, doi:S0165-0173(09)00107-6 [pii] 10.1016/j.brainresrev.2009.10.005 (2010).
- Perego, C., Fumagalli, S. & De Simoni, M. G.** Temporal pattern of expression and colocalization of microglia/macrophage phenotype markers following brain ischemic injury in mice. *J Neuroinflammation* **8**, 174, doi:1742-2094-8-174 [pii] 10.1186/1742-2094-8-174 (2011).
- Peri, F. & Nusslein-Volhard, C.** Live imaging of neuronal degradation by microglia reveals a role for v0-ATPase a1 in phagosomal fusion in vivo. *Cell* **133**, 916-927, doi:S0092-8674(08)00611-9 [pii] 10.1016/j.cell.2008.04.037 (2008).
- Perry, S. W., Dewhurst, S., Bellizzi, M. J. & Gelbard, H. A.** Tumor necrosis factor-alpha in normal and diseased brain: Conflicting effects via intraneuronal receptor crosstalk? *J Neurovirol* **8**, 611-624, doi:10.1080/13550280290101021 PAEK73867JD0VCH0 [pii] (2002).
- Perry, V. H., Nicoll, J. A. & Holmes, C.** Microglia in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* **6**, 193-201, doi:nrneurol.2010.17 [pii] 10.1038/nrneurol.2010.17 (2010a).
- Perry, V. H. & O'Connor, V.** The role of microglia in synaptic stripping and synaptic degeneration: a revised perspective. *ASN Neuro* **2**, e00047, doi:10.1042/AN20100024 (2010b).
- Phillis, J. W., Horrocks, L. A. & Farooqui, A. A.** Cyclooxygenases, lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: their role and involvement in neurological disorders. *Brain Res Rev* **52**, 201-243, doi:S0165-0173(06)00011-7 [pii] 10.1016/j.brainresrev.2006.02.002 (2006).
- Pocock, J. M. & Kettenmann, H.** Neurotransmitter receptors on microglia. *Trends Neurosci* **30**, 527-535, doi:S0166-2236(07)00211-1 [pii] 10.1016/j.tins.2007.07.007 (2007).
- Pohl, J., Ring, A., Korkmaz, U., Eehalt, R. & Stremmel, W.** FAT/CD36-mediated long-chain fatty acid uptake in adipocytes requires plasma membrane rafts. *Mol Biol Cell* **16**, 24-31, doi:E04-07-0616 [pii] 10.1091/mbc.E04-07-0616 (2005).
- Poling, J. S., Karanian, J. W., Salem, N., Jr. & Vicini, S.** Time- and voltage-dependent block of delayed rectifier potassium channels by docosahexaenoic acid. *Mol Pharmacol* **47**, 381-390 (1995).
- Ponomarev, E. D., Maresz, K., Tan, Y. & Dittel, B. N.** CNS-derived interleukin-4 is essential for the regulation of autoimmune inflammation and induces a state of alternative activation in microglial cells. *J Neurosci* **27**, 10714-10721, doi:27/40/10714 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.1922-07.2007 (2007).
- Portolesi, R., Powell, B. C. & Gibson, R. A.** Competition between 24:5n-3 and ALA for Delta 6 desaturase may limit the accumulation of DHA in HepG2 cell membranes. *J Lipid Res* **48**, 1592-1598, doi:M700081-JLR200 [pii] 10.1194/jlr.M700081-JLR200 (2007).
- Pousset, F., Dantzer, R., Kelley, K. W. & Parnet, P.** Interleukin-1 signaling in mouse astrocytes involves Akt: a study with interleukin-4 and IL-10. *Eur Cytokine Netw* **11**, 427-434 (2000).
- Poynter, M. E. & Daynes, R. A.** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor-kappaB signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging. *J Biol Chem* **273**, 32833-32841 (1998).

- Prehn, J. H. et al.** Protective effect of transforming growth factor-beta 1 on beta-amyloid neurotoxicity in rat hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* **49**, 319-328 (1996).
- Prinz, M. & Mildner, A.** Microglia in the CNS: immigrants from another world. *Glia* **59**, 177-187, doi:10.1002/glia.21104 (2011).

Q

- Quan, N., Sundar, S. K. & Weiss, J. M.** Induction of interleukin-1 in various brain regions after peripheral and central injections of lipopolysaccharide. *J Neuroimmunol* **49**, 125-134 (1994).
- Quan, N., Whiteside, M. & Herkenham, M.** Time course and localization patterns of interleukin-1beta messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience* **83**, 281-293, doi:S0306452297003503 [pii] (1998).

R

- Rakic, S. & Zecevic, N.** Programmed cell death in the developing human telencephalon. *Eur J Neurosci* **12**, 2721-2734, doi:ejn153 [pii] (2000).
- Ransohoff, R. M.** Chemokines and chemokine receptors: standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology. *Immunity* **31**, 711-721, doi:S1074-7613(09)00422-1 [pii] 10.1016/j.immuni.2009.09.010 (2009).
- Ransohoff, R. M.** Chemokines in neurological trauma models. *Ann N Y Acad Sci* **961**, 346-349 (2002).
- Ransohoff, R. M. & Cardona, A. E.** The myeloid cells of the central nervous system parenchyma. *Nature* **468**, 253-262, doi:nature09615 [pii] 10.1038/nature09615 (2010).
- Ransohoff, R. M. & Engelhardt, B.** The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* **12**, 623-635, doi:nri3265 [pii] 10.1038/nri3265 (2012).
- Ransohoff, R. M. & Perry, V. H.** Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol* **27**, 119-145, doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132528 (2009).
- Raper, N. R., Cronin, F. J. & Exler, J.** Omega-3 fatty acid content of the US food supply. *J Am Coll Nutr* **11**, 304-308 (1992).
- Ravichandran, K. S.** Beginnings of a good apoptotic meal: the find-me and eat-me signaling pathways. *Immunity* **35**, 445-455, doi:S1074-7613(11)00364-5 [pii] 10.1016/j.immuni.2011.09.004 (2011).
- Ravichandran, K. S.** Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums. *J Exp Med* **207**, 1807-1817, doi:jem.20101157 [pii] 10.1084/jem.20101157 (2010).
- Ravichandran, K. S.** "Recruitment signals" from apoptotic cells: invitation to a quiet meal. *Cell* **113**, 817-820, doi:S0092867403004719 [pii] (2003).

- Ravichandran, K. S. & Lorenz, U.** Engulfment of apoptotic cells: signals for a good meal. *Nat Rev Immunol* **7**, 964-974, doi:nri2214 [pii] 10.1038/nri2214 (2007).
- Reaux-Le Goazigo, A., Van Steenwinckel, J., Rostene, W. & Melik Parsadaniantz, S.** Current status of chemokines in the adult CNS. *Prog Neurobiol* **104**, 67-92, doi:S0301-0082(13)00009-9 [pii] 10.1016/j.pneurobio.2013.02.001 (2013).
- Reinhold, M. I. et al.** In vivo expression of alternatively spliced forms of integrin-associated protein (CD47). *J Cell Sci* **108 (Pt 11)**, 3419-3425 (1995).
- Remington, L. T., Babcock, A. A., Zehntner, S. P. & Owens, T.** Microglial recruitment, activation, and proliferation in response to primary demyelination. *Am J Pathol* **170**, 1713-1724, doi:S0002-9440(10)61383-1 [pii] 10.2353/ajpath.2007.060783 (2007).
- Rezaie, P., Dean, A., Male, D. & Ulfing, N.** Microglia in the cerebral wall of the human telencephalon at second trimester. *Cereb Cortex* **15**, 938-949, doi:bhh194 [pii] 10.1093/cercor/bhh194 (2005).
- Rezaie, P. & Male, D.** Colonisation of the developing human brain and spinal cord by microglia: a review. *Microsc Res Tech* **45**, 359-382, doi:10.1002/(SICI)1097-0029(19990615)45:6<359::AID-JEMT4>3.0.CO;2-D [pii] 10.1002/(SICI)1097-0029(19990615)45:6<359::AID-JEMT4>3.0.CO;2-D (1999).
- Ricciarelli, R. et al.** CD36 overexpression in human brain correlates with beta-amyloid deposition but not with Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* **36**, 1018-1024, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.007 S0891584904000395 [pii] (2004).
- Ricote, M., Li, A. C., Willson, T. M., Kelly, C. J. & Glass, C. K.** The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* **391**, 79-82, doi:10.1038/34178 (1998).
- Rivest, S.** Regulation of innate immune responses in the brain. *Nat Rev Immunol* **9**, 429-439, doi:nri2565 [pii] 10.1038/nri2565 (2009).
- Robson, L. G., Dyll, S., Sidloff, D. & Michael-Titus, A. T.** Omega-3 polyunsaturated fatty acids increase the neurite outgrowth of rat sensory neurones throughout development and in aged animals. *Neurobiol Aging* **31**, 678-687, doi:S0197-4580(08)00180-2 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2008.05.027 (2010).
- Rocca, B. & FitzGerald, G. A.** Cyclooxygenases and prostaglandins: shaping up the immune response. *Int Immunopharmacol* **2**, 603-630, doi:S1567-5769(01)00204-1 [pii] (2002).
- Rocheffort, N. L. & Konnerth, A.** Dendritic spines: from structure to in vivo function. *EMBO Rep* **13**, 699-708, doi:embor2012102 [pii] 10.1038/embor.2012.102 (2012).
- Rocher, A. B. et al.** Structural and functional changes in tau mutant mice neurons are not linked to the presence of NFTs. *Exp Neurol* **223**, 385-393, doi:S0014-4886(09)00310-0 [pii] 10.1016/j.expneurol.2009.07.029 (2010).
- Rodriguez, M. et al.** Polarization of the Innate Immune Response by Prostaglandin E2: a Puzzle of Receptors and Signals. *Mol Pharmacol*, doi:mol.113.089573 [pii] 10.1124/mol.113.089573 (2013).
- Rogers, J. T. et al.** CX3CR1 deficiency leads to impairment of hippocampal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci* **31**, 16241-16250, doi:31/45/16241 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.3667-11.2011 (2011).
- Roumier, A. et al.** Impaired synaptic function in the microglial KARAP/DAP12-deficient mouse. *J Neurosci* **24**, 11421-11428, doi:24/50/11421 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.2251-04.2004 (2004).

- Roumier, A. et al.** Prenatal activation of microglia induces delayed impairment of glutamatergic synaptic function. *PLoS One* **3**, e2595, doi:10.1371/journal.pone.0002595 (2008).
- Rubartelli, A. & Lotze, M. T.** Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends Immunol* **28**, 429-436, doi:S1471-4906(07)00207-4 [pii] 10.1016/j.it.2007.08.004 (2007).
- Ruxton, C., Reed, S., Simpson, M. & Millington, K.** The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Diet* **20**, 275-285, doi:JHN770 [pii] 10.1111/j.1365-277X.2007.00770.x (2007).

S

- Sadeghi, S., Wallace, F. A. & Calder, P. C.** Dietary lipids modify the cytokine response to bacterial lipopolysaccharide in mice. *Immunology* **96**, 404-410, doi:imm701 [pii] (1999).
- Sakamoto, T., Cansev, M. & Wurtman, R. J.** Oral supplementation with docosahexaenoic acid and uridine-5'-monophosphate increases dendritic spine density in adult gerbil hippocampus. *Brain Res* **1182**, 50-59, doi:S0006-8993(07)02138-5 [pii] 10.1016/j.brainres.2007.08.089 (2007).
- Samokhvalov, I. M., Samokhvalova, N. I. & Nishikawa, S.** Cell tracing shows the contribution of the yolk sac to adult haematopoiesis. *Nature* **446**, 1056-1061, doi:nature05725 [pii] 10.1038/nature05725 (2007).
- Sanders, J., Cowansage, K., Baumgartel, K. & Mayford, M.** Elimination of dendritic spines with long-term memory is specific to active circuits. *J Neurosci* **32**, 12570-12578, doi:32/36/12570 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.1131-12.2012 (2012).
- Sanes, J. R. & Lichtman, J. W.** Can molecules explain long-term potentiation? *Nat Neurosci* **2**, 597-604, doi:10.1038/10154 (1999).
- Santoli, D., Phillips, P. D., Colt, T. L. & Zurier, R. B.** Suppression of interleukin 2-dependent human T cell growth in vitro by prostaglandin E (PGE) and their precursor fatty acids. Evidence for a PGE-independent mechanism of inhibition by the fatty acids. *J Clin Invest* **85**, 424-432, doi:10.1172/JCI114455 (1990).
- Santoli, D. & Zurier, R. B.** Prostaglandin E precursor fatty acids inhibit human IL-2 production by a prostaglandin E-independent mechanism. *J Immunol* **143**, 1303-1309 (1989).
- Sastry, P. S.** Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res* **24**, 69-176, doi:0163-7827(85)90011-6 [pii] (1985).
- Savill, J.** Apoptosis in resolution of inflammation. *Kidney Blood Press Res* **23**, 173-174 (2000).
- Savill, J.** Phagocyte recognition of apoptotic cells. *Biochem Soc Trans* **24**, 1065-1069 (1996).
- Savill, J., Dransfield, I., Gregory, C. & Haslett, C.** A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* **2**, 965-975, doi:10.1038/nri957 nri957 [pii] (2002).

- Sawada, M., Suzumura, A., Hosoya, H., Marunouchi, T. & Nagatsu, T.** Interleukin-10 inhibits both production of cytokines and expression of cytokine receptors in microglia. *J Neurochem* **72**, 1466-1471 (1999).
- Saxena, S. & Caroni, P.** Mechanisms of axon degeneration: from development to disease. *Prog Neurobiol* **83**, 174-191, doi:S0301-0082(07)00133-5 [pii] 10.1016/j.pneurobio.2007.07.007 (2007).
- Schafer, D. P. et al.** Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* **74**, 691-705, doi:S0896-6273(12)00334-0 [pii] 10.1016/j.neuron.2012.03.026 (2012).
- Schafer, D. P., Lehrman, E. K. & Stevens, B.** The "quad-partite" synapse: microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS. *Glia* **61**, 24-36, doi:10.1002/glia.22389 (2013).
- Schafer, D. P. & Stevens, B.** Synapse elimination during development and disease: immune molecules take centre stage. *Biochem Soc Trans* **38**, 476-481, doi:BST0380476 [pii] 10.1042/BST0380476 (2010).
- Scheff, S. W., Price, D. A., Schmitt, F. A. & Mufson, E. J.** Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* **27**, 1372-1384, doi:S0197-4580(05)00283-6 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.012 (2006).
- Scheffel, J. et al.** Toll-like receptor activation reveals developmental reorganization and unmasks responder subsets of microglia. *Glia* **60**, 1930-1943, doi:10.1002/glia.22409 (2012).
- Scheller, J. & Rose-John, S.** Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med Microbiol Immunol* **195**, 173-183, doi:10.1007/s00430-006-0019-9 (2006).
- Schiefer, J., Kampe, K., Dodt, H. U., Zieglgansberger, W. & Kreutzberg, G. W.** Microglial motility in the rat facial nucleus following peripheral axotomy. *J Neurocytol* **28**, 439-453 (1999).
- Schiefermeier, M. & Yavin, E.** n-3 Deficient and docosahexaenoic acid-enriched diets during critical periods of the developing prenatal rat brain. *J Lipid Res* **43**, 124-131 (2002).
- Schmid, C. D. et al.** Heterogeneous expression of the triggering receptor expressed on myeloid cells-2 on adult murine microglia. *J Neurochem* **83**, 1309-1320, doi:1243 [pii] (2002).
- Schobitz, B., de Kloet, E. R., Sutanto, W. & Holsboer, F.** Cellular localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain. *Eur J Neurosci* **5**, 1426-1435 (1993).
- Schobitz, B., Voorhuis, D. A. & De Kloet, E. R.** Localization of interleukin 6 mRNA and interleukin 6 receptor mRNA in rat brain. *Neurosci Lett* **136**, 189-192 (1992).
- Schwaeble, W. J. et al.** Neuronal expression of fractalkine in the presence and absence of inflammation. *FEBS Lett* **439**, 203-207, doi:S0014-5793(98)01384-2 [pii] (1998).
- Scott, A., Khan, K. M., Cook, J. L. & Duronio, V.** What is "inflammation"? Are we ready to move beyond Celsus? *Br J Sports Med* **38**, 248-249 (2004).
- Seiffert, M. et al.** Signal-regulatory protein alpha (SIRPalpha) but not SIRPbeta is involved in T-cell activation, binds to CD47 with high affinity, and is expressed on immature CD34(+)CD38(-) hematopoietic cells. *Blood* **97**, 2741-2749 (2001).
- Selkoe, D. J.** Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* **298**, 789-791, doi:10.1126/science.1074069 298/5594/789 [pii] (2002).
- Serhan, C. N.** Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxins are endogenous components of antiinflammation: emergence of the counterregulatory side. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* **49**, 177-188 (2001).
- Serhan, C. N.** Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **8**, 115-121, doi:00075197-200503000-00003 [pii] (2005).

- Serhan, C. N.** Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **79**, 157-163, doi:S0952-3278(08)00131-2 [pii] 10.1016/j.plefa.2008.09.012 (2008).
- Serhan, C. N. et al.** Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med* **192**, 1197-1204 (2000).
- Serhan, C. N., Gotlinger, K., Hong, S. & Arita, M.** Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin-triggered endogenous epimers: an overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **73**, 155-172 (2004).
- Serhan, C. N., Haeggstrom, J. Z. & Leslie, C. C.** Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines. *FASEB J* **10**, 1147-1158 (1996).
- Serhan, C. N. et al.** Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med* **196**, 1025-1037 (2002).
- Serhan, C. N. & Levy, B.** Novel pathways and endogenous mediators in anti-inflammation and resolution. *Chem Immunol Allergy* **83**, 115-145 (2003).
- Serrats, J. et al.** Dual roles for perivascular macrophages in immune-to-brain signaling. *Neuron* **65**, 94-106, doi:S0896-6273(09)00948-9 [pii] 10.1016/j.neuron.2009.11.032 (2010).
- Shaikh, S. R.** Biophysical and biochemical mechanisms by which dietary N-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil disrupt membrane lipid rafts. *J Nutr Biochem* **23**, 101-105, doi:S0955-2863(11)00197-5 [pii] 10.1016/j.jnutbio.2011.07.001 (2012).
- Sharma, S., Rakoczy, S. & Brown-Borg, H.** Assessment of spatial memory in mice. *Life Sci* **87**, 521-536, doi:S0024-3205(10)00379-6 [pii] 10.1016/j.lfs.2010.09.004 (2010).
- Shin, W. H. et al.** Microglia expressing interleukin-13 undergo cell death and contribute to neuronal survival in vivo. *Glia* **46**, 142-152, doi:10.1002/glia.10357 (2004).
- Shina, R., Crain, R. C., Rosenberg, P. & Condrea, E.** The asymmetric distribution of phosphatidylcholine in rat brain synaptic plasma membranes. *Neurochem Int* **22**, 189-195 (1993).
- Shrikant, P. & Benveniste, E. N.** The central nervous system as an immunocompetent organ: role of glial cells in antigen presentation. *J Immunol* **157**, 1819-1822 (1996).
- Shull, M. M. et al.** Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* **359**, 693-699, doi:10.1038/359693a0 (1992).
- Sierra, A. et al.** Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell* **7**, 483-495, doi:S1934-5909(10)00437-6 [pii] 10.1016/j.stem.2010.08.014 (2010).
- Simard, A. R. & Rivest, S.** Neuroprotective properties of the innate immune system and bone marrow stem cells in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* **11**, 327-335, doi:4001809 [pii] 10.1038/sj.mp.4001809 (2006).
- Simopoulos, A. P.** The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* **56**, 365-379 (2002a).
- Simopoulos, A. P.** Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: The epidemiological evidence. *Environ Health Prev Med* **6**, 203-209, doi:10.1007/BF02897971 (2002b).
- Simopoulos, A. P.** Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* **54**, 438-463 (1991).
- Simopoulos, A. P.** Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* **21**, 495-505 (2002c).

- Simpson, J. et al.** Expression of the beta-chemokine receptors CCR2, CCR3 and CCR5 in multiple sclerosis central nervous system tissue. *J Neuroimmunol* **108**, 192-200, doi:S0165572800002745 [pii] (2000).
- Skelly, D. T., Hennessy, E., Dansereau, M. A. & Cunningham, C.** A systematic analysis of the peripheral and CNS effects of systemic LPS, IL-1Beta, TNF-alpha and IL-6 challenges in C57BL/6 mice. *PLoS One* **8**, e69123, doi:10.1371/journal.pone.0069123 PONE-D-13-14778 [pii] (2013).
- Smith, G. M. & Hale, J. H.** Macrophage/Microglia regulation of astrocytic tenascin: synergistic action of transforming growth factor-beta and basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* **17**, 9624-9633 (1997).
- Smith, W. L., Garavito, R. M. & DeWitt, D. L.** Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* **271**, 33157-33160 (1996).
- Snyder, E. M. et al.** Role for A kinase-anchoring proteins (AKAPS) in glutamate receptor trafficking and long term synaptic depression. *J Biol Chem* **280**, 16962-16968, doi:M409693200 [pii] 10.1074/jbc.M409693200 (2005).
- Sokolova, A. et al.** Monocyte chemoattractant protein-1 plays a dominant role in the chronic inflammation observed in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* **19**, 392-398, doi:BPA188 [pii] 10.1111/j.1750-3639.2008.00188.x (2009).
- Song, C. & Horrobin, D.** Omega-3 fatty acid ethyl-eicosapentaenoate, but not soybean oil, attenuates memory impairment induced by central IL-1beta administration. *J Lipid Res* **45**, 1112-1121, doi:10.1194/jlr.M300526-JLR200 M300526-JLR200 [pii] (2004).
- Song, C., Li, X., Leonard, B. E. & Horrobin, D. F.** Effects of dietary n-3 or n-6 fatty acids on interleukin-1beta-induced anxiety, stress, and inflammatory responses in rats. *J Lipid Res* **44**, 1984-1991, doi:10.1194/jlr.M300217-JLR200 M300217-JLR200 [pii] (2003).
- Song, C., Zhang, X. Y. & Manku, M.** Increased phospholipase A2 activity and inflammatory response but decreased nerve growth factor expression in the olfactory bulbectomized rat model of depression: effects of chronic ethyl-eicosapentaenoate treatment. *J Neurosci* **29**, 14-22, doi:29/1/14 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.3569-08.2009 (2009).
- Sorokin, S. P., Hoyt, R. F., Jr., Blunt, D. G. & McNelly, N. A.** Macrophage development: II. Early ontogeny of macrophage populations in brain, liver, and lungs of rat embryos as revealed by a lectin marker. *Anat Rec* **232**, 527-550, doi:10.1002/ar.1092320410 (1992).
- Spector, A. A.** Essentiality of fatty acids. *Lipids* **34 Suppl**, S1-3 (1999).
- Sprecher, H.** The roles of anabolic and catabolic reactions in the synthesis and recycling of polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **67**, 79-83, doi:S0952327802904023 [pii] (2002).
- Sprecher, H., Luthria, D. L., Mohammed, B. S. & Baykousheva, S. P.** Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* **36**, 2471-2477 (1995).
- Sriram, K. & O'Callaghan, J. P.** Divergent roles for tumor necrosis factor-alpha in the brain. *J Neuroimmune Pharmacol* **2**, 140-153, doi:10.1007/s11481-007-9070-6 (2007).
- Stence, N., Waite, M. & Dailey, M. E.** Dynamics of microglial activation: a confocal time-lapse analysis in hippocampal slices. *Glia* **33**, 256-266, doi:10.1002/1098-1136(200103)33:3<256::AID-GLIA1024>3.0.CO;2-J [pii] (2001).
- Stenzel, W. et al.** IL-4/IL-13-dependent alternative activation of macrophages but not microglial cells is associated with uncontrolled cerebral cryptococcosis. *Am J Pathol* **174**, 486-496, doi:S0002-9440(10)61307-7 [pii] 10.2353/ajpath.2009.080598 (2009).

- Sterka, D., Jr. & Marriott, I.** Characterization of nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) protein expression in primary murine microglia. *J Neuroimmunol* **179**, 65-75, doi:S0165-5728(06)00224-4 [pii] 10.1016/j.jneuroim.2006.06.009 (2006).
- Stevens, B. et al.** The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell* **131**, 1164-1178, doi:S0092-8674(07)01355-4 [pii] 10.1016/j.cell.2007.10.036 (2007).
- Stewart, T. M. & Bowling, A. C.** Polyunsaturated fatty acid supplementation in MS. *Int MS J* **12**, 88-93 (2005).
- Stonehouse, W. et al.** DHA supplementation improved both memory and reaction time in healthy young adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **97**, 1134-1143, doi:ajcn.112.053371 [pii] 10.3945/ajcn.112.053371 (2013).
- Stough, C. et al.** The effects of 90-day supplementation with the omega-3 essential fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) on cognitive function and visual acuity in a healthy aging population. *Neurobiol Aging* **33**, 824 e821-823, doi:S0197-4580(11)00096-0 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.019 (2012).
- Streit, W. J.** Microglia and Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neurosci Res* **77**, 1-8, doi:10.1002/jnr.20093 (2004).
- Streit, W. J.** Microglia and the response to brain injury. *Ernst Schering Res Found Workshop*, 11-24 (2002).
- Streit, W. J., Davis, C. N. & Harrison, J. K.** Role of fractalkine (CX3CL1) in regulating neuron-microglia interactions: development of viral-based CX3CR1 antagonists. *Curr Alzheimer Res* **2**, 187-189 (2005).
- Streit, W. J., Graeber, M. B. & Kreutzberg, G. W.** Functional plasticity of microglia: a review. *Glia* **1**, 301-307, doi:10.1002/glia.440010502 (1988).
- Streit, W. J., Walter, S. A. & Pennell, N. A.** Reactive microgliosis. *Prog Neurobiol* **57**, 563-581, doi:S0301008298000690 [pii] (1999).
- Streit, W. J. & Xue, Q. S.** Alzheimer's disease, neuroprotection, and CNS immunosenescence. *Front Pharmacol* **3**, 138, doi:10.3389/fphar.2012.00138 (2012).
- Strokin, M., Sergeeva, M. & Reiser, G.** Docosahexaenoic acid and arachidonic acid release in rat brain astrocytes is mediated by two separate isoforms of phospholipase A2 and is differently regulated by cyclic AMP and Ca²⁺. *Br J Pharmacol* **139**, 1014-1022, doi:10.1038/sj.bjp.0705326 (2003).
- Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S. & Gokoh, M.** Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Progress in lipid research* **45**, 405-446 (2006).
- Sun, G. Y.** Effects of a fatty acid deficiency on lipids of whole brain, microsomes, and myelin in the rat. *J Lipid Res* **13**, 56-62 (1972).
- Sunnemark, D. et al.** CX3CL1 (fractalkine) and CX3CR1 expression in myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis: kinetics and cellular origin. *J Neuroinflammation* **2**, 17, doi:1742-2094-2-17 [pii] 10.1186/1742-2094-2-17 (2005).
- Suzumura, A.** Neuron-microglia interaction in neuroinflammation. *Curr Protein Pept Sci* **14**, 16-20, doi:CPPS_14_1_16 [pii] (2013).
- Syken, J., Grandpre, T., Kanold, P. O. & Shatz, C. J.** PirB restricts ocular-dominance plasticity in visual cortex. *Science* **313**, 1795-1800, doi:1128232 [pii] 10.1126/science.1128232 (2006).
- Syto, R. et al.** Structural and biological stability of the human interleukin 10 homodimer. *Biochemistry* **37**, 16943-16951, doi:10.1021/bi981555y bi981555y [pii] (1998).
- Szczepanik, A. M., Funes, S., Petko, W. & Ringheim, G. E.** IL-4, IL-10 and IL-13 modulate A beta(1--42)-induced cytokine and chemokine production in primary murine microglia

and a human monocyte cell line. *J Neuroimmunol* **113**, 49-62, doi:S0165-5728(00)00404-5 [pii] (2001).

I

- Taepavarapruk, P. & Song, C.** Reductions of acetylcholine release and nerve growth factor expression are correlated with memory impairment induced by interleukin-1 β administrations: effects of omega-3 fatty acid EPA treatment. *J Neurochem* **112**, 1054-1064, doi:JNC6524 [pii] 10.1111/j.1471-4159.2009.06524.x (2010).
- Takahashi, K., Prinz, M., Stagi, M., Chechneva, O. & Neumann, H.** TREM2-transduced myeloid precursors mediate nervous tissue debris clearance and facilitate recovery in an animal model of multiple sclerosis. *PLoS Med* **4**, e124, doi:06-PLME-RA-0690R2 [pii] 10.1371/journal.pmed.0040124 (2007).
- Tambuyzer, B. R., Ponsaerts, P. & Nouwen, E. J.** Microglia: gatekeepers of central nervous system immunology. *J Leukoc Biol* **85**, 352-370, doi:jl.b.0608385 [pii] 10.1189/jlb.0608385 (2009).
- Tandon, N. N., Kralisz, U. & Jamieson, G. A.** Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion. *J Biol Chem* **264**, 7576-7583 (1989).
- Tang, Y., Nyengaard, J. R., De Groot, D. M. & Gundersen, H. J.** Total regional and global number of synapses in the human brain neocortex. *Synapse* **41**, 258-273, doi:10.1002/syn.1083 [pii] 10.1002/syn.1083 (2001).
- Tansey, M. G., McCoy, M. K. & Frank-Cannon, T. C.** Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp Neurol* **208**, 1-25, doi:S0014-4886(07)00270-1 [pii] 10.1016/j.expneurol.2007.07.004 (2007).
- Tanuma, N., Sakuma, H., Sasaki, A. & Matsumoto, Y.** Chemokine expression by astrocytes plays a role in microglia/macrophage activation and subsequent neurodegeneration in secondary progressive multiple sclerosis. *Acta Neuropathol* **112**, 195-204, doi:10.1007/s00401-006-0083-7 (2006).
- Tashiro, A. & Yuste, R.** Structure and molecular organization of dendritic spines. *Histol Histopathol* **18**, 617-634 (2003).
- Thibeault, I., Laflamme, N. & Rivest, S.** Regulation of the gene encoding the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in the mouse and rat brain in response to circulating LPS and proinflammatory cytokines. *J Comp Neurol* **434**, 461-477 (2001).
- Thies, E. & Mandelkow, E. M.** Missorting of tau in neurons causes degeneration of synapses that can be rescued by the kinase MARK2/Par-1. *J Neurosci* **27**, 2896-2907, doi:27/11/2896 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.4674-06.2007 (2007).
- Thomas, C. A. et al.** Protection from lethal gram-positive infection by macrophage scavenger receptor-dependent phagocytosis. *J Exp Med* **191**, 147-156 (2000).
- Thornberry, N. A. et al.** A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 β processing in monocytes. *Nature* **356**, 768-774, doi:10.1038/356768a0 (1992).
- Tilley, S. L., Coffman, T. M. & Koller, B. H.** Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest* **108**, 15-23, doi:10.1172/JCI13416 (2001).

- Titos, E. et al.** Resolvin D1 and its precursor docosahexaenoic acid promote resolution of adipose tissue inflammation by eliciting macrophage polarization toward an M2-like phenotype. *J Immunol* **187**, 5408-5418, doi:jimmunol.1100225 [pii] 10.4049/jimmunol.1100225 (2011).
- Torborg, C. L. & Feller, M. B.** Spontaneous patterned retinal activity and the refinement of retinal projections. *Prog Neurobiol* **76**, 213-235, doi:S0301-0082(05)00103-6 [pii] 10.1016/j.pneurobio.2005.09.002 (2005).
- Trapp, B. D. et al.** Evidence for synaptic stripping by cortical microglia. *Glia* **55**, 360-368, doi:10.1002/glia.20462 (2007).
- Tremblay, M. E., Lowery, R. L. & Majewska, A. K.** Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol* **8**, e1000527, doi:10.1371/journal.pbio.1000527 (2010).
- Truman, L. A. et al.** CX3CL1/fractalkine is released from apoptotic lymphocytes to stimulate macrophage chemotaxis. *Blood* **112**, 5026-5036, doi:blood-2008-06-162404 [pii] 10.1182/blood-2008-06-162404 (2008).
- Tsuda, M. et al.** P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* **424**, 778-783, doi:10.1038/nature01786 nature01786 [pii] (2003).
- Tsukada, H., Kakiuchi, T., Fukumoto, D., Nishiyama, S. & Koga, K.** Docosahexaenoic acid (DHA) improves the age-related impairment of the coupling mechanism between neuronal activation and functional cerebral blood flow response: a PET study in conscious monkeys. *Brain Res* **862**, 180-186, doi:S0006-8993(00)02115-6 [pii] (2000).
- Turnbull, A. V. & Rivier, C. L.** Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* **79**, 1-71 (1999).
- Turrigiano, G. G.** The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell* **135**, 422-435, doi:S0092-8674(08)01298-1 [pii] 10.1016/j.cell.2008.10.008 (2008).
- Turrin, N. P. & Rivest, S.** Molecular and cellular immune mediators of neuroprotection. *Mol Neurobiol* **34**, 221-242, doi:MN:34:3:221 [pii] 10.1385/MN:34:3:221 (2006).

U

- Uauy, R., Hoffman, D. R., Peirano, P., Birch, D. G. & Birch, E. E.** Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids* **36**, 885-895 (2001).
- Ubogu, E. E., Cossoy, M. B. & Ransohoff, R. M.** The expression and function of chemokines involved in CNS inflammation. *Trends Pharmacol Sci* **27**, 48-55, doi:S0165-6147(05)00304-4 [pii] 10.1016/j.tips.2005.11.002 (2006).
- Underhill, D. M. & Goodridge, H. S.** Information processing during phagocytosis. *Nat Rev Immunol* **12**, 492-502, doi:nri3244 [pii] 10.1038/nri3244 (2012).
- Unsicker, K., Flanders, K. C., Cissel, D. S., Lafyatis, R. & Sporn, M. B.** Transforming growth factor beta isoforms in the adult rat central and peripheral nervous system. *Neuroscience* **44**, 613-625, doi:0306-4522(91)90082-Y [pii] (1991).
- Urban, B. C., Willcox, N. & Roberts, D. J.** A role for CD36 in the regulation of dendritic cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 8750-8755, doi:10.1073/pnas.151028698 151028698 [pii] (2001).

V

- Vallieres, L. & Rivest, S.** Regulation of the genes encoding interleukin-6, its receptor, and gp130 in the rat brain in response to the immune activator lipopolysaccharide and the proinflammatory cytokine interleukin-1beta. *J Neurochem* **69**, 1668-1683 (1997).
- Vallieres, L. & Sawchenko, P. E.** Bone marrow-derived cells that populate the adult mouse brain preserve their hematopoietic identity. *J Neurosci* **23**, 5197-5207, doi:23/12/5197 [pii] (2003).
- Van Dam, A. M. et al.** Vagotomy does not inhibit high dose lipopolysaccharide-induced interleukin-1beta immunoreactivity in rat brain and pituitary gland. *Neurosci Lett* **285**, 169-172, doi:S0304394000010314 [pii] (2000).
- van Dam, A. M., Brouns, M., Louisse, S. & Berkenbosch, F.** Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? *Brain Res* **588**, 291-296, doi:0006-8993(92)91588-6 [pii] (1992).
- van der Meer, P., Ulrich, A. M., Gonzalez-Scarano, F. & Lavi, E.** Immunohistochemical analysis of CCR2, CCR3, CCR5, and CXCR4 in the human brain: potential mechanisms for HIV dementia. *Exp Mol Pathol* **69**, 192-201, doi:10.1006/exmp.2000.2336 S0014-4800(00)92336-0 [pii] (2000).
- van Rossum, D. & Hanisch, U. K.** Microglia. *Metab Brain Dis* **19**, 393-411 (2004).
- Vannier, E., Miller, L. C. & Dinarello, C. A.** Coordinated antiinflammatory effects of interleukin 4: interleukin 4 suppresses interleukin 1 production but up-regulates gene expression and synthesis of interleukin 1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 4076-4080 (1992).
- Varvel, N. H. et al.** Microglial repopulation model reveals a robust homeostatic process for replacing CNS myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 18150-18155, doi:1210150109 [pii] 10.1073/pnas.1210150109 (2012).
- Vedin, I. et al.** Effects of docosahexaenoic acid-rich n-3 fatty acid supplementation on cytokine release from blood mononuclear leukocytes: the OmegAD study. *Am J Clin Nutr* **87**, 1616-1622, doi:87/6/1616 [pii] (2008).
- Verge, G. M. et al.** Fractalkine (CX3CL1) and fractalkine receptor (CX3CR1) distribution in spinal cord and dorsal root ganglia under basal and neuropathic pain conditions. *Eur J Neurosci* **20**, 1150-1160, doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03593.x EJN3593 [pii] (2004).
- Vernon-Wilson, E. F. et al.** CD47 is a ligand for rat macrophage membrane signal regulatory protein SIRP (OX41) and human SIRPalpha 1. *Eur J Immunol* **30**, 2130-2137, doi:10.1002/1521-4141(2000)30:8<2130::AID-IMMU2130>3.0.CO;2-8 [pii] 10.1002/1521-4141(2000)30:8<2130::AID-IMMU2130>3.0.CO;2-8 (2000).
- Vitkovic, L. et al.** Cytokine signals propagate through the brain. *Mol Psychiatry* **5**, 604-615 (2000).
- Vreden, S. G. et al.** Inhibition of Plasmodium berghei liver schizont development and reduction of cytokine production capacity in rats by dietary fish oil supplementation. *Am J Trop Med Hyg* **53**, 206-210 (1995).

W

- Wainwright, P. E.** Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc* **61**, 61-69, doi:S0029665102000113 [pii] (2002).
- Wainwright, P. E., Huang, Y. S., Coscina, D. V., Levesque, S. & McCutcheon, D.** Brain and behavioral effects of dietary n-3 deficiency in mice: a three generational study. *Dev Psychobiol* **27**, 467-487, doi:10.1002/dev.420270705 (1994).
- Wainwright, P. E., Jalali, E., Mutsaers, L. M., Bell, R. & Cvitkovic, S.** An imbalance of dietary essential fatty acids retards behavioral development in mice. *Physiol Behav* **66**, 833-839, doi:S0031938499000281 [pii] (1999).
- Wainwright, P. E., Xing, H. C., Mutsaers, L., McCutcheon, D. & Kyle, D.** Arachidonic acid offsets the effects on mouse brain and behavior of a diet with a low (n-6):(n-3) ratio and very high levels of docosahexaenoic acid. *J Nutr* **127**, 184-193 (1997).
- Wake, H., Moorhouse, A. J., Jinno, S., Kohsaka, S. & Nabekura, J.** Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci* **29**, 3974-3980, doi:29/13/3974 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009 (2009).
- Wakselman, S. et al.** Developmental neuronal death in hippocampus requires the microglial CD11b integrin and DAP12 immunoreceptor. *J Neurosci* **28**, 8138-8143, doi:28/32/8138 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.1006-08.2008 (2008).
- Wang, H. et al.** Role of Nrf2 in suppressing LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages by polyunsaturated fatty acids docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Mol Pharm* **7**, 2185-2193, doi:10.1021/mp100199m (2010).
- Wang, P., Wu, P., Siegel, M. I., Egan, R. W. & Billah, M. M.** Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem* **270**, 9558-9563 (1995).
- Wang, X. et al.** Hypoxia enhances CXCR4 expression favoring microglia migration via HIF-1alpha activation. *Biochem Biophys Res Commun* **371**, 283-288, doi:S0006-291X(08)00734-1 [pii] 10.1016/j.bbrc.2008.04.055 (2008).
- Wassall, S. R. et al.** Order from disorder, corralling cholesterol with chaotic lipids. The role of polyunsaturated lipids in membrane raft formation. *Chem Phys Lipids* **132**, 79-88, doi:S0009-3084(04)00140-9 [pii] 10.1016/j.chemphyslip.2004.09.007 (2004).
- Watanabe, S., Doshi, M. & Hamazaki, T.** n-3 Polyunsaturated fatty acid (PUFA) deficiency elevates and n-3 PUFA enrichment reduces brain 2-arachidonoylglycerol level in mice. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* **69**, 51-59 (2003).
- Watkins, L. R., Maier, S. F. & Goehler, L. E.** Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci* **57**, 1011-1026, doi:002432059502047M [pii] (1995).
- Weinstein, J. R., Koerner, I. P. & Moller, T.** Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol* **5**, 227-246, doi:10.2217/fnl.10.1 (2010).
- Weinstock-Guttman, B. et al.** Low fat dietary intervention with omega-3 fatty acid supplementation in multiple sclerosis patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **73**, 397-404, doi:S0952-3278(05)00100-6 [pii] 10.1016/j.plefa.2005.05.024 (2005).
- Williams, D. W., Kondo, S., Krzyzanowska, A., Hiromi, Y. & Truman, J. W.** Local caspase activity directs engulfment of dendrites during pruning. *Nat Neurosci* **9**, 1234-1236, doi:nn1774 [pii] 10.1038/nn1774 (2006).

- Williams, D. W. & Truman, J. W.** Remodeling dendrites during insect metamorphosis. *J Neurobiol* **64**, 24-33, doi:10.1002/neu.20151 (2005).
- Williams, J. A. & Shacter, E.** Regulation of macrophage cytokine production by prostaglandin E2. Distinct roles of cyclooxygenase-1 and -2. *J Biol Chem* **272**, 25693-25699 (1997).
- Williams, J. H., Errington, M. L., Lynch, M. A. & Bliss, T. V.** Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature* **341**, 739-742, doi:10.1038/341739a0 (1989).
- Williamson, L. L., Sholar, P. W., Mistry, R. S., Smith, S. H. & Bilbo, S. D.** Microglia and memory: modulation by early-life infection. *J Neurosci* **31**, 15511-15521, doi:10.1523/JNEUROSCI.3688-11.2011 [pii] (2011).
- Williard, D. E., Kaduce, T. L., Harmon, S. D. & Spector, A. A.** Conversion of eicosapentaenoic acid to chain-shortened omega-3 fatty acid metabolites by peroxisomal oxidation. *J Lipid Res* **39**, 978-986 (1998).
- Wohleb, E. S. et al.** Peripheral innate immune challenge exaggerated microglia activation, increased the number of inflammatory CNS macrophages, and prolonged social withdrawal in socially defeated mice. *Psychoneuroendocrinology* **37**, 1491-1505, doi:10.1016/j.psyneuen.2012.02.003 [pii] (2012).
- Wohleb, E. S., Powell, N. D., Godbout, J. P. & Sheridan, J. F.** Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior. *J Neurosci* **33**, 13820-13833, doi:10.1523/JNEUROSCI.1671-13.2013 [pii] (2013).
- Wong, H. L., Costa, G. L., Lotze, M. T. & Wahl, S. M.** Interleukin (IL) 4 differentially regulates monocyte IL-1 family gene expression and synthesis in vitro and in vivo. *J Exp Med* **177**, 775-781 (1993).
- Woodroffe, M. N.** Cytokine production in the central nervous system. *Neurology* **45**, S6-10 (1995).
- Woodroffe, M. N. & Cuzner, M. L.** Cytokine mRNA expression in inflammatory multiple sclerosis lesions: detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine* **5**, 583-588 (1993).
- Wright, G. J. et al.** Characterization of the CD200 receptor family in mice and humans and their interactions with CD200. *J Immunol* **171**, 3034-3046 (2003).
- Wright, G. J., Jones, M., Puklavec, M. J., Brown, M. H. & Barclay, A. N.** The unusual distribution of the neuronal/lymphoid cell surface CD200 (OX2) glycoprotein is conserved in humans. *Immunology* **102**, 173-179, doi:10.1046/j.1365-2567.2001.01163.x [pii] (2001).
- Wu, L. J. & Zhuo, M.** Resting microglial motility is independent of synaptic plasticity in mammalian brain. *J Neurophysiol* **99**, 2026-2032, doi:10.1152/jn.01210.2007 [pii] (2008).
- Wynne, A. M., Henry, C. J., Huang, Y., Cleland, A. & Godbout, J. P.** Protracted downregulation of CX3CR1 on microglia of aged mice after lipopolysaccharide challenge. *Brain Behav Immun* **24**, 1190-1201, doi:10.1016/j.bbi.2010.05.011 [pii] (2010).

X

- Xiao, M. Y., Zhou, Q. & Nicoll, R. A.** Metabotropic glutamate receptor activation causes a rapid redistribution of AMPA receptors. *Neuropharmacology* **41**, 664-671, doi:10.1016/S0028390801001344 [pii] (2001).

- Xiao, Y., Huang, Y. & Chen, Z. Y.** Distribution, depletion and recovery of docosahexaenoic acid are region-specific in rat brain. *Br J Nutr* **94**, 544-550, doi:S0007114505002151 [pii] (2005).
- Xie, Z., Morgan, T. E., Rozovsky, I. & Finch, C. E.** Aging and glial responses to lipopolysaccharide in vitro: greater induction of IL-1 and IL-6, but smaller induction of neurotoxicity. *Exp Neurol* **182**, 135-141, doi:S0014488603000578 [pii] (2003).
- Xu, H. E. et al.** Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell* **3**, 397-403, doi:S1097-2765(00)80467-0 [pii] (1999).

Y

- Yamada, J. et al.** Reduced synaptic activity precedes synaptic stripping in vagal motoneurons after axotomy. *Glia* **56**, 1448-1462, doi:10.1002/glia.20711 (2008).
- Yang, G., Pan, F. & Gan, W. B.** Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* **462**, 920-924, doi:nature08577 [pii] 10.1038/nature08577 (2009).
- Yao, J., Harvath, L., Gilbert, D. L. & Colton, C. A.** Chemotaxis by a CNS macrophage, the microglia. *J Neurosci Res* **27**, 36-42, doi:10.1002/jnr.490270106 (1990).
- Yaqoob, P. & Calder, P. C.** N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation in the arterial wall. *Eur J Med Res* **8**, 337-354 (2003).
- Yerram, N. R., Moore, S. A. & Spector, A. A.** Eicosapentaenoic acid metabolism in brain microvessel endothelium: effect on prostaglandin formation. *J Lipid Res* **30**, 1747-1757 (1989).
- Yirmiya, R. & Goshen, I.** Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav Immun* **25**, 181-213, doi:S0889-1591(10)00521-0 [pii] 10.1016/j.bbi.2010.10.015 (2011).
- Yokoyama, A., Yang, L., Itoh, S., Mori, K. & Tanaka, J.** Microglia, a potential source of neurons, astrocytes, and oligodendrocytes. *Glia* **45**, 96-104, doi:10.1002/glia.10306 (2004).
- Yorek, M. A., Bohnker, R. R., Dudley, D. T. & Spector, A. A.** Comparative utilization of n-3 polyunsaturated fatty acids by cultured human Y-79 retinoblastoma cells. *Biochim Biophys Acta* **795**, 277-285, doi:0005-2760(84)90076-6 [pii] (1984).
- Yorek, M. A., Hyman, B. T. & Spector, A. A.** Glycine uptake by cultured human Y79 retinoblastoma cells: effect of changes in phospholipid fatty acid unsaturation. *J Neurochem* **40**, 70-78 (1983).
- Yoshiyama, Y. et al.** Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model. *Neuron* **53**, 337-351, doi:S0896-6273(07)00030-X [pii] 10.1016/j.neuron.2007.01.010 (2007).
- Yuste, R. & Majewska, A.** On the function of dendritic spines. *Neuroscientist* **7**, 387-395 (2001).

Z

- Zeng, Y., Tao, N., Chung, K. N., Heuser, J. E. & Lublin, D. M.** Endocytosis of oxidized low density lipoprotein through scavenger receptor CD36 utilizes a lipid raft pathway that

- does not require caveolin-1. *J Biol Chem* **278**, 45931-45936, doi:10.1074/jbc.M307722200 (2003).
- Zhang, B. et al.** The relationships between erythrocyte membrane n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids ratio and blood lipids and C-reactive protein in Chinese adults: an observational study. *Biomed Environ Sci* **24**, 234-242, doi:S0895-3988(11)60045-7 [pii] 10.3967/0895-3988.2011.03.005 (2011).
- Zhang, G. X., Li, J., Ventura, E. & Rostami, A.** Parenchymal microglia of naive adult C57BL/6J mice express high levels of B7.1, B7.2, and MHC class II. *Exp Mol Pathol* **73**, 35-45, doi:S001448000292441X [pii] (2002).
- Zheng, K., Scimemi, A. & Rusakov, D. A.** Receptor actions of synaptically released glutamate: the role of transporters on the scale from nanometers to microns. *Biophys J* **95**, 4584-4596, doi:S0006-3495(08)78599-0 [pii] 10.1529/biophysj.108.129874 (2008).
- Zhou, H., Lapointe, B. M., Clark, S. R., Zbytniuk, L. & Kubes, P.** A requirement for microglial TLR4 in leukocyte recruitment into brain in response to lipopolysaccharide. *J Immunol* **177**, 8103-8110, doi:177/11/8103 [pii] (2006).
- Zhou, Q., Homma, K. J. & Poo, M. M.** Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron* **44**, 749-757, doi:S0896627304007226 [pii] 10.1016/j.neuron.2004.11.011 (2004).
- Zhou, X., Spittau, B. & Kriegelstein, K.** TGFbeta signalling plays an important role in IL4-induced alternative activation of microglia. *J Neuroinflammation* **9**, 210, doi:1742-2094-9-210 [pii] 10.1186/1742-2094-9-210 (2012).
- Ziegenfuss, J. S. et al.** Draper-dependent glial phagocytic activity is mediated by Src and Syk family kinase signalling. *Nature* **453**, 935-939, doi:nature06901 [pii] 10.1038/nature06901 (2008).
- Zimmer, L. et al.** Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency alters dopamine vesicle density in the rat frontal cortex. *Neurosci Lett* **284**, 25-28, doi:S0304-3940(00)00950-2 [pii] (2000).
- Zimmer, L., Durand, G., Guilloteau, D. & Chalon, S.** n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and dopamine metabolism in the rat frontal cortex. *Lipids* **34 Suppl**, S251 (1999).
- Zujovic, V., Benavides, J., Vige, X., Carter, C. & Taupin, V.** Fractalkine modulates TNF-alpha secretion and neurotoxicity induced by microglial activation. *Glia* **29**, 305-315, doi:10.1002/(SICI)1098-1136(20000215)29:4<305::AID-GLIA2>3.0.CO;2-V [pii] (2000).
- Zujovic, V., Schussler, N., Jourdain, D., Duverger, D. & Taupin, V.** In vivo neutralization of endogenous brain fractalkine increases hippocampal TNFalpha and 8-isoprostane production induced by intracerebroventricular injection of LPS. *J Neuroimmunol* **115**, 135-143, doi:S0165572801002594 [pii] (2001).
- Zwaal, R. F., Comfurius, P. & Bevers, E. M.** Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. *Cell Mol Life Sci* **62**, 971-988, doi:10.1007/s00018-005-4527-3 (2005).

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Activation microgliale (adapté de Kettenmann en 2011).

Figure 2 : La microglie découverte par Pio del Rio-Hortega.

Figure 3 : Origine et renouvellement des cellules microgliales (adapté de Ginhoux et al., 2013).

Figure 4 : Phénotype microglial au cours du développement (adapté de Harry en 2013).

Figure 5 : Hétérogénéité phénotypique microgliale après activation.

Figure 6 : Communication neurone-microglie : régulation de l'activation microgliale

Figure 7 : Microglie et plasticité synaptique après activation immune.

Principe de phagocytose de cellules en apoptose.

Figure 9 : Microglie et élimination synaptique.

Figure 10 : Élimination synaptique *via* la cascade du complément.

Figure 11 : Nomenclature « oméga », exemple du DHA.

Figure 12 : Biosynthèse des acides gras polyinsaturés (PUFAs : PolyUnsaturated Fatty Acids).

Figure 13 : Médiateurs lipidiques dérivés de l'AA.

FFigure 14 : Médiateurs lipidiques dérivés de l'EPA.

Figure 15 : Médiateurs lipidiques dérivés du DHA.

Figure 16 : Accumulation cérébral de DHA et AA au cours du développement cérébral (*adapté de Green et al., 1999*).

Figure 17 : Expression protéique de PSD-95 en Western-Blot à PND21 après blocage du récepteur à la vitronectine au 14^{ème} jour de vie chez des souris sous un régime standard.

LISTE DES ABBREVIATIONS

2-AG : 2-Arachidonylglycerol
 AA : Arachidonic Acid
 AEA: Anandamide
 AG: Acides Gras
 AGEs: Advanced Glycosylation End products
 AGMI : Acides Monoinsaturés
 ALA : Alpha Linolenic acid
 ALS : Amyotrophic Lateral Sclerosis
 AMPA : Acide α -amino-3-hydroxy-5-Méthyl-4-isoxazolepropionique
 Arg : Arginase
 Atp : Adénosine Triphosphate
 AVC : Accident Vasculaire Cérébral
 BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor
 BHE: Barrière Hémato-Encéphalique
 BSA: Bovine Serum Albumin
 CA : Corne d'Ammon
 CCL : Chemokine (C-C motif) ligand
 CCR : Chemokine (C-C Motif) Receptor
 CD: Cluster of Differentiation
 CNS : Central Nervous system
 COX2 : Cyclooxygénase-2
 cPLA2 : Phospholipase A2 cytosolique calcium-dépendante
 CSF : Cerebrospinal Fluid
 CSF1R : Colony Stimulating Factor 1 Receptor
 CSIF : Cytokine Synthesis Inhibitory Factor
 CX3CL : Chemokine (C-X3-C Motif) Ligand
 CX3CR1: Chemokine (C-X3-C Motif) Receptor
 DAMPs: Damage_Associated Molecular Patterns
 DHA: Docosahexaenoic Acid
 DLT / LTD: Dépression à long Terme
 EAE : Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
 eCB : Endocannabinoïdes
 ECL : ElectroChemoLuminescence
 ECM: matrice extracellulaire
 EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid
 EPSCs : Excitatory Postsynaptic Currents
 EPSP : Excitatory Postsynaptic Potential
 eYFP : enhanced Yellow Fluorescent Protein
 FA : Fatty Acid
 FAC : Fluoroacetate
 FACS : Fluorescence-activated cell sorting
 FAMES : Fatty Acid Methyl Esters
 FAT : Fatty Acid Transporter
 Fc : Facteurs du Complement

fEPSPs : Field excitatory Synaptic potentials
 GPCRs: G protein Coupled Receptors
 HBSS: Hanks' balanced salt Solution
 HFS: High-Frequency Stimulation
 HRP: Horse Radish Peroxidase
 ICAM-1 : molécules d'adhésion
 ICE : Enzyme de conversion de l'IL-1 β
 IFN- γ : interféron-gamma
 IL : Interleukines
 IL1-ra : Interleukin 1 receptor antagonist
 iNOS : NO synthase inducible
 IP : Intrapéritonéale
 ITI : inter-Trial Interval
 JAK-STAT : Janus Kinase-Signal transducer and activator of transcription
 kDa : Kilodalton
 LA : Linoleic acid
 LCA: Leukocyte Common Antigen
 LDL : Low Density Protein
 LPS: Lipopolysaccharide / PBS: phosphate Buffered saline
 LTA : Acide lipotéichoïque
 LTP: Long Term Potentiation
 LxA4 : Lipoxine A4
 LXR : Liver X Receptor
 Ly6C : Lymphocyte antigen 6C
 MAPK : MAPkinases
 MerTK: Mer Tyrosine Kinase
 MFG-E8 : Milk Fat Globule-Epidermal growth factor
 MGluR : Récepteurs Métabotropiques au Glutamate
 MHC II: Major Histocompatibility Complex II
 MPEP : 2-methyl-6-(Phenylethynyl)-Pyridine
 MR : Récepteur au Mannose
 MSR: Macrophage Scavenger Receptor
 NBQX : 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline-2,3-dione
 Ncx : Sodium-calcium exchanger
 NF κ B : Nuclear Factor-KappaB
 NLR : NOD-like receptors
 NMDA : N-méthyl-D-aspartate
 NO : Oxyde Nitrique
 NOD : Nucleotide oligomerization domain receptor
 OCV : Organes Circumventriculaires
 PAMPS : Pathogen-Associated Molecular Patterns
 PSD-95 : Post-Synaptic Density protein 95
 PFA: Paraformaldehyde
 PG : Prostaglandines
 PGE2: prostaglandine E2
 PLT : Potentialisation à Long Terme

PND: Post-Natal Day
 PPAR : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
 PRR : Pattern Recognition Receptors
 PS : Phosphatidylserine
 PTZ : Pentyleneretrazol
 PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids
 PVDF: polyvinylidene Fluoride
 ROS : Reactive Oxygen Species/ espèces réactives oxygénées
 RvE1 : Résolvine E1
 RXR: Retinoid X 84 Receptor
 SGZ : Subgranular zone
 SI: Système Immunitaire
 Siglec-H: Sialic acid binding immunoglobulin-like lectin H
 SII : Système de l'immunité innée
 SIRP: Signal-Regulatory Protein
 SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique
 SNAP25 : Synaptosomal-Associated Protein 25
 SNC : Système Nerveux Central
 SOD : Superoxide Dismutase 1
 sPLA2 : Phospholipase A2 sécrétée
 SR : Récepteurs Scavengers
 STED : Stimulated-Emission Depletion ou déplétion par émission stimulée
 TACE : Matric Metalloprotease TNF alpha converting enzyme
 TBS : Tris-Buffered Saline
 TGF- β : Transforming Growth Factor beta/ facteur de croissance transformant
 TIR : Domaine Intracellulaire Toll/IL-1 Receptor
 TLR: Toll-Like Receptor
 Tm : Transmembranaire
 TNF α : Tumor Necrosis Factor/ *facteur de nécrose tumorale alpha*
 TNFRI ou p55 : Récepteur au TNF α de type 1
 TNFRII ou p75 : Récepteur au TNF α de type 2
 TREM : Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells
 TSPs: Thrombospondines
 Ym1 : Protéine chitinase-like3

ANNEXES

LISTE DES PUBLICATIONS

Larrieu T¹, **Madore C**¹, Joffre C, Laye S (¹equal contribution) (2012). “Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency alters cannabinoid receptor signaling pathway in the brain and associated anxiety-like behavior in mice.” J Physiol Biochem **68**(4): 671-681.

Laye S, Delpech JC, DeSmedt-Peyrusse V, Joffre C, Larrieu T, **Madore C**, Nadjar A, Capuron L (2011). “Neuroinflammation and aging: influence of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid. Oléagineux Corps gras et Lipides

Madore C, Joffre C, Delpech JC, De Smedt-Peyrusse V, Aubert A, Coste L, Layé S, Nadjar A. “Early morphofunctional plasticity of microglia in response to acute lipopolysaccharide” Brain Behavior and Immunity **34** (2013) 151-158

LISTE DES COMMUNICATIONS

Oral communications

Madore C, Nadjar A, Joffre C and Layé S. “Role of PUFAs in brain innate immune system regulation”. **6th Meeting Nutrition and Neurosciences**, Bordeaux, France (2013)

Madore C, Nadjar A, Joffre C and Layé S. “Role of PUFAs in brain innate immune system regulation”. **Symposium of NutrINeuro**, Bordeaux, France (2012)

Madore C, Nadjar A, Joffre C and Layé S. “Effects of n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids on neuroinflammation modulation mediated by the endocannabinoid system”. **Symposium of NutrINeuro**, Bordeaux, France (2011)

Poster communications

International Conferences

Madore C, Portal C, Aubert A, Seré A, Nadjar A, Joffre C and Layé S. “Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency impairs microglial cell activity in the developing brain”. **XI European Meeting on Glial Cells in Health and Disease**, Berlin, Germany. (2013)
Travel grant award from Club des cellules gliales

Madore C, Portal C, Aubert A, Seré A, Nadjar A, Joffre C and Layé S. “Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency impairs microglial cell activity in the developing brain”. **20th Annual PNIRS Scientific Meeting**, Stockholm, Sweden. (2013)

Madore C, Nadjar A, Grégoire S, Brétilon L, Joffre C and Layé S. “Nutritional n-3 PUFAs deficiency affects microglia phenotype and the endocannabinoid system”. **1st European Neuroscience Conference by Doctoral Students**, Bordeaux, France. (2013)

Madore C, Nadjar A, Grégoire S, Brétilon L, Joffre C and Layé S. “Nutritional n-3 PUFAs deficiency affects microglia phenotype and the endocannabinoid system”. **8th FENS forum of Neuroscience**, Barcelone, Spain. (2012)

Madore C, Grégoire S, DeSmedt-Peyrusse V, Castanon N, Acar N, Brétilon L, Layé S and Joffre C. “Comparative analysis of fatty acids in mice brain: effect of inflammation” **Lipids and Brain**, Paris, France. (2011)

National Conferences

Madore C, Portal C, Seré A, Nadjar A, Joffre C and Layé S. Effects of polyunsaturated fatty acids on brain innate immune system. **Life Sciences Doctoral School day**, Bordeaux, France (2013)

Madore C, Grégoire S, Brétilon L, Joffre C and Layé S. “Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency affects microglia phenotype and brain cytokine production.” **Life Sciences Doctoral School day**, Bordeaux, France (2012) Awarded for poster presentation

Résumé

Le système de l'immunité innée cérébrale (SIIC) est principalement composé des cellules microgliales. En réponse à des stimuli immuns, inflammatoires ou un trauma neurologique, la microglie s'active et produit des facteurs pro et anti-inflammatoires qui d'une part coordonnent la réponse de l'immunité innée cérébrale et d'autre part modulent l'activité neuronale et, *in fine*, le comportement. Plus récemment, les cellules microgliales se sont révélées jouer un rôle clé dans le développement cérébral. Ainsi, par leurs activités de phagocytose, elles participent à la maturation des réseaux neuronaux. Si l'activation du SIIC permet de défendre le tissu cérébral des agressions, l'activation prolongée des cellules microgliales a aussi des effets délétères. Ainsi, dans le cerveau adulte, la production soutenue de cytokines inflammatoires contribue au développement de pathologies neurodégénératives. Au cours du développement les stimuli inflammatoires, en perturbant l'activité des cellules microgliales conduisent à une dysfonction de circuits neuronaux qui pourrait être impliquée dans des pathologies neuropsychiatriques à composante neurodéveloppementale. La compréhension de la régulation des cellules microgliales et de leur réponse est donc capitale.

L'activité microgliale repose sur ses propriétés morphologique, dynamique et sa communication avec les neurones qui impliquent des profils de synthèse de facteurs (cytokines, chemokines, facteurs de croissance, etc..) et de récepteurs particuliers, la polarisation vers un phénotype pro ou anti-inflammatoire et la phagocytose. Peu d'études ont caractérisé l'ensemble des propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales *in vivo*. Par la combinaison d'approches de FACS, immunohistochimie, microscopie confocale et reconstruction en 3D, microscopie bi-photonique et dosage des facteurs de communication, il est aujourd'hui possible de mieux caractériser ces cellules afin de comprendre leur régulation par l'environnement et l'impact (bénéfique ou délétère) sur les fonctions neuronales.

L'objectif général de cette thèse a été d'étudier les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales *in vivo* dans deux situations physiopathologiques, une inflammation induite par l'administration périphérique de lipopolysaccharide (LPS) et une déficience alimentaire en acides gras polyinsaturés (AGPI) de type n-3, connus pour leurs propriétés immunomodulatrices. La première étude nous a permis de développer des outils nécessaires à l'étude de la plasticité morphofonctionnelle de la microglie et d'apporter de nouveaux éléments de compréhension de l'impact d'une inflammation périphérique sur l'activité de ces cellules *in vivo*. Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons montré pour la première fois que le statut alimentaire maternel en AGPI n-3 influence les propriétés morphofonctionnelles des cellules microgliales au cours du développement post-natal ainsi que l'activité des réseaux neuronaux. De façon générale, nos résultats apportent des éléments de compréhension des relations entre plasticité morphologique et fonctionnelle des cellules microgliales *in vivo*.

Abstract

The brain innate immune system is mainly composed of microglial cells. Microglia are activated in response to an immune or inflammatory stimuli or a trauma, and then produce pro- and anti-inflammatory factors. These factors drive the innate immune response and can modulate neuronal activity and *in fine*, learning and memory. Recently, microglia have been shown to play a key role during brain development. *Via* their phagocytic activity, microglial cells can participate to neuronal networks maturation. Although brain innate immune system defends brain tissue from aggression, chronic activation of microglia can also be deleterious. In the adult brain, chronic production of inflammatory cytokines can contribute to the pathogenesis of neurodegenerative diseases. During development, inflammatory stimuli modifying microglia activity and homeostasis could lead to neuropsychiatric diseases with a neurodevelopmental origin. Understanding how microglia are regulated and how they respond to various stimuli is therefore crucial. Microglia activity is characterized by morphological and dynamic properties of microglia, by its communication with neurons by its polarization into a specific phenotype, and by their phagocytic profile. Few studies have characterized all the morphofunctional properties of microglial cells *in vivo*. Using a combination of approaches including FACS, immunohistochemistry, confocal microscopy, 3D reconstruction, two-photon microscopy and communication factors assays, it is now possible to better characterize these cells in order to understand their regulation by the environment and the resulting impact (beneficial or deleterious) on neuronal functions. The main goal of this thesis was to study the morphofunctional properties of microglial cells *in vivo* in two pathophysiological states: a peripheral inflammation induced by a peripheral injection of lipopolysaccharide (LPS) and in an n-3 PUFAs nutritional state. In the first study, we developed tools to investigate microglial morphofunctional plasticity and gained a better understanding of the impact of peripheral inflammation on the activity of these cells *in vivo*. In the second part of this thesis, we showed for the first time that maternal nutritional status in n-3 PUFAs affect the morphofunctional properties of microglial cells and the establishment of neural circuits during the postnatal development of the pups. Overall, our results provide new insights in the relationship between morphological and functional plasticity of microglial cells *in vivo*.